

РЕФЕРАТ

Выпускная квалификационная работа 117 с., 21 рис., 31 табл., 19 источников, 6 прил.

Ключевые слова: сахарный диабет, неинвазивный, глюкоза, мониторинг, глюкометр, спектроскопия, оптический метод.

Объектом исследования являются неинвазивные методы измерения глюкозы в биологических жидкостях, а так же неинвазивный глюкометр работа которого основана на оптическом методе.

Цель работы : исследование оптического метода контроля глюкозы в биологических жидкостях, сбор рабочего образца неинвазивного глюкометра для проведения опытов и дальнейших измерений.

В процессе исследования проводился аналитический обзор мировых аналогов неинвазивных глюкометров, методов передачи данных, патентов на способы неинвазивного определения уровня сахара.

В результате исследования был собран опытный образец прибора который измеряет глюкозу оптическим методом. Проведены измерения и исследована зависимость сопротивления от концентрации глюкозы. Был выявлен оптимальный диапазон частот на которых необходимо проводить измерения.

Степень внедрения: На данной этапе разработка находится на начальном этапе исследований, но данной работой уже заинтересовалась фирма СКБ «Электроника».

Область применения : медицина.

Экономическая эффективность/значимость работы на данном этапе работ говорить об экономической эффективности еще рано. В дальнейшем при положительных результатах исследований продукт будет выведен на рынок.

В будущем планируется исследование еще нескольких методов контроля глюкозы и интеграция их в один прибор для получения наиболее точных результатов при измерении концентрации глюкозы в крови.

Введение.....	14
1.Обзор литературы	15
1.1Современные методы измерения сахара в крови	15
1.1.1Тест полоски	16
1.1.2 Биосенсоры	18
1.1.3Глюкозооксидаза.....	19
1.1.4 Фотометрия	22
1.2 Современные приборы	24
1.3 Неинвазивные Глюкометры.....	28
1.3.1 Оптические методы неинвазивной диагностики	30
2.Объект и методы исследования	41
2.1Разработка рабочего образца неинвазивного глюкометра	41
2.2Методы оптического измерения глюкозы.....	43
2.2.1Метод ближней инфракрасной спектроскопии	45
2.3 Выбор и обоснование структуры измерительной схемы.....	47
2.4Проектирование принципиальной схемы и ее описание	48
2.5АЦП микроконтроллера ATmega8	49
2.6 Микроконтроллер ATmega8	52
2.7 Среда разработки Ардуино	53
2.8 Жидкокристаллический дисплей (LCD) 1602 и Arduino 52	54
2.9 Оценка погрешности.....	45
2.10 Язык Си	45
3. Результаты проведенных исследований	57
4.Финансовый менеджмент, ресурсоэффективность и ресурсосбережение	62
4.1 Потенциальные потребители результатов исследования	62
4.2 Анализ конкурентных технических решений с позиции ресурсоэффективности и ресурсосбережения	62

4.3 Fast-анализ	63
4.4 Оценка готовности проекта к коммерциализации	67
4.5 Инициализация проекта	69
4.6 Планирование и управление научно-технических проектом	72
4.6.1 Контрольные события проекта	72
4.6.2 Иерархическая структура работ проекта	72
4.6.3 План проекта	73
4.7 Расчет затрат на проектирование ВКР	78
4.7.1 Материальные затраты	78
4.7.2 Затраты по основной заработной плате исполнителей темы	79
4.7.3 Отчисления по небюджетным фондам	80
4.7.4 Накладные расходы	80
4.7.5 расчет затрат на электроэнергию	81
4.8 Расчет цены разработки ВКР	82
5. Социальная ответственность	86
5.1 Производственная безопасность	87
5.1.1 Анализ вредных и опасных факторов	87
5.2 Обоснование мероприятий по защите исследователя от действия опасных и вредных факторов	93
5.2.1 Организация и технические мероприятия по обеспечению электробезопасности	93
5.3 Экологическая безопасность	94
5.4 Безопасность в ЧС	94
5.4.1 Требования к организации рабочих мест в испытательной лаборатории	94
5.5 Требования к организации рабочих мест в испытательной лаборатории	97
Заключение	100

Список публикаций студента	101
Список использованных источников	102
Приложение А	53
Приложение Б.....	153
Приложение В	53
Приложение Г	65
Приложение Д	66
Приложение Е.....	66

Введение

Сахарный диабет сегодня это самая распространённая болезнь, которая занимает третье место среди причин смертности после сердечно-сосудистых заболеваний и рака. Последние результаты исследований ВОЗ показали что, в мире уже насчитывается более 175 миллионов больных, их количество постоянно увеличивается и по прогнозам к 2025 году достигнет 300 миллионов. Ученые отмечают, что за последние 30 лет произошел резкий скачок заболеваемости сахарным диабетом.

Определение уровня глюкозы крови — один из самых популярных тестов, выполняемых клинико-диагностическими лабораториями. Чаще используется инвазивный метод измерения сахара в крови, но в то же время измерение таким путем требует больших затрат, так как тест-полоски необходимые больному ежедневно будут стоить около \$ 183.00 в год.

Объектом дипломной работы является разработка неинвазивного глюкометра, работающего на основе фоторезистора, который позволит провести измерения и вычисление концентрации глюкозы крови. Это позволит вычислить не только поверхностную, но и объемную среднюю концентрацию глюкозы.

Целью исследования является рассмотрение оптических методов измерения глюкозы в биологических жидкостях, выявление актуальных проблем, возникающих в ходе проведения исследований, а также поиск путей совершенствования данных измерений.

На данный момент существует рабочий образец неинвазивного глюкометра, работа которого основана на оптическом методе. Устройство имеет блок питания, датчика, микроконтроллера и жидкокристаллического дисплея.

За период существования прибора были проведены исследования с биологическими жидкостями разной концентрацией глюкозы. Из достоинств данного прибора можно отметить простоту использования, легкую настройку и низкую стоимость.

1.Обзор литературы

В крови человека циркулирует не пищевой сахар, а один из продуктов его переваривания — глюкоза. Глюкоза — более простой углевод, чем сахар. Глюкозу используют в качестве источника энергии клетки нашего тела, в том числе мускулы и мозг. В организме сахар быстро превращается в глюкозу с помощью ферментов.

Измерение количества глюкозы в крови — на сегодняшний день один из самых распространенных тестов, выполняемых клинико-диагностическими лабораториями. Причиной такой популярности теста является высокое количество больных сахарным диабетом. Тестирование проводится как медицинских учреждениях, так и в домашних условиях. Больные сахарным диабетом вынуждены исследовать уровень глюкозы в крови в домашних условиях, поскольку без этой информации им трудно скорректировать свою диету, физические нагрузки, применение инсулина и других сахароснижающих препаратов. Помимо разнообразных медицинских методов анализа уровней глюкозы, существует большое число разнообразных приборов, которые работают на основе принципа «сухой химии». Такие глюкометры помогают больным выполнять измерения в домашних условиях. Выбор прибора в каждом индивидуальном случае зависит от многих объективных и субъективных факторов.

1.1Современные методы измерения сахара в крови

Ученые давно доказали, что употребление углеводов приводит к повышенному содержанию сахара в организме, и больным сахарным диабетом (СД) в качестве лечения советовали не употреблять в своем рационе продукты содержащие углеводы. Самым ранним методом контроля эффективности таких ограничений являлся метод определение количества сахара в моче с помощью реактива Бенедикта. В состав раствора раствора входит сульфат меди, лимонная кислота и карбонат натрия. Пациент должен был добавить 8 капель мочи к 5 мл реактива в пробирке и вскипятить раствор, держа его непосредственно над огнем в течение 2 мин. Как

следствие , глюкоза мочи окислялась, в результате чего снижалась интенсивность голубого цвета сульфата меди, цвет раствора изменялся и выпадал окрашенный осадок. Цвет и осадок являлись индикаторами уровня глюкозы мочи. Чистый голубой цвет без осадка указывал на отсутствие глюкозы, в то время как изменение цвета — от зеленого с желтым осадком до насыщенного оранжевого или красного — напрямую зависело от количества сахара в моче.

Определение уровня глюкозы стало наиболее популярным после открытия инсулина в 1921 г. и в дальнейшем использовалось в лечении СД. Однако до 1941 г., т. е. до тех пор пока Волтер Комптон и Мариес Тренир не изобрели первый химический тест с сухим реактивом в виде таблеток-реагентов. Таблетка содержала такой же реактив, как и в тесте Бенедикта, но в сухой форме с добавлением гидроксида натрия. Что бы запустить реакцию требовалась жидкость, в данном случае использовалась моча. Таблетка опускалась в небольшое количество мочи, находящейся в пробирке, и возникала мгновенная реакция с выработкой достаточного количества тепла, приводящего к кипению. Глюкоза окислялась в моче, а насыщенность голубого цвета сульфата меди снижалась, что приводило к изменению цвета раствора — от голубого к зеленому до желтого и оранжевого. Результат можно было оценить сравнив полученный цвет раствора эталонной шкалой цвета.

1.1.1 Тест полоски

Первые тест-полоски с «сухим реактивом» для определения содержания глюкозы в моче были представлены в 1956 г. Измерение таким методом имело название Клинистик. Реагенты , которые были необходимы были спрессованы в пористой основе, а именно глюкозооксидаза, пероксидаза и хромоген. Тот же принцип использовался при разработке в 1964 г. Декстростикса — одноразовой тест-полоски для полуколичественного анализа уровня глюкозы крови. Основной компонент сухого реактива содержал три слоя: поддерживающий слой, отражающую зону и

реагирующую зону. Вода, необходимая для запуска реакции, содержалась непосредственно в исследуемом компоненте в крови, в плазме, в сыворотке или моче. Полученный в результате реакции цвет можно было оценить визуально, сравнив его с напечатанной цветовой шкалой-эталонном. Это позволяло проводить полуколичественный анализ, результат которого в значительной степени зависел от способности пользователя корректно сравнить цвет тест-поля с образцом. Из-за проблем со зрением многих пациентов, возникали проблемы с полученными результатами, например когда незначительный переход от голубого цвета к зеленому. [2]

Тест-полоски и сегодня используются, но только как скрининговый метод и очень редко в качестве диагностического метода для коррекции лечения диабета. Несмотря на простоту и дешевизну определения уровня глюкозы, этот метод не может назначить качественное лечение СД, так как не дает возможности выявить гипогликемию, а результаты анализа зависят от многих факторов, влияющих на почечную экскрецию глюкозы у пациента.

Учитывая сложности качественного анализа уровня гликемии по визуальным тест-полоскам у пациентов с сосудистыми и неврологическими осложнениями СД, производители разработали приборы для оценки изменения цвета тест-поля полоски.

Данные приборы назывались – рефлектометры. Они появились в 1969 г. и были представлены компанией Байер. Они измеряли отраженный свет от окрашенной тест-полоски и преобразовывали сигнал в количественное выражение концентрации глюкозы. Прибор был громоздким и требовал сложной ручной калибровки, а тест-полоску необходимо было постоянно промывать и промокать прежде, чем поместить в прибор. Основным преимуществом таких приборов можно считать то, что результаты измерения уже не были полуколичественными и, несмотря на широкий аналитический диапазон, исключались ошибки измерения, зависящие от умения пользователя визуально оценивать цвет полоски. Но проблема неправильного представления результатов все еще была актуальной, если исследователь не

внимательно выполнял все инструкции производителей во время проведения теста. Так же требовалось соблюдать специальные правила хранения полосок, программирования кода, получения капли крови необходимого размера (около 50 мкл). Также довольно трудно было соблюсти временные рамки нанесения капли крови на тест-полоску и технику ее стирания с тест-поля до определения цвета. Если тест-полоска неправильно помещалась в глюкометр, то результаты теста оказывались непредсказуемыми. Эти глюкометры были так сконструированы, что химическая реакция на тест-поле происходила после размещения тест-полоски в глюкометре, что в дальнейшем требовало обязательного контроля чистоты оптической зоны прибора.

1.1.2 Биосенсоры

Затем в конце 80-х гг. на смену тест-полосок пришли Биосенсоры, они имели «нестираемую» систему определения гликемии. Биосенсор — это биоэлектрохимический преобразователь, который совместно с портативным анализатором регистрирует электрический сигнал, продуцируемый при биохимической реакции. Во многих приборах используются тест-полоски с сенсором, включающим фермент, который очень специфично ускоряет процесс окисления глюкозы, и медиатор, вовлеченный в окислительно-восстановительную реакцию.

В самом первом сенсоре определяющим глюкозу, использовался электрод, содержащий глюкозооксидазу в качестве фермента и ферросен в качестве медиатора. Тест-поле сенсора состояло из двух электродов в виде проводящих «дорожек»:

- биоактивный рабочий электрод, содержащий глюкозооксидазу и ферросен;
- второй электрод, выполняющий функцию вспомогательного электрода и электрода сравнения одновременно.

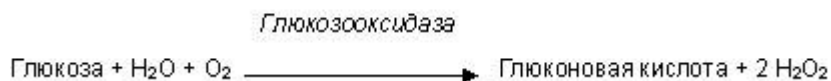
Присутствие избыточного содержания сахара в крови, данных соединений может несколько завышать уровень гликемии. Когда капля крови

помещается на тест-поле, глюкоза окисляется до глюконолактона и содержание глюкозы снижается. Высвобождающиеся электроны абсорбируются медиатором ферросеном, и получившееся соединение окисляется на электроде. Поток электронов пропорционален уровню глюкозы крови.

Капля крови в биосенсорах наносится на электрод вне самого прибора и не контактирует с внутренним компонентом глюкометра.

1.1.3 Глюкозооксидаза

На сегодняшний день более популярными являются методы, основанные на использовании фермента – глюкозооксидазы. В основе метода лежит следующая реакция:



Глюкозооксидаза катализирует перенос двух водородных атомов с первого углеродного атома глюкозы на кислород, растворенный в жидком реагенте. Во время протекания реакции концентрация образовавшейся перекиси водорода точно равна определяемой концентрации глюкозы. Можно сказать, что использование глюкозооксидазной реакции, изменило задачу определения концентрации глюкозы в задачу определения концентрации перекиси водорода, которая, как будет показано ниже, значительно проще первой. На сегодняшний день имеется несколько различных способов, которые используются в лабораторной практике, пример показан на Рисунке 1. [3]



Рисунок 1- Способы регистрации глюкозооксидазной реакции.

Среди всех методов самым распространенным является фотометрический биохимический метод. Суть данного метода заключается в том, что молекулы перекиси водорода под действием фермента пероксидазы расщепляются с образованием активной формы кислорода – супероксид анион-радикала – O_2^- , который в свою очередь окисляет хромоген, что приводит к значительному изменению спектра поглощения хромогена. [1]



На Рисунке 2 и 3 показаны спектры рабочего раствора до внесения в него стандартного раствора глюкозы и после. Максимальное количество поглощения реакционной смеси – (реактив + глюкоза) находится в области 500 нм. Соответственно, изменение оптической плотности конечной реакции на длине волны 480-520 нм пропорционально концентрации глюкозы, содержащейся в пробе.

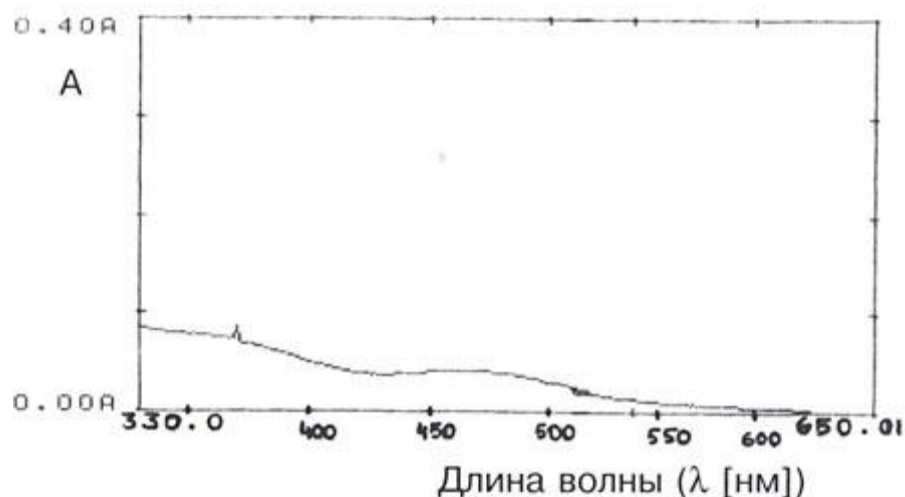


Рисунок 2- Спектр рабочего раствора.

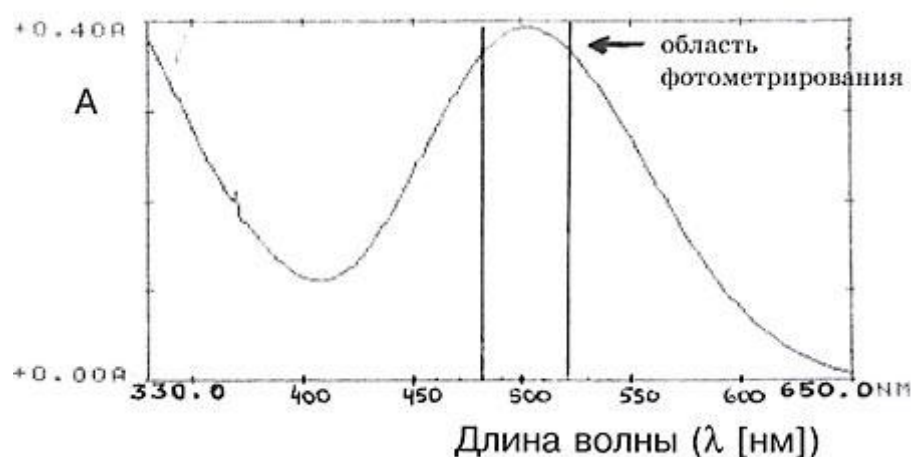


Рисунок 3- Спектр реакционной смеси (рабочий раствор + глюкоза).

Популярностью данного метода определения глюкозы является его особенность и простота выполнения. Метод можно реализовать как с применением обычного фотометра (лучше специализированного биохимического фотометра типа **Микролаб 540**), так и с помощью автоматических биохимических автоанализаторов.

Данный метод признан сегодня одним из самых точных количественных методов определения глюкозы. В качестве биологического материала используется как сыворотка крови, так и цельная кровь. При работе с последней следует учитывать тот факт, что при взятии капиллярной крови доля сыворотки (плазмы) зависит от величины гематокрита, что может

негативно отразиться на точности результата. Поэтому при определении глюкозы вышеописанным методом предпочтительно использовать сыворотку крови пациента.

1.1.4 Фотометрия

Несколько лет назад появились наборы, в которых реализован кинетический метод фотометрирования. Данный метод основан на том, что при определенном соотношении активностей глюкозооксидазы и пероксидазы, скорость образования окрашенного соединения некоторое время после внесения пробы в рабочий раствор будет пропорциональна концентрации глюкозы в пробе. Плюсами данного метода является то, что результат не зависит от наличия в пробе других соединений, поскольку поглощение последних стабильно во времени. Что бы реализовать данный метод необходимо применение кинетического фотометра, например Stat Fax 1904+, Stat Fax 3300, полуавтоматических анализаторов, например Clima 15, или автоматических биохимических анализаторов. Измерение содержания глюкозы в цельной крови удобно выполнять с помощью приборов, работа которых основана на амперометрическом принципе измерения, при помощи специальных ферментных датчиков. К сожалению перекись водорода является крайне нестабильным химическим соединением и она может служить источником заряженных частиц. Именно это и используется в ферментных датчиках мембранного типа или электрохимических элементах портативных глюкометров.

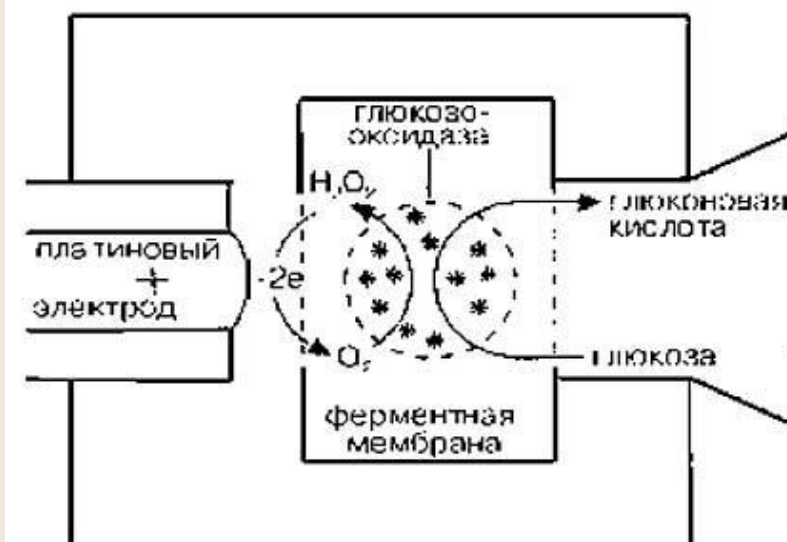


Рисунок 4- Измерительная ячейка

На рисунке представлено, что измерительная ячейка сконструирована как проточная, имеет измерительную камеру, с одной стороны ограниченную ферментной мембраной толщиной около 60 микрон специальным образом сорбирована глюкозооксидаза. С другой стороны мембраны к ней прижимается платиновый электрод. [1]

Обычно проба берется в 20 мкл крови, затем разводится в специальном буферном растворе, как результат получаем то, что эритроциты разрушаются и подают по магистрали в проточную ячейку. Окисление глюкозы происходит под воздействием фермента глюкозооксидазы, находящейся на мембране. Образовавшаяся перекись водорода диффундирует через мембрану и окисляется далее в каталитической реакции под действием платины. Диффузия перекиси водорода на поверхность платины формирует ток, пропорциональный числу молекул H_2O_2 . Сигнал, который получается таким образом обрабатывается прибором в соответствующее значение напряжения. Это измеренное значение пропорционально концентрации глюкозы в пробе.

В качестве примера приборов, использующих вышеописанный метод можно назвать автоматические анализаторы глюкозы Biosen (Германия). Эти приборы удобны для использования не только в стационарах, но и в

поликлиниках, где анализ на глюкозу делают преимущественно из капиллярной крови.

1.2 Современные приборы

Появление «сухой химии» стало важным этапом в развитии методов клинической лабораторной диагностики. Одним из первых приложений этой технологии стала задача определения глюкозы в крови пациента. Приоры, которые были разработаны ранее значительно уступали по точности традиционным лабораторным методам исследований. Однако, со временем, ученым удалось разработать более точные диагностические полоски и отражательные фотометры, которые обеспечили точные результаты измерений. Широко популярными во всем мире в настоящее время являются глюкометры **One Touch** и тест-полоски к ним производства компании Life Scan (США), которые удачно сочетают в себе аналитическую точность количественного ферментативного метода со скоростью и простотой «сухой химии».

Глюкометры **One Touch** предназначены для быстрого и точного измерения уровня глюкозы в цельной крови. Тест-полоска One Touch содержит все необходимые химические компоненты для двухэтапного глюкозооксидазного метода, включая ферменты глюкозооксидазу и пероксидазу, которые сорбированы на уникальную пористую гидрофильную мембрану. Результатом реакции является образование окрашенного комплекса. Интенсивность развившейся окраски регистрируется отражательным минифотометром. [2]

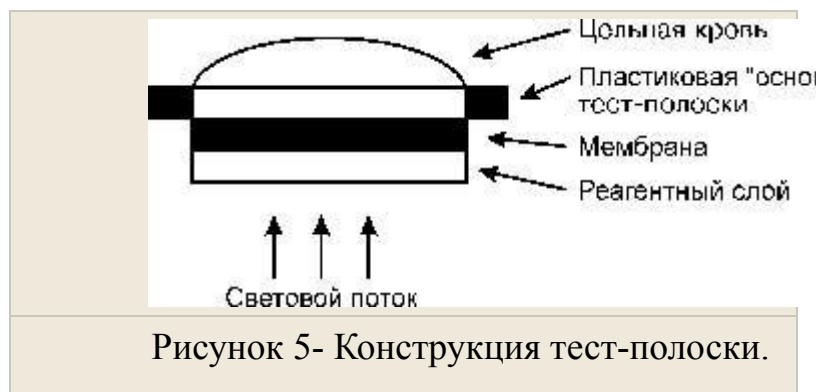


Рисунок 5- Конструкция тест-полоски.

Мембрана тест-полоски One Touch напоминает губку с

микроскопическими порами и выполняет тройственную функцию. Она действует: 1) как резервуар, собирая необходимое количество крови, 2) как фильтр, блокируя твердый клеточный материал (эритроциты, лейкоциты и др.), 3) как гладкая оптическая поверхность, на которой измеряется отраженный свет. Последняя функция, в частности, очень важна для работы прибора. Она делает возможным считывать нижнюю часть полоски, тогда как кровь остается на верхней части тест-полоски. Соответственно, нет необходимости стирать (промокать) кровь с поверхности тест-полоски. [1]

Так же мембрана имеет гидрофильные свойства, благодаря которым капля крови “притягивается” к поверхности тест-полоски при касании.

В состав приборов входит два специальных светодиода. Обработка развившейся окраски на тест-полоске идет следующим образом. Как только тест-полоска пропадает в прибор происходит обнуление всех предыдущих измерений. На дисплее загорается команда: “ЖДАТЬ”. После нанесения капли крови на тест-полоску, плазма моментально сорбируется мембраной, тогда как эритроциты и излишки плазмы остаются на поверхности мембраны. Когда кровь впитывается в полоску полностью, происходит окрашивание. Прибор регистрирует изменение величины отражения и автоматически запускает таймер. Через 45 секунд химическая реакция заканчивается, результат светоотражения обрабатывается. Окрашенный участок тест-полоски поглощает свет, испускаемый первым светодиодом. Форменные элементы крови и лишняя плазма также поглощают свет, излучаемый диодом. Чтобы скорректировать фоновое отражение, второе считывание производится вторым светодиодом на другой длине волны. Разность сигналов от первого и второго светодиода несет информацию о поглощении света хромогеном. Сигнал, полученный от хромогена для оценки концентрации глюкозы, соотносится со специальной калибровкой. Прибора One Touch калибруются с помощью референтного метода на лабораторном анализаторе глюкозы. С помощью этой процедуры получается стандартная калибровочная кривая. Отметим, что достаточно сложно наладить производство тест-полосок,

которые были бы абсолютно одинаковыми химически, в силу очень низкой концентрации реактивов. Для решения этой проблемы используется стандартная калибровочная кривая, состоящая из 16 –ти калибровочных линий. Контроль качества осуществляется сразу после производства тест-полосок, что позволяет определить, какая из калибровочных линий (от 1 до 16) может быть применена для данной тест-полоски. Это так называемый номер кода, который проставляется на упаковке тест-полосок. Эти 16 калибровочных линий также программируются в микропроцессоре прибора. Для получения оптимально точных результатов, номер кода, указанный на упаковке тест-полосок выставляется в приборе при помощи кнопки кода. Таким образом, неправильно установленный код на приборе может являться причиной ошибки измерения. [2]

С момента появления на рынке приборов One Touch прошло большое количество клинических исследований в лабораториях России, Америки и Европы. Одно из таких исследований было проведено Эндокринологическим научным центром РАМН по заказу Российской Ассоциации Медицинской Лабораторной Диагностики. Специалисты Центра провели сравнительный анализ двух методов измерения уровня глюкозы в крови. Результаты, полученные на One Touch, сопоставлялась с данными, полученными на биохимическом анализаторе Spectrum II , реализующем гексокиназный метод определения глюкозы. Было исследовано 190 проб крови от 95 пациентов. Коэффициент корреляции результатов составил 0,98641. Коэффициент вариации в нормальном и патологическом диапазонах на глюкометре One Touch не превысил 2,5%. На Рисунке 6 показан пример корреляционной зависимости показаний “One Touch” и «Спектрум-2» (коэффициент корреляции 0,98641)

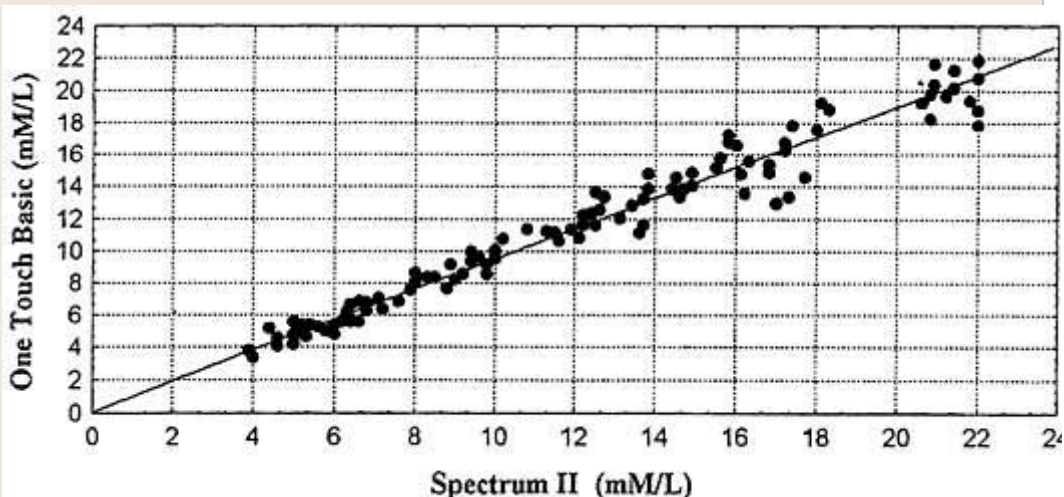
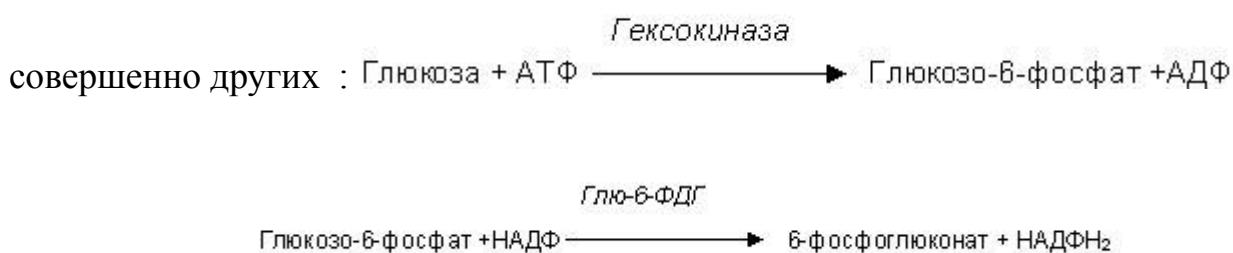


Рисунок 6 -Корреляционная зависимость показаний “One Touch” и «Спектрум-2» (коэффициент корреляции 0,98641)

В официальном отчете Эндокринологического научного центра РАМН сказано: «приборы One Touchобладают высокой точностью и правильностью, а также широким диапазоном измерений. Их можно использовать для диагностики неотложных состояний при диабете, в том числе бригадами “Скорой помощи”, поскольку эти приборы не только надежны, но и быстро дают результаты».

В заключении следует упомянуть и о недостатках глюкозооксидазного метода. Образующаяся перекись водорода и супероксид анион-радикал могут окислять не только хромоген, но и другие вещества, присутствующие в биологической жидкости: аскорбиновую кислоту, мочевую кислоту, билирубин. При этом, соответственно, доля перекиси, принимающая участие в окислении хромогена, снижается, что приводит к занижению результата по глюкозе. Этот метод линеен, как правило, до 20-30 ммоль/л глюкозы.

Гексокиназный метод состоит из двух последовательных реакций, но



Регистрация осуществляется при длине волны 340nm по

свопоглощению НАДН. Этот метод является высокоспецифичным и не дает реакции с другими компонентами сыворотки крови. Гексокиназный метод считается референтным для определения глюкозы. Как правило, он линейен до 50 ммоль/л, что позволило его широко рекомендовать для клиник с эндокринологическими отделениями.

Из описанного разнообразия методов определения глюкозы сотрудники КДЛ могут решить для себя, какой способ определения и какой прибор выбрать:

- Методы «мокрой» биохимии, реализованные на автоматических биохимических анализаторах, обеспечат нужды лабораторий с большим потоком анализов.
- Анализаторы глюкозы типа Biosen требуют от оператора минимальных трудозатрат, так как они полностью автоматизированы и достаточно производительны (скорость от 50 до 200 проб в час).
- Для лабораторий с небольшим числом исследований, а также экспресс-лабораторий удобен специализированный биохимический фотометр Микролаб 540.
- Для бригад скорой помощи идеальное решение - глюкометры типа One Touch.

Т.о., задача КДЛ обеспечить не только быстрое, но и высокоточное определение глюкозы, на сегодняшний день вполне решаема.

1.3 Неинвазивные глюкометры

В обширном арсенале современных методов лабораторной и функциональной диагностики, основанных на оценке морфологических, функциональных, биохимических и генетических параметров организма, неинвазивные методы занимают пока еще довольно скромное место.

Между тем, в медицине будущего роль неинвазивной диагностики будет неуклонно возрастать. Определяется это следующими основными моментами. Неинвазивные методы:

1. исключают внесение во внутреннюю среду организма болезнетворных вирусов и бактерий, чужеродных веществ (ксенобиотиков);
2. позволяют исключить лучевую нагрузку на организм, например, при проведении рентгенологических, радиоизотопных и ультразвуковых методов исследования;
3. освобождают пациента от комплекса болевых и неприятных ощущений;
4. неинвазивные методы, основанные на использовании сенсорных и передающих сигналы устройствах, позволяют решить две крупные медико-социальные задачи:

мониторирование основных биохимических и функциональных показателей и создание дистанционных аларм-систем. Последние могут оказаться весьма полезными в качестве средства постоянного слежения из центра, например из больницы или поликлиники, за определенными группами больных (больными с опасностью внезапной кардиальной смерти, гипертонической болезнью, сахарным диабетом и др.) и оказания своевременной помощи при наступивших критических состояниях.

Неинвазивные устройства непрямого (косвенного, т.е. без прокалывания кожи и без взятия пробы крови) определения уровня сахара в крови в наше время пользуются огромным спросом. Наиболее перспективным методом, как это отмечено на 61-ой ежегодной научной сессии Американской Диабетической Ассоциации, является спектральный, основанный на достижениях спектроскопии в ближнем инфракрасном диапазоне.

Например, важным показателем, характеризующим степень компенсации сахарного диабета, является содержание в крови одной из разновидностей гемоглобина - гликозилированного гемоглобина HbA1c, образующегося при взаимодействии его с глюкозой. Процесс гликозилирования идет тем активнее, чем выше уровень глюкозы в крови. В норме содержание HbA1c в крови составляет 5–9% от общего уровня

гемоглобина, а при декомпенсации сахарного диабета достигает 20%. Однако содержание HbA1c является интегральным по времени показателем, позволяющим оценить эффективность инсулинотерапии на протяжении предшествующих 6–8 недель. Этот срок соответствует периоду жизни эритроцитов ($30 \div 120$ суток, в среднем 60 дней для большей части эритроцитов), в течение которого происходит взаимодействие гемоглобина и глюкозы. Поэтому для мониторинга содержания сахара в крови в режиме «реального времени» и подбора дозы инсулина данный показатель не годится.

1.3.1 Оптические методы неинвазивной диагностики

Оптические методы неинвазивной диагностики основаны на использовании оптического или лазерного излучения для просвечивания тканей и органов пациента с целью получения по рассеянному или прошедшему ткани насквозь свету подробной информации о биохимическом составе и строении исследуемого участка мягких тканей тела пациента. Величина регистрируемого при этом сигнала зависит как от коэффициента поглощения, так и от коэффициента рассеяния света перфузированной кровью ткани. Основной вклад в поглощение определяется водой (H_2O), протеином, липидами, различными формами гемоглобина (в частности, окси-, дезокси-гемоглобином), меланином в коже, в том числе глюкозой, пример показан на Рисунке 7.

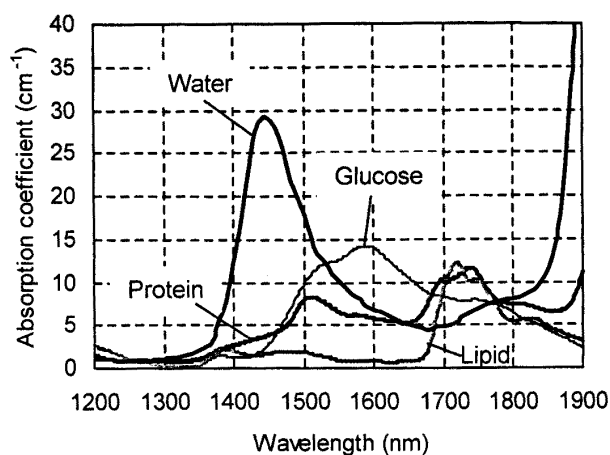


Рисунок 7- Спектры поглощения основных компонентов биологической ткани.

Эксперименты показали, что основное влияние сахара на кровь проявляется в изменении коэффициента рассеяния света. Оказывается, что рассеивающие свойства тканей зависят от разности коэффициентов преломления клеточных структур и межклеточной жидкости. В частности, увеличение концентрации глюкозы в межклеточной жидкости провоцирует уменьшение разности упомянутых показателей преломления и, вместе с тем, снижение коэффициента рассеяния. На Рисунке 8 показана динамика концентрации глюкозы в крови и изменение во времени приведенного коэффициента рассеяния, измеренные на бедренной мышце здорового 26-летнего мужчины в ходе теста на толерантность к глюкозе.

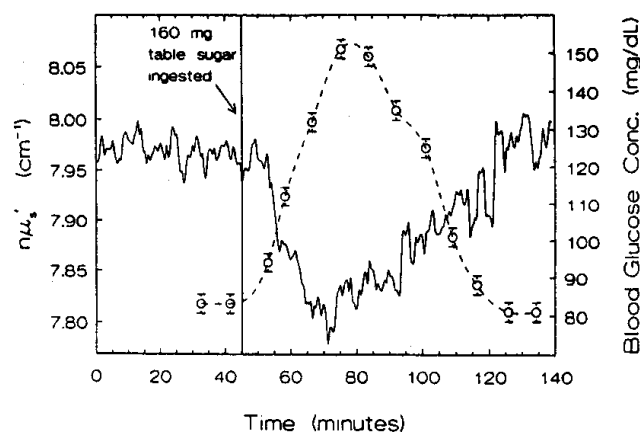


Рисунок 8- Сравнение во времени динамики концентрации глюкозы в крови и коэффициента рассеяния при проведении теста на толерантность

Так же можно привести ряд дополнительных факторов, влияющих на значение коэффициента рассеяния и тем самым конкурирующих с эффектом влияния глюкозы – таких, как изменение температуры, значение pH, наличие других осмотически активных веществ.

Из приведенного рис. 8 видно, что метод измерений весьма чувствителен к относительным изменениям оптических свойств биотканей. Однако на практике необходимо знание абсолютных значений концентрации сахара в крови. Для этой цели используют различные калибровочные модели. Поскольку существует множество факторов, влияющих на результаты измерений, то по своей сути данные модели являются статистическими. При

этом разные авторы приводят различные значения для средней квадратичной погрешности измерений (от 14,4 мг/дл до 54 мг/дл), что подчас сводит достоверность получаемой информации практически на «нет».

В одной из последних работ японских ученых учитывалось 6 независимых факторов, влияющих на спектральные характеристики рассеянного светового излучения . В результате возникала необходимость измерений $2^6 = 64$ спектров, которые определялись комбинацией максимальных и минимальных значений параметров в некотором допустимом интервале. Пример таких спектров приведен на Рисунке 9.

На основе спектров рассеянного излучения с использованием методов регрессионного анализа строилась калибровочная модель для определения абсолютной концентрации глюкозы в крови.

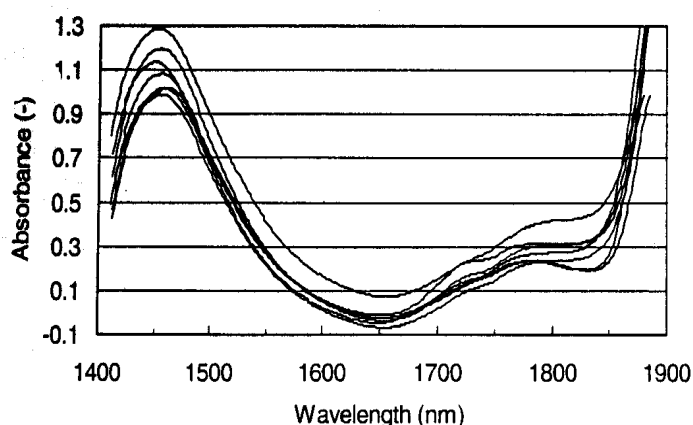


Рисунок 9- Спектры поглощения инфракрасного излучения кожной тканью пациентов палаты интенсивной терапии, используемые для построения калибровочной модели

На Рисунке 10 показана зависимость содержания сахара в крови, полученная с помощью калибровочной модели как функция значений, выбранных в качестве эталонных (полученных другим методом).

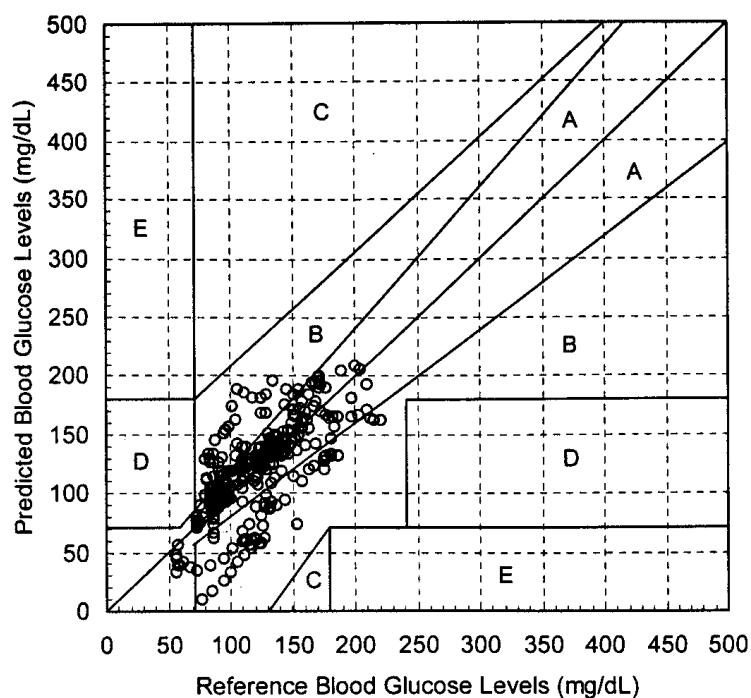


Рисунок 10- Корреляции между эталонными и предсказанными значениями уровней глюкозы в крови, полученными в результате измерений на первом этапе .

Необходимо отметить, что клинические исследования *in vivo* в работе проводились в два этапа. На первом этапе экспериментально определялись данные, относящиеся только к здоровой категории пациентов, на втором – к пациентам палаты интенсивной терапии.

В первом случае из всех результатов измерений 71,5% попали в зону А, а 28,5% - в зону В. Во втором случае 80,3% всех результатов попали в зону А, а 19,7% - в зону В.

Несколько лучшие результаты были получены группой израильских исследователей из фирмы OrSense Ltd. (Nes Ziona), медицинского центра (Sheba Medical Center, Ramat-Gan) и университета Тель-Авива (Tel-Aviv University) [8]. При проведении испытаний неинвазивного глюкометра NB-100, созданного фирмой OrSense Ltd., была достигнута относительная погрешность измерений ~17,1% и в дальнейших исследованиях даже порядка 10% . Авторы работ считают, что данные результаты являются следствием разработанной фирмой OrSense Ltd. более усовершенствованной технологии

проведения измерений, основанной на использовании в глюкометре NB-100 окклюзионной спектроскопии инфракрасного диапазона.

Таким образом, неинвазивные глюкометры, основанные на применении методов инфракрасной спектроскопии, демонстрируют неплохие возможности относительного непрерывного мониторинга содержания глюкозы в крови, представляющие интерес для средств интенсивной терапии. Что касается проведения абсолютных измерений, то достигнутые на сегодняшний день погрешности все еще остаются значительными и в целом предложенный метод нуждается в дальнейшей проработке, не исключено даже, фундаментального характера.

В одном из университетов США ученые разработали устройство, способное «бескровно» измерить уровень глюкозы в организме пациента, больного сахарным диабетом. Для определения глюкозы достаточно образцов слюны, слёз или мочи.

В настоящее время разрабатываются контактные линзы, которые с помощью специального сенсора измеряют уровень глюкозы не в крови, а в слезах. Причем, они могут делать это постоянно (мониторить уровень глюкозы), разработчики также собираются встроить в линзу светодиодный сенсор, который будет предупреждать человека при достижении опасного уровня глюкозы. Линзы смогут передавать данные на смартфон, чтобы врач мог ознакомиться с динамикой выздоровления пациента.

В разработке сенсора использованы последние научные технологии. Прибор состоит из графеновых наноллистов, к краям которых прикреплены платиновые наночастицы, выполняющие функцию электродов. Также в аппарате находятся молекулы фермента глюкозооксидазы.

Чувствительность устройства позволяет определить глюкозу в анализируемых жидкостях в концентрации 0,3 мкмоль.

Ученые утверждают, что сенсор можно также использовать для определения уровня алкоголя в крови или для мониторинга состояния

пациентов с болезнью Паркинсона или Альцгеймера — достаточно изменить глюкозооксидазу на другой фермент.

Опытным путем было доказано, что уровни сахара в слюне пропорциональны уровню сахара в крови, таким образом открывается новый уникальный и безболезненный метод диагностики уровня сахара. Отличительной особенностью является то, что в слюне уровень сахара ниже чем этот же уровень в крови (около 100-2000 раз), что делает использование слюны в диагностике очень сложным. Обычные глюкометры не могут обнаружить такие малые концентрации, и, следовательно, для таких измерений требуются более чувствительные устройства.

Стоит отметить, что определение количества глюкозы в моче не является достаточно достоверным тестом, т.к. глюкозурия зависит от ряда факторов, в частности от "порога проводимости" глюкозы почками, который может варьировать с возрастом, меняться в течение суток, не отражая истинного уровня глюкозы в крови. Попытки установить корреляцию между гликемией и содержанием глюкозы в коже предпринимались рядом авторов, например такими как в 1960 году американским ученым и врачом Миллером Д. Ж., а затем в 1963 Келли М.В. Они использовали глюкозо-оксидазные полоски, которые после предварительного смачивания прикладывали на предплечье или между пальцами. Тест считали положительным, если цвет полоски менялся и отрицательным, если цвет полоски не менялся. При этом авторы наблюдали как ложно положительные, так и ложно отрицательные результаты и пришли к заключению, что такой способ не пригоден для диагностики диабета. Еще один врач-ученый Лиас Н. в 1963 году проводил определение глюкозы на поверхности кожи аналогичным методом, после удаления слоев эпидермиса, которые по их мнению, являются барьером для проникновения воды на поверхность). Эти авторы наблюдали позитивную реакцию только тогда, когда концентрация глюкозы в крови превышала 170 мг%.

Авторы предлагают неинвазивный способ определения уровня

глюкозы, по содержанию глюкозы в поте, исключает риск внесения бактерий и вирусов, а так же устраняет болевые ощущения, возникающие при взятии крови при инвазивной диагностике. Суть способа заключается в том, что определение содержания глюкозы проводят в поте, усиленное выделение которого вызывают введением в кожу пациента парасимпатомиметика в сочетании с антихолинэстеразным препаратом, повышающим эффективность потоотделения, методом ионтофореза.

Способ осуществляется следующим образом.

У пациента потоотделение вызывали одним из потогенных препаратов - парасимпатомиметиком - (пилокарпином, ацетилхолином или каким-либо другим препаратом из этой группы веществ), в сочетании с антихолинэстеразным препаратом - (прозерином, физостигмином или каким-либо другим препаратом из этой группы веществ), взятых в отношении 1:1 по объему. Препараты вводили в кожу методом ионтофореза, применяя ток плотностью 0,25-1,0 мА/см² в течение 5-15 мин. Предварительно участок кожи (предплечье или ладонь) тщательно промывали мыльной водой и затем обрабатывали 50%-ным раствором этилового спирта. Введение 0,1%-ного раствора пилокарпина (или 0,02%-ного раствора ацетилхолина) в сочетании с 0,5%-ным раствором прозерина (или 0,5%-ным раствором физостигмина) сопровождалось появлением под анодом (или вокруг него) пота, который скапливался в течение 5-10 мин под пластмассовой чашечкой, плотно прижатой к коже и затем собирался количественно микропипеткой. Используемые концентрации парасимпатомиметиков и антихолинэстеразных препаратов были минимальными для достижения необходимого для анализа объема пота. Содержание глюкозы в поте, и для сравнения, - в крови определяли глюкозооксидазным методом. Содержание глюкозы в крови определяли с помощью стандартных наборов фирмы "Лахема". При определении содержания глюкозы в поте (из-за низкого содержания глюкозы в нем) требовалось усиление интенсивности окрашивания раствора, которое

достигалось использованием хромогенного субстрата для пероксидазы - ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenz-thiazoline-6-sulfonic acid), обладающего высоким коэффициентом экстинкции, и максимально повышающим чувствительность метода. Это давало возможность определять концентрацию глюкозы от 0,2 мг% и выше

Коэффициент корреляции между концентрациями глюкозы крови и пота всех обследованных больных равен 0,7. Таким образом, из представленных данных видно, что уровень глюкозы в поте, определяемый количественно, благодаря предложенному способу усиленного потоотделения, коррелирует с содержанием глюкозы в крови. Это дает возможность, определяя глюкозу в поте описанным методом, избежать определения содержания глюкозы в крови, имея при этом возможности судить об уровне гликемии.

Способ определения уровня гликемии путем определения содержания глюкозы в биологической жидкости, отличающийся тем, что определение содержания глюкозы проводят в поте, усиленное выделение которого вызывают введением в кожу пациента парасимпатомиметика в присутствии антихолинэстеразного препарата, в соотношении 1 : 1 по объему, методом ионофореза и при концентрациях глюкозы в пределах $1,3 \pm \text{мг\%}$ констатируют нормогликемию, а при концентрациях ниже и выше этого предела соответственно гипо- и гипергликемию. Минус метода заключается в необходимости стимуляции потоотделения у пациента, что невозможно при многократном контроле гликемии в течение суток или при экстренном контроле гликемии, а также в необходимости использования тест полосок.

Неинвазивные методы мониторинга гликемии могут быть объединены как подкожный, кожный или дермальный, эпидермальный и комбинированный кожный дермальный и эпидермальный метод измерения глюкозы.

Образцы исследования в настоящее время берут из кончиков

пальцев, кутикулы, подушечек пальцев, предплечья и мочки уха.

Подкожные измерения включают микродиализ, капиллярное исследование, и введение электрохимических или конкурентных флюоресцентных сенсоров.

Согласно результатам исследования, опубликованным в журнале «Analytical Chemistry» Американского химического общества, ученые разработали ультратонкое и гибкое устройство, которое прочно крепится к коже, не вызывая каких-либо нежелательных реакций с ее стороны и по внешнему виду напоминает тату. Работа данного прибора основана на ионтофоретической экстракции глюкозы из интерстициальной жидкости непосредственно на амперометрический биосенсор, что позволяет точно и безболезненно определить уровень глюкозы в крови.

Результаты исследования показали то, что данный прибор позволит проводить не только точный и своевременный гликемический контроль, но и анализ других биомаркеров, находящихся в интерстициальной жидкости.

Вставить про CGSM (мониторинг гликемии), липучку глюкометр, имплантируемый датчик.

Микродиализ также является разрабатываемой дермальной и эпидермальной техникой измерения глюкозы. Также эпидермальные измерения могут быть проведены с помощью ИК-спектроскопии.

Комбинированные дермальные и эпидермальные жидкостные измерения уровня глюкозы включает метод оптической техники.

В последнее время многие исследователи пытаются решить проблему создания действительно работающей технологии неинвазивного определения уровня глюкозы в крови. Миллионам людей, болеющих сахарным диабетом, приходится постоянно выполнять гликемический контроль при помощи болезненного забора крови из пальца. Именно болевые ощущения зачастую препятствуют строгому контролю уровня глюкозы в крови, который является необходимым условием снижения риска развития осложнений сахарного

диабета. Попыткой решить эту проблему стала разработка глюкометр-браслетов, однако после первоначального энтузиазма появились данные о том, что эти устройства недостаточно точны и способны вызывать раздражение кожи в области крепления датчика.

Более 300 миллионов людей во всем мире, по оценкам всемирной ассоциации здравоохранения или уже больны сахарным диабетом или в скором времени им заболеют. Это число, как ожидается, удвоится к 2030 году — что превратит масштабы болезни до масштабов эпидемии. Многие из серьезных осложнений сахарного диабета, в том числе болезни сердца, инсульт и потерю зрения, можно предупредить с помощью ранней диагностики и надлежащего контроля уровня сахара в крови. Тем не менее, измерение уровня сахара в крови с помощью обычных глюкометров — это довольно неудобная процедура для пациентов. Больному требуется измерять уровень сахара несколько раз в день, что является не приятным моментом при использовании современных инвазивных методов. Поиском нового безболезненного метода для измерения уровня сахара в крови озадачились ученые.

Учтя это, ученые из Центра передового опыта в области электрохимии (СВЕ) университета Тегерана, и исследователи-эндокринологи Тегеранского медицинского научно-исследовательского института, в рамках совместного проекта, успешно построили и испытали прототип прибора для измерения уровня глюкозы в слюне.

Идея изобретения устройства для неинвазивного измерения глюкозы появилась около 6 лет назад. В марте 2010 года первая версия устройства была запущена и успешно испытана. Вскоре после этого, вторая, а затем третья версии устройства были разработаны и испытаны.

Также новый метод менее дорогостоящий, что выгодно отличает его от других моделей.

2 Объект и методы исследования

Во всех неинвазивных оптико-электронных приборах используется источник широкополосного импульсного излучения с дальнейшим анализом поглощения света на определенной длине волны за счет узкополосных интерференционных фильтров и отдельных фотоприемников. Недостатком данного метода является разброс чувствительности фотоприемников, а потому необходимы перед каждым измерением проводить калибровку прибора.

2.1 Разработка рабочего образца неинвазивного глюкометра

Предложен прибор, который позволит измерять содержание глюкозы в крови за счет прохождения света через палец (мочку уха).

Он состоит из специальной клипсы на палец, на концах которой расположены светодиод и фотоприемник. Оба устройства необходимо закрыть для того, чтобы на них не попадало внешнее освещение. Для этого они покрыты непрозрачными крышками, состоящими из дихлорэтан. Используется инфракрасный диод типа АЛ07А с длиной волны 940-965 нм, минимальная мощность излучения 5.5 мВт, ток потребления 100 мА, при напряжении 1.8В. Угол наблюдения — 300. В качестве фотоприемника применен фотодиод типа ФД-21КП, имеющий параметры: спектр приема 750 ± 350 нм, прямой ток 0,017 мкА и напряжение 10В.

Регистратором служит микроконтроллер ATmega8 который работает на основе Ардуино, а все значения выводятся на жидкокристаллический дисплей типа LCD 1620. Для того, чтобы питал светодиод, мультиметр необходимо немного переделать. Электропитанием служит батарейка типа АА (лучше аккумулятор) на 1,5 В. Схема клипсы показаны на Рисунке 11.

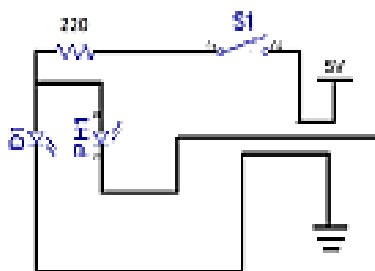


Рисунок 11А- Клипса для измерения глюкозы

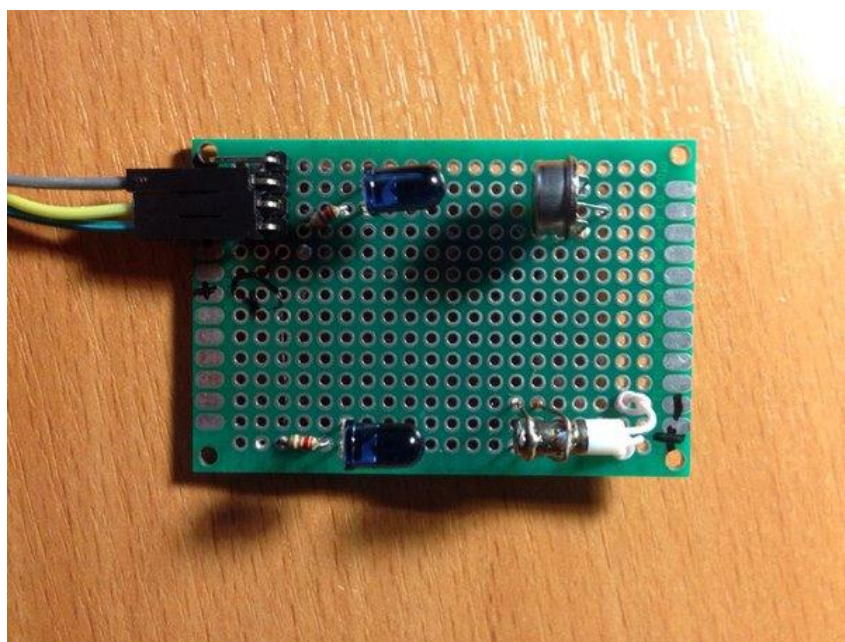


Рисунок 11Б- Клипса для измерения глюкозы

Для калибровки прибора необходимо иметь стандартный глюкометр с полосками. Сначала измеряют значение концентрации по показателям стандартного глюкометра в сравнении со значениями напряжения на выходе фотоприемника.

Калибровку прибора проводят таким образом:

1. Измерения проводят 5—8 раз с применением стандартного глюкометра. Далее по результатам измерения составляют таблицу, а уже потом значения переносят на график.

2. Необходимо сделать график зависимости концентрации глюкозы (показания стандартного глюкометра) от показаний данного прибора. Вид графика показан на Рисунке 12.

3. Далее можно проводить измерение по данному прибору и по графику определить концентрацию глюкозы.

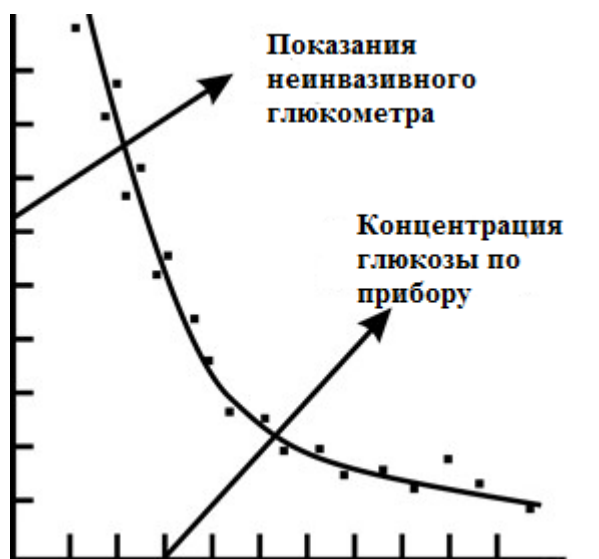


Рисунок 12 – График зависимости

Составив график, проводят измерения уже без стандартного глюкометра

2.2 Методы оптического измерения глюкозы.

Концентрацию глюкозы может быть определена с помощью анализа изменения оптического сигнала по длине волны, поляризации или интенсивности света. Объем образца измеряют с помощью этих методов зависит от места измерения. Корреляция с глюкозы в крови на основе процента от образца жидкости, которое интерстициальный, внутриклеточный или капиллярной крови. DRS. Рой и Smoller разработали следующий пример. Жидкость рассматриваемая через конечности на 63% внутриклеточная и 37% внеклеточная, из которых 27% являются интерстициальной и 10% плазмой. Значение глюкозы в крови 100 мг / дл эквивалентно образцу тканевой глюкозы в среднем 38 мг / дл, из которых 26% обусловлено значением крови, 58% из-за интерстициальной жидкости и 16% из-за глюкозы внутриклеточной жидкости.

Мало того, что оптическое измерение степени зависит от изменения концентрации во всех отсеках тела, измеренной, но изменения в

соотношении тканевых жидкостях (в измененной по уровню активности, питания или гормонов колебаний), а это, в свою очередь, эффектов измерения глюкозы. Проблемы также возникают из-за изменений в ткани после первоначальной калибровки и отсутствием возможности передачи калибровки от одной части тела к другой. Изменения тканей включают в себя: изменения объема циркулирующей крови, лекарства, которые влияют на соотношение количества тканевой жидкости, изменения артериального давления, процесс старения, болезней и метаболической активности человека.

Оптические методы включают ближней инфракрасной спектроскопии, инфракрасной спектроскопии, спектроскопии комбинационного рассеяния света, фотоакустической спектроскопии, разброс и изменения поляризации

Таблица 1- Оптические методы измерения глюкозы

Метод	Определение
Ближняя инфракрасная спектроскопия (NIR)	Поглощения или излучения данных в 0,7 до 2,5 мкм области спектра по сравнению с известными данными для глюкозы.
спектроскопия комбинационного рассеяния Raman Spectroscopy	Лазерный свет используется, чтобы вызвать излучение переходов вблизи уровня колебания
Photoacoustic Spectroscopy Фотоакустическая спектроскопия Продолжение Таблицы 1.	Лазерное колебание жидкости используется для генерации звукового отклика и настройки лазерного спектра.

Scatter Changes изменения рассеивания	Рассеивание света может быть использовано для указания на изменение в исследуемом материале.
Polarization Changes Поляризационные изменения	Наличие глюкозы в жидкости, как известно, вызывают поляризацию в проходящем свете.
Mid-Infrared Spectroscopy Mid-Инфракрасная спектроскопия	Проводят анализ Поглощения или излучения данных в области 2,5 мкм - 25 мкм и используют для количественного измерения уровня глюкозы в жидкости.

2.2.1 Метод ближней инфракрасной спектроскопии (NIR)

Метод инфракрасной спектроскопии является универсальным физико-химическим методом, который применяется в исследовании структурных особенностей различных органических и неорганических соединений. Метод основан на явлении поглощения группами атомов испытуемого объекта электромагнитных излучений в инфракрасном диапазоне. Поглощение связано с возбуждением молекулярных колебаний квантами инфракрасного света. При облучении молекулы инфракрасным излучением поглощаются только те кванты, частоты которых соответствуют частотам валентных, деформационных и вибрационных колебаний молекул. Глюкоза производит одно из самых слабых сигналов поглощения электромагнитных излучений в инфракрасном диапазоне среди большинства концентрации основных компонентов тканей. Измерение глюкозы методом ИК возможно на

глубину ткани в диапазоне от 1 до 100 мм, при общем уменьшении глубины проникновения увеличивается значение длины волны. Передача инфракрасного излучения проводили через мочку уха, палец, кожу предплечья и слизистой губы была сделана попытка в ик области между 1000 нм до 2500 нм. Результаты ИК измерений диффузного отражения выполненные на пальце показали хорошую корреляцию с уровнем глюкозы в крови, но 10% измерений не являются клинически достоверными.

Известно, что спектр оптического поглощения глюкозы в крови человека сложный: он имеет ряд полос поглощения в видимой и инфракрасной областях спектра, по интенсивности которых можно измерять концентрацию глюкозы. Пример оптического спектра поглощения глюкозы представлен на Рисунке 13.



Рисунок 13 - Оптический спектр поглощения глюкозы в крови человека

В оптическом диапазоне спектра поглощения глюкозы характерны три максимума: 840; 940 и 1045 нм. В то же время максимум в спектре поглощения воды составляет 960 нм. Наиболее приемлемый максимум поглощения глюкозы 940 нм. Этому максимуму не мешает поглощение кожи человека, поглощение воды, содержащейся в разных слоях кожи, наличие других компонентов, входящих в ее состав. Для этой области существуют специальные светодиоды и фотоприемники.

Поглощение света на определенной длине волны подчиняется экспоненциальному закону Ламберта-Бэра: $I = I_0 \exp(-kCd)$ где I и I_0 — интенсивность света до и после прохождения через объект исследования (например, через мочку уха или палец руки), k — коэффициент, отвечающий поглощению объекта, C — концентрация глюкозы в крови человека, d — толщина биологического объекта.

2.3 Выбор и обоснование структуры измерительной схемы

Рассмотрим классическую общую измерительную схему, которая состоит из нескольких блоков: непосредственно датчика, АЦП, делителя или усилителя, если это необходимо, цифрового процессора и индикации.

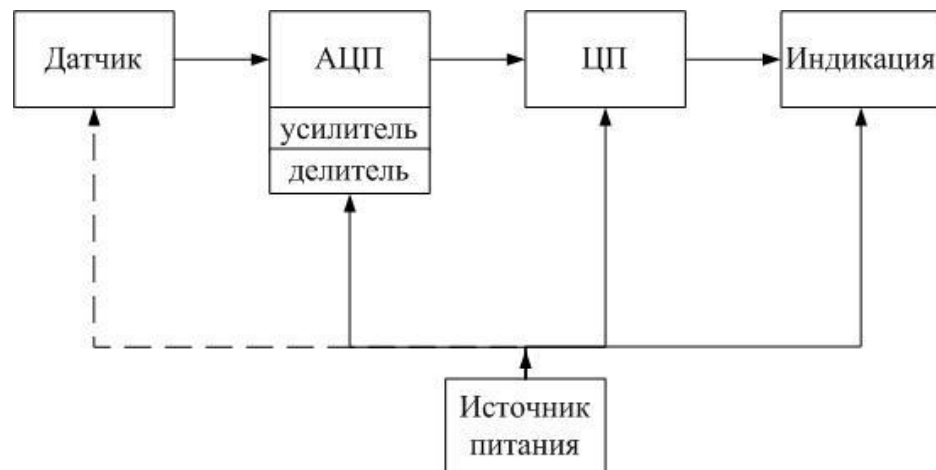


Рисунок 14 – Структура классической измерительной схемы

Датчик — это устройство, преобразующее измеряемую величину в сигнал для последующей его обработки. Датчики бывают активными и пассивными, поэтому не к каждому датчику нужно подводить питание. На выходе датчика получается аналоговая величина, которую нужно преобразовать в цифровой сигнал для его последующей обработки и индикации. Для этого используется АЦП, затем сигнал преобразуется в цифровом процессоре и выводится на индикацию.

Приведена структурная схема прибора, в состав которого входят оптический блок (2), блок обработки информации (3), блок индикации на жк-индикаторе и блок питания. Оптический блок состоит из светодиода

(СД) и фотодиода (ФД)

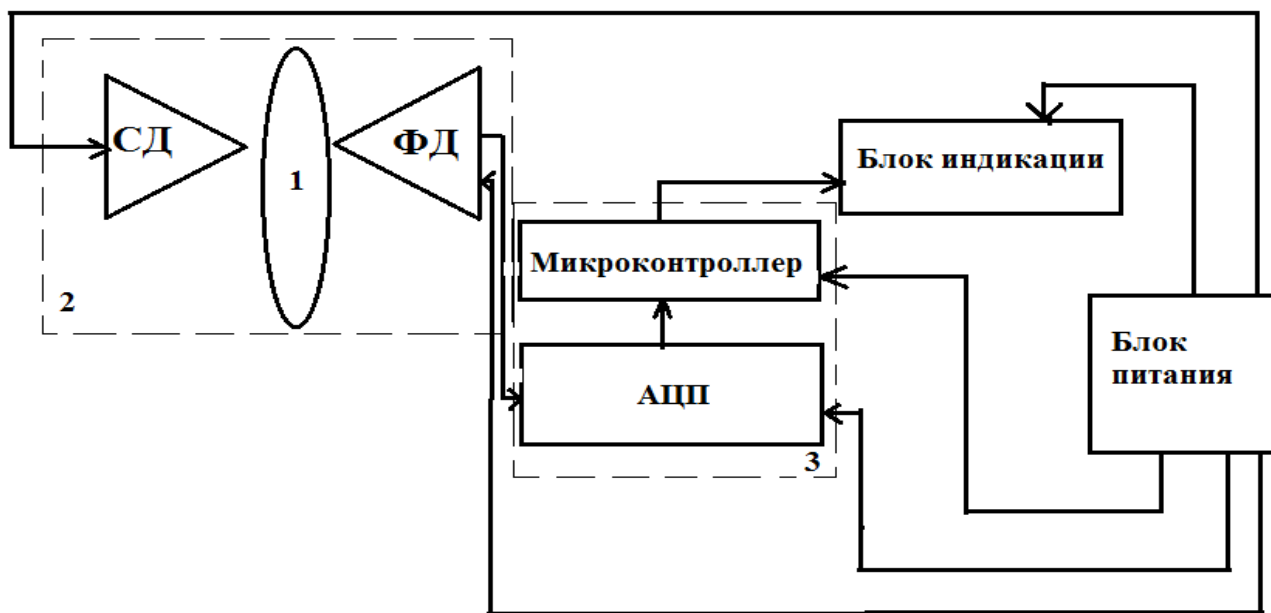


Рисунок 15 - Структурная схема глюкометра: 1 – исследуемый участок кожи; СД – светодиод; ФД – фотодиод ; АЦП; Блок питания; Микроконтроллер; Блок индикации; 2- оптический блок; 3- блок обработки информации.

Инфракрасный свет проходит через биологический объект, глюкоза поглощает часть света с этой длиной волны в зависимости от ее концентрации, а другая часть света, которую не поглотила глюкоза, попадает на фотоприемник. Но главным препятствием является то, что фотоприемники, регистрирующие свет, прошедший через биологический объект, имеют низкую чувствительность регистрации. Поэтому для этого необходимо применять усилители сигналов, поступающих с фотоприемников на регистратор.

2.4Проектирование принципиальной схемы и ее описание

Схема принципиальная (полная) – документ, определяющий полный состав элементов и взаимосвязи между ними и, как правило, дающий полное (детальное) представления о принципах работы изделия (установки).

Принципиальная схема глюкометра представлена в Приложении Б.

2.5 АЦП микроконтроллера ATmega8

В качестве источника опорного напряжения для АЦП может использоваться как напряжение питания микроконтроллера, так и внутренний либо внешний источник опорного напряжения.

Модуль АЦП может работать в двух режимах:

- режим одиночного преобразования, когда запуск каждого преобразования инициируется пользователем;
- режим непрерывного преобразования, когда запуск преобразований выполняется непрерывно через определенные интервалы времени.

Число на цифровом выходе АЦП рассчитывается на основании отношения входного напряжения к полному номиналу напряжения аналого-цифрового преобразователя. В микроконтроллере ATmega8 применяется АЦП разрядностью в 10 бит, соответственно максимальное возможное значение на его выходе $2^{10} - 1 = 1023$.

АЦП микроконтроллера mega8 позволяет подавать напряжение на один из 5 аналоговых входов (порт C). Результат преобразования сохраняется в регистровой паре ADCH(старший байт):ADCL(младший байт) в виде 10-битного числа.

В микроконтроллерах AVR для управления режимом АЦП используются два регистра: регистр управления ADCSR и регистр мультиплексирования ADMUX .

Таблица 2 - Регистр управления ADCSR

7	6	5	4	3	2	1	0
ADEN	ADSC	ADFR	ADIF	ADIE	ADPS2	ADPS1	ADPS0

ADPS0 - ADPS2 - биты выбора тактовой частоты АЦП; чем выше частота работы АЦП, тем ниже эффективное разрешение и выше скорость

преобразования. Для достижения полной 10-битной точности рекомендуется использовать тактовую частоту АЦП ниже 200 кГц. При частоте 1 МГц точность преобразования составит 8 бит.

ADIE - разряд маскирования прерывания от АЦП (1 - по окончании преобразования разрешено прерывание).

ADIF - флаг прерывания от АЦП (устанавливается аппаратно по окончании цикла преобразования).

ADFR - лог. 1 в этом разряде переводит АЦП в несинхронизированный режим работы - обычно АЦП работает в режиме прерывания, чтобы процессор каждый раз не ожидал завершения медленно протекающего преобразования, однако в несинхронизированном режиме АЦП выполняет преобразование постоянно, как можно быстрее (на период такого преобразования должны быть запрещены все прерывания);

ADSC - флаг начала преобразования.

ADEN – разрешение АЦП (1 – включено, 0 – выключено).

При инициализации АЦП в программе, были заданы следующие параметры:

Бит 0-2: Частота АЦП = такту микроконтроллера / 32.

Бит 3: По окончании преобразования разрешено прерывание.

Бит 4: Флаг прерывания от АЦП установлен изначально 0.

Бит 5: Установлен синхронизированный режим.

Бит 6: начало преобразования будет задано уже после инициализации.

Бит 7: Разрешение на использование АЦП.

7	6	5		3	2	1	0
REFS1	REFS0	ADLAR	-	MUX3	MUX2	MUX1	MUX0

Таблица 4 – Значение битов выбора опорного напряжения RESF

RESF1	RESF0	Источник опорного напряжения
0	0	AREF
0	1	AVcc с внешним конденсатором (чтобы не было искажений)
1	0	Зарезервировано
1	1	Внутренний 2.56 В источник, с внешним конденсатором на AREF

Бит ADLAR определяет каким образом результат преобразования будет записан в регистровую пару ADCH:ADCL. Если ADLAR=0 в ADCH записываются 2 старших бита, остальные 8 в ADCL; если ADLAR=1 в ADCH записываются 8 старших битов и 2 бита записываются в ADCL.

Таблица 5 – Конфигурация битов выбора аналогового канала

MUX0	MUX1	MUX2	MUX3	Аналоговый вход
0	0	0	0	ADC0
0	0	0	1	ADC1
0	0	1	0	ADC2
0	0	1	1	ADC3
0	1	0	0	ADC4

0	1	0	1	ADC5
0	1	1	0	ADC6
0	1	1	1	ADC7

После преобразования аналогового сигнала в цифровой, этот сигнал обрабатывается микроконтроллером АТМmega8.

2.6 Микроконтроллер АТmega8

Микроконтроллер АТmega8 является 8-битным микроконтроллером, предназначенным для использования во встраиваемых приложениях. Он изготавливается по малопотребляющей КМОП-технологии, которая в сочетании с усовершенствованной RISC-архитектурой позволяет достичь наилучшего соотношения стоимость/быстродействие/энергопотребление.

Структурная схема микроконтроллера представлена в Приложении В,

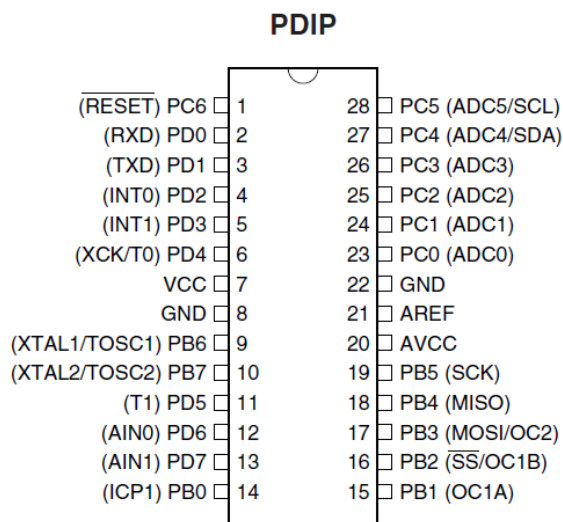


Рисунок 16 – Выводы микроконтроллера АТМmega8

В микроконтроллере АТmega8 есть 23 программируемых входа / выхода, всего у него 28 выводов.

VCC – вывод источника питания. В нашей схеме в качестве источника питания выступает батарея Крона с напряжением 5 В.

GND – земля.

PortB (PB7..PB0) – порт В является двунаправленным 8-битовым портом ввода/вывода информации с внутренними подтягивающими резисторами.

PortC (PC5..PC0) – порт С является двунаправленным 7-битовым портом ввода/вывода информации с внутренними подтягивающими резисторами.

PC6/RESET – Порт PC6 может быть использован для сброса устройства, а так же как порт ввода/вывода информации.

PortD (PD7..PD0) – Порт D является 8-битовым двунаправленным портом ввода/вывода информации с внутренними подтягивающими резисторами.

XTAL1 – вход инвертирующего усилителя генератора и вход внешнего тактового сигнала.

XTAL2 – выход инвертирующего усилителя генератора.

AREF – аналоговый вывод АЦП.

В микроконтроллере полученный сигнал обрабатывается, преобразуется в значение напряжения, преобразуется из двоичного кода в десятичный и передается с портов PD0 и PD1 на порты clock и data микропроцессора M5054, соответственно.

2.7 Среда разработки Ардуино

Интерфейс среды разработки Ардуино содержит следующие основные элементы: текстовый редактор для написания кода, область для вывода сообщений, текстовая консоль, панель инструментов с традиционными кнопками и главное меню. Данный софт позволяет компьютеру взаимодействовать с Ардуино как для передачи данных, так и для прошивки кода в контроллер.

Программы, создаваемые в среде разработки Ардуино, иногда еще называют скетчами. Скетчи пишутся в текстовом редакторе и сохраняются в файлах с расширением .ino. Встроенный текстовый редактор имеет стандартные инструменты копирования, вставки, поиска и замены текста.

Область сообщений в окне программы является, своего рода, обратной связью для пользователя и информирует его о событиях (в том числе и об ошибках), возникающих в процессе записи или экспорта написанного кода. Консоль отображает в виде текста поток выходных данных среды Ардуино, включая все сообщения об ошибках и пр. генерируемую ею информацию. В нижнем правом углу окна программы показывается модель текущей платы и последовательный порт, к которому она подключена. Кнопки на панели инструментов предназначены для создания, открытия, сохранения и прошивки программ в устройство. Отдельная кнопка запускает программу SerialMonitor.

2.8 Жидкокристаллический дисплей (LCD) 1602 и Arduino.

Контакты на этом дисплее пронумерованы от 1 до 16. Нанесены они на задней части платы. Как именно они подключаются к Arduino, показано в таблице ниже.

Таблица 6 - Подключение контактов LCD 1620 к Arduino

Дисплей 1602		Arduino	Дисплей 1602		Arduino
1	GND	GND	9	DB2	Не подключается
2	VDD	5V	10	DB3	Не подключается
3	Contrast	К GND через резистор	11	DB4	Пин 2
4	RS	Пин 0	12	DB5	Пин 3
5	R/W	GND	13	DB6	Пин 4
6	Enable	Пин 1	14	DB7	Пин 5
7	DB0	Не подключается	15	Back LED+	К 5V через резистор
8	DB1	Не подключается	16	Back LED-	GND

Подключение 1602 к Arduino выполняется, когда дисплей 1602 питается от Arduino через 5-ти вольтовой USB-кабель и соответствующий пин, для контакта контраста дисплея (3-й коннектор – Contrast) можно использовать номинал 2 кОм. Для Back LED+ контакта можно использовать резистор на 100 Ом. Можно использовать и переменный резистор – потенциометр для настройки контраста вручную.

2.9 Оценка погрешности

Погрешностью средства измерения является разность между показанием средства измерений и истинным (действительным) значением измеряемой физической величины.

Так как в результате преобразований на индикаторе было получено значение напряжения, на выходе датчика, то оценивать будем именно эту погрешность.

Погрешность измерения напряжения состоит из нескольких составляющих:

- погрешность датчика;
- погрешность АЦП;
- погрешность при программном преобразовании.

При малом числе составляющих погрешности (меньше пяти) возможна простая оценка погрешности результата, получаемая простым суммированием отдельных погрешностей без учета знака, т.е.

$$\Delta U_{\text{И}} = \Delta U_{\text{Д}} + \Delta U_{\text{АЦП}} + \Delta U_{\text{Пр}}, \quad (1)$$

где $\Delta U_{\text{И}}$ - погрешность результата измерения;

$\Delta U_{\text{Д}}$ - погрешность датчика;

$\Delta U_{\text{АЦП}}$ - погрешность АЦП;

$\Delta U_{\text{Пр}}$ - погрешность программного преобразования.

Учитывая, что максимальное выходное напряжение с датчика равно рабочему напряжению, погрешность преобразования будет отсутствовать.

Погрешность АЦП определяется числом его разрядов:

$$\delta_{\text{АЦП}} = 100\% \cdot \frac{1}{2^N} = 100\% \cdot \frac{1}{2^{10}} = 0,09 \approx 0,1\% \quad (2)$$

В этом случае суммарная погрешность измерения составит:

$$\delta = k \sqrt{\delta_{\text{дат}}^2 + \delta_{\text{АЦП}}^2} = 1,1 \sqrt{2,5^2 + 0,1^2} = 2,75\% \quad (3)$$

где k – поправочный коэффициент, определяемый принятой доверительной вероятностью P ($P = 0,95$ соответствует $k = 1,1$).

2.10 Язык Си

Для того, чтобы запрограммировать процессор, составляется программа на языке СИ.

Си — это универсальный язык программирования с компактным способом записи выражений, современными механизмами управления структурами данных и богатым набором операторов. Си не является ни языком "очень высокого уровня", ни "большим" языком, не рассчитан он и на какую-то конкретную область применения. Однако благодаря широким возможностям и универсальности для решения многих задач он удобнее и эффективнее, чем предположительно более мощные языки.

В Си имеются основные управляющие конструкции, используемые в хорошо структурированных программах: составная инструкция (`{...}`), ветвление по условию (`if-else`), выбор одной альтернативы из многих (`switch`), циклы с проверкой наверху (`while`, `for`) и с проверкой внизу (`do`), а также средство прерывания цикла (`break`). В качестве результата функции могут возвращать значения базовых типов, структур, объединений и указателей. Любая функция допускает рекурсивное обращение к себе. Как правило, локальные переменные функции — "автоматические", т. е. они создаются заново при каждом обращении к ней. Определения функций нельзя вкладывать друг в друга, но объявления переменных разрешается строить в блочно-структурной манере. Функции программы на Си могут храниться в отдельных исходных файлах и компилироваться независимо. Переменные по отношению к функции могут быть внутренними и внешними. Последние могут быть доступными в пределах одного исходного файла или всей программы

Язык программирования устройств Ардуино основан на C/C++. Он прост в освоении, и на данный момент Arduino — это, пожалуй, самый удобный способ программирования устройств на микроконтроллерах.

3.Результаты проведенных исследований

После того как рабочий образец неинвазивного глюкометра был собран. Пример представлен на Рисунке 17.

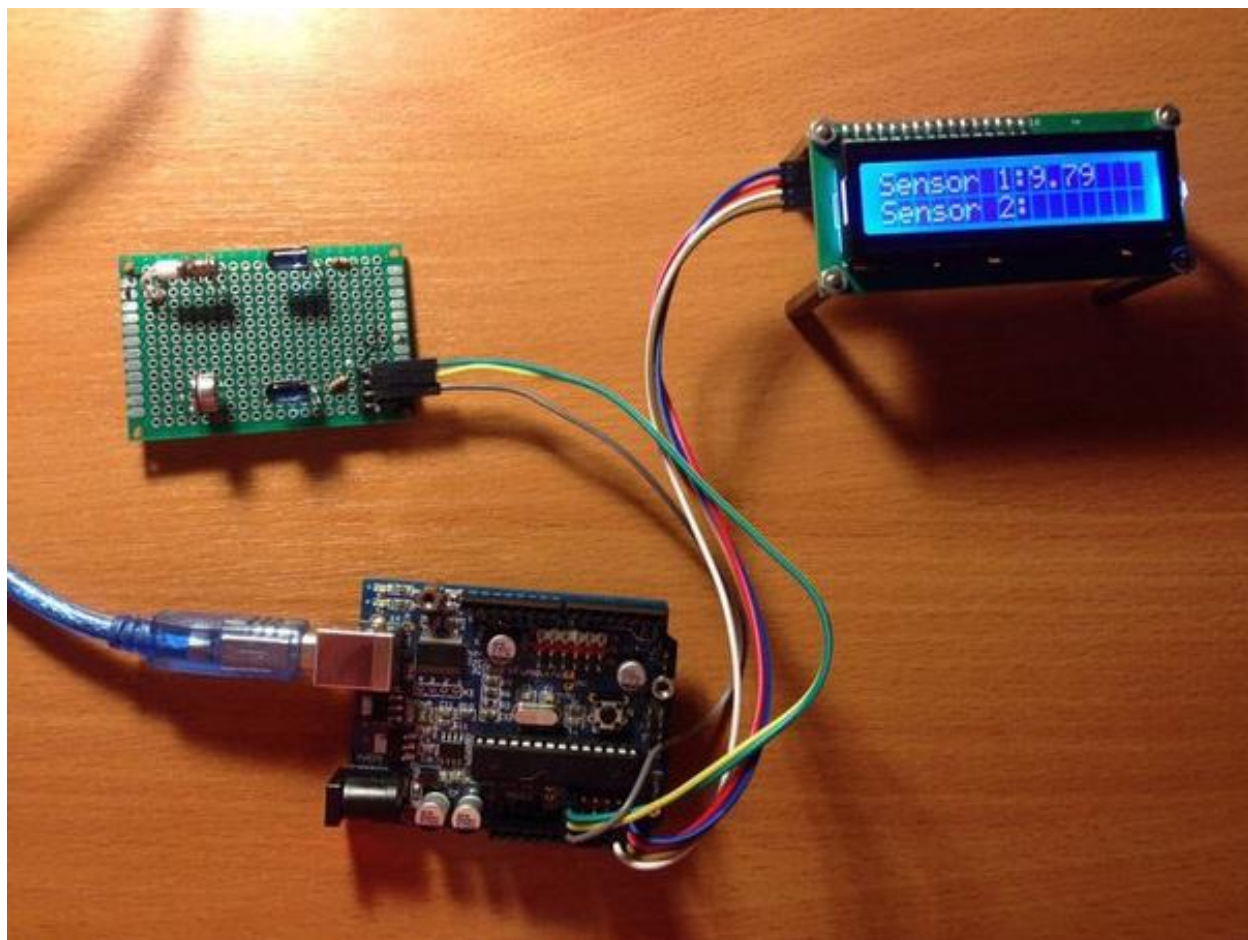


Рисунок 17- Рабочий образец неинвазивного глюкометра

Проводились измерения с эталонными растворами глюкозы с концентрацией 2 ммоль, 5 ммоль, 17ммоль, 25ммоль и 0 ммоль, т.е вода. Пример показан на Рисунке 18. Каждый раствор был измерен по 30 раз , так как для более точно расчета среднего значения и дисперсии. Все расчеты представлены в Таблице 7 и 8.



Рисунок 18- Проведение эксперимента.

Таблица 7- Результаты измерения

вода	2ммоль	5ммоль	17ммоль	25ммоль
9,83	9,85	9,87	9,91	9,95
9,85	9,89	9,88	9,93	9,97
9,84	9,86	9,93	9,89	9,93
9,84	9,84	9,91	9,9	9,95
9,83	9,85	9,9	9,9	9,95
9,81	9,84	9,85	9,89	9,89
9,83	9,85	9,87	9,9	9,93
9,82	9,85	9,88	9,93	9,96
9,84	9,86	9,87	9,88	9,95
9,83	9,87	9,87	9,91	9,96
9,85	9,81	9,88	9,93	9,95
9,84	9,85	9,93	9,89	9,95
9,84	9,89	9,91	9,9	9,97
9,83	9,86	9,9	9,9	9,93
9,81	9,84	9,85	9,89	9,95
9,83	9,85	9,87	9,9	9,95
9,82	9,84	9,88	9,93	9,89
9,84	9,85	9,87	9,88	9,93
9,83	9,85	9,87	9,91	9,96
9,85	9,86	9,88	9,93	9,95
9,84	9,87	9,93	9,89	9,96
9,84	9,81	9,91	9,9	9,95

9,83	9,85	9,9	9,9	9,95
9,81	9,89	9,85	9,89	9,97
9,83	9,86	9,87	9,9	9,93
9,82	9,84	9,88	9,93	9,95
9,84	9,85	9,87	9,88	9,95
9,83	9,84	9,86	9,9	9,89
9,81	9,85	9,87	9,9	9,93
9,83	9,85	9,87	9,91	9,96

Дисперсия каждой выборки или выборочная дисперсия оценивается по формуле:

$$D = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n-1}, \quad (4)$$

где $\bar{X}$ - среднее значение выборки.

Таблица 8- Дисперсия ыборки

Σ выборки	294,94	295,57	296,48	297,1	298,31
$X_{ср}$	9,831333	9,852333	9,882667	9,903333	9,943667
D	0,000136	0,000336	0,000531	0,000251	0,000472

Строим график используя полученные результаты измерений
Рисунок 19.

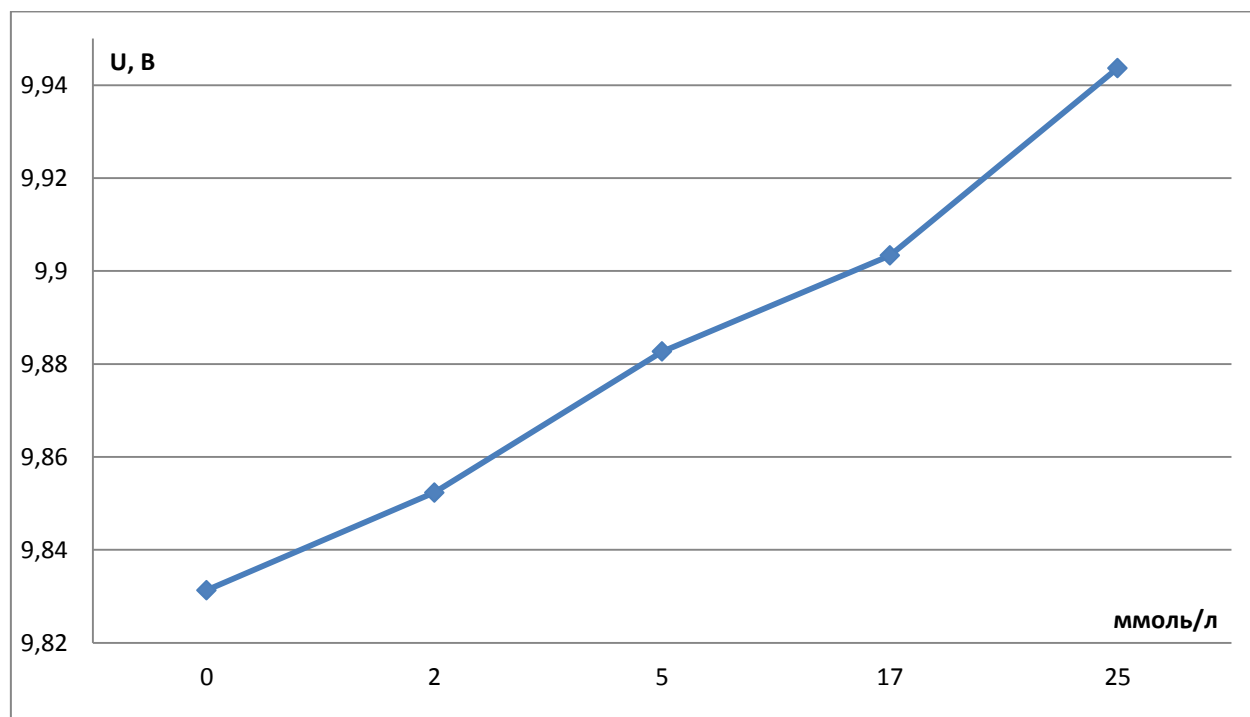


Рисунок 19 – График измерений

Из графика можно увидеть , что прибор реагирует на увеличение концентрации глюкозы, и показывает достоверные результаты.

Следовательно можно сделать вывод о том, что прибор покажет резкий скачек глюкозы в крови или жидкости, и пациент вовремя отреагирует. В идеальном случае сахар в крови необходимо мерить каждые 30-60 мин, пользуясь рабочим образцом нашего прибора к концу дня можно будет сделать анализ и вынести диагноз о состоянии больного.

Заключение

На сегодняшний день сахарный диабет занимает третье место среди болезней с летальным исходом. Каждый третий может и не подозревать о том, что болен. Именно поэтому целью данной работы было изучение всех оптических методов измерения глюкозы, и выявление самого простого и безопасного для использования в повседневной жизни метода.

В результате был собран рабочий образец, который определяет содержание глюкозы быстро и безболезненно. Результаты измерений этого прибора показали, что резкий скачек и падение сахара будет зафиксировано и пациент сможет вовремя принять необходимые меры.

Достоинством прибора является простота обращения, безболезненное использование, легкая настройка и низкая стоимость.

В дальнейшем планируется совершенствование прибора для уменьшения погрешности, так же использование других фотоприемников для улучшения точности работы при измерении глюкозы в крови.

Список публикаций студента

- 1) Мезенцева М. А. , Букрина Т. А. Неинвазивные методы измерения сахара в крови [Электронный ресурс] // Информационно-измерительная техника и технологии: материалы VI Научно-практической конференции с международным участием, Томск, 27-30 Мая 2015. - Томск: ТПУ, 2015 - С. 74-82. - Режим доступа: <http://www.lib.tpu.ru/fulltext/c/2015/C18/C18.pdf>
- 2) М.А. Мезенцева, Т.А. Букрина, Е.В. Юрченко МЕТОДЫ ПЕРЕДАЧИ ДАННЫХ С ГЛЮКОМЕТРА НА ПК [Электронный ресурс] // Проблемы информатизации региона. ПИР-2015: Материалы XIV Всероссийской научно-практической конференции, Красноярск, 17–19 ноября 2015 года – С.150-155 - Режим доступа: <http://conf.nsc.ru/files/conferences/pir2015.pdf>
- 3) Мезенцева М.А. Методы контроля глюкозы в биологических жидкостях. [Электронный ресурс] // VI Всероссийская научно-практической конференция студентов и молодых ученых «Неразрушающий контроль: электронное приборостроение, технологии, безопасность», 23 –27 мая 2016 г. – Томск, ТПУ, 2016. Статья представлена к публикации.
- 4) М.А. Мезенцева, Т.А. Букрина, МЕТОДЫ ПЕРЕДАЧИ ДАННЫХ С ГЛЮКОМЕТРА НА ПК [Электронный ресурс] // Информационно-измерительная техника и технологии: материалы VII Научно-практической конференции с международным участием, Томск, 25-28 Мая 2016. - Томск: ТГУ, 2016. Статья представлена к публикации.
- 5) Мезенцева М.А.1, Кузнецов В.В. 1,2, Мехтиев А.Д.3 УСТРОЙСТВА И МЕТОДИКИ ДЛЯ КОМПЛЕКСНОЙ ДИАГНОСТИКИ ЛИЦ, ПОДВЕРГАЮЩИХСЯ СИСТЕМАТИЧЕСКОМУ ВОЗДЕЙСТВИЮ ЭКСТРЕМАЛЬНЫХ НАГРУЗОК И ФАКТОРОВ РАБОЧЕЙ СРЕДЫ. [Электронный ресурс] // Информационно-измерительная техника и технологии: материалы VII Научно-практической конференции с международным участием, Томск, 25-28 Мая 2016. - Томск: ТГУ, 2016. Статья представлена к публикации.

Приложение А
(обязательное)

Раздел 1

Неинвазивные методы измерения глюкозы

Студент:

Группа	ФИО	Подпись	Дата
1БМ4Б	Мезенцева М.А.		

Консультант кафедры компьютерных измерительных систем и метрологии:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Старший преподаватель	Юрченко Е.В.	к.м.н.		

Консультант – лингвист кафедры ОТСП:

Должность	ФИО	Ученая степень, звание	Подпись	Дата
Доцент	Ковалева Ю.Ю.	доцент		

Non-invasive glucose measurement

A diabetes mellitus is a medical condition in that a body does not produce an amount adequately, or quality of insulin needed to support normal circulating blood glucose. Insulin is a hormone, that gives possibility to glucose (sugar) to enter cells bodies that is used for energy. Two types of diabetes are ordinary. Print I am also known as Diabetes Mellitus of Dependant (Iddm) of Insulin and gives account about 5-10% of all cases. Print II or Diabetes Mellitus of Dependant (Niddm) occurs takes place in 90-95% of diabetic population. In IDDM, the disease occurs in childhood and requires insulin doses to maintain life, in addition to healthy eating and exercise. NIDDM occurs later in life- perhaps after 40 years of age and may require insulin or be controllable with oral medication, weight loss, a nutritious diet and a regular exercise program.

It is estimated that diabetes afflicts nearly 16 million people in the United States and over 100 million people worldwide. Diabetes is the fourth leading cause of death by disease in the United States, killing more than 169,000 people each year [8]. Frequent self-monitoring blood glucose critical for effective treatment and decline of morbidity and death rate of diabetes.

Diabetes can result in strict complications over time, including blindness, kidney refuse, heart failure, and a peripheral nervous breakdown contacted with pain of extremity, poor rotation, gangrene and subsequent amputation [9]. According to the American Diabetes Association (ADA), complications arising from diabetes cost the US health care system in excess of \$45 billion. These complications are largely due to years of poor glucose control. The Diabetes Care and Complications Trial (DCCT) demonstrated that more frequent monitoring of blood glucose and insulin levels could prevent many of the long-term complications of diabetes [10]. However, current blood (fingerstick) glucose tests are painful, inconvenient due to disruption of daily life, cause fear of hyoglycemia resulting from tighter glucose control and maybe difficult to perform in long-term diabetic patients due to calluses on the fingers

and poor circulation.

Thus, the average diabetic patient tests his/her blood glucose levels less than twice a day versus the recommended 4-7 times per day. A non-invasive method (fast, painless and convenient) for glucose monitoring could provide adequate control, and greatly reduce the complications seen in these patients, and consequently reduce health care costs.

Currently, glucose measurements are done by pricking a finger and extracting a drop of blood which is applied to a test strip composed of chemicals sensitive to the glucose in the blood sample. An optical meter (glucometer) is used to analyze the blood sample and gives a numerical glucose reading. The various types of glucometers sold usually cost less than \$100 dollars or have been discounted greatly because of the purchase of expendable, one-use-only test strips. These strips cost 50 cents (\$0.50), a modest cost if only a small use rate is required. A strip used every day costs about \$183.00 per year for the diabetic that tests only one time a day. Those requiring multiple measurements (the elderly, children, etc.) would easily have much higher yearly costs. The worldwide market for glucose monitoring products is expected to exceed 3 billion dollars by the year 2000. These figures and the revenue potential make development of the non-invasive glucose sensor a most sought after device.

However, many technological and financial challenges and problems still remain to be solved.

Ultimately, can the devices developed provide clinically meaningful and accurate measurements for all diabetics at a reasonable cost with sufficient financial return to the manufacturer?

Types of Measurement Techniques

Non-invasive glucose monitoring techniques can be grouped as subcutaneous, dermal, epidermal and combined dermal and epidermal glucose measurements.

Matrices other than blood under investigation include interstitial fluid,

ocular fluids and sweat. Test sites being explored include finger tips, cuticle, finger web, forearm and ear lobe. Subcutaneous measurements include microdialysis, wick extraction, and implanted electrochemical or competitive fluorescence sensors. Microdialysis is also an investigational dermal and epidermal glucose measurement technique. Epidermal measurements can be obtained via infrared spectroscopy, as well. Combined dermal and epidermal fluid glucose measurements include extraction fluid techniques (iontophoresis, skin suction and suction effusion techniques) and optical techniques. The optical techniques include near infrared spectroscopy, infrared spectroscopy, raman spectroscopy, photoacoustic spectroscopy, scatter and polarization changes [11].

This brief review is concentrated on description of optical techniques (Table 1) presently under development by the diagnostic manufacturers of equipment for glucose, monitoring in diabetics - the most rapid growing segment of diagnostic test.

General Features of Non-aggressive Optical Techniques

The non-aggressive optical measuring of glucose executes concentrating of beam of light on a body. Light is modified by fabric after a transmission through a having a special purpose area. An optical signature or fingerprint of the tissue content is produced by the diffuse light that escapes the tissue it has penetrated. The absorbance of light by the skin is due to its chemical components (i.e., water, hemoglobin, melanin, fat and glucose). The transmission of light at each wavelength is a function of thickness, color and structure of the skin, bone, blood and other material through which the light passes [11].

The glucose concentration can be determined by analyzing the optical signal changes in wavelength, polarization or intensity of light. The sample volume measured by these methods depends on the measurement site. The correlation with blood glucose is based on the percent of fluid sample that is interstitial, intracellular or capillary blood. Drs. Roe and Smoller [11] have

devised the following example. The fluid viewed through the limb is 63% intracellular and 37% extracellular, of which 27% is interstitial and 10% plasma. A blood glucose value of 100mg/dl is equivalent to a tissue sample glucose average of 38mg/dl of which 26% is due to blood, 58% is due to interstitial fluid and 16% is due to intracellular fluid. What the tissue sample glucose means clinically in respect, to therapy is still under investigation.

Not only is the optical measurement dependent on concentration changes in all body compartments measured, but changes in the ratio of tissue fluids (as altered by activity level, diet or hormone fluctuations) and this, in turn, effects the glucose measurement. Problems also occur due to changes in the tissue after the original calibration and the lack of transferability of calibration from one part of the body to another. Tissue changes include: body fluid source of the blood supply for the body fluid being measured, medications that affect the ratio of tissue fluids, day-to-day changes in the vasculature, the aging process, diseases and the person's metabolic activity.

Dermal and Epidermal*Fluid Glucose Measurement Techniques	
Technique	Definition
Near Infrared Spectroscopy (NIR)	Absorption or emission data in the 0.7 to 2.5 μm region of the spectrum are compared to known data for glucose.
Raman Spectroscopy	Laser light is used to induce emission from transitions near the level excited.
Photoacoustic Spectroscopy	Laser excitation of fluids is used to generate an acoustic response and a spectrum as the laser is tuned.
Scatter Changes	The scattering of light can be used to indicate a change in the material being examined.

Polarization Changes	The presence of glucose in a fluid is known to cause a polarization preference in the light transmitted.
Mid-Infrared Spectroscopy	Absorption or emission data in the 2.5 μm - 25 μm region are examined and used to quantitate glucose in a fluid.

**Limited to epidermal surface.*

Dermal and Epidermal*Fluid Glucose Measurement Techniques

Technique

Definition

Near Infrared Spectroscopy (NIR)

Absorption or emission data in the 0.7 to 2.5 μm region of the spectrum are compared to known data for glucose.

Raman Spectroscopy

Laser light is used to induce emission from transitions near the level excited.

Photoacoustic Spectroscopy

Laser excitation of fluids is used to generate an acoustic response and a spectrum as the laser is tuned.

Scatter Changes

The scattering of light can be used to indicate a change in the material being examined.

Polarization Changes

The presence of glucose in a fluid is known to cause a polarization preference in the light transmitted.

Mid-Infrared Spectroscopy

Absorption or emission data in the 2.5 μm - 25 μm region are examined and used to quantitate glucose in a fluid.

**Limited to epidermal surface.*

Fluid Glucose Optical Measurement Strategies

Near Infrared Spectroscopy (NIR)

Glucose produces one of the weakest NIR absorption signals per concentration unit of the body's major components. NIR spectroscopy glucose measurement enables investigation of tissue depths in the range of 1 to 100 millimeters with a general decrease in penetration depth as the wavelength value is increased. NIR transmission through an ear lobe, finger web and finger cuticle or reflected from the skin of the forearm and lip mucosa has been attempted in the NIR region between 1000nm to 2500nm. NIR diffuse reflectance measurements have been performed on the finger and cuticle have shown good correlation with blood glucose but 10% of the predictions are not clinically acceptable [12].

Diffuse reflectance studies of the inner lip also have shown good correlation with blood glucose and indicated a time lag of 10 minutes between blood glucose and the measurement signal [13]. Salivary glucose levels (a component of lip measurements) did not reflect blood glucose levels. Physical and chemical parameters such as variation in pressure, temperature, triglyceride and albumin interfere with glucose measurement. Errors can also occur due to environmental variations such as changes in temperature, humidity, skin hydration, carbon dioxide, and atmospheric pressure [11]. Extensive validation and testing of the glucose prediction equation is needed to determine if the glucose correlation is consistent in all clinically important conditions in all types of patients.

Infrared Spectroscopy (IR)

The IR glucose measurement systems at the epidermal surface enables investigation of tissue depths in the range of 10 to 50 micrometers at using a wavelength band in the IR region from 700 to 1000nm [14]. These systems do not measure glucose in the blood containing tissues. An attenuated total reflection technique has been used for oral mucosa, however, the drawbacks

include glucose contamination of the measurement site by food and a highly variable saliva of low rate [15]. Assays using whole blood as the sample matrix, are subject to interferences due to albumin, red cells and gamma globulin and changes in temperature and pH. Further, saliva glucose varies considerably and does not reflect blood glucose methods [11].

Raman Spectroscopy

Raman spectroscopy measures scattered light that has been influenced by the oscillation and rotation of the scatter. Various raman techniques have been attempted in blood, water, serum, and plasma solutions and the eye, but multiple problems remain before human studies can be performed. Analytical problems include instability in the laser wavelength and intensity, errors due to other chemicals in the tissue sample and long spectral acquisition times [11].

Photoacoustic Spectroscopy

Photoacoustic spectroscopy uses an optical beam to rapidly heat the sample and generate an acoustic pressure wave that can be measured by a microphone. The determination of glucose in blood [15], tissue phantoms [16] and humans [17] can provide greater sensitivity than conventional spectroscopy when specific physical parameters are favorable. Excellent correlation between the photoacoustic signal and blood glucose levels have been shown on index fingers of healthy and diabetic patients. The instrumentation is currently custom made, expensive and sensitive to environmental parameters. The technique is also subject to chemical interferences from biological molecules as well as physical interference from temperature and pressure changes.

Scatter Changes

Scatter measurement monitors the changes in tissue reduced scattering coefficient and is used for the determination of glucose in tissue phantoms and humans.

Increased glucose in the sample is proportional to an increase in the refractive index of the sample and thus the particle scattering properties of the

sample are changed. Measurements on the abdomen of the diabetic patients showed excellent correlation between the scatter signal and blood glucose levels [18]. Many parameters contribute to a natural physiological drift of the scattering parameter. Methods are needed to compensate for the signal drift.

Polarization Changes

Although the change in optical signal by glucose is small, glucose is a good optical rotator. This characteristic has been used to conduct in-vitro glucose assays . The intensity of light corresponds to the amount of light present. Skin is not a feasible site due to it's high light scattering properties. The eye's aqueous humor has been suggested and solution measurements have been published. Use of multiple wavelengths have been shown to minimize the poor specificity of this technique. Other optically active substances will interfere, with the analysis as will variations in the temperature and pH of the sample.

Conclusions, Challenges and Issues Requiring Further Study

Diabetes mellitus is a complex group of syndromes that have in common a disturbance in the body's use of glucose, resulting in an elevated blood sugar. Once detected, "sugar diabetes" can be controlled by an appropriate regimen that should include diet therapy, a weight reduction program for those persons who are overweight, a program of exercise and insulin injections or oral drugs to lower blood glucose. Blood glucose monitoring by the patient and the physician is an important aspect in the control of the devastating complications (heart disease, blindness, kidney failure or amputations) due to the disease. There is no cure.

Intensive therapy and frequent glucose testing has numerous benefits.
Dr.

William Herman and his colleagues have determined that intensive therapy delays the time to first complication by about 15 years, blindness by about eight years and end-stage renal disease and lower extremity amputation by about six years. Further, intensive therapy prolongs the life of the diabetic by

about five years at a cost of about \$30,000 per life year gained [17].

With ever improving advances in diagnostic technology, the race for the next generation of bloodless, painless, accurate glucose instruments has begun.

However, many hurdles remain before these products reach the commercial marketplace.

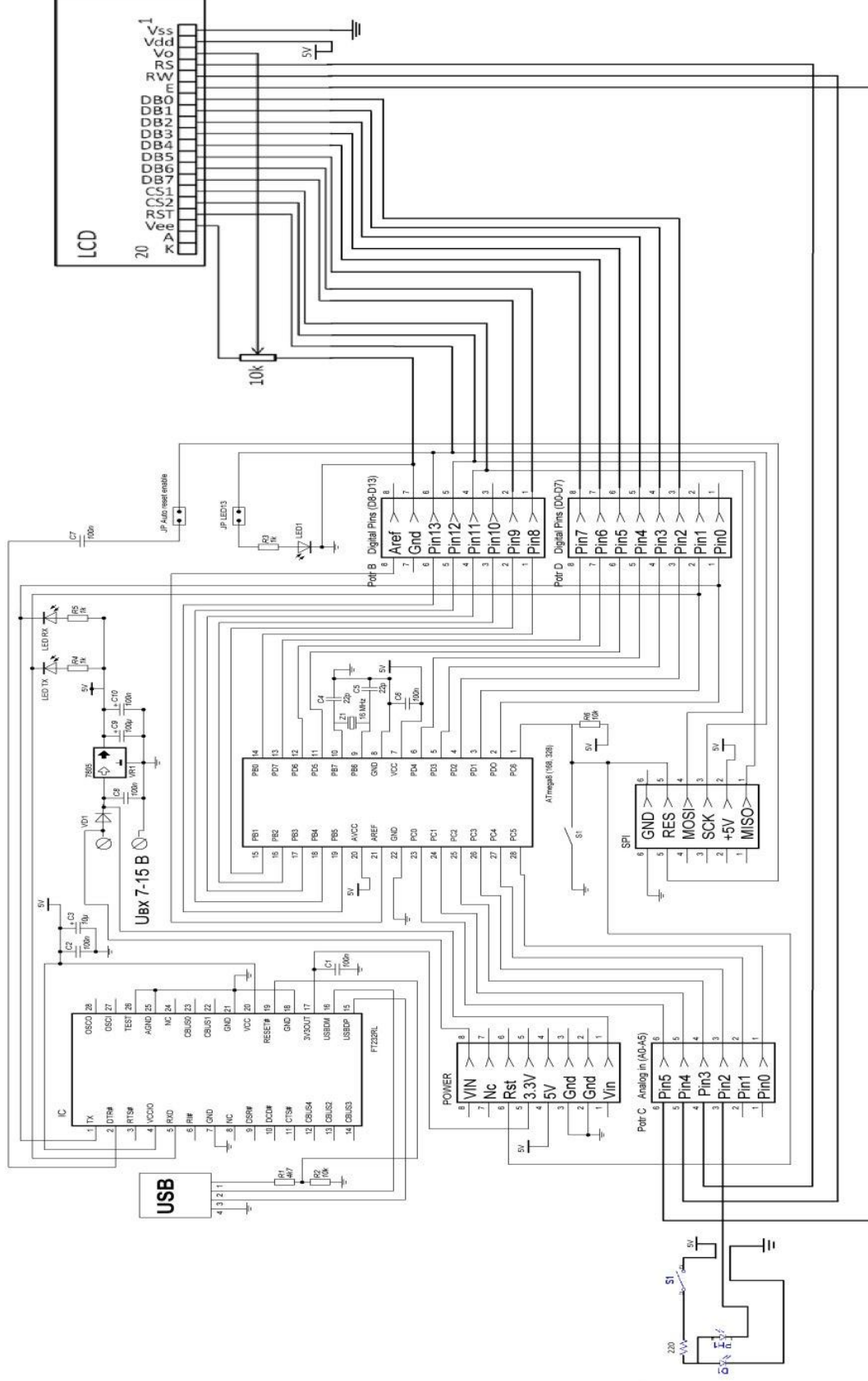
Calibration of the instruments and validation of the results obtained by the optical methods under different environmental conditions and used by different patient populations (i.e., different ages, sizes and ethnic origins) must be performed. The devices may have to be calibrated to individual users.

Current instrumentation lacks specificity due to substantial chemical and physical interferences. The devices use multivariate regression analyses that convert the optical signal to a glucose concentration. Large amounts of data are used to build the glucose model and must take into consideration the concentration range, sampling environment and other factors involved in the analysis. First, an instrument must be designed that accurately detects glucose concentration. Correlation and clinical interpretation of this value, in respect to the patient's "true glucose" value, is imperative for optimum therapy and disease management.

Considerable progress has been made in the development of non-invasive glucose devices however, at this time, frequent testing using invasive blood glucose determination via fingerstick provides the best information for diabetes disease management. Industry spokespersons have said: "... anyone who can come up with a viable noninvasive or painless technique is going to make a lot of money. People's lives are involved ... and we don't want to suggest that this technology is right around the corner. This is very tricky, difficult work.".

Приложение Б

Принципиальная схема



Приложение В. (справочное)

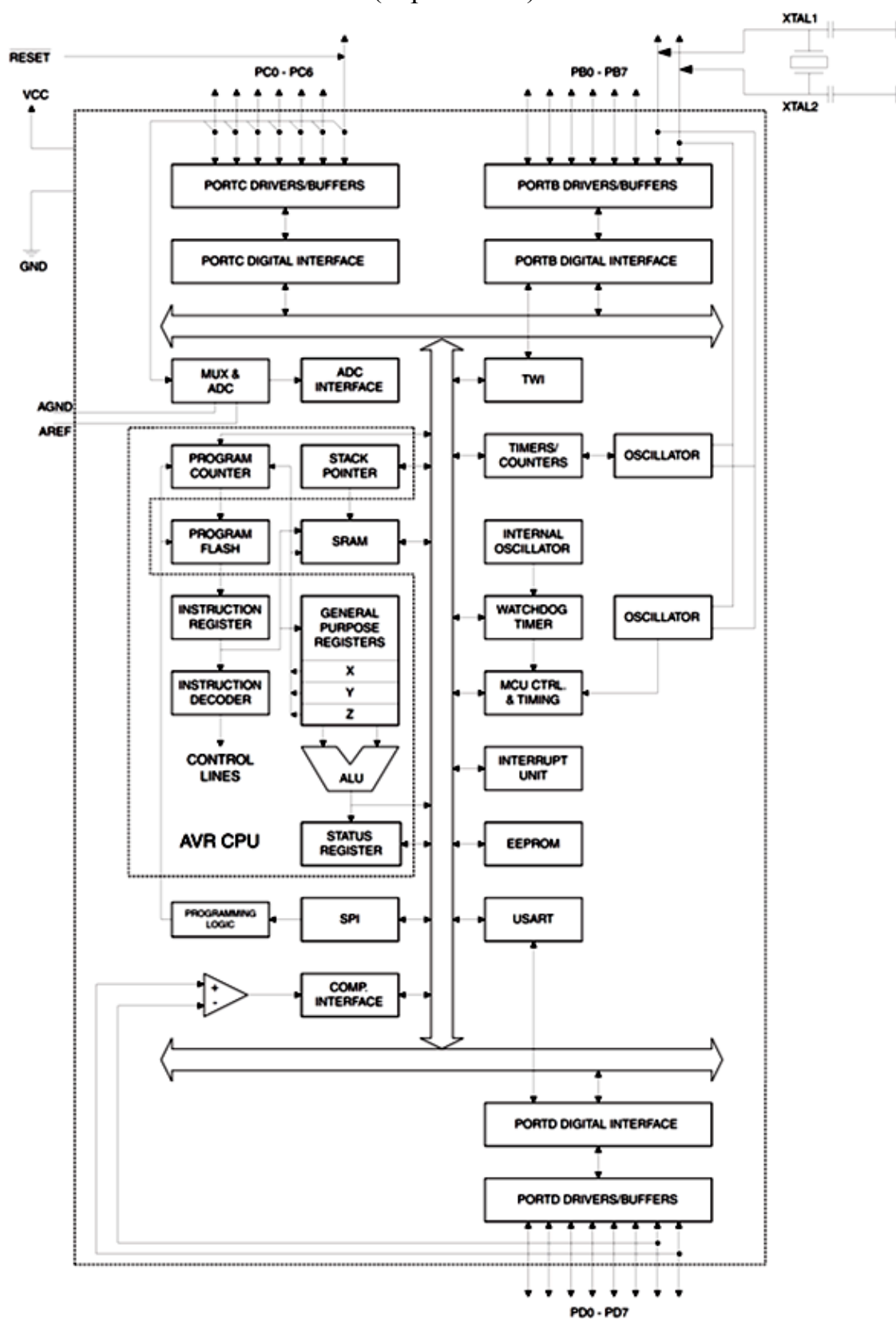


Рисунок В.1 – Структурная схема ATmega8

Приложение Г (справочное)

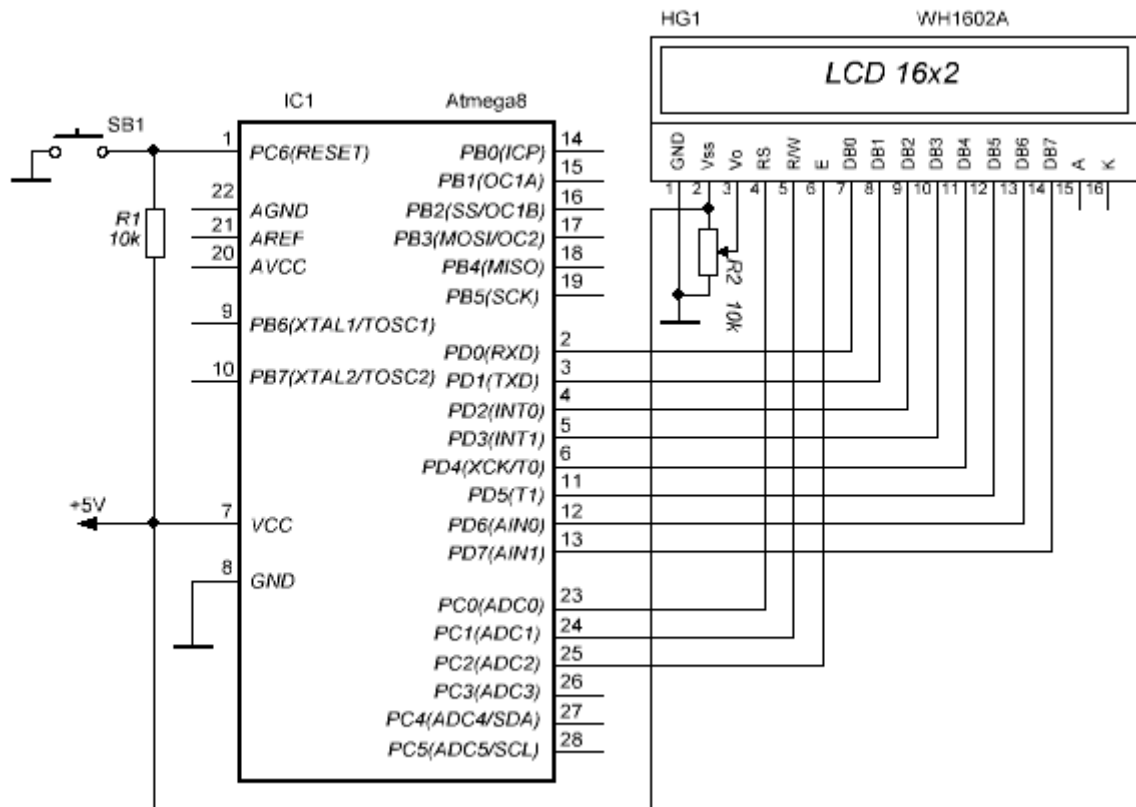


Рисунок Г1 - Схема подключения LCD

**Приложение Д.
(обязательное)**

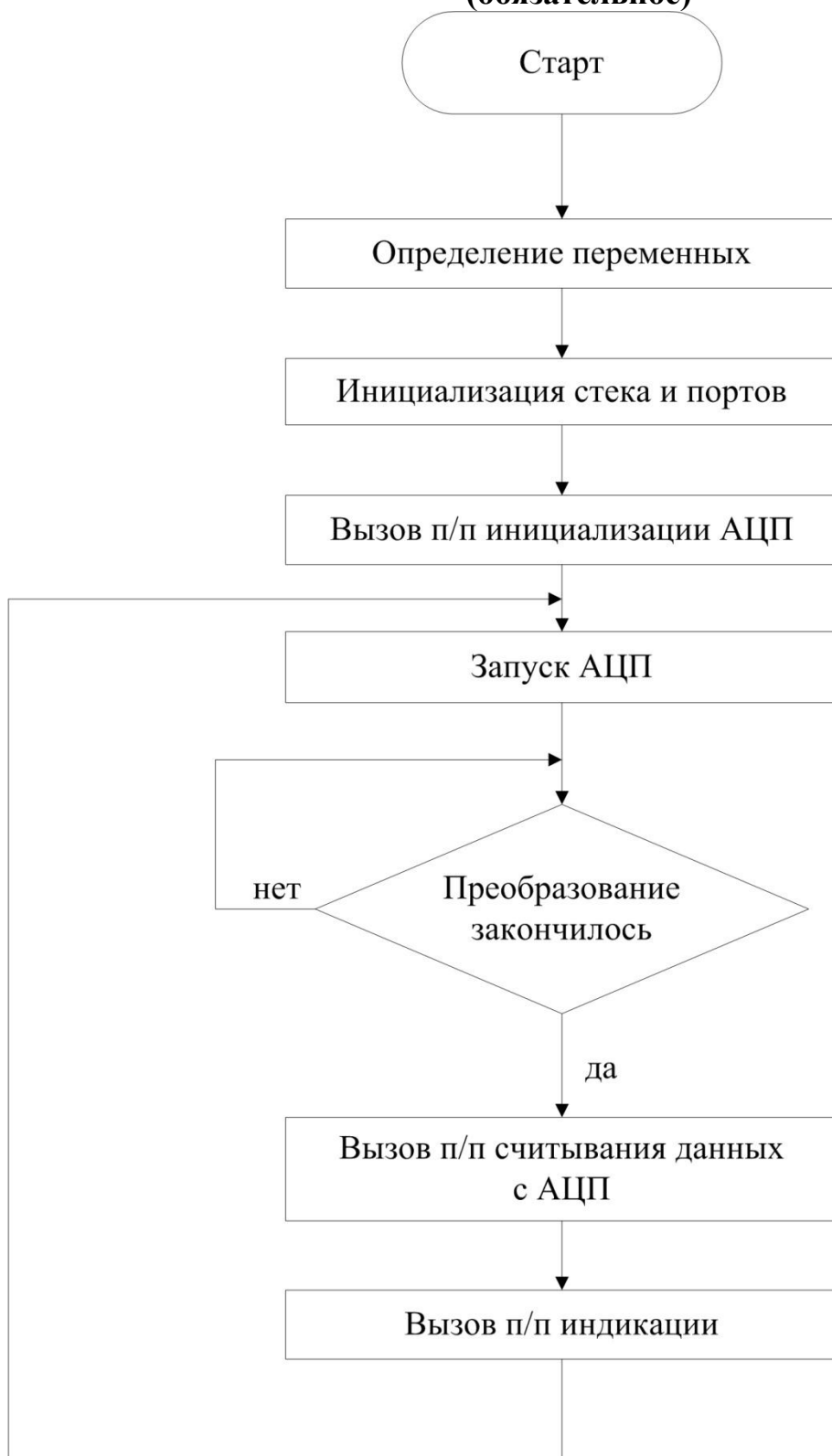


Рисунок Д1- Основной алгоритм программы.

**Приложение Е
(обязательное)
Листинг программы.**

```
#include <Wire.h> // библиотека для работы с датчиком
#include <LiquidCrystal_I2C.h> // библиотека для работы с дисплеем по
i2c lcd
```

```
#include <OneWire.h> // библиотека для работы с датчиком
OneWire ds(10);
LiquidCrystal_I2C lcd(0x27,16,2); /* Задаем адрес и размерность
дисплея.
```

При использовании LCD I2C модуля с дисплеем 20x04 ничего в коде изменять не требуется, следует только задать правильную размерность */

```
void setup()
{
  lcd.init();           // Инициализация lcd
  lcd.backlight();      // Включаем подсветку
  lcd.setCursor(0, 0);   // Устанавливаем курсор в начало 1 строки
  lcd.print("Air temp:"); // Выводим текст
  lcd.setCursor(11, 0);  // Устанавливаем курсор на 12 позицию 1
строки
  lcd.print((char)223); //выводим символ
  lcd.print("C");       // Выводим текст

}
```

```
void loop(){ // бесконечный цикл
  byte data[2];
  ds.reset();
  ds.write(0xCC);
  ds.write(0x44);
  delay(750);
  ds.reset();
  ds.write(0xCC);
  ds.write(0xBE);
  data[0] = ds.read();
  data[1] = ds.read();
  int Temp = (data[1]<< 8)+data[0];
  Temp = Temp>>4;
  Serial.println(Temp);
  lcd.setCursor(9, 0); // Устанавливаем курсор на 11 позицию 1 строки
  lcd.print(Temp);     // Выводим результат на экран
```