

ALMA MATER STUDIORUM UNIVERSITÀ DI
BOLOGNA

SCUOLA DI INGEGNERIA E ARCHITETTURA
LAUREA IN INGEGNERIA BIOMEDICA

Principi di saturimetria e di
funzionamento del pulsossimetro

Candidato

Francesco Lorenzelli

Relatore

Claudio Lamberti

Anno accademico 2016/2017

Sommario

Lo scopo di questa tesi è quello di illustrare nei dettagli in cosa consiste la saturimetria, su quali principi fisici si basa e quali strumenti vengono utilizzati per effettuare le misure.

Nella prima parte si riassume brevemente come avviene lo scambio di gas tra organismo e ambiente esterno, come viene regolata la respirazione e quali anomalie della stessa possono causare gravi danni all'organismo.

Nella seconda parte si illustra in cosa consiste la saturimetria e su quali principi fisici si basa, per poi mostrare quali sono stati i metodi utilizzati per effettuare tale indagine e quali sono quelli utilizzati attualmente.

Nell'ultima parte ci si soffermerà su uno strumento in particolare, il pulsossimetro, sul suo utilizzo in ambiente clinico e su quali sono i suoi componenti. In particolare sul funzionamento di LEDs, fotodiodo e sull'amplificazione del segnale. Si valuteranno infine i motivi per cui tale strumento ha riscosso tanto successo rispetto ai metodi elencati nella seconda parte.

Indice

1. Introduzione:
 - 1.1. Ventilazione polmonare e controllo nervoso
 - 1.2. Diffusione di gas nell'organismo
 - 1.3. Emoglobina: struttura, tipologie e funzioni fisiologiche
 - 1.4. Circolazione sanguigna
 - 1.5. Livelli di saturazione di ossigeno nel sangue alterati e importanza del monitoraggio continuo
 - 1.5.1. Ipossia e ipossiemia
 - 1.5.2. Iperossia
 - 1.5.3. Lattato
2. Metodi alternativi per la misura dei livelli di ossigeno nel sangue:
 - 2.1. Metodi chimici:
 - 2.1.1. Metodo Van Slyke
 - 2.1.2. Metodo mixing syringe
 - 2.1.3. Elettrodo di Clarke
 - 2.1.4. Elettrodo galvanico
 - 2.1.5. Sensore transcutaneo di PO₂
 - 2.2. Ossimetro per misure *in vitro*
 - 2.3. Ossimetro per misure *in vivo*
 - 2.4. Ossimetro a fibra ottica
 - 2.5. Ossimetro chimico per misure *in vivo*
 - 2.6. Ossimetro a otto lunghezze d'onda per misure *in vivo*
3. Principi fisici di assorbimento della luce
4. Pulsossimetro e caratteristiche dei suoi componenti fondamentali:
 - 4.1. LED, caratteristiche e funzionamento
 - 4.2. Fotodiode, caratteristiche e funzionamento
 - 4.2.1. Accorgimenti ottici per il miglioramento della misura
 - 4.3. Amplificazione del segnale
 - 4.3.1. Amplificatore a transimpedenza
 - 4.3.2. Amplificatore a transimpedenza differenziale
 - 4.3.3. Circuito di zero
 - 4.4. Tipologie di sonda
 - 4.4.1. Sonda a trasmissione
 - 4.4.2. Sonda a riflessione
 - 4.4.3. Sonda MRI
 - 4.5. Valutazioni finali sull'utilizzo del pulsossimetro in ambiente clinico
 - 4.5.1. Vantaggi legati all'utilizzo del pulsossimetro
 - 4.5.1.1. Fotopletismografo

4.5.2.Limiti del saturimetro

Bibliografia
Sitografia

1. Introduzione

In questa tesi si analizzerà nel dettaglio in cosa consiste la saturimetria, su quali principi si basa, quali sono i suoi principali utilizzi e infine si analizzerà lo strumento che sfrutta tale metodo di misura, il saturimetro.

La saturimetria consiste nella misura della saturazione dell'ossigeno nel sangue (SpO_2), senza dover necessariamente svolgere un'indagine ematica. Tramite la saturimetria è possibile conoscere, con un metodo rapido e non invasivo, in quale percentuale l'emoglobina è legata all'ossigeno rispetto all'emoglobina totale nel sangue arterioso. Per effettuare questa misura viene utilizzato uno strumento chiamato saturimetro o pulsossimetro, che si serve di raggi luminosi nel campo del rosso e dell'infrarosso per determinare tale parametro biologico. I valori misurati in tal modo sono meno accurati di quelli ottenuti con metodi più complessi ed invasivi (si ha una discrepanza inferiore al 3% tra la SpO_2 misurata dal saturimetro e la S_aO_2 , cioè l'effettivo valore di saturazione dell'ossigeno nel sangue); nonostante questo, la semplicità di utilizzo di tale strumento e la possibilità di avere a disposizione i dati in modo continuo ed immediato hanno favorito il suo successo, soprattutto in campi in cui rilevare l'ipossiemia in modo rapido è fondamentale.

Prima di addentrarci nello studio della saturimetria e dei principi che la regolano, cerchiamo di approfondire meglio le meccaniche di base della ventilazione polmonare e i meccanismi di trasporto dell'ossigeno all'interno dell'organismo.

1.1. Ventilazione polmonare e controllo nervoso:

La ventilazione è un processo involontario e ritmico, controllato da neuroni respiratori situati nel tronco encefalico, più precisamente nel bulbo e nel ponte, che regolano la profondità ed il ritmo del respiro durante la respirazione normale. Questi neuroni sono responsabili della stimolazione di motoneuroni della colonna vertebrale (tra le vertebre C3 e C5 e tra T1 e T12) che agiscono su diaframma, muscoli pettorali e muscoli intercostali per l'espansione della cassa toracica, e di conseguenza dei polmoni. Espandendosi i polmoni si crea una differenza di pressione tra l'interno degli stessi e l'aria esterna, che causa un flusso di aria dall'esterno verso l'interno.

Fondamentale per la corretta regolazione della respirazione in base alle esigenze fisiologiche è quindi il feedback fornito da meccanocettori, che rilevano l'estensione dei muscoli respiratori e dei polmoni durante l'inspirazione e l'espiazione, e da chemocettori situati nelle arterie carotidi e nell'aorta, che rilevano il livello di CO₂, O₂ e ioni H nel sangue. I nuclei del tronco encefalico elaborano quindi queste informazioni per mantenere ad un livello adeguato i valori di gas nel sangue. Particolarmente importanti sono i livelli di CO₂ e di ioni H, mentre la concentrazione di O₂ è un dato importante solamente nel caso in cui la sua concentrazione nel sangue sia estremamente bassa (ipossiemia).

Una particolarità di questi neuroni è che la respirazione può essere controllata volontariamente dal soggetto, anche se non è possibile causarsi la morte con questo metodo; infatti una volta persi i sensi i chemocettori rilevano lo scarso livello di ossigeno nel sangue e causano il ripristino della corretta ventilazione.

1.2. Diffusione di gas nell'organismo:

In questo paragrafo si vedrà sinteticamente qual è il percorso dell'aria inspirata e quali scambi di gas avvengono con l'organismo.

L'aria inspirata dal naso e dalla bocca attraversa in un primo momento le vie aeree superiori, cioè la cavità nasale o orale, la faringe, la laringe e poi le vie aeree inferiori, ovvero la trachea e i due bronchi. A questo punto i bronchi si diramano in più piccoli bronchioli per giungere infine agli alveoli.

Una volta che l'aria ha raggiunto l'alveolo può avvenire lo scambio di gas con il sangue; in particolare il sangue (venoso) riceve O₂, del quale era povero, e cede all'alveolo CO₂, che conteneva in eccesso. Questi scambi avvengono per diffusione, cioè da aree a maggiore pressione parziale del gas ad aree a minore pressione parziale; affinché ciò possa avvenire i gas devono attraversare una zona molto sottile (massimo 1mm), che tra alveolo e vaso è di circa 0,5µm. I circa 600 milioni di alveoli presenti nel corpo umano consentono di avere una superficie di scambio di circa 70 m², questo garantisce massicci scambi di gas tra aria e organismo in poco tempo.

Analizziamo ora con più precisione le pressioni parziali dei gas nell'aria esterna, all'interno degli alveoli e del sangue venoso e arterioso.

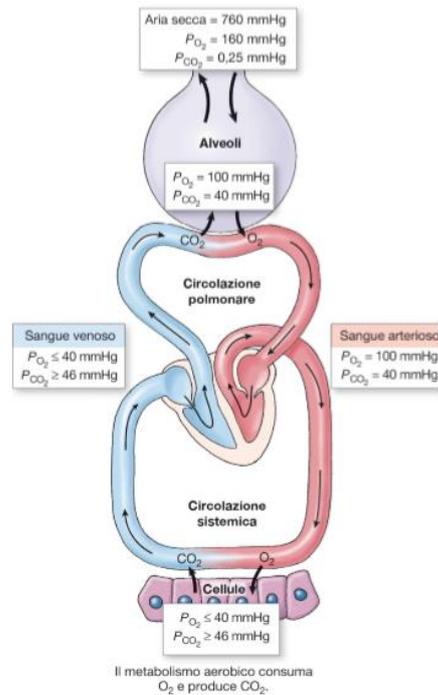


Fig.1) Sono riportate le pressioni parziali di O_2 e CO_2 in alveoli, sangue arterioso, sangue venoso e cellule dei tessuti.

- **Aria esterna:** L'aria secca all'esterno del corpo si trova alla pressione atmosferica di 760 mmHg, con una pressione parziale dell'ossigeno $P_{A}O_2 = 160$ mmHg e una pressione parziale dell'anidride carbonica $P_{A}CO_2 = 0,25$ mmHg.
- **Alveoli:** All'interno degli alveoli invece si ha $P_{A}O_2 = 100$ mmHg e $P_{A}CO_2 = 40$ mmHg, questo significa che, essendo la pressione parziale dell'ossigeno inferiore rispetto a quella atmosferica, quest'ultimo entrerà dall'esterno verso l'interno degli alveoli; al contrario la CO_2 uscirà verso l'esterno avendo una pressione parziale molto maggiore di quella che ha nell'aria esterna.
- **Sangue arterioso:** Nel sangue arterioso si ha pressione $P_{A}O_2 = 100$ mmHg e $P_{A}CO_2 = 40$ mmHg, proprio come negli alveoli. Infatti avviene uno scambio di gas tra alveoli e sangue venoso che porta il

sangue arterioso ad avere stesse pressioni parziali dell'aria negli alveoli.

- *Cellule dei tessuti:* Nelle cellule dell'organismo si hanno valori variabili in base sia al tessuto sia al tipo di cellule, mediamente si ha $P_{A}O_2 \leq 40$ mmHg e $P_{A}CO_2 \geq 46$ mmHg, cioè l'ossigeno per diffusione si sposta dal sangue arterioso verso le cellule dove ha una minore pressione parziale. Al contrario l'anidride carbonica diffonde verso il sangue in quanto ha pressione parziale maggiore nelle cellule.
- *Sangue venoso:* Nel sangue venoso, essendo avvenuto lo scambio di gas con le cellule dell'organismo, le pressioni parziali sono le stesse che si trovavano al punto precedente, cioè: $P_{A}O_2 \leq 40$ mmHg e $P_{A}CO_2 \geq 46$ mmHg.

Si può ora notare che, secondo i gradienti di pressione, ci sarà uno scambio di gas tra sangue venoso e alveoli, con l'ossigeno che diffonde dall'alveolo al sangue e l'anidride carbonica che diffonde dal sangue verso l'alveolo, passando così da sangue venoso (povero di ossigeno e ricco di prodotti del metabolismo cellulare) a sangue arterioso (ricco di ossigeno).

La pressione parziale di ossigeno negli alveoli si può calcolare tramite la seguente relazione:

$$P_{A}O_2 = (P_{ATM} - P_{H_2O}) * F_{i}O_2 - P_{A}CO_2 / 0.8$$

Dove si ha:

- La pressione atmosferica $P_{ATM} \approx 760$ mmHg;
- La pressione di vapore $P_{H_2O} \approx 47$ mmHg (a 37 °C);
- La frazione di O_2 inspirata $F_{i}O_2 \approx 0.21$;
- $P_{A}CO_2$ che è la pressione parziale di CO_2 nel sangue arterioso;
- 0.8 è il quoziente respiratorio normale, cioè il rapporto tra CO_2 espirata e O_2 inspirato.

L'ossigeno che ora ha quindi raggiunto il sangue deve poi essere trasportato fino ai tessuti dell'organismo. Purtroppo l' O_2 non è particolarmente solubile nel sangue, poichè composto principalmente da acqua, perciò per poterlo trasportare efficacemente è necessario un mezzo di trasporto più efficiente, cioè l'emoglobina, tramite la quale è possibile aumentare il livello di ossigeno trasportato di circa 65 volte per lo stesso volume di plasma. Vediamo più nel dettaglio come è possibile questo trasporto e le caratteristiche dell'emoglobina.

1.3. Emoglobina: struttura, tipologie e funzioni fisiologiche:

L'emoglobina è una proteina globulare presente in modo massiccio nei globuli rossi. Tale proteina è costituita da 4 catene proteiche: due catene α e due catene β nel caso di individui adulti. Ognuna di queste catene contiene quattro gruppi prostetici (non proteici) chiamati *eme*, formati da un anello porfirinico, e da quattro gruppi *globina*, che sarebbe una catena polipeptidica.

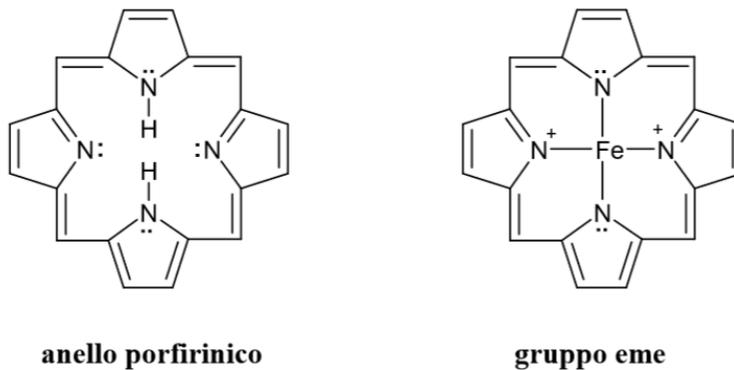


Fig.2) Gruppo "eme" contenente al centro un atomo di ferro, responsabile del trasporto di ossigeno. Infatti è il ferro che lega (in modo reversibile) la molecola di O_2 , trasportandola attraverso l'organismo.

Ogni molecola Hb contiene quindi 4 unità *eme* e 4 unità *globina*, ognuna di queste coppie (gruppo *eme* + gruppo *globina*) può trasportare una molecola di O_2 legata al ferro centrale, per un totale di 4 molecole di ossigeno trasportabili da ogni molecola di emoglobina (Fig.2).

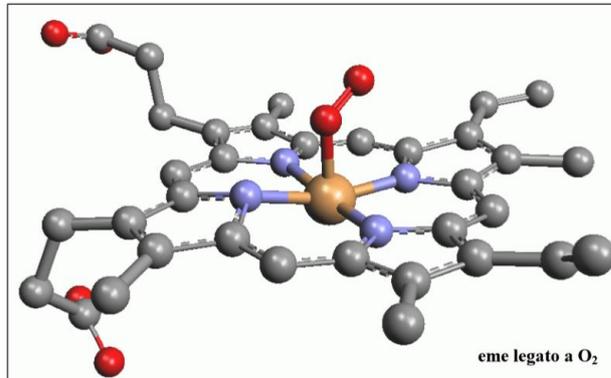


Fig.3) In questa immagine è possibile vedere un gruppo "eme" che trasporta una molecola di ossigeno (in rosso), legata al ferro centrale (in giallo).

Quando l'ossigeno si lega al ferro dell'emoglobina, entrambe le molecole sono ibridate sp^2 e hanno coppie di non legame che formano angoli di 120° rispetto alla molecola. Il legame avviene più precisamente tra l'atomo di Fe e uno dei due atomi O della molecola di O_2 . Questo legame comporta una riorganizzazione nei legami dell'intera molecola di emoglobina che passa dalla conformazione tesa (minore affinità all'ossigeno) alla conformazione rilassata (maggiore affinità all'ossigeno), per questo una molecola di Hb già legata all'ossigeno avrà più probabilità di instaurare ulteriori legami.

Un globulo rosso contiene circa 265 milioni di molecole di emoglobina Hb, questa quando legata all'ossigeno ha un colore diverso rispetto all'emoglobina senza ossigeno, infatti quando trasporta ossigeno appare di un colore rosso acceso, quando invece non trasporta ossigeno ha un colore rosso scuro. Questa caratteristica è uno dei principi sui quali si basa la saturimetria, infatti il cambiamento di colore è utile in saturimetria per determinare la percentuale di emoglobina legata all'ossigeno rispetto al massimo possibile.

È opportuno parlare anche della mioglobina, un'altra proteina simile all'emoglobina, ma più semplice, in quanto costituita da una sola catena proteica e quindi in grado di trasportare una sola molecola di O_2 . La meno ingombrante mioglobina si trova all'interno di tessuti come per esempio il tessuto muscolare e lega l'ossigeno per renderlo disponibile alle cellule dei tessuti quando necessario al loro metabolismo.

Per motivi di conformazione, dopo che una molecola di emoglobina ridotta (Hb) lega una molecola di ossigeno (diventando ossiemoglobina HbO_2), avrà una maggiore affinità al legame di una seconda molecola di ossigeno. Allo

stesso modo dopo che una molecola di O_2 ha rotto il legame è probabile che anche le altre molecole di O_2 rompano il legame. Si riporta in Fig.4 la curva di dissociazione dell'ossiemoglobina in funzione della pressione parziale dell'ossigeno nel sangue.

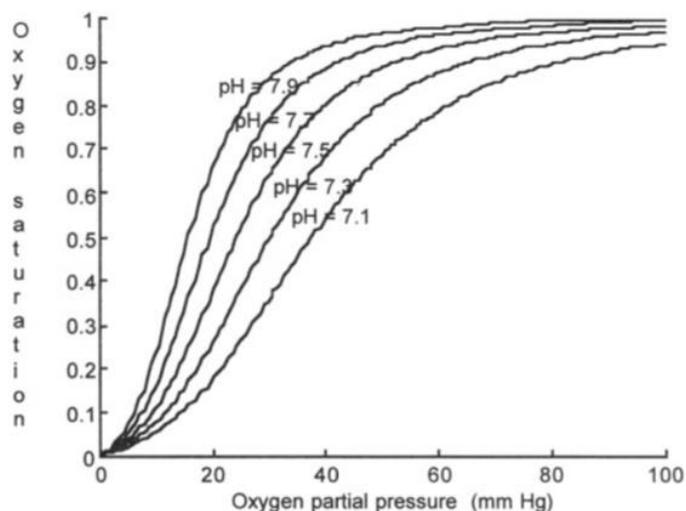


Fig.4) Andamento della saturazione dell'ossigeno nell'ossiemoglobina in funzione della P_{AO_2} nel sangue arterioso. Come si può notare ci sono altri fattori che influenzano questa grandezza, come per esempio il pH.

In tale grafico la saturazione dell'ossigeno, in ordinata, indica la quantità di ossigeno legata all'emoglobina rispetto al massimo possibile (S_aO_2), in funzione della pressione parziale dell'ossigeno nel sangue arterioso (P_{AO_2}), in ascissa. Ad ogni modo questa grandezza, di importanza fondamentale per il monitoraggio del paziente, non è influenzata solamente da P_{AO_2} , ma anche da grandezze come la concentrazione del diossido di carbonio CO_2 , dal pH e dalla temperatura. In particolare una diminuzione di P_{ACO_2} e della temperatura e un aumento del pH, sposteranno la curva verso sinistra; cioè consentiranno una saturazione dell'emoglobina a minori pressioni parziali di O_2 . Al contrario variazioni opposte delle stesse grandezze causeranno uno spostamento della curva verso destra. Prendiamo l'esempio di un feto all'interno del grembo materno. La curva di dissociazione dell'ossiemoglobina del feto sarà a sinistra di quella della madre, cioè il feto ha una maggiore affinità all'ossigeno e lo "prenderà" dal sangue della madre se dovesse averne necessità.

Una grandezza importante di cui tenere conto è il volume di O_2 trasportato dall'emoglobina per 100mL di sangue, calcolabile secondo la seguente legge:

$$CHbO_2 = 1.37 * Hb * S_aO_2$$

Dove si ha:

- 1.37 che sono i mL di ossigeno legati a 1g di emoglobina completamente satura ($S_aO_2 = 100\%$);
- Hb è il peso dell'emoglobina $\approx 14g$ ogni 100mL di sangue;
- S_aO_2 è la saturazione dell'ossigeno nel sangue arterioso.

Sebbene la maggior parte dell'ossigeno sia trasportato dall'emoglobina, una piccola parte è disciolta nel plasma, dissociata. La quantità di O_2 libero disciolto in 100 mL di sangue è calcolabile come:

$$C_D O_2 = 0.003 * P_A O_2$$

Dove si ha:

- 0.003 è la solubilità di ossigeno nel sangue, indicata come percentuale di volume per mmHg;
- $P_A O_2$ è la pressione parziale dell'ossigeno nel sangue arterioso.

Il volume di ossigeno disciolto in 100 mL di sangue è circa di 0.3 mL, mentre il volume di ossigeno legato all'emoglobina in 100 mL di sangue è di circa 19 mL, quindi come ci si sarebbe aspettato significativamente maggiore.

Per ottenere la quantità totale di ossigeno presente nel sangue dobbiamo ovviamente sommare i due contributi:

$$C_A O_2 = C_D O_2 + CHbO_2$$

1.4. Circolazione sanguigna:

Una volta che sono avvenuti questi processi di scambio e di trasporto il sangue raggiunge il cuore, nel quale viene pompato a tutti i tessuti dell'organismo.

Una serie di impulsi elettrici che partono dal nodo senoatriale (SA) e attraversano il nodo atrioventricolare (AV) causano la polarizzazione e la depolarizzazione delle cellule muscolari cardiache, e quindi una contrazione controllata e coordinata dell'intero organo. Queste polarizzazioni e depolarizzazioni possono essere registrate tramite elettrocardiogramma, misurando il potenziale elettrico di superficie sulla pelle del paziente tramite un sistema di elettrodi.

Vediamo molto brevemente la circolazione e le fasi in cui si caratterizza:

- *Circolazione polmonare:* Il sangue venoso (povero di ossigeno) viene pompato dal ventricolo destro ai polmoni, qui raggiunge arteriole e capillari dalla parete di spessore monocellulare che consente, tramite i meccanismi già visti, lo scambio di gas per l'ossigenazione dello stesso. Da qui il sangue ossigenato raggiunge venule e vene più grandi che lo portano all'atrio sinistro.
- *Circolazione sistemica:* Dal ventricolo sinistro il sangue ricco di ossigeno è pompato nelle arterie sistemiche che giungono ai tessuti dove, in corrispondenza dei capillari, avviene l'ossigenazione delle cellule dell'organismo. In seguito il sangue ricco di CO₂ e impoverito di O₂, tramite venule e poi vene maggiori, giunge l'atrio destro per essere riossigenato.

Una grandezza di particolare interesse a tale proposito è la cardiac output (CO), ovvero il prodotto tra la frequenza cardiaca (HR, Heart Ratio) e il volume di sangue espulso dopo una contrazione (SV, Stroke Volume). La CO è un parametro regolato da neuroni del ponte che in questo modo mantengono costante l'apporto di sangue ossigenato alle cellule dell'organismo.

Un volta appreso come avviene lo scambio di gas tra sangue e alveoli cerchiamo di comprendere nei dettagli lo scambio di gas tra il sangue e le cellule dei tessuti irrorati.

Come avveniva nel caso degli alveoli, il sangue a livello della microcircolazione si trova in capillari dalle pareti di spessore monocellulare, a questa distanza può avvenire lo scambio per diffusione di O₂ dal sangue al liquido interstiziale, e di prodotti di scarto come CO₂ dal liquido interstiziale al sangue. Infatti questo liquido che si trova tra le cellule dei tessuti, fa da tramite tra i vasi e le cellule, avverrà allo stesso tempo uno scambio tra le singole

cellule e il liquido interstiziale attraverso la membrana cellulare. Come nel caso precedente, avvenendo questi scambi per diffusione, la forza motrice del fenomeno è la differenza di pressione parziale dei gas tra i vari compartimenti.

Un dato importante è l'indice di distribuzione dell'ossigeno, che si definisce come:

$$D_I O_2 = C_A O_2 * CI * 10$$

- Dove CI è il cardiac index, cioè la cardiac output normalizzata alla superficie del corpo umano.

Si può inoltre calcolare la quantità di ossigeno che raggiunge i tessuti come differenza tra l'ossigeno che li raggiunge tramite sangue arterioso e l'ossigeno che si allontana nel sangue venoso:

$$CI * (C_A O_2 - C_V O_2)$$

- Dove $C_V O_2$ è la pressione parziale di ossigeno nel sangue venoso.

$D_I O_2$ ha solitamente valori di circa 550 ~ 650 mL / (min * m²), mentre l'ossigeno che raggiunge i tessuti ha valori di circa 115 ~ 165 mL / (min * m²). Questa discrepanza tra i valori indica che non tutto l'ossigeno disponibile viene ceduto ai tessuti, ma parte rimane nel circolo sanguigno e si trova nel sangue venoso.

L'ossigeno che è quindi ormai giunto all'interno della cellula, viene poi impiegato per i processi metabolici, ovvero per la produzione di energia chimica. Il metabolismo cellulare infatti si serve della scissione di molecole complesse e glucosio per il rilascio di energia, questo processo comprende l'ossidazione (perdita di un elettrone) e la riduzione (acquisto di un elettrone) da parte delle molecole coinvolte, l'atomo di ossigeno ha proprio la funzione di attrarre un elettrone del glucosio per ossidarlo. L'equazione semplificata di questo processo è riportata qui di seguito:



L'energia della quale si parla è energia chimica immagazzinata nel legame della molecola adenosina trifosfato (ATP), fondamentale per il metabolismo di qualsiasi cellula dell'organismo.

1.5. Livelli di saturazione di ossigeno nel sangue alterati e importanza del monitoraggio continuo:

Il livello di ossigeno nel sangue è un parametro ovviamente fondamentale per il corretto funzionamento dell'organismo, un valore di SaO₂ sopra il 90% è considerato "buono" per la salute del soggetto. Ad ogni modo questo parametro, pur essendo di fondamentale importanza, non è l'unico rilevante e l'unico da monitorare per evitare condizioni di anossia. Le cellule dei tessuti, possedendo processi metabolici molto rapidi, risentono subito della carenza di ossigeno in arrivo dal sangue, senza O₂ non è infatti possibile il corretto funzionamento metabolico, impedendo i meccanismi già visti in precedenza.

Organ	Survival time after onset of anoxia
Cerebral cortex	less than 1 min
Heart	5 min
Liver and kidney	10 min
Skeletal muscle	2 h

Fig.5) Sono riportate le tempistiche di morte cellulare di differenti tessuti dell'organismo. Come è possibile notare alcuni tessuti di importanza fondamentale per la vita subiscono danni dopo pochissimo tempo che non ricevono ossigeno.

Nella Fig.5 è riportata una tabella che riporta indicativamente il tempo di sopravvivenza delle cellule di differenti tessuti in caso di anossia, ovvero forte carenza di ossigeno. La morte cellulare in tessuti come la corteccia cerebrale può portare a gravissimi danni, per questo motivo anche una breve mancanza di ossigeno al cervello può causare danni permanenti oltre che molto gravi per tutto l'organismo.

1.5.1. Ipossia e ipossiemia:

Prima di procedere con questa analisi specifichiamo in cosa consistono le condizioni di ipossia e di ipossiemia, dato che saranno concetti largamente ripresi nel seguito del testo.

Si parla di ipossia quando si ha una carenza di ossigeno nei tessuti. Questa grave condizione porta inevitabilmente alla morte cellulare in breve tempo.

Si parla invece di ipossiemia quando si ha un livello di ossigeno nel sangue troppo basso. Perciò un basso valore di S_aO_2 è un evidente segnale di questa condizione.

È perciò semplice comprendere che tramite un saturimetro si può riconoscere solamente uno stato di ipossiemia. Inoltre è opportuno specificare che l'ipossia non è obbligatoriamente causata da ipossiemia, si distinguono infatti più tipi di ipossia a seconda della causa che l'ha condotta, alcune sono riportate nella tabella di Fig.6.

Type of hypoxia	Description
Hypoxic hypoxia	Arterial blood is poorly oxygenated due to low $F_I O_2$ or respiratory disease
Anemic hypoxia	Blood cannot transport adequate oxygen due to hemoglobin abnormalities
Circulatory hypoxia	Cardiac output is low or blood perfusion is inadequate
Histotoxic hypoxia	The tissue is incapable of using otherwise sufficient supplies of oxygen

Fig.6) Sono riportate varie tipologia di ipossia, a seconda del fattore che l'ha causata:

- *Ipossia ipossica: Causata da un basso livello di O_2 inspirata o da un malfunzionamento respiratorio;*
- *Ipossia anemica: Causata da una scarsa capacità di trasporto di O_2 da parte dell'emoglobina. Questo può derivare da differenti stati o patologie;*
- *Ipossia circolatoria: Causata da una bassa cardiac output (CO) o perfusione del sangue insufficiente;*
- *Ipossia istotossica: Causata da un'incapacità del tessuto di utilizzare l'ossigeno a disposizione.*

1.5.2. Iperossia:

Lo stato di iperossia si verifica quando il livello di ossigeno nel sangue è troppo elevato. Questa condizione è considerata pericolosa a causa della natura

tossica dei radicali di ossigeno O che si trovano nel sangue. Purtroppo il saturimetro non è lo strumento ideale per rilevare tale condizione, in quanto essa si verifica in un range molto più ristretto rispetto all'ipossiemia, all'interno del quale la misura del pulsossimetro non è affidabile.

1.5.3. Lattato:

In condizioni anaerobiche è comunque possibile, seppur per breve tempo, per le cellule utilizzare energia, il prodotto di questo processo è l'acido lattico, che può pertanto essere un ottimo indicatore dello stato di ipossia. La rilevazione di acidosi lattica (causata dall'accumulo di lattato nell'organismo) potrebbe essere una valida alternativa alla misura di SpO₂, ma il problema fondamentale legato a questo parametro è che indica lo stato di ipossia una volta che esso è già stato raggiunto e si stanno ormai verificando danni a livello cellulare. Questa poca immediatezza non lo rende affidabile per il monitoraggio in tempo reale del paziente. Al contrario è ottima a questo scopo la misura di SpO₂ tramite saturimetro, se accompagnata dalla misura di altre grandezze come cardiac output, pressione sanguigna, frequenza cardiaca, frequenza respiratoria.

2. Metodi alternativi per la misura dei livelli di ossigeno nel sangue

In questo capitolo si tratteranno svariati metodi e strumenti, basati su diversi principi fisici o chimici, che hanno portato alla formazione dei moderni saturimetri o che ancora affiancano il pulsossimetro nell'effettuare misure più accurate ma meno immediate.

2.1. Metodi chimici:

- *2.1.1. Metodo Van Slyke:* L'apparato strumentale è costituito da una serie di condotti dotati di rubinetti e di un manometro per misurare la pressione parziale dei gas da analizzare. Un campione di sangue e ferrocianuro di potassio ($C_6N_6FeK_4$) viene inserito nell'apparato strumentale. Il ferrocianuro di potassio è un agente chimico che causa il rilascio di O_2 , CO_2 e altri gas da parte del sangue. Una volta che i gas sono stati rilasciati dal campione, la CO_2 viene rimossa e i gas rimanenti sono compressi ad un volume prefissato V_1 , la pressione p_1 di questi gas viene misurata con il manometro. In seguito utilizzando ditionito di sodio ($Na_2S_2O_4$) viene riassorbito l'ossigeno dalla miscela di gas, per poi ricomprimere la nuova miscela in un volume V_2 e misurarne la pressione p_2 . In questo modo si può risalire alla quantità di ossigeno che era presente nel campione, e tramite tale formula alla concentrazione di O_2 :

$$\frac{mLO_2}{100mLsangue} = k(p_1 - p_2)$$

Dove k è una costante dipendente da reagenti, volume del campione e dall'apparato strumentale.

Un'alternativa è quella di estrarre l'ossigeno dal sangue con questo stesso apparato strumentale e poi di analizzarlo utilizzando un gascromatografo.

- *2.1.2. Metodo mixing syringe:* L'apparato strumentale è costituito da due siringhe Luer-Lock unite ad un manometro a rubinetto. Una delle siringhe è una siringa di precisione automatizzata in modo da poter risucchiare ed espellere volumi noti; in quest'ultima viene inserito il reagente che causa il rilascio di ossigeno (questo reagente ha pressione parziale di ossigeno p_R), la siringa viene poi svuotata in modo da lasciare uno strato sottile sulle pareti interne. Nella siringa di miscelazione è presente un campione di sangue (di volume V_B) che viene poi trasferito alla siringa automatizzata

già vista. Questo sangue viene miscelato con un volume V_R di reagente e infine viene misurata la pressione dell'ossigeno così rilasciato dalla soluzione (p_S). La concentrazione dell'ossigeno nel campione si ottiene come:

$$\frac{mLO_2}{100mLsangue} = \alpha \frac{V_R+V_B}{V_B} \left[P_S - \left(\frac{V_R}{V_B+V_R} p_R \right) \right]$$

- **2.1.3. Elettrodo di Clark:** Questo metodo si fonda sui principi delle reazioni di ossido-riduzione, relazionando la corrente che si genera tra gli elettrodi alla disponibilità di ossigeno per la reazione. L'ossigeno estratto da un campione di sangue, tramite metodi già visti in precedenza, viene disciolto in una soluzione acquosa, esposta ad una differenza di potenziale di 0.7 V. Il sistema ha un anodo in argento (Ag), in un bagno di cloruro di potassio (KCl), che attrae anioni Cl⁻ per formare cloruro d'argento (AgCl). Questa reazione di ossidazione genera un flusso di elettroni disponibili per la reazione di riduzione che avviene al catodo. Quest'ultimo è formato da platino (Pt) e favorisce la seguente reazione di riduzione:



Il numero di elettroni necessari per questa reazione dipende dalla quantità di ossigeno presente nel bagno elettrolitico, e quindi dalla PO_2 , perciò misurando la corrente che scorre tra i due elettrodi si può risalire a questa grandezza.

Questa tecnica è utilizzabile in vitro anche per volumi molto piccoli di sangue e può essere utilizzata in vivo posizionando l'elettrodo di Clark all'interno di un catetere. Purtroppo la calibrazione risulta molto macchinosa ed è difficile mantenere la punta dell'elettrodo pulita da coaguli sanguigni che si formano inevitabilmente.

- **2.1.4 Elettrodo galvanico:** Questo metodo è analogo al precedente con la sostanziale differenza che il catodo è in oro (Au) e l'anodo è in piombo (Pb), mentre la soluzione elettrolitica è idrossido di potassio (KOH). Gli elettrodi in questo caso partecipano alla reazione ricostituendo la soluzione elettrolitica man mano che essa si degrada, per questo motivo la reazione, e di conseguenza anche la misura, hanno un tempo limitato.
- **2.1.5. Sensore transcutaneo di PO_2 :** Questo sensore misura la pressione parziale dell'ossigeno PO_2 direttamente sulla superficie della pelle. Su questo argomento è necessario precisare alcuni concetti prima di

proseguire.

Nei vasi che si trovano in prossimità della pelle si ha solitamente PO_2 simile a quella che si ha nell'aria circostante, all'esterno del corpo. La pressione parziale dell'ossigeno transcutanea è detta $P_{tc}O_2$ e nel caso di iperemia della pelle (eccessivo afflusso sanguigno), si verifica che $P_{tc}O_2 \sim P_aO_2$. L'iperemia si verifica nel caso di abuso di sostanze come droghe e alcool, o a causa di creme, abrasioni o riscaldamento della zona interessata, questo poiché la pelle, in tale condizione, è facilitata alla diffusione di gas, tra i quali anche l'ossigeno, poiché ce n'è una maggiore disponibilità. Il metodo meno dannoso per consentire questa misura è quindi quello di riscaldare localmente la pelle nel punto in cui è applicato il sensore, che spesso è un elettrodo Clark o simile. La temperatura alla quale portare la zona è di circa $43^\circ C \sim 44^\circ C$ e sono necessari circa 10 minuti per raggiungere tale scopo. La lentezza di tale procedimento e il reale rischio di leggere ustioni (soprattutto sui bambini), sono i principali svantaggi legati a tale strumento. Nonostante questo, su soggetti di età inferiore, si ha $P_{tc}O_2$ che varia circa del 5% dal valore di P_aO_2 , mentre negli adulti il riscaldamento ha un effetto molto meno amplificato e i valori pertanto si discostano maggiormente. Il valore misurato non è considerato affidabile se la pressione sanguigna scende sotto la soglia dei 100 mmHg.

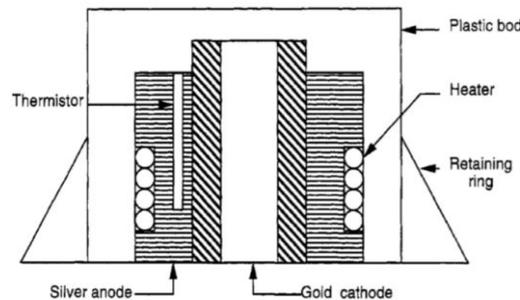


Fig.7) È rappresentato un tipico sensore transcutaneo di PO_2 , hanno un funzionamento analogo anche i sensori transcutanei di PCO_2 .

2.2. Ossimetri per misure in vitro:

- *Ossimetro CO*: Questo strumento è basato su spettrofotometria, configurata in modo tale da poter analizzare la concentrazione di diversi tipi di emoglobina, come: deossiemoglobina (Hb), ossiemoglobina (HbO_2), carbossiemoglobina (COHb), metaemoglobina (MetHb). Ognuno di questi tipi di emoglobina ha una propria curva caratteristica del coefficiente di estinzione molare (absorptivity) al variare della lunghezza d'onda λ (come è possibile vedere in figura 8). Pertanto colpendo il

campione con un fascio di luce ad almeno 4 differenti λ , si può ricavare la concentrazione nel sangue di tutti e quattro i tipi di emoglobina, utilizzando un sistema con 4 equazioni:

$$\begin{aligned} \text{➤ } C_{\text{Hb}} &= K [\varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_1)A_1 + \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_2)A_2 + \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_3)A_3 + \varepsilon_{\text{Hb}}(\lambda_4)A_4] \\ \text{➤ } C_{\text{HbO}_2} &= K [\varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_1)A_1 + \varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_2)A_2 + \varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_3)A_3 + \varepsilon_{\text{HbO}_2}(\lambda_4)A_4] \\ \text{➤ } C_{\text{MetHb}} &= K [\varepsilon_{\text{MetHb}}(\lambda_1)A_1 + \varepsilon_{\text{MetHb}}(\lambda_2)A_2 + \varepsilon_{\text{MetHb}}(\lambda_3)A_3 + \varepsilon_{\text{MetHb}}(\lambda_4)A_4] \\ \text{➤ } C_{\text{COHb}} &= K [\varepsilon_{\text{COHb}}(\lambda_1)A_1 + \varepsilon_{\text{COHb}}(\lambda_2)A_2 + \varepsilon_{\text{COHb}}(\lambda_3)A_3 + \varepsilon_{\text{COHb}}(\lambda_4)A_4] \end{aligned}$$

Dove si ha:

1. C_x che è la concentrazione dell'emoglobina di tipo x;
2. $\varepsilon_x(\lambda_1)$ che è il coefficiente di estinzione dell'emoglobina di tipo x alla prima lunghezza d'onda;
3. A_1 è la differenza tra l'assorbanza del sangue e della soluzione vuota in corrispondenza della prima lunghezza d'onda;
4. K è una costante determinata durante la fase di calibrazione dello strumento.

È di fondamentale importanza che il campione di sangue sia emolizzato, poiché la presenza della membrana cellulare nei globuli rossi causa effetti di *scattering*.

Questo metodo è uno dei più utilizzati e dei più affidabili per la misura della quantità di molteplici specie di emoglobina contemporaneamente, inoltre viene utilizzato per calibrare ossimetri che effettuano misure *in vivo*.

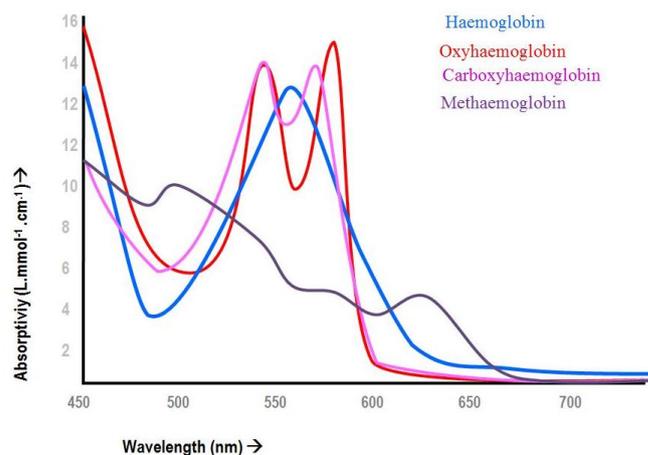


Fig.8) È riportato lo spettro delle quattro specie di emoglobina, come si può notare il coefficiente di attenuazione molare (in ordinata) ha un picco caratteristico per una specifica lunghezza d'onda (in ascissa). Questa curva caratteristica permette non solo di distinguere il tipo di emoglobina, ma anche di misurarne la concentrazione, noto il valore di ϵ_x e di λ_x .

2.3. Ossimetri per misure in vivo (a due lunghezze d'onda)

I primi ossimetri utilizzati *in vivo* sono comparsi in Germania nel 1930, quando si iniziarono ad utilizzare le celle fotovoltaiche per la misura della quantità di ossigeno nel sangue. Dapprima si sono utilizzati fasci di luce rossa monocromatica, con risultati molto più scarsi di quelli ottenibili utilizzando più lunghezze d'onda. Nel 1934 Matthes costruì un ossimetro che sfruttava luce rossa (la cui trasmissione varia al variare della saturazione dell'ossigeno) e luce verde (la cui trasmissione non varia con la variazione della saturazione). Sottraendo il contributo della luce verde a quello della luce rossa si riuscivano ad eliminare tutti i contributi dovuto a tessuti di varia natura, pulsatilità del sangue ecc. ecc. Nel 1960 Nilsson scoprì che fasci di infrarosso erano di gran lunga preferibili alla luce verde.

Durante la Seconda Guerra Mondiale furono apportate molte migliorie a questa tecnologia e soprattutto al filtro per infrarossi, per poter monitorare i livelli di ossigeno nel sangue dei piloti degli aerei. Il sensore veniva applicato all'orecchio e per la calibrazione si effettuava una misura ocludendo l'area in modo da conoscere l'assorbimento del tessuto dell'orecchio in assenza di sangue.

2.4. Ossimetro a fibra ottica

- *Ossimetro a riflessione per misura in vitro*: Sviluppato da Polanyi e Hehir nel 1962, venne ideato per poter essere inserito all'interno di un catetere. Questo sensore sfrutta due lunghezze d'onda per poter misurare la concentrazione di emoglobina (Hb) e di ossiemoglobina (HbO₂). Si

utilizzano in particolare λ pari a 660 nm e 805 nm, dove $\lambda = 805$ nm è il punto isosbastico (punto in cui i valori dei coefficienti di estinzione si eguagliano) per Hb e HbO₂. L'ossimetro a fibra ottica, a differenza dei casi precedenti, non misura l'intensità della luce trasmessa dal campione, ma misura l'assorbanza direttamente dalla luce riflessa dal campione.

- *Ossimetro a riflessione per misura in vivo*: Questo tipo di ossimetro sfrutta la stessa tecnologia del pulsossimetro, e come quest'ultimo utilizza due lunghezze d'onda, in alcuni casi tre per compensare i contributi dati da variazioni di pH e altri fattori. Questo tipo di sensore risente particolarmente della riflessione delle pareti dei vasi, ostacolo ormai superato grazie a tecniche di filtraggio digitale.

2.5. Ossimetro chimico per misure in vivo

A differenza degli ossimetri visti in precedenza, questo ossimetro si serve di un colorante fluorescente che perde luminescenza in presenza di ossigeno. Viene quindi mandato un fascio di luce sulla punta della sonda, coperta di colorante, quest'ultimo riflette la luce al sensore con intensità proporzionale alla presenza di ossigeno nell'ambiente.

2.6. Ossimetro a otto lunghezze d'onda per misure in vivo

Sviluppato in un primo momento da Hewlett-Packard, questo ossimetro a otto lunghezze d'onda consentiva di compensare una grande quantità di errori, soprattutto eliminando la fase di calibrazione, non più necessaria.

Per ottenere le molteplici λ necessarie, si utilizzano filtri montati su una ruota rotante a 1300 rpm, così da avere circa 22 campioni al secondo per ogni λ . La luce filtrata passa poi in un percorso a fibra ottica che giunge al fotodetector e fornisce un valore di riferimento. In tal modo variazioni nella sorgente di luce o nei filtri non causano errori nella misura. Una seconda fibra ottica parte dall'orecchio del paziente, la luce già filtrata passa attraverso l'orecchio e viene incanalata in un percorso a fibra ottica che porta anch'essa al fotodetector. La corrente in uscita dal sensore è di circa 0.5 nA, perciò viene amplificata di un fattore di circa 10^8 . L'assorbanza si ricava sottraendo il contributo di riferimento dal contributo della luce che attraversa l'orecchio.

Questo strumento risulta purtroppo poco accurato per la misura di valori di saturazione inferiori al 70% e necessita di un riscaldamento locale della zona per poter fornire risultati affidabili. Questa tecnologia ha poi consentito lo

sviluppo dei moderni e diffusi pulsossimetri, che andremo ad analizzare più nel dettaglio nel prossimo capitolo.

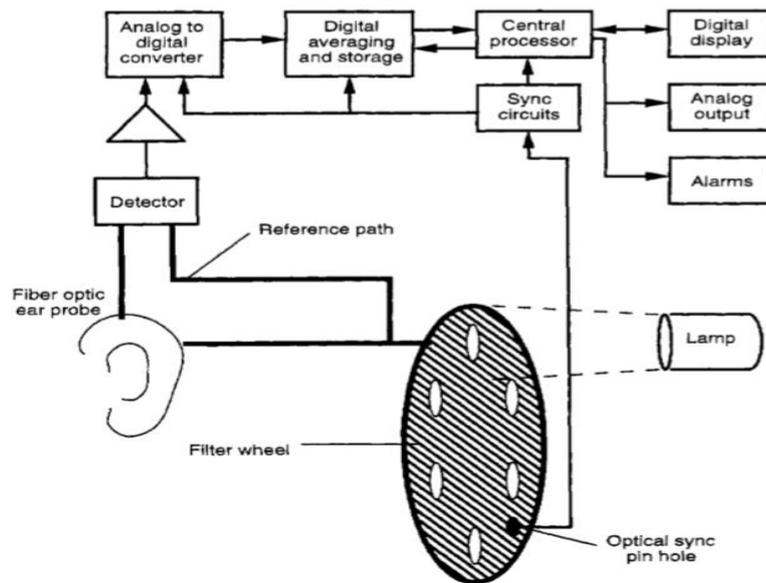


Fig.9) È riportato un ossimetro a fibra ottica a otto lunghezze d'onda per misure in vivo, con relativo schema a blocchi dei componenti che consentono il post-processing del segnale. Si può notare in particolare il disco forato rotante per i filtri che consente l'ottenimento di molteplici λ .

3. Principi fisici di assorbimento della luce

Come detto in precedenza, la quantità di luce assorbita o riflessa dal sangue è il principio che sta alla base della saturimetria. La legge che regola l'assorbimento della luce da parte di una sostanza è la legge di Beer, questa legge vale solo considerando un modello semplificato, infatti non può essere considerata valida per tutto il sangue a causa degli effetti di diffusione della luce (*scattering*).

Consideriamo un raggio monocromatico di luce di intensità I_0 che attraversa un mezzo contenente una sostanza che assorbe luce, una parte di questa viene assorbita dal mezzo, una parte viene trasmessa e una parte riflessa. L'intensità della luce che attraversa il mezzo diminuisce esponenzialmente lungo il cammino secondo la legge di Beer:

$$I = I_0 e^{-\varepsilon(\lambda)cd}$$

Dove si ha:

- I che è l'intensità della luce man mano che attraversa il mezzo;
- I_0 è l'intensità del fascio incidente;
- $\varepsilon(\lambda)$ è il coefficiente di estinzione del mezzo alla lunghezza d'onda λ ;
- c è la concentrazione della sostanza che assorbe la luce all'interno del mezzo;
- d è la lunghezza del cammino percorso dalla luce.

Una grandezza di fondamentale importanza in questo campo è la trasmittanza T , essa è definita come il rapporto tra l'intensità della luce trasmessa e l'intensità della luce incidente:

$$T = \frac{I}{I_0} = e^{-\varepsilon(\lambda)cd}$$

E di conseguenza è possibile definire l'assorbanza A , che è definita come il logaritmo naturale della trasmittanza:

$$A = -\ln(T) = \varepsilon(\lambda)cd$$

Nel caso del saturimetro utilizzato comunemente oggi si assume un modello secondo il quale nel sangue sono presenti due tipi di emoglobina: emoglobina

ridotta Hb e ossiemoglobina HbO₂. La legge di Beer può essere estesa anche al caso in cui si abbia un mezzo contenente più sostanze capaci di assorbire la luce, ma con diversi coefficienti di estinzione $\varepsilon(\lambda)$. In particolare l'assorbanza totale è data dalla somma dei contributi di ogni sostanza:

$$A_{tot} = \sum_{i=1}^n \varepsilon_i(\lambda) c_i d_i$$

Pertanto sfruttando questa relazione, dato un mezzo contenente n sostanze che assorbono luce a n lunghezze d'onda è possibile conoscere i coefficienti di estinzione di ogni sostanza. Per questo motivo il saturimetro lavora a due differenti λ , precisamente 660 nm (rosso) e 940 nm (infrarosso).

Proprio qui si trova la maggiore semplificazione, poiché, seppure l'emoglobina ridotta e l'ossiemoglobina siano le sostanze che assorbono più luce nel sangue, l'emoglobina può legarsi a differenti altre sostanze come per esempio il monossido di carbonio CO. È quindi il caso di distinguere tra emoglobina funzionale ed emoglobina disfunzionale.

Emoglobine funzionali

Si definiscono emoglobine funzionali i tipi di emoglobina capaci di legarsi in modo reversibile con ossigeno molecolare. Per questo l'emoglobina ridotta Hb e l'ossiemoglobina HbO₂ sono entrambe emoglobine funzionali. Si può ora definire la saturazione funzionale dell'ossigeno, cioè la quantità di HbO₂ rispetto alla quantità totale di emoglobina (che secondo il modello è data solo da Hb e HbO₂):

$$SO_{2funzionale} = \frac{HbO_2}{Hb + HbO_2} * 100\%$$

Emoglobine disfunzionali

Sono dette emoglobine disfunzionali tutte quelle emoglobine che non supportano il trasporto di ossigeno, i tipi più diffusi sono metaemoglobina (MetHb), carbossiemoglobina (COHb) e sulfemoglobina.

- La metaemoglobina è emoglobina ossidata, risultato dell'ossidazione di un atomo libero di ferro (Fe²⁺) inserito nelle subunità della globina.



Solitamente questo tipo di emoglobina si trova nel sangue in percentuale inferiore allo 0.6% rispetto agli altri tipi di emoglobina.

- La carbossiemoglobina è formata dall'unione dell'emoglobina con monossido di carbonio e si trova nella forma COHb. L'affinità dell'emoglobina a legarsi con il monossido di carbonio è circa 210 volte maggiore di quella che ha a legarsi con l'ossigeno, per questo motivo un'alta presenza di monossido di carbonio nell'aria causa una drastica diminuzione di ossiemoglobina nel sangue. In un individuo sano e non fumatore il livello di COHb è solitamente inferiore al 2%, anche se questo valore può variare molto in funzione dell'ambiente circostante.
- La sulfemoglobina è il prodotto della reazione tra emoglobina e acido sulfidrico (H₂S). In questa molecola l'affinità dell'atomo di ferro del gruppo *eme* a legarsi all'ossigeno è 100 volte inferiore a quella di una molecola Hb normale, per questo la sua capacità di trasporto verso i tessuti è fortemente limitata.

Si può quindi definire la saturazione frazionale dell'ossigeno nel sangue, cioè il rapporto tra la concentrazione di ossiemoglobina e la concentrazione di tutti i tipi di emoglobina:

$$SO_{2frazionaria} = \frac{C_{HbO_2}}{C_{emoglobina\ totale}} * 100\%$$

Come visto anche nel capitolo precedente lo spettro di assorbimento dei vari tipi di emoglobina presenta dei picchi per raggi a determinate lunghezze d'onda λ , differenti per ciascun tipo di emoglobina.

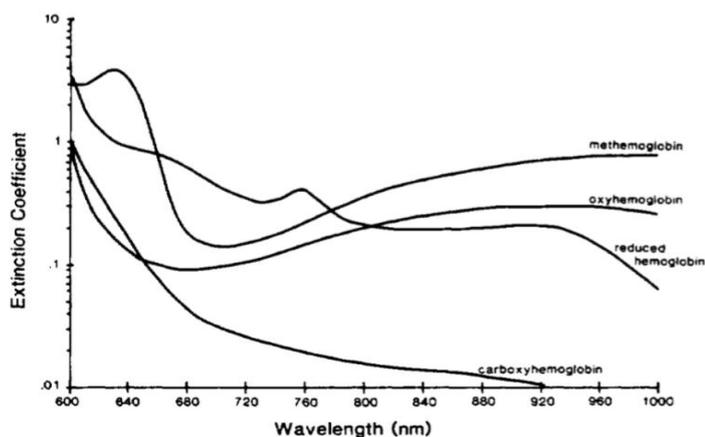


Fig.10) È riportato l'andamento dei coefficienti di estinzione di vari tipi di emoglobina al variare della lunghezza d'onda λ del raggio incidente (spettro di assorbimento dell'emoglobina).

Nella Fig.10 osserviamo in particolare lo spettro dell'emoglobina ridotta e dell'ossiemoglobina, si può notare che nella regione di luce rossa i due coefficienti di estinzione $\varepsilon(\lambda)$ sono molto diversi e ben distinguibili. Per $\lambda = 805$ nm si ha il punto isosbestico, ovvero il punto in cui i coefficienti di estinzione delle due emoglobine si eguagliano. Nella regione dell'infrarosso invece l'emoglobina ridotta è decisamente più trasparente alla luce dell'ossiemoglobina.

Come già detto le λ utilizzate attualmente per la misura di S_pO_2 sono di 660 nm e di 940 nm, la scelta di queste precise lunghezze d'onda è il frutto dell'evoluzione e dello studio di tale tecnica nel corso del tempo.

La pigmentazione rossastra della pelle assorbe la maggior parte della luce per $\lambda < 600$ nm, pertanto è preferibile tenersi al di fuori di tale range. Ad una $\lambda = 660$ nm si ha una grande differenza tra i coefficienti di estinzione di ossiemoglobina e di emoglobina ridotta, pertanto risulta una buona scelta. Inoltre più la zona dello spettro scelta è pendente e più una piccola variazione di λ (a causa di imperfezioni del LED emettitore) causerà un'errore nel calcolo del coefficiente di estinzione. Pertanto è preferibile scegliere una zona dello spettro "piatta", che consenta di avere errori più piccoli associati alla misura. A 660 nm e a 940 nm si hanno zone piuttosto piatte e con $\varepsilon(\lambda)$ distanziati a sufficienza.

Dalle definizioni precedenti si può descrivere la concentrazione di HbO_2 in funzione della SO_2 :

$$c_{HbO_2} = SO_2(c_{HbO_2} + c_{Hb})$$

Scriviamo ora la legge di Beer per il modello considerato, cioè tenendo conto solamente dell'assorbanza di Hb e di HbO_2 :

$$A_{tot} = \varepsilon_{HbO_2}(\lambda) c_{HbO_2} d_{HbO_2} + \varepsilon_{Hb}(\lambda) c_{Hb} d_{Hb}$$

Assumiamo ora che il cammino percorso dalla luce sia lo stesso per entrambi i tipi di emoglobina, cioè $d_{HbO_2} = d_{Hb} = d$. Possiamo quindi scrivere:

$$A_{tot} = [\varepsilon_{HbO_2}(\lambda)SO_2 + \varepsilon_{Hb}(\lambda)(1 - SO_2)] (c_{Hb} + c_{HbO_2})d$$

Conoscendo quindi le concentrazioni e le $\varepsilon(\lambda)$ si può calcolare la SO_2 misurando l'assorbanza del sangue. Le $\varepsilon(\lambda)$ in un individuo adulto sono state calcolate e sono riportate in Fig.11.

Wavelength, nm	Extinction coefficient, L mmol ⁻¹ cm ⁻¹	
	Hb	HbO ₂
660	0.81	0.08
940	0.18	0.29

Fig.11) Sono riportati i valori dei coefficienti di estinzione di emoglobina ridotta (Hb) e ossiemoglobina (HbO₂), per un individuo adulto, alle lunghezze d'onda di 660 nm e di 940 nm.

Finora ci si è preoccupati del rumore di fondo dato dall'assorbimento di pelle, ossa e altri tessuti, ma nel caso del sangue arterioso si hanno anche ampie variazioni nell'assorbimento dovute alla pulsazione. Infatti appena dopo la sistole le arterie contengono più sangue che durante la diastole e sono anche maggiormente dilatate, perciò anche il cammino d della luce che le attraversa è maggiore. Questa problematica non colpisce invece le vene, nelle quali non si ha pulsazione. Questa pulsazione consente di distinguere tra assorbimento di tessuti, sangue venoso e sangue arterioso non pulsatile (componente costante) e assorbimento del sangue arterioso pulsatile.

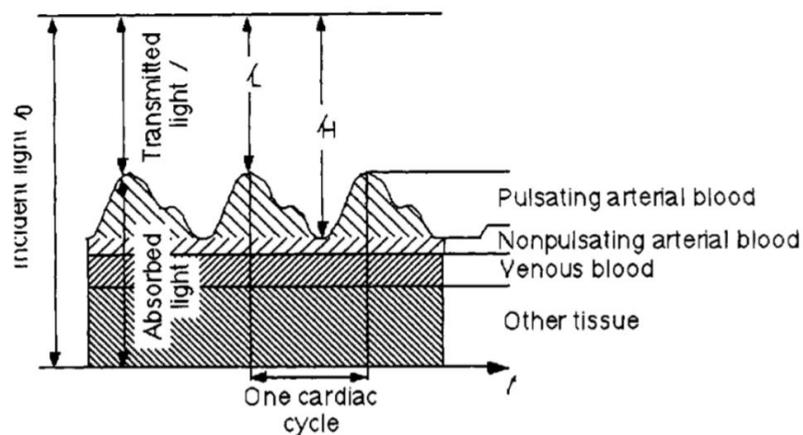


Fig.12) Sono rappresentati i contributi di assorbimento dovuti a tessuti (come ossa, pelle ecc.), sangue venoso e sangue arterioso pulsatile e non pulsatile.

Dato che la luce rossa e la luce infrarossa vengono assorbite in quantità diversa dallo stesso tessuto, per poter confrontare l'assorbimento a $\lambda = 660$ nm e a $\lambda = 940$ nm è necessario normalizzare il risultato. Per normalizzazione si intende

dividere l'intensità della luce trasmessa per l'intensità di luce assorbita dalle componenti continue. In tal modo la componente di fondo DC tra raggi di luce a diversa λ sarà sempre la stessa, cioè pari a 1. Così è possibile confrontare, alle due lunghezze d'onda, solo i contributi del sangue arterioso pulsatile, indipendentemente dal contributo costante dovuto ad altri fattori.

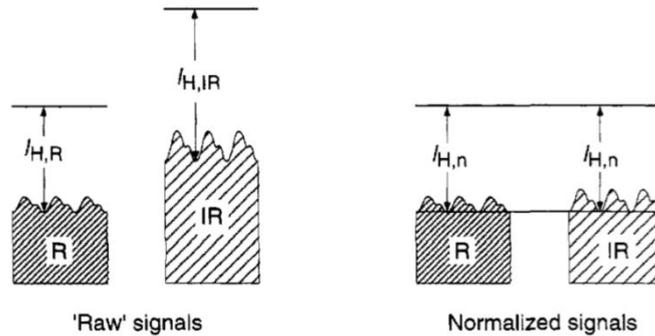


Fig.13) Confronto tra segnali non normalizzati (a sinistra) e normalizzati (a destra) relativi a raggi nel campo del rosso (in scuro) e dell'infrarosso (in chiaro).

È quindi possibile definire il *ratio*, cioè il rapporto tra assorbanza totale nel campo del rosso e assorbanza totale nel campo dell'infrarosso, in modo da avere una grandezza dipendente soltanto dall'assorbimento delle componenti del sangue arterioso pulsatile. Definiamo la *ratio* come:

$$R = \frac{A_{tot,R}}{A_{tot,IR}}$$

Usando la legge di Beer la *ratio* può essere scritta come:

$$R = \frac{\epsilon_{Hb}(\lambda_R) + [\epsilon_{HbO_2}(\lambda_R) - \epsilon_{Hb}(\lambda_R)]S_aO_2}{\epsilon_{Hb}(\lambda_{IR}) + [\epsilon_{HbO_2}(\lambda_{IR}) - \epsilon_{Hb}(\lambda_{IR})]S_aO_2}$$

In tal modo R può essere ricavato dalla saturazione dell'ossigeno nel sangue arterioso (S_aO_2) e non è necessario conoscere le concentrazioni delle emoglobine nel sangue.

Calcolando la *ratio* R è quindi possibile calcolare anche la saturazione S_aO_2 , secondo la legge:

$$S_aO_2 = \frac{\epsilon_{Hb}(\lambda_R) - \epsilon_{Hb}(\lambda_{IR})R}{\epsilon_{Hb}(\lambda_R) - \epsilon_{HbO_2}(\lambda_R) + [\epsilon_{HbO_2}(\lambda_{IR}) - \epsilon_{Hb}(\lambda_{IR})]R} * 100\%$$

La dipendenza della saturazione dalla *ratio* delle assorbanze normalizzate è riportata in figura 14:

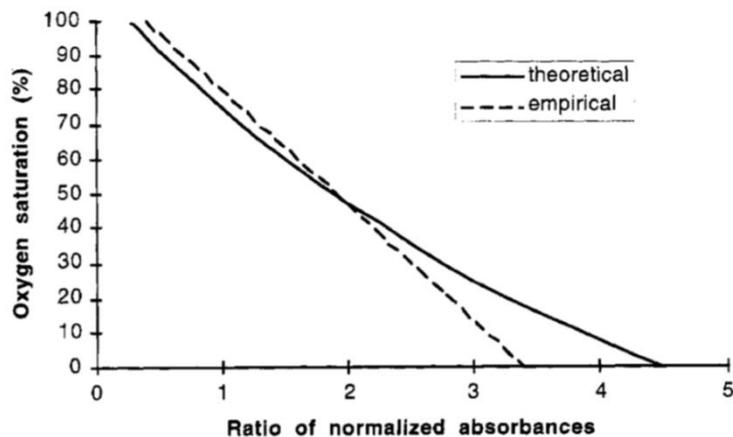


Fig.14) Riporta l'andamento della saturazione dell'ossigeno nel sangue secondo la legge teorica e secondo i dati empirici. È possibile notare come per saturazioni elevate il modello sia piuttosto vicino ai dati sperimentali.

La pulsatilità del sangue arterioso (e il conseguente aumento del cammino ottico) non è l'unico fattore che influenza la misura in saturimetria. Infatti i globuli rossi, che hanno la tipica forma a disco biconcavo, sono disposti con l'asse maggiore parallelo al flusso sanguigno durante la diastole e disposti perpendicolarmente durante la sistole. Questa variazione nel loro orientamento causa una variazione nel cammino ottico e quindi, secondo la legge di Beer, una variazione nell'assorbimento della luce. Anche la riflessione della luce risente fortemente di questo fenomeno, del quale è opportuno tenere conto, vedremo in seguito come.

Il fenomeno che più affligge la misura dei moderni pulsossimetri è quello della diffusione della luce (*light scattering*). Infatti la luce viene diffusa in varie direzioni, a causa di tessuti e membrane cellulari, questo causa una sovrastima piuttosto elevata della misura dato che la legge di Beer non tiene conto dello *scattering*. Questo fenomeno è particolarmente influente nel caso del sangue perché si verifica quando un raggio di luce incontra un oggetto con dimensioni simili alla sua lunghezza d'onda λ ; i globuli rossi hanno infatti un diametro di circa $7 \mu\text{m}$, mentre il fascio incidente ha una λ nell'ordine del μm . Un fascio di luce deviato in tale maniera verrà probabilmente deviato incontrando altri globuli rossi, essendo questi largamente presenti nel sangue. Le deviazioni successive aumentano di molto il cammino ottico e pertanto aumentano

l'assorbanza misurata. Per compensare questo errore sono state ricavate sperimentalmente delle curve di calibrazione, che però non possono essere adattate ad ogni singolo caso clinico. Per valori di saturazione piuttosto alti tuttavia la misura è considerata piuttosto affidabile.

Purtroppo l'effetto che lo *scattering* ha sui valori misurati non può essere eliminato sottraendo la componente costante del segnale, ma è una grandezza associata a numerosi fattori quali l'orientamento dei globuli rossi, il loro numero e la loro concentrazione nel sangue, lo spessore dei tessuti, la distanza tra LED e fotodiodo ecc. ecc. Per questo motivo è molto complicato sviluppare un modello fisico che possa essere utilizzabile in differenti circostanze.

Vedremo di seguito alcuni dei modelli proposti per arginare tale problema:

- *3.1. Teoria di Twerky dello scattering multiplo:* Questa teoria si fonda sui principi dei campi magnetici e utilizza medie statistiche per estendere la teoria di assorbimento e diffusione su una sola particella all'interazione con molteplici molecole. Il modello propone di aggiungere un contributo dovuto alla diffusione nella legge di Beer, questo contributo è adattabile a diverse condizioni e i valori che ne risultano sono piuttosto attendibili. Se cambiano le condizioni fisiologiche è necessario ricalibrare i parametri per il calcolo del contributo.
- *3.2. Teoria di Marble:* Questa teoria consiste in un modello tridimensionale per la diffusione dei fotoni. Purtroppo però i pulsossimetri non soddisfano alcuni dei requisiti del modello che pertanto non è sempre applicabile. Il modello di Twerky infatti rimane il più soddisfacente e quello che si avvicina di più al comportamento dei dati sperimentali.

La calibrazione avviene tramite curve di calibrazione dipendenti da più parametri k_i , questi ultimi vengono determinati preventivamente in laboratorio tramite misure *in vitro*. Di seguito si riportano due esempi di curve di calibrazione, entrambi dipendenti dalla *ratio*:

$$S_p O_2 = \frac{k_1 - k_2 R}{k_3 - k_4 R}$$

$$S_p O_2 = k_1 + k_2 R + k_3 R^2$$

4. Pulsossimetro e caratteristiche dei suoi componenti fondamentali

4.1. Led: caratteristiche e funzionamento.

Il LED, come visto in precedenza è il componente dello strumento che emette luce ad una precisa frequenza per la misura dell'assorbimento da parte di emoglobina ridotta (Hb) e ossiemoglobina (HbO₂). L'utilizzo di questo tipo di diodo in saturimetria è sia merito dello sviluppo tecnologico che di una discreta fortuna; infatti i più comuni LED emettono in un range di circa 700 nm che va dal blu (≈ 480 nm) all'inizio del campo dell'infrarosso (≈ 1180 nm). Questo campo copre quindi entrambe le lunghezze d'onda necessarie all'applicazione in pulsossimetria, cioè $\lambda = 660$ nm e $\lambda = 940$ nm. Un secondo aspetto di fondamentale importanza è che si abbiano piccole oscillazioni legate alla lunghezza d'onda. Infatti come già visto per $\lambda = 660$ nm si ha che lo spettro di assorbimento dell'emoglobina ridotta è molto ripido, è quindi fondamentale che attorno a questa λ le oscillazioni siano ridotte per non generare errori troppo ingenti; per frequenze nel campo degli infrarossi invece si è visto che gli spettri (sia di deossiemoglobina che di ossiemoglobina) sono piuttosto piatti, quindi un'oscillazione si traduce in un errore di misura meno grave. I LED comunemente in commercio soddisfano in modo più che accettabile anche questo requisito, infatti nel visibile le oscillazioni sono circa di 25 nm, mentre nell'infrarosso sono di circa 50 nm.

Il principio di funzionamento di un LED si fonda sul fornire energia ad un materiale semiconduttore, permettendo il passaggio di elettroni dalla banda di valenza alla banda di conduzione, superando così il *gap* di energia E_g associato a tale materiale. Quando l'elettrone torna alla banda di valenza, diminuendo l'energia associata al suo stato, viene emesso un fotone luminoso di energia corrispondente all'energia persa nel passaggio, questo fotone ha lunghezza d'onda λ pari a:

$$\lambda = \frac{hc}{E_g}$$

Dove si ha:

- h che è la costante di Planck, pari a $6.626 \cdot 10^{-34}$ J*s;
- c è la velocità della luce, pari a $3 \cdot 10^8$ m/s.

La lunghezza d'onda del fotone emesso dipende quindi dall'energia associata all'*energy gap*, quindi dal materiale semiconduttore scelto per la costruzione del diodo, solitamente vengono utilizzati semiconduttori dei gruppi III-V, II-VI, IV gruppo. Per l'emissione nel campo del visibile sono per esempio utilizzati LED GaAsP e GaP; mentre per l'emissione nell'infrarosso si utilizzano LED in Arseniuro di Gallio GaAs.

La differenza di potenziale imposta al diodo per fornire energia è posta a cavallo della giunzione p-n, cioè una zona nella quale semiconduttore drogato p (prevalente drogaggio positivo) e semiconduttore drogato n (prevalente drogaggio negativo) si trovano a contatto. La differenza di potenziale imposta ai capi di questa giunzione è detta *forward voltage* e può variare da 0.7 V fino a 2.5 V. L'importanza di questa tensione per le specifiche del diodo è che l'*energy gap* è proporzionale al *forward voltage*. Perciò ad una maggiore tensione corrisponderà un maggiore salto energetico degli elettroni e di conseguenza una minore lunghezza d'onda associata ai fotoni emessi.

La *forward current* invece è la corrente che attraversa il diodo dall'anodo al catodo. Il range di quest'ultima è piuttosto ampio e va da 2 mA a 50 mA. Una corrente di sufficiente ampiezza consente l'emissione di luce da parte del diodo.

Nel caso di strumenti come il pulsossimetro è di fondamentale importanza che il consumo di energia rimanga entro certi limiti, infatti, trattandosi molto spesso di dispositivi portatili, è necessario che possano essere utilizzati in caso di emergenza anche per molte ore alimentati solo da una batteria. La potenza dissipata è funzione di tre parametri: la temperatura dell'ambiente, la temperatura massima nominale della giunzione e la resistenza termica:

$$P_D = (T_J - T_A) * R_{TH}$$

Dove si ha:

- T_J è la temperatura della giunzione del diodo;
- T_A è la temperatura ambiente;
- R_{TH} è la resistenza termica.

La maggior parte dei LED utilizzati hanno un'efficienza che va dal 2% al 10%, perciò gran parte dell'energia viene dissipata sotto forma di calore, mantenere un basso consumo di potenza significa quindi anche evitare possibili ustioni sulla pelle del paziente. Particolarmente interessante è che il LED IR, che ha un *forward voltage* più basso del LED rosso (si ricorda che la λ è inversamente proporzionale al voltaggio del diodo), richiede una maggiore

forward current per dissipare la stessa potenza ottica, questo perché i fotoni rossi hanno una maggiore energia.

Il *reverse breakdown voltage* è invece la tensione inversa che causa la rottura del diodo e un passaggio di corrente da catodo ad anodo. Nei comuni diodi una tensione inversa non permette il passaggio di corrente attraverso il diodo, raggiunta però la tensione inversa di breakdown il diodo si danneggia e la corrente inizia a scorrere in direzione inversa. Nei pulsossimetri i due LED emettitori sono posti in parallelo con alimentazioni rispettivamente invertite, perciò quando uno dei LED è ON l'altro è OFF essendo sottoposto ad un voltaggio inverso. Solitamente il suo valore si attesta su circa 3V - 5V, essendo maggiore del *forward voltage* non si generano particolari problemi riguardo questa specifica per come è configurato lo strumento.

La *reverse current* è la corrente che scorre nel diodo quando sottoposto ad una tensione inversa (al di sotto della tensione di breakdown), idealmente il suo valore è 0, nei diodi reali si hanno correnti che vanno da 0.01 μA a 10 μA . Nella configurazione in parallelo sopra citata questa corrente di dispersione ha un effetto trascurabile.

Altro parametro di fondamentale importanza è lo *switching time*, ovvero il tempo che il LED impiega a passare dalla configurazione ON alla configurazione OFF, solitamente il valore di questa grandezza è nell'ordine delle centinaia di ns, molto inferiore rispetto al periodo della pulsazione arteriosa ($\approx 1\text{s}$), pertanto da questo punto di vista non sorgono particolari problemi. Va posta particolare attenzione a questo parametro durante il dimensionamento di resistenze e capacità nel circuito di amplificazione, vedremo più nel dettaglio di cosa si tratta nell'ultimo capitolo.

L'angolo del fascio luminoso emesso è altrettanto importante, esso è definito come la misura angolare della potenza irradiata su un asse dal punto in cui la potenza vale la metà fino al punto opposto in cui la potenza vale la metà. Nel caso dei pulsossimetri è semplicemente necessario che il fascio con massima intensità colpisca il tessuto e che il fotodiodo sia irradiato su tutta la sua superficie.

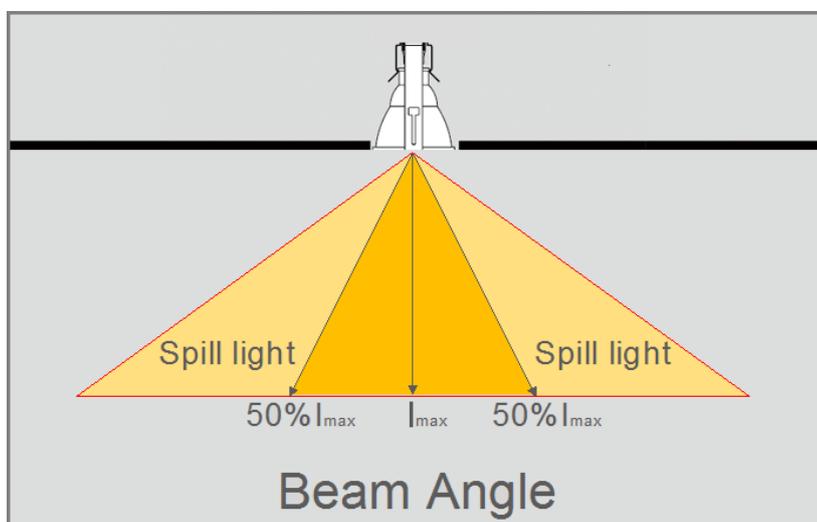


Fig.15) È rappresentato il beam angle, nel caso dei LED per pulsossimetri può variare da pochi gradi fino a 180° .

L'ultimo fattore di vitale importanza per l'utilizzo di LED in un pulsossimetro sono le dimensioni, fortunatamente la tecnologia attuale permette di poter usufruire di LED grandi pochi millimetri, dimensione già adeguata per poter essere inseriti in piccoli dispositivi e sonde.

È tuttavia importante specificare che i LED non emettono luce monocromatica, per ovvi limiti strumentali. Infatti emettono luce in un certo range di lunghezze d'onda e hanno un picco di intensità luminosa emessa per una specifica λ . È quindi importante, soprattutto per il LED rosso, che il picco sia centrato sulla λ voluta. Il LED rosso è il più critico perché come già visto lo spettro per $\lambda = 660 \text{ nm}$ è molto pendente, e una piccola variazione sulla lunghezza d'onda può generare grandi errori nella misura. Per sopperire a questo problema vengono analizzati i LEDs in laboratorio con uno spettrofotometro e poi confrontando i risultati sull'intensità e la frequenza della luce emessa si calcola una curva di calibrazione per ogni LED. Utilizzando poi dei resistori specifici per ognuno il processore riesce a riconoscere quale LED è in funzione in modo da selezionare la giusta curva di calibrazione.

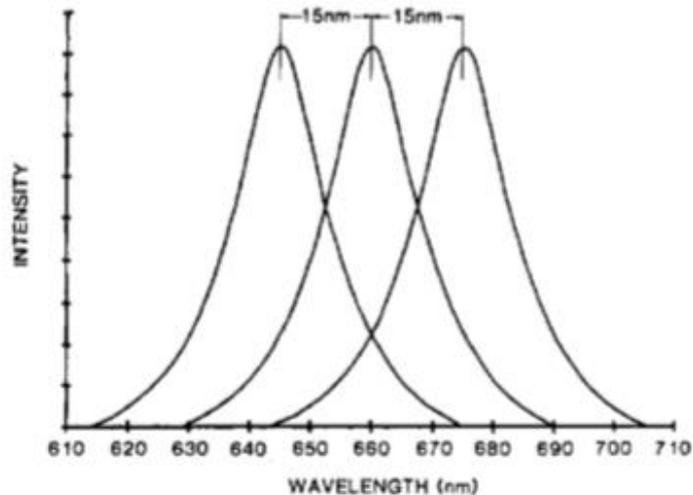


Fig.16) Andamento dell'intensità luminosa emessa in funzione della lunghezza d'onda del fascio luminoso, in alcuni LEDs dello stesso tipo che emettono nel campo del rosso. Si può notare la distribuzione a campana, con un forte calo di intensità luminosa per piccole variazioni di lunghezze d'onda. Inoltre si nota come LEDs che dovrebbero avere stesse specifiche possano invece differire leggermente.

Analizziamo ora una seconda problematica legata allo spostamento del picco di emissione del diodo con l'aumento della temperatura della giunzione p-n. Infatti se la temperatura della giunzione aumenta, per effetto Ohm a causa della *forward current*, l'energy gap E_g diminuisce e quindi aumenta la lunghezza d'onda λ della luce emessa. Questo non vale per tutti i semiconduttori ma influisce sui più comuni LED GaAs e GaP. Con l'aumento della temperatura quindi assistiamo ad uno shift verso destra (aumento) della lunghezza d'onda di picco, solitamente di circa $0.35 \text{ nm}/^\circ\text{C} - 0.6 \text{ nm}/^\circ\text{C}$. Questa variazione, non essendo trascurabile, porta ad un errore nella misura di S_{pO_2} , sono perciò stati sviluppati nel tempo dei metodi per compensare questo surriscaldamento del sistema.

Il primo metodo consiste nel posizionare un sensore di temperatura in corrispondenza dei LEDs, il microprocessore è poi in grado di stimare quanto è stata spostata la curva per scegliere l'opportuno set di calibrazione per compensare l'errore. A questo metodo sono però associate due problematiche: la prima è che la λ di picco (sulla quale si basa il processore) non è esattamente quella dichiarata dal costruttore del LED; la seconda è che la corrente di alimentazione del LED rosso e del LED IR sono diverse, perciò lo saranno presumibilmente anche le loro temperature, il sensore misura quindi una media delle temperature dei LEDs, poiché influenzato, oltre che dalla temperatura ambientale, anche dalla temperatura di ciascun LED e della pelle del paziente.

Un secondo metodo è quello di misurare direttamente la corrente uscente dal diodo, il processore potrà poi stimare l'entità dello shift della curva e usare l'opportuno set di curve di calibrazione per compensarlo. In questo modo la

seconda problematica, legata alla misura diretta della temperatura, è eliminata; rimane però il problema della differenza tra la λ di picco dichiarata e quella effettiva. LED di qualità costruttiva superiore possono abbassare di molto l'errore legato a questo fenomeno.

Entrambe le tecniche richiedono l'aggiunta di sensori e collegamenti al sistema, aumentando inevitabilmente le dimensioni del sensore, problematica non trascurabile in questo tipo di sonda.

Soffermandosi nuovamente sul surriscaldamento, esso oltre a causare problemi strumentali, rischia di causare ustioni sulla pelle del paziente. Per evitare danni alla pelle il sensore non deve superare i 41 °C (tenendo conto di una temperatura media corporea di 37 °C). Normalmente, anche se sottoposti a correnti superiori al dovuto, questi diodi non superano i 39.7 °C, permettendo il loro utilizzo anche sui pazienti più giovani e anche in modo continuato per svariate ore.

Sofferamoci infine sulle caratteristiche costruttive dei LED. Questi sono solitamente inseriti all'interno di strutture in resina che garantiscono maggiore resistenza agli stress meccanici, a shock e a vibrazioni. Nella maggior parte dei casi sono inseriti in strutture rettangolari che li contengono entrambi (in modo da ridurre i costi di produzione), e la struttura complessiva ha dimensioni di circa 5mm x 4mm x 2mm.

4.2. Fotodiodo: caratteristiche e funzionamento

Il fotodiodo è un dispositivo in grado di generare una corrente proporzionale all'intensità del fascio di luce che colpisce la sua superficie. La luce emessa dai LEDs ad una certa intensità, viene captata dal fotodiodo dopo che è stata trasmessa o riflessa dai tessuti del paziente (a seconda del tipo di pulsossimetro che si sta utilizzando) e quindi raggiunge il fotodiodo con un'intensità presumibilmente inferiore. Una volta che è stata generata la corrente da quest'ultima si ottiene una differenza di potenziale, utilizzata come segnale di ingresso del sensore.

Vediamo nel dettaglio il funzionamento del fotodiodo a giunzione p-n:

Così come un normale diodo a giunzione p-n il fotodiodo è formato da due strati di semiconduttore adiacenti, uno drogato p e uno drogato n. Quando un fotone colpisce la superficie del diodo e viene assorbito si genera all'interno dello stesso una coppia elettrone-lacuna; poiché il fotone cede energia agli atomi del semiconduttore per espellere un elettrone. Una volta che queste coppie si sono formate gli elettroni che si trovano nella regione p attraversano

la regione svuotata per raggiungere la zona n, mentre le lacune che si trovano nella regione n attraversano la regione svuotata per raggiungere la zona p. Questo flusso di elettroni e lacune genera una corrente attraverso il diodo, che sarà proporzionale all'intensità della luce incidente. Un maggior numero di fotoni che raggiungono il diodo infatti generano un maggior numero di coppie elettrone-lacuna, e pertanto una corrente di intensità più elevata.

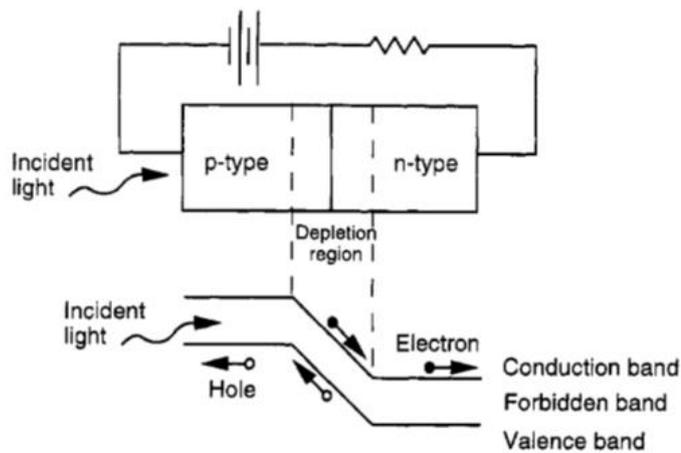


Fig.17) Migrazione di cariche all'interno del fotodiode in seguito all'incidenza di fotoni sulla superficie.

Il fotodiode può essere utilizzato sia in modalità fotovoltaica sia in modalità fotoconduttiva.

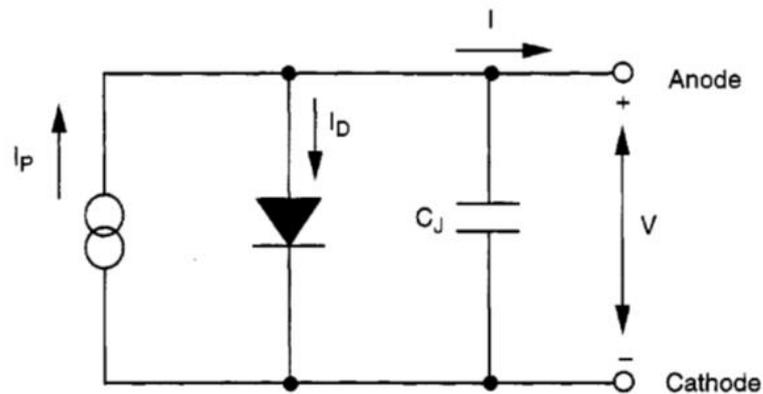


Fig.18) Circuito equivalente di un fotodiode a giunzione p-n.

In modalità fotovoltaica la luce genera una differenza di potenziale ai capi del fotodiode. Nella condizione di circuito aperto ($I=0$) la tensione in output dovuto all'intensità luminosa in input è data da:

$$V_{OC} = \frac{kT}{q} \ln \left(\frac{I_P}{I_D} + 1 \right)$$

Dove si ha che:

- I_P è la corrente generata dai fotoni incidenti;
- I_D è la forward current del diodo;
- k è la costante di Boltzmann;
- T è la temperatura assoluta;
- q è la carica di un elettrone.

In modalità fotoconduttiva il diodo genera una corrente indotta dalla luce incidente, con la tensione del fotodiode che si mantiene nulla o costante con il variare dell'intensità luminosa incidente. Nella condizione di circuito chiuso ($V=0$), la corrente generata è pari a:

$$I_{SC} = SE$$

Dove si ha che:

- S è la sensibilità (corrente generata per unità di intensità della luce incidente);
- E è l'intensità della luce che colpisce il diodo sull'unità di superficie.

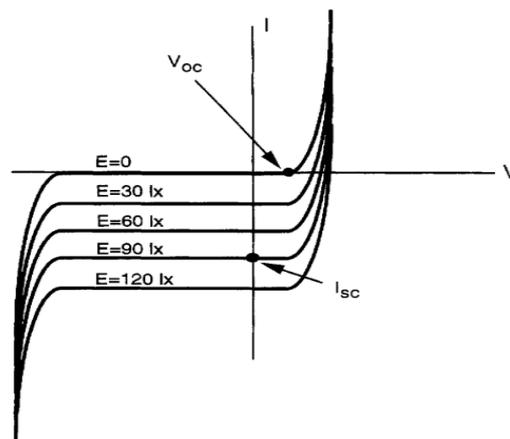


Fig.19) Curve caratteristiche (tensione- corrente), in funzione di varie intensità luminose incidenti per unità di superficie (espresse in lux = 1 lumen/m²)

I diodi a giunzione p-n sono solitamente utilizzati in modalità fotoconduttiva, poiché la relazione tra intensità della luce incidente e corrente generata è facilmente approssimabile ad una relazione lineare (come appena visto). Ovviamente, data la natura implicita del fotodiode la risposta in frequenza del sensore dipende dai materiali scelti per la costruzione del diode. I fotodiode a base di silicio hanno una buona risposta tra i 600 nm e i 1000 nm, pertanto sono adatti all'utilizzo nel pulsossimetro, dove i LEDs emettono rispettivamente a 660 nm e 940 nm, come si può notare in figura 20.

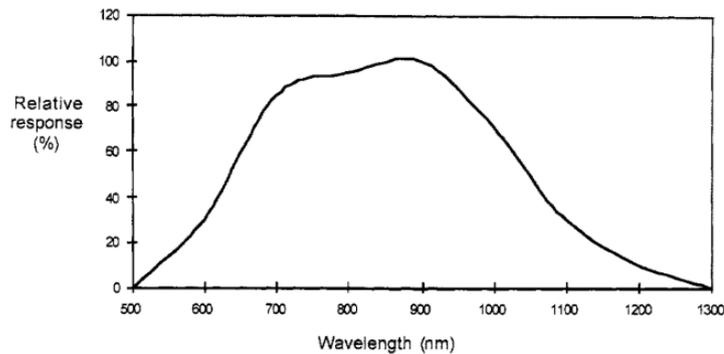


Fig.20) Risposta in frequenza del fotodiode Si, come può notare il picco di risposta copre in modo soddisfacente tutto il range necessario in saturimetria.

Oltre al fotodiode a giunzione p-n, un secondo tipo di fotodiode utilizzato all'interno del pulsossimetro è il diode di tipo p-i-n. Questo tipo di diode è simile al p-n ma possiede uno strato aggiuntivo di semiconduttore intrinseco, non drogato. Avendo perciò uno strato separatore tra regione p e regione n, ha una maggiore capacità elettrica C, che risulta in una risposta nel tempo più rapida rispetto ad un comune diode p-n.

Oltre alla capacità di giunzione ci sono altri parametri importanti per la caratterizzazione di un fotodiode. Uno di questi è la corrente di buio, cioè la corrente che scorre nel diode in assenza di luce. Questa corrente cresce al crescere della tensione inversa applicata o al crescere della temperatura.

La sensibilità del fotodiode, cioè l'intensità della corrente in output fratto l'intensità della luce incidente, viene calcolata utilizzando fonti di luce che generano fasci a intensità nota, come per esempio dei LEDs.

Inoltre anche i materiali costruttivi dell'unità che contiene il fotodiode ha requisiti specifici in saturimetria, infatti sia i costi che i materiali, che lo spazio occupato sono parametri fondamentali. I più utilizzati sono tre:

- *Can package*: il fotodiodo è montato su due steli metallici e ricoperto da uno strato trasparente in modo da permettere alla luce dei LEDs di raggiungerlo;
- *Ceramic stem package*: il fotodiodo è montato su due steli ceramici e ricoperto da uno strato in resina;
- *Resin mold package*: il fotodiodo è montato su un supporto e ricoperto da resina, in molti casi lo strato di resina è trasparente solo per determinate lunghezze d'onda, in modo da filtrare già in partenza la luce incidente.

4.2.1. Accorgimenti ottici per il miglioramento della misura

Dato che nella misura tramite pulsossimetro è coinvolto un fotodiodo è essenziale tenere conto di alcuni accorgimenti ottici per fare in modo che la luce che raggiunge il diodo sia in un determinato range di lunghezze d'onda e che il diodo sia raggiunto esclusivamente dalla luce che ha attraversato i tessuti del paziente.

Per la soluzione del primo problema il metodo più immediato è l'applicazione di filtri esterni, posti a monte del fotodiodo, in realtà questa opzione non è molto utilizzata, mentre è più frequente l'uso di resine o plastiche nella struttura esterna del fotodiodo, che filtrino la luce lasciandosi attraversare solo da determinate lunghezze d'onda, per esempio plastiche trasparenti che assorbono i raggi UV.

Per limitare invece la luce esterna che potrebbe colpire il fotodiodo, portandolo in saturazione ed impedendo qualsiasi tipo di misura, gli accorgimenti più basilari sono innanzitutto un buon posizionamento di LED – fotodiodo, inoltre si utilizzano anche barriere che oscurano le zone dalle quali può giungere la luce esterna. Infine è fondamentale l'utilizzo di materiali che non riflettano o che non retrodiffondano la luce, così da evitare rumore ed errori strumentali.

4.3. Amplificazione del segnale

Dato che il fotodiodo genera una corrente in output, questa dovrà essere convertita in una tensione in uscita per avere un segnale dalla facile elaborazione. Gli amplificatori più comunemente utilizzati nel pulsossimetro sono gli amplificatori a transimpedenza, o convertitori corrente-tensione.

4.3.1. Amplificatore a transimpedenza:

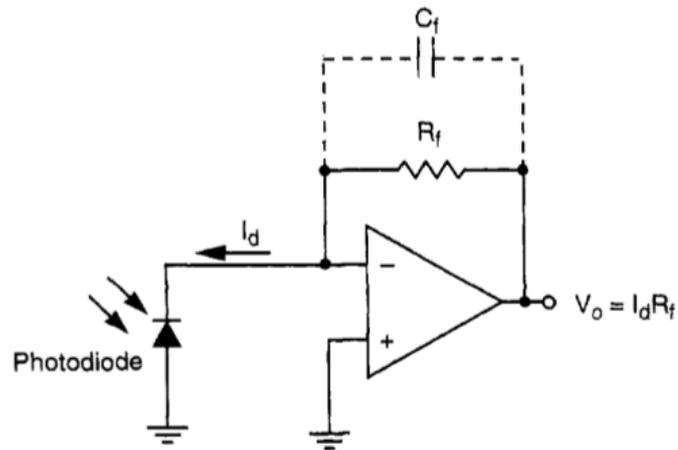


Fig.21) Tipica configurazione a transimpedenza

Come si può vedere in figura 21, dato che gli ingressi dell'amplificatore operazionale non assorbono corrente, la corrente del fotodiode I_d è uguale alla corrente che attraversa l'impedenza nel ramo di retroazione, inoltre la tensione a cavallo del diodo è 0 (si ricordi che il fotodiode è utilizzato in modalità fotoconduttiva), si può dire che $V_o = I_d \cdot Z_f$.

Dimensionamento impedenza di retroazione:

Per massimizzare il rapporto segnale/rumore è opportuno che il resistore in retroazione sia il più grande possibile, infatti questo è causa di rumore termico, dato che il guadagno cresce più velocemente (cresce con R anziché con $R^{1/2}$), si ha una dipendenza lineare del SNR da R :

$$E = \sqrt{4kTBR_f}$$

Dove si ha:

- E che è il rumore termico generato dal resistore;
- k è la costante di Boltzmann;
- T è la temperatura;
- B è la larghezza della banda del rumore;
- R_f è la resistenza di retroazione.

Altrettanto importante è la capacità di retroazione C_f . La scelta dell'opportuna capacità è fondamentale, poiché una C_f troppo elevata riduce di molto la banda passante. In generale, per fotodiodi in cui la capacità di giunzione è più elevata della capacità di retroazione (fotodiodi dall'elevata superficie), si può utilizzare la seguente legge:

$$C_f = \sqrt{\frac{C_I}{2\pi R_f f_c}}$$

Dove si ha che:

- C_I è la capacità di ingresso totale (data da capacità di giunzione del fotodiodo + capacità di ingresso dell'amplificatore operazionale);
- R_f è la resistenza di retroazione dell'amplificatore;
- f_c è la frequenza del guadagno unitario dell'amplificatore.

Dato che questo tipo di amplificatore è piuttosto sensibile ai disturbi di natura elettromagnetica, avendo una elevata impedenza di ingresso, è opportuno che il sistema sia ben schermato, fatta eccezione ovviamente per la zona sensibile del fotodiodo. Inoltre è opportuno ridurre al minimo la lunghezza dei collegamenti tra i resistori, per evitare di avere una maggior area soggetta a disturbo.

4.3.2. Amplificatore a transimpedenza differenziale:

Un'ottima soluzione è l'adozione di un amplificatore a transimpedenza differenziale. Come si può vedere in figura 22, la corrente in ingresso ai due amplificatori operazionali ha stesso modulo ma segno opposto, questo comporta due vantaggi:

- Essendo uguali le impedenze di retroazione si avrà una tensione di uscita doppia rispetto a quella che si otterrebbe con un singolo amplificatore operazionale. Questo vantaggio non viene tanto sfruttato per ottenere un'elevata tensione in uscita quanto per poter utilizzare impedenze di retroazione ridotte alla metà. Alte impedenze infatti sono più sensibili ai disturbi esterni.
- Dato che le correnti di ingresso hanno segno opposto, il rumore di modo comune (uguale per entrambi gli ingressi) si annulla sull'uscita, avendo stesso modulo ma segno differente.

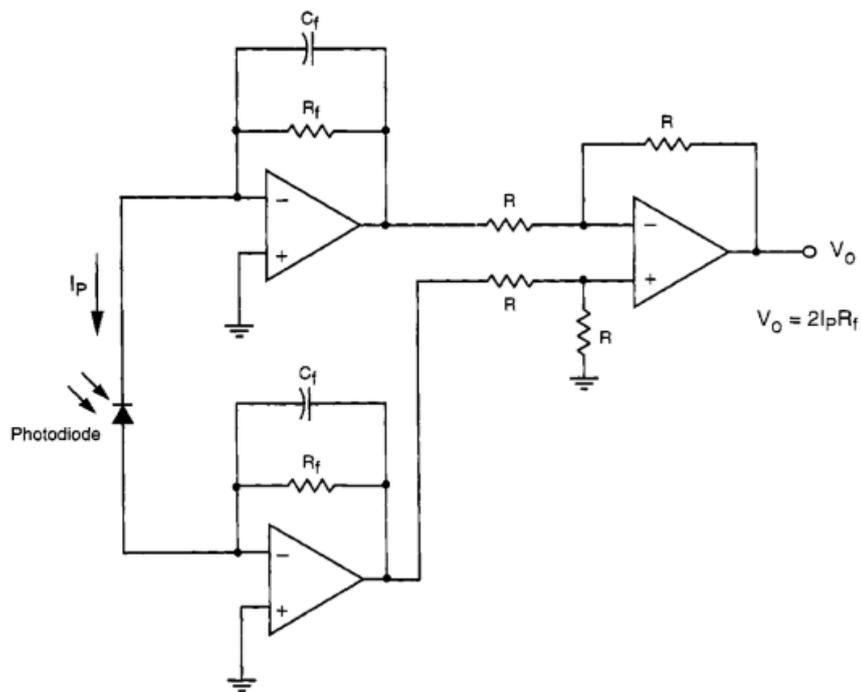


Fig.22) Amplificatore a transimpedenza differenziale.

4.3.3. Circuito di zero:

Il circuito di zero è un elemento fondamentale per il corretto funzionamento del pulsossimetro. È infatti necessario, in ogni misura tenere conto della luce ambientale che colpisce la superficie sensibile del fotodiode e che genera un rumore di fondo. Il funzionamento di questo circuito è piuttosto semplice, quando il LED emettitore si spegne, un interruttore FET si chiude e lascia che l'output generato dalla luce ambientale che colpisce il diodo carichi il condensatore. Quando poi il LED si accende l'interruttore FET si apre, lasciando che la tensione dovuta alla luce ambientale si scarichi attraverso la capacità, in tal modo la tensione uscente è data da quella entrante meno la tensione generata in precedenza a cavallo del condensatore. L'unica accortezza da avere è il corretto dimensionamento della costante di tempo RC, per permettere al condensatore di caricarsi completamente tra un'accensione del LED e la successiva.

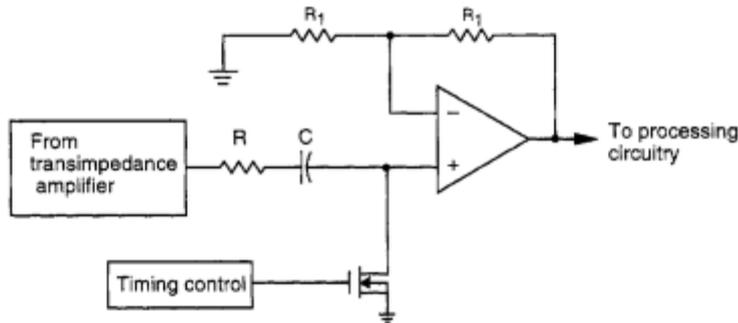


Fig.23) Esempio di circuito di zero per un pulsossimetro.

4.4. Tipologie di sonda

Sia a causa dell'evoluzione temporale dello strumento sia a seconda dell'uso che se ne deve fare in alcuni casi clinici, si possono adottare varie soluzioni, realizzando sonde di tipo diverso. In questo capitolo ne vedremo alcune, quelle principalmente in utilizzo.

4.4.1. Sonda a trasmissione:

Questa sonda sfrutta la trasmissione della luce attraverso l'estremità per misurare la saturazione dell'ossigeno nel sangue. In questo caso come visto in precedenza si hanno due LEDs, con picco di emissione rispettivamente a $\lambda = 660 \text{ nm}$ e $\lambda = 940 \text{ nm}$. I LEDs sono alimentati alternatamente, cosicché il fotodiode (posto al lato opposto dell'estremità del paziente) sia colpito da un fascio di luce ad una precisa λ . La luce che attraversa il tessuto viene attenuata poiché è assorbita da pelle, ossa e muscoli presenti nell'estremità, unico interesse lo si ha per l'assorbimento dovuto al sangue. Con il battito cardiaco la quantità di sangue che passa nei vasi cambia periodicamente, per questo quando nel vaso è presente più sangue si avrà una maggiore attenuazione della luce dei LEDs, mentre quando il vaso è meno pieno la luce trasmessa è maggiore. Tale variazione periodica è sfruttabile per la misura della frequenza cardiaca.

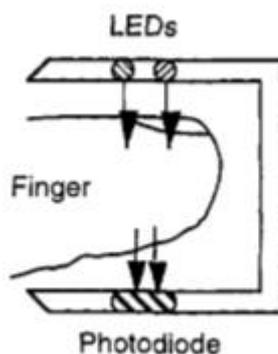


Fig.23) Un tipico pulsossimetro a trasmissione.

Proprio per questo motivo è opportuno che la il fotodiode sia ben in linea con i LEDs e che il fotodiode sia il più vicino possibile al tessuto, senza però che la sonda comprima l'estremità, limitando così eventuali flussi di sangue. La maggioranza dei pulsossimetri ha un meccanismo a clip che si applica comodamente al dito, consentendo una presa salda sull'estremità del paziente senza stringere eccessivamente il tessuto.

4.4.2. Sonda a riflessione:

Quando il saturimetro a trasmissione non è utilizzabile, per esempio se la sonda è inserita in un particolare dispositivo, si può utilizzare una sonda a riflessione. Un esempio di questo tipo di pulsossimetro è quello che viene utilizzato nei moderni smartphone. Un pulsossimetro a riflessione può infatti essere posto nella scocca posteriore permettendo la misura semplicemente appoggiandovi sopra il polpastrello del dito.

Questa sonda pertanto misura l'intensità della luce riflessa anziché emessa, quindi i LEDs e il fotodiode sono posti affiancati anziché di fronte, essendo tutti e due dallo stesso lato dell'estremità. Solitamente la misura avviene sulla fronte o sulla tempia, ma uno dei vantaggi di tale sistema è che estende la misura a praticamente qualsiasi parte del corpo, anche quelle non contenibili all'interno di una clip.

Ovviamente tale soluzione richiede dei particolari accorgimenti, i LEDs ed il fotodiode devono essere posti ad una precisa distanza, così da avere un angolo di riflessione ottimale.

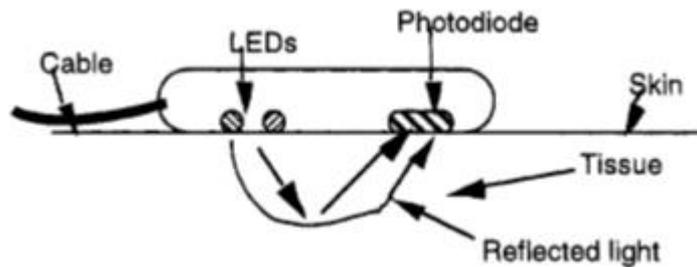


Fig.24) Struttura di un pulsossimetro a riflessione.

Per ottenere la misura voluta è necessario che il diodo sia raggiunto sia dalle componenti di luce pulsatile di minima intensità, sia da quelle di massima intensità. Se il fotodiode è troppo vicino ai LEDs verrà saturato dalle componenti di luce continua riflessa da tutti i tessuti dell'estremità. Più ci si allontana invece e più si affievolisce l'intensità massima della luce pulsatile dovuta alla variazione della quantità di sangue nei vasi (quest'ultimo è il segnale luminoso di interesse). La soluzione migliore è pertanto quella di preferire una maggiore distanza tra LEDs e fotodiode per evitare la saturazione dello stesso, utilizzando però una buona alimentazione dei LEDs in modo da avere più luce emessa e pertanto dei picchi più alti nella luce pulsatile riflessa. Un'ulteriore soluzione è quella di utilizzare un maggior numero di fotodiodi, in modo da coprire una regione più vasta per la detezione della luce riflessa.

4.4.3. Sonde MRI:

Talvolta, per motivi clinici, è opportuno effettuare una misura della S_pO_2 durante un'indagine di risonanza magnetica. Purtroppo i campi magnetici ad elevata intensità coinvolti causano errori di lettura nello strumento, inoltre i collegamenti metallici tra sonda e paziente possono causare ustioni della pelle. Per questo sono state sviluppate speciali sonde adatte ad un'indagine di tipo MRI (Magnetic Resonance Imaging). Le componenti elettroniche in questo caso sono tenute a distanza dal campo magnetico, così come LEDs e fotodiode. La luce giunge dal LED all'estremità del paziente tramite un cavo a fibra ottica, lo stesso avviene per la luce trasmessa/riflessa che deve giungere al fotodiode. Il campo magnetico ha infatti un impatto trascurabile sui cavi a fibra ottica e la misura si mantiene pressochè invariata rispetto a condizioni normali.

È infine opportuno distinguere tra sonde riutilizzabili e sonde non riutilizzabili. In alcuni casi la zona del paziente sulla quale applicare il sensore richiede l'applicazione di sonde adesive, che una volta utilizzate vengono buttate. Nella

maggior parte dei casi però le sonde sono clip in plastica e possono essere comodamente riutilizzate su più pazienti.

4.5. Valutazioni finali sull'utilizzo del pulsossimetro in ambiente clinico

4.5.1. Vantaggi legati all'utilizzo del pulsossimetro:

L'utilizzo di questo strumento ha rivoluzionato particolarmente il campo dell'anestesiologia, grazie proprio al monitoraggio in tempo reale e alla non invasività. Infatti l'anestesista, che deve "prendere il controllo" del sistema respiratorio del paziente, in passato utilizzava parametri meno affidabili e meno immediati per il monitoraggio, che subiscono un sostanziale cambiamento nei valori solo dopo che si è raggiunto lo stato di ipossia, e quindi quando già si stanno verificando danni ai tessuti.

La parte del corpo nella quale viene solitamente posizionato il pulsossimetro è la punta del dito poiché il flusso sanguigno viene limitato dapprima nelle zone periferiche, in modo da preservare l'irrorazione agli organi centrali. Per lo stesso motivo la misura è a volte effettuata anche sul lobo dell'orecchio. Il valore di SpO₂ che dovrebbe avere un soggetto sano è del 96% ~ 98%, un problema a livello di ossigenazione è possibile se il valore di SpO₂ scende sotto la soglia del 90%; proprio per questo motivo negli strumenti utilizzati nelle stanze per il ricovero, allo scendere dei parametri sotto la soglia si attiva un allarme acustico che avvisa il personale dell'emergenza. Questo tipo di monitoraggio, pur non identificando la causa che sta a monte del basso livello di SpO₂, può identificare malfunzionamenti della strumentazione ospedaliera o l'errato posizionamento di tubi endotracheali, generando così falsi allarmi.

Momenti fondamentali per il monitoraggio del paziente sono quindi le operazioni chirurgiche e le poche ore successive all'operazione. Il pulsossimetro è tuttavia di straordinaria utilità anche nel periodo del ricovero, durante questo lasso di tempo infatti le capacità respiratorie del paziente potrebbero non essere ancora del tutto ripristinate ed è necessario un monitoraggio costante della SpO₂.

Spostandoci temporalmente al di fuori del periodo operatorio e postoperatorio il saturimetro risulta comunque essere uno strumento utile, nel campo della ricerca infatti è largamente utilizzato, come per esempio nello studio dell'apnea durante il sonno.

4.5.1.1. Fotopletismografo:

L'immediatezza di visualizzazione dei segnali uscenti dal saturimetro è consentita anche dal fatto che nella maggior parte dei casi esso è accoppiato ad un fotopletismografo, ovvero un dispositivo che riporta graficamente l'andamento della S_pO_2 misurata, riportando direttamente il segnale rilevato dal pulsossimetro. L'unica problematica legata a tale strumento è che risente fortemente di artefatti dovuti al movimento del paziente, eliminabili tuttavia tramite un'opportuno processo di filtraggio passa-basso del segnale in ingresso. Comunemente questo strumento è in grado di estrapolare in tempo reale anche la frequenza cardiaca, riportandola costantemente sul display.

4.5.2. Limiti del saturimetro:

Il saturimetro, pur essendosi affermato come principale strumento per il monitoraggio della S_pO_2 , ha alcuni limiti sia strumentali che di applicazione. Innanzitutto questo strumento ha un basso rapporto segnale rumore (SNR), cioè il rapporto tra segnale utile e disturbo non è ottimale. Un opportuno studio dell'elettronica tuttavia può migliorare di molto tale parametro.

Un ulteriore problema è legato al possibile posizionamento errato della sonda da parte degli operatori o del paziente stesso, oltre che agli artefatti dovuti al movimento.

Come già visto la bassa perfusione impedisce il corretto riconoscimento della componente pulsante, riducendo ulteriormente il rapporto SNR visto in precedenza. Oltretutto la leggerissima pulsazione venosa viene riconosciuta dallo strumento come pulsazione arteriosa, causando una leggera sovrastima della componente pulsatile.

Anche la pigmentazione della pelle e altre caratteristiche uniche in ogni paziente causano piccole variazioni dei valori, generando errori che sono difficilmente compensabili.

L'ultimo problema è legato all'utilizzo di elettrobisturi e indagini di risonanza magnetica. Qualsiasi altro strumento o macchinario che possa interferire con l'elettronica del pulsossimetro genera errori che in alcuni casi possono anche rendere non valida la misura. Per questo però sono state sviluppate altre sonde, come la già citata sonda MRI.

Bibliografia

- [1] John G. Webster, *Design of Pulse Oximeters*, Medical Science Series, IOP Publishing Ltd, 1997.
- [2] John Moyle, *Pulse Oximetry (Principles and Practice)*, 2nd Edition, BMJ Books, 2002.
- [3] Meir Nitzan, Ayal Romem, Robert Koppel, *Pulse oximetry: fundamentals and technology update*, Dove Medical Press Limited, 2014.
- [4] Jianchu Yao, M.S. and Steve Warren, *Pulse Oximeter Design*, Ph.D. Department of Electrical & Computer Engineering, Kansas State University Manhattan, USA.
- [5] Texas Instruments Incorporated, *Miniaturized Pulse Oximeter Reference*, 2014, Dallas, Texas.

Sitografia

- [1] www.pianetachimica.it
- [2] www.nonin.com
- [3] www.beurer.com
- [4] <https://en.wikipedia.org>
- [5] www.thoracic.org