

**Identifikation von Störgrößen und Entwicklung von Auswertemodellen für
die nichtinvasive Glucosemessung mit optischen Sensorarrays**

Der Fakultät für Chemie und Physik
der Technischen Universität Bergakademie Freiberg

genehmigte

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades
doctor rerum naturalium

Dr. rer. nat.
vorgelegt

von Diplom-Chemiker Hans-Martin Klötzer
geboren am 22.04.1966 in Limbach-Oberfrohna

Gutachter: Prof. Dr. rer. nat. habil. M. Otto
Priv. Doz. Dr. rer. nat. habil. L. Heinemann
Dr.-Ing. M. Hein

Tag der Verleihung: 28.01.2000

An erster Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. rer. nat. habil. M. Otto und Herrn Dr. rer. nat. M. Hein für die interessante Aufgabenstellung, die Diskussion aller während der Umsetzung der Arbeit aufgetretenen Fragen, ihre Geduld sowie die jederzeit gewährte Unterstützung danken.

Bei meiner Familie bedanke ich mich ganz herzlich für die Unterstützung, den Rückhalt und das in mich gesetzte Vertrauen.

Mein weiterer Dank gilt den Mitgliedern der Arbeitsgruppen DMS und NI bei Roche Diagnostics. Sie haben mich immer mit ausreichend Daten, vielen nützlichen Hinweisen, unmöglichen Rechnerpannen, noch mehr Daten und aufmunternden Erklärungen für mehrdimensionale Phänomene versorgt.

Alle Freunde und Kollegen in Mannheim, Freiberg und Düsseldorf, die zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben, schließe ich in meinen Dank ein.

»Es ist eine meiner alten Maximen: was übrigbleibt, wenn man das Unmögliche ausgeschlossen hat, muß die Wahrheit sein, so unwahrscheinlich sie sich auch ausnehmen mag.«

Sir Arthur Conan Doyle

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung und Aufgabenstellung	1
2	Diabetes mellitus und Blutglucoseanalytik	3
2.1	Diabetes als Volkskrankheit	3
2.1.1	Krankheitsbild	3
2.1.2	Folgeerkrankungen	6
2.1.3	Notwendigkeit kontinuierlicher Messung	8
2.2	Glucosemeßverfahren	9
2.2.1	Invasive Messung	9
2.2.2	Minimal invasive Verfahren	11
2.2.3	Nichtinvasive Methoden	14
2.2.3.1	Optische Spektroskopie	15
2.2.3.2	Photoakustische Spektroskopie	17
2.2.3.3	Polarimetrie	18
2.2.4	Bewertung der Verfahren	18
3	Bestimmung von Glucose über Streueigenschaften der Haut	20
3.1	Aufbau der Haut	21
3.1.1	Epidermis	22
3.1.2	Dermis	23
3.1.3	Subcutis	24
3.2	Spektroskopie – Reflexionsmessungen	24
3.3	Diffusionstheorie als Modell der Lichtausbreitung in der Haut	27
3.4	Kalibrationsverfahren	30
3.4.1	Anforderungen an die Kalibration eines <i>in vivo</i> -Sensors	30
3.4.2	Lineare Kalibration	32
3.4.3	Hauptkomponentenregression	33
3.5	Ergebnisklassifikation unter medizinischen Aspekten	35
4	Meßtechnik und Auswerteprogramme	37
4.1	Faseroptisches Spektrometer nach PATTERSON	37
4.2	Sensorarray für die orts aufgelöste Messung der Reflexion	39
4.3	Software	43

5	Ergebnisse	46
5.1	Algorithmische und gerätetechnische Faktoren	46
5.1.1	Algorithmen zur Berechnung vom μ_a und μ'_s	47
5.1.2	Wellenlängenabhängigkeit der Modellparameter	51
5.1.3	Geforderte Genauigkeit und Fehlerabschätzung	53
5.1.4	Grenzfläche Sensor – Haut	55
5.1.5	Temperaturkompensation	60
5.2	Physiologische Einflüsse	63
5.2.1	Temperatur und Durchblutung	63
5.2.2	Schichtstruktur und Heterogenität der Haut	66
5.2.3	Rückwirkungen des Meßsystems auf den Meßort	68
5.2.4	Zyklische Variationen und Signaldrift	69
5.2.5	Auswirkungen von Bewegung und Druck	71
5.3	Experimente mit Variation von Glucose	74
5.3.1	Versuchsprotokoll – Vermeidung von Scheinkorrelation	74
5.3.2	Auswahl und Vorbehandlung der Daten	78
5.3.3	Kalibration basierend auf μ'_s -Änderungen	79
5.3.4	Kalibration mittels PCR und Reflexionsdaten	83
5.3.5	Vergleich der Verfahren und Kalibrationsstrategien	89
6	Zusammenfassung	95
7	Ausblick	98
8	Literaturverzeichnis	100
9	Anhang	105

1 Einleitung und Aufgabenstellung

Die chemische Sensorik umfaßt ein sehr weites Gebiet, das von der Spurenanalyse in hochreinen Werkstoffen bis zur Bestimmung des pH-Wertes in Käse reicht. Diese große Bandbreite führt zu einer starken interdisziplinären Kooperation, die sich in der vorliegenden Arbeit widerspiegelt. Hier gehen Physiologie, Physik, Chemometrie und Sensorik eng zusammen. Ziel war es, zur Entwicklung eines Sensors für die nichtinvasive Glucosebestimmung bei Diabetikern beizutragen. Die besondere Herausforderung besteht in der Spurenanalytik an einem lebenden Organ mit einem wenig spezifischen Signal. Die Motivation, sich dieser Aufgabe zu stellen, erwächst aus der Kenntnis der tiefen Einschnitte in das tägliche Leben, die der Diabetes mit sich bringt. Die Auswirkungen der Krankheit sind kaum zu überschätzen. Von den Patienten sind viel Selbstdisziplin und Einsicht gefordert, um mögliche, in einer relativ fernen Zukunft auftretende, Folgeerkrankungen zu minimieren. Ihr Ausmaß hängt stark von der Güte der langfristigen Blutzuckereinstellung ab [1]. Neben dem menschlichen Leid verursachen die Folgeschäden große volkswirtschaftliche Kosten. Diese Aufwendungen übertreffen die für eine intensivierete Insulintherapie notwendigen um ein Vielfaches [2]. Die erreichbare Qualität der Stoffwechselführung ist von der Häufigkeit der Glucosebestimmung abhängig. Die Entnahme von Kapillarblut aus der Fingerbeere hierzu wirkt limitierend. Erfahrene Diabetiker nehmen sie 7–10mal täglich vor. Aber selbst damit kann das Glucoseniveau nicht genau und schnell genug eingestellt werden, um Folgeschäden weitgehend zu vermeiden. Aus diesem Grund würde ein nichtinvasiver Glucosesensor einen gewaltigen Fortschritt bedeuten.

Im Rahmen der Arbeit galt es, speziell Wechselwirkungen und Störgrößen zu untersuchen sowie Anforderungen an die Kalibration eines solchen Meßsystems zu definieren. Ziel war es, Modelle zu erstellen, mit deren Hilfe die aktuelle Glucosekonzentration aus einem nichtinvasiv gemessenen Signal errechnet werden kann. Dafür war die Untersuchung einer Vielzahl von physiologischen und physikalischen Zusammenhängen notwendig. Die besonderen Herausforderungen ergaben sich aus der Durchführung der Messungen *in vivo*, einer unvollständigen Modellierung des Signal-Konzentrations-Zusammenhangs und aus dem Fehlen einer unabhängigen Referenzanalytik für die eigentliche Meßgröße. Es mußten daher neue, teils unkonventionelle Methoden erarbeitet und eine Reihe neuer Wege zur Überprüfung der Ergebnisse beschritten werden.

Weiterhin sollten unterschiedliche Strategien zur Erstellung von Kalibrationsmodellen für die Glucosekonzentration erprobt werden. Miteinander verglichen wurden ein mechanistischer und ein chemometrischer Ansatz. Bei ersterem Modell, der Diffusionstheorie, galt es, Temperaturänderungen und Drift zu berücksichtigen sowie die berechneten Streukoeffizienten in die gesuchte Zielgröße zu transformieren. Mit chemometrischen Verfahren sollte eine nichtparametrische Modellierung erfolgen, allein basierend auf orts aufgelöster Reflexion und Temperatur. Für die beiden Strategien wurden Wege gesucht, um von einer vollständig retrospektiven Modellierung zu einer Kalibration zu gelangen, die Glucosekonzentrationen vorhersagen kann.

2 Diabetes mellitus und Blutglucoseanalytik

2.1 Diabetes als Volkskrankheit

Das Wort „Diabetes mellitus“ kommt aus dem Griechischen und bedeutet „honigsüßer Durchfluß“. Dies spiegelt die Beobachtung wider, daß bei den Patienten der Urin durch den über die Niere ausgeschiedenen Zucker süß schmeckt. Am Geschmack konnte diese Stoffwechselerkrankung bereits in der Antike diagnostiziert werden. Seitdem hat sich nicht nur die Analytik weiterentwickelt. Mit zunehmender Lebenserwartung und der heute in Industrieländern üblichen zucker- und fettreichen Ernährung wächst der Kreis der Betroffenen. Man schätzt ihn zur Zeit auf etwa 100 Millionen Menschen. Basierend auf der Entwicklung der Patientenzahlen muß von einer Verdopplung innerhalb der nächsten 15 Jahre ausgegangen werden [3].

2.1.1 Krankheitsbild

Man unterscheidet heute zwei Hauptformen der Erkrankung: Typ I oder insulinpflichtiger Diabetes und Typ II. Die im angelsächsischen Sprachraum gebräuchlichen Bezeichnungen „insulin dependent diabetes mellitus“ (IDDM¹) und „non-insulin dependent diabetes mellitus“ (NIDDM) sind irreführend. Mit ihnen wird die Form der Behandlung und nicht die eigentliche Ursache bezeichnet. Moderne Therapiekonzepte setzen bei der Behandlung von Typ-II-Diabetikern verstärkt auf die Gabe von Insulin und widersprechen so dieser Klassifikation.

Der Typ-I-Diabetes tritt meist schon in jüngeren Jahren auf. Daraus leitet sich die Bezeichnung „juvenile“ Diabetes ab. Die Bauchspeicheldrüse produziert bei der Erkrankung kein Insulin mehr. Durch regelmäßiges und bedarfsgerechtes Spritzen muß dieser Hormonmangel ausgeglichen werden. Der Diabetes des Typs I ist eine Autoimmunerkrankung. Es werden die insulinproduzierenden Betazellen der Bauchspeicheldrüse (LANGERHANSSche Inseln) durch das eigene Abwehrsystem vollständig zerstört. Die Ursachen für diese Fehlreaktion liegen noch weitgehend im Dunkeln. Es ist davon auszugehen, daß es sich um eine komplexe Wechselwirkung von Veranlagung und Entzündungsprozessen handelt.

¹ Ein Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen findet sich im Anhang A1, S. 105

Der Typ-II-Diabetes entwickelt sich meist im höheren Lebensalter, daher auch als Altersdiabetes bezeichnet. Auf Grund erblicher Vorbelastung, in Kombination mit Übergewicht und anderen Wohlfandsfaktoren, kommt es zur Ausbildung einer Insulinresistenz. Dabei vermindert sich die stimulierende Wirkung des Hormons auf die Glucoseaufnahme der Zellen. Um den Blutzucker zu normalisieren, muß die Bauchspeicheldrüse mehr Insulin ausschütten. Ein hieraus resultierendes Überangebot des Hormons im Blut begünstigt den Fettaufbau. Das wiederum erhöht den Bedarf an Insulin – ein Teufelskreis. Wenn der Körper nicht mehr in der Lage ist, diesen Kreislauf zur Erhaltung des normalglykämischen Zustandes zu befriedigen, kommt es zur Manifestation des Diabetes. Bei vielen Typ-II-Diabetikern führt die langandauernde Überlastung der Betazellen zu einem Sekundärversagen, und sie müssen rechtzeitig auf eine Therapie mit Gabe von Insulin umgestellt werden.

Das Verhältnis Typ-I- zu Typ-II-Diabetes ist etwa 1:20. Da aber beide Patientengruppen gleichermaßen von den Auswirkungen eines schlecht eingestellten Blutzuckers betroffen sind, ist aus Sicht der Glucoseanalytik eine Unterteilung nicht sinnvoll.

Das Hormon Insulin ist ein Schlüsselbaustein für den Glucose- und damit den ganzen Energiestoffwechsel, hat aber auch Auswirkungen auf den Fett- und Eiweißhaushalt des Körpers. Die komplexen Wechselwirkungen sind in Abb. 1 dargestellt. Bei Mangel oder Überangebot geraten verschiedene Stoffwechselprozesse aus dem Gleichgewicht. Die Folge sind lebensbedrohende Zustände von Hypo- und Hyperglykämie [4].

Die größte akute Gefahr geht von der Hypoglykämie aus. Der Mangel an Glucose (weniger als 50 mg/dl im Blut) führt zu einer Unterversorgung wichtiger Organe, insbesondere des Gehirns. Die typischen Symptome sind zitternde Hände, ungenauer Gang, abwesendes Verhalten, Schwitzen und blasse Haut. Ist der Auslöser eine Überdosierung von Insulin, wird die Gluconeogenese unterdrückt. Es kann keine Glucose durch die Umwandlung intrazellulärer Fettdepots erzeugt werden. Muskel- und Fettzellen sind für eine längere Zeit in der Lage, ihren Energiebedarf durch Ketonkörper zu decken. Im Gehirn, wo der Energiestoffwechsel ausschließlich auf Glucose basiert, sind die intrazellulären Glucosereservoirs innerhalb von 10–15 min verbraucht. Danach kommt es zu irreversiblen Schäden. Bei Patienten, die bereits über einen längeren Zeitraum erkrankt sind, reduziert sich die Wahrnehmung der Frühindikatoren einer Hypoglykämie. Bei ihnen kann das Koma sehr schnell eintreten und zu Unfällen führen.

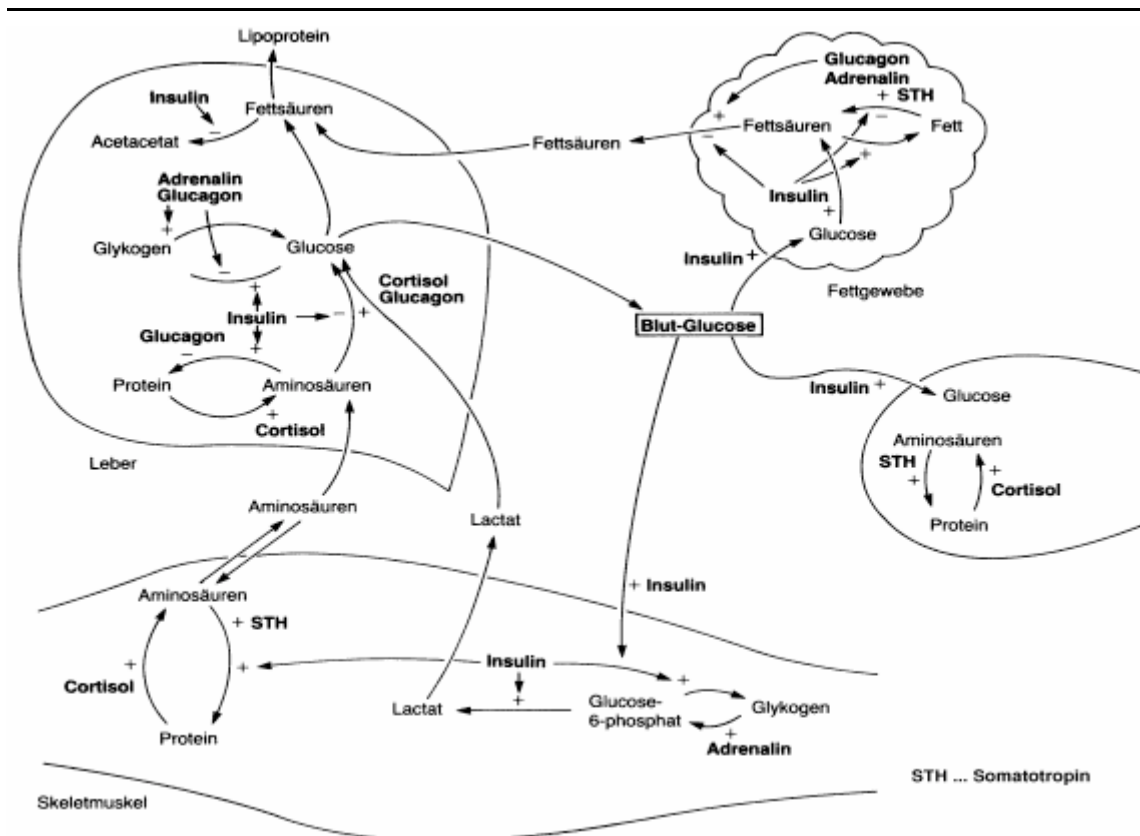


Abb. 1 Wechselwirkungen von Blutglucose und Insulin [5]

Bei einer Hyperglykämie liegt der Blutzuckerspiegel deutlich über dem Normalwert. Da das für den Transport der Glucose in die Zelle notwendige Insulin fehlt, beginnt eine Spaltung von eingelagertem Fett, um diesen Mangel, trotz des Überangebotes im Blut, zu kompensieren. Als Folge dieser Umwandlungsprozesse finden sich vermehrt Ketone im Blut und im Urin. Es entwickelt sich eine diabetische Ketoazidose, die bis ins Koma führen kann. Durch den unnatürlich hohen Wert der Blutglucose bilden sich verstärkt glykosylierte Proteine [6]. Sie sind Ausgangspunkt für verschiedenartige Schädigungen der Blutgefäße und verursachen dadurch viele der diabetischen Folgekrankheiten.

Die aktuell vielversprechendste Behandlung für Typ-I-Diabetiker stellt die intensivierte Insulintherapie dar. Dabei wird die Basalrate, der Grundbedarf des Körpers, durch ein langwirkendes Insulin gedeckt. Die nach den Mahlzeiten entstehenden Bedarfsspitzen werden durch die Bolusgabe eines schnell wirkenden Insulin-Analogons abgefangen. Voraussetzung dafür ist die regelmäßige und präzise Bestimmung des Blutzuckers sowie ein umfangreiches Wissen um die Zusammensetzung und physiologische Wirkung von Nahrungsmitteln. Über diese Form der Therapie lässt sich die Stoffwechselsituation nahe an den Normalzustand heranzuführen. Die Folgeschäden werden

minimiert und die Lebensqualität erhöht sich deutlich. Es ist bis heute jedoch nicht möglich, die gleiche Güte der Glucoseregulation wie bei einem Stoffwechselgesunden zu erreichen.

Bei der Behandlung von Typ-II-Diabetikern verfolgt man das Ziel, die Wirksamkeit des Insulins wiederherzustellen und den Grundbedarf zu senken. Die verabreichten Medikamente sollen die Insulinresistenz vermindern oder die Hormonausschüttung der Bauchspeicheldrüse stimulieren. Eine weitere Medikamentengruppe (Biguanide) versucht die Resorption von Glucose zu verlangsamen und somit die Maximalwerte der Blutglucose zu vermindern. Die Therapie unterstützen diätische Maßnahmen, Gewichtsreduktion und verstärkte körperliche Aktivität. Mit diesen Behandlungsmethoden gelingt es für eine längere Zeit, den Blutzucker zu kontrollieren. Auf Grund der Überbeanspruchung der insulinproduzierenden Zellen muß nach einer gewissen Zeit mit einem Sekundärversagen gerechnet werden. Spätestens ab diesem Zeitpunkt sollte die Behandlung analog zu den Typ-I-Diabetikern erfolgen.

2.1.2 Folgeerkrankungen

Der tiefe Eingriff der Erkrankung in das Stoffwechselgeschehen führt zu komplexen Wechselwirkungen im Körper [5]. Dadurch entwickeln sich unterschiedlichste Folgeerkrankungen.

Für viele ist die Bildung von glykosylierten Proteinen verantwortlich. Es handelt sich hauptsächlich um die nichtenzymatische Verzuckerung von Hämoglobin. Im Laborbefund ist das durch erhöhte HbA_{1c}-Werte zu erkennen. Bei Stoffwechselgesunden liegt der Normalbereich zwischen 4 bis 5 %. Dieser Parameter gibt den Anteil des mit Glucose unlöslich verbundenen Hämoglobins an. Er ist von der mittleren Glucosekonzentration der vergangenen 120 Tage, der Lebensdauer eines roten Blutkörperchens, abhängig. Somit spiegelt er Güte der Stoffwechselführung über einen relativ langen Zeitraum wider und erfaßt auch Phasen, in denen zu hohe Glucosekonzentrationen vorlagen, diese aber durch die diskontinuierlichen Kontrollmessungen nicht erfaßt und entsprechend korrigiert wurden. Die Wahrscheinlichkeit von Folgeerkrankungen wird sehr stark durch die langfristige Stoffwechselsituation bestimmt. Die HbA_{1c}-Werte sind deshalb mit der Häufigkeit von Folgeschäden korreliert. Daher wird dieser Parameter in Untersuchungen genau verfolgt.

Die Glykopeptide können sich an den Gefäßwänden ablagern und in die Basalmembran eingebaut werden. Sind die großen Arterien betroffen, spricht man von einer Makroangiopathie, bei den peripheren Kapillaren entsprechend von einer Mikroangiopathie.

Wird ein in den großen Blutgefäßen entstandener Engpaß durch ein Blutgerinnsel verschlossen, kann es unter anderem zum besonders gefürchteten Herzinfarkt oder Hirnschlag kommen. Deshalb ist das Risiko für Diabetiker an einer Herz-Kreislaufkrankung zu sterben zwei- bis dreimal so hoch wie bei einem Nichtdiabetiker [7].

Die Mikroangiopathien wirken sich sehr stark auf die Augen aus. Es kommt zur Ausbildung einer diabetischen Retinopathie. Wenn diese Erkrankung nicht rechtzeitig behandelt wird, kann das zum Verlust des Augenlichtes führen – jeder dritte Neuerblindete in Deutschland ist Diabetiker [2]. Oft wird ein Typ-II-Diabetes erst durch Schäden am Auge diagnostiziert. Daneben treten jedes Jahr ca. 9000 Fälle von vollständigem Nierenversagen auf. Hier können nur noch Dialyse oder Transplantation helfen. Das Syndrom des diabetischen Fußes geht ebenfalls auf die gestörte Blutzirkulation in den Kapillaren zurück. Im schlimmsten Fall muß amputiert werden. Im Jahr 1996 wurde dieser Eingriff in Deutschland 28000mal vorgenommen. Viele Schädigungen verstärken sich insbesondere dadurch, daß die Nerven durch die mangelhafte Sauerstoffversorgung Schaden nehmen und somit frühzeitige Warnsignale entfallen. Die Folge ist, daß Überbelastungen und Störungen nicht wahrgenommen werden und eine rechtzeitige Diagnose erschwert ist.

Diabetiker sind besonders anfällig für Infektionskrankheiten. Dies wird mit den guten Vermehrungsbedingungen für Mikroorganismen – hohe Glucosewerte und mangelhafte Durchblutung – begründet. Wegen der schlechten Stoffwechsellaage entstehen große Mengen freier Sauerstoffradikale. Dieser oxidative Streß könnte eine weitere Ursache für die diabetische Neuropathie sein [7].

Die vielen Erkrankungen, in denen sich der zu hohe Glucosespiegel manifestiert, stehen nicht isoliert nebeneinander. Ihre Wechselwirkungen führen teilweise zu einer weiteren Verschlechterung. So schädigt beispielsweise der durch die Arteriosklerose entstehende hohe Blutdruck noch zusätzlich die Nieren. Die resultierende veränderte Resorption von Natrium-Ionen begünstigt wiederum den hohen Blutdruck.

2.1.3 Notwendigkeit kontinuierlicher Messung

Der Schlüssel zur Vermeidung der geschilderten Folgekrankheiten ist die Normalisierung des Blutzuckers. In Abb. 2 ist der Glucosespiegel eines Typ-I-Diabetikers über den Zeitraum von etwa 30 Stunden dargestellt. Es handelt sich nicht um eine provozierte Variation, sondern um die normalen Konzentrationsänderungen im Tagesablauf eines Diabetikers. Hieraus sind die, verglichen mit dem Normalbereich, großen Schwankungen der Glucose und die Probleme der diskontinuierlichen Messung gut zu erkennen. Will man den Stoffwechsel so beeinflussen, daß der Zucker innerhalb des Normalbereiches bleibt, ist das mit den üblichen invasiven Verfahren nicht zu erreichen. Bei der dargestellten Untersuchung wurde ein handelsübliches Gerät zur Blutzuckerselbstkontrolle als Referenz verwendet. Selbst mit einem Meßabstand von einer Stunde ist bei den hier auftretenden Änderungsgeschwindigkeiten von etwa 80–100 mg/dl der Normalbereich nicht einzuhalten. Zudem ist eine Selbstkontrolle während der

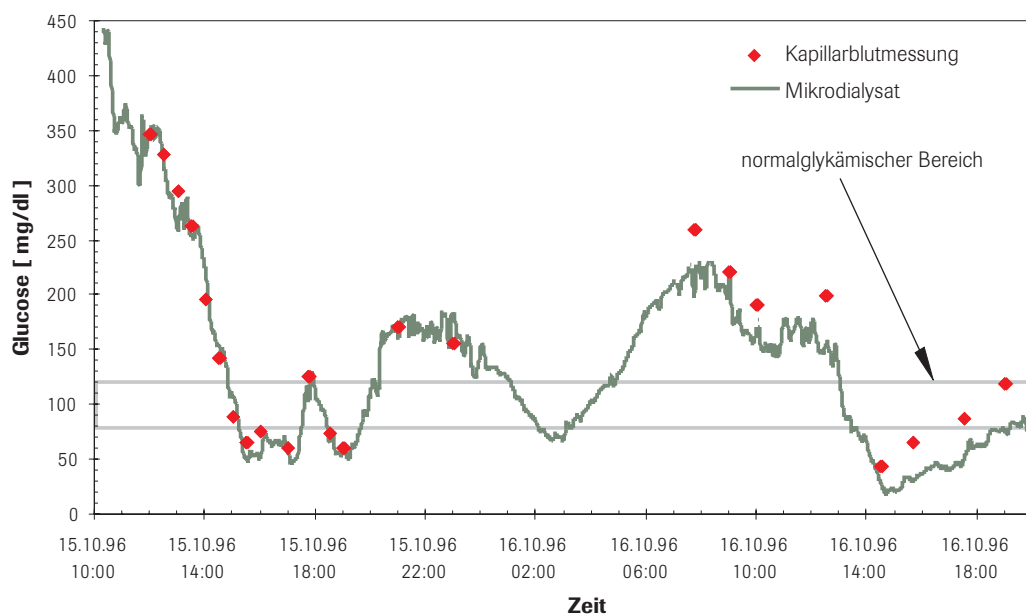


Abb. 2 Verlauf der Glucosekonzentration über einen Zeitraum von 32 Stunden

Schlafphase nicht möglich. Der Proband gerät hier nahe an eine Hypoglykämie (16.10. 03:00). Vermutlich hat in diesem Fall die Gegenregulation, die Freisetzung von in der Leber gespeicherter Glucose, ein weiteres Absinken verhindert. Die extrem hohen Werte am Anfang der Messung sind ein Anzeichen für eine schwere Stoffwechselentgleisung vor Versuchsbeginn.

In den letzten Jahren wurden zwei große Studien über den Zusammenhang zwischen Güte der Stoffwechselführung und Prognose von Folgeschäden sowie deren Korrelation mit den HbA_{1c}-Werten abgeschlossen. Beim „Diabetes Control and Complications“ Trial (DCCT)[1] wurden ein verzögerter Ausbruch und ein abgeschwächter Verlauf der von der Mikroangiopathie ausgelösten Erkrankungen durch intensivierte Insulintherapie bei Typ-I-Diabetikern nachgewiesen. Mit dieser Behandlungsweise konnte der mittlere HbA_{1c}-Wert von 9% auf 7% gesenkt werden. Allerdings zeigte sich auch, daß die dem Normalwert angenäherte Blutzuckereinstellung das Risiko einer Hypoglykämie verdreifacht. Für Diabetiker vom Typ II sollte die „UK Prospective Diabetes Study“ (UKPDS)[8] den Nachweis erbringen, daß eine bessere Einstellung des Glucosespiegels die Folgeschäden auch für diese Patientengruppe mindert. Es konnte eine Reduktion der mittleren HbA_{1c}-Werte von 7.9% auf 7.0% erzielt werden. Die Ergebnisse fallen nicht so deutlich aus wie beim DCCT, zeigen aber den gleichen Trend.

Die beiden Studien demonstrieren, daß sich die Folgekrankheiten mit einer Normalisierung der Glucosewerte vermindern lassen. Der erzielte HbA_{1c} von 7% kennzeichnet eine nach heutiger Auffassung gute Stoffwechseleinstellung. Die erreichte Verringerung ist aber immer noch nicht ausreichend, Folgen weitgehendst zu vermeiden. Ein nur um 2% gegenüber dem normalen HbA_{1c} von ca. 5% erhöhter Wert zeigt eine Stoffwechsel-lage an, die bereits zur Ausbildung von Spätschäden führt. Um den Diabetes besser zu kontrollieren und seine akuten und langfristigen Schäden zu vermeiden, ist eine präzise und kontinuierliche Verfolgung der Glucose zwingend notwendig.

2.2 Glucosemeßverfahren

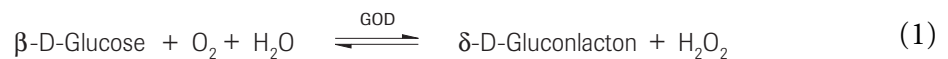
Zur Bestimmung des Blutzuckers kommen unterschiedliche Meßprinzipien zur Anwendung. Im folgenden sollen die aktuellen und die in der Entwicklung befindlichen Verfahren kurz vorgestellt werden.

2.2.1 Invasive Messung

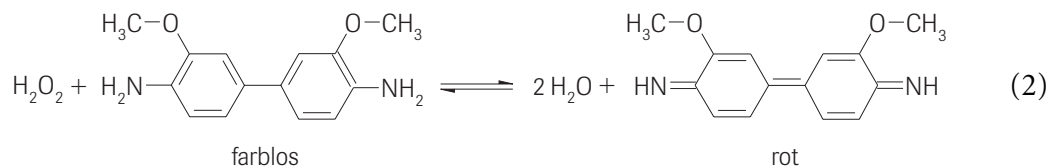
In diese Gruppe gehören die verschiedenen, kommerziell verfügbaren Geräte zur Blutzuckerselbstkontrolle. Die Gewinnung von Kapillarblut aus Fingerbeere oder Ohr-läppchen erfolgt mittels einer kleinen Lanzette. Mit den Stechhilfen ist es möglich, durch die Einstellung der Eindringtiefe und die präzise Führung der Nadel Gewebe-schädigungen zu vermindern und trotzdem ausreichend Blut zu erhalten. Obgleich es

gelang, den damit verbundenen Schmerz durch eine optimierte Nadelgeometrie deutlich zu reduzieren, ist es weiterhin eine unangenehme, aber notwendige Prozedur. Bereits vier Messungen am Tag summieren sich auf ca. 1500 Einstiche pro Jahr. Als Reaktion auf die so zugeführten Verletzungen kommt es zu einer Verdickung von Epidermis und Hornhaut [9]. Dadurch wird die Blutgewinnung langfristig erschwert.

Die Selbstkontrolle des Blutzuckers erfolgt heute mit miniaturisierten Handgeräten und Teststreifen. Zur Messung wird ein Blutstropfen ($\sim 3\mu\text{l}$) auf den Streifen gegeben. Durch einen geschichteten Aufbau der Meßzone erreicht man eine Abtrennung der Blutzellen und interferierender Substanzen. Die Bestimmung basiert zumeist auf der enzymatischen Reaktion von Glucoseoxidase (GOD) mit dem Substrat Glucose (Gl. 1).



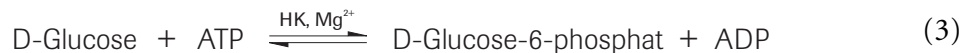
Die Detektion der Reaktion (Gl. 1) kann auf unterschiedlichen Wegen erfolgen. Die meisten kommerziellen Systeme basieren auf der Auswertung von elektrochemischen oder spektralphotometrischen Signalen. Bei der ersten Gerätegruppe messen amperometrische Sensoren die Menge des gebildeten Wasserstoffperoxids direkt. Bei dem benötigten anodischen Potential werden auch andere im Körper vorkommenden Substanzen, z.B. Harnstoff und Ascorbinsäure, oxidiert. Durch eine Celluloseacetatschicht auf der Elektrode kann diese Querempfindlichkeit deutlich reduziert werden [10]. Die ebenfalls mögliche Bestimmung des durch die Reaktion verbrauchten Sauerstoffs ist schwieriger zu realisieren. Eine variierende Konzentration in der Matrix oder der Umgebung führt zu falschen Resultaten. Die sog. „Sensor-Teststreifen“ bieten keine Möglichkeit der visuellen Plausibilitätskontrolle.



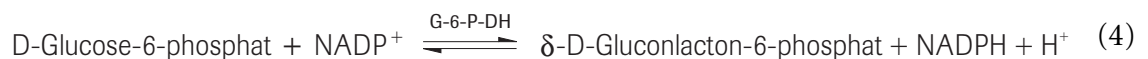
Diese zweite Gruppe von Teststreifen nutzt die Farbänderung eines Indikators, z.B. o-Dianisidin (Gl. 2), als Maß der aktuellen Glucosekonzentration [11]. Bei entsprech-

ender Indikatoreauswahl sind der Vergleich mit einer Referenzfarbskala und eine visuelle Plausibilitäts- und Funktionsprüfung möglich. Die Sicherheit für den Anwender wächst.

In Laborgeräten, mit deren Hilfe der Blutzucker in klinischer Umgebung bestimmt wird, erfolgt die Messung photometrisch unter Verwendung von Hexokinase (HK). Dieses Verfahren (Gl. 3) dient vielfach als Referenzstandard für andere Meßprinzipien und der Geräteevaluierung.



Die Indikatorreaktion (Gl. 4) für die phosphorylierte Glucose ist die Umsetzung mit NADP^+ unter Vermittlung von Glucose-6-phosphat-Dehydrogenase (G-6-P-DH). Das entstehende NADPH ist der Glucosekonzentration proportional und kann photometrisch bei 334-365 nm verfolgt werden [12].



Zur kontinuierlichen Bestimmung von Blutglucose und automatischer Insulingabe wurde der Biostator entwickelt [13]. Er dient zur Stoffwechseleinstellung bei Diabetikern und wird zur Erforschung der Erkrankung eingesetzt. Der Patient ist dabei über einen intravenösen Katheter mit dem Gerät verbunden. Deshalb kann es nur im klinischen Bereich eingesetzt werden. Mit einer amperometrischen Enzymelektrode wird die Konzentration von Glucose kontinuierlich gemessen. Bei den durchgeführten Versuchen mit Variation der Glucosekonzentration (Abschn. 5.3) wurden die Referenzmessungen mit dem Biostator ausgeführt.

2.2.2 Minimal invasive Verfahren

Auf verschiedenen Wegen wird versucht, die Prozedur der Blutglucosebestimmung weniger unangenehm zu gestalten und damit eine höhere Meßfrequenz zu ermöglichen. Aktuell ist noch kein minimal invasiv arbeitendes Gerät verfügbar. Es werden von verschiedenen Forschergruppen und Firmen große Anstrengungen unternommen, um als erste in den Markt einzutreten. Im Gegensatz zu allen invasiven Methoden nutzen die meisten minimal invasiven Verfahren interstitielle Flüssigkeit (ISF) als Analysat.

Ein Weg besteht darin, das zu messende Medium schmerzfrei zu gewinnen. Dafür werden verschiedene Methoden erprobt. Das von der Firma *SpectRx* entwickelte Gerät erzeugt mit einem Laser Mikroporen in der Haut [14]. Die Iontophorese liefert für das von *Cygnus* konzipierte Verfahren die interstitielle Flüssigkeit [15]. Eine nur in die Dermis eindringende Kapillare soll Analysat für den von *Integ* gewählten Ansatz liefern [16]. Eine Beurteilung dieser Verfahren ist wegen der restriktiven Informationspolitik der Entwickler nicht möglich. Es ist jedoch zu vermuten, daß die Analysatoren mit enzymatischen Detektionsmechanismen arbeiten werden. Sollte es gelingen, auf einem der vorgeschlagenen Wege eine hinreichende Menge ISF zu gewinnen, dürfte die Analyse selbst nicht sonderlich problematisch sein. Allerdings ermöglichen die vorgestellten Ansätze nur diskontinuierliche Messungen.

Für die kontinuierlichen minimal invasiven Meßgeräte sind drei verschiedene Konzepte zur Applikation des Sensors bekannt [17]. Den höchsten Komfort versprechen die vollständig implantierbaren Geräte. Ihre Miniaturisierung ist sehr aufwendig. Es müssen Stromversorgung, Meßelektronik und Sender integriert werden und über einen längeren Zeitraum zuverlässig arbeiten. Die konstante Sensitivität des Sensors über die Nutzungsdauer des Implantats ist ein weiteres, bis heute noch nicht zufriedenstellend gelöstes Problem. Wegen der langen Nutzungsdauer, bis zu mehreren Jahren, kommt der Biokompatibilität eine entscheidende Rolle zu. Es ist zudem noch unklar, ob die Bildung von Narbengewebe um den Sensor zu einer systematischen Verfälschung der Meßwerte führen kann. Bei implantierbaren Geräten ist eine Platzierung des Wertaufnehmers innerhalb eines Blutgefäßes möglich [18]. Es bilden sich jedoch leicht Blutgerinnsel. Aus diesem Grund sollten die mit vergleichbarer Qualität arbeitenden subkutanen Sensoren bevorzugt werden [19]. Bei den vorgestellten Ergebnissen [18, 19] ist zu beachten, daß sie aus Versuchen mit Hunden stammen und noch nicht auf den Menschen übertragen werden konnten.

Ein anderer Ansatz ist die Platzierung allein des Sensors im subkutanen Fettgewebe. Die nadelförmigen Elektroden sind mit der Stromversorgung und der Meßelektronik durch ein Kabel verbunden. Dadurch umgeht man die Probleme, die bei implantierten Systemen auftreten [18, 19]. Eine Nutzungsdauer von drei bis fünf Tagen ist realistisch. Mögliche Infektionen an der Einstichstelle sind eine Gefahr bei dieser Form der Applikation. Ein anderes Risiko stellt die vorstellbare Auswaschung des Enzyms aus der Elektrode dar. Es kann dadurch zu heftigen allergischen Reaktionen kommen. Ein noch

ungelöstes Problem aller enzymatischen Glucosesensoren ist die mit der Zeit abnehmende Sensitivität. Die Aktivität der GOD vermindert sich durch den Kontakt mit Körperflüssigkeit. Welche Substanzen zu der Inaktivierung führen, ist noch nicht geklärt. Es muß sich um niedermolekulare Stoffe handeln, da dieses Verhalten auch mit Mikrodialysat auftritt. Der Prozeß ist reversibel. Durch Spülen der Elektrode läßt sich die ursprüngliche Sensitivität wiederherstellen.

Die Mikrodialyse zur Gewinnung interstitieller Flüssigkeit und deren Analyse in einem externen Gerät ist ein weiteres Konzept [20, 21, 22]. Ein flexibler Katheter wird dazu im Unterhautfettgewebe plaziert. Durch dessen semipermeable Membran können nur kleine Moleküle in das Dialysat übergehen. Dieser Lösungsweg umgeht einige der Probleme implantierbarer oder einzustechender Sensoren. Die eigentliche Meßzelle wird vor dem Angriff des Immunsystems geschützt, gleichzeitig enthält die zu analysierende Lösung weniger Störsubstanzen. Erst vor der Elektrode wird die Glucoseoxidase zugemischt. Somit ist ein Kontakt mit dieser allergen wirkenden Substanz vollständig ausgeschlossen. Weil frische GOD-Lösung verwandt wird, entsteht auch kein Sensitivitätsverlust durch Inaktivierung des Enzyms. Die Schwierigkeiten dieser Meßanordnung bestehen darin, einen geringen, aber konstanten Fluß der Perfusionsflüssigkeit zu erzeugen und die notwendigen mechanischen Komponenten zu miniaturisieren. Durch Aufteilung in Katheter und Sensor entsteht ein Zeitversatz zwischen Probenahme und Analyse. Hier müssen entsprechende Maßnahmen getroffen werden, um diese Totzeit zu minimieren.

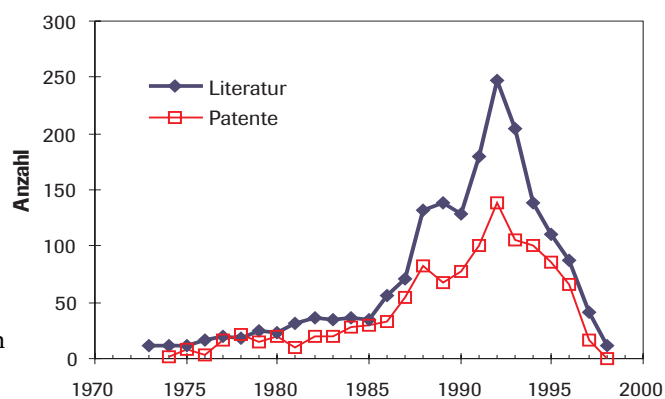
Grundsätzlich liefern Methoden, die auf der Analyse interstitieller Flüssigkeit basieren, Ergebnisse, die nicht mit den üblichen Blutwerten übereinstimmen [23]. Auf diesen beruhen jedoch alle Therapien und Diagnosen. Daher müssen die Meßverfahren unabhängig von ihrem eigentlichen Meßort Resultate liefern, die sich bestmöglich in die bekannten Therapieschemata einpassen lassen. Die Glucosekonzentrationen in Blut und ISF ist hoch korreliert [24]. Jedoch sind die Aussagen über ihren zeitlichen Zusammenhang widersprüchlich. Einige Autoren berichten von einem differierenden Zeitversatz bei abnehmender und bei ansteigender Blutglucose [25]. Andere finden keinen Unterschied zwischen beiden Variationen [26]. In der Arbeit von THOME-DURET [27] wurde die Beobachtung beschrieben, daß der Glucosewert der ISF dem im Blut vorauseilt. Aus der Vielzahl der Aussagen kann geschlossen werden, daß die zeitliche Korrelation unter Umständen vom Patienten oder gar vom Meßort abhängt. Unter-

suchungen über die Farbstoffdiffusion aus kapillaren Blutgefäßen in das Interstitium zeigen einen signifikanten Unterschied in der Diffusionsgeschwindigkeit zwischen Diabetikern und Gesunden [28]. Es kann vermutet werden, daß die Dauer des Diabetes ebenfalls einen Einfluß auf die Korrelation zwischen Blut- und Gewebsglucose hat. Eine gute Zusammenfassung der aktuellen Erkenntnisse ist bei ROE [23] zu finden. Die beobachteten Verzögerungen liegen im Mittel in einem Bereich von 8–10 Minuten [23]. Wenn die gesamte Therapie auf den ISF-Werten basiert, spielt diese Zeitverschiebung eine untergeordnete Rolle. Da jedoch die Regeln zur Insulindosierung und die Kalibrationmessungen der Geräte immer auf Blutglucose bezogen sind, muß die zeitliche Korrelation noch genau geklärt werden. Die Problematik ist nicht allein auf diese Verfahren beschränkt. Nichtinvasive Techniken gewinnen ihre Information auch zumeist aus dem interstitiellen Bereich. Daher sind die minimal-invasiven Systeme besonders gut als Referenzverfahren für die nichtinvasiven Methoden geeignet.

2.2.3 Nichtinvasive Methoden

Erste Untersuchungen zur nichtinvasiven Bestimmung von Blutglucose sind bereits in den 70er Jahren publiziert worden. Seitdem wurden einige Erfolg versprechende Verfahren vorgestellt und auch patentiert. Die Zahl der Veröffentlichungen erreichte 1993 ihr Maximum (Abb. 3). Seit dieser Zeit sind im wesentlichen keine neuen Verfahren publiziert worden. Alle Arbeitsgruppen, die sich heute noch aktiv mit dieser Problematik beschäftigen, haben nach der Vorstellung prinzipieller Studien mit den spezifischen Problemen einer *in vivo* Meßumgebung zu kämpfen. Das große Interesse an einem solchen System hat zu einer erstaunlichen Anzahl von Produktankündigungen geführt, die bis zum heutigen Tag noch nicht realisiert sind [29].

Abb. 3 Veröffentlichungen und Patente zur nichtinvasiven Glucosebestimmung [30]



2.2.3.1 Optische Spektroskopie

Die Mehrzahl der publizierten Verfahren zur nichtinvasiven Glucoseanalytik ist der Spektroskopie zuzuordnen. Die Geräte nutzen die spezifischen spektroskopischen Merkmale von Glucose. Als besonders attraktiv erweist sich die Möglichkeit, gleichzeitig mehrere Substanzen neben der Glucose zu messen und zudem auf zusätzliche Reagenzien verzichten zu können. Gute Voraussetzungen für diese Technologie sind die ausgereifte Technik und Miniaturisierbarkeit der Geräte.

Bei der nichtinvasiven Messung in biologischen Systemen gibt es eine große Zahl von einschränkenden Randbedingungen und störenden Wechselwirkungen. Der Hauptbestandteil aller Lebewesen ist Wasser. Es ist ein ständiger, im großen Überschuß vorkommender Begleiter. Auch die menschliche Haut besteht zu ca. 70% daraus. Es schränkt die für die Diagnostik nutzbaren Spektralbereiche ein. Im nahen Infrarot (NIR), welches von 800 bis 2500 nm ($12500\text{--}4000\text{ cm}^{-1}$) reicht, sind starke Absorptionsbanden durch die OH-Gruppen des Wassers zu beobachten. Als sog. „diagnostisches“ oder „therapeutisches Fenster“ wird der Bereich von 600–1300 nm bezeichnet. In diesem kann die elektromagnetische Strahlung einige Millimeter tief eindringen, ohne durch Wasser oder andere Hautbestandteile nahezu vollständig absorbiert zu werden (Abb. 4). Als Beispiele seien die photodynamische Krebstherapie und die Puls-oximetrie angeführt [31].

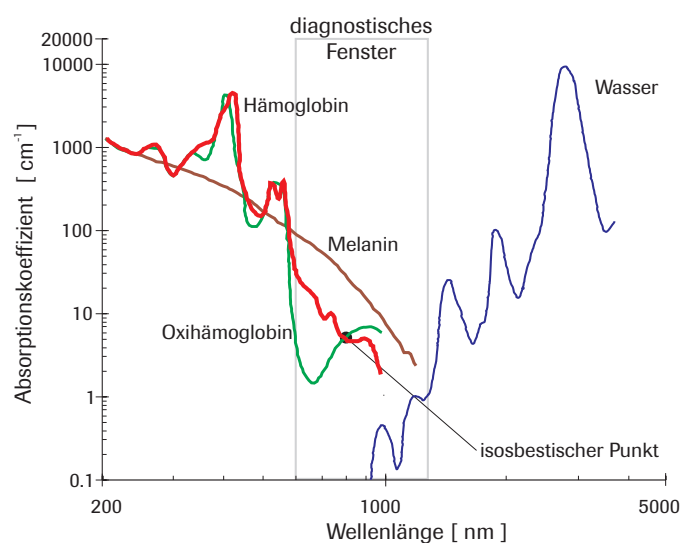


Abb. 4 Absorptionsspektren wesentlicher Hautinhaltsstoffe [32]

Eine große Zahl interessanter Veröffentlichungen zur nichtinvasiven Glucosemessung und den damit verbundenen Problemen stammen aus dem Arbeitskreis von ARNOLD und SMALL [33–44]. Bei dem von ihnen verfolgten Ansatz wird die Bestimmung der Glucose über Transmissionsmessungen im Wellenlängenbereich von 2000–2500 nm vorgenommen. Hier absorbieren verschiedene Kombinationsschwingungen von Glucose. Wasser weist hingegen ein Absorptionsminimum auf. Als Meßort wurde die Interdigitalhaut zwischen Daumen und Zeigefinger gewählt. So gelingt es, das Signal-Rausch-Verhältnis durch digitale Filterung in der Frequenzdomäne zu verbessern und die Kalibrationsmodelle von Drifterscheinungen der Basislinie zu entkoppeln. Untersuchungen zeigten einen sehr starken Temperatureinfluß auf Form und Lage der Wasserbanden sowie Überlagerungen mit spektralen Merkmalen der Triglyceride und Proteine. Mittels genetischer Algorithmen wurde daraufhin versucht, Spektralbereiche mit minimaler Störung zu finden. Umfangreiche Untersuchungen erfolgten zur Modellierung der *in vivo* Versuche durch biologische Hautphantome. Diese bieten den Vorteil, daß mit ihnen systematische und reproduzierbare Untersuchungen *in vitro* in einer definierten Umgebung vorgenommen werden können. Sie gestatten außerdem die Anwendung von Versuchsplänen, um alle bekannten Einflußfaktoren systematisch zu variieren. Diese Möglichkeit ist *in vivo* nicht gegeben. Es konnte auch gezeigt werden, daß eine Vergrößerung der optischen Pfadlänge zu deutlich besseren Resultaten führt. Die resultierenden Vorhersagefehler SEP_{CV} der PLS-basierten Glucosekalibration liegen bei 9 mg/dl. Es ist jedoch zu beachten, daß diese therapeutisch benötigte Genauigkeit nur bei *in vitro* Versuchen erzielt werden konnte.

Messungen der diffusen Reflexion liefern die Information bei der von DANZER et al. vorgestellten Methode [45–49]. Sie verwenden dazu ringförmig zusammengefaßte Bündel von Lichtwellenleitern. Der äußere Kreis dient zur Beleuchtung des Meßfeldes. Durch eine Metallhülse wird ein definierter Abstand zu den inneren, meßwertaufnehmenden Fasern eingestellt. Diese erfassen die diffus reflektierte Strahlung im Bereich von 800–1300 nm. Die Variation des Blutglucosespiegels erfolgt über orale Glucosetoleranztests (OGTT). Es wurden Kalibrationsmodelle mittels PLS-Regressionen und künstlichen neuronalen Netzwerken [50] erstellt. Die Auswahl der Kalibrationsdaten mußte sehr sorgfältig vorgenommen werden, da die Modelle nicht sonderlich robust reagieren. Etwa 1 % der Spektren sind daher aussortiert worden. Es wurden sowohl personenspezifische als auch personenübergreifende Kalibrationsmodelle errechnet. Die

besten Resultate zeigte ein Radial-Basis-Function Netzwerk. Als Fehler (SEP_{CV}) wird ein Wert von 36 mg/dl für ein personenspezifisches Modell angegeben.

Von HEISE und MARBACH [51–58] wird ebenfalls die Entwicklung eines spektroskopischen Verfahrens zur Blutglucoseanalytik beschrieben. Die Bestimmung erfolgt im Wellenlängenbereich von 1100–1800 nm an der inneren Mundschleimhaut der Unterlippe. Der Meßkopf verwendet eine sehr ausgefeilte Anordnung von elliptischen Spiegeln zur Beleuchtung des Meßfeldes und zur Separation des diffus reflektierten Strahlungsanteils [54]. Dieser Meßort und die gewählte Optik gestatten für physiologische Verhältnisse gut reproduzierbare Spektren an einem stark durchbluteten Ort. Es wurde versucht, Scheinkorrelationen der gemessenen Signale zur Glucosekonzentration durch ein geeignetes Protokoll zu vermeiden. Für die Erstellung von PLS-Kalibrationen ist ein Verfahren zur Selektion relevanter Spektralbereiche vorgestellt worden [56]. Es gelingt, die für die Modellbildung benötigte Zahl von Faktoren zu verringern und gleichzeitig die Vorhersagequalität zu verbessern. Mit Hilfe dieser Methodik konnte ein SEP_{CV} von 36 mg/dl erreicht werden. Die vorgestellte Meßanordnung gestattet jedoch keine kontinuierliche Bestimmung. Weitere Untersuchungen sollen sich mit dem aus dem intravasalen Volumenelement stammenden Signalanteil befassen. Dazu wird die pulsatile Komponente durch FOURIER-Transformation aus dem Gesamtsignal bestimmt. Gelänge es, auf diesem Wege hinreichende Glucoseinformation zu bestimmen, würde das zu einer Verminderung des Einflusses der Hautheterogenität und der patientenübergreifenden Varianz beitragen. Außerdem könnte damit das Problem der zeitlichen Konzentrationsdifferenzen zwischen ISF und Blut gelöst werden.

Von anderen Gruppen wurden ebenfalls Arbeiten zur spektroskopischen Glucosemessung vorgestellt. Von HAARLAND [59] und von SHICHIRI [60] werden Versuche im NIR-Bereich beschrieben. KLONOFF [61] benutzt Emissionen im MIR-Band. Die RAMAN-Spektroskopie wird von LAMBERT [62] und TARR [63] vorgeschlagen.

2.2.3.2 Photoakustische Spektroskopie

Gegenüber den mechanisch aufwendigen optischen Spektrometern besitzen photoakustische Geräte den Vorteil, ohne aufwendige Mechanik auszukommen. Das läßt sie, aus Sicht ihrer Entwickler, geeigneter für die Konstruktion eines kontinuierlichen nichtinvasiven Sensors erscheinen.

Beim photoakustischen Effekt werden Moleküle mit Laserpulsen einer geeigneten Wellenlänge angeregt. Durch die strahlungslose Relaxation wird die absorbierte Energie als Wärme an die Umgebung abgegeben und führt so zu einer räumlichen Ausdehnung im Medium. Die entstehende Schockwelle kann mittels akustischer Meßwertaufnehmer detektiert werden [64–67]. Vorteilhaft ist, daß das aufgenommene Signal unabhängig von gestreutem oder reflektiertem Licht der Strahlungsquelle ist und daß durch die Laseranregung mehr Energie in die Probe eingetragen werden kann als bei Verwendung einer üblichen Spektrometerlichtquelle. Die bisher veröffentlichten *in vitro* Resultate korrelieren befriedigend mit der Glucose [66]. Es ist jedoch zu beachten, daß sie in einer einfachen, nicht physiologischen Matrix erzielt worden sind. Auch zeigen sich starke Temperatureinflüsse. Die Autoren versprechen sich jedoch durch die Verwendung von mehreren Wellenlängen und der Anwendung multivariater Auswerteverfahren eine signifikante Verbesserung.

2.2.3.3 Polarimetrie

Glucose ist eine optisch aktive Substanz. Sie kann somit grundsätzlich über die Veränderung der Lichtpolarisation bestimmt werden. Messungen an Haut oder einem ähnlich stark streuenden Medium sind nicht möglich, da durch die Streuung die Polarisationsinformation verloren geht. Die veröffentlichten Verfahren beruhen daher auf der Messung in der Flüssigkeit der Augenvorderkammer [68–71]. Es besteht ein Glucosegleichgewicht mit dem Blut. Dabei treten ähnliche oder größere Verzögerungen wie bei der ISF gegenüber der Blutglucose auf. Messungen der Polarisation sind sehr unspezifisch. Störungen durch andere optisch aktive Substanzen wie Proteine oder Ascorbate sollen durch die Verwendung unterschiedlicher Wellenlängen und multivariate Auswertung kompensiert werden. Die Verwendung von Lasern zur Messung im Auge stellt zudem große Anforderungen an die Sicherheit der Geräte und schränkt die nutzbare Energie stark ein [72].

2.2.4 Bewertung der Verfahren

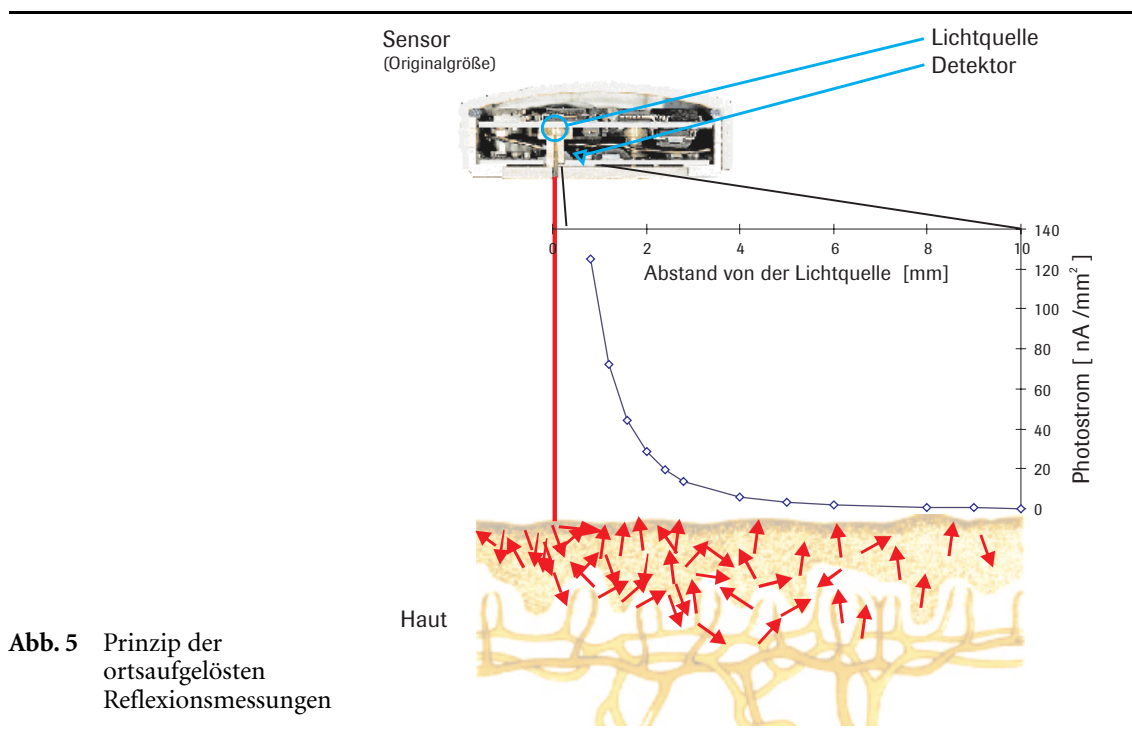
Die Anforderungen, denen sich ein zukünftiges Glucosemeßsystem stellen muß, um Spätfolgen der Erkrankung zu minimieren, sind sehr hoch [23]. Sie werden durch die Notwendigkeit einer dem normalglykämischen Zustand nahen Stoffwechselführung diktiert. Dabei ist der Glucosespiegel immer im Bereich von 90–140 mg/dl zu halten. Da

das sehr nahe an der Schwelle zur akut gefährlichen Hypoglykämie liegt, sind eine hohe Präzision und eine verzögerungsfreie Messung notwendig. Weil der Diabetes ein lebenslanger Begleiter für die Patienten ist, kommen auch Handhabung, Komfort und Akzeptanz des Meßsystems eine große Bedeutung zu.

Die auf dem Markt befindlichen Geräte zur invasiven Blutzuckerselbstkontrolle können diesen Anforderungen nicht genügen. Zwar erreichen sie eine sehr hohe Genauigkeit, jedoch ist ihre Anwendung auf wenige Messungen pro Tag beschränkt. Damit kann die präzise Stoffwechselführung nicht erreicht werden. Eine Erhöhung der Meßfrequenz würde mit den diskontinuierlichen minimal-invasiven Verfahren möglich werden [14, 15, 16]. Nachteilig bleibt, daß sich die teilweise recht großen Geräte schlecht in den normalen Tagesablauf integrieren lassen und eine Überwachung während der Schlafphase nicht möglich ist. Verfolgt man die aktuellen Forschungen, so werden vermutlich die kontinuierlichen minimal-invasiven Systeme [17, 22] der nächste Schritt zu einer verbesserten Diabetes-Therapie sein. Mit ihnen wird es erstmals möglich sein, die alltägliche Variation des Blutzuckerspiegels zu verfolgen und wirklich bedarfsgerechte Insulindosen zu verabreichen. Bei den implantierbaren Sensoren sind die Probleme der Langzeitstabilität und der Biokompatibilität noch ungelöst. Systeme, basierend auf einzustechenden Elektroden oder auf der Mikrodialyse, sollten in naher Zukunft verfügbar sein [23]. Ihnen könnte die Akzeptanz durch den Patienten Probleme bereiten. Die bekannten Geräte sind relativ groß und unangenehm zu applizieren. Nichtinvasive Verfahren haben keine Akzeptanzprobleme. Sie gelten als die komfortabelste und hygienischste Lösung. Zudem benötigen sie kein zusätzliches Verbrauchsmaterial. Die komplexen Zusammenhänge zwischen nichtinvasiv gemessenem Signal und Blutglucosespiegel sowie die Wechselwirkungen zwischen Sensor und Meßort sind hierbei Punkte, auf die sich die Forschung konzentriert. Alle nichtinvasiven Verfahren haben mit einem ungünstigen Signal-Rausch-Verhältnis zu kämpfen. Es bleibt abzuwarten, welche Technologie die hohen Anforderungen für ein alltagstaugliches Meßgerät zu erfüllen vermag.

3 Bestimmung von Glucose über Streueigenschaften der Haut

Die Arbeitsgruppe, die sich bei *Roche Diagnostics* mit der Entwicklung eines nichtinvasiven Glucosemeßgerätes beschäftigt, nutzt einen Effekt, dessen Auswirkungen bereits 1981 durch MÜLLER [73] publiziert wurden. Das Patent beschreibt ein Verfahren, bei dem die Veränderung der Laser-Lichtstreuung durch Konzentrationsänderungen des zu analysierenden Moleküls selektiv erfaßt werden sollen. Als Ursache dieses Phänomens wurde fälschlicherweise die Bildung von Molekülaggregaten schon bei unerwartet niedrigen Konzentrationen angenommen. Diese Aggregate sollten sich direkt auf die Streuung des Laserlichts auswirken. Neuere Untersuchungen haben



jedoch gezeigt, daß es sich hierbei nicht um einen direkten Einfluß der Molekülaggregate, sondern um einen Grenzflächeneffekt von Zellen und größeren Strukturen handelt [74-81]. Durch die Veränderung des Brechungsindex des umgebenden Mediums, z.B. durch eine Variation der Glucosekonzentration, verändert sich die Streuung an den Zellen [82, 83]. In der Summe führt dies zu einer Änderung der Streueigenschaften der Haut. Analog zum Absorptionskoeffizienten μ_a lassen sie sich durch den Streukoeffizienten μ_s beschreiben. Um diese Parameter zu bestimmen, mißt man die Reflexion in Abhängigkeit von der Entfernung zur Lichtquelle (Abb. 5). Aus

dem Verlauf lassen sich, durch Regression der Intensitätswerte auf ein Hautmodell (z.B. Diffusionstheorie, Abschn. 3.3), die Parameter ermitteln. Der Einfluß von μ_a und μ_s auf die Reflexion ändert sich mit der Ortskoordinate. Erst diese unterschiedliche Sensitivität ermöglicht die Trennung der Variablen. Die Beeinflussung des Streukoeffizienten μ_s durch die Glucosekonzentration ist der Ausgangspunkt für die hier gewählte nichtinvasive Methode.

Die Bestimmung der Streu- und Absorptionsparameter der Haut ist sehr schwierig. Das Hauptproblem bei dem hier vorgestellten Verfahren zur nichtinvasiven Glucosemessung stellt das physikalische Modell der Lichtausbreitung dar. Trotz komplexer Mathematik können die wahren Verhältnisse nur näherungsweise und nur in einem engen Bereich erfaßt werden. Die geringe Spezifität des Streuparameters erschwert zudem eine Trennung von anderen physiologischen Veränderungen. Der Grund, diesen Weg trotzdem zu beschreiten, ist die Tatsache, daß die Sensitivität des Streuparameters auf Konzentrationsänderungen der Glucose relativ hoch ist. Von ROE wird für die spektroskopische Bestimmung im NIR-Bereich ein Wert von 0.001% pro 10mg Glucoseänderung angegeben [23]. In unseren Versuchen zeigte sich eine Sensitivität von ca. 0.1%. Da gleichzeitig noch die Absorption bestimmt wird, hat man Zugriff auf weitere physiologische Variablen. Mit den so gewonnenen Informationen kann man die mangelnde Spezifität kompensieren.

3.1 Aufbau der Haut

In der chinesischen Medizin wird die Haut „der Spiegel der Seele“ genannt. Diese Bezeichnung wird verständlich, betrachtet man die vielfältigen Einflüsse auf dieses Organ. Die Haut ist nicht nur einfach das begrenzende Element des Körpers. Sie ist sehr komplex aufgebaut und erfüllt viele Aufgaben. Sie schützt den Körper vor mechanischen Kräften, bildet eine Barriere gegen die UV-Strahlung und Bakterien, sorgt für die Regulation der Körpertemperatur durch Verdunstung, Veränderung der Durchblutung oder Aufrichten der (verbliebenen) Behaarung. Eine Vielzahl von Rezeptoren ist für die Wahrnehmung von äußeren Reizen vorhanden. Der Hautstoffwechsel reagiert sehr empfindlich auf hormonelle Veränderungen und Umweltnoxen. Im folgenden sollen die wichtigsten Hautbestandteile erläutert und die Auswirkungen auf die interessierenden Streu- und Absorptionseigenschaften aufgezeigt werden.

3.1.1 Epidermis

Die äußerste Hautschicht bildet die Epidermis (Oberhaut). Sie ist ein gefäßloses Gewebe aus mehreren Schichten verschiedener Zellen (Abb. 6). Aufgrund ihrer Textur, der Protein-Lipidstruktur und der Vielzahl von Enzymen bildet sie einen sehr wirkungsvollen Schutz gegen chemische, mechanische und biologische Einflüsse. Zudem absor-

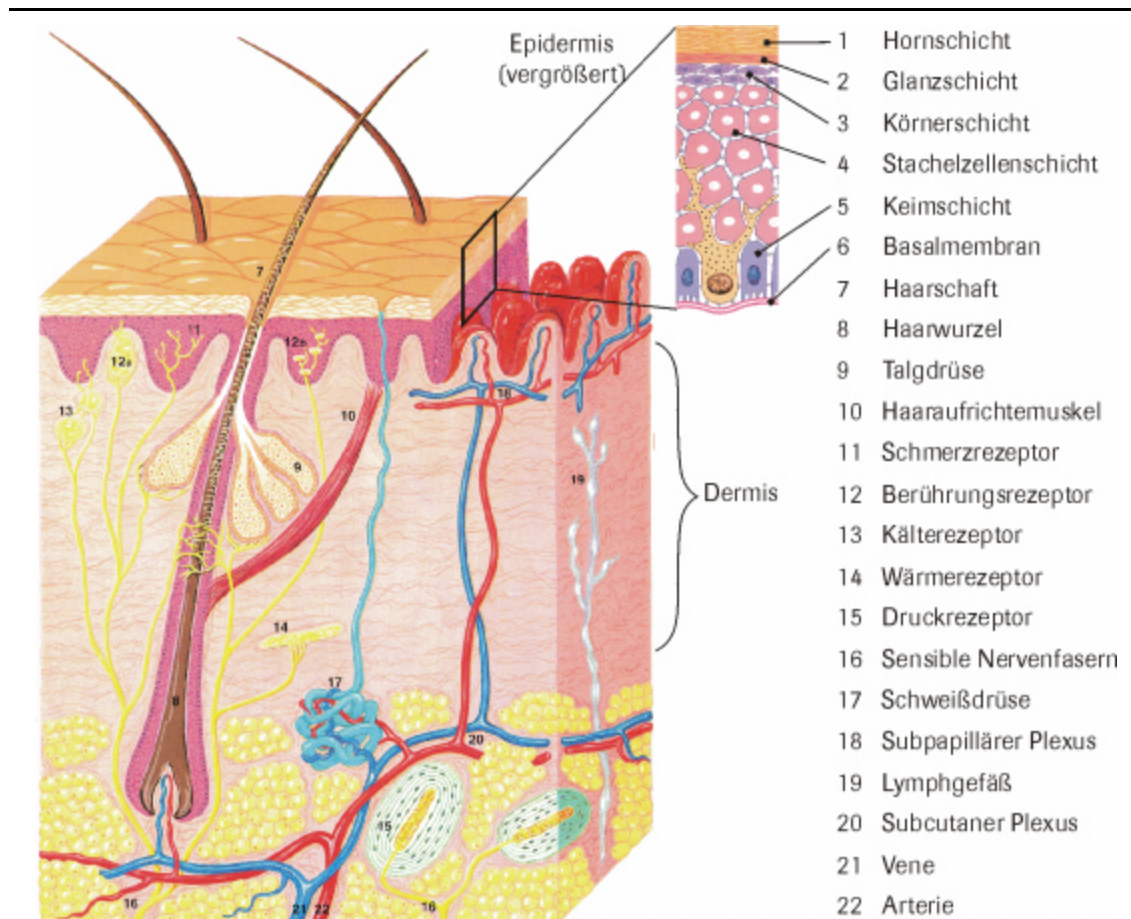


Abb. 6 Aufbau der Haut [84]

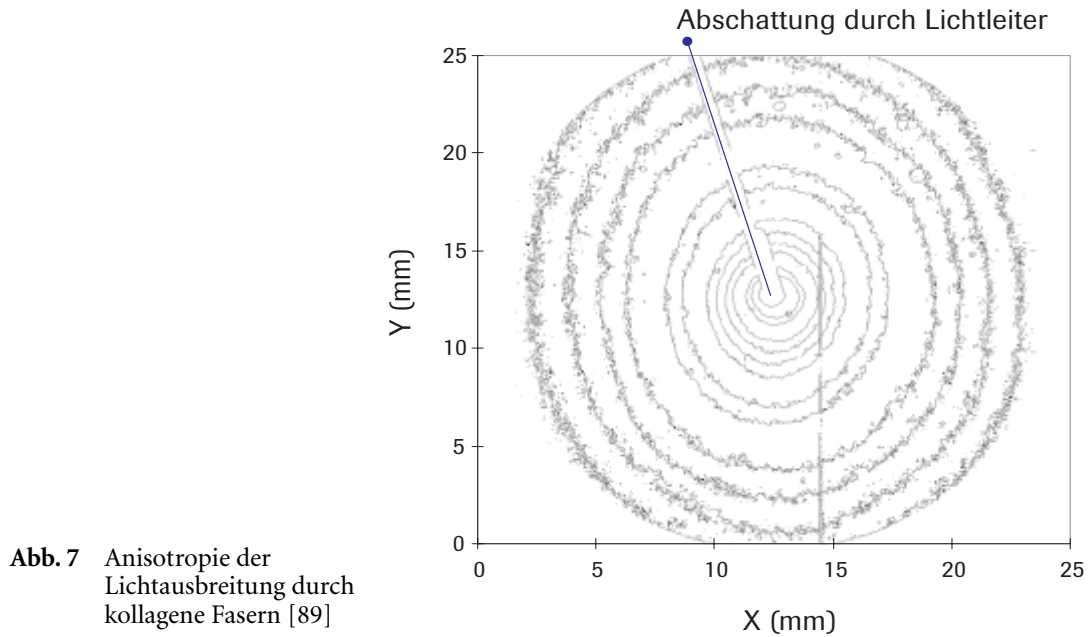
biert sie schädliche UV-Strahlung. Die Zellen, die die Epidermis aufbauen, entstehen im Stratum basale (Keimschicht). Sie wandern an die Hautoberfläche, verhornen dabei und werden nach Erfüllung ihrer Barrierefunktion (Stratum corneum) nach 4–6 Wochen abgestoßen. Die Oberhaut hat eine Dicke von ca. 50–150 µm, kann an den stark verhornten Partien der Hände und Füße aber bis zu 1.2 mm dick werden. In der Keimschicht wird von den Melanozyten das die Hautfarbe bestimmende Melanin gebildet.

Die Absorption dieser Schicht wird durch Wasser und Melanin bestimmt (Abb. 4 , S. 15). Obgleich die Zellen dicht gepackt sind, ist die Streuung im Stratum corneum relativ gering. Bei längerem Kontakt mit Wasser quillt die Hornschicht. Untersuchungen mit optischer Kohärenztomographie (OCT) durch KNÜTTEL *et al.* weisen darauf hin, daß dabei die Lichtstreuung zunimmt [85]. Weil die Schicht sehr dünn ist, ist ihr Beitrag zum Gesamtsignal sehr klein. Diese Veränderungen stellen allerdings eine potentielle Quelle für Driften dar, da sich die optische Ankopplung des Meßsystems dadurch verändert.

3.1.2 Dermis

Die Dermis besteht zu 90 % aus festem Bindegewebe. Es wird durch netzartig durchflochtene Bündel kollagener Fasern sowie elastischem und retikulärem Gewebe gebildet. Ihre Dicke variiert zwischen 0.5 und 3 mm. Eingebettet in das Gerüst liegt ein weitverzweigtes Gefäßnetz. Dieser Gefäßplexus reagiert sehr empfindlich auf viele Reize, die auf die Haut treffen. Hier laufen die meisten entzündlichen Reaktionen der Haut ab. Durch das überproportionierte Gefäßsystem kann der Wärmehaushalt des Körpers kontrolliert werden. In der Schicht befinden sich Rezeptoren für verschiedene Reize und die meisten Hautanhangsgebilde. Der Wassergehalt der Dermis kann stark variieren.

Simulationen haben gezeigt, daß die bei der Reflexionsmessung erfaßten Photonen den größten Teil ihres Weges in der Dermis zurückgelegt haben [86]. Daher tragen die optischen Eigenschaften dieser Schicht entscheidend zum Gesamtsignal bei. Absorbierende Substanzen sind Wasser und Blut. Sowohl oxigeniertes (HbO_2) als auch deoxigeniertes Hämoglobin (Hb) sind von spektroskopischer Bedeutung. Die Streuung in dem von uns betrachteten Wellenlängenbereich von 600–950 nm findet hauptsächlich an den kollagenen Faserstrukturen statt [87]. Dazu kommt der Beitrag der RAYLEIGH-Streuung an kleineren Strukturen. Die Streuung des Lichts in der Dermis erfolgt nicht isotrop (Abb. 7). In einer Richtung breitet sich das Licht weiter aus als in der dazu orthogonalen. Der Effekt wurde erstmalig von NICKELL [88] beobachtet. Diese Vorzugsrichtungen stimmen mit den LANGER-Spaltlinien überein. Man kann daher annehmen, daß die Kollagenfasern parallel zu diesen Linien ausgerichtet sind. Bedingt durch den in dieser Schicht befindlichen Gefäßplexus sind schnelle Temperaturänderungen möglich. Die Regulation der Körpertemperatur erfolgt hauptsächlich durch variierende Durchblutung der Dermis. Die Absorption wird dabei sehr stark beeinflußt. Der Brechungs-



index und somit die Streuung reagieren gleichfalls empfindlich auf die Temperaturschwankung.

3.1.3 Subcutis

Die Unterhaut (Subcutis) ist nicht scharf von der Dermis abgegrenzt. Sie dient als Fettspeicher und Wärmeisolator. Die Fettläppchen sind von straffem Bindegewebe umschlossen. Die Größe der Depotschicht liegt im Bereich von 5–100 mm und variiert sehr stark. Im Gegensatz zur Dermis ändert sich die Durchblutung dieser Hautschicht relativ wenig. Die ständig ablaufenden Stoffwechselprozesse sorgen für einen kontinuierlichen Blutfluß zu den Zellen.

Sichere Angaben über die optischen Eigenschaften der Subcutis *in vivo* liegen nicht vor. Oft werden aus Durchlichtmessungen von Brustgewebe abgeschätzte Eigenschaften übertragen [90]. Der Streukoeffizient hat eine vergleichbare Größe mit dem in der Dermis gemessenen. Allerdings ist der Absorptionskoeffizient etwa zehnmal niedriger.

3.2 Spektroskopie – Reflexionsmessungen

Die Wechselwirkungen von elektromagnetischer Strahlung und zu untersuchender Materie liefern dem Analytiker vielfältigste Informationen. Die optische Spektroskopie ist eine der Säulen der modernen quantitativen und qualitativen Analytik [11, 91]. Die

Grundlagen dafür wurden von BOUGUER und LAMBERT bereits im 18. Jahrhundert gelegt. Zusammen mit der durch BEER gefundenen Abhängigkeit der Extinktion von der Konzentration erhält man das LAMBERT-BEERSche Gesetz (Gl. 5).

$$E = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \cdot d = \lg \frac{I_0}{I} \quad (5)$$

Als Extinktion E bezeichnet man den dekadischen Logarithmus des Quotienten von eingestrahlttem I_0 und unverändert transmittiertem Licht I . Sie ist eine Funktion der optischen Pfadlänge d , des Extinktionskoeffizienten ε_{λ} und der Konzentration c .

Die Absorption von Licht in der Haut unterliegt ebenfalls diesem Gesetz. Allerdings kann es in seiner ursprünglichen Form nicht für die Diagnostik *in vivo* genutzt werden. Im diagnostischen Fenster (Abb. 4, S. 15) dominiert die Streuung und führt zu nicht-linearen Abweichungen. Zudem ist die Anzahl der möglichen Orte für Transmissionsmessungen sehr klein. Daher wird zumeist die diffuse Reflexion R bestimmt. Um lineare Kalibrationsmethoden nutzen zu können, transformiert man die Reflexionswerte durch $E = -\lg\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\lg(R)$ in scheinbare Extinktionen. Es ist jedoch möglich, den Zusammenhang zwischen Signal und Analytkonzentration durch die KUBELKA-MUNK-Funktion (Gl. 6) zu korrigieren. Voraussetzung dafür ist, daß es sich um dicke (ab ~ 1 mm), lichtundurchlässige Schichten handelt.

$$F(R) = \frac{(1-R)^2}{2R} = \frac{K}{S} = \frac{\varepsilon_{\lambda} c}{S} \quad (6)$$

Die gemessene Reflexion hängt danach vom Verhältnis von Absorptionskoeffizient K und dem Streukoeffizienten S ab. Denselben Zusammenhang und dieselben Bezeichnungen, allerdings anders definiert, findet man bei der Diffusionstheorie wieder. Dagegen sind hier der Absorptionskoeffizient μ_a und der im LAMBERT-BEERSchen Gesetz vorkommende Extinktionskoeffizient ε_{λ} direkt verknüpft (Gl. 7).

$$\mu_a = \frac{1}{d} \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = \varepsilon_{\lambda} \cdot c \quad (7)$$

Dieser Zusammenhang bietet eine Möglichkeit, die durch Regression der Reflexionsdaten gewonnen Werte für μ_a und μ_s zu kontrollieren. Weil die Versuche *in vivo*

durchgeführt werden, sind Wiederholung und statistische Absicherung schwer möglich. Da das Modell Diffusionstheorie (Abschn. 3.3) mit vielen Annahmen arbeitet, ist sein Gültigkeitsbereich beschränkt. Diese Grenzen zu erkennen, ist schwierig. Geht man davon aus, daß nur Absorptions- und Streukoeffizient zusammen die optischen Verhältnisse der Haut richtig beschreiben, kann man die Gültigkeit der Modellierung durch die Diffusionstheorie beurteilen. Da die Streueigenschaften der Haut *in vivo* auf anderem Wege nicht zugänglich sind, ist es notwendig, ein physiologisches Merkmal zu finden, dessen Änderung sich ausschließlich in der Absorption widerspiegelt. Weil beide Methoden mit unterschiedlichen Annahmen arbeiten müssen, sind die Absolutwerte nicht vergleichbar. Stimmen aber die relativen Änderungen der Absorption mit denen von μ_a überein, ist das ein Indiz für die Richtigkeit der für die Diffusionstheorie geschätzten Parameter.

Der für den Großteil der Messungen eingesetzte Sensor NIT 1.37 (Abschn. 4.2) verfügt über mehrere Lichtquellen verschiedener Wellenlängen. Sie sind so ausgewählt, daß sie die Absorptionsmaxima von Hb, HbO₂ und den isosbestischen Punkt (Extinktionskoeffizienten HbO₂ = Hb) abdecken (Abb. 4, S.15). Damit ließe sich der Oxigenierungsgrad über eine Mehrkomponentenanalyse, basierend auf dem LAMBERT-BEERschen Gesetz, bestimmen. Man benötigt hierzu Angaben über die optische Pfadlänge, die experimentell nicht zugänglich sind. Die zeitliche Änderung der Sauerstoffsättigung des Gewebes kann aber auch durch einfache Verhältnisbildung zweier Intensitäten bei unterschiedlichen Wellenlängen verfolgt werden. Allerdings unter zwei Annahmen: Veränderungen der Lichtstreuung über die Zeit wirken sich auf beide Wellenlängen gleichermaßen aus, und die Reflexionswerte, gemessen in großem Abstand zur Lichtquelle, werden durch die Absorption dominiert. Versuche haben gezeigt, daß diese Approximation das reale Verhalten gut widerspiegelt. Der Oxigenierungsgrad ist eine der wenigen leicht zu beeinflussenden und zu verstehenden physiologischen Variablen. Daher ist sie als Kontrollgröße sehr willkommen. Man hat mit ihr ein Merkmal, das nur durch die Absorption im Gewebe bestimmt wird. Bildet man die gleichen Verhältnisse aus den μ_a -Werten, sind die Veränderungen direkt vergleichbar. Stimmen die Zeitreihen überein, kann man annehmen, daß die durch Regression erhaltenen Werte für die Diffusionstheorie näherungsweise richtig sind und die Gegebenheiten in der Haut akzeptabel abbilden.

3.3 Diffusionstheorie als Modell der Lichtausbreitung in der Haut

Der Laser erschließt völlig neue therapeutische und diagnostische Möglichkeiten. Das größte aktuelle Anwendungsgebiet in der Medizin ist der Einsatz als chirurgisches Instrument. Er ist jedoch ein schwierig zu handhabendes Werkzeug. Seine Wirkung ist nicht wie bei einem Skalpell einfach durch „mechanische Rückkopplung“ zu dosieren. Daraus resultiert das große Interesse an den optischen Eigenschaften von Gewebe *in vivo*. Mit Hilfe dieser Daten ist es möglich, die Wirkung im voraus abzuschätzen und den Eingriff so klein wie nötig zu gestalten. So ist es nicht verwunderlich, daß viele Erkenntnisse zur Lichtausbreitung im Gewebe im Umfeld der Krebsforschung gewonnen wurden. Ein detaillierter Überblick zu diesem Thema ist bei ESSENPREIS [92] zu finden. Die Arbeiten von PATTERSON [93] und WILSON [94] beschreiben die unterschiedlichen Meßprinzipien, Kenngrößen für Absorption und Streuung in biologischen Materialien zu ermitteln.

Der Versuch, ein so heterogenes Medium wie Haut durch ein physikalisches Modell zu beschreiben, kann nur näherungsweise Lösungen erbringen. Es ist daher notwendig, dem Problem angemessene Vereinfachungen vorzunehmen.

Ist das streuende Teilchen deutlich kleiner als die Wellenlänge der Strahlung, so liegt RAYLEIGH-Streuung vor. Im umgekehrten Fall handelt es sich um reguläre oder FRESNEL-Reflexion. Diese vereinfachten Beschreibungen sind nicht anwendbar, wenn Wellenlänge und Teilchengröße vergleichbar sind. In der hier betrachteten Anwendung ist das der Fall. Die Streuung erfolgt an Strukturen, deren Abmessungen in der gleichen Größenordnung wie die Wellenlänge der Strahlung liegen. Daher muß die übergreifende und sehr komplexe MIE-Theorie angewandt werden [95]. Sie baut auf einer speziellen Phasenfunktion auf. Diese ist allerdings nur für kugel- und zylinderförmige Streuzentren analytisch lösbar.

Zur Beschreibung der Streuung in einem makroskopischen Körper müssen die Gleichungen der MIE-Phasenfunktion mit einem Modell für die Ausbreitung im Medium kombiniert werden. Die BOLTZMANN-Transportgleichung (Gl. 8) eignet sich zur Abbildung solcher Prozesse. Sie gestattet den Übergang von einem diskreten zu einem kontinuierlichem Modell. Es wird möglich, die Lichtausbreitung durch Streu- und Absorptionskoeffizient zu beschreiben.

$$\frac{1}{c_A} \frac{\partial L(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t)}{\partial t} + \nabla L(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t) \cdot \hat{\mathbf{s}} = -(\mu_s + \mu_a) L(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t) + \mu_s \iint_{4\pi} L(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}', t) f(\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}') d\Omega' + Q(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t) \quad (8)$$

Der Term² $L(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t)$ steht für die Strahlung am Ort $\mathbf{r}$ zur Zeit t in Richtung $\hat{\mathbf{s}}$. Die linke Seite der Gleichung beschreibt die räumliche und zeitliche Veränderung der Strahlung. Der erste Term der rechten Seite repräsentiert die Abschwächung der Intensität durch Streuung und Absorption. Die Koeffizienten μ_a und μ_s sind wieder die Werte der charakteristischen Absorptions- bzw. Streueigenschaften. Das Integral über alle Raumwinkel Ω' der aus $\hat{\mathbf{s}}'$ nach $\hat{\mathbf{s}}$ gestreuten Photonen und $Q(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t)$ sind Quellterme dieser Differentialgleichung. Die Phasenfunktion $f(\hat{\mathbf{s}} \cdot \hat{\mathbf{s}}')$ beschreibt hier die Wahrscheinlichkeit, daß ein Photon aus Richtung $\hat{\mathbf{s}}'$ nach $\hat{\mathbf{s}}$ gestreut wird. Dafür wird die MIE-Phasenfunktion verwandt. Oft wird statt ihrer eine einfachere Näherung, z.B. die HENY-GEENSTEIN-Phasenfunktion, eingesetzt [94]. Der Quotient aus Lichtgeschwindigkeit im Vakuum c_0 und Brechungsindex n bildet die Ausbreitungsgeschwindigkeit c_A im Medium.

Eine analytisch exakte Lösung dieser Differentialgleichung unter Berücksichtigung der geometrischen Randbedingungen ist für realistische Problemstellungen im allgemeinen nicht möglich. Mittels aufwendiger und diffiziler Finite-Elemente-Simulationen sind numerische Näherungen möglich. Dieses Verfahren ist in der Gewebeoptik wenig gebräuchlich.

Ein alternativer Ansatz basiert auf Monte-Carlo-Simulationen [87]. Mit ihnen ist es möglich, die Streu- und Absorptionsprozesse im Medium zu simulieren. Dazu wird der Weg eines statistischen Kollektivs einfallender Photonen berechnet. Aus der erhaltenen Verteilungsfunktion kann der Intensitätsabfall in Abhängigkeit von der Entfernung zur Lichtquelle ermittelt werden. Die Qualität der Ergebnisse hängt von den vorgegebenen optischen Parametern und dem Modell des räumlichen Aufbaus des Mediums sowie den algorithmischen Vereinfachungen ab. Monte-Carlo-Rechnungen sind extrem rechenzeitaufwendig, und es ist prinzipbedingt nicht möglich, aus gemessenen Daten

² Das Zeichen $\hat{}$ kennzeichnet hier einen Ortsvektor der Länge 1

auf die Parameter μ_a und μ'_s des durchleuchteten Volumens zurückzuschließen. Jedoch können mit diesen Daten neuronale Netze zur Funktionsapproximation trainiert werden. Aufgrund des großen Rechenzeitbedarfs zur Erstellung einer einzelnen Monte-Carlo-Simulation ist es sehr aufwendig, einen Datensatz mit hinreichender Abdeckung des Datenraums zu erstellen. Diese Simulationen sind somit eher zur Überprüfung von Streu- und Absorptionsparametern geeignet, welche mit anderen Methoden berechnet wurden.

Ein Beispiel dafür ist die Diffusionstheorie. Sie ist eine Näherungslösung der BOLTZMANN-Transportgleichung (Gl. 8) und wurde ursprünglich für die Modellierung der Neutronenausbreitung, z.B. in Kernreaktoren, entwickelt [96]. Durch KEIJZER [97] erfolgte die Übertragung auf die Probleme der Gewebeoptik. Photonen werden dabei als Teilchen betrachtet, die von einer Lichtquelle ausgehend durch das Medium diffundieren.

Für die Modellbildung wird angenommen, daß die Streuprozesse elastisch sind und sich Interferenzeffekte im Mittel aufheben [89, 98]. Weiterhin geht man davon aus, daß das Medium homogen ist. Die Strahlung $L(\mathbf{r}, \hat{\mathbf{s}}, t)$ wird durch einen Multipolansatz approximiert. Diese Reihenentwicklung erfolgt bis zum Dipolterm. Das ist jedoch nur zulässig, wenn die Strahlung nahezu isotrop ist. Diese Bedingung ist näherungsweise erfüllt wenn $\mu_s \gg \mu_a$ gilt. Da im biologischen Gewebe der Streukoeffizient im Bereich des diagnostischen Fensters etwa hundertmal größer ist als der Absorptionskoeffizient, ist dies gegeben. An Stelle von μ_s wird der reduzierte Streukoeffizient μ'_s eingeführt. Er ist definiert durch $\mu'_s = (1-g)\mu_s$. Der Cosinus des mittleren Streuwinkels zwischen $\hat{\mathbf{s}}$ und $\hat{\mathbf{s}}'$ ist der Anisotropiefaktor g . Betrachtet man nur den statischen Fall, erhält man die allgemeine Diffusionsgleichung (Gl. 9). Der Term $S(\mathbf{r})$ modelliert die Lichtquelle, während $\mu_a \phi(\mathbf{r})$ die absorbierte Strahlung darstellt. Den gestreuten Anteil des Strahlungsflusses ϕ beschreibt $D \nabla^2 \phi(\mathbf{r})$.

$$D \nabla^2 \phi(\mathbf{r}) - \mu_a \phi(\mathbf{r}) = -S(\mathbf{r}) \quad (9)$$

Die Differentialgleichung (Gl. 9) muß an die Geometrie der Meßumgebung angepaßt werden. Durch eine Reihe von mathematischen Randbedingungen erhält man ein Modell, welches einen homogenen Halbraum mit extrapolierte Grenzfläche („extrapolated boundary“) beschreibt und der Regression zugänglich ist. Da es nicht Ziel

dieser Arbeit war, die Diffusionsnäherung zu vervollkommen, sei für die ausführliche Darstellung auf HERMANN [89] und FARRELL [98] verwiesen. Die Arbeit von NICKELL beleuchtet die theoretischen Aspekte der Reflexionen an der Grenzfläche Haut-Sensor erschöpfend [88].

3.4 Kalibrationsverfahren

Die große Zahl unbekannter und variabler Einflußgrößen auf den Streukoeffizienten verhindern es, ein allgemeingültiges Modell über den Zusammenhang zur Glucose aufzustellen. Ein großer Teil der inter- und intraindividuellen Variabilität der Messungen wird durch die Heterogenität der Haut bestimmt. Auch die Güte der Ankopplung des Werteaufnehmers und der Lichtquelle an den Meßort sowie die Sensoren selbst unterliegen einer gewissen Streuung. Durch die Kalibration des Meßsystems können einige der Matrixeffekte kompensiert werden.

3.4.1 Anforderungen an die Kalibration eines *in vivo*-Sensors

Es ist bereits seit PARACELsus bekannt, daß allein die Dosis einer Substanz über Nutzen oder Schaden entscheidet [6]. Bei der Gabe von Insulin wird dies gut sichtbar. In zu großen Mengen verabreicht, hat es fatale Folgen (Abschn. 2.1.3). Mit den gemessenen Glucosewerten werden die benötigten Insulindosen festgelegt. Daher müssen die Meßsysteme hohe Anforderungen erfüllen. Der Kalibration des Sensors kommt eine entscheidende Rolle zu. Sie paßt das System an die aktuelle Matrix an. Treten dabei Fehler auf, erhält man systematisch falsche Angaben. Die sicherste Methode, das zu vermeiden, wäre ein Verfahren, welches vom Patienten unabhängig ist. Bis zur Erreichung dieses Ziels wird noch einige Zeit vergehen.

Bei der Konzeption einer Kalibrationsprozedur für einen Glucosesensor müssen Sicherheit und Praktikabilität gewährleistet sein. Es ist dabei anzustreben, daß der Patient den Sensor selbst appliziert und ihn auf die aktuellen Gegebenheiten kalibriert. Es stehen ihm nur die üblichen Geräte zur Blutzuckerselbstkontrolle zur Verfügung (Abschn. 2.2.1). Mit einem zufälligen Fehler von bis zu 20 % sind sie nicht mit den klinischen Analysatoren (HK-Methode in Blutplasma) vergleichbar, deren Präzision ca. 3 % erreicht. Somit sollten immer Mehrfachmessungen die Referenzpunkte liefern. Es müßte getestet werden, ob die gewonnenen Daten innerhalb der Schwankungsbreite der Referenzmethode liegen und gegebenenfalls ein neuer Wert angefordert werden. Da sie

invasiv ermittelt werden, ist ihre Anzahl begrenzt. Eine vernünftige Kalibration muß mit wenigen Referenzmessungen den gesamten Meßbereich ohne Extrapolation abdecken. Es sind deshalb mindestens zwei Bestimmungen bei unterschiedlichen Glucosewerten notwendig. Die Anpassung sollte über die gesamte Tragezeit des Sensors gültig bleiben. Da eine gezielte Variation des Glucosespiegels nicht möglich ist, muß die Kalibrationsroutine mit beliebigen, allerdings über einem gewissen Mindestwert liegenden Änderungen, arbeiten können. Zusätzliche Glucosebestimmungen sollten das Kalibrationsmodell erweitern. Der möglichen Zeitdifferenz zwischen der Blutglucose und dem Meßsignal (Abschn. 2.2.2) hat die Prozedur ebenfalls Rechnung zu tragen. Die mathematischen Algorithmen müssen nicht zuletzt aufgrund gesetzlicher Zulassungsvorschriften deterministisch bestimmt sein und sehr robust arbeiten. Die Implementierung ist so zu gestalten, daß sie von den Patienten akzeptiert wird und sich in deren normalen Tagesablauf integrieren läßt.

Eine Kalibration könnte so ablaufen: Der Patient appliziert den Sensor. Nach etwa einer Stunde ist die Einlaufphase abgeschlossen, und die erste Reihe von Referenzmessungen kann vorgenommen werden. Die Prozedur beginnt vor einer Mahlzeit, um einen möglichst breiten Wertebereich zu kalibrieren. Steigt die Glucose postprandial an, wird der Patient durch das Gerät aufgefordert, einen zweiten Referenzpunkt zu bestimmen. Es ist zu beachten, daß dies erst erfolgt, wenn das Signal einen stabilen Zustand erreicht hat. Dann befinden sich Blut- und Gewebsglucose im Gleichgewicht und eventuell vorhandene Zeitdifferenzen spielen keine große Rolle mehr. Eine tägliche Kontrollmessung überprüft die Funktion des Systems. Mit den dabei gemessenen Daten kann die Kalibration kontrolliert und erweitert werden.

Mit der beschriebenen Vorgehensweise läßt sich allerdings ein vorhandenes Meßmodell nur in Lage und Steilheit adjustieren. Es ist vorstellbar, daß die im Lauf der Zeit durch den Sensor gewonnenen Daten zu einem patientenspezifischen Kalibrationsmodell führen und die Zahl der Referenzmessungen reduziert werden könnte. Dafür bieten sich verschiedene Verfahren des Soft-Computings an.

Der Entwicklungsstand des nichtinvasiven Glucosesensors gestattet ein solches Vorgehen für die Erstellung von Meßmodellen zur Zeit noch nicht. Zu viele Einflußgrößen sind bisher nicht oder nur unvollständig aufgeklärt. Bei der Konzeption der Datenauswertungen wurde jedoch versucht, die Randbedingungen einer durch den Patienten auszuführenden Kalibration zu berücksichtigen.

3.4.2 Lineare Kalibration

In der analytischen Chemie steht man oft vor dem Problem, den Zusammenhang zwischen einer physikalische Meßgröße, z.B. einem Photostrom, mit einer Konzentrationsgröße modellieren zu wollen. Wenn der Zusammenhang zwischen der unabhängigen und der abhängigen Variablen linear ist und Störeinflüsse vernachlässigbar klein sind, kann die Abhängigkeit durch ein lineares Modell beschrieben werden (Gl. 10). Die einfache lineare Regression gestattet, die für die univariate Kalibration benötigten Parameter Achsenabschnitt b_0 und Steigung b_1 zu berechnen. Diese Methode ist erprobt und statistisch abgesichert. Mit ihr gelingt es aber nur, den Zusammenhang zwischen einer einzelnen unabhängigen Variablen x und einer abhängigen Größe y zu modellieren (Gl. 10).

$$y = b_0 \cdot 1 + b_1 x \quad (10)$$

Sollen Zielgrößen parallel bestimmt werden oder sind die Störungen nicht mehr vernachlässigbar, genügt dieses einfache Modell nicht mehr. In vielen Fällen ist es möglich, die Zusammenhänge als Linearkombination der Einzeleffekte zu beschreiben. Durch den Übergang zu Matrizen gelangt man zur Gleichung 11. Sie stellt die Basis der multivariaten Kalibration dar. Die Gleichung – sie bildet ein Modell – beschreibt den Zusammenhang von m Zielgrößen aus n Proben mit je p Merkmalen.

$$\begin{pmatrix} y_{11} & y_{12} & \cdots & y_{1m} \\ y_{21} & y_{22} & \cdots & y_{2m} \\ \vdots & & & \\ y_{n1} & y_{n2} & \cdots & y_{nm} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 1 & x_{11} & \cdots & x_{1p} \\ 1 & x_{12} & \cdots & x_{2p} \\ \vdots & & & \\ 1 & x_{n1} & \cdots & x_{np} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} b_{01} & b_{02} & \cdots & b_{0m} \\ b_{11} & b_{12} & \cdots & b_{1m} \\ \vdots & & & \\ b_{p1} & b_{p2} & \cdots & b_{pm} \end{pmatrix} \quad (11)$$

In der kompakten Matrixschreibweise erhält man:

$$\mathbf{Y} = \mathbf{XB} \quad (12)$$

Hierbei ist $\mathbf{Y}$ wiederum die Matrix der abhängigen und $\mathbf{X}$ die der unabhängigen Variablen. In $\mathbf{B}$ finden sich die Regressionsparameter. Wenn $\mathbf{X}$ nicht symmetrisch, die Zahl der Proben n also größer als die der Merkmale p ist, erhält man überbestimmte

Gleichungssysteme, die nicht mehr direkt zu lösen sind. Werden dabei die Merkmale $\mathbf{X}$ auf die Zielgrößen $\mathbf{Y}$ regressiert, handelt es sich um eine inverse Kalibration. Man bestimmt die Parametermatrix $\mathbf{B}$ dann über die generalisierte Inverse (Gl. 13).

$$\mathbf{B} = (\mathbf{X}^T \mathbf{X})^{-1} \mathbf{X}^T \mathbf{Y} \quad (13)$$

Bei der Regression nach der Methode der kleinsten GAUßschen Fehlerquadrate (OLS) wird die Spaltenzahl p der $\mathbf{X}$ -Matrix beibehalten. Daher bezeichnet man die Matrix der Parameter $\mathbf{B}$ als unverzerrten (unbiased) Schätzer. Für eine Zielgröße y lassen sich die Einzelwerte gemäß der Gleichungen (Gl. 14) berechnen.

$$\begin{aligned} y_{11} &= b_{01} \cdot 1 + b_{11} \cdot x_{11} + b_{21} \cdot x_{12} + \dots b_{p1} \cdot x_{1p} \\ y_{21} &= b_{01} \cdot 1 + b_{11} \cdot x_{21} + b_{21} \cdot x_{22} + \dots b_{p1} \cdot x_{2p} \\ &\vdots \\ y_{n1} &= b_{01} \cdot 1 + b_{11} \cdot x_{n1} + b_{21} \cdot x_{n2} + \dots b_{p1} \cdot x_{np} \end{aligned} \quad (14)$$

Mit dem OLS-Verfahren geschätzte Parameter können mit den üblichen statistischen Verfahren auf ihre Signifikanz getestet werden [99–102]. Ein Nachteil dieser Methode ist die Empfindlichkeit gegenüber Ausreißern. Zudem verlangt sie gut konditionierte Daten.

Im Rahmen der Arbeit wurden mit dem OLS-Verfahren Kalibrationsmodelle für die Glucosekonzentration als abhängige Variable y berechnet. Als unabhängige Veränderliche $\mathbf{X}$ dienten Streukoeffizienten, Temperatur und eine driftkorrelierte Größe (Abschn. 5.3.3). Die mit einem mechanistischen Modell bestimmte Größe μ'_s wird um Temperatureinfluß und Drift korrigiert sowie in eine Glucosekonzentration transformiert.

3.4.3 Hauptkomponentenregression

Ein für die Behandlung von hochkorrelierten Daten gut geeignetes Verfahren ist die Hauptkomponentenregression (PCR). Sie kombiniert Hauptkomponentenanalyse und lineare Regression. Im ersten Schritt wird die $\mathbf{X}$ -Matrix so projiziert, daß sich unkorrelierte Variablen ergeben. Diese erklären in abnehmendem Maße die Varianz der Matrix.

Diese Transformation wird z.B. mit Hilfe der Singulärwertzerlegung (SVD) ausgeführt (Gl. 15).

$$\mathbf{X} = \mathbf{U}\mathbf{W}\mathbf{V}^T \quad (15)$$

Dieses Verfahren zerlegt $\mathbf{X}$ in drei spezielle Matrizen (Gl. 16). In $\mathbf{U}$ sind die auf Länge 1 normierten Spaltenvektoren mit den Faktorwerten und in $\mathbf{V}^T$ die Ladungen enthalten. Sie werden auch als linke bzw. rechte Singulärwertvektoren bezeichnet. Die Diagonalmatrix $\mathbf{W}$ beinhaltet die Singulärwerte selbst. Die Indizes n und p kennzeichnen wiederum die Zahl der Proben bzw. die der Merkmale. Werden alle Hauptkomponenten beibehalten, so ist d gleich der Zahl der Merkmale p .

$$\begin{pmatrix} x_{11} & x_{12} & \cdots & x_{1p} \\ x_{21} & x_{22} & \cdots & x_{2p} \\ \vdots & & & \\ x_{n1} & x_{n2} & \cdots & x_{np} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} u_{11} & u_{12} & \cdots & u_{1d} \\ u_{21} & u_{22} & \cdots & u_{2d} \\ \vdots & & & \\ u_{n1} & u_{n2} & \cdots & u_{nd} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} w_{11} & 0 & \cdots & 0 \\ 0 & w_{22} & \cdots & 0 \\ \vdots & & & \\ 0 & 0 & \cdots & w_{dd} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} v_{11} & v_{21} & \cdots & v_{p1} \\ v_{12} & v_{22} & \cdots & v_{p2} \\ \vdots & & & \\ v_{1d} & v_{2d} & \cdots & v_{pd} \end{pmatrix} \quad (16)$$

Die Regressionsparameter $\mathbf{B}$ werden spaltenweise durch die Bildung der pseudo-inversen Matrix $\mathbf{X}^+$, auch MOORE-PENROSE-MATRIX (Gl. 17), berechnet (Gl. 18).

$$\mathbf{X}^+ = \mathbf{V} \left(\text{diag}(1/w_{ij}) \mathbf{U}^T \right) \quad (17)$$

$$\mathbf{b} = \mathbf{X}^+ \mathbf{y} \quad (18)$$

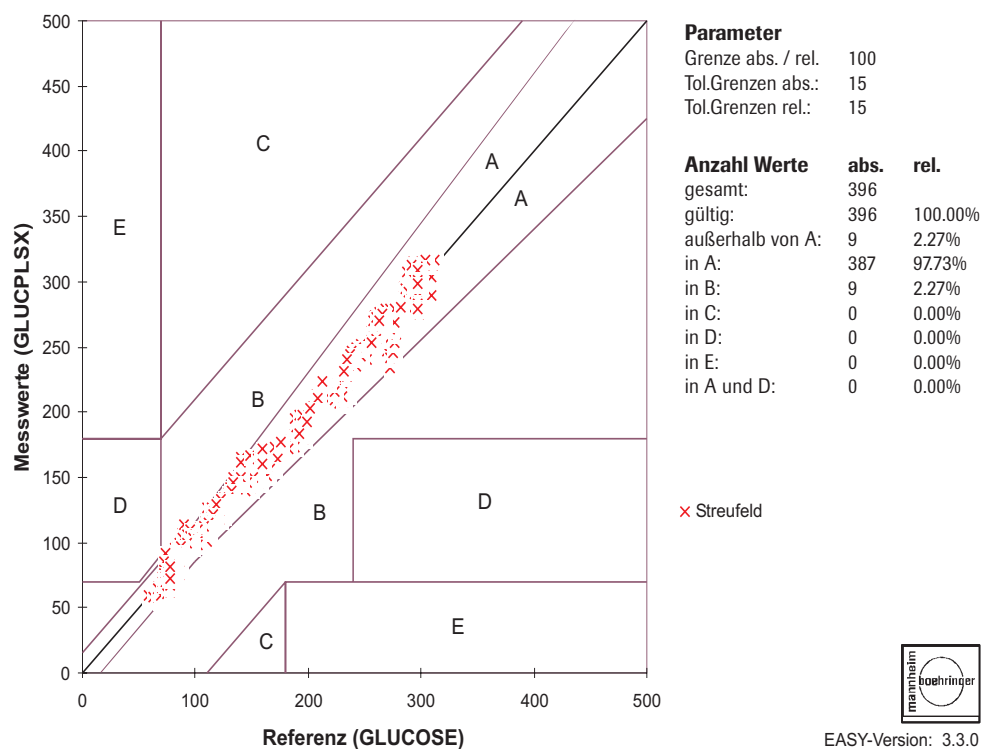
Die Resultate von PCR- und OLS-Lösung sind identisch, wenn die $\mathbf{X}$ -Matrix von vollem Rang ist und die Singulärwerte deutlich verschieden von Null sind. Bei schlecht konditionierten Daten ist das nicht gegeben, und es treten sehr kleine Eigenwerte auf. Im Idealfall repräsentieren diese zufällige Einflüsse und können vernachlässigt werden. Es sind dann die signifikanten Singulärwerte zu wählen und im Modell zu berücksichtigen [99]. Daher bezeichnet man die Hauptkomponentenregression als verzerrtes (biased) Verfahren. Bei der Zerlegung der $\mathbf{X}$ -Matrix werden, im Gegensatz zu PLS, keine Beziehungen zur $\mathbf{Y}$ -Matrix berücksichtigt. Daher ist die Zahl der benötigten Hauptkomponenten größer als bei der in der Literatur bevorzugten PLS-Regression. Jedoch ist

bei PCR die Gefahr geringer, daß das Ergebnis durch Scheinkorrelationen beeinflußt wird.

Die Hauptkomponentenregression wurde genutzt, um Kalibrationen ohne das komplexe mechanistische Modells der Diffusionstheorie zu erstellen (Abschn. 5.3.4). Die verwandten Reflexionsdaten (z.B. Abb. 37, S.84, und 12, S.48) sind stark kollinear und deshalb mit einer einfachen linearen Regression schlecht zu modellieren. Durch die inverse Kalibration können noch unbekannte Einflüsse berücksichtigt werden.

3.5 Ergebnisklassifikation unter medizinischen Aspekten

An Glucosemeßwerte sind wegen der auf ihnen basierenden therapeutischen Entscheidungen besondere Anforderungen zu stellen. Von CLARKE [103, 104] wurde deshalb die „Error Grid Analysis“ (EGA) eingeführt. Es handelt sich um eine Wiederfindungsfunktion mit medizinischer Wichtung der Residuen. Die Einteilung der Fehlerklassen basiert auf der Annahme, daß Glucosewerte kleiner als 70mg/dl angehoben und Konzentrationen größer als 180mg/dl abgesenkt werden sollten. Die in der



Arbeit aufgeführten Ergebnisse der EGA beruhen auf einer modifizierten Variante, die zur Qualitätssicherung bei *Roche Diagnostics* eingesetzt wird. Die tolerablen Fehlerbereiche sind kleiner als beim originalen Schema, und die Zuordnung der Bereiche berücksichtigt einige der von GOUGH [105] angemerkten Schwachpunkte. Eine Vergleichbarkeit mit publizierten Ergebnissen [44, 49, 58] ist gegeben, wenn man berücksichtigt, daß die hier genutzte Variante strengere Bewertungen vornimmt.

Die Zone A beinhaltet die Werte mit einem klinisch akzeptablen zufälligen Fehler von $\pm 15\%$. In B dargestellte Resultate veranlassen keine ungünstigen medizinischen Entscheidungen, befinden sich aber außerhalb der angestrebten Präzision. Bei Angabe von Werten, die in den Zonen C und D liegen, kann es zu einer Überdosierung von Insulin oder Kohlehydraten oder der Unterlassung einer notwendigen Korrektur (D) kommen. Ergebnisse in Zone E führen zu Entscheidungen, die der erforderlichen Therapie entgegengesetzt sind. Resultate in diesem Bereich dürfen unter keinen Umständen auftreten. Wenn sich ein Diabetiker noch Insulin spritzt, obgleich er bereits im Bereich der Hypoglykämie ist, hat das fatale Folgen.

4 Meßtechnik und Auswerteprogramme

Bei einem solch anspruchsvollen Vorhaben wie der *in vivo* Bestimmung von Glucose kommt der Analystechnik eine große Bedeutung zu. Allein ein vollständig verstandenes Meßsystem gestattet es, sich den vielfältigen physiologischen Einflußfaktoren zu widmen. Die gefundenen Ergebnisse schlagen sich immer in technischem und theoretischem Fortschritt nieder. Die vielfältigen Aspekte der nichtinvasiven Glucosemessung führen zu sehr unterschiedlichen Meßgeräten. Nachfolgend sollen die drei in dieser Arbeit benutzten Systeme charakterisiert werden.

4.1 Faseroptisches Spektrometer nach PATTERSON

Das aktuell leistungsfähigste Meßgerät ist ein stationäres Spektrometer, dessen Aufbau (Abb. 9) vom Arbeitskreis um PATTERSON vorgeschlagen wurde [106]. Es handelt sich um ein faseroptisches Gerät mit 36 Kanälen im Wellenlängenbereich von 600–970 nm. Es wird auch als Mark II bezeichnet. An das Spektrometer lassen sich Meßköpfe unterschiedlicher Geometrie anschließen. Seine bekannte Stabilität und die klar definierten optischen Eigenschaften zeichnen es aus.

Als Lichtquelle wird eine stabilisierte Halogenlampe (*L.O.T. Oriol*) verwandt. Die Regelung erfolgt elektronisch über die Messung des abgestrahlten Lichtes. Ein cut-on-Filter (*Andover*) begrenzt das Spektrum bei 700 nm. Das Licht wird in eine einzelne Glasfaser (*Fiberguide*) eingespeist und auf den Faserkoppler geführt. Durch die Verwendung dieser Bauteile ist es möglich, verschiedene Meßköpfe an das Spektrometer anzuschließen. Es werden hier jedoch nur Resultate des nachfolgend beschriebenen Detektors vorgestellt.

Dieser lineare Sensorkopf besteht aus zwei Gruppen von Fasern, die symmetrisch links und rechts zur Beleuchtungsfaser in verschiedenen Abständen (0.8–10 mm) rechtwinklig zur Oberfläche des Meßkopfes geführt werden. Der Durchmesser der Lichtleitfaser beträgt 200 µm bei einer sehr kleinen numerischen Apertur von 0.22. Im Meßkopf ist zusätzlich ein Thermistor integriert, der die aktuelle Temperatur der Hautoberfläche erfaßt.

Mit Ausnahme der Beleuchtungsfaser befindet sich an jedem Koppellement ein Abschwächer. Letzterer ist notwendig, da die Signale die Dynamik der im Spektrometer eingesetzten Kamera übersteigen. Um eine optimale Aussteuerung des AD-Wandlers zu

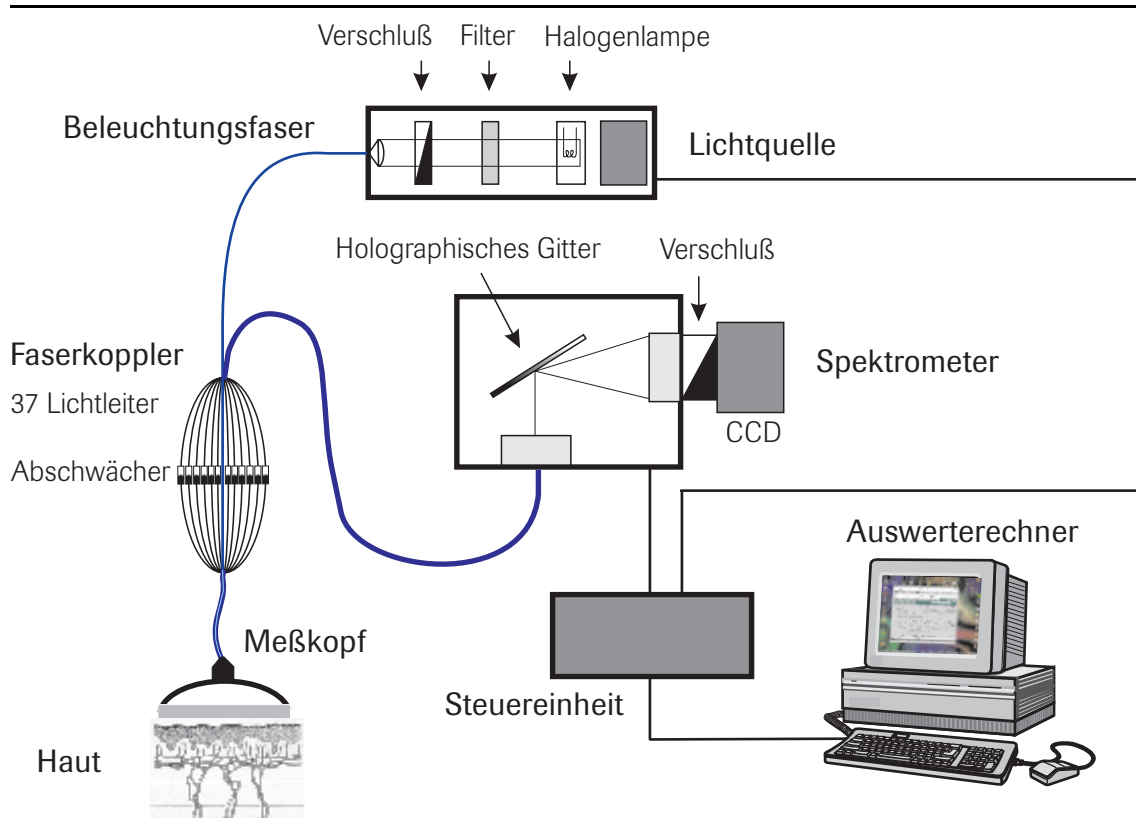


Abb. 9 Faseroptisches Spektrometer zur orts aufgelösten Bestimmung der Reflexion

gewährleisten, erfolgte vor jeder Messung eine Justierung der Einstellungen am vorgesehenen Meßort. Nach dieser Prozedur wurde eine Serie von Kalibrationsmessungen auf der ULBRICHTkugel (*Labsphere*) vorgenommen. Sie gewährleistet eine homogenen Beleuchtung aller Fasern. Die erhaltenen Intensitäten entsprechen der Abschwächung des jeweiligen Kanals. Danach fixiert man den Sensorkopf auf der Haut und die eigentliche Messung beginnt. Dividiert man nachträglich die Intensitätswerte durch den Mittelwert der Kalibration auf der ULBRICHTkugel, erhält man ein Signal mit vollem dynamischen Bereich.

Von den Abschwächern gelangen die Signale direkt zum Spektrometer (*Kaiser Optics*). Die Fasern sind so angeordnet, daß das austretende Licht über ein Linsensystem parallel auf ein holographisches Gitter projiziert wird. Die Verschlüsse vor Beleuchtungsfasern und CCD-Matrix sorgen dafür, daß außerhalb der Belichtungszeit kein Licht auf den Sensor gelangt. Die Kamera (*Princeton Instruments*) ist evakuiert und verwendet einen gekühlten Detektor mit einer Auflösung von 1242×1152 Punkten bei einer Farbtiefe von 16Bit. Die verschiedenen Kanäle werden zeilenweise auf der Matrix

abgebildet. Für ein Spektrum werden 13 von ihnen zusammengefaßt. Die Informationsmenge wird nochmals reduziert, indem man nur bestimmte Wellenlängen auswertet. Durch die Beschränkung auf acht Bereiche mit einer Breite von 5 nm erhält man $2 \times 18 \times 8 = 288$ (Gruppen $\times$ Detektoren $\times$ Wellenlängen) Intensitätswerte für jede Aufnahme. Es werden vier Messungen pro Minute vorgenommen.

Ein relativ geringes Rauschen und eine vernachlässigbare Drift der Meßanordnung wurden durch die Kühlung der CCD-Matrix und die Stabilisierung der Lichtquelle erreicht. Nach einer Einlaufzeit von mehreren Stunden beträgt sie wenige hundert LSB (least significant bit) bei 16 Bit Auflösung [88]. Das entspricht einem Rauschen von ca. 0.3 % bei voller Aussteuerung. Eine Basisliniendrift konnte innerhalb der üblichen Meßdauer nicht beobachtet werden. Die Lichtleitfasern bilden eine potentielle Störungsquelle. Abhängig vom Biegeradius verändert sich der Anteil des an der Faserkrümmung ausgekoppelten Lichtes. Mechanische Beanspruchungen führen gelegentlich zum Faserbruch. Die Umhüllung des Lichtleiters fixiert die gebrochenen Fasern in einem gewissen Maße. So kann es vorkommen, daß trotz dieses Defektes scheinbar ungestörte Meßwerte aufgezeichnet werden. Jedoch führen minimale Veränderungen plötzlich zu chaotischen Resultaten. Durch die Zusammenfassung der Fasern zu einem relativ steifen Bündel beugt man diesen Schäden vor.

4.2 Sensorarray für die orts aufgelöste Messung der Reflexion

Eine vom klassischen Spektrometere Aufbau abweichende Konstruktion zeichnet die Familie der NIT-Meßköpfe aus. Verschiedene Modelle wurden in den vergangenen Jahren bei *Roche Diagnostics* entwickelt. Durch ihre Größe (Abb. 5, S.20) und Netzunabhängigkeit gestatten sie völlig andere Untersuchungen als z.B. Mark II (Abschn. 4.1). Mit den NIT-Meßsystemen sind Experimente über einen längeren Zeitraum unter den Gegebenheiten des täglichen Lebens möglich.

Die genutzten Geräte sind NIT 1.36 und NIT 1.37. Beide sind sehr ähnlich aufgebaut. Der Unterschied liegt hauptsächlich in den verwandten Detektorschaltkreisen. Die Version 1.36 des Sensors (Abb. 10) verfügt über sechs lichtempfindliche Bereiche mit 0.8–5.2 mm Distanz zur Lichtquelle. Das Nachfolgemodell NIT 1.37 besitzt dagegen zwölf Photoelemente und einen auf 10 mm vergrößerten Maximalabstand. Die lichtempfindlichen Flächen sind als Kreisringsegmente ausgeführt. Durch die mit dem Abstand zur Lichtquelle größer werdenden Detektorflächen sind die stark abnehmenden

Intensitäten besser meßbar. Ihr Abfall ist dadurch aber nur teilweise kompensierbar. Zusätzlich müssen die Signale verstärkt werden. Strahlungsquellen sind vier Leuchtdioden (660, 805, 870 und 950 nm). Das von ihnen emittierte Licht wird in einen Lichtleiter eingekoppelt und durch die Faserplatte direkt bis zur Hautoberfläche geführt (Abb. 10). Erstere ist einige Millimeter dick und schützt den empfindlichen Detektorchip. Ihre numerische Apertur beträgt etwa 1.0 und ist damit sehr hoch. Auf der Rückseite der Trägerplatine, unter dem Photodetektor, befindet sich der Temperatursensor. Dort ist auch die restliche Meßelektronik untergebracht.

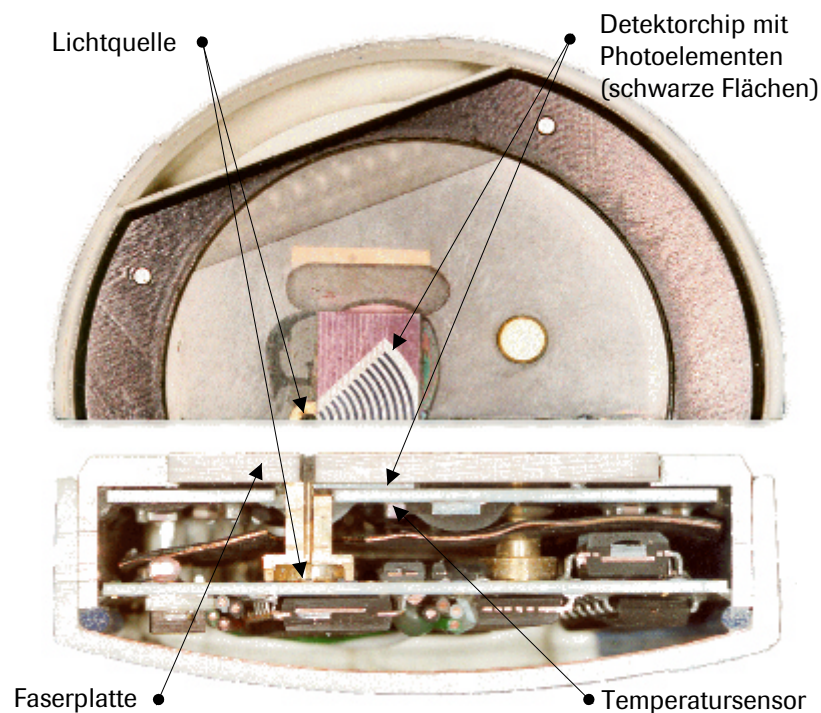


Abb. 10 Aufbau Sensorkopf NIT1.36 (vergrößert)

Der Meßkopf wird an eine mobile Steuereinheit (PU) angeschlossen. In ihr befinden sich neben dem Mikrocontroller die Stromversorgung sowie ein Funkmodem zur Datenübertragung an einen externen Rechner. Bei Bedarf kann eine zusätzliche Speichereinheit (MU) angekoppelt werden [107]. Sie ermöglicht, alle Daten mit beliebiger Zeitauflösung zu protokollieren. Der Funkkanal erlaubt aufgrund seiner geringeren Bandbreite nur die Übertragung eines reduzierten Datenstroms. Diese Signale können auf einem PC mit der Steuersoftware *Odin* (Abschn. 4.3) nahezu in Echtzeit visualisiert werden. Für die Auswertungen wurde auf die umfassenderen Protokolldaten zurückgegriffen.

Die Ansteuerung der Meßköpfe erfolgt durch den Mikrocontroller in der Steuereinheit. Der Meßablauf ist in weiten Grenzen frei programmierbar. Es können nahezu beliebige Kombinationen von Photoelementen, Wellenlängen und Meßgeschwindigkeiten vorgegeben werden. Die Auswahl dieser sog. Kanäle wird im direkt Sensorkopf in Form einer Liste mit maximal 64 Einträgen gespeichert. Standardmäßig umfaßt sie alle Photoelemente bei allen Wellenlängen, die Temperatur sowie einige Kontrollparameter. Es werden dabei 64 Kanäle erfaßt. Der Abstand zwischen zwei Meßzyklen beträgt 30 Sekunden.

Durch die sequentielle Messung der Kanäle besteht ein Zusammenhang zwischen ihrer Anzahl und der maximalen Meßfrequenz. Die Erfassung eines Kanals benötigt 7ms. Da die Temperatur zur Korrektur des Temperaturgangs immer benötigt wird, müssen mindestens zwei Kanäle gemessen werden. Man erreicht damit eine maximale Meßfrequenz von 71Hz für ein einzelnes Photoelement bei einer Wellenlänge. Die Auswertung der in der Standardliste vorgegebenen Kanäle läßt 2.2 Messungen pro Sekunde zu. Im Standardmodus werden immer Mittelwerte ausgegeben. Dazu wird die Liste der zu messenden Kanäle 20mal sequentiell abgearbeitet und dann gemittelt. Durch die Integration über ca. 9 Sekunden wird eine deutliche Verminderung des Rauschens erzielt. Für einige Versuche sind jedoch davon abweichende Voreinstellungen gewählt worden (Abschn. 5.2.4).

Der Temperaturmeßwert dient primär der Kompensation der temperaturbedingten Veränderungen im analogen Schaltungsteil. Die hierfür erforderliche Anordnung des Thermoelementes (Abb. 10) ergibt eine thermische Zeitkonstante zwischen Haut und Sensor von etwa 2 Minuten. Physiologische Variationen der Temperatur können hiermit noch ohne störende Beschränkung erfaßt werden. Die relative Genauigkeit der Temperaturmessung ist deutlich kleiner als $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$. Die absolute Genauigkeit, die hier von untergeordneter Bedeutung ist, erreicht etwa $\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Zu Beginn eines Experimentes muß das System auf die aktuellen optischen Gegebenheiten am jeweiligen Meßort angepaßt werden. Dies erfolgt automatisch, indem eine Optimierung der Verstärkereinstellung und der LED-Stromstärke vorgenommen wird. Man mißt für jeden Kanal alle zur Verfügung stehenden Varianten und wählt diejenige aus, die eine Aussteuerung des AD-Wandlers von etwa 50% bei kleinstmöglicher Verstärkung gewährleistet. Während eines Versuchs ist eine Änderung der ermittelten Geräteeinstellungen nicht möglich. Die beschriebene Prozedur stellt dennoch sicher, daß

eine maximale Aussteuerungsreserve in beide Richtungen verfügbar ist und so die Meßbereichsgrenzen nicht überschritten werden.

Um die Ergebnisse der verschiedenen Sensoren einer Serie vergleichen zu können, ist eine sorgfältige Kalibration notwendig. Die komplizierte Einzelanfertigung der hochintegrierten Meßköpfe (Abb. 10) bedingt eine relativ große Streuung der elektrischen und optischen Eigenschaften. Die Empfindlichkeit der Photoelemente hängt u.a. von der Qualität der Montage des Chips im Sensorkopf ab. Für die Kalibration der Empfindlichkeit werden die Photoelemente und ein Referenzdetektor auf einer ULBRICHTkugel homogen beleuchtet. Man erhält für alle Photoelement eines Sensors bei jeder Wellenlänge einen spezifischen Kalibrationsfaktor. Die tatsächlich abgestrahlte Lichtmenge wird mit einem ähnlichen Meßaufbau kalibriert. Ein großflächiger externer Photodetektor mißt die Intensität des aus dem Sensorkopf austretenden Lichtes bei unterschiedlichen LED-Stromstärken. Aus diesen Werten lassen sich weitere Kalibrationsfaktoren berechnen. Man speichert sie wie alle anderen Kalibrationswerte direkt im Sensorkopf. Von NIT 1.37 werden immer flächennormierte Photoströme in pA/mm^2 ausgegeben. Die von den Sensoren einer Serie erzeugten Daten sind somit direkt vergleichbar.

Eine weitere Kalibration ist für die Temperaturkompensation des Sensors notwendig. Im Meßkopf befinden sich verschiedene elektronische Bauelemente. Diese weisen einen charakteristischen Temperaturgang auf. Er wirkt sich auf die analogen Schaltungsteile und die Lichtleistung der Leuchtdioden aus. Da der Sensor direkt auf die Haut geklebt wird, ist eine Thermostatisierung nur bedingt möglich. Die Bestimmung der Kalibrationswerte erfolgt, indem man das vom Meßkopf ausgesandte Licht bei zwei Temperaturniveaus mißt. Somit erhält man für jeden Detektor bei allen Wellenlängen einen Temperaturkoeffizienten. Diese Vorgehensweise gestattet die Kompensation eines sich linear auswirkenden Temperatureinflusses. Bei den Exemplaren der Serie NIT 1.37 wurde erstmals ein stark variierendes nichtlineares Temperaturverhalten beobachtet (Abschn. 5.1.5). Die Kalibration wurde daher so durchgeführt, daß in dem physiologisch am häufigsten vorkommenden Bereich von $33\text{--}37^\circ\text{C}$ die geringsten Abweichungen auftreten.

Die Zahl der möglichen Störquellen bei diesem Meßsystem ist klein. Da die AD-Wandlung bereits im Meßkopf vorgenommen wird, können die Informationen immer digital übermittelt werden. Somit entfällt die störanfällige Übertragung von analogen

Meßwerten. Alterungserscheinungen, die sich in einer Änderung der Kalibrationsfaktoren widerspiegeln, wurden bisher nicht beobachtet. Probleme, die sich mit der zeitlichen Veränderung der Lichtquelle ergeben könnten, sind ausgeschlossen, da Leuchtdioden verwandt werden. Es gab allerdings Ausfälle einzelner elektronischer Funktionsblöcke im Sensor. Ihre Ursachen konnten bisher nicht ermittelt werden. Die hohe Integrationsdichte elektronischer Bauelemente gestattet Fehlersuche und Reparatur nur in Ausnahmefällen.

Besonderes Augenmerk ist auf Kalibration und Programmierung der Sensoren zu richten. Die große Zahl zu justierender Einstellungen ist eine potentielle Störquelle. Die verwandten Meßsysteme stehen auf der Entwicklungsstufe von Funktionsmustern die bezüglich ihrer Störsicherheit und Bedienbarkeit noch verbessert werden können.

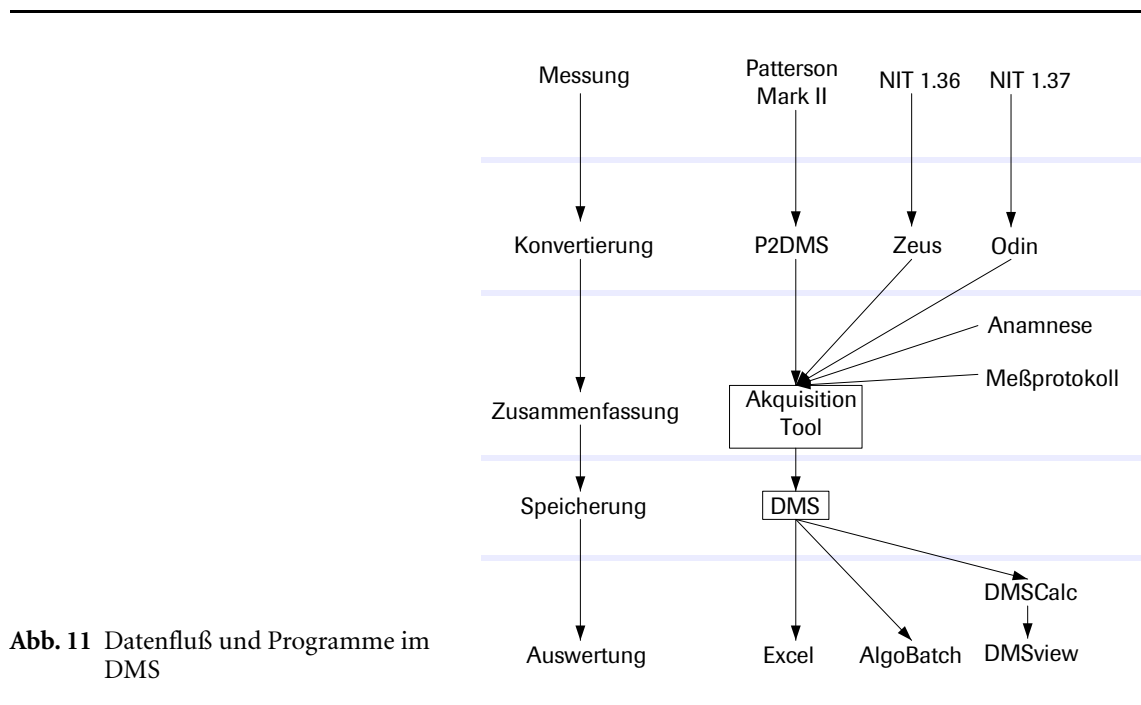
4.3 Software

Für die Bearbeitung der umfangreichen Datenmengen kamen verschiedene Programme zum Einsatz (Abb. 11). Nur ein kleiner Teil der Berechnungen konnte mit Standardsoftware ausgeführt werden. Für Gerätesteuerung und Datenspeicherung dienten unterschiedliche, für *Roche Diagnostics* entwickelte, Lösungen. Die Programme arbeiten auf IBM-kompatiblen Rechnern.

Zur Datenerfassung und Einstellung der Steuerparameter existieren für jedes Meßsystem unterschiedliche Programme. Sie steuern den Ablauf und gestatten die Konvertierung der aufgenommenen Daten in das *DMS*-Format. Für das Mark-II-Gerät wird das durch *P2DMS* und für NIT 1.36 durch *Zeus* ausgeführt. Über die umfangreichste Systemsoftware verfügt NIT 1.37. Die Programmierung des Sensors ist mit *Odin* möglich, ebenso das Auslesen der Speicherkarten und die Darstellung der mit dem Funkmodem von der Sensoreinheit übertragenen Meßwerte. Die Signale können dabei annähernd in Echtzeit visualisiert werden.

Für alle zur nichtinvasiven Glucosemessung benutzten Geräte gibt es ein verbindliches Konzept zur Datenablage und für die zu verwendenden Dateiformate. Hinter der Bezeichnung *DMS* verbirgt sich eine Sammlung von verschiedenen Konventionen und Programmen. Das Kernstück ist eine Datenbank, die alle experimentellen Ergebnisse beinhaltet. Es handelt sich um eine *Access-2.0*-Applikation (*Microsoft*), die nach den Spezifikationen von *Roche Diagnostics* entwickelt worden ist. Jedem Experiment ist eine

eindeutige alphanumerische Versuchsnummer zugeordnet (siehe **A3**, S.109; **A4**, S. 109). Diese wird auch in der Arbeit zur Kennzeichnung der Experimente eingesetzt. Ein genau definiertes Dateiformat gestattet anderen Applikationen, auf die aus der Datenbank generierten Versuchsdaten zuzugreifen. Das Programm *DMScalc* ist ein speziell auf das Format angepaßtes Werkzeug, das einfache Berechnungen ausführen kann. Dazu werden kurze Skripte erstellt. Diese Vorverarbeitung dient zumeist der Visualisierung mittels *DMSview*. Beide Programme wurden speziell für *Roche Diagnostics* entwickelt. Man ist schnell in der Lage, sich einen Überblick über die während einer Kampagne aufgenommenen Daten zu verschaffen.



Zur automatisierten Auswertung großer Datenmengen wurde eine eigene Software entwickelt. Die *AlgoBatch* ist ein modulares System und basiert auf *Matlab 4.2c* (*MathWorks*) mit der *Optimization Toolbox 1.0c* (*MathWorks*). Sie stellt eine graphische Benutzerschnittstelle für unterschiedliche mathematische Algorithmen zur Berechnung der optischen Hauteigenschaften zur Verfügung. Die Routinen sind im Rahmen der Diplomarbeiten von NICKELL [88] und HERRMANN [89] implementiert worden. Für die hier vorliegende Arbeit wurden verschiedene, modifizierte Varianten selbst erstellt. Die Rohdaten und Ergebnisse werden gemäß den *DMS*-Konventionen gelesen bzw. geschrieben.

Zur Visualisierung von Versuchsergebnissen konnte *Excel 5.0c (Microsoft)* genutzt werden. Für den Großteil der statistischen und chemometrischen Analysen diente das Programm *SCAN: Software for Chemometric Analysis 1.1 (Minitab)*. Einige spezielle Auswertungen wurden mit *STATISTICA 5.0 for Windows (StatSoft)* durchgeführt.

5 Ergebnisse

Die hier dargestellten Ergebnisse und Bewertungen sind teilweise nicht mit den in der quantitativen chemischen Analytik üblichen vergleichbar. Es können keine statistischen Kenngrößen wie Präzision, Richtigkeit oder Nachweisgrenze angegeben werden. Sie alle setzen die Kenntnis des wahren Wertes oder zumindest eine in ihren statistischen Kenngrößen bekannte Referenzmethode voraus.

Bei dem vorgestellten Verfahren zur nichtinvasiven Glucosebestimmung nutzt man einen unspezifischen, sekundären und zudem noch sehr schwachen Effekt. Das Signal wird in der Haut, einem lebenden Organ, gemessen, und es existiert keine Methode, um kontinuierlich die tatsächliche Glucosekonzentration im untersuchten Hautvolumen zu verfolgen. Selbst die punktuelle Bestimmung in der Dermis in räumlicher Nähe zum nichtinvasiven Meßsystem ist gegenwärtig nicht möglich. Zusätzlich erschwerend ist, daß der eigentliche Effekt nicht die Glucoseänderung ist, sondern ihr Einfluß auf die Lichtstreuung im Gewebe. Für die Ermittlung des Streukoeffizienten in Reflexion existiert zudem keine unabhängige Referenzmethode, um etwa die verwendeten Meßgeräte zu überprüfen.

Daher müssen eine Reihe von Hypothesen benutzt werden, die im Moment schwer zu überprüfen sind. Zusätzlich ist es nicht möglich, alle Randbedingungen für die Diffusionstheorie einzuhalten und so sicher zu sein, daß die Theorie wirklich adäquat ist. Daß aber diese Annahmen zumindest teilweise richtig sind, beweist die steigende Zahl von Versuchen die eine gute Übereinstimmung zwischen den theoretischen Voraussagen und Meßwerten aufweisen.

5.1 Algorithmische und gerätetechnische Faktoren

Die Messung von physiologischen Parametern *in vivo* unterliegt einigen Randbedingungen, die insbesondere durch das Wohlergehen der Probanden diktiert werden. Es können z.B. nicht beliebige, für einen statistischen Versuchsplan sinnvolle, Konzentrationen eingestellt werden. Die Möglichkeiten, verschiedene Störgrößen zu unterdrücken, sind ebenfalls eingeschränkt. Wegen der Vielzahl an nicht zu beeinflussenden oder unbekannten physiologischen Variablen ist die Wiederholbarkeit von Messungen schwierig. Deshalb müssen die Auswirkungen der aus den Algorithmen oder der Meßtechnik resultierenden Einflüsse genau bekannt sein.

Die Anwendung des komplexen physikalischen Modells der Diffusionstheorie erschwert die Auswertung zusätzlich. Die errechneten Änderungen der optischen Hautparameter können nicht durch unabhängige Referenzmessungen überprüft werden. Das Verwenden eines Modells mit nur zu schätzenden Grenzen und die wissentliche Verletzung seiner Gültigkeitsbedingungen zwingt dazu, die numerischen Ergebnisse überaus sorgfältig zu bewerten und ihre physiologische Plausibilität zu überprüfen.

5.1.1 Algorithmen zur Berechnung von μ_a und μ'_s

Die Schätzung optischer Hauteigenschaften auf Basis der Diffusionstheorie erfolgt mittels nichtlinearer Regression. Die Berechnung von μ_a und μ'_s aus den orts aufgelösten Reflexionsdaten stellt ein schwieriges numerisches Optimierungsproblem dar. Die Daten überstreichen einen Wertebereich von drei Zehnerpotenzen, ebenso wie die zu schätzenden Parameter. Um die maximale Informationsmenge aus den Daten zu gewinnen, wurden verschiedene Varianten erprobt. Für die eindeutige Zuordnung der Ergebnisse tragen sie DMS-konforme Namen (A5, S.109). In der Arbeit fanden Resultate von N3 und N4 nur exemplarische Berücksichtigung, während die entsprechenden Kalibrationen auf den mit N5 berechneten Werten basieren.

Für die nichtlineare Regression können unterschiedliche Verfahren genutzt werden. Praktisch bewährt hat sich die LEVENBERG-MARQUARDT-Methode. Sie ist sehr schnell. Für das zu lösende Problem war die Implementierung in Matlab numerisch instabil und zeigte häufig Konvergenzprobleme. Die deutlich langsamere Simplex-Methode erwies sich als robust genug.

Um den großen Wertebereich der Reflexionsdaten zu verkleinern, werden sie mit dem Quadrat des Abstandes Detektor - Lichtquelle multipliziert. Die so transformierten Werte heißen Intensitätsprofile. Ohne diesen Schritt genügt allein die Minimierung der Kostenfunktion für die ersten Abstände, das Abbruchkriterium zu erreichen. Die Information der restlichen Detektoren wird nahezu vernachlässigt. Die Transformation führt dazu, daß alle Intensitäten etwa gleich gewichtet berücksichtigt werden. Als Kostenfunktion für die Optimierungsrechnung dient der euklidische Abstand. Er wurde zwischen dem gemessenen und dem geschätzten Intensitätsprofil bestimmt und auf die Zahl der Detektoren normiert. Modifizierte Funktionen, die die über den Abstand veränderte Sensitivität von μ_a und μ'_s berücksichtigten, verbesserten die Ergebnisse nicht.

Die Qualität der Regression wird mit dem Variationskoeffizienten (relative Standardabweichung in %) angegeben. Er ist in diesem Fall aber nur ein Maß für die Modellgüte und gibt an, wie sich die gemessenen Daten mit der Diffusionstheorie beschreiben lassen. Er sagt nichts über die Richtigkeit der geschätzten Parameter aus.

Die Geschwindigkeit von Optimierungsrechnungen läßt sich bekanntlich durch die Wahl von geeignete Startwerten drastisch beschleunigen. Bei einigen Varianten (z.B. N3, Abb. 12) wurde dafür eine Gittersuche benutzt. Jedoch zeigte sich, daß die Modellparameter nicht eindeutig sind. Die geschätzten Parameter alternierten zwischen zwei Niveaus. Es bildeten sich zwei Kurvenzüge aus, die abschnittsweise parallelverschoben erschienen. Bei Experimenten ohne diesen drastischen Effekt vergrößerte sich der aus dem Algorithmus stammende Rauschanteil (Abb. 12). Es mußte die langsamere Variante mit festem Startwert (N4, N5) gewählt werden. Da nur die Änderungen der optischen Eigenschaften interessieren, ist es wichtiger, immer dasselbe Nebenminimum zu finden, als das globale Optimum.

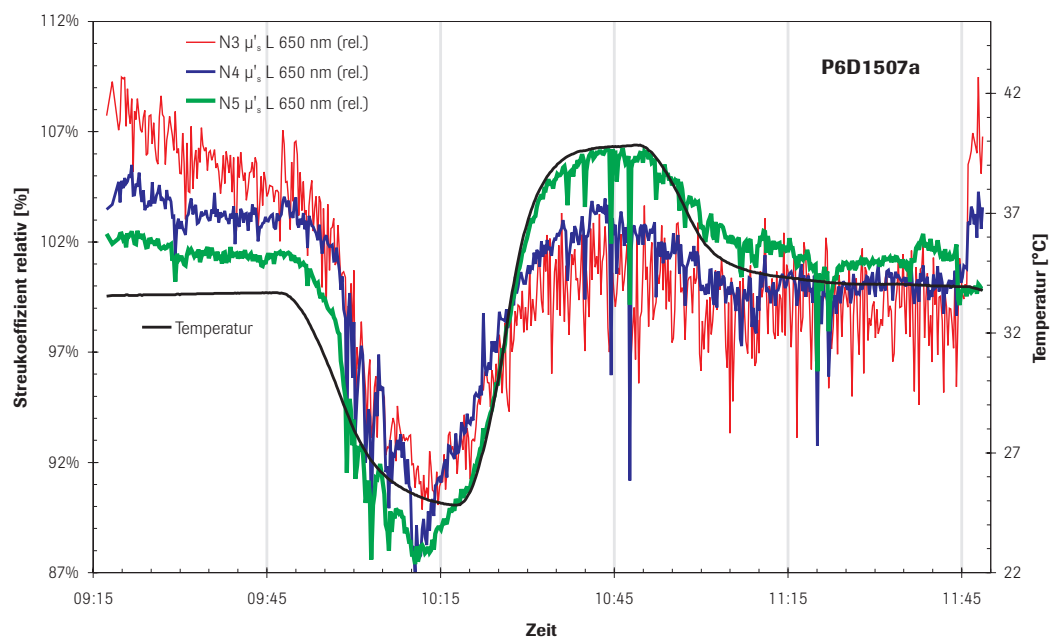


Abb. 12 Unterschiedlich verrauschte Signale in Abhängigkeit vom gewählten Algorithmus

Besondere Anforderungen an die Robustheit der Regressionsalgorithmen stellen Störungen einzelner Detektoren. In Abb. 13 ist das Muster einer solchen Störung dargestellt. Unter den Photoelementen bei 0.8mm und 1.2mm scheint sich eine Luftblase zu

befinden. Sie verschwindet erst während der Messungen. Die Algorithmen sollten zumindest numerisch stabil arbeiten, wenn ein solcher Artefakt das Signal beeinträchtigt.

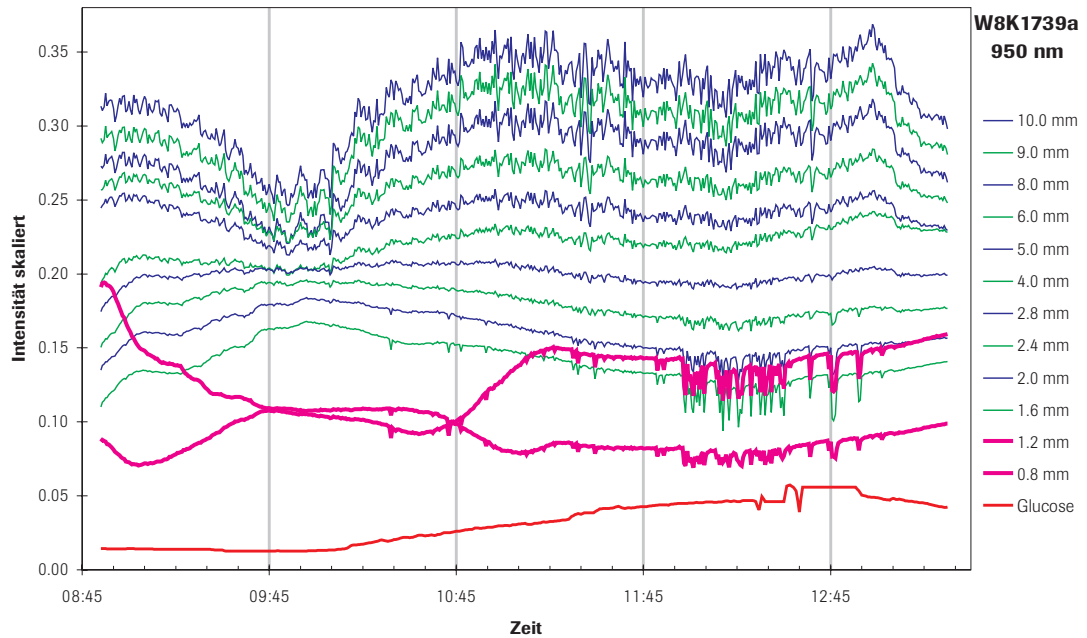


Abb. 13 Intensitäts-Zeit-Verlauf bei Variation von Glucose mit Störung einzelner Detektoren

Neben den gesuchten Werten von μ_a und μ'_s sind noch zwei weitere unbekannte Größen zu bestimmen. Die gemessene orts aufgelöste Reflexion hängt vom Unterschied der Brechungsindizes der an der Grenzfläche aufeinandertreffenden Materialien ab. Man kann sich vorstellen, daß dieser Parameter n_{rel} bei jedem Versuch anders ist. Der Brechungsindex von Sensor und Interfacematerial ist zwar nicht bekannt, kann aber als konstant angesehen werden. Für die Haut muß diese Annahme nicht zutreffen. Daher wurde versucht, diesen Parameter gleichfalls zu schätzen. Diese Bemühungen waren nicht erfolgreich. Zum einen, weil bei variablem n_{rel} für jeden Iterationsschritt ein Integral zu lösen ist. Dadurch verlängert sich die Rechenzeit inakzeptabel. Zum anderen wird aufgrund der fehlenden Eineindeutigkeit der Abbildung eine hinreichend genaue Berechnung verhindert. Für die Berechnung der optischen Hauteigenschaften wurde daher mit konstantem $n_{\text{rel}}=1.4$ gerechnet (Abschn. 5.1.4).

Die mit der Diffusionstheorie berechneten Werte der orts aufgelösten Reflexion sind immer auf eine virtuelle Lichtquelle normiert. Deswegen müssen die gemessenen Werte ebenfalls normiert werden. Der Skalierungsfaktor wird aus dem Quotienten der Mittelwerte der Intensitätsprofile gebildet. Dieser Wert muß für jeden Parametersatz

neu berechnet werden. Er geht so ebenfalls in die Optimierungsrechnung ein und stellt einen zusätzlichen Freiheitsgrad dar. Bei Messungen die sich schlecht mit der Diffusionstheorie modellieren lassen, bilden sich vielfach die Streueigenschaften in diesem Wert ab. Eine Trennung zwischen μ_a und μ'_s war dann nur unvollständig möglich.

In der Variante N5 wird versucht, diesen Skalierungsfaktor aus den ersten 100 Messungen rekursiv zu schätzen und ihn dann konstant zu halten. Eine Wichtungsfunktion sorgt dafür, daß die stark mit Temperatur- und Hautanpassung überlagerten Meßwerte vom Start des Experimente weniger berücksichtigt werden. So lassen sich die aktuellen Bedingungen am Meßort in die Berechnung einbeziehen und die Zahl der

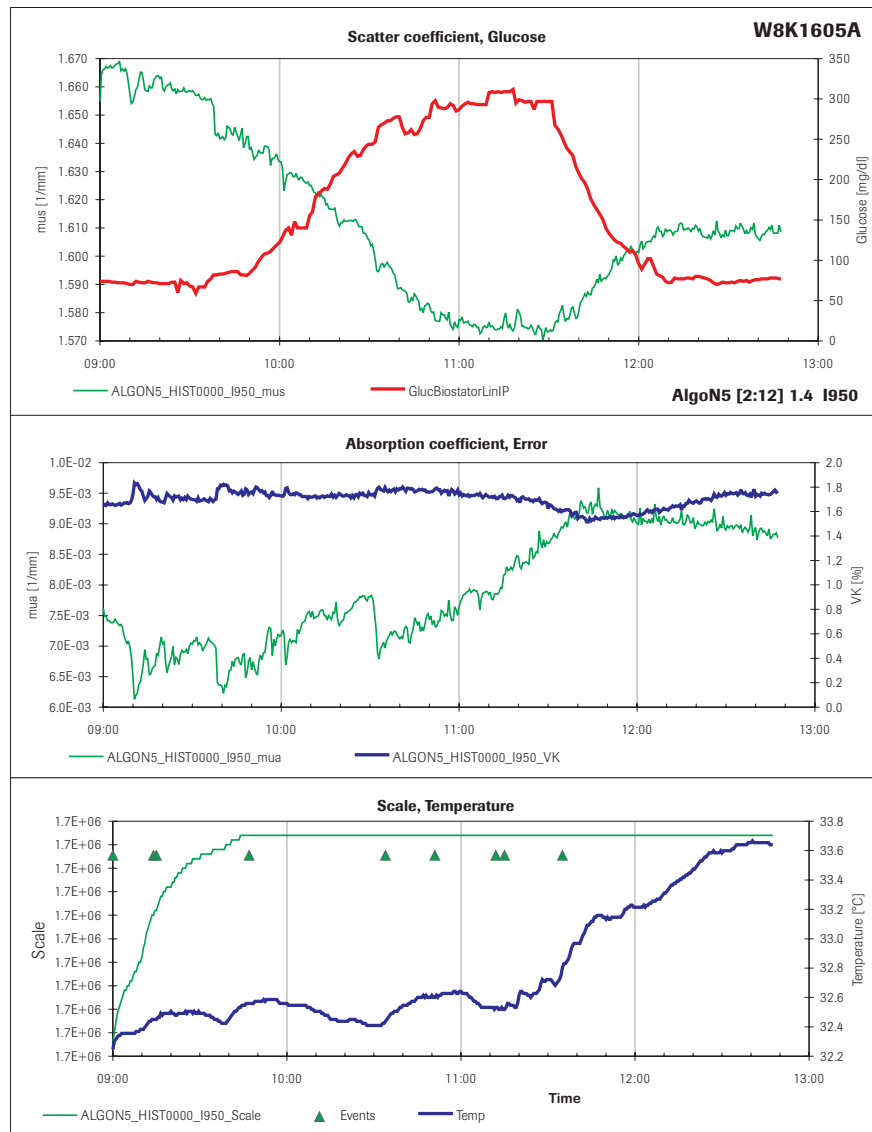


Abb. 14 Arbeitsblatt mit Ergebnissen der μ_a/μ'_s -Berechnung

Freiheitsgrade verringern. Im Vergleich (Abb. 12, S.48) zu anderen Algorithmen werden die Kurven stetiger, und entsprechen besser den aus theoretischen Betrachtungen abgeleiteten Erwartungen. Dafür muß man allerdings einen höheren Modellfehler in Kauf nehmen.

Um die Vielzahl der benötigten Auswertungen zu automatisieren, wurden die verschiedenen Algorithmen als Unterprogramme des *AlgoBatch*-Systems implementiert. Die Ergebnisdarstellung erfolgte auf standardisierten Arbeitsblättern (Abb. 14). Die Bezeichnung der Zeitreihen wird programmgesteuert erzeugt. Das entsprechende Namensschema kann dem Anhang A5, S. 109, entnommen werden. Diese Nomenklatur wurde in den meisten Auswertungen beibehalten.

5.1.2 Wellenlängenabhängigkeit der Modellparameter

Alle benutzten Meßgeräte sind in der Lage, die orts aufgelöste Reflexion bei verschiedenen Wellenlängen zu bestimmen. Das Mark-II-System kann vollständige Spektren zwischen 600nm und 950nm aufnehmen, während die NIT-Geräte bei diskreten Wellenlängen arbeiten. Mit der Diffusionstheorie lassen sich Streu- und Absorptionskoeffizient für ein Hautvolumen bei unterschiedlichen Wellenlängen ermitteln.

Die Absorptionskoeffizienten werden durch die physiologische Variation von Hautinhaltsstoffen bestimmt (Abb. 4, S.15) und ändern sich entsprechend mit der Wellenlänge. Die Abhängigkeit der Streueigenschaften davon ist durch die Dispersion gegeben. Zusätzlich verändert sich der Anteil der RAYLEIGH-Streuung. Sie findet an Strukturen statt, die deutlich kleiner sind als die Wellenlänge der Strahlung. Das kurzwellige Licht wird stärker als das langwellige gestreut. Die bestimmten Streukoeffizienten weisen diese Effekte klar aus. Gegenüber den berechneten Absolutwerten ist eine gewisse Skepsis angebracht. Die Werte für μ'_s verkleinern sich mit der Wellenlänge. Sie spiegeln somit die theoretischen Erwartungen gut wider.

Die Zeitreihen des Streukoeffizienten bei verschiedenen Wellenlängen eines Experimentes sollten einen identischen Verlauf aufweisen. Es ist keine Größe bekannt, die μ'_s wellenlängenabhängig beeinflusst. Die Resultate aus Mark-II-Versuchen zeigen weitgehend dieses Verhalten. Kleinere Abweichungen sind durch die sich mit der Wellenlänge ändernde Gültigkeit der Diffusionsnäherung zu erklären. Unter anderem verschiebt sich der Verlauf der μ_a/μ'_s -Sensitivität über die Ortskoordinate. Dadurch

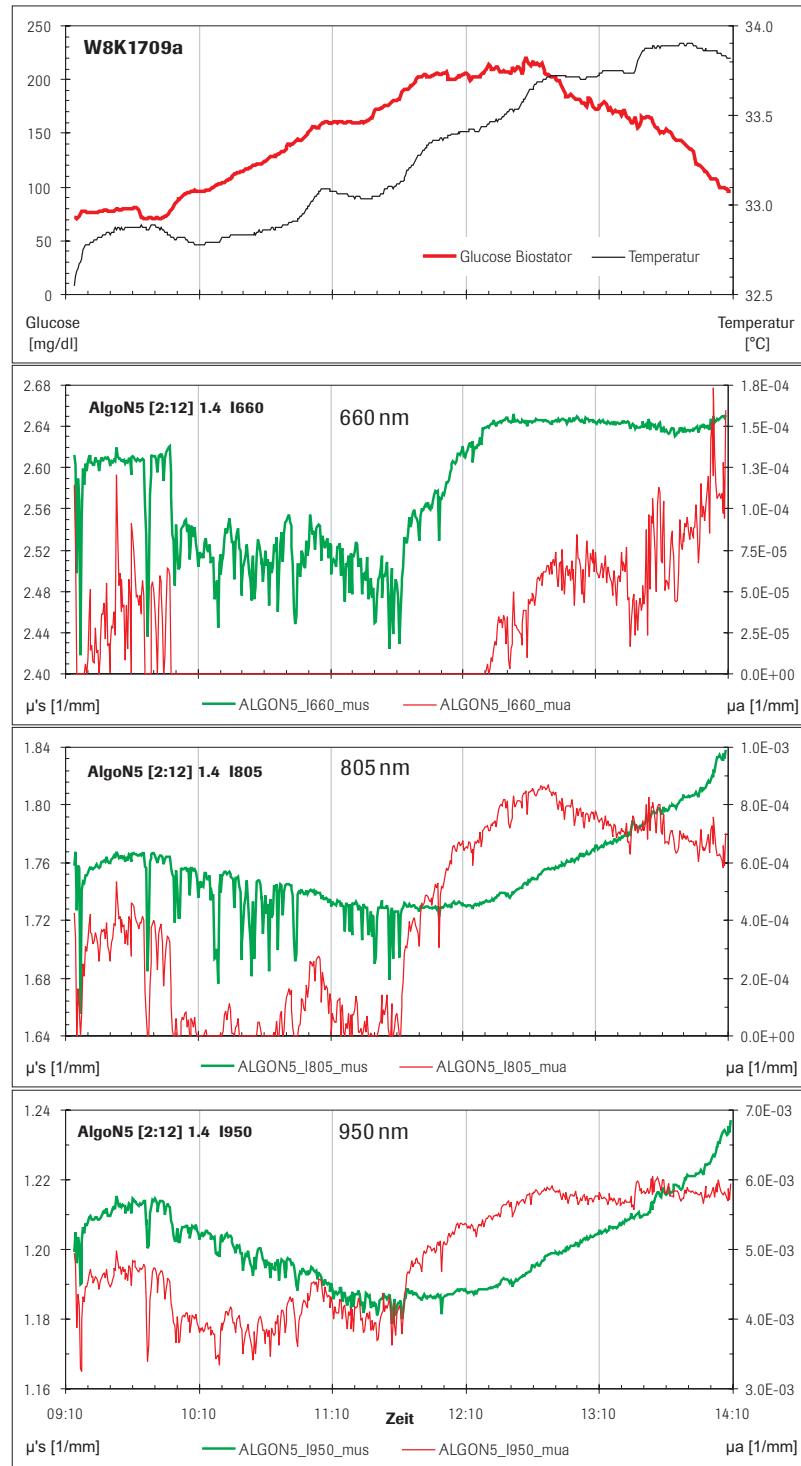


Abb. 15 Veränderung der Gültigkeit der Diffusionstheorie mit der Wellenlänge

verändert sich der Einfluß der Detektoren auf das Modell. Näher an der Lichtquelle liegende Photoelemente werden mit höherer Streuung wichtiger. Hingegen beschreibt die Diffusionstheorie das Verhalten der nahen Abstände schlechter. Daraus entstehen die kleinen Unterschiede zwischen den Zeitreihen der Mark-II-Versuche.

Die Ergebnisse aus Experimenten mit NIT 1.37 sind nicht so einfach zu interpretieren. Bei ihnen zeigen sich zumeist wellenlängenabhängige Differenzen in den μ'_s -Werten. Für dieses Verhalten sind wahrscheinlich konstruktive Unterschiede zum Mark-II-Spektrometer verantwortlich. Sie führen zu einer Verstärkung des Einflusses der Grenzfläche Sensor-Haut (Abschn. 5.1.4). Ergebnis hiervon sind Kurvenverläufe wie in Abb. 15. Dieses Experiment weist bei 950nm eine gute Korrelation zwischen Streukoeffizient und Glucose auf. Betrachtet man die Kurven bei den anderen Wellenlängen, erkennt man, daß die Diffusionstheorie die Lichtausbreitung nicht immer adäquat modellieren kann. Bei 660nm ist ein Teil des Experimentes überhaupt nicht zu beschreiben. Die Regression findet keine physikalisch sinnvollen Parameter (ein unbeschränkter Algorithmus berechnet negative Absorptionskoeffizienten). Erst mit einem verkleinertem Verhältnis von Streuung zu Absorption greift das Modell wieder. Bei 805nm zeigen sich nur noch punktuelle Aussetzer, während 870nm (nicht abgebildet) und 950nm einen geschlossenen Kurvenzug für μ'_s und μ_a aufweisen. Die inverse Korrelation zwischen μ'_s und der Glucosekonzentration sowie der Zusammenhang von Durchblutungsänderung und Hauttemperatur werden wieder sichtbar.

Dieses Verhalten ist Gegenstand weiterer Untersuchungen. Für eine unter allen Umständen stabile Berechnung der optische Eigenschaften der Haut ist das Verständnis der Ursachen dieser Probleme unabdingbar. Die dabei zu gewinnenden Erkenntnisse sollten auch eine Beschränkung des Meßvolumens auf das notwendige Minimum erlauben. Damit ließe sich die Zahl der physiologischen Einflußgrößen deutlich reduzieren.

5.1.3 Geforderte Genauigkeit und Fehlerabschätzung

Die glucoseinduzierte Änderung des Streukoeffizienten ist sehr klein. Als grobe Schätzung kann eine Sensitivität von 1% μ'_s pro 100mg/dl Glucoseänderung angenommen werden. Um die klinisch relevanten Variationen verfolgen zu können, wird eine Auflösung von ca. 10mg/dl benötigt. Da keine Referenzmessung für die optischen Hauteigenschaften existiert, können die Fehlergrenzen nur grob geschätzt werden. Mit mehreren Experimenten auf einem Hautphantom wurden Variationskoeffizienten für μ'_s im Bereich von 0.02% bis 0.05% bestimmt. Für Haut als Medium lagen die Werte höher, zwischen 0.05% und 0.15%. Um sie aus Probandenexperimenten abzuschätzen, wurden Intervalle ohne Glucoseänderung bei konstanter Temperatur ausgewählt. Die so

bestimmten Variationskoeffizienten stellen Maximalwerte dar. Sie beinhalten physiologisches, apparatives und numerisches Rauschen. Es hat sich bei der Auswertung

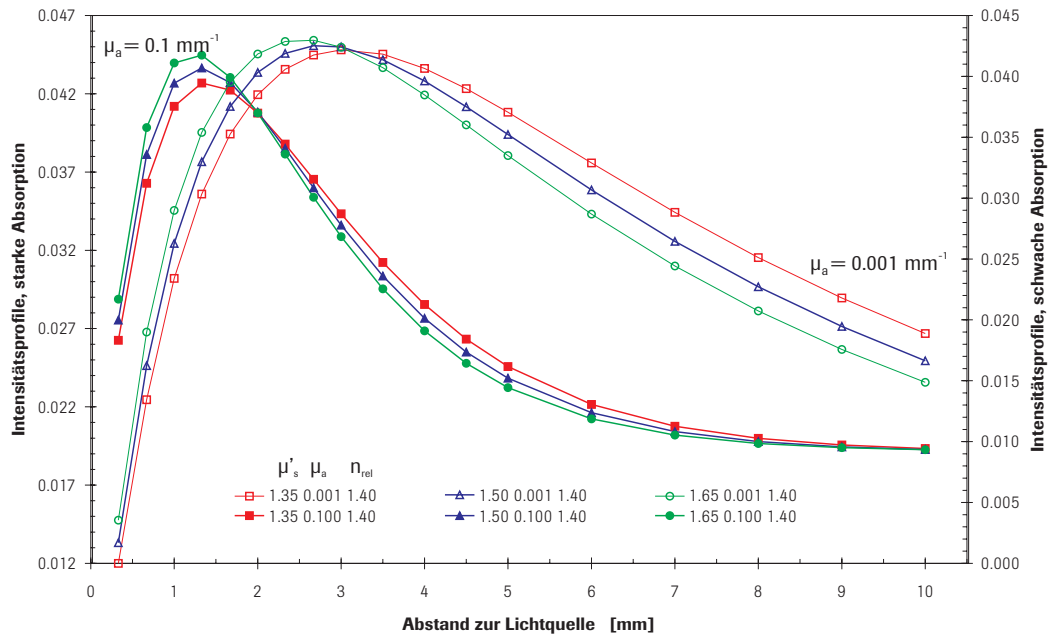


Abb. 16 Wertebereich für *in vivo* Intensitätsprofile mit unterschiedlichen optischen Eigenschaften

gezeigt, daß die Berechnungen hinreichend genau ausgeführt worden sind. Die numerischen Instabilitäten und Rundungsfehler der unterschiedlichen Regressionsalgorithmen addieren einen variierenden Anteil zu dem aus Meßtechnik und Physiologie stammenden (Abb. 12, S.48). Er vermindert sich mit der Zahl der zu schätzenden Parameter, da der Suchraum eingeschränkt wird und sich die Zahl der Freiheitsgrade verkleinert.

Die Abb. 16 zeigt die theoretischen Intensitätsprofile für die Wertebereiche von μ_a und μ'_s , wie sie für *in vivo* Messungen erwartet wurden. Ihre Größen sind aus *in vitro* Transmissionsmessungen abgeschätzt worden [92]. Für den Absorptionskoeffizienten stimmt er mit den selbst berechneten Werten für Mark-II-Experimente gut überein. Der Bereich des Streukoeffizienten ist größer. Für *in vivo* Messungen mit Reflexionsanordnung reicht er von etwa 5 mm^{-1} (660 nm) bis 0.8 mm^{-1} (950 nm). Er unterliegt einer sehr großen interindividuellen Variation. Die Abbildung zeigt auch den großen Einfluß von Absorptionsänderungen auf die Form der Intensitätsprofile.

5.1.4 Grenzfläche Sensor – Haut

Die Grenze zwischen Sensor und Haut stellt einen der am schwierigsten zu bewertenden Faktoren dar. Ihre Eigenschaften werden durch physiologische und geräte-technische Einflüsse bestimmt und haben Auswirkungen auf die Gültigkeit der Diffusionstheorie. Erschwerend kommt hinzu, daß es keine verlässlichen Angaben über die Brechungsindizes der Haut und des Meßkopfes gibt. Die zeitliche Stabilität der optischen Eigenschaften der Grenzfläche, des Interfaces, ist nicht völlig sicher.

Der Meßkopf wird immer mit einer Adhäsionsschicht (doppelseitiges Klebeband oder transparenter Hautkleber) auf der Haut fixiert. Dadurch entsteht ein Brechungsindexsprung n_{rel} an der Grenzfläche. Sein Wert geht in die Berechnung von μ_a und μ'_s ein. Es ist jedoch nicht möglich, ihn exakt anzugeben. Leider konnte noch kein Weg gefunden werden, den Brechungsindex des Meßkopfes verlässlich zu bestimmen. Seine Faserplatte besteht aus unterschiedlichen Glassorten für den Kern und die Ummantelung der Einzelfasern. Durch diesen Aufbau versagen die üblichen Methoden. Die Größe von n_{rel} , wie in der Diffusionsnäherung verwandt, wird zusätzlich durch die Reflektivität des Detektorschaltkreises beeinflusst. Sie hängt davon ab, ob auf dem Chip in einem weiteren Prozeßschritt eine zusätzliche Maske abgeschieden worden ist.

Für die intakte Haut liegen ebenfalls keine sicheren Werte *in vivo* vor. Nach Messungen von TEARNEY [108] ergibt sich für das Stratum Corneum ein Brechungsindex von 1.51, ein Wert von 1.34 für die Epidermis. Die Eigenschaften beider Schichten werden, ähnlich wie beim Meßkopf, zu einem effektiven Brechungsindex der Haut führen, der nicht bestimmt werden kann. Das Interfacematerial trägt ebenfalls zu den optischen Eigenschaften der Grenzfläche bei.

Die Intensitätsprofile zeigen die Auswirkungen von n_{rel} (Abb. 17). Das Maximum verlagert sich mit vergrößerter Reflektivität zu entfernteren Abständen, und die Kurven verlaufen flacher. Die Messungen wurden mit verschiedenen Materialkombinationen und Detektoren auf einem Phantom vorgenommen. Dieses besteht aus einem Epoxidharz, in dem eine definierte Menge kugelförmiger Streukörper eingebettet wurde. Die für das Phantom berechneten μ_a - und μ'_s -Werte sollten trotz unterschiedlicher Detektorchips und Interfacematerialien identisch sein. Ziel dieser Versuche war es, für jede Kombination eine spezifische Größe n_{rel} zu finden, bei der identische Streu- und Absorptionsparameter erhalten werden. Die mit den geschätzten Parametern errechneten Intensitätsprofile bei variierendem n_{rel} sind in Abb. 17 als Kurvenscharen

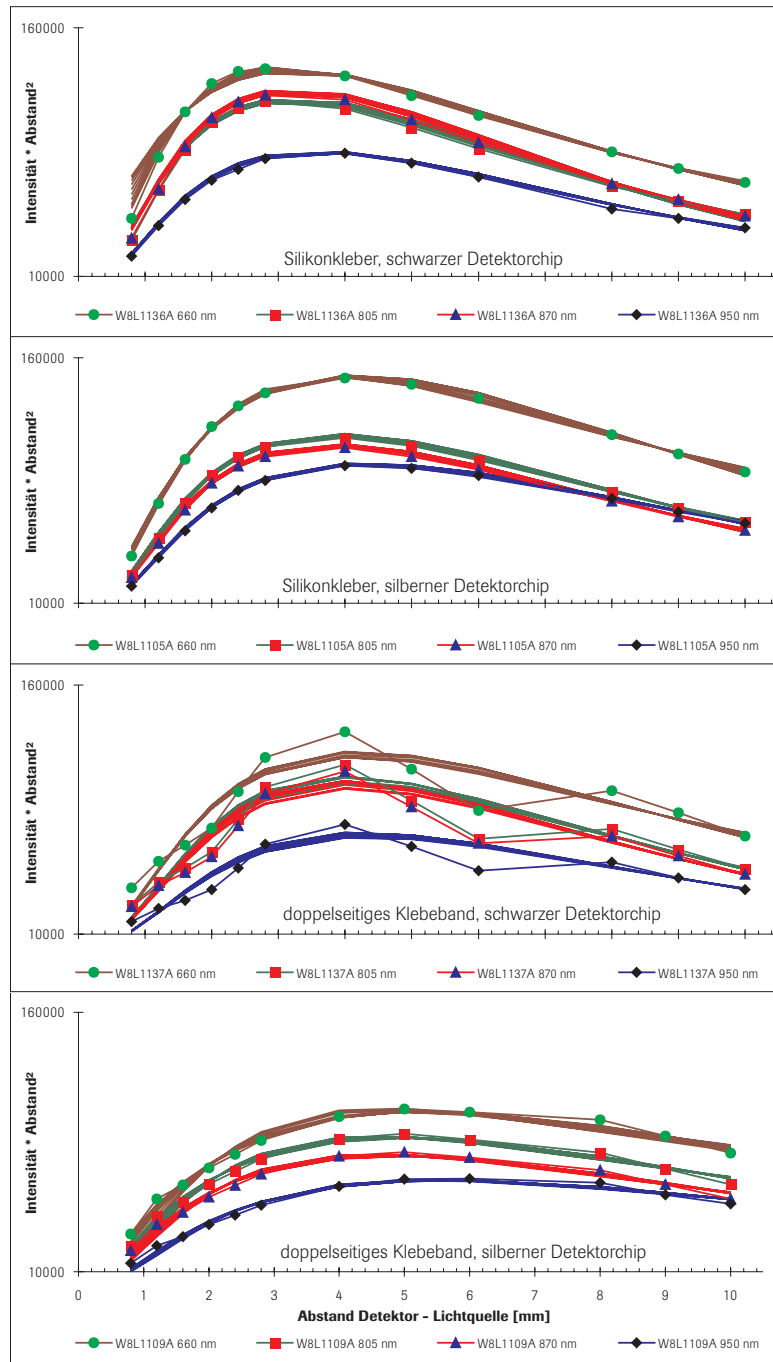


Abb. 17 Gemessene und berechnete Intensitätsprofile für verschiedene Interfacevarianten bei variierendem n_{rel} [1.0–1.8]

dargestellt. Sie beschreiben trotz des geänderten Randwertes die gemessenen Intensitätsverläufe sehr gut. Einzig die Kurven bei 660 nm verhalten sich bei kleinen Abständen leicht unterschiedlich. Die restlichen Intensitätsprofile sind praktisch kaum zu unterscheiden. Der Sensor NIT 1.37 Nr. 37 (Abb. 17 2.v.u.) war fehlerhaft kalibriert. Da die Störungen in einem weniger wichtigen Abschnitt liegen und die Regression stabile

Störungen in einem weniger wichtigen Abschnitt liegen und die Regression stabile Ergebnisse lieferte, wurden die Werte trotzdem genutzt.

Der berechnete Zusammenhang von μ_a und μ'_s mit n_{rel} wurde graphisch dargestellt (Abb. 18) und ausgewertet. Es ist ein Wertepaar für n_{rel} gefunden worden, mit dem für beide Sensoren gleiche μ_a und μ'_s berechnet werden konnten. Für den Sensor mit dem silbernen Detektor ergab sich ein $n_{\text{rel}}=1.22$, für den absorbierenden schwarzen Schaltkreis ein $n_{\text{rel}}=1.00$. Als Interface diente der Hautkleber. Die Parameter erscheinen physikalisch plausibel. Wird als Adhäsionsschicht das doppelseitige Klebeband benutzt, führt das nicht zum Erfolg. Es konnten keine sinnvollen Werte für den Brechungsindexsprung gefunden werden. Hierbei ist jedoch noch unklar, ob es sich um einen Fehler der Auswertung handelt oder ob die Diffusionstheorie ungültig ist. Wird das Klebeband

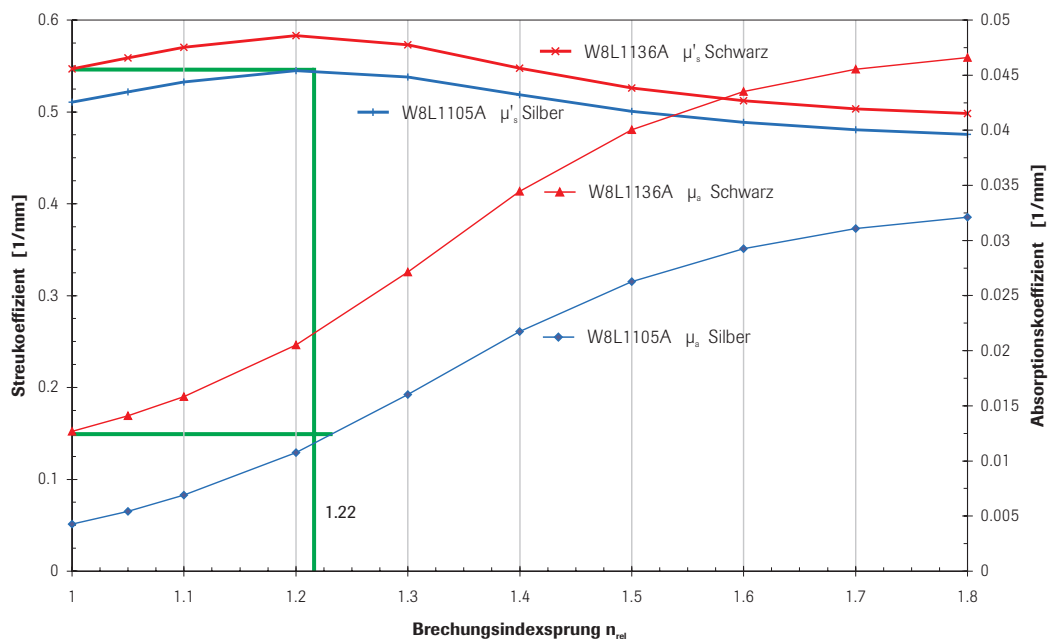


Abb. 18 Ergebnisse der μ_a/μ'_s -Berechnung bei geändertem Randwert n_{rel} und variierender Reflektivität des Detektors

verwandt, ist die Interfaceschicht deutlich stärker strukturiert und dicker. Das kann zu systematischen Fehlern in den Ergebnissen der Diffusionstheorie führen und die Übertragung der Resultate zwischen unterschiedlichen Adhäsionsschichten verbieten. Vergleicht man die mit der Diffusionstheorie berechneten μ'_s -Werte mit den durch die MIE-Theorie vorhergesagten, scheint sich das Ergebnis für den Sensor mit silbernem

Detektor zu bestätigen (Abb. 19). Die kleinsten Residuen treten im Bereich von 1.200–1.225 auf.

Die Größe des an der Grenzfläche auftretenden Brechungsindexsprungs hat Auswirkungen auf die Gültigkeit der Diffusionstheorie. Eine Voraussetzung, sie als Modell für die Lichtausbreitung im Gewebe anzuwenden, ist die isotrope Lichtausbreitung. Bei einer Grenzfläche mit einem $n_{\text{rel}}=1.00$ wird das Verhältnis von Strahlungsfluß ϕ zu Flußdichte in z-Richtung j_z klein [88]. Die Isotropie-Annahme wird verletzt. Mit zunehmendem Brechungsindexsprung vergrößert sich dieses Verhältnis, und die Voraussetzungen für die Diffusionsnäherung werden besser erfüllt.

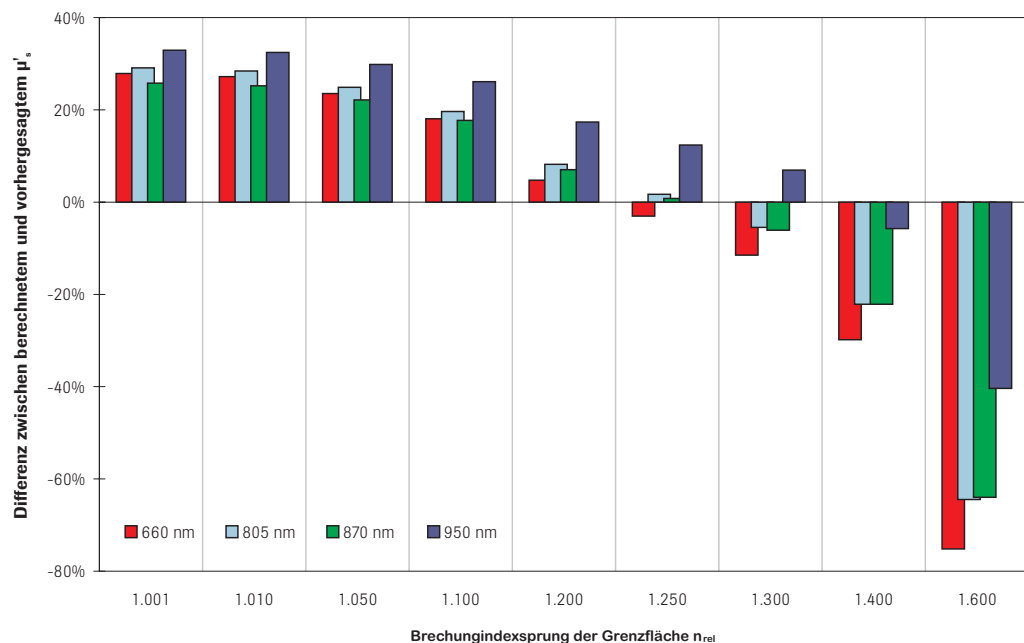


Abb. 19 Abweichung der mit der Diffusionstheorie berechneten Streueigenschaften von den Vorhersagen der MIE-Theorie

Eine höhere Reflektivität der Grenzfläche führt auch zu einer Homogenisierung der optischen Eigenschaften des Meßvolumens. Haut kann nur näherungsweise als homogen angesehen werden. Die unterschiedlichen Zellstrukturen besitzen spezifische optische Eigenschaften. Die von der Lichtquelle ausgehende Strahlung wird an unterschiedlichen Positionen detektiert. Mit dem veränderten Abstand zur Quelle verändert sich der von den Photonen im Gewebe zurückgelegte Weg. Für weiter entfernte Detektoren ist dadurch die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Photonen in tieferen Hautschichten größer als bei kurzen Abständen. Man erhält durch die Heterogenität

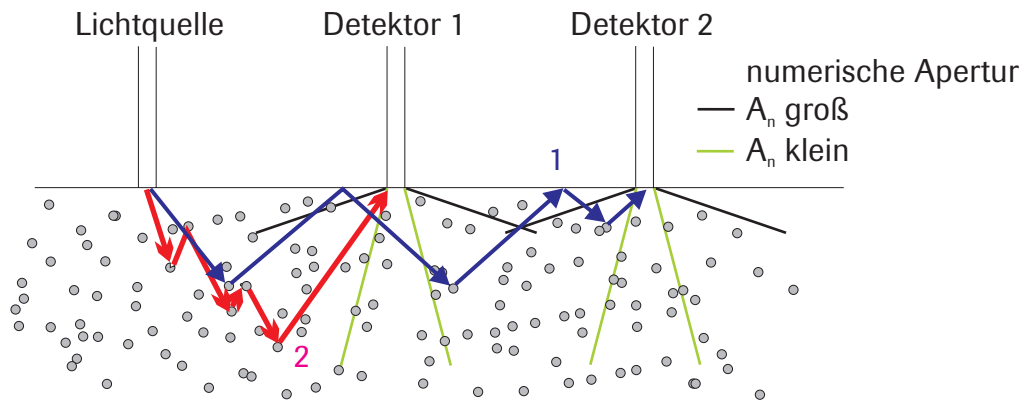


Abb. 20 Einfluß von Reflexion an der Grenzfläche und numerischer Apertur der Faserplatte

verzernte Intensitätsprofile. Mit größerem n_{rel} verstärkt sich die Reflexion an der Grenzfläche. Die Zahl der Photonen, die den in Abb. 20 mit 1 bezeichneten Weg durch das Gewebe nehmen, steigt. Die Wahrscheinlichkeit für den Aufenthalt in der Dermis nimmt zu. Mit ihr vergrößert sich der Signalanteil aus der am meisten die Streuung beeinflussenden Schicht. Die Profile von Sensoren mit einer reflektierenden Chipoberfläche lassen sich deutlich besser mit der Diffusionstheorie beschreiben.

Die bei den NIT-Systemen benutzte Faserplatte soll hier ebenfalls dem Interface zugeordnet werden. Sie besteht aus einer Vielzahl von Stufenindexfasern. Diese haben eine große numerische Apertur (~ 1). Das führt dazu, daß Photonen mit einer großen Winkelverteilung detektiert werden können. Der in Abb. 20 gezeigte Pfad 2 ist ein Beispiel dafür. In den Detektoren werden dadurch Signale registriert, die einer anderen Ortskoordinate zuzuordnen wären. Es wird nicht nur die an dem Ort des Photoelementes austretende Strahlung gemessen, sondern auch ein Anteil aus der Umgebung. Daraus resultiert ein höherer Photostrom als eigentlich zu erwarten wäre. Die Intensitätsprofile fallen folglich weniger steil über dem Abstand ab. Werden μ_a und μ'_s aus diesen Daten bestimmt, führt das zu sehr kleinen Werten der Absorption. Bei einer Regression ohne Einschränkung des Suchraums auf physikalisch sinnvolle Grenzen erhält man gelegentlich negative Absorptionskoeffizienten. Die Diffusionstheorie bildet den zusätzlichen, aufgrund der hohen Apertur gemessenen, Signalanteil in dieser Form ab. Wird die Streuung kleiner, verringert sich auch dieser Störeffekt. Damit läßt sich erklären, warum für 950nm zumeist Ergebnisse berechnet werden können, die besser mit den Erwartungen aus der Theorie übereinstimmen, als für kleinere Wellenlängen.

Abbildung 15, S.52, ist ein Beispiel für dieses Verhalten. In einem bestimmten Zeitabschnitt kann kein Wert für μ_a gefunden werden. Das Modell bricht zusammen. Bei größeren Wellenlängen lassen sich unabhängige Werte für μ_a und μ'_s berechnen und der Verlauf des Streukoeffizienten spiegelt die Veränderung der Glucosekonzentration wider. Das würde auch die im Vergleich zu Mark-II-Experimenten niedrigeren Absorptionskoeffizienten und die verringerte μ'_s -Sensitivität bei NIT 1.37 erklären. Die Lichtleiter in den Meßköpfen für Mark II haben eine kleinere numerische Apertur (~ 0.22) und weisen daher eine geringere Störung der Signale auf als die NIT-Systeme.

Neben diesen systematischen Einflußfaktoren existieren noch einige zufällige. Beim Aufkleben der Sensoren gelingt es nicht immer, Luftblasen im Interface zu vermeiden. Diese führen zu starken lokalen Änderungen im Brechungsindex. Befinden sie sich unter einzelnen Detektoren, so werden diese stark gestört (Abb. 13, S.49). Zumeist verschwinden sie nach einigen Stunden. In ähnlicher Weise hinderlich zeigen sich Haare und Pigmentationsstörungen. Kommt es zu einer partiellen Ablösung des Sensors, sind die Ergebnisse chaotisch. Bereits kleine Bewegungen führen zu einem Luftspalt zwischen Haut und Meßsystem. Die variierenden Interface-Eigenschaften spiegeln sich in Intensitätssprüngen wider. Die kurze Dauer solcher Ereignisse läßt zufällig Störmuster in den Signalen der betroffenen Detektoren auftreten. Solche Experimente können nicht ausgewertet werden.

5.1.5 Temperaturkompensation

Die Temperatur ist eine Variable, die sowohl die optischen Eigenschaften der Haut als auch die des Meßsystem selbst beeinflusst. Elektronische Bauelemente weisen einen charakteristischen Temperaturgang auf. Für komplexe Schaltungen ergibt sich gleichfalls eine Abhängigkeit. Sie ist jedoch nicht einfach die Summe aller Einzelfunktionen. Es gehen ebenso konstruktive Merkmale und unterschiedliche Betriebszustände in den resultierenden Temperaturgang des Gerätes ein. Diese Vielzahl von Faktoren erfordert eine spezifische Kalibration. Sie erfolgt, indem man die Temperatur variiert und gleichzeitig das Meßsignal aufzeichnet. Aus diesen Daten kann ein Kalibrationsmodell konstruiert werden, das die mit der Temperatur induzierten Signalanteile eliminiert.

Die nur aus optischen Komponenten bestehenden Faserköpfe des Mark-II-Systems erfordern keine Temperaturkompensation. Sie ist hingegen für NIT-Systeme notwendig. Die NIT-1.36-Meßköpfe weisen einen gut kompensierbaren linearen Temperaturgang

auf. Obgleich NIT 1.37 im wesentlichen eine Erweiterung der Vorgängerversion darstellt, ist ihr Temperaturgang nicht vergleichbar. In Abb. 21 ist das Verhalten eines Meßkopfes dargestellt. Für jede der vier Wellenlängen ergibt sich eine spezifische Funktionsschar. Der parallele Verlauf des Signals für die einzelnen Detektoren zeigt, daß sich die Quelle der Temperaturfunktion senderseitig befinden muß. Dafür spricht auch

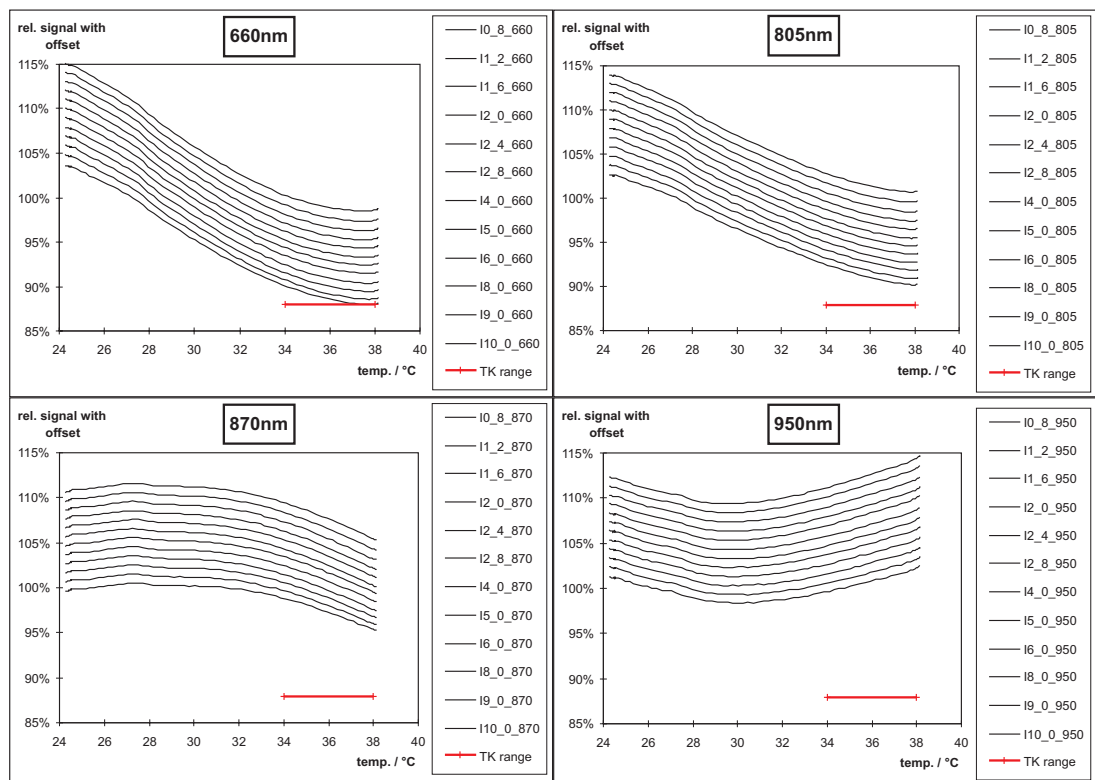


Abb. 21 Arbeitsblatt zur Ermittlung der Parameter für die Temperaturkompensation von NIT-1.37-Meßköpfen [109]

ihre Wellenlängenabhängigkeit. Dieses Verhalten ist für die verschiedenen Exemplare von NIT 1.37 unterschiedlich und wird zudem durch die Alterung des Systems verändert. Die genaue Ursache konnte noch nicht festgestellt werden. Es ist jedoch zu vermuten, daß es sich um Dimensionierungsprobleme der Konstantstromquelle für die LEDs handelt. Möglich ist, daß einzelne Bauelemente dieses Schaltungsteils im Grenzbereich ihrer Spezifikation betrieben werden und dabei ein stark variierendes Verhalten zeigen.

Die Kompensation dieses nichtlinearen Temperaturgangs erweist sich als schwierig. In der Firmware des Sensors ist nur ein lineares Modell vorgesehen. Daher wurde die

Kalibration so vorgenommen, daß die kleinsten Abweichungen im klinisch relevanten Bereich von 33°C bis 35°C auftraten. Der zulässige Arbeitsbereich wird in dem Arbeitsblatt zur Temperaturkompensation (Abb. 21) als „TK range“ angegeben.

Der Temperaturgang beeinflusst ebenfalls die ermittelten optischen Kenngrößen. Sind alle Detektoren in gleichem Maße von der näherungsweisen Temperaturkompensation betroffen, d.h. laufen die Funktionen parallel, wirken sich kleine Änderungen praktisch nicht aus. Für die meisten Versuche mit Glucosevariation trifft das zu. Sie fanden unter klimatisierten Bedingungen statt. Langzeit- oder Temperaturversuche erfordern hingegen eine spezielle Aufbereitung der Daten. Dabei muß berücksichtigt werden, daß sich der Temperaturgang durch Alterungserscheinungen des Meßsystems verändert. Es sollte daher die zur Kalibration benutzte Temperaturfunktion vor dem Versuch neu bestimmt werden.

5.2 Physiologische Einflüsse

Bei einem Meßsystem, das seine Werte *in vivo* ermittelt, spielen physiologische Faktoren eine große Rolle. Es ist eine unerläßliche Voraussetzung, ihre Zahl und ihre Auswirkungen zu kennen, will man mit einem unspezifischen Sensor arbeiten. Es gilt zu untersuchen, in welchem Maße das System selbst auf den Ort der Messung wirkt und wie sich die vielfältigen Aufgaben der Haut im Signal widerspiegeln.

5.2.1 Temperatur und Durchblutung

Zwei untrennbar miteinander verbundene physiologische Variablen sind Temperatur und Durchblutung. Die Körperkerntemperatur wird sehr konstant gehalten. Als Wärmetransportmedium fungiert im Körper das Blut. Entsteht durch Stoffwechselaktivitäten eine überschüssige Wärmemenge, so wird sie durch eine verstärkte Durchblutung der Haut an die Umgebung abgeführt. Wirkt dagegen von außen ein Kältereiz ein, so sinkt die Durchblutung und die Körperkerntemperatur bleibt konstant. Neben diesen Mechanismen existieren zusätzlich unwillkürliche psychosomatische Einflüsse wie Erröten oder Gänsehaut.

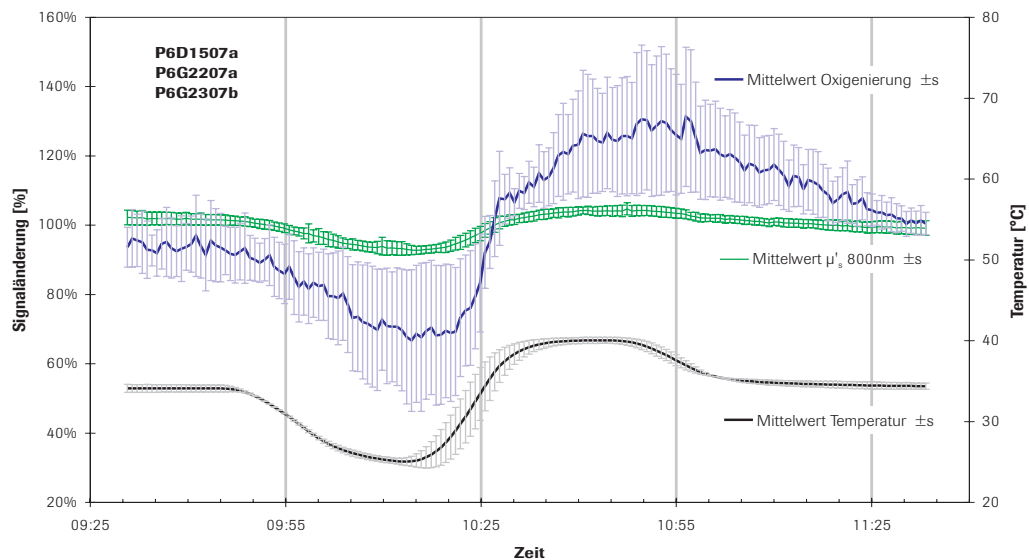


Abb. 22 Mittelwerte und Standardabweichung der Resultate von Temperaturversuchen

Hämoglobin ist in dem von den Sensoren benutzten Wellenlängenbereich die am stärksten absorbierende Substanz (Abb. 4, S.15). Variationen im Blutfluß zeigen sich in der Veränderung der spektralen Merkmale der Haut. Man kann näherungsweise davon

ausgehen, daß der Energiebedarf der Hautzellen und somit ihr Sauerstoffbedarf bei einer moderaten Temperaturerniedrigung konstant bleibt. Bei einer verminderten Durchblutung führt das zu einer verringerten Sauerstoffsättigung des Blutes. Das Verhältnis von Hb zu HbO₂ verkleinert sich. Die Zeitreihen der Absorptionskoeffizienten bilden diese physiologischen Verhältnisse korrekt ab. Die Temperaturschwankungen sind stark mit dem veränderten Oxigenierungsgrad korreliert (Abb. 22, 24).

Der Streukoeffizient ist gleichfalls temperaturabhängig. Der Brechungsindex aller Zellbestandteile verändert sich. Jedoch zeigen sie eine unterschiedliche Sensitivität auf Temperaturänderungen. Das für die Streueigenschaften verantwortliche Verhältnis der Brechungsindizes der Grenzflächen der streuenden Teilchen bleibt nicht gleich. Verkleinert es sich, so sinkt der Streukoeffizient (Abb. 22). Dieser Effekt sollte bei dem den Sensorkopf an die Haut ankoppelnden Material ebenfalls zu beobachten sein. Dadurch verändert sich zusätzlich die Reflektivität der Grenzfläche Sensor-Haut.

In Langzeitversuchen unter den Bedingungen des täglichen Lebens zeigte sich die große Spannweite der Temperaturvariation. Während der Körperkern auf Bruchteile eines Grades stabil ist, schwankt die Hauttemperatur spürbar. In dem in Abb. 24 dargestellten Experiment sind es direkt nach dem Aufstehen ca. 4°C. Die Schwankungsbreite hängt von der Konstitution der Probanden ab. Daß man diese scheinbar kleinen Schwankungen nicht vernachlässigen kann, zeigen die Temperaturversuche (Abb. 22). Die Variation bei den mit dem Mark-II-System ausgeführten Experimenten wurde durch einen mittels Wasserbad temperierten Metallring ausgelöst. Dieser umschloß den Faserkopf vollständig und gewährleistete einen großflächigen Kontakt mit der Haut. Die Mittelwerte sind aus drei Versuchen und den beiden Gruppen des Faserkopfes berechnet worden. Der Streukoeffizient folgt gut der Temperatur. Sein Verhalten bleibt über die Experimente fast gleich. Der daraus geschätzte Temperaturkoeffizient beträgt etwa 0.8% $\mu'_s/^\circ\text{C}$. Damit ist er in derselben Größenordnung wie das eigentliche Meßsignal bei einer Änderung der Glucosekonzentration um 100 mg/dl. Die physiologische Reaktion des Körpers auf diesen Temperaturreiz ist interindividuell stark unterschiedlich. In der Standardabweichung des Absorptionskoeffizienten ist das gut zu erkennen. Bei einem Probanden fiel eine sehr deutliche Änderung des Oxigenierungsgrades ($\mu_a(650\text{nm})/\mu_a(800\text{nm})$) auf, während ein anderer kaum einen Effekt zeigte.

Generell sind die Ergebnisse der durchgeführten μ_a/μ'_s -Berechnungen schwierig (Abb. 23) zu bewerten. Durch das Fehlen einer Referenzmethode für den Streu-

koeffizienten ist man allein auf theoriebasierende Annahmen über das zu erwartende Verhalten angewiesen. Jedoch ermöglichen Absorptionsänderungen der Haut eine elegante Plausibilitätsprüfung. Temperatur- und Druckvariationen beeinflussen die Durchblutung des vermessenen Hautareals gezielt. Die zu erwartenden physiologischen Reaktionen sind relativ sicher abzuschätzen. Druckeinwirkungen führen zu einer verminderten Blutversorgung, ebenso wie moderate Kältereize. Eine Erhöhung der Hauttemperatur wird den Blutzufluß und somit die Absorption vergrößern. Die Intervention muß allerdings sehr vorsichtig durchgeführt werden. Wird die Reizschwelle überschritten, so reagiert der Körper mit entgegengesetztem Verhalten. Ein Kältereiz verstärkt dann die Durchblutung des betroffenen Areals. Lassen sich diese erwarteten Muster in den berechneten wiederfinden, ist eine gewisse Sicherheit für ein richtiges Ergebnis der μ_a -Berechnung gegeben. Geht man von der Annahme aus, daß die Lichtausbreitung in der Haut nur korrekt beschrieben werden kann, wenn sowohl μ_a als auch μ'_s stimmen, ist es legitim, den berechneten Streukoeffizienten als richtig anzusehen. Mit dieser Plausibilitätsprüfung lassen sich die verschiedenen Algorithmen miteinander vergleichen.

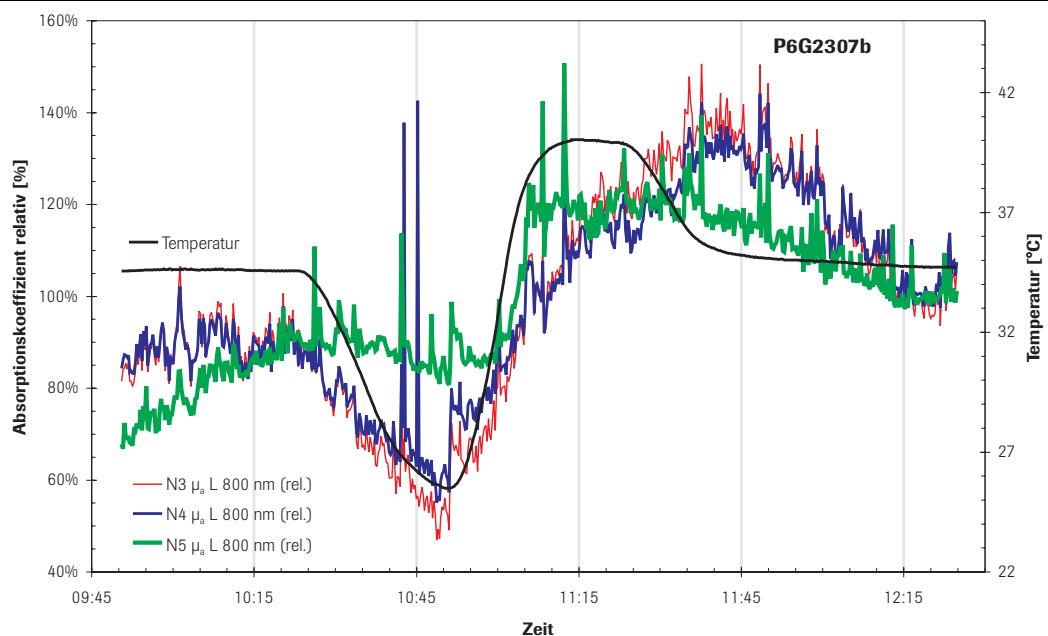


Abb. 23 Veränderung des mit unterschiedlichen Algorithmen errechneten Absorptionskoeffizienten bei einem Temperaturversuch

Das in Abb. 23 dargestellte Experiment zeigt den Verlauf der mit verschiedenen Algorithmen berechneten Absorptionskoeffizienten (Abschn. 5.1.1). Sie unterscheiden

sich in den Ergebnissen. Die Berechnungen mit N3 und N4 zeigen ein in Details abweichendes Zeitverhalten von μ_a verglichen mit denen von N5. Obgleich letztere Variante stärker mit einer initialen Drift überlagert ist, spiegelt sie die erwartete physiologische Reaktion genauer wider als die Werte der beiden anderen. Dieses Verhalten zeigt sich in der Mehrheit der untersuchten Experimente. Deshalb kann man den Ergebnissen nach N5 stärker vertrauen als denen der anderen Verfahren. Das trug dazu bei, mit diesem Algorithmus μ_a und μ'_s für die OLS-Kalibrationen (Abschn. 5.3.3) zu berechnen.

5.2.2 Schichtstruktur und Heterogenität der Haut

Eine der Randbedingungen für die Gültigkeit der Diffusionstheorie ist, daß sich das Licht in einem homogenen und unendlich großen Halbraum ausbreiten kann. Sie ist für das heterogene Gebilde Haut (Abb. 6, S.22, und 25, S.68) nur idealisiert anwendbar. Sind die Zellen der Epidermis noch sehr homogen, finden sich in der Dermis bereits größere Strukturen und in der Subcutis viele große Fettzellen und Blutgefäße. Man betrachtet das Meßvolumen dann als im Mittel homogen. Diese Annahme ist jedoch in einem von Proband zu Proband und für jeden Probanden von Experiment zu Experiment differierendem Maße gültig. Die berechneten Werte gelten daher immer für den einzelnen Versuch.

Besonders deutlich wird das, wenn man sich die Verteilung eines an die Blutgefäße gebundenen Signals über den Abstand ansieht. Mit zunehmender Entfernung des Detektors zur Lichtquelle vergrößert sich die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Photonen in tieferen Hautschichten. Dort können sie mit den in größerer Zahl vorhandenen Blutgefäßen wechselwirken. Berechnet man den Oxigenierungsgrad aus dem Quotienten der Intensitäten bei 660nm und 800nm und trägt die für unterschiedliche Abstände erhaltenen Werte auf, erhält man Darstellungen wie Abb. 24. Durch die Quotientenbildung ist dieses Signal weitgehend von Drifterscheinungen und Grenzflächeneinflüssen frei. Daher eignet es sich gut zur Visualisierung der Heterogenität senkrecht zur Hautoberfläche. In diesem Langzeitexperiment schwankt die Temperatur in einem weitaus höherem Maße als bei Klinikversuchen. Ebenso ändert sich der Oxigenierungsgrad. Mit zunehmendem Abstand korrelieren die Zeitreihen stärker. Bei einem homogenen Medium ist das nicht zu beobachten.

Um zu einem homogenen Meßvolumen zu gelangen, sind verschiedene konstruktive Veränderungen am Meßkopf denkbar. Die optischen Eigenschaften der Grenzfläche können ebenfalls dafür benutzt werden. Um die Wirksamkeit dieser Maßnahmen zu beurteilen, bietet sich die Auswertung der Korrelation von Temperatur und Oxigenierungsgrad über den Abstand an.

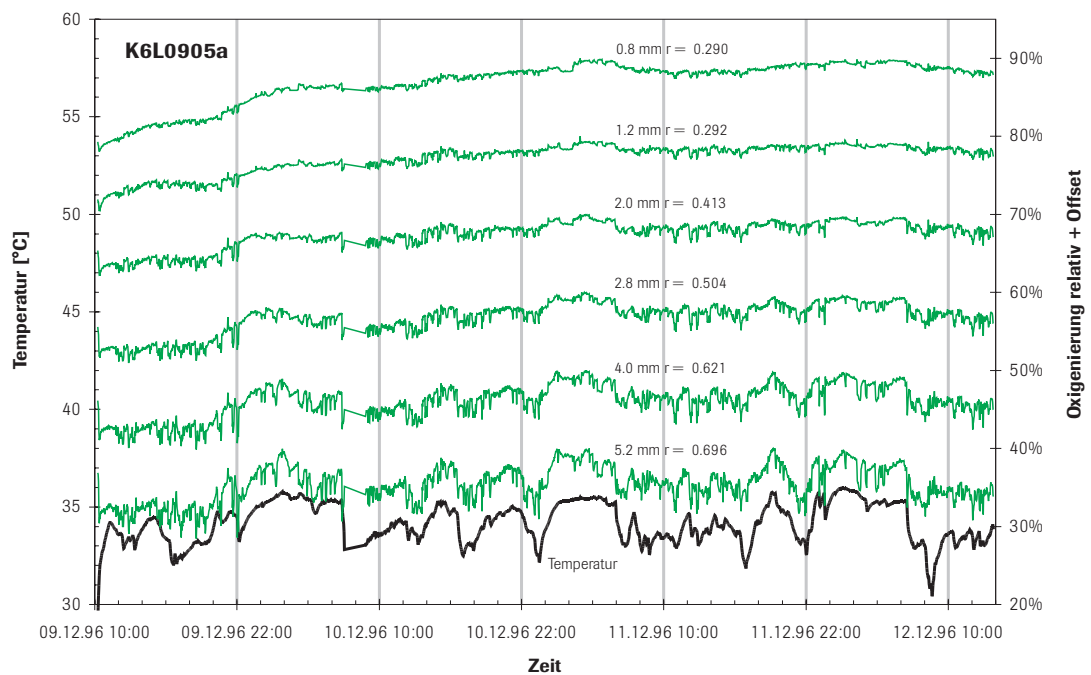


Abb. 24 Veränderung des Oxigenierungsgrades in Abhängigkeit vom Abstand und seine Korrelation zur Temperatur

Simulationen haben gezeigt, daß die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Photonen in der Dermis am höchsten ist. Daher entstammt die meiste Streuinformation dieser Hautschicht. Die Streuung findet dabei vorwiegend an den kollagenen Faserstrukturen statt. Abhängig vom Ort haben diese eine bevorzugte Richtung. Sie zeigt sich in den LANGER-Spaltlinien. Das Licht breitet sich anisotrop aus. Trifft Licht im rechten Winkel auf diese Faserbündel, wird es verstärkt gestreut. Breitet es sich parallel zu ihnen aus, wird es durch Lichtleiteffekte weiter im Gewebe transportiert (Abb. 7, S.24).

Diese Strukturen sind mit nichtinvasiven Methoden nur sehr aufwendig vor dem Versuch feststellbar. Der Sensor kann daher nicht definiert zu den Spaltlinien ausgerichtet werden. Mechanisch aufgeprägte Spannungen der Haut verändern die Anisotropie der Lichtausbreitung gleichfalls. Bereits das Aufkleben des Meßsystems kann zu solchen Effekten führen. Sie finden sich in den berechneten Streukoeffizienten

und sind nicht reproduzierbar. Daher sind sie sowohl ein Teil der inter- als auch der intraindividuellen Variation und schränken die Möglichkeit zur Erstellung von versuchsübergreifenden Kalibrationsmodellen deutlich ein.

5.2.3 Rückwirkungen des Meßsystems auf den Meßort

Das Aufkleben des Sensors hat natürlich Rückwirkungen auf die unter ihm befindlichen Hautareale. Das Interfacematerial und die Faserplatte schließen nahezu luftdicht ab und verhindern die Abgabe von Feuchtigkeit an die Umgebung. Es wird angenommen, daß dies zu einem Aufquellen der Epidermis führt und das Signal dadurch driftet.

Um den Einfluß der Okklusion beurteilen zu können, wurden an einem mit dem Kleber bedeckten Hautareal Vergleichsmessungen mit OCT vorgenommen. Es ist nicht möglich, das Gerät so genau zu positionieren, daß eine identische Position *in vivo* erneut vermessen werden kann. Daher wurden mehrere Messungen (A6, S. 110) vorgenommen. Nach 24 Stunden folgte eine zweite Meßserie. Die Interpretation der für diese Anwendung relativ gering aufgelösten Aufnahmen (Abb. 25) ist schwierig. Es lassen sich

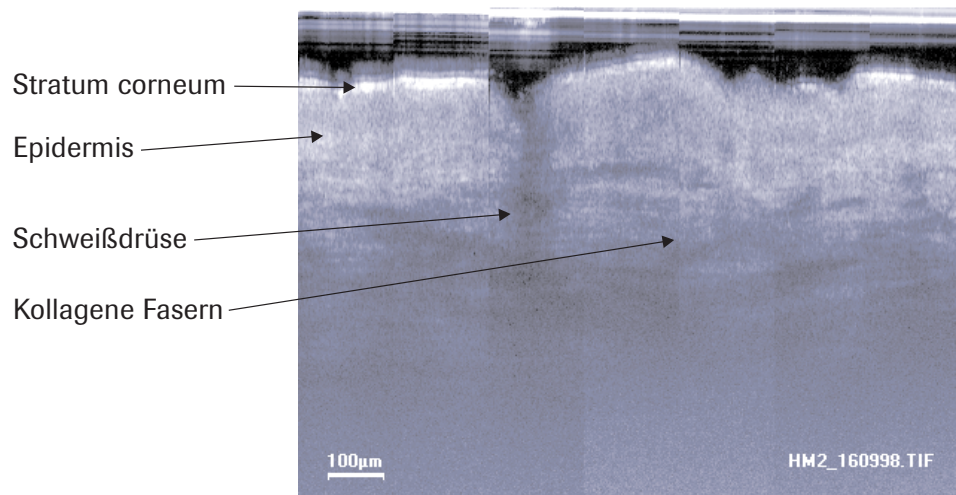


Abb. 25 OCT Aufnahme der oberen Hautschichten

sicher das Stratum corneum und die Epidermis erkennen. Der Vergleich der Aufnahmen zeigte keine Zunahme der Schichtdicken. Eine abschließende Bewertung ist

allerdings wegen der relativ geringen Auflösung noch nicht möglich. Es kann jedoch wahrscheinlich ausgeschlossen werden, daß Dickenänderungen $>20\mu\text{m}$ auftreten. Änderungen in der horizontalen Richtung sind durch die innige Verbindung mit dem Interface nicht wahrscheinlich.

Eine chemische Reizung der Haut kann sicher ausgeschlossen werden. Das Gewebe ist nach dem Abnehmen des Sensors leicht gerötet. Das resultiert aus der mechanischen Beanspruchung. Es wurde keine allergische Reaktion beobachtet. Bei den ausgeführten Langzeitversuchen traten Läsionen der Haut durch das Gehäuse des Meßkopfes auf. Sie sind relativ weit vom Meßort entfernt und sollten keine Auswirkungen auf ihn haben. Bei der Konzeption eines neuen Meßkopfes muß das trotzdem berücksichtigt werden.

5.2.4 Zyklische Variationen und Signaldrift

Um die Ursachen der Signaldrift zu untersuchen, erfolgte eine Reihe von Langzeitversuchen. Sie wurden mit gesunden Probanden über mehrere Tage durchgeführt. Es gab dabei keinerlei Einschränkungen ihrer Bewegungsfreiheit. Daher sind die Ergebnisse aus dieser Serie stärker gestört als die der klinischen Untersuchungen. Berücksichtigt man den großen Einfluß von Bewegung und Druck auf das Signal, sind sie überraschend gut (Abb. 26, 27). Das erklärt sich mit der relativ kurzen Meßzeit. Eine

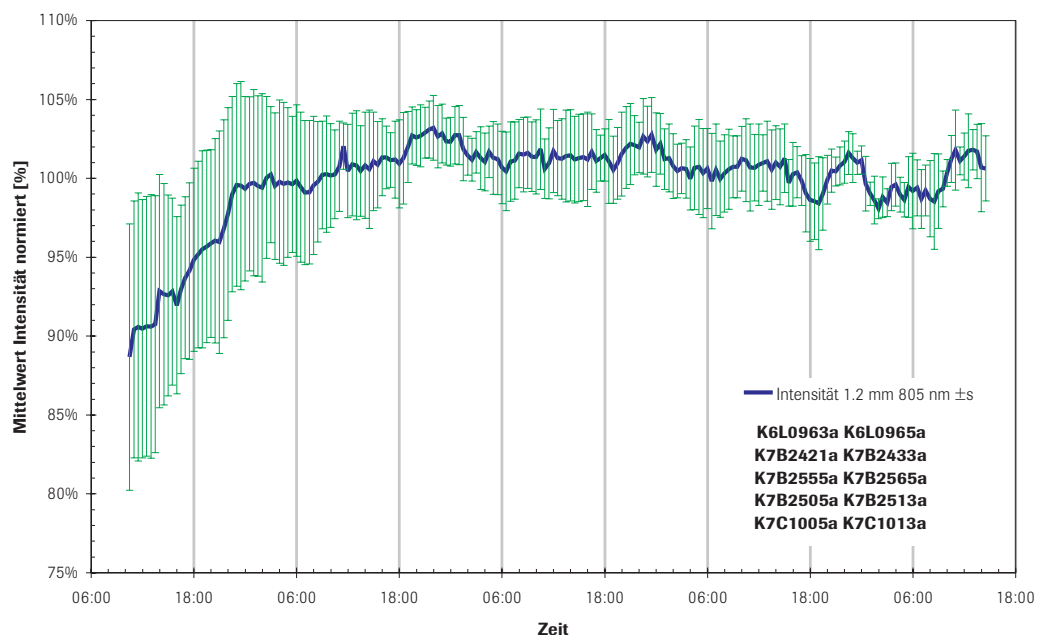


Abb. 26 Mittelwert und Standardabweichung der Intensitäten bei 1.2mm und 805 nm für 10 Langzeitexperimente über je vier Tage

Messung bestehend aus 20 Wiederholungen wird innerhalb von 7.2s ausgeführt. Die Bildung des Mittelwertes über das Intervall verringert kurzzeitige Störungen, wie sie durch Puls und Bewegungen ausgelöst werden. Die im Vergleich mit der Versuchsdauer kurze Meßzeit verringert die Wahrscheinlichkeit, daß Störungen während der Datenaufnahme auftreten und sich als physiologisches Rauschen bemerkbar machen.

Bei nahezu allen klinischen Versuchen steigt der Streukoeffizient mit der Zeit an. Die Langzeitexperimente boten die Möglichkeit, dieses Verhalten über den üblichen Versuchszeitraum von sechs bis acht Stunden hinaus zu verfolgen. Die in Abb. 26 zusammengefaßten Werte von fünf gesunden Probanden über vier Tage zeigen das Driftverhalten deutlich. Es wurde über die Intensitätswerte des 1.2mm-Detektors bei 805 nm gemittelt. Während der ersten 24 Stunden finden offensichtlich Anpassungsprozesse statt. Sie unterliegen einer großen interindividuellen Variabilität. Die Standardabweichung in diesem Intervall ist wesentlich größer.

Als Ursache können zwei Effekte angenommen werden. Einerseits ist es möglich, daß die oberen Hautschichten durch Wasseraufnahme quellen und sich die Veränderungen nicht in den OCT-Aufnahmen erkennen lassen, weil sie dafür zu gering aufgelöst sind. Andererseits kann die Einlagerung von Wasser oder organischen Substanzen aus der Haut in das Interface ebenfalls zu diesen Drifterscheinungen führen. Ändert sich der

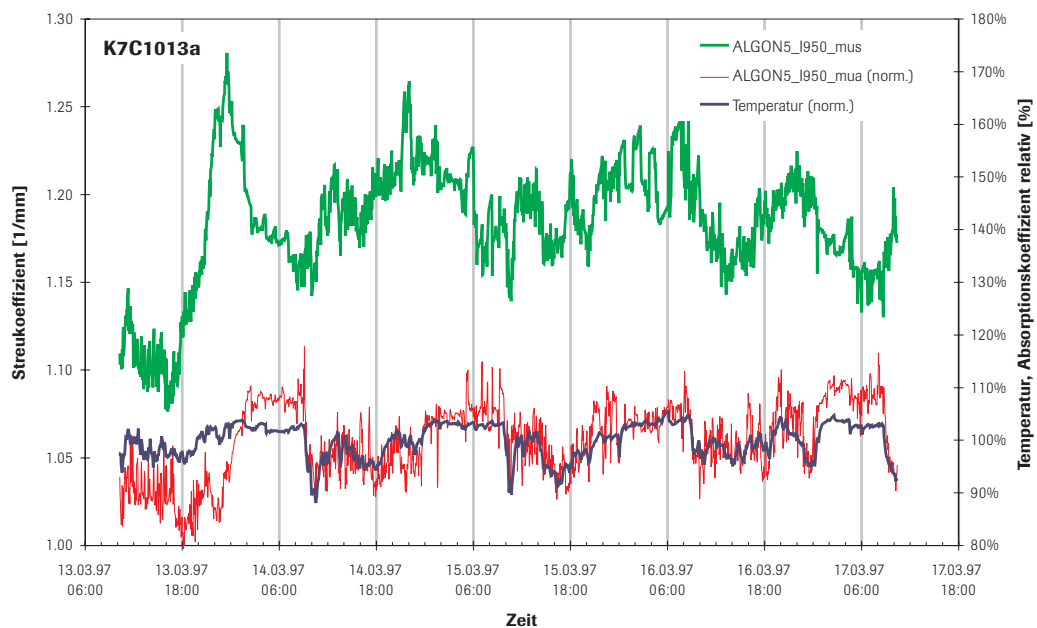


Abb. 27 Langzeitexperiment mit periodischen Mustern des Streukoeffizienten

Brechungsindex dieser Schicht, bildet sich das den Reflexionsdaten ab. Weitere Langzeitversuche mit der aktuellen Technik und anderen Interface-Materialien müssen diese Sachverhalte klären.

Die Berechnung der optischen Parameter μ_a und μ'_s gelingt bei Experimenten mit NIT 1.36 nur unter optimalen Bedingungen. Um die Auswirkungen von Drift und Bewegung abzuschätzen, wurden dennoch einige durchgeführt, da Experimente über diesen langen Zeitraum mit NIT 1.37 noch nicht verfügbar sind. Das in Abb. 27 dargestellte Experiment zeigt nach einer Einlaufphase periodische Muster im Verlauf des Streukoeffizienten. Er steigt im Tagesverlauf an, um während der Nacht wieder abzusinken. Dieses Verhalten kann nicht allein über die mit der Tageszeit variierende Körpertemperatur erklärt werden. Da es sich bei den Probanden nicht um Diabetiker handelte, ist eine Änderung des Streukoeffizienten durch die Variation der Glucosekonzentration unwahrscheinlich. Bei Stoffwechselgesunden schwankt die Blutglucose im Bereich von 90–120 mg/dl, und es ist nicht zu erwarten, daß sich diese kleinen Änderungen momentan von den Störungen unterscheiden lassen.

5.2.5 Auswirkungen von Bewegung und Druck

Jegliche Form der Bewegung führt zu Kreislaufreaktionen. Diese sind durch veränderte Durchblutung der Haut auch in deren optischen Eigenschaften sichtbar. Sie bilden eine weitere Störkomponente. Bewegungen führen aber auch dazu, daß sich der Druck auf das Meßsystem verändert. Nachts liegen die Probanden häufig auf den Meßköpfen und verändern so die Durchblutung des gemessenen Hautareals.

Zur Beantwortung der Frage, ob Lageänderungen des Körpers die Streueigenschaften der Haut beeinflussen, wurden Reihen mit Umlagerungs- und Druckversuchen durchgeführt. Bei der ersten Serie lagen die Probanden anfänglich flach im Bett, dann wurden die Beine hochgelegt. Anschließend saßen sie für eine gewisse Zeit auf einem Stuhl. Nach nochmaliger Hochlagerung der Beine wurde die Ausgangsposition wieder eingenommen. In Abb. 28 ist das Ergebnis eines dieser Versuche zu sehen. Das Experiment wurde sofort nach Aufkleben des Sensors gestartet. Deshalb sieht man den Temperatúrausgleich und die Hautanpassung deutlich. Der Meßkopf war am Oberschenkel befestigt. Die Durchblutung reagiert sehr stark auf die Lageänderungen. Das Hochlegen der Beine verringert die Blutzufuhr. Das ist ebenfalls dem Verlauf von μ_a zu entnehmen. Beim Sitzen vergrößert die Schwerkraft die Blut- und Flüssigkeitsmenge

in den Beinen. Durch eine Kreislaufantwort auf diesen Reiz verringert sich das Blutvolumen wieder. Die Gefäße werden verengt. Die abnehmende Durchblutung bringt einen Temperaturabfall der Haut mit sich. Die nachfolgende Hochlagerung der Beine zeigt die dazu entgegengesetzte Kreislaufreaktion. Anfänglich vermindert die Schwerkraft die Blutmenge, die jedoch wieder ausgeglichen wird. Kehrt der Proband in die Ausgangslage zurück, normalisieren sich die Verhältnisse schnell. Der Übergang von der Horizontalen in die Vertikale verändert auch die interstitielle Flüssigkeitsmenge. Der Verlauf des Streukoeffizienten zeigt diesen Prozeß. Die Auswirkungen sind jedoch deutlich geringer und erfolgen langsamer als die absorptiven Veränderungen.

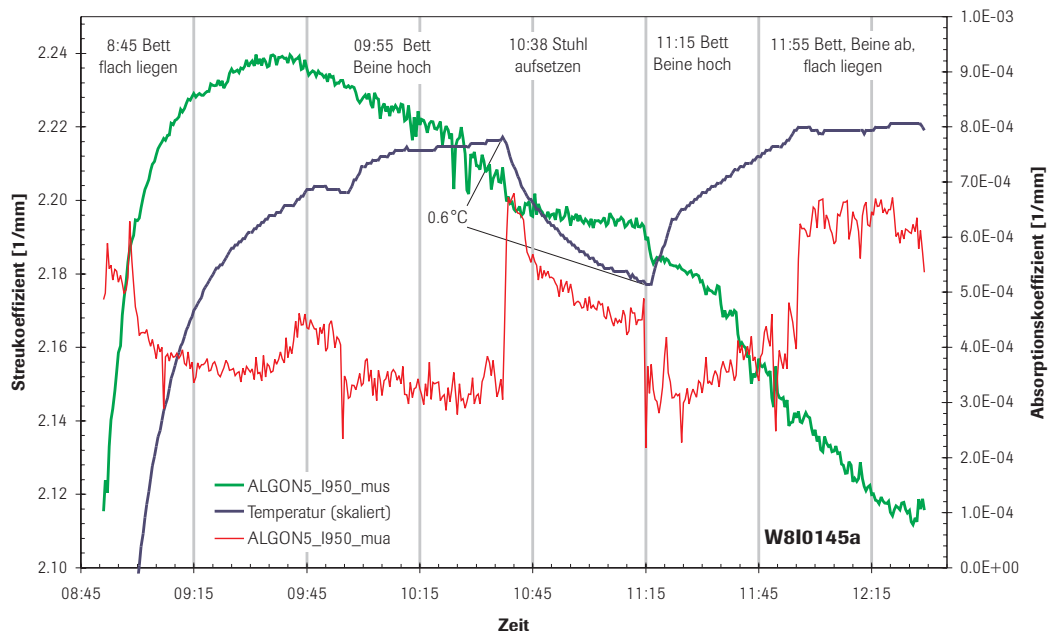


Abb. 28 Reaktion von Streu- und Absorptionskoeffizient auf Lageänderungen

Muskelkontraktionen können ebenfalls die optischen Eigenschaften des Meßvolumens beeinflussen. Es verändern sich der Blutfluß und die geometrischen Verhältnisse. Bei dem in Abb. 29 dargestellten Versuch wurde der Meßkopf direkt auf dem Oberarm aufgeklebt. Der Proband verfügt über ein sehr dünnes Unterhautfettgewebe. Daher entstammt ein Teil der Signale direkt dem Muskelgewebe. Während der Anspannungsphase zeigen sich große Schwankungen. Der erhöhte Energiebedarf führt zu einer verstärkten Durchblutung des Gewebes. Das errechnete μ_a -Signal zeigt diese Änderung. Man muß annehmen, daß das vergrößerte Volumen des Muskels zu einer Veränderung der Abmessungen des Meßraumes führt und die Zahl der Streuzentren

vergrößert. Ob es sich bei dem nach dem Experiment ansteigenden μ'_s um eine Folge der Belastung oder um eine Drift handelt, kann nicht entschieden werden.

Allen Versuchen, die Bewegungs- und Druckeinflüssen gewidmet waren, ist gemeinsam, daß sie eine sehr große Variabilität zeigen. Es spielen hier die Konstitution des Probanden und die Lage des Meßsystems eine deutlich größere Rolle als bei anderen Experimenten.

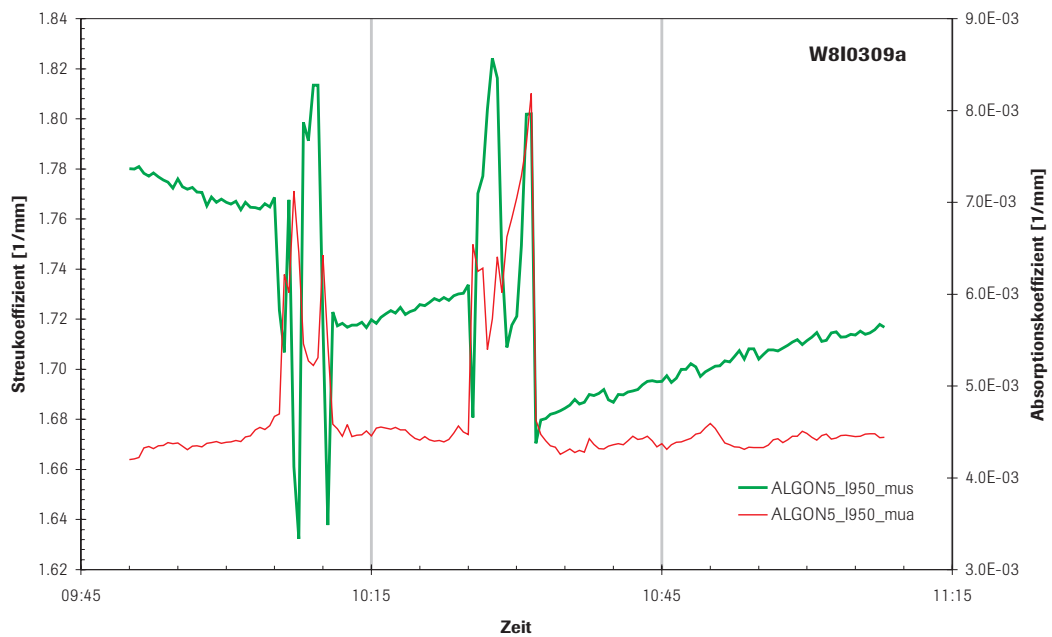


Abb. 29 Muskelkontraktionen bilden sich ebenfalls in den optischen Eigenschaften der Haut ab

Viele physiologische Veränderungen wirken stark auf die Absorption der Haut. Der Streukoeffizient verändert sich ebenfalls in einem nicht zu vernachlässigendem Maße. Mit der Diffusionstheorie besitzt man jedoch ein Modell, daß es gestattet, das gemessene Signal von einem Teil der physiologischen Variabilität zu befreien. Die mittels chemometrischer Modellierung aus den orts aufgelösten Remissionen erstellten Kalibrationen können diese Varianz nur schwer adäquat berücksichtigen.

5.3 Experimente mit Variation von Glucose

5.3.1 Versuchsprotokoll – Vermeidung von Scheinkorrelation

Die Verwendung unspezifischer Meßgrößen birgt immer die Gefahr von zufälligen Korrelationen zwischen dem gemessenen Signal und der gesuchten Zielgröße in sich. Es müssen daher alle Variablen bezüglich ihres Einflusses auf das Modell untersucht werden. Hierzu existieren zwei prinzipielle Strategien. Eine besteht darin, ein einfaches Meßmodell schrittweise mit zusätzlichen Einflußgrößen zu erweitern. Nachteilig ist, daß man nur bekannte Faktoren einbeziehen kann und unter Umständen nicht die notwendige Komplexität für ein stabiles Modell erzielt. Es schwierig, lebende biologische Systeme zu modellieren. Man gelangt jedoch zu einem tieferen Verständnis des gesamten Meßzusammenhangs. Die Arbeitsgruppe von ARNOLD hat mit dieser Strategie bei der nichtinvasiven Glucosemessung, basierend auf klassischer Spektroskopie, gute Erfolge erzielt. In weiteren Arbeiten weisen sie sehr nachdrücklich auf die Gefahr von Scheinkorrelationen hin [43, 40, 39, 23].

Bei der zweiten Untersuchungsstrategie geht man von einem vollständigen System aus und versucht durch die Identifikation von Störgrößen das Original immer besser zu beschreiben. Hierbei werden zumeist die wichtigsten Einflüsse berücksichtigt. Die Schwierigkeit dieses Weges besteht darin, die Zielgröße aus den Gesamtsignalen zu isolieren. Die Probleme vergrößern sich, wenn die Variablen in vergleichbaren Dimensionen vorliegen.

Letztere Strategie mußte in der vorliegenden Arbeit verfolgt werden. Der gewählte Ansatz ließ nur Probandenversuche zu. Es wurden unterschiedliche Experimente durchgeführt, um einzelne Störgrößen zu erkennen und die Glucosevariation zu messen. Alle waren gemäß der Deklaration von Helsinki von einer Ethikkommission genehmigt. Sie wurden unter ärztlicher Aufsicht an der Klinik für Stoffwechselkrankheiten und Ernährung der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf durchgeführt.

Die Variation der Glucosekonzentration erfolgte mit zwei unterschiedlichen Verfahren. Für die Versuche bis Ende März 1998 wurde ein sogenanntes Clamp-Protokoll verwandt. Der Proband wird an den Biostator (Abschn. 2.2.1) angeschlossen. Durch die intravenöse Gabe von Glucoselösung oder Insulin variiert man die Konzentration im Blut und im Gewebe. Das ermöglicht eine sehr schnelle Änderung. Diese massive Intervention erzeugt ein Signal, daß sich deutlich von den überlagernden

Effekten unterscheidet und gut zu separieren ist. Das Volumen, in dem die Veränderung des Streukoeffizienten gemessen wird, ist jedoch nicht das Blut, sondern das Gewebe. Vergleichsuntersuchungen mit einer Sonde, die durch Mikrodialyse interstitielle Flüssigkeit gewinnt (*CMA/Microdialysis*), zeigten signifikante Unterschiede in der Dynamik der Glucosevariation. In Abb. 30 sind die Differenzen gut zu erkennen. Der Anstieg der Konzentration in der ISF erfolgt deutlich langsamer als im Blut. Die Normalisierung der Glucosekonzentration zeigt keine gravierenden Unterschiede. Dies ist möglicherweise auf den Wirkmechanismus von Insulin zurückzuführen. Es öffnet die Zellmembran für den aktiven Transport der Glucose in die Zelle und unterliegt somit einem anderen Zeitgesetz als der diffusionskontrollierte Ausgleich zwischen Blut und

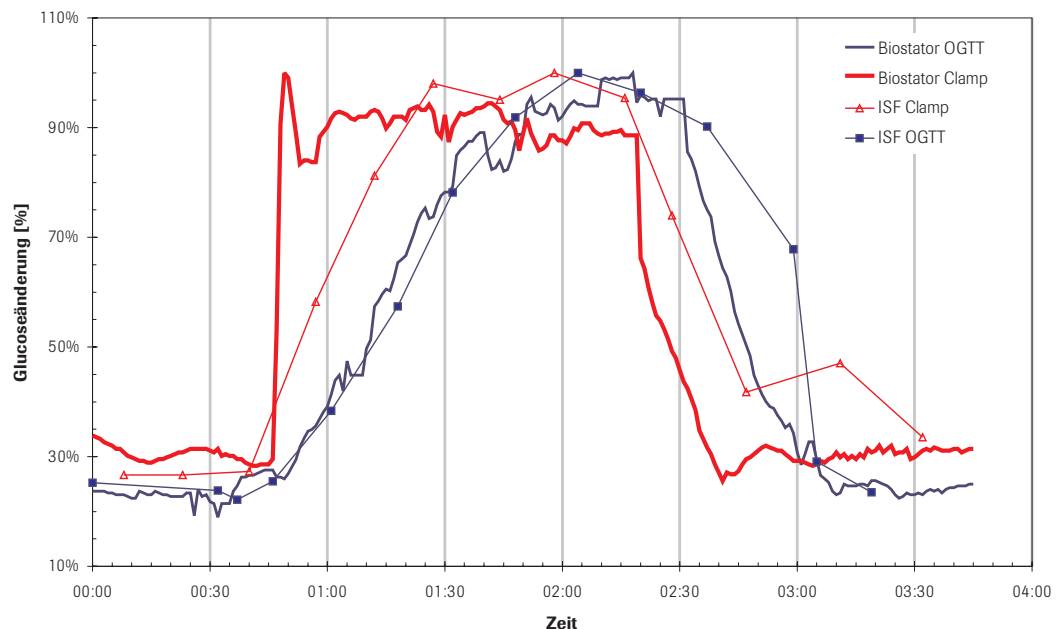


Abb. 30 Blut- und ISF-Glucose bei unterschiedlicher Geschwindigkeit der Glucosevariation

ISF. Genauere Aussagen darüber sind bei der momentanen zeitlichen Auflösung der Mikrodialysetechnik noch nicht möglich. Absolutwerte für die Glucose in der interstitiellen Flüssigkeit können wegen ungenügender Kalibration des CMA600-Systems nicht angegeben werden.

Für die Erstellung von Kalibrationsmodellen bedeutet die unterschiedliche Dynamik der Glucoseänderung einen systematischen Fehler. Eine Abschätzung seiner Größe ist nicht möglich, da bei den wenigen vorhandenen Messungen eine sehr hohe Variabilität vorliegt. Es ist ein langsamerer Anstieg der Glucosekonzentration in der interstitiellen

Flüssigkeit als im Blut zu beobachten. Das wird durch die Morphologie der Haut unterstützt: Die Versorgung der Zellen in der Dermis erfolgt vorwiegend durch Diffusionsprozesse. Es wird eine bestimmte Zeit benötigt, bis die Änderung der Konzentration im Blut in der ISF nachgewiesen werden kann.

Mögliche Sekundärreaktionen stellen einen weiteren Nachteil des Clamp-Protokolls dar. Die mit Hilfe des Biostators ausgelöste Glucosevariation ist völlig unphysiologisch. Daher ist wahrscheinlich, daß der Organismus mit allgemeinen Streßsymptomen darauf reagiert. Von den Probanden wurden Unwohlsein und Schweißausbrüche berichtet.

Um die geschilderten Nachteile zu umgehen, wurde in den Versuchen seit Juni 1998 der Orale Glucosetoleranztest (OGTT) zur Glucosevariation benutzt. Es handelt sich um ein standardisiertes Verfahren zur Diabetesdiagnostik. Die Probanden trinken eine Lösung, die 75 g Traubenzucker äquivalent ist. Weil die so zugeführte Glucose erst im Darm resorbiert werden muß, verringert sich die Anstiegsgeschwindigkeit deutlich (Abb. 30). Der Biostator mißt nur noch die Konzentration im Blut. Die Differenz zwischen ISF- und Blutglucose vermindert sich ebenfalls. Daraus darf jedoch nicht geschlossen werden, daß bei einer langsamen Änderung kein Konzentrationsunterschied zwischen dem nichtinvasiv verfolgten Meßvolumen und dem Blut existiert. Die geringe Zahl und die Qualität der selbst durchgeführten Experimente gestattet diese Aussage nicht. Auch in der Literatur [20–28] wird eine große Variabilität der Dynamik zwischen ISF und Blut beschrieben. Es ist jedoch sicher, daß die Glucosevariation mittels OGTT einen kleineren systematischen Fehler induziert als das Clamp-Protokoll.

Um Scheinkorrelationen, resultierend aus dem konstanten Protokoll, auszuschließen, wurden eine Reihe von Blindversuchen ausgeführt. Dabei verlief das Experiment analog zu dem üblichen Verfahren. Es unterblieb jedoch die Variation der Glucosekonzentration.

Bei den Versuchen nach dem Clamp-Protokoll erfolgte die Änderung durch die Injektion von physiologischer Kochsalzlösung, in der Traubenzucker gelöst wurde. Bei den Blindversuchen injizierte man dagegen die normale Lösung. Die beobachtete Reaktion des Streukoeffizienten (Abb. 31) ist invers zu der bei Glucosegabe (Abb. 14, S.50) und zeigt zudem ein völlig anderes Zeitverhalten. Deshalb kann ausgeschlossen werden, daß die Verringerung des Streukoeffizienten bei der Injektion von Glucoselösung durch das Lösungsmittel ausgelöst wurde. Da es eine zur Glucose gegenläufige Änderung

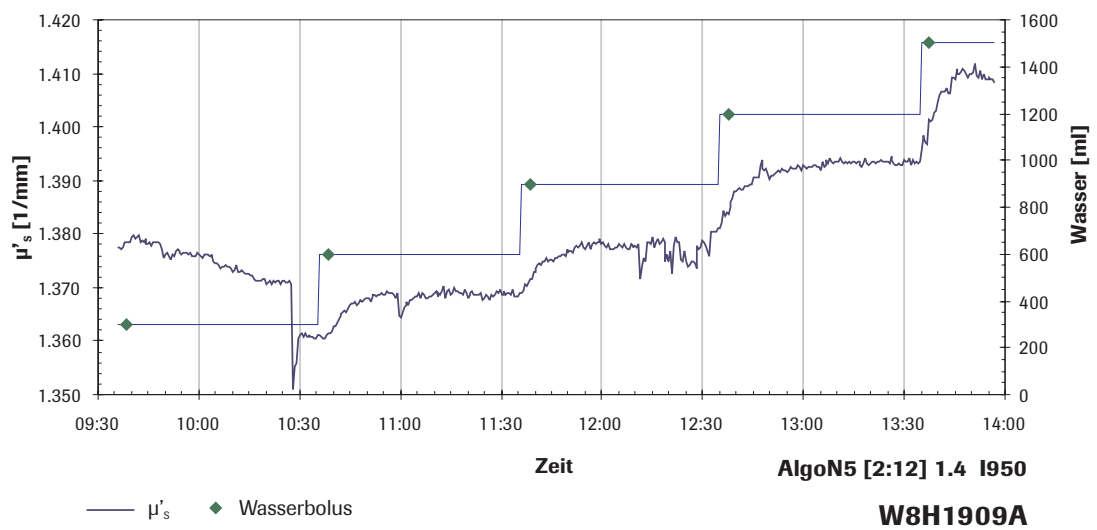


Abb. 31 Wirkung von Boli mit physiologischer Kochsalzlösung auf das μ'_s -Signal

induziert, ist sogar zu vermuten, daß dieses Versuchsprotokoll zu einer Verminderung der Glucosesensitivität führt.

Insulin ist die zweite Substanz, die immer in ähnlicher Weise bei den Versuchen zur Anwendung kam. Um ihren Einfluß zu untersuchen, wurde die infundierte Menge schrittweise parallel zur Glucoseinfusionsrate erhöht. Der Glucosespiegel im Blut blieb

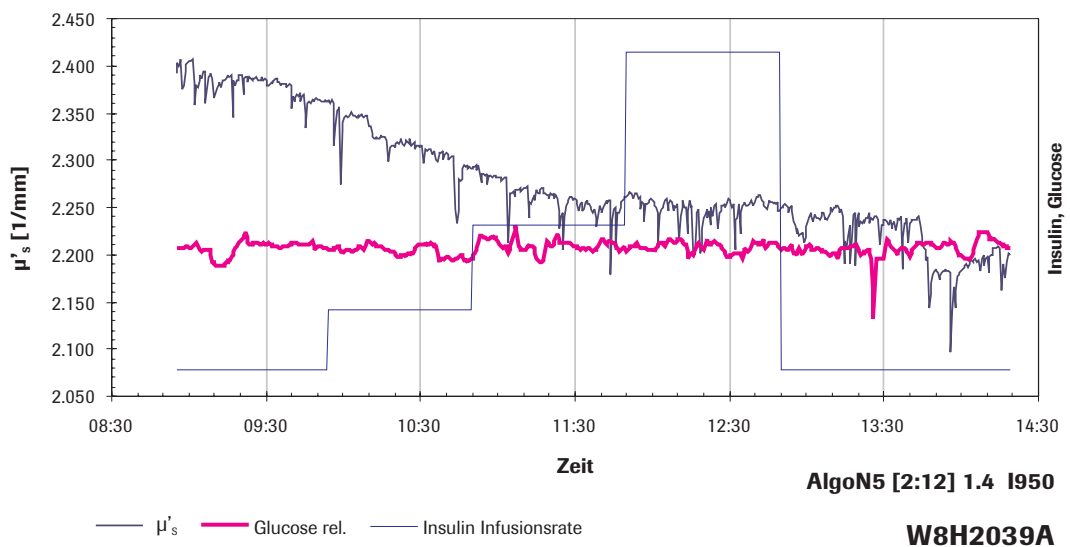


Abb. 32 Einfluß der Insulininfusion auf μ'_s

bei diesem Vorgehen konstant. Das Signal des Streukoeffizienten (Abb. 32) zeigt keine Veränderungen, die mit der Insulinmenge in Zusammenhang steht. Daß sich trotz des konstanten Glucosespiegels μ'_s mit der Zeit verschiebt, ist auf die Überlagerung mit einer Drift zurückzuführen.

5.3.2 Auswahl und Vorbehandlung der Daten

Im Zuge der Untersuchungen wurden sehr viele Daten erfaßt. Allein von Versuchen mit Variation der Glucose existieren 212 Datensätze. Sie alle vollständig auszuwerten, hätte den Rahmen der Arbeit gesprengt. Zudem spiegelt sich das zunehmende Wissen um die Komplexität des Systems in der Erhöhung der Datenqualität und in Verbesserungen im Meßablauf wider. Daher wurden von den älteren Daten nur die der linearen Detektorgeometrie des PATTERSON-Spektrometers (Abschn. 4.1) vollständig einbezogen. Ergebnisse von NIT 1.36 fanden nur exemplarisch Berücksichtigung. Die Datenbasis bilden Versuche, die mit NIT 1.37 (Abschn. 4.2) durchgeführt worden sind und eine kontinuierliche Glucosereferenz aufweisen. Um trotz der vielen Einflußgrößen zu statistisch abgesicherten Ergebnissen zu kommen, wurden auch Experimente berücksichtigt, die nicht vollständig mit der Diffusionstheorie beschrieben werden konnten oder sichtbar gestört waren. Da im Alltagsbetrieb eine sehr robuste Kalibration benötigt wird, unterblieben Meßwertglättung und Entfernung von Ausreißern, ebenso die nur retrospektiv durchführbare Skalierung der Daten. Innerhalb der ersten Stunde gemessene Daten sind durch verschiedene Anpassungseffekte stark gestört. Daher wurden sie bei allen Experimenten verworfen.

Die für die Modellbildung und Validierung benötigten Datensätze entstanden mit zwei unterschiedlichen Strategien. Für das erste Szenario wurden zufällig 50% der Werte eines Experimentes in die Kalibration einbezogen, beim zweiten nur drei relativ willkürlich ausgewählte Bereiche von maximal fünf Minuten Länge. Die Zahl der bei der zweiten Variante benutzten Datenpunkte hing von der Meßfrequenz des jeweiligen Sensors ab und reichte von ca. 2% (Mark II) bis ca. 6% (NIT 1.36). Nur die punktuelle Kalibration ist in einem Gerät zur Blutzuckerselbstkontrolle realisierbar. Im weiteren wird das erste Szenario als kontinuierliche Kalibration und das zweite als Dreipunktkalibration bezeichnet. Für PCR- und OLS-Verfahren wurde dasselbe Schema benutzt. Zur Kennzeichnung der Daten werden für die unterschiedlichen Auswertungen die Abkürzungen **OLS** und **OLS 3P** bzw. **PCR-I** und **PCR-I 3P** verwandt.

5.3.3 Kalibration basierend auf μ'_s -Änderungen

Die mit Hilfe der Diffusionstheorie aus den orts aufgelösten Reflexionen berechneten Werte des Streukoeffizienten sind nicht direkt in eine Glucosekonzentration übertragbar. Sie sind durch Temperaturvariationen sowie Drift überlagert. Ihr Absolutwert wird durch die Eigenschaften der Grenzfläche Haut – Sensor und die Morphologie des aktuellen Meßortes bestimmt (Abb. 14, S.50). Daher ist eine Kalibration des Streukoeffizienten auf die Glucosekonzentration notwendig.

Die OLS-Kalibrationsmodelle nutzen die Temperatur, den Streukoeffizienten μ'_s und einen die Drift näherungsweise repräsentierenden Intensitätsverlauf eines einzelnen Detektors. Um letzteren zu ermitteln, wurde die über der Ortskoordinate variierende Sensitivität des Streukoeffizienten verwandt. Sie zeigt sich darin, daß sich die Intensität bei nah an der Lichtquelle befindlichen Detektoren gegensinnig, bei fernen Detektoren gleichsinnig mit der Streuung verändert (Abb. 12, S.48). Aufgrund dieses Merkmals findet sich immer ein Bereich, der auf den Streukoeffizienten näherungsweise nicht sensitiv ist. Unter der Annahme, daß im betrachteten Zeitfenster die Glucose die einzige Quelle für Veränderungen von μ'_s darstellt, wurde als Driftkorrektiv der Intensitätsverlauf des Detektors ausgewählt, der die geringste Korrelation zum Verlauf der Glucosekonzentration aufweist. Diese Festlegung ist jedoch nur retrospektiv und mit einer zeitlich hoch aufgelösten Referenzmessung für Glucose möglich. Selbst für den relativ kurzen Zeitraum, über den sich unsere Versuche erstreckten, stellt dieses Vorgehen eine unbefriedigende Lösung dar. Die Drift läßt sich dadurch nur ungenügend beschreiben. Es konnte nicht, wie ursprünglich erhofft, ein Detektor gefunden werden, der bei allen Experimenten gleichermaßen diese Störung modellieren kann. In Abb. 33 ist gut zu erkennen, wie den über die Dreipunktkalibration berechneten Daten noch eine Drift aufgeprägt ist. Die gezeigten Mittelwerte wurden aus einer Simultanmessung mit zwei Sensoren und den beiden Kalibrationsverfahren OLS und PCR berechnet. Es zeigt sich eine gute Übereinstimmung sowohl zwischen den Ergebnissen der beiden Meßköpfe als auch zwischen den beiden Regressionsverfahren. Die Standardabweichung der gemittelten Werte ist für Dreipunkt- und kontinuierliche Kalibration innerhalb des in der Modellierung berücksichtigten Zeitraums vergleichbar. Bei der Extrapolation vergrößert sie sich besonders für den Bereich des Glucoseabfalls deutlich. Da beide Sensoren bei beiden Verfahren einen sehr ähnlichen Verlauf der Drift aufweisen, kann man davon ausgehen, daß es sich um einen physiologischen Effekt handelt und nicht um zufällige Fehler in der Modellbildung.

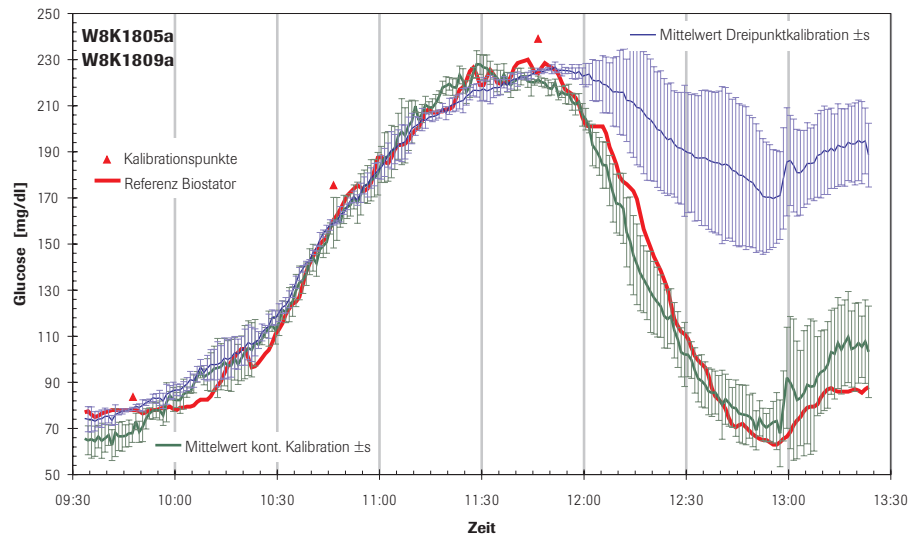


Abb. 33 Drift überlagert das Meßsignal und ist durch eine Dreipunktkalibration nur ungenügend zu modellieren

Voraussetzung für die Erstellung der OLS-Modelle ist die Berechnung des Streukoeffizienten (Abb. 14, S.50). Sind dessen Werte aufgrund falscher Randbedingungen oder algorithmischer Probleme fehlerhaft, bricht das Modell zusammen. Besonders deutlich wird dieses Verhalten, wenn sich während der Messung ein Randwert ändert. Die Abb. 34 zeigt ein solches Ergebnis. Bis etwa zur Mitte des Versuches war keine sichere Berechnung von μ_a und μ'_s möglich. Die gemessenen Werte sind mit der Diffusionstheorie nicht adäquat zu beschreiben. Durch Drift oder Anpassungseffekte treten die Daten jedoch wieder in den Gültigkeitsbereich der Theorie ein und die Berechnung führt zu akzeptablen Werten. Ab diesem Punkt vermindert sich die Varianz der geschätzten Glucosewerte deutlich und ihr Verlauf folgt näherungsweise der Referenzkurve.

Eine hohe Varianz der berechneten Glucosekonzentrationen ist ein sicheres Indiz für instabile Kalibrationen. Die Werte können sich aufgrund der Physiologie nur langsam verändern und die Meßsysteme besitzen ein sehr geringes Eigenrauschen. Wird dennoch eine hohe Varianz der Glucosewerte beobachtet, so kann diese zumeist auf das Kalibrationsmodell zurückgeführt werden. In sehr seltenen Fällen erzeugte der sich mit Atmung oder Bewegung verändernde Druck auf den Meßkopf eine ähnliche Störung.

Die Berechnung eines von Absorptionseffekten freien, numerisch stabilen Streukoeffizienten ist eine notwendige Bedingung für gute Ergebnisse mit dem OLS-Ansatz. Die Kalibrationsmodelle können diese Störungen nicht kompensieren (Abb. 34). Daher

ist die Zahl der guten Resultate kleiner als beim PCR-Ansatz. Zwischen den verschiedenen Meßsystemen und Versuchsprotokollen zeigen sich deutliche Unterschiede (Abb. 36, S.83, und Tab. 2, S.94).

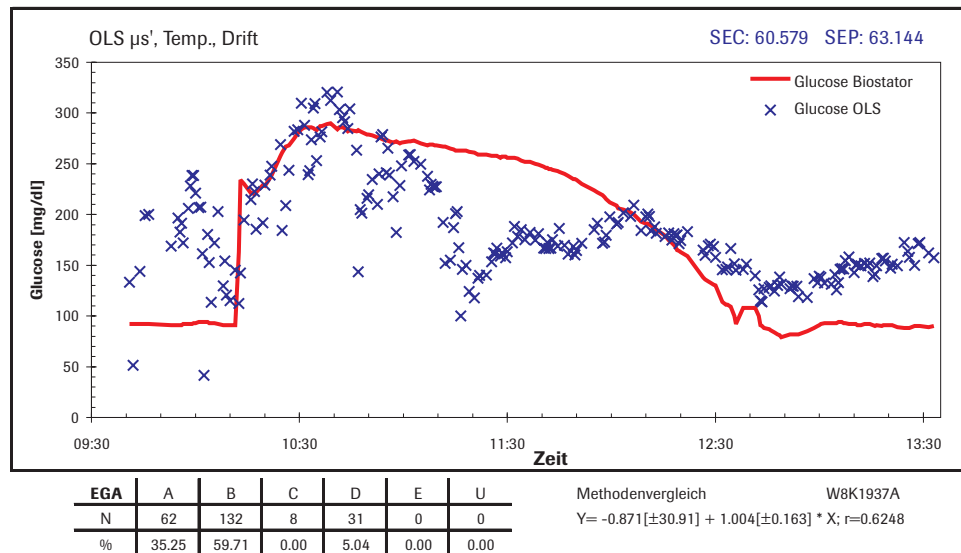


Abb. 34 Veränderungen der Randbedingungen für die Diffusionsnäherung führen zu falschen Ergebnissen

Erwartungsgemäß differieren die gemittelten Werte des Standardfehlers der Kalibration (SEC) und des Standardfehlers der Vorhersage (SEP) sowie ihre Standardabweichungen bei der Dreipunktkalibration signifikant, während sie bei den kontinuierlichen Systemen gleich sind. Die Kenngrößen der mit der Dreipunktkalibration erstellten Modelle weisen die größte Varianz auf. Werte von Experimenten nach dem Clamp-Protokoll lassen sich wegen der systematischen Abweichungen zwischen Referenzmessung und Signal deutlich schlechter kalibrieren. Dieses Ergebnis ist unabhängig von dem benutzten System, wobei die Absolutfehler für Mark II größer sind als für NIT 1.37.

Werte von NIT 1.36 konnten in diese Auswertung nicht einbezogen werden, da sie nur über sechs Detektoren verfügt und sich somit nicht sicher genug hinreichend genaue Werte des Streukoeffizienten berechnen lassen.

In Abb. 35 können die meisten Probleme der Dreipunktkalibration exemplarisch erläutert werden. In der Anfangsphase des Experimentes dominiert eine Drift das Signal (auch innerhalb der verworfenen ersten Stunde). Erst etwa 30 Minuten nach Anheben des Blutglucosespiegels zeigt sich die Konzentrationsänderung in den berechneten Werten. In diesem Fall dürfte die Kombination von Zeitverzögerung und aufgeprägter

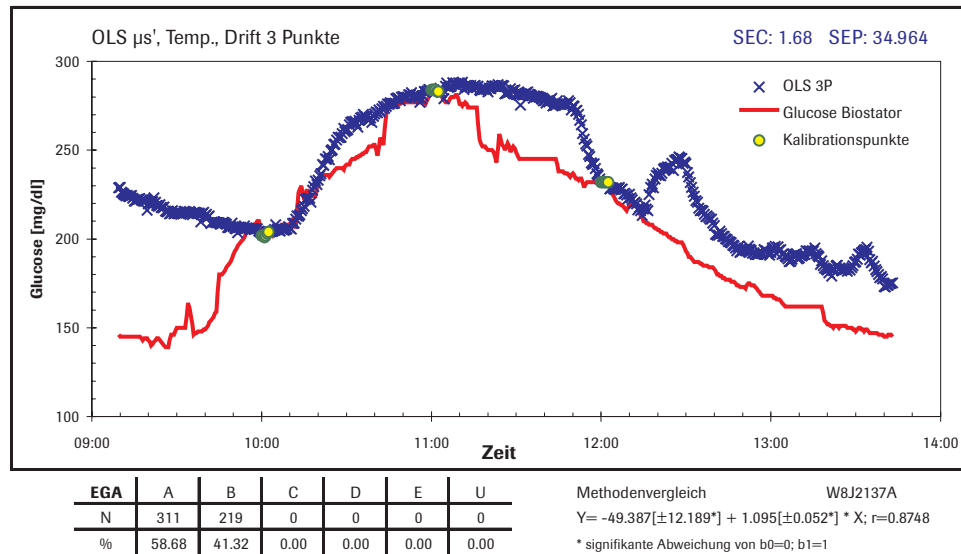


Abb. 35 Drift, Zeitkonstanten und ungünstige Wahl der Kalibrationspunkte verfälschen das Modell

Drift die Ursache sein. Die Wahl der Meßstellen für die Dreipunktkalibration war für alle Experimente willkürlich und wurde ohne Kenntnis des Glucoseverlaufs vorgenommen. Dadurch befinden sich die in diesem Experiment benutzten Werte zufällig in den am meisten gestörten Bereichen. Der erste Punkt liegt im Maximum von Drift und Zeitverzögerung, der zweite im Zeitraum einer Störung des Referenzsystems (falscher Rekalibrationswert) und der dritte ist durch Druck auf den Meßkopf beeinträchtigt. Das ist ein extremes Beispiel für die Schwierigkeiten des punktuellen Ansatzes. Obgleich das Signal den Verlauf der Glucosekonzentration beschreibt, wird es durch die gestörten Kalibrationspunkte so verschoben, daß es nicht die notwendige Genauigkeit aufweist. Die Error-Grid-Analyse weist etwa die Hälfte der Werte der Klasse B zu.

Die Resultate der OLS-Kalibrationsmodelle (Abb. 36) sind immer von den berechneten Werten des Streukoeffizienten abhängig. Wenn letztere fehlerhaft sind, überträgt sich das auf die Modelle. Von den Experimenten mit NIT 1.37 nach dem OGTT-Protokoll und mit kontinuierlicher Kalibration weisen 73% einen SEP < 27 mg/dl (< 1.5 mmol/l) auf. Bei der Dreipunktkalibration sind es 28%. Eine vollständige Übersicht der Resultate findet sich im Anhang (A7, S. 111; A8, S. 113). Zusätzlich sind in A11, S. 119 die graphischen Darstellungen der kalibrierten Zeitreihen von NIT-1.37-Experimenten zusammengestellt.

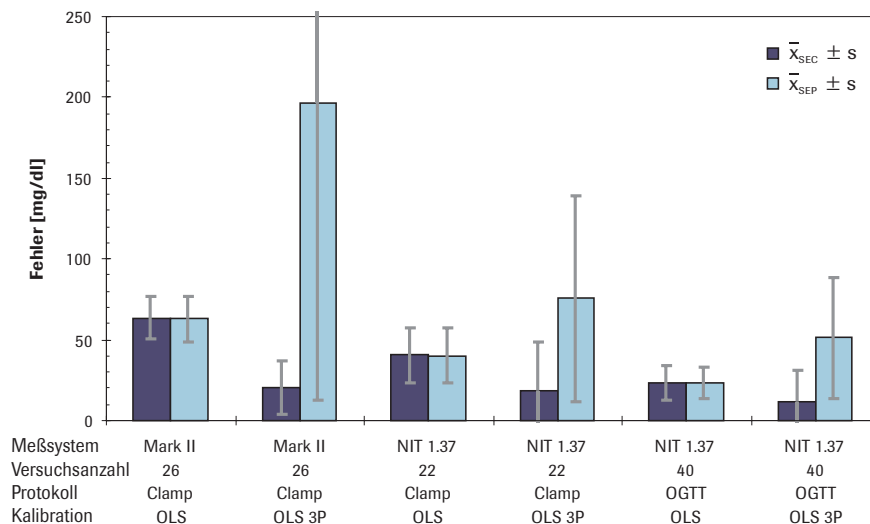


Abb. 36 Mittelwerte der Standardfehler bei OLS-Kalibration

5.3.4 Kalibration mittels PCR und Reflexionsdaten

Im Gegensatz zu dem den OLS-Kalibrationen zugrunde liegenden „harten“ Modell der Diffusionstheorie kommt bei PCR ein „weiches“ Modell zur Anwendung. Hier werden die Zusammenhänge nicht durch physikalische Gesetzmäßigkeiten vorgegeben, sondern aus der Beziehung der Daten zueinander ermittelt. Für die hier erstellten Kalibrationen wurde nur auf die orts aufgelöste Reflexion und die Temperatur zurückgegriffen.

Die Reflexionsdaten sind hochgradig kollinear (Abb. 37). Um sie zu modellieren, bietet sich die Hauptkomponentenregression an. Es werden unkorrelierte Variablen erzeugt, die die Varianz der ursprünglichen Reflexionsdaten beinhalten. In Abb. 38 wurden die Ladungen der ersten beiden Hauptkomponenten dargestellt. Sie repräsentieren bereits 92% der Varianz. Mit vier Komponenten sind es mehr als 99%. Die Zifferangaben bezeichnen den Abstand des betreffenden Detektors zur Lichtquelle in Millimetern. In diesem Experiment treten nur wenige Störungen auf. Die Werte verhalten sich der Diffusionstheorie gemäß. Die Intensitäten der nahen Detektoren sind stark mit μ'_s korreliert. Mit zunehmender Entfernung zur Lichtquelle verhält sich die Reflexion gegenläufig. Die Glucosekonzentration ist invers zum Streukoeffizienten, Temperatur und μ_a sind eng korreliert. Beide Hauptkomponenten tragen in gleichem Maße die Glucoseinformation. Diese ungestörten Verhältnisse konnten leider nur selten beobachtet werden. Die Zahl der zur Erklärung von mehr als 99% der Varianz

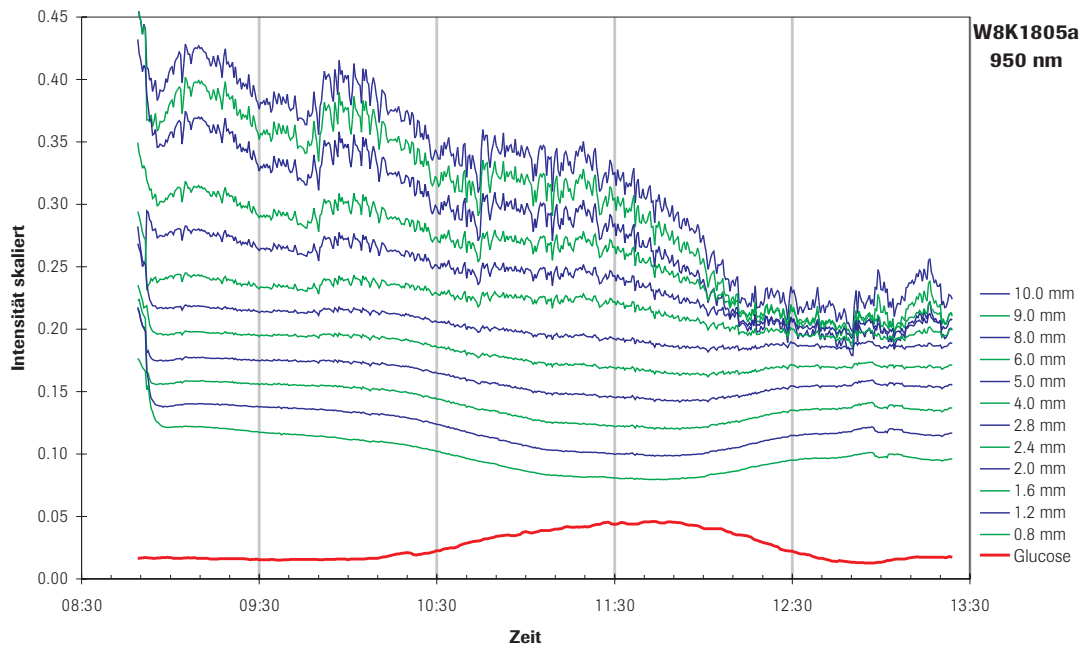


Abb. 37 Zeitverlauf der Intensitäten in unterschiedlichem Abstand zur Lichtquelle bei Veränderung der Glucosekonzentration

benötigten Hauptkomponenten variiert stark mit dem Meßsystem. Bei Versuchen mit Mark II und NIT 1.36 werden im Mittel acht bzw. fünf benötigt, während für NIT 1.37 vier ausreichen. Dies ist zu einem Teil dem Clamp-Protokoll geschuldet, aber auch auf den höheren Rauschanteil der Signale von Mark II zurückzuführen.

Die intensitätsbasierten PCR-Modelle (PCR-I, PCR-I 3P) entstanden unter Verwendung von fünf Hauptkomponenten. Diese Zahl wurde gewählt, um die Dimensionalität (NIT 1.37, Mark II) der Daten deutlich zu verringern, ohne jedoch den relativ kleinen Effekt der Glucosevariation auszuschließen. Die aus dem Verlauf der $PRESS_{cv}$ -Kurve für NIT-1.37-Daten bestimmte optimale Komponentenzahl reichte von drei bis zwölf. Der Maximalwert ist gleich der Spaltenzahl der X-Matrix für Experimente mit diesem Meßsystem.

Werte von Detektoren näher als 1 mm zur Lichtquelle sind nicht berücksichtigt. Bei kleinen Abständen sind sie vielfach gestört und zeigen ein stark von der Theorie abweichendes Verhalten (Abb. 13, S.49). In Abb. 38 ist gut zu erkennen, wie das Verhalten des Detektors bei 0.67 mm aus der systematischen Abfolge ausbricht. Eine Ausnahme stellen die Experimente mit NIT 1.36 dar. Sie verfügt nur über sechs Meßstellen. Der Informationsverlust bei Vernachlässigung des ersten Detektors wäre zu groß geworden, um noch glaubwürdige Kalibrationsmodelle erstellen zu können.

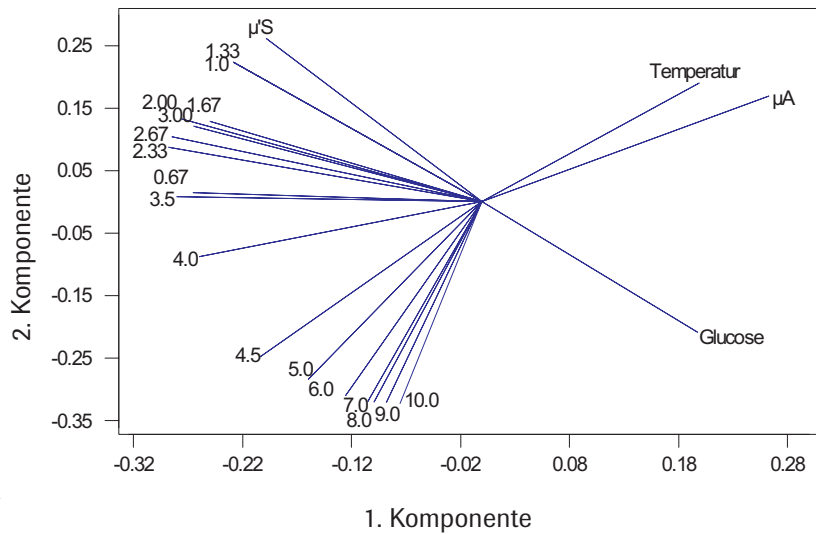


Abb. 38 Ladungen für zwei Hauptkomponenten P6H0607a

Für jedes Experiment ist ein eigenes Kalibrationsmodell berechnet worden. Probandenübergreifende Modelle stehen noch aus. Ein Grund, der einen solchen Ansatz verbietet, ist die trotz Kalibration (Abschn. 4.2) relativ große Differenz zwischen den einzelnen Sensoren der NIT-1.37-Serie. Zudem gelingt es nicht, die Heterogenität der Meßorte unterschiedlicher Probanden zu modellieren. Selbst bei der Parallelmessung mit zwei Sensoren sind gut übereinstimmende Resultate wie in Abb. 33, S.80, sehr selten. Hier wirken sich die intraindividuelle Variation der Hautmorphologie und die Störung einzelner Detektoren (Abb. 13, S.49) negativ aus. Erschwerend kommt hinzu, daß die Detektoren nah an der Lichtquelle aus meßtechnischen Erfordernissen deutlich kleiner sind als die weiter entfernten und daher nicht in gleichem Maße über gestörte Areale, z.B. Luftblasen oder Haare, integrieren wie die großflächigen äußeren Photoelemente. Die inneren Detektoren tragen jedoch die größte Glucoseinformation. Daher erscheint das Erstellen von probandenübergreifenden Kalibrationsmodellen als verfrüht.

Das Modell für ein einzelnes Experiment (W8K1709a) zeigt Gleichung 19. Es steht exemplarisch für die Versuche mit NIT 1.37. Aus den Daten von je sechs aufeinanderfolgenden Messungen bei drei verschiedenen Glucosekonzentrationen wurde die Kalibration berechnet und diente zur Ermittlung der Werte für die verbleibenden 483 Zeitpunkte (Abb. 39). Der Meßzeitraum für die Kalibrationsdaten betrug jeweils drei Minuten. Die *Temperatur* wird in °C angegeben und die Intensität der Reflexion I_{xx} in pA/mm² als der Photostrom des entsprechenden Detektors. Die Konzentrationsangabe für die Glucose $c_{Glucose}$ erfolgt in mg/dl.

$$c_{Glucose} = 4496 + 39.66 * Temperatur - 0.3617 * I_{1.2} + 0.0024 * I_{1.6} + 0.2516 * I_{2.0} + 0.1525 * I_{2.4} + 0.0813 * I_{2.8} - 0.0851 * I_{4.0} - 0.2242 * I_{5.0} - 0.0747 * I_{6.0} + 0.1356 * I_{8.0} + 0.0629 * I_{9.0} + 0.2808 * I_{10.0} \quad (19)$$

Die Varianzanalyse (Tab. 1) des Experimentes zeigt, daß die ermittelten Parameter des Modells (19) signifikant sind. Der berechnete Wert ist größer als der kritische $F(0.95; 4, 13) = 5.91$. Der Anpassungstest ist signifikant. Ebenso verhalten sich die Regressionsmodelle auch für die restlichen Experimente. Die Analyse der Residuen zeigt, daß ausreißerverdächtige Beobachtungen bevorzugt in Bereichen schneller Änderungen

ANOVA	QS	FG	MQS	F-Wert	p-Wert
QS _{Korr}	28122	18	1562.33		
QS _{Fakt}	28099	5	5619.80	3245.55	0.0000
QS _R	22.51	13	1.73		

Tab. 1 Varianzanalyse Dreipunktkalibration mittels PCR für W8K1709a

der Glucosekonzentration auftreten. Wegen der physiologisch bedingten Konzentrationsunterschiede zwischen ISF und Blut ist dies nicht überraschend. Weiterhin wurde auf jegliche Elimination von Ausreißern verzichtet. Die erstellten Modelle sollten so robust sein, einzelne falsche Werte tolerieren zu können. Ein solches Vorgehen minimiert die Gefahr, die Werte zu stark den Erwartungen anzupassen.

Die Ergebnisse der mittels Dreipunktkalibration erstellten Modelle sind teilweise erstaunlich gut. Ein herausragendes ist in Abb. 39 dargestellt. Es wird eine im Rahmen der üblichen Versuche relativ kleine Glucosevariation von 100 mg/dl sehr gut abgebildet. Auch außerhalb des kalibrierten Bereiches liegende Merkmale finden sich wieder und können nicht einfach auswendig gelernt worden sein. Überraschend gut stimmen NI-Signal und Blutglucose überein. Hervorzuheben ist die Stabilität des Modells über den Zeitraum der Kalibrationspunkte hinaus. Zumeist zeigen die in der Zeitachse extrapolierten Werte eine aufgeprägte Drift (Abb. 33, S.80). Was diesen und ähnliche Versuche oder Probanden auszeichnet, ist noch weitgehend unklar. Die große physiologische Variabilität ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Die Resultate der kontinuierlichen Kalibration sind deutlich besser als die der punktuellen PCR-Modelle. Dieses ist ob der hohen Zahl von Stützstellen nicht

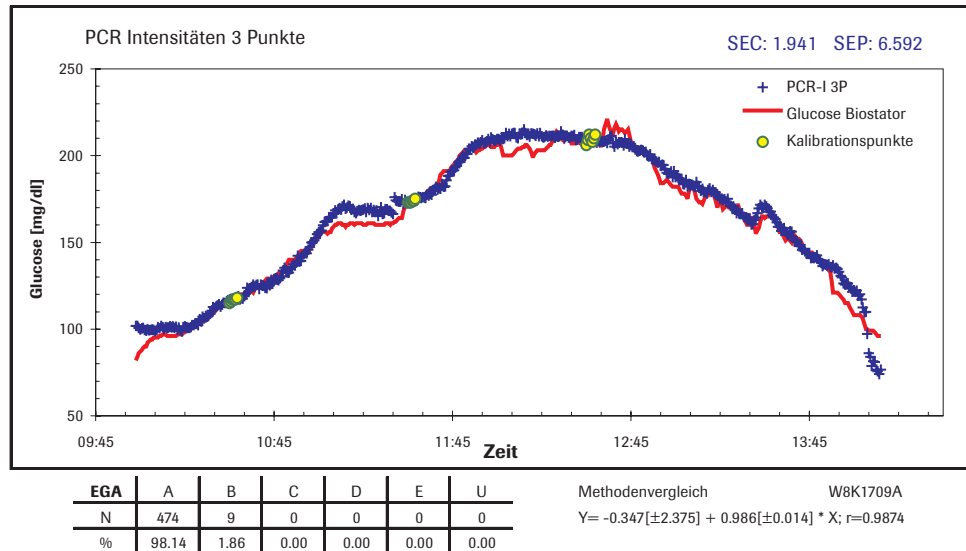


Abb. 39 Mit einer Dreipunktkalibration über PCR und Reflexionsdaten berechnetes Resultat

sonderlich überraschend. Bemerkenswert dagegen ist, daß mit den kontinuierlichen PCR-Modellen die Clamp-Versuche nicht wesentlich besser beschrieben werden können. Die mit einem größeren systematischen Fehler der Referenzmessung behafteten Experimente nach diesem Protokoll zeigen auch einen größeren Fehler in den kalibrierten Werten. Die Abwesenheit dieses Verhaltens wäre ein sicheres Anzeichen für ein Overfitting gewesen. Der entgegengesetzte Effekt konnte ebenfalls nicht beobachtet werden. Kein augenscheinlich gelungenes Experiment zeigte nach der Kalibration schlechtere Ergebnisse. Man kann daher davon ausgehen, daß keine wesentlichen Faktoren vernachlässigt worden sind. Die Hauptkomponentenzahl war daher angemessen gewählt.

Die Betrachtung der mittleren Standardfehler der PCR-Modelle (Abb. 40) zeigt ein ähnliches Bild wie bereits die OLS-Daten. Es existiert ein großer Unterschied zwischen den gemittelten SEP- und SEC-Werten für die Dreipunktkalibration, wobei beide von den durch die kontinuierliche Kalibration vorgegebenen bestmöglichen Werten abweichen. Tendenziell verbessern sich die erreichten Ergebnisse mit der Projektdauer. Die Clamp-Versuche mit Mark II und NIT 1.36 wurden zu Beginn der Arbeit ausgeführt, während die Experimente nach dem OGTT-Protokoll mit NIT 1.37 aktuell sind. Hier spiegeln sich die weiterentwickelte Technik und das gewachsene Verständnis der Physiologie klar wider. Mittels der kontinuierlichen Kalibration unterschritten 98% der NIT-1.37-Experimente nach dem OGTT Protokoll die Grenze von 27 mg/dl für den SEP

und sogar 30% bei der Dreipunktkalibration. Die Einzelergebnisse können wiederum dem Anhang (A9, S. 115; A10, S. 117) entnommen werden. Abbildungen der NIT-1.37-Experimente sind unter A12, S. 125 zu finden.

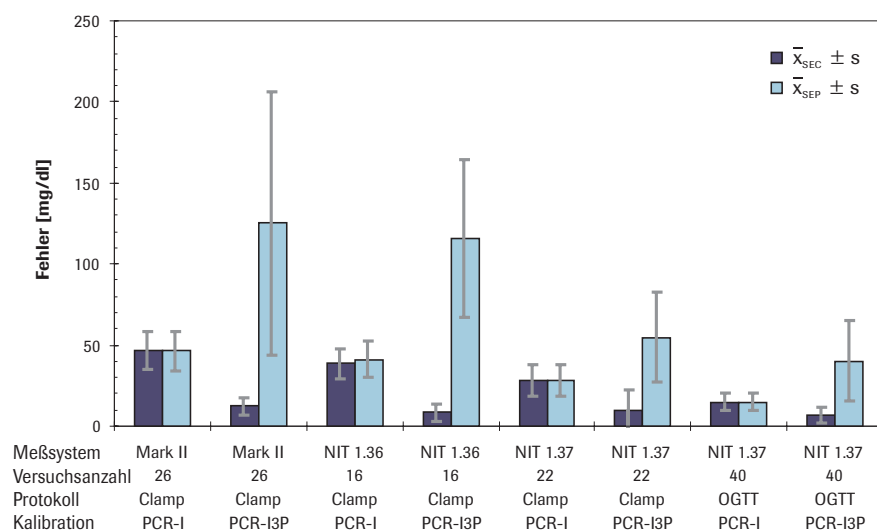


Abb. 40 Mittelwerte von SEC und SEP für PCR-Kalibrationsmodelle

5.3.5 Vergleich der Verfahren und Kalibrationsstrategien

In diesem Abschnitt sollen die Resultate der verschiedenen Ansätze verglichen werden. Es wird darauf verzichtet, alle berechenbaren statistischen Bewertungsgrößen aufzuführen. Es müssen noch zu viele Annahmen in der Modellierung und der Festlegung von Randwerten gemacht werden. Deren Subjektivität würde den statistischen Werten eine unzulässige Genauigkeit verleihen. Statt dessen sind die Unterschiede und Gemeinsamkeiten aufgeführt.

Die Ergebnisse der OLS-Kalibration mit μ'_s und die Resultate der PCR-Intensitäts-Modelle zeigen eine überraschend hohe Übereinstimmung. In Abb. 41 sind alle berechneten Verläufe der Glucosekonzentration für ein Clamp-Experiment mit Mark II und die Bewertungsgrößen dargestellt. Die Qualität des Versuches liegt deutlich über dem Mittel für dieses Protokoll und dieses Meßsystem.

Allen vier Auswertungen ist gemeinsam, daß die Abweichungen zwischen der Referenzkonzentration im Blut und dem nichtinvasiv gemessenen Signal an den physiologisch wahrscheinlichsten Bereichen auftreten. Das mittels kontinuierlicher Kalibration erstellte PCR-Modell weist die besten Resultate auf.

Mit der Hauptkomponentenregression konnten erstmals auch Werte von NIT 1.36 analog zu den anderen Meßsystemen ausgewertet werden (Tab. 2, S.94). Die geringe Zahl von Detektoren gestattet keine hinreichend genaue Berechnung der optischen Parameter μ_a und μ'_s . Daher mußte die Qualität der Experimente immer visuell aus den Reflexionsdaten abgeschätzt werden. Es zeigte sich, daß sie durchaus mit dem Mark II-System vergleichbare Resultate liefern. Dabei ist zu beachten, daß es sich um ausgewählte, augenscheinlich gelungene Experimente handelt, und das bei fünf Hauptkomponenten für sieben Eingangsgrößen ein gewisses Overfitting wahrscheinlich ist. Trotzdem sind die Resultate überzeugend.

Die hohe Übereinstimmung zwischen der mechanistischen Diffusionstheorie und dem PCR-Modell ist überraschend (A7, S. 111, bis A12, S. 125). Es war nicht zu erwarten, daß ein relativ einfaches Transformationsverfahren die komplexen Zusammenhänge der Diffusionstheorie so gut wiedergibt. Einen Anteil daran dürfte das relativ einfache Versuchsprotokoll haben. Die Probanden liegen in einer klimatisierten Umgebung ruhig im Bett. Druck- und Bewegungseinflüsse sind weitgehend ausgeschaltet. In diesem Umfeld bilden Drift und Glucosevariation tatsächlich die Haupteinflußfaktoren.

Daher sollte man die PCR-basierten Modelle nicht als Ablösung des auf der Diffusionstheorie basierenden Ansatzes ansehen. Sie stellen den mit den Meßsystemen maximal erreichbaren Qualitätsstandard dar. Bei Experimenten, die eine nach empirischen Maßstäben genaue Berechnung des Streukoeffizienten ermöglichten, zeigt sich das sehr deutlich. Bei ihnen ist die Differenz zwischen PCR- und OLS-Modell relativ klein. Zukünftige Versuche mit einem näher an den Tagesablauf des Diabetikers angelehnten Protokoll sollten die Gleichwertigkeit beider Ansätze beweisen. Bei verstandenen Randbedingungen der Diffusionstheorie wird die dazu notwendige genaue μ'_s -Berechnung problemlos möglich sein.

Vergleicht man die Resultate der kontinuierlichen und der Dreipunktkalibration miteinander, so zeigen sich bei beiden Methoden (PCR und OLS) große Unterschiede. Eine Ursache sind die diffusionskontrollierten Ausgleichsprozesse der Glucose zwischen Blut und ISF. Sie treten besonders stark bei der Dreipunktkalibration hervor. Befinden sich einige der Stützstellen in einem Bereich mit einem großen Konzentrationsunterschied zwischen ISF und Blut, erhält man Kalibrationsmodelle mit einem systematischen Fehler. Kalibriert man kontinuierlich, verringert dies den Fehler deutlich. Zudem gestattet es eine weitaus bessere Berücksichtigung von Drifterscheinungen.

Es ist noch nicht sicher geklärt, ob sich die Dynamik der Glucosevariation auch sofort in einer Änderung des Streukoeffizienten abbildet. Ein solches Verhalten ist schwer vorstellbar. Wegen der fehlenden Referenzanalytik für die Glucose im ISF des Meßvolumens (wobei nicht genau bekannt ist, wo eigentlich der Meßort ist) und dem Fehlen einer unabhängigen Methode zur Validierung unserer berechneten Streukoeffizienten ist das eine Hypothese. Sie hat sich allerdings in der Praxis gut bewährt.

Eine weitere Störgröße stellt die Drift dar. Unter diesem Begriff werden alle Veränderungen mit einer deutlich über der aktuellen Versuchsdauer liegenden Zeitkonstante zusammengefaßt. Aus welchen Faktoren sich dieses Phänomen konkret zusammensetzt, ist noch weitgehend unklar. Sicher ist, daß der Abschluß der Haut durch Meßkopf und Kleber eine Rolle spielt. Obgleich man nach dem Abnehmen der Sensoren keine sichtbaren Zeichen von aufgequollenen Hautschichten erkennen kann, ist es wahrscheinlich, daß dieser Effekt nicht zu vernachlässigen ist. Erste Langzeitversuche mit NIT 1.36, jedoch einem anderen Interfacematerial, zeigten Anpassungseffekte von bis zu zwölf Stunden Dauer. Es gab ebenso Anzeichen für einen Tagesrhythmus. Diese Untersuchungen müssen mit den aktuellen Systemen fortgeführt werden.

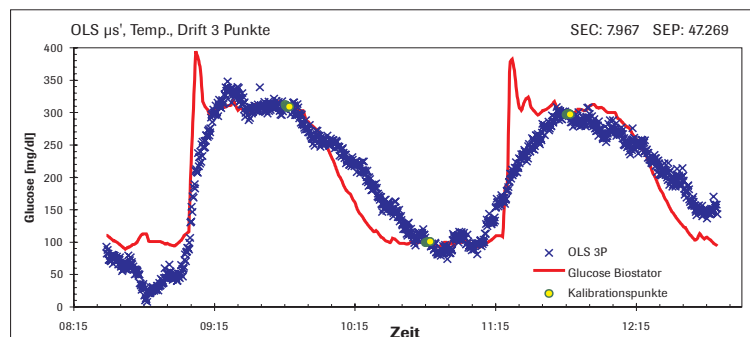
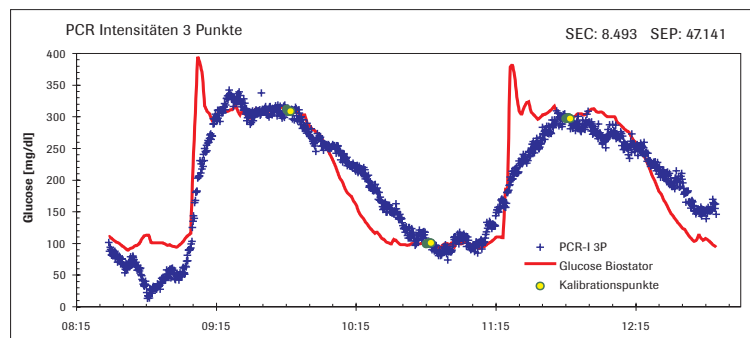
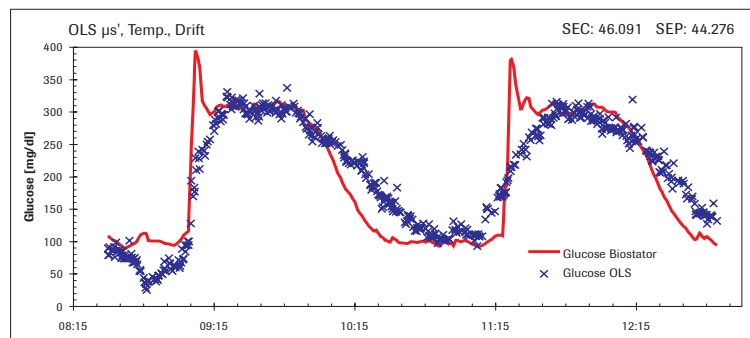
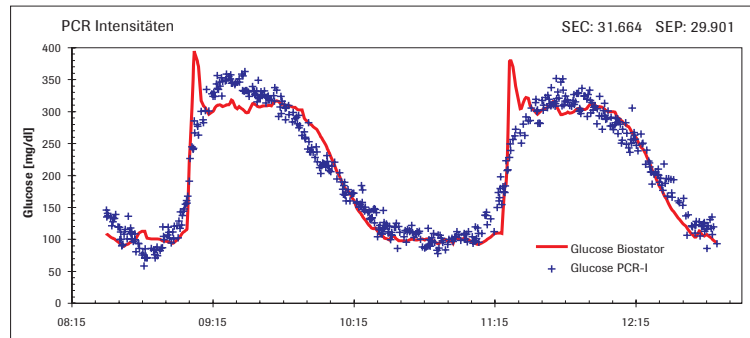


Abb. 41 Arbeitsblatt mit Resultaten für kontinuierliche und Dreipunktkalibration (oben bzw. unten) von PCR- und OLS-Modellen

Bei der Auswertung des Einflusses (Importance) der einzelnen Variablen auf die erstellten Kalibrationsmodelle (Abb. 42) lassen sich interessante Schlüsse ziehen. Diese Kenngröße ist das Produkt aus Regressionskoeffizienten und Standardabweichung des entsprechenden Detektors. Es ist zu berücksichtigen, daß dieses Maß für ein schlechtes Signal-Rausch-Verhältnis keine verwertbaren Informationen liefert. Bei der kontinuier-

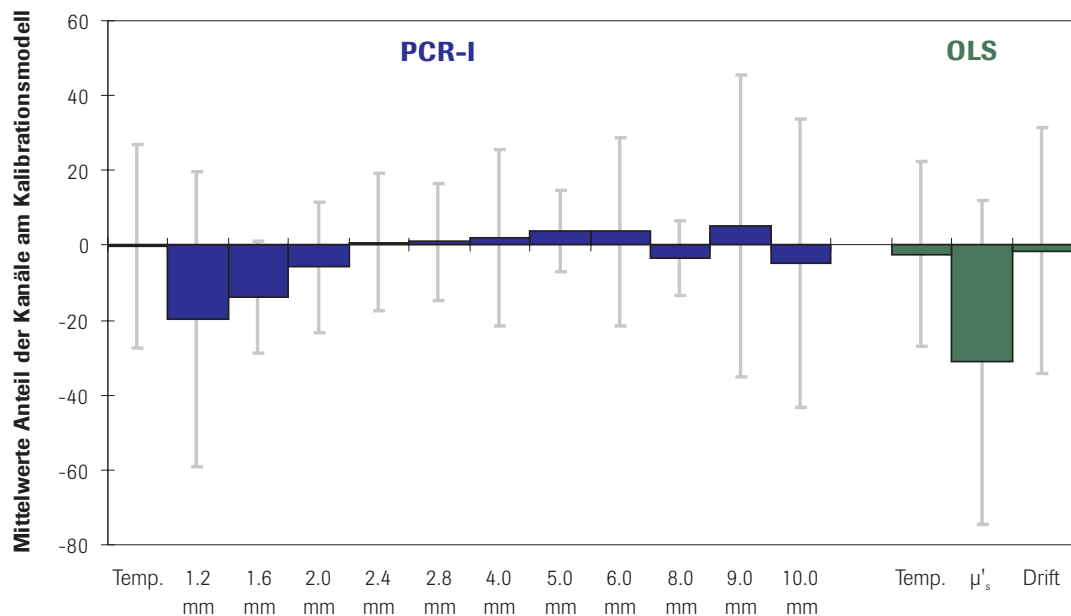


Abb. 42 Einfluß der einzelnen Variablen auf die Kalibrationsmodelle

lichen Kalibration, hier ist die Gefahr einer zufälligen Bevorzugung einzelner Kanäle geringer, zeigt sich im Mittel das erwartete Verhalten. Zum PCR-Intensitäts-Modell tragen die nahe an der Lichtquelle befindlichen Detektoren am stärksten bei. Ihr Einfluß erreicht bei 2.4mm, dem Abstand mit der geringsten Korrelation zur Glucose, ein Minimum, um dann wieder leicht zuzunehmen. Bei den Abständen ab 6.0mm ist im Mittel das Signal-Rausch-Verhältnis so ungünstig, daß keine Aussagen mehr getroffen werden können. Es scheint so, als würden diese Detektoren nicht mehr systematisch zu dem auf den Reflexionsdaten basierendem Modell beitragen. Für die Berechnung der Streu- und Absorptionsparameter sind sie jedoch notwendig. Es wäre zu überprüfen, bis zu welchem Abstand sie unabdingbar sind und ob sie nicht durch eine größere Zahl von nahen Detektoren zu ersetzen wären. Vor dem Entwurf eines neuen Meßsystems sollte dies erprobt werden. Bei den OLS-Modellen zeigt sich klar, daß μ'_s die Glucoseinformation trägt, und Temperatur und Drift nur eine Korrekturfunktion haben.

In Abbildung 43 sind die EGA-Bewertungen von zwei Experimenten dargestellt, die mittels OLS-Dreipunktkalibration berechnet worden sind. Die Referenzpunkte wurde so gewählt, daß sie nur den ansteigenden Abschnitt der Glucosekonzentration berücksichtigen. Die Verringerung sollte mit den Modellen vorhergesagt werden. Die für diesen Zeitabschnitt gefundenen Werte sind stark durch die Basisliniendrift überlagert und bilden den von der Ideallinie abweichenden Kurvenzug. Die Interpolation zwischen den Stützstellen funktioniert hervorragend. Die nichtinvasiv bestimmten Werte folgen sehr genau der Blutglucosekonzentration.

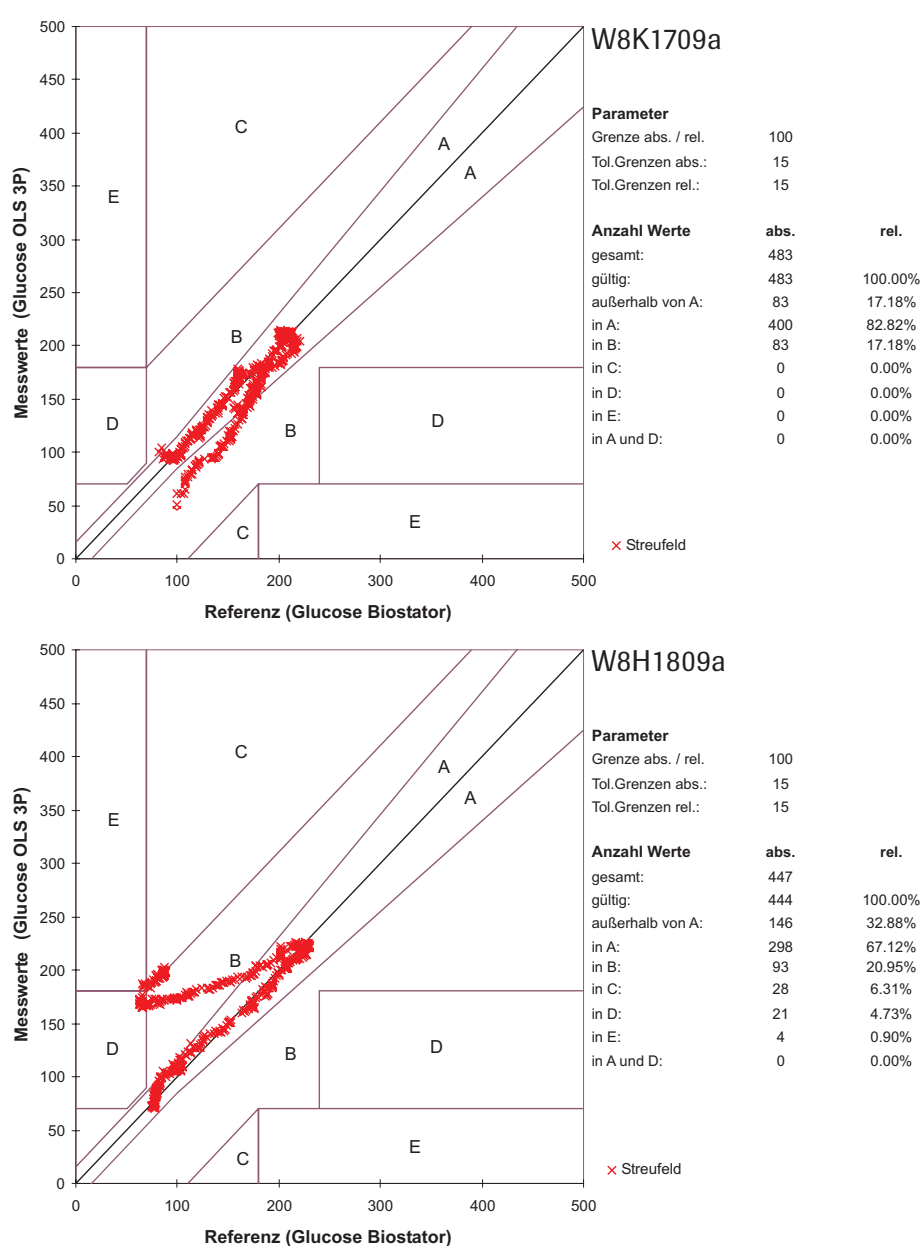


Abb. 43 EGA-Bewertung von Ergebnissen der Dreipunktkalibration mittels OLS und Diffusionstheorie

Trotz aller Annahmen und Schwierigkeiten zeigen sowohl die PCR- als auch die OLS-Modelle, daß die zwischen den Kalibrationspunkten gemessenen Werte gut interpoliert werden können. Sie sind jedoch von der Qualität handelsüblicher Teststreifen noch weit entfernt. Das zeigt die Bewertung mittels der Error-Grid-Analyse (Tab. 2). Im Mittel befindet sich ein Drittel der Meßwerte außerhalb von Zone A. Allerdings liegen nur sehr wenige Werte davon in den Bereichen C, D und E. Zwei Drittel aller Ergebnisse für ein relativ großes und recht heterogenes Probandenkollektiv sind im Bereich von $\pm 15\%$ vom Sollwert (Zone A). Das gibt berechtigten Anlaß zur Hoffnung, daß mit einer moderaten Zahl von invasiven Referenzmessungen eine kontinuierliche retrospektive Glucosemessung möglich sein wird. Dies ist zwar noch weit von den Wünschen der Diabetiker entfernt, stellt aber einen wichtigen Schritt zu einem nichtinvasiven kontinuierlichen Glucosemonitor dar.

	Protokoll	Anzahl	$\bar{x}_{\text{SEC}}$ [mg/dl]	$\bar{s}_{\text{SEC}}$	$\bar{x}_{\text{SEP}}$ [mg/dl]	$\bar{s}_{\text{SEP}}$	$\overline{\text{EGA}}$ [%]					Wiederfindungsfunktion Korrelationskoeffizient $\bar{r}$
							A	B	C	D	E	
OLS												
Mark II	Clamp	26	63.45	13.03	62.83	13.90	36	57	4	3	0	0.7115
NIT 1.37	Clamp	22	40.52	16.93	40.37	16.68	57	40	2	2	0	0.8351
NIT 1.37	OGTT	40	23.63	10.54	23.31	10.09	73	26	0	1	0	0.8604
OLS 3P												
Mark II	Clamp	26	20.23	16.32	196.51	183.80	27	50	15	6	1	0.4701
NIT 1.37	Clamp	22	18.00	30.94	75.47	64.00	50	40	8	2	0	0.6940
NIT 1.37	OGTT	40	11.79	19.42	51.10	37.61	64	30	4	1	1	0.7036
PCR-I												
Mark II	Clamp	26	46.67	12.09	46.37	12.05	48	50	1	1	0	0.8581
NIT 1.36	Clamp	16	38.56	9.12	41.03	11.17	56	43	0	0	0	0.9029
NIT 1.37	Clamp	22	28.02	9.73	27.95	9.88	71	28	0	0	0	0.9281
NIT 1.37	OGTT	40	14.91	5.23	14.90	5.40	94	6	0	0	0	0.9474
PCR-I 3P												
Mark II	Clamp	26	12.47	5.38	125.37	81.31	31	48	12	8	2	0.5038
NIT 1.36	Clamp	16	8.35	5.68	115.91	48.47	39	46	10	4	1	0.6277
NIT 1.37	Clamp	22	10.07	12.55	54.80	27.48	60	33	5	2	0	0.7837
NIT 1.37	OGTT	40	6.54	4.82	40.22	24.92	70	26	3	1	0	0.7865

Tab. 2 Mittelwerte der Bewertungskenngrößen unterschiedlicher Kalibrationsstrategien, Geräte und Versuchsprotokolle

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Arbeit war es, Störgrößen bei der nichtinvasiven Glucosemessung zu identifizieren und Verfahren zur Kalibration eines entsprechenden Sensors zu entwickeln. Als Meßprinzip diente die orts aufgelöste Messung der Reflexion. Mit der Diffusionstheorie wurde die Lichtausbreitung in der Haut beschrieben. Es galt, sowohl physiologische Einflüsse zu beobachten als auch die modellbedingten Fehler zu untersuchen. Dazu wurden mehr als 200 Experimente *in vivo* vorgenommen und ausgewertet.

Die Temperatur der Haut hat einen großen Einfluß auf das Meßsignal. Sie variiert in Folge äußerer Reize und geänderter Stoffwechselprozesse. Veränderungen von Blutfluß und Oxygenierungsgrad spiegeln sich in der Reflexion wider. Die verschiedenen Hautbestandteile besitzen eine ungleiche Temperaturabhängigkeit des Brechungsindex. Die Verhältnisse an den Grenzflächen der Zellen variieren. Damit beeinflussen sie die Menge des gestreuten Lichtes. Die Temperatur hat somit dieselben Auswirkungen wie die Glucose auf das Signal. In Langzeitversuchen wurde eine Variation der Hauttemperatur von bis zu 5°C gemessen. Bei einer Sensitivität von ca. 0.8%/°C geht sie mit einem ähnlichen Anteil wie die Glucose in das Signal ein. Da die Temperatur gut meßbar ist, kann sie problemlos in den Modellen erfaßt werden.

Das Aufbringen des Meßsystems auf die Haut führt zu sehr komplexen Auswirkungen. In den Ergebnissen der Klinikversuche zeigt sich zumeist eine zeitlich ansteigende Drift. Die Langzeitversuche zeigten, daß sich dieses Verhalten bis zu 24 Stunden fortsetzen kann. Es ist jedoch schwierig, die genaue Ursache zu bestimmen. Die zwischen Sensor und Haut befindliche Adhäsionsschicht besitzt einen materialspezifischen Brechungsindex. Lagern sich organische Stoffe oder Wasser aus der Haut darin ein, so verändert er sich und erzeugt eine Signaldrift. Das Aufquellen der Schichten durch Wassereinlagerung wäre eine weitere mögliche Ursache. Letztere erscheint wegen der großen interindividuellen Variation als die wahrscheinlichere. Die Drift gestattet derzeit nur die retrospektive Bestimmung der Glucosekonzentration wie sie z.B. für die Stoffwechseleinstellung von Diabetikern von Interesse ist.

Die Grenzfläche zwischen Sensor und Haut stellt nicht nur eine potentielle Quelle von Driften dar, sie hat ebenfalls großen direkten Einfluß auf das Meßsignal. In Abhängigkeit von den für Sensor und Adhäsionsschicht verwandten Materialien bildet sich ein

Brechungsindexsprung n_{rel} aus. Dieser beeinflusst die Lichtausbreitung im Gewebe. Ist er sehr klein, ist die Wahrscheinlichkeit sehr hoch, daß die Photonen sofort aus dem Medium austreten. Bei hohem n_{rel} werden sie an der Grenzfläche reflektiert. Dadurch vergrößert sich die Aufenthaltswahrscheinlichkeit der Photonen in der Dermis. Hier wird die größte Veränderung des Streukoeffizienten durch Glucose erwartet. Der Anteil an interessierender Streuinformation im Signal vergrößert sich. Zusätzlich wird durch die höhere Reflektivität die Isotropie-Bedingung der Diffusionstheorie besser erfüllt, und die gemessenen Daten lassen sich besser mit ihr beschreiben.

Als Meßmodell zur Verfolgung der Glucose wird die Veränderung der Streueigenschaften der Haut benutzt. Der Zusammenhang wird durch die Diffusionstheorie beschrieben. Um aus den gemessenen orts aufgelösten Reflexionen die Streu- und Absorptionskoeffizienten berechnen zu können, ist eine nichtlineare Regression auf die theoretischen Intensitätsprofile erforderlich. Die bei der Optimierungsrechnung unvermeidlichen algorithmischen Instabilitäten und Rundungsfehler führen zu einer zusätzlichen Varianz der Zielgrößen. Eine eindeutige Beschreibung des Datenraums durch die optischen Eigenschaften ist nicht möglich. Die erfaßte Informationsmenge genügt nicht, alle interessierenden Größen zu schätzen. Der Brechungsindexsprung n_{rel} kann nicht berechnet werden. Die gefundenen Werte alternieren und die Parametersuche konvergiert sehr schlecht. Um theoretische und gemessene Intensitätsprofile miteinander vergleichen zu können, wird ein Skalierungsfaktor eingeführt. Dieser ist von den aktuellen optischen Eigenschaften des Meßortes, des Interfaces und des Sensors abhängig. Wird er bei einer Messung initial geschätzt, so verringert sich das Rauschen im Vergleich zu der über die gesamte Dauer des Experimentes variablen Skalierung. Dieser eingeschränkte Suchraum vermindert das Problem der fehlenden Eindeutigkeit. Die berechneten Werte für Streu- und Absorptionskoeffizient entsprechen den Erwartungen besser.

Die Kalibrationsmodelle wurden mit zwei unterschiedlichen Verfahren erstellt. In einem wurde lediglich versucht, das mechanistische Modell Diffusionstheorie um die Störfaktoren zu korrigieren. Aus den unabhängigen Variablen Streukoeffizient, Temperatur und Drift sind mittels linearer Regression Modelle für die Schätzung der Glucosekonzentrationen erstellt worden. So die Diffusionsnäherung den Zusammenhang zwischen orts aufgelöster Reflexion und Streukoeffizient adäquat beschreibt, sind gute Ergebnisse möglich. Das ist in vielen Fällen gegeben. Einige Randbedingungen der

Theorie sind nur näherungsweise gegeben. Bei verschiedenen Versuchen ist das nicht mehr zu kompensieren und eine Brechung vom μ_a und μ'_s nicht möglich. Trotzdem weisen 73% der Experimente mit NIT 1.37 einen SEP kleiner 27 mg/dl ($< 1.5 \text{ mmol/l}$) auf.

Das zweite Verfahren benutzte die Hauptkomponentenregression um Modelle für die Glucosekonzentration zu erstellen. Sie basieren ausschließlich aus Reflexions- und Temperaturwerten. Ihre Ergebnisse sind besser als die mittels der Diffusionsnäherung beschriebenen Modelle. Für dieselben Daten unterschreiten 98% der Versuche die Schwelle von 27 mg/dl. Diese Kalibrationen werden allein aus der in den experimentellen Daten enthaltenen Information erstellt. Bei ihnen ist die Berechnung eines komplexen mechanistischen Modells nicht erforderlich. Sie sind frei von dem über die zusätzliche Modellierung eingetragenen systematischen Fehler. Somit stellen sie den Maximalwert der über dieses Meßprinzip erreichbaren Qualität dar.

Es wurde versucht, den Anforderungen einer patientennahen Kalibration durch die Verwendung von maximal drei Referenzpunkten Rechnung zu tragen. Die Ergebnisse beider Modellierungsverfahren verschlechtern sich signifikant gegenüber der kontinuierlichen Kalibration. Den einzelnen Referenzpunkten kommt eine sehr große Bedeutung zu. Liegen sie in gestörten Bereichen, sind die Modelle systematisch verschoben. Das unterschiedliche Verhalten der Glucosekonzentration in Blut und interstitieller Flüssigkeit kann noch nicht adäquat in die Kalibration einbezogen werden. Zudem gelingt es nicht immer, die Drift mit der gewählten Approximation hinreichend genau zu beschreiben. Es stimmt jedoch optimistisch, daß ca. 1/3 aller NIT-1.37-Experimente die Schwelle von 27 mg/dl für den SEP unterschreiten. Diese Versuche deuten mögliche Lösungswege an.

Die vorgestellten Kalibrationsmodelle zeigen, daß die Gewebsglucose nichtinvasiv bestimmbar ist. Der Zusammenhang zwischen Glucose- und Streukoeffizientsänderung konnte gesichert werden. Temperatur, optische Eigenschaften der Grenzfläche Sensor-Haut und die Gültigkeit der Diffusionstheorie wurden als die Haupteinflussfaktoren identifiziert.

7 Ausblick

In dieser Arbeit wurden verschiedene physiologische und modellbedingte Einflußgrößen bei der nichtinvasiven Glucosebestimmung mittels Streukoeffizientsänderung identifiziert. Es ist notwendig, diese weiter zu quantifizieren, um sie in erweiterte Kalibrationsmodelle einbinden zu können. Insbesondere erschwert das große und inhomogene Meßvolumen diese Aufgabe. Zudem ist ein genaueres Verständnis der grundlegenden physiologischen, die Gültigkeit der Diffusionstheorie beeinflussenden, Prozesse erforderlich.

Die Diffusionstheorie arbeitet mit vielen Randwerten. Hier sollten weitere Untersuchungen angreifen. Um die Streu- und Absorptionskoeffizienten stets zuverlässig zu berechnen, müssen die realen Verhältnisse der Haut besser in das Modell integriert werden. Zunächst könnte man zu einer Beschreibung übergehen, die den Schichtaufbau des Gewebes berücksichtigt. Erweitert man die Diffusionsnäherung auf geringe Abstände zwischen Lichtquelle und Detektor, kann zudem ein kleineres und homogeneres Meßvolumen gehandhabt werden.

Im Lauf der Arbeit hat sich die Grenzfläche Sensor-Haut als überaus wichtig herausgestellt. Es interessieren besonders die realen Verhältnisse unter dem Sensor *in vivo*. Die systematische Variation des Brechungsindexsprungs n_{rel} stellt einen wichtigen Schritt hierfür dar. Daraus können Aussagen über die effektiven Brechungsindizes von Haut und Meßsystem gewonnen werden. Möglicherweise lassen sich die optischen Eigenschaften der Grenzfläche gleichfalls ausnutzen, das Meßvolumen einzugrenzen und homogener zu gestalten.

Ein noch weitgehend ungeklärtes Problem ist die zeitliche Korrelation zwischen ISF- und Blutglucose. Davon ausgehend, daß der Streukoeffizient mit der Glucosekonzentration in der interstitiellen Flüssigkeit verbunden ist, die Referenzmessung aber die Blutglucose erfaßt, ergibt sich ein zu klärender systematischer Fehler. Die Variabilität des zeitlichen Zusammenhangs der beiden Konzentrationen zeigt sich in verschiedenen Experimenten. Hierbei muß untersucht werden, wie sich Platzierung des Sensors und Konstitution des Probanden auswirken. Über die zeitliche Korrelation des Streukoeffizienten mit der Glucosekonzentration in der ISF liegen noch keine Untersuchungen vor. Eine signifikante Veränderung ist nicht zu erwarten, das muß aber noch bewiesen werden.

Um die Alltagstauglichkeit des Meßprinzips unter Beweis zu stellen, sollten Langzeitversuche zusammen mit Diabetikern durchgeführt werden. Damit gelangt man zu präziseren Aussagen über das Driftverhalten und die Langzeitstabilität der Adhäsionsschicht. Zudem könnten Einfluß und Häufigkeit von zeitlich variablen Störungen einzelner Kanäle bestimmt werden. Sie würden gleichfalls erlauben, den durch das tägliche Leben eingeführten Varianzanteil abzuschätzen und die für eine intensivierte Insulintherapie, basierend auf kontinuierlicher Glucosemessung, erforderliche Genauigkeit besser zu spezifizieren.

8 Literaturverzeichnis

- [1] The DCCT Research Group, *N. Eng. J. Med.*, **329** (1993), 977–986
- [2] G. Stockinger, *Spiegel*, **33** (1997), 138–144
- [3] W. Scherbaum, http://www.uni-leipzig.de/~diabetes/info_de.htm
- [4] *ROCHE Lexikon Medizin*, Urban & Schwarzenberg, 1993
- [5] Thews, Mutschler, Vaupel, *Anatomie, Physiologie, Pathophysiologie des Menschen*, Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1991
- [6] *CD Römpp Chemie Lexikon Version 1.0*, Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1995
- [7] J. Kubitschek, http://pressearchiv-kubitschek.www.de/14041996_60.html
- [8] UKPDS Group, *THE LANZET*, **352** (1998), 9, 837–853
- [9] H. Fruhstorfer, *Diabetes News*, **19** (1998), 7–8
- [10] J. Anzai, H. Takeshita, Y. Kobayashi, T. Osa, T. Hoshi, *Anal. Chem.*, **70** (1998), 811–817
- [11] M. Otto, *Analytische Chemie*, VCH Weinheim, 1995
- [12] H. Greiling, A.M. Gessner, J. Büttner, *Lehrbuch der klinischen Chemie und Pathobiochemie*, F.K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH Stuttgart, 1998
- [13] E.F. Pfeiffer, C. Thum, A.H. Clemens, *Horm. metab. Res.*, **6** (1974), 339–342
- [14] J. Walsh, *Not Your Usual Stick*, <http://www.diabetesnet.com/sit.html>
- [15] *The Glucowatch by Cygnus*, http://www.castleweb.com/diabetes/d_06_e30.htm
- [16] *Learn how LifeGuide Works*, <http://www.integonline.com/integ/meet/htm/learn.htm>
- [17] C. Henry, *Anal. Chem.*, 1998, 594A–598A
- [18] J.C. Armour, J.Y. Lucisano, B.D. McKean, D.A. Gough, *Diabetes*, **39** (1990), 1519–1526
- [19] R.K. Rhodes, M.C. Shults, S.J. Updike, *Anal. Chem.*, **66** (1994), 1520–1529
- [20] E.F. Pfeiffer, *Horm. metab. Res.*, **26** (1994), 510–514
- [21] C. Meyerhoff, F.J. Mennel, F. Bischof, F. Sternberg, E.F. Pfeiffer, *Horm. metab. Res.*, **26** (1994), 538–543
- [22] *News Release - MiniMed Inc.*, http://www.minimed.com/files/pr_16.htm
- [23] J.N. Roe, B.R. Smoller, *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, **15** (1998), 199–241
- [24] B.M. Jensen, P. Bjerring, J.S. Christiansen, H. Ørskov, *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, **55** (1995), 427–432
- [25] F. Sternberg, C. Meyerhoff, F.J. Mennel, H. Mayer, F. Bischof, E.F. Pfeiffer *Diabetologia*, **39** (1996), 609–612
- [26] C.P. Quinn, M.V. Pishko, D.W. Schmidtke, M. Ishikawa, J.G. Wagner, P. Raskin, J.A. Hubbell, A. Heller, *Am. J. Physiol.*, **269** (1995), E155

- [27] V. Thome-Duret, G. Reach, M.N. Gangnerau, F. Lemonnier, J.C. Klein, Y. Zhang, Y. Hu, G.S. Wilson, *Anal. Chem.*, **68** (1996), 3822–3826
- [28] J. Frey, J. Furrer, A. Bollinger, *Schweiz. med. Wschr.*, **113** (1983), 1964–1969
- [29] *No Lancets?*, <http://www.diabetesnet.com/nit.html>
- [30] C. Deus, *Persönliche Mitteilung*, Mannheim, 1999
- [31] J.F. Stevens, P. Vadgama, *Ann. Clin. Biochem.*, **34** (1997), 215–221
- [32] R.R. Anderson, *Optics of the Skin* in H.W. Lim, N.A. Soter ed., *Clinical Photomedicine*, Marcel Dekker Inc. New York, 1993
- [33] M.A. Arnold, G.W. Small, *Anal. Chem.*, **62** (1990), 1457–1464
- [34] L.A. Marquardt, M.A. Arnold, G.W. Small, *Anal. Chem.*, **65** (1993), 3271–3278
- [35] G.W. Small, M.A. Arnold, L.A. Marquardt, *Anal. Chem.*, **65** (1993), 3279–3289
- [36] K.H. Hazen, M.A. Arnold, G.W. Small, *Appl. Spectrosc.*, **48** (1994), 477–483
- [37] S. Pan, H. Chung, M.A. Arnold, *Anal. Chem.*, **68** (1996), 1124–1135
- [38] M.A. Arnold, *Current Opinion in Biotechnology*, **7** (1996), 46–49
- [39] M.J. Mattu, G.W. Small, M.A. Arnold, *Anal. Chem.*, **69** (1997), 4695–4702
- [40] G. Lu, X. Zhou, M.A. Arnold, G.W. Small, *Appl. Spectrosc.*, **51** (1997), 1330–1339
- [41] M.A. Arnold, J.J. Burmeister, G.W. Small, *Anal. Chem.*, **70** (1998), 1773–1781
- [42] K.H. Hazen, M.A. Arnold, G.W. Small, *Appl. Spectrosc.*, **52** (1998), 1597–1605
- [43] Q. Ding, G.W. Small, M.A. Arnold, *Anal. Chim. Acta*, **384** (1999), 333–343
- [44] J.J. Burmeister, M.A. Arnold, G.W. Small, *IEEE LEOS-Newsletter*, **12** (1998), 6–9
- [45] K.-U. Jagemann, C. Fischbacher, K. Danzer, U.A. Müller, B. Mertes, *Z. Phys. Chem.*, **191** (1995), 179–190
- [46] U.A. Müller, B. Mertes, C. Fischbacher, K.U. Jagemann, K. Danzer, *The International Journal of Artificial Organs*, **20** (1997), 285–290
- [47] C. Fischbacher, K.-U. Jagemann, K. Danzer, U.A. Müller, L. Papenkordt, J. Schüler, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **359** (1997), 78–82
- [48] K.-U. Jagemann, *Untersuchungen zum Einsatz der Nahinfrarot-Spektroskopie für die nichtinvasive Blutglucosebestimmung mittels Künstlicher Neuronaler Netze*, Dissertation, Friedrich-Schiller-Universität Jena, 1998
- [49] K. Danzer, C. Fischbacher, K.-U. Jagemann, K.J. Reichelt, *IEEE LEOS - Newsletter*, **12** (1998), 9–11
- [50] A. Zell, *Simulation neuronaler Netze*, Addison-Wesley Bonn, 1994
- [51] H.M. Heise, R. Marbach, Th. Koschinsky, F.A. Gries, *Artificial Organs*, **18** (1993), 439–447
- [52] R. Marbach, Th. Koschinsky, F.A. Gries, H.M. Heise, *Appl. Spectrosc.*, **47** (1993), 875–881

- [53] R. Marbach, *Meßverfahren zur IR-spektroskopischen Blutglucosebestimmung*, Fortschr. - Ber. VDI Ser. 8, Vol **346**, VDI-Verlag Düsseldorf, 1993
- [54] R. Marbach, H.M. Heise, *Appl. Optics*, **34** (1995), 610–621
- [55] H.M. Heise, *Horm. metab. Res.*, **28** (1996), 527–534
- [56] H.M. Heise, A. Bittner, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **359** (1997), 93–99
- [57] H.M. Heise, A. Bittner, R. Marbach, *J. Near Infrared Spectrosc.*, **6** (1998), 349–359
- [58] H.M. Heise, *IEEE LEOS-Newsletter*, **12** (1998), 11–13
- [59] M.R. Robinson, R.P. Philip, D.M. Haarland, G.W. Koepp, E.V. Thomas, B.R. Stallard, P.L. Robinson, *Clin. Chem.*, **38** (1992), 1618–1622
- [60] M. Shichiri, T. Uemura, K. Nishida, *IEEE LEOS-Newsletter*, **12** (1998), 14–16
- [61] D.C. Klonoff, *Diabetes Care*, **20** (1997), 433–437
- [62] J. Lambert, M. Storrie, M. Borchert, *IEEE LEOS-Newsletter*, **12** (1998), 19–22
- [63] R.V. Tarr, P.G. Steffes, *IEEE LEOS-Newsletter*, **12** (1998), 22–27
- [64] K.M. Quan, G.B. Christison, H.A. MacKenzie, P. Hodgson, *Phys. Med. Biol.*, **38** (1993), 1911–1922
- [65] G.B. Christison, H.A. MacKenzie, P. Hodgson, *Med. Biol. Eng. Comput.*, **31** (1993), 284–290
- [66] G. Spanner, R. Nießner, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **354** (1996), 306–310
- [67] G. Spanner, R. Niessner, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **355** (1996), 327–328
- [68] W. March, B. Rabinovitch, L. Adams, *Diabetes Care*, **5** (1982), 259–265
- [69] J.U. Menzebach, *Nichtinvasive Diagnostik mit Hilfe der Bestimmung optischer Eigenschaften in der Augenvorderkammerflüssigkeit - Bestimmung der Blutglucose beim Diabetiker*, Dissertation, Universität Gesamthochschule Essen, 1996
- [70] J. Backhaus, D. Böcker, B. Schrader, H.U. Menzebach, E. Schmidt, *Device for the in vivo determination of an optical property of the aqueous humour of the eye*, Schutzrecht US 55357434, Roche Diagnostics GmbH
- [71] R.J. McNichols, B.D. Cameron, G.L. Coté, *IEEE LEOS-Newsletter*, **12** (1998), 30–31
- [72] *FDA Standards for Laser Safety*, 21 CFR 1040.10, April 1, 1989
- [73] A. Müller, *Verfahren und Vorrichtung zur quantitativen Bestimmung gelöster Substanzen in Ein- und Mehrkomponentensystemen durch Laser-Lichtstreuung*, Schutzrecht EU 0074428
- [74] M. Kohl, M. Cope, M. Essenpreis, D. Böcker, *Optics Letters*, **19** (1994), 2170–2172
- [75] T.J. Farrell, B.C. Wilson, M.S. Patterson, *Phys. Med. Biol.*, **37** (1992), 2281–2286
- [76] J.S. Maier, S.A. Scott, A. Walker, S. Fantini, M.A. Franceschini, E. Gratton, *Optics Letters*, **19** (1994), 2062–2064
- [77] S. Fantini, M.A. Franceschini, J.B. Fishkin, B. Barbieri, E. Gratton, *Applied Optics*, **33** (1994), 5204–5213

- [78] J.T. Bruulsema et al., *Detection of Changes in Blood Glucose Concentration in vivo with Spatially Resolved Diffuse Reflectance*, in E. Sevick-Murcaca, D. Benaron eds., *OSA TOPS on Biomedical Optical Spectroscopy and Diagnostics*, **3** (1996), 2–6
- [79] J.T. Bruulsema et al., *Optics Letters*, **22** (1997), 190–192
- [80] L. Heinemann, G. Schmelzeisen-Redeker, *Diabetologia*, **41** (1998), 848–854
- [81] L. Heinemann, *Diabetes Journal*, **6** (1998), 40–44
- [82] D. Böcker, H.P. Haar, P. Blasberg, R. Kotulla, *Analysesystem zur Überwachung der Konzentration eines Analyten im Blut eines Patienten*, Schutzrecht DE 4415 896
- [83] M. Essenpreis, D. Böcker, A. Knuettel, *Verfahren und Vorrichtung zur Analyse von Glucose in einer biologischen Probe*, Schutzrecht DE 4439 900
- [84] DHM Lehrmittelfabrik GmbH, Dresden, 1992
- [85] A. Knüttel, *Persönliche Mitteilung*, Mannheim, 1998
- [86] S.A. Prahl, M. Keijzer, S.L. Jacques, A.J. Welch, *SPIE Institute Series*, **5** (1989), 102–111
- [87] S.L. Jacques, *Origins of Tissue Optical Properties in the UVA, Visible and NIR Regions*, in R.R. Alfano, J.G. Fujimoto ed., *OSA TOPS on Advances in Optical Imaging and Photon Migration*, **2** (1996), 364–371
- [88] S. Nickell, *Nichtinvasive Bestimmung optischer Eigenschaften der menschlichen Haut*, Diplomarbeit, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 1997
- [89] M. Hermann, *Kontinuierliche Überwachung der optischen Eigenschaften von Haut in vivo*, Diplomarbeit, Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg, 1998
- [90] T.J. Farrell, M.S. Patterson, M. Essenpreis, M. Hein, D. Böcker, *SPIE*, **2979** (1997), 335–342
- [91] H. Günzler, H. Böck, *IR-Spektroskopie: Eine Einführung*, VCH Weinheim, 1983
- [92] M. Essenpreis, *Thermally Induced Changes in Optical Properties of Biological Tissue*, Ph.D. Thesis, University College London, 1992
- [93] M.S. Patterson, *Comments Mol. Cell. Biophys.*, **8** (1995), 387–417
- [94] B.C. Wilson, *Measurement of tissue optical properties: methods and theories* in A.J. Welch, M.J.C. van Gemert ed., *Optical-Thermal Response of Laser-Irradiated Tissue*, Plenum Press New York, 1995
- [95] G. Mie, *Ann. Phys.*, **25** (1908), 377–445
- [96] J. Duderstadt, L. Hamilton, *Nuclear Reactor Analysis*, J. Wiley and Sons Inc. New York, 1976
- [97] M. Keijzer, W.M. Star, P.R.M. Storchi, *Appl. Optics*, **27** (1988), 1820–1824
- [98] T.J. Farrell, M.S. Patterson, B. Wilson, *Med. Phys.*, **19** (1992), 879–888
- [99] M. Otto, *Chemometrie: Statistik und Computereinsatz in der Analytik*, VCH Weinheim, 1997
- [100] M. Otto, *Fresenius J. Anal. Chem.*, **359** (1997), 123–125
- [101] I.E. Frank, J.H. Friedman, *Technometrics*, **35** (1993), 2, 109–135

- [102] H. Martens, T. Næs, *Multivariate Calibration*, John Wiley & Sons, 1989
- [103] W.L. Clarke, D. Cox, L.A. Gonder-Frederick, W. Carter, S.L. Pohl, *Diabetes Care*, **10** (1987), 622–628
- [104] D.J. Cox, L.A. Gonder-Frederick, B.P. Kovatchev, D.M. Julian, W.L. Clarke, *Diabetes Care*, **20** (1997), 911–912
- [105] D.A. Gough, E.L. Botvinick, *Diabetes Care*, **20** (1997), 1034–1036
- [106] T.J. Farrell, M.S. Patterson, J.E. Hayward, B.C. Wilson, E.R. Beck, *SPIE*, **2135** (1994), 118–128
- [107] Fischer, *Diabetiker Ratgeber*, **3** (1999), 6–10
- [108] G.J. Tearney et al., *Optics Letters*, **21** (1995), 2258–2260
- [109] K. Wettengel, *Persönliche Mitteilung*, Mannheim, 1999

Lebenslauf

Name: Hans-Martin Klötzer

Geburtstag: 22. April 1966

Geburtsort: Limbach-Oberfrohna

1973 – 81 Pestalozzi-Oberschule Limbach-Oberfrohna

1981 – 83 Oberschule Hohenstein-Ernstthal

1983 – 85 Erweiterte Oberschule "Prof. Dr. Max Schneider" Lichtenstein

1985 – 87 Wehrdienst in Mühlhausen (Thür.)

1987 – 92 Chemiestudium an der TU Bergakademie Freiberg

Studienschwerpunkt: Analytische Chemie

Thema der Diplomarbeit: »Methoden zur Bibliothekssuche
in IR-Spektrendatenbanken«

1992 – 96 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Institut für Analytische
Chemie der TU Bergakademie Freiberg

1996 – 99 Doktorand bei Roche Diagnostics GmbH Mannheim