

Технологии непрерывного мониторингирования глюкозы: успехи и перспективы

Ю.В. ТАРАСОВ¹, Ю.И. ФИЛИППОВ¹, Е.К. БОРИСОВА¹, Е.А. ФЕДОРОВА¹, д.м.н. А.Ю. МАЙОРОВ¹, член-корр. РАН М.В. ШЕСТАКОВА^{1,2}

¹ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва; ²ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва

Непрерывное мониторингирование гликемии (НМГ) — относительно новая и активно развивающаяся технология оптимизации гликемического контроля у пациентов с сахарным диабетом. Доказана эффективность применения НМГ для улучшения показателей гликемии во многих клинических ситуациях (бессимптомные гипогликемии, высокая вариабельность гликемии и др.). В перспективе НМГ рассматривают как обязательный компонент «искусственной поджелудочной железы» — инсулиновой помпы с замкнутым контуром управления инфузией инсулина в зависимости от концентрации глюкозы в крови. Однако из-за существенных ограничений и недостаточной высокой точности использование показателя НМГ в качестве источника данных в замкнутом контуре управления инсулиновой помпой невозможно. Дальнейшее развитие технологий НМГ, очевидно, будет направлено на решение трех основных задач: увеличения срока службы сенсоров для детекции глюкозы, повышения точности результатов измерений и удобства использования для пациентов. В статье рассмотрены основные технологические решения современных приборов для НМГ и перспективные направления дальнейших разработок в данной области, их потенциальные преимущества и недостатки, в том числе в свете возможности их дальнейшей интеграции в «искусственную поджелудочную железу».

Ключевые слова: сахарный диабет, непрерывное мониторингирование гликемии, глюкоза, сенсор, искусственная поджелудочная железа.

Continuous glucose monitoring technologies: state of the art and future perspectives in view of artificial pancreas

Yu.V. TARASOV¹, Yu.I. PHILIPPOV¹, E.K. BORISOVA¹, E.A. FEDOROVA¹, A.Yu. MAYOROV, M.V. SHESTAKOVA^{1,2}

¹Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation; ²Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Continuous glucose monitoring (CGM) — a relatively new and rapidly developing technology of optimization glycemic control in patients with diabetes. The efficiency of the use of CGM for improving glycemic level in many clinical situations (asymptomatic hypoglycemia, high blood glucose variability, etc.). In the long term, CGM treated as a mandatory component of the «artificial pancreas» — an insulin pump with a closed-loop control infusion of insulin depending on the concentration of glucose in the blood. However, the modern technology such as CGM could not be used, as a data source to control closed-loop insulin pump (artificial pancreas), because of the significant limitations and lack of precision. In further development of technologies CGM, obviously, will address three main objectives: increased service life of sensors for the detection of glucose, improving the accuracy of measurement results and ease of use for patients. This article describes the main technological solutions of modern devices for CGM and promising directions for further developments in this field, their potential advantages and disadvantages, including in the light of the prospects for further integrating them into an «artificial pancreas».

Keywords: diabetes mellitus, continuous glucose monitoring, glucose detection, sensor, artificial pancreas.

doi: 10.14341/probl201561454-72

Непрерывное мониторингирование гликемии (НМГ) — метод регистрации изменений концентрации глюкозы в крови, при котором результаты фиксируются с очень небольшими промежутками (не более 5 мин) на протяжении длительного времени (более суток).

Согласно результатам DCCT (Diabetes Control and Complications Trial) и других крупных исследований, интенсифицированная инсулинотерапия, включающая регулярный частый самоконтроль гликемии (СКГК), позволяет снизить выраженность осложнений сахарного диабета (СД) и предотвратить их формирование [1]. В связи с этим междуна-

родные и отечественные рекомендации постулируют частый регулярный самоконтроль как неотъемлемую часть лечения СД [2, 3].

Наиболее распространенный способ самоконтроля гликемии среди людей с СД состоит в проведении экспресс-анализов образцов крови (как правило, капиллярной, взятой из пальца) с применением тест-полосок и персональных анализаторов (глюкометров) [4]. У этого способа есть объективные недостатки и ограничения. НМГ имеет объективные преимущества перед традиционным СКГК [5], в том числе:

- позволяет получать информацию о концентрации глюкозы в крови в непрерывном режиме;
- дает представление о тенденции изменений гликемии, а не только о ее фактическом уровне;

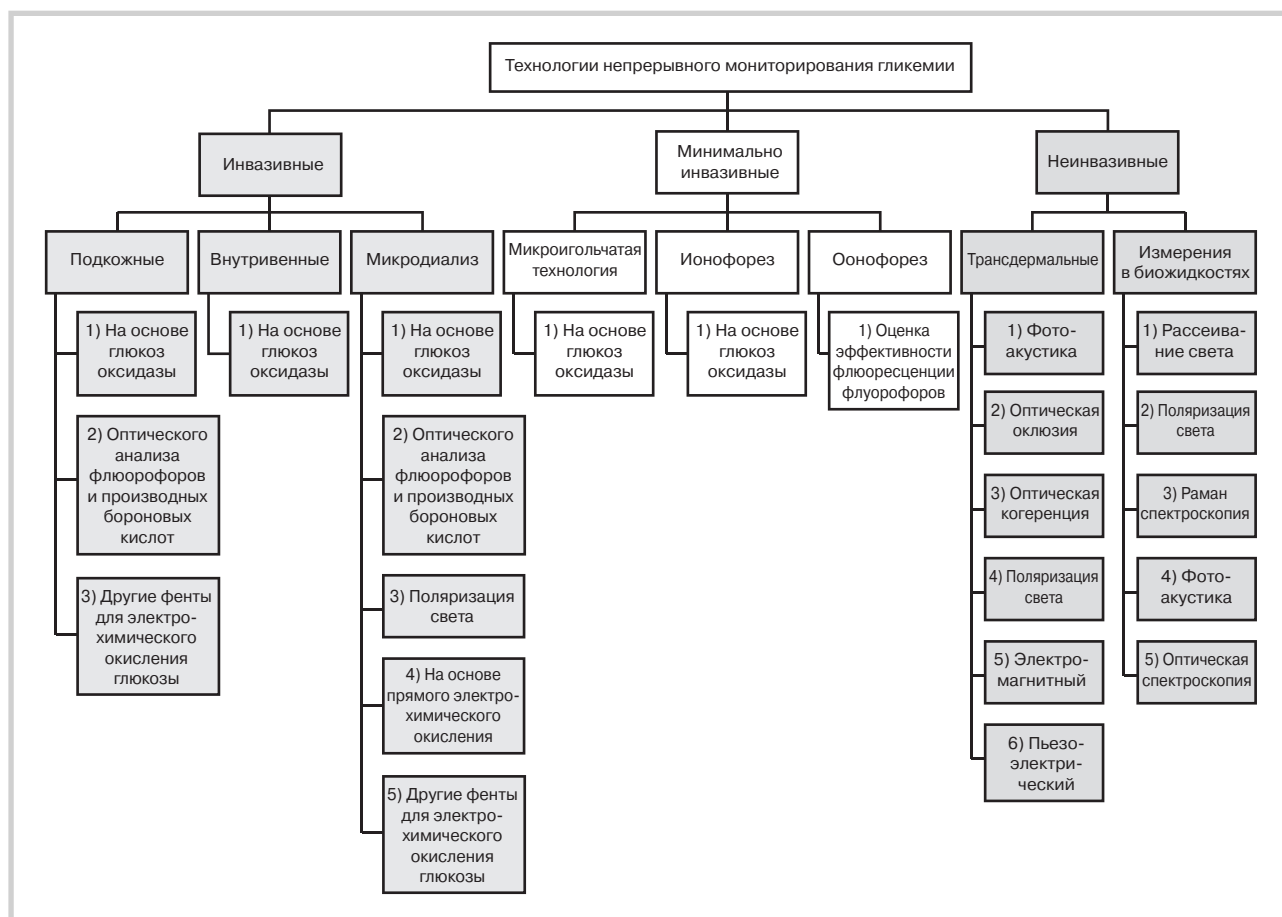


Рис. 1. Общая классификация технологий НМГ.

— позволяет предупреждать пользователя о выходе гликемии из целевой зоны (как в момент выхода, так и заблаговременно — учитывая динамику показателей);

— позволяет оценить истинную картину изменений гликемии в течение больших промежутков времени, а не предположительную, составленную на основе единичных измерений.

Более того, НМГ считают неотъемлемым компонентом «искусственной поджелудочной желе-

зы» — инсулиновой помпы, самостоятельно управляющей введением инсулина с учетом изменений гликемии в режиме реального времени по принципу «замкнутого контура». В целом, НМГ является одним из наиболее перспективных направлений развития технологий лечения СД [6]. В то же время у применяющихся сегодня в клинической практике приборов имеется множество недостатков, которые ограничивают использование НМГ. Наиболее существенные недостатки касаются трех аспектов — точности результатов, удобства ношения сенсора глюкозы на теле пациента и срока службы сенсора.

Технологии непрерывного мониторинга гликемии

С клинической точки зрения, применяющиеся устройства для НМГ принято делить на два типа: в «слепом» режиме (или «профессиональное» мониторингирование) и в режиме «реального времени» (иногда его называют «пользовательским» мониторингированием) [5]. Устройства для НМГ разделяют также на инвазивные, малоинвазивные и неинвазивные (рис. 1), а также (в зависимости от метода определения концентрации глюкозы) — на электрохимические, оптические и пьезоэлектрические.

Сведения об авторах:

Тарасов Юрий Владимирович — н.с., институт диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, Москва, Россия;

Филиппов Юрий Иванович — н.с. отделения программного обучения и лечения Института диабета ФГБУ;

Борисова Екатерина Андреевна — лаб., студ. лечебного факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М.Сеченова», Москва, Россия;

Федорова Елена Анатольевна — н.с. отделения программного обучения и лечения Института диабета;

Майоров Александр Юрьевич — д.м.н., зав. отд. программного обучения и лечения Института диабета;

Шестакова Марина Владимировна — д.м.н., проф., член-корр. РАН, директор института диабета; зав. каф. диабетологии и эндокринологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова», Москва, Россия

Инвазивность устройства для НМГ определяется способом размещения сенсора глюкозы, а также способом связи с блоком электронной обработки. Способ размещения сенсора в свою очередь определяется реализованными в устройстве механизмами преобразования сигнала и определения глюкозы.

Инвазивные

Инвазивные устройства имеют полностью имплантируемые (подкожно или внутривенно) сенсоры с модулем беспроводного подключения к внешнему контроллеру. Принцип действия большинства имплантируемых сенсоров основывается на ферментативном окислении глюкозы с последующим электрохимическим или оптическим анализом продуктов реакции [7, 8]; реже используется принцип микродиализа (см. ниже). Инвазивные сенсоры могут быть полностью имплантируемыми или трансдермальными (наиболее часто встречающийся вариант) [9, 10].

Малоинвазивные

Малоинвазивные сенсоры глюкозы обычно размещаются на поверхности тела совместно с блоками обработки результатов и вывода информации. Сенсоры в данном случае либо не проникают в кожу вообще, либо их проникновение незначительно по времени и по глубине (компоненты системы не проникают за пределы эпидермиса). Предложено несколько сенсоров для НМГ, которые можно отнести к малоинвазивным, в том числе следующие.

1. *Ионофорез*. Через кожу сенсор пропускает слабый электрический ток (в конструкцию сенсора входят два близко расположенных друг к другу электрода, между которыми создается напряжение). Электрический ток провоцирует направленное движение поляризованных молекул (а также под действием индукции и других межмолекулярных взаимодействий – и незаряженных молекул) по кожным порам через дерму. Это стимулирует выведение на поверхности кожи микрокапель интерстициальной жидкости (ИСЖ), в которой и происходит определение концентрации глюкозы. Как правило, детекция глюкозы осуществляется путем электрохимического окисления глюкозы на поверхности сенсора [11].

2. *Сонофорез*. Низкочастотный ультразвук способен расширять и сжимать газообразные включения в роговом слое кожи, увеличивая таким образом его проницаемость и стимулируя выход ИСЖ на поверхность. Как и в предыдущем случае, детекция глюкозы происходит в этой ИСЖ путем электрохимического окисления или спектроскопического анализа [12].

3. *Вакуумизация*. Локальное краткосрочное воздействие вакуума стимулирует пропотевание

ИСЖ на поверхность кожи. Детекция глюкозы опять-таки осуществляется путем электрохимического окисления [13].

4. *Микропористая лазерная абляция или лазерная десорбция*. Лазерное излучение малой мощности испаряет ИСЖ из микропор рогового слоя кожи; ИСЖ конденсируется (с помощью небольшого вакуума) и анализируется (электрохимическое окисление) [14].

5. *Микропроколы*. Технология основана на применении кремниевых микроигл (диаметр <0,1 мм), с помощью которых осуществляется забор ИСЖ. Микроиглы прокалывают кожу с высокой частотой, обеспечивая непрерывное поступление образцов ИСЖ к анализатору. Детекция глюкозы, как и в предыдущих случаях, осуществляется путем электрохимического окисления [6].

Все эти методы не нарушают целостность кожи (в сравнении с инвазивными технологиями), однако в силу длительного физического воздействия (механического, электрического и др.) могут вызывать ее изменение и/или повреждение.

Неинвазивные

Предложено множество способов неинвазивного определения гликемии, включая спектроскопию биологических жидкостей различных отделов тела и органов (жидкость передней камеры глаза, слезная жидкость, слюна, пот, ушная сера, ИСЖ кожи и др.) и анализ газового состава выдыхаемого воздуха [10]. Наибольшее развитие получили следующие направления в области неинвазивного контроля гликемии:

1. Трансдермальные сенсоры, передающие ближний инфракрасный (БИК) свет через роговой слой, с детекцией концентрации глюкозы с помощью оптических методов [13].

2. Экстракорпоральный анализ проб (например, слюны, слез, выдыхаемого воздуха) с помощью различных оптических и электрохимических методов детекции [13, 15].

Методы детекции глюкозы

Способ определения концентрации глюкозы в крови может быть прямым и косвенным.

— При прямом определении гликемии устройство должно использовать в качестве среды для измерения именно кровь (цельную или плазму).

— При косвенном определении концентрация глюкозы в крови определяется по ее уровню в других тканях и жидкостях тела или даже по концентрации не самой глюкозы.

Электрохимический

Количественное определение концентрации глюкозы можно проводить с помощью ферментативных и неферментативных электрохимических реакций (**рис. 2**). Для ферментативных реакций чаще

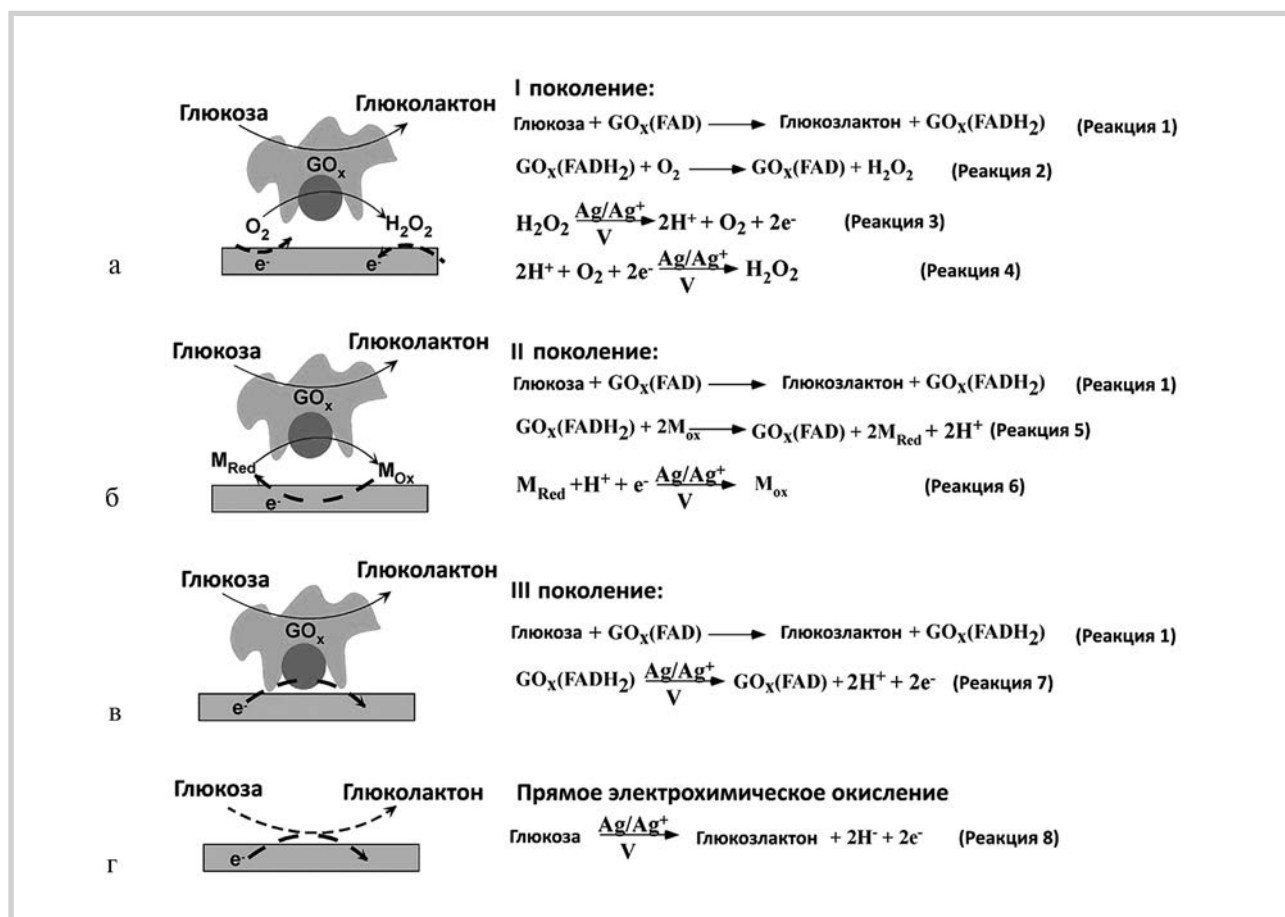


Рис. 2. Различные способы детекции глюкозы электрохимическим методом [17].

а — биосенсоры I поколения, задействующие кислород окружающей среды; б — биосенсоры II поколения с применением искусственных медиаторов электронного транспорта; в — биосенсоры III поколения, реализующие прямой перенос электронов между электродом и GO_x ; г — прямое электроокисление глюкозы.

всего применяют специфичный к β -D-глюкозе фермент глюкозооксидазу (GO_x), катализирующую окисление глюкозы до глюконолактона. В ходе реакции кофермент (флавинаденинмононуклеотид) переходит в восстановленную форму (флавинадениндинуклеотид) (см. рис. 2: реакция 1). В зависимости от дальнейшей переконвертации фермента обратно в окисленную форму сенсоры относятся к одному из трех поколений.

1. В сенсорах первого поколения восстановленная форма фермента окисляется кислородом внешней среды. В результате образуется перекись водорода H_2O_2 (см. рис. 2, а: реакция 2). Концентрация глюкозы рассчитывается, исходя из напряжения, зафиксированного либо при электрохимическом окислении образовавшейся H_2O_2 (см. рис. 2, а: реакция 3), либо при электрохимическом восстановлении O_2 на рабочем электроде (см. рис. 2, а: реакция 4).

2. В биосенсорах второго поколения окисление восстановленной формы фермента осуществляется медиаторами электронного транспорта (см. рис. 2, б: реакция 5), конкурирующими с кислородом (естественным субстратом реакции). Концентрация глю-

козы может быть соотнесена с силой амперометрического сигнала, зафиксированного при электрохимическом окислении восстановленного медиатора (см. рис. 2, б: реакция 6) [16].

3. В биосенсорах третьего поколения окислительно-восстановительный кофермент ковалентно или электрохимически связан с рабочим электродом, что способствует протеканию обратного восстановления (или обратного окисления) путем прямого переноса электронов с рабочего электрода (или на него). Зарегистрированный при этом амперометрический сигнал может быть соотнесен с концентрацией глюкозы (см. рис. 2, в: реакция 7) [7].

Помимо оксидаз, при ферментативной детекции глюкозы применяются глюкозодегидрогеназы [6] и хинопротеин глюкозодегидрогеназы [18]. Для окисления восстановленных форм этих ферментов используются такие типичные для биологических систем медиаторы электронного транспорта, как никотинамидадениндинуклеотид (NAD^+) и хиноны.

Безферментный метод представляет собой прямое электрокаталитическое окисление глюкозы до глюконовой кислоты на наноструктурных электро-

дах, обладающих большой поверхностью и электро-каталитической активностью (платиновые «массивы нанодендритов»; сетки нанонитей из платиново-свинцового сплава; наночастицы золота и композитные наноструктуры, содержащие платину, золото, свинец, палладий или родий) (см. рис. 2, в: реакция 8) [19, 20].

Оптический

Детекция глюкозы, основанная на оптических принципах, включает два основных подхода:

1. Применение флуорофоров.
2. Непосредственное оптическое определение.

Применение флуорофоров основано на принципах стереохимического сродства, согласно которым глюкоза и флуорофор конкурируют за взаимодействие с сайт-специфическим для обоих лигандов рецептором [13, 21]. В качестве рецепторной молекулы может применяться, к примеру, конкавалин А (Кон А), что обусловлено наличием у него четырех сайтов связывания глюкозы. Оценка активности связывания в конкурентных условиях может быть проведена при введении других лигандов, таких как меченный флуоресцеином декстран, α -метилманнозид и гликированный белок [22, 23]. Измерение концентрации глюкозы обеспечивается различными спектроскопическими методами, в том числе приведенными ниже.

1. Присоединение меченного флуоресцеином декстрана к Кон А вызывает перенос электрического заряда молекулы с последующим падением интенсивности флуоресценции связанного лиганда. Сродство Кон А к глюкозе выше, чем к декстрану. Поэтому в присутствии глюкозы возрастает количество свободного (несвязанного) декстрана, что проявляется увеличением интенсивности флуоресцентного излучения (рис. 3, а). Концентрация глюкозы прямо пропорциональна интенсивности флуоресценции меченного декстрана.

2. В результате Ферстеровского резонансного переноса энергии (ФРПЭ) между меченым аллофикоцианином Кон А (донор) и меченым флуоресцеином декстраном (акцептор), который протекает при их сближении на расстояния атомарного масштаба (Ферстеровского радиуса), возникает флуоресцентное излучение [13, 22]. Любая имеющаяся молекула глюкозы присоединяется к Кон А, тем самым увеличивая дистанцию между донором и акцептором данного взаимодействия (с превышением Ферстеровского радиуса), что приводит к падению интенсивности ФРПЭ-индуцированного флуоресцентного излучения (см. рис. 3, б). Таким образом, о концентрации глюкозы можно судить по изменениям интенсивности испускания меченного флуоресцеином декстрана, вызванных ФРПЭ [24, 25].

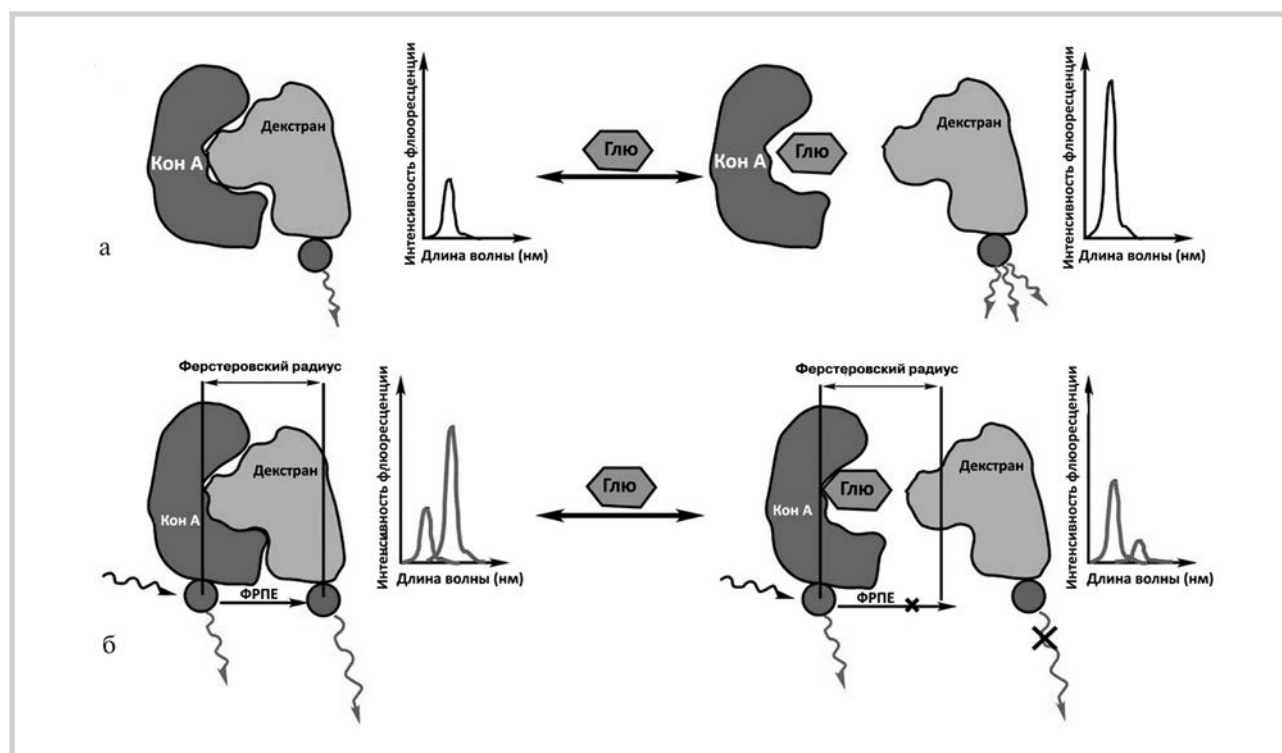


Рис. 3. Оптическая детекция глюкозы (адаптировано из [17]).

а — снижение интенсивности флуоресценции в результате аффинного связывания; б — снижение интенсивности ФРПЭ-индуцированной флуоресценции.

3. ФРПЭ между молекулами донора и молекулами акцептора сопровождается сокращением времени жизни донора. Кроме того, присутствие глюкозы снижает вероятность осуществления ФРПЭ (см. рис. 3, б). Отсюда следует, что возрастание времени жизни донора может наблюдаться на фоне увеличения концентрации глюкозы. Таким образом, содержание глюкозы может быть определено путем регистрации времени жизни молекулы донора, расположенной в непосредственной близости от молекулы акцептора [13, 22].

4. Можно также регистрировать интенсивность флюоресценции тканей, если в качестве флуорофора используется сама глюкоза. При облучении тканей светом с длиной волны 308 нм молекулы глюкозы переходят в возбужденное состояние и испускают флюоресцентное излучение, которое может быть зафиксировано на 340, 380 или 400 нм. Таким образом, определение концентрации глюкозы может осуществляться с помощью непосредственного облучения тканей волнами длиной 308 нм с последующей регистрацией интенсивности излучения на 380 нм (данной длине волны соответствует максимальная интенсивность испускания глюкозой флюоресцентного излучения).

5. При спектроскопическом анализе секрета слезных желез применяются включенные в полимерный носитель синтетические производные бороновой кислоты, которые обратимо связываются с глюкозой. К этим молекулам присоединяют флюоресцентные группы, что обуславливает возможность их спектроскопического определения. При взаимодействии с глюкозой группа бороновой кислоты, имеющая sp^2 -гибридизованную тригональную конфигурацию, принимает более насыщенную электронами sp^3 -гибридизованную тетраэдрическую форму, что вызывает изменение эмиссионного спектра флюоресцентного фрагмента [26].

При непосредственном оптическом определении глюкозы применяется свет переменной частоты и регистрируются изменения характеристик абсорбции, отражения или преломления (рассеивания) для тканей, содержащих различные концентрации глюкозы [13, 21]. В частности, установлено, что световые волны БИК-диапазона проникают через роговой слой эпидермиса с минимальным поглощением в тканях. Более того, светопоглощающие свойства воды таковы, что в БИК-области имеется интервал (0,8—1,4 мкм), в пределах которого отсутствует абсорбция тканями, что обуславливает глубокое проникновение такого света в эпидермис и подкожную жировую клетчатку независимо от пигментации кожи. Благодаря этому свет БИК-диапазона рассматривается как потенциальное средство регистрации изменений оптических свойств, происходящих под влиянием глюкозы в подкожной жировой клетчатке. К примеру, колебания концентрации глюкозы

влекут за собой изменения электрической прочности, поляризуемости и диэлектрической проницаемости подкожной жировой клетчатки, что позволяет регистрировать сдвиги абсорбции, отражения и преломления БИК-излучения соответственно. Ниже приводится ряд методов оптического анализа, основанных на регистрации подобных сдвигов и не требующих введения флуорофоров.

1. Оптическая когерентная томография позволяет измерить концентрацию глюкозы путем определения интенсивности отраженного/рассеянного и пропускаемого света сразу после взаимодействия подкожной жировой клетчатки с глюкозой в определенной концентрации [27].

2. Поляриметрический анализ основывается на способности глюкозы к вращению плоскополяризованных световых волн и возможности последующей количественной оценки ее концентрации, опираясь на величину оптического вращения [28].

3. Тепловая ИК спектроскопия основана на локальном нагревании ткани при действии света, что приводит к изменениям микроциркуляции, в свою очередь влияющей на показатель оптического преломления ткани. Степень изменения оптического преломления в данном случае непосредственно зависит от концентрации в ткани глюкозы [29].

4. Применение фотоакустической спектроскопии основывается на адсорбции света, проявляющейся локальным нагревом тканей с последующим распространением ультразвуковых волн в результате объемного расширения. Детекция глюкозы с помощью фотоакустической спектроскопии подразумевает облучение тканей светом БИК-спектра с дальнейшей регистрацией скорости распространения ультразвуковых волн. Последняя зависит от удельной теплоемкости облучаемой ткани, которая в свою очередь определяется концентрацией глюкозы [30, 31].

5. В основе Рамановской спектроскопии лежит явление неупругого рассеяния фотонов. При взаимодействии глюкозы с монохроматическим светом возникает обусловленный эффектом Рамана сдвиг энергетического состояния фотонов, пропорциональный колебательной или вращательной энергии молекул глюкозы [30, 32]. Рамановский спектр характеризует специфическую для глюкозы внутримолекулярную (колебательную или вращательную) подвижность связей, поэтому он может использоваться в качестве селективного индикатора ее концентрации. Так, с помощью Рамановской спектроскопии можно дифференцировать галактозу и глюкозу — два эпимера с одинаковым химическим составом, но с разным положением одного атома [21].

6. В сенсорах глюкозы на базе фотонных кристаллов использован эффект смещения длины волны света, подвергнутого дифракции на кристалли-

ческом коллоидном массиве с гидрогелевой основой. Сенсор состоит из полиакриламид-полиэтиленгликолевой сетки с включенными в нее кристаллическим коллоидным массивом и распознающим элементом (например, производным бороновой кислоты), который специфически связывается с глюкозой. В результате взаимодействия глюкозы с распознающим элементом формируются поперечные связи (например, бис-бедентатные), что сокращает объем гидрогеля. Его сжатие инициирует пропорциональное количеству связанной глюкозы смещение дифракции от кристаллического коллоидного массива в коротковолновую часть спектра. Изменения цвета могут быть восприняты визуально (без использования специального оборудования) в пределах видимой части спектра (от красного до фиолетового), что отвечает физиологически значимому диапазону концентраций глюкозы [33]. Поскольку данный механизм реализуется посредством химически индуцированного набухания, проявляющегося механической деформацией и изменением оптических свойств фотонного кристалла, такая технология может быть отнесена к хемо-механо-оптическим преобразованиям.

Другие подходы

Помимо электрохимических и оптических подходов, известна также детекция глюкозы, основанная на электрических или электромагнитных преобразованиях. Повышение концентрации глюкозы вызывает снижение концентрации натрия и увеличение концентрации калия в плазме, что изменяет ее диэлектрические свойства и электропроводность. Это позволяет определять глюкозу методом импедансной спектроскопии: путем пропускания переменного тока через ткани для регистрации изменений электропроводности плазмы крови, обусловленных изменениями концентрации глюкозы [34].

С помощью электромагнитной спектроскопии можно определить концентрацию глюкозы, измеряя силу электромагнитного взаимодействия двух индукторов, которая зависит от диэлектрической проницаемости среды, а последняя в свою очередь — от локальной концентрации глюкозы [35].

Факторы, определяющие дальнейшее развитие технологий НМГ

В данном разделе каждая из технологий НМГ рассматривается с позиции проблем и недостатков, препятствующих дальнейшему развитию и более широкому использованию НМГ в клинической практике. Также обсуждаются возможные подходы для преодоления данных сложностей. Изложение материала соответствует содержанию **табл. 1 и 2**.

Точность показаний

Как и для любого аналитического медицинского оборудования, из всех требований, предъявляемых

к устройству НМГ, наиболее важным является точность показаний. И это обусловлено не только перспективами перехода от отдельно стоящего прибора, непрерывно проводящего измерения, к устройству по принципу замкнутого контура искусственной поджелудочной железы, но и необходимостью подтверждения достоверности показаний для врачей и пациентов.

В соответствии с критериями, разработанными Международной организацией по стандартизации (ISO 15197:2013), сенсор считается точным, если при определении концентрации глюкозы в крови во время гипогликемического эпизода, когда фактическая концентрация глюкозы $<4,2$ ммоль/л, его погрешность укладывается в величину $0,63$ ммоль/л. При фактической концентрации глюкозы $>4,2$ ммоль/л максимально допустимая погрешность составляет 15% [36].

Однако данные стандарты распространяются исключительно на глюкометры, метрологические стандарты точности для приборов НМГ не утверждены [37]. В то же время разработан нормативный документ РОСТ05-А (подготовленный Институтом клинических и лабораторных стандартов совместно с Диабетическим технологическим обществом), в котором собраны некоторые контрольные показатели точности измерений, а также нормативы, утвержденные для НМГ глюкозы в межтканевой жидкости [38].

Большинство методов оценки точности НМГ состоит в сопоставлении показателей прибора НМГ с соответствующими референсными значениями при помощи методов линейного регрессионного анализа, анализа погрешностей с использованием зон различной клинической достоверности, остаточной суммы квадратов отклонений и среднего абсолютного отклонения [13, 39]. В качестве ориентира для оценки точности сенсора предпочитают применять анализ погрешностей с использованием зон различной клинической достоверности по Кларку, который выражает относительные различия измерений НМГ и клинического анализатора (последние принимаются за «фактическую» гликемию) [40]. Типичная решетка Кларка представляет собой график с нанесением «фактических» значений гликемии по оси x , а показателей тестируемого сенсора — по оси y (**рис. 4, а**). В случае идеальной корреляции между двумя группами измерений все наносимые на график точки будут лежать на прямой линии, выходящей из начала координат под углом 45° . В случае неидеальной корреляции точки будут разбросаны от линии 45° тем дальше, чем больше ошибка, что, несомненно, следует учитывать при интерпретации результатов. Все поле возможных значений разделено на зоны, расположенные по обе стороны линии 45° , которые отражают не столько математическую разность между полученным и референсным значе-

Таблица 1. Сравнение различных технологий НМГ по их инвазивности

	Группа	Достоинства	Недостатки
Инвазивные	Подкожные	1. Отсутствие открытой раневой поверхности 2. Отсутствие индивидуальной вариабельности между измерениями разных пациентов 3. Удобство использования и легкость адаптации к ношению сенсора 4. Простота имплантации	1. Погрешность калибровки вследствие того, что нет установленной корреляции между концентрациями глюкозы в крови и ИСЖ 2. Реакция на инородное тело, а также износ сенсора за счет биообрастания 3. Смещение сенсора и трудности при его извлечении
	Внутривенные	1. Отсутствие открытой раневой поверхности 2. Отсутствие индивидуальной вариабельности между измерениями разных пациентов 3. Удобство использования и легкость адаптации к ношению сенсора	1. Реакция на инородное тело и износ сенсора, вызванный биообрастанием, а также его повреждение «размывающим эффектом» кровотока 2. Смещение сенсора и сложности при извлечении, а также утомительная процедура имплантации
	Микродиализные	1. Сенсор расположен экстракорпорально и не подвержен износу под действием реакции на инородное тело и биообрастания 2. Отсутствие индивидуальной вариабельности между измерениями разных пациентов	1. Открытая раневая поверхность и существенное воспаление тканей 2. Погрешность калибровки вследствие того, что нет установленной корреляции между концентрациями глюкозы в крови и ИСЖ 3. Длительная задержка отклика, отражающая движение ИСЖ к сенсору 4. Неудобство, создаваемое выступающими микродиализными зондами
	Чрескожные	1. Отсутствие индивидуальной вариабельности между измерениями разных пациентов 2. Отсутствие смещений сенсора и легкость его извлечения	1. Открытая раневая поверхность и существенное воспаление тканей 2. Реакция на инородное тело и износ сенсора, вызванный биообрастанием 3. Погрешность калибровки вследствие того, что нет установленной корреляции между концентрациями глюкозы в крови и ИСЖ
Малоинвазивные	Микропоры и микроиглы	1. Прямое определение глюкозы крови, не содержащее погрешностей калибровки	1. Выполнение множественных проколов создает риск развития инфекции, раздражения, кровотечения (в особенности относится к больным гемофилией) и аллергических реакций 2. Длительный процесс набора нужного объема пробы
	Ионофорез (в тексте отнесен к чрескожным методам)	1. Отсутствие открытой раневой поверхности 2. Маленький объем пробы обуславливает независимость ферментативного сенсора глюкозы от воздействия кислорода 3. Непроницаемость кожи для большинства крупных молекул предупреждает загрязнение поверхности электрода	1. Длительность процесса подготовки перед выполнением замеров 2. Погрешность как результат отсутствия установленной корреляции между концентрациями глюкозы в крови и ИСЖ 3. Неприменимость метода в условиях повышенной оксигенации 4. Пропускание слабых токов через кожу может провоцировать развитие эритемы
	Фонофорез (в тексте отнесен к чрескожным методам)	1. Отсутствие открытой раневой поверхности	
Неинвазивные	Трансдермальные	1. Абсолютная безболезненность 2. Удобство использования и легкость адаптации к ношению сенсора	1. Погрешность как результат различий в пигментации кожи, гидратации и параметрах жидкой среды организма 2. Неспецифичность метода к глюкозе 3. Сильное влияние температуры на результаты
	Детекция в биологических жидкостях	1. Абсолютная безболезненность 2. Удобство использования и легкость адаптации к ношению сенсора	1. Погрешность как результат отсутствия установленной корреляции между концентрациями глюкозы в крови и биологических жидкостях 2. Неспецифичность метода к глюкозе

нием, сколько клиническую значимость ошибки [40]:

— Зона А: принятые на основе этих показателей клинические решения приведут к идентичным результатам с решениями, принятыми на основе значений, полученных референсным методом.

— Зона В: показатели не приведут к ошибке в назначении лечения или ошибка будет незначительной и не повлияет на состояние пациента.

— Зона С: использование полученного показателя приведет к серьезной ошибке, которая, скорее всего, ухудшит состояние пациента.

— Зона D: показатель приведет к очень серьезной ошибке, которая сильно ухудшит состояние пациента.

— Зона Е: использование такого показателя приведет к фатальной ошибке, которая может оказаться опасной для жизни пациента.

При количественной оценке частоты попадания экспериментальных точек в зоны А и В обычно учитываются два параметра: линейный коэффициент корреляции между «фактическим» значением гликемии и показателями тестируемого сенсора; доля принадлежащих зонам А и В экспериментальных точек, выраженная в процентном отношении.

Основным недостатком решетки Кларка является непоследовательность перехода от одной зоны к другой. Это означает, что минимальное изменение зафиксированной сенсором концентрации глюкозы может сдвинуть результат из зоны корректных значений А в зону критических ошибок D и наоборот. С учетом этого была разработана решетка Паркса (см. рис. 4, б), в которой соблюдена последовательность расположения зон, что предотвращает возможность ошибочного отнесения результата к несоответствующей ему зоне [41]. Тем не менее решетка Паркса строится индивидуально для каждого пациента и не обладает универсальностью, необходимой для оценки точности метода НМГ независимо от его технологии. Стоит заметить, что сведения о преимуществах и недостатках каждого из методов постоянно пересматриваются и актуализируются, и тем не менее процентные доли экспериментальных точек, расположенных в зоне А, полученные для одного и того же устройства НМГ с помощью решеток Кларка и Паркса, не совпадают. Например, точность конкретного устройства НМГ оценивалась в 98,6% на основании анализа с помощью решетки Паркса, тогда как при применении решетки Кларка был получен результат 95% [13].

Таблица 2. Сравнение различных технологий НМГ по типу передачи сигнала

Технология детекции			Преимущества	Недостатки
Электрохимические методы	Ферментативные методы	I поколение	1. Высокая специфичность метода к глюкозе 2. Высокая чувствительность сенсора	1. Возможность возникновения сторонних сигналов при взаимодействии с косубстратом (т.е. кислородом) и др. эндогенными молекулами 2. Необходимость подачи высокого потенциала 3. Необходимость применения внешних мембран, увеличивающих время задержки отклика сенсора
		II поколение	1. Высокая специфичность к глюкозе и независимость от уровня косубстрата 2. Работа при низких потенциалах обуславливает устойчивость сенсора к восприимчивости сторонних сигналов	1. Возможная токсичность применяемых медиаторов электронного транспорта 2. Сохранение конкуренции между медиаторами электронного транспорта и кислородом
		III поколение	1. Высокая специфичность к глюкозе и независимость от уровня косубстрата 2. Работа при низких потенциалах обуславливает устойчивость сенсора к восприимчивости сторонних сигналов	1. Отсутствие достоверных данных о токсичности и биосовместимости необходимых материалов 2. Отсутствие достоверных данных о воспроизводимости метода
	Неферментативные методы	Без применения GO _x	1. Кислород не является косубстратом и не вносит сторонние сигналы 1. За отсутствием ферментов не встает вопрос о повышении их устойчивости к деградации	1. Обнаружено окисление других сахаров, а также наиболее распространенных спиртов 1. Неспецифичность методов к глюкозе 2. Существенное загрязнение поверхности электрода продуктами окисления глюкозы

См. продолжение табл. 2 на след. стр.

Таблица 2 (продолжение)

Технология детекции			Преимущества	Недостатки
Оптические методы	Методы с применением флуорофоров	Регистрация интенсивности ФРПЭ	1. Высокая специфичность метода к глюкозе	1. Фотоотбеливание флуорофоров и рассеяние излучения в тканях 2. Зависимость от пигментации кожи и толщины эпидермиса
		Регистрация длительности ФРПЭ	1. Независим от рассеяния излучения в тканях 2. Независим от концентрации флуорофора, следовательно, не возникает проблем с фотообесцвечиванием или потерей флуорофора за счет его вымывания	1. Миниатюризация фотодетекторов и спектрометров с разрешением по времени представляет собой серьезную проблему 2. Отсутствие полного подтверждения достоверности метода в испытаниях на животных/с участием человека
		Спектроскопия секрета слезных желез	1. Абсолютная неинвазивность, так как концентрация глюкозы определяется в слезах 2. Отсутствие классического заключенного в корпус измерительного устройства 3. Возможность визуального определения уровня глюкозы	1. Вымывание производных бороновой кислоты 2. Зависимость от pH и ионной силы раствора 3. Наличие периода задержки между динамикой концентрации глюкозы в крови и слезах
	Непосредственное измерение	Оптическая когерентная томография	В отличие от других оптических методов не испытывает влияния со стороны мочевины, ионной силы раствора, температуры, ЧСС	1. Зависимость от движения и гетерогенности ткани
		Поляриметрия	1. Возможность использования видимого света, высокая доступность 2. Все компоненты без труда миниатюризируются	1. Искажение результатов за счет рассеяния излучения в тканях, колебаний pH и температуры 2. Неспецифичность метода ввиду поляризации света такими молекулами, как альбумины и аскорбиновая кислота
		Тепловая ИК-спектроскопия	Аналогично поляриметрии	1. Искажение результатов за счет рассеяния излучения в тканях, колебаний pH и температуры, при изменении ориентации зонда, а также на фоне лихорадки
		Фотоакустическая спектроскопия	В отличие от других оптических методов не испытывает влияния со стороны альбуминов и ионной силы раствора	1. Зависимость от рассеяния излучения в тканях 2. Миниатюризация прибора представляет собой серьезную проблему
Комбинированные методы	Импедансная спектроскопия	Рамановская спектроскопия	1. По сравнению с БИК-спектроскопией дает более четкие пики и меньший нахлест 2. Отсутствие помех со стороны люминесцентного и флуоресцентного излучений	1. Длительность периода стабилизации 2. Зависимость от плотности ткани, толщины барьерного слоя, гематокрита
			1. Период задержки равен нулю, так как определение глюкозы происходит в сегменте сосуда	1. Показатели могут быть искажены на фоне повышенной температуры и критических состояний 2. Изменения диэлектрических свойств крови не являются специфическим показателем концентрации глюкозы
		Электромагнитная спектроскопия	1. Аналогично импедансной спектроскопии	1. Влияние на показатели изменений температуры тела, интенсивности пототделения, а также движения

Как сетка Кларка, так и решетка Паркса были изначально разработаны для оценки клинической безопасности получаемых при самоконтроле тем или иным прибором единичных значений гликемии

с учетом погрешности измерений. В чистом виде для оценки клинической значимости погрешности измерений при НМГ данные методы не подходят, так как не учитывают самостоятельное значение

Таблица 3. Допустимые отклонения точности устройств НМГ (ISO 15197:2013)

Вид образца	Допустимая погрешность	Количество образцов*	
		абс.	%
Образцы <100 мг/дл	±5 мг/дл	136/180	75,6
	±10 мг/дл	180/180	100
	±15 мг/дл	180/180	100
Образцы ≥100 мг/дл	±5%	297/420	70,7
	±10%	408/420	97,1
	±15%	420/420	100,0

Примечание. * — количество образцов, погрешность измерения в которых не должна превышать установленный лимит.

Таблица 3. Сравнение точности различных технологий НМГ (исходя из источников литературы) [17]

Степень инвазии	Метод детекции	Точность		
		точность	точки в зоне А и В	используемая модель
Неинвазивные	Оптическая когерентная томография	0,95	Нет данных	Люди
	Поляриметрия	>0,99	Нет данных	<i>Ex vivo</i>
	Тепловая ИК-спектроскопия	0,87	100%	Люди
	Фотоакустика	Нет данных	Нет данных	
	Рамановская спектроскопия	0,83	Нет данных	Люди
	Фотонно-кристаллический метод	Нет данных	Нет данных	Нет данных
	Импедансная спектроскопия	0,49	78,4%	Люди
Минимально инвазивные	Электромагнитная спектроскопия	Нет данных	Нет данных	<i>Ex vivo</i>
	Ионофорез	0,9	98,9%	Люди
	Сонофорез	0,7	92%	Люди
	Вакуумизация	Нет данных	Нет данных	Люди
	Микропроколы	0,94	93%	Люди
Инвазивные	Подкожные	0,85	98,4%	Люди
	Внутривенные	0,93	95,8%	Люди
	Микродиализ	0,9	95,5%	Люди

континуума получаемых показателей. Для решения этой задачи была разработана модификация сетки Кларка [39]. Модифицированная версия учитывает временные характеристики НМГ, а также период задержки, имеющийся между концентрацией глюкозы в крови (референсные значения) и ИСЖ [39]. Модифицированная сетка Кларка может изменяться в зависимости от способа определения концентрации глюкозы и учитывает, что время выравнивания концентрации глюкозы в крови и ИСЖ всегда равно 7 мин (на самом деле, это время может существенно изменяться) [13].

Факторы, обуславливающие погрешности измерения

Каждый из компонентов устройства для НМГ является потенциальным источником ошибки измерения. Наиболее значимые погрешности связаны преимущественно с процессом калибровки и с точностью (в том числе с селективностью) самих сенсоров глюкозы.

Калибровка

Калибровка необходима для конвертации первичных данных (например, интенсивности элек-

трического или оптического сигнала), получаемых в результате реакции детекции глюкозы, в информативные для пользователя показатели (значение концентрации глюкозы). Калибровка приборов для НМГ в большинстве случаев не может быть проведена заранее до начала использования пациентом сенсора или устройства (как это происходит при применении тест-полосок глюкометров). Процедура калибровки и ее минимально допустимая частота различаются и сильно зависят от способа детекции глюкозы, степени инвазивности сенсора и т.д. Более того, полученный единожды *in vivo* калибровочный шаблон не может использоваться на протяжении всего срока эксплуатации прибора НМГ (или сенсора) ввиду ряда причин [42], в том числе:

1. Из-за изменений свойств среды (ткани или жидкости), в которой происходит детекция глюкозы, оказывающих прямое или косвенное влияние на процесс, например:

— реакции тканей на инородное тело при применении инвазивных и малоинвазивных методов, вследствие чего непрерывно изменяются параметры диффузии глюкозы к детекторному элементу сенсора НМГ;

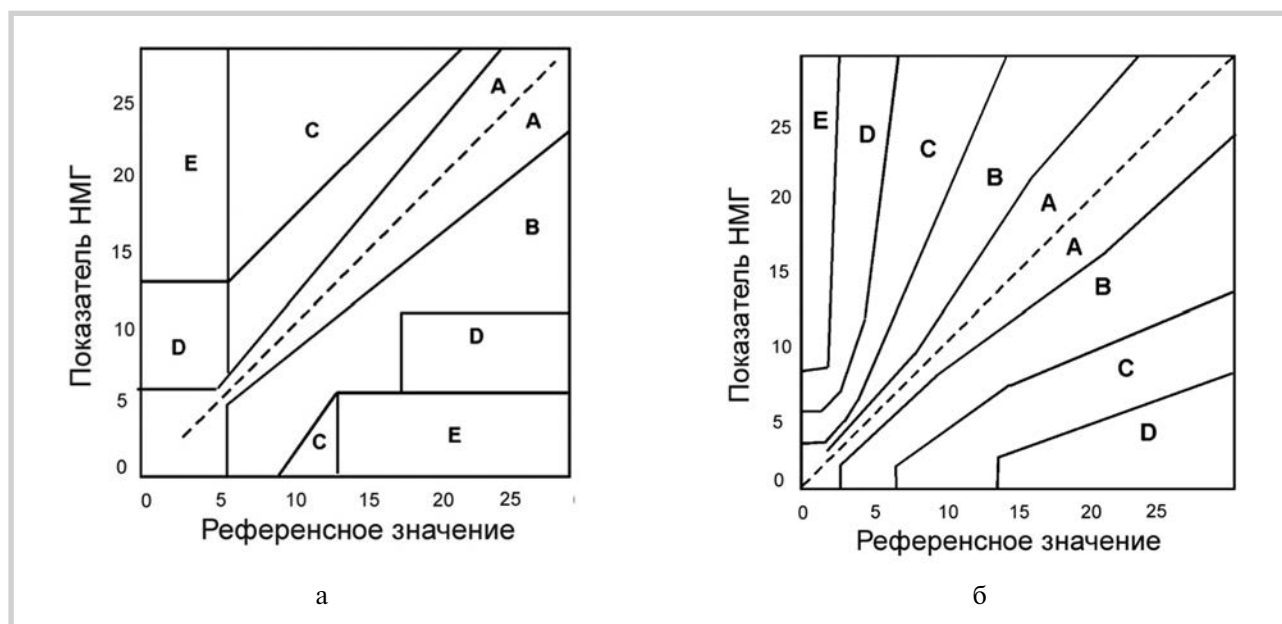


Рис. 4. Вид графиков определения клинической значимости погрешностей измерения концентрации глюкозы с нанесенными сеткой Кларка (а) и решеткой Паркса (б).

— высокой динамичности физиологического статуса пациента (физическая нагрузка, питание, прием лекарственных препаратов, гипоксия и др.) или места установки сенсора НМГ;

2. Из-за изменений свойств самого прибора или сенсора глюкозы в ходе работы (например, денатурация фермента, расход катализатора, биodeградация детекторных элементов и т.д.).

В связи с указанными факторами все современные устройства НМГ (в особенности, инвазивные и малоинвазивные) требуют регулярной калибровки [43]. Калибровка абсолютного большинства устройств НМГ проводится с помощью внешних приспособлений для измерения гликемии (как правило, глюкометров). При этом калибровка — процесс, направленный на повышение точности показателей НМГ, сама и может быть источником и причиной снижения точности результатов мониторингирования. Для каждого способа детекции и вида устройства НМГ причины снижения точности в процессе калибровки будут отличаться. Общим же для всех фактором является низкая точность (большая погрешность) референсного прибора, по которому проводится калибровка [44]: в абсолютном большинстве случаев этим прибором становится персональный глюкометр (допустимая погрешность по ISO 15197:2013 $\pm 15\%$).

1. Несоответствие между концентрацией глюкозы в крови и в исследуемой среде (например, в подкожной жировой клетчатке) как во временном, так и в количественном аспекте. Как правило, выявить закономерность таких несоответствий непросто, так как они зависят от физического состояния пациента (физической активности, гипервентиляции, гипок-

сии, приема лекарственных препаратов и др.) [45]. Например, фактическое время выравнивания концентрации глюкозы в крови и ИСЖ обычно составляет от 12 до 20 мин (или несколько выше для малоинвазивных и микродиализных устройств НМГ, которые требуют переноса ИСЖ из подкожной жировой клетчатки на расположенный экстракорпорально сенсор).

2. Собственное время отклика сенсора (обычно занимает от нескольких секунд до нескольких минут) может суммироваться с фактическим временем выравнивания концентрации глюкозы в крови и исследуемой жидкости, что еще больше усложняет калибровку. В особенности это относится к инвазивным сенсорам, у которых собственное время отклика может варьировать вследствие эффекта обрастания детекторного элемента биологическим материалом и образования тканевых препятствий (например, сгусток крови в месте введения) [4, 46].

Селективность сенсора

Селективность устройства НМГ означает его способность реагировать исключительно на глюкозу из всего спектра циркулирующих в организме метаболитов. Однако существует множество молекул, аналогичных D-глюкозе по электрохимическим и оптическим свойствам, что позволяет говорить о селективности сенсора как об основном препятствии на пути развития технологий НМГ.

В устройствах НМГ, осуществляющих ферментативное окисление глюкозы, селективность сенсора определяется свойствами конкретного фермента, задействованного в устройстве. Оксидазы (наиболее широко применяемые для детекции ферменты) де-

Таблица 4. Максимальные сроки эксплуатации различных инвазивных устройств НМГ по типу их расположения [17]

Тип инвазивного сенсора	Заявленное время работы	Используемая модель
Подкожный	А) 120 дней; Б) 7 дней	Люди
Внутривенный	А) 259 дней	»
Микродиализ	А) 3—7 дней	»

Примечание. А — данные, заявленные в публикациях, Б — допустимые сроки эксплуатации в США.

монстрируют высокую селективность по отношению к глюкозе. Однако такая селективность зачастую нивелируется за счет потребности в высокой концентрации кислорода как косубстрата реакции, без чего не может быть обеспечена линейная кинетика продукции H_2O_2 [7]. Снизить зависимость от кислорода можно с помощью внешних мембран, которые значимо сокращают диффузию анализируемого вещества, тогда как возможность пропускания кислорода в тех или иных количествах сохраняется ввиду меньшего размера его молекул. Высокий электрический потенциал, необходимый для корректной работы электрохимических сенсоров на основе оксидаз, делает их восприимчивыми к сторонним сигналам, возникающим в результате взаимодействия с другими эндогенными молекулами, такими как аскорбиновая кислота, мочевиная кислота, дофамин и оксид азота. Минимизация такого рода помех достигается нанесением избирательно проницаемых мембран (например, Nafion, а также мембран на основе полиэфирсульфоновой кислоты и ацетата целлюлозы) на поверхность рабочего электрода. Однако применение мембран снижает чувствительность сенсора и увеличивает время отклика. Кроме того, возможен износ имплантированной мембраны вследствие ее кальцификации или биообрастания. Одним из решений является использование вместе с основным рабочим электродом еще одного контрольного, осуществляющего регистрацию фоновых токов для корректировки показаний основного электрода [47]. Другой подход заключается в подаче на один и тот же рабочий электрод двух разных потенциалов, один из которых соответствует по значению фоновому току.

Для электрохимических биосенсоров II поколения, задействующих медиаторы электронного транспорта, селективность не является столь значимой проблемой. Такие сенсоры не требуют высокого напряжения, поскольку медиаторы, осуществляющие перенос H_2O_2 , выполняют свои функции при низком потенциале (0,2—0,3 В относительно хлорсеребряного электрода сравнения; см. рис. 2, В: реакция б). Известны медиаторы электронного транспорта на основе комплексов осмия и ферроцена, углеродных нанотрубок [48], токопроводящих полимеров [49], а также их комбинаций. Однако доступные для клинической практики устройства НМГ (разрешенные FDA) содержат только комплексы осмия. Электрохимические сен-

соры глюкозы III поколения, выполненные на основе наноматериалов, также высокоселективны, однако их биосовместимость окончательно не изучена.

Биосенсоры на основе дегидрогеназ и хинопротеин-глюкозодегидрогеназы не восприимчивы к сторонним сигналам от кислорода и других эндогенных молекул. Однако вопрос об их специфичности по отношению к другим медиаторам электронного транспорта еще не разрешен. Известно их взаимодействие с другими сахарами (например, с лактозой, галактозой, мальтозой, целлобиозой и ксилозой) и наиболее распространенными спиртами [50]. Биосенсоры, осуществляющие прямое электроокисление глюкозы также не очень специфичны и склонны к взаимодействию с другими сахарами.

Для оптических методов детекции глюкозы вопрос селективности более важен ввиду существования множества метаболитов с аналогичными оптическими свойствами. Более того, оптические помехи могут быть значимо выше, чем сами изменения оптического сигнала, отражающие динамику концентрации глюкозы. Наиболее очевидные причины низкой селективности оптических методов перечислены ниже [51].

1. Схожесть БИК-спектра испускания глюкозы с таковым других сахаров (в особенности фруктозы).

2. Частичное наложение БИК-обертона глюкозы на некоторые другие обертоны (например, воды, жиров или гемоглобина). Данное явление значительно затрудняет детекцию глюкозы методами, основанными на поглощении, отражении и рассеянии излучения.

3. Зависимость интенсивности полосы поглощения воды в тканях от концентрации растворенных веществ (т.е. глюкозы и других метаболитов) и температуры. Обычно по мере роста концентрации растворенных веществ интенсивность полосы поглощения воды снижается. Данный эффект, зачастую именуемый «вытеснением воды», не проявляет специфики в отношении анализируемого вещества и может быть потенциальной причиной неспецифичности абсорбционных методов детекции глюкозы. Изменения оптического сигнала могут быть с большей вероятностью вызваны количественными колебаниями других метаболитов.

4. Характеризующие ткань коэффициенты преломления и ослабления также испытывают влияние

эффекта вытеснения воды. Вследствие этого детекция глюкозы, основанная на изменении коэффициента преломления ткани в соответствии с изменением ее концентрации, может быть неспецифической (например, при изменении концентрации таких веществ, как креатинин или альбумин).

5. Чрезвычайная зависимость БИК-спектров от различных физиологических параметров (пигментация, гидратация, интенсивность кровотока, pH и др.), а также аппаратных факторов (размещение зонда и его ориентация).

Некоторые из проблем могут быть решены использованием более чувствительных и воспроизводимых способов определения. В качестве альтернативы абсорбционным методам детекции исследуется потенциал Рамановской спектроскопии. Данная методика проявляет высокую специфичность в отношении глюкозы, поскольку детекция основана на отслеживании фундаментальных молекулярных вибраций.

Оптические методы детекции глюкозы с применением флуоресцентных молекул, связанных с распознающими фрагментами, также демонстрируют высокую специфичность в отношении глюкозы. Однако, как уже было сказано, данные методы характеризуются чувствительностью к изменениям концентрации кислорода. К тому же при длительной эксплуатации таких сенсоров проявляются неточности, возникающие в результате денатурации ферментов и фотообесцвечивания флуорофоров [22, 52].

Срок службы устройств НМГ

Как правило, отказ устройства обусловлен деградацией ферментов, износом электрода, биообрастанием, отслоением мембраны, неисправностью элемента питания, узла дистанционной передачи сигнала и блока электронной аппаратуры [53]. Однако основную проблему все же представляет стабильность работы *in vivo* самого сенсора.

Воспаление, реакция на инородное тело и биообрастание

Биообрастание препятствует контакту анализируемого вещества с детекторным элементом. Реакция на инородное тело может вызывать колебания показателей концентрации глюкозы вследствие отека и миграции фагоцитов (острая фаза воспаления), а также нарушать доступ сенсора к требуемому уровню определяемого вещества (глюкозы и таких коферментов, как O_2 и NAD^+) при образовании фиброзной капсулы (хроническая фаза воспаления) [54]. В воспалительных процессах, локально протекающих в тканях после имплантации, можно выделить три фазы.

1. Наступающая сразу вслед за имплантацией сенсора острая фаза воспаления, в ходе которой

инициируется миграция воспалительных клеток и белков плазмы по направлению к имплантату.

2. Подострая фаза воспаления, включающая адсорбцию фагоцитов на поверхности имплантата в попытке его уничтожить, выброс молекул кислорода и секрецию протеолитических ферментов, предназначенных для расщепления инородного тела, а также отложение фибриногена в зоне повреждения и неоваскуляризацию.

3. Хроническая фаза воспаления протекает с формированием гигантских многоядерных клеток и отложением фибриногена, что приводит к образованию фиброзной капсулы вокруг имплантата (рубцевание), и продолжается от нескольких дней до нескольких лет.

Ранее реакции на инородное тело пытались предотвратить, покрывая сенсор биосовместимыми материалами — Nafion [55], гиалуроновой кислотой [56] и гуминовой кислотой [46]. Однако иммунный ответ организма развивался даже при использовании биосовместимых материалов, т.е. являлся реакцией на саму процедуру имплантации [42]. Исходя из этого, а также учитывая, что реакция на инородное тело определяется в основном спецификой имплантата (его форма, размер, физические и химические свойства, площадь области имплантации), начали разрабатываться более совершенные покрытия для сенсоров: резистентные к биообрастанию и/или высвобождающие лекарственные соединения, активно противодействующие развитию воспалительного процесса в тканях.

Основной задачей и того и другого подхода являлась ассимиляция сенсора окружающими тканями. Покрытия, резистентные к биообрастанию, препятствовали адсорбции белков за счет создания гидрофильного слоя между поверхностью сенсора и тканевыми жидкостями. Биосовместимые покрытия с высвобождением лекарственных веществ предельно ограничивали развитие воспаления, обусловленное травматизацией ткани и кровоизлиянием, а также предотвращали ишемию за счет повышения васкуляризации; в результате необходимый доступ к анализируемому веществу непрерывно сохранялся в течение продолжительного времени [57].

Среди покрытий, резистентных к биообрастанию, известны такие гидрофильные полимеры, как фосфорилхолин, полиуретаны с полярными фосфолипидными группами и насыщенные водой гидрогели. Они предназначены для снижения белковой адсорбции на поверхности сенсора, за счет чего притупляется реакция на инородное тело. С другой стороны, покрытия, способные высвобождать модуляторы тканевой реакции в месте имплантации, редуцируют локальное воспаление и повышают местную васкуляризацию ткани. В частности, в покрытие сенсора вводят лекарственные вещества с противовоспалительной активностью (дексамета-

зон); факторы роста, стимулирующие неоваскуляризацию (фактор роста сосудистого эндотелия и тромбоцитарный фактор роста); вазодилататоры (оксид азота) и антикоагулянты (гепарин) [42, 58, 59]. Однако благоприятное действие таких модуляторов сохраняется лишь временно.

Установлено, что нанотекстурные поверхности способствуют васкуляризации вокруг имплантата. К таким поверхностям относятся нанопористый диоксид титана, нанопористый кремний и нанопористый углерод [60, 61]. Предполагается, что высокие значения аспектного отношения, характерные для поверхностей на основе этих наноматериалов, позволяют воздействовать на процессы клеточной пролиферации и дифференцировки. Однако применение наноструктурных поверхностей сдерживается их иммуногенностью. Имеется ряд данных, ставящих под вопрос биосовместимость и возможную токсичность наноматериалов [7, 62].

Дегградация ферментов

Ферменты являются важным функциональным элементом многих устройств НМГ, поскольку определяют специфичность прибора в отношении глюкозы. Тем не менее ограниченная во времени стабильность и активность иммобилизованных ферментов значительно сокращает длительность эксплуатации устройств НМГ. При длительном использовании происходит естественная денатурация иммобилизованных белковых ферментов в сенсорах. Для снижения скорости естественной денатурации ферментов используют различные подходы, в том числе на базе нанотехнологий [63]. К примеру, каталитическая активность фермента сохраняется при иммобилизации на таких наноструктурных основах, как цеолиты и фосфаты.

Неисправность сенсора вследствие полной потери ферментативной активности встречается редко [53], однако ионы переходных металлов (Zn^{2+} и Fe^{2+}), низкомолекулярные сывороточные компоненты [64] и H_2O_2 могут ингибировать каталитическую активность ферментов. Последнее может вызывать наибольшие проблемы, учитывая, что для электрохимических сенсоров глюкозы первого поколения H_2O_2 также является сигнальной молекулой. Избыточное введение GO_x в структуру сенсора может продлить срок его службы [65], однако какой-либо избыток свободной (т.е. не имеющей поперечных связей) GO_x , изначально размещенной под слоем фермента, поперечно сшитого с глутаральдегидом, будет медленно вымываться из-под него. Такие потери постепенно снижают чувствительность сенсора.

Дегградация флуорофоров

Интенсивность сигнала от сенсора зависит от концентрации флуорофора, которая в свою очередь

определяется его стабильностью. Однако большинство применяемых флуорофоров подвержено быстрому фотообесцвечиванию, которое радикально сокращает срок службы соответствующих устройств НМГ. Скорость фотообесцвечивания и возможная продолжительность эксплуатации сенсора находятся в обратно пропорциональной зависимости. Например, сенсор глюкозы на основе однослойных углеродных нанотрубок (IR-Fye-78-CA) со скоростью фотообесцвечивания 250 ч^{-1} имеет номинальный срок службы 3,2 с, что в 3000 раз меньше такового для сенсора, в котором применен флуорофор на базе квантовых точек с характерной скоростью фотообесцвечивания $0,082 \text{ ч}^{-1}$ [52]. При этом флуорофоры, работающие по принципу квантовых точек и обладающие высокой устойчивостью к фотообесцвечиванию, до сих пор не могут применяться в составе имплантируемых сенсоров из-за потенциальной токсичности. То же справедливо для флуорофоров на основе углеродных нанотрубок, которые не подвержены фотообесцвечиванию и уже применяются в лабораторных условиях для оптической детекции глюкозы.

Размеры и миниатюризация устройств НМГ

Немаловажную роль играют размеры устройств НМГ. Среди одинаковых по производительности устройств (мобильные телефоны, ноутбуки или медиа-плееры) наиболее компактные в своем классе, как правило, наиболее привлекательны для потребителя. Предполагается, что потребительские предпочтения в отношении устройств НМГ также будут подчиняться этой общей закономерности. Кроме того, размер имплантата определяет степень травматизации при имплантации устройства, от чего в свою очередь зависит выраженность реакции на инородное тело. Вопрос размера наиболее актуален для двух классов устройств НМГ:

- 1) частично имплантируемых устройств на основе микродиализных или чрезкожных имплантатов;
- 2) полностью имплантируемых моделей, предполагающих размещение всех элементов питания, детекции и беспроводного сообщения на максимально ограниченном участке в теле человека.

Микродиализные системы снабжены имплантируемым зондом для забора биологических жидкостей, а также закрепляемым на поверхности тела детекторным элементом с портативным элементом питания и модулем беспроводного соединения. Чрезкожные системы, напротив, оборудованы детекторным элементом, помещаемым во внутреннюю среду организма, который оснащен выводом на поверхность кожи для подключения к блокам питания и беспроводного соединения. Главное различие между полностью и частично имплантируемыми сенсорами состоит в присутствии открытой раневой поверхности во втором случае, которая по-

тенциально служит входными воротами инфекции, что неизбежно сводит к нулю преимущества компактного размещения сенсора. К тому же для частично имплантируемых устройств характерен менее продолжительный период корректной работы *in vivo*.

Ожидается, что миниатюризация имплантируемых электрохимических устройств НМГ значительно продвинется в грядущие годы в рамках новой отрасли микро- и наноиндустрии. Аналогичная тенденция предвидится в отношении имплантируемых оптических устройств НМГ, однако синхронизация оптических компонентов может оказаться более проблематичной. По мере дальнейшего развития нанотехнологической концепции в индустрии полупроводниковых и оптических коммуникаций также ожидаются существенные сдвиги, которые могут способствовать постепенной миниатюризации управляющего электронного звена, узла контроля энергообеспечения, оптических элементов и модуля беспроводной передачи сигнала. В настоящее время основная проблема миниатюризации состоит в энергетическом обеспечении микросхем сенсора и блока беспроводного соединения, т.е. в размере элементов питания [66, 67].

Инвазивные устройства НМГ должны обладать детекторным элементом, размер которого обеспечит его легкую имплантацию, а также извлечение. Необходимо, чтобы имплантируемое устройство имело чрезвычайно малые размеры, что предполагает высокую степень миниатюризации электродов, источников питания, узлов обработки сигнала и детекторных элементов. Более того, миниатюрные биосенсоры, имплантируемые с помощью ультратонких игл (аналогичные тем, что используются при иглоукалывании), меньше травмируют ткани, а следовательно, не вызывают выраженной реакции на инородное тело [68]. Детекторные элементы большинства известных инвазивных устройств получены путем иммобилизации ферментов на ультратонких платиновых проводах (диаметр менее 25 мкм) и углеродных нановолокнах [69] или заключения флуорофора в миниатюрную полимерную капсулу [52]. Активно развивается подход к получению микро-/наноматериалов путем разложения соответствующих макроструктур с помощью традиционных полупроводниковых процессов. Посредством микрообработки были получены кремниевые иглоподобные структуры для мониторинга концентрации глюкозы [70, 71]. Аналогичные принципы могут применяться и для оптической детекции. В частности, электроды могут быть заменены заполняющими каналы флуорофорами.

Заключение

Критическая оценка различных технологий НМГ должна быть направлена не только на конкретные преимущества, свойственные тому или

иному подходу, а скорее на целостное рассмотрение различных физико-химических и физиологических факторов, тесно связанных с функционированием устройства и образом жизни больного. К примеру, в отличие от инвазивных приборов неинвазивные устройства НМГ не требуют имплантации и не вызывают реакций на инородное тело, но при этом имеют недостатки, связанные с селективностью и точностью измерений. Хотя малоинвазивные устройства могут быть компромиссом между инвазивными и неинвазивными подходами, дискомфорт при использовании, наличие открытой раневой поверхности и короткий срок службы приборов обязательно должны приниматься во внимание. Инвазивные устройства более удобны в применении и практически не обременяют пациента, если не считать необходимости имплантации/извлечения сенсора. Еще одна альтернативная технология заключается в применении биоразлагаемых сенсорных систем, напоминающих татуировки [72]. К сожалению, данная технология не отличается высокой селективностью, а также требует регулярной калибровки по глюкометру.

Электрохимические и оптические способы определения глюкозы с применением флуорофоров наиболее перспективны с точки зрения селективности и чувствительности. Технологии детекции, основанные на прямом оптическом определении глюкозы, более трудны в реализации ввиду высокой вариабельности результатов на фоне изменения таких параметров, как температура, pH, характер рассеяния излучения тканями, пигментация кожи и уровень гидратации. При этом калибровка и связанные с ней негативные последствия (погрешность) в равной степени остаются проблемой для всех устройств НМГ, независимо от технологии детекции и степени инвазивности. Возможно, параллельное измерение нескольких параметров или метаболитов сенсорными системами значительно повысит точность и надежность определения глюкозы.

На текущий момент не проведено детальных исследований связи между выраженностью реакции на инородное тело и размерами сенсора, а также его локализацией *in vivo*. Тот факт, что применение простых неиммуногенных материалов при производстве инвазивных сенсоров позволяет лишь незначительно снизить интенсивность реакции на инородное тело, привел к разработке более совершенных способов с использованием систем лекарственной доставки материалов с контролируемыми свойствами и биомиметических подходов. В качестве целей для будущих исследований можно предложить поиск корреляций размера имплантата и свойств оболочки сенсора с различными связанными между собой параметрами, в числе которых иммуногенность, цитотоксичность, генотоксичность, сенсибилизация и раздражение тканей, интрадермальная реак-

тивность, гемосовместимость, хроническая токсичность и биоразложение. Однако разработка таких устройств требует скоординированной работы специалистов из разных научных отраслей, таких как химия, наука о материалах, инженерное дело, фармация и медицина. Вероятность создания совершенных устройств НМГ в относительно недалеком будущем представляется довольно высокой.

Информация о финансировании и конфликте интересов

Работа проведена при поддержке гранта Российского научного фонда (проект № 14-25-00181).

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. The diabetes control and complications trial research group. *N Engl J Med.* 1993;329(14):977-986. doi: 10.1056/nejm199309303291401.
2. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes—2015. Chapter 6: Glycemic Targets. *Diabetes Care.* 2014;38(Supplement_1):S33-S40. doi: 10.2337/dc15-S009.
3. Dedov II, Shestakova MV, Galstyan GR, et al. Standards of specialized diabetes care. Edited by Dedov II, Shestakova MV. (7th edition). *Diabetes mellitus.* 2015;18(1S):1. doi: 10.14341/dm20151s1-112.
4. Reach G, Wilson GS. Can continuous glucose monitoring be used for the treatment of diabetes. *Anal Chem.* 1992;64(6):381a-386a.
5. Philippov YI. Continuous monitoring of blood glucose in the practice of endocrinologist. *Obesity and Metabolism.* 2012(4):15-22. doi: 10.14341/2071-8713-5124.
6. Newman JD, Turner AP. Home blood glucose biosensors: a commercial perspective. *Biosens. Bioelectron.* 2005;20(12):2435-2453. doi: 10.1016/j.bios.2004.11.012.
7. Vaddiraju S, Tomazos I, Burgess DJ, et al. Emerging synergy between nanotechnology and implantable biosensors: a review. *Biosens. Bioelectron.* 2010;25(7):1553-1565. doi: 10.1016/j.bios.2009.12.001.
8. Renard E. Implantable continuous glucose sensors. *Current diabetes reviews.* 2008;4(3):169-174. doi: 10.2174/157339908785294406.
9. Garg S, Zisser H, Schwartz S, et al. Improvement in glycemic excursions with a transcutaneous, real-time continuous glucose sensor: a randomized controlled trial. *Diabetes Care.* 2006;29(1):44-50. doi: 10.2337/diacare.29.01.06.dc05-1686.
10. Liao KC, Hogen-Esch T, Richmond FJ, et al. Percutaneous fiber-optic sensor for chronic glucose monitoring in vivo. *Biosens. Bioelectron.* 2008;23(10):1458-1465. doi: 10.1016/j.bios.2008.01.012.
11. Rhee SY, Chon S, Koh G, et al. Clinical experience of an iontophoresis based glucose measuring system. *J Korean Med Sci.* 2007;22(1):70-73. Pmc2693572.
12. Park EJ, Werner J, Beebe J, et al. Noninvasive ultrasonic glucose sensing with large pigs (approximately 200 pounds) using a lightweight cymbal transducer array and biosensors. *J Diabetes Sci Technol.* 2009;3(3):517-523. doi: 10.1177/193229680900300316.
13. Oliver NS, Toumazou C, Cass AE, Johnston DG. Glucose sensors: a review of current and emerging technology. *Diabet Med.* 2009;26(3):197-210. doi: 10.1111/j.1464-5491.2008.02642.x.
14. Robert JJ. Continuous monitoring of blood glucose. *Horm Res.* 2002;57 Suppl 1:81-84. doi: 53321.
15. Caduff A, Talary MS, Mueller M, et al. Non-invasive glucose monitoring in patients with Type 1 diabetes: a Multisensor system combining sensors for dielectric and optical characterisation of skin. *Biosens. Bioelectron.* 2009;24(9):2778-2784. doi: 10.1016/j.bios.2009.02.001.
16. Joshi PP, Merchant SA, Wang Y, Schmidtke DW. Amperometric biosensors based on redox polymer-carbon nanotube-enzyme composites. *Anal. Chem.* 2005;77(10):3183-3188. doi: 10.1021/ac0484169.
17. Vaddiraju S, Burgess DJ, Tomazos I, et al. Technologies for Continuous Glucose Monitoring: Current Problems and Future Promises. *J Diabetes Sci Technol.* 2010;4(6):1540-1562. doi: 10.1177/193229681000400632.
18. Yamazaki T, Kojima K, Sode K. Extended-range glucose sensor employing engineered glucose dehydrogenases. *Anal. Chem.* 2000;72(19):4689-4693.
19. Yuan JH, Wang K, Xia XH. Highly Ordered Platinum-Nanotubule Arrays for Amperometric Glucose Sensing. *Adv. Funct. Mater.* 2005;15(5):803-809. doi: 10.1002/adfm.200400321.
20. Wang J, Thomas DF, Chen A. Nonenzymatic electrochemical glucose sensor based on nanoporous PtPb networks. *Anal. Chem.* 2008;80(4):997-1004. doi: 10.1021/ac701790z.
21. Tura A, Maran A, Pacini G. Non-invasive glucose monitoring: assessment of technologies and devices according to quantitative criteria. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2007;77(1):16-40. doi: 10.1016/j.diabres.2006.10.027.
22. Pickup JC, Hussain F, Evans ND, et al. Fluorescence-based glucose sensors. *Biosens. Bioelectron.* 2005;20(12):2555-2565. doi: 10.1016/j.bios.2004.10.002.
23. Moschou EA, Sharma BV, Deo SK, Daunert S. Fluorescence glucose detection: advances toward the ideal in vivo biosensor. *J Fluoresc.* 2004;14(5):535-547.
24. Barone PW, Parker RS, Strano MS. In vivo fluorescence detection of glucose using a single-walled carbon nanotube optical sensor: design, fluorophore properties, advantages, and disadvantages. *Anal. Chem.* 2005;77(23):7556-7562. doi: 10.1021/ac0511997.
25. Barone PW, Strano MS. Reversible control of carbon nanotube aggregation for a glucose affinity sensor. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 2006;45(48):8138-8141. doi: 10.1002/anie.200603138.
26. Domschke A, March WF, Kabilan S, Lowe C. Initial clinical testing of a holographic non-invasive contact lens glucose sensor. *Diabetes Technol. Ther.* 2006;8(1):89-93. doi: 10.1089/dia.2006.8.89.

27. Gabbay RA, Sivarajah S. Optical coherence tomography-based continuous noninvasive glucose monitoring in patients with diabetes. *Diabetes Technol Ther.* 2008;10(3):188-193. doi: 10.1089/dia.2007.0277.
28. Rawer R, Stork W, Muller-Glaser KD. Polarimetric methods for measurement of intra ocular glucose concentration. *Biomed. Tech. (Berl.).* 2002;47 Suppl 1 Pt 1:186-188. doi: 10.1515/bmte.2002.47.s1a.186.
29. Harman-Boehm I, Gal A, Raykhman AM, et al. Noninvasive glucose monitoring: increasing accuracy by combination of multi-technology and multi-sensors. *J Diabetes Sci Technol.* 2010;4(3):583-595. doi: 10.1177/193229681000400312.
30. Sieg A, Guy RH, Delgado-Charro MB. Noninvasive and minimally invasive methods for transdermal glucose monitoring. *Diabetes Technol. Ther.* 2005;7(1):174-197. doi: 10.1089/dia.2005.7.174.
31. Weiss R, Yegorchikov Y, Shusterman A, Raz I. Noninvasive continuous glucose monitoring using photoacoustic technology—results from the first 62 subjects. *Diabetes Technol Ther.* 2007;9(1):68-74. doi: 10.1089/dia.2006.0059.
32. Lyandres O, Yuen JM, Shah NC, et al. Progress toward an in vivo surface-enhanced Raman spectroscopy glucose sensor. *Diabetes Technol. Ther.* 2008;10(4):257-265. doi: 10.1089/dia.2007.0288.
33. Alexeev VL, Das S, Finegold DN, Asher SA. Photonic crystal glucose-sensing material for noninvasive monitoring of glucose in tear fluid. *Clin. Chem.* 2004;50(12):2353-2360. doi: 10.1373/clinchem.2004.039701.
34. Huber D, Talar M, Dewarrat F, Caduff A. The compensation of perturbing temperature fluctuation in glucose monitoring technologies based on impedance spectroscopy. *Med Biol Eng Comput.* 2007;45(9):863-876. doi: 10.1007/s11517-007-0229-3.
35. Gourzi M, Rouane A, Guelaz R, et al. Study of a new electromagnetic sensor for glycaemia measurement: in vitro results on blood pig. *J. Med. Eng. Technol.* 2003;27(6):276-281. doi: 10.1080/0309190031000098845.
36. ISO 15197:2013. In vitro diagnostic test systems -- Requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. 2013:46.
37. Clarke WL, Kovatchev B. Continuous Glucose Sensors: Continuing Questions about Clinical Accuracy. *J Diabetes Sci Technol.* 2007;1(5):669-675. doi: 10.1177/193229680700100510.
38. D'Archangelo MJ. New guideline supports the development and evaluation of continuous interstitial glucose monitoring devices. *J Diabetes Sci Technol.* 2008;2(2):332-334. Pmc2771489.
39. Kovatchev BP, Gonder-Frederick LA, Cox DJ, Clarke WL. Evaluating the accuracy of continuous glucose-monitoring sensors: continuous glucose-error grid analysis illustrated by TheraSense Freestyle Navigator data. *Diabetes Care.* 2004;27(8):1922-1928.
40. Clarke WL, Cox D, Gonder-Frederick LA, et al. Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care.* 1987;10(5):622-628. doi: 10.2337/diacare.10.5.622.
41. Parkes JL, Slatin SL, Pardo S, Ginsberg BH. A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose. *Diabetes Care.* 2000;23(8):1143-1148. doi: 10.2337/diacare.23.8.1143.
42. Onuki Y, Bhardwaj U, Papadimitrakopoulos F, Burgess DJ. A review of the biocompatibility of implantable devices: current challenges to overcome foreign body response. *J Diabetes Sci Technol.* 2008;2(6):1003-1015. doi: 10.1177/193229680800200610.
43. Lodwig V, Heinemann L. Continuous glucose monitoring with glucose sensors: calibration and assessment criteria. *Diabetes Technol. Ther.* 2003;5(4):572-586. doi: 10.1089/152091503322250596.
44. Cembrowski GC, Smith B, O'Malley EM. Increases in whole blood glucose measurements using optically based self-monitoring of blood glucose analyzers due to extreme Canadian winters. *J Diabetes Sci Technol.* 2009;3(4):661-667. doi: 10.1177/193229680900300407.
45. Wentholt IM, Hart AA, Hoekstra JB, Devries JH. Relationship between interstitial and blood glucose in type 1 diabetes patients: delay and the push-pull phenomenon revisited. *Diabetes Technol. Ther.* 2007;9(2):169-175. doi: 10.1089/dia.2006.0007.
46. Tipnis R, Vaddiraju S, Jain F, et al. Layer-by-layer assembled semipermeable membrane for amperometric glucose sensors. *J Diabetes Sci Technol.* 2007;1(2):193-200. doi: 10.1177/193229680700100209.
47. O'Brien KB, Killoran SJ, O'Neill RD, Lowry JP. Development and characterization in vitro of a catalase-based biosensor for hydrogen peroxide monitoring. *Biosens. Bioelectron.* 2007;22(12):2994-3000. doi: 10.1016/j.bios.2006.12.020.
48. Kim SN, Rusling JF, Papadimitrakopoulos F. Carbon Nanotubes for Electronic and Electrochemical Detection of Biomolecules. *Adv. Mater.* 2007;19(20):3214-3228. doi: 10.1002/adma.200700665.
49. Palys B, Bokun A, Rogalski J. Poly-o-phenylenediamine as redox mediator for laccase. *Electrochimica Acta.* 2007;52(24):7075-7082. doi: 10.1016/j.electacta.2007.05.029.
50. Kay CW, Mennenga B, Gorisch H, Bittl R. Structure of the pyrroloquinoline quinone radical in quinoprotein ethanol dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 2006;281(3):1470-1476. doi: 10.1074/jbc.M511132200.
51. McNichols RJ, Cote GL. Optical glucose sensing in biological fluids: an overview. *J Biomed Opt.* 2000;5(1):5-16. doi: 10.1117/1.429962.
52. Barone PW, Strano MS. Single walled carbon nanotubes as reporters for the optical detection of glucose. *J Diabetes Sci Technol.* 2009;3(2):242-252. doi: 10.1177/193229680900300204.
53. Updike SJ, Shults MC, Rhodes RK, et al. Enzymatic glucose sensors. Improved long-term performance in vitro and in vivo. *ASAIO J.* 1994;40(2):157-163. doi: 10.1097/00002480-199404000-00007.
54. Wang J. Glucose Biosensors: 40 Years of Advances and Challenges. *Electroanalysis.* 2001;13(12):983-988. doi: 10.1002/1521-4109(200108)13:12<983::AID-ELAN983>3.0.CO;2-#.
55. Galeska I, Chattopadhyay D, Moussy F, Papadimitrakopoulos F. Calcification-resistant Nafion/Fe³⁺ assemblies for implantable biosensors. *Biomacromolecules.* 2000;1(2):202-207. doi: 10.1021/bm0002813.
56. Praveen SS, Hanumantha R, Belovich JM, Davis BL. Novel hyaluronic acid coating for potential use in glucose sensor design. *Diabetes Technol. Ther.* 2003;5(3):393-399. doi: 10.1089/152091503765691893.

57. Bhardwaj U, Sura R, Papadimitrakopoulos F, Burgess DJ. Controlling acute inflammation with fast releasing dexamethasone-PLGA microsphere/pva hydrogel composites for implantable devices. *J Diabetes Sci Technol*. 2007;1(1):8-17.
doi: 10.1177/193229680700100103.
58. Patil SD, Papadimitrakopoulos F, Burgess DJ. Concurrent delivery of dexamethasone and VEGF for localized inflammation control and angiogenesis. *J. Control. Release*. 2007;117(1):68-79.
doi: 10.1016/j.jconrel.2006.10.013.
59. Nichols SP, Koh A, Storm WL, et al. Biocompatible materials for continuous glucose monitoring devices. *Chem. Rev*. 2013;113(4):2528-2549.
doi: 10.1021/cr300387j.
60. Popat KC, Eltgroth M, Latempa TJ, et al. Decreased Staphylococcus epidermis adhesion and increased osteoblast functionality on antibiotic-loaded titania nanotubes. *Biomaterials*. 2007;28(32):4880-4888.
doi: 10.1016/j.biomaterials.2007.07.037.
61. Narayan RJ, Aggarwal R, Wei W, et al. Mechanical and biological properties of nanoporous carbon membranes. *Biomed Mater*. 2008;3(3):034107.
doi: 10.1088/1748-6041/3/3/034107.
62. Frost MC, Meyerhoff ME. Fabrication and in vivo evaluation of nitric oxide-releasing electrochemical oxygen-sensing catheters. *Methods Enzymol*. 2004;381:704-715.
doi: 10.1016/s0076-6879(04)81045-0.
63. Phadtare S, Vinod VP, Wadgaonkar PP, et al. Free-standing nanogold membranes as scaffolds for enzyme immobilization. *Langmuir*. 2004;20(9):3717-3723.
doi: 10.1021/la035870j.
64. Gerritsen M, Jansen JA, Lutterman JA. Performance of subcutaneously implanted glucose sensors for continuous monitoring. *Neth J Med*. 1999;54(4):167-179.
65. Yu B, Moussy Y, Moussy F. Coil-type implantable glucose biosensor with excess enzyme loading. *Front. Biosci*. 2005;10:512-520.
doi: 10.2741/1547.
66. Chen T, Barton SC, Binyamin G, et al. A miniature biofuel cell. *J Am Chem Soc*. 2001;123(35):8630-8631.
67. Mano N, Mao F, Heller A. Characteristics of a miniature compartment-less glucose-O₂ biofuel cell and its operation in a living plant. *J. Am. Chem. Soc*. 2003;125(21):6588-6594.
doi: 10.1021/ja0346328.
68. Kvist PH, Iburg T, Aalbaek B, et al. Biocompatibility of an enzyme-based, electrochemical glucose sensor for short-term implantation in the subcutis. *Diabetes Technol. Ther*. 2006;8(5):546-559.
doi: 10.1089/dia.2006.8.546.
69. McMahon CP, O'Neill RD. Polymer-enzyme composite biosensor with high glutamate sensitivity and low oxygen dependence. *Anal. Chem*. 2005;77(4):1196-1199.
doi: 10.1021/ac048686r.
70. Errachid A, Ivorra A, Aguiló J, et al. New technology for multi-sensor silicon needles for biomedical applications. *Sensors Actuators B: Chem*. 2001;78(1-3):279-284.
doi: 10.1016/S0925-4005(01)00826-7.
71. Johnson KW, Mastrototaro JJ, Howey DC, et al. In vivo evaluation of an electroenzymatic glucose sensor implanted in subcutaneous tissue. *Biosens. Bioelectron*. 1992;7(10):709-714.
doi: 10.1016/0956-5663(92)85053-D.
72. Steiner M-S, Duerkop A, Wolfbeis OS. Optical methods for sensing glucose. *Chem. Soc. Rev*. 2011;40(9):4805-4839.
doi: 10.1039/C1CS15063D.