

УДК 004.67

В.П. КОЖЕМ'ЯКО, А.В. ТУРЛЮК, А.О. ЯРОВЕНКО

ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ МЕТОДІВ ТА СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ НЕІНВАЗИВНОГО МОНІТОРИНГУ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

*Вінницький національний технічний університет,
21021, Хмельницьке шосе, 95, м. Вінниця, Україна,
Тел. +380985010586, E-mail: turliuk@ukr.net*

Анотація. В даній статті класифіковано та проведено порівняльний аналіз неінвазивних методів моніторингу біологічних об'єктів та глюкози в організмі людини. Запропонований метод використовує Раман-спектроскопію (комбінаційного розсіювання) як найбільш ефективний, точний та безпечний для людини. Також розглянуто середовища для неінвазивного моніторингу, та як найбільш оптимальне було обрано гуморальну рідину ока. Оскільки оптично доступне місце розташування та склад гуморальної рідини дозволяє провести точне вимірювання рівня глюкози в крові. Також, в статті розглядаються перспективи розвитку неінвазивних методів моніторингу біологічних об'єктів.

Анотация. В данной статье классифицированы и проведен сравнительный анализ неинвазивных методов мониторинга биологических объектов в целом и глюкозы в частности в организме человека. Предложено использовать метод на основе Раман-спектроскопии (комбинационного рассеяния) как наиболее эффективный, точный и безопасный для человека. Также рассмотрены возможные среды для неинвазивного мониторинга и как наиболее оптимальное было выбрано гуморальную жидкость глаза. Поскольку оптически доступное местоположение и состав гуморальной жидкости позволяет провести точное измерение уровня глюкозы в крови. Также, в статье рассматриваются перспективы развития неинвазивных методов мониторинга биологических объектов.

Abstract. Non-invasive methods of biological objects monitoring generally and glucose particularly have been classified and analyzed in this paper. Method based on Raman spectroscopy has been chosen as the most efficient, precise and safe for humans. Also, the possible environment for non-invasive monitoring have been analyzed and aqueous humor has been selected. The optically accessible location and composition of the aqueous humor allow to measure of blood glucose more exactly than using other environment. The article also discusses the prospects of non-invasive methods of biological objects monitoring.

Ключові слова: цукровий діабет, неінвазивний спосіб моніторингу рівня глюкози в крові, Раман-спектроскопія, гуморальна рідина.

ВСТУП

Для діагностики цілого ряду захворювань (до числа яких насамперед слід віднести цукровий діабет, патологічні стани, пов'язані з недостатністю функції печінки і нирок, деякі ендокринні захворювання, новоутворення мозку, підшлункової залози і надниркових залоз, гіповітаміноз В1, а також ряд спадкових аферментозів) важливо мати об'єктивне уявлення про стан вуглеводного обміну, кардіальним показником якого є вміст глюкози в крові [1].

Актуальною залишається проблема, вдосконалення приладів для цілодобового контролю рівня глюкози в крові. Найбільш відомі дослідження в цьому напрямку включають різні методи, в тому числі: проведення інфрачервоної спектроскопії глюкози в біосередовищах, спектрофотометрію вмісту глюкози в поті, вимір часу спин-граткової релаксації крові людини методом магніто-резонансного поглинання, використання спеціальних полімерів, які змінюють колір в залежно від концентрації глюкози в крові. Аналізуються також кореляційні зв'язки, рівня глюкози з температурою в окремих точках тіла зі складом слини, слізною рідиною, концентрацією ацетону у складі видихуваного повітря та ін. Достовірність одержуваних результатів піддається сумніву, оскільки недостатньо дослідженими є фізіологічні процеси, на яких заснована робота датчиків [2].

Актуальність проблеми моніторингу цукрового діабету зокрема зумовлена значною поширеністю захворювання, а також тим, тим що це є базою для розвитку складних супутніх захворювань та ускладнень, ранньої інвалідності та смертності. Основу їх складають діабетичні мікроангіопатії та нейропатії. У хворих на діабет значний ризик атеросклерозу та ішемічної хвороби

серця. Більше 40% ампутацій нижніх кінцівок є наслідком синдрому діабетичної стопи. Цукровий діабет також найчастіша причина сліпоти у людей. Це призводить до значних матеріальних витрат, спрямованих на лікування цукрового діабету та його ускладнень [1]. Тому розробка методів неінвазивного моніторингу біологічних об'єктів в організмі людини та глюкози зокрема, а також дослідження можливих середовищ для вимірювань значно полегшить життя людей, хворих на цукровий діабет.

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДОМИХ МЕТОДІВ ТА СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ МОНІТОРИНГУ БІОЛОГІЧНИХ ОБ'ЄКТІВ

В даний час існує досить багато методів визначення глюкози. Класифікація методів визначення глюкози наведена на рис. 1 [2].

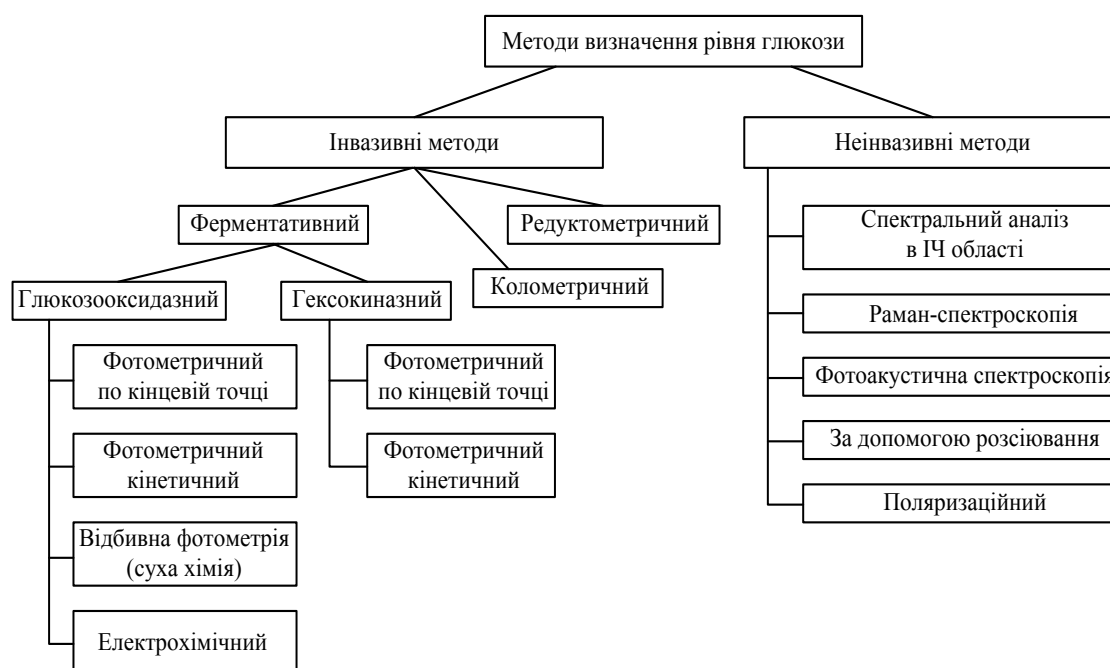


Рис. 1. Класифікація методів визначення рівня глюкози

У великому арсеналі сучасних методів лабораторної та функціональної діагностики, що полягають в оцінці морфологічних, функціональних, біохімічних і генетичних параметрів організму, неінвазивні методи займають поки ще досить скромне місце [1]. Але у майбутньому роль неінвазивної діагностики неухильно зростатиме. Адже неінвазивні методи мають наступні переваги:

- 1) виключають внесення у внутрішнє середовище організму хвороботворних вірусів і бактерій, чужорідних речовин (ксенобіотиків);
- 2) дозволяють виключити променеве навантаження на організм, наприклад, при проведенні рентгенологічних, радіоізотопних та ультразвукових методів дослідження;
- 3) звільняють пацієнта від комплексу болючих і неприємних відчуттів;
- 4) неінвазивні методи, полягають у використанні сенсорних і передаючих сигнали пристроїв, дозволяють вирішити два великі медико-соціальні завдання: моніторинг основних біохімічних і функціональних показників і створення дистанційних аларм-систем. Останні можуть виявитися дуже корисними як засіб постійного стеження з центру, наприклад з лікарні чи поліклініки, за певними групами хворих (хворими з небезпекою раптової кардіальної смерті, гіпертонічною хворобою, цукровим діабетом та ін.) і надання своєчасної допомоги при наступили критичних станах [2].

Неінвазивні методи моніторингу рівня глюкози поділяються на підшкірні, дермальні, епідермальних і комбіновані дермальні і епідермальні. Також за видом досліджуваної тканини неінвазивні методи можна поділити на ті, які аналізують тканинну рідину, рідини ока та піт. Досліджуються такі частини тіла як кінчики пальців, кутикула, передпліччя і мочки вуха [2].

Неінвазивні методи включають спектральний аналіз в інфрачервоній (ІЧ) області, раманівську спектроскопію, фотоакустичну спектроскопію, властивості поляризації та розсіювання. Розглянемо оптичні методи визначення рівня глюкози в крові, які є найбільш перспективними та найбільш швидко прогресуючими на даний момент. В табл. 1 наведено основні методи неінвазивного моніторингу рівня глюкози в крові з їх короткою загальною характеристикою [2].

Неінвазивне оптичне визначення рівня глюкози в крові здійснюється за допомогою фокусування

променя світла на тіло пацієнта. Світло модифікується тканиною після проходження через певну частину тіла чи орган. Оптичний слід чи відбиток вмісту тканини утворюється за допомогою розсіювання світла, що виходить з неї. Абсорбція світла шкірою спричиняється внаслідок наявності в ній таких хімічних елементів як вода, гемоглобін, меланін, жири і глюкоза. Передача світла на кожній довжині хвилі залежить від товщини, кольору і структури шкіри, кісток і інших тканин, через які проходить світло.

Таблиця 1.

Технології дермального і епідерманого* вимірювання глюкози

№ п/п	Технологія	Визначення
1.	Спектральний аналіз в ІЧ області	Поглинуте чи відбите випромінювання даних на довжині хвилі ІЧ діапазону
2.	Раманівська спектроскопія	Використовується лазерний промінь для того, щоб викликати випромінювання поблизу рівнів збудження
3.	Фотоакустична спектроскопія	Використовується лазерне збудження рідини для того, щоб створити акустичну відповідь і спектр відповідно до того, як налаштований лазер
4.	Розсіювання	Використовується розсіювання світла для того, щоб визначити зміни у речовині, що досліджується
5.	Поляризація	Відомо, що наявність глюкози в крові спричиняє поляризацію світла, що проходить крізь неї

* Обмежений поверхнею епідерми

Концентрація глюкози може бути визначена за допомогою аналізу зміни довжини хвилі, поляризації чи інтенсивності оптичного сигналу. Об'єм зразків вимірюваний цими методами залежить від місця вимірювання. Кореляція з глюкозою в крові базується на відсотку зразку проміжної, внутрішньоклітинної чи капілярної рідини. Наприклад, було визначено, що досліджувана рідина кінцівок на 63% складається з внутрішньоклітинної та на 37% – позаклітинної, 27% якої – це проміжна рідина і 10% – плазма. Рівень глюкози 100 мг/дл еквівалентний глюкозі зразку тканини 38 мг/дл, в якому 26% припадає на кров, 58% – тканинну рідину і 16% – внутрішньоклітинну рідину. Питання з чого саме складається глюкоза зразка тканини з точки зору терапії на даний момент знаходиться на стадії дослідження [3].

Оптичне вимірювання залежить не тільки від змін концентрації глюкози в усьому тілі, але також і від концентрації рідин тканини (що залежить від рівня активності, дієти чи гормональних коливань), а це у свою чергу впливає на вимірювання глюкози. Також проблеми виникають внаслідок змін у тканині після початкового калібрування і відсутності можливості передачі калібрування з однієї частини тіла до іншої. Зміни у тканинах також включають: джерело рідин тіла, що постачає кров у рідини тіла, які вимірюються, медичні препарати, які впливають на співвідношення рідин у тканині, щоденні зміни у судинній системі, процес старіння, хвороби та метаболічна активність особи [3].

Спектральний аналіз в ІЧ області. Глюкоза спричиняє одне з найслабших поглинання сигналу в ближній ІЧ області спектру на одиницю концентрації головних компонентів тіла. Вимірювання глюкози за допомогою спектроскопії в ближній ІЧ області робить можливим дослідження зразка тканини на глибині 1 – 100 мм із загальним зменшенням глибини проникнення за рахунок збільшення значення довжини хвилі. Була зроблена спроба аналізу в ближній ІЧ області мочки вуха, кінчиків і кутикули пальців, відбитого від шкіри випромінювання та слизової оболонки губ на довжині хвилі 1000 нм – 25000 нм. Спектроскопія дифузного відбиття в ближній інфрачервої області, що була проведена на пальці і кутикулі, показала гарну кореляцію з дійсним рівнем глюкози в крові, але 10% прогнозів являються неприйнятними клінічно [4].

Дослідження дифузного відбиття випромінювання від внутрішньої частини губи також показало гарну кореляцію з дійсним рівнем глюкози і показало затримку в 10 хв між зміною дійсного рівня глюкози в крові та зміною сигналу вимірювання. Рівень глюкози у слині (компонент вимірювання за допомогою внутрішньої частини губи) не відображає рівня глюкози. Фізичні і хімічні параметри такі як зміна тиску, температури, тригліцериду і альбуміну впливають на вимірювання глюкози. Похибки також можуть виникати через зміни умов навколишнього середовища, таких як зміна температури, вологості, зволоження шкіри, вуглекислого газу і атмосферного тиску. Для визначення сталості кореляції рівня глюкози при всіх клінічно важливих умовах для всіх типів пацієнтів необхідними є численні перевірки та тестування передбачених значень рівнів глюкози [4].

Системи визначення рівня глюкози за допомогою інфрачервої спектроскопії на епідермальній поверхні робить можливим дослідження тканини на глибині 10 – 50 мкм при використанні смуги пропускання в інфрачервої області 700 – 1000 нм. Ці системи не вимірюють рівень глюкози в крові, що міститься в тканинах. Технологія послаблення повного відбиття була застосована для слизової оболонки порожнини рота, однак, недоліки такого методу полягають у взаємодії глюкози з їжею, що

сильно впливає на рівень глюкози у сліні. Аналізи з використанням цільної крові як матриці зразку теж мають певну похибку за рахунок альбуміну, еритроцитів, гемоглобіну і змін температури та рН. Крім того, рівень глюкози в сліні значно коливається і не відповідає дійсному рівню глюкози в організмі [4].

Раманівська спектроскопія. У 1928 році індійський вчений Чандрасекхара Венката Раман відкрив явище непружного розсіювання світла. Випромінювання, розсіюване молекулами, містить фотони тієї ж частоти, що і падаюче випромінювання, а також певну кількість фотонів зі зміненою чи зміщеною частотою. Спектроскопічний процес вимірювання цих зміщених фотонів був названий на честь Рамана, сама зміна частоти відома як «ефект Рамана» (раманівський ефект), а випромінювання зі зміщеними частотами називають «раманівським випромінюванням». До кінця 1930х рр. Раманівська спектроскопія стала основним методом неінвазивного хімічного аналізу.

Колівальна спектроскопія дає ключову інформацію про структуру молекул. Наприклад, положення й інтенсивність смуг в спектрі використовується для вивчення молекулярної структури або хімічної ідентифікації зразка.

У результаті аналізу можна ідентифікувати хімічні компоненти (визначати природу речовини) або вивчати внутрішньомолекулярні взаємодії, спостерігаючи положення й інтенсивність смуг в Раман-спектрі, що розширяє функціональні можливості приладу. При цьому досить просто ідентифікувати компоненти, використовуючи пошук по бібліотеках спектрів. Раман спектри ідеально підходять для пошуку по бібліотеках, завдяки великій спектральній інформації, наявності області «відбитків пальців» для кожного компонента і простоті алгоритмів пошуку [5].

Раманівська спектроскопія має значні переваги в порівнянні з іншими аналітичними методами. Найважливішими з них є простота пробопідготовки і великий обсяг одержуваної інформації. Раманівська спектроскопія – метод, заснований на розсіюванні світла, тому все, що потрібно для збору спектру – це направити падаючий промінь точно на зразок, а потім зібрати розсіяне світло.

Різні технології раманівської спектроскопії були застосовані при дослідженнях крові, води, сполук плазми, ока, але в той же час значна кількість питань залишається нерозкритими. Аналітичні проблеми включають нестабільність довжини хвилі і інтенсивності випромінювача, похибок, які виникають внаслідок інших хімічних елементів у зразку тканини [5].

Передня камера ока ідеально підходить для дослідження за допомогою Раман-спектроскопії, оскільки гуморальна рідина сама по собі має дуже слабкий раманівський спектр, а товщина передньої камери ока не становить проблеми для дослідження Раман-спектру. Більш того, не існує двох молекул, які мають однакові раманівські спектри, а інтенсивність розсіяного світла пов'язана з кількістю речовини. Це дозволяє просто отримувати кількісну інформацію про рівень глюкози в організмі, дає можливість інтерпретувати спектр, користуватися бібліотекою спектрів, обробляти дані з застосуванням комп'ютерних методів кількісного аналізу, що значно збільшує ефективність вимірювань порівняно з іншими методами [5].

Раманівська спектроскопія – це неінвазивний метод аналізу і має такі переваги порівняно з іншими колівальними методами: широкий спектральний діапазон, що дозволяє створювати бібліотеки спектрів і точно визначати рівень глюкози; працює в діапазоні від УФ до ближньої ІЧ області, що дозволяє обирати довжину хвилі, яка б не шкодила око, але була б достатньою і можна було отримати і детектувати раманівське розсіювання для кількісного аналізу рівня глюкози. Саме ці переваги роблять раманівську спектроскопію найкращим вибором для неінвазивного моніторингу біологічних об'єктів, дозволяє розширити функціональні можливості та підвищити ефективність вимірювання показників рівня глюкози зокрема [5].

Фотоакустична спектроскопія. Фотоакустична спектроскопія реалізовується за рахунок використання оптичного променя по відношенню до зразка, який швидко нагрівається, і утворення акустичної хвилі тиску, що може бути виміряна за допомогою мікрофону. Визначення рівня глюкози в крові, окремих зразків тканини і людини зокрема може забезпечити більш високу чутливість, ніж звичайна спектроскопія при певних фізичних сприятливих параметрах. Відмінна кореляція між фотоакустичним сигналом і дійсним рівнем глюкози в організмі була доказана за допомогою інвазивного визначення рівня глюкози на кінчиках пальців здорових і хворих на діабет людей. Відомі на даний час прилади, робота яких полягає у застосування принципів фотоакустичної спектроскопії, досить дорогі і чутливі до екологічних параметрів. Сама технологія також передбачає певні похибки за рахунок хімічних перешкод від біологічних молекул так само як і фізичних перешкод за рахунок температури і змін тиску [4].

Визначення рівня глюкози за допомогою фізичного явища розсіювання. Технологія вимірювання рівня глюкози на основі розсіювання відстежує зміни в тканинах, викликаних коефіцієнтом розсіювання, і зазвичай використовується для визначення рівня глюкози у зразках тканини і людини зокрема [4].

Зростання глюкози у зразку пропорційне збільшенню показника заломлення зразка, а отже змінюються і властивості розсіювання зразка. Вимірювання на животі у хворих на цукровий діабет показали відмінну кореляцію між сигналом розсіювання і рівнем глюкози в крові. Багато параметрів

сприяють природній фізіологічній зміні властивостей розсіювання. Тому питання реалізації методів побудованих на технології розсіювання залишається на даний момент відкритим [4].

Визначення рівня глюкози за допомогою фізичного явища поляризації. Хоча зміни оптичного сигналу глюкозою невеликі, але в той же час глюкоза виступає як гарний оптичний ротатор. Ця особливість була використана для проведення в лабораторних аналізів глюкози. Інтенсивність світла відповідає величині наявного світла. Шкіра не може розглядатися як можливий зразок тканини для дослідження за рахунок своїх високих властивостей розсіювання. Для цього пропонується гуморальна рідина ока. Було показано, що використання кількох довжин хвиль мінімізує низьку специфічність цієї технології. Також було показано, що інші оптично активні речовини будуть викликати певні похибки так само, як і зміна температури і рН зразка [5].

ГУМОРАЛЬНА РІДИНА ОКА ЯК НАЙОПТИМАЛЬНІШЕ СЕРЕДОВИЩЕ ДЛЯ МОНІТОРИНГУ РІВНЯ ГЛЮКОЗИ ЗА ДОПОМОГОЮ КОМБІНАЦІЙНОГО РОЗСІЮВАННЯ (РАМАН-СПЕКТРОСКОПІЇ)

Концентрація глюкози в крові дорослої людини складає в одиницях СІ – 60-100% мг в міжнародних одиницях – 3,3 до 5,5 ммоль/л [1]. В організмі людини глюкоза міститься у м'язах, в крові (0,1 – 0,12%) і служить основним джерелом енергії для клітин і тканин організму. Підвищення концентрації глюкози в крові призводить до посилення вироблення гормону підшлункової залози – інсуліну, зменшує вміст цього вуглеводу в крові. Хімічна енергія поживних речовин, що надходять в організм, укладена в ковалентних зв'язках між атомами. У глюкозі кількість потенційної енергії становить 2800 кДж на 1 моль (тобто на 180 грам) [2].

Розробка ефективного та точного неінвазивного методу вимірювання глюкози в крові будь-яким способом, включаючи оптичні методи спектроскопії було метою вчених протягом двох десятиліть. Кров, тканини, і інші рідини, які виділяються організмом містять численні речовини, які впливають на отримувані спектральні характеристики глюкози. З іншого боку, гуморальна рідина ока, яка заповнює передню камеру ока (між лінзою і рогівкою), містить відносно невелике число молекул, здатних вплинути на спектр глюкози. Це, насамперед молочна кислота, аскорбінова кислота і сечовина (рис. 2). Цей факт, а також оптично доступне місце розташування гуморальної рідини за рогівкою створило чудові умови для використання її як середовища для неінвазивного аналізу глюкози [5].

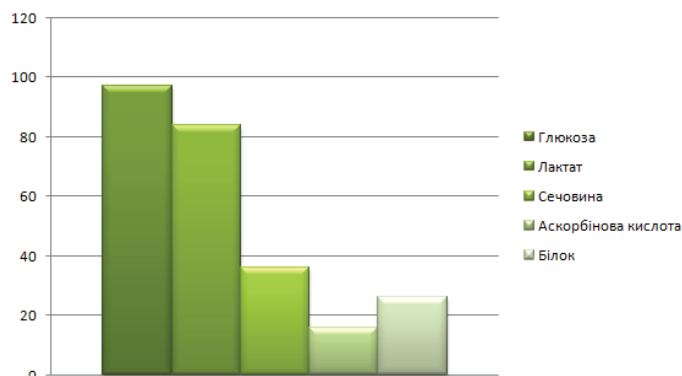


Рис. 2. Раман активні компоненти в гуморальній рідині ока (концентрації наведені відповідно до гуморальної рідини кролика), [мг/дл]

Ще однією перевагою гуморальної рідини є те, що концентрація глюкози являється лінійно пов'язаною з концентрацією глюкози в плазмі, що доказано рядом досліджень на тваринах. Оцінка постійної часу для рівноваги глюкози в крові та в гуморальній рідині ока, отримані з цих досліджень, лежить у діапазоні від 20 до 60 хвилин [5]. Крім того, стадія цукрового діабету не впливає на ці постійні часу. Рівень лактату та сечовини в гуморальній рідині також змінюється відповідно до зміни рівня глюкози в крові, тоді як аскорбінова кислота концентрується в гуморальній рідині активними механізмами транспортування [6].

Перспективи розвитку неінвазивного вимірювання рівня глюкози в крові використанням спектроскопії комбінаційного розсіювання світла у гуморальній рідині ока були очевидними і раніше [1]. Попередні дослідження вчених показали, що основні метаболіти гуморальної рідини, включаючи глюкозу, можуть бути виділені у водних розчинах, що містять кілька метаболіт. Крім того, вченими були описані методи, які могли б забезпечити безпечність використання спектроскопії Рамана для визначення рівня глюкози в крові у гуморальній рідині ока [5]. Отже, концентрація глюкози у таких сполуках метаболіт може бути визначена за допомогою раманівської спектроскопії.

Спектроскопія комбінаційного розсіювання світла дає можливість неінвазивного отримання

значення глюкози в природних умовах, тому що, на відміну від інфрачервоної спектроскопії, на його спектр не впливає вода [6].

Крім того, смуги раманівського спектру значно вужчі, ніж ті, які отримуються за допомогою класичного інфрачервоного випромінювання і раманівське випромінювання в ближній інфрачервоній області (700 – 1300 нм) має мінімальну флуоресценцію у водному середовищі [5].

Більшість фотонів впливають на результат розсіювання молекул з незмінною частотою. Невелика частина світла розсіюється зі зсувом енергії фотонів. Цей раманівський зсув виникає, коли енергія фотона передається до (або від) молекул при непружному зіткненні. Коливальний спектр, утворений в результаті комбінаційного розсіювання показує стан атомних ядер і хімічних зв'язків у молекулі, а також взаємодію між молекулою і її місцевим хімічним середовищем [6].

Успішними були спроби використовувати раманівську спектроскопію для безпосереднього вимірювання концентрації глюкози в сироватці крові, плазмі і цільній крові в пробірці [6]. Проте, спроби використовувати ці (та інші) методи в природних умовах при черезшкірному визначенні рівня глюкози в крові не були успішними, оскільки цільна кров і самі тканини мають високий коефіцієнт поглинання, містять багато люмінесцентних і раман-активних компонентів [6].

Гуморальна рідина, з іншого боку, має близький до нуля коефіцієнт поглинання і містить лише кілька раман-активних компонентів. Чотири основних раман-активних компоненти в гуморальній рідині ока є (концентрації наведені відповідно до гуморальної рідини кролика): глюкоза (97 мг/дл), лактат (84 г/дл), сечовина (36 мг/дл), а також аскорбінова кислота (16 мг/дл) (рис. 2) [6]. Існує також невелика кількість білка (26 мг/дл), що може привести до значної флуоресценції, що може негативно вплинути на раманівський сигнал створюючи додаткові шуми. Раманівські спектри зразків гуморальної рідини кроликів і людини доказали можливість виявлення піків активності властивих глюкозі, лактату, сечовині, амінокислотам і білкам [6].

Для визначення рівня глюкози в гуморальній рідині ока було обрано довжину хвилі раманівського випромінювання в ближній інфрачервоній області для того, щоб зменшити можливу сторонню біологічну флуоресценцію і звести до мінімуму можливість пошкодження тканин, що робить вибір гуморальної рідини ока як середовища досліджень найкращим для досягнення підвищення ефективності вимірювань. А оскільки в гуморальній рідині також знаходяться інші метаболіти, отже запропонованим способом можна вимірювати і їх концентрацію, що значно підвищує функціональні можливості приладу. Але поряд з отриманими перевагами існує і недолік, який полягає в тому, що ефективність раманівського розсіювання зменшується обернено пропорційно довжині хвилі у четвертій степені [5].

Для забезпечення і дослідження випадкових флуктуацій співвідношень чотирьох основних метаболітів гуморальної рідини в діапазоні концентрацій від 0.5X до 13X відносних одиниць відносно нормального значення для кролика було виготовлено кілька зразків штучної гуморальної рідини (табл. 2).

Рівні метаболіт у цьому діапазоні можна спостерігати при гіпоглікемії і діабеті (глюкоза), нирковій недостатності (сечовина), та інфаркту міокарда (лактат). Аналіти були розчинені фізіологічним (0,9%) розчином в пробірці. Зміни концентрації трьох інших аналітів можуть різко змінити показники оцінки глюкози. Для розробки засобів оцінки рівня глюкози в гуморальній рідині використовуються спектри від 20 випадково згенерованих сумішей, що наведені в табл. 2. Концентрації чотири основних складових гуморальної рідини були випадковим чином змішані в фізіологічному розчині. Індивідуальні рівні компонент лежать в діапазоні від 0.5X до 13X відносно можливих рівнів в гуморальній рідині кролика.

Таблиця 2.

Концентрація метаболіт у штучній тестовій гуморальній рідині мг/дл

Мікс-тура	Глюкоза	Лактат	Аскорбінова кислота	Сечовина	Мікс-тура	Глюкоза	Лактат	Аскорбінова кислота	Сечовина
1	50	80	1000	50	11	400	1100	1300	100
2	60	700	600	120	12	500	1300	500	170
3	80	60	1200	400	13	600	900	300	1200
4	100	100	400	250	14	700	50	140	1000
5	120	120	50	140	15	800	1200	100	800
6	140	250	800	500	16	900	300	60	200
7	170	140	80	60	17	1000	400	250	700
8	200	170	200	900	18	1100	1000	1100	80
9	250	800	170	600	19	1200	1000	900	80
10	300	500	120	1100	20	1300	600	700	1300

Суміші перераховані в порядку зростання концентрації глюкози. Коефіцієнти кореляції між шістьма можливими комбінаціями коливаються від -0,37 (аскорбінова кислота/сечовина) до 0,44 (лактат/глюкоза). Дві порції зразка були взяті з кожної суміші та проаналізовані окремо, щоб виробити в

цілому 40 зразків і дозволити оцінку тесту та повторну перевірку точності [7].

Зразки поміщалися в кварцові кювети, спроектовані таким чином, щоб обмежити об'єм зразка до 100 мл і в той же час дозволити прямий доступ до тестових сполук без проходження через кварцові стінки або покриття. Час інтегрування для кожного спектра 100 секунд з середньою потужністю, що доставляється до зразка 50 мВт. Для забезпечення мінімального часу експозиції для майбутніх вимірів в природних умовах тільки один спектр був зібраний для кожного зразка. Однак кожна суміш концентрації була дубльована і два незалежних вимірювання були проведені на кожному аліквоті [7].

Раман-спектри для чотирьох основних метаболітів гуморальної рідини (глюкоза, лактат, аскорбінова кислота і сечовина) являються досить різними (перші чотири спектри на рис. 3). Коли чотири аналіти змішуються з концентрацією близькою до нормального рівня, складений спектр показує помітну схожість з гуморальною рідиною ока кролика (останні два спектри рис. 3) [7].

Спектри гуморальної рідини кролика також свідчить про широкосмугову флуоресценцію і підвищену активності лактату (вторинну відносно інфаркту міокарда). Тим не менш, все ще можна виявити загальні піки, обумовлені лактатом, сечовиною і глюкозою [6]. Подібність спектрів штучних гуморальної рідини і гуморальної рідини кролика досить вражаюча.

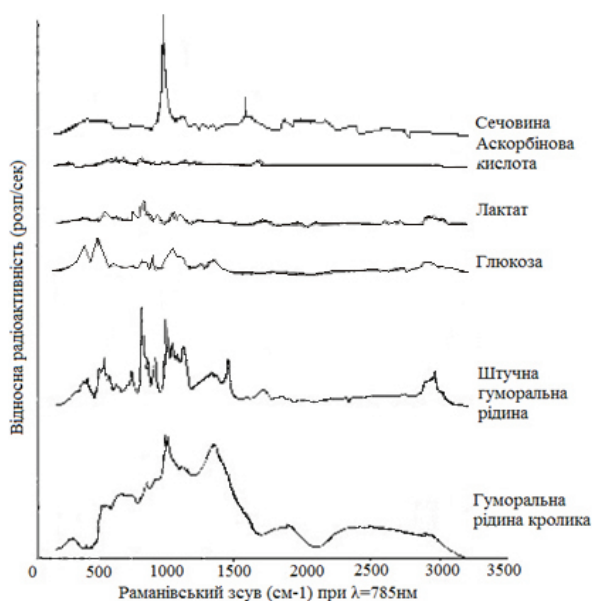


Рис. 3. Раман-спектр гуморальної рідини

При експерименті зі штучною гуморальною рідиною невідома концентрація глюкози піддавалась дослідженню без будь-якої попередньої обробки. Концентрація глюкози оцінювалася за штучним сумішами гуморальної рідини за допомогою використання спектрів сировини при тому, що концентрації різних метаболітів випадково змінювалися в широкому діапазоні клінічних умов [6].

На рисунку 4 показано відмінну кореляцію виміряного значення глюкози з дійсним (дані зібрані при самому діагностуванні та повторній перевірці точності). Коефіцієнт кореляції становить 0,99 [5].

Згідно міжнародного стандарту DIN EN iso 151197 глюкометр вважається точним, якщо:

- при рівні цукру менше 4,2 моль/л відхилення становить 0,82 моль/л в меншу чи більшу сторону;
- при рівні цукру 4,2 моль/л чи більше відхилення може становити 20% в більшу чи меншу сторону [5].

Спектр гуморальної рідини кролика (останній спектр на рисунку 3) ускладнюється очікуваним підвищенням лактату вторинно відносно до важкого інфаркту міокарда і препаратів введених в рамках експерименту. Потенційні раман-активні молекули включають: аспірин, кетамін, ксілазін, фенобарбітал і гепарин. Тому ефективність та точність неінвазивного моніторингу метаболітів в гуморальній рідині ока потребує детального дослідження на зразках, що місять різні вторинні ускладнення, як наприклад інфаркт міокарда в даному випадку. Проте, очікується, що раман-активність буде проявляється/не проявлятися на різних хвилових числах, тому саме цей аспект потребує подальшого дослідження [7].

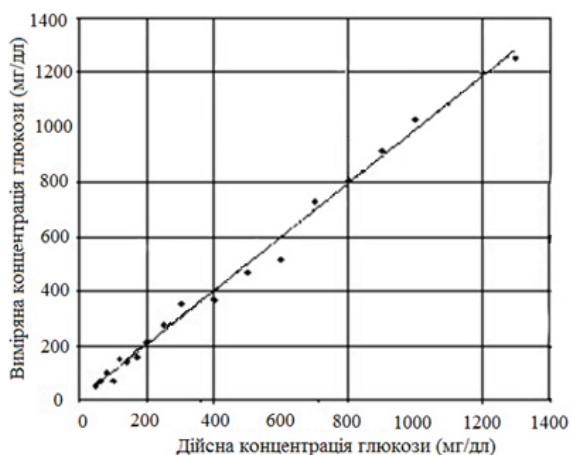


Рис. 4. Кореляція дійсного і виміряного значення концентрації глюкози

Було встановлено, що фактичні рівні глюкози гуморальної рідини очей кролика відрізняються один від одного. Дані показники було встановлені для лівого ока 332 ± 19 мг/дл та 328 ± 37 мг/дл у правого. Очевидна широкосмугова активність між 800 і 1500 cm^{-1} , а також між 2300 і 2800 cm^{-1} не дозволяє оцінити рівень глюкози в штучній гуморальній рідині і гуморальній рідині кролика. Тому існує потреба створення природних стандартів калібрування [7].

Важливо відзначити, що підвищений рівень глюкози в гуморальній рідині кролика очікувався у відповідь на ксілазін. Ксілазін зазвичай використовується у поєднанні з кетаміном як анестезуючий засіб в хірургічних процедурах. Це заважає вивільненню інсуліну в підшлунковій залозі. Це призводить до підвищення рівня глюкози в крові протягом двох-шести годин [6].

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ НЕІНВАЗИВНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ РІВНЯ ГЛЮКОЗИ

Цукровий діабет – це складна група синдромів, які в загальному складають порушення використання організмом людини глюкози, у результаті чого спостерігається підвищений рівень цукру в крові. Виявлений цукровий діабет може бути контрольований відповідним режимом життя, який обов'язково повинен включати спеціальну дієтотерапію, програму зниження ваги для тих пацієнтів, які страждають надлишковою вагою, спеціальних фізичних вправ та ін'єкцій інсуліну чи пероральних медикаментів для зниження рівня глюкози в крові. Моніторинг рівня глюкози в крові пацієнтом і лікарем є дуже важливим аспектом у боротьбі з важкими (іноді навіть смертельними) ускладненнями такими, як серцева недостатність, сліпота, ниркова недостатність чи ампутації кінцівок, оскільки на даний момент повністю вилікувати цукровий діабет неможливо [1].

Вчені стверджують, що інтенсивна терапія і часте вимірювання рівня глюкози в крові має численні переваги та значно продовжує життя хворого на діабет [2].

Тому з розвитком науки і техніки стрімко розвиваються неінвазивні технології діагностики, беззаперечними перевагами яких є безболісність, безкровність та можливість діагности в домашніх умовах. Однак, залишається багато перешкод перед тим, як неінвазивні прилади діагностики рівня цукру в крові досягнуть комерційного ринку. Необхідними є калібрування приладів та перевірка результатів, отриманих оптичними методами в різних екологічних умовах при різних популяціях пацієнтів (тобто калібрування за віком, ваговими категоріями та етнічною приналежністю). Не виключається також необхідність калібрування пристроїв для кожного користувача окремо. Відомі прилади характеризуються низькою специфічністю за рахунок істотних хімічних і фізичних перешкод. Пристрої використовують багатовимірний регресійний аналіз, які перетворюють оптичний сигнал відповідно до концентрації глюкози [30].

Використовується велика кількість даних для побудови моделі поведінки рівня глюкози в крові, тому слід брати до уваги діапазон концентрації, умови навколишнього середовища і інші фактори, які впливають на аналіз. В першу чергу прилад повинен мати високу точність. Кореляція і клінічна інтерпретація отриманого значення рівня глюкози по відношенню до істинного значення є необхідними для оптимальної терапії і лікування захворювання [1].

Значний прогрес був досягнутий у розвитку неінвазивних пристроїв моніторингу рівня глюкози однак, в цей час, часте тестування за допомогою інвазивного визначення рівня глюкози в крові через палець, забезпечує найбільшу точність. Індустрія у свою чергу заявляє, що переваги неінвазивних технологій очевидні, але в той же час і потребують детального дослідження. [1].

ВИСНОВКИ

Показано перспективи подальшого розвитку неінвазивних технологій та практичне застосування методів неінвазивного моніторингу рівня глюкози в крові. Сучасний стан питання вимагає постійного моніторингу цукру в крові для аналізу та забезпечення найефективнішого лікування хворих на цукровий діабет. Інвазивні технології, не зважаючи на свою високу точність, не можуть задовольнити потреб сучасної медицини та хворих, оскільки мають ряд недоліків, головними з яких є дискомфорт та необхідність постійно брати зразок крові з організму. Неінвазивні технології дозволяють уникнути цих недоліків та створити принципово нові системи, які будуть базуватись на оптико-електронній елементній базі та оптичних властивостей глюкози, чим досягається значне підвищення функціональності та ефективності глюкометрів. З відомих на сьогоднішній день методів слід відмітити, що найбільш ефективним є метод Раман-спектроскопії (метод комбінаційного розсіювання), а найбільш оптимальним середовищем для досліджень є гуморальна рідина ока. Але при використанні цих методів необхідно враховувати пороги, при яких метод буде давати точні показники і не шкодити здоров'ю пацієнта. До таких порогів слід віднести довжини хвиль випромінювання, потужність та час дії збудженого випромінювання на біологічний об'єкт.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Бутолин Е.Г. Клиническая информативность показателей биологических жидкостей организма: [Справочник] / Е.Г. Бутолин, В.Г. Иванов. – Ижевск, Экспертиза, 1998. – 356с.
2. Герасименко В.Л. Обзор методов определения глюкозы: [Текст] / В.Л. Герасименко– М.: Наука, 2005. – 356 с.
3. Driskill W.T. Diabetes Continues to the Nation's Fourth Leading Cause of Death / W.T. Driskill // Health Educator. – 2006. – №3. – С. 18 – 23.
4. Davidson M.B. Diabetes Mellitus / M.B. Davidson // Diagnosis and Treatment. – 2001. – №1. – С. 45 – 63.
5. Auxter S. Disease Management Models of Diabetes Take Root / S. Auxter // Clinical Chemistry News. – 1996. – №11. – С. 16 – 32.
6. Non-invasive Blood Glucose Assay by Near-Infrared Diffuse Reflectance Spectroscopy of the Human Inner Lip / R. Marbach, Th. Koschinsky, F.A. Gries, H.M. Heise // Diagnosis and Treatment. – 2006. – №7. – С. 87 – 91.
7. Portable Non-Invasive Blood Glucose Monitor / A. Duncan, J. Hannigan, S.S. Freeborn, P.W.H. Rae, B. McIver, F. Greig, E.M. Johnston, D.T. Binnie, H.A. MacKenzie // 8th Int. Conf. Solid State Sensors and Actuators and Eurosensors IX; April 2011: abstracts. – Stockholm, Sweden. – 2011. – 455 – 458.

Надійшла до редакції 12.12.2011р.

КОЖЕМ'ЯКО ВОЛОДИМИР ПРОКОПОВИЧ – заслужений діяч науки і техніки України, д.т.н., професор, академік АІНУ, зав. кафедри лазерної та оптоелектронної техніки, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.

ТУРЛЮК АНАСТАСІЯ ВАСИЛІВНА – аспірантка кафедри лазерної та оптоелектронної техніки, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.

ЯРОВЕНКО АНАСТАСІЯ ОЛЕКСІЇВНА – студентка кафедри автоматичних та інформаційно-вимірювальних систем, Вінницький національний технічний університет, м. Вінниця, Україна.