

Динамика развития методов контроля гликемии от инвазивных к неинвазивным. Актуальные перспективы

© Бабенко А.Ю.^{1,2}, Кононова Ю.А.^{1,2}, Циберкин А.И.¹, Ходзицкий М.К.², Гринева Е.Н.^{1,2}

¹ФГБУ Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург

²ФГАОУ ВО Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

Улучшение прогноза пациентов, страдающих диабетом 2 типа, в высокой степени определяется адекватным контролем всех параметров гликемии (коррекция гипер- и гипогликемии, нормализация вариабельности гликемии). Для полноценной идентификации и своевременной коррекции всех отклонений уровня гликемии чрезвычайно важен ее самоконтроль. Используемые в настоящее время для самоконтроля методы имеют ряд существенных недостатков, ограничивающих их использование. Наиболее значимые проблемы существующих методов самоконтроля включают недостаточную точность, инвазивность, высокую стоимость, что приводит к отсутствию должной частоты измерения уровня гликемии и, соответственно, вносит трудности в компенсацию сахарного диабета. Эти факторы определяют необходимость создания неинвазивных, рентабельных и высокоточных методов оценки гликемии. Для неинвазивного определения уровня глюкозы предложено большое количество различных подходов, начиная от оптических методов анализа, заканчивая ультразвуковыми и биоимпедансными методиками. Несмотря на то, что первые разработки в области неинвазивного определения глюкозы появились около 30 лет назад, до настоящего момента большинство методик находится на ранних стадиях развития и не может быть использовано в клинической практике. В настоящем обзоре представлен анализ наиболее перспективных разработок в этом направлении.

Ключевые слова: неинвазивный; глюкоза; глюкометр; спектроскопия; терагерцовый

The dynamics of invasive and noninvasive blood glucose monitoring methods: Recent trends

Alina Y. Babenko^{1,2}, Yulia A. Kononova^{1,2}, Alexander I. Tsiberkin¹, Michail K. Khodzitsky², Elena N. Grineva^{1,2}

¹V.A. Almazov Federal North-West Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russia

²Saint-Petersburg National Research University of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint-Petersburg, Russia

Improved prognoses of patients with type 2 diabetes are primarily determined by the extent of blood glucose control (correction of both hyper- and hypoglycemia and normalization of blood glucose levels). The proper identification and timely correction of abnormal blood glucose levels require frequent blood glucose monitoring by the patient. Currently used methods for the self-monitoring of blood glucose have significant drawbacks that limit their use. The most significant problems with these methods include insufficient accuracy, invasiveness and high cost, leading to noncompliance and difficult assessment of disease status. Such factors underscore the need for a noninvasive, cost-effective and highly accurate method to measure blood glucose levels. There are several different approaches for the noninvasive measurement of blood glucose levels, including optical analysis, ultrasound and bioimpedance. The concept of a noninvasive glucometer was launched more than 30 years ago. Nevertheless, most noninvasive technologies are still in early stages of development and are not used in clinical practice. This review describes the most promising developments in this area.

Keywords: noninvasive; glucose; glucometer; spectroscopy; terahertz

Сахарный диабет 2 типа представляет собой тяжелейшую медико-социальную проблему. Распространенность этого заболевания в 2010 г. составляла 284,6 млн человек и, по прогнозам экспертов ВОЗ, к 2030 г. эта цифра должна была достигнуть 438,4 млн человек (увеличение на 54%) [1]. Между тем, уже на момент 2015 г. эта цифра достигла 382 млн, су-

щественно превысив прогнозируемый рост, и прогноз на 2030 г. изменился на цифру 551,8 млн (на 2035 г. — 592 млн) [2]. Причем это цифры официальной статистики, которая не всегда соответствует реальной ситуации. В частности, в РФ, по данным официальной оценки, более 3 млн человек страдают сахарным диабетом (СД) (2% всего населения России), но по оценкам

экспертов реальная распространенность СД в нашей стране существенно выше, и более 6,6 млн человек имеют недиагностированный СД (данные Российской Ассоциации Эндокринологов, подтвержденные главным внештатным эндокринологом Минздрава, академиком РАН И.И. Дедовым). Поздняя диагностика СД наравне с плохим контролем являются одними из ведущих причин развития осложнений СД, которые, в свою очередь, определяют инвалидизацию и смертность пациентов с СД. Заболеваемость и смертность по причине макрососудистых осложнений также высоко ассоциирована с различными характеристиками уровня гликемии: гипергликемией, гипогликемией, вариабельностью гликемии. Так, при повышении уровня гликированного гемоглобина (HbA_{1c}) с 6% до 9% риск развития микрососудистых осложнений увеличивается в 4 раза – с 10 случаев на 1 тыс. пациенто-лет до 40 случаев, и продолжает возрастать, а риск инфаркта миокарда увеличивается в 2 раза – с 20 случаев на 1 тыс. пациенто-лет до 40 случаев [3]. Развитие гипогликемии, даже субклинической, ассоциировано с увеличением сердечно-сосудистой смертности в 2–2,5 раза, а сердечно-сосудистых событий – в 4 раза [4]. Вариабельность гликемии также оказывает существенное влияние на сердечно-сосудистый риск – амплитуда колебаний гликемии $\geq 3,4$ ммоль/л являлась независимым предиктором коронарного атеросклероза (отношение рисков – 2,612 (1,413–4,831), $p=0,002$) и его тяжести, причем более значимым, чем HbA_{1c} [5]. Кроме того, вариабельность уровня глюкозы натощак явилась независимым предиктором сердечно-сосудистой смертности у пожилых пациентов с СД2 [6], ургентных больных [7] и неблагоприятного исхода при ИМ [8].

Современные инвазивные методы оценки уровня глюкозы в крови

Для полноценной идентификации и оптимальной коррекции всех описанных отклонений уровня гликемии чрезвычайно важен ее самоконтроль. Есть данные, что самоконтроль глюкозы крови (СКГК) снижает риск развития осложнений СД [9]. Между тем, используемые в настоящее время для самоконтроля методы имеют ряд существенных недостатков, ограничивающих их использование. Наиболее значимые проблемы существующих методов самоконтроля включают недостаточную точность, инвазивность, высокую стоимость.

Проблема точности приборов является наиболее важной с точки зрения эффектов на контроль сахарного диабета. Все приборы для определения глюкозы в крови должны удовлетворять критериям Международной Организации по Стандартизации: 95% измерений должны находиться в пределах $\pm 20\%$ при концентрации глюкозы >75 мг/дл (4,2 ммоль/л) и в пределах ± 15 мг/дл (0,85 ммоль/л) при уровне <75 мг/дл (4,2 ммоль/л). Точность является чрезвычайно важной для достижения конечной цели терапии – эугликемии. Предполагается, что любой прибор для определения концентрации глюкозы в крови, выпущенный на рынок, обеспечивает

точные и надежные результаты, однако также известно, что на результат могут влиять некоторые технологические особенности, состояние здоровья пациента и техника определения гликемии пациентами. То есть снижение точности измерения может зависеть как от пользователя, так и от прибора. Если говорить о факторах, определяемых пользователем, то здесь следует упомянуть чистоту кожных покровов, качество и адекватность размера капли крови, употребление алкоголя, гематокрит, а также моменты, связанные с адекватностью обучения и переобучения пациента и личностными характеристиками: не забыл ли пациент стереть первую каплю крови, адекватность владения техникой определения гликемии, а соответственно, ошибки при измерении, умение обеспечить и обеспечение ухода за прибором. Важность обучения пациентов можно проиллюстрировать следующими фактами. По данным DCCT и UKPDS, улучшение контроля за уровнем глюкозы крови (частый самоконтроль) приводит к снижению уровня HbA_{1c} , а это, в свою очередь, улучшает результаты лечения [10, 11]. Несомненно, пациенты, имеющие информацию о своем уровне гликемии, гораздо чаще своевременно обращаются к врачу за коррекцией, чем те, которые такой информации не имеют.

К факторам, определяемым прибором, относятся такие характеристики прибора, как необходимость кодирования, размер и качество образца крови, необходимое для анализа, качество тест-полоски или картриджа, вариабельность результата измерений, фермент, использованный в тест-полоске, возможность влияния сторонних факторов, температуры, гематокрита. Последние из перечисленных факторов (влияние сторонних факторов, температуры, гематокрита) определяется используемым в приборе методом оценки уровня глюкозы. В зависимости от используемого метода все приборы делятся на фотометрические и электрохимические.

Фотометрические, в свою очередь, делят на:

- фотометрический по конечной точке;
- фотометрический кинетический;
- отражательная фотометрия;
- сухая химия.

Фотометрический метод в наибольшей степени зависит от перечисленных факторов. В его основе лежит принцип окрашивания тест-полоски при контакте с глюкозой. Полоска обработана особыми реагентами, которые меняют цвет в зависимости от концентрации глюкозы. Это приборы первого поколения, и на сегодняшний день они устаревают. На их показания могут оказывать влияние многие внешние факторы, поэтому они имеют большую погрешность.

Электрохимические системы

В электрохимических системах для мониторинга глюкозы в крови фермент, содержащийся в тест-полоске, ускоряет химическую реакцию между глюкозой и молекулой медиатора. В ходе реакции электроны переходят от глюкозы к медиатору. В конце периода тестирования прибор создает электрический потенциал на рабочем

электроде. Электроны, образующиеся в медиаторе, притягиваются электродом и измеряются как электрический ток.

В настоящее время в электрохимических системах используются три фермента:

- глюкозооксидаза;
- гексокиназа;
- глюкозодегидрогеназа.

Глюкозооксидаза больше подвержена влиянию различных лекарств и эндогенных компонентов крови, чем два других метода. Это связано с тем, что в тест-полосках с глюкозооксидазой происходит конкурентная реакция, в которой электроны переходят к медиатору феррицианиду с образованием ферроцианида и кислорода, поэтому на точность результата может влиять парциальное давление O_2 в образце крови, гематокрит. В конце тестирования прибор создает потенциал на рабочем электроде, который притягивает электроны от ферроцианида и создает электрический ток. Прибор измеряет силу тока и вычисляет концентрацию глюкозы.

Тест-полоски с глюкозодегидрогеназой (пирролохинолинхинон-глюкозодегидрогеназой) могут перекрестно реагировать с мальтозой, галактозой и ксилозой, что может приводить к завышению показателей глюкозы прибором при наличии этих углеводов в крови. Чтобы избежать этих взаимодействий, была разработана новая модификация этого фермента – флавинадениндинуклеотид-зависимая глюкозодегидрогеназа. Тест-полоски с флавинадениндинуклеотид-глюкозодегидрогеназой реагируют только с ксилозой, повышенный уровень которой в крови в реальной практике отмечается крайне редко (выполнение ксилозного теста).

На скорость химической реакции в тест-полосках во всех системах для определения глюкозы в крови влияет температура – она выше в более теплых условиях и ниже в прохладном помещении. На стабильность тест-полоски со временем может влиять влажность.

Влияние перечисленных факторов значительно снижает точность приборов.

Общими недостатками всех используемых в настоящее время для самоконтроля гликемии глюкометров, помимо недостаточной точности, являются высокая стоимость и инвазивность.

Стоимость самоконтроля при помощи современных глюкометров весьма высока и в основном определяется стоимостью расходных материалов.

Не менее остро стоит проблема инвазивности. Каждое измерение уровня глюкозы требует прокола пальца, что сопровождается хоть и небольшими, но болевыми ощущениями, постепенным огрубением кожи и определенным риском инфицирования.

Эти проблемы (высокая стоимость расходных материалов и инвазивность) являются основной причиной продолжающихся исследований по созданию неинвазивных глюкометров. Неинвазивные глюкометры (НГ) позволяют определить уровень глюкозы в крови без прокола кожи и получения капли крови. Эти приборы не будут требовать расходных материалов, поэтому даже если сам

глюкометр будет стоить на порядок дороже, все равно расходы на самоконтроль сократятся многократно.

Неинвазивные методы определения уровня глюкозы в крови

Неинвазивные методы, которые могут быть использованы для определения глюкозы, можно разделить на две категории. В первую входят методы, которые измеряют эффекты глюкозы на физические свойства крови и ткани [12]. Эта категория основана на предположении, что глюкоза – доминантный, постоянно изменяющийся признак и, как таковой, способствует значительному изменению в соответствующих физических параметрах ткани. Следовательно, измерение таких параметров позволяет косвенно оценить уровень глюкозы крови. Эта группа методов регистрирует изменения свойств тканей в зависимости от концентрации глюкозы и включает в себя методы определения светорассеяния (light scattering) и эмиссии, оптическую когерентную томографию, методы флуоресцентного анализа, регистрацию температурных и электрических изменений тканей.

Вторая категория включает методы, основанные на определении функциональных групп молекулы глюкозы. К ним относятся спектроскопия ближнего (near-infrared) и среднего (mid-infrared) инфракрасного диапазона длин волн, рамановская спектроскопия, инфракрасный фотоакустический анализ, метод оптической ротации и прочие. Эти методы способны обнаружить глюкозу в ткани или крови независимо от других компонентов или психологического состояния.

В последнее время разработано несколько типов НГ, но их общая проблема состоит в том, что они не могут обеспечить достаточную точность измерения в различных условиях.

В разных приборах, работающих на методах первой категории, используют оптические, ультразвуковые, электромагнитные, термальные и другие методики. В большинстве случаев предлагаются аналитические подходы, основанные на оптических методах анализа, в основе которых лежит оценка отражения, поглощения или рассеяния света, проходящего через ткани. Физической основой этих методов является закон Бугера-Ламберта-Бера, согласно которому интенсивность сигнала обратно пропорциональна концентрации вещества, однако *in vivo* имеют место многочисленные отклонения от этого закона, которые будут рассмотрены далее. Подобный подход в отношении определения глюкозы *in vivo* имеет ряд трудностей, которые связаны со свойствами молекулы глюкозы и ее распределением в организме. В первую очередь, глюкоза не имеет четко ограниченного компартмента и определяется практически во всех биологических жидкостях, а также внутри клеток, и при этом в достаточно небольшом количестве: у здоровых людей при концентрации глюкозы в крови ~5,5 ммоль/л в 100 мл крови содержится всего 0,1 г глюкозы. Кроме того, ее концентрация варьирует в различных тканях и изменяется в зависимости от времени суток, действия

инсулина и потребления углеводов. Химическая структура глюкозы, которая определяется набором С-С-, С-Н- и О-Н-связей, схожа с большинством структурных компонентов организма. Глюкоза связана с большинством белков организма, и их гликозилирование увеличивается пропорционально декомпенсации углеводного обмена у пациентов с СД, в связи с чем возникает проблема разделения сигнал-шум у большинства спектроскопических методик. Известно, что глюкоза и инсулин обладают вазодилатирующим эффектом, в связи с чем колебания уровня гликемии у пациентов с СД будут приводить к изменению тонуса сосудистой стенки и, соответственно, кровотока, что будет влиять на оптические свойства ткани, особенно в ближнем инфракрасном диапазоне длин волн [13]. Нарушение терморегуляции, которое имеет место у пациентов с СД за счет поражения *vasa nervorum*, привносит дополнительные трудности при анализе оптическими методами исследования. Изменение температуры приводит к изменению перфузии крови в наружных слоях кожи, что изменяет ее оптические свойства – глубина проникновения света увеличивается с уменьшением температуры [14]. Охлаждение кожных покровов изменяет сигнал по типу увеличения концентрации глюкозы, тогда как увеличение температуры имитирует снижение концентрации глюкозы [15]. Таким образом, изменение температуры тела пациента может приводить к изменению регистрируемого сигнала глюкозы при ее стабильном уровне [16]. Более того, показано различие в особенностях кровоснабжения кожи [17, 18], структуре соединительной ткани [19], реологических свойствах крови между пациентами с СД и без него, что определяет различия в оптических свойствах кожи между ними. Описанные различия могут быть использованы для неинвазивного определения диабетического статуса у пациентов, однако существенно усложняют количественное определение уровня глюкозы оптическими методами [12].

Недавно израильская компания Integrity Applications получила сертификат Еврокомиссии на глюкометр GlucoTrack DF-F, который позиционируется, как наиболее точный из неинвазивных (рис. 1). Он использует сразу



Рис. 1. Глюкометр GlucoTrack DF-F (Integrity Applications) [20]

3 способа измерения глюкозы в крови: ультразвуковой, электромагнитный и термальный. Все эти измерения проводятся с помощью миниатюрного датчика-клипсы, который крепится на мочке уха.

Кратко эти способы состоят в следующем.

Ультразвуковой метод

Изменения в концентрации глюкозы могут быть косвенно оценены измерением скорости звука при прохождении через ткань [21]. Так как скорость распространения звука зависит линейно от концентрации глюкозы, то чем выше содержание глюкозы в ткани, тем быстрее ультразвуковая волна проходит через нее, и время распространения волны уменьшается. Это связано с тем, что в состоянии гипергликемии, из-за перемещения воды из клеточного пространства во внеклеточное, ткань становится менее гидратированной и более плотной, в результате увеличивается скорость прохождения ультразвука через ткань.

Канал измерения состоит из передатчика ультразвука, приемника, закрепленного на мочке уха пациента, и электронной схемы. Непрерывная ультразвуковая волна, сгенерированная передатчиком, проходит через мочку уха с определенной скоростью, вызывая изменение фазы ($\Delta\phi$) между переданной и полученной волной.

Во время калибровки отбираются две оптимальных частоты, одна – низкочастотного диапазона и другая – высокочастотного диапазона. После калибровки измерения проводятся в двух выбранных частотах.

Скорость волн ультразвука зависит также от температуры среды распространения [22]. Поэтому коррекция на температуру, с учетом и температуры окружающей среды, и температуры ткани, необходима.

Электромагнитная методика

Глюкоза влияет на транспорт воды и ионов через клеточную мембрану, приводя к изменениям в электрических свойствах внутриклеточного и внеклеточного пространства [23]. Прежде всего, происходят изменения в диэлектрических свойствах, которые отражаются в изменениях общего импеданса ткани. Чтобы зарегистрировать изменения в электрическом импедансе ткани, вызванные изменением уровня глюкозы, создается электромагнитный канал (ЕМС), включающий специальный контур автоколебаний и мочку уха, которая функционирует как диэлектрический материал, помещенный между двумя электродами. Температуру мочки уха также учитывают при измерении, так как импеданс ткани зависит от температуры [24].

Принцип тепловой технологии (тт)

Изменения в тепловых свойствах в пределах мочки уха могут быть описаны, используя уравнение:

$$\rho_t c_t \frac{\partial U_t}{\partial t} = k_t \nabla^2 U_t + h_m + h_b + h_{ext},$$

где ρ_t , c_t и k_t – плотность, определенная температура и теплопроводность ткани соответственно. U обозначает температуру, определенную в точке измерения в мочке

уха. Метаболическое генерирование температуры, теплопередача между тканью и кровью и любой степени внешнее нагревание обозначены как h_m , h_b и h_{ext} соответственно. Изменения глюкозы крови вызывают изменения температуры (T) через изменения ρ_t и c_t , а k_t — через изменение соотношения воды/электролитов. Поэтому глюкоза может быть оценена косвенно посредством измерения изменений температуры (T в ответ на определенное количество поставляемой энергии, за определенную продолжительность времени). T также зависит от скорости кровотока и метаболизма. Соответственно, на результаты этого метода влияют изменения в перфузии и нарушения циркуляции, в частности, ассоциированные с осложнениями диабета (ангиопатии), а также уровень физической активности пациента перед измерением.

Однако интеграция данных измерений тремя методами одновременно позволяет получить более точные результаты.

Подавляющее большинство методов, основанных на определении функциональных групп молекулы глюкозы, использует спектроскопию в различных диапазонах длин волн.

К ним относится спектроскопия в ближнем инфракрасном диапазоне длин волн — от 12 500 до 4000 см^{-1} , которая находит обширное применение при оптическом анализе *in vitro* ввиду его доступности и экономичности. Главной проблемой при использовании этого метода *in vivo* является низкая интенсивность сигнала глюкозы и перекрывание его с сигналом воды, жировой ткани, молекулами соединительной ткани, что приводит к очень низкому соотношению сигнал-шум и невозможности адекватного количественного определения концентрации глюкозы [25]. Для решения этой проблемы было предложено большое количество математических алгоритмов анализа данных, использование различных мест регистрации сигнала — межпальцевые складки, язык, губы, щеки, межсосновая перегородка, частые калибровки приборов на основании инвазивного определения уровня гликемии, однако, ввиду перечисленных выше трудностей, значимого результата в этой области до настоящего момента достичь не удалось [24, 25].

Также предпринимаются попытки использования спектроскопии в среднем инфракрасном диапазоне длин волн — от 4000 до 400 см^{-1} . Достоинством этого метода является более интенсивная выраженность пика глюкозы и, соответственно, более высокое соотношение сигнал-шум. Главным недостатком, помимо общих перечисленных трудностей оптических методик, связанных с взаимодействием с водой, влиянием температуры и разницей в перфузии крови, является низкая проницаемость ткани для этого диапазона — максимум до 2,5 мкм, что значительно снижает ценность этого метода [26].

Определенную перспективу представляет и неинвазивное определение глюкозы с помощью рамановской спектроскопии, диапазоном которой считается длина волн от 200 до 2000 см^{-1} . Известно, что луч света вызывает осцилляцию и ротацию молекул. Ввиду того,

что эмиссия рассеянного света напрямую определяется колебаниями молекул, принципиально возможно оценить концентрацию глюкозы в растворе путем оценки неупругого (рамановского) рассеяния монохромного света фотодетектором. Достоинствами метода является более высокое соотношение сигнал-шум, в первую очередь, за счет меньшего поглощения воды, поэтому метод позволяет регистрировать очень слабые сигналы, даже в биологических жидкостях. Кроме того, метод менее чувствителен к изменениям температуры. Недостатком метода является то, что для достижения должного соотношения сигнал-шум для количественного определения уровня глюкозы требуется достаточно высокая мощность источника света (лазера), что может привести к повреждению тканей организма. Снижение мощности лазера для использования *in vivo* сопровождается потерей чувствительности метода [27].

Прибор на основе лазерного излучения был разработан в Массачусетском университете. В его основе лежит технология с использованием инфракрасной фотоакустической спектроскопии. Метод основан на возбуждении молекул жидкости инфракрасным светом и анализом последующего акустического ответа. Технология обеспечивает лучшую специфичность сигнала, чем инфракрасная спектроскопия, однако ее использование ограничивается дорогостоящей аппаратурой, большой зависимостью результатов измерения от температуры исследуемых тканей и физической активности [22].

Использование метода импульсной терагерцевой спектроскопии для определения уровня глюкозы в крови

В Санкт-Петербурге в Университете ИТМО в настоящее время начата работа по созданию глюкометра, использующего метод импульсной терагерцевой спектроскопии, при поддержке гранта “Мало- и неинвазивная диагностика и терапия социально-значимых заболеваний электромагнитным излучением инфракрасного и терагерцевого диапазона частот” в рамках программы государственной поддержки ведущих университетов Российской Федерации в целях повышения их конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

В основе данной методики лежит тот факт, что многие биомолекулы имеют характерные частоты колебательно-вращательных переходов в терагерцевом (ТГц) диапазоне частот, по интенсивности линий поглощения на этих частотах можно выявить их наличие и определить концентрацию. Кроме того, уровень глюкозы влияет на время релаксации молекул, что приводит к изменению оптических свойств крови.

Вследствие эффекта Дембера в магнитном поле ТГц излучение индуцируется кристаллом арсенида галлия в магнитной системе, затем проходит через фильтр из тефлона (который не пропускает волны короче 50 мкм), то есть отсекает ИК-диапазон длин волн, после чего часть излучения проходит сквозь образец, обладающий некоторым амплитудно-фазовым пропусканием, а часть отражается от образца, зафиксированного в фо-

кальной плоскости, перпендикулярно лучу. При одновременном попадании пробного пучка фемтосекундного излучения и пучка ТГц-излучения (как отраженного от объекта исследования, так и прошедшего через объект) на электрооптический кристалл CdTe, для каждой из двух систем детектирования ТГц-импульс в кристалле будет наводить двулучепреломление пробного пучка из-за электрооптического эффекта Погкельса. Величина двулучепреломления прямо пропорциональна напряженности электрического поля ТГц-волны в данной временной точке $E(t)$. С помощью линии задержки изменяется время пересечения ТГц-импульса и импульса пробного пучка в нелинейном кристалле. При измерении сигнала при различном времени задержки ТГц-сигнала строится график зависимости амплитуды ТГц-излучения от времени $E(t)$. Полученный сигнал фильтруется, усиливается и передается на компьютер для анализа. Для получения спектральных и оптических свойств к временной форме применяется преобразование Фурье.

В ходе эксперимента была выявлена зависимость между концентрацией глюкозы в исследуемом образце крови и действительной частью показателя преломления крови (рис. 2) [28]

Еще одним из разрабатываемых методов является оптическая поляриметрия, в основе которой лежит определение угла вращения плоскополяризованного света при прохождении через образец с оптически активными компонентами.

Угол отклонения плоскости поляризации света зависит от концентрации оптически активного вещества в растворе, в качестве которых при определении концентрации глюкозы являются энантиомеры L- и D-глюкозы. Ввиду значительного рассеивающего эффекта рогового слоя кожи метод применим исключительно для определения глюкозы в водянистой влаге глаза, в которой практически отсутствуют крупные белковые молекулы, обеспечивая достаточно высокое соотношение сигнал-шум. Очевидным недостатком метода является движение

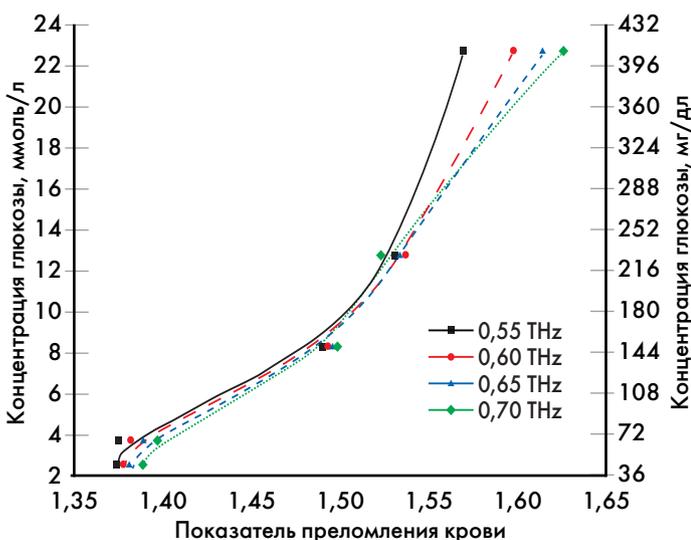


Рис. 2. Зависимость показателя преломления крови от уровня глюкозы в крови.



Рис. 3. Оптический когерентный томограф [30]

тканей глаза, что служит источником постоянных артефактов. Кроме того, было рассчитано, что скорость продукции водянистой влаги составляет $2,4 \pm 0,6$ мкл/мин, то есть около 1/100 общего объема в минуту, в связи с чем ценность метода значительно снижается ввиду значимой задержки между изменением уровня концентрации глюкозы в крови и водянистой влаге глаза [29].

Перспективным методом оптического анализа представляется оптическая когерентная томография, высокоточный метод исследования, с помощью которого возможно получение изображения поперечного среза тканей *in vivo* (рис. 3).

В основе метода лежит определение времени задержки прохождения светового луча, отраженного от исследуемой ткани. В большинстве устройств используется свет с достаточно большой длиной волны, наиболее часто ближнего инфракрасного диапазона, что обеспечивает проникновение лучей через роговой слой кожи. На основании описанного выше закона Бугера-Ламберта-Бера потенциально возможно определение концентрации глюкозы.

Повышение концентрации глюкозы в жидких средах организма приводит к увеличению показателя преломления, что уменьшает задержку при прохождении светового луча и, тем самым, позволяет определять ее концентрацию. Метод обладает значительной проникающей способностью, высоким соотношением сигнал-шум и позволяет определять концентрацию глюкозы в пределах одного компартмента [31]. Недостатком является высокая стоимость, чувствительность к движениям тела и большая зависимость от изменения температуры тканей, что приводит к возникновению большого количества артефактов при регистрации сигнала [32]. Кроме того, при сравнении с другими оптическими методиками метод не показал значимых преимуществ, при достаточно высокой стоимости [33, 34].

К неоптическим методам неинвазивного определения уровня глюкозы относится обратный ионофорез. Ионофорез – физический процесс движения ионов под действием постоянного тока малой величины, который часто используется для трансдермального применения препаратов. В случае обратного ионофореза



Рис. 4. Устройство "GlucoWatch" device (Cygnus Inc., Redwood City, CA) [35]

помещаемые на поверхность тела анод и катод располагаются таким образом, что за счет электрического градиента вызывают движение ионов в обратном направлении (кнаружи от кожи). Большинство заряженных ионов в коже представлены ионами Na^+ , движение которых приводит к пассивному движению нейтральных молекул (электроосмос), в том числе перемещению молекул глюкозы к катоду, где расположен сенсор, определяющий ее концентрацию глюкозооксидазным методом.

Подобный подход был реализован в устройстве "GlucoWatch" device (Cygnus Inc., Redwood City, CA) (рис. 4). Преимуществом метода является простота в использовании, достаточно высокая корреляция между концентрацией глюкозы в интерстициальной жидкости и крови, что позволило прибору выйти на рынок. Однако в дальнейшем прибор был отозван с рынка ввиду повреждения кожи при длительном его использовании, большой погрешности, в первую очередь за счет потливости, невозможности регистрировать быстрые колебания уровня глюкозы.

Другим неоптическим методом является использование биоимпедансометрии, которая основывается на изменении электрической сопротивляемости тканей организма. Достоинством метода являются низкая стоимость и доступность. Показано, что изменения концентрации глюкозы и инсулина в плазме крови приводят к изменению концентраций ионов калия и натрия, что ведет к изменению мембранного потенциала эритроцитов, который может быть зарегистрирован [36, 37]. Ограничением в использовании предложенной технологии является зависимость от температуры и движения — исследуемый должен лежать около 60 минут перед началом использования прибора, что значительно затрудняет использование метода в клинической практике.

Интересным методом является флуоресцентная технология. В качестве одного из подходов была предложена оценка изменения энергии при взаимодействии молекул флуоресцентного донора энергии (FITC-dextran) и флуоресцентного реципиента (TRITC-con-A). При отсутствии глюкозы молекулы энергетического донора были связаны с молекулами реципиента, и флуоресценция отсутствовала. Глюкоза конкурентно связывается с молекулой-реципиентом TRITC-con-A, что приводит к увеличению интенсивности флуоресцентного сигнала пропорционально увеличению концентрации глюкозы в крови [38]. Также предлагалось использование реги-



Рис. 5. Прибор, при помощи метода аутофлуоресценции оценивающий содержание конечных продуктов гликирования (КПГ). Ридер КПГ (AGE-reader) — диагностическое устройство, которое неинвазивно измеряет содержание КПГ в тканях при помощи флуоресценции ультрафиолетового света [40]

страции собственной флуоресценции организма, обусловленной рядом ферментов, интенсивность сигнала которых зависит от концентрации глюкозы. Показано, что флуоресценция NAD(P)H зависит от концентрации глюкозы и подавляется при увеличении ее концентрации [39]. Технология является высокочувствительной и безопасной для организма. Ограничением ее использования является быстрая деградация экзогенно вводимых флуоресцентных молекул и низкое соотношение сигнал-шум при регистрации собственной флуоресценции организма (рис. 5).

В целом, определение глюкозы косвенными неинвазивными методами имеет несколько препятствий. В зависимости от используемого метода результаты могут меняться и при изменении уровня глюкозы, и под влиянием свойств кожи и изменений датчика интерфейса, и изменений в микроциркуляции и кровоснабжении ткани, при приеме лекарств, которые влияют на распределение жидкости в тканях, под воздействием сопутствующих заболеваний, скорости метаболизма и так далее [41–43].

Большой методологической проблемой в области создания неинвазивных глюкометров является то, что большинство позитивных результатов, описываемых в литературе, основываются на проведении экспериментов *in vivo* с использованием перорального глюкозотолерантного теста (ПГТТ). Прием углеводов *per os* в размере 75 мг является большой нагрузкой, приводящей к существенному изменению всей гормональной системы организма и, следовательно, метаболизма. В экспериментах показана значительная корреляция с температурой тела, периферической перфузией, гидратацией, электролитным балансом, моторной функцией желудочно-кишечного тракта, количеством интерстициальной жидкости, концентрацией ферментов, электрическими свойствами кожи, дыханием, продукцией мочи и слюны. То есть практически любой регистрируемый физиологический параметр показывает сильную корреляцию с кривой гликемии в ПГТТ. Именно по этой причине технологии, которые показали достоверные результаты *in vivo* в ПГТТ, оказываются неспособными регистрировать сигналы в физиологических условиях при небольших колебаниях гликемии. Другой частой методологической ошибкой является то, что зачастую значимая корреляция

демонстрируется при ретроспективном анализе данных, что недопустимо при создании технологии для реальной клинической практики.

При оценке метода ТПц-спектроскопии в нашем исследовании мы также обнаружили влияние различных веществ, содержащихся в крови, на результаты измерений.

Данное влияние нужно учитывать при калибровке прибора, а именно при установке начального значения показателя преломления крови, относительно которого будет определяться уровень глюкозы.

Заключение

Таким образом, множество методов из самых различных разделов биофизики было предложено в качестве потенциальных неинвазивных сенсоров уровня глюкозы. Несмотря на то, что многие из этих технологий показали достоверную корреляцию в исследованиях *in vitro* и на животных моделях, ни одна из описанных технологий пока не позволяет эффективно количественно определять концентрацию глюкозы *in vivo* в реальной клинической практике [23, 43]. Эти методы устранили проблему инвазивности и в перспективе могут стать менее дорогостоящими, чем инвазивные методы, но точность этих методов пока остается значительно ниже, чем инвазивная глюкометрия. Общей проблемой этих методов является низкое соотношение сигнал-шум при регистрации исследуемых параметров, большое влияние температуры, перфузии крови и других факторов,

связанных с деятельностью живого организма. Решение этой проблемы требует дальнейших, фундаментальных исследований, посвященных физическим и физиологическим факторам, влияющим на регистрацию концентрации глюкозы. Будущее решение, вероятно, будет связано с внедрением сложных математических методик, способных учесть все факторы, влияющие на результат.

Дополнительная информация

Финансирование работы

Работа выполняется при поддержке гранта “Мало- и неинвазивная диагностика и терапия социально-значимых заболеваний электромагнитным излучением инфракрасного и терагерцевого диапазона частот” в рамках программы государственной поддержки ведущих университетов Российской Федерации в целях повышения их конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

Конфликт интересов

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией рукописи.

Участие авторов

Гринева Е.Н. — концепция и дизайн исследования; Кононова Ю.А. — сбор и обработка материалов; Ходзицкий М.К. — обработка материалов, анализ полученных данных; Бабенко А.Ю. — анализ полученных данных, написание текста, поиск литературы в базах PubMed и MEDLINE; Циберкин А.И. — поиск литературы в базах PubMed и MEDLINE.

Список литературы

References

- IDF Diabetes 4th ed., *International Diabetes Federation*, 2009.
- Diabetes Atlas, 6th ed. Available from: <http://www.idf.org/diabetesatlas/5e/regional-overviews>
- Stratton IM. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *Bmj*. 2000;321(7258):405-412. doi: 10.1136/bmj.321.7258.405
- Zoungas S, Patel A, Chalmers J, et al. Severe hypoglycemia and risks of vascular events and death. *N Engl J Med*. 2010;363(15):1410-1418. doi: 10.1056/NEJMoa1003795
- Su G, Mi S, Tao H, et al. Association of glycemic variability and the presence and severity of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 2011;10:19. doi: 10.1186/1475-2840-10-19
- Muggeo M, Verlato G, Bonora E, et al. Long-term Instability of Fasting Plasma Glucose, a Novel Predictor of Cardiovascular Mortality in Elderly Patients With Non Insulin-Dependent Diabetes Mellitus: The Verona Diabetes Study. *Circulation*. 1997;96(6):1750-1754. doi: 10.1161/01.cir.96.6.1750
- Krinsley JS. Glycemic variability: a strong independent predictor of mortality in critically ill patients. *Crit Care Med*. 2008;36(11):3008-3013. doi: 10.1097/CCM.0b013e31818b38d2
- Wang X, Zhao X, Dorje T, et al. Glycemic variability predicts cardiovascular complications in acute myocardial infarction patients with type 2 diabetes mellitus. *Int J Cardiol*. 2014;172(2):498-500. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.01.015
- Davis WA, Bruce DG, Davis TM. Does self-monitoring of blood glucose improve outcome in type 2 diabetes? The Fremantle Diabetes Study. *Diabetologia*. 2007;50(3):510-515. doi: 10.1007/s00125-006-0581-0
- The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-986. doi: 10.1056/NEJM199309303291401
- Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *The Lancet*. 1998;352(9131):837-853. doi: 10.1016/s0140-6736(98)07019-6
- Khalil OS. Non-invasive glucose measurement technologies: an update from 1999 to the dawn of the new millennium. *Diabetes Technol Ther*. 2004;6(5):660-697. doi: 10.1089/dia.2004.6.660
- Oomen PH, Kant GD, Dullaart RP, et al. Acute hyperglycemia and hyperinsulinemia enhance vasodilatation in Type 1 diabetes mellitus without increasing capillary permeability and inducing endothelial dysfunction. *Microvasc Res*. 2002;63(1):1-9. doi: 10.1006/mvres.2001.2347
- Yeh SJ, Khalil OS, Hanna CF, et al. Near-infrared thermo-optical response of the localized reflectance of intact diabetic and nondiabetic human skin. *J Biomed Opt*. 2003;8(3):534-544. doi: 10.1117/1.1578641
- Tuchin VV, Khalil OS, Yeh S-j, et al. Response of near-infrared localized reflectance signals of intact diabetic human skin to thermal stimuli. *Proc SPIE*. 2003;142-148. doi: 10.1117/12.518754
- Vo-Dinh T, Yeh S-J, Grundfest WS, et al. Differences in thermal optical response between intact diabetic and nondiabetic human skin. 2003;4958:213. doi: 10.1117/12.476146
- Wilson SB, Jennings PE, Belch JFF. Detection of microvascular impairment in type I diabetics by laser Doppler flowmetry. *Clin Physiol*. 1992;12(2):195-208. doi: 10.1111/j.1475-097X.1992.tb00306.x
- Rendell M, Bamisedun O. Diabetic cutaneous microangiopathy. *Am J Med*. 1992;93(6):611-618. doi: 10.1016/0002-9343(92)90193-f
- Stansberry KB, Shapiro SA, Hill MA, et al. Impaired Peripheral Vasomotion in Diabetes. *Diabetes Care*. 1996;19(7):715-721. doi: 10.2337/diacare.19.7.715
- Integrity Applications [Internet]. Ha'Yahalomim St. Ashdod ISRAEL [updated 2016 Oct 31; cited 2016 Nov 1]. Available from: <http://www.integrity-app.com>
- Lee S, Nayak V, Dodds J, et al. Glucose measurements with sensors and ultrasound. *Ultrasound Med Biol*. 2005;31(7):971-977. doi: 10.1016/j.ultrasmedbio.2005.04.004
- MacKenzie HA, Ashton HS, Spiers S, et al. Advances in Photoacoustic Noninvasive Glucose Testing. *Clin Chem*. 1999;45(9):1587
- So C-F, Choi K-S, Wong TKS, et al. Recent advances in noninvasive glucose monitoring. *Med Devices (Auckland, N.Z.)*. 2012;5:45-52. doi: 10.2147/MDER.S28134

24. Arnold MA, Small GW. Noninvasive Glucose Sensing. *Anal Chem.* 2005;77(17):5429-5439. doi: 10.1021/ac050429e
25. Tura A, Maran A, Pacini G. Non-invasive glucose monitoring: assessment of technologies and devices according to quantitative criteria. *Diabetes Res Clin Pract.* 2007;77(1):16-40. doi: 10.1016/j.diabres.2006.10.027
26. Brancaloni L, Bamberg MP, Sakamaki T, et al. Attenuated total reflection-Fourier transform infrared spectroscopy as a possible method to investigate biophysical parameters of stratum corneum in vivo. *J Invest Dermatol* 2001;116(3):380-386. doi: 10.1046/j.1523.1747.2001.01262.x
27. Berger AJ, Koo T-W, Itzkan I, et al. Multicomponent blood analysis by near-infrared Raman spectroscopy. *Applied Optics.* 1999;38(13):2916. doi: 10.1364/ao.38.002916
28. Brown JQ, Deckert V, Gusev SI, et al. Blood optical properties at various glucose level values in THz frequency range. 2015;9537:95372A. doi: 10.1117/12.2195959 Available from: <http://proceedings.spiedigitallibrary.org/proceeding.aspx?articleid=2398299>
29. Malik BH, Cote GL. Real-time, closed-loop dual-wavelength optical polarimetry for glucose monitoring. *J Biomed Opt.* 2010;15(1):017002. doi: 10.1117/1.3290819
30. TOPCON [Internet]. 75-1, Hasunuma-cho, Itabashi-ku, Tokyo 174-8580, Japan [updated 2016 Oct 31; cited 2016 Nov 1]. Available from: <http://www.topcon.co.jp/en>
31. Coakes RL, Brubaker RF. Method of measuring aqueous humor flow and corneal endothelial permeability using a fluorophotometry nomogram. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 1979;18(3):288-302
32. Larin KV, Ele drisi MS, Motamedi M, et al. Noninvasive Blood Glucose Monitoring With Optical Coherence Tomography. A pilot study in human subjects. 2002;25(12):2263-2267. doi: 10.2337/diacare.25.12.2263
33. Yeh Sj. Monitoring Blood Glucose Changes in Cutaneous Tissue by Temperature-modulated Localized Reflectance Measurements. *Clinical Chemistry.* 2003;49(6):924-934. doi: 10.1373/49.6.924
34. Heinemann L, Kramer U, Klotzer HM, et al. Noninvasive glucose measurement by monitoring of scattering coefficient during oral glucose tolerance tests. Non-Invasive Task Force. *Diabetes Technol Ther.* 2000;2(2):211-220. doi: 10.1089/15209150050025168
35. Diapedia.org [Internet]. Driebit Oudezijds Voorburgwal 282 1012 GL, Amsterdam. [updated 2016 Oct 31; cited 2016 Nov 1]. Available from: <http://www.diapedia.org>
36. Ermolina I, Polevaya Y, Feldman Y. Analysis of dielectric spectra of eukaryotic cells by computer modeling. *European Biophysics Journal.* 2000;29(2):141-145. doi: 10.1007/s002490050259
37. Polevaya Y, Ermolina I, Schlesinger M, et al. Time domain dielectric spectroscopy study of human cells. *Biochim Biophys Acta.* 1999;1419(2):257-271. doi: 10.1016/s0005-2736(99)00072-3
38. Russell RJ, Pishko MV, Gefrides CC, et al. A Fluorescence-Based Glucose Biosensor Using Concanavalin A and Dextran Encapsulated in a Poly(ethylene glycol) Hydrogel. *Anal Chem.* 1999;71(15):3126-3132. doi: 10.1021/ac990060r
39. Pickup JC, Hussain F, Evans ND, et al. Fluorescence-based glucose sensors. *Biosens Bioelectron.* 2005;20(12):2555-2565. doi: 10.1016/j.bios.2004.10.002
40. Diabetesnet [Internet]. 1030 West Upas San Diego, CA 92103 [updated 2016 Oct 31; cited 2016 Nov 1]. Available from: <http://www.diabetesnet.com>
41. Guo D, Zhang D, Zhang L, Lu G. Non-invasive blood glucose monitoring for diabetics by means of breath signal analysis. *Sensors and Actuators B: Chemical.* 2012;173:106-113. doi: 10.1016/j.snb.2012.06.025
42. Ahn W, Kim J-T. Blood Glucose Measurement Principles of Non-invasive Blood Glucose Meter: Focused on the Detection Methods of Blood Glucose. *Int J Biomed Eng Technol.* 2012;33(3):114-127. doi: 10.9718/iber.2012.33.3.114
43. The Pursuit of Noninvasive Glucose: "Hunting the Deceitful Turkey", 3rd edition. Book of the Editor by John L. Smith. 2014; 162 p. Available from: <http://www.researchgate.net/publication/261098618>

Информация об авторах [Authors Info]

Бабенко Алина Юрьевна, д.м.н., доцент [Alina Y. Babenko, MD, PhD, associate professor]; адрес: 197341, г. Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, 2 [address: 2, Akkuratova str., Saint-Petersburg, 197341 Russian Federation]; [Http://orcid.org/0000-0002-0559-697X](http://orcid.org/0000-0002-0559-697X); eLibrary SPIN: 9388-1077; e-mail: alina_babenko@mail.ru.
Кононова Юлия Алексеевна, м.н.с. [Yulia A. Kononova, junior research associate]; ORCID – 0000-0002-6531-767X; eLibrary SPIN: 8283-4773. Циберкин Александр Иванович, м.н.с. [Alexander I. Tsiberkin, junior research associate]; ORCID: 3365-9563. ORCID 0000-0001-6587-4313. Ходзицкий Михаил Константинович, к.ф.-м.н, доцент [Michail K. Khodziysky, PhD, associate professor]; [Http://orcid.org/0000-0001-7261-8350](http://orcid.org/0000-0001-7261-8350); eLibrary SPIN: 1167-7831. Гринева Елена Николаевна, д.м.н., профессор [Elena N. Grineva, MD, PhD, Professor].

Цитировать:

Бабенко А.Ю., Кононова Ю.А., Циберкин А.И., Ходзицкий М.К., Гринева Е.Н. Динамика развития методов контроля гликемии от инвазивных к неинвазивным. Актуальные перспективы // Сахарный диабет. – 2016. – Т.19. – №5. – С. 397-405. doi: 10.14341/DM7760

To cite this article:

Babenko AY, Kononova YA, Tsiberkin AI, Khodzitsky MK, Grineva EN. The dynamics of invasive and noninvasive blood glucose monitoring methods: Recent trends. *Diabetes mellitus.* 2016;19(5):397-405. doi: 10.14341/DM7760