



**Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg**  
**Fakultät für Klinische Medizin Mannheim**  
**Dissertations-Kurzfassung**

**Biokompatibilität und Biotoxizität von in-vivo-Sensoren**

Autor: André Mang  
Institut / Klinik: Zentrum für Medizinische Forschung  
Doktorvater: Prof. Dr. N. Gretz

Die kontinuierliche Beobachtung der Glucosekonzentration erlaubt Diabetikern eine verbesserte Einstellung des Blutzuckerspiegels und senkt somit das Risiko für Langzeitkomplikationen in dieser Patientengruppe. Im Rahmen der durchgeführten Studien stellte sich die Frage, ob es möglich sei, reagenzbasierte Glucosesensoren direkt in den Körper einzubringen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es daher, erste Einblicke in die Biotoxizität und Biokompatibilität von elektrochemischen Glucosesensoren zu erhalten.

Nach einer Literaturrecherche zur Toxizität aller Einzelkomponenten des Sensors wurden hierzu zunächst in-vitro Experimente mit L-929 Mausfibroblasten durchgeführt. Die Untersuchung der als toxisch eingestuft, jedoch für die Meßtechnik essentiellen Glucoseoxidase (GOD), mit Hilfe der Elutionsmethode nach dem Amerikanischen Arzneibuch (USP) belegte, daß die GOD ausreichend im Sensor immobilisiert war, so daß in späteren in-vivo Versuchen von einem Austreten des Enzyms GOD in den Körper nicht auszugehen war (Cytotoxizität Stufe 0 nach USP). In einer Reihe von Agardiffusionstests konnte gezeigt werden, daß die weiteren, für das Glucosemeßprinzip wichtigen Reagenzien (Carbon-Paste und Silber/Silberchlorid-Paste) eine milde Cytotoxizität (Stufe 2) aufwiesen. Ferner wurde die für die elektrische Isolation verwendete Laminatfolie des Sensors als schwach cytotoxisch (Stufe 1) identifiziert. Um die leicht toxischen Eigenschaften des Sensors zu reduzieren, wurde der Sensor mit einem der Phospholipidstruktur der Zelle ähnelnden Copolymer (MPC-co-BMA) beschichtet. Es konnte gezeigt werden, daß diese Beschichtung die in-vitro Biotoxizität völlig reduzierte (Stufe 0). Wesentlich war hierbei das Anlegen einer Betriebsspannung ( $U=370$  mV) an den elektrochemischen Sensor, um eine Anhäufung des bei der Umsetzung von Glucose entstehenden Wasserstoffperoxids zu unterdrücken.

In Vorbereitung auf die später notwendige, punktuelle Bestimmung der Referenzwerte für den kontinuierlichen Glucosesensor konnte nachgewiesen werden, daß das Glucosemeßsystem Accu-Check<sup>®</sup> sensor mit einer durchschnittlichen Standardabweichung von 10,3 mg/dl bei einem Blutvolumen von 4 µl sich als Referenzmethode in dem hier verwendeten Tiermodell eignet. Zur Durchführung der in-vivo Experimente im Tiermodell (Ratte) wurde im Rahmen dieser Arbeit eine Implantationstechnik zur subkutanen Applikation des Sensors sowie eine möglichst zerstörungsarme Probenentnahmetechnik entwickelt. In allen in-vivo Versuchen an Ratten zeigte sich, daß der reagenzbeladene Sensorabschnitt die stärkste Einkapselung hervorrief (Liegedauer: 10 Tage). Ohne Anlegung der Arbeitsspannung konnte das endogene Redoxsystem im subkutanen Raum offensichtlich die  $H_2O_2$  Produktion nicht vollständig kompensieren, was zu einer hochgradigen Fremdkörperreaktion im Bereich der GOD-Elektrode führte. Durch das Aufbringen einer MPC-co-BMA Beschichtung deutete sich zwar eine Verminderung der Fremdkörperreaktion um eine Stufe auf mittelgradig an, dies konnte jedoch nicht eindeutig signifikanterweise belegt werden. Im Gegensatz hierzu stellte die zusätzliche Verwendung einer Dialysemembran, die auch aus meßtechnischer Sicht wünschenswert ist, einen wesentlichen Fortschritt zur Biokompatibilität dar. Die den mit MPC-co-BMA beschichteten Sensor umhüllende Dialysemembran ergab eine biokompatible Kontaktfläche zum umliegenden Gewebe und es ließ sich nachweisen (ANOVA, Korrektur nach Bonferroni, 5% Niveau), daß hiermit die Fremdkörperreaktion in der Ausprägung auf das Niveau der reagenzfreien Bereiche reduziert werden konnte.

Die im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit durchgeführten Studien belegen erstmals, daß reagenzbasierte, direkt implantierbare Glucosesensoren unter Verwendung einer Hohlfaser-Dialysemembran für die kontinuierliche Bestimmung der Glucose aus Sicht der Biokompatibilität und Biotoxizität geeignet sind.