

# Ovrednotenje periferne vaskularne bolezni

## 3.0 Namen vaje

Seznani se bomo s tremi neinvazivnimi metodami, ki omogočajo vrednotenje stanja prekrvitve in oksigenacije tkiva. Fizikalni principi teh merilnih metod so različni. Prav tako so različne fiziološke veličine, ki jih merimo s temi metodami, vendar so medsebojno bolj ali manj nelinearno povezane. Kot vemo, je lahko eden od pomembnih ciljev obdelave signalov opis signala s kar najmanj značilnimi parametri, ki še zadovoljivo opisujejo pomembne lastnosti signala. Število in vrsta teh parametrov so seveda odvisni od namena obdelave. Ogledali si bomo, kako lahko iz signalov treh različnih merilnih metod pridemo značilne parametre (parametrizacija signala!), ki omogočajo detekcijo ali diagnozo perifernega vaskularnega obolenja.

## 3.1 Predstavitev merilnih metod

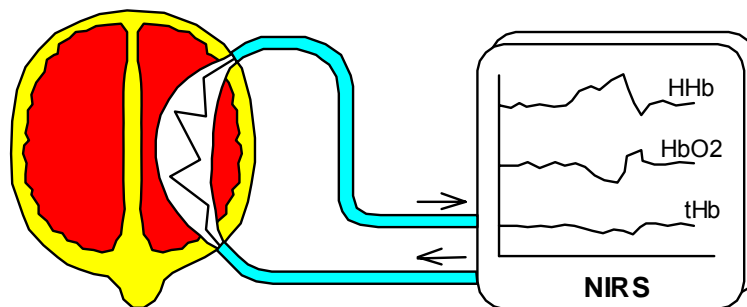
### 3.1.1 Bližnje-infrardeča spektroskopija (NIRS)

Bližnje-infrardeča spektroskopija (angl. *near-infrared spectroscopy* - *NIRS*) je neinvazivna optična merilno-diagnostična metoda. Prvič je bila omenjena leta 1977 [1], od takrat pa je doživela hiter in zelo širok razvoj, tako da z imenom NIRS dejansko označujemo celo vrsto različnih metod ki temeljijo na različnih fizikalnih principih [2]. Vse izvedenke metode NIRS izkoriščajo dve pomembni dejstvi:

- Tkiva so relativno prosojna za svetlobo v bližnje-infrardečem delu spektra (valovne dolžine med približno 700 in 1000 nm);
- Optične lastnosti nekaterih sestavin tkiva, ki nastopajo pri transportu, skladiščenju ali porabi kisika, so odvisne od tega, ali se nahajajo v oksigeniranem ali deoksigeniranem stanju oziroma v oksidiranem ali reduciranim stanju. Zato so optično merljive.

Z vsemi izvedenkami metode NIRS merimo različne parametre oksigenacije krvi in tkiva, posredno pa tudi nekatere druge fiziološke veličine. Prvotno je bila metoda namenjena za merjenje oksigenacije možganov pri prezgodaj rojenih novorojencih, kasneje se je uporaba razširila na različna mehka tkiva (koža, mišice, tumorji,...). Opisali bomo princip delovanja osnovne izvedenke metode NIRS [3].

Pri  $n$  diskretnih valovnih dolžinah, do katerih pridemo bodisi z laserskim virom svetlobe ali pa s svetlobnim virom z zveznim spektrom in uporabo monokromatorja, merimo časovne spremembe v *slabljenju* svetlobe, do katerih pride zaradi sprememb v *koncentracijah* nekaterih snovi (kromoforov), ki nastopajo pri prenosu in porabi kisika. Spremembe v *koncentracijah*, ki jih želimo izmeriti, izračunamo iz sprememb v *slabljenju* svetlobe po modificiranem Beer-Lambertovem zakonu v enačbi 3.1.



**Slika 3.1:** Princip presvetlitvene uporabe metode NIRS za merjenje oksigenacije novorojenčkovih možganov.

$$\begin{bmatrix} \Delta c_{O_2Hb} \\ \Delta c_{HHb} \\ \Delta c_{cyt} \end{bmatrix} = \frac{1}{d} \cdot \begin{bmatrix} a_{O_2Hb}(\lambda_1) & a_{O_2Hb}(\lambda_2) & a_{O_2Hb}(\lambda_3) \\ a_{HHb}(\lambda_1) & a_{HHb}(\lambda_2) & a_{HHb}(\lambda_3) \\ a_{cyt}(\lambda_1) & a_{cyt}(\lambda_2) & a_{cyt}(\lambda_3) \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \Delta A(\lambda_1) \\ \Delta A(\lambda_2) \\ \Delta A(\lambda_3) \end{bmatrix} \quad (3.1)$$

V enačbi 3.1 nastopajo:

- $d$ : razdalja med sprejemnim in oddajnim optičnim vlaknom (cm);
- $\Delta c_x$ : sprememba v koncentraciji snovi  $x$  ( $\mu\text{mol}/100\text{ml}$  tkiva);
- $\Delta A(\lambda_i)$ : sprememba v slabljenju pri valovni dolžini  $\lambda_i$  (OD - optical density);
- $a_x(\lambda_i)$ : koeficienti, ki povezujejo spremembo slabljenja pri določeni valovni dolžini s spremembo koncentracije določene snovi ( $\text{cm} \cdot \mu\text{mol}/100\text{ml}$ ).

Koncentracije, ki nas navadno zanimajo, so:

- $O_2Hb$ : sprememba koncentracije *oksigeniranega hemoglobina*;
- $HHb$ : sprememba koncentracije *deoksigeniranega hemoglobina*;
- $tHb$ : sprememba koncentracije *skupnega (totalnega) hemoglobina*, ki je sorazmerna spremembi *volumna krvi* v tkivu;
- $dHb$ : sprememba koncentracije *diferencialnega hemoglobina*, ki povezan z *oksigenacijskim indeksom* (stopnjo oksigenacije) v tkivu.

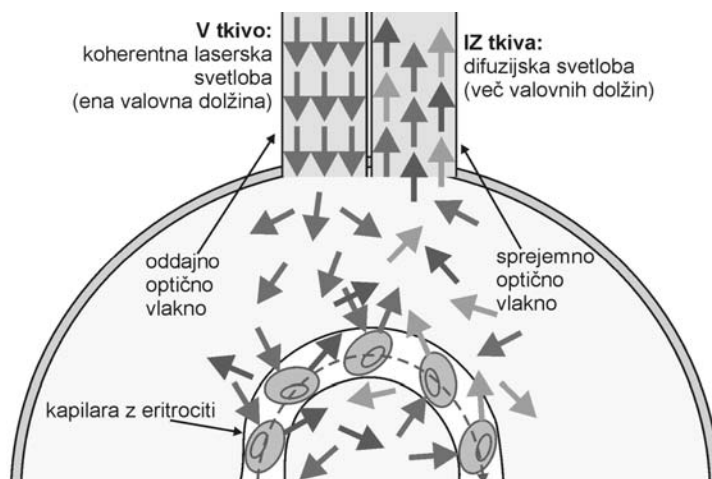
Volumen tkiva, ki ga zajamemo z meritvijo z metodo NIRS, je sicer odvisen od merilne konfiguracije, toda v splošnem je relativno velik (več  $\text{cm}^3$ ). Obsega kožo, podkožje in globlje ležeča tkiva, na primer mišice ali možgane. Slika 3.1 prikazuje princip uporabe metode NIRS v tako imenovanem presvetlitvenem načinu.

### 3.1.2 Laser-Dopplersko merjenje pretoka krvi (LDF)

Pri metodi LDF (angl. *laser Doppler flowmetry* – *LDF*) merimo relativni pretok krvi (perfuzijo) na nivoju mikrocirkulacije v kapilarah [4]. Zaradi večje vdorne globine zopet uporabljamo svetlobo v bližnje-infrardečem delu spektra. Med svetlobo in tkivom pride do različnih vrst interakcije. Za metodo LDF je najpomembnejše tako imenovano elastično sipanje fotonov. Koherentna laserska svetloba se v tkivu sipa na različnih strukturah, ki predstavljajo optične nehomogenosti. Če pride do sipanja na delcih, ki se gibljejo relativno v smeri proti ali stran od incidentnih fotonov, pride do zelo majhnih toda še vedno posredno merljivih sprememb valovne dolžine teh fotonov (Dopplerjev efekt). Rezultat je, da svetloba, ki pride iz tkiva, ni več monokromatska (ene valovne dolžine), ampak ima določeno zvezno porazdelitev različnih valovnih dolžin. V mirujočem tkivu večina urejenega gibanja odpade na premikanje krvnih celic (predvsem eritrocitov) zaradi pretoka krvi, ki ga tako lahko relativno ovrednotimo. Izhodni signal metode LDF ima po obdelavi enoto BPU (*blood*

*perfusion unit*), ki nima enolične povezave z dejanskim pretokom (enota  $\text{ml} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{cm}^{-3}$ ), zato s to metodo merimo predvsem *spremembe* v nivoju mikrocirkulacije, kar omogoča oceno stanja mikrožilja in primerjavo med različnimi merilnimi mesti ali osebami. Slika 3.2 prikazuje princip delovanja metode LDF.

Volumen tkiva, ki ga zajamemo pri meritvi z metodo LDF, je relativno majhen (red velikosti  $\text{mm}^3$ ). Kadar meritev izvedemo neinvazivno s površine kože, izmerjeni signal izvira iz kože in deloma podkožja, globlje ležečih tkiv zaradi absorpcije svetlobe na ta način večinoma ne moremo zajeti.

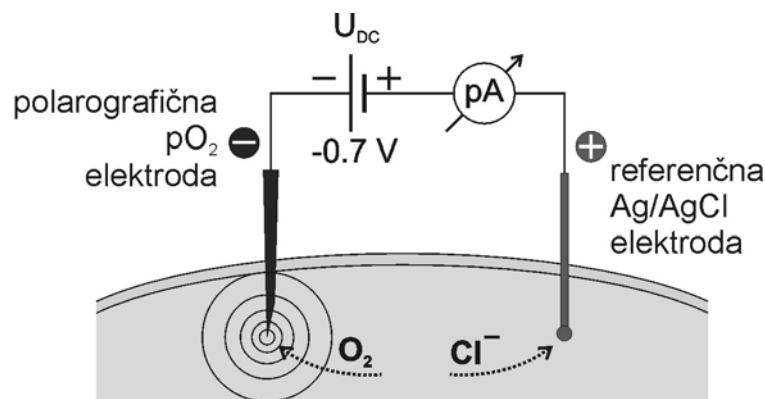


**Slika 3.2:** Princip delovanja metode LDF za merjenje mikrocirkulacije v koži in podkožju.

### 3.1.3 Prekokožna oksimetrija ( $\text{TcPO}_2$ )

Pri prekokožni oksimetriji (angl. *transcutaneous oximetry* –  $\text{TcPO}_2$ ) gre za tako imenovano polarografično merilno metodo. Merimo difuzijski tok molekularnega kisika iz tkiva do merilne sonde, ki je pritrjena na površino kože [5]. Slika 3.3 prikazuje princip delovanja polarografičnega merjenja  $\text{pO}_2$  za invazivno vstavljene elektrode, pri metodi  $\text{TcPO}_2$  pa so elektrode nameščene neinvazivno na površino kože. Difuzijo kisika omogočimo z lokalnim segrevanjem kože tik pod merilno sondo. Kisik difundira skozi tkivo in nato skozi tekočinski vmesnik v sondi do elektrode. Preko selektivno prepustne membrane pride kisik do aktivne elektrode iz zlata, kjer se reducira. Med aktivno elektrodo, ki je negativno polarizirana na približno  $-0,75 \text{ V}$ , in referenčno elektrodo, ki je vgrajena v sondi v neposredni bližini aktivne elektrode, teče zelo majhen električni tok (red velikosti med  $\text{pA}$  in  $\text{nA}$ ). Ta tok je posledica redukcije kisika na merilni elektrodi in oksidacije klora na referenčni srebrni elektrodi. Ko je difuzija kisika ustaljena, je električni tok linearno povezan z difuzijskim tokom kisika, ta pa s koncentracijo in s tem z delnim tlakom kisika v tkivu pod merilno sondo ( $\text{pO}_2$ ). Z metodo  $\text{TcPO}_2$  zato v principu merimo absolutno vsebnost kisika v tkivu. Absolutnost meritve je glavni razlog za to, da je ta metoda klinično uveljavljena, čeprav na izmerjeno vrednost  $\text{pO}_2$  vplivajo tudi drugi pogosto neobvladljivi dejavniki, predvsem lastnosti kože (debelina, morebitne poškodbe, anatomska lokacija).

Volumen tkiva, ki ga zajamemo s to metodo, je reda velikosti  $\text{mm}^3$  do  $\text{cm}^3$ . Pretežni del signala izvira iz kože in podkožja.



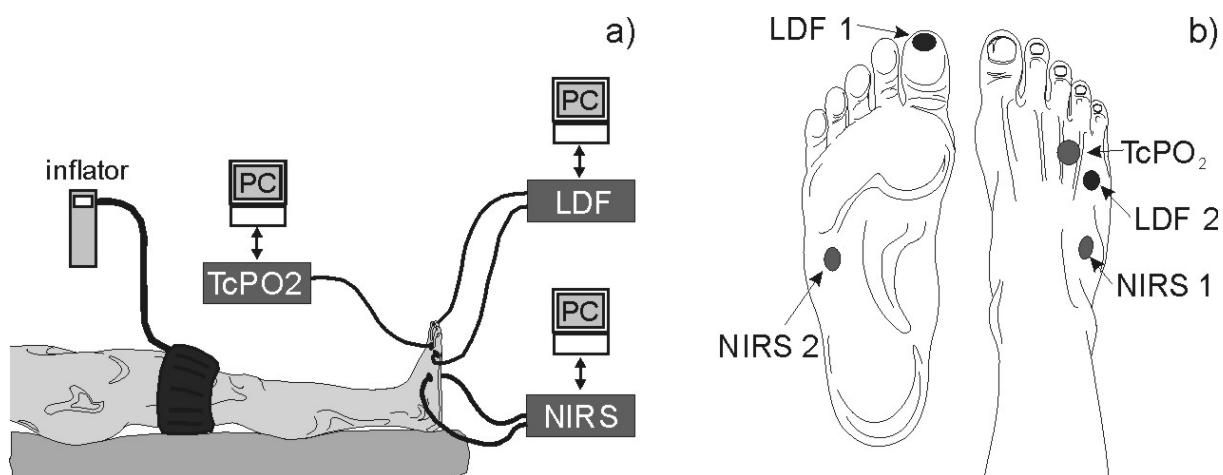
**Slika 3.3:** Princip delovanja polarografske oksimetrije (primer invazivne aplikacije).

### 3.2 Ugotavljanje stanja periferne cirkulacije

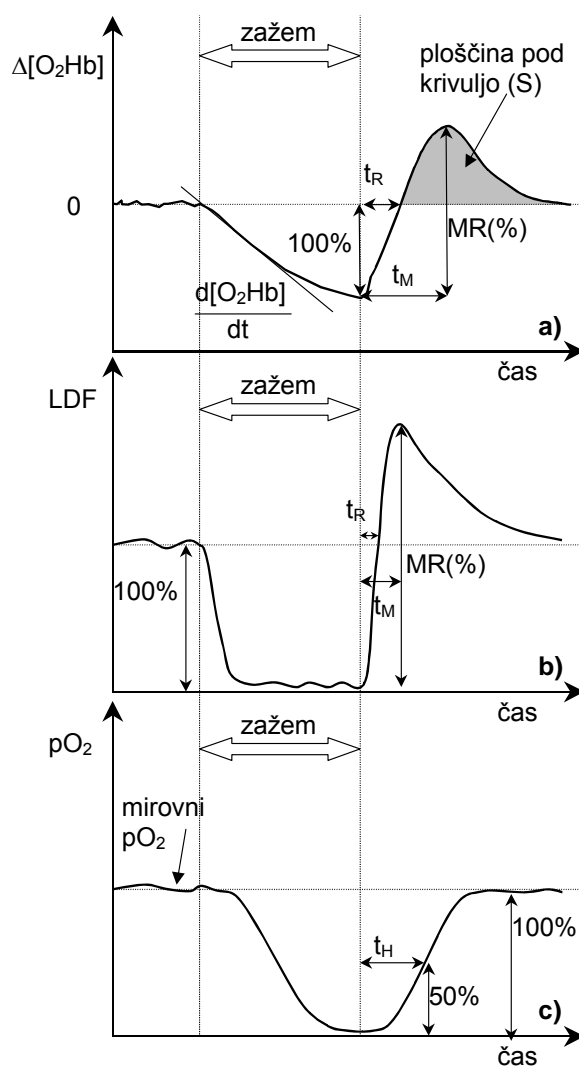
Eden od testov za ugotavljanje stanja periferne cirkulacije v spodnjem udu vključuje ovrednotenje *postocclusive reactive hyperaemia* (angl. *postocclusive reactive hyperaemia* - *PORH*) na stopalu. Pojav PORH pomeni prehodno povečanje pretoka krvi skozi ud (v tem primeru v stopalu), v katerem smo predhodno za nekaj časa zaustavili pretok krvi. V našem primeru smo zaustavitev pretoka krvi izvedli z arterijskim zažemom na stegnu. Slika 3.4 prikazuje merilno konfiguracijo, slika 3.5 pa tipičen potek signalov  $O_2Hb$ , LDF in  $TcPO_2$ , ki jih izmerimo pri zdravi osebi na stopalu tik pred, med in po stegenem arterijskem zažemu [6]. Pojav PORH je viden v času po zažemu. Vidimo, da je potek signalov treh merilnih metod do neke mere podoben, vendar obstajajo tudi velike razlike tako v dinamiki kot amplitudi izzvanih sprememb. Razlike so posledica različnih fizikalnih veličin, ki jih vrednotimo s posameznimi metodami, različnih anatomskih lokacij meritve in različnih vzorčnih volumnov tkiva, iz katerih izhaja posamezen signal. Tako na primer vidimo, da med arterijskim zažemom koncentracija  $O_2Hb$  postopoma upada, proti koncu zažema se padanje upočasnjuje. Po zažemu se koncentracija  $O_2Hb$  naglo dvigne in začasno preseže začetni nivo (posledica PORH). Po določenem času se povrne na prvotni nivo. Dogajanje na nivoju mikrocirkulacije (LDF) ima podoben potek, vendar je dinamika izrazitejša kot pri signalu  $O_2Hb$ . Po drugi strani pa je dinamika sprememb najmanj izražena pri signalu  $TcPO_2$ , kjer predvsem ne zaznamo nobenega prenehanja med pojavom PORH.

Na sliki 3.5 so označeni tudi nekateri najbolj značilni numerični parametri, ki jih lahko izluščimo iz signalov in ki služijo za sistematično vrednotenje stanja žilja. V tabeli 3.1 so podane razlage teh parametrov. V zadnjih dveh stolpcih te tabele so podani kazalci za relativno primerjavo vrednosti teh parametrov med bolniki s periferno arterijsko okluzivno boleznijo (angl. *peripheral arterial occlusive disease* - *PAOB*) in osebami brez kliničnih znakov te bolezni.

Omenimo še, da je začetni del padanja krivulje  $O_2Hb$  med zažemom navadno približno linearen (glej sliko 3.5a). V tistem delu, kjer je linearen, je gradient te krivulje tudi sorazmeren *porabi kisika* v tkivu v mirovanju. Padanje koncentracije  $O_2Hb$  namreč pomeni, da se oksigenirani hemoglobin spreminja v deoksigenirano obliko, pri tem pa se v krvno plazmo sprošča kisik, ki ga tkivo porablja. Ker ena molekula oksigeniranega hemoglobina nosi 4 molekule  $O_2$ , pomeni, da če je bila povprečna sprememba v koncentraciji  $HbO$  na primer  $-1 \mu\text{mol}/100\text{ml}/\text{min}$ , da je bila poraba kisika v tkivu v tem času  $4 \mu\text{mol}/100\text{ml}/\text{min}$ .



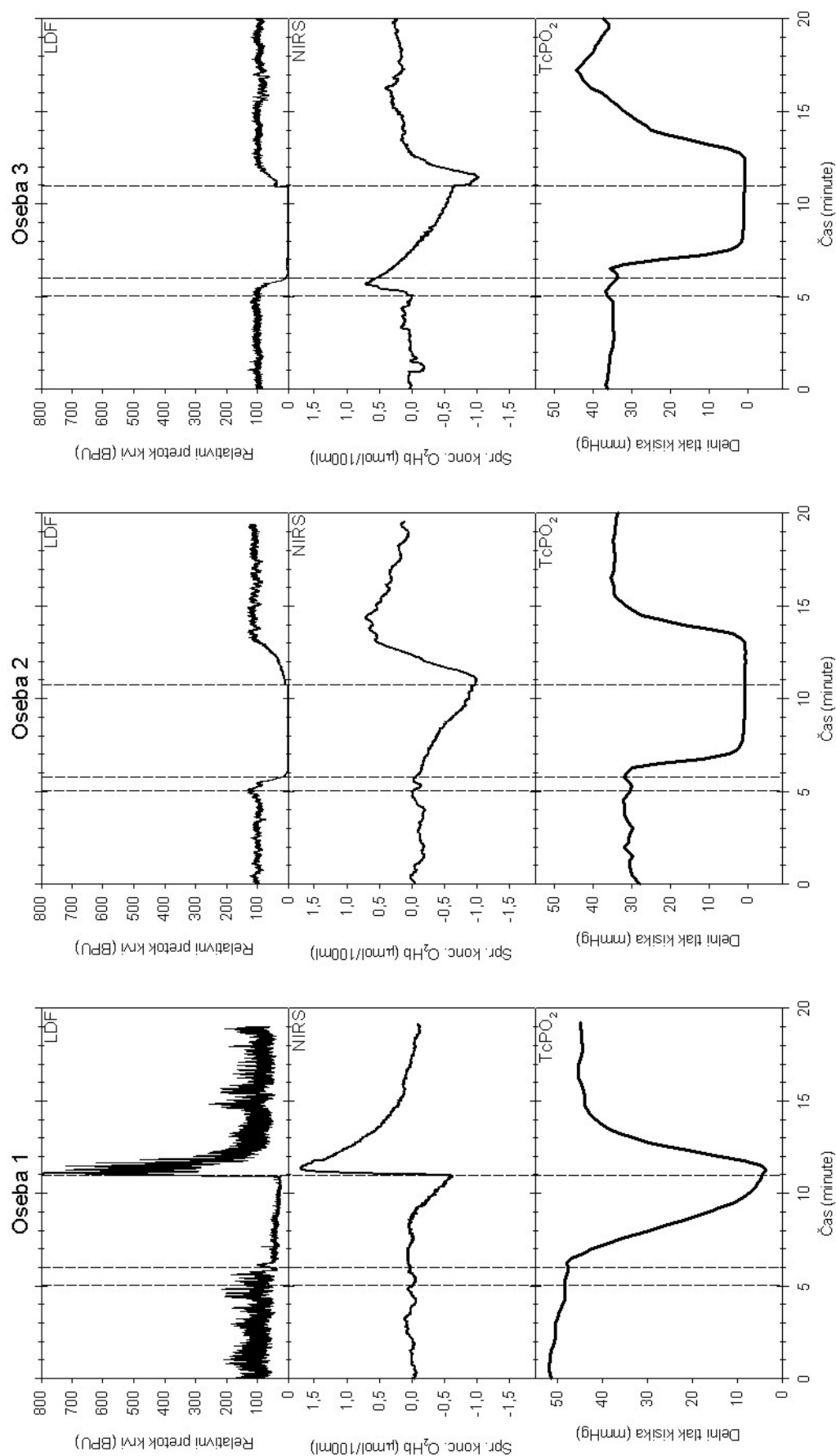
**Slika 3.4:** Merilna konfiguracija za ovrednotenje pookluzivne reaktivne hiperemije.



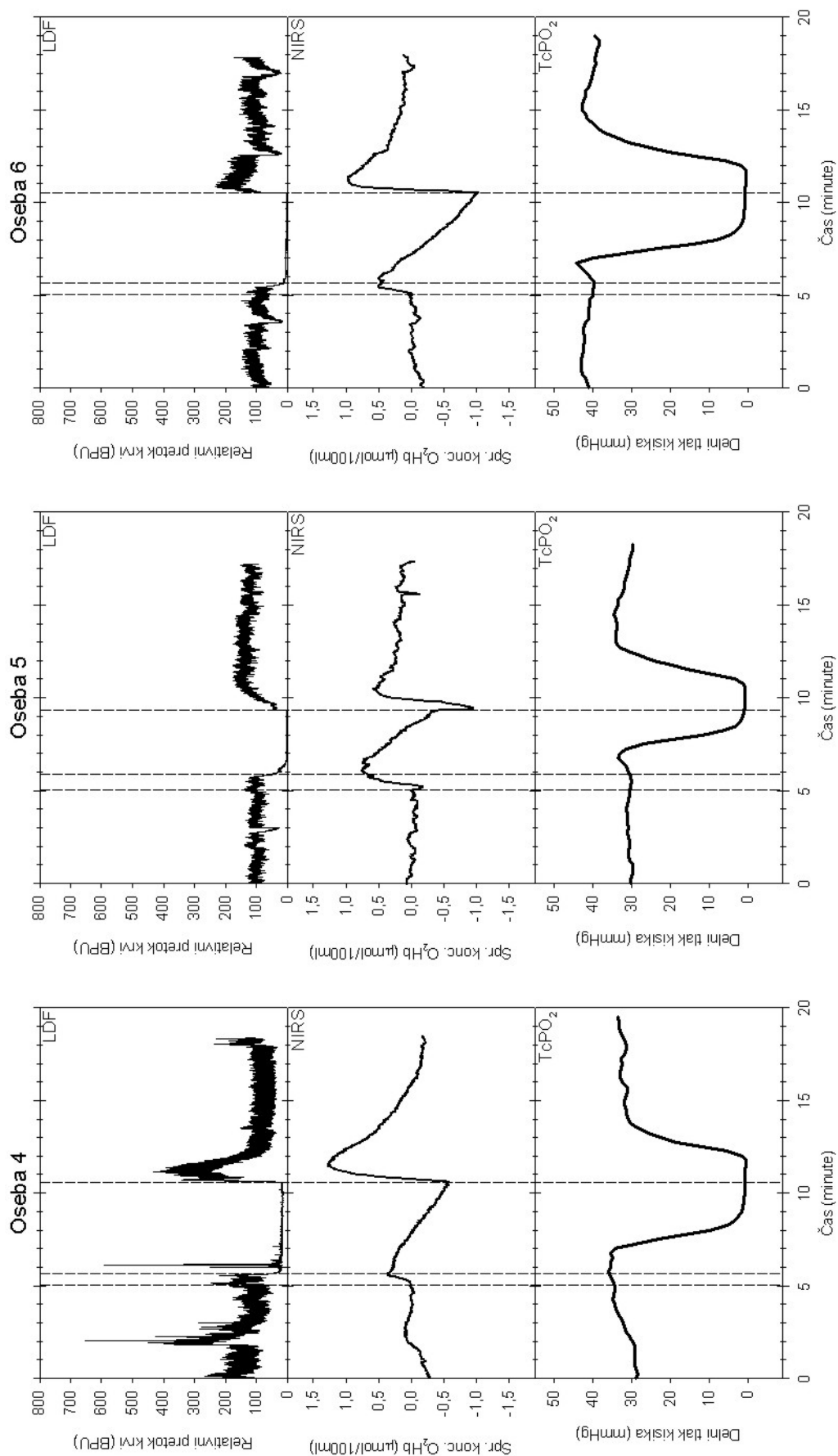
**Slika 3.5:** Shematični potek signalov  $\text{O}_2\text{Hb}$  (a), LDF (b) in  $\text{TcPO}_2$  (c) na stopalu med in po stegenskem zažemu v trajanju približno 5 minut.

**Tabela 3.1:** Nekateri parametri, ki jih lahko izračunamo iz signalov O<sub>2</sub>Hb, LDF in TcPO<sub>2</sub> (glej tudi sliko 3.5).

Signal	Parameter	Relativni pokazatelj	
		Bolnik s PAOB	Zdrava oseba
O <sub>2</sub> Hb	<b>MR (%)</b> <i>Maximum response</i> : največji odziv, porast O <sub>2</sub> Hb od konca zažema do točke maksimalne hiperemije izražen relativno kot % celotnega padca O <sub>2</sub> Hb v času trajanja zažema.	<b>majhen MR</b>	<b>velik MR</b>
	<b>t<sub>R</sub> (s)</b> <i>Time of recovery</i> : dolžina časovnega intervala od konca zažema do trenutka, ko O <sub>2</sub> Hb prvič po zažemu doseže začetni nivo.	<b>velik t<sub>R</sub></b>	<b>majhen t<sub>R</sub></b>
	<b>t<sub>M</sub> (s)</b> <i>Time to maximum</i> : dolžina časovnega intervala od konca zažema do trenutka največje hiperemije (najvišji nivo O <sub>2</sub> Hb).	<b>velik t<sub>M</sub></b>	<b>majhen t<sub>M</sub></b>
	<b>S (μmol.s/100ml)</b> Površina pod delom krivulje O <sub>2</sub> Hb po sliki 3.5a.	<b>majhen S</b>	<b>velik S</b>
	<b>poraba kisika = -4 x dO<sub>2</sub>Hb/dt (μmol/(s.100ml))</b> Štirikratna vrednost gradienta upadanja O <sub>2</sub> Hb med zažemom v začetnem linearnem delu krivulje.	<b>??</b>	<b>??</b>
LDF	<b>MR (%)</b> <i>Maximum response</i> : največji odziv, porast pretoka od konca zažema do točke maksimalne hiperemije izražen relativno kot % mirovnega nivoja pretoka pred zažemom.	<b>majhen MR</b>	<b>velik MR</b>
	<b>t<sub>R</sub> (s)</b> <i>Time of recovery</i> : dolžina časovnega intervala od konca zažema do trenutka, ko pretok prvič po zažemu doseže začetni nivo.	<b>velik t<sub>R</sub></b>	<b>majhen t<sub>R</sub></b>
	<b>t<sub>M</sub> (s)</b> <i>Time to maximum</i> : dolžina časovnega intervala od konca zažema do trenutka največje hiperemije (najvišji nivo pretoka).	<b>velik t<sub>M</sub></b>	<b>majhen t<sub>M</sub></b>
TcPO <sub>2</sub>	<b>mirovni pO<sub>2</sub> (Pa)</b> Mirovni absolutni nivo pO <sub>2</sub> pred začetkom zažema	<b>nizek pO<sub>2</sub></b>	<b>visok pO<sub>2</sub></b>
	<b>t<sub>H</sub> (s)</b> <i>Half time</i> : dolžina časovnega intervala od konca zažema do trenutka, ko signal pO <sub>2</sub> doseže 50% mirovne vrednosti pred zažemom.	<b>velik t<sub>H</sub></b>	<b>majhen t<sub>H</sub></b>



**Slika 3.6a:** Signali metod LDF, NIRS in TcPO<sub>2</sub> pri prvih treh od šestih poskusnih osebah. Navpične črte na slikah pomenijo: začetek napihanja manšete (1), konec napihanja manšete in začetek pravega arterijskega zažema (2) in konec arterijskega zažema (3).



**Slika 3.6b:** Signali metod LDF, NIRS in TcPO<sub>2</sub> pri drugih treh od šestih poskusnih osebah. Navpične črte na slikah pomenijo: začetek napihovanja manšete (1), konec napihovanja manšete in začetek pravega arterijskega zažema (2) in konec arterijskega zažema (3).



### 3.3 Naloga

Na disku se nahaja 18 tekstovnih datotek, ki pripadajo šestim različnim testnim osebam. Polovica oseb je bila zdrava (brez znakov PAOB), polovica pa bolnikov z diagnosticirano napredovano PAOB. Vsaki osebi pripadajo tri datoteke (\*.nir, \*.ldf, \*.po2). Potek vseh signalov prikazuje slika 3.6.

Vsaka datoteka vsebuje podatke urejene v treh stolpcih, in sicer:

1. stolpec: čas (minute);
2. stolpec: merjena veličina:
  - osebaN.nir: sprememba  $O_2Hb$  (NIRS; enota  $\mu\text{mol}/100\text{ml}$ );
  - osebaN.ldf: normiran relativni pretok krvi (LDF; enota BPU);
  - osebaN.po2: delni tlak kisika ( $TcPO_2$ ; enota mmHg).
3. stolpec: oznaka faze meritve (0: pred zažemom, 1: med zažemom, 2: po zažemu).

Na sliki 3.6 so z navpičnimi črtami označeni trije dogodki in sicer začetek napihovanja manšete (prva črta), konec napihovanja manšete, ko je dosežen arterijski zažem (druga črta približno 30 do 60 sekund za prvo), in konec arterijskega zažema (tretja črta približno pet minut za drugo). Na datotekah sta v tretjem stolpcu označena samo začetek napihovanja manšete in konec arterijskega zažema. Oznaki sovpadata s prvo in tretjo črto na sliki 3.6.

Signale smo posneli pri različnih vzorčnih frekvencah, zato je časovna resolucija pri posameznih signalih različna ( $\Delta t_{NIRS} = 1 \text{ s}$ ;  $\Delta t_{LDF} = 0,1 \text{ s}$ ;  $\Delta t_{TcPO_2} = 15 \text{ s}$ ).

1. Naredite kopijo vseh datotek na svoj delovni direktorij.
2. Preberite vsebino datotek v okolje MATLAB in za boljši občutek izrišite vse krivulje (ne na isti graf!) ali pa si pomagajte s sliko 3.6. Ker so podatki za  $pO_2$  podani v enoti mmHg, jih najprej preračunajte v enoto IS, ki je pascal ( $1 \text{ mmHg} = 133,3 \text{ Pa}$ ).
3. Glede na definicije v tabeli 3.1 in na sliki 3.5 ocenite vrednosti vseh parametrov za vse osebe. Ne trudite se s pretirano točnostjo, ker ni pomembna.
4. Za vsak parameter iz tabele 3.1 posebej (razen za "porabo kisika") rangirajte osebe glede na vrednost parametra od najbolj "zdrave" do najbolj "bolne". Pri vsakem od teh parametrov podelite najbolj "zdravi" osebi eno točko, naslednji najbolj zdravi dve točki itd. do najbolj "bolne" osebe, ki dobi šest točk.
5. Glede na ocene iz prejšnjega koraka razdelite osebe na "zdrave" in "bolne" za vsak parameter posebej. Ali je odločitev pri vseh parametrih enaka? Komentirajte.
6. Seštejte vse točke pri vsaki osebi za vsak izmerjeni signal posebej:
  - $O_2Hb$ : vsota točk parametrov  $HR$ ,  $t_R$ ,  $t_M$ ,  $S$
  - LDF: vsota točk parametrov  $HR$ ,  $t_R$ ,  $t_M$
  - $TcPO_2$ : vsota točk parametrov *mirovni*  $pO_2$ ,  $t_H$
7. Glede na seštevke točk iz prejšnjega koraka podajte "diagnozo" za vsako merilno metodo posebej: katere osebe so bolniki in katere ne? Katera oseba se zdi glede na ovrednotene parametre posamezne metode najbolj zdrava in katera ima najbolj napredovano PAOB? Ali so rezultati vseh treh metod enaki? Katera metoda se zdi najučinkovitejša za razlikovanje med bolniki s PAOB in osebami brez PAOB?
8. Seštejte točke vseh treh metod za vsako osebo posebej in podajte "končno diagnozo".

9. Glede na "končno diagnozo" preverite, ali tudi parameter "poraba kisika", ki ga do sedaj niste uporabili, omogoča razdelitev oseb na bolne in zdrave.
10. Glede na vse rezultate predlagajte, katera vrsta parametrov (tisti, ki se nanašajo na amplitudo sprememb ali tisti, ki se nanašajo na časovno dinamiko sprememb) je bolj primerna za razlikovanje med osebami z in brez PAOB in posledično tudi za ovrednotenje stopnje napredovanja PAOB.

### 3.3.1 Nekateri uporabni MATLAB-ovi ukazi (glej tudi MATLAB-ovo *pomoč*)

```
podatki = load('polno_ime_datoteke')
```

Funkcijska oblika uporabe ukaza za nalaganje podatkov iz datoteke.

## 3.4 Literatura

- [1] Jöbsis FF: Noninvasive, infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters *Science* 198: 1264-7, 1977.
- [2] Delpy DT and Cope M: Quantification in tissue near-infrared spectroscopy. *Philos. Trans.-R. Soc. London, Biol. Sci.* 352: 649-59, 1997.
- [3] Jarm T, Miklavčič D, Vodovnik L: Bližnje-infrardeča spektroskopija : metoda za neinvazivno spremljanje prekrvljenosti in oksigenacije tkiv. *Elektroteh. vestn.* 64(2/3): 98-105, 1997.
- [4] Shepherd AP, Oberg PA, editors: *Laser-Doppler blood flowmetry*. Boston: Kluwer Academic Publishers; 1989.
- [5] Benaron DA, Benitz WE, Ariagno RL, Stevenson DK: Noninvasive methods for estimating in vivo oxygenation. *Clin. Pediatr.* 31(5): 258-273, 1992.
- [6] Kragelj R, Jarm T, Erjavec T, Prešeren-Štrukelj M, Miklavčič D: Parameters of postocclusive reactive hyperemia measured by near infrared spectroscopy in patients with peripheral vascular disease and healthy volunteers. *Ann. Biomed. Eng.* 29: 311-20, 2001.