

OPTISCHE MESSUNG VON HÄMOGLOBINDERIVATEN IN NICHT-HÄMOLYSIERTEM HUMANEM VOLLBLUT

BENJAMIN REDMER, BODO NESTLER

Einführung

Die Blutgasanalyse ist ein bedeutender Teil der klinischen Diagnostik. Zusätzlich zu den typischen Parametern pH, pO₂, pCO₂, K⁺, Ca²⁺, Cl⁻ oder Na⁺ können mit einer Oximetrie-Einheit ausgestattete Geräte auch eine Analyse des Hämoglobin-Status des Patienten durchführen. Der Protein-Komplex Hämoglobin ist in den roten Blutkörperchen in hoher Konzentration vorhanden und für die rote Farbe des Blutes verantwortlich. Er ist in der Lage, Sauerstoff zu binden und diesen wieder an die Zellen abzugeben. Neben den physiologisch vorkommenden Varianten wie desoxygeniertem (Hb) und oxygeniertem (O₂Hb) Hämoglobin können aufgrund von genetischen Defekten, Arzneimitteln oder Krankheiten auch pathologische Formen auftreten. Diese als Methämoglobin (MetHb), Carboxyhämoglobin (COHb) oder Sulfhämoglobin (SHb) bezeichneten Varianten können ihre ursprüngliche Aufgabe, den Transport von lebenswichtigem Sauerstoff, nicht mehr erfüllen.

Bei der optischen Konzentrationsbestimmung klinisch relevanter Hämoglobin-Derivate sind Streuprozesse an den roten Blutkörperchen eine große messtechnische Einschränkung, da sie die zugrundeliegenden Transmissionsmessungen überlagern. Deshalb erfolgt die Messung bei auf dem Markt befindlichen Geräten bisher nur in hämolysiertem Blut. Als Hämolyse wird die Zerstörung der roten Blutkörperchen vor der Analyse mittels Ultraschall, Druck oder chemischer Substanzen bezeichnet. Das in ihnen enthaltene Hämoglobin verteilt sich anschließend gleichmäßig in der gesamten Probe.

Diese Methode weist jedoch einige Nachteile auf. Sie macht eine Aufbereitung der Probe vor der Analyse erforderlich. Die Hämolyse muss auf ihre Vollständigkeit hin überwacht werden und führt zu einer irreversiblen Veränderung der Probe, was für nachfolgende Analysen ein Ausschlusskriterium darstellt. Ein Wegfall der Hämolyse würde neben einer Vereinfachung des Analyseprozesses auch das notwendige Probenvolumen reduzieren, wodurch sich weitere Vorteile für die Notfallmedizin und die Neonatologie ergeben.

Aus diesem Grund soll im Projekt „Hämoxytmetrie in Vollblut“ ein Konzept entwickelt werden, mit dem die Konzentrationen der wichtigsten Hämoglobin-Derivate auch ohne Hämolyse zuverlässig in Vollblut bestimmt werden können. Dieser Artikel stellt zunächst die notwendigen Grundlagen vor und geht anschließend auf den verwendeten experimentellen Aufbau sowie einen Ansatz für die Modellierung der optischen Konzentrationsbestimmung ein.

Grundlagen

Als Grundlage der optischen Konzentrationsbestimmung mittels Absorptionsspektroskopie dient die stoffspezifische Abschwächung bestimmter Wellenlängen. Der Extinktionskoeffizient gibt dabei das Ausmaß der Abschwächung beim Durchdringen des jeweiligen Mediums an. Für die bedeutendsten Hämoglobin-Varianten sind die Extinktionskoeffizienten ϵ in Abbildung 1 dargestellt.

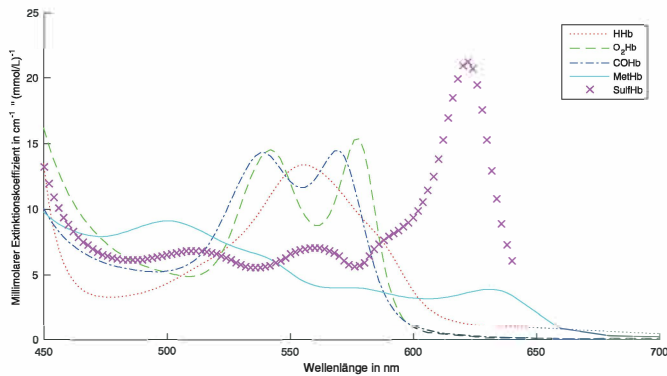


Abbildung 1. Millimolare Extinktionskoeffizienten der wichtigsten Hämoglobin-Derivate [1]

Über das Lambert-Beer'sche-Gesetz

$$I = I_0 \cdot e^{-\epsilon \cdot c \cdot d}$$

kann bei bekannter Weglänge d durch das Medium und bekannter Intensität ohne absorbierendes Medium I_0 die Konzentration der Substanz c berechnet werden. Dies gilt jedoch nur für homogene Medien mit vernachlässigbarer Streuung.

In Vollblut befindet sich nahezu das gesamte Hämoglobin innerhalb der roten Blutkörperchen. Da es einen größeren Brechungsindex besitzt als das umgebende Blutplasma, wird Licht an der Grenzschicht gestreut. Wird nur das durch die Probe transmittierte Licht betrachtet, kann einfach oder mehrfach gestreutes Licht nicht von unbeeinflusstem Licht unterschieden werden. Diese bei der Lichtausbreitung in trüben Medien relevanten physikalischen Effekte sind in Abbildung 2 dargestellt.

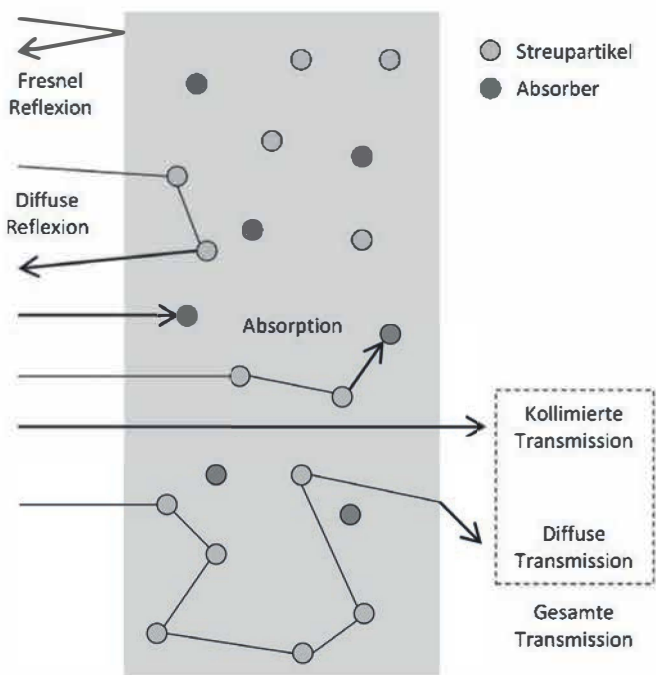


Abbildung 2. Lichtausbreitung in trüben Medien

Der Anteil an gestreutem Licht hängt dabei von verschiedenen Größen ab [2]:

- Das Strömungsverhalten hat Einfluss auf Sedimentation, Verklumpung, Verformung und Orientierung der roten Blutkörperchen. Es kommt zu einer axialen Migration der Zellen, da sich die Zellen in der Mitte des Blutstroms schneller als in den äußeren Schichten bewegen.
- Änderungen der Osmolarität führen aufgrund des Austauschs von Wasser zu Abweichungen im Zellvolumen. Dadurch ändert sich die Hämoglobinkonzentration und somit der Brechungsindex.
- Der Hämatokrit gibt das Verhältnis der Volumenanteile von roten Blutkörperchen zum Blutplasma an und hat dadurch einen signifikanten Einfluss auf die optischen Eigenschaften von Blut.

Viele dieser Größen sind bei der Messung nicht bekannt. Aus diesem Grund kann der Anteil der Streuung an der Abschwächung bei Transmissionsmessungen nicht zuverlässig bestimmt werden. Rückschlüsse auf die Konzentrationen der verschiedenen Hämoglobin-Derivate sind folglich nicht möglich.

Konzeptentwicklung

In dem Projekt „Hämoxymetrie in Vollblut“ soll ein Konzept entwickelt werden, mit dem die Konzentrationen der wichtigsten Hämoglobin-Derivate auch ohne Hämolyse zuverlässig in Vollblut bestimmt werden können. Um alle notwendigen Messgrößen für eine mathematische Modellierung der Abhängigkeiten erfassen zu können ist ein experimenteller Aufbau notwendig.

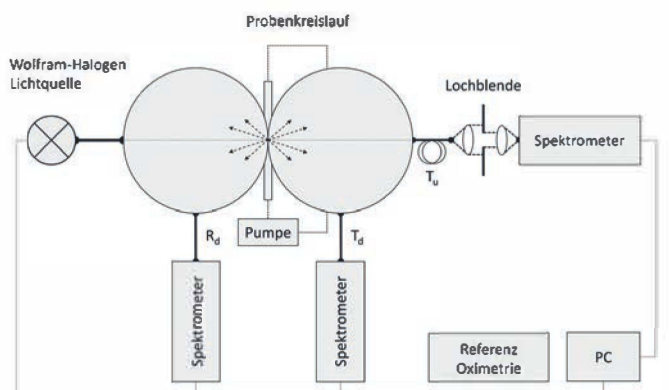


Abbildung 3. Schematische Darstellung des experimentellen Aufbaus

Abbildung 3 zeigt diesen Aufbau schematisch. Als Strahlungsquelle dient eine stabilisierte Wolfram-Halogen-Lampe, mit der die in Abbildung 1 dargestellten relevanten Spektralbereiche der Hämoglobin-Derivate abgedeckt werden.

Die Blutprobe fließt kontinuierlich durch eine Küvette mit 100 μm optischer Weglänge. Zwei Ulbricht-Kugeln sammeln die rück- und vorwärtsgestreute Strahlung. Die Messung der Intensitäten von diffuser Reflexion R_d , diffuser Transmission T_d und kollimierter Transmission T_c erfolgt mit mehreren Spektrometern. Die Komponenten sind über Lichtwellenleiter verbunden.

Aus den Messgrößen R_d , T_d und T_c werden mittels der Inverse Adding-Doubling - Methode (IAD) die optischen Parameter μ_s , μ_a und g im Spektralbereich von 400 bis 1000 nm bestimmt. Diese beschreiben die Lichtausbreitung in der Blutprobe nach der Strahlungstransportgleichung [3, 4].

Die verschiedenen Einflussgrößen werden anschließend schrittweise variiert und ihr Einfluss auf die optischen Parameter bestimmt. Anhand dieser Daten werden spektrale Bereiche gewählt, die besonders ausgeprägt sind und spezifisch mit der schrittweisen Variation einzelner Größen korrelieren. Die Änderungen bei den entsprechenden Wellenlängen stellen somit die bestmögliche Beschreibung der Abhängigkeit der optischen Parameter von den Einflussgrößen dar. Idealerweise ergeben sich dabei eine oder mehrere lineare Abhängigkeiten. Die Verknüpfung der spektralen Änderungen mit den zugehörigen Konzentrationen erfolgt anschließend über ein multivariantes Regressionsverfahren.

Da die Messungen sehr umfangreich sind, stellen Simulationen am Computer eine denkbare Alternative dar. Verschiedene Arbeiten lassen eine prinzipielle Anwendbarkeit solcher Methoden - beispielsweise der T-Matrix Methode [5] - für die Berechnung der optischen Parameter aus einem Satz definierter Einflussgrößen vermuten.

Fazit und Ausblick

Geplant ist, die korrekte Funktionsweise des in Abbildung 3 dargestellten Messaufbaus zunächst anhand von Messungen an Intralipid®-Emulsionen und durch den Vergleich mit Literaturwerten zu überprüfen. Parallel soll die Anwendbarkeit von theoretischen Modellen - insbesondere der Simulation mittels der T-Matrix Methode - näher untersucht werden. Optische Messungen dienen anschließend dazu, die Simulationen entweder zu bestätigen oder abzulehnen. Ist eine theoretische Modellierung ungeeignet, wird mithilfe der Messungen eine Datenbank erstellt, welche die Abhängigkeiten der optischen Parameter von verschiedenen Einflussgrößen beschreibt. Bei den multivariaten Regressionsverfahren muss im Anschluss geprüft werden, welches der verfügbaren Verfahren die besten Ergebnisse liefert und mit welchen Parametern dies der Fall ist. In Hinblick auf ein späteres Funktionsmuster für die Blutgasanalyse kann an dem Messaufbau untersucht werden, ob alle Messgrößen gleichermaßen bedeutend für die Bestimmung

der Konzentrationen sind. Für das im Projekt „Hämoxymetrie in Vollblut“ zu entwickelnde optische Analysemodul ergeben sich daher viele aufeinander aufbauende Fragestellungen, die mit dem hier skizzierten Versuchsaufbau untersucht und beantwortet werden sollen.

Danksagung

Diese Publikation ist ein Ergebnis der laufenden Arbeiten in einem vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie (BMWi) geförderten Projekt der Fachhochschule Lübeck und der Eschweiler GmbH & Co. KG, Kiel, mit der Förderkennziffer KF 2947 705 TS 4.

Literatur

- [1] W. G. Zijlstra, A. Buursma, und O. W. van Assendelft, „Visible and near infrared absorption spectra of human and animal haemoglobin“, Utrecht, 2000. ISBN 90-6764-317-3.
- [2] A. Roggan, M. Friebel, K. Dörschel, A. Hahn, und G. Müller, „Optical properties of circulating human blood in the wavelength range 400-2500 nm“, Journal of Biomedical Optics, Vol. 4, No. 1, 1999.
- [3] S. Prahl, „Everything I think you should know about Inverse Adding-Doubling“, 2011.
- [4] J. W. Pickering, C. J. M. Moes, H. J. C. M. Sterenborg, S. A. Prahl, und M. J. C. van Gemert, „Two integrating spheres with an intervening scattering sample“, Journal of the Optical Society of America, Vol. 9, No. 4, 1992.
- [5] Annika M. K. Enejder, Johannes Swartling, Prakasa Aruna, and Stefan Andersson-Engels, „Influence of cell shape and aggregate formation on the optical properties of flowing whole blood“, Applied Optics, Vol. 42, No. 7, March 2003.

Autoren

Benjamin Redmer, M.Sc.
 Fachhochschule Lübeck
 Medizinische Sensor- und Gerätetechnik
 (korrespondierender Autor)

Mönkhofer Weg 239
 23562 Lübeck
 E-Mail: benjamin.redmer@fh-luebeck.de

Prof. Dr. rer. nat. Bodo Nestler
 Fachhochschule Lübeck
 Medizinische Sensor- und Gerätetechnik

IMPRESSUM

HERAUSGEBER

Präsidium der Fachhochschule Lübeck
Mönkhofer Weg 239
23562 Lübeck
www.fh-luebeck.de

REDAKTION

Autoren/-innen
Schlussredaktion:

Prof. Dr.-Ing. Stephan Klein
Labor für Medizinische Sensor- und Gerätetechnik
Fachhochschule Lübeck
www.msgt.fh-luebeck.de

Frank Mindt, M.A.
Pressestelle
Fachhochschule Lübeck
Telefon: 0451 300 - 5305
Fax: 0451 300 - 5470
E-mail: presse@fh-luebeck.de

SATZ UND LAYOUT

Thowo - Thorben Wolkowski
E-mail: info@thowo.de
www.thowo.de

FOTOS

Autoren/-innen, Pressestelle

ISSN 1618 5528

AUFLAGE
600 Exemplare