

ШЛЯХИ УДОСКОНАЛЕННЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГЛІКЕМІЇ: ФЕРМЕНТАТИВНІ МЕТОДИ, ЇХ КЛАСИФІКАЦІЯ, ХАРАКТЕРИСТИКА, ПЕРЕВАГИ ТА НЕДОЛІКИ*

Тихонова Т. М.¹, Смілка Ю. М.², Хижняк О. О.¹

¹ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
м. Харків, Україна

² ТОВ «Долфі-Україна»
smilka.y@dolphi.com.ua

Ефективність лікування цукрового діабету (ЦД) безпосередньо пов'язана з контролем метаболічних показників, серед яких рівень глікемії розглядається як основний параметр моніторингу та визначальний фактор щодо корекції лікувальних рекомендацій, у тому числі цукрознижувальної терапії. Саме вимірювання вмісту цукру в крові найчастіше застосовується у повсякденній практиці, включаючи як професійні визначення у медичних закладах, так і самоконтроль глікемії хворими на ЦД. Вищевказане обумовлено не тільки значною розповсюдженістю ЦД, а й можливістю за виявленими результатами показників цукру крові враз оцінити стан пацієнта та своєчасно провести відповідні заходи. Окрім того, згідно з даними численних досліджень, досягнення тривалої та стабільної компенсації вуглеводного обміну при ЦД, починаючи з етапу маніфестації захворювання, визнано основним напрямком щодо запобігання розвитку

та прогресування хронічних діабетичних ускладнень [1–3]. Неможливість вирішення цієї задачі без регулярного вимірювання глікемії стало підставою вважати самоконтроль хворими на ЦД основоположною невід'ємною складовою комплексу лікувального процесу цього захворювання. Відповідно до існуючих на теперішній час рекомендацій, частота щоденних вимірювань показників глікемії хворим на ЦД, залежно від типу ЦД, призначеної цукрознижувальної терапії, наявності інтеркурентних захворювань та багатьох інших факторів, складає від 2–3 до 6–8, а за показаннями і більше разів на добу. Проведення систематичного контролю цукру крові на тепер сприймається як усвідомлена необхідність практично всіма пацієнтами з ЦД тому, що дозволяє не тільки правильно оцінити хворими свій особистий стан у певних, зокрема, гострих, непередбачених ситуаціях, але й дає можливість з урахуванням виявлених показників адекватно

* Автори гарантують повну відповідальність за все, що опубліковано в статті.

Автори гарантують відсутність конфлікту інтересів і власної фінансової зацікавленості при виконанні роботи та написанні статті.

Рукопис надійшов до редакції 31.08.2017.

модифікувати фізичні навантаження, дієтичне харчування та дозу цукрознижувальних препаратів за умов змінення звичайного режиму та життєвих стереотипів.

Таким чином, виключна важливість визначення глікемії та обґрунтованість частого вимірювання цього параметру обумовило широке застосування глюкометрів — індивідуальних систем контролю рівня глюкози крові для домашнього застосування. Принцип роботи з будь-яким глюкометром передбачає забір проби крові для тесту за допомогою спеціального автоматичного пристрою, що дозволяє зробити прокол шкіри пальця стерильним ланцетом; нанесення краплі крові на тест-смужку, попередньо введenu в порт глюкометра і, нарешті, через кілька секунд після серії звукових сигналів — отримання на екрані результату визначення.

У зв'язку з постійним удосконаленням методів визначення рівня цукру крові, розробкою та появою нових медичних засобів лікарі та хворі постійно потребують інформації про сучасні системи моніторингу глікемії для можливості вибору того чи іншого глюкометра [4].

Серед загальноприйнятих на сьогодні вимог до глюкометрів відносять маленький розмір тест-смужок, зручний розмір глюкометра, легкість читання результатів на дисплеї, можливість визначати рівень глікемії в інших зонах крім пальця, пам'ять приладу (із зазначенням дати і часу забору крові), легкість у використанні глюкометра і тест-смужок, нескладність кодування або вибір приладу без необхідності вводити код.

Беручи до уваги важливість перерахованих характеристик, слід визнати, що для надійності результатів, і, як наслідок, призначення адекватних лікувальних заходів, першочерговою вимогою є все ж таки точність вимірювання.

Існує низка способів визначення глюкози, що призначені для застосування в різних умовах та мають відмінні аналітичні та клінічні характеристики. Відповідно до сучасної класифікації, виділяють редуцтометричні, колориметричні та ферментативні методи.

На сьогоднішній день редуцтометричні методи, принцип яких полягає у властивості цукру відновлювати в лужному середовищі солі важких металів, та колориметричні методи, які засновані на визначенні ступеня забарвлення сполук, що утворюються в результаті різних «кольорових реакцій» між глюкозою та певними хромогенами, практично не використовуються. Це пов'язано з низькими специфічністю, точністю і відтворюваністю, а також складністю автоматизації та стандартизації зазначених способів лабораторної діагностики [5].

Найбільше поширення зараз отримали ферментативні методи, а саме:

- глюкозодегідрогеназний із застосуванням ферменту пірролохіноліноніон (GDH-PQQ);
- глюкозодегідрогеназний із застосуванням ферменту флавін-аденин динуклеотид. (GDH-FAD);
- гексокіназний (HK);
- глюкозооксидазний (GOD).

Перераховані методи засновані на використанні хімічних реакцій за участю певних ферментів, які каталізують перетворення глюкози (субстрату) у відповідний продукт. У ході реакції від молекули глюкози відриваються електрони і передаються молекулі-акцептору. Кількість електронів або молекул акцептора, які взяли електрони, підлягають точному вимірюванню. Така біохімічна основа визначає безсумнівні переваги ферментативних методів, до яких перш за все: слід віднести високу специфічність (фермент вибірково взаємодіє з глюкозою, але не з іншими субстратами); високі точність і відтворюваність; малі обсяги необхідної для проб крові (від 0,2 до 20 мкл); високу швидкість реакцій (від 5 с до 5 хв); а також простоту та нормальні умови проведення аналізу (при температурах, що не перевищують 37 °C); легкість автоматизації та стандартизації. Ферментативні методи використовуються практично у всіх сучасних лабораторних аналізаторах глюкози та у всіх глюкометрах. Один з важливих ферментативних методів — аналіз з використанням ферментних електродів, які поєднують високу

селективність біокаталізу та досконалу техніку електрохімічних методів.

Незважаючи на спільність принципу, який покладено в основу ферментативних методів, кожен з них має свої особливості, що визначають в кінцевому підсумку точність вимірювання рівня глюкози у крові.

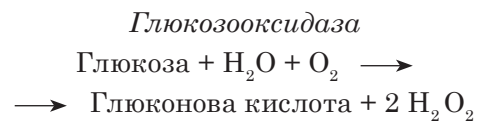
Глюкозодегідрогеназний метод із застосуванням ферменту пірролохінолінохінон (GDH-PQQ) може при певних умовах надавати невірні показання. Для проведення якісного самоконтролю необхідний глюкометр з тест-смужками, що вибірково і точно визначають глюкозу в крові відповідно до міжнародних стандартів. Застосування тест-смужок на основі ферменту GDH-PQQ може значно завищувати результати. Цей фермент не дозволяє відрізнити глюкозу в крові від інших цукрів (мальтози, ксилози, галактози), що входять до складу деяких лікарських засобів і біопрепаратів. Взаємодія ферменту GDH-PQQ з цукрами, які не містять глюкозу, призводить до отримання хибно завищених результатів. Спотворення справжніх даних про рівень цукру крові (у даному випадку завищення) може стати причиною помилкових терапевтичних заходів, в першу чергу — введення неадекватних високих доз інсуліну або пероральних цукрознижувальних препаратів, що мають найсерйозніші наслідки. Саме з цим пов'язано попередження Управління США з нагляду за якістю (FDA), що містить перелік факторів, що впливають на результати вимірювань при використанні глюкозодегідрогеназного методу із застосуванням ферменту пірролохінолінохінон (GDH-PQQ) та заклик до абсолютного дотримання всіх запобіжних заходів, які викладені в інструкціях.

Глюкозодегідрогеназний метод із застосуванням нової модифікації ферменту флавін-аденін динуклеотид (GDH-FAD), який, на відміну від GDH-PQQ, реагує тільки з ксилозою. Однак, підвищений рівень ксилози у крові в реальній практиці відзначається вкрай рідко.

Гексокіназний (глюкозо-6-фосфатдегідрогеназний) метод (HK) визначення концентрації глюкози заснований на двох послідовних реакціях: утворення з глюкози

еквімолярних кількостей глюкозо-6-фосфату під каталітичним впливом гексокінази та подальше перетворення глюкозо-6-фосфату під дією глюкозо-6-фосфатдегідрогенази в 6-фосфоглюконат. Аналітична специфічність цього методу оптимальна, але речовини, що впливають на результати реакції, натеper не встановлені.

Найбільшого поширення сьогодні отримали **глюкозооксидазні (GOD) методи**, що засновані на використанні ферменту — глюкозооксидази. Глюкозооксидаза каталізує перенесення двох водневих атомів з першого вуглецевого атома глюкози на кисень, який розчинений в рідкому реагенті. У ході реакції перекис водню утворюється в еквімолярних кількостях:



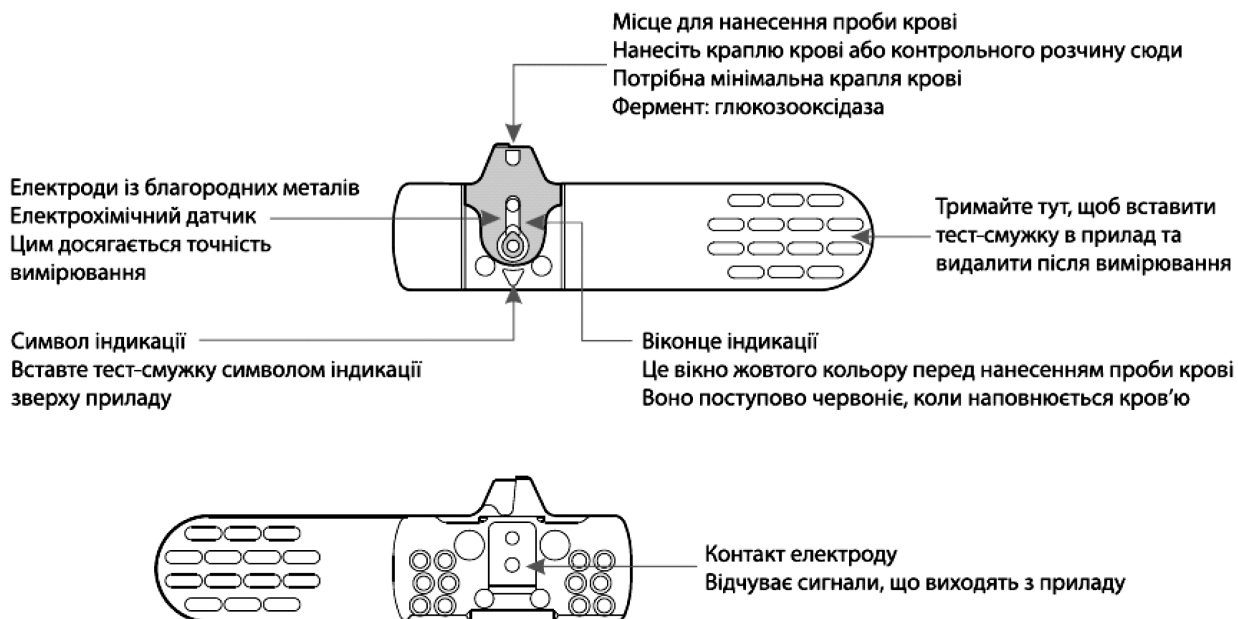
Тобто концентрація перекису водню точно дорівнює концентрації глюкози в крові. Отже, використання глюкозооксидазної реакції трансформувало завдання визначення концентрації глюкози в задачу визначення концентрації перекису водню, яка значно простіше першої.

Значна поширеність застосування даного глюкозооксидазного методу вимірювання концентрації глюкози у крові обумовлена його високою специфічністю та простотою виконання. На сьогодні даний метод визнаний одним з найбільш точних кількісних методів визначення глікемії. Слід зауважити, що в якості біологічного матеріалу використовується як сироватка крові, так і цільна кров. При роботі з останньої слід пам'ятати про той факт, що при взятті капілярної крові частка сироватки (плазми) залежить від величини гематокриту, а це може негативно відбитися на точності результату.

При аналізі результатів вимірювань необхідно враховувати особливості технології зчитування тест-смужки. За цією ознакою глюкометри поділяються на фотометричні і електрохімічні [6].

Фотометричні глюкометри визначають зміни забарвлення тест-зони, що виникає в результаті реакції глюкози зі спеціаль-

Запатентовані технології тест-смужок BIONIME Rightest Повна відповідність вимогам Міжнародного стандарту ISO 15197: 2013



ними реагентами, які нанесені на тест-смужку. Інтенсивність забарвлення і відповідає концентрації цукру в крові. Оптичною системою глюкометра виконується аналіз зміни кольору, на основі якого обчислюється рівень глюкози в крові. Даний метод вимірювання рівня глікемії має деякі недоліки, оскільки оптична система тендітна, вона вимагає особливого догляду, а отримані результати мають велику похибку. Це, так звані, «прилади першого покоління», технологія яких вже застаріла.

Електрохімічні глюкометри вимірюють показники глікемії відповідно до величини струму, що з'являється при реакції глюкози в крові зі спеціальними реагентами в тест-смужці.

Результати електрохімічного виміру більш точні, порівняно з фотометричними вимірами. Ці прилади вважаються глюкометрами третього покоління, технологія яких дозволяє мінімізувати вплив зовнішніх факторів на результат та отримати більш точні показання. Більшість таких приладів має калібрування по плазмі.

Прикладом поєднаного застосування сучасних технологій, що забезпечують високу якість, є глюкометри BIONIME Rightest.

У тест-смужках глюкометрів BIONIME Rightest®, що випускаються за запатентованою технологією із сплавів благородних металів, використовується фермент GOD (глюкозооксидаза). Окрім того, конструкція тест-смужки запобігає втраті електричного сигналу. Все вищезазначене забезпечує відсутність помилково завищених результатів та високу точність вимірювань.

Для проведення аналізу портативним глюкометром BIONIME Rightest необхідна проба цільної капілярної крові від 0,75 мкл до 1,4 мкл. Глюкоза піддається окисленню під впливом ферменту глюкозооксидази, який знаходиться в тест-смужці. Внаслідок реакції утворюється перекис водню, що дифундує через тест-смужку та окислюється далі під дією благородних металів. Дифузія перекису водню на поверхню сплаву благородних металів формує струм, сила якого пропорційна кількості H_2O_2 . Отриманий таким чином сигнал обробляється приладом у відповідне значення напруги. Це виміряне значення пропорційно концентрації глюкози в крові.

Глюкометри BIONIME Rightest зручні не тільки в домашніх умовах, їх використання цілком виправдано в стаціонарах

і поліклініках, де аналіз на глюкозу роблять переважно з капілярної крові.

Наприкінці слід зауважити, що, у провідних ендокринологічних центрах України було проведено дослідження з порівняльного тестування систем визначення рівня глюкози у крові. Отримані дані свід-

чать про високу точність у роботі як на високих, так і на низьких цифрах, простоту та надійність у процесі забору капілярної крові, швидкість проведення самого вимірювання при застосуванні глюкометрів BIONIME Rightest.

ЛІТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care* 2016; 39(1): S1-S112.
2. Biesenbach G, Auinger M, Clodi M, et al. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20(3): 559-565.
3. Aschner PJ, Ruiz AJ. *Diabetes Technol Ther* 2012; 14(1): 68-74.
4. Nalysnyc L, Hernandez-Medina M, Krishnarajah G. *Diabetes Obes Metab* 2010; 12(4): 288-298.
5. Freckmann G, Schmid C, Baumstark A, et al. *J Diabetes Sci Technol* 2012; 6(5): 1060-1075.
6. Timofeev AV. *Zhurnal dlja nepreryvnogo medicinskogo obrazovanija vrachej* 2014; 1/2: 38-46.
7. Romanov GN. Laboratornaja diagnostika saharnogo diabeta: Uchebno-metodicheskoe posobie dlja studentov lechebnogo i mediko-diagnosticheskogo fakul'tetov, *Gomel'*, 2012: 20 p.

ШЛЯХИ УДОСКОНАЛЕННЯ ВИЗНАЧЕННЯ ГЛІКЕМІЇ: ФЕРМЕНТАТИВНІ МЕТОДИ, ЇХ КЛАСИФІКАЦІЯ, ХАРАКТЕРИСТИКА, ПЕРЕВАГИ ТА НЕДОЛІКИ

Тихонова Т. М.¹, Смілка Ю. М.², Хижняк О. О.¹

¹ ДУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України»,
м. Харків, Україна;

² ТОВ «Долфі-Україна»
smilka.y@dolphi.com.ua

Наявність низки методів визначення глюкози у крові обумовлює необхідність оптимального вибору для отримання точних показників. Найбільше поширення зараз отримали ферментативні методи. Кожен з них має як переваги, так і недоліки. На сьогодні з найбільш точних кількісних методів визначення глюкози оксидазний, що обумовлено його високою специфічністю та простотою виконання. Прикладом поєднаного застосування сучасних технологій є глюкометри BIONIME Rightest. У тест-смужках зазначених глюкометрів, що випускаються за запатентованою технологією із сплавів благородних металів, використовується фермент глюкозооксидаза. Окрім того, конструкція тест-смужки запобігає втраті електричного сигналу. Все вищезазначене при використанні глюкометрів BIONIME Rightest® забезпечує високу точність вимірювань.

Ключові слова: цукровий діабет, глікемія, ферментативні методи, глюкометри.

ПУТИ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКЕМИИ: ФЕРМЕНТАТИВНЫЕ МЕТОДЫ, ИХ КЛАССИФИКАЦИЯ, ХАРАКТЕРИСТИКА, ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ

Тихонова Т. М.¹, Смілка Ю. Н.², Хижняк О. О.¹

¹ ГУ «Інститут проблем ендокринної патології ім. В. Я. Данилевського НАМН України», г. Харків, Україна;

² ООО «Долфи-Украина»
smilka.y@dolphi.com.ua

Наличие ряда методов определения глюкозы в крови обуславливает необходимость оптимального выбора для получения точных показателей. Наибольшее распространение сейчас получили ферментативные методы. Каждый из них имеет как преимущества, так и недостатки. На сегодняшний день из наиболее точных количественных методов признан глюкозооксидазный, что обусловлено его высокой специфичностью и простотой исполнения. Примером сочетанного применения современных технологий является глюкометры BIONIME Rightest. В тест-полосках указанных глюкометров, выпускаемых по запатентованной технологии из сплавов благородных металлов, используется фермент глюкозооксидаза. Кроме того, конструкция тест-полоски предотвращает потерю электрического сигнала. Все вышперечисленное при использовании глюкометров BIONIME Rightest® обеспечивает высокую точность измерений.

Ключевые слова: сахарный диабет, гликемия, ферментативные методы, глюкометры.

**WAYS OF IMPROVING THE DEFINITION OF GLYCEMIA:
ENZYME METHODS, THEIR CLASSIFICATION, CHARACTERISTICS,
ADVANTAGES AND DISADVANTAGES**

T. M. Tykhonova¹, Y. N. Smilka², O. O. Khyzhnyak¹

¹ *SI «V. Danilevsky Institute of Endocrine Pathology Problems of the NAMS of Ukraine», Kharkiv, Ukraine;*

² *«Dolphi-Ukraine» LLC*

smilka.y@dolphi.com.ua

The presence of a number of methods for determining blood glucose determines the need for an optimal choice for obtaining accurate indicators. Now the most widespread are the enzymatic methods. Each of them has both advantages and disadvantages. Today the glucoseoxidase method has been recognized the most accurate quantitative of these ones, which is due to its high specificity and simplicity of execution. An example of the combined application of modern technologies is the *BIONIME Rightest* glucometers. In the test strips of the indicated glucometers, manufactured using the patented technology of noble metal alloys, the enzyme glucose oxidase is used. In addition, the design of the test strip prevents the loss of an electrical signal. All of the above when using *BIONIME Rightest*[®] meters provides high measurement accuracy.

Key words: diabetes mellitus, glycemia, enzymatic methods, glucometers.