

Aus der Medizinischen Klinik I
der Universität zu Lübeck
Direktor: Prof. Dr. med. H. Lehnert

**Klinische Evaluation von Messsystemen zur kontinuierlichen
Glukosebestimmung im subkutanen Fettgewebe**

Inauguraldissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde
der Universität zu Lübeck

-Aus der Medizinischen Fakultät-

vorgelegt von
Torsten Sadetzki
aus Berlin

Lübeck 2008

1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. C. Dodt

2. Berichterstatter/Berichterstatterin: Prof. Dr. med. M. Seyfarth

Tag der mündlichen Prüfung: 11.07.2008

Zum Druck genehmigt, Lübeck den 11.07.2008

gez. Torsten Sadetzki

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung	6
1.1 Physiologie der Glukosehomöostase	6
1.2 Pathophysiologie der Glukosehomöostase	6
1.2.1 Glukosehomöostase bei Diabetes mellitus Typ1	7
1.2.2 Glukosehomöostase bei Diabetes mellitus Typ2	7
1.2.3 Folgen einer unzureichenden Stoffwechselkontrolle bei Diabetes mellitus	8
1.2.4 Glukosehomöostase bei Schwerkranken	9
1.3 Glukosemessung	13
1.4 Gewinnung interstitieller Flüssigkeit durch Mikrodialyse	15
2 Zielsetzung	18
3 Material und Methoden	19
3.1 Material	19
3.1.1 Geräte	19
3.1.2 Reagenzien	20
3.2 Methoden	21
3.2.1 Das Glukose-Messsystem	21
3.2.2 Das Mikrodialysesystem	22
3.2.2.1 Probengewinnung	22
3.2.2.2 Implantation des Mikrodialysekatheters	23
3.2.2.3 Transport der Perfusat- und Dialysatflüssigkeit	23
3.2.3 Glukosedetektion mittels Glukose-Biosensoren	24
3.2.3.1 Membran-Glukosesensor	24
3.2.3.2 Dickschicht-Glukosesensor	26
3.2.4 Das Sensor-Glukosesignal	27
3.2.4.1 Datenaufbereitung und Speicherung	29
3.2.5 Kalibrierung des Glukose-Messsystems	30
3.2.6 Bestimmung der Blut-Glukosekonzentration als Referenz zur Sensorglukose (EBIO / NOVA)	32
3.3 Voruntersuchungen	34
3.3.1 Ermittlung der sicheren Messfunktion	34

3.3.2 Langzeitstabilität des Glukosesignals.....	35
3.3.3 Dynamik der Änderung der Glukosekonzentration im Blut und im Interstitium.....	37
3.3.4 Temperaturmessung und Korrektur.....	39
3.4 Probanden und Ethikkommission.....	41
3.5 Versuchsablauf und Blutentnahmen.....	42
3.5.1 Versuchsreihe: Typ1-Diabetiker.....	42
3.5.2 Versuchsreihe: kritisch kranke Intensivpatienten.....	44
3.6 Auswertung und Statistik.....	46
3.6.1 Kalibrier- und Auswertemethoden.....	46
3.6.2 Korrelation zwischen Sensor- und Blutglukose.....	49
3.6.3 Error-Grid-Analyse.....	50
 4 Ergebnisse.....	 52
4.1 Typ1-Diabetiker.....	52
4.2 Kritisch kranke Intensivpatienten.....	56
 5 Diskussion.....	 62
 6 Zusammenfassung.....	 73
 7 Glossar.....	 75
 8 Literaturverzeichnis.....	 76
 9 Anhang.....	 90
Danksagung.....	90
Lebenslauf.....	91

1 Einleitung

1.1 Physiologie der Glukosehomöostase

Glukose spielt eine zentrale Rolle in der Energieversorgung des Organismus. Eine optimale Versorgung mit diesem Energieträger ist deswegen für die Lebensfähigkeit des Organismus von entscheidender Bedeutung. Besonders Erythrozyten und das zentrale Nervensystem sind primär auf eine kontinuierliche Versorgung mit Glukose angewiesen, während andere Organe (Leber, Muskel, Fettgewebe) auch alternative Energiesubstrate, wie Aminosäuren und Fettmetabolite, verwenden können. Das zentrale Nervensystem kann außerdem einen Teil der benötigten Energie durch Ketonkörper und Lactat decken.

Das endokrine und autonome System passt das schwankende Glukoseangebot an den unterschiedlichen Glukosebedarf an. Dieses neurohumorale Regelwerk stimmt die Glukosespeicherung, die Glukoneogenese aus Aminosäuren und Fetten sowie die Glukoseeinschleusung in die Zellen genau aufeinander ab. In diesem Regelmechanismus steht das Insulin als wichtigstes blutzuckersenkendes Hormon mehreren blutzuckersteigernden Hormonen (wie zum Beispiel Glukagon, Katecholamine, Glukokortikoide oder Wachstumshormone) gegenüber. Der Blutzuckerspiegel wird im Zuge dieser komplexen Regulation auf $4,5 \pm 1$ mmol/L eingestellt.

Insulin steigert einerseits die anabolen Stoffwechselvorgänge (Glykogen-, Lipid- und Proteinsynthese) und hemmt andererseits den Katabolismus (Glykogenolyse, Lipolyse und Proteolyse sowie die Glukoneogenese). Die effektive Insulinwirkung ist dabei vom Insulinspiegel im Blut und der Ansprechbarkeit der Körperzellen (über Rezeptoren) auf Insulin abhängig.

1.2 Pathophysiologie der Glukosehomöostase

Gestörte Insulinsekretion und, oder verminderte Insulinwirkung sind die wesentlichen Faktoren für eine Störung der Blutzuckerregulation. Von einem Diabetes mellitus spricht man, wenn der Blutzucker im Vollblut im Nüchternzustand (nach 8 Stunden Nahrungskarenz) über 6,1 mmol/l liegt. Beim Diabetes mellitus lassen sich zwei Typen unterscheiden.

1.2.1 Glukosehomöostase bei Diabetes mellitus Typ1

Die Ursache der juvenilen und multifaktoriell vererbten Form des Diabetes mellitus Typ1 (Insulin-dependent Diabetes mellitus (IDDM)) ist ein **absoluter Insulinmangel**, der aufgrund einer Zerstörung oder Insuffizienz der B-Zellen des Pankreas entsteht. Die Gründe hierfür liegen in einer Autoimmunreaktion, die entweder direkt die B-Zellen betrifft, indem sie eine Entzündung hervorruft, die diese auf Dauer zerstört, oder gegen Insulin gerichtet ist und so auf Dauer zu einer Erschöpfung der B-Zellen führt.

Weitere Ursachen eines IDDM sind zum Beispiel eine chronische Pankreatitis, Traumen des Pankreas oder dessen chirurgische Verkleinerung, Pankreastumoren oder eine Hämochromatose (Bronzediabetes).

1.2.2 Glukosehomöostase bei Diabetes mellitus Typ2

Beim Diabetes mellitus Typ2 liegt im Verhältnis zum Blutzuckerspiegel ein **relativer Insulinmangel** vor. Dazu trägt auch eine **verminderte Insulinwirkung** am Erfolgsorgan bei. Besonders in der Anfangsphase des Typ2-Diabetes findet sich eine erhöhte Insulinsekretion, erst später nimmt die Sekretion ab und es entwickelt sich das sogenannte Sekundärversagen. Im Mittelpunkt der Pathogenese des Typ2-Diabetes steht die Insulinresistenz. Sie ist zum einen durch eine verminderte Ansprechbarkeit der Insulinrezeptoren bedingt, die sich einerseits sui generis entwickeln kann, andererseits aber auch die Folge kontrainsulinerger Faktoren ist. Derartige Faktoren sind zum Beispiel eine übermäßige Bildung und **Ausschüttung kontrainsulinärer Hormone** wie Adrenalin, Kortikosteroide und Glukagon unter stressbedingenden Situationen oder Medikamente (Steroide und Thiaziddiuretika). Insbesondere Kortikosteroide können einen Anstieg der Blutzuckerkonzentration bei erhöhter Insulinfreisetzung eine Insulinresistenz induzieren (Meyer and Badenhop, 2003). Als weiteres Beispiel sei auch die Entdeckung des Serum-Leptins und der Leptinrezeptoren im Hypothalamus zu erwähnen, dem Genprodukt des "Fettsuchtgens" (obese-gene). Die Leptinkonzentrationen korrelierten positiv mit dem Körpermasseindex von Frauen und Männern, dem Taillenumfang und den gemessenen Insulinspiegeln

(nüchtern und postprandial unabhängig vom Körpermasseindex), so dass das Leptin eine mögliche Rolle bei der Entstehung der Insulinresistenz und der Hyperinsulinämie spielt (Zimmet et al., 1996).

1.2.3 Folgen einer unzureichenden Stoffwechselkontrolle bei Diabetes mellitus

Neben den Problemen einer akuten Hyperglykämie, die in eine ketoazidotische oder hyperosmolare Stoffwechselentgleisung führen können, sind insbesondere die chronischen Folgen einer Hyperglykämie gefürchtet. Der Diabetes mellitus geht mit einem deutlich erhöhten Risiko der Entstehung einer Neuropathie sowie mikro- und makroangiopathischer Folgeschäden einher (Raskin, 1978; Tchobroutsky, 1981; Ross et al., 1983). Im Mittelpunkt der mikrovaskulären Komplikationen stehen Retinopathie, Neuropathie und Nephropathie. Makrovaskuläre Spätkomplikationen sind insbesondere kardiovaskuläre Erkrankungen wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und periphere arterielle Verschlusskrankheit. Diese vaskulären Komplikationen führen zu einer Beeinträchtigung der Lebensqualität und stellen weltweit eine der häufigsten Todesursachen dar.

Große Longitudinalstudien wie die DCCT- und UKPDS-Studie haben sowohl für Typ1- als auch Typ2-Diabetiker gezeigt, dass durch eine straffe und lebenslange Optimierung der Blutzuckereinstellung auf fast-normale Werte das Risiko für die Entwicklung solcher Spätkomplikationen reduziert werden kann (DCCT Research Group: N Engl J Med, 1993; Am J Cardiol, 1995; Kidney Int, 1995; Diabetes, 1995; UKPDS, 1998). Die positiven Ergebnisse dieser Studien führen dazu, dass zunehmend mehr Patienten (auch Typ2-Diabetiker) mit einer modernen Insulintherapie (intensivierte Therapie nach Basis-Bolus-Schema oder auch Insulinpumpentherapie) behandelt werden, um die Blutglukose im nahe-normoglykämischen Bereich einzustellen.

Eine solche Therapie beinhaltet eine mindestens vier- bis sechsmalige tägliche Kontrolle des Blutzuckerspiegels, um entsprechend vor bzw. nach den Mahlzeiten auf die jeweiligen Blutzuckerwerte zu reagieren bzw. das Insulinschema anzupassen.

Probleme dieser Therapieform bestehen in einer teilweise fehlenden Akzeptanz häufiger Blutzucker-Selbstkontrollen und dem Auftreten von schweren Hypoglykämien, deren klinische Zeichen wie Unruhe, Schwitzen, Tachykardie, Tremor oder Heißhunger vom Patienten mit Dauer der Erkrankung zunehmend weniger bemerkt werden (Fanelli et al., 1997).

Bei Patienten mit langer Diabetes-Dauer, die die Symptome einer drohenden Hypoglykämie nicht mehr wahrnehmen können, spricht man auch von der so genannten „hypoglycemia unawareness“ (Gerich et al., 1991). In der DCCT-Studie konnte weiterhin gezeigt werden, dass bei einer intensivierten Insulintherapie das Risiko eine schwere Hypoglykämie zu erleiden 3,3mal höher ist als bei konventionell therapierten Patienten. Eine Hypoglykämie ist eine häufige, potentiell letal endende Komplikation des mit Insulin behandelten Diabetikers (Cryer et al., 1989; DCCT Research Group, 1993). Mittlerweile ist auch bekannt, dass nächtliche Veränderungen des Blutzuckerspiegels, wie Hypo- und frühmorgendliche Hyperglykämien, häufig nicht registriert werden und eine große Rolle bei der Therapie schwer einstellbarer Patienten spielen.

Sowohl das Auftreten von Hyper- als auch von Hypoglykämien bei behandeltem Diabetes mellitus machen eine engmaschige Kontrolle des Glukosestoffwechsels erforderlich und stellen ein wichtiges Argument für ein kontinuierliches Glukosemesssystem bei Patienten dar.

1.2.4 Glukosehomöostase bei Schwerkranken

Hyperglykämien und Insulinresistenzen sind bei kritisch kranken Patienten sehr häufig anzutreffen (Mizock et al., 1995; McCowen et al., 2001; Capes et al., 2000; Cely et al., 2004). Diese treten aber auch bei Patienten auf, die zuvor keinen Diabetes oder eine prädiabetische Stoffwechsellage aufwiesen (Wolfe et al., 1987; Shangraw et al., 1989; Montori et al., 2002). Dabei spielt die Insulinresistenz die zentrale Rolle in den metabolischen Veränderungen der kritischen Krankheit. Ähnlich wie bei einem Typ2-Diabetes besteht eine reduzierte Glukoseaufnahme in insulinsensitiven peripheren Geweben. Die beeinträchtigte Insulinwirkung bewirkt gleichzeitig eine fehlende Hemmung der hepatischen Glukoneogenese, die eine wichtige Ursache der persistierenden Hyperglykämie darstellt (Thorell et al., 1999;

McCowen et al., 2001). Auch eine gestörte Insulinsekretion in der kritischen Krankheit, zum Beispiel infolge Erschöpfung oder Entzündung der B-Zellen nach Organversagen oder schweren Infektionen, kann einen erhöhten Blutzuckerspiegel bedingen. Insbesondere endogene und exogene Katecholamine hemmen durch die Sympathikusaktivierung die Insulinsekretion der B-Zellen, andere Hormone wie zum Beispiel Somatostatin können ebenfalls für eine Hemmung der Insulinsekretion verantwortlich sein (Van den Berghe, 2004). Eine Sympathikusaktivierung, sei sie therapeutisch induziert oder Folge der instabilen Kreislagsituation, verursacht eine Insulinresistenz. Die Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin, die vor allem in Schocksituationen (Kreislauf, septisch, anaphylaktisch) auch therapeutisch eingesetzt werden, hemmen zum einen die insulinabhängige zelluläre Glukoseaufnahme über beta-Adrenorezeptoren (Deibert and DeFronzo, 1980) andererseits wird der Glukoseuptake in die Muskulatur durch Vasokonstriktion und den dadurch verminderten Blutfluss im Muskelgefäßbett verschlechtert (Jamerson et al., 1993). Weiterhin stimulieren sie die Freisetzung des kontrainsulinergen Glukagons.

Die Erhöhung des Blutzuckerspiegels in der kritischen Krankheit stellt, *per se* einen wichtigen pathogenetischen Faktor für den Verlauf der kritischen Krankheit dar. Es wurde auch berichtet, dass ausgeprägte Hyperglykämien in der kritischen Krankheit zu Komplikationen, wie Organversagen, schweren Infektionen, erhöhten Infektionsraten, Polyneuropathie und Wundheilungsstörungen führen können (O'Neil et al., 1991; Zerr et al., 1997; Furnary et al., 1999; Scott et al., 1999; McCowen et al., 2001; Van den Berghe et al., 2001, 2003). Mögliche erklärende Mechanismen sind Fehlfunktionen des Immunsystems (Weekers et al., 2003), systemische Entzündungen (Hansen et al., 2003), Schäden am Endothel (Van den Berghe et al., 2004; Langouche et al., 2005) oder Funktionsstörungen mitochondrialer Ultrastrukturen (Vanhorebeek et al., 2005).

Eine vielbeachtete Studie aus Leuven zeigte, dass ein kontinuierlicher Blutzuckerspiegel, bei oder kleiner 6,1mmol/L unter Einsatz der intensivierten Insulintherapie, zu einer Reduktion der Morbidität und Mortalität bei schwer kranken Patienten auf einer chirurgischen Intensivstation führt (Van den Berghe et al., 2001). Bezüglich Morbidität konnten insbesondere Patienten mit Multi-Organ-Versagen und nachgewiesenem septischen Herd von einer intensivierten Insulintherapie (mit einem Blutzuckerspiegel zwischen 4,4mmol/L und 6,1mmol/L)

profitieren. So wurden Komplikationen, wie akutes Nierenversagen, Bakteriämie, Anämie, überschießende Entzündungen, Hämolyse, Hyperbilirubinämie und das Risiko, eine lebensgefährliche Polyneuropathie zu entwickeln, verhindert bzw. reduziert (Van den Berghe et al., 2001, 2003, 2004). Insgesamt konnte bei den Intensivpatienten, die unter intensivierter Insulintherapie standen, verglichen mit den Patienten, die konventionell mit Insulin therapiert wurden, das Sterberisiko signifikant reduziert werden.

Bislang war noch unklar, ob auch für Patienten auf internistischen Intensivstationen, die häufig noch schwerere Erkrankungen und ein größeres Risiko zu sterben aufwiesen als auf chirurgischen Intensivstationen (Cely et al., 2004; Evans, 2001; Clement et al., 2004), ebenfalls eine Verbesserung ihrer Prognose bezüglich Morbidität und Mortalität aufzeigen. In einer aktuellen Studie aus Leuven zeigte sich, dass unter allen Patienten auf einer internistischen Intensivstation zwar eine signifikante Reduktion der Morbidität bei intensivierter Insulintherapie erreicht wurde, die Mortalität aller in der Studie eingeschlossenen Patienten aber nicht signifikant beeinflusst wurde. Teilte man die Patienten in 2 Gruppen in Abhängigkeit von der Liegezeit auf der Intensivstation, ergab sich bezüglich der Mortalität ein differenzierteres Bild. Bei Patienten, die weniger als 3 Tage auf der Intensivstation behandelt wurden, war in der intensivierten Insulintherapiegruppe die Sterblichkeit erhöht. Ein wesentlicher Faktor für diese erhöhte Sterblichkeit können häufige auftretende Hypoglykämien bei den straff blutzuckerregulierten Patienten gewesen sein. Für die Patienten, die länger als 3 Tage auf der Intensivstation behandelt wurden, konnte eine Absenkung der Mortalität beobachtet werden (Van den Berghe et al., 2006). Eine signifikante Reduktion der Morbidität bedeutete hier insbesondere die Vorbeugung von Nierenschäden, eine schnellere Entwöhnung von der mechanischen Beatmung und eine schnellere Entlassung der Patienten von der Intensivstation bzw. aus dem Krankenhaus.

Eine weitere erwähnenswerte Studie ist die DIGAMI1-Studie, in der nachgewiesen werden konnte, dass durch Insulin-Glukose-Infusionen nach einem Multidosis-Insulin-Regime (mit Glukosespiegeln unter 11,9mmol/L) die Langzeit-Prognose bezüglich einer Reduktion der Mortalität von diabetische Patienten, die einen akuten Myokardinfarkt erlitten, verbessert wurde (Malmberg et al., 1995). Nach einem Jahr lag die Mortalitätsrate in der Infusionsgruppe bei 8,6% und in der

Kontrollgruppe, die konventionell behandelt wurde, bei 18,0%. In der DIGAMI2-Studie (Malmberg et al. 2005), in der 3 Behandlungsstrategien, bei Typ2-Diabetikern mit Verdacht auf akuten Myokardinfarkt, miteinander verglichen wurden (Insulin-Glukose-Infusion nach insulinbasierter Langzeit-Glukosekontrolle, nach Standard-Glukosekontrolle und nach Routinekontrolle in ortsüblicher Praxis), konnte allerdings nicht bestätigt werden, dass Langzeit-Insulinbehandlungen bei Typ2-Diabetikern das Überleben nach Myokardinfarkt verbessern bzw. die Zahl der nichttödlichen myokardialen Reinfarkte oder Schlaganfälle verringern. Trotzdem bestätigt eine epidemiologische Analyse die Wichtigkeit der Glukosespiegel-Kontrollen in dieser Patientenkategorie zur Vorhersage der Langzeit-Mortalität. Auch Furnary et al. (2003) zeigte, dass kontinuierliche Insulininfusionen bei diabetischen Patienten nach koronar-arterieller Bypass-Operation zur Reduktion der Mortalität beitragen.

Durch den Einsatz der intensivierten Insulintherapie bei schwer kranken intensivpflichtigen Patienten werden regelmäßige manuelle Blutzucker-Kontrollmessungen erforderlich. Diese dienen der Vermeidung von Hypoglykämien, die unter der intensivierten Insulintherapie signifikant häufiger auftreten, ebenso wie der Anpassung der Insulin- und Glukosezufuhr. Deswegen kann eine kontinuierliche und einfach durchführbare Glukosemessung einen großen Vorteil für die Insulintherapie von Patienten mit Insulin behandelten Diabetes bzw. intensivpflichtigen schwer kranken Patienten darstellen. Mit Hilfe eines automatischen Glukosemess- und Überwachungssystems, welches körpernah vom Patienten getragen wird, können deutliche Verbesserungen in der Stoffwechselführung realisiert werden. Bislang steht ein solches Gerät noch nicht für den klinischen Alltag bei der intensivmedizinischen Pflege kritisch kranker Patienten zur Verfügung. Es konnte allerdings in der Lübecker Arbeitsgruppe von Prof. Frankenberger und Dipl. Ing. Krahwinkel (Fachhochschule Lübeck) in Kooperation mit Prof. Kerner (ehemals Universität Lübeck, nun Klinikum Karlsburg Herz- und Diabeteszentrum Mecklenburg Vorpommern) ein tragbares, automatisiertes Gerät zur kontinuierlichen Glukosemessung über 24 Stunden entwickelt werden, das auch in dieser Arbeit zum Einsatz kam. Dabei wird die Glukosekonzentration automatisch erfasst und gespeichert. Nach Beendigung der Messung werden die Daten mit Hilfe eines Personal-Computers eingelesen und ausgewertet. Ein Blutzuckertagesprofil kann erstellt werden.

1.3 Glukosemessung

Grundlage der Glukosemessung bildet der Glukosesensor, der zur Gruppe der Biosensoren gehört. Biosensoren sind selektive Messfühler, die aus Bauteilen der Mess- und Analysentechnik und einer biologischen Komponente bestehen. Prinzip ist die Umsetzung einer chemischen Reaktion in eine messbare elektrische Größe. Dazu bindet sich selektiv die zu analysierende Substanz (zum Beispiel Glukose) an die biochemische Komponente (zum Beispiel ein Enzym, Rezeptor oder Antikörper), so dass durch eine spezifische biochemische Reaktion ein leicht quantifizierbares Primärsignal (zum Beispiel Elektronen, Protonen, Ionen, Gase oder Wärme) erzeugt wird. Dieses Primärsignal wird von einem Signalwandler, dem Transduktor, in ein elektrisches Ausgangssignal umgesetzt und anschließend elektronisch verstärkt. Abbildung 1.3. zeigt die Funktionsweise eines Glukosebiosensors. Die in der Messlösung (Dialysat aus dem interstitiellen Gewebe) enthaltene Glukose diffundiert beim Durchgang der Sensor-Messzelle in die Enzymmatrix des Glukosesensors. Dort erfolgt die Oxidation der Glukose zu Glukonolakton unter Katalysierung der Reaktion durch das Enzym Glukoseoxidase. Aus den gebildeten Wasserstoffprotonen und dem Molekül Sauerstoff entsteht das Wasserstoffperoxid. Dabei stellt der Sauerstoff das Oxidationsmittel dar und nimmt die von der Glukoseoxidase übertragenen Elektronen auf. Die Detektion des Wasserstoffperoxides findet an der Arbeitselektrode (Anode) statt, wobei dieses oxidiert wird und wieder Elektronen frei werden. Durch das Anlegen einer Spannung an die Elektroden (Anode-Kathode) entsteht ein Elektronenfluss, der proportional zu der vorhandenen Substratmenge (Glukose) ist.

Transduktoren können Signale potentiometrisch, konduktometrisch oder amperometrisch wandeln. Die Potentiometrie ist ein Verfahren ohne Stromfluss und basiert auf der Konzentrationsabhängigkeit des Potentials bei Halbzellen mit reversiblen Redoxelektroden. Die Konduktometrie ist ein unspezifisches Verfahren, das die Wanderung aller Ionen in der Lösung als Wechselstrom darstellt und so nur bei einheitlicher Leitfähigkeit aller Messproben genutzt werden kann. Die Amperometrie ist ein Verfahren mit Stromfluss und basiert auf der Oxidation oder Reduktion elektrodenaktiver Substanzen. (Scheller et al. 1992)

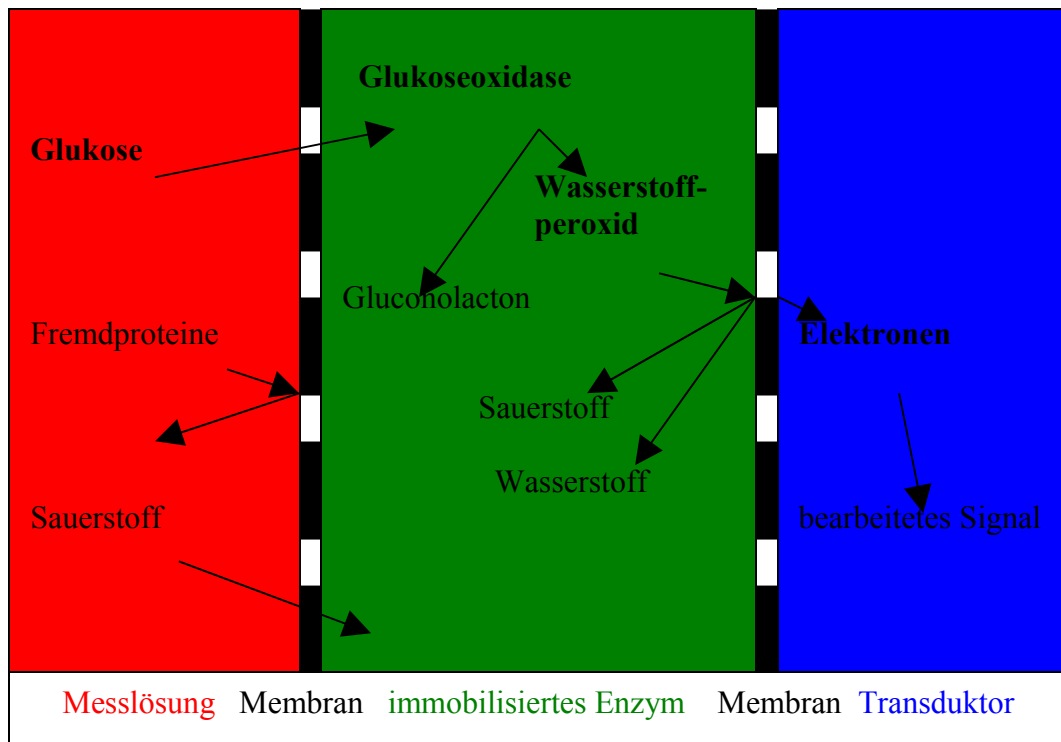


Abbildung 1.3.: Schematische Darstellung der Reaktionsschichten eines Glukosebiosensors

Das im Glukose-Messsystem angewandte Messprinzip eines Glukosebiosensors beruht auf der enzymatisch-amperometrischen Detektion des Glukosesignals.

Derzeit bestimmen die Nadelsensoren und die Mikrodialysesysteme das Feld der subkutanen Glukosemessung. Entscheidender Unterschied beider Methoden ist die Lokalisation des Glukosesensors. Bei den Nadelsensoren erfolgt die Glukosemessung intrakorporal und bei der Mikrodialysemethode befindet sich der Glukosesensor extrakorporal.

Die subkutanen Nadelsensoren bestehen aus einem zentralen mit Glukoseoxidase (biochemische Enzymkomponente) beschichteten Platindraht (Arbeitselektrode), umgeben von einer Kanüle (Gegenelektrode). Hieraus ergeben sich einige Nachteile der Nadelsensoren. Zum einen sind sie potentiell toxisch, da nicht ausgeschlossen werden kann, dass die biochemische Enzymkomponente (Glukoseoxidase) ins Gewebe diffundiert. Weiterhin weisen die Nadelsensoren nach Implantation eine niedrigere Sensitivität als in Pufferlösung auf (infolge

Inaktivierung durch niedermolekulare Substanzen), aber auch Drift und höheres Hintergrund-Rauschen *in-vivo* als *in-vitro* wirken sich nachteilig bezüglich der Kalibrierung aus (Kerner et al. 1993). Mit der Mikrodialyse können die Probleme des Signaldriftes und der *in-vivo* Sensorstabilität (Roe and Smoller, 1998; Wisniewsky et al., 2000; Gerritsen, 2000) durch den extrakorporalen Sitz des Glukosesensors vorgebeugt werden (Gerritsen et al., 1998; Jungheim et al., 2001; Maran et al., 2002). Die Anwendbarkeit der Mikrodialysetechnik für das Glukose-Monitoring im subkutanen Fettgewebe konnte in Studien bereits gezeigt werden (Bolinder et al., 1989, 1992; Arner and Bolinder, 1991; Jungheim et al., 2001).

1.4 Gewinnung interstitieller Flüssigkeit durch Mikrodialyse

Die interstitielle Flüssigkeit des subkutanen Fettgewebes ist als Asservat für die Glukosebestimmung besonders geeignet. Sie ist besser zugänglich als Blut und ihre Gewinnung ist mit weniger Komplikationen wie Thrombose, Infektionsrisiko oder Inaktivierung durch Gerinnung verbunden (Turner and Pickup, 1985; Gough and Armour, 1995). Dabei ist die interstitielle Glukosekonzentration der Plasmaglukosekonzentration sehr ähnlich (Lönnroth et al., 1987; Jansson et al., 1988; Bolinder et al., 1989; Rosdahl et al., 1993). Als glukoseverwertendes Gewebe zeigt das subkutane Fettgewebe ähnliche Konzentrationen wie das Gehirngewebe, das somit bessere Informationen bezüglich der Glukosekonzentration liefert als das Blut, das hier vielmehr als Transportmedium für die Glukose fungiert (Nielsen et al., 1999, 2005; Hutchinson et al., 1999; Reinstrup et al., 2000).

Interstitielle Flüssigkeit kann mittels Mikrodialyse gewonnen werden. Dabei handelt es sich um eine *in-vivo*-Technik, die in verschiedenen Geweben wie Fettgewebe, Muskel, Gehirn oder Blut über längere zeitliche Perioden (Ungerstedt, 1986; Benveniste, 1989) angewendet werden kann. Sie wurde vor mehr als 30 Jahren eingeführt (Ungerstedt and Pycoc, 1974; Ungerstedt, 1991). Klinisch wurde die Mikrodialyse zum Monitoring neurochirurgischer Patienten z. B. zur Gewinnung von Metaboliten in cerebrospinaler Flüssigkeit (Landolt et al., 1994; Hutchinson et al., 2000) oder zur Glukosebestimmung im subkutanen

Fettgewebe bei Neugeborenen (Baumeister et al., 2001) oder auch bei Diabetikern eingesetzt (Trajanoski et al., 1997; Maran et al., 2002).

Die Mikrodialyse beruht auf dem Prinzip, dass ein semipermeabler Katheter von einem Perfusat durchspült wird. Im Bereich des Katheters können in Abhängigkeit von der Porengröße der Dialysemembran und ihrer Ladung Moleküle aus dem Interstitium in das Perfusat übertreten, das nun als Dialysat weitertransportiert wird. Dazu wird eine tubulär aufgebaute Dialysemembran im Interstitium des subkutanen Fettgewebes implantiert, die kontinuierlich oder neuerdings auch pulsatil (intermittierend) mit einer Pufferlösung zur Äquilibration mit dem umliegenden Gewebe perfundiert wird.

Die **pulsatile** Mikrodialyse ist ein neuer Ansatz, die Probleme der kontinuierlichen Mikrodialyse zu lösen. Sie findet Anwendung im neu entwickelten Glukose-Messsystem, das in dieser Arbeit vorgestellt wird. Vorteile dieser Methode sind die Möglichkeit der in-vitro-Kalibrierung, die Reduzierung des Dialysatvolumens und die höhere Glukose-Wiederfindung als Folge des intermittierenden Flusses (pulsatil) und der damit verbundenen Zeit, die das Perfusat hat, um sich mit dem umgebenen Medium zu äquilibrieren. Damit wird auch die Abhängigkeit der Glukose-Wiederfindung von der lokalen Durchblutung reduziert. Nachteil der **kontinuierlichen** Mikrodialyse ist die relativ große Menge benötigter Perfusionsflüssigkeit (aufgrund der kontinuierlichen Perfusion), aber auch die Abhängigkeit der Glukose-Wiederfindung von der Flussrate, der Gewebedurchblutung sowie der Inaktivierung der Messzelle durch Inhaltsstoffe des Dialysats, so dass die *in-vivo*-Messung bezüglich der subkutanen Glukosekonzentration limitiert wird (Benviste, 1989; Hagström et al., 1990; Moatti-Sirat et al., 1992; Kerner et al., 1993; Pickup et al., 1993; Sternberg et al., 1994).

Abbildung 1.4. zeigt die Mikrodialyse als Bestandteil eines Messaufbaus zur Bestimmung der subkutanen interstitiellen Glukosekonzentration. Dieser Aufbau ähnelt dem in unseren Experimenten verwendeten Versuchsaufbau. Dabei werden *in-vivo* mittels Diffusion über eine semipermeable Mikrodialyse-Membran Substanzen selektiv aus dem Interstitium entfernt und auch zugeführt. Unter Einsatz eines sterilen Mikrodialyskatheters (CMA60) in Doppellumenbauweise wird eine physiologische Phosphatpufferlösung (Perfusat) in die Katheter-Dialysemembran, die sich im Interstitium des subkutanen Fettgewebes befindet,

perfundiert. Dazu wird pulsatil (alle 10 bzw. 15min) ein Bolus von 15µl physiologischen Phosphatpuffers durch das Glukose-Messsystem abgegeben und über den zuführenden Katheterschlauch in das äußere tubulär aufgebaute Lumen der Dialyse-Membranstrecke eingebracht. Gleichzeitig wird das zuvor sich äquilibrierte Dialysat über den abführenden Katheterschlauch zum Glukosesensor verschoben. Bedingt durch den Konzentrationsgradienten zwischen Interstitium und Phosphatpuffer diffundieren Glukosemoleküle passiv durch die semipermeable Membran des Katheters. Durch die Bolusabgabe einer ex-vivo Mikrospritzenpumpe wird das mit Glukose äquilibrierte Dialysatvolumen verschoben. Die Bolusmenge ist so bemessen, dass das Dialysat an der Enzymmembran des Glukosesensors vorbei geschoben wird.

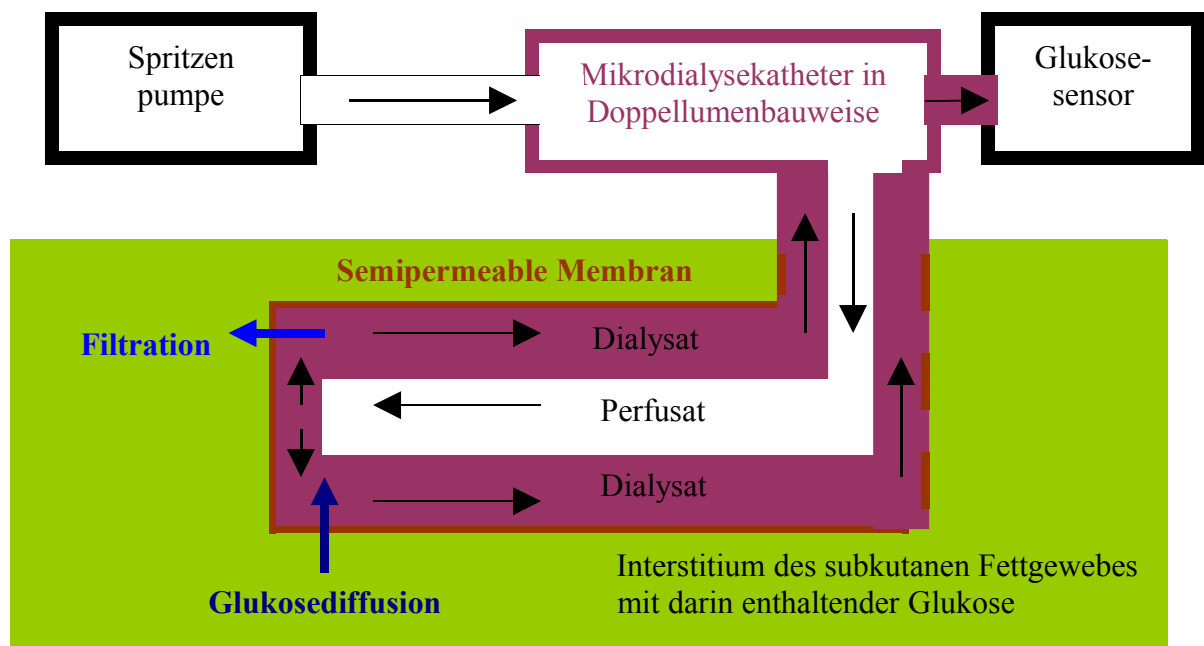


Abbildung 1.4.: Mikrodialysemethode

2 Zielsetzung

Ziel der Arbeit war es, ein neu entwickeltes Glukose-Messsystem in-vivo beim Menschen zu erproben, das in 10- bzw. 15-minütigen Abständen einen Glukosemesswert aus der interstitiellen Flüssigkeit liefert. Angewendet wurde das Glukose-Messsystem bei Typ1-Diabetikern und kritisch kranken Intensivpatienten, da die kontinuierliche Glukosemessung bei diesen Patienten von besonderer Bedeutung ist. Dazu erfolgt eine kontinuierliche automatische Glukoseerfassung mittels pulsatiler Mikrodialyse im Interstitium des subkutanen Fettgewebe mit nachgeschalteter extrakorporaler elektrochemisch-amperometrischer Glukosedetektion. Eingesetzt wurden zwei Biosensor-Systeme, die miteinander verglichen wurden.

Folgende Fragen sollten in der vorliegenden Studie beantwortet werden:

- Liegt *in vitro* eine sichere Messfunktion des Glukosesensors vor?
- Ist *in vitro* eine Langzeitstabilität des Glukosesensors über 24-Stunden gegeben?
- Muss *in vivo* eine Temperaturkompensation erfolgen und kann ein Temperaturalgorithmus diese sicherstellen?
- Gibt es eine zeitliche Verzögerung zwischen interstitiellen Glukosewerten und Blutglukosewerten?
- Welche Messgenauigkeit zwischen Blut- und Sensorglukose liegt beim Kollektiv der Typ1-Diabetiker vor?
- Welche Messgenauigkeit zwischen Blut- und Sensorglukose liegt beim Kollektiv der kritisch kranken Intensivpatienten vor?
- Welche Vor- und Nachteile besitzen die eingesetzten Glukose-Biosensoren bezüglich der Messfunktion und Handhabung?
- Können Aussagen zur Handhabung und Funktionssicherheit des Glukose-Messsystems sowie zur Durchführbarkeit am Patienten getroffen werden?

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Geräte

- Glukosemesssystem (OGM = Online-Glukose-Messsystem) mit fest installierter Software (Projekt „Glukose-Monitoring“ der Fachhochschule Lübeck und des Universitätsklinikums SH Campus Lübeck)
- Glukosemessgerät: Eppendorf EBIO-compact-Analyser (Netheler und Hinz GmbH, Eppendorf, Hamburg)
- Pipetten (Netheler und Hinz GmbH, Eppendorf, Hamburg)
- Analysator Stat Profile Critical Care Xpress (Nova Biomedical GmbH, Rödermark)
- Klimaschrank (Waltram Binder, Werner Hassa GmbH, Lübeck)
- Mikrodialyse-Katheter CMA60 (CMA/Microdialyses, Carnegie Medicine, Stockholm, Schweden)
- B.Braun Perifix-Katheterkupplung (B. Braun Melsungen AG, Melsungen)
- Teflon-Membran (mikroporöse Polytetrafluoroethylen-Membran, Universal Sensors, Metairie, LA, USA)
- Drucksensor (MPX 2300 D der Firma Motorola)
- BST-Dickschichtsensor (Bio Sensor Technologie GmbH, Berlin)
- Glas-Ampulle mit Gummistopfen (unbefüllt als steriler Einwegartikel aus D-Tron-Insulinpumpe, Disetronic Medical System GmbH, Sulzbach/Taunus)
- Disetronic D-Tron-Adapter (steril, Disetronic Medical System GmbH, Sulzbach/Taunus)
- PC-Software: SigmaPlot 2000 (Jandel Scientific), Word 2000 (Microsoft)
- ScanDisk (Multi-Media-Karte MMC, 16Mb)
- Handyakku (NiMH; 3,6V; 500mAh, Siemens)
- Implantationsbesteck Venflong2 17G (steril)
- Aufziehkanüle Introcan 18G (steril)

3.1.2 Reagenzien

- YSI-Glukoseoxidase-Membran (YSI-2356 glucose membrane kit, Yellow Springs Instrument Co., Inc. Yellow Springs, USA)
- Glutaraldehyd (Pentane-1,5-dial, Grade 1:25% Aqueous Solution G5882, Sigma Chemie GmbH, Schnelldorf)
- Katalase (Catalase from bovine liver, 2x crystallized, C3155, Sigma Chemie GmbH, Schnelldorf)
- Phosphatpuffer mit EDTA (Steriler Phosphatpuffer Nr.8 mit Ethylendiamintetraessigsäure, pH7,4; 5,84g NaCl; 13,75g di-Natriumhydrogenphosphat-Dedacahhydrat; 1,6g Natriumdihydrogenphosphat-Monohydrat; 744,48g Titriplex III pro 1000ml Aqua bidest, Apotheke des Universitätsklinikums SH Campus Lübeck)
- 0,9%ige NaCl-Lösung (Isotone Elektrolytlösung, steril und pyrogenfrei, zur intravenösen und subkutanen Infusion, Serag Wiessner, Naila)
- 50%-ige Glukoselösung (G 50 Lösung zur Fertigung der Kalibrier-Glukose-Standardlösungen, Pharma Hameln, Hameln)
- Glukosestandard: 40ml EBIO gebrauchsfertig (Netheler und Hinz GmbH, Eppendorf, Hamburg)
- EBIO/ESAT: Eppendorf Systemlösung für Glukose / Laktat gebrauchsfertig zur Diagnostik (Netheler und Hinz GmbH, Eppendorf, Hamburg)

3.2 Methoden

3.2.1 Das Glukose-Messsystem

Das Glukose-Messsystem besteht aus einer etwa 300g schweren Mess-Einheit und dem Mikrodialysekatheter (siehe Abbildung 3.2.1). Diese Einheit enthält die Mikropumpe, die Durchflusszelle mit integriertem Glukose- und Temperatursensor, Messverstärker, Mikrokontroller-Einheit, Energieversorgung (Handyakku; NiMH; 3,6V; 500mAh; Siemens), Display und Sammelbehälter (D-Tron-Insulinampulle, ohne Stopfen, mit Zellstoff).

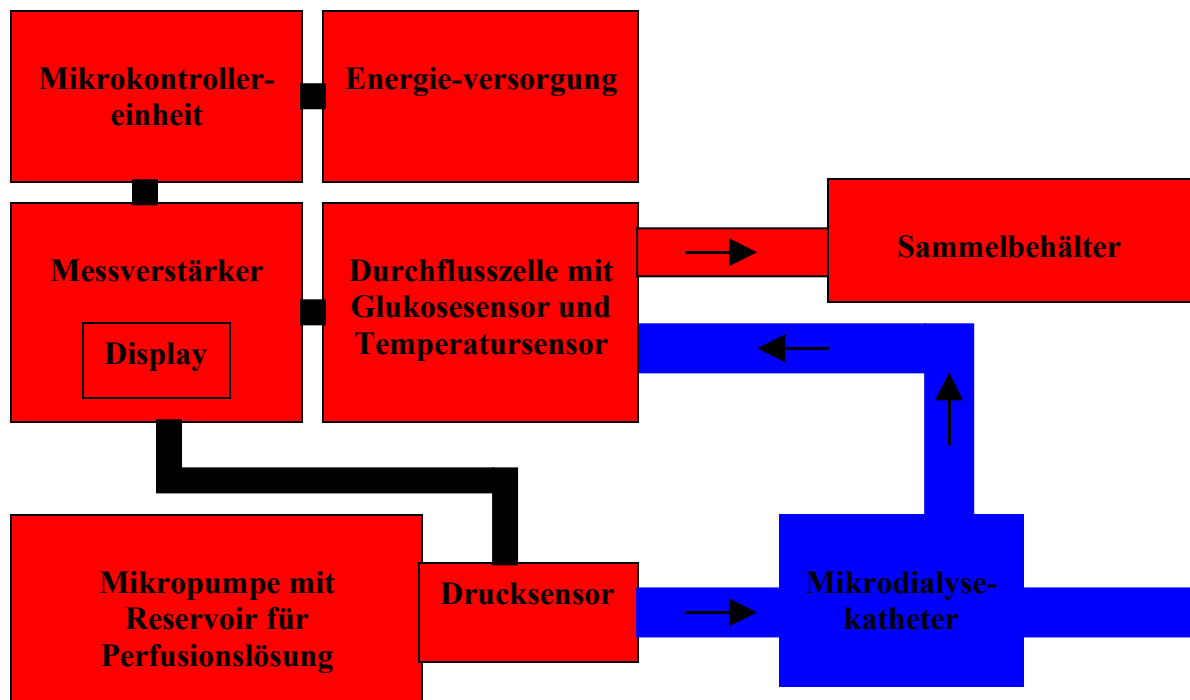
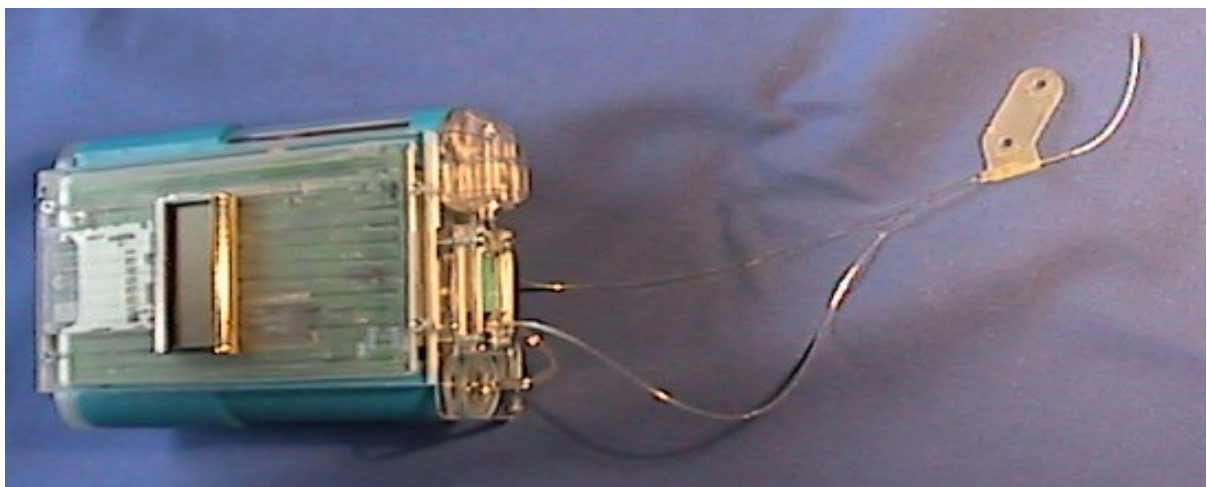


Abbildung 3.2.1.: Glukose-Messsystem und Mikrodialysekatheter

3.2.2 Das Mikrodialysesystem

3.2.2.1 Probengewinnung

Die Probengewinnung erfolgte über einen sterilen und biokompatiblen Mikrodialysekatheter (CMA60 mit CE-Kennzeichnung 0413) in Doppellumenbauweise (siehe Abbildung 3.2.2.).

Der Katheter wurde am zuführenden Schenkel mit der Mikrospritzenpumpe und am abführenden Schenkel mit dem Sammelbehälter verbunden und anschließend mit einer Phosphatpufferlösung perfundiert. Bevor der CMA60-Mikrodialysekatheter mit der Mikropumpe des Glukose-Messsystems über eine Perifix-Katheterkupplung konnektiert wurde, erfolgte unter sterilen Bedingungen eine Kürzung des zuführenden Katheterschlauches auf 15cm, um das Totvolumen zu verkleinern.

Die Dialyse-Membran des CMA60-Mikrodialysekatheters ermöglicht nur Molekülen mit einem Molekulargewicht bis 20000 Dalton, die Membran zu passieren. Aufgrund von Konzentrationsgradienten wandern Glukose-Moleküle aus dem subkutanen Fettgewebe über die semipermeable Membran des Mikrodialysekatheters in die Dialysatflüssigkeit („Passive Diffusion“). Bei der von uns durchgeführten pulsatilen Mikrodialyse äquilibriert das Dialysatvolumen von 3µl vollständig innerhalb der Standzeit von 9min bei den Dickschicht-Glukosesensoren und 14min bei den Membran-Glukosesensoren durch Konzentrationsausgleich mit der interstitiellen Flüssigkeit. Die Bolusmenge reicht aus, um die im Mikrodialysekatheter stehende Flüssigkeitssäule über die Durchfluss-Messzelle in das Abfallreservoir zu pumpen.

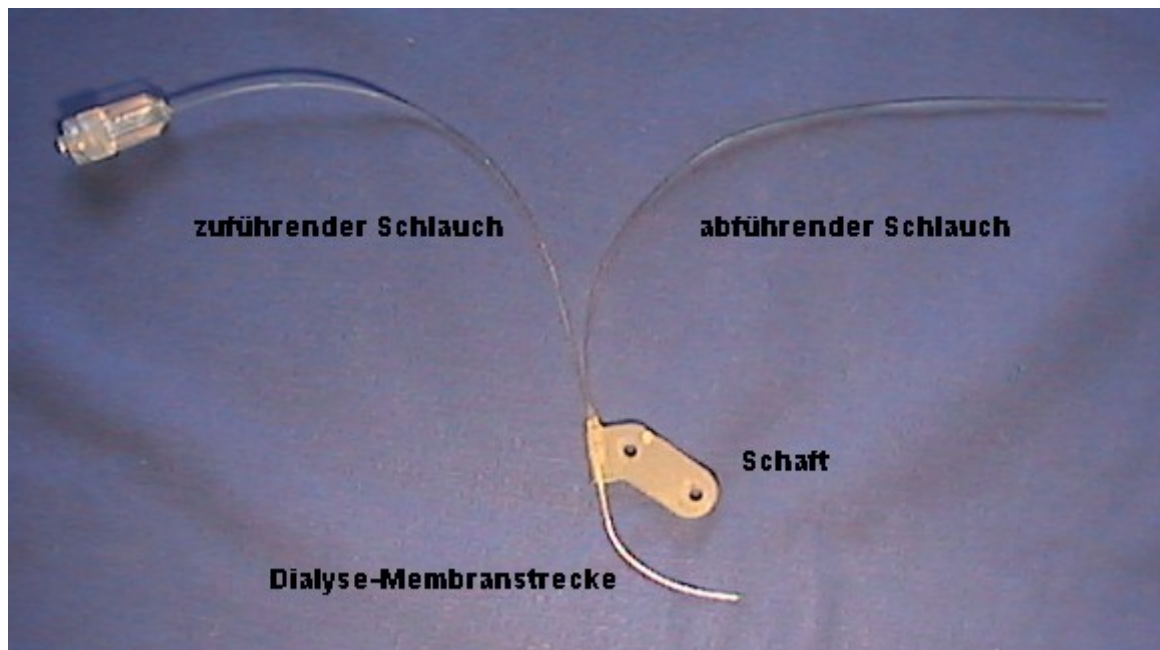


Abbildung 3.2.2.: Mikrodialysekatheter CMA60

3.2.2.2 Implantation des Mikrodialysekatheters

Die Implantation des Mikrodialysekatheters erfolgte bei den Typ1-Diabetikern im Unterhaut-Fettgewebe des proximalen Unterarms (radiale Außenseite und unterhalb der Ellenbogenbeugung) und bei den kritisch kranken Patienten im Unterhaut-Fettgewebe des Abdomens (Unterbauchbereich). Dazu wurde nach Desinfektion der Haut eine Hautfalte von etwa 15mm Breite und 40mm Länge gebildet, die ohne Anästhesie mit einer Venenverweilkanüle (Venflon2, 17G) perforiert wurde. Der Mikrodialysekatheter wurde über die Plastikhülse der Venenverweilkanüle eingefädelt. Nach Entfernung der Venenverweilkanüle wurde der in das subkutane Fettgewebe eingebrachte Katheter mit einem Tegaderm-Pflaster (3M, Transparentverband, steril, Canada) fixiert.

3.2.2.3 Transport der Perfusat- und Dialysatflüssigkeit

Das Perfusat und das nach Passage durch den Mikrodialysekatheter gewonnene Dialysatvolumen werden mittels einer Mikrospritzenpumpe mit einem intermittierenden Flow zum Glukosesensor gepumpt. Bei der Mikropumpe handelt

es sich um eine batteriebetriebene Spritzenpumpe mit Spindelantrieb, die diskontinuierlich fördert. Diese Pumpe befördert alle 10 bzw. 15min einen Bolus von 15µl physiologischen Phosphatpuffers in das Mikrodialysesystem. Die Flussdauer, in der der Bolus abgegeben wird, beträgt 1min. Dieser Vorgang wird mit einem Puls/Pause-Verhältnis von 1min/ 14min bei den Membran-Glukosesensoren bzw. 1min/ 9min bei den Dickschicht-Glukosesensoren wiederholt. Die physiologische Phosphatpufferlösung wird aus dem Spritzenvorrat von 3ml einer sterilen Einwegspritze über den Drucksensor zum Mikrodialysekatheter gefördert. Gleichzeitig wird das Dialysat über den Glukosesensor in einen Sammelbehälter verschoben (geschlossenes Verdrängungssystem).

3.2.3 Glukosedetektion mittels Glukose-Biosensoren

Die als sterile Einwegmaterialien verwendeten Glukosesensoren arbeiten nach dem Prinzip der enzymatisch-amperometrischen Glukosedetektion. Zum Einsatz kamen der Membran-Glukosesensor bei den Typ1-Diabetikern und der Dickschicht-Glukosesensor bei den kritisch kranken Patienten.

3.2.3.1 Membran-Glukosesensor

Der enzymatisch-amperometrisch arbeitende Membran-Glukosesensor ist als Durchfluss-Messzelle aufgebaut (siehe Abbildung 3.2.3.1.), so dass das Dialysat über den Messkopf zu den mit der Membrankombination überzogenen Messelektroden gelangt, dort gleichmäßig verteilt und anschließend wieder abgeleitet wird.

Die Membran besteht aus einer mikroporösen Teflonschicht (mikroporöse Polytetrafluoroethylen-Membran, Universal Sensors, Metairie, LA, USA) und der YSI-Glukoseoxidase-Membran, die zusätzlich mit Katalase (Catalase from bovine liver, 2x crystallized, C3155, Sigma Chemie GmbH) beschichtet wurde. Die Glukoseoxidase ist eingebettet zwischen einer Polycarbonat- und einer Celluloseacetat-Membran (YSI-2356 glucose membrane kit, Yellow Springs

Instrument Co., Inc. Yellow Springs, Ohio 45387, USA). Zwischen den Messelektroden und der Celluloseacetat-Membran wurde eine Teflon-Membran gelegt. Diese Teflonmembran soll die Elektrode vor Inaktivierung durch interferierende Substanzen schützen (Thomas, 1996; Linke et al., 1999). Des Weiteren schützt die mikroporöse Teflon-Membran die Elektrode vor „Fouling“ und verhindert somit auch einen Sensitivitätsverlust (Vaidya und Wilkins, 1993, 1994). Die Katalasebeschichtung auf der Polycarbonat-Membran (elektrodenfernen Seite) erfolgte mit Glutaraldehyd. Hierzu wurde 100µl 2,5%-iges Glutaraldehyd mit 20µl Katalase versetzt und anschließend 30µl dieser Lösung auf die Polycarbonat-Membran aufgetragen. Über Nacht erfolgte in einer feuchten Kammer bei 37°C die Inkubation der beschichteten Membran. Die Katalase führt zu einer Verbesserung der Stabilität des Enzyms Glukoseoxidase. Sie katalysiert die Spaltung von Wasserstoffperoxid in Wasser und Sauerstoff, so dass eine Akkumulation von Wasserstoffperoxid zwischen den Messungen verhindert wird. Ohne Katalasebeschichtung steigt das Sensorsignal kontinuierlich an und die so produzierten Differenzsignale können nicht ausgewertet werden (Thomas, 1996). Die ringförmig aufgebaute Messelektrode besteht aus einer zentralen Platin-Anode und einer darum gelegenen Silber-Silberchlorid-Kathode, die durch eine Isolierung voneinander getrennt sind. Die Polarisationsspannung beträgt 700mV. Die technische Modifizierung und in-vitro-Auswertung von diesem Membransensor-System wurde von Linke et al. (1999) zuvor beschrieben.

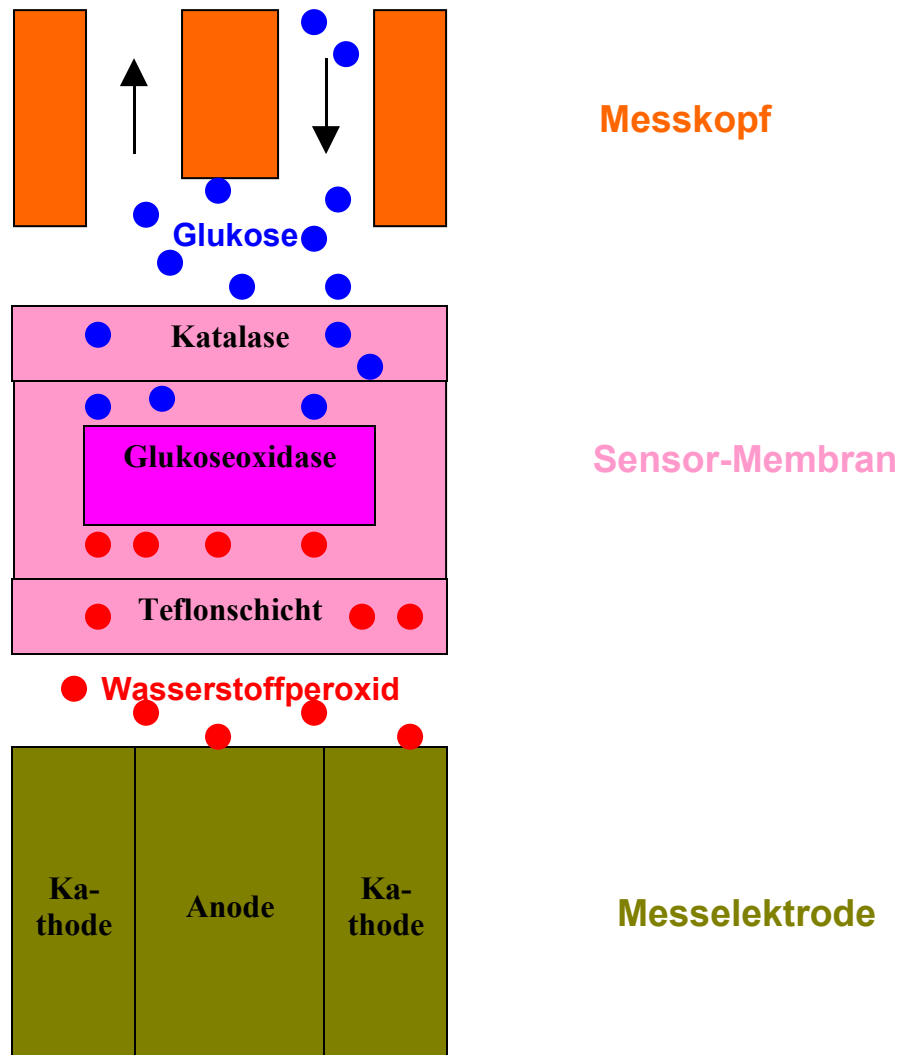


Abbildung 3.2.3.1.: Aufbau des Membran-Glukosesensors als Durchfluss-Messzelle

3.2.3.2 Dickschicht-Glukosesensor

Der Sensor ist als ein Zweielektrodensystem aufgebaut, das aus einer Gegenelektrode (Silber-Silberchlorid, negativer Pol) und einer Arbeitselektrode (Platin, positiver Pol) besteht. Über diesen Elektroden befindet sich die aufgetropfte Membran mit dem eingebetteten Enzym Glukoseoxidase.

Es handelt sich um einen Dickschicht-Einweg-Glukosesensor (siehe Abbildung 3.2.3.2.) der Firma Bio Sensor Technologie GmbH (BST), der ursprünglich für Vollblutuntersuchungen in Laboranalysegeräten entwickelt wurde.

Der Sensor arbeitet mit einem Potential von +450mV und befindet sich in einer für ihn speziell konzipierten Durchfluss-Messzelle am Glukose-Messsystem.



Abbildung 3.2.3.2.: Dickschicht-Glukosesensor der Firma BST
Maßstab 5:1

3.2.4 Das Sensor-Glukosesignal

Die Erfassung des Sensor-Glukosesignals erfolgte durch elektrochemisch-enzymatische Glukosedetektion.

In Abbildung 3.2.4.a ist der gesamte Verlauf eines Glukose-Einzelsignals dargestellt. Nach Abgabe eines Bolus physiologischen Phosphatpuffers vom Glukose-Messsystem erfolgt gleichzeitig eine Verschiebung glukosehaltigen Dialysatvolumens über das Mikrodialysesystem zum Glukosesensor. Sobald die ersten Glukosemoleküle den Glukose-Sensor passieren, steigt der Stromwert linear bis zu einem Maximalwert (hier 46nA) an. Dessen Höhe hängt laut 1. Fick'schen Gesetz von der Glukosekonzentration im Dialysat ab. Nach Beendigung des Pumpvorgangs liegt am Glukosesensor wieder fast glukosefreier Phosphatpuffer vor. Da das glukosehaltige Dialysat aus der Messzelle heraus geschoben und mit nachfolgenden glukosearmen Perfusat gespült wird, kommt es zu einem anschließenden Abfall des Sensor-Glukosesignals. Dabei sinkt der Sensorstrom innerhalb des Ruheintervalls stetig auf ein Minimum (hier 6 nA) ab. Aus der Differenz von Maximum und Minimum errechnet sich der Differenzstrom (hier 40nA). Dieser wurde unter zu Hilfenahme der Kalibrationsparameter zur Ermittlung der subkutanen Glukosekonzentration bei der ersten Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker herangezogen und zu der tatsächlichen Blutglukose in Relation gesetzt.

Da nur Minimum und Maximum zur Analyse des Glukosesignals von Interesse sind und um die vom Glukose-Messsystem gespeicherten Daten möglichst klein zu halten, erfolgt vom Gerät nur eine Teilaufzeichnung des Glukosesignals (in Abbildung 3.2.4.a: rot dargestellter Verlauf des Glukosesignals).

Abbildung 3.2.4.b zeigt den Verlauf von sechs Glukose-Signalen, wie sie vom Glukose-Messsystem aufgezeichnet wurden. Dabei ist der in Abbildung 3.2.4.a blau dargestellte Glukose-Signalverlauf nicht mit erfasst.

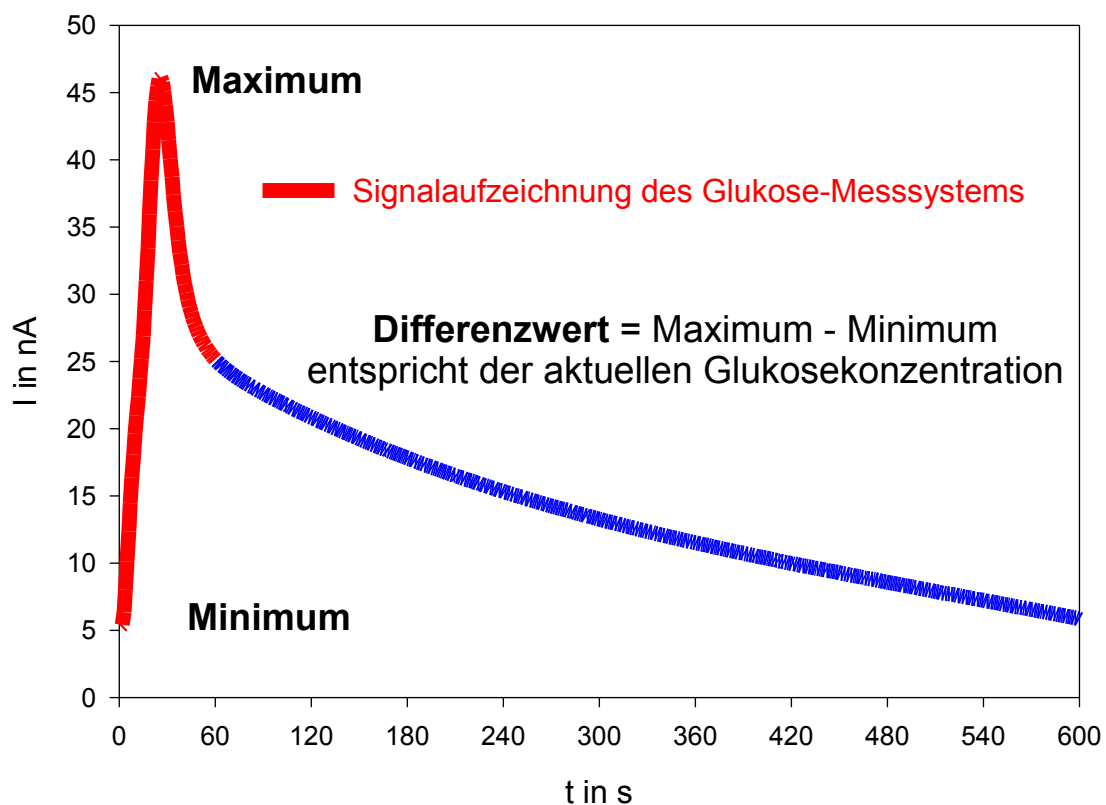


Abbildung 3.2.4.a: Verlauf eines Glukose-Einzelsignals

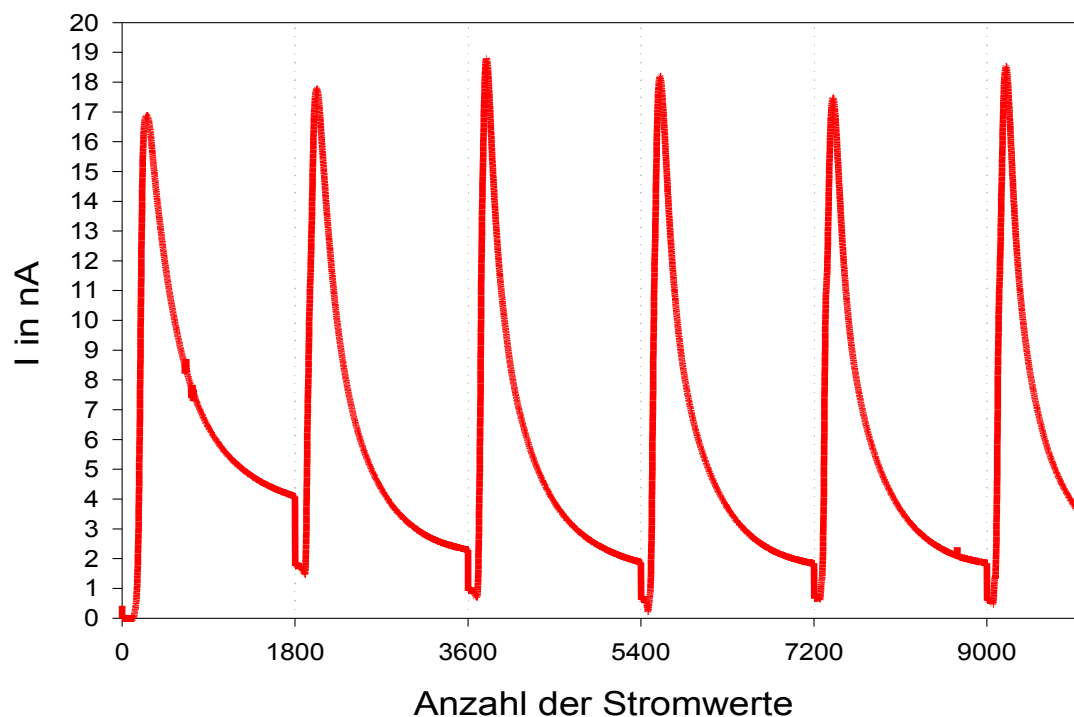


Abbildung 3.2.4.b: vom Glukose-Messsystem aufgezeichneter Verlauf von Glukose-Einzelsignalen

3.2.4.1 Datenaufbereitung und Speicherung

Das gewonnene elektrische Signal wird mit Hilfe eines Strom-Spannungswandlers und eines Messverstärkers in ein entsprechendes Messsignal umgewandelt, weiterverarbeitet und gespeichert. Die Funktion des Messverstärkers ist die Generierung, Verstärkung und Digitalisierung elektrischer, äquivalenter Spannungssignale von den physikalischen Eingangsgrößen Temperatur, Druck und Glukoserosignal. Außerdem sorgt der Messverstärker für die nötige Polarisationsspannung der Messelektrode. Die Mikrokontroller-Einheit hat die Aufgabe der Steuerung und Ausführung der Mess- und Überwachungsfunktionen des Glukose-Messsystems. Der Drucksensor (MPX 2300 der Firma Motorola) dient der Erfassung des Druckaufbaus innerhalb des Flüssigkeitssystems.

Das entwickelte Mess- und Überwachungssystem ist in der Lage, bis zu 24 Stunden am Patienten zu messen und entsprechende Daten zu speichern. Jeweils alle 10min bei Verwendung der Dickschicht-Glukosesensoren bzw. alle 15min bei den Membran-Glukosesensoren wird automatisch ein Messwert registriert und

gespeichert. Nach Messende lassen sich alle 144 Messwerte bzw. 96 Messwerte an einem Personal-Computer zu einem graphischen Blutzuckertagesprofil zusammenfassen. Die Datenspeicherung im Glukose-Messsystem erfolgt über eine ScanDisk (Multi-Media-Karte MMC, 16Mb).

3.2.5 Kalibrierung des Glukose-Messsystems

Die Kalibrierung des Glukose-Messsystems dient der Sicherstellung der Glukose-Messfunktion sowohl vor, als auch nach in-vivo-Versuchsablauf für beide Versuchsreihen. Hierzu erfolgte *in-vitro* zur Überprüfung der Glukose-Messfunktion eine 3-Punkt-Kalibrierung. Dazu wurden Glukosestandardlösungen mit 5-, 10- und 15mmol/L Glukosekonzentration gefertigt (siehe Abbildung 3.2.5.a). Zur Herstellung dieser Lösungen wurde 50%-ige Glukoselösung im entsprechenden Verhältnis mit isotonischer Kochsalzlösung (0,9%) gemischt. Die Kalibration erfolgte bei konstanter Temperatur im Wärmeofen für mindestens eine Stunde je Glukosekonzentration.

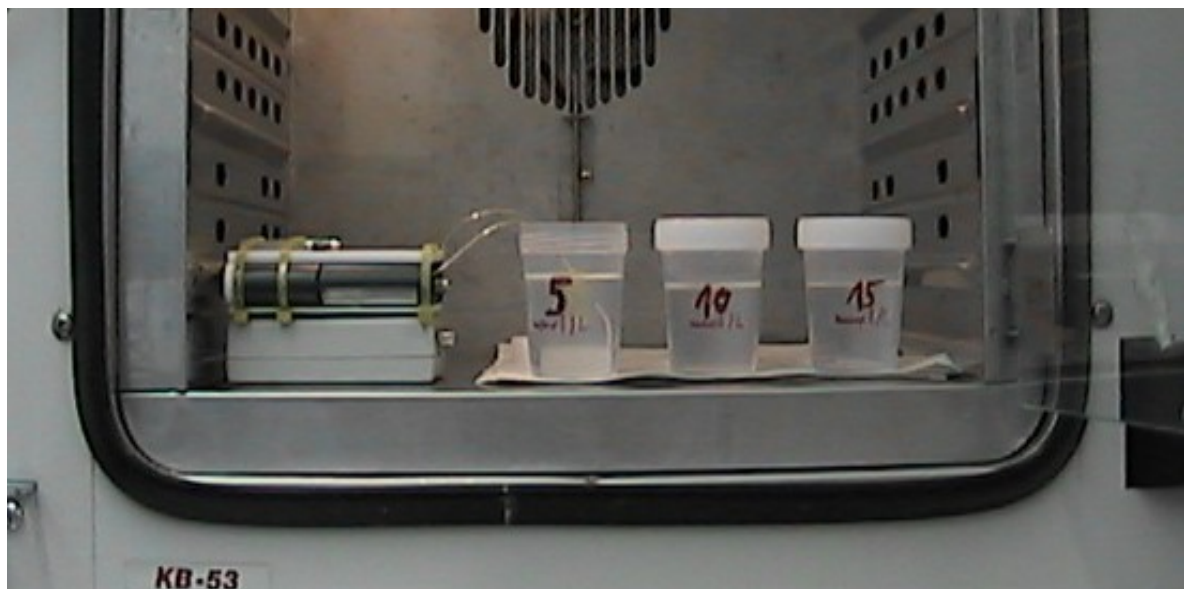


Abbildung 3.2.5.a: 3-Punkt-Kalibrierung mit gefertigten Glukose-Standardlösungen im Klimaschrank

Abbildung 3.2.5.b gibt den Glukosesignalverlauf für 5-,10- und 15mmol/L wieder. Für jedes einzelne Signal wurde die maximale und minimale Stromstärke ermittelt und deren Differenz berechnet. Aus den resultierenden Einzelwerten wurden Mittelwerte und Standardabweichungen für jede Glukosekonzentration errechnet und daraus eine Eichkurve erstellt, die bei den Typ1-Diabetikern die Berechnung der Glukosekonzentrationen aus den in der *in-vivo* Messung erworbenen Glukosesignale erlaubte. Die in der Abbildung schwarz gezeichneten Glukosesignale wurden vernachlässigt, da hier die Umstellung der Glukosekonzentration auf die nächste höhere Konzentration erfolgte.

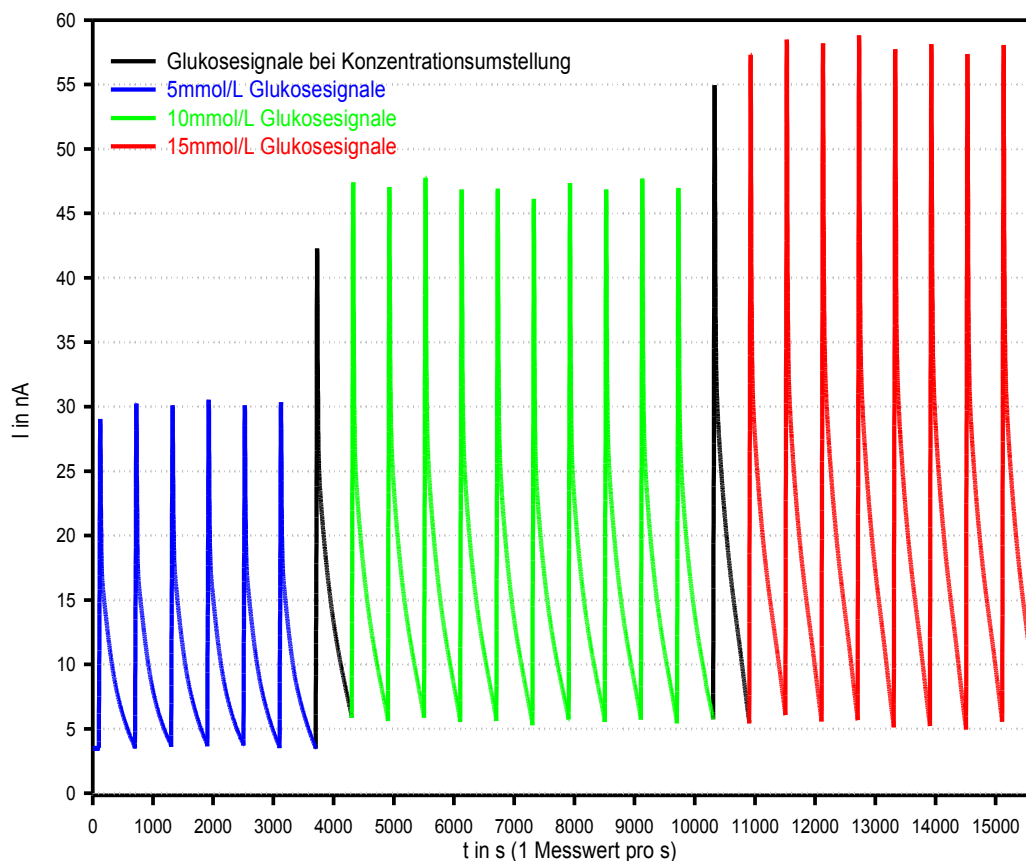


Abbildung 3.2.5.b: Beispiel der bei einer 3-Punktkalibration (mit 5-, 10- und 15mmol/L Glukosekonzentrationen) erhaltenen Glukosesensorsignale

3.2.6 Bestimmung der Blut-Glukosekonzentration als Referenz zur Sensorglukose (EBIO / NOVA)

Eppendorf-EBIO- compact-Analyser

Für die erste Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker wurde zur Bestimmung der Kapillarblut-Glukosekonzentration das Glukose-Messgerät Eppendorf-EBIO-compact-Analyser eingesetzt (siehe Abbildung 3.2.6.). Auch die Überprüfung der für die Kalibrierung gefertigten Glukose-Standardlösungen erfolgte mit diesem kompakten Laboranalyser.

Der EBIO-compact dient der automatischen Bestimmung von Glukose in Plasma-, Serum- und Kapillarblutproben, die in einer Verdünnung von 1:50 vorgelegt werden. Die Proben werden in geschlossenen Gefäßen auf einem Teller vorgelegt, der 13 Positionen für einen Standard, zwei Kontrollen und zehn Patientenproben enthält. In der Standardposition befindet sich das erste Probengefäß mit einer Standardlösung von 12mmol/L. Aus drei Standardentnahmen erfolgt eine 1-Punkt-Kalibration, nach der die folgenden 12 Proben vermessen werden. Die Glukosebestimmung erfolgt nach dem enzymatisch-amperometrischen Messprinzip unter Verwendung einer mit Glukoseoxidase immobilisierten Enzymmembran, die über einer Enzymelektrode platziert ist. Der Messzyklus beginnt mit dem Anheben des Gefäßes zum Ansaugen der Probe (70µl / 1 + 50 verdünnt) aus der Lösung. Nach Beendigung des Messzyklus wird die Probe mit der Systemlösung aus der Messkammer herausgespült und der nächste Zyklus wird gestartet.



Abbildung 3.2.6.: Eppendorf-EBIO- compact-Analyser

Analysator Stat Profile Critical Care Xpress (STP CCX, nova biomedical)

Die Analysierung der arteriellen Blutglukose bei der zweiten Versuchsreihe der Intensivpatienten erfolgte mit dem auf der Intensivstation verwendeten Critical-Care-Xpress-Analysator von Nova-Biomedical. Der STP CCX ist ein Blutgasanalysator mit CO-Oximeter, welcher bei der *in-vitro*-Diagnostik zur Bestimmung von Blutgasparametern, Elektrolyten, wie auch der Glukosebestimmung im heparinisierten Vollblut, Serum oder Plasma dient. Auch hier basiert die Glukosebestimmung auf der Messung des Wasserstoffperoxids, das bei der enzymatischen Reaktion zwischen Glukose und Sauerstoff in Anwesenheit des Enzyms Glukoseoxidase entsteht. Bei einer konstanten Spannung von 0,7 Volt wird das elektroaktive Wasserstoffperoxid an der Oberfläche der Platinanode oxidiert, so dass durch den entstehenden Elektronenfluss ein Strom erzeugt wird. Dieser ist zur Glukosekonzentration der Probe proportional.

Aussagen zur Präzision werden in der Serie (n=20) mit 3% und von Tag-zu-Tag (n=20) mit 5% bei einem Messbereich von 0,83- bis 27,75mmol/L angegeben.

3.3 Voruntersuchungen

Bevor die *in-vivo*-Versuche beider Versuchsreihen durchgeführt wurden, waren Untersuchungen zur sicheren Messfunktion der Sensoren und eine Überprüfung der Sensor-Langzeitstabilität über 36 Stunden erforderlich.

3.3.1 Ermittlung der sicheren Messfunktion

Die Überprüfung der sicheren Messfunktion des Glukose-Messsystems bzw. des Glukosesensors erfolgte *in-vitro* durch eine 3-Punkt-Kalibrierung des Glukose-Messsystems. Die Überprüfung der Messfunktion wurde vor Beginn und nach Beendigung des *in-vivo*-Einzelversuchs durchgeführt. Eine sichere Messfunktion liegt vor, wenn der Korrelationskoeffizient (r^2) der Kalibriergeraden größer 0,9. Dieser Wert ist eine Spezifizierung, die auf Erfahrungen zuvor durchgeführter *in-vitro*-Vermessungen der Sensoren beruht und festlegt wurde.

Aus dem Beispiel der Abbildung 3.2.5.b (Kapitel 3.2.5.: Kalibrierung des Messsystems) mit den tabellarisch aufgeführten Mittelwerten der Differenzströme bei 5-, 10- und 15mmol/L, ergibt sich in Abbildung 3.3.1., die Kalibrationsgerade mit einem Korrelationskoeffizienten von 0,99. Das Glukose-Messsystem erfüllt somit das Kriterium zur sicheren Messfunktion bezüglich des linearen Verhaltens des Glukosesensors und kann für den *in-vivo*-Versuch eingesetzt werden.

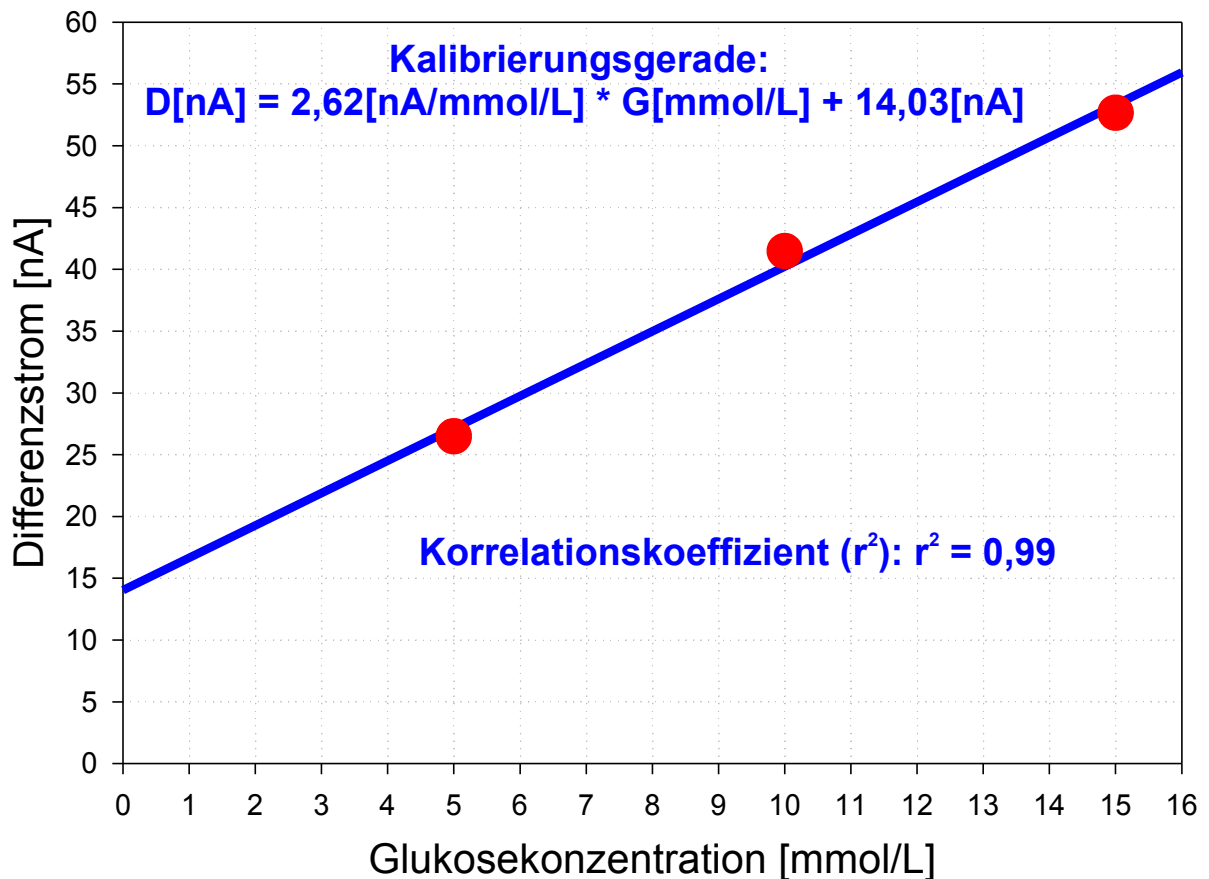


Abbildung 3.3.1.: Kalibrationsgerade mit Bestimmung des Korrelationskoeffizienten zur Überprüfung der sicheren Messfunktion

3.3.2 Langzeitstabilität des Glukosesignals

Vom Glukose-Messsystem wird eine Langzeitstabilität des Glukosesignals von mindestens 36 Stunden gefordert, d.h. der Glukosesignalverlust soll unter 10% liegen. In den 36 Stunden sind der 24-stündige *in-vivo*-Einzelversuch, wie auch eine jeweils 6-stündig durchgeführte 3-Punkt-Kalibrierung vor und nach dem *in-vivo*-Versuch eingeplant. Zur Sicherstellung der Langzeitstabilität über 36 Stunden erfolgte *in-vitro* ein Belastungstest des Glukose-Messsystems unter Einsatz eines Dickschicht-Glukosesensors bei 30°C in einem Klimaschrank. Hierzu wurde das Glukose-Messsystem zu Beginn 6-stündig 3-Punkt kalibriert mit Glukosestandardlösungen 5-, 10- und 15mmol/L. Anschließend erfolgte eine Belastung des Glukose-Messsystems über 48 Stunden mit einer Glukosekonzentration von 15mmol/L zur Simulierung einer dauerhaft zu hohen

Glukosekonzentration, wie sie im *in-vivo*-Einzelversuch bei schlecht eingestellter Blutglukose möglich wäre. Nach 24 und 48 Stunden wurde das Glukose-Messsystem mit 5-, 10,- und 15mmol/l Standardlösungen bezüglich der sicheren Messfunktion nachkontrolliert, um den Glukosesensor auf Signalstabilität und Sensitivitätsverlust zu überprüfen. In Tabelle 3.3.2. sind zur Kalibrierung, erster und zweiter Nachkontrolle der sicheren Messfunktion die Mittelwerte der Differenzströme in nA (Maximum-Minimum des Glukosesignals) und die dazugehörigen Standardabweichungen bei 5-, 10- und 15mmol/L angegeben.

	5mmol/L	10mmol/L	15mmol/L
Kalibration	29,9 ± 0,1	40,6 ± 0,2	48,9 ± 0,2
1. Kontrolle (nach 24h)	28,9 ± 0,2	40,5 ± 0,2	48,1 ± 0,3
2. Kontrolle (nach 48h)	27,9 ± 0,4	38,1 ± 0,4	46,6 ± 0,5

Tabelle 3.3.2.: Mittelwerte der Differenzströme in nA (Maximum-Minimum des Glukosesignals) mit dazugehöriger Standardabweichung der jeweiligen Glukosekonzentrationen (5-, 10- und 15mmol/L) für Kalibration, erster Kontrolle (nach 24h) und zweiter Kontrolle (nach 48h)

Nach erfolgter linearer Regression durch das Softwareprogramm SigmaPlot-2000 wurden die Kalibrationsparameter und der Korrelationskoeffizient berechnet (siehe Abbildung 3.3.2.). Nach 24 Stunden Dauerbelastung (15mmol/L bei 30°C) ergab sich zwischen der Kalibration und der ersten Kontrolle der sicheren Messfunktion ein prozentualer Verlust des Differenzstroms bezüglich der Mittelwerte bei 5mmol/L um 3,5%, bei 10mmol/L um 0,3% und bei 15mmol/L um 1,6%. Nach 48 Stunden Dauerbelastung konnte zwischen der Kalibration und der zweiten Überprüfung der sicheren Messfunktion ein prozentualer Verlust des Differenzstroms bezüglich der Mittelwerte bei 5mmol/L um 6,7%, bei 10mmol/L um 6,2% und bei 15mmol/L um 4,7% verzeichnet werden. Bei allen drei Kalibrationsreihen zeigte das Glukose-Messsystem eine lineare Signalstabilität bei einem Korrelationskoeffizienten von 0,99. Auch die Sensitivität (Steigung der Geraden) blieb stabil bei 1,9nA/mmol/L. Die Vermessung zeigt, dass die geforderte Signal-Langzeitstabilität von 36 Stunden erfüllt wird und zur Sicherung der Messfunktion des Glukose-Messsystems beiträgt. Auch die sich nach 48 Stunden ergebenden Signalverluste mit weniger als 10% bei 5-, 10- und 15mmol/L können toleriert werden. Bei den Membransensoren konnte der Nachweis auf Langzeitstabilität über 36h bereits erbracht werden (Sadetzki, 1997).

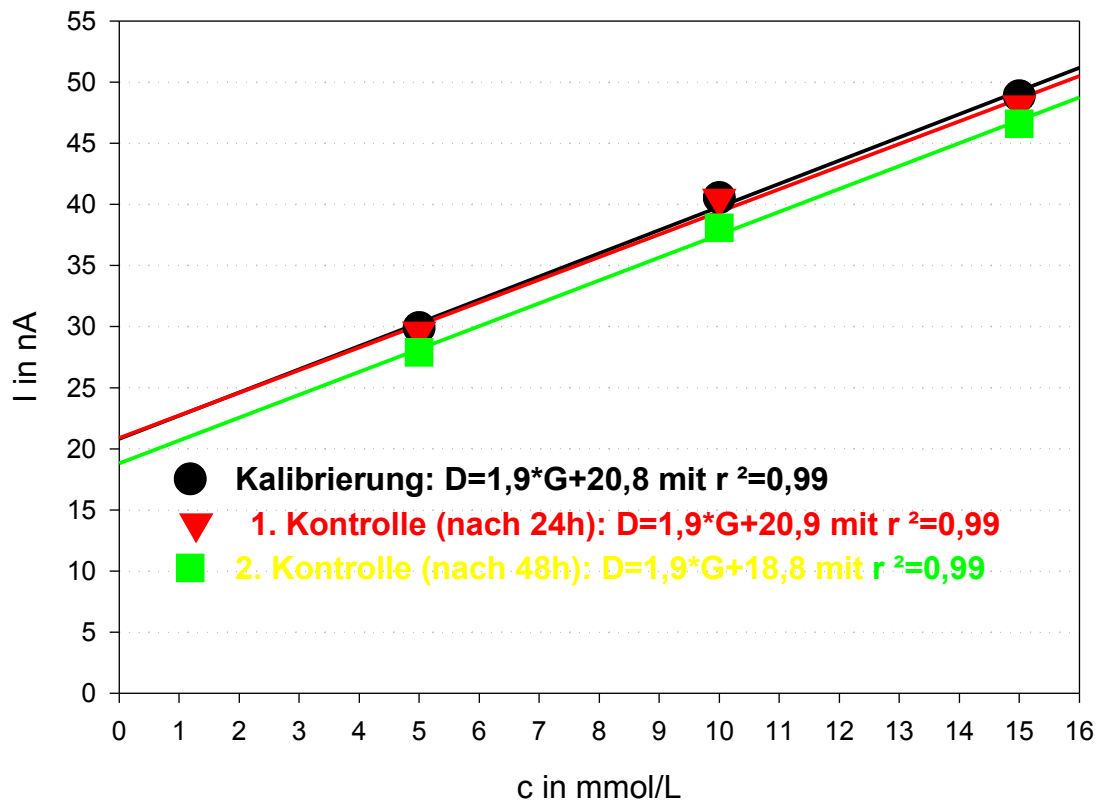


Abbildung 3.3.2.: Langzeit-in-vitro-Versuch des Glukose-Messsystems mit Darstellung der Kalibriergeraden zu Beginn, nach 24h und nach 48h

3.3.3 Dynamik der Änderung der Glukosekonzentration im Blut und im Interstitium

In der Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker konnte bei der Korrelationsbetrachtung zwischen der Blut- und Sensorglukose eine zeitliche Verzögerung festgestellt werden. Mögliche Ursachen dieser Beobachtung könnten in der Utilisierung und Metabolisierung der Glukose in Abhängigkeit von der lokalen Durchblutung des Fettgewebes liegen (Hagström et al., 1990; Rosdahl et al., 1993) oder durch das Glukosesensor-Messsystem mit bedingt sein (Bolinder et al., 1989; Hagström et al., 1990; Aalders et al., 1991; Sternberg et al., 1995; Summers et al., 1999; Wientjes and Schoonen, 2001; Kulcu et al., 2003; Schoemaker et al., 2003; Boyne et al., 2003). Die Messungen erfolgten im Interstitium des subkutanen Fettgewebe am Unterarm. Abbildung 3.3.3. zeigt hierzu ein Beispiel bei einem gesunden

Probanden über 8 Stunden, wo die Sensorglukose sich bezüglich der Blutglukose um etwa 15min verzögert. Deutlich erkennbar wird das bei der Betrachtung der Glukosespitzen zwischen Blut- und Sensorglukose um ca. 13-, 15- und 19 Uhr. Aus diesem Grund erfolgte in der Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker eine Korrelationsbetrachtung der Blutglukose mit der 15-minütigen später erfassten interstitiellen Sensorglukose.

Beim Kollektiv der intensivpflichtigen Patienten wurde aufgrund der besseren abdominalen Zugänglichkeit das subkutane Fettgewebe des Bauches als Messort gewählt. Hier konnten Zeitverschiebungen zwischen Blut- und Sensorglukose nicht signifikant beobachtet werden.

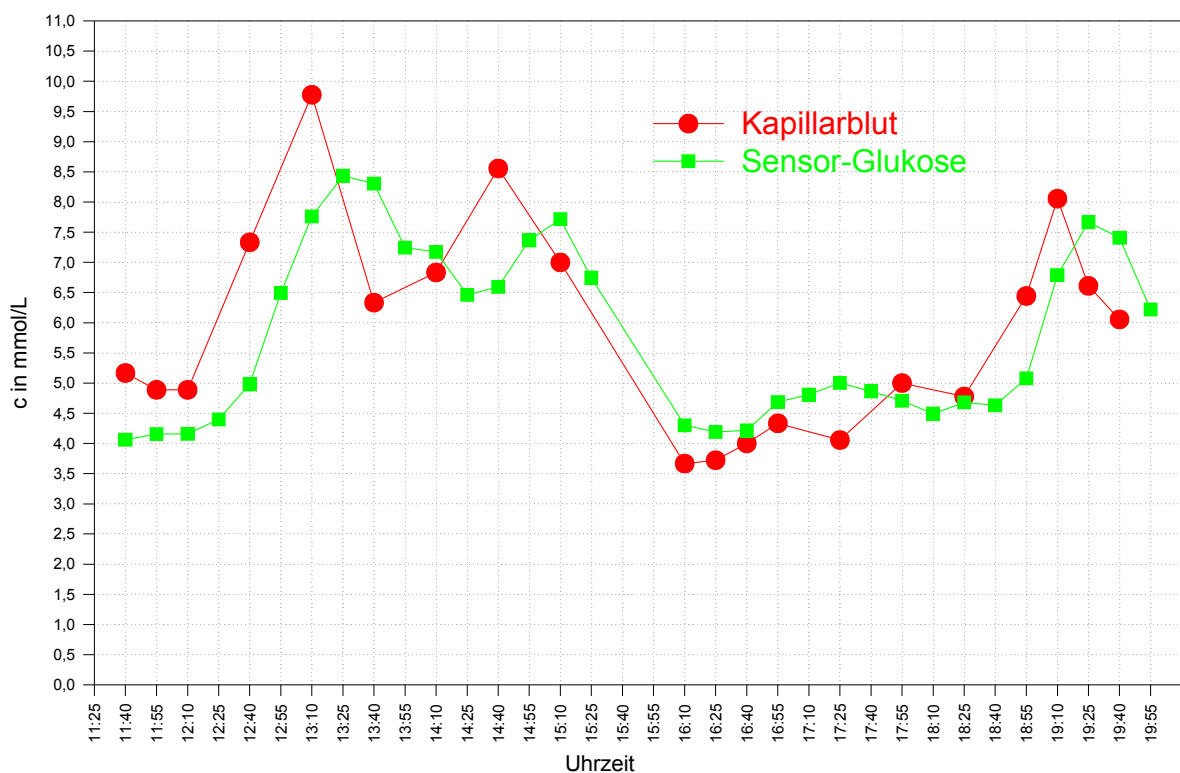


Abbildung 3.3.3.: Vergleichende Darstellung der Sensor- und Kapillarblutglukose bei einem gesunden Probanden über 8 Stunden

3.3.4 Temperaturmessung und Korrektur

In der Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker ist das Glukose-Messsystem bzw. der Membran-Glukosesensor den umweltbedingten Temperaturveränderungen ausgesetzt, die die Glukosemessung beeinflussen können. Um diese sich auf das Glukosesignal auswirkenden Temperaturschwankungen zu erfassen, wurde in der Durchfluss-Messzelle ein Temperatursensor (Halbleiterwiderstand) eingebaut, der kontinuierlich die Temperatur misst (pro Messintervall ein Temperaturwert). Die gemessene Temperatur des glukosehaltigen Dialysats ist eine Mischung aus Körper- und Umwelttemperatur.

Bei den *in-vivo*-Versuchen der Typ1-Diabetiker traten Temperaturschwankungen bis zu 10°C auf, die das Glukosesignal in seiner Amplitude massiv beeinflussten. Eine Temperaturkompensation wurde erforderlich, um die Verfälschung des Glukosesignals in seiner Amplitude heraus zu rechnen. Hierzu ermittelte Schwachheimer (1997) empirisch den Einfluss der Temperatur auf das Glukose-Messsignal durch *in-vitro*-Vermessungen der Membran-Glukosesensoren und entwickelte folgenden Temperaturalgorithmus zur Temperaturkompensation:

$$D(T) = ((-0,015 \cdot T(k)/^{\circ}\text{C} + 0,439) \cdot \Delta T/^{\circ}\text{C} + 1) \cdot D(m) + (0,009 \cdot T(k)/^{\circ}\text{C} - 0,198) \cdot \Delta T/^{\circ}\text{C} \cdot nA$$

$D(T)$: Differenzstrom temperaturkompensiert [nA]

$T(k)$: Kalibrationstemperatur [$^{\circ}\text{C}$]

ΔT : Temperaturveränderung zwischen Kalibrier- und Messtemperatur [$^{\circ}\text{C}$]

$D(m)$: gemessener Differenzstrom [nA]

Zur Überprüfung des Temperaturalgorithmus auf Wirksamkeit der Temperaturkompensation wurde ein 8-stündiger *in-vivo*-Versuch an einem gesunden Probanden herangezogen. Die Kalibrierung erfolgte bei 20°C und die *in-vivo* gemessenen Temperaturen schwankten zwischen 26°C und 30°C, so dass Temperaturunterschiede zwischen 6°C und 10°C (bezogen auf die Kalibriertemperatur) vorlagen. In Abbildung 3.3.4. sind die Sensorglukose mit und ohne Temperaturkompensation sowie die Blutglukose dargestellt. Dieser Versuch zeigt deutlich, wie massiv die Abweichungen zwischen der Blutglukose (rote Kurve) und der nicht-temperaturkompensierten Sensorglukose (schwarze Kurve) sind.

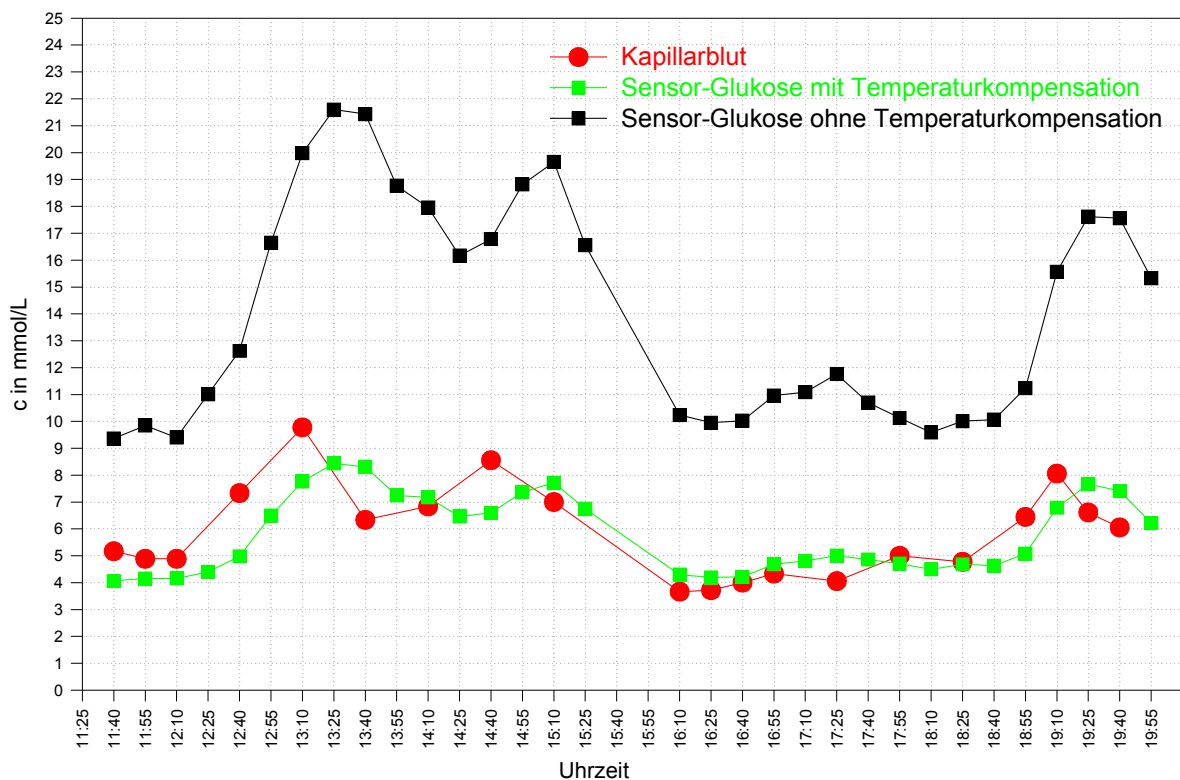


Abbildung 3.3.4.: Vergleich von Blut- und Sensorglukose mit und ohne Temperaturkompensation bei einem gesunden Probanden über 8 Stunden

Zur Minimierung der Temperaturunterschiede zwischen der Kalibrierung und der *in-vivo* gemessenen Temperatur wurde eine Kalibrationstemperatur von 30°C festgelegt. Diese Annäherung der Kalibrationstemperatur an die *in-vivo* gemessenen Temperaturen soll die Temperaturunterschiede verkleinern. Mit abnehmenden Temperaturveränderungen wurde auch die Wirksamkeit des Temperaturalgorithmus geringer, so dass bei Temperaturschwankungen um die 3°C keine Verbesserung der Ergebnisse durch eine Temperaturkompensation erzielt werden konnten.

Bei der Versuchsreihe der intensivpflichtigen Patienten wurden annähernd konstante Temperaturen während der Versuchszeit gemessen. Das lag an den annähernd stabilen Umgebungstemperaturen auf der Intensivstation, so dass hier auf eine Temperaturkompensation des Glukosesignals verzichtet werden konnte.

3.4 Probanden und Ethikkommission

Bei den Probanden handelt es sich um Typ1-Diabetiker und kritisch kranke Intensivpatienten. Alle Probanden bzw. deren gesetzliche Vertreter willigten schriftlich ein, an dieser Studie teilzunehmen.

Typ1-Diabetiker

An der Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker nahmen insgesamt 8 freiwillige Personen teil. Vor Beginn der Studie wurde die Zustimmung der Ethik-Kommission bei der Ärztekammer Mecklenburg Vorpommern eingeholt (Registrierungsnummer: I MPG 2/97).

Anforderungen an das Patientenkollektiv:

- Probanden-Alter zwischen 18 und 60 Jahren
- Body-mass-Index zwischen 20 und 30 kg/m²
- HbA1c-Wert unter 9 %
- Probanden unter intensivierter konventioneller Insulin-Therapie

Bei den Probanden handelte es sich um weibliche (n=2) und männliche (n=6) Patienten im Alter von 21 bis 42 Jahren. Das mittlere Alter betrug 32 ± 8 Jahre bei einem durchschnittlichen Body-mass-Index von $24,0 \pm 2,2$ kg/m². Der HbA1c-Wert betrug im Mittel $6,7 \pm 0,4$ %.

Jeder Patient wurde vor Teilnahme an dieser Studie aufgeklärt und musste schriftlich sein Einverständnis geben. Die Patienten konnten jederzeit, ohne Angabe von Gründen, von der Studie zurücktreten. Während des Versuchs ging der Proband seinem gewohnheitsmäßigen Alltag nach. Es gab keine Abweichungen vom gewohnten Therapieplan bezüglich Insulingaben und Nahrungsaufnahme. Der Patient erhielt ein Versuchsprotokoll, indem er freiwillig Angaben zur zeitlichen Essensaufnahme (Anzahl der Broteinheiten), Blutzucker-Selbstkontrollen, Insulininjektion (Insulineinheiten) und persönliche Daten bezüglich HBA-1c, Vorerkrankungen usw. machen konnte.

Kritisch kranke Intensivpatienten

In der zweiten in-vivo-Versuchsreihe wurde ein Patientenkollektiv gewählt, bei denen es sich um 8 kritisch kranke internistische Patienten handelte, die

intensivmedizinisch in der Medizinischen Klinik 1 der Universität zu Lübeck auf der Intensivstation überwacht wurden. Vor Beginn der Studie wurde die Zustimmung der Ethik-Kommission der Medizinischen Universität zu Lübeck eingeholt (Aktenzeichen: 01-023).

Anforderungen an das Patientenkollektiv:

- Patienten-Alter über 18 Jahre
- Bewusstlose bzw. narkotisierte maschinell beatmete Patienten
- Apache2-Score über 20
- Vorliegen einer entzündlichen Grunderkrankung

Bei den Patienten handelte es sich um weibliche (n=4) und männliche (n=4) Personen mit einem mittleren Body-mass-Index von $27,0 \pm 3,0 \text{ kg/m}^2$. Das mittlere Alter betrug 63 ± 18 Jahren. Allen Patienten gemeinsam war eine entzündliche Grunderkrankung (Sepsis, Infektion, Schock) und die Beatmungspflichtigkeit mit einem Apache2-Score (Knaus et al., 1985) zwischen 20 und 30. Der Mittelwert betrug $25,3 \pm 4,0$. Ein Patient erhielt Katecholamine.

3.5 Versuchsablauf und Blutentnahmen

3.5.1 Versuchsreihe: Typ1-Diabetiker

Im ersten Patientenkollektiv wurden acht Typ1-Diabetiker als Probanden im Klinikum Karlsburg (Herz- und Diabeteszentrum) in Mecklenburg-Vorpommern involviert.

Die Messungen erfolgten unter Einsatz des Membran-Glukosesensors im Glukose-Messsystem über 24 Stunden. Dabei wurde automatisch ein Glukosewert alle 15min vom Glukose-Messsystem aufgezeichnet.

Grund für den Aufenthalt der Typ1-Diabetiker in der Klinik war eine Neueinstellung bzw. Optimierung der Insulintherapie und Untersuchungen bezüglich chronischer Folgeerkrankungen bei Diabetes mellitus wie Augen-, Nieren- und Herzkreislauf-Erkrankungen.

Bevor das Glukose-Messsystem am Patienten eingesetzt wurde, erfolgte in-vitro mittels 3-Punkt-Kalibrierung eine Überprüfung der sicheren Messfunktion. Nach

Sicherstellung der Messfunktion wurde das Glukose-Messsystem am distalen Oberarm des Patienten befestigt (siehe Abbildung 3.5.1.a). Im Anschluss erfolgte unter sterilen Bedingungen die Implantation des Mikrodialysekatheters ins Unterhaut-Fettgewebe des proximalen Unterarms.

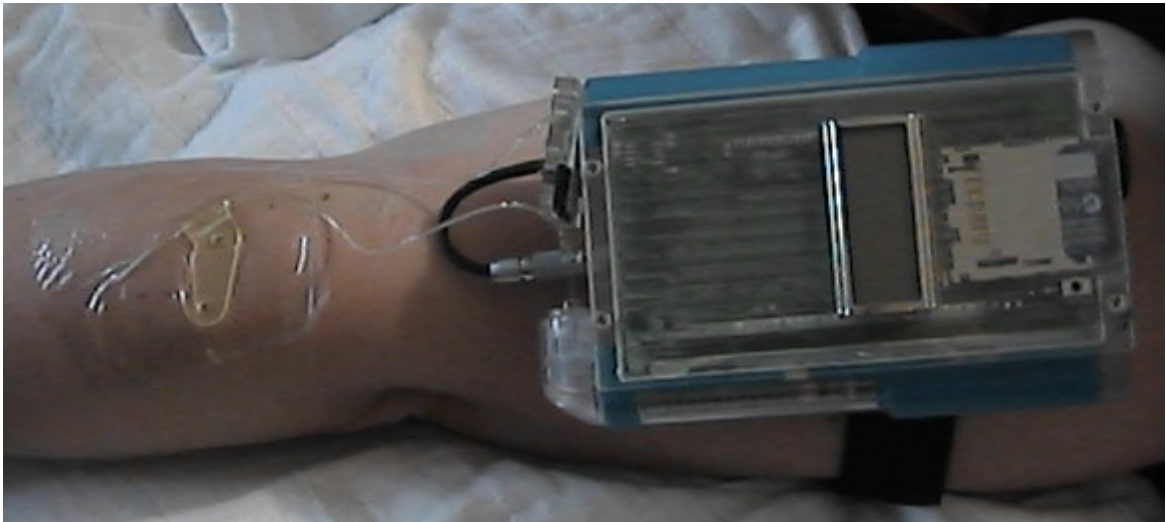


Abbildung 3.5.1.a: Lokalisation des Glukose-Messsystems bei Typ1-Diabetikern

Nach dem Start des Glukose-Messsystems erfolgte die erste kapillare Blutentnahme aus dem Ohrläppchen. Es wurde je nach Compliance, Durchführung gewünschter Aktivitäten und Dauer erforderlicher Untersuchungen mit dem Patienten vereinbart, sich tagsüber alle 0,5 bis 1 Stunde und nachts alle 1 bis 2 Stunden einer kapillaren Blutprobenabnahme aus dem Ohrläppchen zu unterziehen. Im Durchschnitt aller Versuche ergaben sich 25 kapillare Blutentnahmen (± 7 Blutentnahmen). Die Bestimmung der Glukose aus der Kapillarblut-Probe wurde mit dem Labor-Analysegerät EBIO-compact durchgeführt.

Nach Beendigung des 24stündigen *in-vivo*-Versuches erfolgte die Explantation des Mikrodialysekatheters und die Abnahme des Glukose-Messgerätes. Anschließend wurde das Glukose-Messsystem zur Überprüfung und Sicherstellung der Messfunktion durch eine *in-vitro*-Kalibration nachuntersucht.

Die Messdaten wurden am Personal-Computer online ausgelesen und mittels entsprechender Software ausgewertet, so dass ein Blutzuckertagesprofil mit Erfassung von Blut- und Sensorglukose erstellt werden konnte. Gegebenenfalls konnten auch Angaben zu Insulin (IE)- und Kohlenhydrateinheiten (BE) sowie zu

Blutzucker-Selbstkontrollen berücksichtigt werden. Abbildung 3.5.1.b zeigt hierzu ein entsprechendes Beispiel.

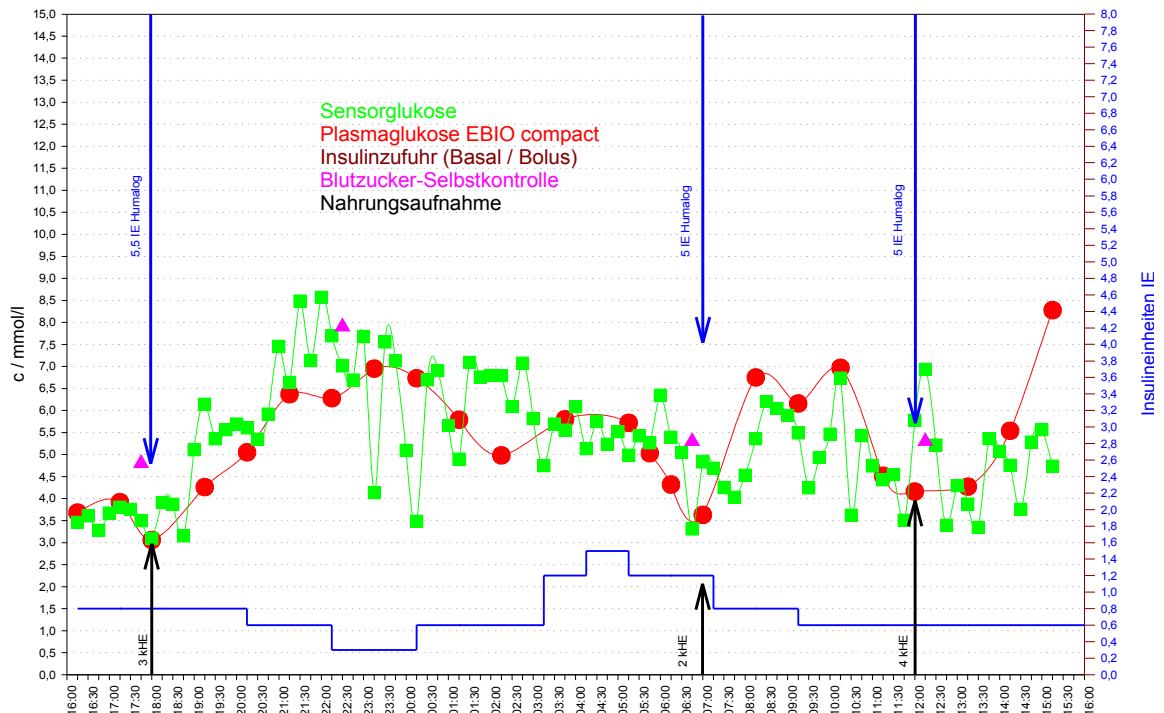


Abbildung 3.5.1.b: Blut- und Gewebezuckertagesprofil eines Typ1-Diabetikers (Proband: 38 Jahre, 85 kg, HbA1c 6,8)

Die Begutachtung des Implantationsortes auf Nebenwirkungen (wie zum Beispiel Entzündungszeichen) erfolgte einen Tag später.

3.5.2 Versuchsreihe: kritisch kranke Intensivpatienten

Die Messungen erfolgten über 24h unter Einsatz des Dickschicht-Glukosesensors mit der automatischen Erfassung eines Glukosewertes alle 10min.

Nach Überprüfung der sicheren Messfunktion des Dickschicht-Glukosesensors wurde das Glukose-Messsystem am Patienten über einen Gurt am Bauch fixiert (siehe Abbildung 3.5.2.a). Anschließend wurde unter sterilen Bedingungen der Mikrodialysekatheter ins subkutane Unterbauchhaut-Fettgewebe implantiert.

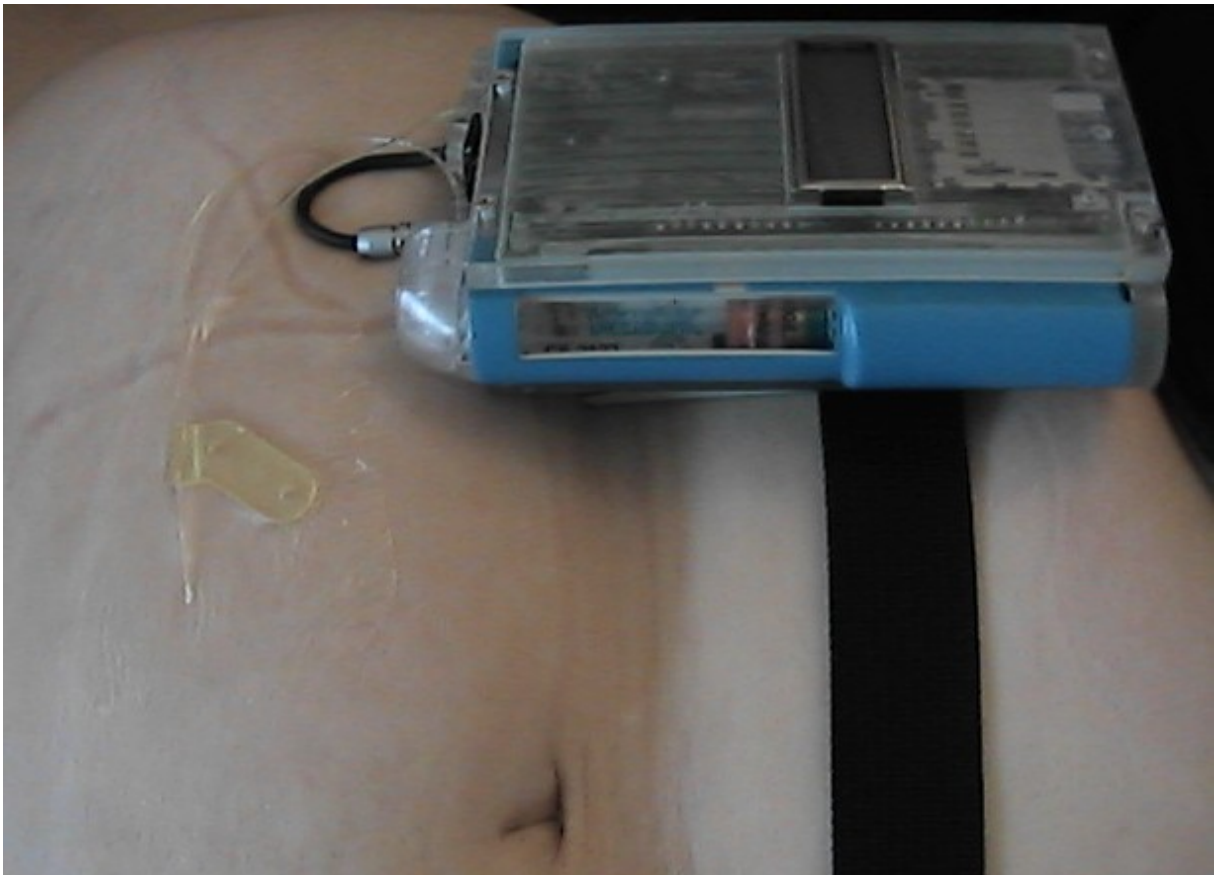


Abbildung 3.5.2.a: Lokalisation des Glukose-Messsystems bei den kritisch kranken Patienten

Während der in-vivo-Versuche erfolgten tagsüber stündlich und nachts alle 1 bis 2 Stunden arterielle Blutentnahmen von jeweils etwa 1ml aus der A. femoralis bzw. A. radialis. Zum Teil konnten die vorgesehenen Blutentnahmen nicht immer zeitgerecht entnommen werden, da lebenserhaltene Maßnahmen (bezüglich Diagnostik und Therapie) Vorrang hatten. Im Durchschnitt aller Versuche ergaben sich 15 Blutentnahmen (± 2 Blutentnahmen). Die Bestimmung der Blutglukose wurde mit dem Labor-Analysegerät NOVA durchgeführt.

Auch hier erfolgte nach Beendigung der 24 Stunden-Versuche eine *in-vitro* Nachkalibrierung zum Nachweis der sicheren Messfunktion des Dickschicht-Glukosesensors.

Die Messdaten wurden am Personal-Computer online ausgelesen und mittels entsprechender Software ausgewertet, so dass eine Korrelationsbetrachtung zwischen Blut- und Sensorglukose mit der Erfassung von Insulingaben erstellt werden konnte. Abbildung 3.5.2.b zeigt hierfür ein Beispiel.

Die Begutachtung des Implantationsortes auf Nebenwirkungen (wie zum Beispiel Entzündungszeichen) erfolgte einen Tag später.

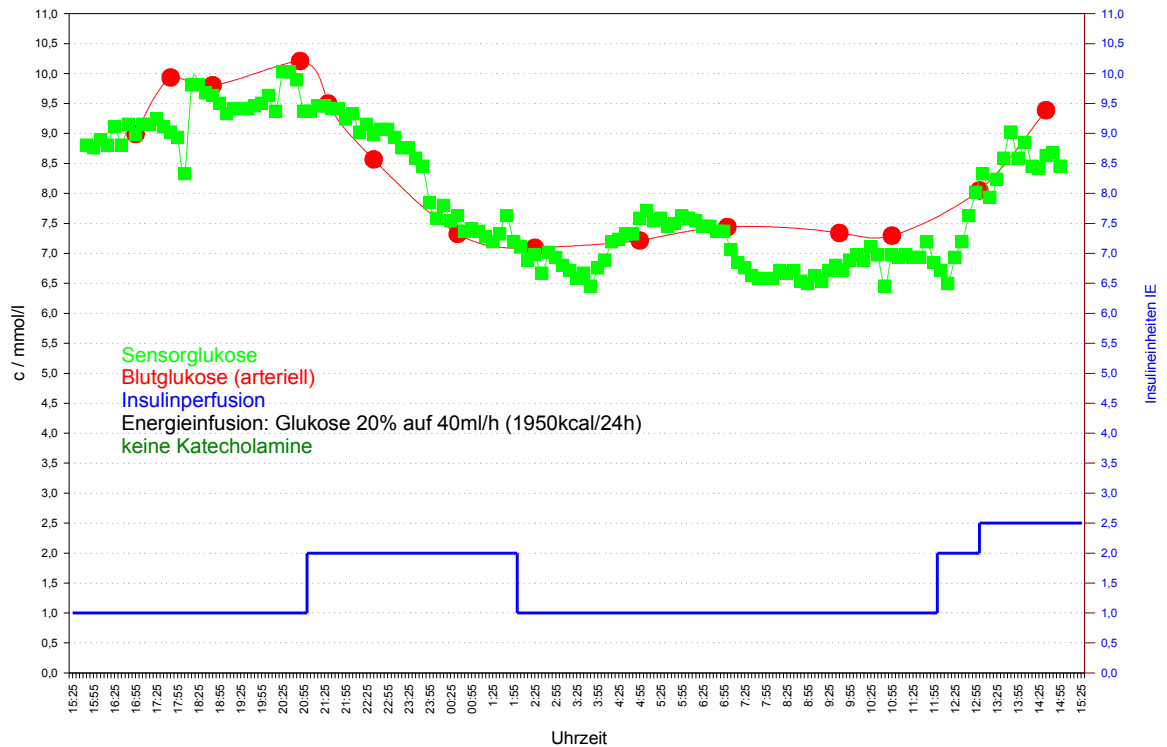


Abbildung 3.5.2.b: Darstellung von Blut- und Sensorglukose bei einem kritisch kranken Intensivpatienten

3.6 Auswertung und Statistik

Zur Auswertung der vom Glukose-Messsystem erfassten Rohdaten wurde das Tabellenkalkulationsprogramm SigmaPlot 2000 (Jandel Scientific, Jandel Corporation, San Rafael, CA, USA) verwendet.

3.6.1 Kalibrier- und Auswertemethoden

Zur Bestimmung der sicheren Messfunktion des Glukose-Messsystems vor Beginn und nach Beendigung des in-vivo-Einzelversuchs bei beiden Versuchsreihen

sowie zur Berechnung der Sensor-Glukosekonzentration bei der Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker wurde *in-vitro* eine 3-Punkt-Kalibrierung mittels gefertigter Glukose-Standardlösungen von 5-, 10- und 15mmol/L durchgeführt. Aus den Differenzströmen der einzelnen Glukosesignale erfolgten für jede Glukose-Standardlösung die Errechnung des arithmetischen Mittelwertes und die Bestimmung der Standardabweichung.

Der p-Wert wurde nach dem Student-Test für gepaarte Stichproben errechnet. Die Signifikanzgrenze war $p < 0,05$.

Die Mittelwerte der Differenzströme und die dazugehörigen Glukosekonzentrationen ergeben die drei Kalibrationspunkte (P1, P2, P3), wie sie in Abbildung 3.6.1. dargestellt sind. Die Glukose-Standardlösungen wurden mit dem Laborgerät EBIO-compact-Analyser auf die Richtigkeit ihres Glukosegehaltes überprüft. Durch die drei Punkte erfolgte mittels linearer Regression die Bestimmung des Nullstromes (Schnittpunkt mit der y-Achse), der Sensitivität (Steigung der Geradengleichung) und der Korrelationskoeffizient (r^2). Die lineare Regression wurde automatisch vom Software-Tabellenkalkulationsprogramm SigmaPlot berechnet. Hieraus wurde für die Versuchsreihe der Typ1-Diabetiker unter Berücksichtigung der Temperaturkompensation bei vorgegebenem Differenzstrom die Glukosekonzentration im Interstitium des subkutanen Fettgewebes nach folgender Geradengleichung berechnet:

$$D = S \cdot G + N$$

D = Differenzstrom (nA)

S = Sensitivität (nA/mmol/L)

G = Glukosekonzentration (mmol/L)

N = Nullstrom (nA)

Nach Umstellung der Kalibrierungsgeraden ergibt sich für die Glukosekonzentration im subkutanen Fettgewebe folgende Berechnung:

$$G = (D - N) / S$$

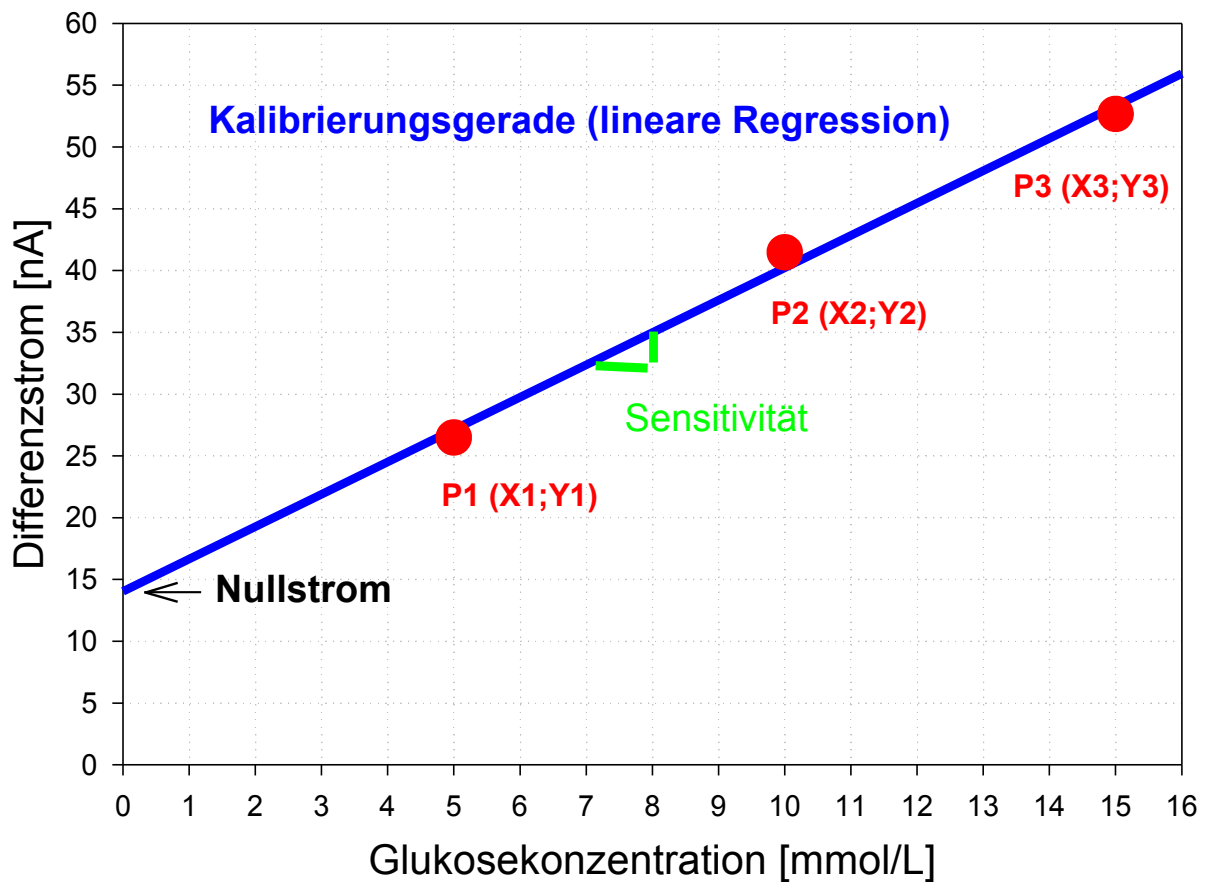


Abbildung 3.6.1.: Kalibrierungsgerade einer in-vitro erfolgten 3-Punkt-Kalibrierung

Zur Bestimmung der Glukosekonzentration im Interstitium des subkutanen Fettgewebe bei der Versuchsreihe der intensivpflichtigen Patienten erfolgte eine Ein-Punkt-in-vivo-Kalibrierung. Hierzu wurde der nach einer zirka einstündigen Einlaufphase in-vivo zuerst bestimmte arterielle Blutglukosewert mit dem zeitlich dazugehörigen bzw. korrespondierenden Differenzstromwert des Dickschicht-Glukosesensors als Kalibrationspunkt in Beziehung gesetzt. Alle darauf folgenden Punkte resultieren aus der theoretischen Betrachtung, dass ohne Glukoseangebot auch kein Sensorstrom fließen darf. Dazu ist ein nahezu lineares Sensorverhalten Voraussetzung, wie auch ein quasi nicht existierender Nullstrom im glukosefreien Milieu.

3.6.2 Korrelation zwischen Sensor- und Blutglukose

Nach Beendigung des *in-vivo*-Einzelversuchs und darauf folgender Sicherstellung der Messfunktion des Glukose-Messsystems erfolgte eine Korrelationsbetrachtung zwischen der Sensor- und Blutglukose. Hierzu wurden für beide Versuchsreihen die Blutglukosewerte (rote Punkte), die während des *in-vivo*-Versuchs mittels Labor-Analyser (EBIO-compact / NOVA) bestimmt wurden, mit den vom Glukose-Messsystem erfassten, zeitlich korrespondierenden Sensorglukosewerten (dunkelgrüne Quadrate) in Beziehung gesetzt (siehe Abbildung 3.6.2). Weiterhin wurden die prozentualen Abweichungen zwischen diesen Blut- und Sensor-Glukosewerten berechnet, um Aussagen zur Genauigkeit bzw. Präzision des kontinuierlich messenden Glukose-Messsystems zu treffen.

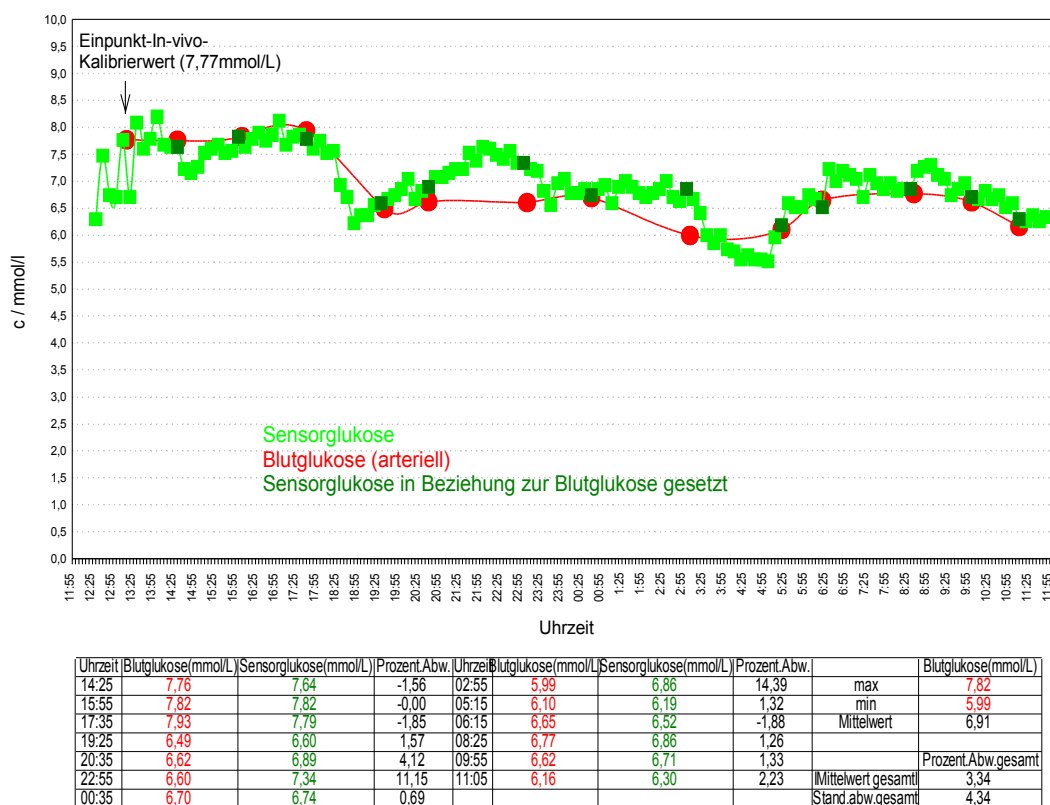


Abbildung 3.6.2.: Korrelation zwischen Blut- und Sensorglukose bei einem kritisch kranken Probanden

3.6.3 Error-Grid-Analyse

Die Error-Grid-Analyse bietet ebenfalls eine Form der graphischen Darstellung, in der die Blutglukose in Beziehung zur Sensorglukose gesetzt wird. Mit der Error-Grid-Analyse nach Clarke et al. (1987) kann herausgefunden werden, ob Werte verschiedener Methoden in therapeutisch relevanten Bereichen drastisch voneinander abweichen. Clarke hat in seinem Diagramm verschiedene Warnbereiche eingezeichnet, die es sehr schnell erlauben, Werte in diesen Bereichen zu identifizieren.

Abbildung 3.6.3. zeigt hierzu ein Beispiel nach einem ausgewerteten in-vivo-Versuch. Die x-Achse ist definiert für die Referenz des Blutglukosespiegels und die y-Achse für die vom Glukose-Messsystem generierte Sensorglukose. In der Darstellung sind Felder mit A, B, C, D und E markiert. Dabei ist das Feld A der Bereich der angestrebt wird und klinisch exakt bzw. signifikant ist. Im Feld A liegen die Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose unter 20%. Hier befinden sich 12 von den insgesamt 22 Messwertpaaren (55%). Davon liegt ein Wert im hypoglykämischen Bereich (kleiner 4mmol/L). Das Feld B ist ein klinisch tolerierbarer bzw. akzeptierbarer Bereich mit Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose über 20%, in dem 9 der Messwertpaare liegen (41%). Die Felder C, D (2 Messwertpaare) und E stellen klinisch nicht akzeptierbare bzw. kritische Bereiche dar (9%). Im Bereich D liegen die tatsächlichen Werte kleiner 4mmol/L oder größer 13mmol/L, trotz physiologisch gemessener Sensorwerte zwischen 4- und 10mmol/L. Feld E ist klinisch der potentiell gefährlichste Bereich. Hier liegen hypoglykämische Sensorwerte kleiner 4mmol/L vor, aber die tatsächlichen Werte befinden sich in einem völlig verkehrten Bereich über 10mmol/L.

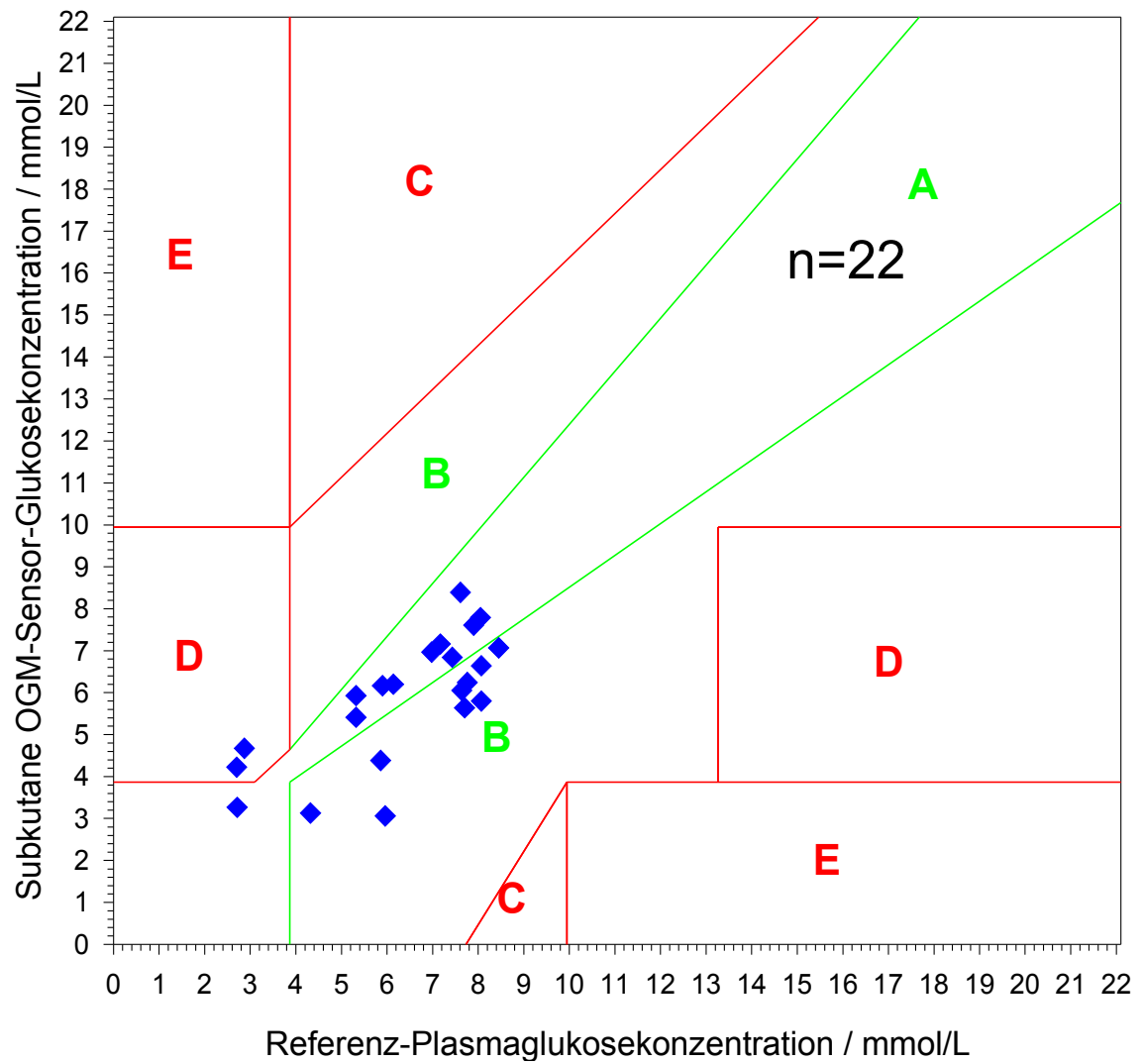


Abbildung 3.6.3.: Error-Grid-Analyse eines ausgewerteten in-vivo-Versuchs

4 Ergebnisse

4.1 Typ1-Diabetiker

Mit dem eingesetzten Glukose-Messsystem unter Verwendung des Membran-Glukosesensors konnten bei den Typ1-Diabetikern hinreichend verlässliche Ergebnisse erreicht werden. Zur Beurteilung der Resultate wurden die prozentualen Abweichungen zwischen den als Referenz dienenden Blut-Glukosewerten und den zeitlich zugehörigen Sensor-Glukosewerten bestimmt.

Tabelle 4.1.a zeigt für alle acht Versuche die jeweiligen Mittelwerte der prozentualen Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose mit den entsprechenden Standardabweichungen mit und ohne Zeitverschiebung. Die Anzahl der Blut-Sensor-Messwertpaare wird mit n bezeichnet. Die Schwankungsbreite der Blutglukose lag zwischen 1,9- und 12,7mmol/L mit einem Mittelwert von 7,3mmol/L und einer Standardabweichung von $\pm 2,3$ mmol/L.

Insgesamt ergibt sich bezogen auf alle acht Versuche eine prozentuale Abweichung im Mittelwert von 25,4% mit einer Standardabweichung von $\pm 19,5\%$. Das ist ein eher unbefriedigendes Ergebnis. Eine signifikante Verbesserung der Resultate lässt sich erzielen, indem die Blut-Glukosewerte in Korrelation zur 15min später erfassten Sensorglukose gesetzt werden (siehe Kapitel 3.3.3.). Aus diesem Grund wurde bei allen Diabetiker-Versuchen eine Verschiebung der Sensorglukose um 15min zurückversetzt.

Der Mittelwert der prozentualen Abweichung aller Versuche nach Korrektur der zeitlichen Verzögerung von 15min beträgt 16,9% mit einer Standardabweichung von $\pm 15,3\%$.

Diabetiker-Versuche	n	I Mittelwert I ± Standardabweichung Ohne Zeitverschiebung [%]	I Mittelwert I ± Standardabweichung Mit Zeitverschiebung [%]
1	24	23,5 ± 18,5	15,4 ± 10,4 (p<0,0001)
2	22	16,7 ± 18,4	16,2 ± 18,2 (p<0,0001)
3	42	20,6 ± 13,7	19,3 ± 12,6 (p<0,0001)
4	22	31,5 ± 25,4	18,9 ± 17,9 (p<0,0001)
5	22	25,6 ± 15,3	17,3 ± 12,1 (p<0,0001)
6	20	16,4 ± 13,2	7,8 ± 9,8 (p<0,001)
7	23	23,0 ± 10,4	14,5 ± 11,8 (p<0,0001)
8	22	43,9 ± 41,6	24,1 ± 28,8 (p<0,0001)

Tabelle 4.1.a

In Abbildung 4.1.a sind die prozentualen Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose für alle Versuche in einem Säulendiagramm dargestellt. Hieraus wird ersichtlich, wie die prozentualen Abweichungen der Sensorglukose bezüglich zur Referenz der Blutglukose lagen. Insgesamt wurden im Mittel 47% der gemessenen Sensorglukose unterhalb der Blutglukose gemessen („negative“ Säulen).

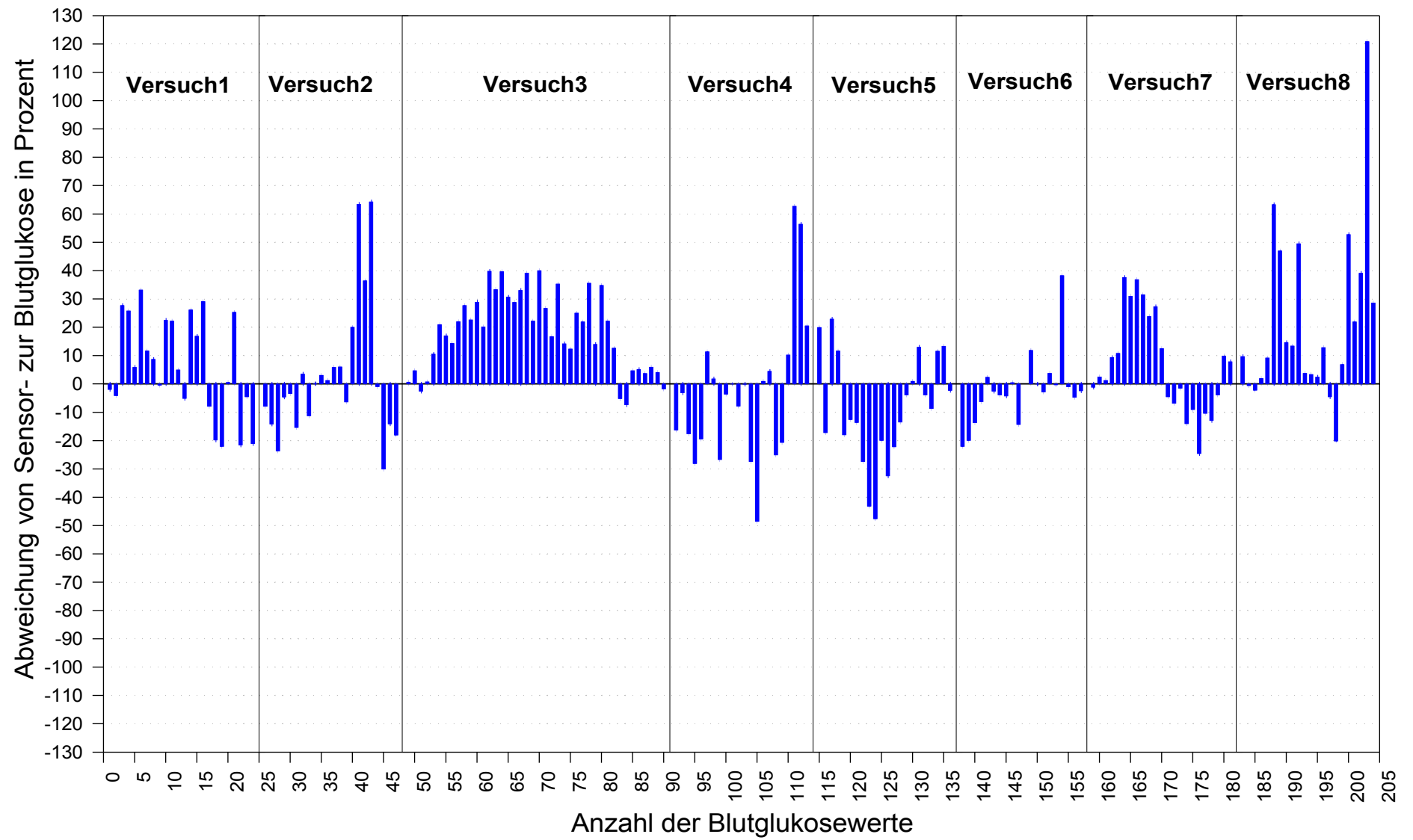


Abbildung 4.1.a: Prozentuale Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose aller Versuche

Insgesamt wurden 197 Messwertpaare zwischen Blut- und Sensorglukose erfasst, die in Abbildung 4.1.b in Form einer Error-Grid-Analyse dargestellt sind. Davon befinden sich 122 Messwertpaare (62%) im klinisch exakten Bereich A, der eine Messgenauigkeit der Sensorglukose von über 80% in Bezug zur Blutglukose aufweist. Davon befinden sich 9 Messwertpaare (5%) im hypoglykämischen Bereich. 69 Sensor-Messwerte (35%) liegen im Bereich B, der akzeptabel ist. Im „gefährlichen“ bzw. nicht akzeptierbaren Bereich D sind 6 Sensor-Messwerte (3%) erfasst worden. Das nicht akzeptierbare Feld C und der „gefährlichste“ Bereich E wurden durch keinen der Versuche erfasst.

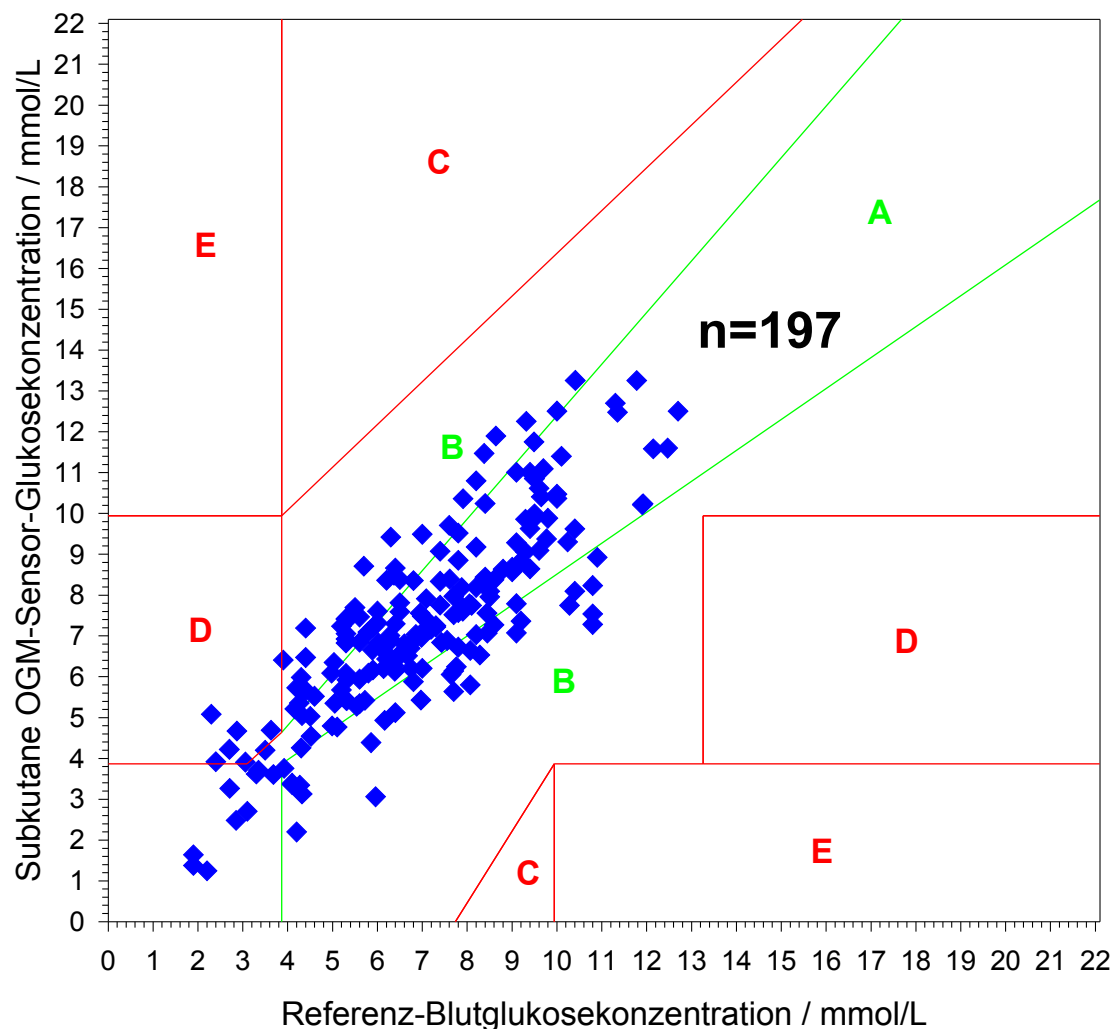


Abbildung 4.1.b: Error-Grid-Analyse der Messwerte der Versuche bei Typ1-Diabetikern

Tabelle 4.1.b gibt für jeden Versuch die Anzahl der Blut/Sensor-Glukose-Messwertpaare wieder, die in den jeweiligen Feldern liegen.

Versuch	n	A	B	C	D	E
1	24	11	11	0	2	0
2	22	12	10	0	0	0
3	42	27	15	0	0	0
4	22	11	9	0	2	0
5	22	15	7	0	0	0
6	20	15	5	0	0	0
7	23	17	6	0	0	0
8	22	14	6	0	2	0

Tabelle 4.1.b

4.2 Kritisch kranke Intensivpatienten

Bei der Erprobung des Glukose-Messsystems am Patientenkollektiv der kritisch Kranken auf der internistischen Intensivstation konnten mittels Dickschicht-Glukosesensor insgesamt gute Ergebnisse erzielt werden.

Tabelle 4.2. zeigt zu jedem Versuch den Mittelwert der prozentualen Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose mit den dazugehörigen Standardabweichungen. Hierbei ergibt sich im Mittel eine prozentuale Abweichung zwischen den vom Sensor ermittelten Glukosewerten und den als Referenz erhobenen arteriellen Blutwerten von 9,2%, mit einer Standardabweichung von $\pm 7,1\%$. Die Schwankungsbreite der Blutglukose lag zwischen 3,2 und 12,3mmol/L mit einem Mittelwert von 7,5mmol/L und einer Standardabweichung von $\pm 1,9\text{mmol/L}$. Eine zeitliche Verzögerung zwischen Blut- und Sensorglukose wurde in keinem der Versuche festgestellt.

Intensiv-Patienten-Versuche	n	I Mittelwert I ± Standardabweichung [%]
1	18	8,6 ± 5,3 (p<0,0001)
2	13	3,3 ± 4,3 (p<0,02)
3	13	6,9 ± 7,2 (p<0,01)
4	13	3,5 ± 2,9 (p<0,002)
5	16	8,6 ± 4,9 (p<0,0001)
6	18	19,6 ± 14,9 (p<0,0001)
7	15	9,9 ± 6,0 (p<0,0001)
8	16	13,1 ± 10,9 (p<0,0001)

Tabelle 4.2.a

In Abbildung 4.2.a sind für alle Versuche die prozentualen Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose in einem Säulendiagramm dargestellt. Von allen Versuchen mit insgesamt 122 Wertepaaren (Blutglukosewert mit zeitlich korrespondierendem Sensorglukosewert) lagen 51% der Sensor-Glukosewerte unterhalb der Blut-Glukosewerte.

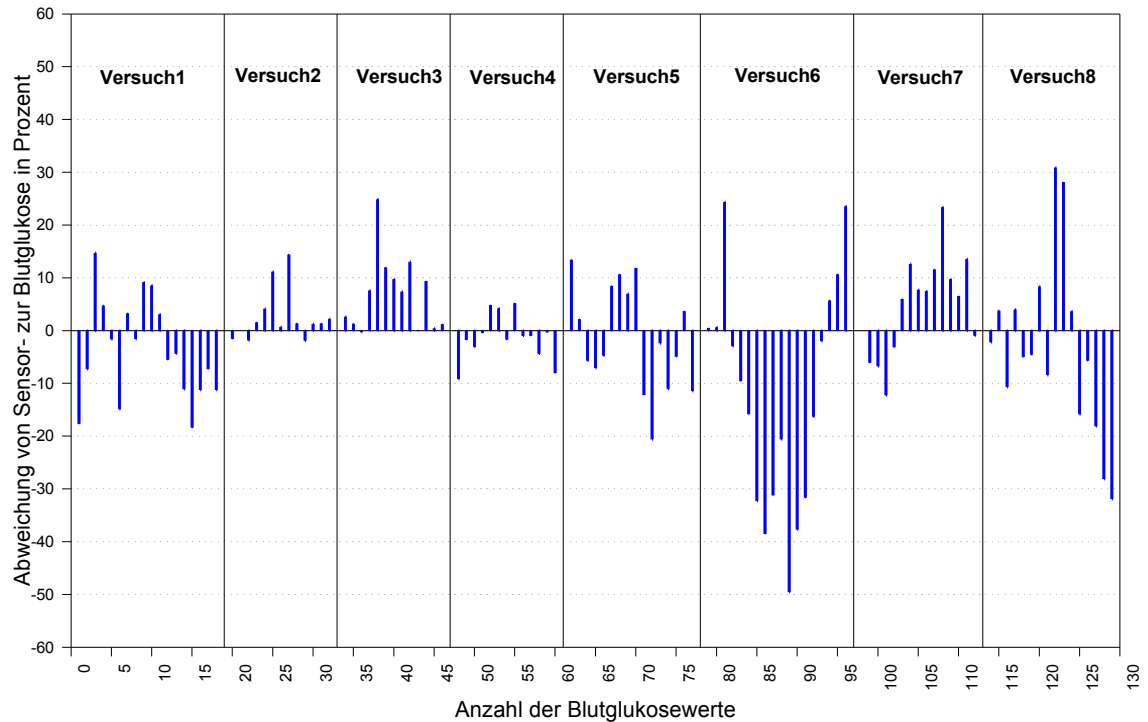


Abbildung 4.2.a: Prozentuale Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose aller Versuche

Die 122 Messwert-Paare zwischen Blut- und Sensorglukose aller Versuche sind in der Error-Grid-Analyse der Abbildung 4.2.b dargestellt. Im klinisch exakten Bereich A befinden sich 96 Messwertpaare (79%). 24 Sensor-Messwerte (20%) liegen im Bereich B, der akzeptabel ist. Im „gefährlichen“ bzw. nicht akzeptierbaren Bereich D sind 2 Sensor-Messwerte (2%) erfasst worden. Das nicht akzeptierbare Feld C und der „gefährlichste“ Bereich E wurden durch keinen der Versuche erfasst.

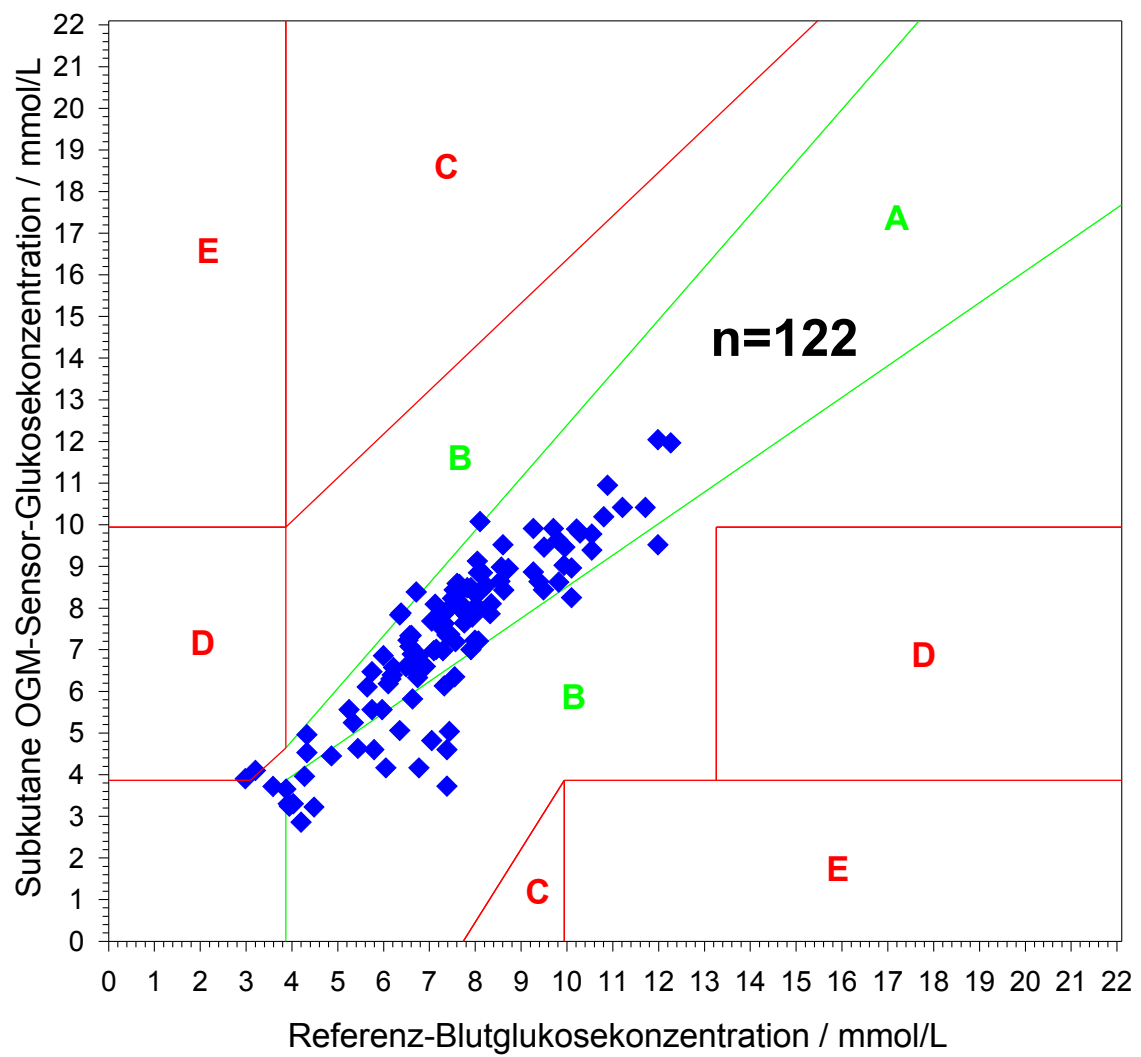


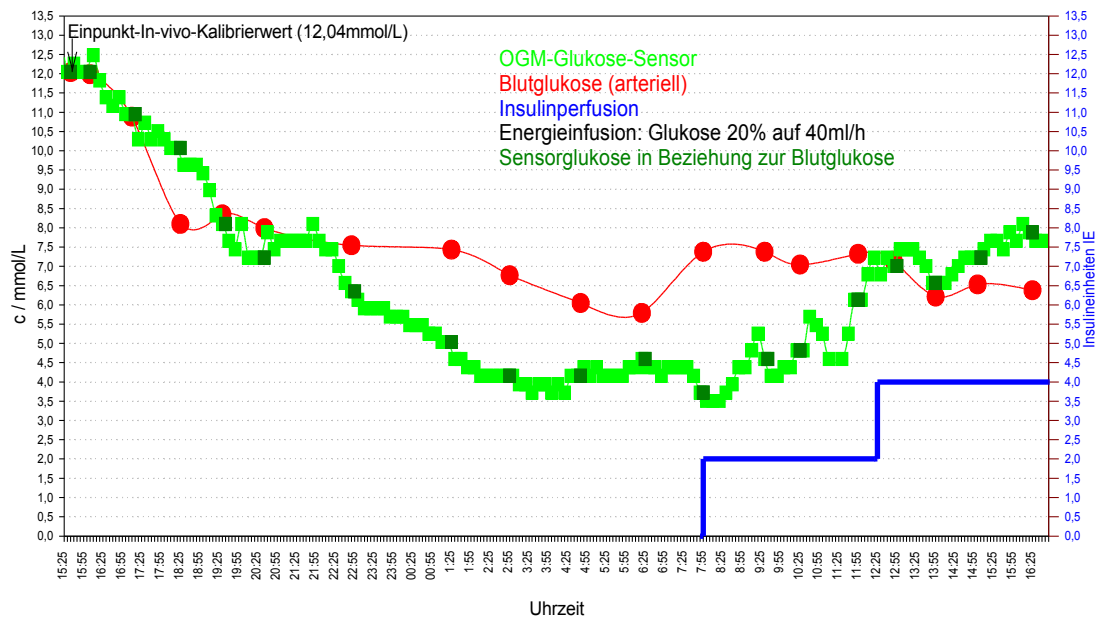
Abbildung 4.2.b: Error-Grid-Analyse für alle Intensivpatienten-Versuche

Tabelle 4.2.b gibt für jeden Versuch die Anzahl der Blut/Sensor-Glukose-Messwertpaare wieder, die in den jeweiligen Feldern liegen.

Versuch	n	A	B	C	D	E
1	18	14	4	0	0	0
2	13	13	0	0	0	0
3	13	12	1	0	0	0
4	13	13	0	0	0	0
5	16	15	1	0	0	0
6	18	8	10	0	0	0
7	15	12	3	0	0	0
8	16	9	5	0	2	0

Tabelle 4.2.b

10 der 25 Messwertpaare aus dem Bereich B entstammen vom Versuch 6. Dieser war der einzige Versuch, der unter Einsatz von Katecholaminen durchgeführt wurde. Hier konnte als schlechtester Versuch bezüglich der Messgenauigkeit zwischen Blut- und Sensorglukose kein gutes Ergebnis erzielt werden. Die prozentuale Abweichung beträgt im Mittelwert 19,6% mit einer Standardabweichung von $\pm 14,9$. In Abbildung 4.2.c ist die Korrelationsbetrachtung zwischen Blut- und Sensorglukose mit den tabellarisch dazugehörig aufgeführten Messwerten dargestellt. Die Katecholaminzufuhr (Noradrenalin 10mg auf 50ml NaCl mit 0,3ml/h) wurde in diesem Versuch gegen 8 Uhr abgesetzt. Im Versuch kann man erkennen, dass die beiden Kurven auseinander gehen und gegen Ende des Versuchs sich wieder nähern.



Uhrzeit	Blutglukose(mmol/L)	Sensorglukose(mmol/L)	Prozent.Abw.	Uhrzeit	Blutglukose(mmol/L)	Sensorglukose(mmol/L)	Prozent.Abw.		Blutglukose(mmol/L)
08:35	11,99	12,05	0,49	22:15	5,79	4,60	-20,59	max	12,04
09:40	10,89	10,95	0,58	00:25	7,38	3,72	-49,56	min	5,79
10:55	8,10	10,07	24,34	02:00	7,38	4,60	-37,69	Mittelwert	8,92
12:00	8,35	8,10	-2,96	02:55	7,05	4,82	-31,64		
13:05	7,99	7,23	-9,56	04:25	7,33	6,13	-16,29		Prozent.Abw.gesamt
15:20	7,55	6,35	-15,85	05:20	7,15	7,01	-1,98	IMittelwert.gesamt	19,63
17:55	7,44	5,04	-32,26	06:25	6,22	6,57	5,71	Stand.abw.gesamt	14,90
19:25	6,77	4,16	-38,54	07:30	6,53	7,23	10,64		
21:15	6,05	4,16	-31,21	08:55	6,38	7,88	23,54		

Abbildung 4.2.c: Betrachtung der Blut- und Sensorglukose bei einem kritisch kranken Patienten, der Noradrenalin zur Kreislaufstabilisierung erhielt

Ob der Einsatz von Katecholaminen die Ursache für dieses eher nur mäßige Resultat bezüglich der Messgenauigkeit zwischen Blut- und Sensorglukose war, müsste in weiteren in-vivo-Versuchen spezifisch geprüft werden.

5 Diskussion

Glukose-Messsysteme, die durch häufige Glukosebestimmungen direkt im Blut oder Gewebe die Verfügbarkeit des lebenswichtigen Energielieferanten Glukose im Organismus engmaschig kontrollieren, haben das Potential, die Stoffwechselsituation von Diabetikern und auch Patienten auf der Intensivstation tiefgreifend zu verbessern.

Bislang ist es noch nicht gelungen, Schwankungen des Blutzuckerspiegels frühzeitig zu jeder Tageszeit hinreichend verlässlich zu erfassen, um so Hypo- und Hyperglykämien zu vermeiden. Mit einem kontinuierlich messenden Glukose-Messsystem könnten vor allem die akut gefährlichen Hypoglykämien rechtzeitig erkannt und therapiert werden.

Ziel der beiden Versuchsreihen war es, herauszufinden, ob ein neu entwickeltes Glukose-Messsystem unter Einsatz der pulsatilen Mikrodialyse über 24 Stunden zuverlässig den Blutzucker abbildet.

Pulsatile Mikrodialyse bei Typ1-Diabetikern

Große Longitudinalstudien wie die DCCT- und UKPDS-Studie haben sowohl für Typ1- als auch Typ2-Diabetiker gezeigt, dass durch eine Optimierung der Blutzuckereinstellung das Risiko für die Entwicklung von Spätkomplikationen wie die Makro- oder Mikroangiopathie reduziert werden kann (DCCT Research Group, 1993; Am J Cardiol, 1995; Kidney Int, 1995; Diabetes, 1995; BMJ, 2000; UKPDS, 1998).

Mehrere Arbeitsgruppen haben verschiedene Geräte zum kontinuierlichen Glukose-Monitoring entwickelt und getestet, um bei diabetischen Patienten genaue Blutzuckerkontrollen zu erreichen und hypoglykämische Perioden rechtzeitig zu erfassen (Jansson et al., 1988; Bolinder et al., 1992; Rao et al., 1993; Trajanoski et al., 1997; Wientjes et al., 1998; Garg et al., 1999; Mastrototaro, 1999; Gerritsen et al., 1999; Rebrin et al., 1999; Tamada et al., 1999; Lutgers et al., 2000; Aussedat et al., 2000; Pitzer et al., 2001; Jungheim et al. 2001; Maran et al., 2002; Boyne et al., 2003; Kapitza et al., 2003; Feldmann et al., 2003; Varalli et al., 2003).

Kürzlich wurden zwei neue Geräte nach durchgeführten klinischen Studien von der FDA (Marktzulassung durch die „Food and Drug Administration“) zugelassen.

Es handelt sich um das „Kontinuierliche Glukose Monitoring System“ (CGMS; MiniMed Inc., CA, USA) und der „GlucoWatch biographer“ (Cygnus, Redwood City, CA).

Das CGMS (Mastrototaro, 1999) besteht aus dem im subkutanen Fettgewebe liegenden elektrochemischen Glukosesensor, der mit einem vom Patienten getragenen Monitor konnektiert ist. Nachteil des MiniMed-Sensors ist der Sensitivitätsverlust nach Implantation und die täglich viermalige in-vivo-Rekalibration (Kerner, 2001).

Der GlucoWatch-Biographer (Rao et al., 1993; Grag et al., 1999; Pitzer et al., 2001) ist ein nichtinvasives Glukose-Monitoring-System und basiert auf transdermale Iontophorese. Tamada et al. (1999) demonstrierten hierzu umfassende klinische Ergebnisse.

Weitere kontinuierlich messende Glukosesysteme sind das Roche-Mikrodialysesystem basierend auf der „Ulmer Zuckeruhr“ (Meyerhoff et al., 1992) und das GlucoDay-Mikrodialysesystem (Menarini Diagnostics). Im Gegensatz zu den intrakorporalen elektrochemischen Sensoren bietet die Mikrodialysemethode mit extrakorporalem Sitz des Glukosesensors Vorteile bezüglich Vermeidung eines in-vivo-Sensitivitätsverlustes des Glukosesensors und einer weniger häufigen Kalibrierung des Messsystems (Kerner, 2001).

Alle diese Methoden bestimmen die Glukosekonzentration nicht im Blut, sondern im interstitiellen Raum. Somit stellt sich die Frage, inwieweit Blutzucker und interstitieller Gewebezucker korrelieren. Diesbezüglich ist eine Studie von Nielsen (Diabetes 2005) von besonderem Interesse. Die Autoren konnten zeigen, dass die interstitielle Glukose im Fett- und Muskelgewebe exzellent mit der cerebro-cortikalen Glukosekonzentration korrelieren. Insofern ist die interstitielle Glukosekonzentration, die im Mikrodialysat bestimmt wird, von höherer klinischer Relevanz bezüglich der Vermeidung schädlicher, bewußtseinseinschränkender Hypoglykämien als der Blutzucker.

Das in dieser Arbeit verwendete Glukose-Messsystem basiert auf der pulsatilen Mikrodialyse im subkutanen Fettgewebe (Kerner, 1995). Vorteile dieser Methode sind die Möglichkeit der unmittelbaren Anzeige der Glukosekonzentration und die Durchführung einer in-vitro-Kalibration des Glukose-Messsystems (Kerner, 2001).

An acht Typ1-Diabetikern wurde dieses Glukose-Messsystem unter Verwendung des Membran-Glukosesensors mit Messort am Unterarm erprobt. Die Ergebnisse die hier erreicht wurden bezüglich der subkutan gemessenen Sensorglukose, zeigten zunächst nur eine hinreichende Übereinstimmung mit den zeitgleich gewonnenen korrespondierenden kapillaren Referenz-Blutglukosewerten. Diese hinreichende Übereinstimmung war für die klinischen Bedürfnisse zu gering.

Nach jüngsten Untersuchungen scheint die physiologische Zeit der Blutglukose und der interstitiellen Glukose im Fettgewebe unerheblich zu sein. Diese Ungenauigkeit war allerdings zu einem Teil durch die zeitliche Verzögerung des Glukosemessvorgangs, der durch den Transport der zu messenden Gewebeflüssigkeit bedingt war, erklärt. Diese Verzögerung ist durch die Flussrate von 15µl/min und den Weg, den die Probe zurückzulegen hat (150mm), bedingt und beträgt in unserem Versuch ca. 15 Minuten. Korrigiert man diese Zeitdifferenz, d.h. vergleicht man den Blutzuckermesswert mit einem Sensorglukosemesswert der ca. 15 Minuten später erhoben wurde, dann war eine höhere Übereinstimmung der Blut- und Gewebemesswerte gegeben.

Die Korrektur der zeitlichen Verzögerung zwischen Blut- und Sensorglukose bringt eine Verbesserung der Ergebnisse um 33,5%. Das Phänomen der zeitlichen Verzögerung zwischen Blut- und Sensorglukose konnte schon bei *in-vivo*-Voruntersuchungen an gesunden Probanden mit Messort am Unterarm beobachtet werden (siehe Kapitel 3.3.3.). In der Literatur wurde die Bedeutung der zeitlichen Verzögerung zwischen interstitiellen Glukosewerten und Blutglukosewerten ausführlich diskutiert (Bolinder et al., 1989, 1992; Hagström et al., 1990; Aalders et al., 1991; Schmidt et al., 1993; Rosdahl et al., 1993; Sternberg et al., 1995; Summers et al., 1999; Wientjes and Schoonen, 2001; Kulcu et al., 2003; Schoemaker et al., 2003; Boyne et al., 2003; Nielsen et al., 2005).

Eine zeitliche Verzögerung bedingt durch das Glukosesensor-Messsystem ist regelmäßig beobachtet worden (Wientjes and Schoonen, 2001; Kulcu et al., 2003; Schoemaker et al., 2003). Bei Typ1-Diabetikern konnte mit dem bereits von Medtronic-MiniMed zugelassenen kontinuierlichen Glukose-Messsystem (CGMS) eine zeitliche Differenz zwischen Blut- und interstitieller Glukose im abdominalen Fettgewebe von 4 bis 10 Minuten gemessen werden (Boyne et al., 2003). Andere Mikrodialyse-Studien zeigten bei Veränderungen des Blutglukosespiegels zeitliche

Verzögerungen von 6min (Aalders et al., 1991), 10min (Bolinder et al., 1989), 12min (Sternberg et al., 1995), 15min (Hagström et al., 1990) und 20min (Summers et al., 1999). Andererseits konnten Wientjes et al. (2001) keine signifikante zeitliche Verzögerung zwischen kapillarer Blutglukosekonzentration und subkutaner interstitieller Glukosekonzentration feststellen.

Eine weitere mögliche Ursache für Unterschiede zwischen Glukosewerten im Blut und im Interstitium könnte in der Utilisierung und Metabolisierung der Glukose in Abhängigkeit von der Durchblutung des Unterarm-Fettgewebes liegen. So beobachteten Hagström et al. (1990) regionale Unterschiede zwischen abdominalen und glutealen Fettgewebe, die sie auf Unterschiede in der Durchblutung des Fettgewebes und auf regionale Unterschiede der Glukoseutilisation zurückführten. Auch Rosdahl et al. (1993) beschrieben, dass die Wiederfindung der Glukosekonzentration im interstitiellen Fettgewebe von der lokalen Durchblutung abhängig ist. Die Wiederfindungen der Glukosekonzentrationen im subkutanen Fettgewebe werden in der Literatur mit einer Schwankungsbreite von nur 50% (Schmidt et al. 1993) bis um 101% höhere Wiederfindungen der Glukose im Vollblut (Bolinder et al. 1992) angegeben.

Ein weiterer wichtiger Aspekt, der bei dieser Versuchsreihe berücksichtigt werden muss, ist der Temperatureinfluss auf die extrakorporale Glukosemessung (siehe Kapitel 3.2.4.). Da dieses Patientenkollektiv seinen alltäglichen Gewohnheiten nachgehen sollte, bewegten sich die Patienten bei unterschiedlichen Umgebungstemperaturen. Im extrakorporal gelegenen Glukosesensor wurde über einen Temperatursensor, der sich in der Durchfluss-Messzelle des Glukosesensors befindet, die Temperatur kontinuierlich erfasst. Diese Temperatur ist eine Mischung zwischen Körper- und Umgebungstemperatur. In dieser Versuchsreihe konnten Temperaturschwankungen über 3°C ermittelt werden, die das Glukosesignal entscheidend beeinflussten.

Über einen Temperaturalgorithmus konnte dieser Einfluss als Fehlerquelle herausgerechnet werden. Voraussetzung hierfür ist eine Überprüfung der Temperaturkompensation auf Wirksamkeit des Temperaturalgorithmus (siehe Kapitel 3.6.4.), da in weiteren *in-vitro*-Vermessungen der Membransensoren Unterschiede in den Membransensor-Chargen bezüglich der Temperaturempfindlichkeit auf das Sensorglukosesignal festgestellt wurden.

Vermutlich sind diese Unterschiede in den Membransensor-Chargen herstellungsbedingt und abhängig von der Lagerungszeit der einzelnen Chargen. Durch notwendige *in-vitro*-Vermessungen der jeweiligen Membransensor-Charge auf Temperaturverhalten zur Bestimmung des Temperaturalgorithmus (Schwechheimer, 1997) wird die extrakorporale Glukosemessung bezüglich einer Temperaturkompensation zeitaufwendig.

Der **klinische Nutzen** einer online Glukosemessung wird in Abbildung 5.1.a deutlich. Mit dem neu entwickelten Glukose-Messsystem lassen sich Blutzuckerschwankungen und Tendenzen erkennen, die mit punktuellen vom Diabetiker durchgeführten Blutzucker-Selbstkontrollen und durch die Bestimmung von HbA1c häufig nicht erkannt werden (Bolinder et al., 1997; Gross et al., 2000). Das Glukose-Messsystem füllt die Lücken zwischen den vom Diabetiker am Finger durchgeführten Blutzucker-Selbstkontrollen (5 pinkfarbene Dreiecke) und zeichnet ein umfassendes Bild des Blutzucker-Verlaufs auf. Die mit blauem Pfeil gekennzeichneten Zeit-Bereiche (ca.19:30, 0:00 und 4:30) zeigen bezüglich des Blutzucker-Zielbereiches einen grenzwertig erniedrigten und zwei zu hohe Blutzuckerspiegel, die mit den Blutzucker-Selbstkontrollen nicht erfasst werden. Das kann Diabetikern falsche Sicherheit vermitteln, da die Blutzucker-Selbstkontrollen eventuell normale Blutzuckerwerte vortäuschen.

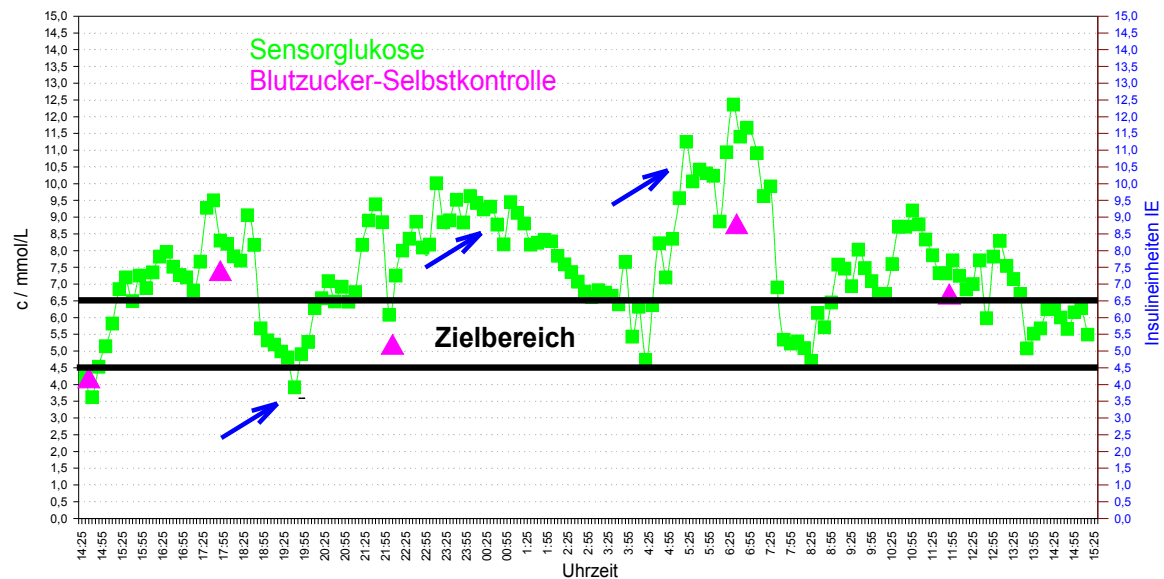


Abbildung 5.1.a: In-vivo-Versuch eines 42-jährigen Typ1-Diabetikers

Das Glukose-Messsystem liefert zusätzliche Erkenntnisse, anhand derer Therapie, Diät und Lebensführung im Sinne eines verbesserten Diabetes-Managements des Patienten angepasst werden können.

Insgesamt konnten in der Error-Grid-Analyse nach Clark 97% der Werte in den klinisch akzeptierten Zonen A und B charakterisiert werden.

Pulsatile Mikrodialyse bei Kritisch kranken Patienten

Das Auftreten von häufigen Hyperglykämien bei kritisch kranken Patienten zeigte sich nicht nur bei Diabetikern, sondern auch bei Patienten ohne Diabetes Mellitus (Montori et al., 2002). Insbesondere bei kritisch kranken Patienten auf der chirurgischen Intensivstation wurde eine Prognoseverbesserung durch strikte Zuckerstoffwechselkontrolle nachgewiesen (Van den Berghe et al., 2001, 2003, 2006).

Vorraussetzung für eine intensivierete Insulintherapie ist eine häufige Blutzuckerkontrolle, aber praktikable Geräte zum kontinuierlichen Monitoring der Blutzuckerspiegel sind in der Intensiv-Pflege kritisch kranker Patienten begrenzt.

In der Literatur liegen einige Daten zum kontinuierlichen Glukose-Monitoring im subkutanen Fettgewebe bei kritisch kranken Patienten vor. Obgleich mittels kontinuierlicher Mikrodialysetechnik für das Glukose-Monitoring im subkutanen Fettgewebe gute Ergebnisse bei Neugeborenen gezeigt werden konnten (Baumeister et al., 2001), wurden mit dieser Methode bei erwachsenen neurochirurgischen Patienten eher nur mäßige Ergebnisse beschrieben (Lourido

et al., 2002). Vor kurzem wurde ein Messgerät zum kontinuierlichen subkutanen Glukose-Monitoring an diabetischen Patienten zugelassen (CGMS, Medtronic MiniMed), welches auch mit guter Genauigkeit an kritisch kranken Patienten ausgetestet wurde (Goldberg et al., 2004). Hier konnten in der Error-Grid-Analyse nach Clark 98,7% der Werte in den klinisch akzeptierten Zonen A und B charakterisiert werden.

An acht internistischen intensivpflichtigen Patienten wurde das neu entwickelte Glukose-Messsystem unter Verwendung des Dickschicht-Glukosesensors mit Messort am Abdomen erprobt.

Die Ergebnisse, die bei den schwer kranken intensivpflichtigen Patienten bezüglich der subkutan gemessenen Sensorglukose erreicht wurden, zeigten ebenfalls eine gute Übereinstimmung mit den korrespondierenden arteriellen Referenz-Blutglukosewerten. Hier konnten in der Error-Grid-Analyse nach Clark 98,4% der Werte in den klinisch akzeptierten Zonen A und B charakterisiert werden. Die aus der Ein-Punkt-in-vivo-Kalibrierung errechneten Glukosewerte korrelieren signifikant mit der Blutglukose und stellen den Blutglukose-Verlauf insgesamt zuverlässig dar.

Eine Ausnahme zeigte ein in-vivo-Versuch, der unter Katecholaminapplikation lief. Hierzu wurde als peripherer Vasokonstriktor das Katecholamin Noradrenalin eingesetzt. Das hier nur mäßig erreichte Resultat bezüglich der Messgenauigkeit zwischen Blut- und Sensorglukose könnte durch die Katecholaminzufuhr erklärt werden. Das ist aber nur eine Vermutung und müsste in weiteren in-vivo-Versuchen spezifisch untersucht werden. Vielleicht wäre eine Erklärung, dass durch die periphere Vasokonstriktion auch das abdominale Fettgewebe schlechter durchblutet wird und die Glukose-Wiederfindung sinkt. Tatsächlich wurde während der Noradrenalin-Gabe eine niedrigere Sensorglukose als Blutglukose gemessen. Nach Absetzen des Noradrenalins stieg die Sensorglukose wieder bei annähernd stabiler Blutglukose an, so dass die prozentualen Abweichungen zwischen Blut- und Sensorglukose kleiner wurden. Flechtner-Mors et al. (2004) konnten an adipösen Personen zeigen, dass die Mikrozirkulation im subkutanen Fettgewebe durch Katecholamine wie zum Beispiel Noradrenalin und somit die interstitielle Glukosekonzentration abnehmen. Die Möglichkeit des Katecholamin-Einflusses

auf die subkutane Glukosekonzentration hat eine spezielle Bedeutung bei kritisch kranken Patienten und bedarf weiterer Untersuchungen.

Aussagen zur Messgenauigkeit des Glukose-Messsystems im akut gefährlichen Hypoglykämie-Bereich mit Blutzuckerwerten kleiner 2,5mmol/L können nicht gemacht werden, da in allen Versuchen bei den zufällig ausgewählten Intensivpatienten dieser Bereich nicht erfasst wurde. Um auch im akut gefährlichen Hypoglykämie-Bereich den Nachweis einer sicheren Messfunktion des Glukose-Messgerätes nachzuweisen, sollten hierzu zukünftig bei gesunden Probanden durch Clamp-Versuche weitere Untersuchungen erfolgen.

Auf der internistischen Intensivstation erfolgten vom Pflegepersonal täglich 5 bis 6 Blutzuckerkontrollen als Grundlage zur Durchführung einer entsprechenden Insulintherapie. Die Messungen zeigen, dass eine intensivierete Insulintherapie mit 5-6 Blutzuckerwerten zur Erreichung physiologischer Blutzuckerwerte nur schwer möglich ist. Die Schwankungsbreite der vom Pflegepersonal gemessenen Blutglukosewerte beträgt im Mittel bezogen auf alle acht Versuche 7,2mmol/L mit einer Standardabweichung von $\pm 1,8$ mmol/L. Der physiologische Nüchtern-Blutzuckerspiegel beträgt 3,3 bis 6,1mmol/L. Insgesamt wurden vom Pflegepersonal 45 Blutglukosewerte gemessen, von denen 35 Werte außerhalb des physiologischen Blutglukosebereiches lagen. Hieraus ergibt sich, dass nur 33% der Blutglukosewerte normwertig waren.

Zum Beispiel konnte im Versuch 5, wie Abbildung 5.1.b zeigt, der physiologische Blutglukosebereich unter hier aufgezeichneter Insulintherapie nicht erreicht werden.

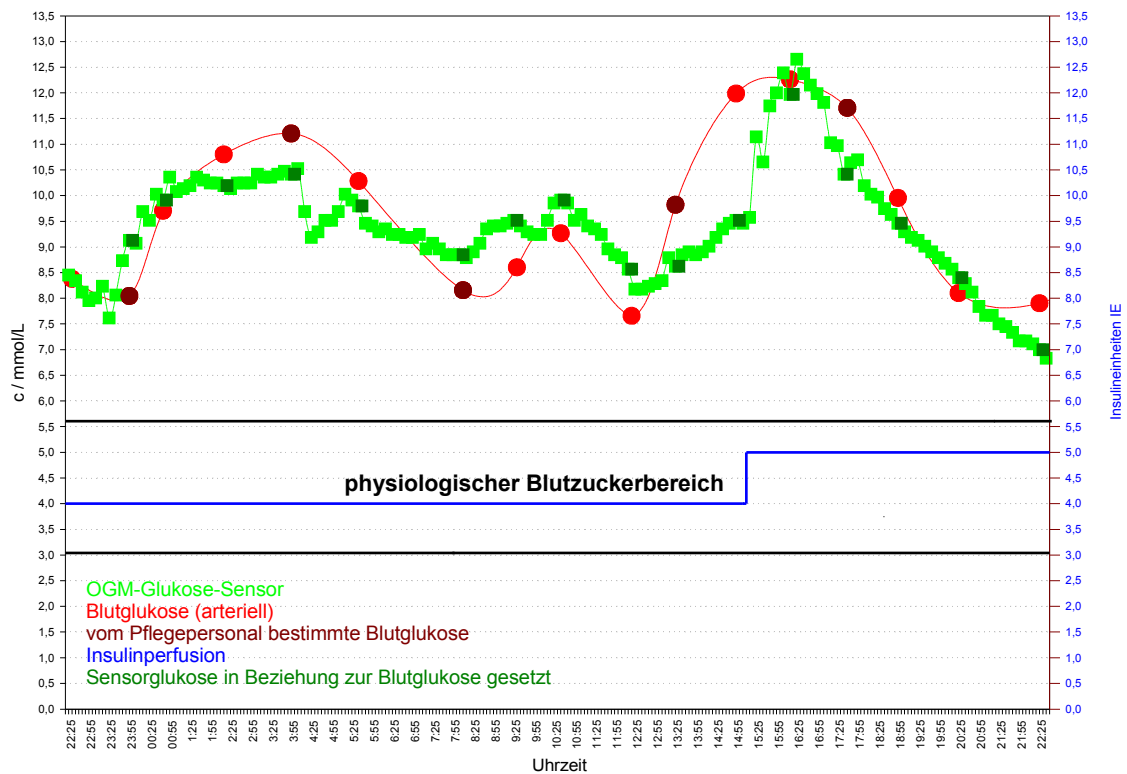


Abbildung 5.1.b: In-vivo-Versuch 5 mit Angabe der physiologischen Blutzuckergrenzen

Die Insulintherapie erfolgte nach dem vom Pflegepersonal bestimmten Blutglukosewerten (in der Abbildung 5.1.b als dunkelrote Punkte dargestellt). Für die erfolgreiche Durchführung einer intensivierten Insulintherapie ist die kontinuierliche Blutzuckermessung mit Alarmfunktion wünschenswert.

Trotz der geringen Patientenanzahl demonstrierten diese Experimente eine gute Genauigkeit des neu entwickelten subkutanen Glukose-Messgerätes.

Weiterhin konnte auch die klinische Relevanz der online Glukosemessung bei kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation beispielhaft gezeigt werden.

Die folgenden Vergleiche sind rein deskriptiv !

Patientenkollektiv: Diabetiker versus Intensivpatienten

Beim Patientenkollektiv der intensivpflichtigen Patienten konnten etwas bessere Messergebnisse erzielt werden als bei den Typ1-Diabetikern. Mögliche Vorteile bezüglich der guten Resultate im Gegensatz zum Diabetikerkollektiv sind:

- der eingesetzte Dickschicht-Glukosesensor, der industriell gefertigt wird (keine Handarbeit) und keine Sensorsignal-limitierenden Schichten enthält
- keine erforderliche Temperaturkompensation, da auf der Intensivstation annähernd stabile Umgebungstemperaturen vorlagen
- der abdominale Messort, der gegebenenfalls eine bessere Stabilität der Fettgewebsdurchblutung bietet als ein peripherer Katheter-Implantationsort
- eventuell patientenbedingt stabilere Glukosekonzentrationen, bezogen auf Schwankungen der Glukosekonzentrationen in einem bestimmten Zeitfenster.

Messort: Unterarm versus Abdomen

In der Doktorarbeit von Thomas (1996) konnte gezeigt werden, dass der Unterarm als Messort für ein Glukose-Messsystem besser geeignet war als das Abdomen. Dabei zeigte Thomas zwar eine ähnliche Wiederfindung zwischen Plasmaglukose und subkutaner Glukosekonzentration am Unterarm und Bauch, aber die Streuungen der gesammelten Fraktionen waren am Unterarm zum Teil signifikant niedriger als am Abdomen.

Bei der Messung am Unterarm sind, wie die Versuche zeigen, gegebenenfalls zeitliche Verzögerungen bezüglich der Blut- und Sensorglukose zwischen 10- und 15 Minuten zu berücksichtigen. Bei Messungen am Abdomen konnten diese Beobachtungen sich nicht signifikant zeigen. Der Grund hierfür besteht wahrscheinlich in der unterschiedlichen Durchblutung oder auf regionale Unterschiede in der Glukoseutilisation. Zum Beispiel beobachteten Hagström et al. (1990) regionale Unterschiede zwischen abdominalem und glutealem Fettgewebe. Vielleicht lassen sich die Unterschiede auch durch unterschiedliche Funktionen des Fettgewebes erklären. Zum Beispiel fungiert beim Mann das abdominale Fettgewebe durch die androgene Fettverteilung als Fettdepot. Da das Fettgewebe am Unterarm nicht als primäres Fettdepot anzusehen ist, könnte hier unter Umständen eine andere Utilisierung und Metabolisierung der Glukose stattfinden.

Glukosesensor: Membran versus Dickschicht

Mit den Membran-Glukosesensoren, die beim Patientenkollektiv der Typ1-Diabetiker zum Einsatz kamen, wurden eher nur befriedigende bzw. hinreichende Ergebnisse erreicht. Eine Ursache könnte in der geringeren Sensitivität bezüglich

des generierten Differenz-Sensorstromes (zwischen 0- und 3nA je nach Glukosekonzentration und Temperatur) liegen. Diese wurden sich durch die zusätzlich eingebrachte Teflonschicht erkaufte, um die Elektroden-Inaktivierung durch interferierende Substanzen zu verhindern (Linke et al., 1999; Thomas et al., 1998). Aber auch die handgefertigte Herstellung des Membran-Glukosesensors bezüglich der Katalasebeschichtung als subjektive Fehlerquelle könnten sich nachteilig auf die Messfunktion ausgewirkt haben. Der industriell hergestellte Dickschicht-Glukosesensor, der beim Kollektiv der Intensivpatienten verwendet wurde, zeigte Sensitivitäten zwischen 3- und 50nA (Differenzstrom) je nach Glukosekonzentration und Temperatur.

Eine subjektive Fehlerquelle in der Herstellung des industriell gefertigten Dickschicht-Glukosesensors ist eher unwahrscheinlich. Zukünftig sollte der Einsatz des Dickschicht-Glukosesensors gegenüber dem handgefertigten Membran-Glukosesensor bevorzugt werden.

Handhabung und Funktionssicherheit des Glukose-Messsystems

Der Einsatz des neu entwickelten Glukose-Messsystems bezüglich Handhabung und Funktionssicherheit hat sich in beiden Patientenkollektiven bewährt.

Komplikationen hinsichtlich Infektion, Hämatom und Wundheilungsstörung am Ort der Katheterimplantation wurden an keinem der Patienten beobachtet.

Im Patientenkollektiv der Typ1-Diabetiker fühlte sich keiner der Patienten durch das Glukose-Messsystem im Alltag beeinträchtigt.

Wichtig beim Anlegen des Glukose-Messsystems am Patienten ist die Beachtung der sicheren Geräte-Fixierung, um eine Positionsänderung und somit mögliche Katheterschlauch-Diskonnektionen zu verhindern.

6 Zusammenfassung

Durch den Einsatz der intensivierten Insulintherapie bei Diabetikern und neuerdings bei schwer kranken intensivpflichtigen Patienten sind regelmäßige manuelle Blutzucker-Kontrollmessungen erforderlich. Mit Hilfe eines automatischen Glukosemess- und Überwachungssystems, welches körpernah vom Patienten getragen wird, können deutliche Verbesserungen in der Stoffwechselführung realisiert werden.

Dazu wurden zwei Biosensor-Systeme zur kontinuierlichen subkutanen Glukosebestimmung miteinander verglichen. Zum Einsatz kommt die pulsatile Mikrodialyse mit nach geschalteter Durchfluss-Glukosemessung. Eine integrierte Mikropumpe perfundiert den im Unterhautfettgewebe befindlichen Mikrodialysekatheter. Das gewonnene glukosehaltige Dialysat wird auf den extrakorporal angeordneten Glukosesensor diskontinuierlich (pulsatil) gepumpt und messtechnisch ausgewertet. Das eine System bedient sich eines Glukoseoxidase-Enzymsensors in konventioneller Membran-Elektrodenkombination, während das zweite System einen Glukoseoxidase-Dickschichtsensor nutzt. Die beiden Messsysteme wurden über 24 Stunden an acht Typ1-Diabetikern mit dem Membransensor und acht schwerkranken internistischen Intensivpatienten mit dem Dickschichtsensor untersucht. Innerhalb der 24-Stunden-Versuchszeit wurden in regelmäßigen Abständen (< 2 Stunden) Blut-Referenzwerte gebildet (Blutentnahme und Bestimmung mit Standard-Labormethoden).

Mit diesen sicheren Blutglukosewerten konnte die Messgenauigkeit der automatischen Sensorsysteme wie folgt evaluiert werden:

- Der Membransensor im Diabetikerkollektiv zeigte eine ausreichende Übereinstimmung mit den kapillaren Referenz-Glukosewerten → prozentuale Abweichung der Sensor- zu den Referenzwerten $16,9 \pm 15,3\%$ (Glukosebandbreite von $7,0 \pm 2,3$ mmol/L)
- Der Dickschichtsensor zeigte im Kollektiv der Intensivpatienten eine gute Übereinstimmung mit den arteriellen Referenz-Glukosewerten → prozentuale Abweichung der Sensor- zu den Referenzwerten $9,2 \pm 7,1\%$ (Glukosebandbreite von $7,5 \pm 1,9$ mmol/L)

Durch eine Messung mittels eines patientennahen Glukosesensors ist eine kontinuierliche Überwachung des interstitiellen Glukosespiegels komplikationslos mit hinreichender Genauigkeit bei Einsatz von Dickschichtsensoren und pulsatilem Mikrodialyse möglich und sollte zukünftig im Routinebetrieb evaluiert werden.

Weiterhin konnte die klinische Relevanz der online Glukosemessung nicht nur bei Typ1-Diabetikern, sondern auch bei kritisch kranken Patienten auf der Intensivstation deutlich dargestellt werden.

7 Glossar

Äquibrierung = Konzentrationsausgleich zwischen dem Perfusat und dem umgebenem Medium

Dialysat = der Teil der Perfusionsflüssigkeit, der mit dem Interstitium des subkutanen Fettgewebes bzw. der Glukose-Standardlösung in Kontakt getreten ist

Diffusion = passiver Transportprozess, von einem Ort hoher Konzentration zu einem Ort niedriger Konzentration

Kalibrierung = Abgleich von Messgeräten mit vorgegebenen Standards in regelmäßigen Abständen durch den Anwender

Mikrodialyse = Verfahren zur Bestimmung von Stoffkonzentrationen, mit dem durch Diffusion über eine semipermeable Membran Moleküle aus dem Gewebe entfernt bzw. in das Gewebe appliziert werden können, wobei die Funktion einer Kapillare simuliert wird, indem ein Mikrodialyse-Katheter langsam perfundiert wird

online = direkte bzw. unmittelbare Datenübertragung

Perfusat = der Teil der Perfusionsflüssigkeit, der noch nicht mit dem umgebenen Medium in Kontakt gestanden hat

Sensitivität = normierte Auflösung des Messsystems für eine bestimmte Substanz, Angabe in nA/mmol/L

Wiederfindung = Verhältnis zwischen der Konzentration einer bestimmten Substanz im Dialysat und der Konzentration der gleichen Substanz in dem den Mikrodialyse-Katheter umgebenen Medium

I M I ± S = Mittelwert ± Standardabweichung

IE = Insulin-Einheiten

BE = Brot-Einheiten

n = Anzahl

D = Differenzstrom (Strommaximum-Stromminimum)

G = Glukose

8 Literaturverzeichnis

Aalders AL, Schmidt FJ, Schoonen AJ, Broek IR, Maessen AG, Doorenbos H: Development of a wearable glucose sensor; studies in healthy volunteers and in diabetic patients, *Int J Artif Organs* 14, 102-108 (1991)

Arner P, Bolinder J: Microdialysis of adipose tissue, *J Intern Med* 230, 381-386 (1991)

Aussedat B, Dupire-Angel M, Giffort R, Klein JC, Wilson GS, Reach G: Interstitial glucose concentration and glycemia: implications for continuous subcutaneous glucose monitoring, *Am J Physiol Endocrinol Metab* 278, E716-E728 (2000)

Baumeister FA, Rolinski B, Busch R, Emmrich P: Glucose monitoring with long-term subcutaneous microdialysis in neonates, *Pediatrics* 108, 1187-1192 (2001)

Benviste H: Brain microdialysis, *J. Neurochem* 52, 1667-1679 (1989)

Bolinder J, Hagstöm E, Ungerstedt U, Arner P: Microdialysis of subcutaneous adipose tissue in vivo for continuous glucose monitoring in man, *Scand J Clin Lab Invest* 49, 465-474 (1989)

Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P: Microdialyses measurement of the absolute glucose concentration in subcutaneous adipose tissue allowing glucose monitoring in diabetic patients, *Diabetologia* 35, 1177-1180 (1992)

Bolinder J, Hagström-Toft E, Ungerstedt U, Arner P: Self-monitoring of blood glucose in type 1 diabetic patients: comparison with continuous microdialysis measurements of glucose in subcutaneous adipose tissue during ordinary life conditions, *Diabetes Care* 20, 64-70 (1997)

Boyne MS, Silver DM, Kaplan J, Saudek CD: Timing of changes in interstitial and venous blood glucose measured with a continuous subcutaneous glucose sensor, *Diabetes* 52, 2790-2794 (2003)

Bruchmann E: Angewandte Biochemie, Allgemeines zur Enzymchemie, 43-52, Verlag Eugen, Ulmer-Stuttgart, 1977

Capes SE, Hunt D, Malmberg K, Gerstein HC: Stress hyperglycemia and increased risk of death after myocardial infarction in patients with and without diabetes: a systematic overview, *Lancet* 355, 773-778 (2000)

Cely CM, Arora P, Quartin AA, Kett DH, Schein RMH: Relationship of baseline glucose homeostasis to hyperglycemia during medical critical illness, *Chest* 126, 879-887 (2004)

Chee F, Fernando T, van Heerden PV: Closed-loop control of blood glucose levels in critically ill patients, *Anaesth Intensive Care (Australia)* 30 (3), 295-307 (2002)

Clarke WL, Cox D, Gonder-Frederick L, Carter W, Pohl S: Evaluation clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 10, 622-628 (1987)

Clement S, Braithwaite SS, Magee MF: Management of diabetes and hyperglycemia in hospitals, *Diabetes Care* 27, 553-591 (2004)

Cryer P, Binder C, Cherrington A, Gale E, Gerich JE, Sherwin R: Hypoglycemia in IDDM, *Diabetes* 38, 1193-119 (1989)

The Diabetes Control and Complications Trial Research Group (DCCT): The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus, *N Engl J of Med* 329, 977-986 (1993);

Effect of intensive diabetes management on macrovascular events and risk factors in the Diabetes Control and Complications Trial, *Am J Cardiol (United States)* 75, 894-903 (1995);

Effect of intensive therapy on the development and progression of diabetic nephropathy in the Diabetes Control and Complications Trial, *Kidney Int (United States)* 47, 1703-1720 (1995);

The relationship of glycemic exposure (HbA1c) to the risk of development and progression of retinopathy in the diabetes control and complications trial, Diabetes (United States), Aug 1995, 44: 968-983 (1995)

Deibert DC, DeFronzo RA: Epinephrine-induced insulin resistance in man, J Clin Invest 65, 717-721 (1980)

Evans TW: Hemodynamic and metabolic therapy in critically ill patients, N Engl J Med 345, 1417-1418 (2001)

Fanelli C, Pampanelli S, Lalli C, Del Sindaco P, Ciofetta M, Lepore M, Porcellati F, Bottini P, Di Vincenzo A, Brunetti P, Bolli GB: Long-term intensive therapy of IDDM patients with clinically overt autonomic neuropathy: effects on hypoglycemia awareness and counterregulation, Diabetes (United States) 46, 1172-1181 (1997)

Feldmann B, Brazg R, Schwartz S, Weinstein R: A Continuous Glucose Sensor Based on Wired Enzyme Technology – Results from a 3-Day Trial in Patients with Type 1 Diabetes, Diabetes technology & therapeutics 5 (5), 769-779 (2003)

Flechtner-Mors M, Jenkinson CP, Alt A, Biesalski HK, Adler G, Ditschuneit HH: Sympathetic regulation of glucose uptake by the alpha1-adrenoceptor in human obesity, Obes Res (United States) 12 (4), 612-620 (2004)

Furnary AP, Zerr KJ, Grunkemeier GL, Starr A: Continuous intravenous insulin infusion reduces the incidence of deep sternal wound infection in diabetic patients after cardiac surgical procedures, Ann Thor Surg 67, 352-362 (1999)

Furnary AP, Gao G, Grunkemeier GL: Continuous insulin infusion reduces undergoing coronary artery bypass grafting, J Thorac Cardiovasc Surg 125, 1007-1021 (2003)

Garg SK, Russel OP, Neil RA, Fermi SJ, Tamada JA, Chase HP: Correlation of fingerstick blood glucose measurements with GlucoWatch biographer glucose results in young subjects with type 1 diabetes, Diabetes Care 22, 1708-1714 (1999)

Gerich JE, Mogan M, Veneman T, Korytkowski M, Mitrakou A: Hypoglycemia unawareness, *Endocr Rev* 12, 356-371 (1991)

Gerritsen M, Jansen JA, Kros A, Nolte RJ, Luttermann JA: Performance of subcutaneously implanted glucose sensors: a review, *J Invest Surg* 11, 163-174 (1998)

Gerritsen M, Jansen JA, Luttermann JA: Performance of subcutaneously implanted glucose sensors for continuous monitoring, *Neth J Med* 54, 167-179 (1999)

Goldberg PA, Siegel MD, Russell RR, Sherwin RS, Halickman JI, Cooper DA, Dziura JD, Inzucchi SE: Experience with the continuous glucose monitoring system in a medical intensive care unit, *Diabetes Technol Ther (United States)* 6 (3), 339-347 (2004)

Gough D, Armour J: Development of the implantable glucose sensor, *Diabetes* 44, 1005-1010 (1995)

Gross TM, Mastrototaro JJ, Fredrickson LP: Detection of unseen hypoglycaemia using continuous glucose monitoring (Abstract), *Diabetologia* 43, A5 (2000)

Hagström E, Arner P, Bolinder J, Rössner S: In vivo subcutaneous adipose tissue glucose kinetics after glucose ingestion in obesity and fasting, *Scand J Clin Lab Invest* 50, 129-136 (1990)

Hansen TK, Thiel S, Wouters PJ, Christiansen JS, and Van den Berghe G: Intensive insulin therapy exerts antiinflammatory effects in critically ill patients and counteracts the adverse effect of low mannose-binding lectin levels, *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 88, 1082-1088 (2003)

Hutchinson PJ, O'Connell MT, Maskell LB, Pickard JD: Monitoring by subcutaneous microdialysis in neurosurgical intensive care, *Acta Neurochir Suppl* 75, 57-59 (1999)

Hutchinson PJ, O'Connell MT, Al-Rawi PG, Maskell LB, Kett-White R, Gupta AK, Richards HK, Hutchinson DB, Kirkpatrick PJ, Pickard JD: Clinical cerebral microdialysis: a methodological study, *J Neurosurg* 93, 37-43 (2000)

Jamerson KA, Julius S, Gudbrandsson T, Andersson O, Brant DO: Reflex sympathetic activation induces acute insulin resistance in the human forearm, *Hypertension* 21 (5), 618-623 (1993)

Jansson PA, Fowelin J, Smith U, Lonnroth P : Characterization by microdialysis of intercellular glucose level in subcutaneous tissue in humans, *Am J Physiol* 255, E218-E220 (1988)

Jungheim K, Wientjes KJ, Heinemann L, Lodwig V, Koschinsky T, Schoonen AJ: Subcutaneous continuous glucose monitoring: feasibility of a new microdialysis-based glucose sensor system, *Diabetes Care (United States)* 24 (9), 1696-1697 (2001)

Kapitza C, Lodwig V, Obermaier K, Wientjes KJ, Hoogenberg K, Jungheim K, Heinemann L, Glucose Monitoring Study Group: Continuous Glucose Monitoring: Reliable Measurements for up to 4 Days with the SCGM1 System, *Diabetes technology & therapeutics* 5 (4), 609-614 (2003)

Kerner W, Kiwit M, Linke B, Keck F, Zier H, Pfeiffer E: The funktion of a hydrogen peroxide-detecting electroenzymatic glucose electrode is markedly impaired in human subcutaneous tissue and plasma, *Biosens Bioelectron* 8, 473-482 (1993)

Kerner W: Verfahren zur Langzeitbestimmung des Gehaltes von mindestens einer Substanz in Körperflüssigkeiten, German Patent, DE 4426694 (1995)

Kerner W: Implantable glucose sensors: Present status and future developments, *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 109 (2), 341-346 (2001)

Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE: APACHE II: a severity of disease classification system, *Crit Care Med* 13, 818-829 (1985)

Krinsley JS: Effect of an intensive glucose management protocol on the mortality of critically ill adult patients, Mayo Clin. Proc. 79, 992-1000 (2004)

Kulcu E, Tamada JA, Reach G, Potts RO, Lesho MJ: Physiological differences between interstitial glucose and blood glucose measured in human subjects, Diabetes Care (United States) 26 (8), 2405-2409 (2003)

Landolt H, Langemann H, Mendelowitsch A, Gratzl O: Neurochemical monitoring and on-line pH measurements using brain microdialysis in patients in intensive care, Acta Neurochir 60, 475-478 (1994)

Langouche L, Vanhorebeek I, Vlasselaers D: Intensive insulin therapy protects the endothelium of critically ill patients, J Clin Invest 115, 2277-2286 (2005)

Linke B, Kiwit M, Thomas K, Krahwinkel M, Kerner W : Prevention of the decrease in sensitivity of an amperometric glucose sensor in undiluted human serum, Clinical Chemistry 45, 283-285 (1999)

Lonnroth P, Jansson P, Smith U: A microdialyses methods allowing characterization of intercellular water space in humans, Am J Physiol. 253 (2 Pt 1), E228-E231 (1987)

Lourido J, Ederoth P, Sundvall N, Ungerstedt U, Nordström CH: Correlation between blood glucose concentration and glucose concentration in subcutaneous adipose tissue evaluated with microdialysis during intensive care, Scand J Clin Lab Invest 62, 285-292 (2002)

Lutgers HL, Hullegie LM, Hoogenberg K, Sluiter WJ, Dullaart RP, Wientjes KJ, Schoonen AJ: Microdialysis measurement of glucose in subcutaneous adipose tissue up to three weeks in type 1 diabetic patients, Neth J Med 57, 7-12 (2000)

Malmberg K, Ryden L, Efendic S, Herlitz J, Nicol P, Waldenstrom A, Wedel H, Welin L, DIGAMI Study Group: Randomized trial of insulin-glucose infusion followed by subcutaneous insulin treatment in diabetic patients with acute myocardial

infarction (DIGAMI study): effects on mortality at 1 year, J Am Coll Cardiol 26(1), 57-65 (1995)

Malmberg K, Ryden L, Wedel H, Birkeland K, Bootsma A, Dickstein K, Efendic S, Fisher M, Hamsten A, Herlitz J, Hildebrandt P, MacLeod K, Laakso M, Torp-Pedersen C, Waldenstrom A: Intense metabolic control by means of insuline in patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction (DIGAMI 2): effects on mortality and morbidity, Eur Heart J 26(7), 650-661 (2005)

Maran A, Crepaldi C, Tiengo A, Grassi G, Vitali E, Pagano G, Bistoni S, Calabrese G, Santeusano F, Leonetti F, Ribaudo M, Di Mario U, Annuzzi G, Genovese S, Riccardi G, Previti M, Cucinotta D, Giorgino F, Bellomo A, Giorgino R, Poscia A, Varalli M: Continuous subcutaneous glucose monitoring in diabetic patients: a multicenter analysis, Diabetes Care 25, 347-352 (2002)

Mastrototaro J: The MiniMed continuous glucose monitoring system (CGMS), J Pediatr Endocrinol Metab 12 (3); 751-758 (1999)

Mc Cowen KC, Malhorta A, Bistran BR: Stress-induced hyperglycemia, Crit care Clin 17(1), 107-124 (2001)

Mizock BA: Alterations in carbohydrate metabolism during stress: a review of the literature, Am J Med 98, 75-84 (1995)

Meyer G, Badenhoop K: Glucocorticoid-induced insulin resistance and diabetes mellitus. Receptor-, postreceptor mechanisms, local cortisol action, and new aspects of antidiabetic therapy, Med Klin (Munich) 98(5), 266-270 (2003)

Meyerhoff C, Bischof F, Sternberg F, Zier H, Pfeiffer EF: On line continuous monitoring of subcutaneous tissue glucose in men by combining portable glucosesensor with microdialysis, Diabetologia 35, 1087-1092 (1992)

Moatti-Sirat D, Capron F, Poitout V, Reach G, Bindra D, Zhang Y, Wilson G, Thevenot D : Towards continuous glucose monitoring : in vivo evaluation of a

miniaturized glucose sensor implanted for several days in rat subcontinuous tissue, *Diabetologia* 35, 225-230 (1992)

Montori VM, Bistrian BR , McMahon MM: Hyperglycemia in acutely ill patients, *JAMA* 288, 2167-2169 (2002)

Nielsen PS, Winge K, Petersen LM: Microdialysis. A method for measurement of local tissue metabolism, *Divisionen for Klinisk og Eksperimentel Mikrodialyse* 161(12), 1735-1738 (1999)

Nielsen JK, Djurhuus CB, Gravholt CH, Carus AC, Granild-Jensen J, Orskov H, Christiansen JS: Continuous glucose monitoring in interstitial subcutaneous adipose tissue and skeletal muscle reflects excursions in cerebral cortex, *Diabetes* 54(6), 1635-1639 (2005)

O'Neill PA, Davies I, Fullerton KJ, Bennett D: Stress hormone and blood glucose response following acute stroke in the elderly, *Stroke* 22(7), 842-847 (1991)

Pickup J, Claremont D, Shaw G: Responses and calibration of amperometric glucose sensors implanted in the subcutaneous tissue of man, *Acta Diabetol* 39, 143-148 (1993)

Pitzer KR, Desai S, Dunn T, Edelman S, Jayalakshmi Y, Kennedy J, Tamada JA, Potts RO: Detection of hypoglycemia with the GlucoWatch Biographer, *Diabetes Care* 24, 881-885 (2001)

Rao O, Glikfeld P, Guy RM: Reverse ionophoresis: development of a non invasive approach for glucose monitoring, *Pharm Res* 10, 1751-1755 (1993)

Raskin P: Diabetic regulation and its relationship to microangiopathy, *Metabolism* 27, 235-252 (1978)

Rebrin K, Steil GM, van Antwerp WP, Mastrototaro JJ: Subcutaneous glucose predicts plasma glucose independent of insulin: implications for continuous monitoring, *Am J Physiol* 277, E561-E571 (1999)

Reinstrup P, Stahl N, Møllgaard P, Uski T, Ungerstedt U, Nordström CH: Intracerebral microdialysis in clinical practice: baseline values for chemical markers during wakefulness, anesthesia, and neurosurgery, *Neurosurgery* 47(3), 709-710 (2000)

Roe JN, Smoller BR: Bloodless glucose measurements, *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst* 15, 199-241 (1998)

Rosdahl H, Ungerstedt U, Jørfeldt L, Henriksson J: Interstitiell Glucose and lactate balance in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis, *J Physiol* 471, 637-657 (1993)

Rosdahl H, Hamrin K, Ungerstedt U, Henriksson J: Metabolite levels in human skeletal muscle and adipose tissue studied with microdialysis at low perfusion flow, *Am J Physiol* 274 (Endocrinol Metab 37), E936-E945 (1998)

Ross H, Bernstein G, Rifkin H: Relationship of metabolic control of diabetes mellitus to long-term complication, In: Ellenberg M. und Rifkin H. (Herausgabe): *Diabetes mellitus, theory and practice*, Medical Examination Publishing Co., Inc., New York, 907-926 (1983)

Sadetzki T: Technische- und klinische Prüfung des On-line Glukose-Monitorings, Diplomarbeit, Fachhochschule Lübeck (1998)

Scheller F, Schubert F, Pfeiffer D: Enzym- und Zellsensoren-Anwendungen, Trends und Perspektiven, *Spektrum der Wissenschaft* 9, 99-112 (1992)

Schmidt FJ, Sluiter W, Schoonen A: Glucose concentration in subcutaneous extracellular space, *Diabetes Care* 16, 695-700 (1993)

Schoemaker M, Andreis E, Roper J, Kotulla R, Lodwig V, Obermaier K, Stephan P, Reuschling W, Rutschmann M, Schwaninger R, Wittmann U, Rinne H, Kontschieder H, Strohmeier W: The SCGM1 System: subcutaneous continuous glucose monitoring based on microdialysis technique, *Diabetes Technol Ther* 5, 599-603 (2003)

Schwechheimer L: Weiterentwicklung und Vermessung eines Glukosesensors für den Einsatz in der pulsatilen Mikrodialyse, Diplomarbeit, Fachhochschule Lübeck (1997)

Scott JF, Robinson GM, French JM, O`Connell JE, Alberti KG, Gray CS: Glucose potassium insulin infusions in the treatment of acute stroke patients with mild to moderate hyperglycemia: the Glucose Insulin in Stroke Trial (GIST), *Stroke* 30(4), 793-799 (1999)

Shangraw RE, Jahoor F, Miyoshi H, Neff WA, Stuart CA, Herndon DN, Wolfe RR: Differentiation between septic and postburn insulin resistance, *Metabolism* 38, 983-989 (1989)

Sternberg F, Meyerhff G, Mennel F, Hoß U, Mayer H, Bischof F, Pfeiffer E: Calibrations problems of subcutaneous glucosesensors when applied "in-situ" in man, *Horm metab Res* 26, 523-525 (1994)

Sternberg F, Meyerhoff C, Mennel FJ, Bischof F, Pfeiffer EF,: Subcutaneous glucose concentration in humans, Real estimation and continuous monitoring, *Diabetes Care* 18, 1266-1269 (1995)

Summes LK, Clark ML, Humphreys SM, Bugler J, Frayn KN: The use of microdialysis to monitor rapid changes in glucose concentration, *Horm Metab Res* 31, 424-428 (1999)

Takala J, Ruokonen E, Webster NR, Nielsen MS, Zandstra DF, Vundelinckx G, Hinds CJ : Increased mortality associated with growth hormone treatment in critically ill adults, *N Engl J Med* 341, 785-792, 1999

Tamada JA, Garg S, Jovanovic L, Pitzer KR, Fermi S, Potts RO: Noninvasive glucose monitoring: comprehensive clinical results, JAMA (United States) 282 (19), 1839-1844 (1999)

Tchobroutsky G: Metabolic control and diabetic complications, In: Brownlee M. (Herausgabe): Handbooc of Diabetes mellitus, Vol 5, Garland STPM Press, New York, London, 3-39 (1981)

Thomas K: On-line in vivo-Glukose-Messung im subkutanen Fettgewebe am Menschen mit pulsatiler Mikrodialyse, Medizinische Dissertation, Lübeck, 1996

Thomas K, Kiwit M, Kerner W: Glucose concentration in human subcutaneous adipose tissue: comparison between forearm and abdomen, Exp Clin Endocrinol Diabetes 106, 465-469 (1998)

Thorell A, Nygren J, and Ljungqvist O: Insulin resistance: a marker of surgical stress, Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care 21, 69-78 (1999)

Trajanoski Z, Brunner GA, Schaupp L, Ellmerer M, Wach P, Pieber TR, Kotanko P, Skrabal F: Open-flow microperfusion of subcutaneous adipose tissue for on-line continuous ex vivo measurement of glucose concentration, Diabetes Care 20, 1114-1121 (1997)

Turner A, Pickup J: Diabetes mellitus: Biosensors for research and management, Biosensors 1, 85-115 (1985)

United Kingdom Prospective Diabetes Study Group (UKPDS): Intensive bloodglucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). Lancet 352, 837-853 (1998)

Ungerstedt U, Pycock CH: Functional correlates of dopamine neurotransmission, Bull Schweiz Acad Med Wiss 1278, 1-5 (1974)

Ungerstedt U: Microdialysis principles and application for studies in animal and man, J Intern Med 230, 365-373 (1991)

Ungerstedt U: Microdialysis – a new bioanalytical sampling technique, Curr Separations 7, 43-46 (1986)

Vaidya R, Wilkins E: Application of polytetrafluoroethylene (PTFE) membranes to control interference effects in a glucose biosensor, Biomed Instr Technol 27, 486-494 (1993)

Vaidya R, Wilkins E: Use of charged membranes to control interference by body chemicals in a glucose biosensor, Med Eng Phys 16, 416-421 (1994)

Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Mohan S, Baxter RC, Veldhuis JD, Bowers CY, Bouillon R: Reactivation of pituitary hormone release and metabolic improvement by infusion of growth hormone-releasing peptide and thyrotropin-releasing hormone in patients with protracted critical illness, J. Clin. Endocrinol. Metab. 84, 1311-1323 (1999)

Van den Berghe G, Baxter RC, Weekers F, Wouters P, Bowers CY, Veldhuis JD: A paradoxical gender dissociation within the growth hormone/insulin-like growth factor I axis during protracted critical illness, J. Clin. Endocrinol. Metab. 85, 183-192 (2000)

Van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, Verwaest C, Bruyninckx F, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P, Bouillon R: Intensive Insulin Therapy In Critically Ill Patients, N Engl J Med, Volume 345, Number 19, 1359-1367 (2001)

Van den Berghe G, Wouters PJ, Bouillon R, Weekers F, Verwaest C, Schetz M, Vlasselaers D, Ferdinande P, Lauwers P: Outcome benefit of intensive insulin therapy in the critically ill: Insulin dose versus glycemic control, Crit Care Med, Volume 31, 359-366 (2003)

Van den Berghe G: How does blood glucose control with insulin save lives in intensive care?, J. Clin. Invest. 114, 1187-1195 (2004)

Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, Meersseman W, Wouters P, Milants I, Van Wijngaerden E, Bobbaers H, Bouillon R: Intensive Insulin Therapy in the Medical ICU, The New England Journal of Medicine, Volume 354, Number 5, 449-461 (2006)

Vanhorebeek I, De Vos R, Mesotten M, Wouters PJ, De Wolf-Peeters C, Van den Berghe G: Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in critically ill patients, Lancet 365, 53-59 (2005)

Varalli M, Marelli G, Maran A, Bistoni S, Luzzana M, Cremonesi P, Caramenti G, Valgimigli F, Poscia A: A microdialysis technique for continuous subcutaneous glucose monitorino in diabetic patients (part 2), Biosensors and Bioelectronics 18 (7), 899-905 (2003)

Weekers F, Gilulietti AP, Michalaki M: Metabolic, endocrine, and immune effects of stress hyperglycemia in a rabbit model of prolonged critical illness, Endocrinology 144, 5329-5338 (2003)

Wientjes KJ, Vonk P, Vonk-van Klei Y, Schoonen AJ, Kossen NW: Microdialysis of glucose in subcutaneous adipose tissue up to 3 weeks in healthy volunteers, Diabetes Care 21, 1481-1488 (1998)

Wientjes KJ, Schoonen AJ: Determination of time delay between blood and interstitial adipose tissue glucose concentration change by microdialysis in healthy volunteers, Int J Artif Organs (Italy) 24 (12), 884-889 (2001)

Wisniewsky N, Moussy F, Reichert WM: Characterization of implantable biosensor membrane biofouling, Fresenius J Anal Chem 366, 611-621 (2000)

Wolfe RR, Herndon DN, Jahoor F, Miyoshi H, Wolfe M: Effect of severe burn injury on substrate cycling by glucose and fatty acids, N Engl J Med 317, 403-408 (1987)

Zerr KJ, Furnary AP, Grunkemeier GL, Bookin S, Kanhere V, Starr A: Glucose control lowers the risk of wound infection in diabetes after open heart operation, Ann Thor Surg 63, 356-361 (1997)

Zimmet P, Hodge A, Nicolson M, Staten M, de Courten M, Moore J, Morawiecki A, Lubina J, Collier G, Alberti G, Dowse G: Serum leptin concentration, obesity, and insulin resistance in Western Samoans: cross sectional study, BMJ 313 (7063), 965-969 (1996)

9 Anhang

Danksagung

Meinen besonderen Dank gilt Prof. Dr. med. Christoph Dodt für seine freundliche und geduldige Betreuung der Arbeit, seinen Ratschlägen und dem zur Verfügung gestellten Arbeitsplatz und den Materialien.

Ich danke Herrn Dipl.-Ing. Martin Krahwinkel für die Bereitstellung des Glukose-Messsystems und Materialien, aber auch für seine ständige Ansprechbarkeit und Hilfe vor allem in technischen Fragen.

Frau Dr. med. Silke Heindl danke ich für die Motivierung diese Arbeit zu vollenden, aber auch für Ratschläge zur Anfertigung der Doktorarbeit.

Herrn Dipl.-Ing. Klaus Kröger, Herrn Dipl.-Ing. Georg Faltenhauer und dem Pflegepersonal auf der Intensivstation danke ich für die nette und hilfreiche Zusammenarbeit.

Lebenslauf

Name	Torsten Sadetzki
13.1.1973	geboren in Berlin
1979.1989	Polytechnische Oberschule in Schwerin
1989.1992	Berufsausbildung zum Maschinen- und Anlagemonteur mit Abitur in Schwerin
1992-1993	Wehr- und Zivildienst (Altenpflege)
1993-1994	Tätigkeit im Altenpflegebereich „Augustenstift“ in Schwerin als Altenpflegehelfer
1994.1998	Studium zum Medizintechniker (Diplom-Ingenieur) an der Fachhochschule zu Lübeck Nebenjob: Altenpflege in Schwerin
1998.2004	Studium der Medizin an der Medizinischen Universität zu Lübeck (11/2004 Approbation) Anfertigung der Dissertation Nebenjobs: Altenpflege in Schwerin Extrawache in Lübeck Projektarbeit „Glukose-Monitoring“
2005	Elternzeit, Nebenjobs
2006	Arzt in Weiterbildung für Innere und Allgemeinmedizin (HELIOS-Kliniken Schwerin)