

**ČESKÉ VYSOKÉ
UČENÍ TECHNICKÉ
V PRAZE**

**FAKULTA
STROJNÍ**

**BAKALÁŘSKÁ
PRÁCE**



**NEINVAZIVNÍ
MONITORING
DIABETU**

2018

**JAN
FIKEJZL**



ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

I. OSOBNÍ A STUDIJNÍ ÚDAJE

Příjmení: **Fikejzl** Jméno: **Jan** Osobní číslo: **437752**
Fakulta/ústav: **Fakulta strojní**
Zadávající katedra/ústav: **Ústav přístrojové a řídicí techniky**
Studijní program: **Teoretický základ strojního inženýrství**
Studijní obor: **bez oboru**

II. ÚDAJE K BAKALÁŘSKÉ PRÁCI

Název bakalářské práce:

Neinvazivní monitoring diabetu

Název bakalářské práce anglicky:

Non-invasive monitoring of diabetes

Pokyny pro vypracování:

Rešerše současných metod a přístrojů používaných pro neinvazivní testování hladiny cukru v krvi. Porovnání metod, zhodnocení věrohodnosti naměřených hodnot, citlivosti metod, pohodlí pacienta. Návrh a provedení jednoduchého experimentu - optické měření koncentrace cukru v roztoku.

Seznam doporučené literatury:

Václavík, P.: Vlnová optika II, skriptum ČVUT
John L. Smith: The Pursuit of Noninvasive Glucose, 2015

Jméno a pracoviště vedoucí(ho) bakalářské práce:

Ing. Bc. Šárka Němcová, Ph.D., odbor přesné mechaniky FS

Jméno a pracoviště druhé(ho) vedoucí(ho) nebo konzultanta(ky) bakalářské práce:

Datum zadání bakalářské práce: **18.04.2018**

Termín odevzdání bakalářské práce: **15.06.2018**

Platnost zadání bakalářské práce:

Ing. Bc. Šárka Němcová, Ph.D.
podpis vedoucí(ho) práce

podpis vedoucí(ho) ústavu/katedry

prof. Ing. Michael Valášek, DrSc.
podpis děkana(ky)

III. PŘEVZETÍ ZADÁNÍ

Student bere na vědomí, že je povinen vypracovat bakalářskou práci samostatně, bez cizí pomoci, s výjimkou poskytnutých konzultací. Seznam použité literatury, jiných pramenů a jmen konzultantů je třeba uvést v bakalářské práci.

18.4.2018
Datum převzetí zadání

Podpis studenta

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracoval samostatně s tím, že její výsledky mohou být dále použity podle uvážení vedoucí bakalářské práce jako jejího spoluautora. Souhlasím také s případnou publikací výsledků bakalářské práce nebo její podstatné části, pokud budu uveden jako její spoluautor.

V Praze dne

Podpis:

Poděkování

Rád bych touto cestou poděkoval vedoucí bakalářské práce, paní Ing. Bc. Šárce Němcové, Ph.D., za trpělivost, ochotu ke konzultacím a podnětné návrhy k práci. Dále také panu Janu Barkovi za pomoc při sestavení elektronické desky měřící tepovou frekvenci.

Abstrakt

Teoretická část této práce popisuje diabetes a jeho rozdělení. Možnosti invazivního, minimálně invazivního a neinvazivního měření. V praktické části jsou teoreticky popsány refraktometry a interferometry, součástí je vyhodnocení měření na refraktometrech. V neposlední řadě teoretický popis spektroskopického měření tepu, spolu s vyhodnocením funkčnosti přiložené elektronické desky měřící tepovou frekvenci.

Klíčová slova

diabetes, invazivní, neinvazivní, refraktometr, interferometr, měření pulsu

Abstract

Theoretical part of this bachelor thesis describes diabetes and its classifications. Options of invasive, minimally invasive and noninvasive measurements. In the practical part are theoretically described refractometer and interferometric techniques with evaluation of refractometer measurement. Last but not least this bachelor thesis includes a heart rate measurement electrical board along with the theoretical explanation of the spectroscopic heart rate measurement.

Keywords

diabetes, invasive, noninvasive, refractometer, interferometer, heart rate

Obsah

Seznam zkratek	7
1. Úvod	8
2. Diabetes mellitus	9
2.1. Slivka břišní (pankreas).....	10
2.2. Typy diabetu	11
a) Diabetes mellitus 1. typu (IDDM).....	11
b) Diabetes mellitus 2. typu (NIDDM).....	11
c) Gestační diabetes mellitus (GDM).....	12
d) Shrnutí.....	12
3. Měření cukru, glykemie	13
3.1. Invazivní měření.....	16
3.2. Minimálně invazivní měření.....	18
Kontinuální měření glykemie (CGM).....	18
3.3. Neinvazivní měření	20
a) Fotometrie	20
b) Elektrochemie.....	21
c) Polarimetrie	22
d) Spektroskopie.....	24
a) Ramanova spektroskopie.....	28
b) Terahertzová spektroskopie.....	29
4. Praktická část.....	31
4.1. Měření refraktometry (sacharimetry).....	31
4.2. Měření Rayleighovým interferometrem.....	34
a) Michelsonův interferometr	34
b) Jaminův interferometr	36
c) Mach-Zehnderův interferometr	36
d) Michelsonův hvězdný interferometr.....	37
e) Rayleighův interferometr	37
4.3. Měření tepové frekvence	39
5. Závěr.....	41
6. Seznam použité literatury.....	42
7. Seznam obrázků	44
8. Seznam tabulek a grafů.....	46

Seznam zkratek

DM – *diabetes mellitus*

WHO – *world health organisation*

ECT – *extracelulární tekutina*

IDDM – *insulin-dependent diabetes mellitus*

LADA – *latent autoimmune diabetes mellitus in adults*

NIDDM – *non-insulin-dependent diabetes mellitus*

GDM – *gestational diabetes mellitus*

NIR – *near-infrared*

CGM – *continuous glucose monitoring*

ICT – *intersticiální tekutina*

GOD – *glukosaoxidáza*

POD – *peroxidáza*

MIR – *mid-infrared*

LED – *light emitting diode*

BPM – *beats per minute*

1. Úvod

Navrhnout, vyrobit a začít prodávat skutečně funkční přístroj, který neinvazivně měří cukr (glukosu) v krvi (plasmě) tak, aby měření bylo dostatečně přesné a opakovatelné, s chybou v bezpečných mezích, které neohrožují zdravotní stav člověka, který by nahradil domácí (invazivní) glukometry, jehož cena by nebyla závratně odlišná od současných přístrojů na trhu, je něco jako svatý grál všech výzkumníků zkoumajících tuto problematiku.

Tato práce si neklade za cíl tento problém vyřešit.

Cílem bakalářské práce je rozlišit současné metody měření koncentrace cukrů v roztoku a v krvi (glykemie). Popsat způsoby invazivního, minimálně invazivního a neinvazivního měření glykemie, se zaměřením na měření neinvazivní.

Zhodnotit dosahované přesnosti jednotlivých metod, jejich pohodlí pro člověka a realizaci ve skutečném světě mimo laboratorní prostředí.

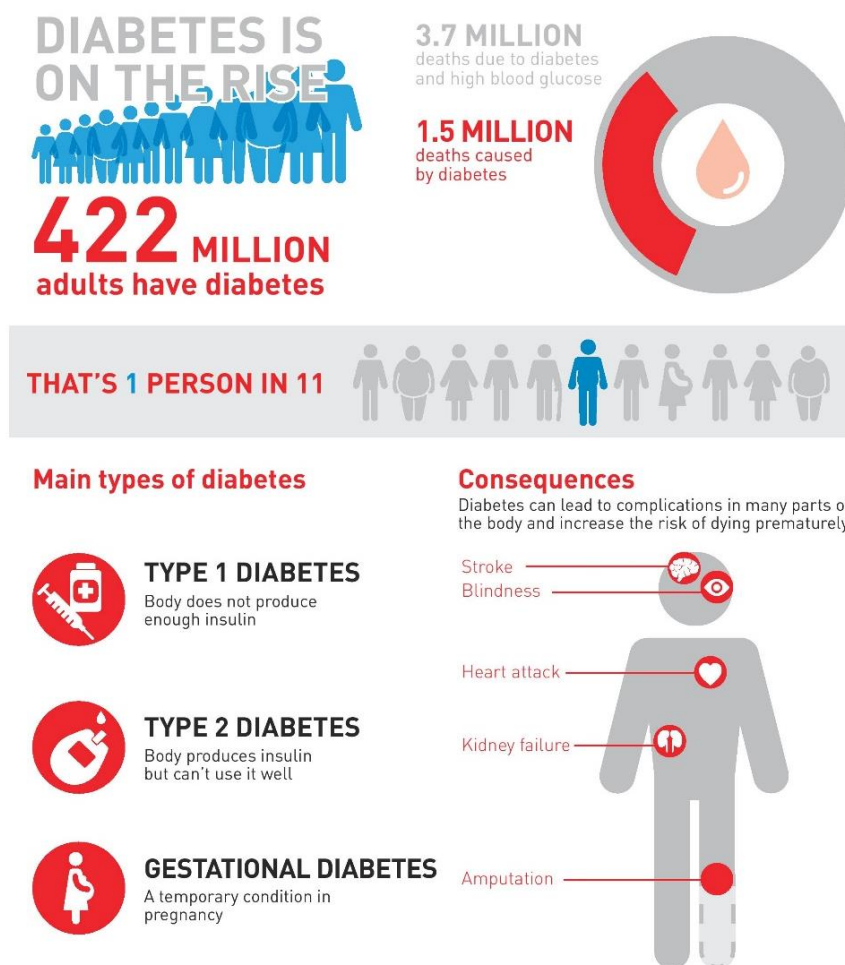
Součástí bakalářské práce je elektronická deska na měření tepové frekvence pomocí fotodiody, se kterou porovnávám a ukazuji problémy s obtížemi neinvazivního měření glukosy (velké zkreslení, slabý signál, odstínění šumu a okolního světla apod.).

2. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus (DM), česky úplavice cukrová, zkráceně cukrovka, je klinicky definován jako chronické endokrinní onemocnění projevující se poruchou metabolismu sacharidů, vyznačující se nedostatečnou tvorbou insulínu ve slinivce břišní, jeho nedostatečným využitím buňkami v těle nebo kombinací obojího. Důsledkem toho je neschopnost těla udržovat hladinu cukru v krvi v normálním rozmezí a s tím spojené zdravotní komplikace. [1]

Podle údajů světové zdravotnické organizace (WHO) celosvětově stoupl počet nemocných cukrovkou od osmdesátých let čtyřnásobně až na 420 milionů. WHO uvádí, že do roku 2030 bude DM mezi deseti nejčastějšími chorobami způsobujícími smrt. [2]

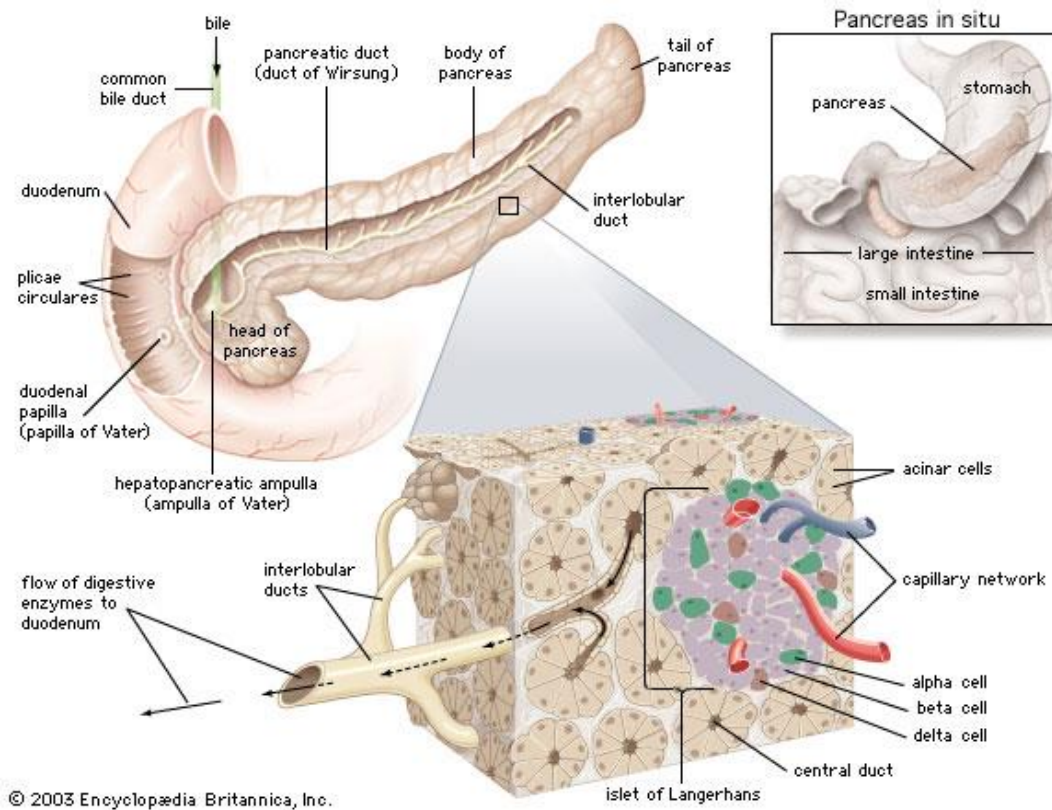
Hyperglykemie neboli zvýšený krevní cukr je jedním ze základních symptomů DM, její hodnota je nad 5,6 mmol/l u zdravých osob. Hypoglykemie je naopak snížená hodnota cukru v krvi, jde o pokles pod 3,3 mmol/l. ($1\text{mmol/l} = 18\text{mg/dl}$). [1]



Obr. 1 - Infografika WHO
(zdroj: www.who.int/diabetes/en/)

2.1. Slinivka břišní (pankreas)

Pankreas je u dospělého člověka 12-16 cm dlouhá žláza s vnější i vnitřní sekrecí o hmotnosti 60-90 gramů, která je součástí orgánů trávicí soustavy. Je umístěna za žaludkem na zadní stěně břišní napříč od dvanáctníku ke slezině. Dělí se na tři části – hlava (*caput n.*), tělo (*corpus n.*) a ocas (*cauda f.*). [1]



Obr. 2 - Slinivka břišní
(zdroj: Encyklopedie Britannica)

Exokrinní tkáň produkuje sekret s trávicími enzymy trypsinem (štěpí aminokyseliny na bílkoviny), lipázou (štěpí tuky na glycerol a mastné kyseliny) a amylázou (štěpí škrob na jednodušší cukry), které jsou součástí pankreatické šťávy (*succus pancreaticus*). Ta je vylučována do dvanáctníku, kde neutralizuje kyselou tráveninu (*chymus*) a výše zmíněné enzymy se podílejí na jejím trávení v tenkém střevě. [1]

„Endokrinní tkáň se liší od ostatních žláz s vnitřní sekrecí tím, že nevytváří samostatný orgán, ale je rozptýlena v podobě shluků ostrůvků buněk v exokrinní části slinivky břišní, tyto ostrůvky objevil a popsal, neznaje však jejich funkci, v roce 1869 Paul Langerhans, po kterém jsou nyní pojmenovány. Tvoří jen 2-3 % hmotnosti pankreatu (endokrinní část pankreatu váží $\approx 0,5 - 2$ gr), je jich kolem 1 miliónu a mají průměr 20-300 μm . V ocase slinivky jsou rozloženy hustěji, než v jejím těle a hlavě. V každém Langerhansově ostrůvku jsou buňky

několika typů, nejčastější jsou to buňky typu alfa a beta, tvořící asi 95 % buněk všech ostrůvků. V normální žláze je poměr mezi buňkami α a β – zhruba 4:1 až 8:1. V β -buňkách se vytváří a do oběhu vylučuje insulin, v α -buňkách jeho antagonistu glukagon.“ [1]

Insulin je metabolismus regulující hormon, jehož zásah do látkové přeměny se projeví zvýšeným využitím glukosy ve tkáních (buňkách) – ty dostávají nadbytek energie, kterou mohou ihned přeměnit na energii mechanickou, tepelnou apod. Působení insulínu umožňuje dobrou výkonnost buňky na účet glukosy v rozpuštěné extracelulární tekutině (Extracelulární tekutina (ECT) je tekutina v těle uložená mimo buňky. Tvoří asi 20 % celkové tělesné hmotnosti). Ušetří tím jiné zdroje energie, jako je jaterní a svalový glykogen, tukové zásoby nebo i vlastní bílkovinná tělesná hmota. Naopak tvorba těchto energetických zásob a základní tělesné hmoty se vlivem insulínu zvyšují. [1]

2.2. Typy diabetu

a) Diabetes mellitus 1. typu (IDDM)

Příčinou DM 1. typu je autoimunitní destrukce β -buněk Langerhansových ostrůvků slinivky břišní. Z toho plyne absolutní nedostatek endogenního insulínu a doživotní závislost na podávání exogenního insulínu – IDDM (*insulin-dependent diabetes mellitus*). Důvod vzniku choroby je neznámý, nejpravděpodobněji jde o vrozenou a dědičnou odchylku, která se projevuje různě brzy v průběhu života, nejčastěji však u dětí a mladistvých, kdy je destrukce Langerhansových ostrůvků velmi rychlá. [1]

b) Diabetes mellitus 2. typu (NIDDM)

Příčinou DM 2. typu je nedostatečná produkce insulínu β -buňkami pankreatu (po jejich vyčerpání přestane pankreas insulin produkovat úplně – viz. LADA), při současné poruše účinku insulínu, tzv. insulinové resistenci (neschopnosti buněk reagovat odpovídajícím způsobem na normální hladinu insulínu, dochází primárně ve svalech, játrech a tukových tkáních.) Postižena bývá zejména prvotní fáze uvolňování insulínu, kdy je insulínu uvolněno nedostatečné množství, v další fázi musí pankreas uvolnit zvýšené množství, aby korigoval vzniklou hyperglykémii. Pacient obvykle nebývá závislý na podávání insulínu – NIDDM (*non-insulin-dependent diabetes mellitus*). [1,3]

Uvádí se, že asi každý desátý nemocný původně klasifikovaný s DM 2. typu má pomalu probíhající DM 1. typu – i.e. LADA (*latent autoimmune diabetes mellitus in adults*). [3]

c) Gestační diabetes mellitus (GDM)

GDM (gestational diabetes mellitus) je porucha metabolismu cukrů v těhotenství, obvykle se projeví ve druhém trimestru, po ukončení vývoje základních orgánů dítěte. Po porodu většinou spontánně odezní. „GDM se projevuje tím, že slinivka produkuje insulin, ale ten kvůli insulinové rezistenci způsobené hormony placenty nesníží hodnotu cukru v krvi. Insulin sice nepřestupuje přes placentu, ale glukóza a jiné látky ano, dítě začne mít vyšší hodnoty glykemie ve své krvi. Zdravá slinivka dítěte začne produkovat více svého vlastního insulinu ke zvládnutí těchto vyšších hodnot glykemií. Dítě získává více energie, než je k běžnému růstu a vývoji potřebné a ukládá ji ve formě tuku. Je větší, než to odpovídá týdnu vývoje v těhotenství, tento stav se označuje jako makrosomie.“ [1,4]

d) Shrnutí

DM 2. typu tvoří okolo 90 % případů diabetu, zbytek připadá na DM 1. typu a GDM. DM 1. typu se u nás každoročně nově projeví asi u 300 dětí. DM 2. typu je mnohem častější, postihuje u nás asi 8 % obyvatel, z nichž někteří o této své poruše ještě ani neví. Z Tab. 2 je jasně viditelný růstový trend počtu pacientů s DM. [5]

DM 1. typu	DM 2. typu
chybí sekrece insulinu	insulinová rezistence, porucha sekrece insulinu
začátek v mladším věku	začátek v pozdějším věku
sklon k rychlému hubnutí	nadváha až obezita
výrazně subjektivní příznaky	často latentní průběh, nebo jen malé potíže
sklon ke ketoacidóze	malý sklon ke ketoacidóze
větší labilita glykemie	glykemie bez výraznějších výkyvů
velká citlivost na insulin	menší citlivost na insulin

Tab. 1 - Typy diabetu

	DM 2. typu	DM 1. typu	Sekundární diabetes	DM celkem
2015	786 586	57 945	13 479	858 010
2013	789 900	58 901	12 846	861 647
2011	758 719	55 542	11 121	825 382
2009	717 365	55 414	10 542	783 321
2007	692 074	52 813	10 074	755 000
2000	599 868	46 446	8 504	654 164
1997	555 883	39 020	5 402	600 306
1975	–	–	–	234 071

Tab. 2 - Počty pacientů s DM v ČR
(zdroj: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR)

3. Měření cukru, glykemie

Glukosa, sumárním vzorcem $C_6H_{12}O_6$, je jednoduchý cukr, monosacharid, běžně označovaná jako hroznový nebo krevní cukr. V lékařském prostředí se stále označuje jako dextrosa. Vyskytuje se jak v řetězové, tak v cyklické formě. Má značně nevýraznou charakteristiku, s přihlédnutím k tomu o jak důležitou molekulu se jedná. Je bezbarvá, nejenom ve viditelném světle, ale i v blízkém infračerveném světle (*NIR – near-infrared, 750-2500 nm*). Její významnou vlastností je to, že stáčí polarizované světlo doprava (*dexter m. - pravý*).

Také známe její index lomu světla a spektrální křivky, toho se dá při měření využít a závisí na tom volba možných metod (*optické metody*). Častěji se tyto vlastnosti opomíjí a měří se nepřímo (*chemické metody*). [6]

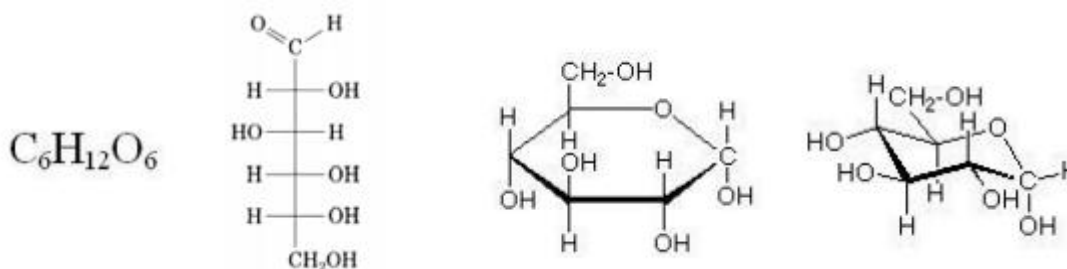
Změna koncentrace glukosy se opticky projevuje změnou indexu lomu, změnou polarizace a změnou spektrální křivky – z toho vyplývají možné metody měření.

Glukosa, která je v krvi a jejíž změny koncentrace jsou ovlivňovány také krevním oběhem, se nachází i ve všech tkáních v různých množstvích a koncentracích uvnitř i mimo buňky, stejně jako v krevních cévách, závislých na hladině insulinu a jak je to dlouho od posledního jídla. Hlavním úkolem, jak zprovoznit jakoukoliv metodu měření, je odlišit signály glukosy od šumu ostatních molekul v pozadí. [6]

Množství glukosy v lidském těle je rovněž velice malé, normální hladina glykemie u zdravého člověka je přibližně 100 mg/dl, u hypoglykemie, kdy je měření nejkritičtější (mozku chybí glukosa a tělo posléze upadá do kómatu), je tato hodnota poloviční. Pro představu, v těle dospělého člověka se nachází přibližně 5 litrů krve, takže 100 mg/dl odpovídá 5 gramům cukru, což je zhruba jedna čajová lžička. [6]

Přesnost a opakovatelnost měření všech glukometrů je kontrolována a jde o splnění všech požadavků na kvalitu podle kritérií normy ISO 15197:2013. Podle této normy nesmí chyba měření koncentrace glukózy vůči referenční metodě u více než 95 % výsledků měření překročit tyto hodnoty:

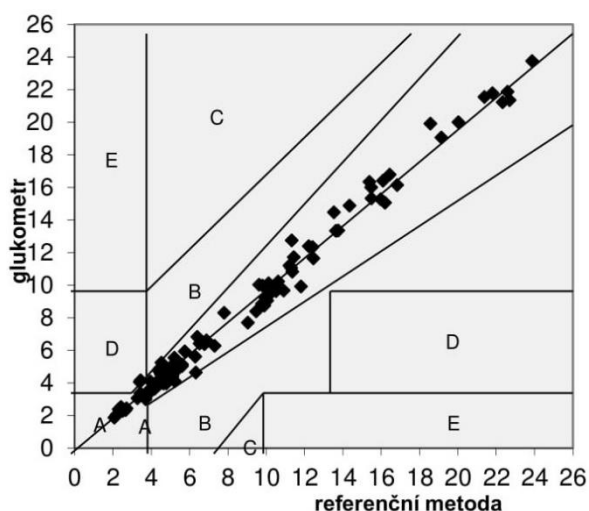
$\pm 0,83 \text{ mmol/l}$ pro koncentrace $< 5,6 \text{ mmol/l}$
 $\pm 15 \%$ pro koncentrace $\geq 5,6 \text{ mmol/l}$. [7]



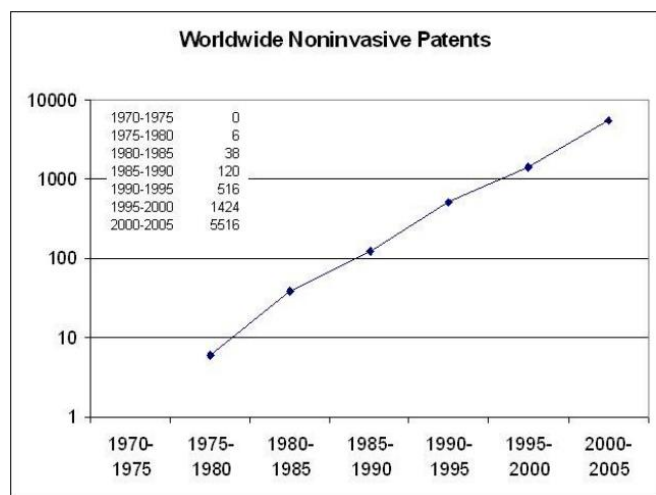
Obr. 3 - Vzorce d-glukosy [6]

Pro správné měření glykemie je nutné si uvědomit několik věcí. Čím je menší koncentrace, tím musí být měření přesnější - jeho chyba musí být relativní měřené koncentraci (viz ISO norma výše a Obr. 4 níže). S měnící se teplotou se také mění index lomu. (viz Tab. 3). Měření může ovlivnit teplota okolí, užívané léky; barva pleti, vlhkost vzduchu, pH etc..

Spousta výzkumníků, kteří představují nové metody a převratné výrobky takto neuvažuje, a proto jejich snaha končí nezdarem – výrobek nemůže splnit klinické testy. Většinou podobné produkty vznikají pouze kvůli patentu – výrobek nemusí fungovat, ale díky patentu má jeho majitel jistotu, že po nějakou dobu vlastní „monopol“ na daný nápad a z toho plynoucí finance. Není správné tvrdit, že žádný z již podaných patentů nebude slavit v budoucnu komerční úspěch, ale pravdou je, že se to zatím žádnému nepodařilo, takže je nutné brát všechny převratné objevy s rezervou.



Obr. 4 - Správné rozložení výsledků měření [7]



Obr. 5 - Počet neinvazivních patentů [6]

Temperature, °C	Wavelength					
	226.5 nm	361.05 nm	404.41 nm	589 nm	632.8 nm	1013.98 nm
0	1.3945	1.34896	1.34415	1.33432	1.33306	1.32612
10	1.39422	1.3487	1.34389	1.33408	1.33282	1.32591
20	1.39336	1.34795	1.34315	1.33336	1.33211	1.32524
30	1.39208	1.34682	1.34205	1.3323	1.33105	1.32424
40	1.39046	1.3454	1.34065	1.33095	1.32972	1.32296
50	1.38854	1.34373	1.33901	1.32937	1.32814	1.32145
60	1.38636	1.34184	1.33714	1.32757	1.32636	1.31974
70	1.38395	1.33974	1.33508	1.32559	1.32438	1.31784
80	1.38132	1.33746	1.33284	1.32342	1.32223	1.31576
90	1.37849	1.33501	1.33042	1.32109	1.31991	1.31353
100	1.37547	1.33239	1.32784	1.31861	1.31744	1.31114

Tab. 3 - Rozdíly indexu lomu vody na teplotě a vlnové délce [8]

Index lomu světla n (1) je bezrozměrné číslo, které popisuje, jak se světlo šíří skrz optické prostředí. Udává poměr mezi rychlostí světla ve vakuu c a rychlostí šíření světla v dané látce v . Takto definovaný se označuje jako absolutní index lomu světla. Relativní index lomu světla n_{21} (2) udává poměr mezi absolutními indexy lomu světla n_1 a n_2 .

Snellův zákon (3) popisuje vztah mezi indexy lomu světla a úhly dopadajícího paprsku α resp. lomeného paprsku β . Jde o jeden ze základních zákonů optiky.

$$n = \frac{c}{v} \quad (1)$$

$$n_{21} = \frac{n_2}{n_1} \quad (2)$$

$$n_1 \cdot \sin(\alpha) = n_2 \cdot \sin(\beta) \quad (3)$$

Index lomu světla glukosy zjistíme podle Gladston-Daleova vzorce (4) kde C je koncentrace glukosy a α je specifický přírůstek indexu lomu světla. Tento vztah je platný pouze pro vodní roztoky, nicméně lze jej použít i pro výpočet indexu lomu světla glukosy v krvi, resp. plasmě, která zajišťuje přenos glukosy v těle, protože plasma je z 90 % vodou (viz. Obr.6). [8]

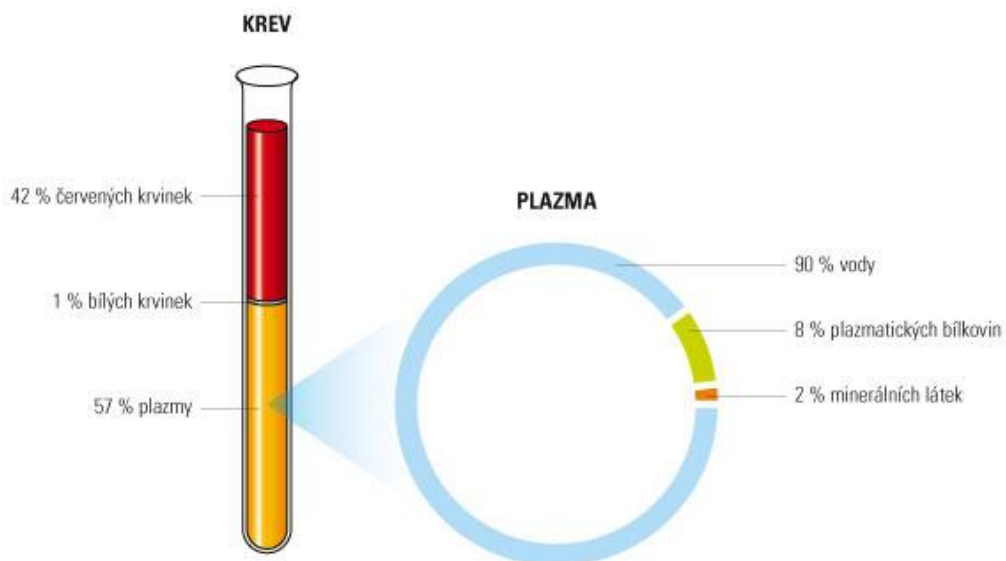
Gladston-Daleův vzorec platí pro velké množství odlišných látek, za předpokladu, že koncentrace C je vyjádřena jako hmotnost na jednotku objemu, i.e. gramů rozpouštěné látky v 100 ml roztoku. Specifický přírůstek indexu lomu světla α [ml/g] je konstanta, o kterou navýšíme index lomu světla roztoku při změně koncentrace C o 1 %. Úpravou vzorce (4) získáme vzorec pro výpočet specifického přírůstku indexu lomu světla rozpouštěné látky (5). [9]

$$n = n_0 + \alpha \cdot C \quad (4)$$

$$n - n_0 = \alpha \cdot C \quad (5)$$

Molekula	glukosa	proteiny	lipidy	hemoglobin	DNA
Refrakční přírůstek α [ml/g]	0,142	0,18	0,14	0,194	0,18

Tab. 4 - Specifické refrakční přírůstky vybraných molekul [9]



Obr. 6 - Složení krve
(zdroj: MU – Fyziologie tělních tekutin)

3.1. Invazivní měření

Invazivní měření je dle definice takové měření, které porušuje kožní kryt a dochází při něm ke kontaktu čidel s tělesnými tekutinami či tkáněmi člověka. [6]

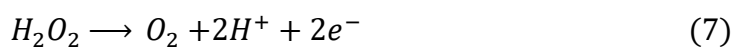
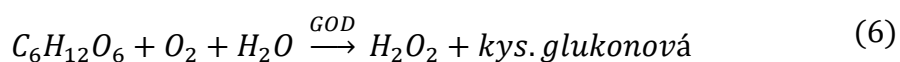
V současnosti jsou nejrozšířenější domácí měřící přístroje glykemie glukometry 2. generace. Jejich předností je rychlost, přesnost a také nízká cena (nejlevnější začínají na 400 Kč, kvalitnější přístroje okolo 1000 Kč). Odběr kapilární krve se provádí pomocí odběrových per, tzv. lancet, vzorek krve se nanese na sběrnou plochu testovacího proužku (ceny testovacích proužků se pohybují od 5 do 15 Kč), poté se vloží do přístroje, kde se fotometrickou (1. gen.) nebo elektrochemickou (2. gen.) cestou stanoví hodnota glykemie. Objem odebraného vzorku krve se liší podle přístroje, nejčastěji 0,3-1 μl (v minulosti přístroje vyžadovaly větší objem vzorku, až 30 μl). Čas potřebný k vyhodnocení se pohybuje v intervalu od 3-60 s. Všeobecně platí, že novější (a dražší) glukometry potřebují k vyhodnocení menší objem krve a méně času. [6]

Elektrochemické přístroje pracují na principu přímého měření elektrických veličin. Většina glukometrů dnes využívá enzymové elektrody. [6]

Stejně jako u fotometrické metody (viz. 3.3.a) se užívá biochemických reakcí kyslíku s glukosou. Elektrodotový systém je v bezprostředním kontaktu se vzorkem (nejčastěji krev, někdy plasma, či sérum), který se před vlastním měřením neředí ani jinak neupravuje. Jde o reakci probíhající na anodě, vznikuvší peroxid vodíku je elektrochemicky redukován na vodík, kyslík a elektrony, které akceptuje tzv. mediátor. Redukovaný mediátor se znovu oxiduje na anodě a měří se proud protékající mezi katodou a anodou (ampérometrické stanovení). Výsledek je málo citlivý ke změně objemu vzorku, ale může být ovlivněn změnou ve složení krve. [10]

Ojediněle je měrnou veličinou výsledný náboj anody (coulombometrické stanovení). Přímé coulombometrické stanovení se provádí do úplného spotřebování analytu. Výsledek je ze své podstaty málo citlivý ke změnám ve složení krve, pokud nepřehlídíme k možným interferencím (např. léčiv), na druhou stranu je velmi citlivý na odchylky v objemu vzorku. [10]

Vzniklý elektrický proud nebo prošlý elektrický náboj je úměrný koncentraci glukosy ve vzorku. [10]

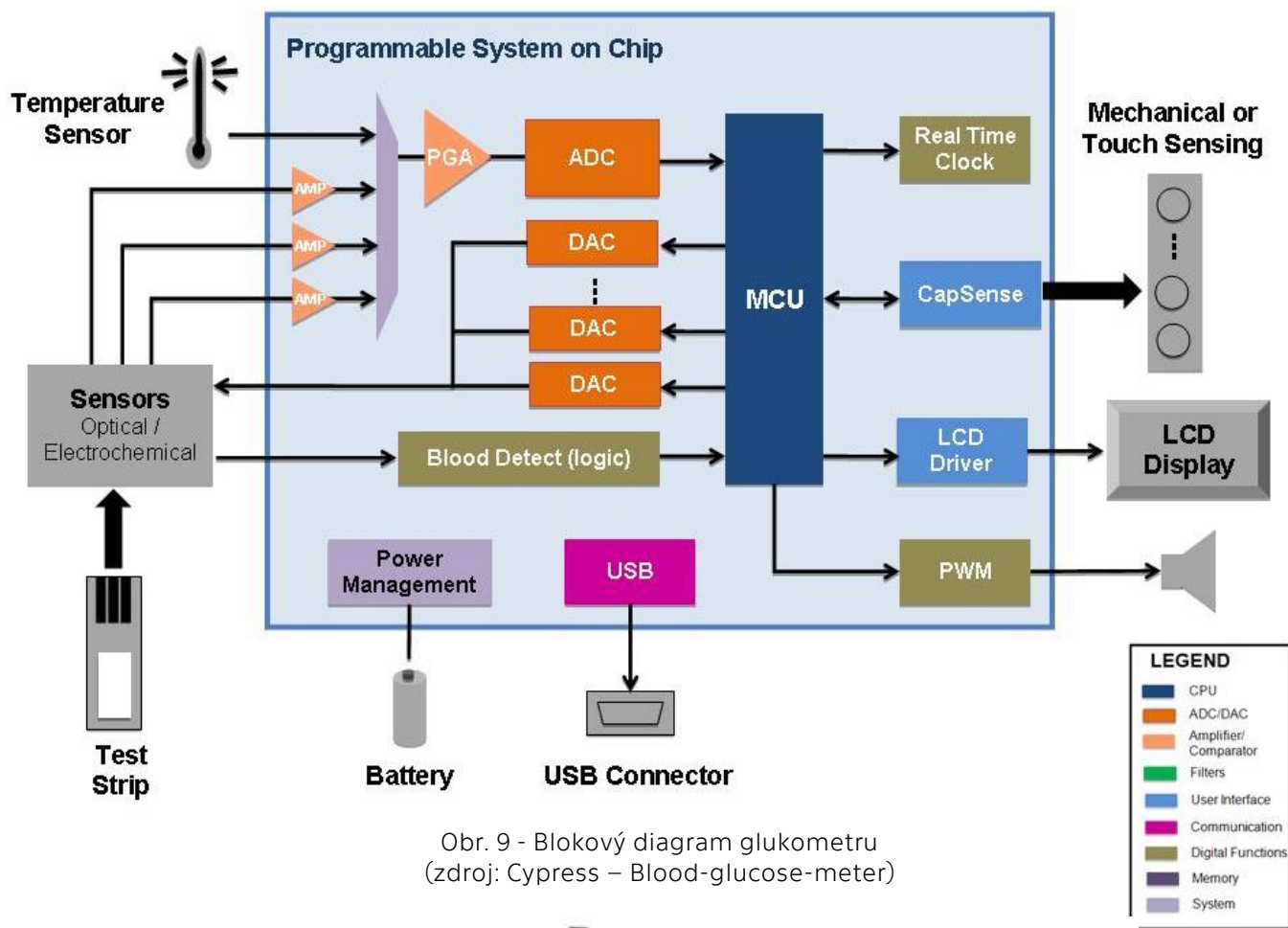


Diabetes Control Card	HbA _{1c} test score	MEAN BLOOD GLUCOSE	
		mg/dL	mmol/L
	14.0	380	21.1
	13.0	350	19.3
	12.0	315	17.4
	11.0	280	15.6
	10.0	250	13.7
	9.0	215	11.9
	8.0	180	10.0
	7.0	150	8.2
	6.0	115	6.3
	5.0	80	4.7
4.0	50	2.6	

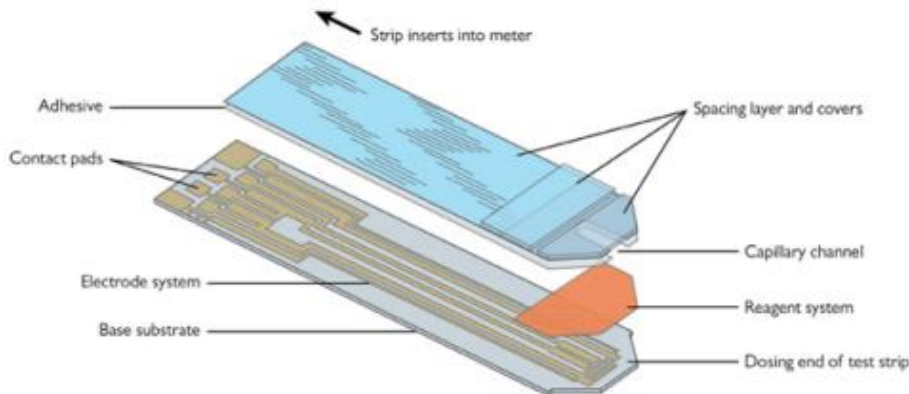
Obr. 7 - Hodnoty glykovaného hemoglobínu a glykémie [2]



Obr. 8 - Glukometr Bayer (zdroj: www.Biolab.gt – Diabetes)



Obr. 9 - Blokový diagram glukometru (zdroj: Cypress – Blood-glucose-meter)



Obr. 10 - Schema testovacího proužku (zdroj: Harvey Buck – Bringing Glucose Monitoring to New Levels)

3.2. Minimálně invazivní měření

Otázka, jak definovat hranici mezi minimálně invazivním a skutečně neinvazivním měřením se přímo nabízí. Co je neinvazivní pro jednoho, může být invazivní pro druhého. Často navrhovaný přístup je takový, že se měřící zařízení vloží pod kůži a koncentrace glukosy je měřena nepřímo, přes sloučeninu, jejíž změna barvy, intenzity barvy nebo fluorescence odpovídá změně koncentrace glukosy (viz. 3.3.a) nebo elektrochemicky (viz. 3.1.a). Jednalo by se o neinvazivní měření, ale samotné vložení zařízení je invazivní.

Takové metody se již používají, zejména pro kontinuální měření glykemie – CGM (*continuous glucose monitoring*). O minimálně invazivním měření má tedy smysl mluvit tehdy, pokud je interval vkládání nového zařízení co nejdelší.

Současný trend je v miniaturizaci použitých zařízení a prodloužení jejich životnosti. Zařízení se nejčastěji připevňují náplastmi, aby se náplast neodlepovala a držela po celou dobu životnosti zařízení, senzor a vysílač musí být co nejmenší a nejlehčí. Používané senzory (většinou elektrody Pt-Ir, Au) mají také omezenou životnost, povlakují se, aplikují se na ně chemicky selektivní filtry etc., aby se zvýšila jejich biokompatibilita. [6,11]

Kontinuální měření glykemie (CGM)

Možnost měřit vývoj glykemie po celý den téměř nepřetržitě, po několik dnů až 2 týdnů (současnost) s možností zaznamenávat výkyvy glykemie, s alarmy blížící se hypo/hyper glykemie, bez nutnosti několikrát denně používat standardní glukometr (využívá se obvykle 1x denně ke kalibraci) značně usnadňuje život pacientům s DM 1. typu.

Princip CGM je stejný jako u běžného glukometru (viz. 3.1.a), senzor se připevní (vpíchne) do intersticiální tekutiny (ICT, tkáňový mok, vyplňující prostor mezi buňkami, tvoří 15 % ECT). Protože měření není z kapilární krve, ale z ICT, kde je zpoždění hladiny glykemie kolem 4-10 min, v závislosti na teplotě, prokrvení etc., je tomu přizpůsoben i vzorkovací interval (1-5min).

Přístroj na CGM se skládá ze tří částí, senzoru, vysílače a přijímače. Nejdražší je kvůli použitým materiálům a povlakům senzor, který stojí kolem 1000 Kč a musí se měnit nejčastěji (1.gen. 3 dny, 2.gen. 1-2 týdny, budoucnost měsíce). Vysílač stojí přibližně 5 000 - 10 000 Kč (vydrží 3-6 měsíců, v závislosti na použité technologii, e.g. bluetooth). Přijímač stojí kolem 10 000 Kč (životnost je až 5 let, nebo se nemusí používat vůbec – využije se mobilní telefon, nevýhodou je nutnost používat dražší vysílače).

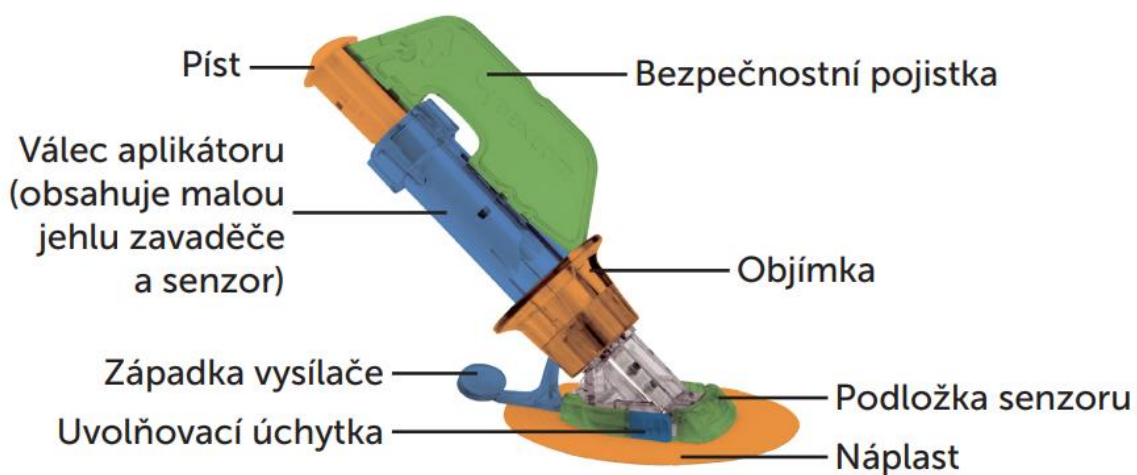
Přístroje na CGM se v současnosti jeví jako vhodný kompromis mezi pohodlím, přesností měření a cenou. Existuje možnost sběru dat všech pacientů užívajících daný typ přístroje a jejich následná analýza pro zlepšení efektivity léčby, jako je například přesnější dávkování insulínu, srovnání s ostatními pacienty etc. To vše za předpokladu, že se podaří vyřešit problémy s anonymizací dat, jejich možným odposloucháváním a podvrhy, které mohou ohrozit uživatele na životě. [11]



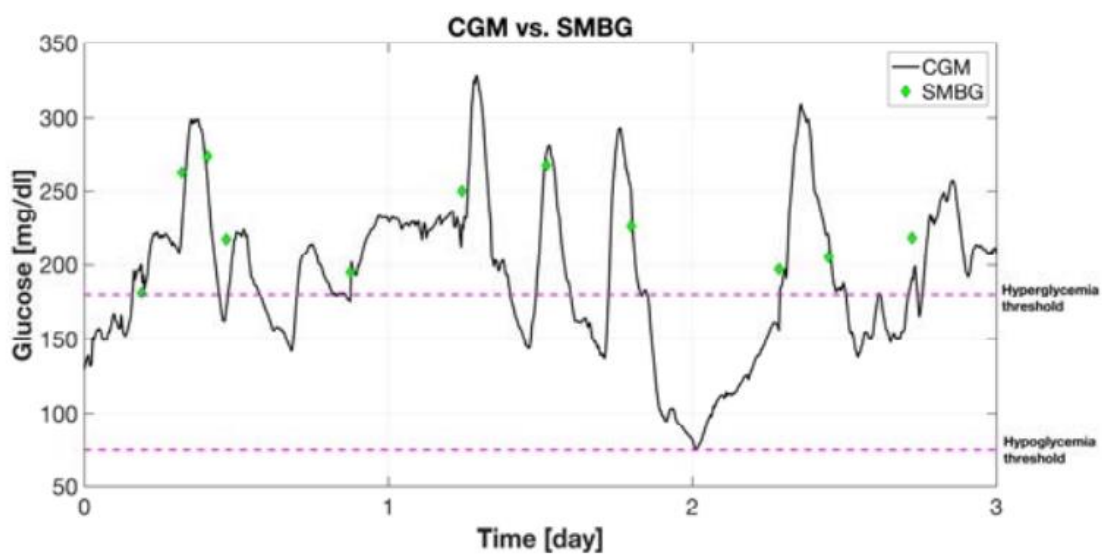
Obr. 11 - Sensor a vysílač Dexcom
(zdroj: Návod k použití Dexcom G4 Platinum)



Obr. 12 - Kompletní CGM firmy Dexcom
(zdroj: Návod k použití Dexcom G4 Platinum)



Obr. 13 - Zaváděcí píst sensoru Dexcom
(zdroj: Návod k použití Dexcom G4 Platinum)



Obr. 14 - Glykemická křivka změřená CGM,
porovnání se standardním glukometrem [11]

3.3. Neinvazivní měření

Neinvazivní měření je dle definice takové měření, které nezpůsobuje bolest a nepohodlí. Neužívá se krve ani jiné tělní tekutiny získané porušením kožního krytu, nevyžaduje poškození tkání nebo jejich porušení. [6]

Měření glykemie je pro pacienty s DM cestou (mimo diety a tělesné aktivity), jak nemoc zvládat. Důvody, proč si mnozí pacienti neměří hladinu glykemie dostatečně často, jsou diskomfort při propichování tkáně a cena testovacích proužků. Neinvazivní přístroj řeší tyto problémy, a i když jeho pořizovací cena bude určitě vyšší než u standardního glukometru, ve výsledku ušetří jak pacienti, tak i pojišťovny.

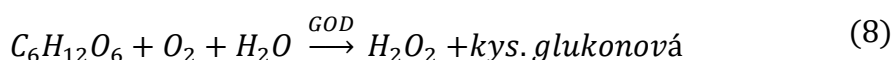
Ze samotné podstaty neinvazivního měření je jasné, že se výzkumníci musí spokojit se získáváním vzorků z moči, slin či slz, nebo využít optických metod.

a) Fotometrie

Jedná se o nepřímé měření. Měřené médium je nejčastěji moč. Stanovení koncentrace glukosy je založeno na změně absorbance vhodné vlnové délky elektromagnetického záření (změně barvy) testovacího proužku, způsobené některým produktem či meziproduktem chemické reakce, jejíž součástí je glukosa. [6]

Glukosa se oxiduje vzdušným kyslíkem za přítomnosti dodávaného enzymu glukosaoxidázy (GOD), který katalyzuje biochemickou reakci, která produkuje kyselinu glukonovou a peroxid vodíku. V další reakci katalyzované peroxidázou (POD) reaguje vznikající peroxid vodíku s vhodným chromogenem, který se oxiduje na reaktivní meziproduct, a ten s další látkou kopuluje na stálé rozpustné barvivo. [10]

Příkladem může být oxidační kopulace derivátu fenolu se 4-aminoantipyrinem (4-AP) na červené barvivo, množství tohoto barviva, jehož absorbance se po ustálení reakční rovnováhy měří, je přímo úměrné koncentraci glukosy ve vzorku. Tyto glukometry patří mezi glukometry tzv. první generace, v současné době je tato technika na ústupu, kvůli limitám tohoto přístupu – složitá a časově náročná příprava testovacího proužku spolu s faktem, že k vyhodnocení se nepoužívá spektrometr, ale oko, jehož schopnost rozlišit barvy se snižuje postupně s přibývajícím věkem. Touto metodou se také měří bílkoviny, ketony, krev a pH. [10]

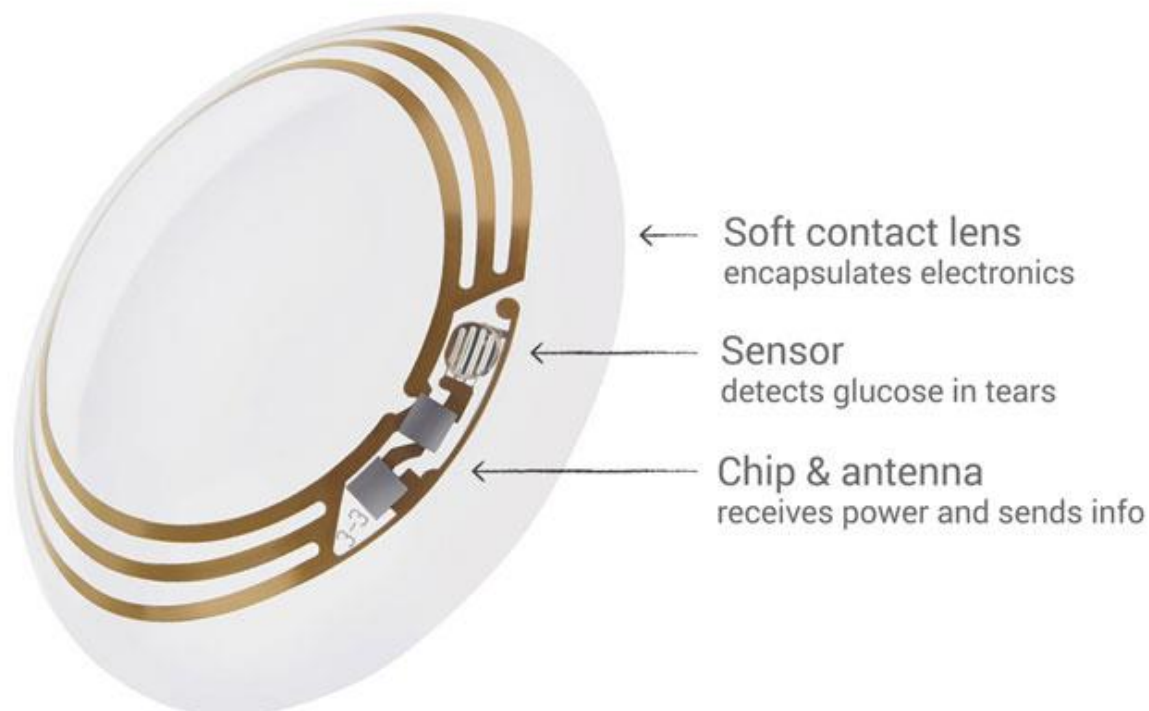


b) Elektrochemie

Další uvažované médium jsou slzy. O měření glykemie pomocí speciálních kontaktních čoček, které mění barvu či fluorescenci (viz. 3.3.a) se hovoří už dlouho, zatím neexistuje produkt, který by měl uspokojivé výsledky, z důvodů uvedených níže.

V roce 2013 Google a Novartis oznámili snahu vyrobit kontaktní čočky s elektrochemickou detekcí glukosy (viz. 3.1.a). Problémem však je nestálá produkce slz během dne, která je navíc ovlivňována nezvyklými faktory e.g. emoční výkyvy; teplotou a vlhkostí. Mezi koncentrací glukosy v krvi a v slzách sice existuje korelace, má však nedostatečné parametry pro měření glykemie. Další překážkou je obava, že katalyzátor glukosaoxidáza i produkt reakce s glukosou peroxid vodíku budou mít dráždivý nebo i toxický efekt na citlivou tkáň v oku. Je nepravděpodobné, vzhledem ke zmíněným komplikacím, že někdy vznikne kontaktní čočka, která by měřila glukosu a měření mělo uspokojivé výsledky. [6]

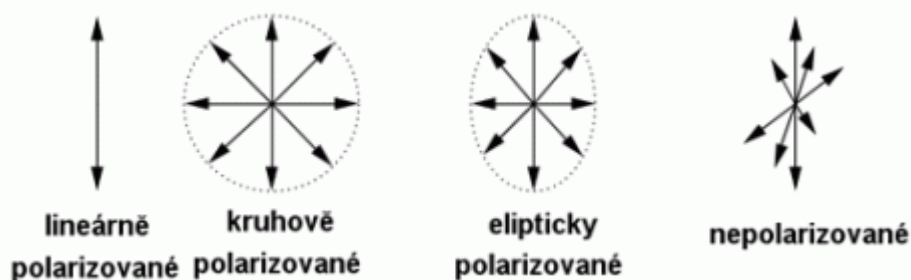
Na tomto příkladu je krásně vidět, jak je neinvazivní měření glykemie ohromně složitá věc, když ani dva giganti svých oborů, kteří spojí své síly, nejsou schopni dojít alespoň k nějakým závěrům. Tajná laboratoř Googlu, Google(X) nevydala od roku 2014 žádné prohlášení, podle všeho to vypadá, že se projekt zastavil.



Obr. 15 - Idea měřicí čočky podle Googlu a Novartisu
(zdroj: Google Inc., Mountain View, CA, US)

c) Polarimetrie

Polarimetrie je metoda založená na jevu, při kterém opticky aktivní látky stáčí rovinu polarizovaného světla. Světlo je obecně nepolarizované, tzn. že elektrická i magnetická složka vlny (\vec{E} , \vec{B}) mění směr náhodně. Výsledný vektor opisuje křivku, která má nahodilý tvar. Odrazem, lomem, filtrem aj. můžeme dosáhnout toho, že vektor opisuje v obecných případech elipsu, ve speciálních případech kružnici nebo přímku. Hovoříme tedy o polarizaci eliptické, kruhové a lineární. [6]



Obr. 16 - Druhy polarizace
(zdroj: Techmania Science Center)

Úhel pootočení roviny polarizovaného světla α se vyjádří ze vzorce (10), kde l je tloušťka vrstvy opticky aktivního prostředí, Δn je rozdíl indexů lomu a λ je vlnová délka procházejícího světla. [6]

Pro srovnání optické aktivity různých látek je vhodné vztáhnout úhel pootočení roviny polarizovaného světla na jednotkovou koncentraci, definujeme specifickou otáčivost $[\alpha]_{\lambda}^T$ (11), kde l je délka kvety a c hmotnostní koncentrace látky. Hodnoty speciální otáčivosti jsou tabelované a obecně platí při 20°C a použitím světlu o vlnové délce 589 nm. [6]

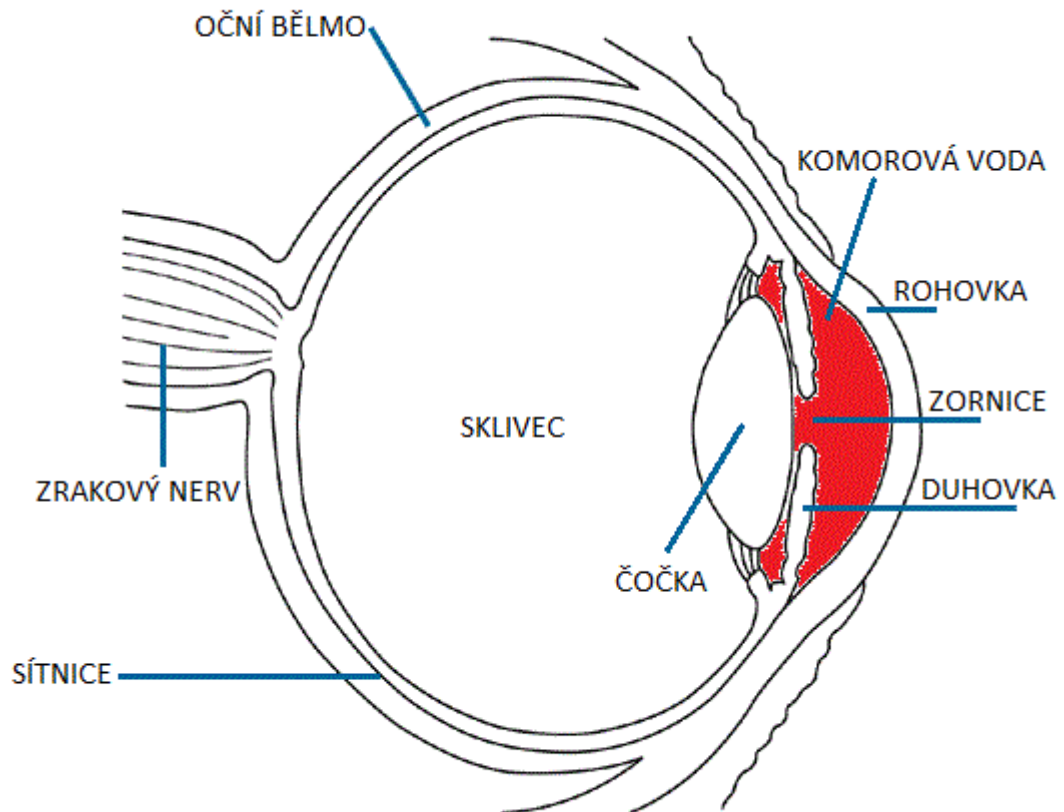
$$\alpha = \frac{180 \cdot l \cdot \Delta n}{\lambda} \quad (10)$$

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l \cdot c} \quad (11)$$

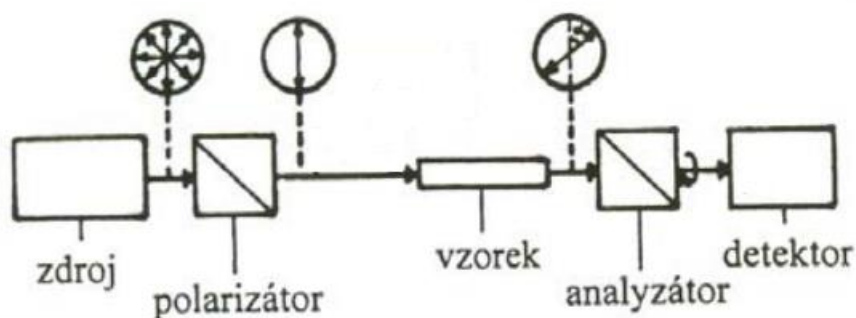
Specifická otáčivost glukosy je $+56.2 \text{ stupňů (g/dl)}^{-1} \text{ dm}^{-1}$. To znamená, že se při koncentraci jednoho gramu glukosy na decilitr a délce dráhy 100 mm rovina pootočí o $+56,2^\circ$. Taková koncentrace (1000 mg/dl) je 10x vyšší než normální hodnoty glykemie (100 mg/dl). Zároveň je normální tloušťka tkáně, ve které se dá měřit, kolem 1-2 mm. Pro změření změny 1 mg/dl je tedy třeba docílit přesnosti měření $0,00056^\circ$. [6]

Nejčastěji se tato metoda zkouší v komorové vodě (*aqueous humor*), v přední komoře oka mezi rohovkou a čočkou (viz. obr. 13). Přestože existuje korelace mezi koncentrací glukosy v komorové vodě a krvi, není komorová voda na měření vhodná. Obnovuje se s přibližnou rychlostí 1/100 celkového objemu za minutu. Což představuje zpoždění mezi reálnou hodnotou v krvi přibližně 45 min – 1 h, to je nebezpečně dlouhá doba pro pacienta s možnou hypoglykemií. [6]

Objem komorové vody v přední komoře oka mezi rohovkou a duhovkou je přibližně 200 μl , v zadní komoře mezi duhovkou a čočkou 100 μl . I kdyby se glukosa dala měřit v komorové vodě (zatím se to nikomu nepodařilo), zcela určitě by takové měření nebylo přesné a takový přístroj by nespĺnil klinické testy. Polarimetrie se běžně používá při zjišťování hladiny cukru, avšak médiem je moč. [6]



Obr. 17 - Schema oka
(zdroj: Anatomy structure – Human Eye Diagram Unlabelled)



Obr. 18 - Schema polarimetru
(zdroj: VŠCHT – Metody založené na interakci hmoty a elmag. záření)

d) Spektroskopie

Spektroskopické metody, které zjišťují přítomnost látky nebo její koncentraci, jsou založené na interakci vzorku s elektromagnetickým zářením. Transmittance je množství světla určité vlnové délky, které prošlo vzorkem (12). Absorbance udává množství světla, které bylo pohlceno vzorkem, jedná se o inverzní funkci k transmittanci. (13). Za jistých podmínek můžou látky vyzařovat světlo, nazýváme emise. (14). Když vyneseme množství transmittance, absorbance anebo emisivity proti vlnové délce, získáme spektrální křivku neboli spektrum. Spektrální křivka je jedinečná pro každý materiál, jinými slovy, neexistují dva chemicky stejné materiály, které mají stejné absorpční nebo emisní spektrum. Každý materiál má specifické a přiměřeně unikátní spektrum, které závisí na jeho chemické struktuře, skupenství a teplotě, ale množství informace, nacházející se ve spektru se značně liší region od regionu (oblast vlnových délek). Příkladem může být detekce stopových množství vody, která má ve viditelném spektru namodralou barvu, ale musí se jí nacházet hodně na jednom místě, aby to bylo znatelné. V NIR a zejména v MIR (*mid-infrared*, 2,5-5 μm) regionu má voda značně vysokou absorbanci (má velmi tmavou „barvu“), a proto se lehce detekuje. [6]

Většina tkání v lidském těle je moc tlustá na to, aby šlo provést transmittanční měření, na vlnových délkách, které jsou vhodné pro glukosu (850 nm, 1150 nm, 1300 nm, 1650 nm, 1900 nm, 2100 nm, 2300 nm etc.), proto se využívá alternativní technika – odrazivost. Jedná se o optickou vlastnost materiálu, která popisuje, množství světla odraženého od materiálu v poměru k množství světla dopadlého. Existují dva druhy odrazivosti, přímý – platí zákon odrazu a difuzní – odražené světlo je odraženo do všech směrů. [6]

Světlo, namířené na povrch tkáně, pronikne do hloubky a velice malé procento se odrazí zase zpátky. Odhad odrazu z tkáně je těžký, protože světlo proniká do míst, kde je mnoho odlišných povrchů e.g. kolagenová vlákna, tuk a buňky, které ho rozptylují, světlo se vrací zpět velmi slabé a stěží obsahuje informace o glukose. [6]

$$T = \frac{I_v}{I_b} \quad (12)$$

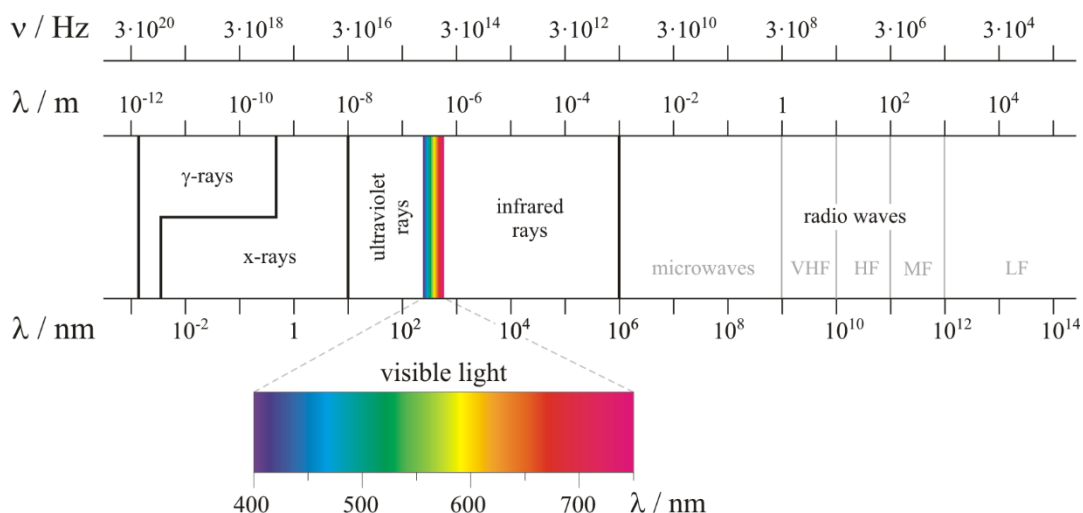
kde I_v je intenzita světla vzorku a I_b je intenzita světla slepého vzorku

$$A = -\log T \quad (13)$$

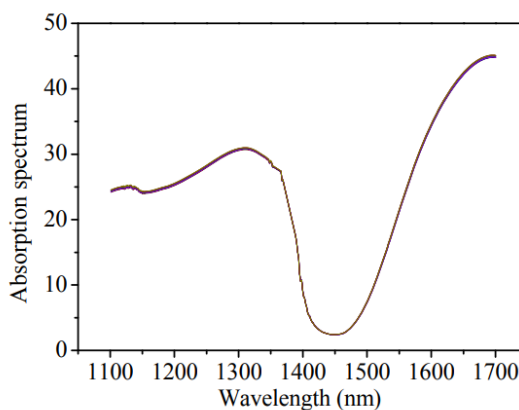
$$E_2 \rightarrow E_1 + E_{\text{fotonu}} \quad (14)$$



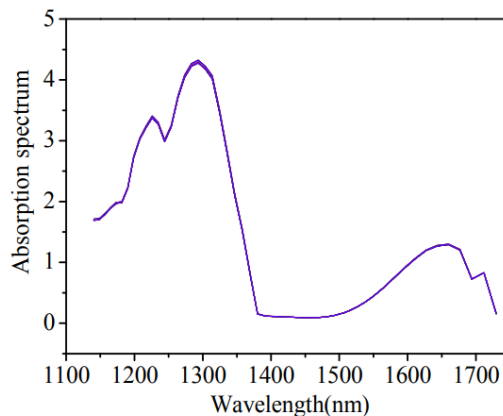
Obr. 19 - Druhy odrazivosti [6]



Obr. 20 - Elektromagnetické spektrum
(zdroj: Chemistry glossary – Electromagnetic radiation spectrum)



Obr. 21 - Absorpční spektrum vody [12]



Obr. 22 - Absorpční spektrum glukosy
 $c=100\text{mg/dl}$ [12]

Světlo v NIR regionu pronikne do značné (dostatečné) hloubky, ale vrací se velmi rozptýlené, to proto, že se v podobných vlnových délkách nachází spousta dalších signálů, které se vzájemně překrývají a ruší. MIR region je velmi citlivý a nachází se v něm víc informací o koncentraci a chemickém složení sloučenin (je vhodný pro glukosu), ale světlo nepronikne ani do 1/10 hloubky jako v NIR regionu (NIR maximálně 2-3 centimetry, v závislosti na umístění, vlnové délce a výkonu zářiče, reálně do 1 centimetru). Další nevýhodou MIR spektroskopie je vyšší cena oproti NIR spektroskopii. [6]

Hledání glukosy v obou regionech můžeme přirovnat ke hledání ztracených klíčů v noci – pod lampou na ulici nejsou a u dveří nic nevidíme.

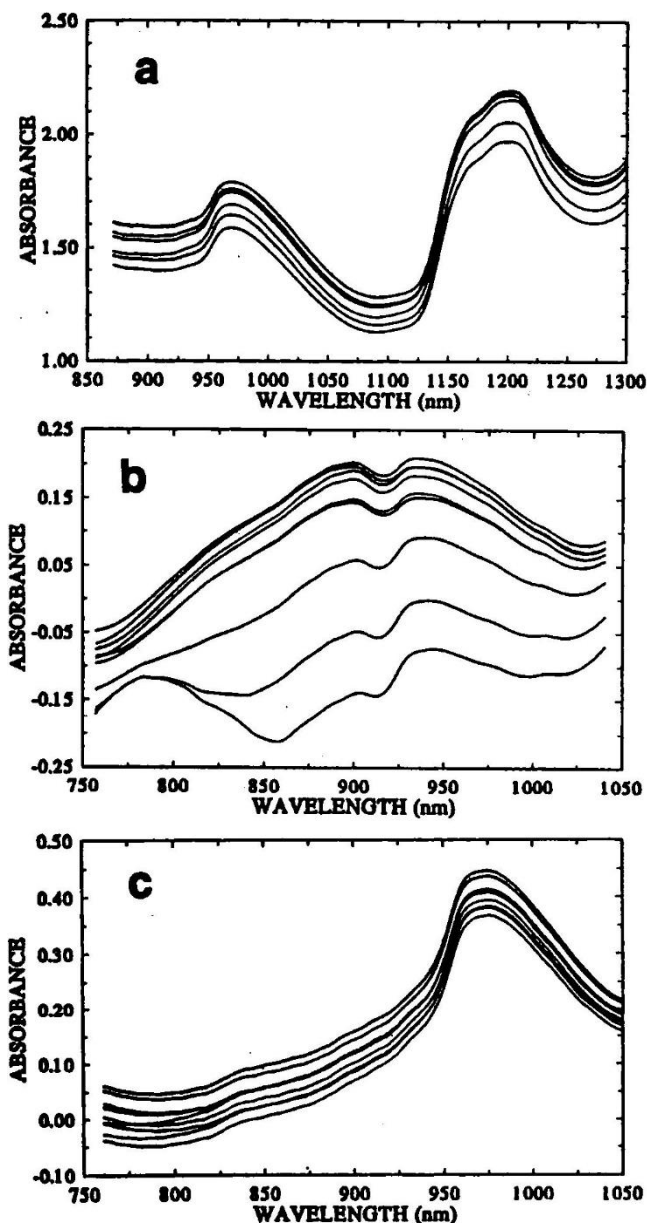


Fig. 1. Representative spectra from subjects
 A: Spectra from subject 1 taken with the FT-IR spectrometer and InSb detector; background spectra were taken through air with partially closed iris.
 B: Spectra from subject 2 taken with the grating spectrometer and Si array detector; background spectra were taken through milk to attenuate the beam.
 C: Spectra from subject 3 taken with the grating spectrometer, Si array detector, and fiber-optic sampling; background spectra were taken through air with neutral-density filters to attenuate the beam

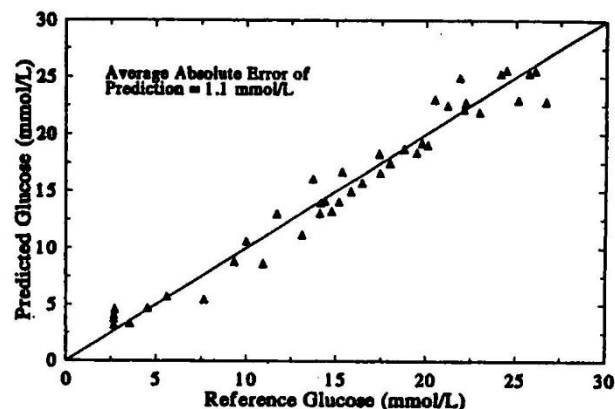


Fig. 2. Cross-validated PLS calibration results for subject 1 during a meal-tolerance test
 The solid line indicates the expected relationship, with a slope of 1 and an intercept of 0

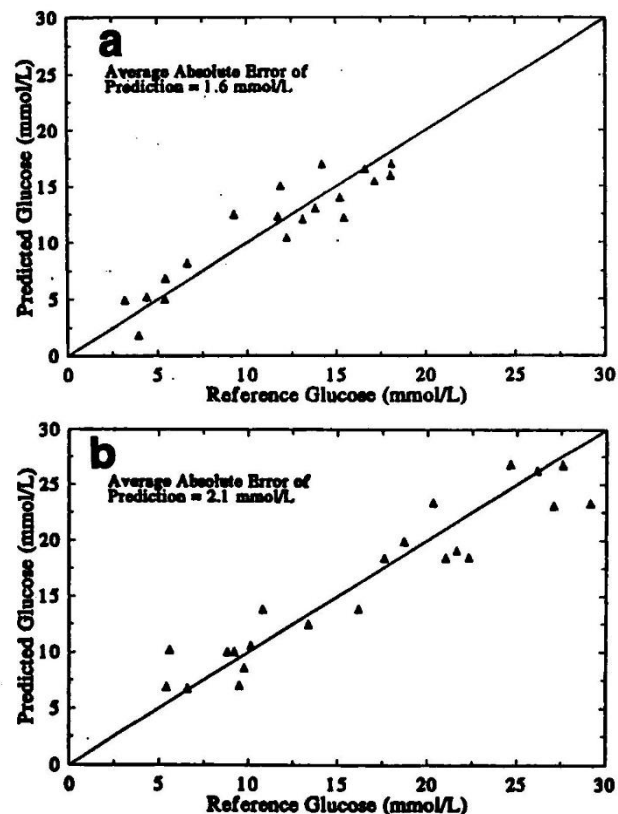


Fig. 3. Cross-validated PCR calibration results for subject 2 (A) and subject 3 (B) during a meal-tolerance test
 The solid line indicates the expected relationship with a slope of 1 and an intercept of 0

Obr. 23 - Absorpční pásy glukosy v NIR regionu [13]

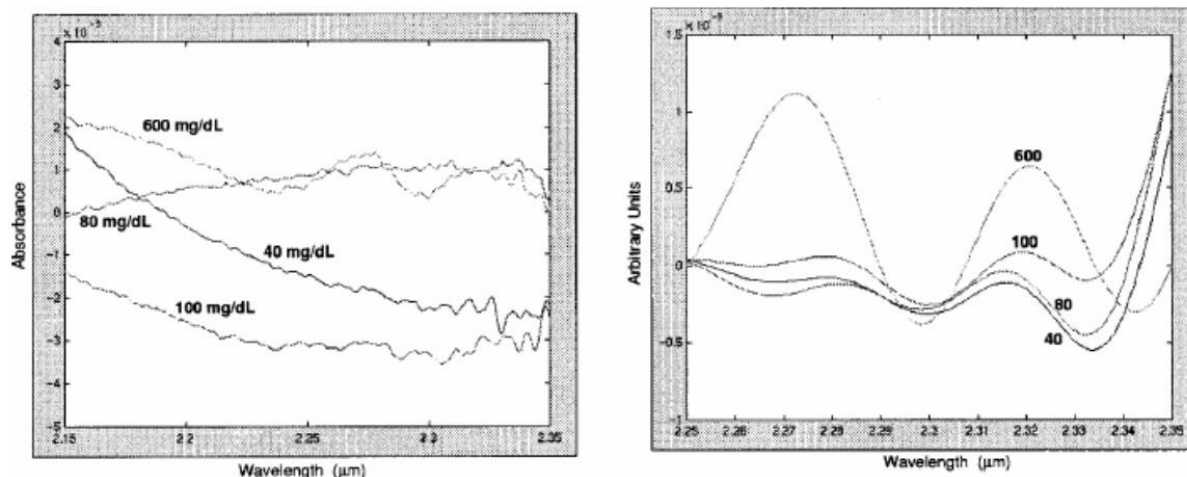
Obrázek 19 popisuje měření z více než 40 vzorků glukosy odebraných z plasmu, jejíž koncentrace se pohybovala od 2,7 do 27,7 mmol/l. Spektrální odchylky pozorované na obr. 19 jsou způsobeny odchylkami nulové hodnoty spektrometru (baseline correction) spíše než rozdíly v koncentraci glukosy. Spolu s faktem, že spektrální odchylky způsobené glukosou jsou mnohdy relativní vůči jiným zdrojům odchylek, jenom zdůrazňuje potřebu multivariační analýzy (viz. dále). Dosahovaná odchylka není dostatečná pro splnění normy ISO 15197:2013. [13]

K problémům NIR a MIR měření, jak dostat světlo dostatečně hluboko a zpátky, se připojuje další komplikace, protože je výstupní signál vztažený ke glukose velice slabý, musí si výzkumníci pomoci složitými matematickými modely k rozlišení korelací mezi naměřenými a referenčními hodnotami. Známý jsou chemikům pod názvem chemometrie, matematikům multivariační techniky a laikům jednoduše jako algoritmus. Už pouhá nutnost těchto metod značí fakt, že vztah mezi měřenými a očekávanými hodnotami je velice malý až ob- skurní. [6]

Neznamená to však, že neexistuje. Existuje, ale spolu s ním i mnoho proměn- ných, které musí být kontrolovány, aby byla korelace funkční. Neleze například přijmout stav, kdy jeden den dává zařízení přijatelné výsledky a den druhý, kdy se podmínky měření změnily (změny ve stavu pacienta), jsou hodnoty v řá- dech ± 2000 mg/dl, to značí, že v kalibračním modelu chybí zásadní parametry. [6]

Obvykle se měří tak, že se najdou dva významné absorpční body a porovnává se mezi nimi – slouží jako reference. Pro každou neinvazivní metodu, která k měření používá ICT a ne krev, bude skutečná hladina glykemie rozdílná. K zjištění skutečné odchylky musíme sečíst jak chybu neinvazivního měření, tak chybu referenčního měření uskutečněného glukometrem. [12]

Řekněme, že chyby jsou 30 mg/dl, resp. 15 mg/dl. Výsledná chyba je tedy $\delta = \sqrt{30^2 + 15^2} = \pm 33,5$ mg/dl. Zatím žádné neinvazivní měření nedosahuje uspokojivých výsledků, abychom museli chybu referenčního měření brát v úvahu. [12]



Obr. 24 - Absorpční pásy glukosy v NIR regionu před a po užití Fourierova filtru (zdroj: Roger J. McNichols – Optical glucose sensing in biological fluids)

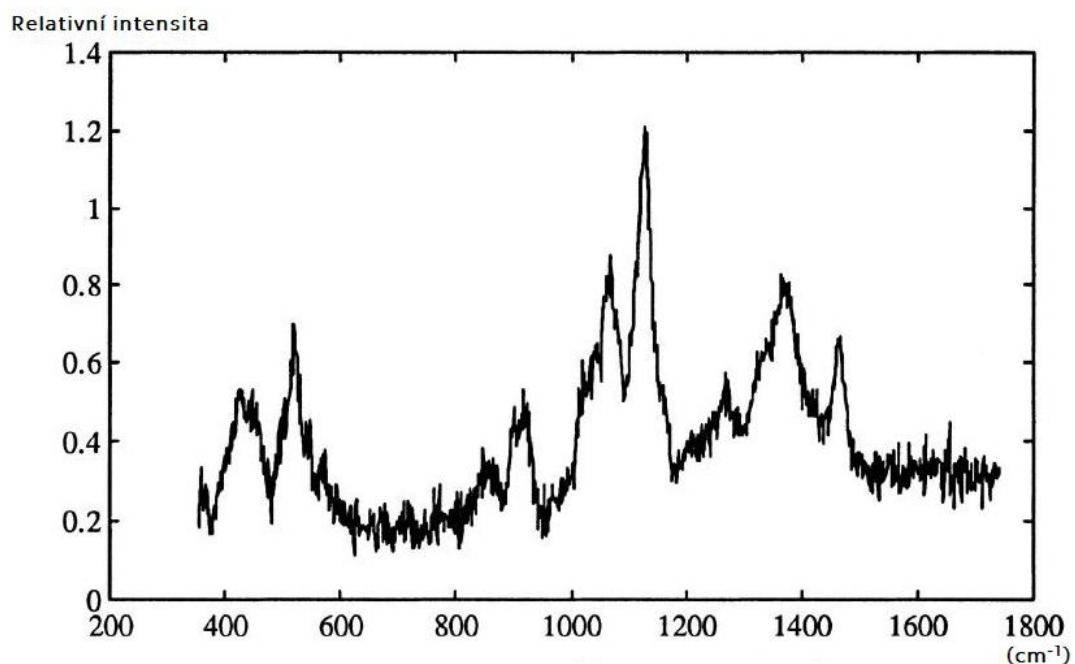
Ačkoliv je NIR, resp. MIR spektroskopie považována za nejnadějnější metodu, výsledky stále nepřicházejí. Další uvažované techniky spektroskopie, s potenciálem uspět, v oblasti neinvazivního měření glukosy jsou:

a) Ramanova spektroskopie

Jde o doplňkovou techniku, která se pokouší obejít vysokou absorpci vody ve střední infračervené oblasti (MIR), využívající Ramanova jevu (rozptýlené záření má jinou vlnovou délku než dopadající záření). Používá se laser ve viditelné nebo NIR/MIR oblasti vlnových délek k ozáření vzorku, který po ozáření vydává specifické vibrační pásy, které se dají detekovat, tzv. Ramanova spektra. [6]

„Ramanova spektroskopie je založena na rozptylu, který je pozorován, když monochromatické záření dopadá na opticky průhledné (zanedbatelně absorpční) médium. Výhodou Ramanova spektra jsou specifické vibrační pásy molekulární struktury glukózy, které jsou ostřejší než klasická spektra. Zejména mají méně překryvů s jinými pásy, jako je například voda.

Rozptyl rozpuštěné glukózy je tedy u Ramanovy spektroskopie vyšší než u klasického IR spektra. Proto je Ramanova spektroskopie méně náchylná k náhodné korelaci s okolními tkáněmi. Při Ramanově spektroskopii dochází k výměně energie mezi fotony tak, že následující foton má vždy nižší energii než předchozí. Změny vyvolané na molekulární úrovni umožňují získat potřebné informace právě o těchto molekulách. Samostatné měření glukózy v krvi je prováděno záznamem oscilací v tekutině. Oscilace způsobují rozptyl světla. Této techniky se využívá zejména při měření koncentrace glukózy v komorové vodě oka. Při tomto měření je však důležitá doba snímání, která musí být dostatečně dlouhá, aby získaný slabý signál Ramanova rozptylu měl dobrý poměr signál / šum (SNR – signal to noise ratio).“ [14]



Obr. 25 - Typické Ramanovo spektrum glukosy při ozařovací vlnové délce 514 nm [14]

b) Terahertzová spektroskopie

Málokteré oblasti vlnových délek nad MIR regionem byly, v souvislosti s měřením glykemie, zkoumány, s výjimkou toho, co dnes nazýváme terahertzovou spektroskopií. V rozsahu vlnových délek mezi (0,1-10) mm tato oblast poskytuje smysluplná data čistým sloučeninám nebo směsím ve velkých množstvích, ale dosud nebylo úspěšně aplikováno na biologické vzorky. [6]

Funkční NIR/MIR spektroskopie se používá v lékařství na měření tepu (viz. praktická část), změny kyslíku v krvi a tkáních, a dokonce mozkové aktivity. Dále v kvalitativní i kvantitativní analýze. Nejdůležitější využití je ve strukturní analýze a identifikaci organických i anorganických sloučenin.

Konec teoretické části.

Následuje praktická část

(*nota*: z důvodu přehlednosti jsem do praktické části zařadil i teoretické úvody a základní rozdělení měřících přístrojů, se kterými jsem pracoval.).

záměrně prázdná strana

záměrně prázdná strana

4. Praktická část

V praktické části popíšete princip refraktometru a svoje měření vodních roztoků glukosy na ručním a stolním sacharimetru, rozdělení interferometrů a princip spektroskopického měření při měření tepové frekvence.

4.1. Měření refraktometry (sacharimetry)

Refraktometry můžeme odečítat hodnotu indexu lomu světla pevných, kapalných i plynných látek. Pevné a kapalně látky se měří pomocí mezních úhlů, plynné pomocí interference světla. Index lomu světla je závislý na teplotě a referenční vlnové délce světelného zdroje. „Světelný zdroj může být monochromatický nebo polychromatický. Zdroje monochromatického světla dělíme na tři druhy: výbojové (průchod elektřiny v plynech), tepelné (sodíkové, draslíkové etc.) a luminiscenční. Kvůli polychromatickému zdroji dochází k disperzi mezi lámavým hranolem a objektivem dalekohledu, a tak je přidáváno kompenzační zařízení v podobě jednoho nebo dvou Amiciho hranolů, díky čemuž dochází k opětovnému složení světla.“ [15,16]

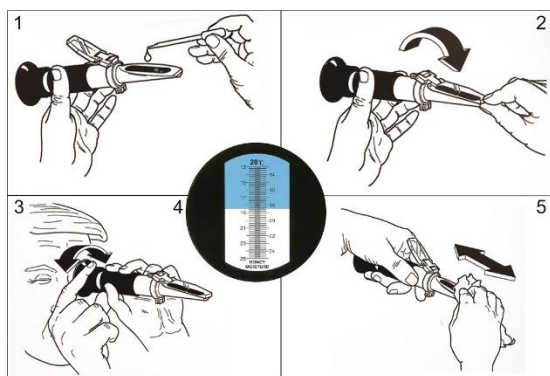
Tradiční ruční refraktometr je analogový přístroj pro měření indexu lomu kapaliny. Pracuje na principu kritického (mezního) úhlu α_m (15), vycházejícího ze Snellova zákona (3), na rozhraní dvou prostředí, podle kterého hranoly vytvářejí stínovou čáru na malé skleněné mřížce uvnitř přístroje, která je pak viděna uživatelem pomocí zvětšovacího okuláru (viz. obr. 22). Přístroj se většinou skládá ze světelného zdroje (složitější přístroje), skleněného hranolu o známém absolutním indexu lomu N a lámavém úhlu ω , kompenzačního zařízení, stupnice (existuje více druhů podle účelu použití) a dalekohledu. [15,16]

$$\begin{aligned}n_1 \cdot \sin(\alpha_m) &= n_2 \cdot \sin(90^\circ) \\ \sin(\alpha_m) &= \frac{n_2}{n_1}\end{aligned}\tag{15}$$

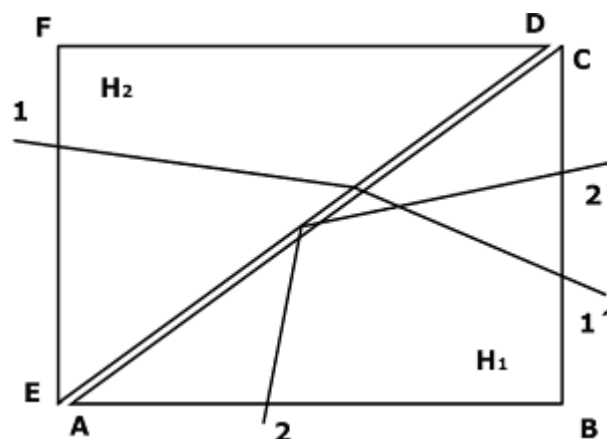
Při měření refraktometrem se pohybem hranolu nebo dalekohledu nastavuje rozhraní světla a stínu do středu nitkového kříže. Díky tomu se dá na stupnici odečíst odpovídající hodnota, což může být podle dané stupnice například index lomu, koncentrace, nebo uhel α , díky němuž se dá index lomu vypočítat (16). [15,16]

$$n = \sin(\omega) \cdot \sqrt{N^2 - \sin^2(\alpha)} \pm \cos(\omega) \cdot \sin(\alpha)\tag{16}$$

Základní částí refraktometru je dvojhnanol H_1 , H_2 , který je zhotovený ze silně lámavého (flintového) skla. Hranol H_1 (měřicí) má stěny AC, BC vyleštěny, stěnu AB zdrsňenou. Druhý hranol H_2 (osvětlovací) má naopak zdrsňenou plochu ED. Měřená látka se umísťuje na přeponovou plochu AC měřicího hranolu. Kapa-lina se nanese v malém množství na měřicí hranol a přiklopí osvětlovacím hranolem (viz. obr. 23). [16]



Obr. 26 - Užití ručního refraktometru (zdroj: Refraktometry.cz)

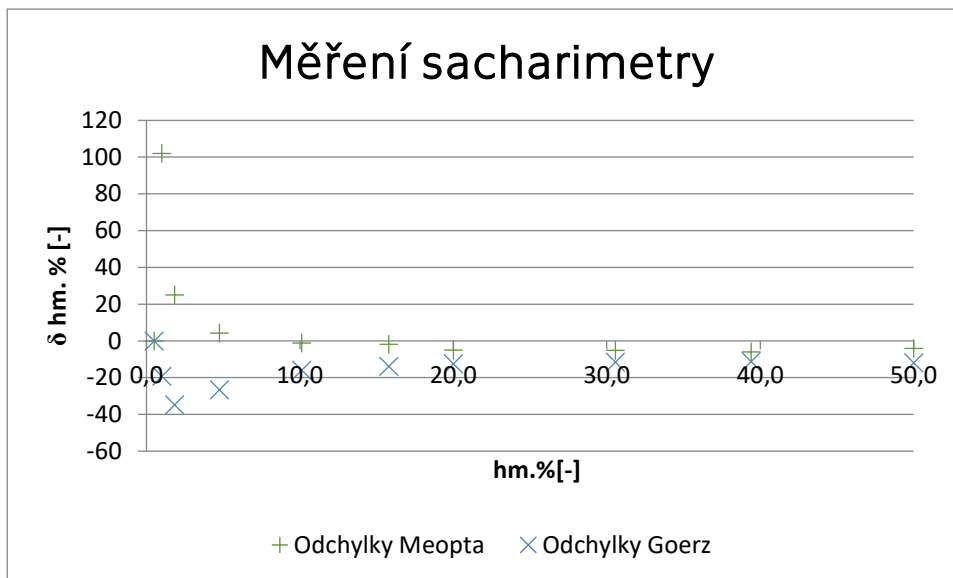


Obr. 27 - Optická cesta paprsku hranoly [16]

Vlastní měření probíhalo následovně. Nejprve jsem očistil hranoly ručního refraktometru Meopta i stolního refraktometru Goertz, čištění hranolů jsem opakoval i v průběhu měření. Vzorky vodních roztoků glukosy o různých koncentracích jsem připravoval odměřením hmotnosti vody a odměřením hmotnosti glukosy tak, aby výsledné roztoky měly přijatelnou koncentraci pro proměření celého rozsahu měřících přístrojů. Roztok o dvacetiprocentní koncentraci glukosy jsem připravil naměřením 40 gramů vody, do které jsem přisypával glukosu tak, aby váha ukazovala nakonec 50 gramů, pro ostatní roztoky vážení probíhalo obdobně. Před novým vážením jsem vždy vymyl nádobku vodou.

Měření refraktometry (sacharimetry)											
Pořadí měření	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.	9.	10.	
vstup (zváženo)											
Hmotnost voda [gr]	40	40	40	40	40	40	40	20	20	10	
Hmotnost glukosa [gr]	0,2	0,4	0,75	2	4,5	7,5	10	8,8	13	10	
Hmotnostní procento [-]	0,5	1,0	1,8	4,8	10,1	15,8	20	30,6	39,4	50	
výstup (změřeno)											
Hmotnostní procento [-]	Meopta	N/A	2	2,3	5	10	15,5	19	29	37	48
	Goertz	N/A	0,8	1,2	3,5	8,5	13,6	17,5	27	35	44
Odchyly Meopta		N/A	102	25	4,2	-1,11	-1,83	-5	-5,1	-6,1	-4
Odchyly Goertz		N/A	-19,2	-34,8	-26,5	-15,9	-13,9	-12,5	-11,6	-11,2	-12

Tab. 5 - Měření sacharimetry



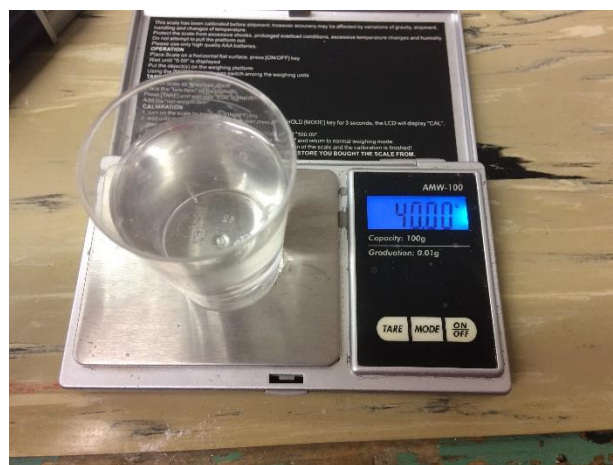
Graf 1 - Odchylky refraktometrů při měření sacharimetry

Jak je z odchylek měření patrné, ruční refraktometry (stejně tak refraktometry stolní i digitální) nejsou vhodné pro měření hodnot glykemie, jejíž hodnoty se pohybují mezi (0,05-0,4) % koncentrace v krvi. Výrobce refraktometru Meopta uvádí, že dosahovaná přesnost refraktometru má být $\pm 0,3$ %, to se však nepotvrdilo, refraktometr Goertz je podle mých hodnot méně přesný než refraktometr Meopta, což je způsobeno tím, že jsem měřil nejprve na refraktometru Meopta a až poté na refraktometru Goertz, glukosa mezitím difundovala vodou, a proto je možné, že v různých hladinách bylo možno naměřit odlišnou koncentraci. Vyšší nepřesnost refraktometru Goertz může být také způsobena nevhodností hranolu pro měření glukosy.

Ačkoliv nejsou refraktometry vhodné pro měření glykemie, hojně se používají pro měření indexu lomu potravinářských přídatných látek, farmaceutických výrobků, kosmetických přípravků, ropných produktů, rostlinných a živočišných olejů a tuků apod., stupnice Brix se používá při kontrole cukernatosti výrobků v potravinářském i nápojovém průmyslu. Koncentraci měříme u chemických roztoků, řezných a kalících olejů pro obráběcí stroje, nemrznoucích a chladících kapalin apod. Pro výše uvedené účely je dosahovaná přesnost refraktometrů dostatečná.



Obr. 28 - Refraktometr Meopta



Obr. 29 - Ukázka odměřování roztoku

4.2. Měření Rayleighovým interferometrem

Interferometr je měřicí přístroj, který využívá vlnové interference. Interferometry existují pro zvukové a elektromagnetické vlny, např. ultrafialové, viditelné a infračervené spektrální oblasti vlnových délek a rádiové vlny různých vlnových délek. Akustické a rádiové interferometry se používají k měření rychlosti šíření akustických a rádiových vln, jakož i vzdáleností mezi dvěma emitory vln nebo mezi emitorem a reflektorem (dálkoměry). [17]

Optické interferometry, které jsou běžně používány, budou popsány níže. Používají se k měření vlnových délek spektrálních čar (interferenční spektroskopy), indexů lomu průhledných médií (interferenční refraktometry), absolutních a relativních vzdáleností a rozměrů hvězd (interferenční komparátory), stejně jako ke kontrole kvality optických komponent a jejich povrchů a konečné kvalitě kovových povrchů. [17]

Princip fungování všech interferometrů je stejný; přístroje se liší pouze metodou generování koherentních vln a v parametru, který se přímo měří. Světelný paprsek je prostorově oddělen zařízením do dvou nebo více koherentních paprsků, které procházejí různými optickými cestami a pak se sbíhají. Interferenční obrazec, jehož tvar (tvar a relativní umístění interferenčních maxim a minim) závisí na způsobu oddělení světelného paprsku do koherentních paprsků, počtu interferujících paprsků, jejich rozdílech v dráhách, relativní intenzitě, rozměrech zdroje a spektrálního složení světla, je pozorován v bodě konvergence. Metody generování koherentních paprsků v interferometrech se liší; proto existuje více druhů interferometrů. V závislosti na počtu interferujících světelných paprsků mohou být interferometry rozděleny na více paprskové a dvou paprskové typy. [17]

a) Michelsonův interferometr

Michelsonův interferometr je příkladem dvou paprskového interferometru.

Paprsek světla ze zdroje L dopadá pod úhlem 45° na polopropustnou destičku, kde se v bodě A štěpí na paprsky P_1 a P_2 . [17]

„Paprsek č. 1 se odrazí od polopropustné destičky P a dopadá kolmo na zrcadlo Z_1 , zde se odrazí zpátky do bodu A, po průchodu polopropustnou destičkou P dopadá do dalekohledu D. Paprsek č. 2 projde polopropustnou destičkou, dopadne kolmo na zrcadlo Z_2 , zde se odrazí zpátky do bodu A, v bodě A se odrazí do dalekohledu D. Oba paprsky se tedy sejdou v dalekohledu, kde spolu interferují. Protože paprsek č. 2 projde polopropustnou destičkou celkem třikrát, vkládá se do cesty paprsku č. 1 destička k_1 (kompenzační), rovnoběžná s destičkou P. Pokud jsou vzdálenosti zrcadel Z_1 a Z_2 od bodu A stejné, budou stejné i dráhy paprsků a v ohnisku objektivu se oba paprsky zesílí.“ Viz. obr. 26,27. [18]

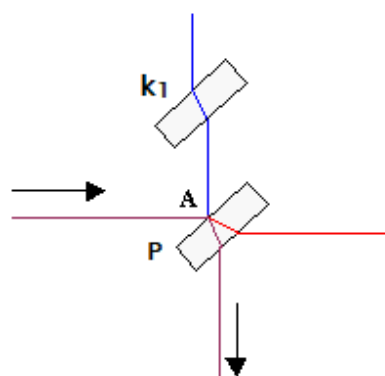
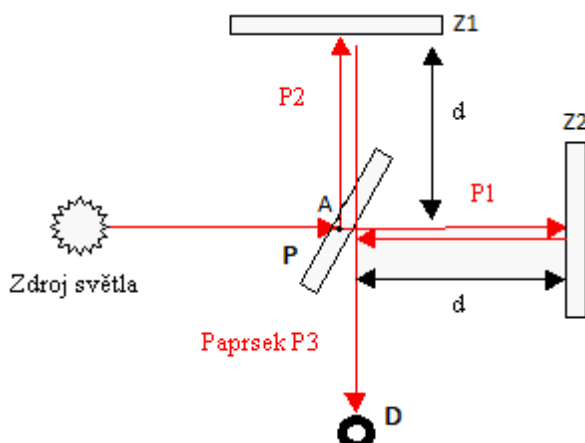
V případě, že posuneme zrcadlo Z_2 o vzdálenost l , dráhový rozdíl paprsků bude $\Delta l = 2 \cdot l$. V závislosti na velikosti dráhového rozdílu vznikají interferenční maxima (17) a interferenční minima (18), kde k je celé číslo, λ vlnová délka paprsku. [18]

Albert Michelson (*1852 - †1931) v roce 1881 vykonal svým interferometrem experiment, který měl prokázat přítomnost éteru*, konkrétně vliv éteru na rychlost světla. Neúspěšně. Výsledek pokusu byl později zpochybněn, a tak byl stejný pokus (mnohem přesněji) roku 1887 společně s Edwardem Morleyem (*1838 - †1923) zopakován, se stejným výsledkem – světlo se pohybuje konstantní rychlostí vůči (uvažovanému) éteru. To podnítilo revizi klasické mechaniky a vznik teorií, které by souhlasily s Michelson-Moreleyovým experimentem. Roku 1899 popsal Hendrik Lorentz transformační souřadnice vyjadřující popis stejné události ve dvou inerciálních vztažných soustavách. Roku 1905 publikuje Albert Einstein (*1879 - †1955) svou teorii speciální relativity, která existenci éteru nezahrnuje. [19]

Roku 1907 obdržel Albert Michelson Nobelovu cenu za fyziku, udělena mu byla za jeho přesné optické přístroje a výzkum jimi provedený. [19]

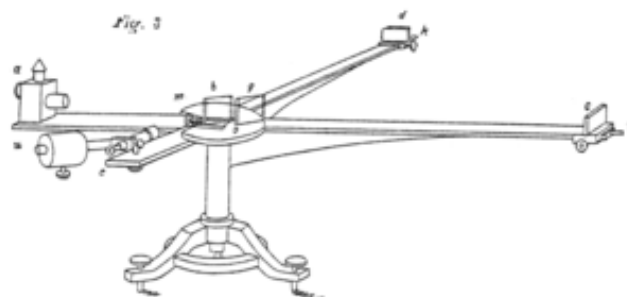
$$\Delta l = k \cdot \lambda \quad (17)$$

$$\Delta l = 2 \cdot (k + 1) \cdot \lambda / 2 \quad (18)$$



Obr. 30 - Princip Michelsonova interferometru [18]

Obr. 31 - Vliv kompenzačního zrcadla [18]



Obr. 32 - Albert Michelson [17]

Obr. 33 - Schema interferometru [17]

Obr. 34 - Edward Morley [17]

* Éter je fyzikální pojem označující všudypřítomnou hypotetickou substanci, v níž se šíří elektromagnetické záření, před všeobecným přijetím duality světla, čemuž napomohl Albert Einstein, díky vysvětlení fotoelektrického jevu, za což dostal roku 1921 Nobelovu cenu za fyziku, bylo světlo považováno za vlnu. Hledala se proto substance, jíž by se světlo šířilo tak, jako se mechanické vlnění šíří hmotou (akustická vlna vzduchem, vlna na povrchu vody etc.), která by vysvětlila schopnost zdánlivě vlnového světla šířit se přes prázdný prostor, čehož by vlny neměly být schopny. [19]

b) Jaminův interferometr

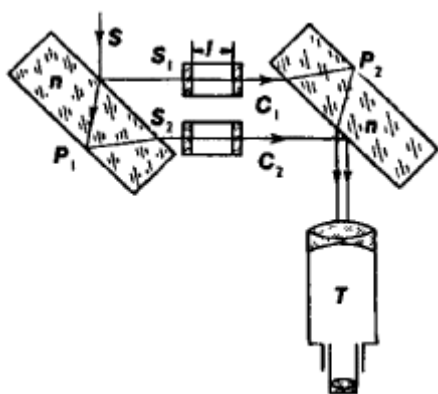
Dvou paprskové interferometry určené pro stanovení indexů lomu plynů a kapalin se nazývají interferenční refraktometry; jedno takové zařízení navrhl Jules Jamin (1818-1886). [17]

Světelný paprsek S , po odrazu od předního a zadního povrchu planoparalelní desky P_1 , je rozdělen na dva paprsky S_1 a S_2 . Po průchodu trubicemi C_1 a C_2 , paprsky odrážené plochami planoparalelní desky P_2 vstupují do teleskopu T , kde interferují a vytvářejí proužkové interferenční obrazce. Pokud je jedna z trubic naplněna látkou s refrakčním indexem n_1 a druhá je naplněna látkou se známým refrakčním indexem n_2 , posunutí interferenčního obrazce o řád interference m ve srovnání s případem, kdy jsou obě trubice naplněny stejnou látkou se rovná (19), kde l je délka trubice a λ vlnová délka světelného paprsku. Viz. obr. 31. [17]

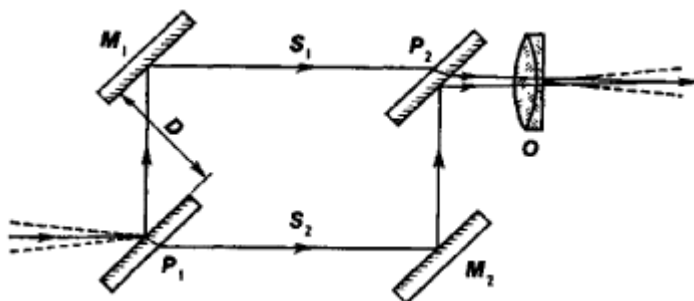
$$\Delta n = n_1 - n_2 = \frac{m \cdot \lambda}{l} \quad (19)$$

c) Mach-Zehnderův interferometr

Jedná se o variantu Jaminova interferometru (viz. obr. 32) ve kterých jsou použity dvě polopropustné desky P_1 a P_2 a dvě zrcadla M_1 a M_2 . Vzdálenost mezi paprsky S_1 a S_2 může být u těchto interferometrů velmi velká, což usnadňuje montáž různých předmětů v cestě jednomu z paprsků. Na rozdíl od Michelsonova interferometru prochází paprsky S_1 a S_2 každou z dobře oddělených optických cest pouze jednou. Z tohoto důvodu jsou tyto nástroje široce používány ve studiích dynamiky vzduchu a plynů. Ve fyzice je Mach-Zehnderův interferometr zařízením, které slouží k určení relativních změn fázového posunu mezi dvěma kolimovanými paprsky odvozenými rozdělením světla z jediného zdroje, Mach-Zehnderovy interferometry se také používají ke studiu jedné z nejvíce proti intuitivních předpovědí kvantové mechaniky, fenoménu známého jako kvantové provázání. [17]



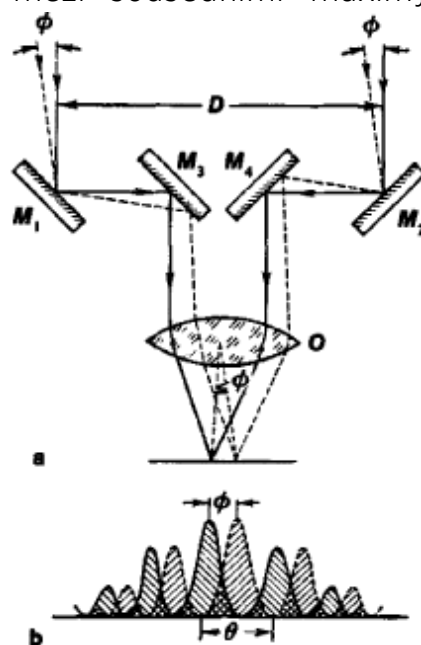
Obr. 35 - Schema Jaminova interferometru [17]



Obr. 36 - Schema Mach-Zehnderova interferometru [17]

d) Michelsonův hvězdný interferometr

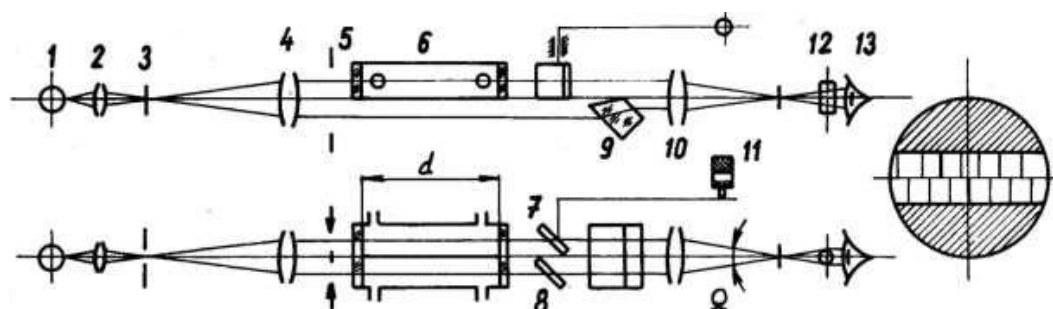
Michelsonův hvězdný interferometr (viz. obr. 33) se používá k měření úhlových velikostí hvězd a úhlové vzdálenosti mezi dvoj hvězdami. Světlo ze hvězdy se odráží v zrcadlech M1, M2, M3 a M4 a vytváří interferenční obrazec v ohniskové rovině dalekohledu. Úhlová vzdálenost mezi sousedními maximy je $\theta = \lambda/D$. Když jsou dvě hvězdy umístěny blízko sebe při úhlové vzdálenosti ϕ , v teleskopu jsou pozorovány dva interferenční obrazce, stejně posunuté o úhel ϕ . Vzdálenost D je proměnná z důvodu dosažení co nejlepšího rozlišení interferenčního vzoru, platí pro: $\phi = 1/2\theta = \lambda/2D$. Velikost ϕ lze vypočítat z výše uvedeného vztahu. Michelsonův hvězdný interferometr byl jedním z prvních astronomických interferometrů, navrhnut již roku 1890, byl roku 1920 na observatoři Mount Wilson v USA postaven, využívající tamního 100 palcového zrcadla, kde bylo provedeno první měření průměru hvězdy mimo Sluneční soustavu, konkrétně Betelgea, 13.12. 1920, který byl tehdy stanoven na 380 milionů kilometrů, přibližně 270x větší než Slunce. [19]



Obr. 37 - Schema Michelsonova hvězdného interferometru [17]

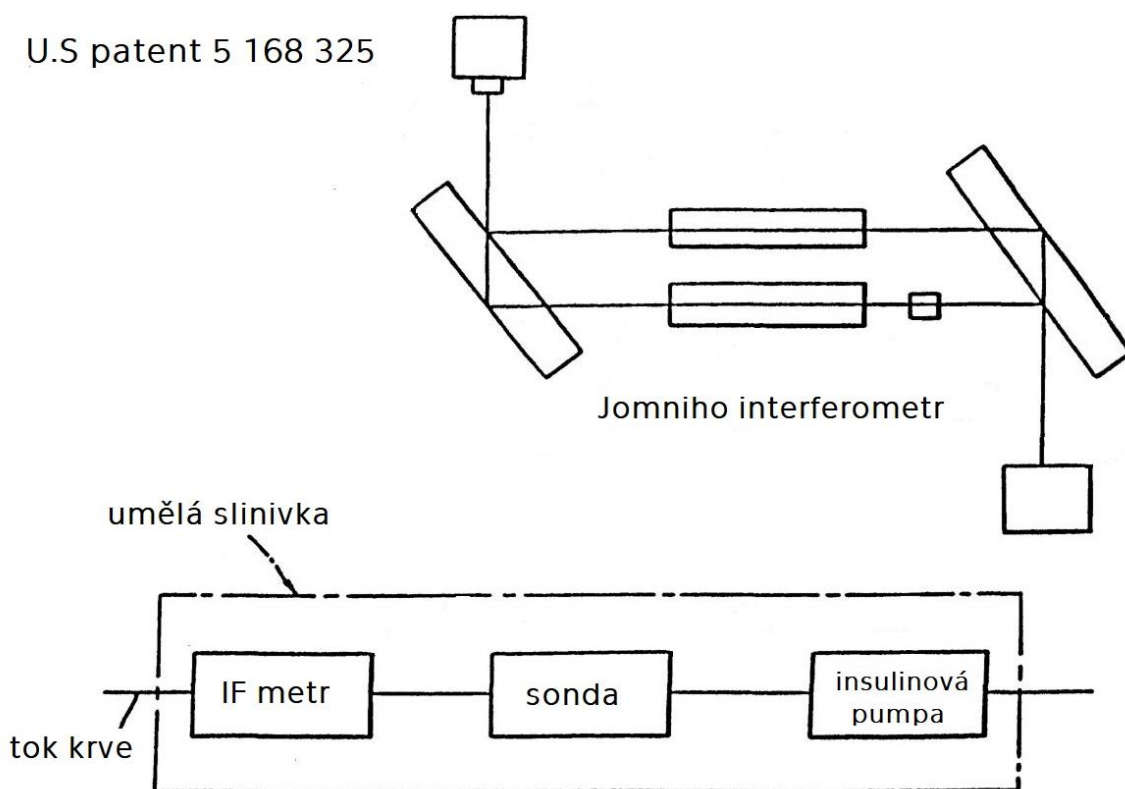
e) Rayleighův interferometr

„Kondenzor 2 zobrazuje vlákno žárovky 1 na vstupní štěrbinu 3, umístěnou v předmětové ohniskové rovině kolimátoru 4. Svazek rovnoběžných paprsků prochází dvojštěrbínou 5. V horní části interferometru jsou dvě trubice: jedna s referenční látkou a druhá s měřenou látkou. Po průchodu kyvetami procházejí svazky kompenzační plandeskou 7 a referenční plandeskou 8. V obrazové ohniskové rovině objektivu 10 se vytváří interferenční obrazec – soustava interferenčních proužků. Ve spodní části interferometru procházejí oba svazky stejnými optickými drahami. Plandeska 9 posouvá svazky blíže k optické ose. Referenční interferenční obrazec se vytváří v obrazové ohniskové rovině objektivu 10 – referenční stupnice. Válcový objektiv 12 odděluje obě soustavy proužků. Pokud jsou indexy lomu v obou kyvetách různé, vzniká rozdíl optických drah mezi oběma horními svazky, interferenční proužky jsou posunuty o m , viz. (19), kde l je vnitřní délka kyvet a $n_2 \approx 1$ (refrakční index vzduchu).“ [20]

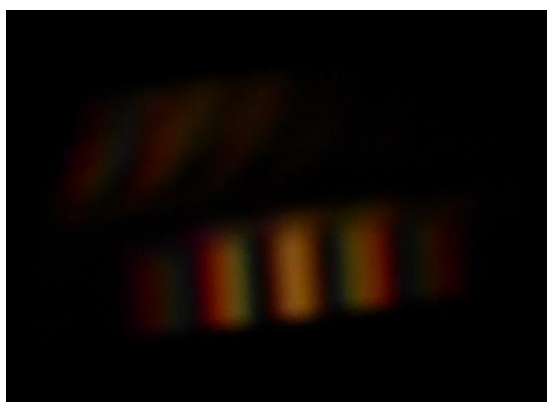


Obr. 38 - Schema Rayleighova interferometru [20]

Rayleighův interferometr je, stejně jako Jaminův interferometr, uzpůsoben pro stanovení indexů lomu plynů a kapalin, jde o interferenční refraktometr. Tyto přístroje měří mnohem přesněji než hranolové refraktometry, a to s přesností až na osm desetinných míst. Taková přesnost je nutná především pro měření plynů, kde se hodnoty indexu lomu liší až na čtvrtém desetinném místě nebo u kapalin či jejich roztoků. Konkrétně u glukosy se požadovaná změna koncentrace projeví na indexu lomu světla až na pátém desetinném místě. Interferometry se kvůli své konstrukci nedají použít pro neinvazivní měření. Když by se do jedné z trubic přiváděla krev, e.g. by zařízení bylo součástí umělé slinivky, měl by takový přístroj naději na úspěch, protože jeho přesnost je dostačující. Podobné návrhy se snaží vědci uskutečnit (viz. U.S. Patent 5,168,325).



Obr. 39 - Diagram umělé slinivky
(zdroj: U.S. patent 5,168,325)



Obr. 40 - Interferenční obrazec



Obr. 41 - Trubice Rayleighova interferometru

4.3. Měření tepové frekvence

Elektronická deska měřící tepovou frekvenci je sestrojena díky návodu dostupnému z: www.instructables.com/id/Microcontroller-measures-heart-rate-through-finger/ [21]. Elektrické schéma na obrázcích 39 a 40 je součástí návodu, stejně jako software mikrokontroleru.

Detektor pulsu (srdečního tepu) v zařízeních monitorující tepovou frekvenci se skládá ze dvou částí: jednotky snímání impulsů a zobrazovací jednotky tepové frekvence. Sestrojené zařízení používá infračervenou LED diodu a fotodiodu pro měření srdeční tepové frekvence díky změně odrazivosti krve v prstu ruky.

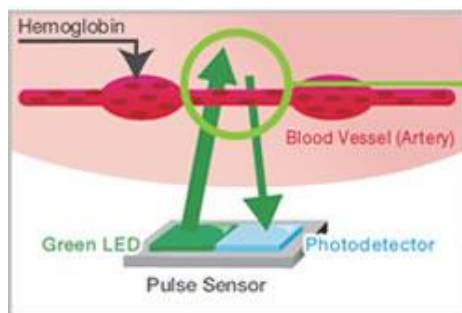
Srdce svými pravidelnými stahy pumpuje krev po celém těle, díky čemuž se mění objem krve v arteriích, což se projevuje i na objemu krve v krevním řečišti ruky a v arteriích, které se nacházejí v blízkosti povrchu kůže. Toto kolísání krve může být zjištěno pomocí optického snímacího mechanismu umístěného kolem špičky prstu. Signál lze dále zesilovat, aby mikrokontroler počítal míru kolísání, což je vlastně srdeční tepová frekvence.

Světlo vyzařované LED diodou je difúzně rozptýleno skrz tkáň prstu. Fotodioda umístěná na povrchu kůže vedle LED diody, či na opačné straně, může měřit světlo přenášené skrz kůži. Světlo je dobře absorbované v krvi a slabě absorbované ve tkáních. Každá změna v krevním objemu bude zaznamenána, protože zvýšení (nebo snížení) krevního objemu způsobí více či méně absorpci. Za předpokladu, že pacient nepohybuje prstem a úroveň absorpce tkáně a nepulzujících tekutin zůstávají stejné.

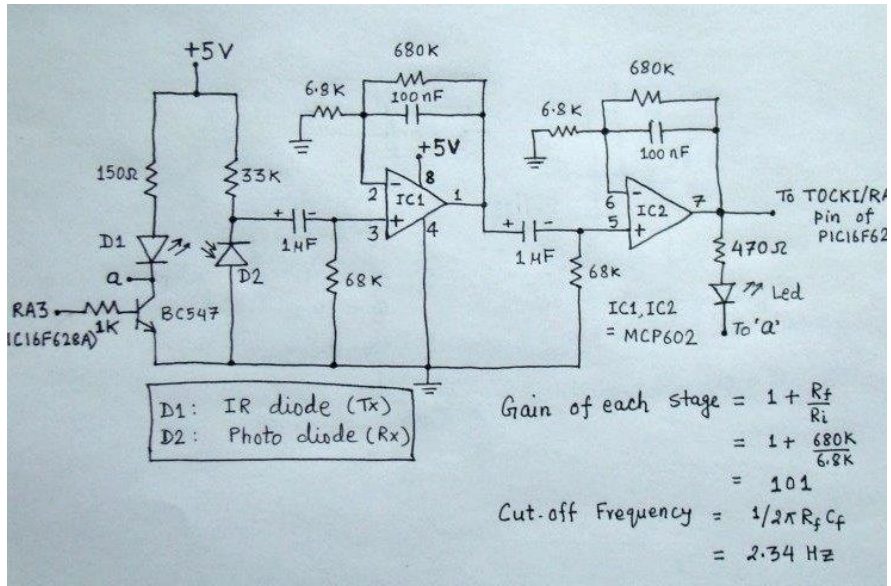
Výkon LED diody je přizpůsoben fotodiodě tak, že odpor fotodiody se bude měnit v rozsahu míry přeneseného světla skrz kůži, protože se útlum mění v závislosti na osobě, která používá zařízení, lze předpokládat, že bude v průměru 80 % vyzářeného světla. Odporová síť fotodiody je vytvořena pro převod změn odporu na změnu napětí. Napětí se pohybuje mezi (0-10) mV, v závislosti na každém pulsu.

Nevýhodou optických snímačů je zpoždění v naměřených hodnotách (neměří přímo aktivitu srdce, ale výsledek jeho činnosti), menší přesnost oproti elektrodovému měření způsobená nedostatečným prokrvením či barvou kůže, vliv okolního světla a nutnost velkého zesílení signálu (v sestrojené desce je 10 000x zesílení). Tyto komplikace jsou mnohem více znatelné při snaze o neinvazivní měření glukosy, jejíž signál je slabší a hůře detekovatelný.

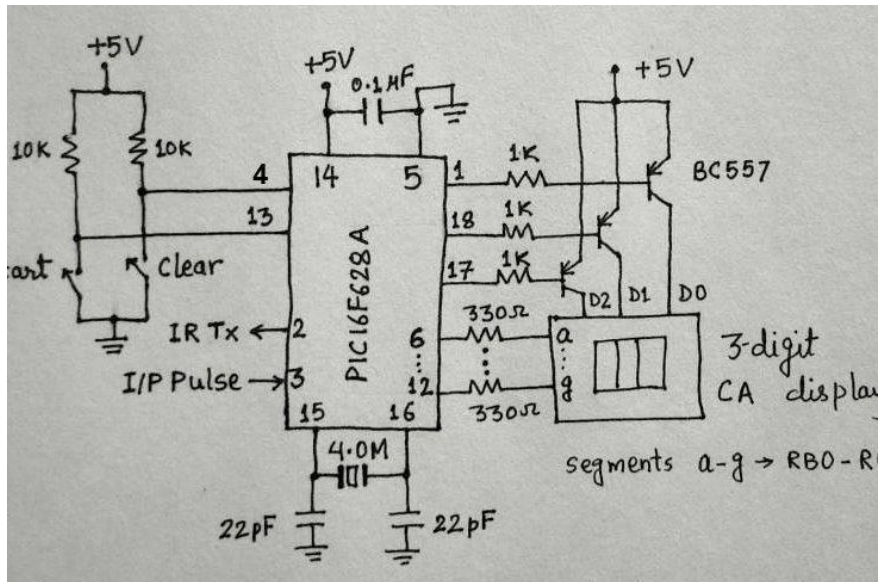
Sestrojená deska funguje sporadicky, zásadní chybou v návrhu je umístění LED diody a fotodiody vedle sebe, namísto umístění proti sobě, jak je normálně běžné, fotodioda tak zaznamenává i světlo, které se neodrazilo zpět z prstu, což dost zásadně ovlivňuje výsledky měření. Cena součástek je circa 500 korun.



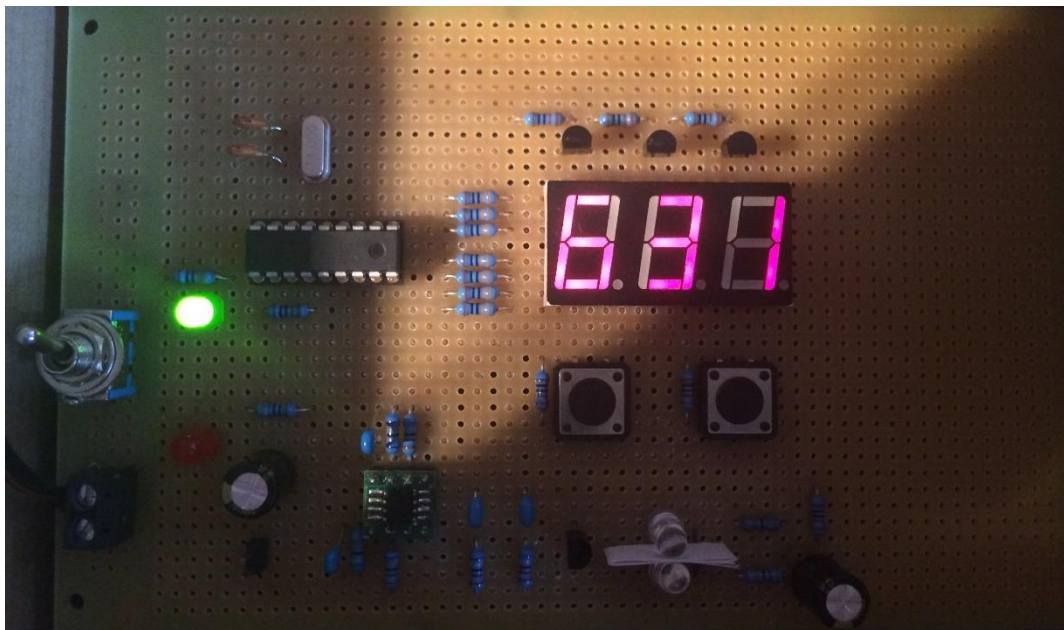
Obr. 42 - Diagram funkce senzoru (zdroj: rohm.com/sensor/environment)



Obr. 43 - Elektrické schéma obvodu pro úpravu signálu [21]



Obr. 44 - Elektrické schéma obvodu mikrokontroleru a displeje [21]



Obr. 45 - Elektronická deska měřící tepovou frekvenci (63,1 BPM)

5. Závěr

Provedl jsem rešerši invazivních, minimálně invazivních a neinvazivních metod měření glykemie.

Zhodnotil jsem výsledky měření na refraktometrech.

Je to už přes čtyřicet let, kdy byly na trh uvedeny první invazivní glukometry. Ve stejnou dobu vznikla myšlenka glukosu měřit neinvazivně. Od té doby se již mnoho vědců bezvýsledně snaží nalézt řešení problému, který se ukázal jako jeden z nejobtížnějších a nejzapeklitějších posledních let. Nikdo si netroufá dát lidem falešnou naději a říci, že je průlom za dveřmi, protože není.

Počet pacientů s diabetem bude vzhledem k zvyšujícímu se počtu obyvatel na naší planetě stoupat a nutnost vyřešení problému neinvazivního měření je o to akutnější.

Naopak velký pokrok zaznamenávají možnosti minimálně invazivního měření glykemie, kam mnohé společnosti investují více peněz než do neinvazivního měření, v očekávání kratší návratnosti investic. Alespoň tímto způsobem se usnadňuje život převážně pacientům s diabetem 1. typu.

6. Seznam použité literatury

- [1] BLEHA, Otakar a Otto KÜCHEL. Klinická endokrinologie v praxi. Praha: Státní zdravotnické nakladatelství, 1967. str. 167-241
- [2] WHO Diabetes [online]. [cit. 2018-06-10] Dostupné z: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs312/en/>
- [3] Diabetes mellitus: a guide to patient care. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, c2007. ISBN 978-1-58255-732-8.
- [4] ADAMÍKOVÁ, Alena. GESTAČNÍ DIABETES: Těhotenská cukrovka. Krajská nemocnice T. Bati, Zlín [online]. [cit. 2018-06-10]. Dostupné z: <http://www.kntb.cz/gestacni-diabetes---tehotenska-cukrovka>
- [5] Data o diabetu v ČR [online]. [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://diabetickaasociace.cz/co-je-diabetes/data-o-diabetu-v-cr/>
- [6] JOHN L. SMITH: "The Pursuit of Noninvasive Glucose, 4th Edition", 2015, article "Hunting the Deceitful Turkey"
- [7] FRIEDECKÝ, B. a D. SPRINGER. Doporučení ke stanovení koncentrace glukózy pomocí glukometrů [online]. [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: <http://ulbld.lf1.cuni.cz/file/1616/glukometry-uzivatel.pdf>
- [8] SYDORUK, Oleksiy a Valery TUCHIN. The refractive index of human hemoglobin in the visible range [online]. 2011 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: https://www.researchgate.net/publication/51223123_The_refractive_index_of_human_hemoglobin_in_the_visible_range
- [9] WAYNE, Randy. Light and video microscopy. Second edition. Amsterdam: Elsevier/AP, 2014. ISBN 9780124114845.
- [10] BERNARD, Vladan. Glukometr a jeho příbuzní [online]. 2011 [cit. 2018-06-12]. Dostupné z: http://www.med.muni.cz/biofyz/files/gerontologie/glukometr_prezentace.pdf
- [11] CAPPON, Giacomo a Giada ACCIAROLI. Wearable Continuous Glucose Monitoring Sensors: A Revolution in Diabetes Treatment [online]. Itálie, 2017 [cit. 2018-06-13]. Dostupné z: <http://www.mdpi.com/2079-9292/6/3/65>

- [12] ZHANG, Wanjie a Rong LIU. *Discussion on the validity of NIR spectral data in non-invasive blood glucose sensing* [online]. Čína, 2013 [cit. 2018-06-15]. Dostupné z: <https://www.osa-publishing.org/boe/fulltext.cfm?uri=boe-4-6-789&id=253336>
- [13] ROBINSON, Reis a Phillip EATON. Noninvasive Glucose Monitoring in Diabetic Patients: A Preliminary Evaluation. *Clinical chemistry* [online]. 1992, 38(9), 5 [cit. 2018-07-25]. Dostupné z: <http://clinchem.aaccjnls.org/content/clinchem/38/9/1618.full.pdf>
- [14] VÍTOVÁ, H., Neinvazivní měření glukózy v krvi, Brno: Vysoké učení technické v Brně, Fakulta elektrotechniky a komunikačních technologií, 2012. 61 s. Vedoucí diplomové práce Ing. Jiří Sekora
- [15] NEVŘIVÁ, H., Typy refraktometrů, Brno: Masarykova universita v Brně, lékařská fakulta, 2011. 49 s. Vedoucí diplomové práce Mgr. Pavel Beneš
- [16] STACH, V., TESARŽ, J.: Fyzikální praktikum III (Optika). PF JU České Budějovice, 1992.
- [17] Interferometer. (n.d.) The Great Soviet Encyclopedia [online], 3rd Edition. (1970-1979), [cit. 2018-07-15]. Dostupné z: <https://encyclopedia2.thefreedictionary.com/interferometer>
- [18] ŠTOLL I., Elektřina a magnetismus, Skriptum, Vydavatelství ČVUT, Praha 2003
- [19] FEYNMAN, Richard. The Feynman Lectures on Physics: Volume II. The Feynman Lectures Website [online]. 1965 [cit. 2018-07-24]. Dostupné z: http://www.feynmanlectures.caltech.edu/II__toc.html
- [20] Rayleighův interferometr, portál Moodle FS ČVUT- Vlnová optika [online]. [cit. 2018-07-24]. Dostupné z: https://moodle.fs.cvut.cz/pluginfile.php/7002/mod_resource/content/1/rayleigh.pdf

7. Seznam obrázků

Obrázek 1: Infografika WHO (zdroj: www.who.int/diabetes/en/)	8
Obrázek 2: Slinivka břišní (zdroj: Encyklopedie Britannica)	9
Obrázek 3: Vzorce d-glukosy [6]	12
Obrázek 4: Správné rozložení výsledků měření [7]	13
Obrázek 5: Počet neinvazivních patentů [6].....	13
Obrázek 6: Složení krve (zdroj: MU – Fyziologie tělních tekutin).....	14
Obrázek 7: Hodnoty glykovaného hemoglobinu a glykemie [2].....	16
Obrázek 8: Glukometr Bayer (zdroj: www.Biolab.gt – Diabetes).....	16
Obrázek 9: Blokový diagram glukometru (zdroj: Cypress-Blood-glucose-meter) [7].....	16
Obrázek 10: Schema testovacího proužku (zdroj: Harvey Buck-Bringing Glucose Monitoring to New Levels).....	16
Obrázek 11: Sensor a vysílač Dexcom (zdroj: Návod k použití Dexcom G4 Platinum)	18
Obrázek 12: Kompletní CGM firmy Dexcom (zdroj: Návod k použití Dexcom G4 Platinum)	18
Obrázek 13: Zaváděcí píst sensoru Dexcom (zdroj: Návod k použití Dexcom G4 Platinum)	18
Obrázek 14: Glykemická křivka změřená CGM [11].....	18
Obrázek 15: Idea měřící čočky podle Googlu a Novartis (zdroj: Google Inc., Mountain View, CA, US)	21
Obrázek 16: Druhy polarizace (zdroj: Techmania Science Center)	22
Obrázek 17: Schema oka (zdroj: Anatomy structure – Human Eye Diagram Unlabelled).....	22
Obrázek 18: - Schema polarimetru (zdroj: VŠCHT-Metody založené na interakci hmoty a záření)	22
Obrázek 19: Druhy odrazivosti [6].....	23
Obrázek 20: Elektromagnetické spektrum (zdroj: Chemistry glossary-Electromagnetic radiation spectrum	24
Obrázek 21: Absorpční spektrum vody [12].....	24
Obrázek 22: Absorpční spektrum glukosy [12]	24
Obrázek 23: Absorpční pásy glukosy v NIR regionu [13].....	25
Obrázek 24: Absorpční pásy glukosy v NIR regionu s užitím Fourierova filtru (zdroj: Roger J. McNichols – Optical glucose sensing in biological fluids)	26
Obrázek 25: Typické Ramanovo spektrum glukosy [14].....	27
Obrázek 26: Užití ručního refraktometru (zdroj: www.refraktometry.cz)	31
Obrázek 27: Optická cesta paprsku hranoly [16].....	31
Obrázek 28: Refraktometr Meopta [autor]	32
Obrázek 29: Ukázka odměřování roztoku [autor]	32
Obrázek 30: Princip Michelsonova interferometru [18].....	34
Obrázek 31: Vliv kompenzačního zrcadla [18]	34
Obrázek 32: Albert Michelson [17]	34
Obrázek 33: Schema interferometru [17].....	34
Obrázek 34: Edward Morley [17].....	34
Obrázek 35: Schema Jaminova interferometru [17]	35

Obrázek 36: Schema Mach-Zehnderova interferometru [17].....	35
Obrázek 37: Schema Michelsonova hvězdného interferometru [17]	36
Obrázek 38: Schema Rayleighova interferometru [20].....	36
Obrázek 39: Diagram umělé slinivky (zdroj: U.S. patent 5,168,325).....	37
Obrázek 40: Interferenční obrazec [autor].....	37
Obrázek 41: Trubice Rayleighova interferometru [autor].....	37
Obrázek 42: Diagram funkce sensoru (zdroj: www.rohm.com/sensor/environment)	38
Obrázek 43: Elektrické schema obvodu pro úpravu signálu [21]	39
Obrázek 44: Elektrické schema obvodu mikrokontroleru a displeje [21]	39
Obrázek 45: Elektronická deska měřící tepovou frekvenci [autor]	39

8. Seznam tabulek a grafů

Tabulka 1: Typy diabetu [autor].....	11
Tabulka 2: Počty pacientů s DM v ČR (zdroj: Ústav zdravotnických informací a statistiky ČR).....	11
Tabulka 3: Rozdíly indexu lomu vody na teplotě a vlnové délce [8]	13
Tabulka 4: Specifické refrakční přírůstky vybraných molekul [9]	14
Tabulka 5: Měření sacharimetry	31
Graf 1: Odchyšky refraktometrů při měření sacharimetry [autor].....	32