

УДК 616-089.2(043.2)

**НЕИНВАЗИВНЫЕ МЕТОДЫ ИЗМЕРЕНИЯ БИЛИРУБИНА, ГЕМОГЛОБИНА
И ГЛЮКОЗЫ. ПРИБОР ГЕМОБИЛИГЛЮКОМЕТР**

Е.В. Кожохина

Рассмотрены преимущества неинвазивных измерений параметров крови, предложено конструктивное исполнение прибора гемобилиглюкометра.

Ключевые слова: неинвазивный, гемоглобин, билирубин, глюкоза, поглощение, интерференционные фильтры, микроконтроллер, мониторинг.

Введение

Свет видимого диапазона длин волн является безопасным при малых уровнях плотности излучения. Свет этого диапазона длин волн хорошо проникает в биологическую ткань и несет информацию о структурных и динамических изменениях в тканях. С помощью такого физического явления как поглощение, можно диагностировать некоторые параметры крови, такие как гемоглобин, билирубин и глюкоза.

Лабораторные исследования, построенные на инвазивных методах, сопряжены с травмированием пациентов, возможностью инфицирования, а также с довольно длительной процедурой получения диагностического результата. Однако на сегодняшний день они являются определяющими, так как удовлетворяют требованиям допустимых пределов аналитической вариации: для гемоглобина $\pm 2\%$; для билирубина $\pm 10\%$ [1]. Тем не менее, для мониторинга состояния больных и терапии неинвазивные методы значительно превосходят лабораторные исследования как по оперативности, так и по эффективности и экономичности.

Приоритет безболезненного определения билирубина опико-электронным методом принадлежит фирме «Minolta» [2]. Усовершенствованием конструкции частично, при том же методе обработки информации, был АБЧ-01, ЦКБ завода «Арсенал» [3], г. Киев, а также «Билитест» фирмы «Техномед» г. Москва. Дальнейшим усовершенствованием является ИН-01Б, разработанный МП НПП «Оптамед-Интекон» г. Киев [4], измеряющий концентрацию билирубина в диапазоне 0–300 мкмоль/л.

Медицинское апробирование упомянутых приборов в ряде ведущих медицинских НИИ Украины и России выявило большую заинтересованность, так как приборы позволяют:

- в течение нескольких секунд бескровным методом поставить диагноз гипербилирубинемии, анемии или диабета и выявить методом скрининга пациентов группы риска;
- исключить инфицирование пациента во время взятия крови (СПИД, гепатит, кокковая инфекция и др.);
- проводить измерения любому медицинскому работнику;
- быстро окупаться, так как исключаются затраты на реагенты и т.д.

Постановка задачи

Из приведенного выше анализа следует, что неинвазивные опико-электронные приборы весьма перспективны для клинической диагностики, однако по аналитической вариации они уступают традиционным биохимическим методам. К тому же, не существует комбинированных неинвазивных измерителей параметров крови. В данной работе рассмотрены свойства гемоглобина, билирубина и глюкозы, а также их спектры поглощения, особенности прохождения излучения через слои кожи, требования к созданию гемобилиглюкометра.

Взаимодействие излучения с кожным покровом

При биохимических измерениях концентрация исследуемого вещества определяется непосредственно в крови либо в сыворотке. В неинвазивных измерениях процесс измерения ведется в среде, которая отличается от крови по целому ряду параметров – коже. Кожа – это наружный покров тела человека, который выполняет разнообразные функции, защищая организм от разрушительных факторов. Кожа представляет собой трехкомпонентную тканевую систему, образованную эпидермисом, дермой и подкожной жировой клетчаткой [5].

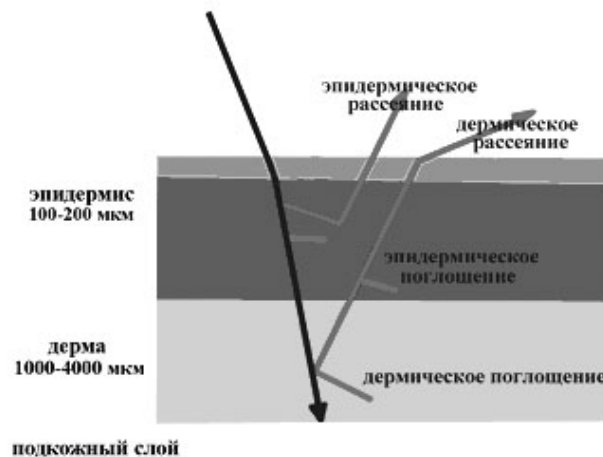


Рис. 1. Взаимодействие излучения видимого диапазона длин волн с кожными тканями

При взаимодействии излучения видимого диапазона длин волн с биологическими тканями имеют место обычные оптические эффекты, возникающие при прохождении света через неоднородную среду. Часть падающего на биоткань излучения отражается от ее поверхности. Проникающее в ткань излучение видимого диапазона длин волн подвергается многократному рассеиванию, поглощению различными биологическими структурами и частичному преобразованию во вторичное излучение [6]. На рис. 1 представлена схема взаимодействия лазерного луча с кожным покровом.

Величина поглощенной биотканями энергии ($\Phi_{\text{пол}}$) приблизительно исчисляется как разность между падающей ($\Phi_{\text{пад}}$) и отраженной ($\Phi_{\text{отр}}$) частями энергии светового потока [7]:

$$\Phi_{\text{погл}} = \Phi_{\text{пад}} - \Phi_{\text{отр}} = \Phi_{\text{пад}} \cdot [1 - \rho(\lambda)].$$

Кровеносные сосуды залегают на определенных глубинах в коже, для регистрации рассеянного и отраженного излучения необходима определенная интенсивность излучения для различных длин волн. При этом в разных участках тела количества кровеносных сосудов на единицу объема различные. В зависимости от длины волны разный объем излучения проникает сквозь различные слои кожи.

На рис. 2 приведена относительная спектральная чувствительность фотопреобразователя ФП33-1Л, используемого в гемобилиглокометре, и глубина проникновения излучения 0,4–1 мкм через слои кожи. Поскольку биологические ткани являются интенсивно рассеивающими средами, их толщина и структура сильно влияют на поглощение лазерного излучения, в диапазоне длин от 600 до 1400 нм кожа поглощает 25–40% излучения [8].

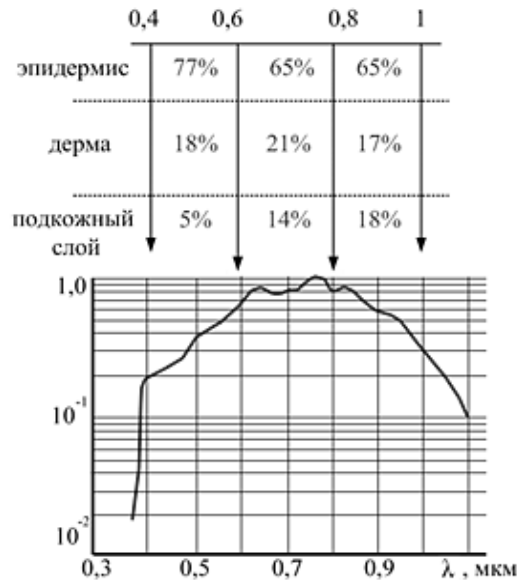


Рис. 2. Глубина проникновения излучения через кожную ткань и относительная спектральная чувствительность фотопреобразователя ФП33-1Л

Гемоглобин, билирубин и глюкоза

Гемоглобин (др.-греч. αἷμα – кровь и лат. globus – шар) – сложный железосодержащий белок животных и человека, способный обратимо связываться с кислородом, обеспечивая его перенос в ткани [9].

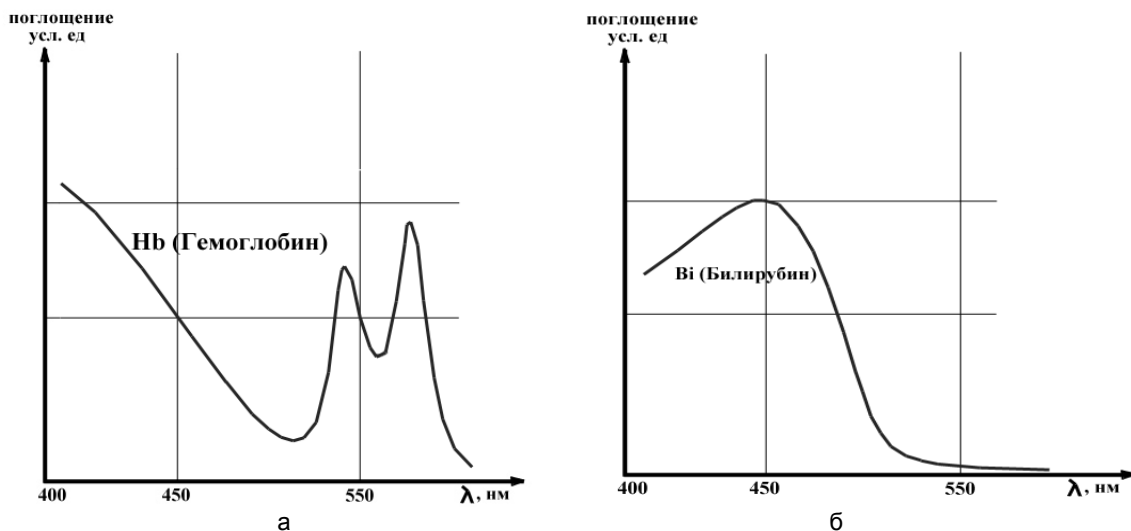


Рис. 3. Спектры поглощения: гемоглобина (а); билирубина (б)

При неинвазивном измерении гемоглобина проблемой для получения точных данных может стать эмоциональное состояние пациента. При волнении и возбуждении концентрация крови на единицу по-

верхности кожи может увеличиваться, человек краснеет, а это вызывает погрешность при определении уровня гемоглобина неинвазивно. На рис. 3, а, представлен спектр поглощения общего гемоглобина.

Билирубин (лат. bilis – желчь и tiber – красный) – один из желчных пигментов. Билирубин является одним из промежуточных продуктов распада гемоглобина, происходящего в макрофагах селезенки, печени и костном мозге (примерно 80%).

Пигментация от билирубина проявляется в верхних слоях кожи. Для неинвазивного измерения билирубина пациенту требуется обескровить участок кожной ткани, приложив давление порядка 10^5 Па, чтобы исключить погрешность, вызываемую наличием гемоглобина. Максимум поглощения билирубина – 460 нм (рис. 3, б).

Глюкоза (от греч. glykys – сладкий) (виноградный сахар) – углевод из группы моносахаридов. Глюкоза составляет основу субстрата, необходимого для энергообеспечения и жизнедеятельности клетки. Глюкоза поступает в кровь при всасывании в кишечнике после расщепления углеводов, содержащихся в продуктах питания.

Спектры поглощения глюкозы: $\lambda_1=0,83$ мкм, $\lambda_2=0,94$ мкм, $\lambda_3=1,03$ мкм (рис. 4).

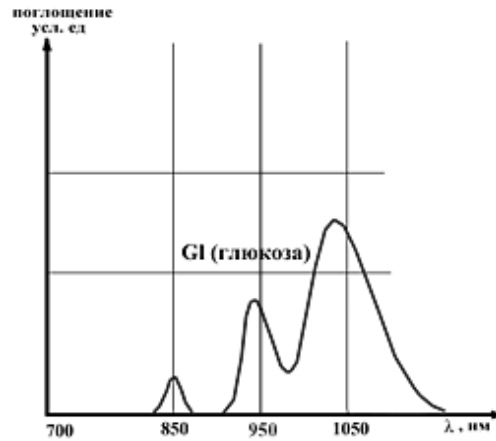


Рис. 4. Спектр поглощения глюкозы

Соединим спектры (рис. 3, 4) на одном рисунке, чтобы наглядно видеть оптимальные длины волн поглощения для каждого из рассматриваемых веществ, которые будут соответствовать светофильтрам 4, 5, 6 (рис. 6), а светофильтр 7 будет соответствовать опорному сигналу в 0,78 мкм.

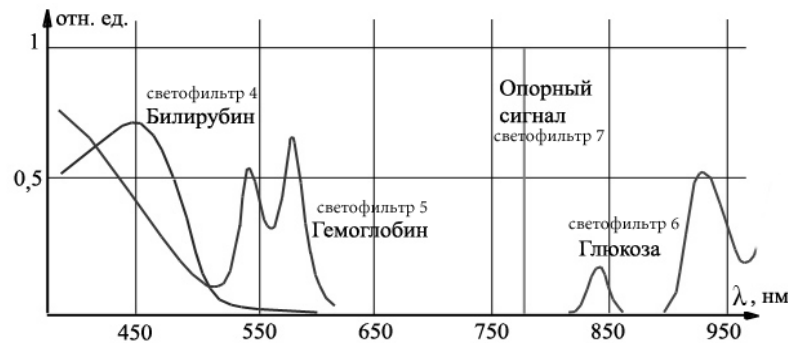


Рис. 5. Спектры поглощения билирубина (4), гемоглобина (5), глюкозы (6), а также опорный сигнал (7)

Разработка неинвазивного гемоглюкометра

Во всех неинвазивных оптико-электронных приборах используется источник широкополосного импульсного излучения с дальнейшим анализом поглощения света на определенной длине волны за счет узкополосных интерференционных фильтров и отдельных фотоприемников. Недостатком данного метода является разброс чувствительности фотоприемников, а потому необходимо перед каждым измерением проводить калибровку прибора.

Предложен комбинированный прибор, что позволяет одновременно измерять три параметра: билирубин ($\lambda = 0,46$ мкм), гемоглобин ($\lambda = 0,55$ мкм) и глюкоза ($\lambda = 0,94$ мкм), по отношению к коже $\lambda = 0,7$ мкм. С помощью одного пространственного линейного фоточувствительного прибора с зарядовой связью (ФПЗС) на рис. 6 приведена структурная схема прибора, в состав которого входят оптико-электронный блок (11), блок обработки информации (12), блок индикации на ЖК-индикаторе и блок пи-

тания со стабилизатором от пяти аккумуляторов. Оптико-электронный блок состоит из волоконного факона (3), интерференционных фильтров (4–7), линейного ФПЗС (9), светофильтра (8), который обрезает ультрафиолетовые и инфракрасные излучения, лампы-вспышка с отражателем (10). Внешний вид прибора показан на рис. 7.

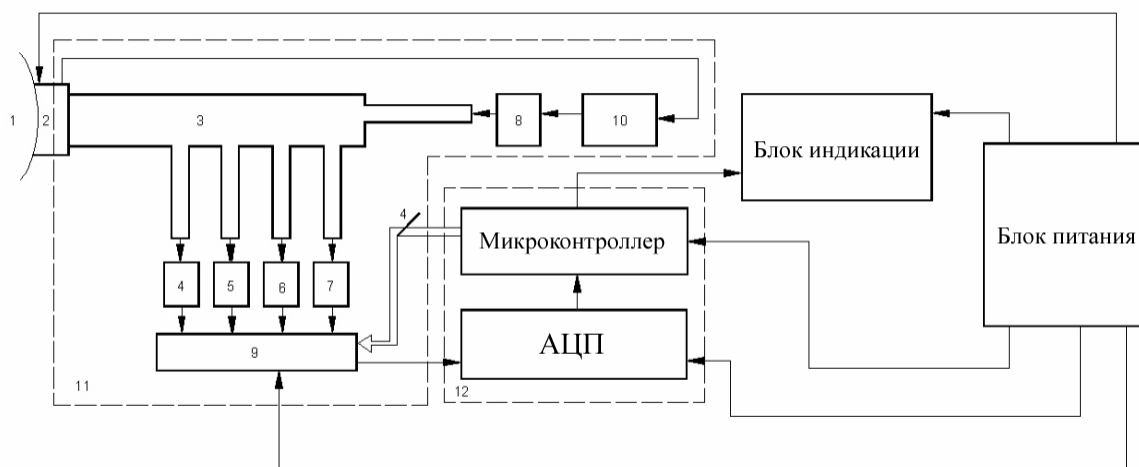


Рис. 6. Структурная схема гемобилиглюкометра: 1 – исследуемый участок кожи; 2 – подвижное приспособление; 3 – оптоволоконно; 4–8 – светофильтры; 9 – приемник излучения; 10 – источник излучения; 11 – оптический блок; 12 – полупроводниковый блок

Блок обработки информации состоит из микроконтроллера и аналогово-цифрового преобразователя. Микроконтроллер предназначен для управления линейным ПЗС, а также для проведения необходимых вычислений по результатам измерений.

Процесс измерения заключается в следующем: прибор приставляется волоконным датчиком к коже пациента, срабатывает лампа-вспышка, и широкополосное излучение через передаточный волоконный канал направляется в кожу пациента. Рассеянный и отраженный оптические сигналы через приемные каналы волоконного фокона и интерференционные фильтры направляются на линейки ПЗС. Крепления волоконного фокона, фильтров и линейного ПЗС осуществляется методом оптического склеивания.

Информация из выхода микроконтроллера поступает на ЖК-индикатор, где высвечивается значение измеряемых параметров в абсолютных величинах: билирубин 0–400 мкмоль/л, гемоглобин 0–300 г/л, глюкоза 0–40 моль/л.

В упомянутых ранее приборах в каждом приемном канале используется узкополосный интерференционный светофильтр с полосой пропускания ± 30 нм и своим фотоприемником. Так как чувствительность фотоприемников различна, то в этих приборах необходимо выравнять чувствительность приемных каналов.

Авторами предложено в качестве фотоприемника использовать один пространственный линейный фотоприемник на приборах с зарядовой связью, к которому путем оптической склейки через интерференционные светофильтры подключены волоконные приемные каналы. В качестве источника света используется широкополосный источник света – лампа-вспышка с оптическим отражателем. Между фоконном и лампой-вспышкой устанавливаются обрезачные светофильтры для подавления ближнего ультрафиолетового и инфракрасного излучения (эффект люминисценции кожи).

Как описано выше, кровеносные сосуды залегают на определенных глубинах в коже, поэтому для регистрации рассеянного и отраженного излучений необходима определенная интенсивность излучения для различных длин волн. Кроме того, пигментация от билирубина проявляется в верхних слоях кожи, а гемоглобин и глюкозу необходимо измерять там, где кровеносных сосудов максимум. На качество измерения, особенно при измерении билирубина, очень влияет цвет кожи (тип расы, загар). Таким образом, в процессе измерений надо вносить поправки в виде констант. Поэтому в блоке обработки информации используется микроконтроллер типа AVR с памятью типа EEPROM, куда можно заносить эти константы. Неинвазивные измерения дают хорошие результаты при измерениях билирубина и гемоглобина на новорожденных детях, т.е. в неонатологии. Если производить измерения на пациентах других возрастных групп, то необходимо учитывать сухость кожи, сальную прослойку и целый ряд других параметров, которые весьма трудно учесть.

В связи с этим авторами была предложена следующая корреляционная методика для старших возрастных групп: разработаны специальные отражающие микрокюветы, которые показали хорошие результаты при измерении билирубина. Иначе говоря, в начале прибором по сыворотке крови в микрокювете определяется концентрация билирубина, а после этого проводятся у того же пациента транскутанные измере-

ния. Устанавливается коэффициент корреляции для данного пациента и вводится поправка в микроконтроллер в виде константы в память EEPROM. Далее измерения у данного пациента проводят неизвазивно.

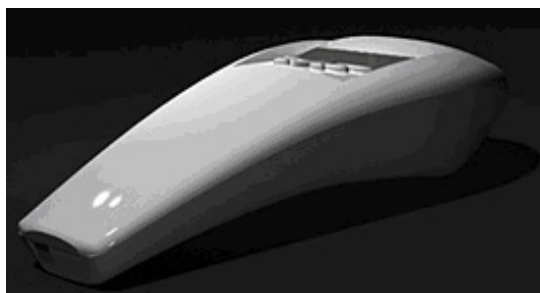


Рис. 7. Внешний вид гемобилиглюкометра

Заключение

Сформулируем основные рекомендации по применению прибора.

- При измерении билирубина необходимо устранить влияние гемоглобина за счет давления (обескровливать участок кожи).
- При измерениях гемоглобина и глюкозы необходимо увеличивать интенсивность излучателя, избегая механического давления на сосуды.
- При применении прибора для различных возрастных групп для получения достоверной информации необходимо для каждого пациента определять коэффициент корреляции «кровь-кожа» с последующим неизвазивным измерением. Коэффициент корреляции вводится в виде констант в вычислитель.

Литература

1. Лабораторные методы исследования в клинике / Справочник. – Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Медицина, 1987.
2. Патент США № 4267844, кл.А61В 5/00.1981.
3. Краснов В.Н., Яринич В.М., Макогон В.И. Анализатор билирубина черезкожный. Авт. свид. СССР, кл.А61В 5/00.1989.
4. Краснов В.Н. Измеритель билирубина неизвазивный ИБН-01 // Педиатрия, акушерство и гинекология (ПАГ). – Київ, 1993. – № 1. – 60 с.
5. Нормальная физиология: Учебник для студентов университетов / А.В. Коробков, А.А. Башкиров, К.Т. Ветчинкина / Под ред. А.В. Коробкова. – М.: Высшая школа, 1980. – 560 с.
6. Прикладная лазерная медицина: Учебное и справочное пособие / Под ред. Х.-П. Берлиена, Г.Й. Мюллера: Пер. с нем. – М.: Интерэксперт, 1997. – 356 с.
7. Козлов В.И. Взаимодействие лазерного излучения с биотканями // Сборник трудов «Применение низкоинтенсивных лазеров в клинической практике» / Под ред. О.К. Скобелкина. – М.: ГНЦ лазерной медицины, 1997. – С. 24–34.
8. Киселев Г.Л. Моделирование распространения света в биологических тканях // Биомедицинская радиоэлектроника. – 2001. – № 1. – С. 10–17.
9. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Клиническая оценка результатов лабораторных исследований. – М., 2005.

Кожохина Елена Владимировна – Национальный авиационный университет Украины, ассистент, miosend@mail.ru