



UNIVERSITÀ  
DEGLI STUDI  
DI PADOVA



## UNIVERSITÀ DEGLI STUDI PADOVA

DIPARTIMENTO DI INGEGNERIA DELL'INFORMAZIONE

CORSO DI LAUREA TRIENNALE IN INGEGNERIA BIOMEDICA

### **'LE NUOVE TECNOLOGIE PER IL MONITORAGGIO NON INVASIVO IN CONTINUA DEL GLUCOSIO'**

**Relatore:**

Prof. Andrea Facchinetti

**Laureando:**

Edoardo Melison

---

ANNO ACCADEMICO 2022-2023



# Indice

<b>1 Il diabete mellito</b>	<b>4</b>
1.1 Epidemiologia	4
1.2 Fisiopatologia	5
1.2.1 Il diabete di tipo 1	6
1.2.2 Il diabete di tipo 2	6
1.3 Le complicanze del diabete	7
<b>2 Il monitoraggio della glicemia</b>	<b>8</b>
2.1 L'importanza del monitoraggio del glucosio	8
2.2 Il monitoraggio attraverso dispositivi pungidito	9
2.3 Metodi per il continuous glucose monitoring	9
2.2.2 Dispositivi CGM minimamente invasivi	10
2.2.3 Dispositivi non invasivi	11
<b>3 Spettroscopia ottica</b>	<b>12</b>
3.1 Spettroscopia ottica: caratteri generali	12
3.2 Spettroscopia NIR	13
3.2.1 Le problematiche della spettroscopia NIR	15
3.3 Spettroscopia MIR	16
3.3.1 Le problematiche della spettroscopia MIR	17
3.4 Spettroscopia Raman	18
3.4.1 Le problematiche della spettroscopia Raman	20

<b>4 Spettroscopia fotoacustica</b>	<b>21</b>
4.1 Spettroscopia fotoacustica: caratteri generali	21
4.2 Integrazione spettroscopia PA e MIR	22
<b>5 Rilevamento elettromagnetico</b>	<b>24</b>
5.1 Rilevamento elettromagnetico: caratteri generali	24
5.2 Metodi e progettazione	25
<b>6 Altri metodi</b>	<b>27</b>
6.1 Sensore capacitivo	27
6.2 Integrazione di tre diverse tecniche di monitoraggio	29
<b>Conclusioni</b>	<b>31</b>
<b>Bibliografia</b>	<b>33</b>

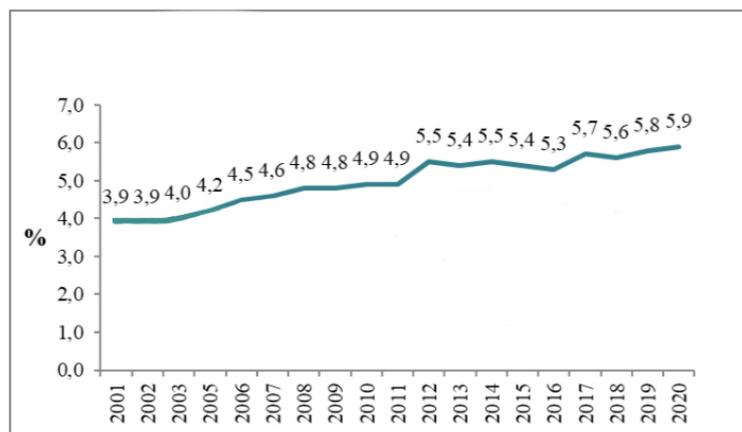


# CAPITOLO 1:

## IL DIABETE MELLITO

### 1.1 Epidemiologia

Il diabete mellito è tra le prime dieci malattie letali a livello globale e, secondo le stime dell'Organizzazione Mondiale della Sanità (OMS), circa 530 milioni di persone ne soffrono in tutto il mondo, numero destinato a salire a 640 milioni nel 2030. Questo numero, tuttavia, potrebbe anche essere molto più elevato, a causa dell'indisponibilità di infrastrutture adeguate/efficienti e dell'assenza di disponibilità a controlli preventivi tra la popolazione. L'Italia rispecchia l'andamento globale del diabete: in base ai dati ISTAT del 2022 si stima una prevalenza del diabete pari al 6% (oltre i 3,5 milioni di persone), con un trend in lento aumento negli ultimi anni (figura 1.1).



**Figura 1.1:** Prevalenza del diabete in Italia dal 2001 al 2020

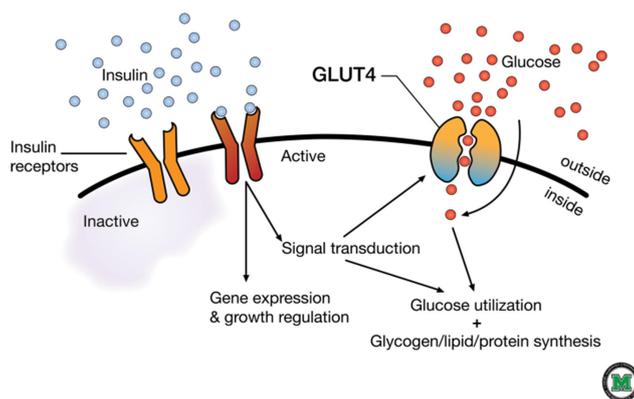
Il diabete è una malattia ad elevato impatto economico, sia a livello statale (20 miliardi di euro in Italia tra spese dirette ed indirette), sia a livello individuale (2700 euro tra ospedalizzazioni e complicanze diabetiche, arrivando a sfiorare i 6000 euro annui con visite specialistiche, assistenza e spese farmaceutiche). Questa malattia assorbe, quindi, l'11% della spesa sanitaria italiana ed alla singola persona il 15-20% dello stipendio annuale. Sono valori altissimi, che non sono diminuiti negli ultimi 15 anni, nonostante i progressi tecnologici raggiunti.

## 1.2 Fisiopatologia

Il diabete mellito è una malattia del metabolismo, che è l'insieme delle reazioni biochimiche che avvengono all'interno dell'organismo e che consentono i processi fisiologici vitali. E' caratterizzata da una persistente instabilità del livello glicemico nel sangue, passando da una condizione di iperglicemia (concentrazione di glucosio nel sangue superiore a 170-180mg/dl), molto più frequente, ad una condizione di ipoglicemia (concentrazione di glucosio nel sangue inferiore a 70mg/dl).

La glicemia nel corpo umano è regolata principalmente da due ormoni secreti dal pancreas: l'insulina, secreta in risposta ad un innalzamento del livello glicemico, che ha un effetto ipoglicemizzante (abbassa il livello del glucosio nel sangue) ed il glucagone, secreto in risposta ad un abbassamento del livello glicemico, che di contro ha un effetto iperglicemizzante (alza il livello di glucosio nel sangue).

L'insulina ha un ruolo fondamentale nell'organismo: gli zuccheri assunti attraverso il cibo (derivanti per esempio da pasta, frutta e dolci), durante la digestione si trasformano in glucosio; l'insulina fa sì che le cellule possano assorbirlo, al fine di ottenere energia per il metabolismo cellulare ed immagazzinarlo per un uso futuro. Dal punto di vista funzionale, sulla membrana cellulare sono presenti dei recettori di insulina, i quali, una volta attivati, mandano un segnale ai trasportatori del glucosio (GLUT) che, inserendosi nella membrana cellulare, agiscono per l'appunto da trasportatori (figura 1.2). Quando la concentrazione ematica di glucosio si normalizza e l'insulina viene eliminata, le molecole di GLUT vengono lentamente rimosse dalla membrana plasmatica e ritornano per endocitosi nel citoplasma.



**Figura 1.2:** *La captazione del glucosio*

Il diabete può essere classificato in diverse forme: le due principali sono il diabete di tipo 1 e il diabete di tipo 2; esiste poi il diabete gestazionale dovuto a sconvolgimenti ormonali legati alla gravidanza e tipi di diabete indotti da farmaci (steroidi, beta-bloccanti, antipsicotici) o causati da patologie del pancreas esocrino.

### **1.2.1 Il diabete di tipo 1**

Il diabete di tipo 1 (T1D) colpisce circa il 10% dei soggetti affetti da diabete e la sua incidenza negli ultimi anni è in forte aumento, con un incremento annuale del 2-3%. Viene considerata una malattia autoimmune, in quanto è generata dalla distruzione autoimmune delle cellule  $\beta$  delle isole di Langerhans del pancreas. La mancanza delle  $\beta$ -cellule non consente la rilevazione di glucosio nel sangue, di conseguenza l'insulina non viene rilasciata nel flusso ematico e così viene meno la capacità delle cellule di assorbire glucosio. Perciò il paziente ha bisogno di ricevere, attraverso iniezioni quotidiane, le dosi di insulina per poter sopravvivere.

La velocità di distruzione delle cellule è variabile, per cui l'insorgenza della malattia può avvenire più velocemente in determinate persone, solitamente nei bambini e negli adolescenti e più lentamente invece negli adulti.

Ancora non si conosce la causa scatenante del T1D, ma caratteristica è la presenza nel sangue di anticorpi diretti contro elementi delle cellule che producono l'insulina. Questo processo è probabilmente innescato da uno o più fattori ambientali in soggetti il cui sistema immunitario è predisposto a sviluppare una reazione autoimmune contro un antigene danneggiato della cellula  $\beta$ . L'osservazione che il rischio di T1D è aumentato di 10 volte nei parenti e di 50 volte nei gemelli monozigoti dei diabetici di tipo 1 supporta l'ipotesi di una suscettibilità genetica allo sviluppo della malattia.

### **1.2.2 Il diabete di tipo 2**

Il diabete di tipo 2 (T2D) è la forma più comune di diabete, rappresenta infatti circa il 90% dei casi di questa malattia. A differenza del T1D il pancreas è in grado di produrre l'insulina, ma si riscontra una difficoltà nei tessuti periferici (quali tessuti scheletrici, cervello e fegato) di utilizzarla. La causa è ancora ignota. Il risultato, anche nel T2D, è un aumento del livello del glucosio nel sangue al di sopra dei valori normali.

A differenza del T1D, i sintomi si sviluppano gradualmente e non sono molto evidenti. Essi sono: aumento della sete, stanchezza, tagli o ferite a guarigione lenta, minzione frequente, visione offuscata.

I fattori genetici svolgono nel T2D un ruolo ancora più importante che nel T1D. Infatti, la concordanza per il T2D tra gemelli monozigoti è del 70-90%; i soggetti con un genitore affetto da diabete hanno un rischio di sviluppare la malattia durante la vita del 38%, con un aumento al 60% se entrambi i genitori sono diabetici. Inoltre, il rischio di sviluppare il T2D aumenta con l'età (solitamente si manifesta dopo i 30-40 anni), con la presenza di obesità (circa l'80% dei soggetti affetti da T2D sono obesi) e con la mancanza di attività fisica. Tali fattori permettono di mettere in atto strategie di prevenzione, con possibilità di diminuire il rischio di incorrere nella malattia.

### 1.3 Le complicanze del diabete

Le complicanze diabetiche si possono dividere in complicanze acute o a breve termine, e complicanze croniche o a lungo termine.

Le complicanze acute sono meno frequenti, ma più pericolose, perché provocano danni che possono risultare fatali per il paziente in poco tempo. Una delle complicanze più comuni è la chetoacidosi diabetica, che si instaura in presenza di deficit insulinico, quindi nel caso di T1D all'esordio, o di un non corretto impiego della terapia insulinica (sospensione o riduzione). Si manifesta con nausea, vomito, crampi muscolari, anoressia ed addominalgia. I segni clinici di chetoacidosi diabetica sono caratterizzati da poliuria (produzione e secrezione di grandi quantità di urine), tachicardia, ipotensione, respiro profondo e frequente, disidratazione e alito acetone. Nei casi più gravi può progredire fino all'edema cerebrale, al coma ed al decesso.

Le complicanze croniche, invece, sono più frequenti, ma si sviluppano in un tempo più lungo. I livelli di glucosio troppo alti nel sangue per un periodo prolungato causano il restringimento dei vasi. Ciò avviene perché sulla parete dei piccoli vasi si accumulano sostanze derivanti da zuccheri complessi, che causano l'ispessimento e la rottura dei vasi stessi, oppure perché l'aumento delle sostanze grasse nel sangue favorisce l'aterosclerosi, con conseguente riduzione del flusso sanguigno nei vasi più grandi. Il rischio di sviluppare complicanze vascolari aumenta con la durata del diabete; tuttavia, poiché il diabete di tipo 2 ha spesso una lunga fase di iperglicemia silente, le complicanze possono essere già presenti al momento della diagnosi. Possono interessare diversi organi e tessuti, tra cui gli occhi, i reni, il fegato e i vasi sanguigni. La retinopatia diabetica, ad esempio, consiste in lesioni dei vasi oculari che irrorano la retina, lesioni che possono portare alla perdita della vista. Nella nefropatia diabetica, invece, i reni presentano alterazioni funzionali che nel tempo possono richiedere la dialisi od il trapianto di rene. La steatosi epatica, comune nei pazienti diabetici, è una condizione che porta alla formazione di depositi di grasso nel fegato; in alcuni casi può progredire in malattie epatiche più gravi, come la cirrosi. L'aterosclerosi, che è 2-4 volte più frequente nei pazienti diabetici, può determinare lesioni permanenti in quasi tutti gli organi principali (cuore, cervello, reni, nervi...) e, nel peggiore dei casi, causare ictus o infarto.

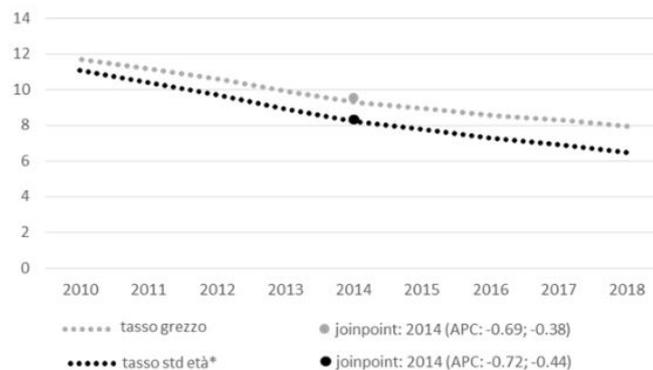
## CAPITOLO 2: IL MONITORAGGIO DELLA GLICEMIA

### 2.1 L'importanza del monitoraggio del glucosio

Il monitoraggio del glucosio consiste nella misurazione in tempo reale dei livelli di glicemia nel sangue, attraverso l'uso di dispositivi dedicati, siano essi dispositivi pungidito, che effettuano singole misurazioni, o sensori per il monitoraggio in continua (CGM, dall'inglese Continuous Glucose Monitoring System).

Il monitoraggio del glucosio è di fondamentale importanza per le persone affette da diabete, poiché aiuta a mantenere sotto controllo i livelli di zucchero nel sangue e prevenire eventuali complicanze. Attraverso iniezioni calibrate, ad esempio prima dei pasti, i pazienti riescono a far fronte alla carenza di insulina, permettendo di conseguenza alle loro cellule di utilizzare il glucosio appena assunto.

Il 4-5% circa delle ospedalizzazioni totali riguarda proprio pazienti diabetici ed è una percentuale che, però, anno dopo anno, decresce costantemente, nonostante il progressivo aumento di persone diabetiche (figura 2.1). Ciò grazie alle ricerche ed agli avanzamenti tecnologici in questo campo, che permettono al paziente di monitorare in modo autonomo ed in tempo reale la glicemia e di intervenire, se necessario.



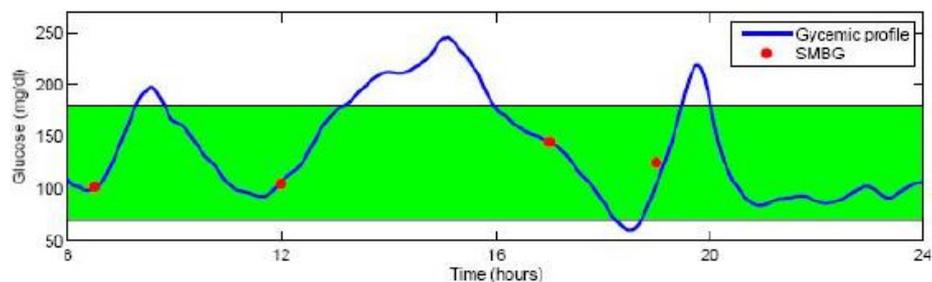
**Figura 2.1:** *Tasso di ospedalizzazione per diabete in Italia*

Per tali ragioni, negli ultimi due decenni sono stati pubblicati numerosi articoli di ricerca su vari tipi e tecniche di CGM, volti a migliorare la qualità della rilevazione, oltre a renderla il meno invasiva possibile per il paziente.

## 2.2 Il monitoraggio attraverso dispositivi pungidito

I primi dispositivi per il monitoraggio della glicemia sono stati introdotti negli anni ottanta e consentivano al paziente di misurare i livelli di glicemia in modo autonomo: erano detti Self Monitoring of Blood Glucose (SMBG). Tali dispositivi sono ancora in commercio e consistono in un ago pungi-dito che, attraverso una piccola puntura capillare, preleva una goccia di sangue dal polpastrello. La misurazione del tasso glicemico avviene tramite la quantificazione della reazione enzimatica di ossidazione del glucosio (attuata grazie all'enzima glucosio ossidasi), in proporzione alla sua concentrazione nel sangue. Il valore così determinato viene visualizzato su un display e ciò consente al paziente di calcolare la quantità di insulina da iniettarsi. È un metodo doloroso, soprattutto per pazienti diabetici che devono ripetere l'operazione 3-5 volte al giorno, tutti i giorni.

Presenta una limitazione importante: l'SMBG spesso non permette di calcolare eventi di ipoglicemia e iperglicemia. L'andamento del tasso glicemico non è lineare, bensì varia in modo drastico durante l'arco di tutta la giornata, a causa di attività fisica, pasti e terapia farmacologica. Questa limitazione è ben evidenziata nella figura 2.2: la linea blu rappresenta l'andamento del livello glicemico nel paziente, la zona in verde rappresenta l'intervallo di normalità (70-180mg/dl) e i punti rossi rappresentano le singole misure SMBG. Si può evidenziare subito come i tre eventi di iperglicemia (alle 9.30,13,19.30) e quello di ipoglicemia (alle ore 18.30) non siano stati notati dal paziente.



**Figura 2.2:** Esempio di limitazione dell'SMBG

Per questo la ricerca si è spinta verso la produzione di nuovi dispositivi che siano in grado di effettuare misurazioni più frequenti (in maniera quasi continua), riducendo al contempo l'invasività della procedura.

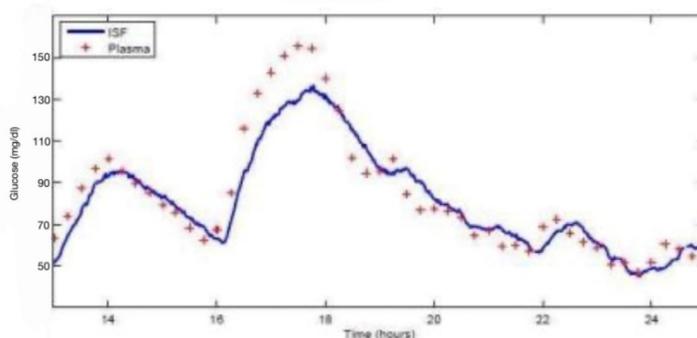
## 2.3 Metodi per il continuous glucose monitoring

Dal punto di vista tecnologico, i sensori CGM possono essere divisi in 2 categorie: dispositivi minimamente invasivi e dispositivi non invasivi.

### 2.3.1 Dispositivi CGM minimamente invasivi

A partire dagli anni duemila, sono stati introdotti nel mercato nuovi dispositivi, che misurano la concentrazione di glucosio non direttamente nel sangue, ma nel fluido interstiziale, dove le sostanze nutritive, tra cui il glucosio, diffondono dal vaso sanguigno prima di essere assorbite dalle cellule.

Tali dispositivi sono costituiti da un sensore impiantato sottocute, solitamente nel braccio, da un dispositivo tascabile in grado di memorizzare ed elaborare i dati ricevuti dal sensore e comunicati via cavo o con tecnologia wireless (nei dispositivi più recenti), con un display portatile (solitamente viene portato al polso). Chiaramente, essendo il sensore impiantato nel fluido interstiziale, necessita di una calibrazione per consentire di calcolare approssimativamente la misura di glucosio nel sangue. Numerosi studi, infatti, evidenziano come il tasso glicemico misurato nel fluido interstiziale sia una versione distorta di quello misurato nel sangue, come riportato in figura 2.3.1.



**Figura 2.3.1:** Confronto tra misurazione plasmatiche (rosso) e misurazioni CGM

Sono diversi i fattori che causano lo sfasamento (temporale ed in ampiezza); tra questi, la diversa distribuzione di glucosio nei vasi sanguigni, la permeabilità del glucosio e le variazioni di rilascio degli ormoni dal pancreas. Negli ultimi due decenni sono stati sviluppati modelli teorici che simulano la correlazione e l'andamento temporale dei livelli di glucosio tra sangue e plasma, ottenendo risultati straordinari, che permettono di calibrare i dispositivi CGM in modo quasi perfetto.

Gli attuali dispositivi in commercio effettuano misurazioni ogni 1-5 minuti per periodi che arrivano oltre i 7 giorni, dando informazioni su direzione, ampiezza, durata, frequenza e cause delle fluttuazioni della glicemia. L'informazione fornita dai sensori CGM si è dimostrata, nel corso degli ultimi anni, essenziale per mantenere quanto più possibile la glicemia di individui affetti da T1D all'interno del range [70-180]mg/dl.

Alcuni esempi di dispositivi attualmente in commercio sono: Dexcom G6 CGM (Dexcom, San Diego, CA), Eversense® E3 (Ascensia Diabetes Care, Svizzera) e Freestyle CGM (Abbott, Alameda, CA).

### 2.3.2 Dispositivi non invasivi

I dispositivi non invasivi per il monitoraggio della glicemia, sia esso in continua o no, rappresentano il presente ed il futuro in questo settore. Sono ancora oggi in fase di sviluppo, data la loro complessità e, nonostante i risultati già ottenuti, ci vorranno ancora parecchi anni per il loro perfezionamento, volto essenzialmente a migliorarne la qualità.

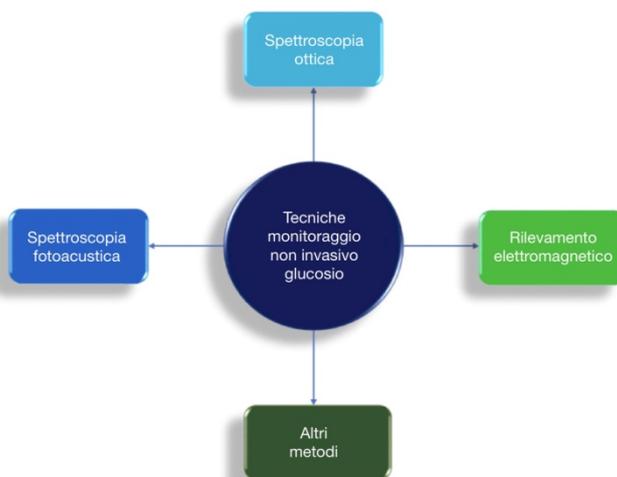
A differenza dei dispositivi CGM minimamente invasivi, che effettuano la misurazione del glucosio nell'interstizio, quelli non invasivi vanno ad analizzare l'indice glicemico in altri biofluidi, come lacrime, urina, saliva o sudore. Come nel caso dell'interstizio, la concentrazione di glucosio in questi biofluidi è correlata con quella nel sangue e, quindi, anche qui i sensori richiedono una precisa calibrazione.

Nonostante i progressi ottenuti nell'ultima decina di anni, solo una minima percentuale di pazienti (meno del 10%) utilizza questa tipologia di sensore e ciò per due motivi: l'elevato costo e la minor sensibilità ed affidabilità rispetto ai dispositivi convenzionali.

I dispositivi CGM non invasivi hanno la stessa struttura dei minimamente invasivi: un sensore ed un dispositivo wireless che elabora e trasmette i dati ad un display. L'unica differenza è che il sensore non è impiantato sottocute, bensì a seconda della tipologia, si trova appoggiato in diverse parti del corpo.

Grazie alle ricerche ed agli studi effettuati in questi ultimi anni, esistono numerose e differenti tecniche di monitoraggio non invasivo del glucosio, distinte sulla base del metodo di rilevamento del glucosio stesso. Poche, però, sono state realmente sviluppate.

Come schematizzato nella figura 2.3.2 e come verrà esposto nei prossimi paragrafi, le principali metodologie sono tre: la spettroscopia ottica, la spettroscopia fotoacustica ed il rilevamento elettromagnetico.



**Figura 2.3.2:** Le principali tecniche CGM

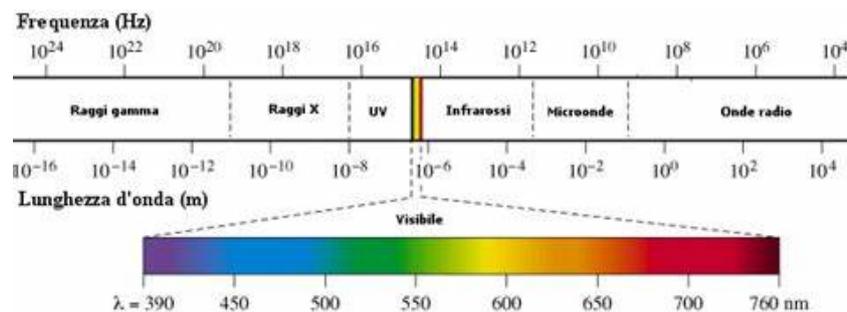
## CAPITOLO 3: SPETTROSCOPIA OTTICA

### 3.1 Spettroscopia ottica: caratteri generali

La spettroscopia, grazie alla sua ottima qualità di misura, tra tutti, è il metodo più popolare per il monitoraggio non invasivo della glicemia: si basa sulle proprietà ottiche del glucosio e dei tessuti attraversati, riuscendo a stimare l'indice glicemico tramite la risposta specifica di onde elettromagnetiche con diverse lunghezze d'onda.

I sensori ottici CGM sono costituiti da una sorgente di radiazione luminosa, un rilevatore ed un trasduttore che ha lo scopo di convertire la radiazione luminosa in un segnale elettrico, utilizzato poi per calcolare la misura voluta. In base alla frequenza d'onda utilizzata, si possono usare due differenti tecniche: di riflessione e di trasmissione; questo influenza la posizione del rilevatore, che, nel caso si utilizzi una tecnica di riflessione, si viene collocato nello stesso lato della sorgente, altrimenti, viene posizionato dal lato opposto.

La spettroscopia ottica utilizza naturalmente radiazioni non ionizzanti, ovvero onde elettromagnetiche che non provocano la ionizzazione della materia e garantiscono, quindi, l'incolumità del paziente. Le onde principalmente utilizzate in questo metodo hanno una lunghezza di 430-780nm nella banda visibile dello spettro elettromagnetico, mentre un range di 780nm-1mm, se ci si trova nella banda dell'infrarosso.



**Figura 3.1:** *Diagramma dello spettro elettromagnetico*

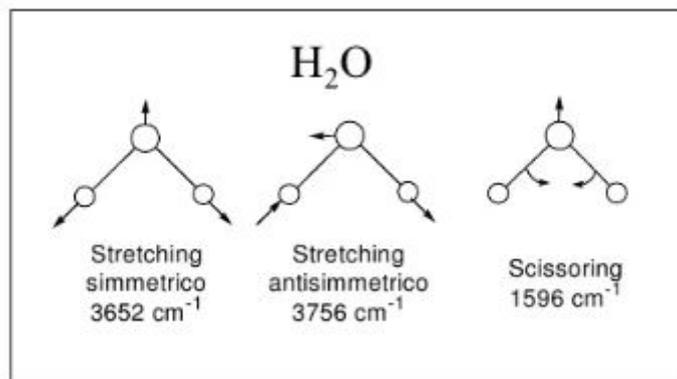
Le tecniche ottiche (come verrà analizzato nei prossimi paragrafi) si dividono in base alla lunghezza d'onda della radiazione luminosa incidente.

### 3.2 Spettroscopia NIR

L'applicabilità della spettroscopia NIR si è evoluta negli ultimi due decenni grazie a miglioramenti significativi nell'analisi spettrale e nella strumentazione. Infatti, questo metodo trova applicazione non solo nel calcolo dell'indice glicemico, ma anche in altri campi, quali: l'analisi degli alimenti (per determinare le composizioni chimiche e le proprietà fisiche dei composti bioattivi), l'agricoltura (per il controllo della qualità) o lo studio dei materiali (per misurare lo spessore dei film di campioni microscopici ed analizzare le caratteristiche ottiche di nano-particelle e rivestimenti ottici). Il suo ampio utilizzo trova ragione nel fatto che si tratta di una tecnica accurata, a basso costo, non reattiva e facilmente implementabile.

La spettroscopia NIR, detta anche spettroscopia nel vicino infrarosso, è un metodo che si basa sull'utilizzo di radiazioni luminose, in particolare di radiazioni la cui lunghezza d'onda varia tra i 750nm e i 2500nm. La lunghezza d'onda così bassa permette di penetrare molto più in profondità (0,5 mm) rispetto a lunghezze d'onda più alte e ciò costituisce un grosso vantaggio, perché ben il 90-95% del fascio luminoso riesce a raggiungere la zona con alta concentrazione ematica, senza grosse dispersioni dovute allo strato corneo e all'epidermide.

La spettroscopia NIR è una tecnica di spettroscopia vibrazionale: l'interazione delle onde elettromagnetiche con le molecole bersaglio, stimola il grado di libertà interno (DOF, dall'inglese Degree Of Freedom) di quest'ultime, ovvero, i legami delle molecole bersaglio iniziano a vibrare a frequenze diverse a seconda del tipo e dell'energia dei legami, permettendo così di ottenere informazioni quantitative e qualitative del bersaglio. Nel caso in cui le molecole bersaglio vengano colpite da una radiazione con la lunghezza d'onda corrispondente alla loro frequenza vibrazionale, passano da uno stato iniziale 'rilassato' ad uno stato 'eccitato', con la conseguente formazione di una banda di assorbimento nello spettro. In questo modo si riesce a differenziare le molecole e le relative concentrazioni.



**Figura 3.2:** Esempio dei modi vibrazionali della molecola H<sub>2</sub>O

Questa reazione può essere quindi utilizzata per misurare la concentrazione di gruppi funzionali come C-H, N-H, C=O e O-H presenti nel sangue. Le molecole di glucosio contengono legami C-H e C=O, quindi l'assorbimento e la riflessione delle onde NIR possono essere sviluppate per rilevare la concentrazione di glucosio nel sangue.

Il fenomeno dell'assorbimento è spiegato dalla legge di Lambert-Beer, che descrive la radiazione trasmessa o riflessa in funzione della profondità, in ipotesi che l'effetto della diffusione sia trascurabile rispetto all'assorbimento:

$$I(x) = I_0 \cdot e^{-\varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot x}$$

Dove  $I(x)$  è l'intensità luminosa in funzione della profondità  $x$ ,  $I_0$  è l'intensità luminosa iniziale,  $\varepsilon(\lambda)$  è il coefficiente di attenuazione, che varia in funzione della lunghezza d'onda della radiazione incidente e  $c$  la concentrazione della molecola assorbente. Questa legge descrive la radiazione trasmessa o riflessa in funzione della profondità, in ipotesi che l'effetto della diffusione sia trascurabile rispetto all'assorbimento.

Nello studio per la concentrazione di glucosio, è importante una sua derivazione, in particolar modo l'assorbanza, definita come:

$$A = \ln\left(\frac{I_0}{I(x)}\right) = \varepsilon(\lambda) \cdot c \cdot x$$

L'assorbanza risulta fondamentale perché è direttamente proporzionale alla concentrazione della molecola assorbente. Di conseguenza, tramite l'assorbanza è possibile risalire alla concentrazione di glucosio nella zona colpita dal fascio di radiazioni.

Il NIR può essere suddiviso in tre regioni, in base alla larghezza della banda: LW-NIR (dall'inglese Long Weight NIR) con un range di 1400-2000nm, MW-NIR (Mid Weight NIR) con un range di 750-1400nm e SW-NIR (Short Weight NIR). La regione LW-NIR è la più studiata e la più utilizza per il CGM, perché consente di ottenere delle bande di assorbimento più nitide, dal momento che contiene le frequenze fondamentali dei primi toni delle vibrazioni di C-H e O-H. Al contrario, le zone con più elevata larghezza di banda, sono meno studiate perché a causa di una dispersione maggiore, si ha una minor nitidezza delle bande.

### 3.2.1 Le problematiche della spettroscopia NIR

Esistono una serie di problematiche per l'applicazione in vivo della spettroscopia NIR per la misurazione del glucosio. Tra esse: le variazioni di temperatura, l'assorbimento da parte di altre molecole e la diffusione della radiazione da parte dei tessuti biologici.

La radiazione emessa dalla sorgente, prima di arrivare alla molecola bersaglio, subisce variazioni di temperatura, le quali influenzano le misurazioni di assorbimento ottico. Per ovviare a questo problema è necessario misurare la temperatura corporea attraverso specifici sensori ed inserirla in opportuni algoritmi che ne compensino l'effetto. In tal modo, i sensori presenti nei rilevatori compensano l'effetto della variazione di temperatura, ottenendo una misura più attendibile.

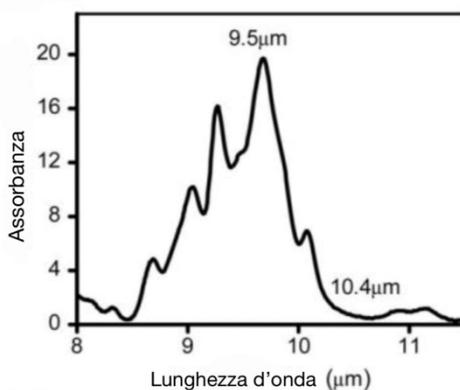
Un secondo problema è l'assorbimento da parte di altre molecole, che vanno ad influire l'assorbimento descritto dalla legge di Lambert-Beer. Prima di arrivare al glucosio presente nel flusso ematico la radiazione elettromagnetica incontra altre molecole presenti sia nel sangue, sia nei tessuti biologici attraversati. Il coefficiente di assorbimento (dato dal prodotto tra il coefficiente di attenuazione e la concentrazione della molecola assorbente) si calcola considerando tutte le molecole assorbenti che la radiazione incontra nel suo percorso. Per risolvere questo problema bisogna selezionare delle lunghezze d'onda adatte, che attenuino l'effetto di assorbimento delle molecole indesiderate e di contro accentuino l'effetto di assorbimento da parte del glucosio.

L'ultimo problema a cui bisogna prestare attenzione è la diffusione della radiazione da parte dei tessuti biologici, che rende inefficace il modello descritto dalla legge di Lambert-Beer. Infatti, il coefficiente di attenuazione, in questo caso, non sarebbe in funzione soltanto della lunghezza d'onda incidente, ma anche di tutti i coefficienti di assorbimento delle molecole assorbenti incontrate e dei rispettivi coefficienti di diffusione. Come nella problematica precedente, una soluzione per ovviare al fenomeno di diffusione della luce è la selezione di specifiche lunghezze d'onda. Diversi studi hanno dimostrato come l'intensità della luce diffusa è inversamente proporzionale con il coefficiente di attenuazione effettivo, il quale a suo volta è legato in modo proporzionale con la lunghezza d'onda della radiazione incidente. Di conseguenza, è d'obbligo selezionare una lunghezza d'onda abbastanza elevata, che permetta di ridurre l'intensità della luce diffusa.

Dunque, la progettazione di un sensore per la misurazione del glucosio che sfrutta la spettroscopia NIR deve rispettare il modello descritto da Lambert-Beer, prestando attenzione ad utilizzare lunghezze d'onda che accentuino l'effetto di assorbimento del glucosio ed al contempo che attenuino l'effetto di assorbimento delle altre molecole ed abbastanza elevate per ridurre i fenomeni di diffusione.

### 3.3 Spettroscopia MIR

La spettroscopia MIR, detta anche spettroscopia nel medio infrarosso, così come la spettroscopia NIR, è un metodo utilizzato per il calcolo della glicemia basato sull'assorbimento delle radiazioni elettromagnetiche nel tessuto biologico. Come dice il nome stesso, lavora nel medio infrarosso, quindi a lunghezze d'onda comprese tra i 2500nm e i 10000nm. Questa lunghezza d'onda, a differenza di quella utilizzata nella spettroscopia NIR, non permette di penetrare molto in profondità (raggiunge una profondità massima di 100 $\mu$ m), ma riscontra un miglior assorbimento da parte del glucosio. Ciò porta ad una miglior nitidezza dello spettro d'assorbimento della molecola d'interesse (figura 3.3), eliminando più facilmente i contributi delle altre molecole assorbenti che danno luogo ad interferenza.



**Figura 3.3:** *Spettro d'assorbimento spettroscopia MIR*

Dal punto di vista fisico la spettroscopia MIR è anch'essa una tecnica di spettroscopia vibrazionale, ma rispetto a quella vista nella spettroscopia NIR, le lunghezze d'onda rispetto alle quali si osservano le vibrazioni, riguardano una regione specifica dello spettro, detto regione delle impronte digitali. Uno studio pubblicato nel 2018 dal 'Biomedical Optics Express' osserva, in particolare, come possano essere utilizzate anche solo tre lunghezze d'onda per il rilevamento del glucosio ed in questo caso il coefficiente di correlazione tra il valore misurato e il valore reale è il più elevato.

Dal punto di vista matematico il fenomeno dell'assorbimento è spiegato dalla legge di Lambert-Beer ed anche in questo caso è di fondamentale importanza il calcolo dell'assorbanza, sempre proporzionale alla concentrazione della molecola assorbente.

Dal punto di vista pratico la progettazione è analoga a quella vista nel paragrafo 3.2 riguardante la spettroscopia NIR: prevede l'utilizzo di un rilevatore posto dallo stesso lato della sorgente per captare la radiazione riflessa, dal momento che il metodo di riflessione è l'unico utilizzabile a causa della scarsa penetrazione.

### 3.3.1 Le problematiche della spettroscopia MIR

Anche la spettroscopia MIR presenta alcune problematiche da risolvere prima dell'applicazione in vivo, tra le quali l'assorbimento delle radiazioni da parte dell'acqua e quelle descritte nel precedente paragrafo 3.2.1, inerenti alla spettroscopia NIR, ma presenti anche nella spettroscopia MIR in modo pressoché analogo, come vedremo nel dettaglio in questo paragrafo.

Il glucosio costituisce una minima parte (circa lo 0,1%) del plasma sanguigno, mentre l'acqua ne è il componente più abbondante, arrivando ad una percentuale del 50%. Utilizzando lunghezze d'onda maggiori rispetto alla spettroscopia NIR, l'acqua ha un grosso impatto sull'assorbimento della radiazione incidente, riducendo la profondità a cui può arrivare la radiazione. Un'idea, studiata anche per la spettroscopia NIR, potrebbe essere quella di utilizzare una lunghezza d'onda che minimizzi l'effetto di assorbimento dell'acqua, ma non è percorribile poiché l'effetto di assorbimento dell'acqua è costante in tutto il range di lunghezza d'onda utilizzato dalla spettroscopia MIR. La soluzione è, invece, quella di utilizzare una lunghezza d'onda che massimizzi l'assorbimento del glucosio, che è massimo nella regione delle impronte digitali (lunghezza d'onda da 8000nm a 9800nm). Misurando la radiazione anche dove l'effetto del glucosio è minimo è possibile sfruttare le due misure per arrivare al reale assorbimento della molecola bersaglio.

Per quanto riguarda la variazione di temperatura che la radiazione subisce, come nel caso della spettroscopia NIR, è sufficiente misurare la temperatura corporea attraverso specifici sensori ed inserirla in opportuni algoritmi che ne compensino l'effetto.

A differenza della spettroscopia NIR, nella spettroscopia MIR il problema riguardante l'assorbimento da parte di molecole diverse dal glucosio non è così rilevante. Infatti, con questa tecnica, come descritto nel paragrafo precedente, si ottengono degli spettri di assorbimento con picchi distinti ed elevati. Di conseguenza, la selezione di una lunghezza d'onda specifica per l'assorbimento del glucosio non è d'obbligo.

Anche il problema riguardante la diffusione della radiazione incidente viene meno, essendo la spettroscopia MIR una tecnica che lavora con lunghezze d'onda abbastanza elevate.

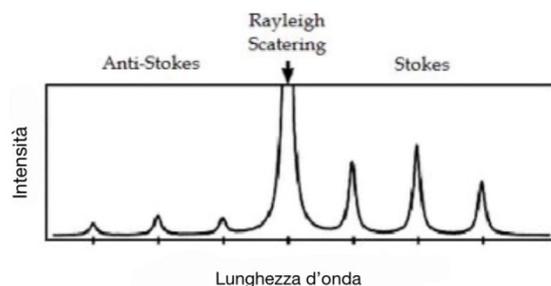
Riassumendo, anche nella spettroscopia MIR, è di fondamentale importanza, durante la progettazione del sensore, selezionare una lunghezza d'onda appropriata, in modo da evitare l'interferenza delle altre molecole ed allo stesso tempo è necessario controllare costantemente la temperatura corporea nel sito di analisi per non ottenere misurazioni sbagliate.

### 3.4 Spettroscopia Raman

La spettroscopia RAMAN è una tecnica che si basa sull'interazione radiazione/materia: la radiazione emessa da un fascio laser interagisce con la molecola che inizia a ruotare ed a vibrare, con un conseguente fenomeno di ri-emissione di luce a lunghezza d'onda diversa da quella incidente.

La tecnica si basa sull'effetto Raman: se una luce monocromatica colpisce il bersaglio, questo ri-emette raggi in tutte le direzioni. Una parte dei raggi viene ri-emessa in modo elastico (senza perdita di energia) con la stessa lunghezza d'onda della radiazione incidente, cosiddetta Diffusione Elastica o Scattering Rayleigh; una parte dei raggi più esigua viene, invece, ri-emessa in modo anelastico, acquisendo energia dall'interazione con la molecola, vibrando così a lunghezza d'onda diversa, cosiddetta diffusione anelastica o Scattering Raman Stokes.

L'intensità della radiazione diffusa dipende dunque sia dallo scattering elastico, sia dallo scattering anelastico e questi dipendono, a loro volta, dalla struttura chimica delle molecole bersaglio. La diffusione Rayleigh, essendo più probabile, dà un contributo maggiore nell'intensità luminosa; le radiazioni Stokes e anti-Stokes sono invece meno intense e si posizionano simmetriche rispetto alla frequenza eccitatrice (le radiazioni Stokes sono definite come la differenza tra la radiazione emessa dal campione e quella emessa dalla sorgente).



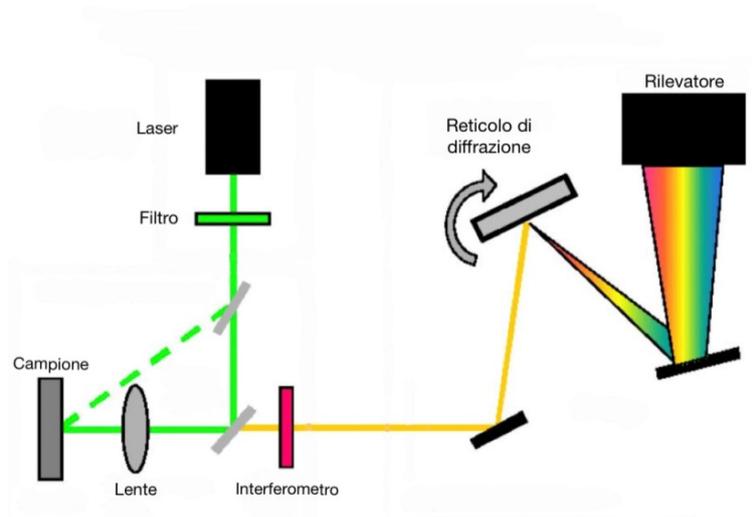
**Figura 3.4.1:** Esempio di spettro di luce diffusa

Nel caso della diffusione anelastica, avviene una modifica sia della lunghezza d'onda, sia della frequenza della luce ri-emessa: questa variazione è detta spostamento Raman. In dettaglio avviene che i fotoni della luce incidente cedono parte della loro energia agli elettroni delle molecole bersaglio, permettendo loro di passare da un livello energetico minore ad uno maggiore.

La due variazioni sono quindi strettamente legate alla concentrazione molecolare dei tessuti biologici attraversati, di conseguenza, rilevando le specifiche bande di assorbimento, è possibile quantificare la concentrazione ematica della molecola di interesse (glucosio).

Dal punto di vista pratico i sensori che sfruttano la spettroscopia Raman sono costituiti principalmente da: una sorgente luminosa, che indirizza la radiazione verso il campione; lenti, che costituiscono il sistema di campionamento ed hanno lo scopo di raccogliere il segnale ed indirizzarlo verso il filtro, che separa il segnale Raman dalla componente di luce diffusa. Si tratta di un sistema di rilevazione che, fino a qualche anno fa, era un fotomoltiplicatore, oggi, però, sostituito da rilevatori più moderni.

Si ha la possibilità di inserire un interferometro che consente un effetto additivo e permette di ottenere lo spettro finale, sommando tutti gli spettri calcolati con lunghezze d'onda differenti, sfruttando in questo modo tutta la potenza della sorgente. L'utilizzo dell'interferometro, però, presenta l'inconveniente che distribuisce su tutto lo spettro anche il rumore, cosa che non permette di avere una misurazione attendibile al 100%.



**Figura 3.4.2:** *Struttura generale di un sensore Raman*

Tutte le altre componenti possono variare in funzione del tipo di sorgente. La spettroscopia Raman può, infatti, utilizzare diverse lunghezze d'onda, che variano dall'UV al vicino infrarosso. Tuttavia, per il calcolo della concentrazione di glucosio, come nel caso della spettroscopia NIR e MIR, vengono utilizzate lunghezze d'onda dell'infrarosso; in particolare è preferibile quella del NIR, che permette di arrivare in maggior profondità, dove la concentrazione ematica di glucosio è più elevata.

### 3.4.1 Le problematiche della spettroscopia Raman

Anche la progettazione di dispositivi che sfruttano la spettroscopia Raman presenta una serie di problematiche: la debolezza del segnale Raman ricavato dalla misurazione, l'interferenza dell'acqua e delle altre molecole incontrate nel percorso dalla radiazione e l'interferenza del segnale di autofluorescenza delle proteine.

Il segnale Raman rappresenta una piccola percentuale del segnale diffuso, di conseguenza ha un'intensità molto debole. Negli anni, sono stati implementati diversi metodi per ovviare a questo problema. Uno di questi è l'utilizzo delle lenti che, oltre a raccogliere il segnale ed indirizzarlo verso il filtro, possono essere sfruttate per focalizzare la luce diffusa, in modo tale da aumentarne l'intensità. Spesso, però, il semplice utilizzo delle lenti non basta. Un'ulteriore implementazione è il potenziamento chimico: l'utilizzo di una nano-struttura metallica, che permette la creazione di legami chimici tra essa e le molecole di glucosio a cui fa seguito un trasferimento di carica che, tramite la luce incidente, può essere eccitato. Con il potenziamento chimico si ha un aumento del segnale Raman di circa  $10^2$  volte il segnale originale. Per un aumento ulteriore del segnale, negli ultimi anni è stato progettato anche il potenziamento elettromagnetico, che sfrutta la risonanza plasmonica di superficie metallica localizzata. In sintesi: quando la luce interagisce con una superficie metallica, vengono generate delle onde elettromagnetiche di plasmoni (eccitazioni associate alle oscillazioni del plasma di elettroni) che si propagano sulla superficie del metallo. Queste oscillazioni plasmoniche portano ad un'amplificazione del campo elettromagnetico della radiazione e così anche ad un aumento di intensità del segnale Raman. Tramite il potenziamento elettromagnetico si può arrivare ad un aumento del segnale Raman di circa  $10^6$  volte il segnale originale.

Un secondo problema, analizzato anche per la spettroscopia NIR e MIR, riguarda l'interferenza dell'acqua e delle altre molecole incontrate nel percorso dalla radiazione. Come esposto in precedenza, la soluzione è l'utilizzo di una lunghezza d'onda che permetta di avere uno spettro d'intensità dove il glucosio ha un'intensità più alta; ciò avviene a lunghezze d'onda elevate (basse frequenze), in cui si ha una penetrazione maggiore. Allo stesso tempo, vengono applicati algoritmi per estrarre le informazioni riguardanti solamente il glucosio e togliere l'interferenza degli altri emocomponenti.

Non da ultimo, vi è anche il problema concernente l'interferenza del segnale di autofluorescenza delle proteine: quest'ultime, quando vengono colpite da una radiazione luminosa, emettono un segnale maggiore del segnale Raman, generando una elevata componente di rumore sullo spettro misurato. La soluzione migliore è l'utilizzo di più lunghezze d'onda: tramite una piccola variazione di frequenza la componente del rumore rimarrà pressoché identica, mentre l'impronta del glucosio sullo spettro si sposterà, garantendo così la capacità al sensore di analizzare lo spettro della nostra molecola bersaglio.

## CAPITOLO 4:

### SPETTROSCOPIA FOTOACUSTICA

#### 4.1 Spettroscopia fotoacustica: caratteri generali

La spettroscopia fotoacustica (spettroscopia PA, dall'inglese PhotoAcoustic) non è la tecnica più popolare nel mondo della misurazione non invasiva del glucosio, tuttavia è una delle più promettenti, avendo un'altissima sensibilità. È applicata in vari campi, da quello medico a quello chimico, biologico e fisico.

Il concetto della spettroscopia PA si basa sulla generazione di onde acustiche da parte di una sorgente elettromagnetica, solitamente luce modulata (ovvero una luce la cui intensità varia nel tempo secondo una legge). Le onde elettromagnetiche irradiate vengono assorbite dal campione, generando a loro volta onde acustiche attraverso l'espansione termica o la pressione. Queste onde acustiche variano a seconda del bersaglio e possono essere rilevate da sensori specifici. I sensori solitamente utilizzati sono sensori ultrasonici o piezoelettrici.

L'enorme vantaggio della spettroscopia PA è che, sostituendo la sorgente luminosa regolare con una più intensa, l'intensità dei segnali acustici migliora notevolmente. Questo è ben spiegato dal modello sviluppato da Rosencwaig e Gersho, secondo il quale è possibile distinguere sei diversi casi di segnali PA generati dal campione, in base al rapporto tra la profondità dove è situato il campione, il coefficiente di diffusione termico ed il coefficiente di profondità ottica. In tutti e sei i casi però, come descritto dalla seguente relazione, l'ampiezza del segnale PA ( $A_{PA}$ ) dipende in modo identico dall'intensità della radiazione luminosa ( $I_0$ ):

$$A_{PA} = \frac{I_0 \cdot \alpha}{V_0 \cdot f^2}$$

dove  $\alpha$  rappresenta il coefficiente di assorbimento del campione,  $V_0$  il volume della cella PA e  $f$  la frequenza di modulazione.

Pertanto sviluppando un design appropriato della cella fotoacustica e selezionando l'adeguata frequenza di modulazione, i segnali acustici possono essere migliorati, avendo così una maggiore sensibilità.

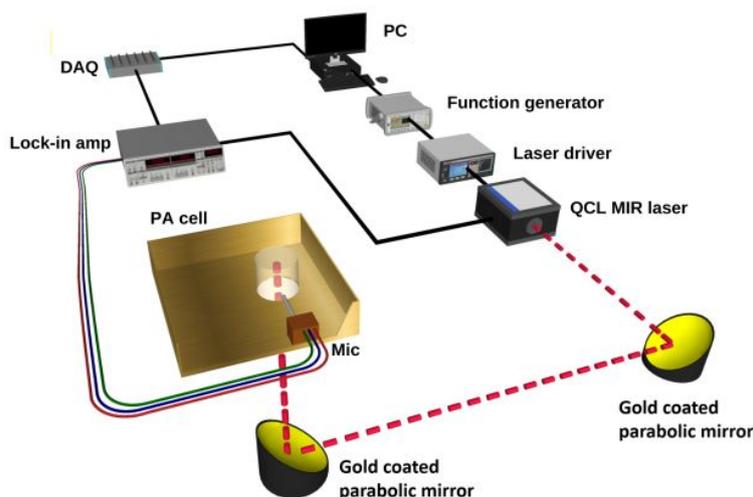
La spettroscopia fotoacustica ha un'altissima sensibilità, ma la sua progettazione risulta complicata ed ancora in via di sviluppo. Non sono ancora in commercio sensori che sfruttano solamente la spettroscopia PA, ma molte ricerche stanno cercando di integrare questa spettroscopia con la spettroscopia MIR ed è ciò che verrà analizzato nel prossimo paragrafo.

## 4.2 Integrazione spettroscopia PA e MIR

Per i campioni biologici, come ad esempio la pelle umana, che contengono un elevato contenuto di acqua, la penetrazione risulta complicata, soprattutto per lunghezze d'onda elevate come la MIR.

Fortunatamente, però, a lunghezze d'onda nel range del medio infrarosso e della relativa profondità di penetrazione, le onde acustiche generate dalle molecole di glucosio hanno intensità maggiore e possono essere prese in esame per analizzare la concentrazione del glucosio. Negli ultimi anni è stato sviluppato quindi un sensore che sfrutta sia le proprietà della spettroscopia PA, sia della spettroscopia MIR.

Questo sensore si basa sul rilevamento delle deviazioni dei segnali acustici dovute alle variazioni del coefficiente di assorbimento di glucosio. L'aumento della concentrazione di glucosio nella zona interessata aumenta il coefficiente di assorbimento, stimolando così l'assorbanza per generare segnali acustici più elevati. Una sua schematizzazione è rappresentata in figura 4.2.1.



**Figura 4.2.1:** *Schema della configurazione utilizzata nella spettroscopia PA e MIR*

In questa configurazione è stato impiegato un laser QCL a singola lunghezza d'onda: a  $1080\text{ cm}^{-1}$  dove il glucosio ha una forte rotazione vibrazionale fondamentale. La luce è stata collimata utilizzando una specifica lente, per poi essere riflessa, fino al raggiungimento della cella PA, da specchi parabolici rivestiti in oro, con una riflettività superiore al 95%. Un microfono analogico altamente sensibile è stato collegato alla cella per raccogliere il segnale acustico. La cella è stata progettata in modo dettagliato per poter ospitare sia fantocci, che polpastrelli umani e ricoperta da pannelli fonoassorbenti per eliminare eventuali rumori acustici.

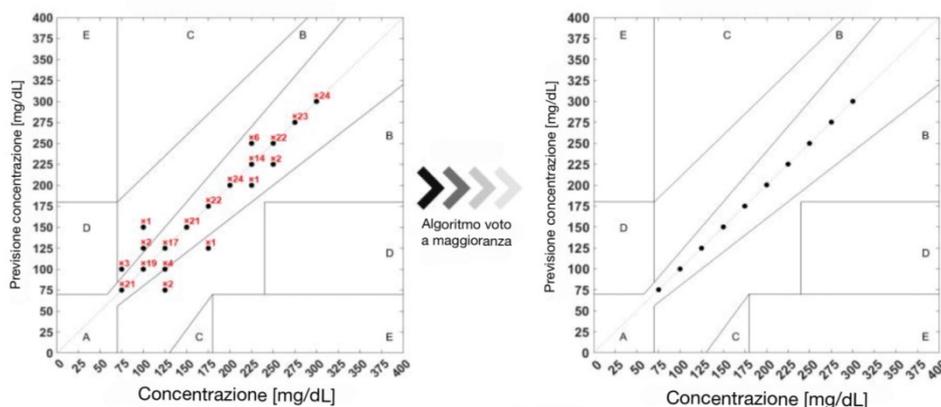
Un amplificatore ha elaborato i segnali PA raccolti per aumentare l'SNR (il rapporto segnale rumore, dall'inglese Signal to Noise Ratio). Le misure sono state ripetute dieci volte ed i segnali acustici sono stati trasmessi al PC attraverso un sistema di acquisizione (DAQ) per ulteriori analisi.

Inizialmente, i risultati in vitro sono stati eccellenti, ma erano ben diversi da quelli ottenuti in vivo. Infatti, la presenza di diversi componenti diversi dal glucosio presenti nel sangue e le variazioni ambientali complicano in modo esponenziale la progettazione in vivo.

Sono stati applicate allora diverse tecniche di regressione come nel caso della sola spettroscopia ottica per rilevare la concentrazione del glucosio. I metodi di regressione prevedono livelli di glucosio continui e questo si traduce nell'associazione dell'intervallo standard, di iperglicemia o di ipoglicemia. Tra i metodi di regressione sono stati provati: il metodo del minimo quadrato parziale, quello di regressione lineare multipla e la rete neurale artificiale. Tuttavia sono riusciti solo a ridurre l'errore nella correlazione tra i livelli di glucosio previsti ed i valori effettivi.

Sono stati, allora, impiegati metodi di classificazione che portano a dei valori di glucosio discreti ed analizzano ogni singolo valore in modo indipendente, senza alcuna influenza sugli altri livelli di glucosio. Ciò ha consentito di superare i limiti dei metodi di regressione. Un esempio di metodo di classificazione adeguato è quello di Markov (HMM), che classifica binariamente i risultati come livelli di glucosio nel sangue normali oppure anomali.

Recentemente, ulteriori studi hanno accertato che, con l'inserimento di un particolare algoritmo (l'algoritmo di voto a maggioranza), è possibile migliorare l'accuratezza della misurazione, passando da una percentuale del 90% ad una percentuale del 100%.



**Figura4.2.2:** *Previsione della concentrazione prima e dopo l'algoritmo di voto a maggioranza*

## CAPITOLO 5:

### RILEVAMENTO ELETTROMAGNETICO

#### 4.1 Rilevamento elettromagnetico: caratteri generali

Oltre alle più comuni tecniche per il rilevamento non invasivo del glucosio, come la spettroscopia ottica e la spettroscopia fotoacustica, negli ultimi anni la ricerca sta sviluppando ulteriori nuovi metodi.

In particolare, si sta focalizzando su un sensore che lavora tramite il rilevamento elettromagnetico, nello specifico di microonde. Le microonde sono radiazioni elettromagnetiche con lunghezza d'onda compresa tra le gamme superiori delle onde radio e la radiazione infrarossa ed hanno un intervallo di frequenza che varia da 300MHz a 300GHz, ma la maggior parte delle loro applicazioni opera da 1 a 40GHz.

L'idea che sta alla base dei sensori con rilevamento di microonde è quella di una struttura sulla quale il paziente possa appoggiare il dito, che sfrutta la dipendenza della costante dielettrica della concentrazione di glucosio nel sangue con la frequenza di risonanza del risonatore.



**Figura 5.1:** *Prototipo di sensore a microonde*

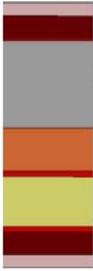
Le variazioni della concentrazione di glucosio causano cambiamenti nelle proprietà elettromagnetiche del sangue, in particolare nella sua permittività. In aggiunta, le proprietà dielettriche del sangue vengono modificate a causa dei cambiamenti nei livelli di glucosio in misura maggiore rispetto ai cambiamenti di altre molecole. Queste variazioni possono, quindi, essere rilevate da un sensore a microonde, dal momento che la sua risposta in frequenza può essere associata alle proprietà dielettriche dei materiali che interagiscono con esso ed è possibile ottenere il tasso glicemico mantenendo buone proprietà in termini di sensibilità, rispetto ai cambiamenti nella permittività elettrica del sangue.

Il compromesso tra sensibilità alla frequenza di risonanza, stabilità e ripetibilità delle misurazioni viene preso come criterio per selezionare questa tecnica come una delle più adatte per il rilevamento non invasivo del glucosio.

## 5.2 Metodi e progettazione

Gli studi più recenti riguardanti la progettazione di un sensore a microonde si sono focalizzati sul dito come campione conveniente e fattibile per interagire con il risonatore.

Per rappresentare il dito è stato proposto un modello multistrato, questo per facilitare e valutare la fattibilità del rilevamento dei cambiamenti nelle proprietà dielettriche nei diversi strati del tessuto biologico in analisi (pelle, grasso, sangue, ossa). Tramite l'aiuto di apparecchiature di misurazione ad ultrasuoni, sono stati stimati gli spessori di ogni singolo strato del mignolo della mano di un volontario, rappresentati in figura 5.2.1.



Tissue	Thickness [mm]	$\epsilon'_{\infty}$	$\Delta\epsilon'_1$	$\Delta\epsilon'_2$	$\tau_1[10^{-12}\text{S}]$	$\tau_2[10^{-12}\text{S}]$
Dry Skin	0.6	4.39	32.87	65.8	7.42	574
Wet Skin	1.04	6.04	37.6	74.9	7.52	734
U. Blood	0.1	6.68	53.6	406	7.84	2404
Bone	4	3.38	9.01	6.76	10.9	381
Muscle	2	6.47	47.7	186	6.79	1827
Blood	0.25	6.68	53.6	406	7.84	2404
Fat	2.3	3.39	8.08	16.7	6.91	1635
Blood						
Wet Skin						
Dry Skin						

**Figura 5.2.1:** Modello e parametri di un mignolo della mano

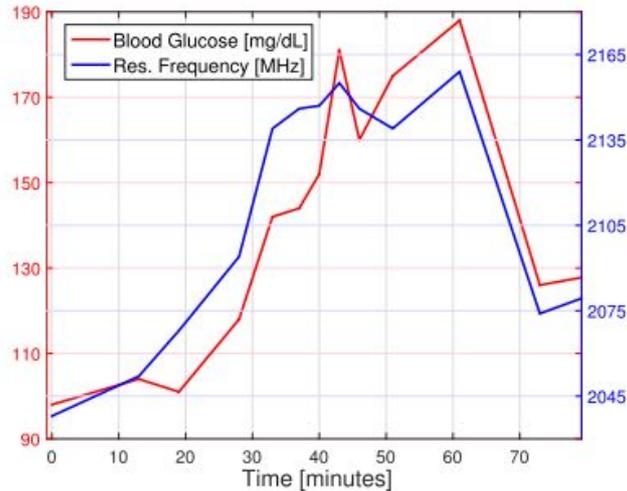
Nel modello in questione vengono considerati dieci strati, con sei diversi tessuti biologici: pelle secca e bagnata, ossa, muscoli, grasso e sangue (sotto forma di tre strati, posizionati tra strati differenti).

Per la progettazione della struttura del risonatore è di fondamentale importanza la distribuzione del campo elettromagnetico, che definisce l'intensità della sua interazione con il campione. Dal momento che, se il campione subisce variazioni delle proprietà dielettriche, queste si riflettono in una modifica delle linee di campo del risonatore, una struttura adatta sarebbe quella dove i cambiamenti nelle proprietà dielettriche si traducono in cambiamenti significativi nella risposta del sensore. L'orientamento delle linee di campo è uno degli aspetti più importanti durante la progettazione.

Non esiste una scelta univoca sulla lunghezza d'onda da utilizzare nei sensori a microonde per la rilevazione del glucosio. La maggior parte dei sensori utilizza una frequenza che varia da 3 a 10GHz, scelta solamente in base alle dimensioni ed al costo del dispositivo.

Per quanto riguarda la forma del sensore, la struttura più utilizzata, ed anche più adatta, è la struttura planare. Un circuito stampato con questa tecnica irradia il campo elettromagnetico eccitato nel dito, che poggia adagiato sul risonatore.

Questi sensori hanno ottenuto ottimi risultati, come si può evincere da figura 5.2.2.



**Figura 5.2.2:** Confronto tra frequenza di risonanza misurata e livello di glucosio

Le discrepanze che si possono evincere dalla figura sono state attribuite al modello del dito che, sebbene basato su dati ecografici, rimane comunque la semplificazione di un dito reale.

Il problema più grande per questa tipologia di sensori è la necessità di calibrare la frequenza da utilizzare in base alle dimensioni del dito ed allo spessore dei diversi strati. Applicare lo stesso sensore, che utilizza i dati riportati nella figura 5.1.1 per due persone con caratteristiche diverse (peso, età o sesso), sarebbe errato, perché porterebbe a misurazioni non attendibili, essendo necessario personalizzare la curva di calibrazione ad ogni paziente.

C'è, quindi, ancora molta strada da fare prima di poter commercializzare sensori che sfruttano il solo rilevamento elettromagnetico, che rimane, però, una delle tecniche più adatte, sia per il costo, sia per l'elevata sensibilità.

## CAPITOLO 6: ALTRI METODI

Quelli descritti nei capitoli precedenti sono i principali metodi per la misurazione non invasiva in continua del glucosio. Ulteriori studi e ricerche si sono spinte oltre ed hanno cercato di progettare dei sensori che sfruttano tecniche alternative.

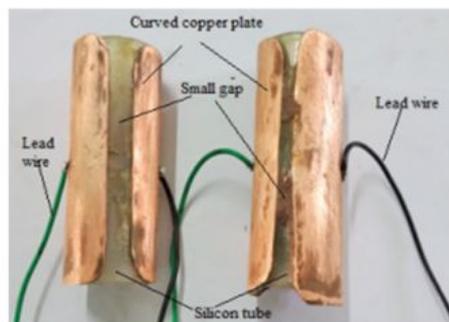
In questo capitolo verranno analizzati due progetti differenti, ancora in fase di studio, ma che hanno già ottenuto ottimi risultati: un sensore capacitivo ed un sensore basato sull'integrazione di tre diverse tecniche di monitoraggio.

### 6.1 Sensore capacitivo

Come esposto nel precedente capitolo, la presenza di glucosio nel sangue modifica la permittività, ma a cambiare è anche la conduttività.

Nello specifico, con l'aumentare della frequenza (ma rimanendo comunque ad una frequenza bassa di circa 1kHz), la conduttività aumenta, mentre la permittività diminuisce in modo quasi lineare; mentre ad alta frequenza non si hanno variazioni significative né di una né dell'altra. Inoltre, la frequenza di risonanza aumenta linearmente con l'aumentare della concentrazione di glucosio, mentre l'impedenza diminuisce in modo non lineare.

Sulla base di queste osservazioni è stato possibile progettare un sensore capacitivo che sfrutta queste proprietà per calcolare la concentrazione di glucosio nel sangue. È stato progettato un condensatore a piastre curve, fissando le piastre (in rame) su un tubo di silicio di lunghezza e diametro adeguati ad avvolgere un dito della mano in modo tale che non ci sia aria tra l'armatura ed il dito. Per fissare l'armatura è stato utilizzato un sottile strato di araldite: una colla con buone proprietà chimiche che non interferisce con le misurazioni.



**Figura 6.1:** Prototipo di sensore capacitivo

Per la misurazione del segnale è stato progettato un circuito basato sull'utilizzo di opamp (un particolare tipo di amplificatore operazionale, avente una sola uscita) modificato.

L'uscita in corrente alternata, proveniente dal circuito di misurazione, viene convertita in un segnale continuo utilizzando un raddrizzatore di precisione e particolari circuiti, che hanno il ruolo di filtro. Il segnale continuo viene poi mandato ad un microcontrollore tramite un ADC (convertitore analogico-digitale) adatto. Il microcontrollore elabora i dati ed indica direttamente la concentrazione di glucosio in mg/dl.

La variazione della capacità del sensore con la variazione della concentrazione di glucosio nel sangue è molto piccola (dell'ordine di pochi pF), pertanto il risultato può soffrire di errori di misurazione come l'effetto della capacità parassita o la vicinanza di altri conduttori.

I risultati ottenuti sono stati confrontati con le letture di un glucometro e si è osservato che le due letture sono pressoché identiche: l'errore percentuale dei dati ottenuti varia intorno al 3,5%. Questa percentuale di errore è molto bassa, se si pensa che i glucometri commerciali hanno un tasso di errore intorno all'8%.

Il principale vantaggio di questa tecnica, però, non è la sensibilità, ma il minor costo ed il fatto di essere più semplice, sia in termini di progettazione logica che fisica.

Le problematiche da affrontare sono, invece le seguenti: la stima della costante dielettrica mediante la misurazione in vivo è molto complicata ed inoltre questa tecnica può soffrire di errori di misurazione e di errori dovuti agli effetti di artefatti, come le condizioni fisiologiche, il rilassamento ionico, la pressione sanguigna e la temperatura.

Le ricerche odierne si stanno, quindi, applicando nel cercare di implementare algoritmi in grado di calibrare le misurazioni effettuate, in modo da evitare le interferenze di tutti gli artefatti innanzi menzionati.

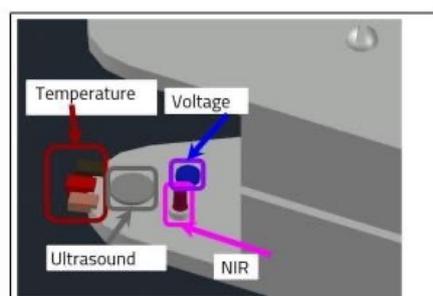
## 6.2 Integrazione di tre diverse tecniche di monitoraggio

Oltre ai sensori che sfruttano le tecniche viste nei capitoli precedenti, sono in fase di studio e di progettazione altre diverse tipologie di sensori col fine di migliorare la sensibilità e ridurre gli errori. Ne è un esempio il sensore che andiamo a descrivere nel presente paragrafo, sensore che sfrutta le proprietà bioelettriche del glucosio, il rilevamento elettromagnetico e la spettroscopia NIR.

Riprendendo velocemente ciò che è stato spiegato nei capitoli precedenti: le variazioni di glucosio nel sangue provocano un cambiamento nella permittività e nella conduttività, modificando l'impedenza del tessuto biologico; un particolare circuito può catturare i cambiamenti nell'impedenza cutanea ed elaborarli per ottenere il tasso glicemico. Riassumendo, durante il rilevamento elettromagnetico è possibile rilevare i cambiamenti della concentrazione di glucosio indirettamente, misurando le variazioni delle proprietà di un'onda che attraversa il tessuto. Mentre, per quanto riguarda la spettroscopia NIR, tramite una radiazione luminosa con adeguata lunghezza d'onda, è possibile stimolare le molecole di glucosio, che passano da uno stato iniziale ad uno stato 'eccitato', e quantificarle grazie alla formazione di una banda di assorbimento nello spettro.

Queste tecniche possono essere combinate per la costruzione di un sensore non invasivo che consenta il monitoraggio continuo dei livelli di glucosio con una misurazione il più vicino possibile a quella offerta dagli attuali metodi invasivi. Dato che le suddette tecnologie presentano tutte una percentuale di errore di stima del glucosio, un sensore basato esclusivamente su una di esse non sarebbe attendibile al 100%.

In questo paragrafo è quindi illustrato un sensore che combina queste tre tecnologie, in modo tale da ridurre al minimo l'errore di rilevamento e l'impatto delle varie perturbazioni, che influenzano ciascuna tecnologia. Ciascun metodo è indicativo dei livelli di glucosio nel sangue, ma è limitato dall'impatto di interferenze a causa della mancanza di specificità. L'integrazione delle tre modalità consente letture più precise ed un errore introdotto da una delle modalità può essere corretto dalle altre due. Inoltre, le tecniche proposte si basano su diverse proprietà fisiche dell'individuo e di conseguenza le variabili monitorate sono indipendenti tra di loro.



**Figura 6.2.1:** Configurazione di un prototipo di sensore integrato

L'utilizzo di più tecniche in un unico sensore è molto promettente, poiché questa integrazione consente di aumentare il rapporto segnale-rumore, aumentando la qualità di misurazione, nonché la compensazione e la correzione di interferenze, come la temperatura.

Naturalmente anche questo sensore integrato richiede la creazione di un algoritmo di calibrazione, che consenta l'eliminazione o l'attenuazione di variabili non legate allo studio, ma che influenzano lo stesso. Queste variabili sono determinate dalla diversità tra i pazienti di fattori come il sudore, la temperatura corporea o la densità dei tessuti. Il processo di calibrazione consiste nel correlare i dati della misura con il glucometro ed  $N$  misurazioni sequenziali con il sensore progettato, generando una curva di calibrazione unica per ciascun individuo. Il modello seguito da questa calibrazione è descritto nella seguente equazione:

$$Dat_{fin} = a + bDat_{i0}(n, g, T)$$

I dati raccolti dal sensore verrebbero moltiplicati per una costante  $a$  e verrebbe poi aggiunta una costante  $b$ , essendo questi dati unici per ogni individuo. I dati misurati sono in funzione del rumore  $n$ , della glicemia  $g$  e della temperatura  $T$ .

Una volta progettato l'algoritmo di calibrazione, rimane solo da capire in quale parte del corpo possa essere posizionato il sensore. Una zona adeguata a tutte e tre le diverse tecniche di monitoraggio è il lobo dell'orecchio: i sensori termici possono determinare le diverse temperature, la radiazione NIR e gli ultrasuoni possono attraversare il lobo ed il segnale elettromagnetico, ad una certa frequenza, è in grado di raggiungere il ricevitore.



**Figura 6.2.2:** *Prototipo di sensore integrato*

Diversi test sono stati effettuati su questa zona e, nonostante un piccolo ritardo di misurazione, i risultati sono stati ottimi. Quindi, il monitoraggio continuo con questa tipologia di sensore è fattibile, ma per poter essere commercializzato è necessario ancora compensare il piccolo ritardo di misurazione ed aggiustare l'accuratezza (al momento non perfetta).

## CONCLUSIONI

Il diabete mellito è una tra le prime dieci malattie più letali nel pianeta e la sua espansione è in un continua crescita.

I glucometri svolgono un ruolo fondamentale nella prevenzione di questa malattia ed il monitoraggio in continua rappresenta il mezzo più adeguato per ridurre le complicanze dovute da eventi di iperglicemia o ipoglicemia.

Numerose sono le tecniche per il monitoraggio in continua del diabete attualmente in commercio, ma nessuna di queste è completamente non invasiva. Gli attuali glucometri in circolazione, infatti, prevedono l'innesto di un ago sottocute, che a lungo andare, a causa dei molteplici prelievi che deve effettuare il paziente diabetico, può causare dolore e possibili infezioni.

Negli ultimi anni, numerosi studi hanno sviluppato ricerche su possibili tecnologie non invasive ed i risultati sono stati notevoli. Le principali tecniche di monitoraggio sono tre e si distinguono in base al metodo di rilevamento del glucosio: la spettroscopia ottica (che a sua volta si divide in spettroscopia NIR, MIR e Raman), la spettroscopia fotoacustica ed il rilevamento elettromagnetico. Oltre a questi tre metodi, che sono i maggiormente diffusi, ulteriori ricerche si sono concentrate su metodi alternativi, come il rilevamento tramite un sensore capacitivo o l'integrazione di più sensori che sfruttano tecniche di monitoraggio differenti. I risultati ottenuti da queste ricerche sono ottimi e costituiscono una buona base di partenza per l'innesto nel mercato di sensori completamente non invasivi.

Il monitoraggio in continua non invasivo del glucosio è possibile, ma sono necessari ulteriori studi ed approfondimenti per ridurre al minimo gli errori dovuti all'interferenza di eventuali artefatti e per migliorare la sensibilità e l'accuratezza delle misurazioni

Un possibile sviluppo futuro della ricerca in questo settore potrebbe riguardare lo studio di altri biofluidi, diversi dal sangue e la loro relazione con il livello di glucosio. Alcuni esempi sono: la saliva, il sudore, l'urina.

Nonostante i numerosi progressi e le scoperte ad oggi fatte, c'è, quindi, ancora molto lavoro da fare.



## BIBLIOGRAFIA

Abdulrahman Aloraynan, Shazzad Rassel, Chao Xu and Dayan Ban, (2022), MDPI: '*A Single Wavelength Mid-Infrared Photoacoustic Spectroscopy for Noninvasive Glucose Detection Using Machine Learning*'. DOI: [10.3390/bios12030166](https://doi.org/10.3390/bios12030166)

Abhinaba Dutta , Satish Chandra Bera and Kamalesh Das, (2019), AIP Advances 9: '*A non-invasive microcontroller based estimation of blood glucose concentration by using a modified capacitive sensor at low frequency*'. DOI: [10.1063/1.5116059](https://doi.org/10.1063/1.5116059)

Alvaro Lopez Albalat, Maria Begona Sanz Alaman, Maria Cristina Dejoz Diez, Antonio Martinez-Millana and Vicente Traver Salcedo, (2019), IEEE: '*Non-Invasive Blood Glucose Sensor: A Feasibility Study*'. DOI: [10.1109/EMBC.2019.8857261](https://doi.org/10.1109/EMBC.2019.8857261)

Bushra Alsunaidi, Murad Althobaiti, Mahbubunnabi TamaL, Waleed Albaker and Ibraheem Al-Naib, (2021), Pubmed: '*A review of non-invasive optical systems for continuous blood glucose monitoring*'. DOI: [10.3390/s21206820](https://doi.org/10.3390/s21206820)

Hima Zafar, Asma Channa , Varun Jeoti and Goran M. Stojanovi'c , (2022), MDPI: '*Comprehensive Review on Wearable Sweat-Glucose Sensors for Continuous Glucose Monitoring*'. DOI: [10.3390/s22020638](https://doi.org/10.3390/s22020638)

María Celeste Cebedio, Lucas Andrés Rabioglio, Iván Exequiel Gelosi, Ramiro Avalos Ribas, Alejandro José Uriz, and Jorge Castiñeira Moreira, (2020), IEEE: '*Analysis and design of a microwave coplanar sensor for non-invasive blood glucose measurements*'. DOI: [10.1109/JSEN.2020.2993182](https://doi.org/10.1109/JSEN.2020.2993182)

Rishikesh Pandey, Santosh Kumar Paidi, Tulio A. Valdez, Chi Zhang, Nicolas Spegazzini, Ramachandra Rao Dasari and Ishan Barman, (2017), Pubmed: '*Noninvasive monitoring of blood glucose with raman spectroscopy*'. DOI: [10.1021/acs.accounts.6b00472](https://doi.org/10.1021/acs.accounts.6b00472)

Ryosuke Kasahara, Saiko Kino, Shunsuke Soyama andD Yuji Matsuura, (2018), Biomedical Optics Express: '*Noninvasive glucose monitoring using mid-infrared absorption spectroscopy based on a few wavenumbers*'. DOI: [10.1364/BOE.9.000289](https://doi.org/10.1364/BOE.9.000289)

Ting Shi, Dachao Li, Guoqing Li, Yiming Zhang, Kexin Xu, Luo Lu, (2016), Hindawi Publishing Corporation: '*Modeling and Measurement of Correlation between Blood and Interstitial Glucose Changes*'. DOI: [10.1155/2016/4596316](https://doi.org/10.1155/2016/4596316)

Villena Gonzales W., Mobashsher A.T. and Abbosh A., (2019), MDPI: '*The progress of glucose monitoring-a review of invasive to minimally and non-invasive techniques, devices and sensors*'. DOI: [10.3390/s19040800](https://doi.org/10.3390/s19040800)

Yan Yu , Jipeng Huang , Juan Zhu, and Shili Liang, (2021), IEEE: '*An accurate noninvasive blood glucose measurement system using portable near-infrared spectrometer and transfer learning framework*'. DOI: [10.1109/JSEN.2020.3025826](https://doi.org/10.1109/JSEN.2020.3025826)