

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **235367**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **411223**

(22) Data zgłoszenia: **10.02.2015**

(51) Int. Cl.

A61B 5/1455 (2006.01)

G01N 21/17 (2006.01)

G01J 3/44 (2006.01)

(54) **Sposób bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi i układ optoelektroniczny
do bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

16.08.2016 BUP 17/16

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

29.06.2020 WUP 08/20

(73) Uprawniony z patentu:

POLITECHNIKA GDAŃSKA, Gdańsk, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:

JANUSZ SMULKO, Suchy Dwór, PL

MARCIN GNYBA, Borkowo, PL

MACIEJ WRÓBEL, Malbork, PL

(74) Pełnomocnik:

rzecz. pat. Małgorzata Kluczyk

PL 235367 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób i układ do bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi, w którym nie zachodzi konieczność naruszania ciągłości tkanek, mający zastosowanie zwłaszcza w diagnozowaniu i leczeniu cukrzycy, zwłaszcza dla celów samokontroli.

Znany ze stanu techniki sposób wykrywania i określania koncentracji substancji chemicznych za pomocą zjawiska Ramana polega na tym, że stosuje się laserowe promieniowanie pobudzające i następnie mierzy się promieniowanie rozproszone na próbce w wyniku zjawiska Ramana (rozproszenia ramanowskiego). W rejestrowanym widmie Ramana pojawiają się linie widmowe, charakterystyczne dla wiązań chemicznych oświetlanej substancji o intensywności proporcjonalnej do stężenia tej substancji. Taką metodę stosuje się w badaniach naukowych do oceny składu tkanek biologicznych przez ich oświetlenie promieniowaniem laserowym i analizę rejestrowanego promieniowania rozproszenia ramanowskiego (np. Barman, I., Dingari, N. C., Singh, G. P., Soares, J. S., Dasari, R. R., & Smulko, J. M. (2012). *Investigation of noise-induced instabilities in quantitative biological spectroscopy and its implications for noninvasive glucose monitoring*. *Analytical Chemistry*, 84(19), s. 8149–8156). Metoda jest bardzo atrakcyjna, lecz ze względu na różnice w budowie tkanek między badanymi żywymi organizmami (np. różna grubość tkanki tłuszczowej, zawartość wody, wprowadzane zmętnienie itp.) wymaga kalibracji, przez wykorzystanie metody referencyjnej, która jest inwazyjna. Ponadto, intensywność sygnału rozproszenia ramanowskiego w rejestrowanym widmie jest poniżej 0,5% energii całego widma. Konieczne jest więc rozwiązanie umożliwiające identyfikację sygnału ramanowskiego pochodzącego od składników krwi, w szczególności od glukozy zawartej we krwi oraz jego odseparowanie od sygnałów pochodzących od otaczających tkanek.

Jednym z rozwiązań jest mechaniczna modulacja naświetlanej tkanki przez delikatny ucisk (np. Chaiken, J., Goodisman, J., Deng, B., Bussjager, R. J., & Shaheen, G. (2009). *Simultaneous, noninvasive observation of elastic scattering, fluorescence and inelastic scattering as a monitor of blood flow and hematocrit in human fingertip capillary beds*, *Journal of Biomedical Optics*, 14(5), 050505–050505), które znane jest również z amerykańskiego opisu patentowego US6377828. Rozwiązanie przyjmuje, że uciskając tkanki zmieniamy zawartość krwi, której markerem jest liczba czerwonych ciałek, w oświetlanym obszarze tkanek i uzyskujemy sygnał o składowej zależnej od ucisku tkanek, mimo że zawartość czerwonych ciałek krwi nie przekracza pojedynczych procent objętości oświetlanych tkanek. Taki efekt, powodowany uciskiem, jest możliwy ponieważ wartość współczynnika rozpraszania ($\mu_r = 300 \text{ cm}^{-1}$) dla czerwonych ciałek krwi jest ponad dwadzieścia razy większa niż dla pozostałych elementów składowych oświetlanych tkanek, jak plazma ($\mu_r = 0,6 \text{ cm}^{-1}$), czy tkanka łączna ($\mu_r = 12 \text{ cm}^{-1}$). Dzięki temu niewielka zmiana zawartości czerwonych ciałek krwi w oświetlanych tkankach wpływa znacząco na zmiany intensywności składowych widma rejestrowanego promieniowania rozproszenia ramanowskiego.

Podane rozwiązanie nie jest niestety pozbawione wad. Sygnał rozproszenia ramanowskiego jest nadal bardzo słaby. Dodatkowo, na wyniki pomiarów wpływają indywidualne cechy naświetlanych tkanek, co powoduje nadal konieczność kalibracji za pomocą metody referencyjnej. Zastosowanie wielokrotnego delikatnego ucisku (modulacja zawartości czerwonych ciałek krwi w oświetlanych tkankach) powinno pozwolić na wykorzystanie detekcji synchronicznej i poprawę stosunku sygnału (promieniowania rozproszenia ramanowskiego) do szumów i wpływów cech osobniczych badanych tkanek.

Detekcja synchroniczna (fazoczuła) jest znaną w obecnym stanie techniki metodą detekcji słabych sygnałów w obecności silnych sygnałów zakłócających. Opis metody detekcji synchronicznej wraz z zastosowaniem filtracji dolnoprzepustowej przedstawiony jest w: Bielecki Z., Rogalski A., *Detekcja sygnałów optycznych*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne PWN-WNT 1991, str. 364–373.

Konieczność przetwarzania sygnału pomiarowego, tj. mnożenia sygnału użytecznego przez sygnał synchronizujący oraz filtracji dolnoprzepustowej wynika z metody, czyli z istniejącego stanu techniki. Przetwarzanie sygnałów można zrealizować sprzętowo – za pomocą dedykowanych układów elektronicznych lub programowo – poprzez operacje obliczeniowe na macierzach wykonane za pomocą komputera sterującego. Drugie rozwiązanie jest szybsze i łatwiejsze do implementacji przy wykorzystaniu detekcji synchronicznej w pomiarach spektroskopowych, gdy przetwarzanie sygnału trzeba wykonywać dla każdej długości fali (kanału detekcji) oddzielnie.

Z metod spektroskopowych, które można zastosować i stosowano do pomiaru poziomu glukozy we krwi z wykorzystaniem detekcji synchronicznej, wyróżnić można spektroskopię absorpcyjną VIS oraz spektroskopię Ramana.

Spektroskopia absorpcyjna jest zastosowana w rozwiązaniu przedstawionym w zgłoszeniu patentowym US2013/0267799 A1. Metoda ta jest stosowana standardowo w glukometrach, pracujących z nakłuwaniem pacjenta, natomiast w przypadku pomiarów in-vivo jest wrażliwa na zmienność osobniczą. Ujawniona w tej dokumentacji sonda dotyczy innej metody niż w rozwiązaniu według wynalazku. W naszym rozwiązaniu spektroskopia absorpcyjna jest wykorzystana jedynie do odtworzenia przebiegu czasowego sygnału pulsu, który jest sygnałem pomocniczym (referencyjnym), a nie do bezpośredniego pomiaru poziomu glukozy. W naszym rozwiązaniu odzyskiwany jest ze spektroskopii absorpcyjnej jedynie przebieg czasowy, a nie widmo. Twórca rozwiązania opisanego w zgłoszeniu US2013/0267799 A1 nie odnosi też sygnału spektroskopii absorpcyjnej do sygnału ze spektroskopii Ramana, jak ma to miejsce w naszym wniosku. Przedstawiona tam odmienna metoda i odmienny układ (brak lasera, filtrów optycznych, toru referencyjnego i spektroskopu z matrycą detekcyjną) nie zapewniają uwzględnienia wpływu zmienności osobniczej, głównie ze względu na problem zmodulowania sygnału pomiarowego przez puls krwi. Czułość pomiaru metodą spektroskopii absorpcyjnej jest ograniczona. Z uwagi na szerokie pasma widmowe występuje poważne ryzyko przekłamań wyników, jako związanych z wpływem innych składników krwi lub otaczających tkanek (sygnał może pochodzić z różnych źródeł).

Spektroskopia Ramana, jako metoda spektroskopii molekularnej, zapewnia pomiar poziomu glukozy bezpośrednio, a nie korelacyjnie, czyli z mniejszym prawdopodobieństwem przekłamań i wyższą czułością. Problemem jest jednak niski poziom sygnału pomiarowego od glukozy we krwi, przez co może on być trudny do wykrycia na tle sygnału oświetlenia zewnętrznego i sygnału pochodzącego od otaczających krew tkanek. Rozwiązaniem jest zastosowanie detekcji synchronicznej, które eliminuje składowe stałe i quasistatyczne z sygnału pomiarowego.

Przedstawione w publikacji Chaiken et al. rozwiązanie to pomiar poziomu glukozy we krwi metodą spektroskopii Ramana z wykorzystaniem detekcji synchronicznej, w której sygnałem referencyjnym jest sygnał związany z okresowo powtarzanym uciskaniem mechanicznym tkanki. Nie został jednak w pełni wyjaśniony problem wpływu zmienności osobniczej – na ile ucisk mechaniczny jest powtarzalny przy różnej grubości tkanek (różna głębokość modulacji dla różnych osób) i jakie jest w związku z tym przesunięcie fazowe pomiędzy sygnałem Ramana a sygnałem stymulującym ucisk, co może obniżyć czułość pomiaru u niektórych pacjentów. Ponadto wprowadzanie ucisku też jest wprowadzaniem inwazyjności do pomiaru i nie wyjaśniono, jaki jest wpływ częstego powtarzania procedury na dobrostan pacjenta. Ponadto nie zweryfikowano wzajemnego sprzęgania sygnału pulsu i sygnału ucisku, które mogą dać rozsynchronizowany sygnał wypadkowy (puls oraz modulacja wiązki optycznej lub ucisk tkanki).

Według przeprowadzonej analizy istniejącego stanu techniki, nie istnieją rozwiązania detekcji synchronicznej, w których sygnał użyteczny jest wyznacznym nie przez sygnał synchronizujący generowany/wymuszany przez urządzenie pomiarowe, ale przez biosygnał, np. odzyskiwany z organizmu za pomocą pulsoksymetru.

W rzeczywistości nawet po zastosowaniu detekcji synchronicznej, ale z wyznacznym sygnałem wygenerowanym sztucznie (czyli tak jak w pracy Chaiken et al.), a nie sygnałem pulsu można oczekiwać tylko niewielkiej poprawy w stosunku do detekcji bezpośredniej, ponieważ skuteczność detekcji synchronicznej jest ograniczona nieznajomością przebiegu sygnału modulującego zmiany w tkankach, który powinien być proporcjonalny do zmian w zawartości krwi w oświetlonym obszarze, a nie do intensywności ucisku (np. przebiegu zmian w czasie siły uciskającej tkanki, który jest rejestrowany).

W związku z tymi niedogodnościami proponuje się inną metodę eliminacji wpływu różnic osobniczych przez określenie sygnału odniesienia zależnego od zawartości krwi (liczby czerwonych ciałek) w badanych tkankach.

Wynalazek obejmuje sposób działania i budowę układu pomiarowego do wyznaczania stężenia glukozy we krwi bez naruszania ciągłości tkanek (bezinwazyjnie) za pomocą detekcji synchronicznej wykorzystującej sprzężone wzajemnie pomiary widm Ramana i pomiary pulsoksymetrem, gdzie pomiar pulsoksymetrem jest źródłem sygnału synchronizującego pomiar ramanowski przy implementacji algorytmów detekcji synchronicznej.

Sposób bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi polegający na oświetlaniu fragmentu badanej tkanki promieniowaniem laserowym, gromadzeniu zwrotnie promieniowania rozproszenia ramanowskiego przez sondę Ramana, rozkładaniu przez spektrometr na składowe widmowe i rejestrowaniu kamerą charakteryzuje się według wynalazku tym, że fragment badanej tkanki oświetla się wiązką promieniowania laserowego przepuszczoną przez sondę Ramana. Następnie zwrotnie uzyskane promieniowanie rozproszenia ramanowskiego doprowadza się do spektrometru i sprzęgniętej z nim ka-

mery rejestrującej dalej połączonej z komputerem sterującym, do którego przyłączony jest także pulsoksymetr. Za pomocą pulsoksymetru równocześnie mierzy się puls i rejestruje się zmiany czasowe ilości krwi w badanym obszarze tkanek zbliżonym objętościowo do obszaru, z którego rejestrowane jest promieniowanie rozproszenia ramanowskiego. Otrzymany sygnał odpowiadający przebiegowi czasowemu pulsowi oraz zarejestrowane w kamerze rejestrującej sygnały odpowiadające przetworzonemu w spektrometrze widmu Ramana przetwarza się w komputerze sterującym za pomocą algorytmów detekcji synchronicznej w ten sposób, że za pomocą zaimplementowanego programowo układu mnożącego w czasie rzeczywistym i filtru dolnoprzepustowego eliminuje się składowe zmienne o częstotliwości puls, dwukrotnej częstotliwości puls i wyodrębnia się składową stałą w sygnale ramanowskim powodowaną rozpraszaniem na składnikach krwi od składowych powodowanych rozpraszaniem na innych składnikach badanej tkanki, która jest proporcjonalna do zawartości glukozy we krwi. Jako sygnał referencyjny stosuje się sygnał z pulsowi krwi.

Układ optoelektroniczny do bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi zawierający laser promieniowania pobudzającego połączony z sondą Ramana, która połączona jest ze spektrometrem oraz kamerą charakteryzuje się według wynalazku tym, że spektrometr rejestrujący światło rozproszone na badanej tkance i przepuszczone przez sondę Ramana jest sprzęgnięty z kamerą rejestrującą przetworzone widmo rozproszenia ramanowskiego. Kamera połączona jest do komputera sterującego programowo realizującego detekcję synchroniczną sygnału ramanowskiego z wykorzystaniem sygnału odpowiadającego przebiegowi pulsowi pochodzącego od pulsoksymetru. Pulsoksymetr również jest przyłączony do komputera sterującego.

Zastosowanie pulsoksymetru pozwala uzyskać sygnał proporcjonalny do modulowanej pulsem wartości czerwonych ciałek krwi. To z kolei pozwala na synchronizację pomiaru ramanowskiego i zastosowanie algorytmu detekcji synchronicznej (opisany w literaturze, np. Kotarski, M., & Smulko, J. (2009, September) *Assessment of synchronic detection at low frequencies through DSP-based board and PC sound card*. In XIX IMEKO World Congress, s. 960–963), co umożliwia częściowe odseparowanie (rozróżnienie) w dziedzinie czasu sygnałów pochodzących od krwi od składowych pochodzących od otaczających tkanek, albowiem w poszczególnych fazach cyklu pulsowi zawartość krwi w oświetlonym obszarze jest różna, a także redukcję, w wyniku uśredniania, szumów w rejestrowanych widmach Ramana oraz wpływu zjawisk rozpraszania w tkankach o właściwościach różnych dla poszczególnych osób.

Wynalazek jest bliżej objaśniony w przykładzie wykonania na rysunku, na którym fig. 1 przedstawia schemat blokowy układu do bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi, gdzie strzałki z liniami ciągłymi oznaczają kierunki przepływu sygnałów pomiarowych, a strzałki z liniami przerywanymi – sygnały sterujące pomiarem, a fig. 2 przedstawia przebiegi czasowe sygnałów: A – sygnału ramanowskiego dla wybranej, przykładowej długości fali (pasma w widmie Ramana), powstający w tkance TK, składającego się ze składowej pochodzącej od krwi, zmodulowanej sygnałem powodowanym pulsem oraz niezmodulowanej składowej pochodzącej od otaczających tkanek, powodowanej zmiennością osobniczą; oraz B – sygnału rejestrowanego przez pulsoksymetr.

W sposobie według wynalazku, promieniowanie pobudzające z lasera LR jest filtrowane (filtr optyczny pasmowo-przepustowy na długość fali lasera) celem wyeliminowania z niego niepożądanych składowych widmowych, skupiane przez sondę Ramana SR i oświetla badaną tkankę TK. Sonda Ramana SR skupia część sygnału rozproszonego i doprowadza go zwrótnie do spektrometru SP. Promieniowanie rozproszenia ramanowskiego jest tam rozdzielane widmowo, a następnie rejestrowane przez kamerę KR i zapisywane jako widmo Ramana w komputerze sterującym KS. Przebiegi czasowe najważniejszych sygnałów przedstawiono na fig. 2. Sygnał ramanowski A zawiera składową zmienną od krwi, modulowaną częstotliwością pulsowi oraz składową stałą, pochodzącą głównie od otaczających tkanek, którą należy wyeliminować, gdyż jest ona silnie zależna od cech osobniczych. Pomiar widma ramanowskiego realizowany jest przez serię krótkotrwałych pomiarów powtarzanych z częstotliwością co najmniej dwa razy większą od pulsowi, poddawaną następnie w komputerze sterującym KS operacjom detekcji synchronicznej (mnożenia przez sygnał z pulsoksymetru i filtracji dolnoprzepustowej). Pozwala to na odtworzenie przebiegu czasowego także składowej zmiennej, która przenosi informację użyteczną o poziomie glukozy we krwi.

Równocześnie jest rejestrowany sygnał z pulsoksymetru PO, informujący o pulsie i zmianach stężenia tlenu, a pośrednio o zmianach koncentracji krwi w obszarze badanej tkanki TK, zbliżonym do obszaru, gdzie następuje rozproszenie promieniowania lasera LR. Dzięki zastosowaniu detekcji synchronicznej uzyskuje się z sygnału ramanowskiego składową proporcjonalną do zmian zawartości krwi

w oświetlanych tkankach. Pozostałe składowe, w wyniku operacji detekcji synchronicznej i uśredniania, są tłumione.

Na fig. 2 przedstawiono przebiegi czasowe sygnałów: A – sygnał ramanowski dla wybranej, przykładowej długości fali powstający w tkance TK, składający się ze składowej pochodzącej od krwi, zmodulowanej sygnałem powodowanym pulsem oraz niezmodulowanej składowej pochodzącej od otaczających tkanek, powodowaną zmiennością osobniczą; B – sygnał rejestrowany przez pulsoksymetr.

Pulsoksymetr PO wykorzystuje do pomiarów zjawisko absorpcji przy innych długościach fal niż promieniowanie rejestrowane w pomiarach widm Ramana. W stosunku do istniejącego rozwiązania z rytmicznym uciskaniem tkanek uzyskuje się większą skuteczność detekcji synchronicznej, ponieważ rejestruje się sygnał odniesienia proporcjonalny do zawartości krwi w oświetlanych tkankach i dzięki temu można określić w rejestrowanym promieniowaniu rozproszenia ramanowskiego składową powodowaną rozpraszaniem na czerwonych ciałkach krwi, eliminując składowe powodowane rozpraszaniem na innych tkankach.

Komputer sterujący KS realizuje w dwóch operacjach detekcję synchroniczną (modyfikacja metody opisanej w Bielecki Z., Rogalski A., *Detekcja sygnałów optycznych*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne PWN-WNT 1991, str. 364–373), polegającą na przetwarzaniu wielokanałowym i realizacji operacji mnożenia i filtracji dolnoprzepustowej za pomocą komputera z oprogramowaniem do obliczeń macierzowych. W pierwszej z nich sygnał ramanowski jest mnożony wielokanałowo przez sygnał zmienny B z pulsoksymetru PO. Ponieważ te przebiegi są modulowane takim samym czynnikiem, to na wyjściu uzyskuje się składową stałą i losową, reprezentującą błędy pomiarów i efekty skończonego czasu uśredniania. W trakcie następnej operacji – filtracji dolnoprzepustowej – składowa losowa zostaje odfiltrowana, a na wyjście podawany jest tylko sygnał stały zależny od zjawiska Ramana zachodzącego we krwi.

Do komputera sterującego KS, inicjalizującego procedury pomiarowe oraz realizującego detekcję synchroniczną, podłączona jest kamera KR i pulsoksymetr PO. Komputer sterujący KS realizuje funkcje układu mnożącego w czasie rzeczywistym sygnały z kamery KR oraz pulsoksymetru PO, a także filtru dolnoprzepustowego eliminującego sygnały o częstotliwości pulsu i dwukrotnej częstotliwości pulsu oraz sygnały losowe, reprezentujące błędy pomiarów i efekty skończonego czasu uśredniania. Sygnały uzyskane z kamery KR pochodzą od przyłączonego do niej spektrometru SP, który połączony jest z sondą Ramana SR (transmisja sygnału optycznego – rozpraszania Ramana – w kierunku od SR do SP). Sonda Ramana SR połączona jest ze źródłem promieniowania laserowego LR (transmisja sygnału lasera w kierunku od LR do SR).

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi polegający na oświetlaniu fragmentu badanej tkanki promieniowaniem laserowym, gromadzeniu zwrotnie promieniowania rozproszenia ramanowskiego przez sondę Ramana, rozkładaniu przez spektrometr na składowe widmowe i rejestrowaniu kamerą, **znamienny tym**, że fragment badanej tkanki oświetla się wiązką promieniowania laserowego przepuszczoną przez sondę Ramana (SR), następnie zwrotnie uzyskane promieniowanie rozproszenia ramanowskiego doprowadza się do spektrometru (SP) i sprzęgniętej z nim kamery rejestrującej (KR) dalej połączonej z komputerem sterującym (KS), do którego przyłączony jest także pulsoksymetr (PO), za pomocą którego równocześnie mierzy się puls i rejestruje się zmiany czasowe ilości krwi w badanym obszarze tkanek (TK) zbliżonym objętościowo do obszaru, z którego rejestrowane jest promieniowanie rozproszenia ramanowskiego, przy czym otrzymany sygnał odpowiadający przebiegowi czasowemu pulsu oraz zarejestrowane w kamerze rejestrującej (KR) sygnały odpowiadające przetworzonemu w spektrometrze (SP) widmu Ramana przetwarza się w komputerze sterującym (KS) za pomocą algorytmów detekcji synchronicznej w ten sposób, że za pomocą zaimplementowanego programowo układu mnożącego w czasie rzeczywistym i filtru dolnoprzepustowego eliminuje się składowe zmienne o częstotliwości pulsu, dwukrotnej częstotliwości pulsu i wyodrębnia się składową stałą w sygnale ramanowskim powodowaną rozpraszaniem na składnikach krwi od składowych powodowanych rozpraszaniem na innych składnikach badanej tkanki, która jest proporcjonalna do zawartości glukozy we krwi, przy czym jako sygnał referencyjny stosuje się sygnał z pulsu krwi.

2. Układ optoelektroniczny do bezinwazyjnego pomiaru glukozy we krwi zawierający laser promieniowania pobudzającego połączony z sondą Ramana, która połączona jest ze spektrometrem oraz kamerą, **znamienny tym**, że spektrometr (SP) rejestrujący światło rozproszone na badanej tkance (TK) i przepuszczone przez sondę Ramana (SR) jest sprzęgnięty z kamerą (KR) rejestrującą przetworzone widmo rozproszenia ramanowskiego, przy czym kamera (KR) podłączona jest do komputera sterującego (KS) programowo realizującego detekcję synchroniczną sygnału ramanowskiego z wykorzystaniem sygnału odpowiadającego przebiegowi pulsu pochodzącego od pulsoksymetru (PO), który również jest przyłączony do komputera sterującego (KS).

Rysunki

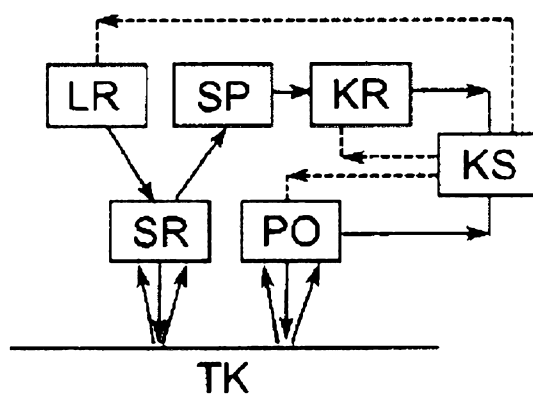


Fig. 1

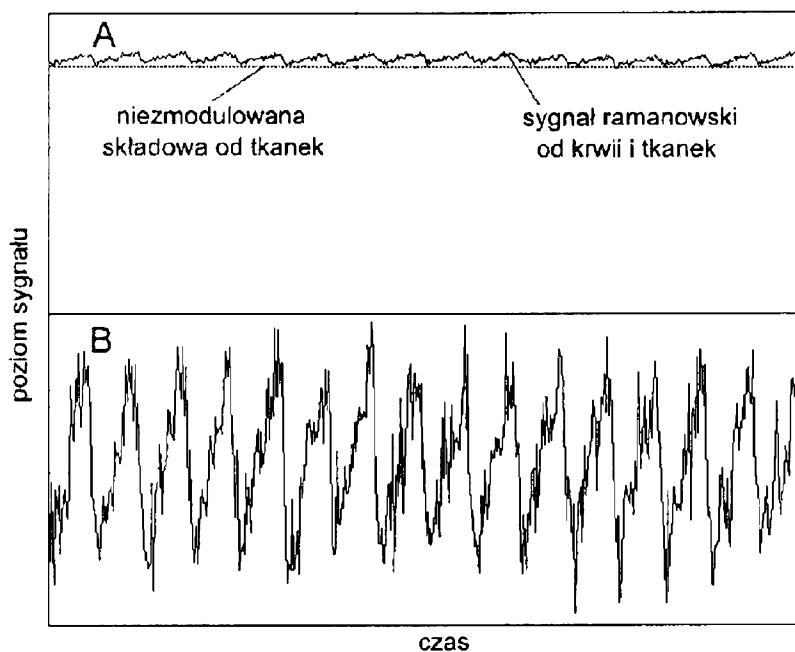


Fig. 2