

Jannis Kyparissakos

# Ei-invasiiviset verensokerimittausmenetelmät

Tekijä Otsikko	Jannis Kyparissakos Ei-invasiiviset verensokerimittausmenetelmät
Sivumäärä Aika	30 sivua + 1 liite 9.12.2012
Tutkinto	insinööri (AMK)
Koulutusohjelma	sähkötekniikka
Suuntautumisvaihtoehto	elektroniikka
Ohjaajat	Yliopettaja Esa Häkkinen Lehtori Katriina Schrey-Niemenmaa
<p>Insinööriyössä selvitettiin ei-invasiivisten verensokerimittausmenetelmien nykytilannetta ja tulevaisuuden näkymiä. Lisäksi tutkittiin erään invasiivisen verensokerimittarin toimintaa.</p> <p>Työn teoriaosuudessa selvitettiin itse diabetesta ja sitä, millaisia mittaustapoja on käytettävissä tai on mahdollista käyttää verensokerin mittaamiseen puhkaisematta potilaan ihoa. Tällaisista mittaustavoista käytetään nimitystä ei-invasiiviset verensokerimittausmenetelmät. Nämä mittaustavat on jaettu kahteen ryhmään, transdermaalisiin ja optisiin mittausten menetelmiin.</p> <p>Työn laboratorio-osuudessa purettiin eräs kaupallinen ihon puhkaisuun perustuva verensokerin mittari ja tutkittiin sen toimintaa. Näin saatiin selville yksityiskohtaisia tietoja myös eräästä invasiivisesta mittaustavasta. Työn tuloksena saatiin tietoa siitä, miten bioanturilla toimiva mittari mittaa verensokerin pitoisuutta veressä. Tuloksien perusteella on mahdollista suunnitella ja rakentaa bioanturi, jota voidaan hyödyntää verensokerin määrittämiseen kudospainetta.</p>	
Avainsanat	diabetes, verensokerimittari, ei-invasiivinen

Author Title	Jannis Kyparissakos Methods for Noninvasive Glucose Monitoring
Number of Pages Date	30 pages + 1 appendicies 9 December 2012
Degree	Bachelor of Engineering
Degree Programme	Electrical engineering
Specialisation option	Electronics
Instructor	Esa Häkkinen, Principal Lecturer Katriina Schrey-Niemenmaa, Senior Lecturer
<p>This thesis reviews present and future non-invasive blood glucose measuring methods. It also includes a laboratory study of an invasive blood glucose meter.</p> <p>The theoretical part of this thesis studies diabetes itself and what kind of measuring methods are available or possible to measure blood glucose without puncturing the skin of the patient. Such ways of testing are referred to as non-invasive blood glucose measuring methods. These methods are divided into two groups, transdermal and optical.</p> <p>In the laboratory study a commercial blood glucose meter based on skin puncture was taken apart, analyzed and tested for its function. This revealed details of an invasive measuring method, too. The results provide information on how to measure blood glucose levels in the blood with a biosensor. The results showed that it is possible to design and build a biosensor that can be used to define blood glucose levels from the interstitial fluid.</p>	
Keywords	diabetes, blood glucose meter, non-invasive

## Sisällys

### Tiivistelmä

### Abstract

### Sisällys

### Lyhenteitä

<b>1</b>	<b>Johdanto</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Taustatietoa Diabeteksestä</b>	<b>3</b>
2.1	Haima	3
2.2	Diabetes	5
2.2.1	Diabeteksen määritelmä	5
2.2.2	Diabetestyytit	6
2.2.3	Komplikaatiot ja niiden hoitokeinot	7
2.3	Verensokerin seuranta nyky menetelmillä	8
<b>3</b>	<b>Ei-invasiivinen verensokerin mittaaminen</b>	<b>12</b>
3.1	Transdermaaliset mittaussuomenetelmät	12
3.1.1	Käänteinen iontoforeesi	13
3.1.2	Sonoforeesi	15
3.1.3	Impedanssispektroskopia	16
3.2	Optiset mittaussuomenetelmät	17
3.2.1	MIR- ja NIR -spektroskopia	18
3.2.2	Lämpöemission spektroskopia	19
3.2.3	Raman-spektroskopia	20
3.2.4	Fotoakustinen spektroskopia	21
3.2.5	Optinen koherenssitomografia	21
3.2.6	Polarimetria	23
3.2.7	Okklusiospektroskopia	24
3.2.8	Fluoresenssispektroskopia	26
<b>4</b>	<b>Verensokerimittarin anturin sähköinen toiminta</b>	<b>27</b>
<b>5</b>	<b>Yhteenveto ja pohdinta</b>	<b>30</b>
	<b>Lähteet</b>	<b>32</b>
	<b>Liitteet</b>	

## Liite 1. Simulointitulokset

## Lyhenteitä

FDA	<i>Food and Drug administration</i> ; Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkevirasto
GDH	<i>Glucose dehydrogenase</i> ; glukoosidehydrogenaasi-entsyymi
GOx	<i>Glucose oxidase</i> ; glukoosioksidaasi-entsyymi
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Vetyperoksidi; vedyn toinen oksidi
IFG	<i>Impaired Fasting Glycaemia</i> ; poikkeava paastoglukoosi
IGT	<i>Impaired Glucose Tolerance</i> ; poikkeava glukoositoleranssi
ISF	<i>Intersitial Fluid</i> ; kudosp neste
MIR	<i>Mid Infrared</i> ; keski-infrapuna
NIR	<i>Near Infrared</i> ; lähi-infrapuna
WHO	<i>World Health Organization</i> ; maailman terveysjärjestö

## 1 Johdanto

Tässä insinööriyössä tutkitaan ei-invasiivisia verensokerimittausmenetelmiä ja erään invasiivisen verensokerimittarin sähköistä toimintaa. Ennen varsinaista tutkimusosiota tutustutaan aihetta koskeviin taustoihin, kuten haiman toimintaan ja diabetekseen sairautena, sekä nykyisiin verensokerimittareihin.

Työn alussa selvitetään lyhyesti haiman eksokriinistä eli avoeritteistä osaa, joka erittää emäksistä ja entsyymipitoista haimanestettä ruoansulatusjärjestelmään. Tämän jälkeen paneudutaan tarkemmin haiman rooliin aineenvaihdunnassa ja sen endokriiniseen osaan. Lisäksi esitellään haiman solurakenteita, sen erittämiä hormoneja ja niiden merkitystä sekä tarkastellaan insuliinin ja glukagonin vaikutusta toisiinsa ja glukoosiainevaihduntaan.

Seuraavaksi keskitytään siihen, millainen sairaus diabetes on. Aluksi kerrotaan diabeteksen diagnosoinnista, luokittelusta ja esiintyvyydestä yhteiskunnassa. Tämän jälkeen tarkastellaan eri diabetestyyppien etiologioita, mahdollisia aiheuttajia, perinnöllisiä ja ei-perinnöllisiä tekijöitä sekä sairauden aiheuttamia komplikaatioita ja niiden hoitokeinoja.

Kun haiman toiminta ja diabetes-osio on käsitelty, tutkitaan verengluukoosin seuranta nyky menetelmillä. Tässä osiossa kerrotaan yleisesti olemassa olevista verensokerinmittausmenetelmistä, joita diabetesta sairastavat henkilöt joutuvat käyttämään useita kertoja päivässä diabetestyyppistä riippuen. Verengluukoosin seuranta on diabeetikolle elinehto, sillä se on ainoa tapa kontrolloida verengluukoosin tasapainoa. Verensokeriarvonsa perusteella diabeetikko voi tarvittaessa annostella sopivan määrän insuliinia tai siirtyä tarvittaviin hoitomenetelmiin. Diabeetikon on nykyään mahdollista seurata itse verengluukoosiaan väriliuskoilla, entsyymiliuskalla toimivilla tai jatkuvilla verensokerimittareilla.

Tämän jälkeen siirrytään varsinaiseen tutkimusosioon, jossa tutkitaan kehitteillä olevia ei-invasiivisia verensokerimittausmenetelmiä. Osiossa selvitetään millä tavoilla on mahdollista mitata verensokeri läpäisemättä fyysisesti ihoa. Kyseiset mittausmenetelmät jaetaan kahteen ryhmään, transdermaalisiin ja optisiin menetelmiin. Transdermaalisia mittausmenetelmiä on monia, kuten käänteinen iontoforeesi, sonoforeesi ja impedanssispektroskopia. Optisia mittausmenetelmiä ovat NIR- ja MIR -spektroskopia, lämpösäteily,

Raman-spektroskopia, polarimetria, optinen koherenssitomografia, okklusiospektroskopia, fotoakustinen spektroskopia ja fluoresenssi.

Lopuksi siirrytään laboratorio-osioon, jossa puretaan eräs kaupallinen ihon puhkaisuun perustuva verensokerimittari ja tutkitaan sen toiminta. Näin saadaan yksityiskohtaista tietoa myös eräästä invasiivisesta mittausmenetelmästä.



## 2 Taustatietoa Diabeteksestä

### 2.1 Haima

Haima on selkärankaisilla oleva sisäelin, joka sijaitsee vatsaontelon takaseinämässä ja vatsakalvon takana. Sen tehtävä on erittää verenkiertoon insuliinia ja glukagonia sekä ruoansulatusnestettä suolistoon ja vatsaan tarpeen mukaan. Haima on jakautunut kahden osaan: eksokriiniseen osaan eli avoeritysrauhasen toimintaan, joka kattaa 98 prosenttia haiman tilavuudesta ja endokriiniseen osaan eli umpieritysrauhasen toimintaan.

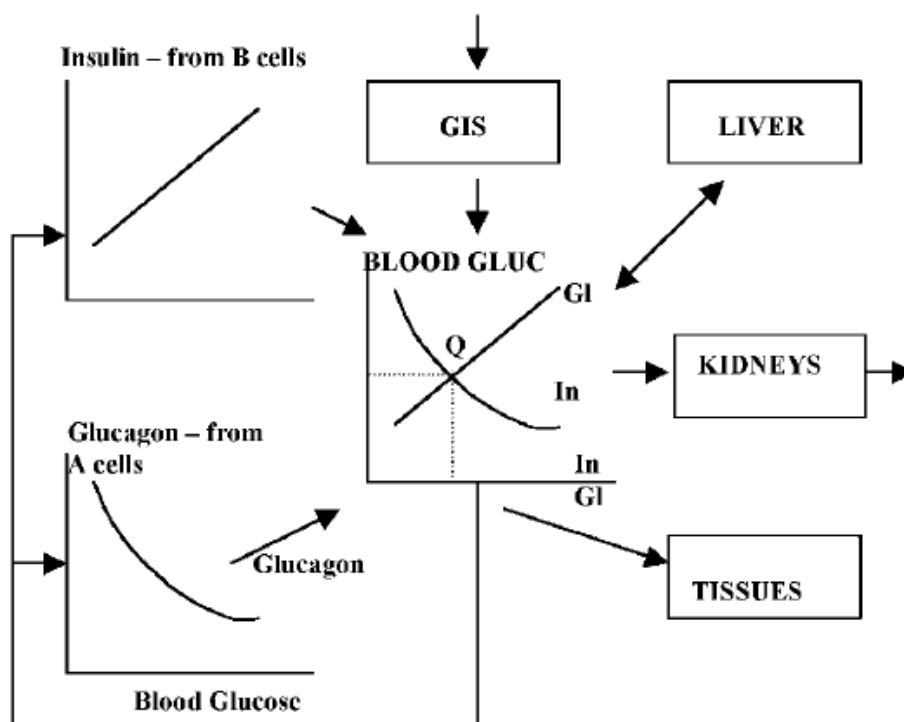
Haima toimii ihmiselimistön ruoansulatuksen tärkeänä avoeritysrauhasena sylkirauhas-ten, vatsan ja maksan sekä suoliston lisäksi. Nämä avoeritysrauhaset ovat vastuussa tärkeiden hormonien ja entsyymien erityksestä ruoansulatusprosessissa. Haiman tärkeimpiin tehtäviin avoeritysjärjestelmässä kuuluu haimanesteen erityks. Haimaneste on emäksinen ja hyvin entsyymipitoinen neste, joka pilkkoo hiilihydraatteja, proteiinia ja rasvoja.

Haima on myös umpieritysjärjestelmän rauhanen, joka erittää pääasiassa neljä hormonia: insuliinia, glukagonia, somatotatiinia ja haiman polypeptidiä. Näillä neljällä hormonilla on tärkeä rooli aineenvaihdunnassa tapahtuvan ravintoaineiden muuttamisen solukohtaiseksi energiaksi. Nämä hormonit saavat alkunsa miljoonista Langerhansin saarekkeista, jotka kattavat vain kaksi prosenttia haiman kokonaistilavuudesta.

Langerhansin sarakkeiden neljä eniten tuottamaa hormonia solutyypeittäin ovat

1. insuliini, Beta- solujen tuottama hormoni, ~ 70 % sarakkeen soluista
2. glukagoni, Alfa- solujen tuottama hormoni, ~ 20 % sarakkeen soluista
3. somatostatiini, Delta- solujen tuottama hormoni, ~ 10 % sarakkeen soluista
4. haiman polypeptidi, F- solujen tuottama hormoni, ~ 2 % sarakkeen soluista.

Insuliini ja glukagonin tehtävä on ylläpitää veren glukoositasoa eli verensokeritasoa normaalina. Somatostatiinilla on glukagonieritykseen stimuloiva vaikutus, sen on todettu myös toimivan insuliinin ja kasvuhormonin inhibiittorina. Haiman polypeptidi stimuloi hypotalamuksen nälkää säätelevää osaa ja rajoittaa somatostatiinin eritystä.



Kuva 1. Glukoosiaineenvaihdunnan säätelytekijät [1, s. 177]

Kuvassa 1 on esitetty insuliinin (In) ja glukagonin (Gl) sekä verenglukoosin välisen korrelaation. Kuvan 1 vasemman yläkulman kuvaajasta ilmenee, että haiman erittämän insuliinin määrä veressä kasvaa lineaarisesti suhteessa veren glukoosimäärään, kun taas glukagonin erityks kasvaa eksponenttiallisesti, kun verenglukoosin määrä laskee ja toisin päin. Näin käy ilmi kuvan 1 vasemman alakulman kuvaajasta.

Keskimmäisen kuvan 1 kuvaajan kohtaan Q, jossa insuliinin ja glukagonin kuvaajat kohtaavat, rajautuu glukoosiaineenvaihdunnan normaali alue. Maksa toimii tässä tapauksessa luonnollisena verenglukoosin lisääjänä, kun verenglukoositaso laskee ja munuaisten tehtävänä on suodattaa ylimääräinen verensokeri. [1, s. 142 - 143, 146 - 147, 156, 158, 168, 176 - 177.]

## 2.2 Diabetes

Maailman terveysjärjestön WHO:n mukaan vuonna 2011 tehdyssä tutkimuksessa yli 346 miljoona ihmistä maailmanlaajuisesti sairasti diabetesta, joista 10 % olivat tyypin I diabetes tapauksia. Vuoden 2004 arvioitu diabeteksestä johtuvien komplikaatioiden aiheuttama kuolleisuus maailmalla oli noin 3,4 miljoonaa. Melkein 80 % kuolemista tapahtuivat kehitysmaissa. WHO arvioi diabeetikoiden määrän kaksinkertaistuvan vuoteen 2030 mennessä. [2.]

### 2.2.1 Diabeteksen määritelmä

Nykyään glukoosiaineenvaihdunnassa esiintyvät häiriöt määritellään kahteen luokkaan: heikentyneeksi glukoosin siedoksi tai diabetekseksi. Diabetes on metaboolinen oireyhtymä, jossa ihminen kärsii kroonisesta hyperglykemiasta eli korkeasta verensokerista osana häiriintynyttä hiilihydraattien, rasvojen ja proteiinien metaboliaa. Häiriöt johtuvat vähäisestä tai puuttuvasta insuliininerityksestä haiman endokriinisessa osiossa. Epänormaalin insuliininerityksen syynä voi olla haiman toimintahäiriöiset tai tuhoutuneet Beta-solut tai niiden autoimmuunireaktio. Seuraavassa taulukossa 1 esitetään verensokerin raja-arvot kahden tunnin rasituskokeessa.

Taulukko 1. Verensokerin raja-arvot kahden tunnin rasituskokeessa [3]

	Plasmaglukooosi, mmol/l
Normaali	
0-h	< 6,1
2-h	< 7,8
IFG (Impaired Fasting Glycaemia)	
0-h	6,1 - 6,9
2-h	7,8 - 11,0
IGT (Impaired Glucose Tolerance)	
0-h	< 7,8
2-h	7,8 - 11,0
Diabetes	
0-h	7,0 tai yli
2-h	11,1 tai yli

Maailman terveysjärjestön WHO on määrittänyt Taulukon 1 mukaiset raja-arvot verensokerille. Raja-arvoja hyödynnetään verensokerin kahden tunnin rasituskokeessa, jonka mukaan plasman paastoglukoosin normaaliarvo on alle 6,1 mmol/l ja kokeen jälkeen vähemmän kuin 7,8 mmol/l. Diabeetikon arvot ovat, kun paastoglukoosi on vähintään 7,0 mmol/l, tai kahden tunnin arvo on yli 11,1 mmol/l. Jos ne jäävät normaalin ja diabeetikon arvojen välille, käytetään termiä IGT. Kun paastoglukoosi on normaalin ja diabeetikon arvojen välillä, mutta kahden tunnin glukoosi on normaali, käytetään termiä poikkeava paastoglukoosi IFG. [3.]

### 2.2.2 Diabetestyytit

Arviolta 10 % maailman diabeetikoista sairastaa 1-tyypin diabetesta. Tämä diabeteksen muoto on yleisempi lapsilla, mutta se voi myös puhjeta aikuisiällä. 1-tyypin diabeteksen aiheuttaa autoimmuunireaktio, joka tuhoaa haiman beta-soluja. Tämän takia insuliinin erityis lakkaa ennen pitkää lähes kokonaan, ja potilas tulee riippuvaiseksi ulkoisesta insuliinihoidosta. On havaittu, että beta-solujen tuhoutuminen on nopeampaa nuorella iällä. Siitä huolimatta sen yleistä nopeutta on vaikea arvioida, koska autoimmuunireaktion vaikuttaa geneettiset tekijät tai jotkin muut sairaudet, kuten haimatulehdus tai haimasyöpä. Sairauden riski periytyä potilaan lapsille on noin 4 %.

2-tyypin diabetes, jota kutsutaan myös aikuisiän diabetekseksi, on yleisin diabetestyyppi. 2-tyypin diabetesta sairastaa 90 % kaikista maailman diabeetikoista. Tämän tyypin diabetes ei osoita merkkejä beta-soluja tuhoavasta autoimmuunireaktiosta vaan sen aiheuttaa heikentynyt tai rajallinen insuliinin erityis, joka johtuu geneettisten tekijöiden lisäksi myös liikalihavuudesta, epäterveellisistä elämäntavoista ja liikunnan puutteesta. Tämän diabetestyyppin hoitokeinot voivat olla verensokeritasapainosta riippuen insuliini-injektio, oraaliset diabeteslääkkeet ja ruokavaliolla sekä liikunnalla ehkäisevä lääkkeetön diabeteshoito. Potilaan jälkeläisen sairastumisriski on 40 % ja 70 %, jos molemmat vanhemmat sairastavat 2-tyypin diabetesta. [3.]

### 2.2.3 Komplikaatiot ja niiden hoitokeinot

Pitkäaikainen altistuminen hyperglykemialle eli korkealle verensokerille kasvattaa riskiä sairastua diabeteksen moniin komplikaatioihin. Diabeteksen yleisimmät komplikaatiot ovat retinopatia, nefropatia ja neuropatia sekä näihin liittyvät muut komplikaatiot.

Diabeettinen retinopatia on verkkokalvosairaus, jossa verkkokalvon pullistuneet hiussuonet, mikroaneurysmat, aiheuttavat pysyviä silmävaurioita ja sokeutta. Ennen pitkää mikroaneurysmat repeilevät ja vuotavat punasoluja jättäen verkkokalvoon pysyviä pisteitä ja jälkiä. Laserhoitoa käytetään ehkäisemään hiussuonien pullistumista varhaisvaiheessa. Valitettavasti laserhoito ei tehoa enää sairauden myöhemmässä vaiheessa. Retinopatian ehkäisemiseksi on ylläpidettävä normoglykemiaa eli verensokeriarvon pitämistä normaalirajoissa ja on myös käytävä säännöllisesti silmäpohjien tarkastuksessa, jotta komplikaation ensioireet havaitaan tarpeeksi ajoissa.

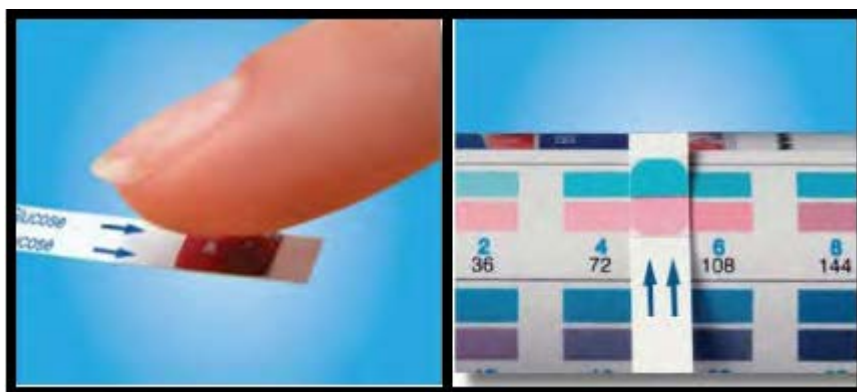
Diabeettinen nefropatia on diabeteksestä johtuva komplikaatio, jonka aiheuttaa lisääntynyt albumiinin erityis virtsassa, mikroalbuminuria. Albumiini on maksan valmistama proteiini, jonka molekyylit kuljettavat veressä tärkeitä mineraaleja ja hormoneja eri soluihin. Hoitamatta mikroalbuminuria saattaa edetä nefroottiseksi oireyhtymäksi, johon liittyy runsas proteiinin erityis virtsassa. Ennen pitkää nefroottinen oireyhtymä johtaa pysyvään munuaissairauteen, joka vaatii jatkuvaa dialyysihoitoa ja mahdollisesti munuaissiirron. Diabeettisen nefropatian yleisiin oireisiin kuuluu myös korkea verenpaine, joka aiheuttaa sydän- ja verisuonitauteja. Tämän takia yksi hoitokeinoista on verenpaineen alentaminen lääkityksellä. Tietysti normoglykemian ylläpitämisen lisäksi komplikaation ehkäisemiseksi suositetaan verenpainelääkkeitä ja glukoositasapainon parantamista sekä jaksottaista mikroalbuminurian seulontaa.

Neuropatia on diabeteksen yleisin komplikaatio, joka johtuu hyperglykemian aiheuttamista poikkeavuuksista metaboliassa eli aineenvaihdunnassa. Neuropatia tuhoaa ääreishermostoa aiheuttaen sensorisen (tuntoon vaikuttava), autonomisen (lihaksistoon ja sisäelimien toimintaan vaikuttava) ja motorisen hermoston vaurioita. Metabolisen neuropatian hoitokeino on normoglykemian palauttaminen ja eri lääkkeet, joita pääasiassa käytetään lievittämään neuropatian oireita. [3.]

### 2.3 Verensokerin seuranta nyky menetelmillä

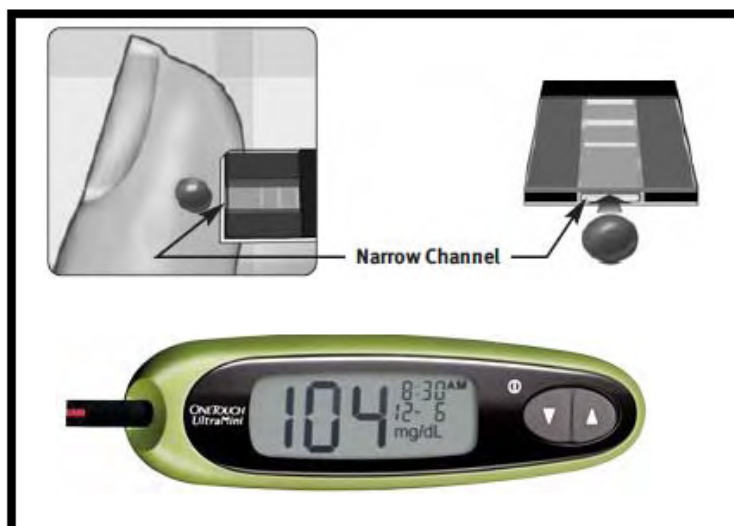
Nykyään on olemassa useita mittausmenetelmiä, joilla saadaan potilaan verensokeriarvo mitatuksi. Diabeteksen vakavuusaste määrittää usein, miten tarkka arvo menetelmällä on saatava. Tekniikoita ovat väriliuskat, entsyymi-koeliuskalla toimivat verensokerimittarit ja jatkuvat verensokerimittarit.

Väriliuskoja ja entsyymi-koeliuskoja käytetään seuraamaan verensokeria insuliinihoidotomassa 2-tyyppin diabeteksen yhteydessä. Väriliuska ei anna tarpeeksi tarkkaa lukemaa senhetkisen verensokeriarvosta, jolla voitaisiin määrittää oikea määrä insuliinia. Kuvassa 2 esitetään, miten puhkaistun sormenpään veripisara tulisi asettaa väriliuskan kohtaan, joka sisältää glukoosin kanssa reagoivaa ainetta. Kemiallinen reaktio saa aikaan liuskassa värimuutoksen, jota sitten verrataan värikarttaan, johon on taulukoituna värjä vastaavat glukoosikonsentraatiot.



Kuva 2. Verensokerin seuranta väriliuskalla [4, s. 38]

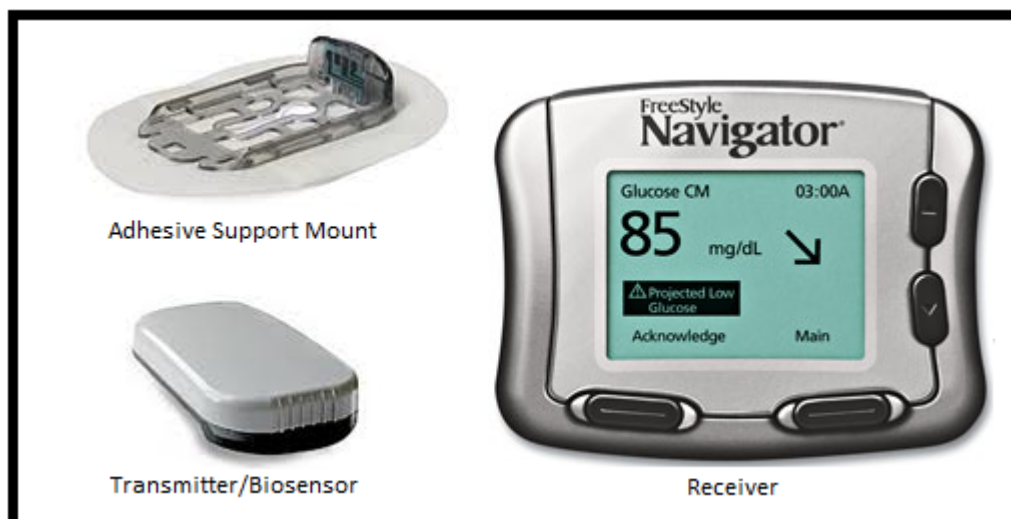
Entsyymi-koeliuskapohjaiset verensokerimittarit ovat riittävän tarkkoja potilaan insuliiniannoksen määrittämiseen. Veripisara asetetaan kuvan 3 (ks. seur. s.) osoittamalla tavalla koeliuskan päähän, josta se imeytyy kapillaari-ilmioilla bioanturiin reaktio-osaan. Mittarista riippuen näytteen koko vaihtelee 0,5 - 10 mikrolitraan ja analysointiaika 5 - 10 sekuntiin. Tällaiset verensokerimittarit ovat paristokäyttöisiä ja kooltaan erittäin pieniä. Nämä bioanturit perustuvat entsyymien ja veren glukoosin välisen kemiallisen reaktion synnyttämän virtamuunnoksen mittaamiseen vakiojännitteellä. Mittauksesta käytetään nimitystä amperometria-analyysi.



Kuva 3. Entsyymi-koeliuska ja One Touch Ultra Mini -verensokerimittari [4, s. 38]

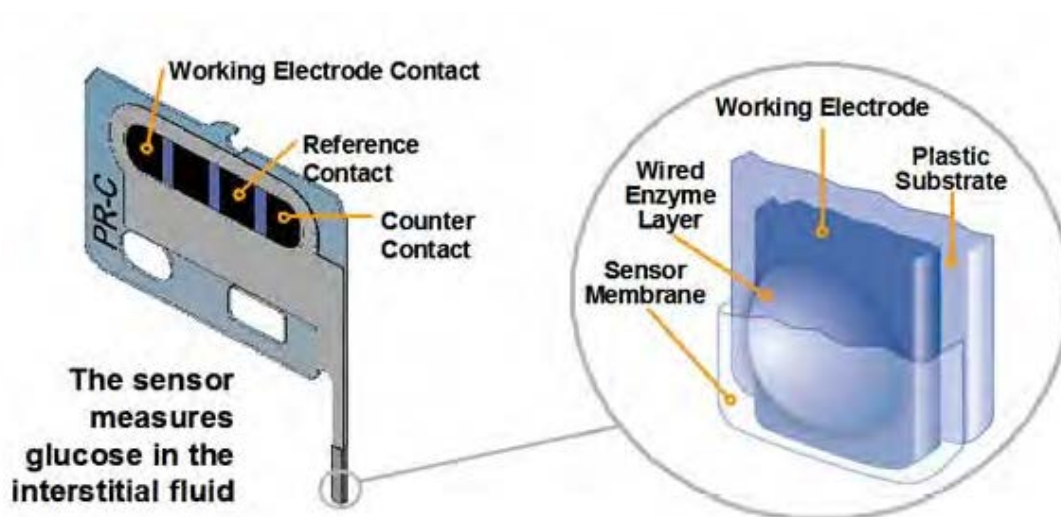
Entsyymi-koeliuska koostuu yleensä kahdesta paksukalvotekniikalla toteutetusta johtimesta. Yksi johtimista sisältää pelkistymis-hapettumisreaktiota varten yleisimmin käytettyä glukooosioksidaasi (GOx)- tai dehydrogenaasi-entsyymiä (GDH). Toisen johtimen tehtävänä on toimia mittauksen referenssijohtimena. Koeliuska on kertakäyttöinen koska pelkistymis-hapettumisreaktion jälkeen glukosin katalyyttinä toiminut entsyymi ei ole enää käyttökelpoinen. [4, s. 38.]

Entsyymi-koeliuskapohjaiset verensokerimittarit ovat olleet suuri kehitysaskel diabeteksen verenglukoosin seurannassa. Ainoa miinuspuoli on niiden rajallinen näytteenotto vuorokauden aikana esimerkiksi silloin, kun potilas nukkuu. Tämä tekee potilaan verensokerin reaaliaikaisesta seurannasta mahdottoman. Vaatiessa potilaan tarkempi verenglukoosiseuranta tapahtuu jatkuvalla verensokerimittarilla. Verensokerimittari on osa järjestelmää, johon kuuluu mittarin lisäksi lähetin ja vastaanotin. Usein järjestelmään on yhdistetty myös insuliinipumppu. Tällaisella järjestelmällä potilas voi seurata verenglukoositasonsa reaaliaikaisesti ja saada hälytyksen hyvissä ajoin ennen kuin verenglukoositasonsa lähestyy hypo- tai hyperglykemian rajaa. Jotkut mittarit tarjoavat potilaalle tarkempaa tietoa hänen verensokerin käyttäytymisestä, jota hän voi hyödyntää insuliinihoidossa. Kuvassa 4 (ks. seur. s.) esitetään Abbottin FreeStyle Navigator -järjestelmä lähettiminen ja vastaanottimeen.



Kuva 4. FreeStyle Navigator -järjestelmä jatkuvaan verensokeriseurantaan [4, s. 39]

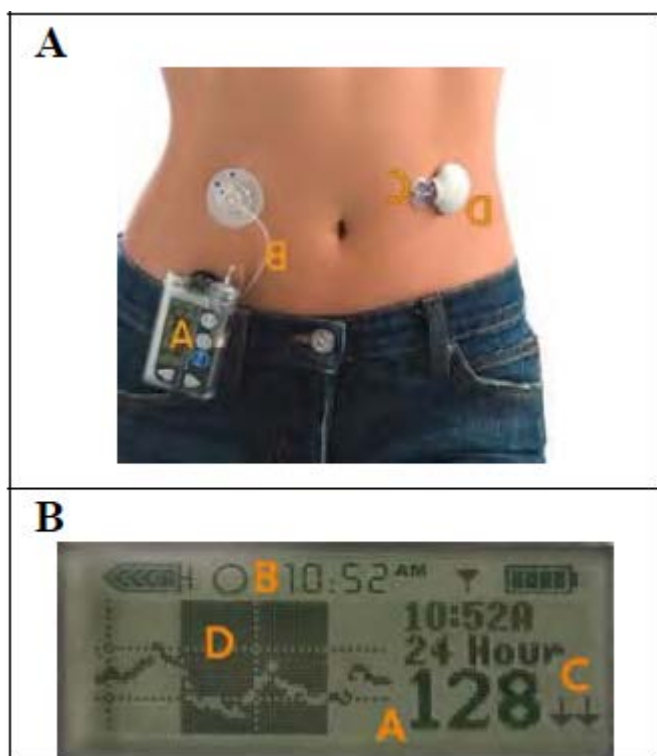
Kuvan 4 vasemmassa alakulmassa näkyvä lähetin voidaan asettaa vasemmassa yläkulmassa näkyvällä erikoisalustalla käsivarteen tai vatsaseudulle. Kun vesitiivis lähetin on liimattu ihon pinnalle, lähettimen sisäänrakennettu bioanturi upotetaan ihoon. Bioanturin sensorinen filamentti hyödyntää amperometriaa kudoksen glukoosin mittaamisessa. Anturia voidaan käyttää yhtäjaksoisesti jopa viisi päivää. Lähetin antaa vastaanottimeen langattomasti minuutin välein diskreettiaikaista tietoa potilaan verensokerin tilasta. Bioanturin rakenne esitetään seuraavassa kuvassa 5.



Kuva 5. FreeStyle Navigator -systemin bioanturi [4, s. 39]



Medtronicin MiniMed Paradigm REAL-Time Revel -järjestelmä, joka esitetään kuvassa 6, on seuraava askel kohti tekohaimaa. Järjestelmään kuuluu jatkuvan glukoosiseurannan lisäksi vastaanottimeen integroitu insuliinipumppu. Laitteella on uusi ominaisuus, joka automaattisesti keskeyttää insuliinin annostelun väliaikaisesti hypoglykemian ajaksi. Järjestelmä antaa viiden minuutin välein diskreettiaikaista tietoa potilaan glukoositasosta, jonka mukaan potilas sitten säättää insuliinipumpun annostelemaan jatkossa sopivan määrän insuliinia. Järjestelmän glukoosianturin jatkuva käyttöaika on kolme vuorokautta. [4, s. 39.]

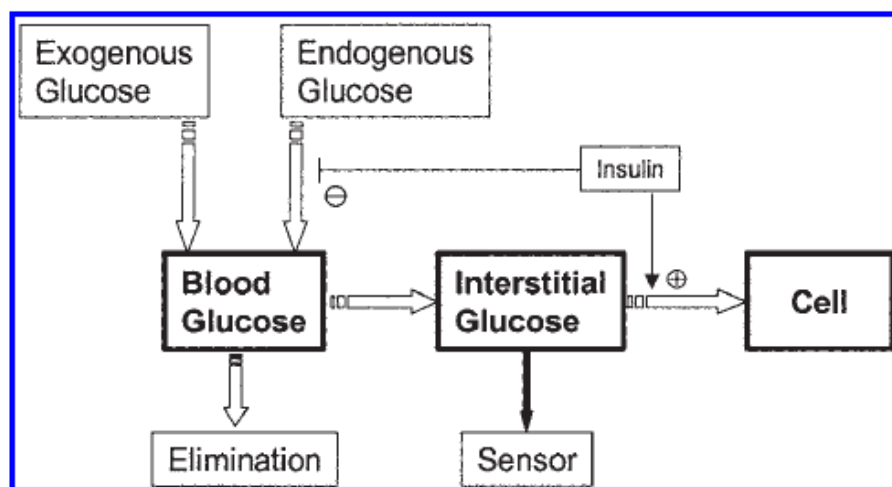


Kuva 6. MiniMed Paradigm REAL-Time Revel -järjestelmä [4, s. 39]

### 3 Ei-invasiivinen verensokerin mittaaminen

#### 3.1 Transdermaaliset mittausmenetelmät

Verensokerin transdermaalisella mittausmenetelmällä tarkoitetaan verensokerin mittaamista ihon läpi ilman sen fyysistä läpäisemistä. Transdermaalisia mittausmenetelmiä on monia: käänteinen iontoforeesi, sonoforeesi ja impedanssispektroskopia. Näillä menetelmillä pystytään määrittämään 90 - 95 %:n tarkkuudella verensokeriarvo mittaamalla kudoksen glukoosipitoisuutta. Muutokset kudoksen glukoosipitoisuudessa korreloivat veren glukoosipitoisuuden muutoksien kanssa. Tämän takia kudoksen glukoosipitoisuutta mittaava laite on erikseen kalibroitava vastaamaan veren glukoosipitoisuutta. On myös huomioitava, että insuliiniannoksen ottaminen kudoksen glukoosipitoisuuden mittauksen aikana saattaa vääristää mittauslukeman. Kuvassa 7 on mallinnettu kudoksen glukoosipitoisuuden mittaus ja insuliinin vaikutus mittauksen aikana.



Kuva 7. Kudoksen glukoosipitoisuudenmittaus [5, s. 178]

Näytteenotto kudoksesta ilman, että ihoa puhkaistaan, tuo esiin haasteita. Tämän vuoksi on hyödynnettävä ihon fysikaalisia ja sähkökemiallisia ominaisuuksia sekä niiden kanssa sovellettavia fysikaalisia ilmiöitä ja kemiallisia reaktioita. Transdermaalisissa mittausmenetelmissä hyödynnetään kudoksen pelkistämistä sähkövirralla, ultraääntä ja ihon dielektrisyden mittaamista taajuuden funktiona. [5, s. 178.]

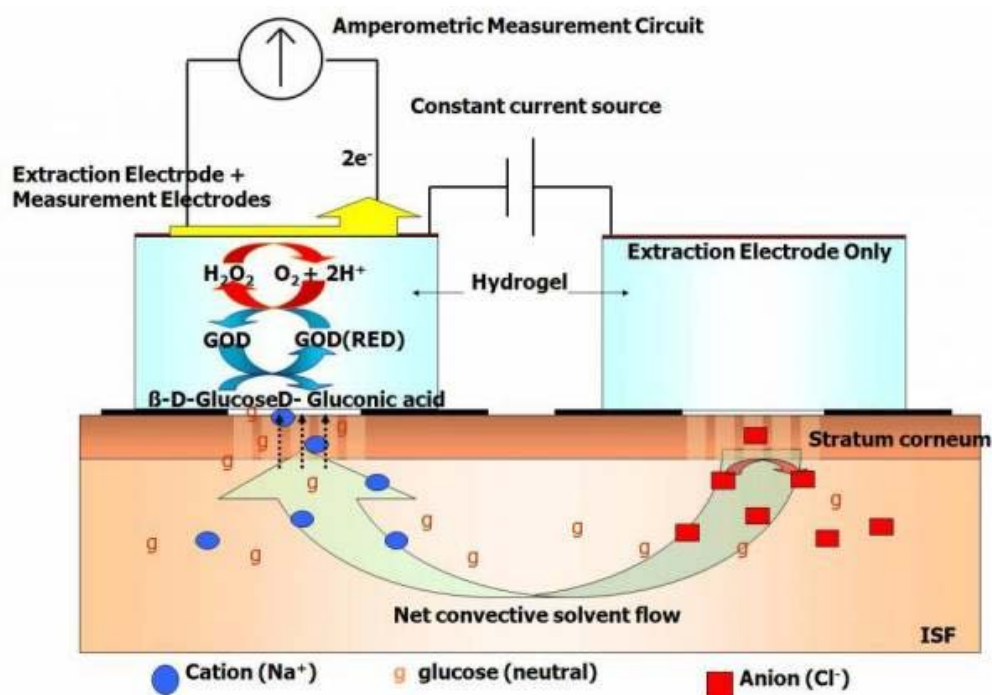
### 3.1.1 Käänteinen iontoforeesi

Iontoforeesia on käytetty vuosikymmeniä lääketeollisuudessa lääkkeiden imeyttämiseen ihon läpi ihmisen elimistöön. Ei-invasiivisessa verensokerin mittaamisessa iontoforeesia käytetään käänteiseen suuntaan. Siitä johtuu nimitys käänteinen iontoforeesi.

Käänteisen iontoforeesin avulla on mahdollista uuttaa kudospainesta pienen määrän glukosia, määrä korreloi veren glukosimäärän kanssa. Kun ihoa vasten asennetaan rinnakkain kaksi elektrodia, anodi ja katodi, niiden välisen sähkökentän synnyttämä heikkotasavirta saa ihossa aikaan elektronineutraalisuutta ylläpitävän elektronimigraation. Kun iho on negatiivisesti varautunut pH-arvon ollessa normaali, elektronivuo kuljettaa ihossa positiivisesti varautuneet natrium-kationit ja neutraalit molekyylit, kuten glukosi kohti katodia. Negatiivisesti varautuneet kloridi-anionit kulkevat päinvastaiseen suuntaan, kohti anodia. Katodille kertyneen näytteen glukosipitoisuus on tuhat kertaa pienempi kuin kudospainesta. Muutamien mikroampeerin virralla uutetun näytteen glukosikonsentraatio on moolimassaltaan (g/mol) mikrojen luokkaa. Tämä määrä on riittävän suuri glukosin mittaamiseen amperometrisellä bioanturilla, joka tarvitsee vain 50 - 200 pikomoolin näytteen. [6, s. 205.]

Kuvassa 5 (ks. seur. s.) esitetään käänteisen iontoforeesin mittaustapa. Katodin hydrogeelille kertyneet glukosimolekyylit reagoivat sen sisältämän glukosioksideasi-entsyymin (GOx) kanssa vapauttaen vetyperoksidia ( $H_2O_2$ ). Kyseessä oleva hapettumis-pelkistymisreaktio saa aikaan energiamuutoksen, joka kasvattaa bioanturin virtaa (nA). Virran muutosnopeus on lineaarinen ja suoraan verrannollinen näytteen glukosikonsentraation kanssa. Algoritmeja ja sormenpästä otetun verinäytteen kalibrointikerrointa hyödyntäen saadaan mittaustulos, joka vastaa oikeata veren glukosiarvoa. [7, s. 543.] Ihon permeabiliteetin ja selektiivisyyden kanssa käänteinen iontoforeesi muodostaa mittauksen, jolla vältetään perinteiset glukosioksideasi-entsyymin kanssa mittaamiseen liittyvät ongelmat. Näihin ongelmiin törmätään sormenpäinäytteen mittaamisessa.

Käänteisellä iontoforeesilla uutettu näyte on määrältään pieni, ja näin ollen sen hapettumis-pelkistymisreaktioon ei tarvita lainkaan happea. Iho itsessään suodattaa pois suuret molekyylimassan omaavat aineet, jotka aiheuttavat epäpuhtauksia elektrodissa, tässä tapauksessa katodissa. Anodin ansiosta negatiivisesti varautuneet aineet ohjataan pois katodista häiritsemästä bioanturin toimintaa. [5, s. 180; 8, s. 1548.]



Kuva 8. Kudosnesteen glukoosipitoisuuden mittaus käänteisen iontoforeesin avulla [9]

Hyvistä puolista huolimatta käänteisellä iontoforeesilla toimiva glukoosimittari on monimutkainen käyttää. Se vaati erillisen kalibroinnin ja pitkän uuttamisajan, ennen kuin ensimmäinen mittauslukema saadaan. Se tarjoaa myös rajallisen käyttöajan kymmenistä minuuteista kahteenkymmeneen tuntiin. Heikkovirta aiheuttaa ihonärsytystä ja liiallisen hikoilun aikana laitetta ei voi käyttää. Ajatus kivuttomasta glukoosimittarista katoaa, kun potilas joutuu ottamaan sormenpäänäytteen kalibrointia varten. [5, s. 180.]

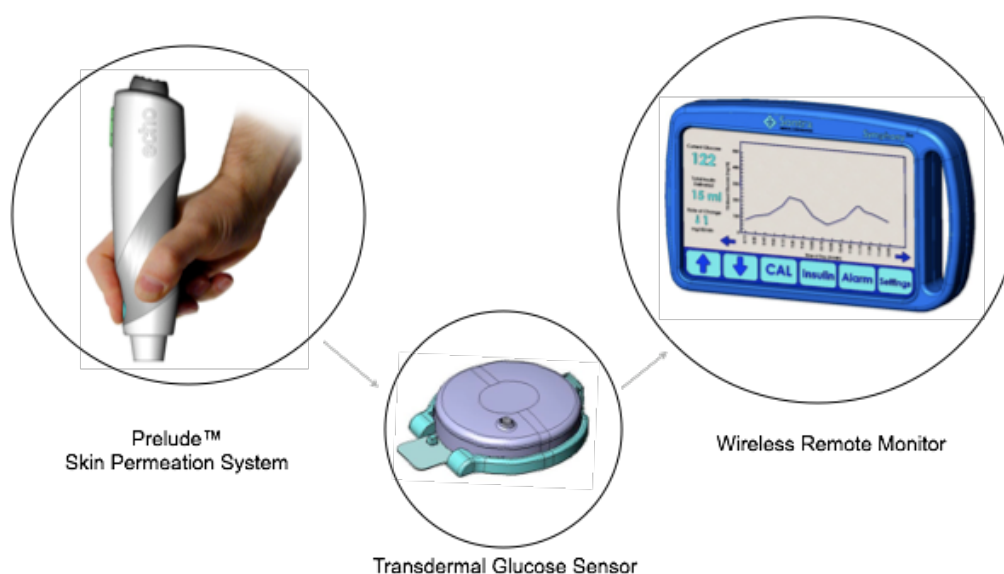
Vuonna 2003 Cygnusin julkaisema Gluco Watch oli ensimmäinen Yhdysvaltain elintarvike- ja lääkeviraston (FDA) hyväksynnän saama transdermaalinen verensokerimittari, joka hyödynsi mittauksessa käänteistä iontoforeesia. Valitettavasti Gluco Watch osoitautui epätarkaksi alle 3,3 mmol/l veren glukoosikonsentraatioille, ja se vedettiin pois markkinoilta vuonna 2008. [6, s. 205.] Uusi tulokas on transdermaalinen jatkuva Echo Therapeuticsin Symphony<sup>®</sup> tCGM System -verensokerimittari, jossa verengluukoosin mittaaminen tapahtuu käänteisellä iontoforeesilla [10].

### 3.1.2 Sonoforeesi

Sonoforeesia voidaan käyttää iontoforeesin tapaan lääkeaineiden imeyttämiseen ihon kautta elimistöön. Sonoforeesi toimii myös hyvänä uuttamismenetelmänä, jolla saadaan ihosta tuotua esiin glukoosimolekyylejä sisältävää kudospainetta. Kudospainetta sisältävä glukoosikonsentraatio mitataan amperometrisellä entsyymianturilla samalla tavalla kuin käänteisessä iontoforeesissa.

Sonoforeesissa käytetään 20 kHz:n matalataajuisia ultraääntä tehostamaan ihon läpäisevyyttä. Pitkittäisten ultraääniaaltojen aiheuttama värinä ihossa saa aikaan epidermin kaasusulkeumien purkautumisen, jolloin kudospainetta alkaa hiljalleen kulkeutua iho- huokosista pinnalle. Sonoforeesin kanssa on ennen käytetty vakuumia ihon läpäisevyyden parantamiseksi, mutta se on todettu jälkitutkimuksissa tehottomaksi. Nykyisissä tutkimuksissa on selvinnyt, että suuren osmoottisen paineen omaava karboksyylihappo eli maitohappo, yhdistettynä sonoforeesiin lisää huomattavasti kudospainetta uuttamista. [5, s. 181; 6, s. 205; 7, s. 546.]

Echo Therapeutics hyödyntää sonoforeesia Prelude<sup>®</sup> SkinPrep System -laitteessa. Laitteella tehostetaan ihon läpäisevyyttä ja kuolleiden ihosolukon neutralointia ennen varsinaista glukoosimittausta, joka tapahtuu käänteisellä iontoforeesilla. Kuvassa 9 esitetään Symphony<sup>®</sup> tCGM System -järjestelmä ja siihen kuuluvat osat: Prelude<sup>®</sup> SkinPrep System, glukoosianturi ja langaton seurantalaitte (kuten älypuhelin).

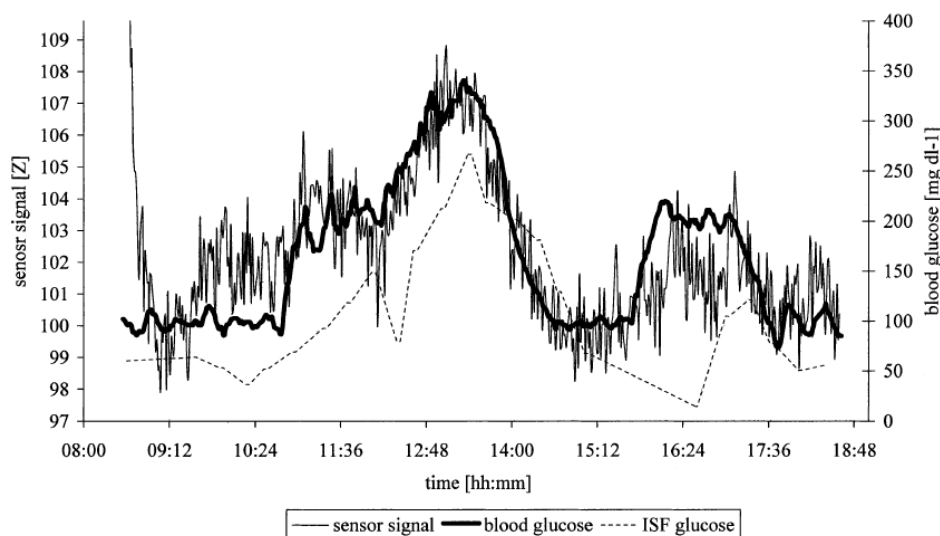


Kuva 9. Echo Therapeuticsin Symphony<sup>®</sup> tCGM System -järjestelmä [4, s. 40]

### 3.1.3 Impedanssispektroskopia

Impedanssispektroskopiolla mitataan 1 - 200 MHz:n kaistaleveydellä ja alle 0,3 V:n amplitudilla ihon ja ihonalaisen kudoksen impedanssia. Mittaus on rinnastettavissa resonanssipiiriin eli RLC-piiriin, jossa R on ihon ja ihon kudosaikkeen resistanssi, L anturin ulkoinen induktanssi ja C anturin kahden elektrodien välisen kudosaikkeen permittiivisyyden määrittämä kapasitanssi. Impedanssia mitataan 0.1 MHz:n välein useita kertoja tarkan lopputuloksen saavuttamiseksi. Taajuusalueen yli mitatun spektrin itseisarvo korreloi ihon suonikerroksessa vallitsevan glukoosikonsentraation kanssa.

Vuonna 2003 CE-merkinnän saanut Pendragon Medicalin Pendra-rannemittari oli ensimmäinen impedanssispektroskopiaan perustuva glukoosimittari. Mittari pystyi laskemaan minuutin välein ihon impedanssia vastaavan glukoosiarvon 96.8 - 99.1 % tarkkuudella neljän vuorokauden ajan. Mittarilla mitattu 0.5 - 0.8  $\Omega$ :n muutos vastasi 1 mmol/l:n muutosta. Kuvassa 10 verrataan Pendra-rannemittarin kahdeksan tunnin glukoosinäytettä kudospeste- ja verinäytteeseen.

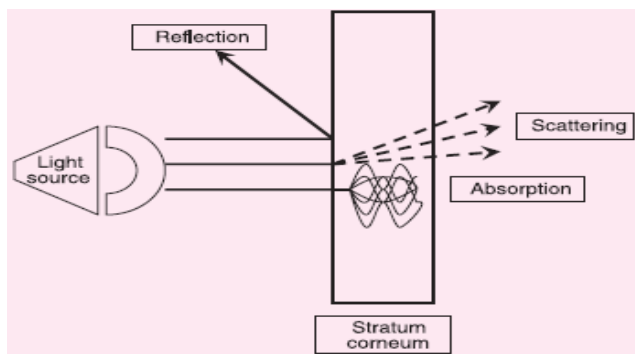


Kuva 10. Pendra-rannemittarin näytteen (sensor signal) ja kudospeste- (ISF glucose) sekä verinäytteen (blood glucose) korrelaatio [11, s. 214]

Jälkitutkimuksissa selvisi, että Pendra-rannemittarin tarkkuutta huononsivat ihon ja ihonalaisen kudoksen dielektrisyysominaisuuksiin vaikuttavat tekijät kuten lämpötila, hien erityis ja liikkuminen sekä diabeteksen tila. Tämän takia mittari ei soveltunut jokaisen diabeetikon käyttöön, ja asiakaskunta suppeni. Vuonna 2005 Pendragon Medical suljettiin ja Pendra-rannemittari vedettiin pois markkinoilta. [5, s. 191 - 192; 11, s. 209 - 216.]

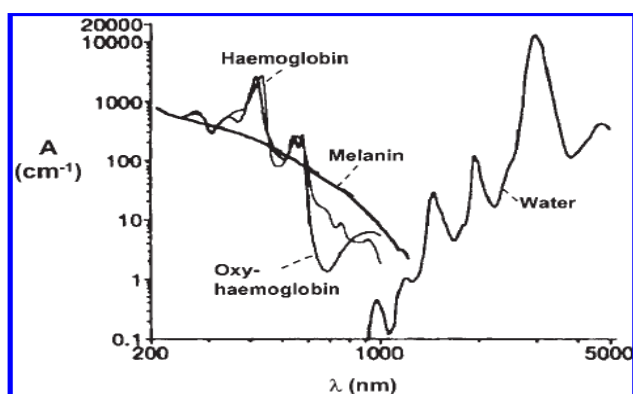
### 3.2 Optiset mittausmenetelmät

Optisissa mittausmenetelmissä käytetään valoa verengluukoosin selvittämiseksi ihosta, suun limakalvosta, sarveiskalvosta, kielestä ja tärykalvosta. Optisen mittausmenetelmän pääperiaate on mitata kudoksen aiheuttaman valon intensiteetin vaimenemista. Vaimeneminen johtuu valon heijastumisen lisäksi sironnasta ja absorptiosta, jotka tapahtuvat, kun fotonit kohtaavat saman aallonpituuden omaavat molekyylit kudoksessa. Tilannetta mallinnetaan kuvassa 11.



Kuva 11. Valon ja kudoksen vuorovaikutus [6, s. 201]

Mittauksissa hyödynnetään aallonpituusalueita 600 - 1 300 nanometriä, jota kutsutaan *optiseksi ikkunaksi*. Tämän alueen sisäpuolella valoa absorboivat vain hemoglobiini- ja melaniinimolekyylit. Tilannetta kuvataan kuvassa 12.



Kuva 12. Ihon valoa absorboivat molekyylit *optisen ikkunan* sisäpuolella [5, s. 178]

Kehitteellä olevia verensokerin optisia mittausmenetelmiä ovat NIR- ja MIR -spektroskopia, lämpösäteily, Raman-spektroskopia, polarimetria, optinen koherenssi-tomografia, okklusiospektroskopia, fotoakustinen spektroskopia ja fluoresenssi. [5, s. 177 - 178; 7, s. 542 - 543.]

### 3.2.1 MIR- ja NIR -spektroskopia

MIR-spektroskopia eli keski-infrapunasäteilyn absorptiospektroskopia on mittaussuomenelmä, jossa mitataan keski-infrapunasäteen intensiteettiä ennen ja jälkeen vuorovaikutuksen materian kanssa. Keski-infrapunasäteen aallonpituusalue on 2.5 - 50 mikrometriä. MIR-spektroskopiaa käytetään lääke- ja laboratoriotieteellisyydessä veren- ja neste-glukoosikonsentraation määrittämiseksi *in vitro* -tutkimusmenetelmän avulla (eli lasissa tai koeputkessa). Koeputkessa mittaamista häiritsee huomattavasti vesimolekyylien suuri absorptiokerroin.

Keski-infrapunavalolla on pieni tunkeutumissyvyys ihokudoksessa, mikä tarkoittaa sitä, että sillä on mahdollista mitata vain ihon pinnassa olevia pitoisuuksia. Huonon penetraatiokyvyn takia MIR-spektroskopia ei ole ollut yhtä suosittu tutkimiskohde kuin NIR-spektroskopia eli lähi-infrapunasäteilyn absorptiospektroskopia. NIR-spektroskopialla päästään mittaamaan syvemmälle ihoon aina ihonalaiseen kudokseen saakka.

NIR-valon aallonpituusalue (0.7 - 1.4  $\mu\text{m}$ ) mahdollistaa 90 - 95 % ihon läpäisevyyden kudokseen, jossa ihon pigmentin melaniinimolekyylit eivät absorboi enää valoa. NIR-valon absorptio määrä riippuu molekyylien (hemoglobiini ja vesi) rakenteesta. Glukoosin absorptiopiikit ovat NIR-valon aallonpituusalueella pieniä ja niiden perusteella glukoosikonsentraation mittaaminen valon spektrin, välittymisen ja heijastumisen avulla vaatii monimutkaista analyysia.

NIR-spektroskopialla glukoosikonsentraation määrittäminen voi tapahtua lähi-infrapunasäteiden absorptio mittaamisen lisäksi myös säteen sironnan mittaamisella. Sironna ei ole riippuvainen tietystä aallonpituudesta, koska valo kulkeutuu kudoksen läpi signaalin intensiteetin havainnollistavalle osapuolelle. Sironnan haittapuoli on, että se aiheuttaa kohinaa ja huonontaa NIR-signaalia, joka vaikuttaa spektroskooppiseen mittaamiseen. Sironnan mittaamiseen vaikuttaa kudoksen hydraatio, verenkierto, lämpötila ja muut metaboliitit.

NIR-spektroskopian haasteellisin tehtävä erotella eri solujen välisiä ja ihon eri kerroksissa vallitsevat glukoosikonsentraatiot toisistaan oikean glukoosiarvon mittaamiseksi. NIR-spektroskopialla on mitattu onnistuneesti ihmisen verensokeria suun limakalvosta ja kielestä.



Suuseudun mittauksissa on huomioitava syljen sisältämä glukoosi, joka saattaa vaikuttaa mittaukseen. NIR-spektroskopian yksi häiriötekijä muiden lisäksi on potilaan rasvakudoksen määrä, mikä on täysin yksilöllistä.

Cybiocare Inc on julkaissut NIR-teknologialla toimivan Photonic Glucose Sensor -verensokerimittarin, joka laskee valon heijastuskulman perusteella kudoksen glukoosikonsentraation. Heijastuskulman suuruus korreloi positiivisesti glukoosimolekyylien määrän kanssa. Photonic Glucose sensor -mittari asetetaan pannalla käsivarteen. Laite mittaa viiden minuutin välein potilaan verensokerin 30 tunnin ajan. Cybiocare tarjoaa sovelluksen iPhone-älypuhelimelle, jolla potilas voi seurata reaaliaikaisesti verensokeritilaansa. [6, s. 201 - 202; 12. ]

### 3.2.2 Lämpöemission spektroskopia

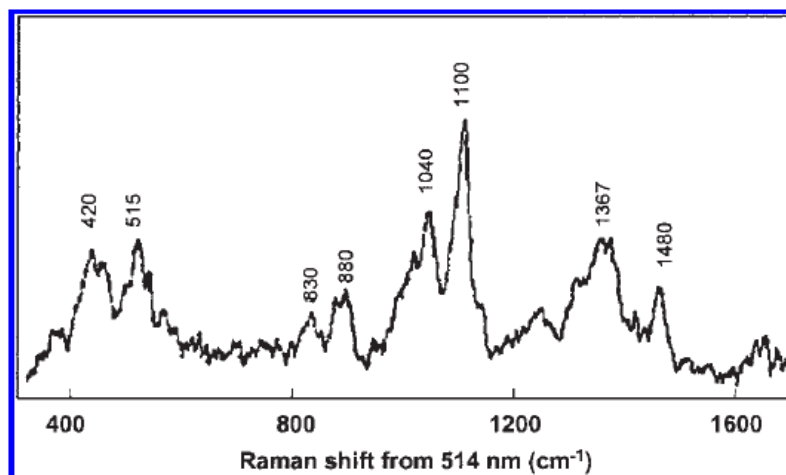
Lämpöemission spektroskopiassa glukoosipitoisuutta mitataan ihon ja limakalvon mikroverenkierron generoimasta infrapunasäteilystä. Menetelmässä määritetään MIR-valon sironnan voimakkuutta kudoksen eri syvyyksissä lämpötilan pysyessä vakiona. Mitattu sironnan voimakkuus korreloi kudoksen glukoosikonsentraation kanssa.

Mittauksen lämpöriippuvuuden takia uusi mittauskohde ihon sijaan on potilaan tärykalvo. Tärykalvon lämpötila pysyy lähes vakiona ja on suojassa korvakäytävän perällä lämpötilaan vaikuttavilta tekijöiltä, kuten ulkoilman lämpötilalta. Tärykalvon pinta on myös ohut, joten infrapunasäteen ei tarvitse kulkeutua yhtä syväälle elimeen kuin ihossa tai limakalvossa. Yksi kehitteellä oleva ei-invasiivinen verensokerimittari, joka toimii lämpöemission spektroskopialla käyttää samaa toimintaperiaatetta kuin korvalämpömittarit. Glukoosikonsentraation havaitsemiseksi sovellukseen on lisätty aallonpituudet 9.8 $\mu\text{m}$  ja 10.9 $\mu\text{m}$ . Tutkimukset ovat osoittaneet lämpöemission spektroskopialla mitatun glukoosin korreloivan hyvin plasmasta mitatun verenglukoosin kanssa. Mittauksen aikana on huomioitava ulkolämpötilan lisäksi potilaan liikkuminen, joka aiheuttaa lämpötilamuutosta. [6, s. 202 - 203; 7, s. 546.]

### 3.2.3 Raman-spektroskopia

Raman-spektroskopia perustuu fotoneiden epäelastisen sironnan aiheuttaman energiamuutoksen mittaamiseen näytteessä. Monokromaattinen valo (eli yhden aallonpituuden omaava valo) muuttaa glukoosimolekyylien värähtelytilaa. Muutos saa aikaan sironnan, jota kutsutaan Raman-sironnaksi. Raman-sirontaa tutkitaan spektroskooppisesti sen synnyttämän spektrin avulla. Spektri koostuu siirtymistä, jotka ovat näytteeseen kohdistuneen monokromaattisen valon ja Raman-sironnan välisiä energiaeroja. Kuvassa 13 (ks. seur. s.) esitetään Raman-spektri ja sen sisältämät siirtymät, jotka kertovat glukoosimolekyylien määrän silmän etukammion näytteessä.

Verrattuna NIR- ja MIR -spektroskopiaan, on Raman-spektroskopian etuna pieni yhteisvaikutus vesimolekyylien kanssa. Tästä huolimatta Raman-signaali on heikompi verrattuna muihin teknologioihin ja vaatii herkemmän anturin signaalin mittaamiseen. Raman-signaali on myös herkkä ihon paksuudelle, melaniinille, sameudelle ja punasolujen määrälle.



Kuva 13. Silmän etukammion glukoosikonsentraation Raman-spektri [5, s. 187]

Light Touch Medical kehittää parhaillaan Raman-spektroskopiaan perustuvaa ei-invasiivista verensokerimittaria, joka on kooltaan kannettava ja tulee potilaan henkilökohtaiseen käyttöön. Yritys patentoi kyseisen verensokerimittarin jo vuonna 1999 ja laitteelle on kertynyt runsaasti kehitysvuosia. Näyte otetaan ei-invasiivisesti sormen kynnestä ja arvon kerrotaan olevan yhtä tarkka kuin invasiivisella entsyymi-koeliuskapohjaisella verensokerimittarilla. [6, s. 203; 7, s. 545 - 546; 8, s. 1545 - 1546; 13.]

### 3.2.4 Fotoakustinen spektroskopia

Fotoakustinen spektroskopia perustuu kudokseen absorboituneen valon synnyttämien ultraääniaaltojen mittaamiseen. Kudokseen kohdistettu valo (*laser*) tietyllä aallonpituudella synnyttää värähtelyliikettä molekyylisidoksissa ja kudoksesta alkaa lämmetä. Lämpö saa aikaan kudoksessa lämpölaajenemista, joka synnyttää ultraääniaaltoja. Ultraääniaaltoja kutsutaan fotoakustisen ilmiön mukaan fotoakustisiksi signaaleiksi ja niiden havaitsemiseksi käytetään pietsosähköistä anturia. Signaalien intensiteetin suuruus anturin päässä riippuu kudoksen glukoosikonsentraation suuruudesta. Glukoosikonsentraation lisääntyminen vähentää lämpölaajenemista ja nopeuttaa signaalien syntymistä. Näitä nopeuden muutoksia mitatessa saadaan määriteltyä kudoksen glukoosikonsentraation suuruus.

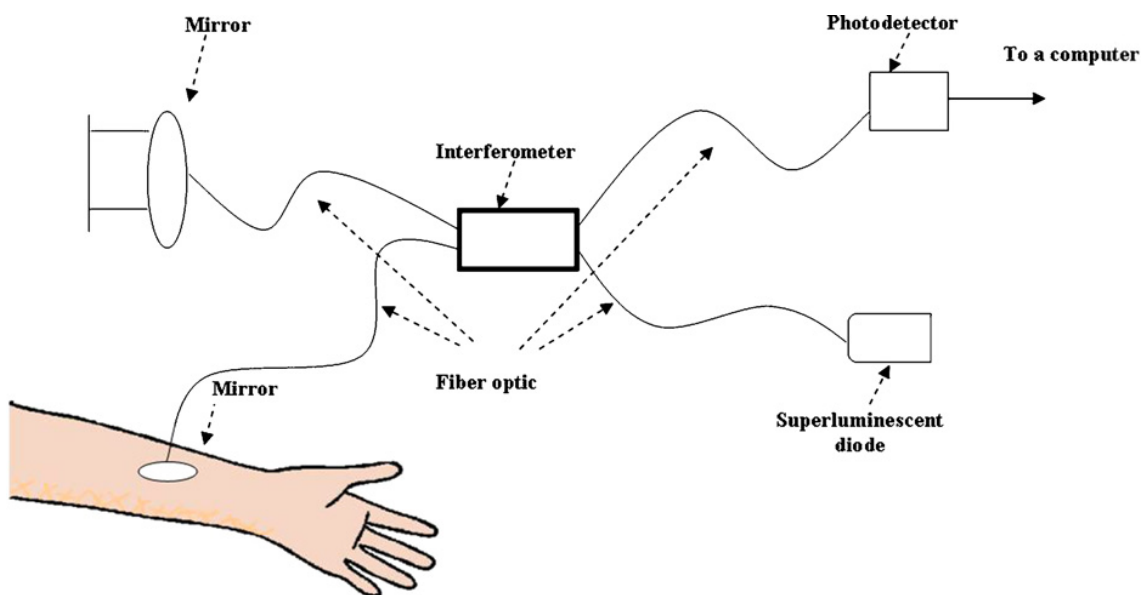
Glucon Inc on kehittänyt Aprise nimisen ei-invasiivisen verensokerimittarin, jonka mittaaminen perustuu fotoakustiseen spektroskopiaan. Laite tarjoaa potilaalle mahdollisuuden saada tietoa kolmen sekunnin välein hänen verensokerin tilasta. Valitettavasti vuoden 2008 kliinisen tutkimuksen jälkeen, Aprise -verensokerimittarista ei ole tiedotettu lainkaan. [5, s.190 - 191; 6, s. 203 - 204; 7, s. 544.]

### 3.2.5 Optinen koherenssitomografia

Optinen koherenssitomografia on kehitetty alun perin silmäpohjan kuvantamiseen. Tämä ei-invasiivinen mittaaminen käyttää pienitehoista koherenttia valoa eli laser-valoa, interferometriä ja fotodetektoria. Interferometrin tehtävä on yhdistää kahden eri lähteen valoallot yhdeksi valoksi ja fotodetektorin tehtävä on mitata valojen interferenssiä.

Optista koherenssitomografiaa hyödyntämällä on myös tutkitusti saatu verensokeriarvo määritetyksi ihon kudostesteistä. Kudostesteistä mitatut glukoosiarvot on mitattu koehenkilön käsivarresta. Mittauksessa laser-valo kohdistetaan käsivarteeseen. Kudoksesta takaisin heijastuvan valon ja interferometrin referenssivalon välistä interferenssiä mitataan fotodetektorilla, joka on kytketty tietokonejärjestelmän spektrianalysointioskillosooppiin. Tilannetta mallinnetaan seuraavan sivun kuvassa 14.

Takaisin heijastuvan valon voimakkuus on suoraan verrannollinen kudoksen glukoosimolekyylien määrän kanssa. Mikäli glukoosimolekyylien määrä kudoksenteessä on pieni, kohdistuva valo pääsee siromaan ja takaisin heijastuva valo jää voimakkuudeltaan pieneksi. Tätä tekniikkaa käyttämällä saadaan mitatuksi kudoksen glukoosikonsentraatio.



Kuva 14. Kudoksen glukoosimittaus optisella koherenssitomografialla [14, s. 21]

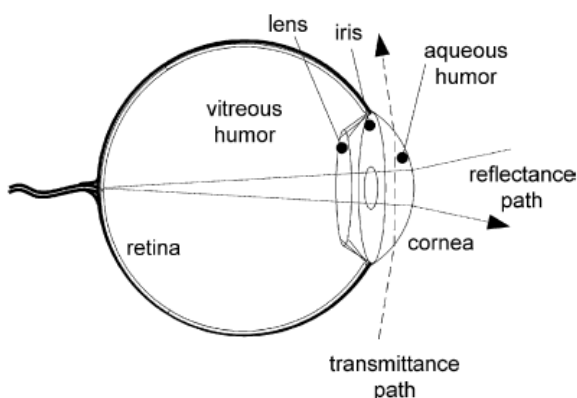
Laboratoriotutkimukset ovat osoittaneet optisen koherenssitomografian toimivaksi glukoosikonsentraation mittaamenetelmäksi kudoksesta, täten potentiaaliseksi tavaksi monitoroida verensokeria tulevaisuudessa. Mittausmenetelmällä on monia etuja muita optisia mittaamenetelmiä nähden. Koherenttivalosta johtuva hyvä penetraatiosyvyys ja suhteellisen hyvä häiriönsieto kudoksen muille aineyhdisteille, kuten urealle, natrium- ja kaliumkloridille. Myös potilaan pulssi ja verenpaine, sekä alle asteen lämpötilamuutokset ihosta eivät aiheuta merkittäviä muutoksia mittauksessa. Huonoja puolia ovat muiden optisten mittaamenetelmien tapaan, herkkyys liikkeelle ja kudoksen heterogeenisyydelle. On myös huomioitava kudoksen glukoosin ja veren glukoosin välinen viive, joka voi olla useita kymmeniä minuutteja. Mittauslaitteiston yksinkertaistaminen ja kompaktiksi saaminen on otettava tulevaisuudessa myös huomioon. [5, s.190 - 191; 6, s. 203 - 204; 7, s. 544.]

### 3.2.6 Polarimetria

Polarimetriaa käytetään lääketieteessä mittaamaan näytteestä eri yhdisteiden pitoisuuksia. Polarimetriassa tutkitaan aineen optista aktiivisuutta, joka saa lineaarisesti polarisoituneen valon kiertymään kulkiessaan aineen läpi. Valon kiertymisasteen suuruus riippuu aineen paksuudesta, lämpötilasta, pH-arvosta ja konsentraatiosta, sekä valon aallonpituudesta.

Polarimetrian käyttäminen ei-invasiivisessa glukoosiseurannassa on muiden optisten mittausten tapaan vasta tutkimusvaiheessa. Tutkimukset ovat osoittaneet, että menetelmällä ei ole mahdollista mitata tarkkaan kudoksen glukoosipitoisuuksia, sillä valo joutuu kulkeutumaan pitkän matkan ihossa, jonka aikana valo törmää kudoksen eri yhdisteiden molekyyleihin ja siroa tai polarisoituu kokonaan. Sironnan voimakkuus riippuu aineen sirontakertoimesta, joka on jokaiselle aineelle ominainen. Tämän takia tutkimuksen kohteena on glukoosin mittaaminen silmän kammionesteestä, joka tarjoaa vapaan optisen pääsyn mitattavaan aineosaan. Myös kammionesteen glukoosipitoisuuden kerrotaan olevan vain alle 5 minuuttia jäljessä veren glukoosipitoisuudesta.

Optisen aktiivisuuden oppien mukaan ihmisen silmän etukammion leveys, joka on keskimäärin 1 cm, pitäisi antaa 4.562 milliasteen kiertymän kun sen läpi kulkeutuu 633nm laservalo glukoosipitoisuuden ollessa normaali (5.55mmol/l). Etukammion läpi tai suoraan edestäpäin, jolloin valo heijastuu silmäpohjasta takaisin, kuten kuvassa 15 esitetään.

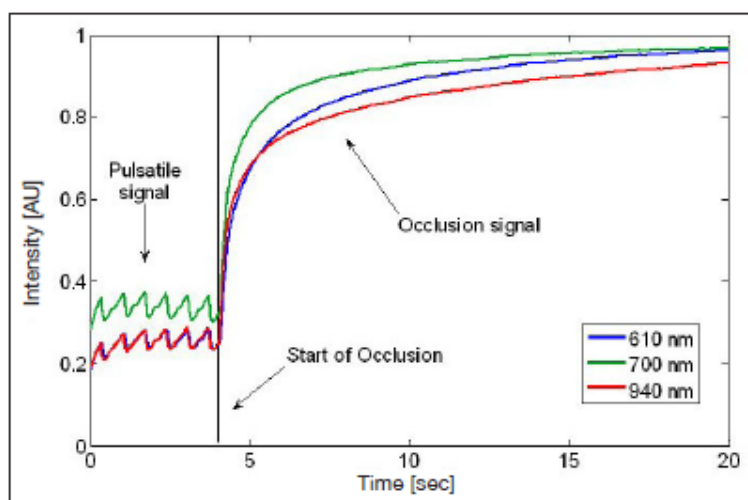


Kuva 15. Valosuunnat kammionesteen polarimetrisessä glukoosimittauksessa [7, s. 555]

Polarimetrian meriittejä ovat pienet lämpötila- ja pH-vaihtelut kammionesteessä, koska ne minimoivat valon kulkusuunnan muuttumista ja kiertymistä väärään suuntaan. Pienet vaihtelut johtuvat pienistä määristä mittausta häiritseviä aineyhdisteitä (urea, natrium- ja kaliumkloridi), sillä kammioneste sisältää veden lisäksi sarveiskalvolle tarkoitettuja aminohappoja ja glukoosia. Rajoittaviksi tekijöiksi nousevat optisten mittaustelmien perinteiset ongelmat, kuten liikeherkkyys ja optinen kohina, sekä tietysti turvallisuusriskit kun silmään kohdistetaan laservaloa. Muun muassa pienet kulmamuuutokset ovat osoittautuneet hankaliksi havaita perinteisellä Faradayn rotaattorilla, jota on tutkimuksissa jouduttu muokkaamaan tarkkuuden parantamiseksi. Laitteiston tarkkuuden parannuksilla on päästy 0.55mmol/l resoluutioon, joka valitettavasti ei ole riittävän tarkka verengluukoosin määrittämiseksi insuliinihoidossa. [5, s. 188 - 189; 7, s. 544 - 555.]

### 3.2.7 Okklusiospektroskopia

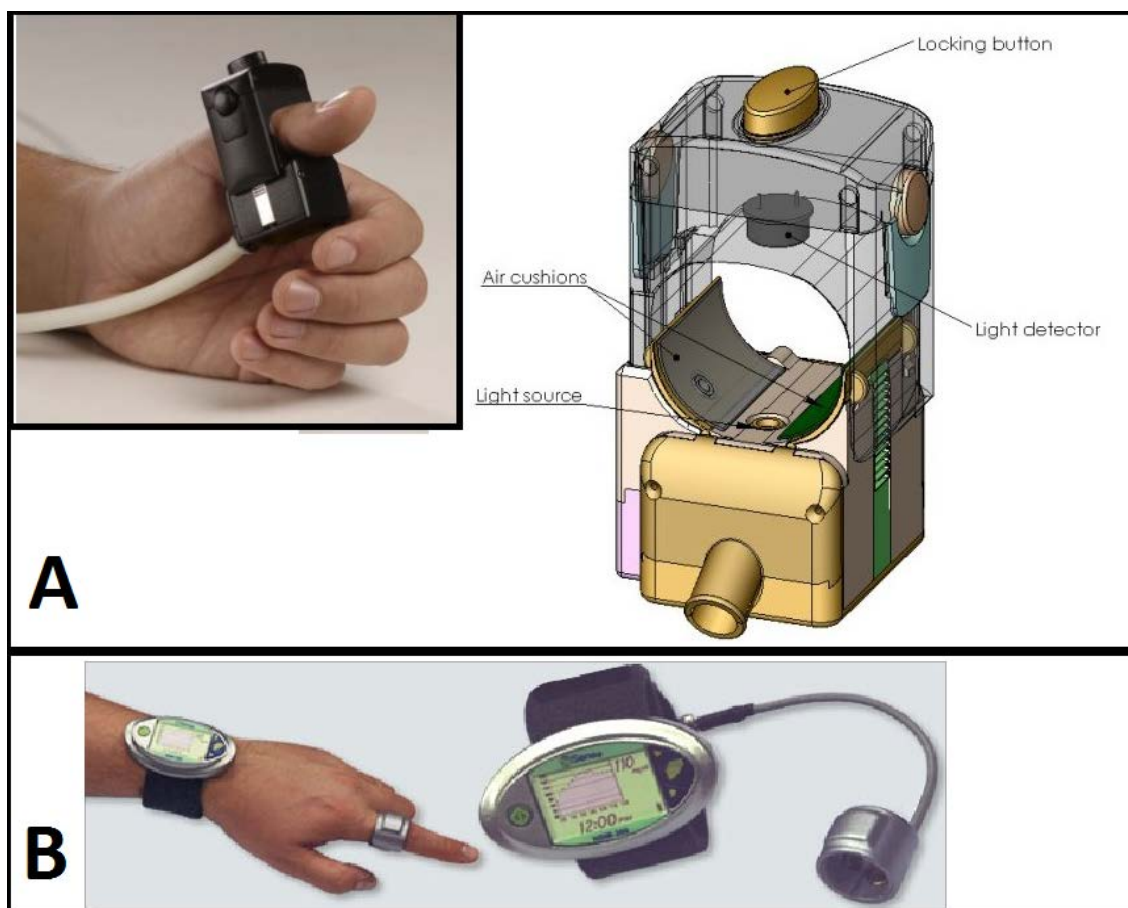
Okklusiospektroskopiassa mitataan valon läpäisevyyttä aineen läpi ja aineessa olevien eri molekyylien vaikutusta valon sirontaan. Okklusiospektroskopiassa käytetään painetta ja verenkierron omaa pulssia kontrolloimaan verenkiertoa sormeen. Siitä johtuu nimitys okklusio, joka tarkoittaa tukkeumaa. Tutkimuksissa on selvinnyt, että ryhmitämällä veren punasolut saadaan parempi valon läpäisevyys, koska partikkeleiden määrä veressä kasvaa ja valo ei pääse siromaamaan. Tutkimalla punasolujen läpi valon intensiteettiä tietyillä aallonpituuksilla saadaan myös tietää veren glukoosipitoisuus. Kuvassa 16 esitetään okklusion vaikutus läpäisevän valon intensiteettiin.



Kuva 16. Valon intensiteetin muutos okklusiopulssin aikana [15, s. 465]

Okklusiospektroskopian etuna muihin optisiin menetelmiin nähden on verengluukoosin reaaliaikainen tiedonsaanti suoraan verestä, eikä kudosta tai kammionesteestä. Näin välttyään ikäviltä viiveiltä, jotka vaikeuttavat verengluukoosin määrittämistä. Menetelmän haittatekijöitä ovat rasvahappojen lisäksi lääkkeet, jotka sisältävät verenhiyytymistä estäviä ainesosia.

Israelilainen terveyden huoltolaitteiden valmistaja OrSense Ltd on onnistunut kehittämään okklusiospektroskopiaan perustuvan ei-invasiivisen NBM200 nimisen laitteen, jolla voidaan tarkasti monitoroida veren hemoglobiinia ja pulssia. Laite täyttää sitä koskevien EU:n direktiivien vaatimukset ja sitä käytetään sairaaloissa ympäri maailmaa anemian seulontalaitteena. OrSense Ltd kehittää parhaillaan toisen sukupolven ei-invasiivista mittaria, joka tulee mittaamaan myös verensokeria. Kuvassa 17 esitetään NBM200 laitteen ei-invasiivinen anturi ja OrSense Ltd. tulevaisuuden verensokerimittari. [5, s. 190; 14, s. 463 - 469.]



Kuva 17. NBM200 laitteessa käytettävä anturi (A) koostuu valolähteestä, fotodetektorista ja ilmatyynyistä, joilla okklusio saadaan aikaan. OrSense Ltd toisen sukupolven ei-invasiivinen verensokerimittari (B) [15, s. 465; 16]

### 3.2.8 Fluoresenssispektroskopia

Fluoresenssispektroskopia on optinen mittausmenetelmä, joka hyödyntää fluoresenssi-ilmiötä määrittämään tutkittavan aineen eri pitoisuuksia. Fluoresenssi on valoilmiö, joka syntyy siitä kun aineen molekyylit absorboivat ympäröivän valon fotoneja itseensä ja tietyn ajan kuluttua alkavat emittoimaan niitä eli aine alkaa hohtaa. Eri aineet absorboivat ja emittoivat valoa eri aallonpituuksilla kuin toiset. Emittoivan valon intensiteetti on suoraan verrannollinen aineen molekyylimäärän kanssa, jota pystytään analysoimaan spektrianalysaattorilla.

Tutkimuksissa on selvinnyt, että ultraviolettivalo (308nm) saa glukoosiliuoksessa aikaan fluoresenssi-ilmiön. Ilmiö on havaittavissa aallonpituuksilla 340nm, 380nm ja 400nm. Viimeaikaisissa tutkimuksissa on käytetty sinistä valoa glukoosimolekyylien fluoresenssin generoimiseksi kudoksessa. Tutkijoiden uusin fluoresenssin sovelluskohde on glukoosia sisältävä kyynelneste. Kehitteellä on piilolinssi, jonka sisältämät boorihapon johdannaiset saavat aikaan käänteisen reaktion kovalenttisissa sidoksissa, kuten glukoosimolekyyleissä ja alkavat hohtaa kun niitä valaistaan laser-valolla. Glukoosipitoisuuden määrittäminen tapahtuu spektroskoopilla mittaamalla hohtavan valon intensiteettiä. Ongelmaksi nousee kyynelnesteen glukoosipitoisuuden viive suhteessa verenglukoosiin, joka voi olla jopa 30 minuuttia.

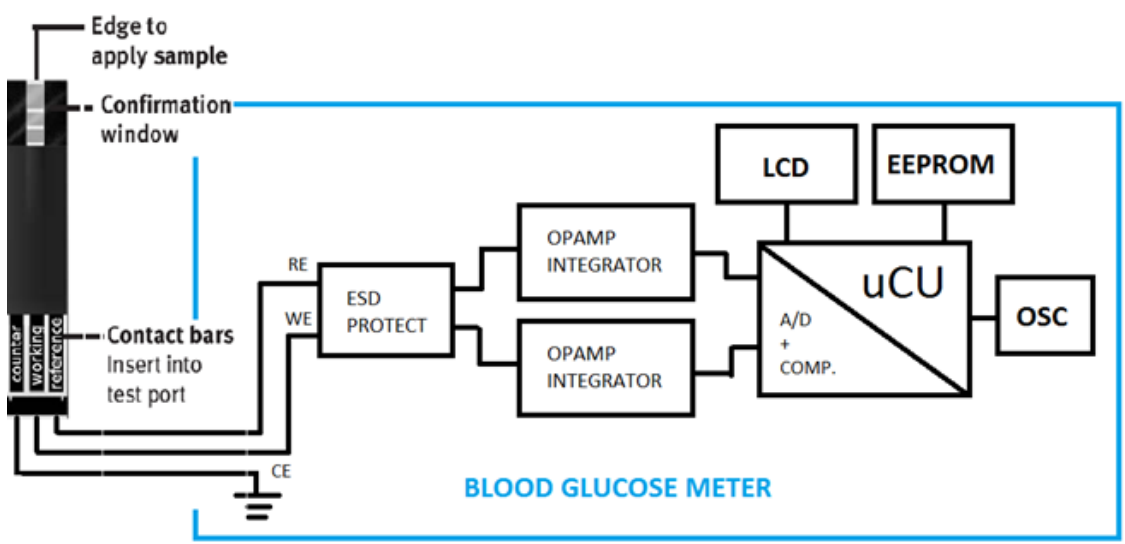
VeraLight Inc yrityksen SCOUT DS systeemi on ensimmäinen fluoresenssispektroskopiaan perustuva ei-invasiivinen verensokerimittari. SCOUT DS täyttää kaikki sitä koskevat EU:n direktiivit ja standardit Pohjois-Amerikassa. SCOUT DS systeemi on käytössä diabetes-seulonnessa ympäri maailmaa. Laite ottaa käsivarresta 80 sekuntia kestävästä näytteen ja antaa tarvittavan informaation diagnosointia varten. Hyvät puolet ovat ne, että laite on ei-invasiivinen ja että ei tarvitse paastota ennen seulontaa niin kuin normaalisti. Valitettavasti laitetta ei voida käyttää tyypin 1 diabeteksessä. [14, s.24 - 25; 17.]



#### 4 Verensokerimittarin anturin sähköinen toiminta

Kappaleessa 2.3 käsiteltiin verensokerin tämänhetkisiä mittausmenetelmiä. Insinööri-työn yksi tarkoitus oli tutkia tarkemmin kaupallisia invasiivisia menetelmiä niiden edelleenkehittämiseksi ja nykyratkaisujen selville saamiseksi. Tämä syystä että elektroniikan laboratorio on ollut kiinnostunut verensokerimittauksista keinohaimaa varten.

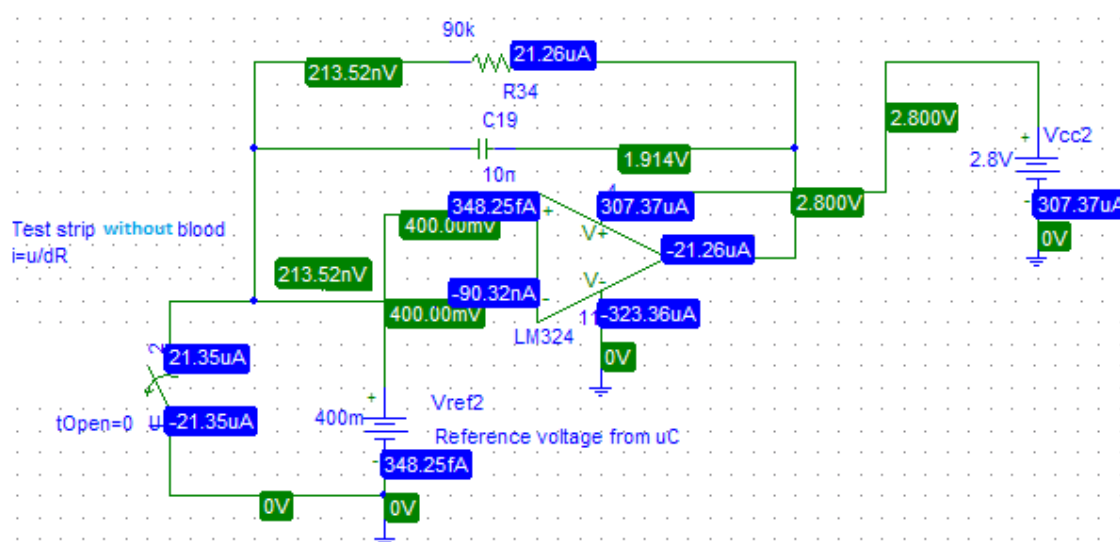
Työssä avattiin ja tutkittiin eräs kolmella elektrodilla toimiva ja entsyymiliuskaan perustuva verensokerimittari. Tällaisen mittarin bioanturi mittaa entsyymin ja glukoosin välisen hapettumis-pelkistymisreaktion synnyttämää virtamuutosta ajan funktiona. Mittauksesta käytetään nimitystä amperometria (ks. 2.3 Verensokerin seuranta nykymenetelmillä). Verensokerimittarin lohkokaavio esitetään kuvassa 18.



Kuva 18. Tutkittavan verensokerimittarin lohkokaavio

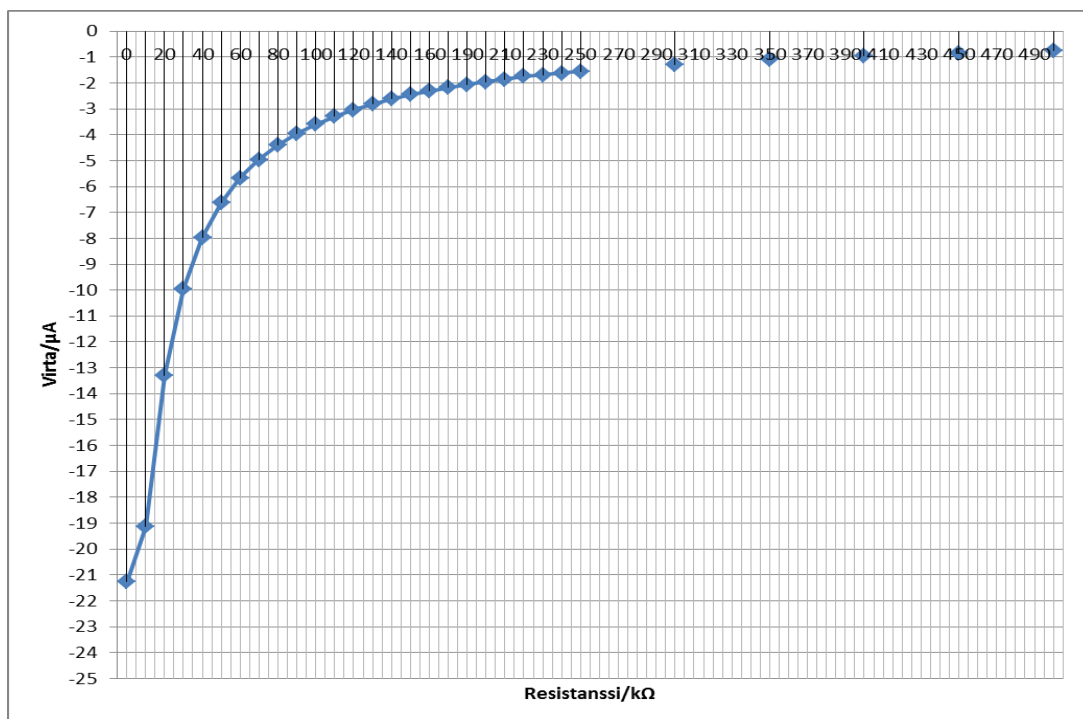
Tutkittava verensokerimittari sisältää ESD-suojan piirin suojaamiseksi staattiselta sähköltä, kaksi integraattoria, jotka mittaavat entsyymiliuskan virtaa ja mikrokontrollerin, joka sisältää A/D-muuntimen ja komparaattoriin. Lisäksi se sisältää oskillaattorin mikrokontrolleria varten, sähköisen EPROM-muistin tuloksien tallennusta varten ja pienen LCD-näytön. Integraattoreiden ulostulovirrat kulkevat ensin mikrokontrollerin AD-muuntimen ja komparaattoriin läpi, jonka jälkeen mikrokontrolleriin ohjelmoitu algoritmi laskee virtojen keskiarvoa vastaavan glukoosimäärän veressä. Lopuksi verensokeriarvo tulostuu LCD-näytölle potilaan nähtäväksi.

Mittauksessa oletettiin, että entsyymiliuskassa virtamuutoksen sai aikaan vallitsevan resistanssin äkillinen kasvu reaktion aikana. Koska verensokerimittaus tutkittavalla mittarilla kestää vain 5 sekuntia, oli helpompi simuloida resistanssimuutoksen ja vakiojännitteen aikaansaamaa virtamuutosta kun alkaa mitata sitä suoraan piirilevyllä. Piirilevyllä mittaaminen tarjoaisi realistista tietoa mittauksesta, mutta samalla mittauksen aikaansaamiseksi piirilevy vaatisi mittauksen arvoa heikentäviä muutoksia. Verensokerimittarissa molemmilla integraattoreilla on sama tehtävä, joten yhden piirin sähköisen toiminnan tutkiminen oli riittävä. Tutkimustyössä saadun informaation perusteella simuloitiin kuvan 19 mukainen integroiva vahvistin.



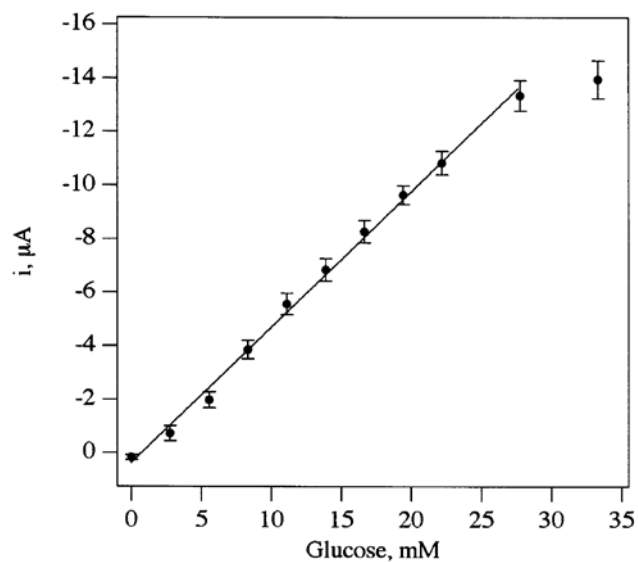
Kuva 19. Simulointiohjelman generoimat virta- ja jännitearvot integraattorille ilman verinäytettä

Piiriä simuloitiin tehtyjen entsyymiliuskakokeilujen ja piirilevyn mittauksien perusteella resistanssialueella 0 - 500 k $\Omega$  ja 400 mV:n vakiojännitteellä. Tuloksien perusteella saatiin kuvan 20 mukainen kuvaaja (ks. seur. s.). Simulointitulokset ovat esitetty liitteessä 1.



Kuva 20. Integraattorin ulostulovirran ominaiskäyrä

Eräissä laboratoriotutkimuksissa tehtiin 30 sekuntia kestäviä testejä entsyymiliuskoille ja mitattiin niiden antamia virtoja eri glukoosipitoisuuksilla. Mittaustuloksista laadittiin kuvan 21 mukainen koordinaatisto. Tätä koordinaatistoa hyödyntämällä saadaan määritettyä integraattorin mitatulle virralle vastaava glukoosiarvo. [18, s.1110.]



Kuva 21. Integraattorin ulostulovirta vs. glukoosi [18, s.1110]

## 5 Yhteenveto ja pohdinta

Insinööriyön alussa kerrottiin haiman roolista ihmisen aineenvaihdunnassa, sen toiminnasta avo- ja umpirauhasena ja erittämistä hormoneista. Koska insinööriyö keskittyi diabetekseen ja verensokerin mittausten menetelmiin, tutkittiin tarkemmin haiman tehtävää umpirauhasena ja yhtä sen tärkeimmistä hormoneista, insuliinia. Pian tuli hyvin selväksi kuinka tärkeä rooli insuliinilla on verensokerin hajottamisessa niin, että se ravitsee eri soluja ympäri elimistöä.

Seuraavaksi tehtiin yleiskatsaus diabeteksen aiheuttajiin, diagnosointiin ja komplikaatioihin, sekä mahdollisiin hoitokeinoihin. Työssä selvisi, että diabeteksen aiheuttaa verensokerin epätasapaino, joka viittaa yleensä insuliinin vähäiseen tai olemattomaan eritykseen aineenvaihdunnassa. Rajoittunut insuliinin erityys voi olla merkki haiman tuhoutuneista beta-soluista. Beta-solujen tuhoutumisen takana voi olla perinnöllinen, sairauden tai onnettomuuden aiheuttaja. Toki aiheuttajia on olemassa monia muita, mutta niiden yksityiskohtainen läpikäyminen vaatisi oman työn. Tutkimuksessa selvitetty komplikaatiota keskittyivät näköön, hermostoon, munuaisiin ja verisuonitauteihin. Tärkeimmäksi hoitokeinoksi selvisi verensokerin tasapainon ylläpitäminen.

Tämän jälkeen tutkittiin millaisia kaupallisia nyky menetelmiä käytetään verensokerin seurannassa diabetestyyppistä riippuen. Selvitetyt menetelmät olivat kaikki ihon puhkaisuun perustuvia, jotka vaativat erillisen verinäytteen. Verinäyte otetaan yleensä sormenpäältä. Tällaisia verensokerin mittausten menetelmiä ovat väriliuskat, entsyymiliuskat ja ihon alle upotettavat bioanturit. Verensokerin mittaamiseksi yleensä käytetään entsyymiliuskoja tai bioantureita, koska ne tarjoavat käyttäjälle tarkan lukeman senhetkisestä glukoosiarvosta. Lisäksi ihon alle upotettavat bioanturit antavat jatkuvasti reaaliaikaista tietoa verensokerista, jopa viiden vuorokauden ajan.

Varsinaisessa tutkimustyössä keskityttiin ei-invasiivisiin verensokerinmittausmenetelmiin, jotka jakautuvat transdermaalisiin ja optisiin ryhmiin. Tutkitut transdermaaliset mittausten menetelmät olivat käänteinen iontoforeesi, sonoforeesi ja impedanssispektroskopia. Näistä kolmesta, käänteinen iontoforeesi ja sonoforeesi ovat olleet enemmän tutkijoiden kehityskohteena kuin impedanssispektroskopia, koska niiden mittaus perustuu glukoosin mittaamiseen suoraan kudostenesteestä. Vastaavasti impedanssispektroskopiassa mitataan ihoa vasten asetettujen kahden elektrodin välistä kapasitanssia,

johon vaikuttaa kudosten lisäksi kudosten rasva ja kuolleet ihosolut. Sonoforeesin ultraäänitekniikkaa ja käänteisen iontoforeesin uuttamismenetelmää hyödyntämällä Echo Therapeutics on onnistunut kehittämään asiankoskevia direktiivejä täyttävän ei-invasiivisen verensokerimittarin, joka on parhaillaan kaupallisessa käytössä ympäri maailmaa. Optisia mittaamenetelmiä, joita tutkittiin NIR- ja MIR -spektroskopia, Raman-spektroskopia, polarimetria, optinen koherenssitomografia, okkluusiospektroskopia, fotoakustinen spektroskopia ja fluoresenssi. Tällaiset menetelmät perustuvat lämpöemission lisäksi valon sironnan, heijastumisen ja absorptio, sekä emission aiheuttaman valon intensiteetti muutoksen mittaamiseen. Lukuisat tutkimukset osoittavat, että optisilla mittaamenetelmillä on mahdollista määrittää verengluukoosi ihosta, suun limakalvosta, sarveiskalvosta, kielestä ja tärykalvosta. Eri tutkimuksien avulla on saatu hyvin rajattua yleiset häiriöntekijät, joita lähes kaikki optiset menetelmät jakavat keskenään. Nykyään on olemassa lukuisia patenteja, joita eri tutkimuslaitokset ja terveyden huollon yritykset kehittävät jatkuvasti. Valitettavasti täysin ei-invasiivinen verensokerimittari on vielä kehittämättä.

Työn laboratorio-osuudessa purettiin eräs kaupallinen ihon puhkaisuun ja entsyymiliuskaan perustuva verensokerin mittari ja tutkittiin sen toimintaa. Näin saatiin selville yksityiskohtaisia tietoja myös eräästä invasiivisesta mittaamenetelmästä. Työn tuloksena saatiin tietoa siitä, miten bioanturilla toimiva mittari mittaa verensokerin pitoisuutta veressä. Tuloksien perusteella on mahdollista suunnitella ja rakentaa bioanturi, jota voidaan hyödyntää verensokerin määrittämiseen kudostenesteestä. Kudosten glukoosipitoisuuden mittaamista voidaan käyttää elektroniikka laboratorion keinohaimaprojektissa. Seuraavaksi on kehitettävä lukuisaan hapettumis-pelkistymisreaktion kykenevä entsyymi, joka kestää ihmiskehon sisällä vallitsevia olosuhteita.

## Lähteet

- 1 Valentinuzzi, Max E. 2004. Understanding the Human machine. A Primer for Bioengineering. Series on Biomaterials and Bioengineering – Volume 4.
- 2 World Health Organization WHO. 2012. Verkkodokumentti. <<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>>. Luettu 13.5.2012.
- 3 Therapia Fennica.fi. 2012. Verkkodokumentti. <<http://therapiafennica.fi/wiki/index.php?title=Diabetes>>. Luettu 13.5.2012.
- 4 Drake, S. 2010. Blood Glucose Monitoring: A Review of Current and Upcoming Monitoring Techniques. UIC Bioengineering Student Journal. Vol. 2, No.1.
- 5 Sieg, A., Richard, H. G. & Begona Delgado-Charro, M. 2005. Noninvasive and Minimally Invasive Methods for Transdermal Glucose Monitoring. Diabetes Technology & Therapeutics. Vol.7, No.1.
- 6 Oliver, N.S., Toumazou, C., Cass, A.E.G. & Johnston, D.G. 2009. Glucose Sensors: A Review of Current and Emerging Technology. Diabetic Medicine Journal. Vol. 26, s.197-210.
- 7 Ferrante do Amaral, C.E. & Wolf, B. 2008. Current Development in Non-invasive Glucose Monitoring. Medical Engineering & Physics. Vol. 30, s. 541-549.
- 8 Vaddiju, S., Burgess, D.J., Tomazos, I., Jain, F.C. & Papadimitrakopoulos, F. 2010. Technologies for Continuous glucose Monitoring: Current Problems and Future Promises. Journal of Diabetes Science and Technology. Vol. 4(6), s. 1540-1562.
- 9 Medical Electronics Laboratory, MELAB. 2012. Verkkodokumentti. <<http://melab.snu.ac.kr/melab/doku.php?id=research:research.in.melab:biosensor#noninvasive.glucose.monitoring>>. Luettu 13.5.2012.
- 10 Echo Therapeutics Inc. 2012. Verkkodokumentti. <<http://www.echotx.com/symphony-tcgm-system.shtml>>. Luettu 13.5.2012.

- 11 Caduff, A., Hirt, E., Feldman, F., Ali, Z., Heinemann, L. 2003. First human experiments with a novel non-invasive, non-optical continuous glucose monitoring system. *Biosensors and Bioelectronics*. Vol. 19, Issue 3, s. 209-217.
- 12 Cybiocare Inc. 2012. Verkkodokumentti. <<http://www.cybiocare.com/product/specifications>>. Luettu 27.5.2012
- 13 Light Touch Medical Inc. 2012. Verkkodokumentti. <<http://www.lighttouchmedical.com/glucosemonitor.html>>. Luettu 27.5.2012.
- 14 Tura, A., Maran, A., Pacini, G. 2007. Non-invasive glucose monitoring: Assessment of technologies and devices according to quantitative criteria. *Diabetes Research and Clinical Practice*. Vol. 77, s. 16-40.
- 15 Amir, O., Weinstein, D., Zilberman, S., Less, M., Perl-Treves, D., Primack, H., Weinstein, A., Gabis, E., Fikhte, B., Karasik, A. 2007. Continuous Noninvasive Glucose Monitoring Technology Based on "Occlusion Spectroscopy". *Journal of Diabetes Science and Technology*. Vol. 1, Issue 4, s. 463-469.
- 16 OrSense Ltd. 2012. Verkkodokumentti. <<http://www.diabetesnet.com/diabetes-technology/meters-monitors/future-meters-monitors/orsense>>. Luettu 25.11.2012.
- 17 Vealight Inc. 2012. Verkkodokumentti. <<http://www.veralight.com/products.html>>. Luettu 25.11.2012.
- 18 Cui, G., Yoo, J., Woo, B., Kim, S., Cha, G., Nam, H. 2001. Disposable amperometric glucose sensor electrode with enzyme-immobilized nitrocellulose strip. *Talanta Journal*. Vol. 54, s. 1105-1111

## Liite 1. Simulointitulokset

Resistanssi/k $\Omega$	Virta/ $\mu$ A
0	-21,26
10	-19,13
20	-13,29
30	-9,96
40	-7,958
50	-6,624
60	-5,671
70	-4,957
80	-4,401
90	-3,956
100	-3,593
110	-3,289
120	-3,039
130	-2,813
140	-2,623
150	-2,456
160	-2,31
170	-2,178
190	-2,061
200	-1,956
210	-1,86
220	-1,744
230	-1,695
240	-1,622
250	-1,556
260	-
270	-
280	-
290	-
300	-1,289
310	-
320	-
330	-



340	-
350	-1,098
360	-
370	-
380	-
390	-
400	-0,955
410	-
420	-
430	-
440	-
450	-0,844
460	-
470	-
480	-
490	-
500	-0,755

