

# Diplomarbeit

---

## **Die Auswirkung der Boluslänge auf die Pharmakodynamik von Insulin bei Personen mit Diabetes mellitus Typ 1**

von

**Markus Ehrmann**

Geburtsdatum: 02.03.1976

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**MEDIZINISCHE UNIVERSITÄT GRAZ**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin**

**KLINISCHE ABTEILUNG FÜR ENDOKRINOLOGIE UND STOFFWECHSEL**

unter der Anleitung von

**Dr. Julia Mader**

**Priv. Doz. DI Dr. Martin Ellmerer**

GRAZ, AM 25.03.2014 ..... MARKUS EHRMANN

**Hinweis:** Um die Lesbarkeit dieser Diplomarbeit zu erleichtern wird im Folgenden das generische Maskulinum gebraucht. Dieses umfasst männliche und weibliche Personen gleichermaßen. Die Entscheidung zu dieser Schreibweise wurde allein aus praktischen Erwägungen gezogen und steht in keinem Zusammenhang mit dem Inhalt.

# Vorwort und Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Frau Dr. Julia Mader und Herrn Priv. Doz. DI Dr. Martin Ellmerer, die mir von Beginn an, unterstützend zur Seite standen und durch ihre fachliche Betreuung, konstruktive Kritik und mit sehr viel Geduld es ermöglichten, diese Arbeit zu verfassen.

Des Weiteren möchte ich mich bei DI. Dr. techn. Werner Regittnig und seinem Team vom Zentrum für medizinische Forschung bedanken, die mir bei den Experimenten, statistischen Auswertungen und Computerberechnungen immer mit Rat und Tat zur Seite standen. Ohne Sie hätte ich diese Arbeit niemals beenden können.

Ein großes Dankeschön gebührt auch meinen Eltern Karlfried und Renate sowie meinem Bruder Kai-Uwe Ehrmann, die mir durch ihre seelische und finanzielle Unterstützung dieses Studium ermöglichten.

Bedanken möchte ich mich auch bei meinen Freunden James, Wolfgang, Sylvie, Pierre und Verena, die mich auch in schwierigen Zeiten immer wieder unterstützt haben.

# Eidesstattliche Erklärung

*Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.*

*Graz, am 25.03.2014*

*Markus Ehrmann*

# Kurzfassung

In der Behandlung des Diabetes mellitus Typ 1 ist die intensivierete Insulintherapie (IIT) der Goldstandard, da dadurch am ehesten eine normale Blutzuckereinstellung möglich ist. Hierfür wurden von verschiedenen Firmen kleine, mobile Insulinpumpen entwickelt. Der Basalbedarf unter Nüchternbedingungen wird mittels Basalrate abgedeckt. Bei Mahlzeiten bzw. Blutzuckerspitzen wird dies durch den Patienten mittels Insulinbolus korrigiert. Insulinpumpen geben den Insulinbolus mit unterschiedlicher Geschwindigkeit ab, wodurch die Boluslänge beeinflusst wird. Es zeigte sich, dass abhängig vom Hersteller eine hohe Variabilität der Boluslänge besteht (z.B. Firma Animas: 2 Sekunden pro Insulineinheit; Firma Medtronic: 40 Sekunden pro Insulineinheit).

Um Unterschiede in der Pharmakodynamik von unterschiedlichen Boluslängen zu untersuchen, wurde an der Medizinischen Universität Graz eine Studie durchgeführt, bei der 20 Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 in jeweils zwei Clampexperimenten, in randomisierter Abfolge ein subkutaner schnell wirksamer Insulinbolus (Insulin lispro: 15 Einheiten) über eine Boluslänge von 30 Sekunden (Animas IR 2020) und zehn Minuten (Medtronic Minimed Paradigm 512) verabreicht wurde.

Diese Diplomarbeit beschäftigt sich mit der Auswertung und Analyse der Pharmakodynamik mittels Glukoseclamp. Zu diesem Zweck, erfolgte nach der Datenerfassung die statistische Analyse und graphische Auswertung. Die pharmakodynamische Auswertung ergab, dass bei einem kurzen Bolus die maximale Insulinwirkung auf die Glukose eher und zu einem früheren Beginn der Insulinwirkung im Vergleich zum langsamen Bolus führte. Hieraus kann nun geschlossen werden, dass ein kurzer Bolus sich positiv auf klinisch relevante Eigenschaften in der Insulintherapie auswirkt. Es wird daher empfohlen, Insulinpumpen einheitlich mit kurzen Boli auszustatten.

Gefördert durch das EU-Projekt „Artificial Pancreas at Home (AP@home)“, Projektnummer 47138, [www.apathome.eu](http://www.apathome.eu).

# Abstract

Intensified Insulin Therapy (IIT) is considered to be gold standard for treating diabetes mellitus type 1. There are several companies currently providing small, mobile insulin pumps for this purpose.

The base demand under fasting conditions is covered by basal rate. Blood sugar spikes are corrected via insulin bolus by the patients themselves.

The insulin injection rate differs depending on the individual manufacturer, that is to say, the insulin bolus duration is affected. Depending on the manufacturer, the insulin bolus durations (eg. company Animas: 2 seconds per unit of insulin, Medtronic: 40 seconds per unit of insulin) vary considerably.

To examine differences in the pharmacodynamics of insulin bolus durations, a study was conducted at the Medical University of Graz.

20 participants with diabetes mellitus type 1 were randomly administered a subcutaneous fast-acting insulin bolus (lispro Insulin : 15 units) at an insulin bolus duration of 30 seconds (Animas IR 2020) or ten minutes (Medtronic MiniMed paradigm 512) respectively during two clamp experiments.

This thesis focuses on the evaluation and analysis of pharmacodynamics using a glucose clamp, including statistical and graphical analyses.

The pharmacodynamic analysis showed a time reduction in both the maximum effect of the insulin injection and in the onset of the effect of the insulin compared to the slower bolus duration.

In conclusion, a short bolus has a positive effect on clinically relevant properties of insulin therapy. Therefore, it is recommended that standardized insulin pumps provided be equipped with short insulin bolus durations.

Funded by the EU project "Artificial Pancreas at Home (AP@home)", project number 47138, [www.apathome.eu](http://www.apathome.eu)

# Inhaltsverzeichnis

VORWORT UND DANKSAGUNG.....	3
EIDESSTATTLICHE ERKLÄRUNG.....	4
KURZFASSUNG .....	5
ABSTRACT .....	6
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	10
1. EINFÜHRUNG.....	12
1.1 Diabetes mellitus.....	12
1.1.1 Klassifikation .....	12
1.1.2 Diagnosestellung.....	13
1.2. Therapie des Diabetes mellitus Typ 1 .....	13
1.2.1 Insulintherapie.....	15
1.2.2 Hypoglykämierisiko .....	15
1.2.3 Ursachen und Symptome.....	16
1.2.4 Glut-4-Transporter.....	16
1.2.5 Einflussfaktoren auf die Insulinwirkung .....	18
1.3 Insulinarten .....	19
1.3.1 Kurzwirksame Insuline .....	19
1.3.2 Basalinsuline .....	21
1.4 Insulindarreichungsformen.....	24
1.4.1 Multiple tägliche subkutane Insulininjektion .....	24
1.4.2 Insulinpumpentherapie.....	26

1.5 Verbesserung der Insulintherapie bei Diabetes mellitus Typ 1 .....	28
1.5.1 Nachteile der aktuellen Therapien.....	28
1.6 Mögliche Verbesserung der Insulintherapie mittels neuartiger Methoden .....	30
1.6.1 Modifikation des Insulinmoleküls.....	31
1.6.2 Verbesserung in der Verabreichung.....	31
1.7 Die Insulinpumpe .....	35
1.8 Methoden zur Insulinabsorbtiionsbestimmung .....	37
1.9 Methode zur Bestimmung der Pharmakodynamik.....	38
1.9.1 Prinzipien des euglykämischen Glukose-Clamp .....	39
1.10 Ziele dieser Diplomarbeit .....	41
2. METHODEN .....	42
2.1 Studienprotokoll .....	42
2.1.1 Ablauf der klinischen Studie .....	42
2.1.2 Einschlussuntersuchung .....	42
2.1.3 Erste Clampvisite .....	44
2.1.4 Zweite Clampvisite .....	45
2.1.5 Nachuntersuchung .....	47
2.2 Messungen des Glukoseclamps .....	47
2.3 Kontrolle der Pumpen .....	50
2.4 Pumpennachkontrolle .....	53
2.5 Datenanalyse und statistische Methode.....	54
2.5.1 Deskriptive Statistik.....	54
3. RESULTATE .....	56
3.1 Studieneigenschaften.....	56
3.1.1 Biometrische Daten der Studienteilnehmer.....	56
3.1.2 Vergleich der pharmakodynamischen Parameter .....	56
4. DISKUSSION .....	61

4.1 Klinische Relevanz.....	61
4.2 Empfehlung.....	62
4.3 Schlussfolgerung.....	65
5. ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	66
6. TABELLENVERZEICHNIS .....	67
7. LITERATURVERZEICHNIS.....	68
8. ANHANG .....	74

# Abkürzungsverzeichnis

Area under the curve=die Fläche unter der Kurve	(AUC)
Body Mass Index	(BMI)
Broteinheit	(BE)
Continous Subcutaneus Insulin Infusion	(CSII)
Diabetes mellitus	(DM)
Diabetes mellitus Typ 1	(T1D)
Einheiten	(Units)
Gastrointestinaltrakt	(GIT)
Glucosetransporter- 4	(Glut-4)
Glukose	(Glu)
Glukoseoxidase	(GOD)
Hour	(h)
Hypothesentest	(t-Test)
Insulinrezeptorsubstrate	(IRS)
Insulin-Rezeptor-Substratfamilie	(IRS1+2)
Intensivierte Insulintherapie	(IIT)
Intensivierte konventionelle Insulintherapie	(ICT)
Internationale Einheiten	(E)
Mittelwert	(MW o. Mean)
Monoamino-Oxidase-Hemmer	(MAO)
Oralen Glukosetoleranztest	(oGTT)

Patientennahe Sofortdiagnostik	(POCT)
Platin	(Pt)
Proteinkinase B	(PKB)
Sekunden	(sec.)
Sensor unterstützte Pumpentherapie	(SUP)
Standardfehler	(SE)
Stunden	(Std.)
Stunden	(Std.)
Subkutan	(s.c.)
Variationskoeffizient	(CV)
Variationskoeffizient	(CV)
Zentrum für medizinische Grundlagenforschung	(ZMF)

# 1. Einführung

## 1.1 Diabetes mellitus

Der Begriff Diabetes mellitus, kommt aus dem altgriechischen und bedeutet „honigsüßer Durchfluss“. Es handelt sich dabei um eine Gruppe von metabolischen Erkrankungen, die phänotypisch mit einer Hyperglykämie einhergehen. Abhängig von der Ätiologie können eine herabgesetzte oder gestörte Insulinproduktion, eine gestörte Glukoseverwertung oder eine gesteigerte Glukoseproduktion in unterschiedlicher Gewichtung, an der Hyperglykämie beteiligt sein. Diese metabolische Störung führt zu sekundären pathophysiologischen Veränderungen welche das Organ-, aber auch das Gesundheitssystem (z.B. Erblindung, Amputationen oder Nierenversagen) negativ beeinflussen. Die Inzidenz und Prävalenz der beiden Diabetesformen steigt derzeit weltweit. Bei Diabetes mellitus Typ 1 Diabetes erhöht sich die Inzidenz jährlich um 2-5%; die Prävalenz bei Diabetes mellitus Typ 2 beträgt in Österreich 6% (1-4).

### 1.1.1 Klassifikation

Die Klassifikation des Diabetes mellitus erfolgt anhand, der zur Glykämie führenden Prozesse. Die Hauptformen sind der Diabetes mellitus Typ 1 und Typ 2, beide gehen zu Beginn der Erkrankung mit einer Phase der gestörten Glukosetoleranz voraus, wobei sich der Diabetes mellitus Typ 1 (T1D) durch einen vollständigen Insulinmangel auszeichnet (5).

Beim Diabetes mellitus Typ 2 handelt es sich um eine Gruppe von heterogenen Erkrankungen, die durch unterschiedlich starke Insulinresistenz, gestörte Insulinproduktion und vermehrte Glukoseproduktion gekennzeichnet sind (5).

Der T1D wird durch einen Autoimmunprozess ausgelöst und ist durch absoluten Insulinmangel mit Ketoseneigung charakterisiert. Eine intensivierete Insulintherapie verbessert die Lebensqualität unter Vermeidung diabetesinduzierter mikrovaskulärer Folgeerkrankungen. Goldstandard ist eine intensivierete Insulintherapie bestehend aus Basalinsulin und kurzwirksamem Bolusinsulin.

Als Therapieziel sollte ein  $\text{HbA}_{1c} \leq 7\%$  (als Optimum  $\leq 6,5\%$ ) gelten, solange keine schwere Hypoglykämien auftreten (5).

## 1.1.2 Diagnosestellung

### Bestimmung des Glukosespiegels:

Bei der Erstmanifestation im Jugend- bzw. Erwachsenenalter treten akute, rasch progrediente Symptome einer Stoffwechsellentgleisung auf. Die Diagnose erfolgt primär über eine qualitätsgesicherte Analyse der Glukosekonzentration im venösen Plasma. Werte von  $\geq 200 \text{ mg/dl}$  oder Nüchternglukose  $\geq 126 \text{ mg/dl}$  + Ketoseneigung sind zur Diagnose einfach heranzuziehen. Zur exakten Klassifizierung sollte zusätzlich eine Bestimmung der diabetesspezifischen Autoantikörper und/oder der basalen oder glucagonstimulierten C-Peptidkonzentration durchgeführt werden(5).

### Charakteristische Symptome des manifesten T1D:

Symptome der akuten Hyperglykämie mit:

- Polyurie, Polydipsie, Nykturie, Exsikkose
- Ungewollter Gewichtsverlust
- Müdigkeit, Abgeschlagenheit, Leistungsminderung
- Abbau der Konzentrations- und Merkfähigkeit
- Infektanfälligkeit
- Sehstörungen (Refraktionsanomalie)
- Abdominale Schmerzen
- Ketoazidotische Stoffwechsellentgleisung mit Bewusstseinsstörungen(5)

## 1.2. Therapie des Diabetes mellitus Typ 1

Die Therapie des T1D besteht aus den Komponentenschulung, Insulintherapie, und psychosoziale Betreuung. Eine Insulintherapie ist bei T1D immer und lebenslang notwendig. Voraussetzung für die Insulinsubstitution beim Menschen mit T1D sind Kenntnisse über die pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften der therapeutisch verwendeten Insuline sowie den physiologischen Insulinbedarf. Wichtig für die Planung sind zudem die Abhängigkeit des additiven Insulinbedarfs von der Nahrungszufuhr und das Verhältnis zwischen basalem und prandialem

Insulinbedarf. Der individuelle Insulinbedarf richtet sich grundsätzlich bei Menschen mit T1D aufgrund des absoluten Insulinmangels nach der physiologischen Insulinsekretion. Diese erfolgt sowohl ohne Nahrungszufuhr (= basaler Insulinbedarf) als auch rund um die Nahrungszufuhr (= prandialer Insulinbedarf) diskontinuierlich, d. h. pulsatil. Bei der Insulindosierung sollte berücksichtigt werden, dass der absolute Insulinbedarf auch von der individuellen Insulinempfindlichkeit abhängt, welche auch durch tageszeitlichen Schwankungen gekennzeichnet ist und von äußeren Faktoren (z.B. Sport, akute Erkrankung) beeinflusst wird. Der therapeutische Insulinbedarf sollte daher nur unter Vorbehalt von der Insulinsekretion eines Gesunden abgeleitet werden (5,6).

Bei Menschen mit T1D beeinflussen folgende Faktoren die adäquate Insulinersatztherapie:

- das Ausmaß des Insulindefizits
- die individuelle Insulinempfindlichkeit unter Berücksichtigung von Körperzusammensetzung, körperlicher Aktivität, Vorliegen weiterer Erkrankungen und Einnahme von den Glukosestoffwechsel beeinflussenden Medikamenten
- die Pharmakokinetik und -dynamik der verwendeten Insulinpräparate
- die Nahrungszufuhr

Die basale Insulinsekretion beträgt beim Gesunden ca. 1 E/h. Dies macht ca. 50 - 60 % des Tagesbedarfs aus (Abbildung 1). Die prandiale Freisetzung des Insulins beträgt bei Gesunden dagegen für Kohlenhydrate etwa 1,5 E/10 g (7). Für andere Nahrungsanteile (Eiweiß, Fett) ist die prandiale Insulinfreisetzung wesentlich niedriger und daher in der täglichen Praxis zu vernachlässigen. Die prandiale Insulinabgabe (ca. 40 - 50 % des Tagesbedarfs) ist von entscheidender Bedeutung um den normalen Stoffwechsel aufrecht zu halten. Die vom Gesunden abgeleiteten Richtwerte für die Insulindosierung gelten für einen absoluten Insulinmangel mit einer normalen Insulinempfindlichkeit. Die meisten der Patienten müssen die Insulindosis (basal und prandial) individuell anpassen. Der Insulinbedarf wird höher ausfallen, je stärker die metabolische Entgleisung und die sekundäre Insulinresistenz ausgeprägt sind. Bei teilweisem Betazellverlust reduziert die verbliebene Sekretion den täglichen Insulinbedarf (4,6).

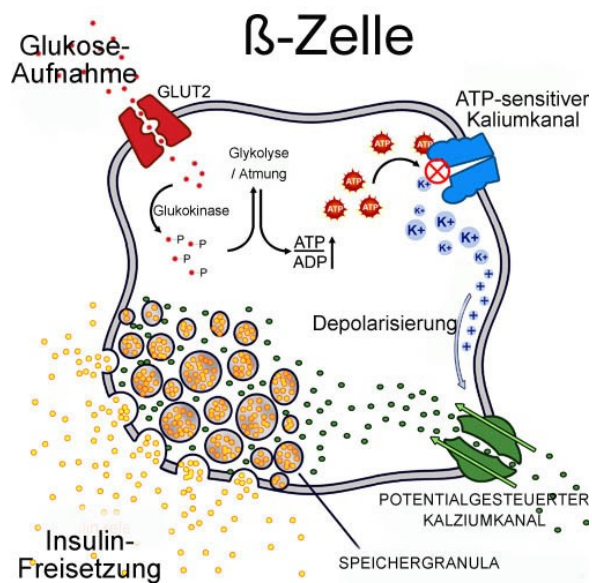


Abbildung 1: Insulinsekretion der  $\beta$ -Zelle (8)

## 1.2.1 Insulintherapie

In der medikamentösen Therapie unterscheidet man die konventionelle Insulintherapie (CT), die intensivierte konventionelle Insulintherapie (ICT) und die kontinuierliche subkutane Insulin-Infusion (CSII). In der Behandlung des T1D ist die intensivierte Insulintherapie der Goldstandard, da unter dieser Therapie am ehesten eine normale Blutzuckereinstellung möglich ist (5). Die intensivierte Insulintherapie wird in die ICT und die CSII unterschieden.

## 1.2.2 Hypoglykämierisiko:

In der Therapie des T1D, ist der Versuch eine normale Blutzuckereinstellung zu erzielen, immer mit dem Risiko schwerer Hypoglykämien assoziiert. Je niedriger der Blutzuckerzielbereich ist, desto häufiger kommt es zum Auftreten von Hypoglykämien (5).

### 1.2.3 Ursachen und Symptome

Bei Menschen mit T1D sind Hypoglykämien stets die Folge einer absoluten oder relativen Insulinüberdosierung. Ursachen für die Insulinüberdosierung können sein:

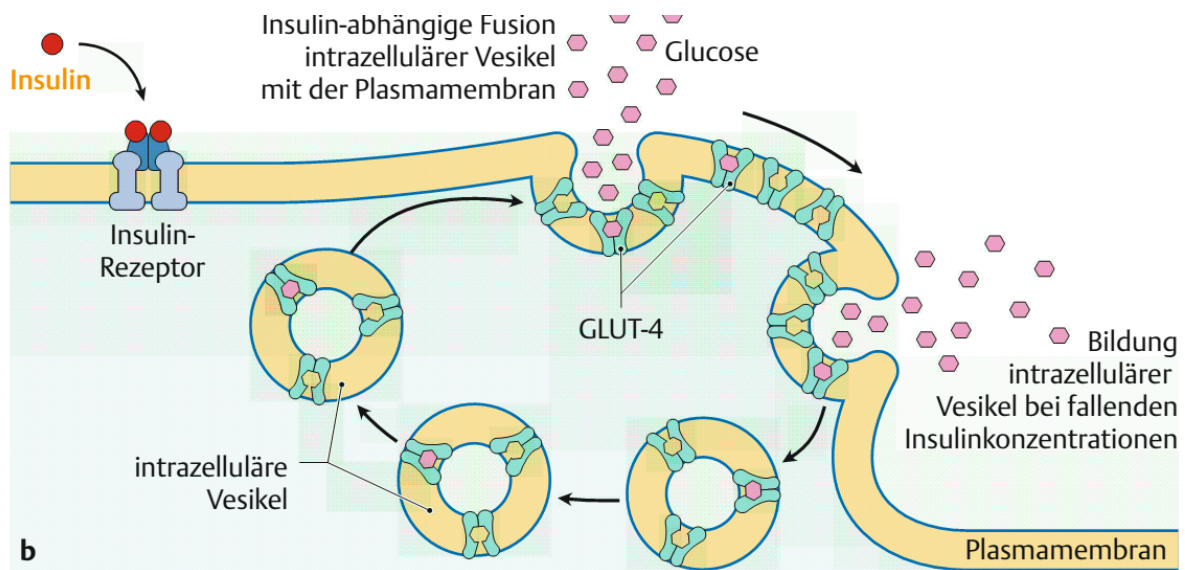
- Insulindosierung ist zu hoch, Insulininjektion zur falschen Zeit oder es wird die falsche Insulinsorte gespritzt
- Erniedrigte exogene Glukosezufuhr (vergessene Mahlzeiten)
- Glukoseverbrauch ist erhöht (beispielsweise nach Sport)
- Endogene Glukoseproduktion ist erniedrigt (beispielsweise nach Alkoholkonsum, bei Niereninsuffizienz)
- Insulinsensitivität ist erhöht (während der Nacht, nach Verbesserung der glykämischen Kontrolle, nach verbessertem körperlichen Trainingszustand)
- Insulinclearance ist erniedrigt (zum Beispiel bei Niereninsuffizienz)

Die verringerte Blutglukosekonzentration äußert sich klinisch zunächst in einer Aktivierung des autonomen Nervensystems (adrenerge Reaktion). Wenn die Blutglukosekonzentration weiter sinkt, kommt es zu Einschränkungen der Gehirnfunktion (neuroglykopenische Reaktion) die bis zur Bewusstlosigkeit und zu Krämpfen reichen können. Da diese Symptome unspezifisch sind, basiert die Diagnose der Hypoglykämie auf dem gleichzeitigen Vorliegen von typischen Symptomen, einer niedrigen Blutglukosekonzentration und der Verbesserung der Symptomatik infolge der Anhebung der Blutglukosekonzentration (Whipple Trias) (5).

### 1.2.4 Glut-4-Transporter

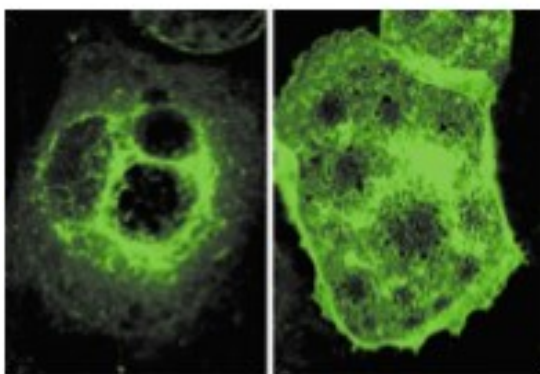
Damit Glucose in die Zellen gelangt, benötigt es einen Transportmechanismus, den sogenannten Glut-4-Transporter (Abbildung 2). Es handelt sich um ein Membranprotein, welches aus 509 Aminosäuren besteht. Es kommt vor allem in Muskelzellen und Fettzellen vor. In den Muskelzellen wird die Glukose zu Glykogen; in den Fettzellen zu Triacylglycerinen umgewandelt, es handelt sich hierbei um die jeweilige Speicherform. Der Glut-4-Transporter befindet sich auch in vielen Organellen, wie z.B. der Plasmamembran, Endosomen, dem Golgi-Apparat und anderen Vesikeln, die den Transport steuern. Wie weit die Geschwindigkeit beeinflusst wird, zeigt das Beispiel, das in nichtstimulierten Adipozyten die

Exozytoserate mit Glut-4-Transportern zehnmal langsamer ist, als die mit Transferrinrezeptoren (2,9,10).



**Abbildung 2: Insulinabhängiger Glukosetransport in Muskel- und Fettgewebe (11)**

In Abbildung 3 erkennt man die Wirkung der Glut-4-Transporter: die linke Zelle zeigt den Zustand vor der Gabe von Insulin; bei der rechten Zelle wirkten 100nM Insulin über 15 min. Mit speziellen Antikörpern, die im Besonderen mit Glut-4-Transportern agieren und mit Alexa Flour® 488 (die grüne Abfärbung), wurde mit Konfokalen Laserscannern die Interaktion von Glut4 und Insulin erst sichtbar gemacht.



**Abbildung 3: Zelluläre Wirkung von Glut-4-Transporter (12)**

## 1.2.5 Einflussfaktoren auf die Insulinwirkung

Für die Insulinwirkung sind neben den Wirkprofilen auch die Insulindosis und der Injektionsort von Bedeutung. Wird die Insulindosis erhöht, nimmt nicht nur die Stärke der Wirkung zu, sondern auch ihre Dauer. Außerdem ist die Insulinwirkung abhängig von der Durchblutung am Injektionsort (Abbildung 4) und der Liegedauer des Katheters (bei Insulinpumpen). So wird z.B. das Hormon Insulin paraumbilikal schneller aufgenommen als am Oberschenkel, was bei der Therapie mitberücksichtigt werden sollte.

Zusätzlich muss noch berücksichtigt werden, dass Wärmeeinwirkung, wie z.B. ein heißes Bad oder eine Massage die Hautdurchblutung erhöht und so zu einem schnelleren und stärkeren Wirkungsmaximum führen kann (5,13).

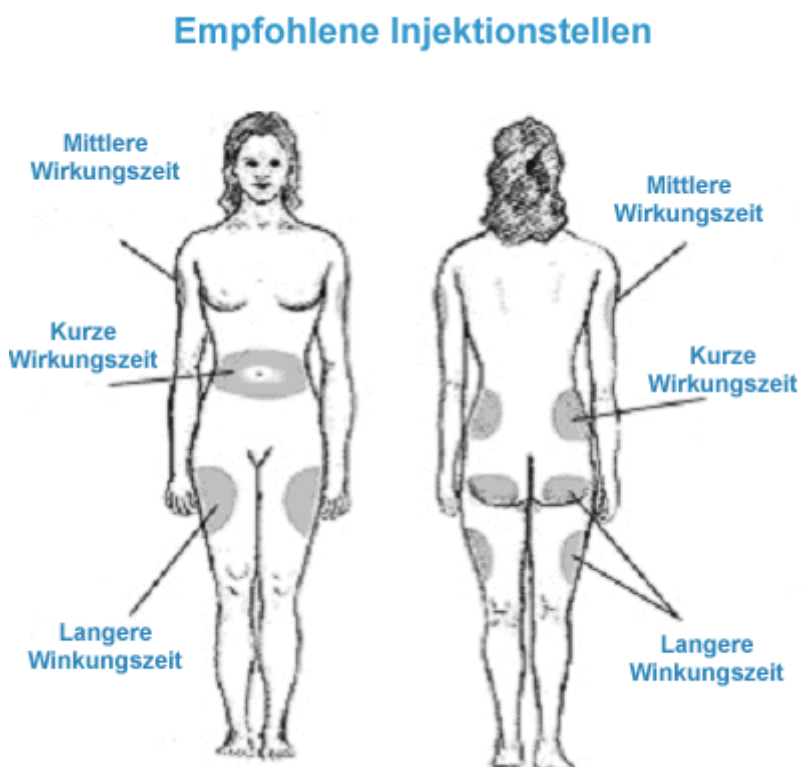


Abbildung 4: Empfohlene Injektionsstellen (14)

## 1.3 Insulinarten

Da bei Patienten mit T1D ein absoluter Insulinmangel besteht, ist sie auf die exogene Zufuhr von Insulin angewiesen, um seinen Blutzucker im Normalbereich zu halten und das Auftreten von Blutzuckerentgleisungen zu vermeiden. Die ersten Insulinversuche stammen noch aus dem 19. Jahrhundert. Zuerst verwendete man gemahlene Schweine- oder Rinderpankreas. Da aber Verdauungssäfte die Eiweißstruktur des Insulins zerstörten, musste zuerst eine Methode entwickelt werden, um das reine Extrakt zu gewinnen. Dazu wurde die fraktionierte Eiweißfällung durch hochprozentigen Alkohol gewählt. Das erste therapeutisch verwendete tierische Insulin wurde bereits im Jahre 1921 isoliert und der erste Patient im Jahre 1923 geheilt. Im selben Jahr erhielten dann Frederick Banting und Charles Best auch den Nobelpreis für Medizin für die „Entdeckung“ des Insulins. Da aber tierisch hergestelltes Insulin damals mit Verunreinigungen hergestellt wurde, und es häufig zu allergischen Reaktionen kam, wurde intensiv nach anderen Quellen zur Insulinproduktion gesucht (15-17). 1936 entwickelte in Dänemark H. C. Hagedorn das erste langwirksame Insulin. Im Jahre 1958 wurde der Nobelpreis für Medizin an Frederick Sanger für die Beschreibung des chemischen Aufbaus des Insulins vergeben. Ab diesem Zeitpunkt konnte an der Entwicklung eines synthetischen Insulins geforscht werden, was dann im Jahre 1963 auch gelang (18). Um die humane, endogene Insulinsekretion nachzuahmen, werden heute kurz- und schnellwirksame Insuline hergestellt (15,16,19).

### 1.3.1 Kurzwirksame Insuline

#### 1.3.1.1 Humaneinsulin

Humaninsulin (auch kurzwirksames Insulin genannt) hat wie der Name schon sagt, die gleiche Struktur und Aminosäuresequenz (Abbildung 5) wie das von den humanen Betazellen sezernierte Insulin. Strukturell besteht es aus einer  $\alpha$ -Kette und einer  $\beta$ -Kette mit insgesamt 51 Aminosäuren, welche wiederum mit Disulfidbrücken miteinander verbunden sind (2,15). Im Regelfall wird das Insulin präprandial und subkutan mit einer Insulinspritze oder einem Pen injiziert. In vivo gibt es einen sofortigen Wirkungseintritt des Insulins nach Sekretion aus der Betazelle. Im Gegensatz dazu, kommt es bei subkutaner Insulinverabreichung zu einem verspäteten Wirkungseintritt und Wirkmaximum (diese treten erst 30 - 60 Minuten

bzw. 2 - 3 Stunden nach Applikation ein) und einer Wirkdauer von ca. 7 Stunden (19). Dies ist dadurch bedingt, dass das Insulin als sehr großes Molekül, in einer hexameren Form, vorliegt. Nach Aufspaltung in Dimere und später Monomere, ist es für die monomere Form möglich, in die Kapillaren zu diffundieren und so über den Blutkreislauf zum Zielorgan zu gelangen. Der spätere Wirkungseintritt kann zum Auftreten von Hyperglykämien führen, da die physiologische postprandiale Blutzuckererhöhung oft zu spät vom exogen zugeführten Insulin kompensiert wird. Auch ist es möglich, dass durch verzögerte Resorption der Nahrung, es zu postprandialen Hypoglykämien kommen kann. Von der Firma Novo Nordisk stammt eines der gebräuchlichsten Insuline mit dem Namen Actrapid® (16,20).

### **1.3.1.2 Kurzwirksame Insulinanaloga**

Die kurzwirksamen Insulinanaloga sind dem humanen Insulin sehr ähnlich und werden durch gentechnologische Verfahren hergestellt. Sie unterscheiden sich vom Humaninsulin dadurch, dass die Aminosäuresequenz (Abbildung 5) verändert worden ist. Der Vorteil liegt hierbei in der verbesserten Struktur und dem rascheren Übergang vom Hexamer über das Dimer zum Monomer (19-21). Dadurch ist es möglich, die Fensterung der Kapillarwand zu durchdringen und so schneller im Blutkreislauf und am Bestimmungsort zu sein. Als Folge ist der Wirkeintritt rascher und die Wirkdauer kürzer als beim Humaninsulin, doch als Folge der Darreichungsart, immer noch langsamer als das endogen produzierte Insulin (15,16,20,22). Aktuell sind im Handel drei Insulinanaloga verfügbar: Insulin lispro, Insulin aspart und Insulin glulisin (15,16,19-22).

#### **Insulin lispro**

Insulin lispro, (Eli Lilly, Indianapolis, USA) hat eine im Gegensatz zum Humaninsulin folgendermaßen geänderte Aminosäuresequenz (Abbildung 5): die Aminosäuren Prolin und Lysin wurden in ihren Positionen (B28 und B29) in der  $\beta$ -Kette vertauscht, wodurch eine schnellere Dissoziation zu Monomeren erreicht wird und somit ein schnellerer Wirkungseintritt und eine schnellere Absorption möglich ist (15,23).

## **Insulin aspart**

Insulin aspart (Novo Nordisk, Kopenhagen, Dänemark), (Abbildung 5) hat die Primärstruktur von Insulin mit Ausnahme der  $\beta$ -Kette (20). Hier wurde auf der Position B28 die Aminosäure Prolin durch die Aminosäure Asparagin (daher die Namensgebung) ersetzt. Auch hier sind die Absorption und der Wirkungseintritt rascher als beim Humaninsulin.

## **Insulin glulisin**

Insulin glulisin (Sanofi Aventis, Paris, Frankreich) ist der Struktur von Insulin sehr ähnlich. Die  $\beta$ -Kette an der Position 3 wurde durch die AS Lysin anstatt Asparagin und an der Position 29 Glutaminsäure mit der AS Lysin ersetzt. Bei subkutaner Gabe sind die Wirkung und der Wirkeintritt schneller als bei Humaninsulin.

Alle drei gegenwärtig verfügbaren Insulinanaloga (Insulin aspart, Insulin lispro und Insulin glulisin) besitzen eine vergleichbare Pharmakodynamik und Pharmakokinetik (15,16,19-22).

## **1.3.2 Basalinsuline**

### **1.3.2.1 Langwirksame Insuline:**

Die langwirksamen Insuline (auch Verzögerungsinsuline genannt) wurden entwickelt, um die Insulintherapie zu verbessern, in dem die Wirkdauer des Insulins verlängert wurde. Dadurch sollte die Anzahl der täglichen Insulingaben verringert werden. Durch Veränderungen in der Proteinstruktur des Humaninsulins durch Zugabe von Zusatzstoffen wie z.B. Zink/Protamin ist es möglich, die Dissoziation zum Monomer zu verlangsamen und so die Wirkdauer zu verlängern (16,19).

#### **NPH (neutral protamin Hagedorn) – Insulin**

Bei diesem Insulin wurden Zink und Protamin dem Humaninsulin hinzugefügt, um eine verzögerte Wirkung zu erzielen (16). Circa 2 - 4 Stunden nach der subkutanen Injektion tritt die Wirkung ein und das Wirkmaximum ist nach 4 - 10 Stunden erreicht

(19,21). Die maximale Wirkdauer beträgt 12 - 18 Stunden. Durch dieses Wirkprofil ist es nötig, dass die Patienten zweimal täglich ihr Basalinsulin injizieren müssen (19,21).

### **1.3.2.2 Langwirksame Insulinanaloga**

#### **Insulin glargin (Lantus®)**

Insulin glargin ist unter dem Namen Lantus seit 2001 im Handel und wird von der Firma Sanofi-Aventis (Paris, Frankreich) vertrieben. Glargin hat dieselbe Primärstruktur (Abbildung 5) wie humanes Insulin aber in der  $\alpha$ -Kette wird Glycin anstelle von Asparagin an Position 21 und in der  $\beta$ -Kette besitzt es zusätzlich zwei Arginine an den Positionen 31 und 32 (15,19,21). Das Ergebnis ist, dass das Hexamer viel stärker zusammenhält als beim Humaninsulin, so dass die Resorption verlangsamt wird. Im Gegensatz zu NPH-Insulin besitzt Insulin glargin kein klar definiertes Wirkmaximum. Die Wirkung ist sehr gleichmäßig und hält 20 - 24 Stunden an. Daher ist die einmal tägliche Gabe möglich, wenn auch viele Patienten dennoch aufgrund der höheren Flexibilität bei z.B. Sport die zweimal tägliche Gabe bevorzugen (16,19,21).

#### **Insulin detemir (Levemir®)**

Insulin detemir wurde von Novo Nordisk (Kopenhagen, Dänemark) entwickelt. Es ist dem humanen Insulin ähnlich. Threonins in Position B30 der  $\beta$ -Kette wurde im Vergleich zu Humaninsulin entfernt und Molekül Myristinsäure an das Lysin in Position B29 zugefügt. Durch die Koppelung von freien Fettsäuren an das Insulinmolekül, können sich Albuminmoleküle anbinden, und die Wirkung wird verzögert. Bei einer Wirkdauer von 24 Stunden ist ebenso wie bei Insulin glargin eine einmal tägliche Applikation möglich (15,19-22).

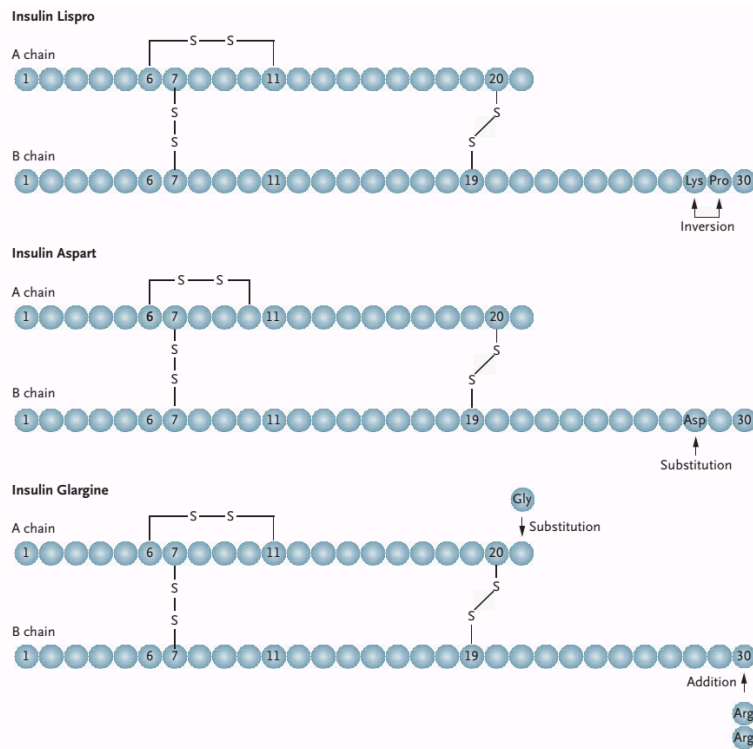


Abbildung 5: Proteinstrukturveränderung von Humaninsulin (19)

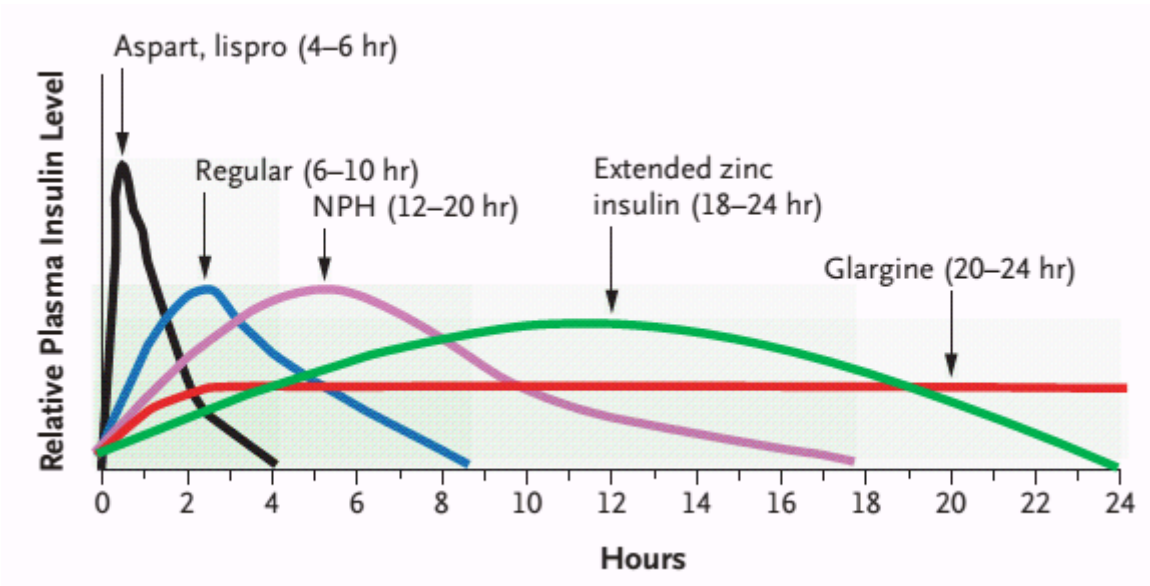


Abbildung 6: Insulinwirkungsprofile (11)

## 1.4 Insulindarreichungsformen

### 1.4.1 Multiple tägliche subkutane Insulininjektion

Damit der Blutzuckergehalt bestimmt werden kann, muss der Diabetiker Frischblut gewinnen. Dazu wird die Fingerkuppe mit einer Lanzette eingestochen, der gewonnene Blutstropfen (2 – 10 µL) entnommen und einem Messgerät zugeführt (1). Danach wird die Dosis berechnet, die der folgenden Mahlzeit, oder möglicher körperlicher Aktivität entsprechend ist (2). Da die Zusammensetzung der Mahlzeit aber immer nur geschätzt werden kann, können sich schnell Fehler in der Insulindosisberechnung einschleichen, was zu einer Hypoglykämie (bei zu hoher Dosis) oder zu einer Hyperglykämie (bei zu geringer Dosis) führen kann (1,2,19). Zusätzliche Variabilität in der Wirkung ist die Tatsache, dass das Insulin ungleichmäßig resorbiert wird und bei zeitlich unterschiedlicher Gabe, die Wirkprofile (Abbildung 8) von kurz- und langwirksamen Insulinen sich überschneiden (Abbildung 8) (24).

Da Insulin nur exogen verfügbar ist, führen Diabetiker dem Körper das notwendige Insulin durch mehrmals tägliche subkutane Injektionen zu (2,15,19,21). Diese Methode wird weltweit am häufigsten angewandt, da es sich dabei um die kostengünstigste und einfachste Methode handelt (25). Ein kurz- oder schnellwirksames Insulin z.B. Humaninsulin, Insulin lispro/aspart wird kurz vor den Mahlzeiten zugeführt, da die durch die Nahrung aufgenommene Glukose verstoffwechselt werden muss. Um den basalen Insulinbedarf (= Insulinbedarf im Fastenzustand) zu decken, erfolgt morgens und/oder abends die Gabe eines langwirksamen Insulins, z.B. NPH-Insulin, Insulin glargin oder Insulin detemir (1,2,15,20-22).

Die ersten Injektionen wurden früher mit einer Injektionsspritze verabreicht. Dieses Injektionssystem ist aber leider mit einigen Nachteilen verbunden. Zum einen, bedarf es bei jeder Injektion einer aufwändigen Vor- und Nachbereitung. In früheren Zeiten mussten die Patienten die Spritzen (diese bestanden aus Glas) und Nadeln

auskochen und mehrfach wiederverwenden, zum anderen ist der soziale Aspekt einer sichtbaren Krankheit und daraus folgender Scham nicht zu unterschätzen. Einen Fortschritt in dieser Therapie war in den 1980er Jahren die Entwicklung des Insulinpens (17). Dieses Insulinabgabegerät (Abbildung 7) ist eine Erleichterung für die Patienten. Der Pen besteht aus einer stabilen röhrenförmigen Konstruktion (daher der Name: Pen), einer dünnen Nadel an der Spitze mit angeschlossenen Reservoir, welches sich einfach austauschen lässt (17,25).

Bei der Therapie mit dem Insulinpen ist dringendst zu beachten (26):

- Weil bei der Injektion kleinste Mengen von Körperflüssigkeiten in die Kanüle und in das Reservoir gelangen können, darf der Pen nur von einer Person verwendet werden, um somit Infektionen zu vermeiden.
- Da die Kanülen bei Mehrfachverwendung beschädigt werden können wird das Gewebe traumatisiert.

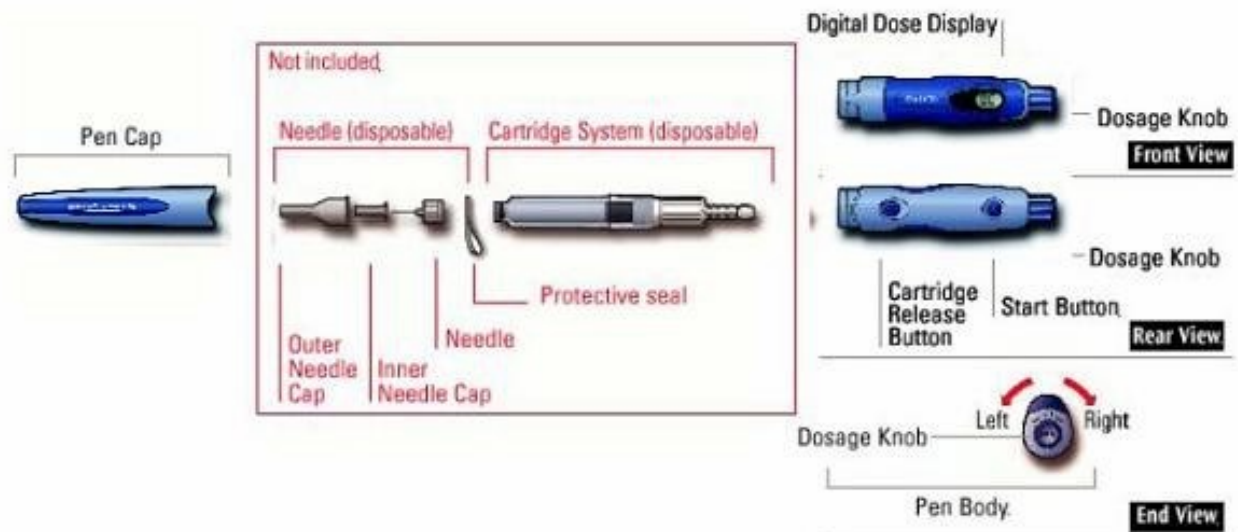


Abbildung 7: Insulinpen (27)

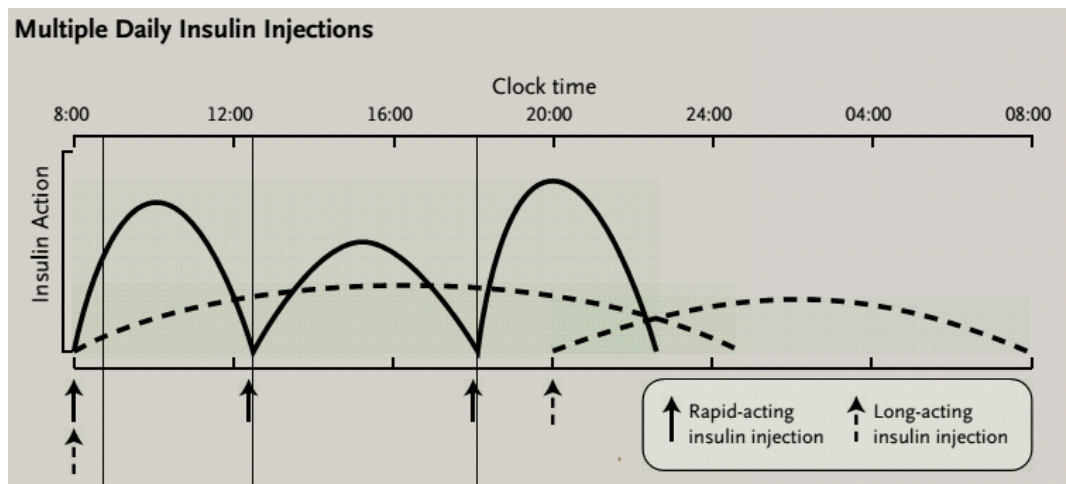


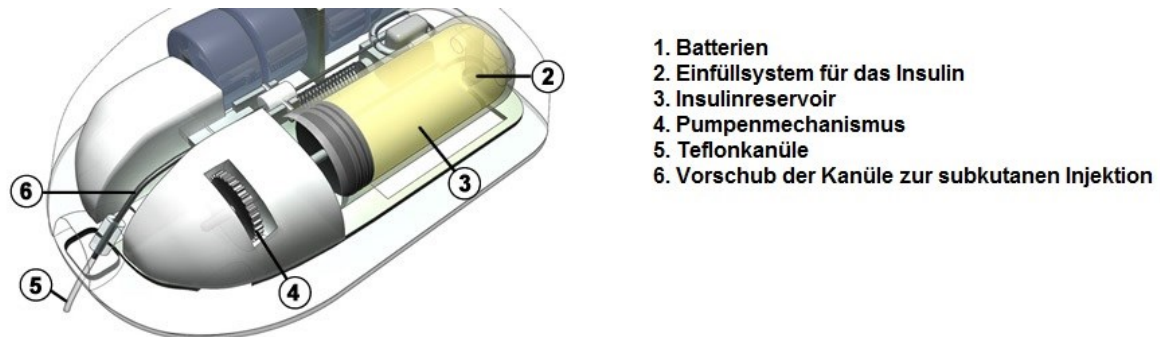
Abbildung 8: Insulinverbrauch (24)

## 1.4.2 Insulinpumpentherapie

Die Idee, auf der die Insulinpumpentherapie beruht, ist die „Continuous Subcutaneous Insulin Infusion“ (CSII). Diese Therapie wurde 1977 für Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 eingeführt (28). Die allerersten Pumpen entsprachen den technischen Gegebenheiten ihrer Zeit. So musste die erste Pumpe, auf Grund ihrer Größe, noch unhandlich auf den Rücken geschnallt werden (Abbildung 15A).

Eine moderne Insulinpumpe ist ein kleines Gerät, welches mit einem Reservoir von 200 - 300 Insulineinheiten (E) ausgestattet ist (24). Es verfügt über ein Schlauchsystem (meistens aus Kunststoff) und einer Kanüle, welche im subkutanen Fettgewebe platziert wird, um dort das Insulin zu applizieren (17,24,28). Die Lagestelle der Kanüle sollte alle 3 - 4 Tage verändert werden, um Lipodystrophien bzw. Lipohypertrophien mit damit verbundener veränderter Insulinresorption zu vermeiden (24). Heute sind mehrere Arten von modernen Pumpen erhältlich, die sich meist durch technische Spezifikationen unterscheiden. So unterscheidet man z.B. zwischen Pager- und Patchpumpen. Die Patchpumpe (Abbildung 9) ist eine Einmal-Insulinpumpe und wird wie ein Pflaster (englisch für Patch) auf die Haut des Patienten geklebt. Die Pumpe wird mittels einer Umfüllhilfe mit Insulin befüllt. Nach dem Aufkleben auf die Haut, wird durch eine Fernbedienung ein Mechanismus ausgelöst, der eine Teflonkanüle in die Haut injiziert und es wird die Führungsnadel zurückgezogen. Die Steuerung der Pumpe wird über eine Fernbedienung geregelt und die Pumpe verbleibt nun ca. drei Tage auf der Haut. Da es sich um ein gekapseltes System handelt, ist dieser Pumpentyp sehr robust und von äußeren

Einflüssen unabhängig. Daher ist die Patchpumpe sehr geeignet für Menschen die viel Sport treiben (z.B. ist Wassersport möglich) oder einer sehr körperbetonten Arbeit nachgehen. Die Kosten liegen mit 20% über dem der konventionellen Pumpentherapie(29).



**Abbildung 9: Patchpumpe (29)**

Die Pagerpumpe (Abbildung 16) ist ein kleines Gerät, das extern am Körper oder der Kleidung befestigt wird. Das Insulin gelangt über ein Schlauchsystem eines Katheters in das Unterhautfettgewebe des Patienten. Das Insulinreservoir dieses wasserresistenten kleinen Apparates wird über eine Umfüllhilfe mit Insulin befüllt. Über ein zahnradgestütztes Stempelsystem wird das Insulin über den Katheter in das subkutane Gewebe injiziert. Während die Pumpe immer an derselben Stelle verbleiben kann, wird nur die Injektionsstelle des Katheters nach 3-4 Tagen gewechselt.

Als Insulin wird heutzutage meist ein kurzwirksames Insulinanalogon verwendet (28). Bei Nahrungsaufnahme oder Blutzuckerspitzen wird zur Normalisierung des Blutglukosespiegels ein Insulinbolus abgegeben. In Fastenzuständen bzw. in der postprandialen Phase wird das Insulin mit einer zum Teil variablen, an den Tagesbedarf angepassten Basalrate abgegeben (17,24,28,30). Die Basalrate wird mit einer geringen Frequenz und Menge abgegeben und das Insulin daher auch gleichmäßiger resorbiert (Abbildung 6) (24). Bei modernen Insulinpumpen kann die Basalrate einem persönlichen Tagesprofil angepasst werden (28,30). Die Einstellungen für die persönlichen Tagesprofile sind mannigfaltig, so kann das Profil bei Krankheit bedarfsgerecht umgestellt werden; auch bei veränderten Tag/Nacht-Rhythmus wie z.B bei Schichtarbeit oder körperlichen Extremsituationen ist eine problemlose Einstellung der Pumpe, über die Gerätesoftware, jederzeit möglich. Der Bolus, welcher eine höhere Rate besitzt als die basale Rate, wird vom Patienten vor den Mahlzeiten selbst bestimmt und auf die folgende Mahlzeit (abhängig von der

Menge an zugefügten Kohlenhydraten), der aktuell gemessenen Blutglukosekonzentration und der geplanten körperlichen Aktivität angepasst (24,30). Dennoch ist es auch bei dieser Therapie notwendig, dass vom Patienten selbst Blutglukosekontrollen durchgeführt werden und die Insulindosis durch den Patienten selbst an den aktuellen Bedarf angepasst wird (z.B. veränderter ungeplanter Tagesablauf) (30).

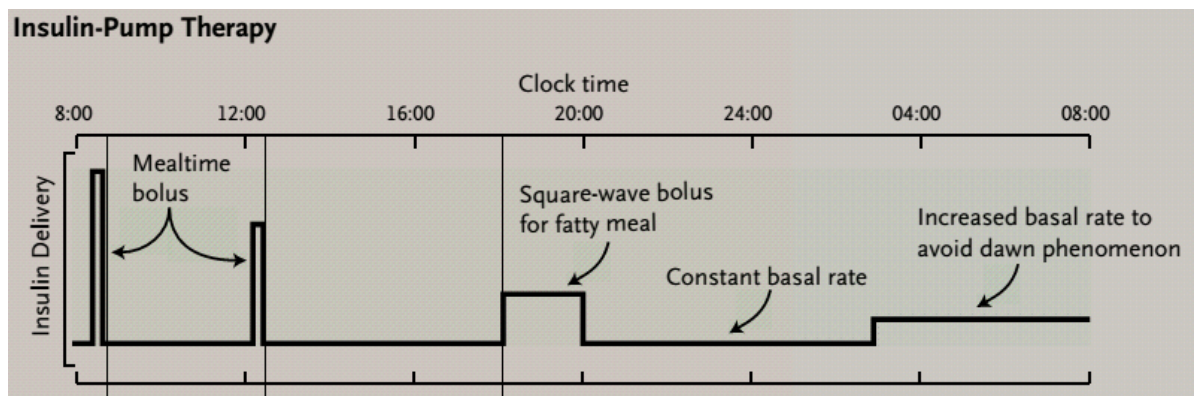


Abbildung 10: Bolusprofil (24)

## 1.5 Verbesserung der Insulintherapie bei Diabetes mellitus Typ 1

In der heutigen Zeit, ist es trotz intensiver Forschung noch nicht gelungen, eine optimale Blutzuckereinstellung bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1 zu gewährleisten.

### 1.5.1 Nachteile der aktuellen Therapien

#### Geringe Bz-Messung und damit verbundene Kontrolle:

In der Therapie mit Insulin ist eine kontinuierliche Blutzuckermessung essentiell (1,30). Die übliche Methode ist die Gewinnung eines Blutropfens aus der Fingerbeere. Dies ist natürlich nicht kontinuierlich möglich und so ist eine 24h-Messung unvollständig (31). So kann es nach den Mahlzeiten zu Hyperglykämien kommen die zu erheblichen Spätfolgen kumulieren. Polyneuropathien, Gefäßschädigungen, Fußsyndrome sind Beispiele, die zeigen, wie folgenreich die Krankheit Diabetes für Patienten sein kann. Diese Folgeerkrankungen sind zukünftig ein Teil des Problems zur Finanzierung von Gesundheitssystemen, da die daraus

erheblich resultierenden Folgekosten enorm sind. Eine weitere nicht einfach zu lösende Herausforderung ist das Dawn-Phänomen. Hier kommt es besonders nachts durch zirkadiane, kontrainsuläre Hormone (Katecholamine, Glucagon, Adrenalin etc.) zur Hyperglykämie am frühen Morgen (zwischen 4 - 8 Uhr), welche normalerweise durch eine intakte Bauchspeicheldrüse gegenreguliert wird. Eine weitere Gefahr für den nicht kontinuierlich regulierten Diabetes-Patienten, ist der Somogyi-effekt oder Rebound-Hyperglykämie: durch überschießende Gegenregulation der kontrainsulären Hormone kommt es, in der Nacht, nach einer Unterzuckerung zu einer Hyperglykämie. Hier besteht Gefahr für den Patienten, denn ein überhöhter Messwert am Morgen führt zu einer nicht benötigten Insulindosiserhöhung und so zur einer Hypoglykämiegefahr, welche erst zur Verwirrtheit, Müdigkeit Bewusstlosigkeit und sogar zum Tod führen kann (1,2,32).

#### **Hohe - oder zu niedrige Glukosespiegel durch falsch eingeschätzte Mahlzeiten:**

Eine weitere Schwierigkeit in der Therapie, ist die Abschätzung des Kohlenhydratgehaltes der Mahlzeiten, dem dann die angepasste Insulindosis folgt (1,20,30). Auch Dank der modernen Lebensmitteltechnologie ist es schwierig, den Kohlenhydratgehalt von stark verarbeitenden Lebensmitteln ohne Angabe, einwandfrei zu bestimmen. So kann es durch falsche Dosierung entweder zu Hyper- oder Hypoglykämien kommen (20).

#### **Langsame Insulinabsorption durch das Fettgewebe:**

Bei der subkutanen Injektion ist von Patient zu Patient und von Ort zu Ort eine hohe Variabilität zu beobachten, wenn nun das Insulin in das subkutane Fettgewebe injiziert wird, ist die Absorption von folgenden Faktoren abhängig (33,34):

- **Durchblutung des Fettgewebes:** Die Durchblutung des Fettgewebes beeinflusst die Absorptionsgeschwindigkeit des Insulins (33,34). Wenn sich die Durchblutung erhöht, so vergrößert sich die Austauschfläche und die Absorptionsrate steigt, weil sich die Diffusionsdistanz für das Insulin verkleinert. So kann durch äußere Einflüsse wie z.B. Wärme (Sauna, Dusche, Massage etc.) die Absorption erhöht werden, denn die Durchblutung des Fettgewebes beträgt nur 0,25-0,30 ml/min/g und ist somit viel geringer als die

des Pankreas. Im Umkehrschluss reduziert Kälte (Winter oder starker Wind im Sommer bei leichter Kleidung) die Absorptionsgeschwindigkeit (33,35,36).

- **Verteilung des Insulins im Fettgewebe:** Wenn sich das Insulin über eine große Fläche verteilt, dann wird es schneller absorbiert, weil sich in der großen Fläche viele Kapillaren befinden, die die Aufnahme in den Blutkreislauf erhöhen und so verbessern (34-36).
- **Struktur der Kapillaren im Fettgewebe:** Um die Adipozyten befindet sich ein dichtes Kapillarnetz, welches mit einer dicken Membran versehen ist (37). Denn im Gegensatz zum Pankreas, besitzt das Kapillarnetz des Fettgewebes, nur ein kontinuierliches Endothel (kleine Poren mit 2-5 nm im Durchmesser). Es bildet so ein Absorptions- und Diffusionshindernis, welches die Resorptionsgeschwindigkeit reduziert. Denn um durch diese kleinen Poren zu gelangen, muss das Insulin zu sehr kleinen Molekülen dissoziieren (Monomeren) (35,36).
- **Insulinkonzentration:** Bei einer hohen Insulinkonzentration werden vermehrt Hexamere gebildet, die erst zu Monomeren weiter dissoziieren, um danach durch die kleinen Poren des Endothels zu gelangen. Je mehr Hexamere existieren, desto länger benötigt das Insulin um in den Blutkreislauf zu gelangen (34,35).

## 1.6 Mögliche Verbesserung der Insulintherapie mittels neuartiger Methoden

Wie vorher gezeigt wurde, ist eine präzise, kausale Therapie wichtig um die möglichen Folgeschäden des Diabetes abzumildern oder ganz zu verhindern. In dessen Folge hat die Industrie neue Methoden und Wege entwickelt, um die Krankheit zu bekämpfen.

## 1.6.1 Modifikation des Insulinmoleküls

- **Ultra-langwirksame Insuline:** In Moment liegt die Wirkungsdauer für Insuline bei 24 Std. so muss der Patient einmal am Tag seine Insulindosis (Pen) injizieren. Es ist jedoch angenehmer für den Patienten, weniger Kontakt mit der Pen-Nadel zu haben. Daher wäre es wünschenswert, ein Insulin zu Verfügung zu haben, das mehrere Tage wirkt. Mit dem Insulin Degludec kommt man dieser Idee schon ein wenig näher. Durch ein gentechnisches Verfahren ist es möglich, dass sich nach s.c. Injektion das Insulin in Multihexamere verändert und so die Dissoziation zum Monomeren mehr Zeit benötigt. Die Wirkdauer ist mit 42 Std. fast doppelt so lang wie beim herkömmlichen langwirksamen Insulin (Detemir/Glargin→24 Std.). In den USA hat die FDA das Mittel im November 2012 zugelassen und die europäische Kommission seit Januar 2013 (25,38).
- **Ultra-schnelle Insuline:** Auch hier zeigt sich noch Handlungsbedarf, um die physiologische Insulinsekretion beim Gesunden zu imitieren. Eine Injektion/Sofortwirkung wäre wünschenswert. Mit Linjeta (VIAject®) ist bald ein neues Präparat am Markt, welches einen neutralen pH-Wert besitzt, da ein niedriger pH-Wert zu Schmerzen bei der Injektion und zu Irritationen führt. Leider ist Linjeta noch nicht zugelassen(25,39).

## 1.6.2 Verbesserung in der Verabreichung

Mit den heutigen Methoden ist es noch nicht möglich die physiologischen Verhältnisse zu imitieren. Injektionen mit Pen und Fusionen mit Pumpe sind immer noch z. T. technisch aufwendig, schmerzhaft und teuer. Deshalb wird versucht, mittels neuer Verabreichungsformen, die Therapie so angenehm und schmerzfrei (und auch kostengünstiger) zu machen. Es wird ein Ort gesucht, der schnell, einfach zugänglich und gut vaskularisiert wird.

### 1.6.2.1 Alternative Orte der Applikation

- **Intraperitoneale Insulinabgabe:** Mit diesem Portsystem wird in den intraperitonealen Raum ein Katheder mittels Pumpe verbunden. Der Katheder hat Kontakt zum Pfortadersystem und kann somit schnell Insulin applizieren. Die Geschwindigkeit ist dem s.c. System in physiologischer Weise überlegen, da hier

die endogene Insulinabgabe nachgeahmt wird. Dieser Weg ist aber durch operative Risiken wie z.B. Infektionen, Narkose, Dislokationen etc. einer Verbreitung versperrt (40-42).

- **Orale Insulinabgabe:** Als einfachste Form in der Applikation gedacht, stellt die orale Insulintherapie, auf der Galenikseite, vor großen Herausforderungen. Da Insulin ein Protein ist, stellen Verdauungsenzyme wie Speichel oder Magensaft ein Problem dar. Um einer Vorverdauung vorzubeugen, könnten Trägerstoffe entwickelt werden, die auf Nanotechnologie basieren. Hierbei werden Polymere zu Nanoteilchen geformt, die das Insulin umhüllen, z.B. IN-105 der Firma Biocon (25).
- **Bukkale/sublinguale Insulinabgabe:** Die Mundschleimhaut ist ein einfach zu erreichendes, großes und gut versorgtes Gewebe. Mit einem Spray (z.B. Oralin), könnte man die Insulintherapie vereinfachen. Leider ist das dicke und mehrschichtige Plattenepithel der Mukosa eine Barriere, die schwer zu überwinden ist. Die permanente Salivation des Mundraumes verringert die Effektivität zusätzlich (15,25).
- **Rektale Insulingabe:** Bei der rektalen Gabe könnten Zäpfchen oder Kapseln verwendet werden. Da die Absorption des Insulins nicht konstant ist, von Krankheiten (z.B. Durchfällen) manipuliert werden kann und diese Darreichungsform von vielen Patienten abgelehnt wird, ist diese Gabe schwer zu argumentieren (15).
- **Intranasale Insulingabe:** Da die nasale Mukosa gut vaskularisiert wird, ist die Nase, die auch gut erreichbar ist, ein hervorragender Ort um Medikamente zu applizieren. Für langwirksame Medikamente kann dies der Fall sein, für eine schnelle Wirkung bei Hyperglykämie ist dieser Ort aber nicht optimal. Das liegt zum einen am mukozillären Transport und zum anderen an der niedrigen Permeabilität der Mukosa (15).
- **Pulmonale Insulingabe:** Die Lunge bietet mit Ihrer großen Resorptionsfläche eine gute Möglichkeit der Applikation. In der Asthmatherapie werden schon seit langem Pulver und Aerosole mit einem Inhalator oder Zerstäuber appliziert. Die Bioverfügbarkeit und schneller First-Past-Effekt sind aber gering, denn es ist schwierig die gewünschte Substanz in die Alveolen und somit zum Blutaustausch zu bekommen. Hindernisse wie z.B. Asthma, COPD, Nikotinabusus können den Zugang und die Austauschfläche zum Negativen verändern. Studien mit Exubera

oder AIR-Insulin zeigten keinen Benefit dieser Darreichungsform gegenüber hergebrachten mit schnell wirksamen Insulin (3,15,25).

### 1.6.2.2 Modifizierte subkutane Darreichungsformen

**Jet Injektion:** Eine Injektion ohne Nadel (Abbildung 11)! Das Insulin wird mit einem Injektor mit hoher Geschwindigkeit und Kraft in das subkutane Gewebe gespritzt, dadurch kann es sich tief und über eine große Fläche verteilen und so mit vielen Kapillaren in Kontakt treten, was die Resorption verbessert (43).

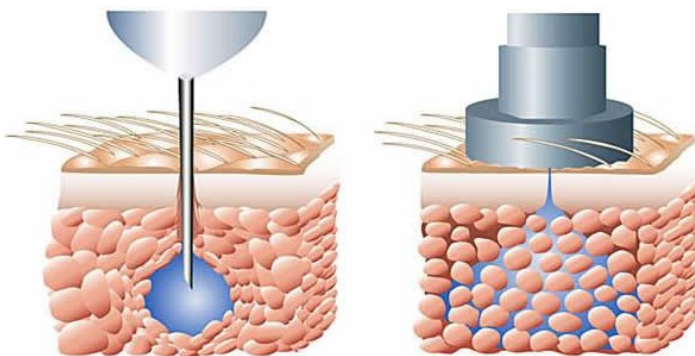


Abbildung 11: Jet Injektion (43)

**Microneedle:** Mit dieser transdermalen Methode, wird das Insulin in die obersten Hautschichten (Abbildung 12) verabreicht. Da hier keine Nervenendigungen sitzen, ist dieser Prozess nahezu schmerzlos. Es handelt sich hierbei um eine Platte mit einem Chip der 200 - 300 Mikronadeln, die mit Insulin gefüllt sind, steuert. Da die Microneedles sehr fein sind, können sie durch das dicke Gewebe beschädigt und so unbrauchbar werden (25,44,45).

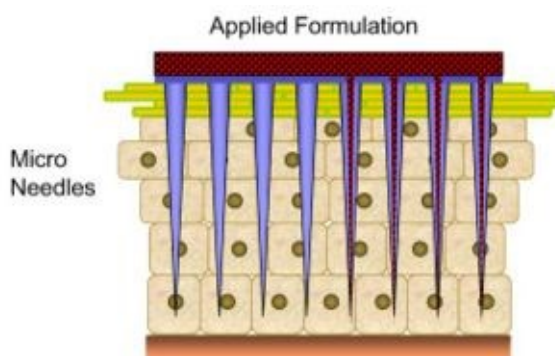


Abbildung 12: Microneedle (46)

**Sprinkler Needle:** In Gegensatz zur herkömmlichen Injektionsnadel (Abbildung 13 (47)) ist bei der Sprinkler Needle die Spitze nicht geöffnet, sondern verschlossen. Die Öffnungen befinden sich am Schaft der Nadel, dadurch kann das Insulin breiter und homogener in das Gewebe appliziert und so schneller aufgenommen werden, was für eine schnelle Insulinabsorbtion bei Hyperglykämie entscheidend ist (48).

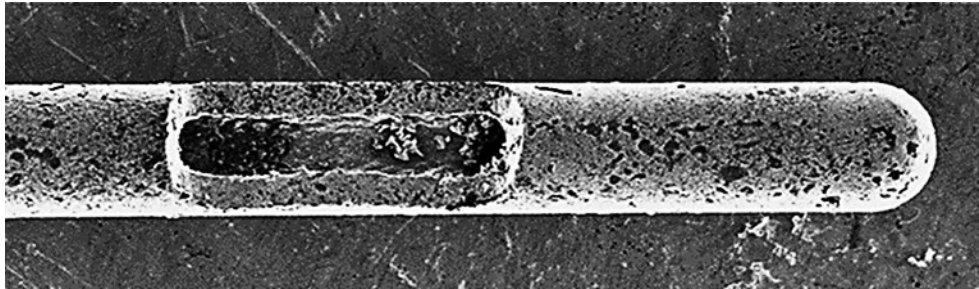


Abbildung 13: Sprinkler Needle (47)

**Insulinpumpe: Verwendung unterschiedlicher Boluslängen:** Dieser Punkt ist die treibende Kraft, die hinter dieser Diplomarbeit steht. Mit dem Pumpensystem wird das Insulin, welches in einem Reservoir lagert, über eine Kanüle (Abbildung 14) in der Haut, in das subkutane Fettgewebe mit einer Nadel injiziert. Die Kanüle ist über einem dünnen Kunststoffschlauch mit dem Reservoir der Pumpe verbunden. Die Pumpe (Abbildung 14) verfügt über einen programmierbaren Computer der über unterschiedliche Bolus-Modi verfügt. Präprandial wird das Insulin mit einem hohen Bolus und während der Abendstunden mit niedrigen Raten abgegeben. Die Boluslänge ist vom Patienten und vom Pumpenmodel abhängig (24,28,30).

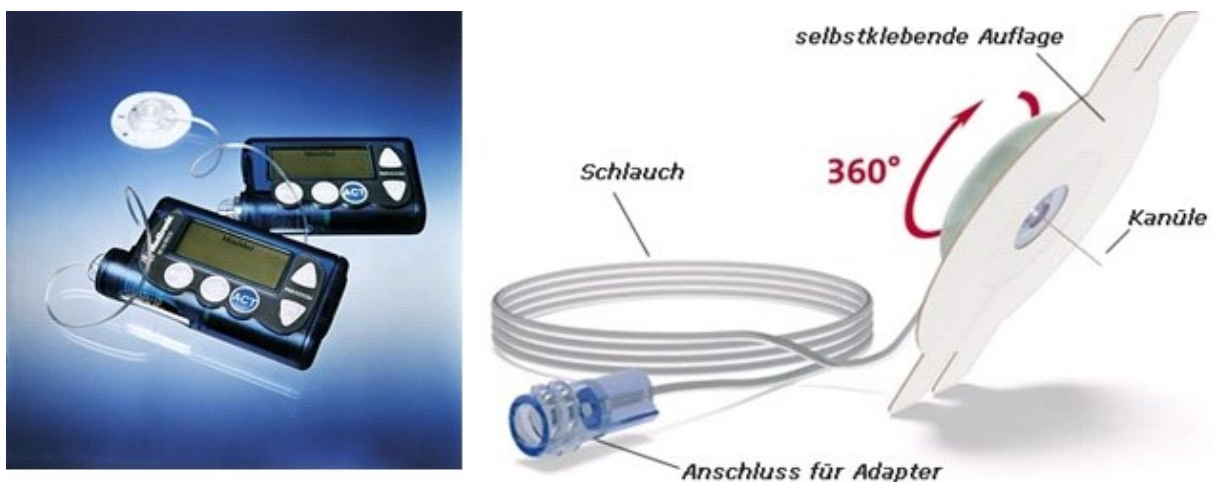


Abbildung 14: Insulinpumpen mit Kanüle (49,50)

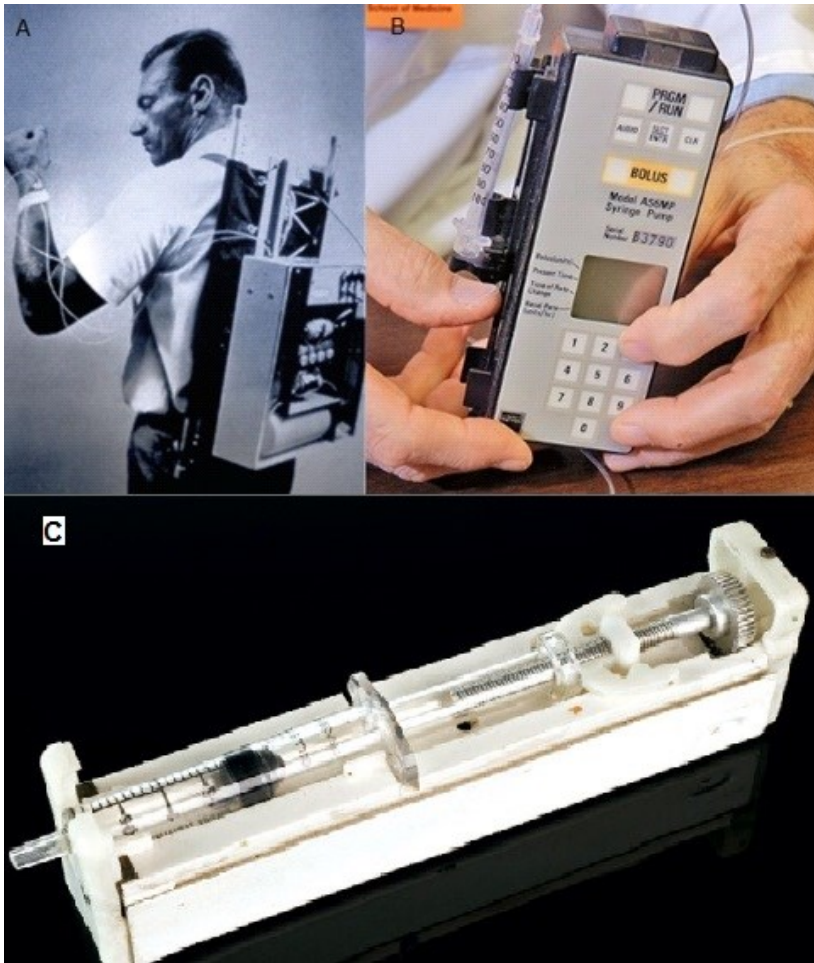
Beispiel:

- Firma: Animas (Abbildung 28)  
Bolus: 2 Internationale Einheiten (IE) in 2 Sek.(10-20 IE  $\leq$  1 Min.)
- Firma: Medtronic (Abbildung 27)  
Bolus: 1 IE in 40 Sek. (10-20 IE  $\geq$  10 Min.)

Es wurde nach unserem Wissen noch keine Studie durchgeführt, bei dem kurzwirksames Insulin, moderne Pumpen und unterschiedliche Boluslängen verglichen wurden, wobei unser Fokus auf der unterschiedlichen Boluslänge lag. Die *Pharmakodynamik* und die *Pharmakokinetik* schnellwirksamen Insulins, wurden im Rahmen des, mit EU-Geldern geförderten AP@Home-Projektes, untersucht.

## 1.7 Die Insulinpumpe

Die Geschichte der Insulinpumpe beginnt Ende der 1970er Jahre (Abbildung 15A). Die Therapie-Ideen bestanden aus großen subkutanen Dosierungen um kontinuierlich geringe Mengen an Insulin intravenös zu applizieren. Dies führte im schlimmsten Falle zu Sepsis und Thrombosen an den Einstichstellen. Im Jahre 1976 versuchten sich Pickup et al. an einer kontinuierlichen subkutanen Insulininfusion (CSII), so wie wir sie heute kennen. Mit einer neu entwickelten Insulinpumpe dem „Mill Hill Infusor“ (Abbildung 15C) versuchte man den Problemen Herr zu werden. Mit groben Einstellungen konnten einerseits ein kontinuierlicher Bolus und zusätzlich ein Individueller Bolus initiiert werden. Da jedoch die Geschwindigkeit der Basalrate konstant blieb, musste mit Kochsalzlösung nachjustiert werden. Das Setzen und Wechseln des Katheters, welcher nur mit einem Pflaster fixiert wurde, musste unter sterilen Bedingungen (ärztliche Handlung) vonstattengehen, um einer Infektion vorzubeugen. In den 80er Jahren (Abbildung 15B) kamen dann Pumpen hinzu, die einen RAM-Speicher besaßen, so musste nicht jeden Abend die individuelle Insulinrate neu eingestellt werden (50). In den folgenden Jahren führte die Computerisierung und Miniaturisierung dazu, das moderne, robuste, präzise Pumpen einfach in der Handhabung sind, damit sie einfach ein Teil im Patientenleben werden.



**Abbildung 15: Pumpengenerationen (50-52)**

Die heutigen Pumpen sind elektronisch betrieben und werden außen am Körper des Patienten getragen. Der Strom wird über eine Batterie und das Insulin über eine Ampulle zugeführt. Die Ampullen können schon vorgefüllt erworben oder selbst befüllt werden. Das Infusionsset geleitet das Insulin in das subkutane Gewebe und verbleibt bis zu vier Tage am Patienten. Die Funktionsweise ist folgende (53):

1. Der elektrische Motor bewegt über ein Getriebe einen Stempel in der Insulinampulle, welcher auf die Ampullenöffnung gerichtet ist.
2. Im Display sind Uhrzeit, Bolusgröße und - Abgabe zu sehen
3. Ampulle bevorratet das Insulin
4. Batterie versorgt die gesamte Pumpe mit Energie
5. Adapter (Luer-Anschluss oder ähnlich) verbindet das Infusionsset mit dem Insulintank
6. Katheterkupplung, hier kann die Pumpe vorübergehend entfernt werden
7. Kanüle mit Katheter zur subkutanen Insulininfusion
8. Bedienungstasten zur Programmierung und Steuerung der Pumpe (53)

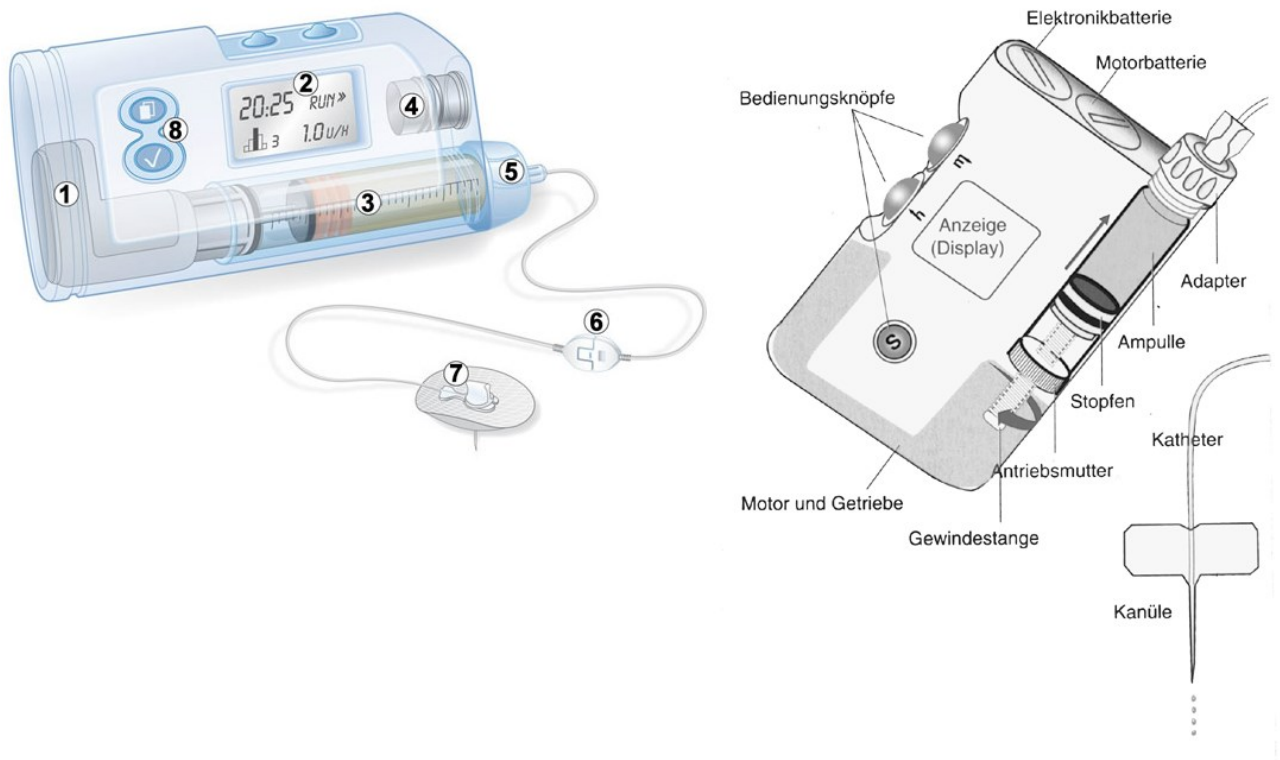


Abbildung 16: Pagerpumpe im Querschnitt (43,54)

## 1.8 Methoden zur Insulinabsorptionsbestimmung

Damit Insulin nach einer subkutanen Gabe gemessen und bestimmt werden kann, haben sich drei Methoden etabliert:

1. Nach Injektion eines radioaktiv markierten Tracers (Insulin), kann durch Messung der Radioaktivitätsabnahme im Bereich der Injektionsstelle die Insulinabsorption bestimmt werden. Die Injektion erfolgt subkutan mit radioaktivem Jod ( $^{125}\text{I}$ ), die durch den radioaktiven Zerfall emittierte  $\gamma$ -Strahlung wird durch eine Gamma-Kamera aufgezeichnet (36).
2. Pharmakodynamische Wirkung des Insulins auf die Blutglukose: Nach einer Insulingabe sinkt der Blutglukosespiegel (metabolischer Effekt). Nun kann die Insulinabsorption geschätzt werden, wobei zur Vorbeugung einer Hypoglykämie entweder standardisierte Mengen Kohlenhydrate (75g, oraler Glukosetoleranztest – oGTT), oder ein standardisiertes Essen gegeben wird. Eine bessere Möglichkeit ist der Clamp-Test. Hier wird der abfallende Glukosespiegel mit einer angepassten Glukoseinfusionsrate entweder

konstant gehalten (euglykämischer Clamp), oder es wird mit erhöhter Blutglukose gemessen (hypoglykämischer Clamp) (33-36).

3. Pharmakokinetische Wirkung des Insulins auf den Körper: Da man nicht das körpereigene Insulin vom extern zugeführten Insulin messtechnisch unterscheiden kann, müssen vor der Messung Vorbereitungen getroffen werden, da sich sonst die Messergebnisse kumulativ verändern würden. Entweder, der Proband besitzt keine endogene Insulinproduktion (C-Peptid negativ) oder die endogene Produktion wird unterdrückt (33). Eine weitere Möglichkeit die Messergebnisse zu verbessern ist die Verwendung von nichtendogenen Insulin (Insulinanaloga) oder das Einbeziehen der Insulinclearance, da bei konstanter Clearance die Insulinplasmakonzentration von der Insulinabsorption im subkutanen Fettgewebe abhängt (35).

## **1.9 Methode zur Bestimmung der Pharmakodynamik**

Es haben sich im Laufe der Zeit viele Methoden etabliert, um die Wirkung des Insulins auf die Blutglukose nachzuweisen und zu dokumentieren. Zum einen kann die Insulinwirkung durch die Messung des Abfalls des Glukosespiegels nach der Insulingabe abgeschätzt werden („Metabolischer Effekt“). Die Methode allerdings, die sich als Goldstandard durchgesetzt hat, ist der Glukose-Clamp. Bei dieser Methode wird der Glukosespiegel durch eine Glukoselösung, welche intravenös gegeben und variabel sein kann, auf normalen Niveau gehalten (100 mg/dl). Verändert sich nun das Glukosebedürfnis durch die Anwesenheit von Insulin, so kann aus der erhöhten Gabe von Glukose, die Wirkung des Insulins auf den Glukosemetabolismus errechnet werden; hier wird die Fähigkeit des Insulins ausgenutzt, die Glukoseaufnahme des Körpers zu erhöhen und die körpereigene Glukoseproduktion (aus Leber und Nieren) zu reduzieren (55,56).

## 1.9.1 Prinzipien des euglykämischen Glukose-Clamp

Der Glukose-Clamp (Abbildung 18) wurde 1966 von Andres et. al entwickelt und 1979 von deFronzo et. al weiterentwickelt. Nach einer Nacht im Fastenzustand, wird das Insulin mit einer konstanten Rate von 5 - 120 mU/m<sup>2</sup>/min (Dosis pro Körperoberfläche pro Minute) zugeführt. Diese konstante Insulininfusion führt zu einem neuen steady-state Insulinspiegel, der über dem Nüchternspiegel liegt (hyperinsulinämisch). Als Folge wird die Glukose in der Skelettmuskulatur und im Fettgewebe erhöht, während die eigene Glykogenproduktion unterdrückt wird. Unter diesen Bedingungen wird ein bettseitiger Glukoseanalysator verwendet, um den Blutzuckerspiegel zu überwachen. Es sind 5 - 10 min Abstände, während 20% Dextrose intravenös verabreicht wird, um die Blutzuckerkonzentration im Normalbereich (euglykämisch) zu halten. Eine Infusion mit Kaliumphosphat wird zusätzlich gegeben, um eine Hypokaliämie, verursacht durch eine Hyperinsulinämie durch zusätzlich erhöhte Glukose, zu verhindern (55).

Im normalen Zustand (2mg Glu/kg/min) erzeugen die Leber 95% und die Nieren 5% der Blutglukose, diese wird dann zu 50 % vom ZNS 20% vom GIT und zu 15% vom Skelettmuskelt verbraucht (die restlichen 15% verbrauchen die restlichen Körperanteile); wird jedoch die Glukosezufuhr erhöht (7mg Glu/kg/min) so reduziert sich der körpereigenen Glukoseproduktion auf 5% und der Glukoseverbrauch verändert sich zu: 85% Skelettmuskel und 15% die restlichen Körperanteile! Hier zeigt sich die Insulinsensitivität des Skelettmuskels, da das Insulin, über den Glut-4-Transporter, die Glukose in die Zellen befördert. Unter diesen Voraussetzungen läuft der euglykämische Glukose-Clamp. Da der endogene Glukoseproduktionsanteil unterdrückt wird, ist die Glukose, die zugeführt wird, diejenige, die verbraucht wird. (Pharmakodynamik = die Wirkung des Insulins auf den Körper). Da aber die Plasmaglukosekonzentration nie perfekt konstant ist, müssen Korrekturen vorgenommen werden. DeFronzo nannte diesen Korrekturfaktor: „Space Correction“ (Abbildung 17), da das Nachjustieren der GIR durch Veränderungen der Glykämie und nicht durch den Glukoseverbrauch entstanden. Um die Plasmaglukose zu gewinnen, wird eine Extremität, von der das Vollblut entnommen wird, mit einer Wärmeschicht umgeben (entweder durch eine „Heatbox“ oder wie in unserm Fall mit einer Wärmedecke, wie in Abbildung 22 sehr gut zu erkennen ist.). Die Wärme ist deswegen notwendig, um eine Umgebung zu schaffen, in der im venösen System

nahezu, was die Blutglukosewerte angeht, arteriell ähnliche Zustände herrschen (57,58).

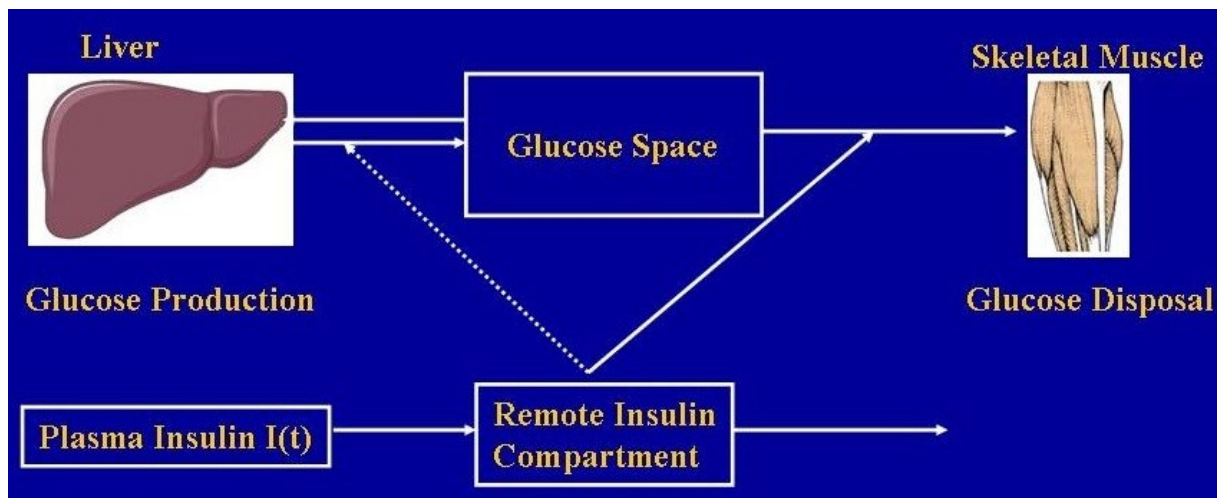


Abbildung 17: Glukose "Space" (59)

$M$  (Metabolisierung) =  $GIR$  (Glukoseinfusionsrate) –  $SC$  („Space Correction“) –  $UC$  (urinaler Glukoseverlust)

1998 (57) wurde der Faktor „M“ standardisiert:

1. Für das Körpergewicht ( $M_{bw}$ )
2. Freie Fettmasse ( $M_{ffm}$ )
3. Rate zur Ruheenergie ( $M_{ree}$ )
4. Insulinkonzentration während des Clamps ( $M_i$ )

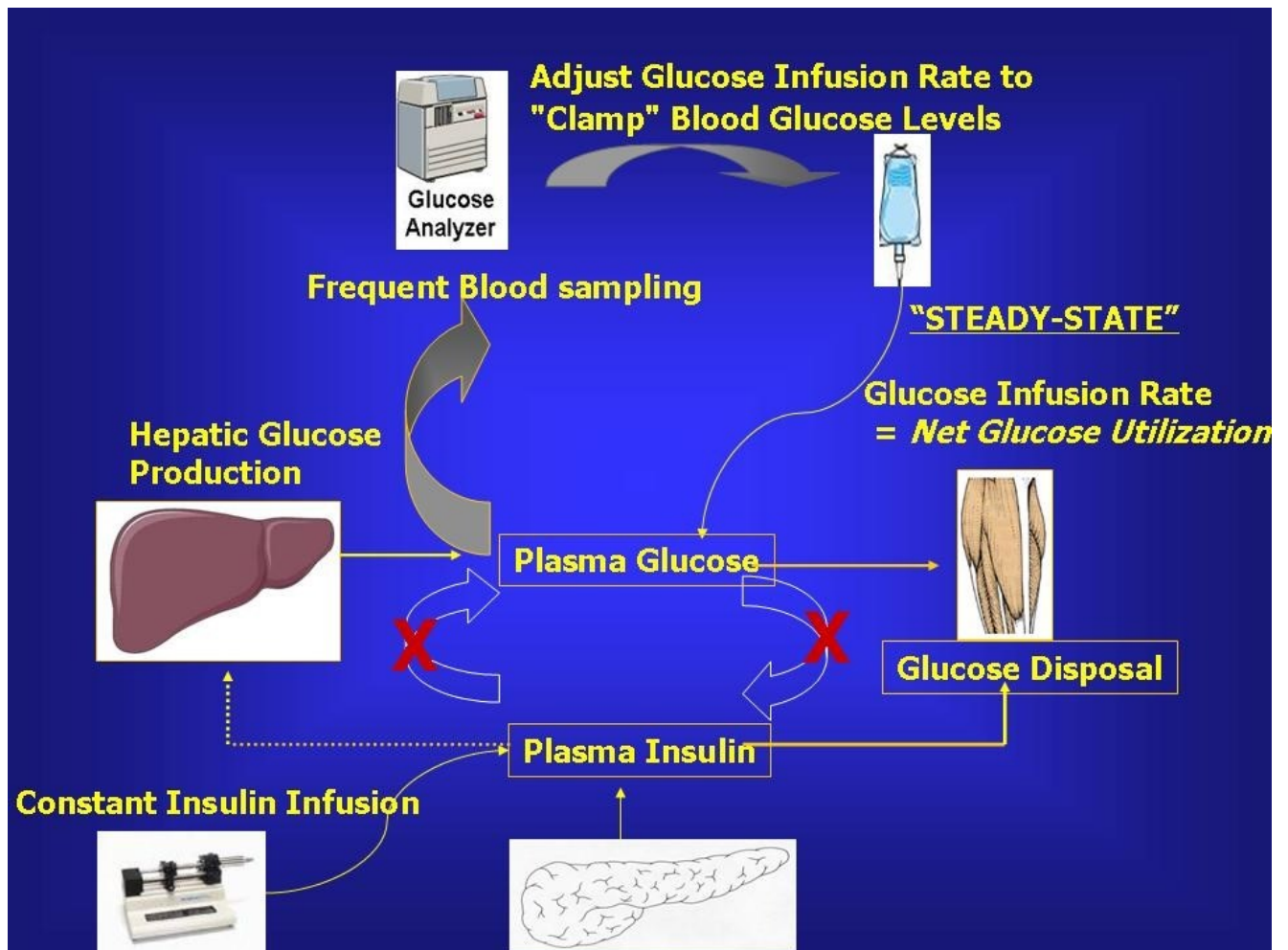


Abbildung 18: Euglykämischer Clamp (59)

## 1.10 Ziele dieser Diplomarbeit

Diese Diplomarbeit fokussiert sich auf die Pharmakodynamik des schnellwirksamen Insulins, mit der Hilfe der Clamp-Technik. Diese Clampexperimente wurden mit Typ-1-Diabetikern durchgeführt und anschließend wurden die Daten der statistischen Auswertung durch Computer und Software bearbeitet.

## **2. Methoden**

Um die Pharmakodynamik schnellwirksamen Insulins zu bestimmen wurden mit 20 Typ-1-Diabetikern Clampexperimente durchgeführt. Das Studienprotokoll soll dies dokumentieren:

### **2.1 Studienprotokoll**

#### **2.1.1 Ablauf der klinischen Studie**

In dieser Studie wurden bei 20 Typ-1-Diabetikern, am Zentrum für medizinische Grundlagenforschung (ZMF) der Medizinischen Universität Graz, die Pharmakodynamik und die Pharmakokinetik von subkutanen verabreichten Insulin Lispro getestet. Es handelt sich um eine monozentrische, randomisierte, kontrollierte Cross-over Studie, mit einer Einschlussuntersuchung, zwei Clampvisiten (Studienvisiten) und einer Nachuntersuchung. Die achtstündigen Clampvisiten wurden an jeweils zwei separaten Tagen durchgeführt. Zuerst wurde der Blutglukosewert langsam auf 100mg/dl, mithilfe einer intravenösen Insulininfusion (Humaninsulin/Actrapid®), gebracht. Danach erhielten die Probanden (randomisiert) einmalig einen Bolus von 15 IE Insulin Lispro, der entweder als schneller Bolus (30 Sek. mit einer Animas IR 2020), oder als langsamer Bolus (10 min. mit einer Medtronic Minimed Paradigm 512) verabreicht wurde. Um den Blutzucker für den Glukose-Clamp, nach der Bolusgabe, im Normbereich zu halten wurde eine variable Glucoseinfusion verwendet.

#### **2.1.2 Einschlussuntersuchung**

Bei der Einschlussuntersuchung wurde festgestellt, ob die Probanden den körperlichen Voraussetzungen der Studie entsprachen. Zuerst erfolgte eine ausführliche Beschreibung der Studie (Studiendesign, Ablauf etc.) und anstehende Fragen wurden ausführlich beantwortet. Die Einverständniserklärung erfolgte schriftlich. Bei der körperlichen Untersuchung wurden die körperlichen

Voraussetzungen überprüft, hierzu zählten: Blutdruck, Herzfrequenz, EKG, Körpertemperatur, Alkohol, mögliche Schwangerschaften bei Frauen, etc. Als weiterer Parameter, zum möglichen Studienausschluss, wurden den Probanden Blut und Harn entnommen, um die studienrelevanten Veränderungen zu protokollieren: C-Peptid, HbA<sub>1c</sub>, Hepatitis B und C, HIV etc.

### **Einschlusskriterien:**

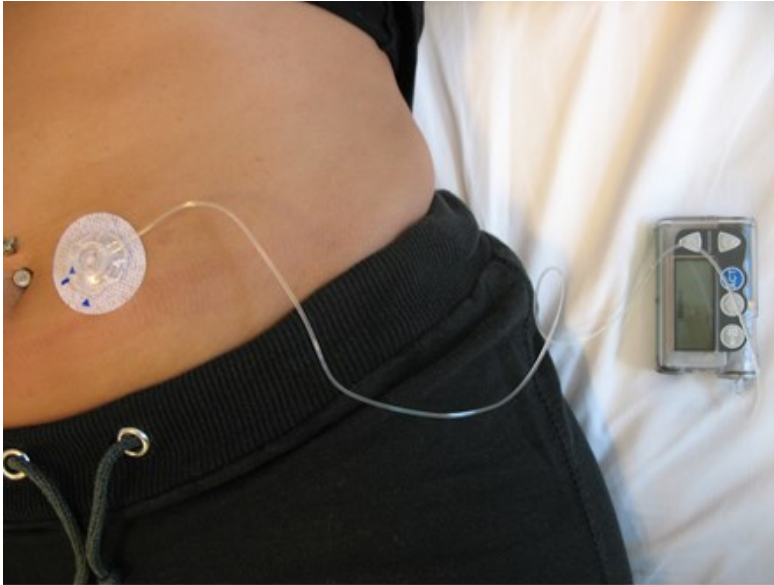
- Alter: 18 - 60 (beide Geschlechter)
- Erfolgreiche Insulinbehandlung mit täglicher s.c. Injektion /oder eine seit min. 12 Monaten funktionierender Insulinpumpentherapie
- Nüchtern C-Peptid  $\leq 0.3$  nmol/L
- HbA<sub>1c</sub>  $\leq 10\%$
- Body Mass Index (BMI) 20 - 30 kg/m<sup>2</sup>

### **Ausschlusskriterien:**

- Akute oder chronische Erkrankung
- Hautveränderungen an definierten Stellen (späterer Injektionsort)
- Verwendung von Insulin lispro länger als zwei Wochen
- Schwangere und/oder stillende Frauen
- Kortikosteroide, MAO-Hemmer, nicht selektive  $\beta$ -Blocker, Wachstumshormone, Schilddrüsenhormone, Vitamine (in hohen Dosen/keine Routine – länger als drei Monate eingenommen), Alkohol- und Drogenabusus (nachgewiesen!), Nikotinabusus  $\geq 5$  Zigaretten pro Tag, Teilnahme parallel an anderen Studien, positive Blutungsanamnese und Lipodystrophien.
- Keine schwere Arbeit und keine starken Hypoglykämien 24 Std. vor den Clamp-Visiten
- Nüchtern am Studientag – keine Nahrungs- und Getränkeaufnahme (außer Wasser) später als 22 Uhr am Vorabend der Studienvisite
- 43 Std. vor der Clampvisite keine Injektionen mit einem langwirksamen Insulin (Glargin/Determir)
- 19 Std. vor der Clampvisite keine Injektionen mit NPH-Insulinen
- Zwischen 22 Uhr und 3 Uhr Nachts vor der Clampvisite, kein kurzwirksames Insulin

### 2.1.3 Erste Clampvisite

Die Probanden erschienen morgens nüchtern um 7 Uhr im Studienzentrum. Jedem Probanden wurde zu Beginn eine intravenöse Verweilkanüle in jeden Arm gelegt: ein Arm für die Blutentnahme (Messung der Glucose und Insulinspiegel) und der andere Arm für die Insulininfusion (Humaninsulin, Actrapid, Novo Nordisk). Der Arm, an dem die Blutentnahme stattfand, wurde mit Wärmedecken gelagert, um hier arterialisiertes Venenblut zu gewinnen. Nach dem Legen des Zuganges, wurde die intravenöse Insulininfusion mit Actrapid® gestartet. Nun wurden in regelmäßigen Abständen die Plasmaglukosewerte gemessen, denn an ihnen orientierte sich die Insulininfusionsrate. Zehn Minuten vor  $t=0$  wurde die Infusionsrate auf 75% und fünf Minuten vor  $t=0$  auf 50% der ursprünglichen Infusionsrate gesenkt; während der Bolusgabe, wurde sie abgeschaltet. Hatte der Glukosespiegel länger als eine Stunde einen konstanten Wert gehalten, konnte mit der eigentlichen Studienmedikation begonnen werden. Mit einer Pumpe wurden 15 IE Insulin Lispro paraumbilical und subkutan über eine Kanüle appliziert. Hierbei wurden zwei Pumpen von zwei unterschiedlichen Herstellern verwendet. Dies ist wichtig, denn jede Pumpe besitzt ihre eigene Applikationsgeschwindigkeit. Für die kurzen (30 Sek.) Boli verwendeten wir die Pumpe Animas IR 2020 der Firma Animas (Abbildung 20), für die langen Boli die Pumpe Paradigm 512 der Firma Medtronic Minimed (Abbildung 19). Die Reihenfolge wurde randomisiert gewählt. Dies war der Startpunkt für unsere Clamp-Untersuchung. Sobald der Blutzucker 5 mg/dl unter dem gewünschten basalen Wert (100 mg/dl) gesunken war, wurde eine variable Glukoseinfusion verabreicht. Die Glukoseinfusionsrate (GIR) wurde über die gemessenen Blutzuckerwerte berechnet. Lag der Blutzuckerspiegel ohne Glukoseinfusion über 200 mg/dl (für mindestens 30 min.), wurde die Clamp-Untersuchung beendet.



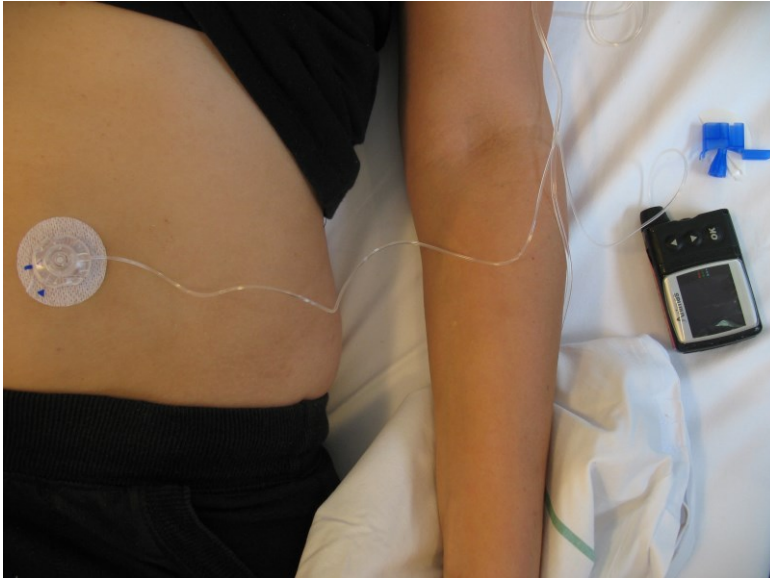
**Abbildung 19: Medtronic Bolusgabe (langer Bolus)**

## **2.1.4 Zweite Clampvisite**

Nach dem Ablauf einer sieben tagigen Sperrfrist, zwischen den Studientagen, konnte die zweite Clampvisite gestartet werden. Das Procedere ist bis zu dem Punkt mit dem ersten Studientag identisch, bis die unterschiedlichen Pumpen eingesetzt wurden. Je nach Randomisierung wurde dem Probanden das Insulin mit einer anderen Applikationszeit (und damit einer anderen Pumpe) verabreicht.

Z.B.

- zweiter Studientag: langer Bolus (10 min. mit Medtronic Paradigm 512).
- erster Studientag: kurzer Bolus (30 Sek. mit Animas IR 2020)



**Abbildung 20: Animas (kurzer Bolus)**

Wie im Studienprotokoll (Abbildung 21) beschrieben, wurden auch am zweiten Clampvisitentag von - 40 bis 0 Minuten Humaninsulin verwendet; ab Zeitpunkt 0 Minuten Insulin Lispro als subkutaner Bolus. Nach der Bolusgabe wurde eine Glukoseinlösung infundiert, um den Blutzucker auf 100mg/dl konstant zu halten. Zur Messung der Glukose- und Insulinkonzentration wurde alle 3 – 20 Minuten Blut dem Probanden entnommen.

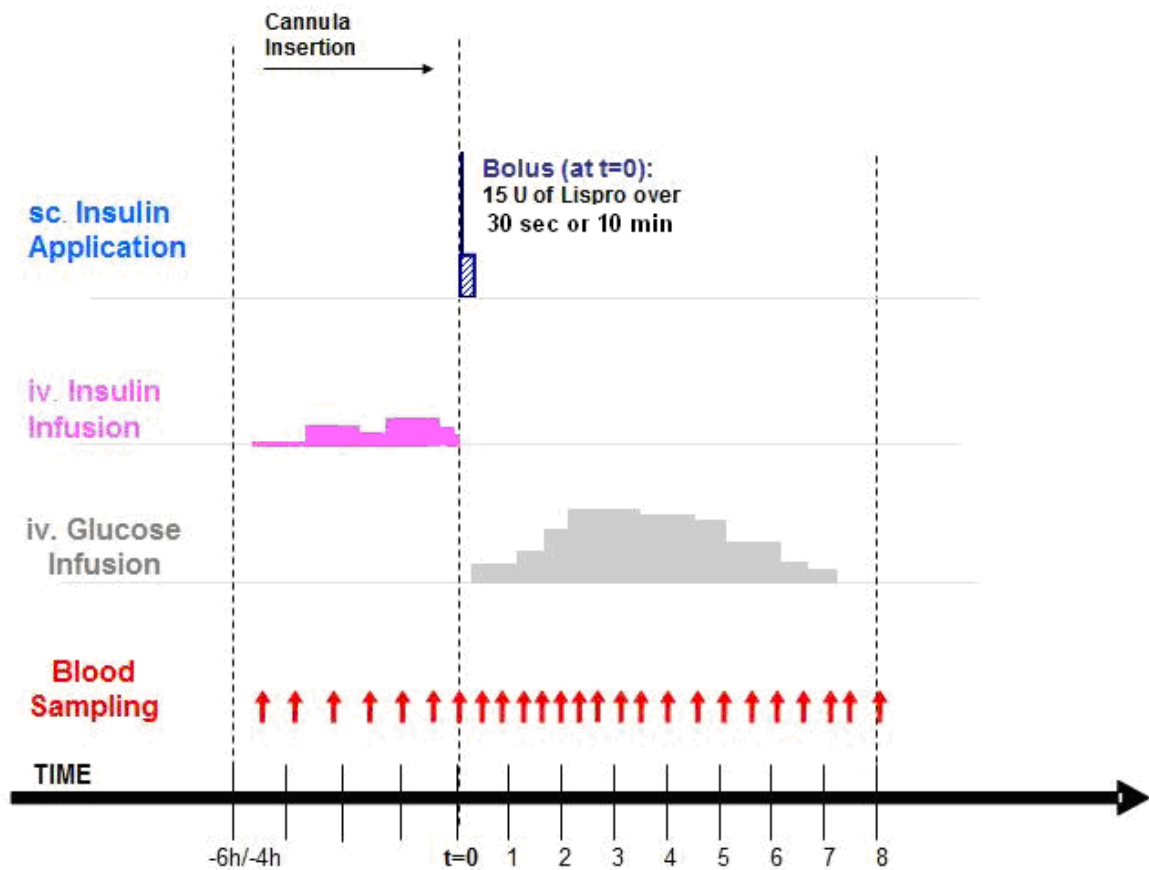


Abbildung 21: Studienprotokoll

## 2.1.5 Nachuntersuchung

Um den Gesundheitszustand nach den beiden Clamp-Visiten zu kontrollieren und um mögliche Schäden, die durch die Teilnahme an der Studie entstanden sind, abzuklären, wurden die Probanden ein zweites Mal gründlich untersucht. Es wurde eine Blutentnahme, EKG, eine Harnanalyse und bei Frauen ein Schwangerschaftstest durchgeführt. Nach Abschluss der Untersuchung und Klärung noch ausstehender Fragen, war die Studie für die Probanden beendet.

## 2.2 Messungen des Glukoseclamps

Das Vollblut (Abbildung 22) wurde vom Patienten entnommen, zentrifugiert (um Plasma von Zellbestandteilen zu trennen) und zeitnah dem Diagnosegerät (Abbildung 23) zugeführt. Es handelte sich um den Super GL2 (Dr. Müller Gerätebau GmbH, Freital, Deutschland). Dieser Analysator dient der Messung von Glukose aus

humanen Probenmaterial, das entnommene Blut kann mit folgenden Antikoagulantien versetzt sein: Heparinen, Citraten, Fluoriden und EDTA. Die Entnahme, des mit Hämolyser-Systemlösung definiert verdünnten Probenmaterials, erfolgt aus verschlossenen Reaktionsgefäßen, die in einem Probenspeicher angeordnet sind (60).

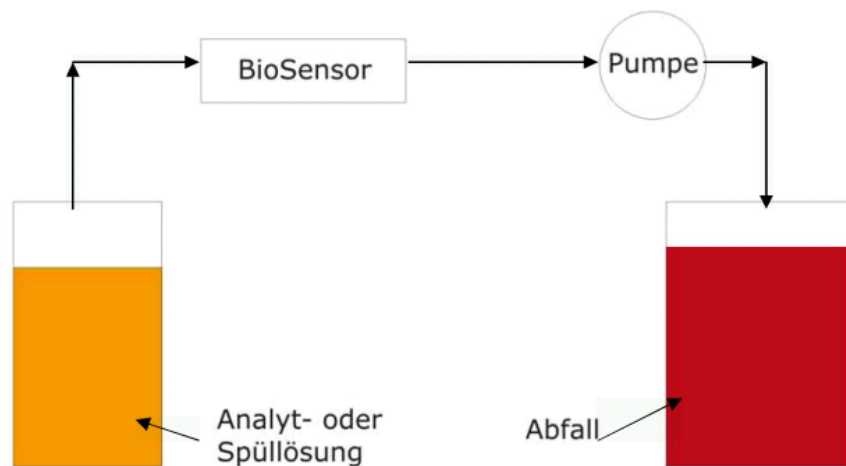


**Abbildung 22: Blutentnahme mit Wärmedecke**



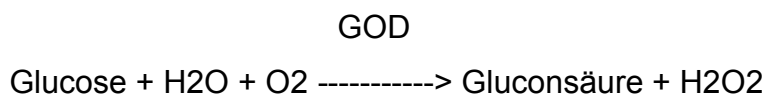
**Abbildung 23: Super GL2 (60)**

Die Bestimmung von Glukose und / oder Laktat mit dem Super GL2 beruht auf einem elektrochemischen Messprinzip mit einem Biosensor (Abbildung 24). Mit einer Kolbenpumpe wird durch einen Sensor wahlweise Kalibrier-, Kontroll-, Patientenmaterial oder eine Systemlösung gefördert. Die in dem Sensor befindlichen Elektroden sind durch Sperrschichten, in denen sich das immobilisierte Enzym befindet, vom Flüssigkeitsstrom getrennt. Das Fließbild und die in dem Sensor ablaufenden Reaktionen zeigen die Abbildung 24 und Abbildung 25:



**Abbildung 24: Fließbild (60)**

Der Glucose-Oxydase-Test (GOD-Test) ist eine chemische Nachweismethode von Glucose (60):



Die Wirkungsweise beruht auf der Oxidation von Glucose durch die Glucose-Oxydase. Dieses Enzym katalysiert die sauerstoffabhängige Oxidation des C1-Kohlenstoffatoms des Zuckers. Dabei entstehen Wasserstoffperoxid und Gluconolacton. Durch Gluconolactonase entsteht aus dem Lacton, spontan oder enzymatisch, die Gluconsäure. Das gebildete Wasserstoffperoxid wird, mit Hilfe einer elektrochemischen Messung, einer Quantifizierung zugeführt, dadurch ist eine genaue Konzentrationsbestimmung der Glucose möglich (60).

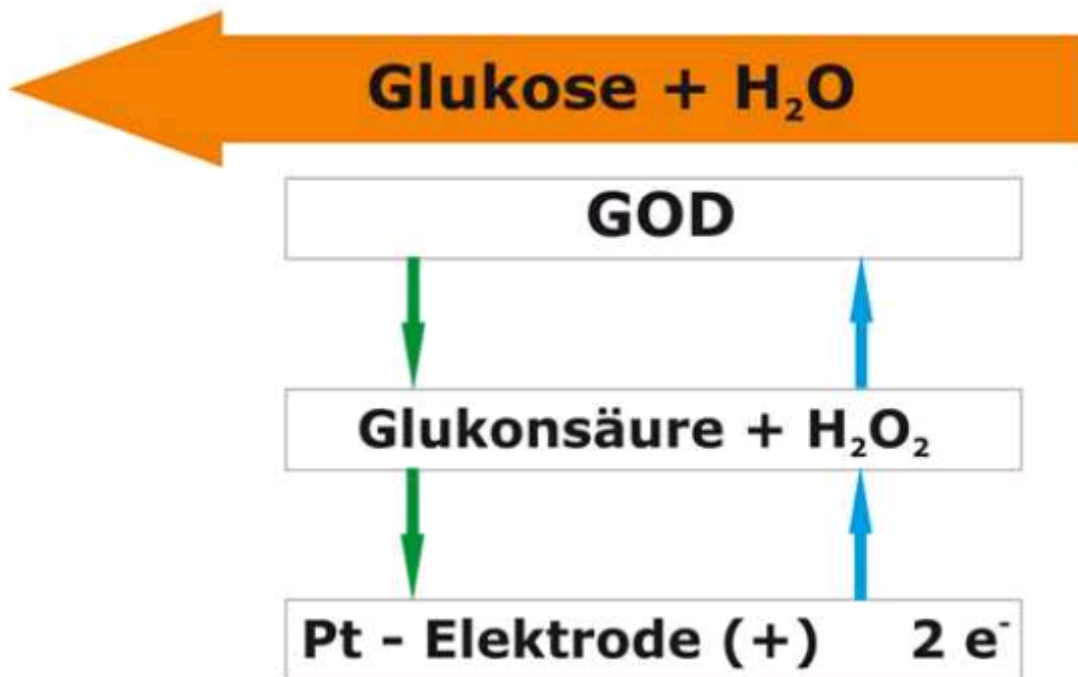


Abbildung 25: Glukoseoxidase \ Platin (60)

## 2.3 Kontrolle der Pumpen

Um festzustellen, ob die in der Studie zu verwendeten Pumpen die korrekte Menge Insulin (15 Einheiten Lispro-Insulin = 150 µl) in der gewünschten Zeit (Abbildung 27) liefern, wurde der Inhalt eines definierten Pumpenvorgangs in ein Gefäß (PCR Softtube 0.2 ml, Biozyme Diagnostik, Oldendorf, Deutschland) verbracht (Abbildung 26). Die Gefäße wurden vor und nach dem Pumpvorgang gewogen (CP225D; Sartorius, Göttingen, Deutschland).

Die beobachteten Unterschiede wurde dann durch die spezifische Dichte von Lispro-Insulin (1.004 mg/ul und 10,04 mg/Einheit) unterteilt, um Volumen und Einheitswerte zu erhalten. Es wurden nach den Clamp-Experimenten (n=40) Messungen durchgeführt und wie bei den Patienten, die gleichen Reservoirs- und Infusionssets verwendet.



**Abbildung 26: Füllung des Softtubes mittels Katheder**

Es gab keine Unterschiede bei der Abgabe der Insulindosis zwischen den Pumpen:

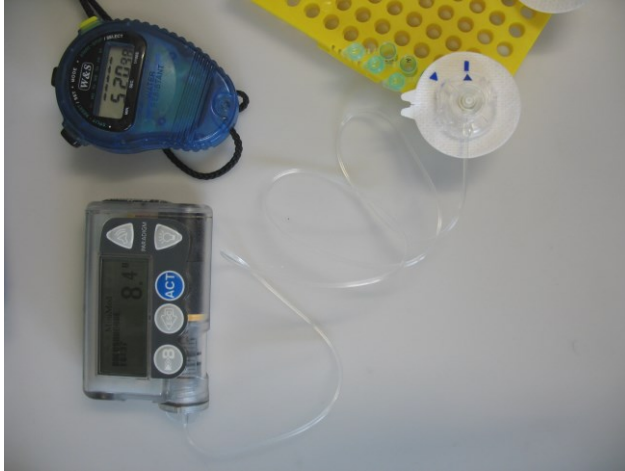
- Medtronic-Pumpe:  $14.90 \pm 0.05$  Einheiten (Units)
- Animas-Pumpe:  $14.84 \pm 0.04$  Einheiten
- Bei einer Standardabweichung von 0.39 (p)

Der Variationskoeffizient (CV) liegt bei einem 15-Einheiten-Bolus bei:

- Medtronic-Pumpe: 0,7%
- Animas-Pumpe: 0,5%

### **Medtronic Paradigm 512 Insulin Pump:**

Bolus-Länge: 40 sec. pro Unit d.h. 10min für 15 Units



**Abbildung 27: Medtronic 512 beim Pumpvorgang, mit Zeitmessung**

### **Animas IR 2020 Insulin Pump:**

Bolus-Länge: 2 sec. pro Unit d.h. 0.5 min für 15 Units



**Abbildung 28: Zwei Animas IR 2020 Pumpen im Vergleich**

## 2.4 Pumpennachkontrolle

Um die Richtigkeit der Ergebnisse zu komplettieren, wurden nach den Clamp-Visiten die Pumpen einer erneuten Prüfung unterzogen (Abbildung 29), um zu kontrollieren, ob sich die Bolusgaben verändert haben. Jede Pumpe füllte ein Gefäß (PCR Softtube 0.2 ml, Biozyme Diagnostik, Oldendorf, Deutschland), welches vor und nach dem Pumpvorgang gewogen (CP225D; Sartorius, Göttingen, Deutschland) wurde.

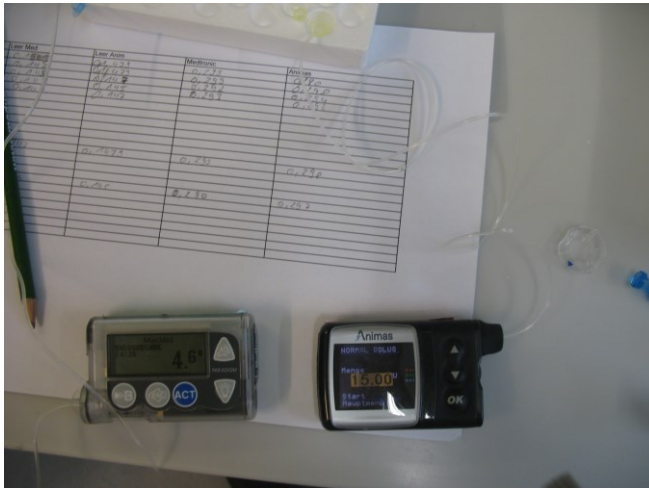


Abbildung 29: Medtronic 512 (links) und Animas IR 2020 (rechts)

Der Variationskoeffizient (CV) liegt bei einem 15-Einheiten-Bolus bei:

- Medtronic-Pumpe: 1,6%
- Animas-Pumpe: 1,4%

## 2.5 Datenanalyse und statistische Methode

### 2.5.1 Deskriptive Statistik

Die Ergebnisse aus den Clamp-Untersuchungen und der Dokumentation der GIR, wurden mit Hilfe der deskriptiven Statistik beschrieben. Hierzu wurden der Mittelwert (Mean) und der Standardfehler (SE) berechnet und beide Geschwindigkeiten (der kurze bzw. der lange Bolus) graphisch dargestellt.

#### 2.5.1.1 Parameter

Um die GIR in einen zeitlichen Kontext zu fassen, wurden mehrere Parameter für beide Boli definiert:

- $GIR_{max}$ (mg/kg/min) ist die maximale Glukoseinfusionsrate.
- $T_{GIRstart}$ (min) ist der Zeitpunkt am Beginn der Glukoseinfusion.
- $T_{GIRmax}$ (min) ist das primäre Ziel dieser Studie. Es ist die Zeit, in der die maximale Dosis Glukose in den Patienten infundiert wurde und die Insulinwirkung am größten ist.
- $T_{GIRmax10\%}$ (min) ist die Zeit, in der 10% der maximalen GIR erreicht wurden.
- $T_{GIRmax50\%}$ (min) ist die Zeit, in der 50% der maximalen GIR erreicht wurden.

$T_{GIRmax10\%}$  und  $T_{GIRmax50\%}$  konnten dadurch berechnet werden, in dem  $T_{GIRmax}$  mit 0,10 multipliziert (für  $T_{GIRmax10\%}$ ) und  $T_{GIRmax}$  mit 0,5 multipliziert (für  $T_{GIRmax50\%}$ ) wurden.

Um von diskreten Daten eine stetige Funktion zu bekommen, mussten diese Daten interpoliert werden. Dazu wurden Punkte in zeitlichen Abständen (30/60/120 min.) festgelegt:

- $GIR_{t30min}$ (mg/kg/min) ist die Glukoseinfusionsrate nach 30 Minuten.
- $GIR_{t60min}$ (mg/kg/min) ist die Glukoseinfusionsrate nach 60 Minuten.
- $GIR_{t120min}$ (mg/kg/min) ist die Glukoseinfusionsrate nach 120 Minuten.

Ein weiterer wichtiger Punkt in der Pharmakodynamik ist die Beschreibung der AUC. Es ist die Integration der Glukoseinfusionsrate zur Zeit und entspricht der intravenösen Bioverfügbarkeit der Glukose.

- $AUC_{GIRtotal}(mg/kg)$  ist die Gesamtfläche unter der GIR-Zeit-Kurve.
- $AUC_{GIR0-TGIRmax}(mg/kg)$  ist die AUC vom Zeitpunkt 0 bis zum Maximum der Glukoseinfusionsrate.
- $T_{GIR10\%AUC}$  (min) ist die Zeit, bei der 10% der gesamten Fläche der AUC ab dem Zeitpunkt 0 erreicht sind.
- $T_{GIR 50\%AUC}$  (min) ist die Zeit, bei der 50% der gesamten Fläche der AUC ab dem Zeitpunkt 0 erreicht sind.

$T_{GIR10\%AUC}$  und  $T_{GIR50\%AUC}$  wurden dadurch berechnet, in dem

$$T_{GIR10\%AUC} = AUC_{GIRtotal} * 0,10 \text{ und}$$

$$T_{GIR50\%AUC} = AUC_{GIRtotal} * 0,50 \text{ jeweils bestimmt wurden.}$$

- $AUC_{GIR 0-30min}$  (mg/kg) ist die Fläche unter der GIR-Zeit-Kurve von  $t=0$  bis  $t=30$
- $AUC_{GIR 0-60min}$  (mg/kg) ist die Fläche unter der GIR-Zeit-Kurve von  $t=0$  bis  $t=60$
- $AUC_{GIR 0-120min}$  (mg/kg) ist die Fläche unter der GIR-Zeit-Kurve von  $t=0$  bis  $t=120$

### 2.5.1.2 Parametervergleiche

Um die oben genannten Parameter mit einer t-verteilter Testprüfgröße zu vergleichen, wurde ein Hypothesentest (t-Test) verwendet. Die Stichproben waren normverteilt und zwei Stichproben waren verbunden (Pair-Sample-t-Test). Hiermit wurde getestet, inwieweit sich, die für jeden Probanden generierten Parameter, für den langen und den kurzen Bolus, voneinander unterscheiden. Mit der Berechnung des p-Wertes (p-Value) wurde das Signifikanzniveau ( $\alpha=0,05$ ) dargestellt. Da der Wert (p-Value) unter dem Signifikanzniveau liegt, wurde die Nullhypothese abgelehnt. Zusätzlich wurden der Mittelwert und der Standardfehler für jeden Parameter beider Boli berechnet, verglichen und somit bestimmt. Zusätzlich wurde die Signifikanz der Übereinstimmung zweier Verteilungen, also zentrale Tendenz von zwei verbundenen Stichproben, durch einen Wilcoxon-Rangsummentest, einen parameterfreien statistischen Test, untersucht. Es wurde der p-Value zur Signifikanzüberprüfung berechnet und der Median und die Quartile aller Parameter für beide Boli bestimmt.

# 3. Resultate

## 3.1 Studieneigenschaften

### 3.1.1 Biometrische Daten der Studienteilnehmer

In dieser Studie nahmen 22 Personen teil, wobei ein Patient ausschied, da bei ihm, während der Studie es zu einer Infusionsreaktion kam. Die Infusionsflüssigkeit lief paravenös und es zeigten sich die Zeichen einer Phlebitis. Ein weiterer Patient wurde aufgrund persönlicher Unzulänglichkeiten exkludiert. Mit 20 Patienten wurde die Studie dann vervollständigt. Hierbei nahmen 5 Frauen und 15 Männer an der Studie teil, mit einem Altersdurchschnitt von  $41,0 \pm 8,5$  Jahren (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung  $\approx 22 - 53$  Jahre). Der BMI betrug im Durchschnitt  $24,9 \pm 2,6$  kg/m<sup>2</sup>. Er reichte von 20,1 bis 29,3 kg/m<sup>2</sup>. Die Probanden waren durchschnittlich  $20,7 \pm 12,3$  Jahre am Typ-1-Diabetes erkrankt, die kürzeste Dauer betrug 2, die längste 39 Jahre. Sechszehn Patienten behandelten ihren Typ-1-Diabetes durch tägliche Pen-Infusionen, während vier Patienten durch eine Insulinpumpe therapiert wurden. Der HbA<sub>1c</sub> betrug im Durchschnitt  $7,5\% \pm 0,9\%$  ( $58 \pm 9,8$  mmol/mol), wobei der geringste Wert bei 5,4 % (36 mmol/mol) und der höchste Wert lag bei 8,7% (72 mmol/mol).

### 3.1.2 Vergleich der pharmakodynamischen Parameter

Der zeitliche Ablauf der Glukoseinfusionsrate wurde mit multiplen Parametern je Proband, beim langen und kurzen Bolus beschrieben.

Nach der Mittelung der Parameter wurden beide Boli mit einem t-Test und einem Wilcoxon-Test verglichen; Mittelwerte (Mean), Standardfehler (SE), Mediane, Quartile (25- und 75-Percentile) und p-Werte berechnet und ermittelt.

**Tabelle 1**

VARIABLE	Short Bolus	Long Bolus	T-Test	Short Bolus	Long Bolus	Wilcoxon Test
	Mean (SE)	Mean (SE)	P value	Median(IQ)	Median(IQ)	P value
GIR <sub>max</sub> (mg/kg/min)	7,4(1)	7,4(1)	0,9	6,2(3,8;9,2)	6,5(4,3;9,4)	0,7
T <sub>GIRmax</sub> (min)	98(11)	125(16)	0,005	80(65;123)	100(75;180)	0,002
T <sub>GIRStart</sub> (min)	21(2,5)	34,3(2,7)	0,002	20(10;28,7)	32,5(26,2;43,7)	0,002
T <sub>GIRmax10%</sub> (min)	22,7(3)	35,9 (2,7)	0,005	21,5(11,7;32,7)	36,5(26,5;42,7)	0,007
T <sub>GIRmax50%</sub> (min)	49,9(3,5)	67,4(8,4)	0,012	51,5(38;60,2)	60,5(49;74)	0,001
GIR <sub>t30min</sub> (mg/kg/min)	1,8(0,5)	0,8(0,3)	0,04	0,6(0,2;3,1)	0,2(0;1)	0,01
GIR <sub>t60min</sub> (mg/kg/min)	5,2(0,8)	3,9(0,7)	0,07	4,6(1,7;7,3)	3,2(1,6;6,2)	0,06
GIR <sub>t120min</sub> (mg/kg/min)	5,7(0,8)	5,2(0,5)	0,4	4,7(2,8;7)	4,6(3,4;6,9)	0,5

**Tabelle 2**

VARIABLE	Short Bolus Mean (SE)	Long Bolus Mean (SE)	T-Test P value	Short Bolus Median(IQ)	Long Bolus Median(IQ)	Wilcoxon Test P value
AUC <sub>GIRtotal</sub> (mg/kg)	1356(147)	1271(98)	0,388	1301(883;1727)	1255(881;1639)	0,5
AUC <sub>GIR0-tGIRmax</sub> (mg/kg)	256(49)	319(57)	0,2	212(74,8;342)	243 (147;481)	0,1
T <sub>GIR 10%AUC</sub> (min)	68(3,2)	80(4)	0.006	67,5(57,2;80,2)	83(65,5;95,7)	0,003
T <sub>GIR 50%AUC</sub> (min)	167(7,7)	179(7,8)	0,04	168(136;200)	187(142;207)	0,04
AUC <sub>GIR 0-30min</sub> (mg/kg)	19,3(6,1)	2,7(1,5)	0,01	5,35(0,2;27,1)	0,2(0;1)	0,006
AUC <sub>GIR 0-60min</sub> (mg/kg)	123(28)	74(25)	0,018	87(28,9;172)	39,4(15,7;77,1)	0,01
AUC <sub>GIR 0-120min</sub> (mg/kg)	474(78)	353(47)	0,019	371(210,5;619)	332(181;435)	0,01

Wie die Abbildung 30 zeigt, hatte die Geschwindigkeit der Bolusgabe eine wesentliche Wirkung auf das pharmakodynamische Profil des Insulins lispro. Der  $T_{GIRmax}$ ,  $T_{GIRstart}$ ,  $T_{GIRmax10\%}$  und  $T_{GIRmax50\%}$  waren mit der langsamen Bolusgabe im Vergleich zur schnellen Bolusgabe bedeutsam länger. Außerdem waren der  $AUC_{GIR0-60min}$  und  $AUC_{GIR0-120min}$  für die langsame Bolusgabe kleiner als diejenigen für die schnelle Bolusgabe. Es gab keine statistischen Unterschiede in  $GIR_{max}$  oder  $AUC_{GIRtotal}$  zwischen den zwei Bolusliefergeschwindigkeiten.

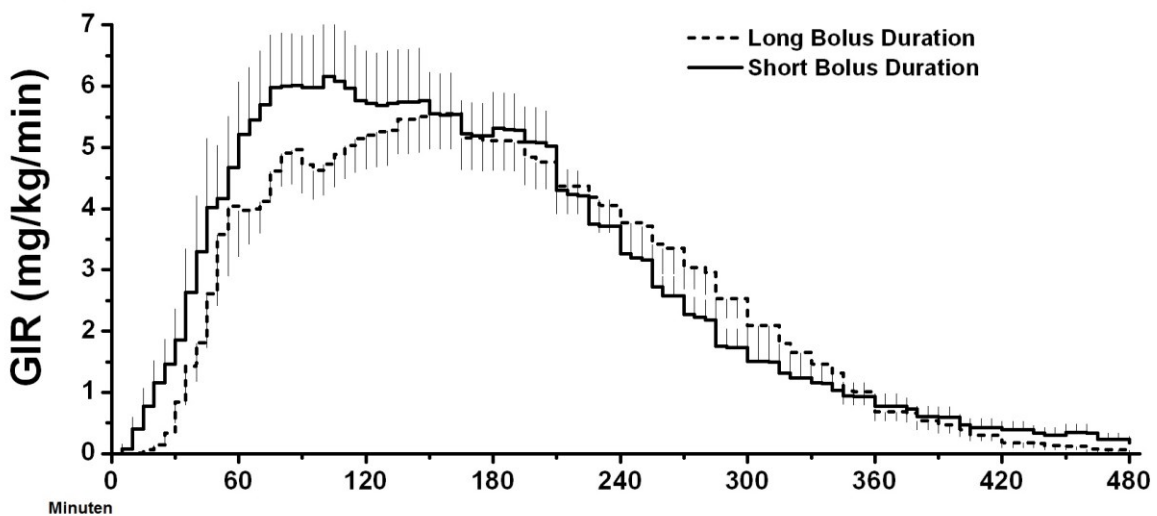


Abbildung 30: GIR nach s.c. Verabreichung von 15 Einheiten Insulin Lispro

Der Unterschied der beiden Boli ist deswegen signifikant, weil in den wichtigen Parametern ein p-Wert von  $\leq 0,05$  zeigt:

- $T_{GIRmax}$  (98min  $\pm$  10,9min vs. 124min  $\pm$  15,6min; p-Wert  $\leq 0,005$ )
- $T_{GIRstart}$  (20,75min  $\pm$  2,4min vs. 34,25min  $\pm$  2,7min; p-Wert  $\leq 0,002$ )
- $T_{GIRmax10\%}$  (22,7min  $\pm$  2,9min vs. 35,8min  $\pm$  2,6min; p-Wert  $\leq 0,005$ )
- $T_{GIRmax50\%}$  (49,8min  $\pm$  3,5min vs. 67,3min  $\pm$  8,3min; p-Wert  $\leq 0,012$ )

Es gab keinen statistischen Nachweis eines signifikanten Unterschiedes zwischen den langsamen und kurzen Bolus in den Parametern:  $GIR_{max}$  und  $AUC_{GIRtotal}$ .

Da auch die Fläche unter der Kurve (AUC) berechnet wurde, zeigte sich in den relevanten Parametern auch ein signifikanter Unterschied:

- $AUC_{GIR0-60min}$  (122mg/kg  $\pm$  28,1mg/kg vs. 74,3mg/kg  $\pm$  24,7mg/kg; p-Wert  $\leq$  0,018)
- $AUC_{GIR0-120min}$  (473mg/kg  $\pm$  77,8mg/kg vs. 353mg/kg  $\pm$  46,7 mg/kg; p-Wert  $\leq$  0,019)

Bei den Ergebnissen des Wilcoxon-Signed-Rang-Tests zeigten sich in den berechneten Parametern Ergebnisse mit einem signifikanten Unterschied:

- $T_{GIRmax}$  (p-Wert  $\leq$  0,002)
- $T_{GIRstart}$  (p-Wert  $\leq$  0,002)
- $T_{GIRmax10\%}$  (p-Wert  $\leq$  0,007)
- $T_{GIRmax50\%}$  (p-Wert  $\leq$  0,001)
- $AUC_{GIR0-60min}$  (p-Wert  $\leq$  0,01)
- $AUC_{GIR0-120min}$  (p-Wert  $\leq$  0,01)

## 4. Diskussion

Das Ziel dieser Diplomarbeit ist es, die Pharmakodynamik eines kurzwirksamen Insulins, welches sich durch eine idente Bolusmenge aber unterschiedlicher Bolusgeschwindigkeit unterscheidet, zu untersuchen. Um die Pharmakodynamik zu erfassen, wurde eine etablierte Methode, der Glukose-Clamp-Test gewählt. Im Zuge der Untersuchungen wurden Glukoseinfusionsraten erfasst und statistisch ausgewertet.

### 4.1 Klinische Relevanz

Um die Sinnhaftigkeit dieser Studie nahe zu kommen, stellt sich die Frage der klinischen Relevanz der Wirkung auf den Glukosespiegel durch eine schnelle Insulingabe und dadurch bedingter schneller Insulinabsorbtion. Für die Wirkkaskade des Insulins, also vom Zeitpunkt der Gabe, das Verteilen im subkutanen Fettgewebe und der Weg über das Blut bis zu den Zielzellen (Fett- und Muskelzellen), wird ein bestimmter Zeitraum benötigt, welcher als Verzögerungsphase bekannt ist. In früheren Zeiten glaubte man, dass durch diese Verzögerungsphase ein Spritz-Essabstand nötig sei, den jeder Diabetiker kennen müsse, denn in der präprandialen Verwendung von Humaninsulin ist der Abstand größer (30 min) als bei der Verwendung von Insulinanaloga (wenige Minuten) (20,61). Neuste Ergebnisse widersprechen jedoch dieser Notwendigkeit (62). In einer Metaanalyse Mutchmore et al (63). zeigte sich der schnellere Wirkungseintritt und maximaler Plasmakonzentration von Insulin lispro im direkten Vergleich mit Humaninsulin, welches im Durchschnitt ca. 84% langsamer im Erreichen der maximalen Plasmakonzentration war. Als zusätzlicher Faktor muss auch noch eine um 13% langsamere Maximalwirkung auf die Glukose gesehen werden. Unsere Studie verglich „nur“ eine Insulinart (Insulin Lispro), mit unterschiedlichen Boluslängen als Variable. Wir konnten nachweisen, dass nur durch das Verändern der Bolusdauer ein Unterschied beim Erreichen der maximalen Insulinwirkung auf die Glukose ( $T_{GIRmax}$ ) von 27 Minuten und bis zum Erreichen der maximalen Insulinkonzentration ( $T_{cinsmax}$ ) die Zeitspanne 11 Minuten betrug. Wird das Insulin Lispro mit dem langen Bolus abgegeben, so ist  $T_{GIRmax}$  um 27% und  $T_{cinsmax}$  um 14% langsamer als mit

dem kurzen Bolus. Die Schlussfolgerung aus unseren Werten ist, zukünftige Pumpensysteme (Abbildung 31) mit kurzen bzw. schnelleren Boli auszustatten.



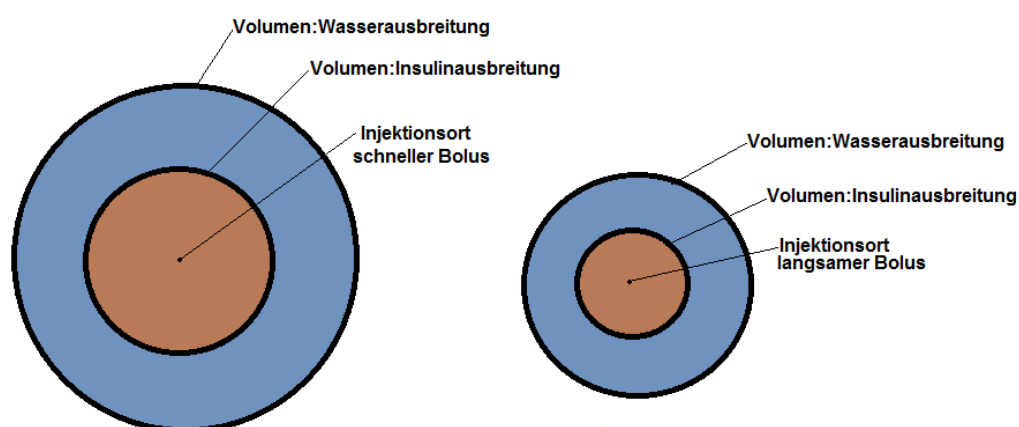
Abbildung 31: Pumpe (2) mit Kanüle (3) und mit Sensor (1) (64)

## 4.2 Empfehlung

Die meisten auf dem Markt erhältlichen Pumpen unterscheiden sich hauptsächlich von optischen, strukturellen und marketingtechnischen Unterschieden einmal abgesehen, von ihren Boluslängen. Die Pumpe mit dem schnellsten Bolus am Markt ist die Animas IR 2020 (1 - 2 Sekunden je Insulineinheit), darauf folgt die Tandem t:slim mit 30 Sekunden und die langsamsten sind die Insulet - Omnipod und die Medtronic 523 mit jeweils 40 Sekunden pro Insulineinheit (65). Daher wählten wir für den schnellen Bolus die Animas-Pumpe mit 15IE für 30 Sekunden und die Medtronic-Pumpe für den langsamen Bolus mit 10 Minuten für 15IE für unsere Studie aus. Die Resultate aus unserer Studie zeigen deutlich, dass die Boluslänge eine signifikante Bedeutung für die Pharmakodynamik und Pharmakokinetik des Insulins besitzt. Eine Standardisierung und Verkleinerung sollte daher von den Pumpenherstellern dringendst in Betracht gezogen werden. Werden die Boluslängen auf 1 - 2 Sekunden Dauer beschränkt, so sind die Pharmakodynamik und die Pharmakokinetik der des Insulin-Pens ähnlich und somit gleichgestellt. Als Nachteil für die Compliance des Patienten könnte sein, dass bei einer so kurzen Abgabezeit (1 - 2 Sekunden) es zum Brennen und Schmerzen an der Einstichstelle kommen könnte, was sicherlich bei einer täglichen Dosis dauerhaft als unangenehm

empfundener werden könnte. Unsere Empfehlung liegt daher bei 5 Sekunden pro Bolusgabe, um die Vorteile auszunutzen und die Nachteile zu kompensieren.

Ein weiterer guter Ansatzpunkt zur Therapieverbesserung ist die Größe der Insulinmoleküle zu verändern, denn der übliche Ort der Insulingabe ist das subkutane Fettgewebe. Es besteht aus einem Netzwerk aus Elastin- und Kollagenfasern, durchsetzt von interstitieller Flüssigkeit. Dieses Netzwerk fungiert wie ein Filter für Moleküle. Je kleiner also das Molekül zu filtrieren ist, desto schneller ist die Ausbreitung im Gewebe und damit verbunden, eine schnellere Diffusion durch die Kapillarwände. Gezeigt wurde dies durch eine Veröffentlichung von Hansen (66); hier wurden zwei Moleküle unterschiedlicher Größe mit einander verglichen; ein Saccharosemolekül (342 Dalton) mit einem Wassermolekül (18 Dalton). Es zeigte sich, dass nach 5 Minuten die Wassermoleküle mit nahezu doppelter Geschwindigkeit absorbiert wurden, als die Saccharosemoleküle. Insulin ist mit seiner Molekülmasse von 6000 Dalton ein relativ großes Molekül. Daher ist es wahrscheinlich, dass Insulin langsamer absorbiert wird als Wasser. Bei einer Bolusgabe von 10 Minuten würde sich daher das Wasser schneller verteilen als das Insulin und somit bliebe auch die Kontaktfläche mit den Kapillaren klein (Abbildung 32). Ist der Bolus kurz, so ist, da das Wasser nun mit dem Insulin zusammen diffundiert, die Kontaktfläche mit den Kapillaren größer und somit erfolgt die Insulinaufnahme schneller (Abbildung 32).



**Abbildung 32: Volumen - und Wasserausbreitung**

Die Unterschiede in einer kurzen Bolusgabe, welche sich im Sekundenbereich abspielt, sind jedoch nicht nachweisbar. In der Studie von Hildebrandt et al (67) wurden Boluslängen  $\leq 30$  Sekunden mit einander verglichen (0 und 3 Sekunden; 3 und 30 Sekunden); es zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied. Weitere Faktoren die die Insulinabsorption beeinflussen können, sind die Tiefe der Injektion, die Konzentration und das Volumen. Hier konnten Hildebrandt et al (67) signifikant zeigen, dass die schnellste Absorption bei tiefsten Einspritzen, niedriger Konzentration und großem Volumen erreicht wurde. Diese Faktoren sollten bei der Herstellung neuerer Pumpenmodelle mit berücksichtigt werden.

Eine weitere Möglichkeit die Pumpentherapie zu verbessern, ist die kontinuierliche Messung der Blutglukose, um eine bedarfsgerechte Insulinabgabe zu ermöglichen. Dazu bedarf es eines Sensorsystems, das einfach und ohne Hilfsmittel vom Patienten bedient werden kann (Abbildung 31). Denn die Gefahr der nächtlichen Hypoglykämie ist mit einer Pumpe daher gegeben, dass die Pumpe den basalen Bolus unabhängig vom Blutglukosewert des Patienten pumpt. Das MiniMed Paradigm Veo System der Firma Medtronic besitzt einen solchen Sensor (68), der bei einer Hypoglykämie die Pumpe bis zu zwei Stunden abschaltet. Bei Trang T. Ly et al. wurden 2493 Patienten untersucht (bei 3128 Ereignissen) und keiner hatte innerhalb von sechs Monaten eine Hypoglykämie oder eine diabetische Ketoazidose (69). In einer STAR-3-Studie (70,71) mit 485 Patienten zeigte sich in der Gruppe mit Sensor-unterstützter Pumpentherapie eine Verbesserung des HbA<sub>1c</sub>-Wertes ohne die Zunahme von Hypoglykämien. In einer zweiten Untersuchung von Danne T. et al. wurde die Kontrollgruppe, die nicht mit einer SUP, sondern nur mit CSII behandelt wurde, auf eine SUP-Therapie umgestellt und es zeigte sich eine Senkung des HbA<sub>1c</sub>-Wertes von 8% auf 7,6% (72). Wenn nun bei Patienten mit intensivierter Insulintherapie schlechte HbA<sub>1c</sub>-Werte erreicht wurden, so ging man früher davon aus, dass es an der schlechten Patientencompliance lag, dass es nicht zu einer Verbesserung kommen konnte. Doch manchmal liegt es einfach an der Variabilität der Natur, dass nicht alle Patienten in ein gewünschtes Raster fallen. In den Studien von Bergenstal RM et al. und Danne T et al. konnte gut gezeigt werden das diese Patienten gut bis sehr gut von einer optimierten CSII mit SUP profitierten. Jedoch zeigten sich auch die Grenzen des Systems auf. Die Effektivität unter HbA<sub>1c</sub>-Ausgangswerten von 7% nahm deutlich ab. Daher ist SUP eher für neue Patienten

gedacht, die mit der Insulintherapie nicht so viele Erfahrungen gemacht haben. Dieses Patientengut würde von einer CSII oder besser SUP am meisten profitieren.

Bisherige Ergebnisse zeigten, dass sich die Wirksamkeit der CSII vor allem durch die Bolusgeschwindigkeit optimieren lässt. Wird bei der Bolusgabe die Frequenz und die Menge verändert, so zeigten Mader et. al auch, dass durch die Gabe von häufigen und geringen Dosen Insulins, die Wirkung auf die Glukose sich signifikant verbessert hat (73). Auch aus technischer Sicht kann an der CSII noch viel verbessert werden. So könnte durch die Verwendung einer anderen Kathedernadel (z.B. ein Spriklerneedle-System: Abbildung 13) das Risiko einer postprandialen Hyperglykämie reduzieren (48).

### **4.3 Schlussfolgerung**

Das Ziel dieser Diplomarbeit war, die Pharmakodynamik eines schnellwirksamen Insulins, welches durch Insulinpumpen appliziert wurde und sich durch die Länge der Bolusgabe unterschied, zu vergleichen und zu erfassen. Mittels zweier Clampexperimente bei 20 Typ-1-Diabetikern wurde die Glukoseinfusionsrate bestimmt und anschließend ausgewertet. Die Ergebnisse der Studie zeigen, das Insulin, welches mit dem kurzen Bolus verabreicht wurde, durchschnittlich ein um 27 Minuten schnelleres Maximum der Insulinwirkung auf die Glukose erreicht. Es wäre daher für die weitere Entwicklung einer verbesserten Insulintherapie wünschenswert, das neuere Insulinpumpen den Insulinbolus schnell abgeben, damit es zu einer schnelleren Glukosesenkung kommt, um so einen optimalen Wirkungseintritt zu erzielen.

# 5. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Insulinsekretion der $\beta$ -Zelle (8) .....	15
Abbildung 2: Insulinabhängiger Glukosetransport in Muskel-und Fettgewebe (11)..	17
Abbildung 3: Zelluläre Wirkung von Glut-4-Transporter (12) .....	17
Abbildung 4: Empfohlene Injektionsstellen (14).....	18
Abbildung 5: Proteinstrukturveränderung von Humaninsulin (19).....	23
Abbildung 6: Insulinwirkungsprofile (11) .....	23
Abbildung 7: Insulinpen (27) .....	25
Abbildung 8: Insulinverbrauch (24) .....	26
Abbildung 9: Patchpumpe (29) .....	27
Abbildung 10: Bolusprofil (24).....	28
Abbildung 11: Jet Injektion (43) .....	33
Abbildung 12: Microneedle (46).....	33
Abbildung 13: Sprinkler Needle (47).....	34
Abbildung 14: Insulinpumpen mit Kanüle (49,50) .....	34
Abbildung 15: Pumpengenerationen (50-52).....	36
Abbildung 16: Pagerpumpe im Querschnitt (43,54).....	37
Abbildung 17: Glukose "Space" (59) .....	40
Abbildung 18: Euglykämischer Clamp (59).....	41
Abbildung 19: Medtronic Bolusgabe (langer Bolus).....	45
Abbildung 20: Animas (kurzer Bolus) .....	46
Abbildung 21: Studienprotokoll .....	47
Abbildung 22: Blutentnahme mit Wärmedecke .....	48
Abbildung 23: Super GL2 (60) .....	48
Abbildung 24: Fließbild (60).....	49
Abbildung 25: Glukoseoxidase \ Platin (60).....	50
Abbildung 26: Füllung des Softtubes mittels Katheder .....	51
Abbildung 27: Medtronic 512 beim Pumpvorgang, mit Zeitmessung .....	52
Abbildung 28: Zwei Animas IR 2020 Pumpen im Vergleich.....	52
Abbildung 29: Medtronic 512 (links) und Animas IR 2020 (rechts).....	53
Abbildung 30: GIR nach s.c. Verabreichung von 15 Einheiten Insulin Lispro .....	59
Abbildung 31: Pumpe (2) mit Kanüle (3) und mit Sensor (1) (64).....	62
Abbildung 32: Volumen - und Wasserausbreitung.....	63

# 6. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 ..... 57  
Tabelle 2 ..... 58  
Tabelle 3 ..... 84  
Tabelle 4 ..... 85  
Tabelle 5 ..... 86  
Tabelle 6 ..... 87  
Tabelle 7 ..... 88  
Tabelle 8 ..... 89  
Tabelle 9 ..... 90

## 7. Literaturverzeichnis

- (1) Daneman D. Type 1 diabetes. Lancet 2006 Mar 11;367(9513):847-858.
- (2) Elbelt U, Quinkler M, Strasburger C. Diabetes mellitus. In: Dietel M, Suttorp N, Zeitz M, editors. Harrisons Innere Medizin Band 2. 17th ed.: : ABW Wissenschaftsverlag; 2008. p. 2808-2844.
- (3) Clodi M. Diabetes mellitus Typ2: ÖGD-Therapieleitlinien 2012: Was ist neu? Universum Innere Medizin Mai, 2013:10-11.
- (4) Böhm B, Dreyer M, Fritsche A, Füchtenbusch M, Martin S. S3-Leitlinie Therapie des Typ-1-Diabetes. Bericht, Deutsche Diabetes Gesellschaft 2011:057-013.
- (5) Böhm BO, Dreyer M, Fritsche A, Füchtenbusch M, Götz S. M, S. S3-Leitlinie Therapie des Typ-1-Diabetes - Version 1.0; September / 2011. 2011; Available at: [http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte\\_Leitlinien/AktualisierungTherapieTyp1Diabetes\\_1\\_20120319\\_TL.pdf](http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte_Leitlinien/AktualisierungTherapieTyp1Diabetes_1_20120319_TL.pdf). Accessed 02.2014.
- (6) Matthaei S, Kellerer M. Therapie des Typ-1-Diabetes. 2011; Available at: [http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte\\_Leitlinien/AktualisierungTherapieTyp1Diabetes\\_1\\_20120319\\_TL.pdf](http://www.deutsche-diabetes-gesellschaft.de/fileadmin/Redakteur/Leitlinien/Evidenzbasierte_Leitlinien/AktualisierungTherapieTyp1Diabetes_1_20120319_TL.pdf). Accessed Januar 2014.
- (7) Dreyer M, Berger M, Kiess W, Lüdecke H, Redaelli M, Schatz H, et al. Evidenzbasierte Leitlinie: Therapie des Diabetes mellitus Typ 1. Bochum: Deutsche Diabetes-Gesellschaft eV 2003.
- (8) Hinghofer-Szalkay H. Physiologie des Insulinsystems. Available at: <http://user.medunigraz.at/helmut.hinghofer-szalkay/V.2.htm>. Accessed Januar 2014.
- (9) Watson RT, Pessin JE. Intracellular organization of insulin signaling and GLUT4 translocation. Recent Prog Horm Res 2001;56:175-193.
- (10) Huang S, Czech MP. The GLUT4 Glucose Transporter. Cell Metabolism 2007 4/4;5(4):237-252.
- (11) Püschel ua. Extrahepatische Glukoseaufnahme. In: Georg Thieme Verlag KG, editor. Taschenlehrbuch Biochemie; 2011. p. 176-176.
- (12) Bryant N,J., Govers,Roland, James D,E. Regulated transport of the glucose transporter GLUT4.
- (13) Koivisto VA. Sauna-induced acceleration in insulin absorption from subcutaneous injection site. Br Med J 1980 Jun 14;280(6229):1411-1413.
- (14) Empfohlene Injektionsstellen. 2014; Available at: <http://www.diabetes-shq-penzberg.de/images/recommendedinjectionsites.gif>. Accessed Januar 2014.

- (15) Owens DR. New horizons—alternative routes for insulin therapy. *Nature Reviews Drug Discovery* 2002;1(7):529-540.
- (16) Owens DR, Zinman B, Bolli GB. Insulins today and beyond. *The Lancet* 2001;358(9283):739-746.
- (17) Selam J. Evolution of diabetes insulin delivery devices. *Journal of diabetes science and technology* 2010;4(3):505-513.
- (18) Matthaei S. Die Geschichte des Insulins. 2006; Available at: <http://www.diabetes-index.de/allgemein/geschichte/die-geschichte-des-insulins-und-der-behandlung-des-typ-1-diabetes>. Accessed Januar 2014.
- (19) Hirsch IB. Insulin analogues. *N Engl J Med* 2005;352(2):174-183.
- (20) Rosak C. Insulin analogs: structure, properties and therapeutic indications. Part 1: rapid-acting insulin analogs. *Internist (Berl)* 2001 Nov;42(11):1523-1535.
- (21) Gerich JE. Novel insulins: expanding options in diabetes management. *Am J Med* 2002;113(4):308-316.
- (22) Barnett AH, Owens DR. Insulin analogues. *The Lancet* 1997;349(9044):47-51.
- (23) Wood AJ, Holleman F, Hoekstra JB. Insulin lispro. *N Engl J Med* 1997;337(3):176-183.
- (24) Pickup JC. Insulin-pump therapy for type 1 diabetes mellitus. *N Engl J Med* 2012;366(17):1616-1624.
- (25) Yaturu S. Insulin therapies: Current and future trends at dawn. *World journal of diabetes* 2013;4(1):1.
- (26) Bolten J. Tipps zur Insulin Pen-Benutzung. Available at: <http://www.linden-apotheke-lohmar.de/insulinpen.html>. Accessed Januar 2014.
- (27) AVENTIS PHARMA LIMITED. Instruction Leaflet. 2010; Available at: <http://www.sanofidiabetes.in/apidra-solostar-pen.aspx>. Accessed Januar2014.
- (28) Klinkert C, Quester W. Insulin pump treatment in type 1 diabetes mellitus. *Dtsch Med Wochenschr* 2004 May 14;129(20):1149-1154.
- (29) Frommann R, Möhle U. Patch-Pumpe. 2012; Available at: <http://www.diabetes-ratgeber.net/Diabetes/Patch-Pumpe-114379.html>. Accessed Januar 2014.
- (30) Jeandidier N, Riveline J, Tubiana-Rufi N, Vambergue A, Catargi B, Melki V, et al. Treatment of diabetes mellitus using an external insulin pump in clinical practice. *Diabetes Metab* 2008;34(4):425-438.
- (31) Boland E, Monsod T, Delucia M, Brandt CA, Fernando S, Tamborlane WV. Limitations of conventional methods of self-monitoring of blood glucose: lessons

learned from 3 days of continuous glucose sensing in pediatric patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 2001 Nov;24(11):1858-1862.

(32) Herold G. *Diabetes Mellitus*. Innere Medizin 2014. 1st ed.: Eigenverl.; 2013. p. 719-747.

(33) Guerci B, Sauvanet J. Subcutaneous insulin: pharmacokinetic variability and glycemic variability. *Diabetes Metab* 2005;31(4):4S7-4S24.

(34) Binder C, Lauritzen T, Faber O, Pramming S. Insulin pharmacokinetics. *Diabetes Care* 1984 Mar-Apr;7(2):188-199.

(35) Linde B. The Pharmacokinetics of Insulin. In: Pickup J, Gareth W, editors. *Textbook of Diabetes*: London: Blackwell Scientific Pub; 1991. p. 371-383.

(36) Hildebrandt P. Subcutaneous absorption of insulin in insulin-dependent diabetic patients. Influence of species, physico-chemical properties of insulin and physiological factors. *Dan Med Bull* 1991 Aug;38(4):337-346.

(37) Rosell S, Belfrage E. Blood circulation in adipose tissue. *Physiol Rev* 1979 Oct;59(4):1078-1104.

(38) Zinman B. Newer insulin analogs: advances in basal insulin replacement. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2013;15(s1):6-10.

(39) Heinemann L, Nosek L, Flacke F, Albus K, Krasner A, Pichotta P, et al. U-100, pH-Neutral formulation of VIAject®: faster onset of action than insulin lispro in patients with type 1 diabetes. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2012;14(3):222-227.

(40) Pitt HA, Saudek CD, Zacur HA. Long-term intraperitoneal insulin delivery. *Ann Surg* 1992 Oct;216(4):483-91; discussion 491-2.

(41) Renard E. Insulin delivery route for the artificial pancreas: subcutaneous, intraperitoneal, or intravenous? Pros and cons. *Journal of diabetes science and technology* 2008;2(4):735-738.

(42) van Dijk PR, Logtenberg SJ, Groenier KH, Haveman JW, Kleefstra N, Bilo HJ. Complications of continuous intraperitoneal insulin infusion with an implantable pump. *World journal of diabetes* 2012;3(8):142.

(43) Engwerda EE, Abbink EJ, Tack CJ, de Galan BE. Improved pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of rapid-acting insulin using needle-free jet injection technology. *Diabetes Care* 2011 Aug;34(8):1804-1808.

(44) Khanna P, Strom JA, Malone JI, Bhansali S. Microneedle-based automated therapy for diabetes mellitus. *Journal of diabetes science and technology* 2008;2(6):1122-1129.

(45) Ito Y, Nakahigashi T, Yoshimoto N, Ueda Y, Hamasaki N, Takada K. Transdermal insulin application system with dissolving microneedles. *Diabetes technology & therapeutics* 2012;14(10):891-899.

- (46) Raiyani S. Microneedle. Available at: [http://dolcera.com/wiki/index.php?title=Smart\\_miniature\\_drug\\_delivery\\_systems](http://dolcera.com/wiki/index.php?title=Smart_miniature_drug_delivery_systems). Accessed Januar 2014.
- (47) Shen Y, Qian W. Irrigation in Endodontics<br /> IRRIGATION SAFETY VS. EFFECTIVENESS IRRIGATION SAFETY VS. EFFECTIVENESS IRRIGATION SAFETY VS. EFFECTIVENESS IRRIGATION SAFETY VS. EFFECTIVENESS. Available at: <http://www.richmondinstitute.com/article/endodontics/irrigation-in-endodontics/6>. Accessed Januar 2014.
- (48) Edsberg B, Herly D, Hildebrandt P, Kuhl C. Insulin bolus given by sprinkler needle: effect on absorption and glycaemic response to a meal. Br Med J (Clin Res Ed) 1987 May 30;294(6584):1373-1376.
- (49) Minimed 712 und 512. Available at: [http://www.minimed.de/produkte/gross/712\\_512\\_g.jpg](http://www.minimed.de/produkte/gross/712_512_g.jpg).
- (50) Widner M. Geschichte der Insulinpumpentherapie. 2006; Available at: <http://www.diabetes-index.de/allgemein/geschichte/geschichte-der-insulinpumpentherapie>. Accessed Januar 2014.
- (51) Owen C. Insulinpump 1980. Available at: <http://www.knoxnews.com/photos/2008/oct/31/40471/>. Accessed Januar 2014.
- (52) Lancet. Mill Hill Infuser (1976), the first portable insulin infusion pump, made at the National Institute for Medical Research, based in Mill Hill, London, UK. Available at: <http://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140673612609696/images?imgeld=fx1&sectionType=lightBlue&hasDownloadImagesLink=false>. Accessed Januar 2014.
- (53) Ibelherr M. Insulinpumpe. 2010; Available at: <http://www.diabetes-ratgeber.net/Diabetes/Insulinpumpe-27672.html>. Accessed Januar 2014.
- (54) Ruhnau K-. Rubrik: Insulinpumpen-Serie. Diabetes-Journal, 1999;47(5):36-41.
- (55) Katz A, Nambi SS, Mather K, Baron AD, Follmann DA, Sullivan G, et al. Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2000;85(7):2402-2410.
- (56) Brehm A, Roden M. Glucose clamp techniques. : John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, USA; 2007.
- (57) Brehm A, Roden M. Glucose clamp techniques. : John Wiley & Sons Ltd, West Sussex, USA; 2007.
- (58) DeFronzo RA, Tobin JD, Andres R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. Am J Physiol 1979 Sep;237(3):E214-23.

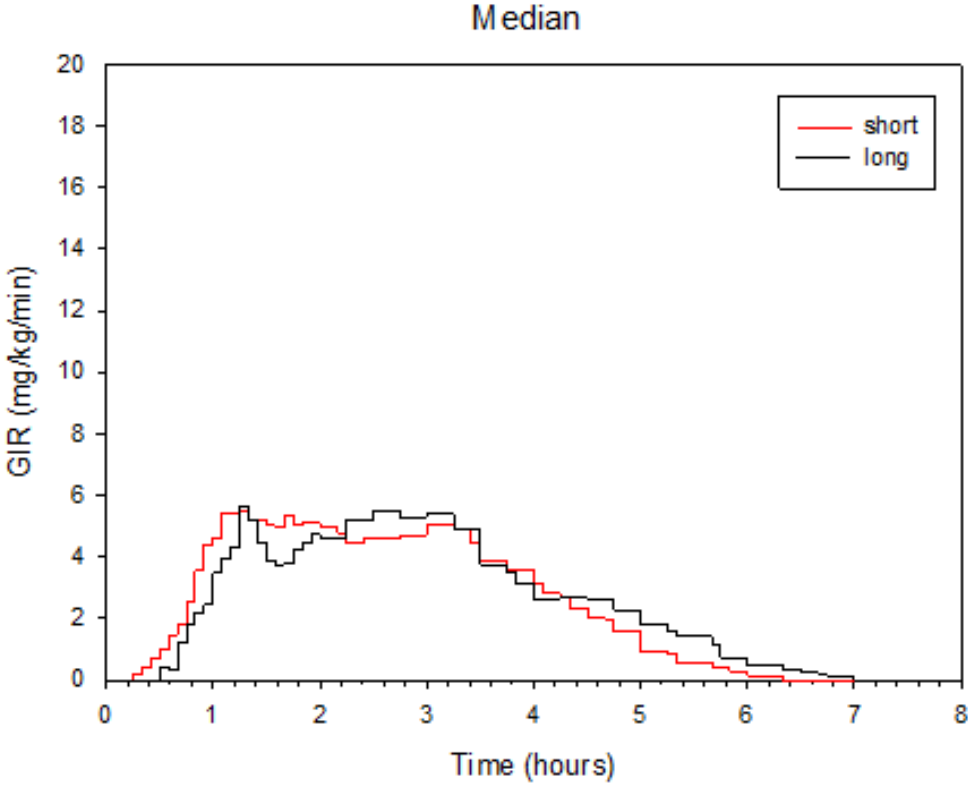
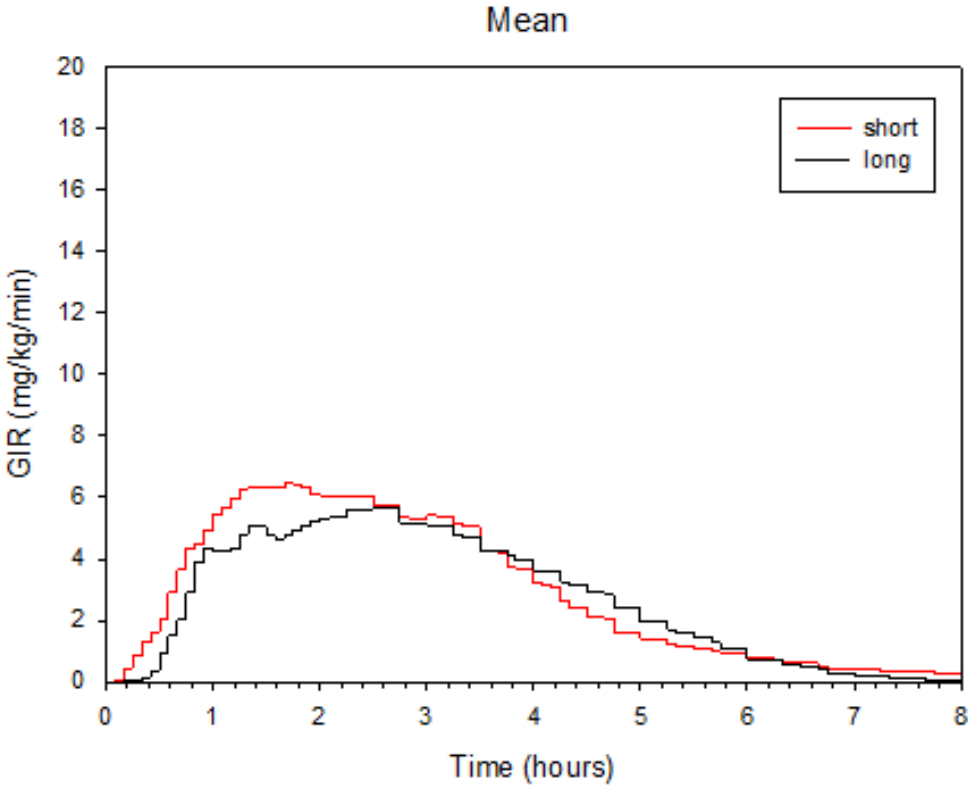
- (59) Ranganath M, Michael J. Assessing Insulin Sensitivity and Resistance in Humans. 2009; Available at: <http://diabetesmanager.pbworks.com/w/page/17680151/Assessing%20Insulin%20Sensitivity%20and%20Resistance%20in%20Humans>. Accessed Januar 2014.
- (60) Müller G. GL2\_2010\_03\_V10\_9\_deutsch. 2010; Available at: [http://www.glucose-diagnostics.com/GL2\\_2010\\_03\\_V10\\_9\\_deutsch.pdf](http://www.glucose-diagnostics.com/GL2_2010_03_V10_9_deutsch.pdf). Accessed Januar 2014.
- (61) Home P. The pharmacokinetics and pharmacodynamics of rapid-acting insulin analogues and their clinical consequences. Diabetes, Obesity and Metabolism 2012;14(9):780-788.
- (62) Muller N, Frank T, Kloos C, Lehmann T, Wolf G, Muller UA. Randomized crossover study to examine the necessity of an injection-to-meal interval in patients with type 2 diabetes and human insulin. Diabetes Care 2013 Jul;36(7):1865-1869.
- (63) Muchmore DB, Vaughn DE. Review of the mechanism of action and clinical efficacy of recombinant human hyaluronidase coadministration with current prandial insulin formulations. Journal of diabetes science and technology 2010;4(2):419-428.
- (64) HCP. Artificial-Pancreas-Provides-Tight-Glucose-Control-in-Youth. 2013; Available at: <http://www.hcplive.com/articles/Artificial-Pancreas-Provides-Tight-Glucose-Control-in-Youth>. Accessed Januar 2014.
- (65) [www.diabeteshealth.com](http://www.diabeteshealth.com). Insulin Pumps. Diabetes Health. Available at: <http://diabeteshealth.com/media/pdfs/PRG0113/InsulinPumps.pdf>. Accessed Januar 2014.
- (66) Secher-Hansen E. Studies on the Subcutaneous Absorption in Mice VII: Absorption of  $^3\text{H}_2\text{O}$  and  $^{14}\text{C}$ -sucrose from Non-buffered Solutions at Different pH Values. Acta Pharmacol Toxicol 1970;28(2):97-101.
- (67) Hildebrandt P, Sestoft L, Nielsen SL. The absorption of subcutaneously injected short-acting soluble insulin: influence of injection technique and concentration. Diabetes Care 1983 Sep-Oct;6(5):459-462.
- (68) Scherbaum W. Neue Behandlung mit Insulin-Pumpe und Glukose-Sensor bringt mehr Sicherheit. 2012; Available at: <http://www.diabetes-deutschland.de/news313.html>. Accessed Januar 2014.
- (69) Ly TT, Nicholas JA, Retterath A, Davis EA, Jones TW. Analysis of glucose responses to automated insulin suspension with sensor-augmented pump therapy. Diabetes Care 2012 Jul;35(7):1462-1465.
- (70) Bergenstal RM, Tamborlane WV, Ahmann A, Buse JB, Dailey G, Davis SN, et al. Sensor-augmented pump therapy for A1C reduction (STAR 3) study: results from the 6-month continuation phase. Diabetes Care 2011 Nov;34(11):2403-2405.

(71) Slover RH, Welsh JB, Criego A, Weinzimer SA, Willi SM, Wood MA, et al. Effectiveness of sensor-augmented pump therapy in children and adolescents with type 1 diabetes in the STAR 3 study. *Pediatric diabetes* 2012;13(1):6-11.

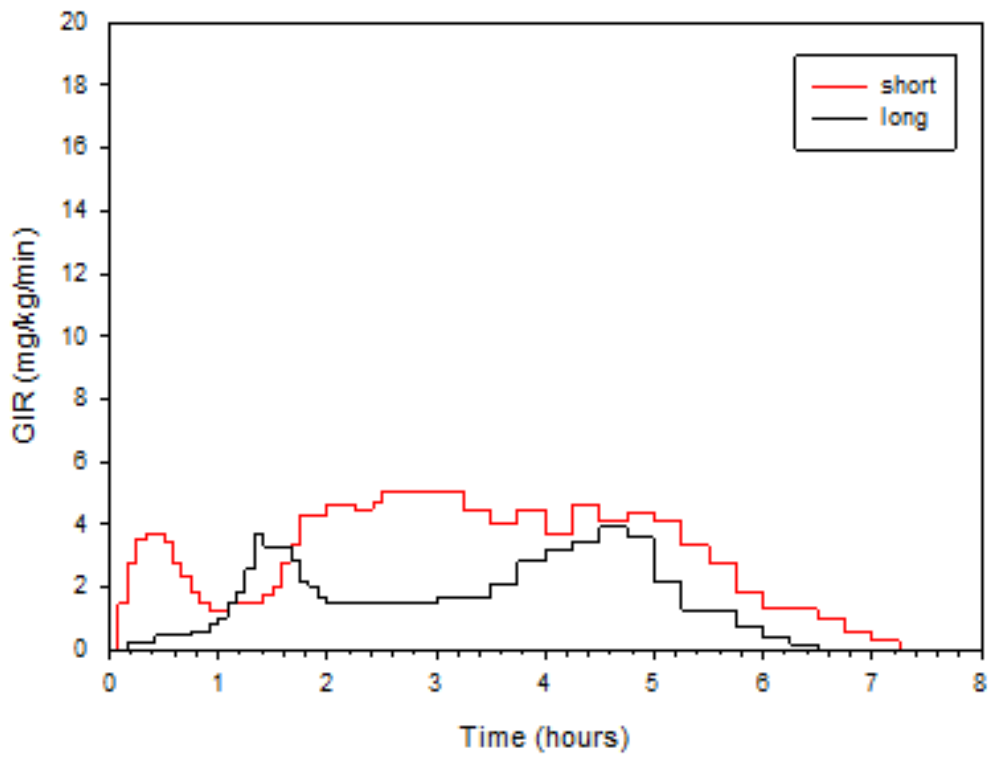
(72) Danne T, Kordonouri O, Holder M, Haberland H, Golembowski S, Remus K, et al. Prevention of hypoglycemia by using low glucose suspend function in sensor-augmented pump therapy. *Diabetes technology & therapeutics* 2011;13(11):1129-1134.

(73) Mader JK, Birngruber T, Korsatko S, Deller S, Kohler G, Boysen S, et al. Enhanced absorption of insulin aspart as the result of a dispersed injection strategy tested in a randomized trial in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* 2013 Apr;36(4):780-785.

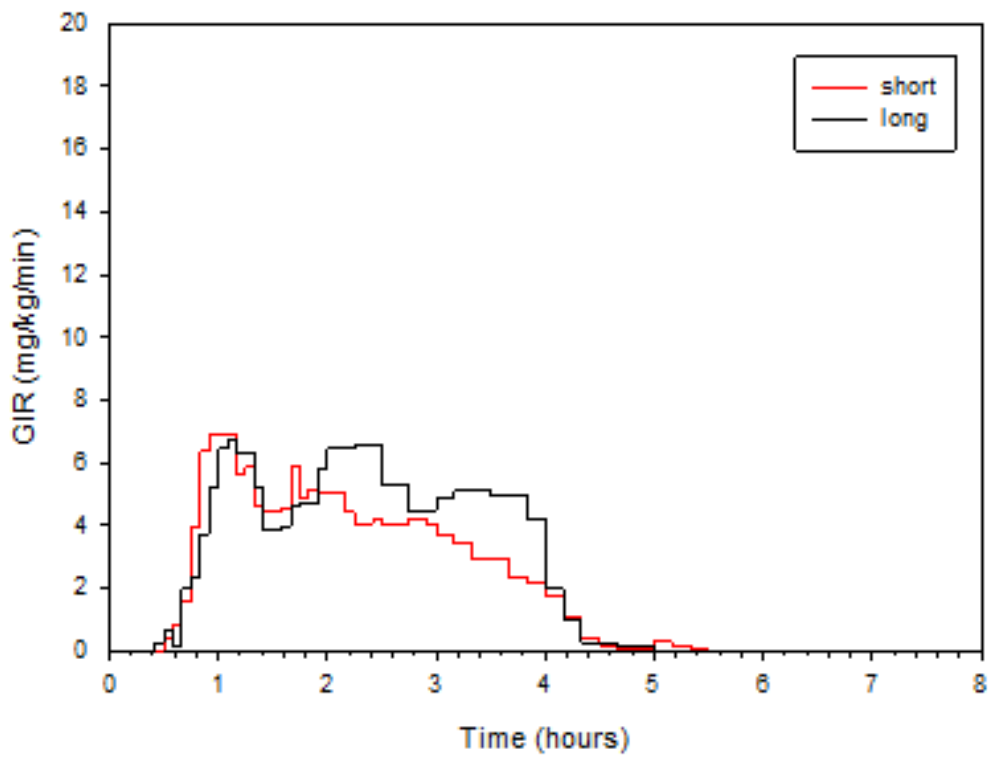
# 8. Anhang



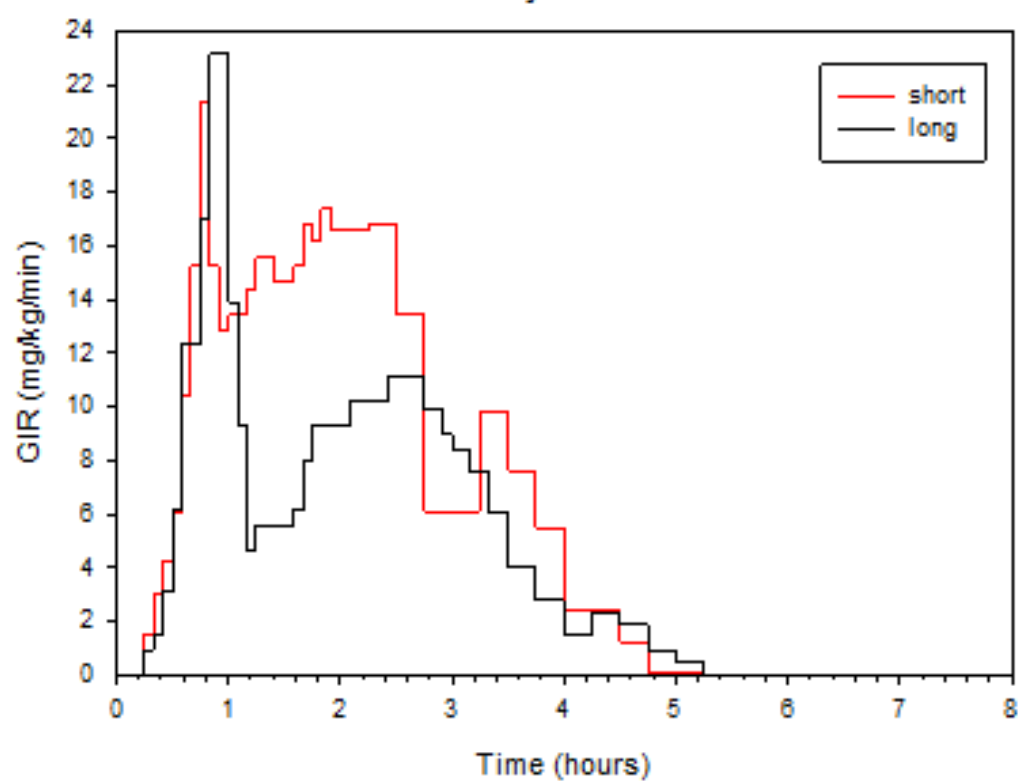
Subject 001



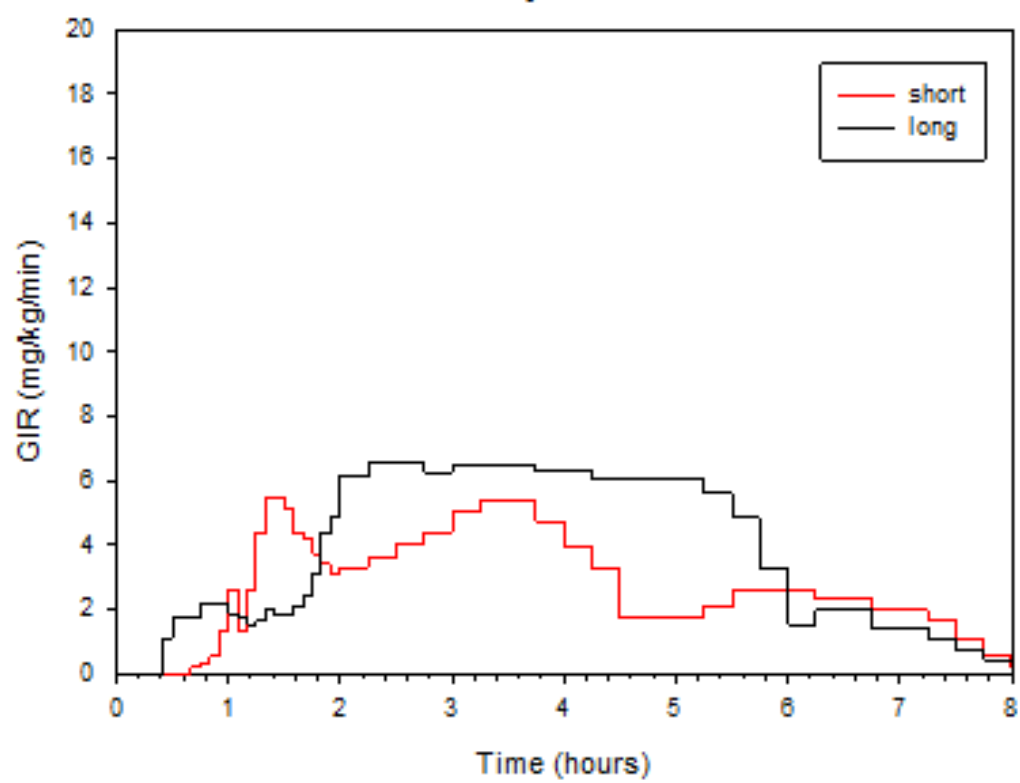
Subject 003



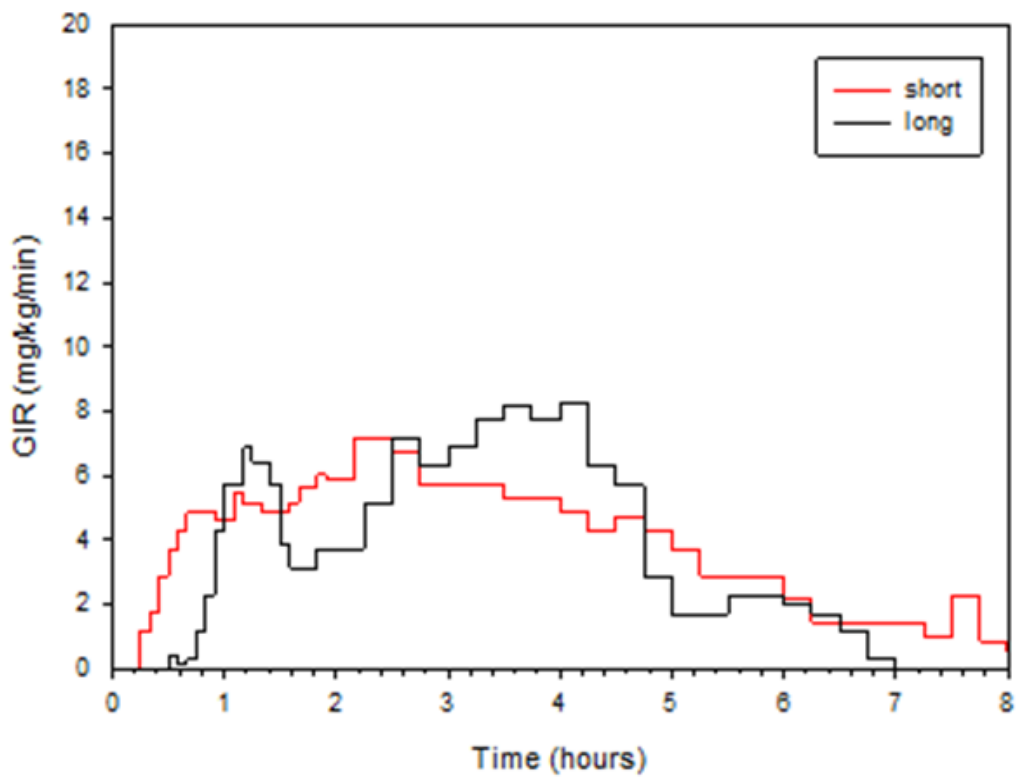
Subject 004



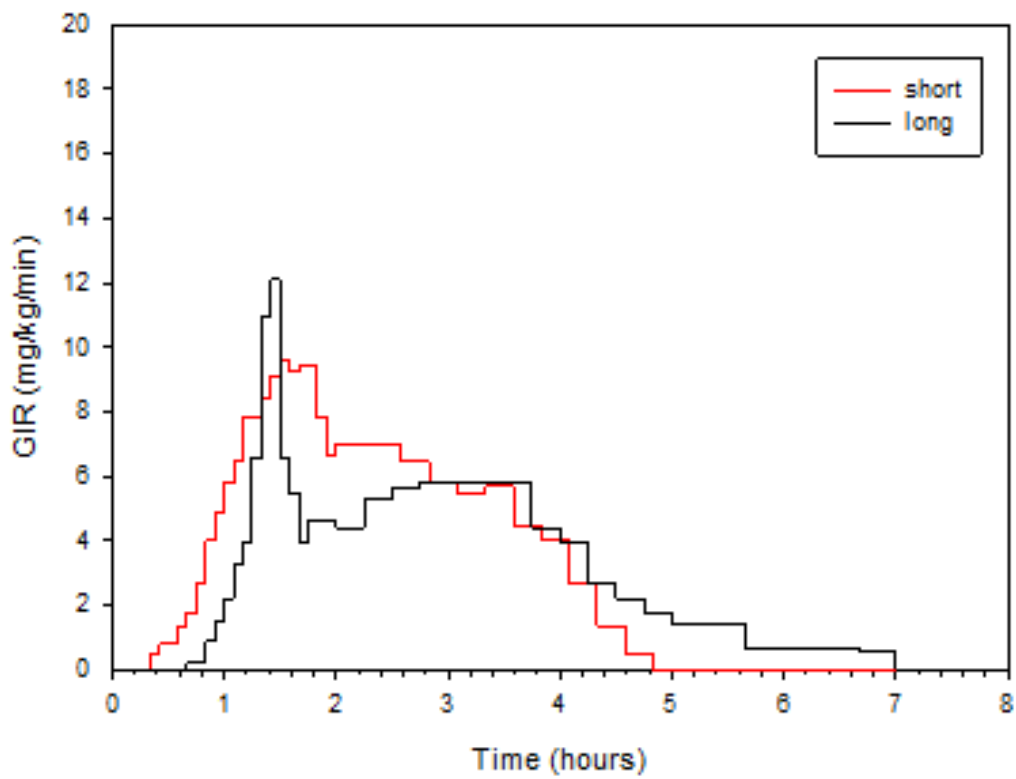
Subject 005



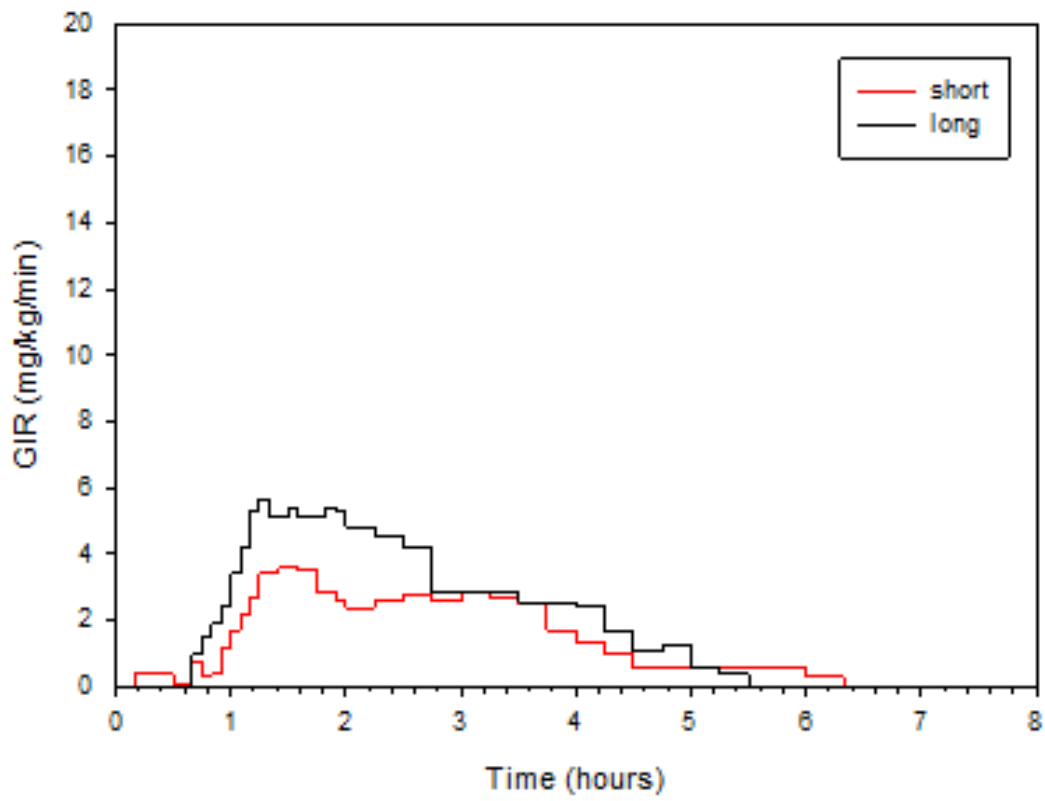
Subject 006



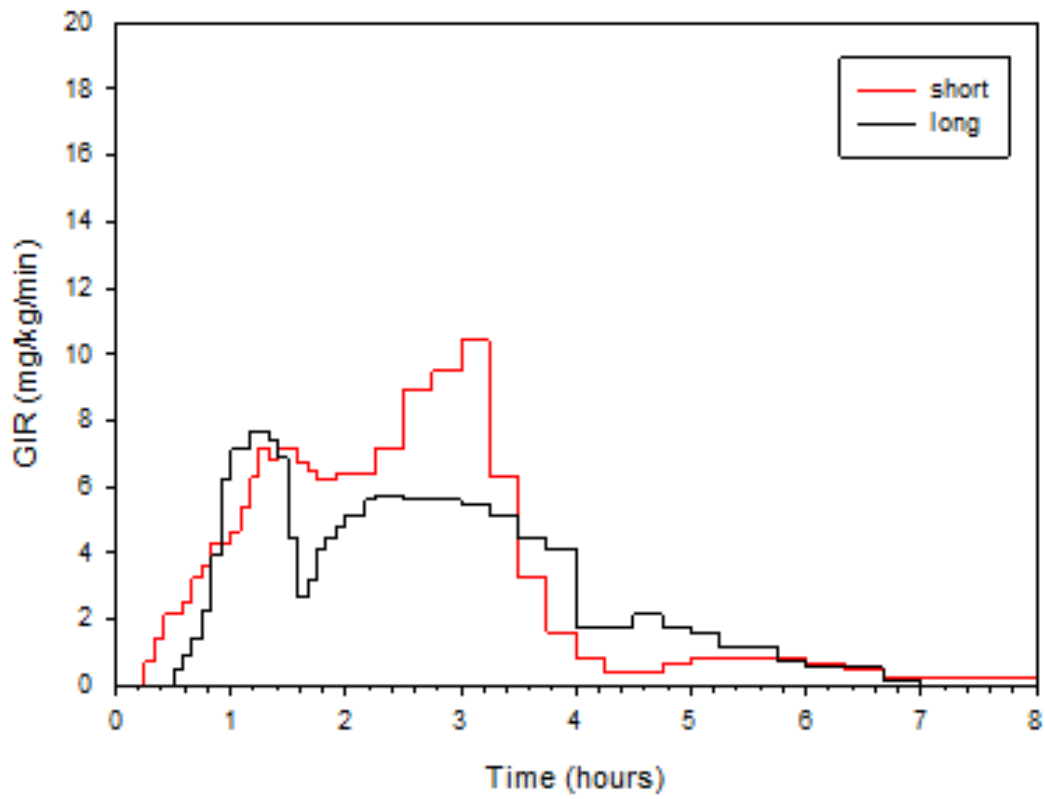
Subject 007



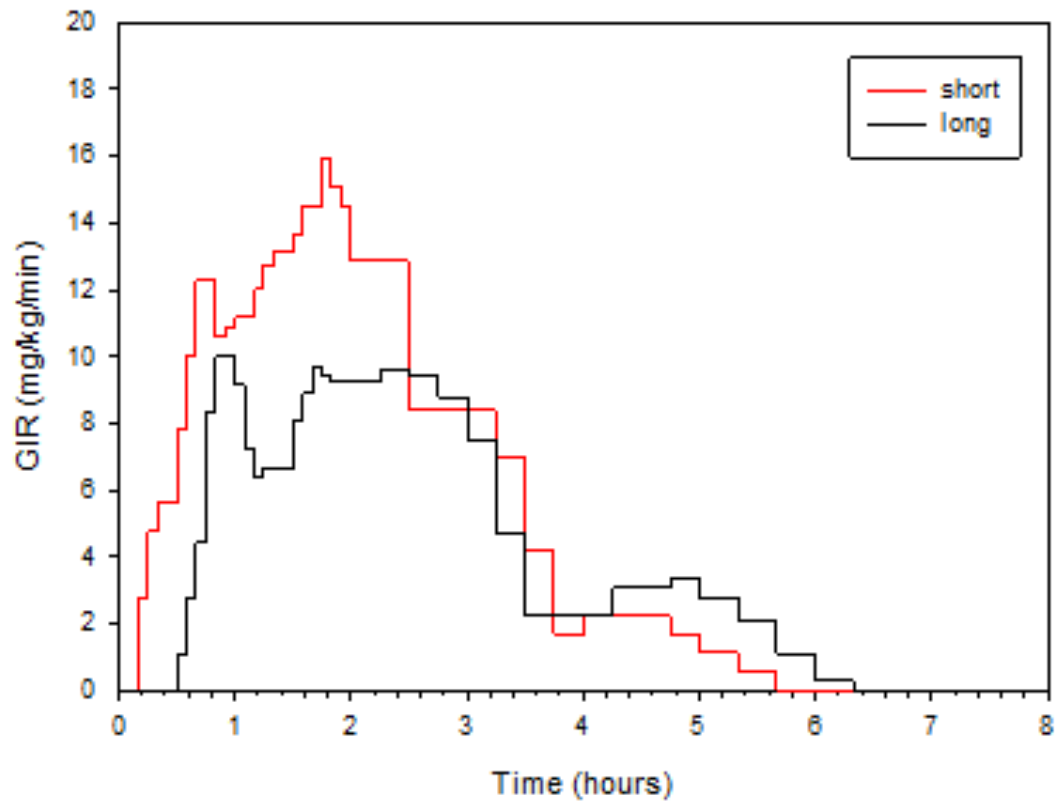
Subject 008



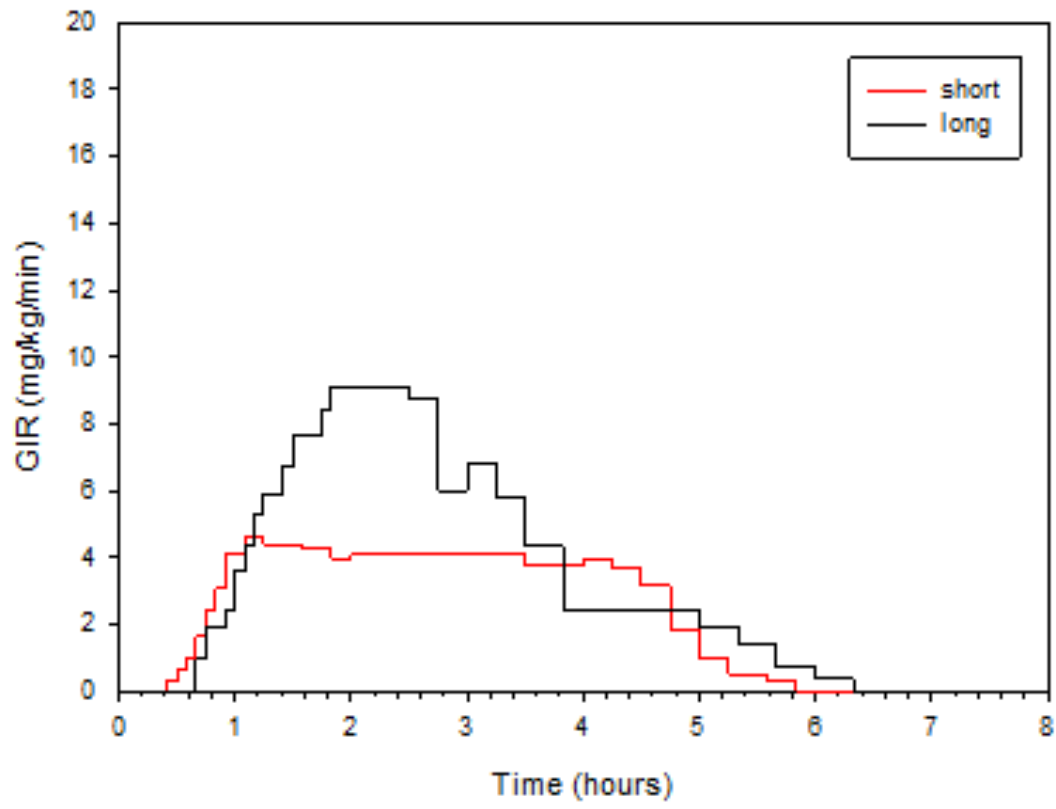
Subject 009



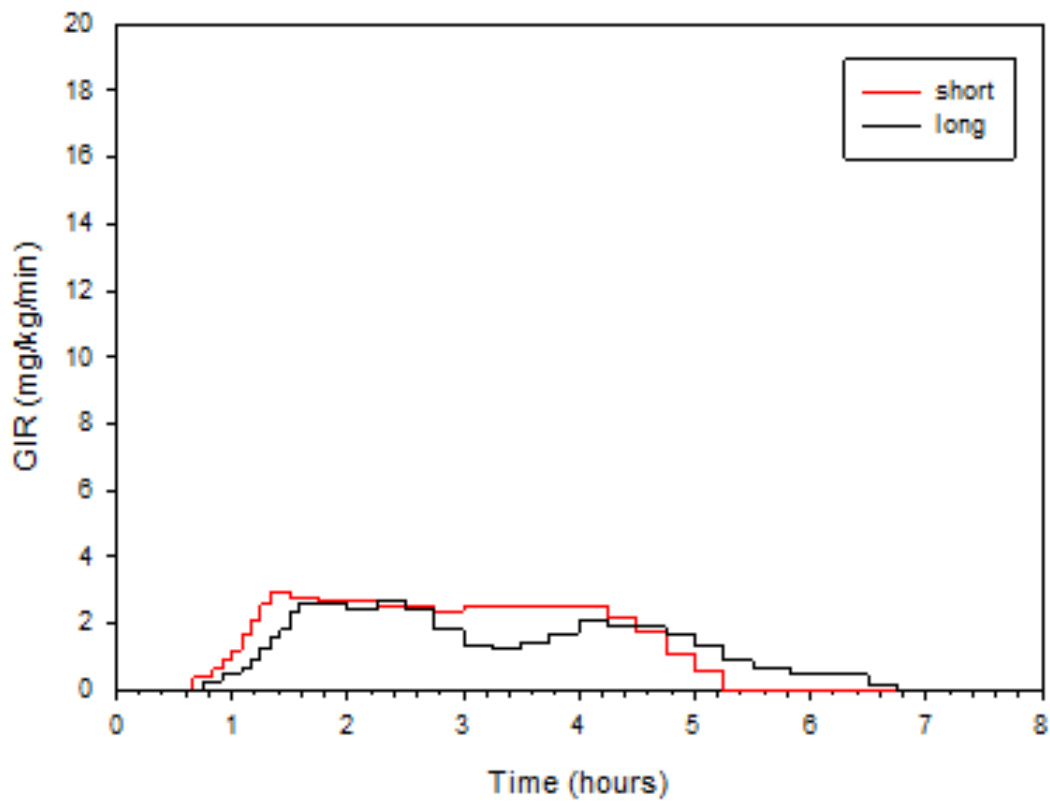
Subject 010



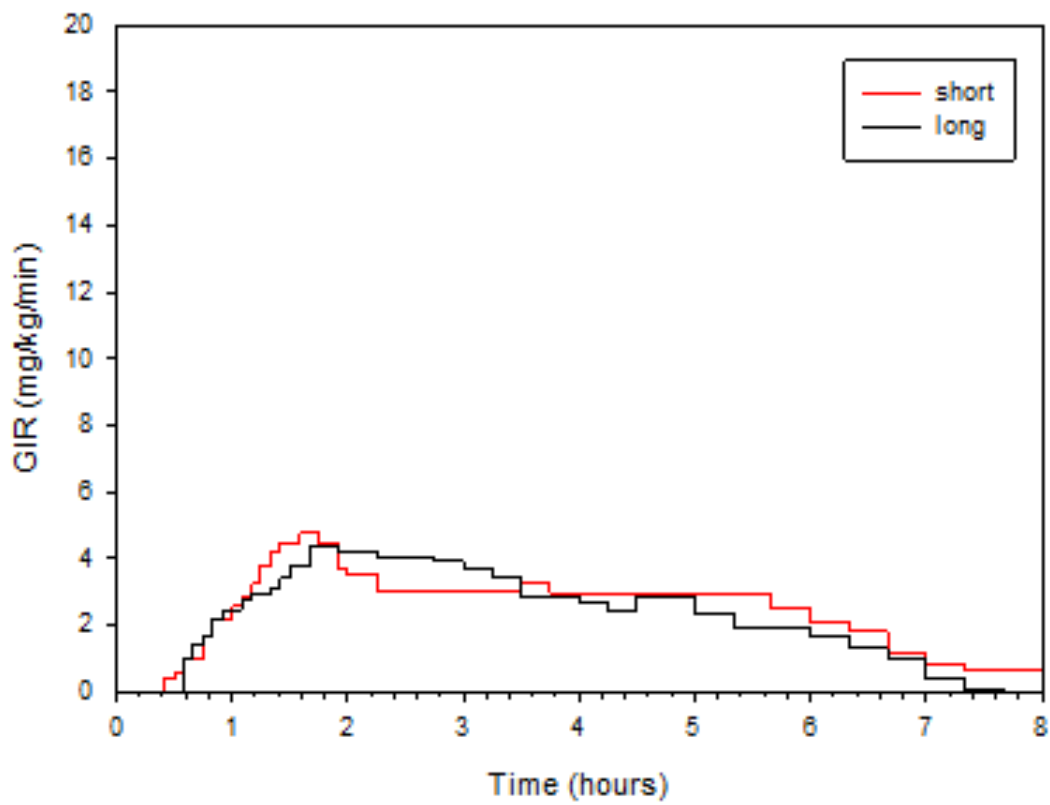
Subject 011



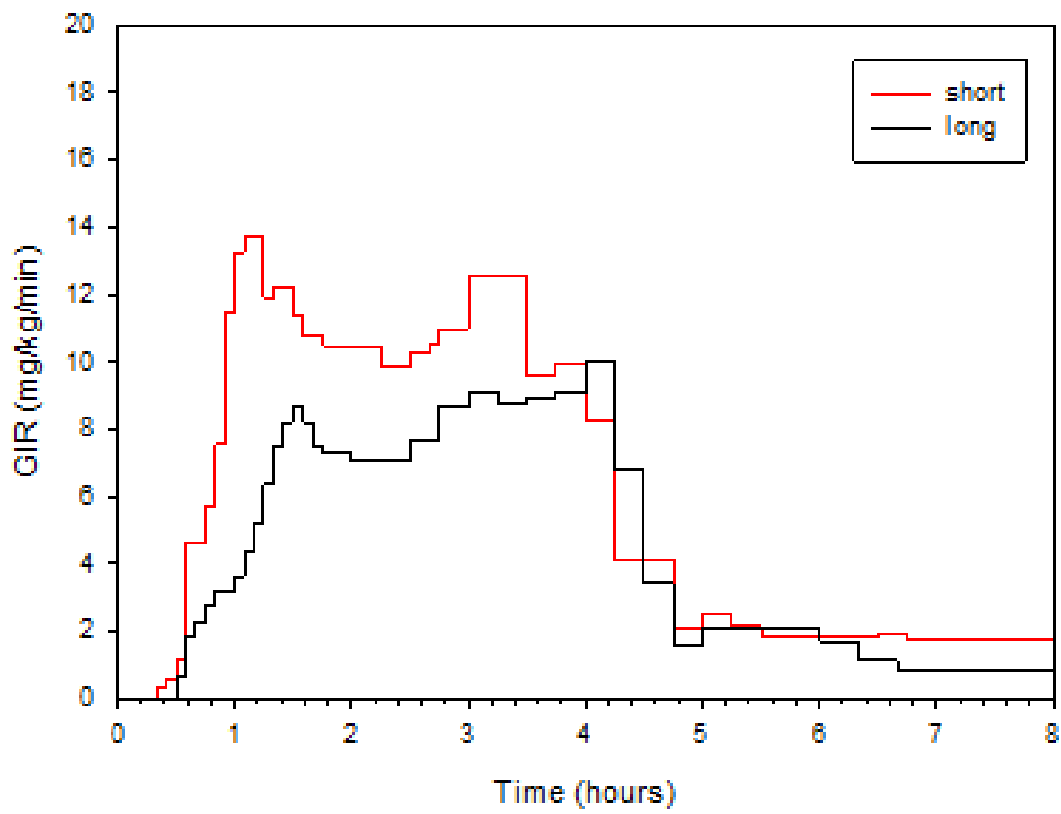
Subject 012



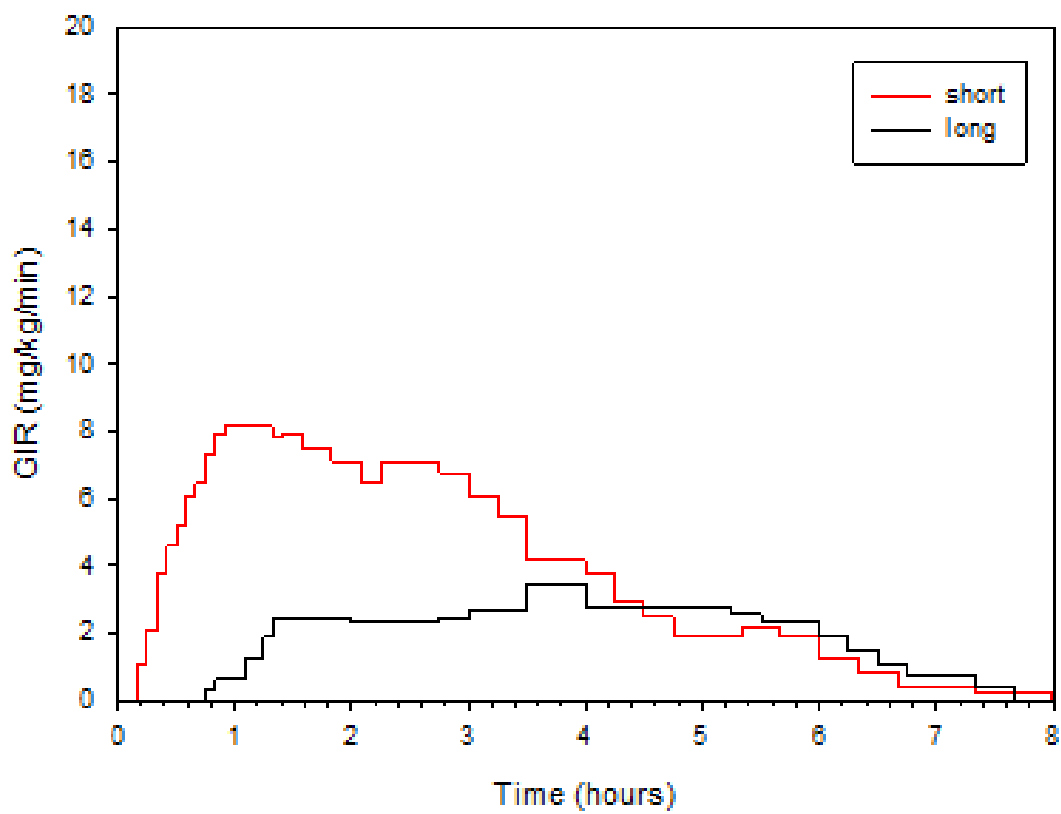
Subject 013



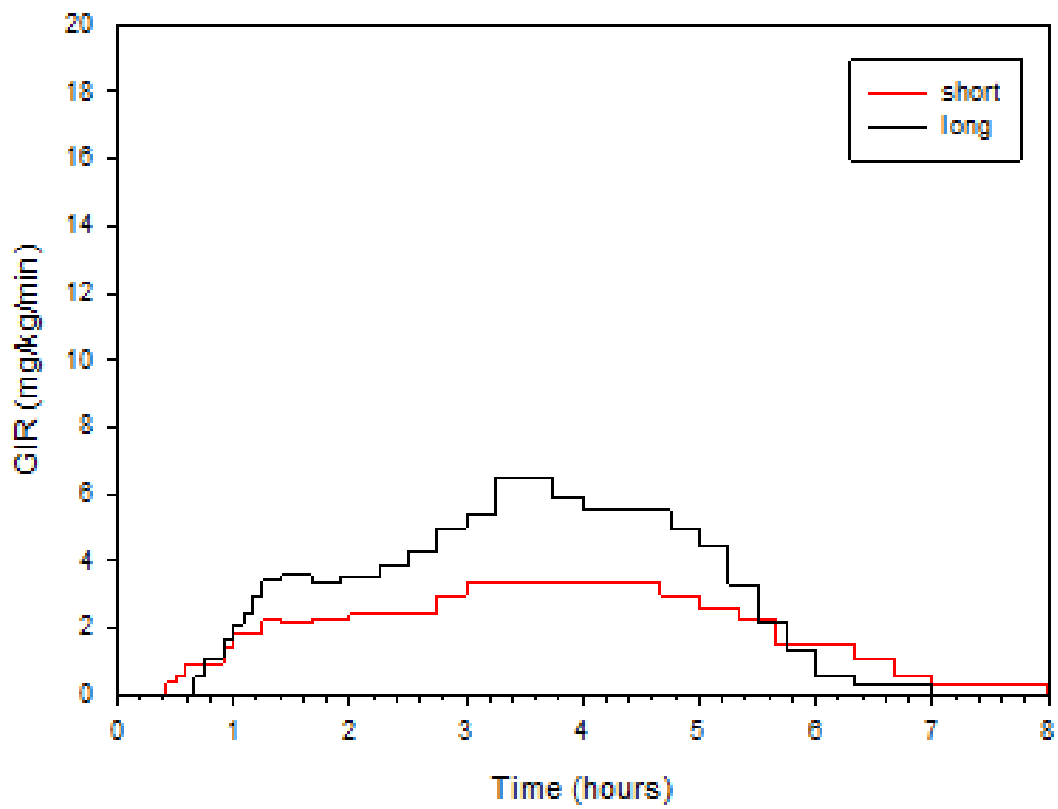
Subject 015



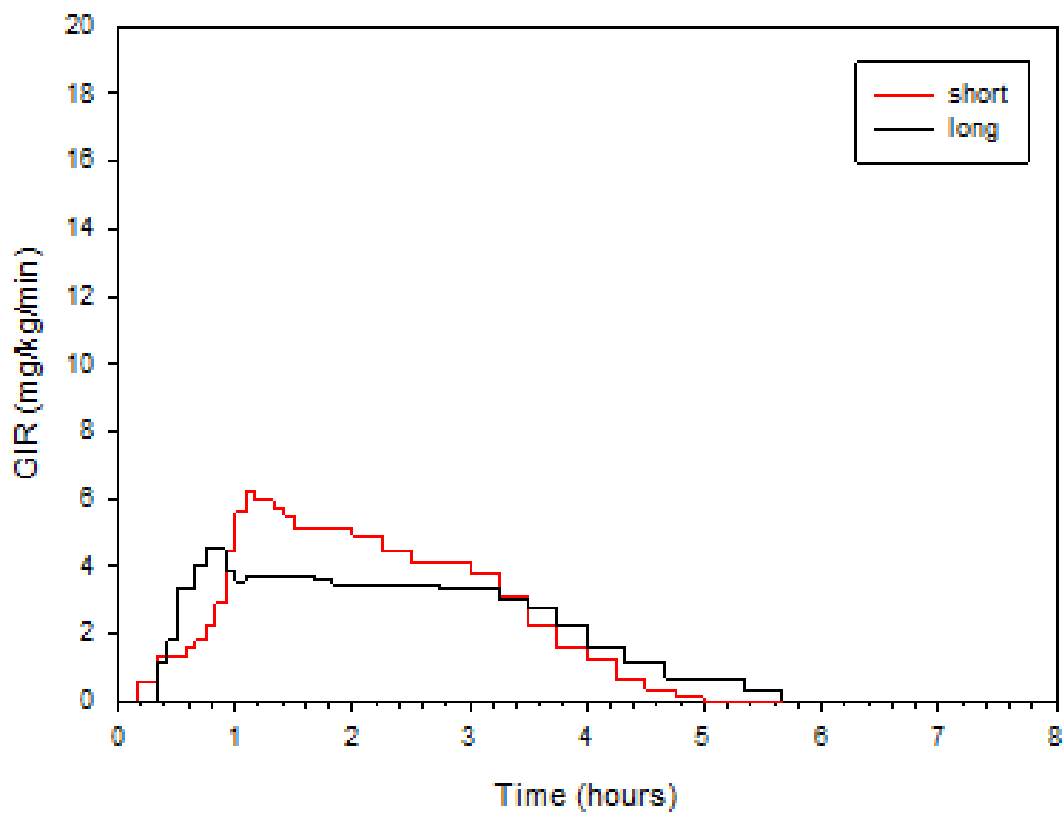
Subject 016



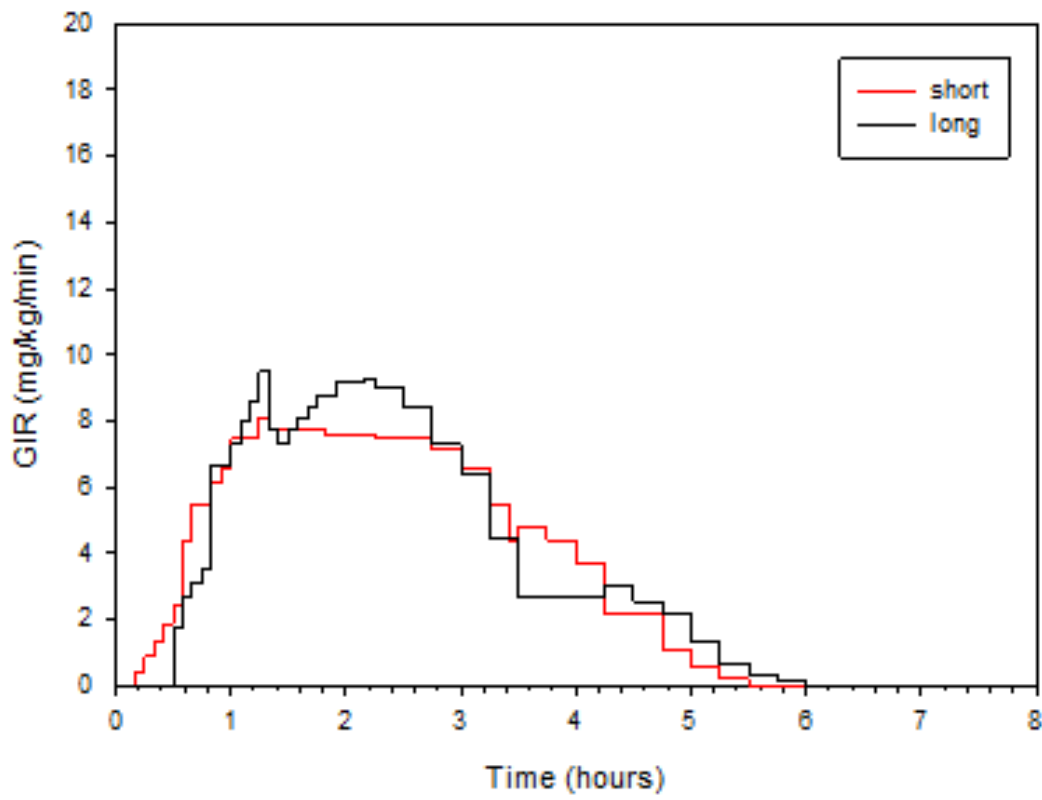
Subject 017



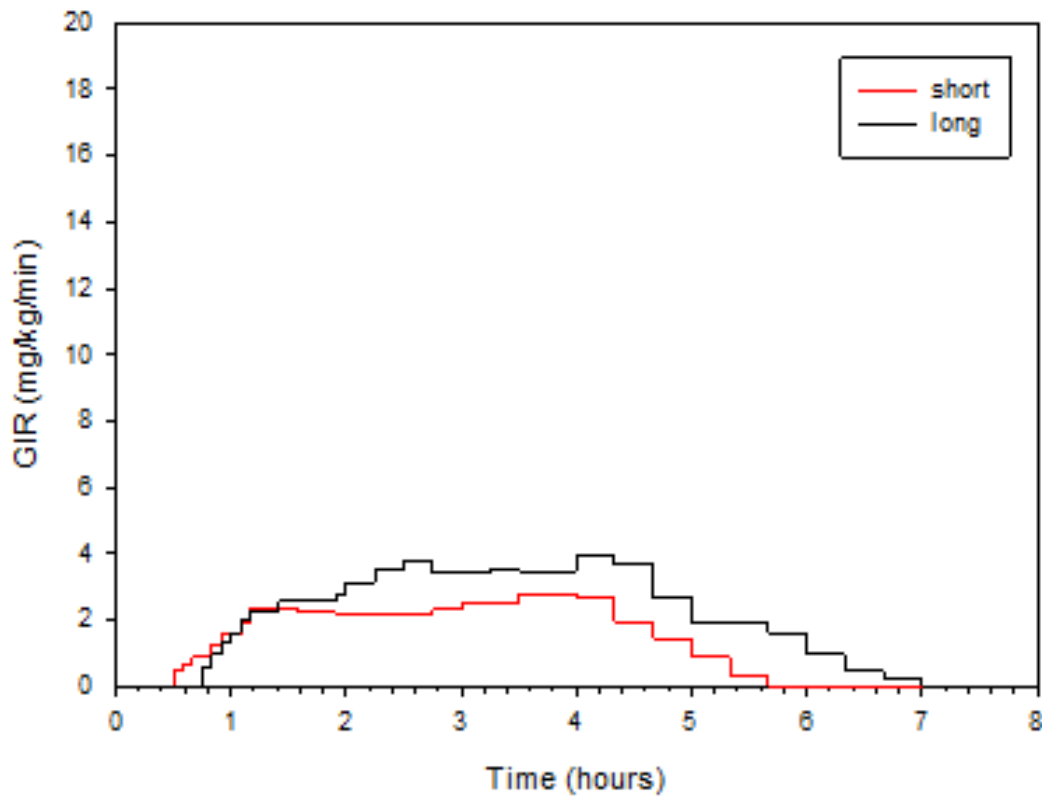
Subject 018



Subject 019



Subject 020



**Tabelle 3**

	DOB	DateVisit	Alter	BMI	Hb1c	Geschlecht	Erstmanifestation	Diabetisdauer	Therapieform
S01	29.08.1972	25.07.2011	38	28,1	8,7	m	01.07.1989	22	CSII
S02	18.04.1968	28.07.2011	43	27,2	6,6	m	01.01.2006	5	MDI
S03	26.04.1977	28.07.2011	34	22,9	7,4	w	01.01.1996	15	MDI
S04	06.05.1965	29.07.2011	46	21,8	7,8	w	01.01.1976	35	MDI
S05	20.04.1963	10.08.2011	48	25,6	8,2	m	01.10.1976	34	MDI
S06	11.04.1971	10.08.2011	40	20,1	7,7	w	10.04.1997	14	MDI
S07	12.08.1961	18.07.2011	49	25,4	7,8	m	01.01.1977	34	MDI
S08	19.01.1971	10.08.2011	40	29,3	8,6	m	01.01.1989	22	MDI
S09	10.11.1969	14.09.2011	41	25,5	7,3	m	01.01.2005	6	CSII
S10	06.11.1956	14.09.2010	53	21,2	6,1	w	01.01.1979	31	MDI
S11	05.04.1980	15.09.2011	31	23,7	7,1	m	23.02.2005	6	CSII
S12	11.02.1989	15.09.2011	22	29,3	7,2	m	01.02.2007	4	CSII
S13	23.07.1983	23.09.2011	28	23,9	6,4	m	01.01.2003	8	MDI
S14	26.02.1980	26.09.2011	31	25,7	6,7	w	01.01.1984	27	CSII
S15	26.02.1984	27.09.2011	27	22,7	5,4	m	01.12.2008	2	MDI
S16	16.05.1969	29.09.2011	42	25,2	8,5	w	01.01.2002	9	MDI
S17	14.06.1964	29.09.2011	47	24,6	7,9	m	01.01.1995	16	MDI
S18	10.11.1965	29.09.2011	45	23,8	7,8	m	01.01.1978	33	MDI
S19	04.12.1965	29.09.2011	45	23,6	7,8	m	01.01.1972	39	MDI
S20	25.07.1960	30.09.2011	51	25,9	8,2	m	01.01.1980	31	MDI
S21	12.05.1965	11.10.2011	46	27,2	6,7	m	01.01.1978	33	MDI
S22	02.06.1965	13.10.2011	46	28,3	7,3	m	01.01.1992	19	MDI
	Mean		40,95	24,905	7,495			20,65	
	SD		8,54384974	2,60171502	0,85068084			12,29580587	
	SE		1,91046288	0,58176116	0,19021802			2,749425777	
	<b>Exkludierte</b>	<b>Patienten</b>							
	MIN		22	20,1	5,4	Männer: 15		2	CSII: 4
	MAX		53	29,3	8,7	Frauen: 5		39	MDI: 16

**Tabelle 4**

Subject No.	GIR <sub>max</sub> (mg/kg/min)		GIR <sub>10%</sub> (mg/kg/min)		GIR <sub>50%</sub> (mg/kg/min)	
	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus
1	5,02	3,94	0,502	0,394	2,51	1,97
3	6,86	6,7	0,686	0,67	3,43	3,35
4	21,34	23,15	2,134	2,315	10,67	11,575
5	5,48	6,59	0,548	0,659	2,74	3,295
6	7,16	8,29	0,716	0,829	3,58	4,145
7	9,58	12,09	0,958	1,209	4,79	6,045
8	3,6	5,67	0,36	0,567	1,8	2,835
9	10,4	7,66	0,717	0,766	3,585	3,83
10	15,92	9,72	1,592	0,972	7,96	4,86
11	4,59	9,13	0,459	0,913	2,295	4,565
12	2,93	2,7	0,293	0,27	1,465	1,35
13	4,75	4,35	0,475	0,435	2,375	2,175
15	13,73	10,02	1,373	1,002	6,865	5,01
16	8,13	3,48	0,813	0,348	4,065	1,74
17	3,33	6,45	0,333	0,645	1,665	3,225
18	6,26	4,5	0,626	0,45	3,13	2,25
19	8,11	9,51	0,811	0,951	4,055	4,755
20	2,8	3,94	0,28	0,394	1,4	1,97
21	6,16	6	0,61	0,6	3,08	3
22	3,54	4,63	0,354	0,463	1,77	2,315
<b>Group Mean</b> (mg/kg/min)	7,4	7,4	0,74	0,74	0,37	0,37
<b>SE</b> (mg/kg/min)	1	1	0,1	0,1	0,5	0,5
<b>Median</b> (mg/kg/min)	6,2	6,5	0,62	0,65	3,1	3,25
<b>IQ</b> (mg/kg/min)	3,8;9,2	4,3;9,4	0,38;0,92	0,43;0,94	1,75;4,6	2,15;4,7
<b>T-Test</b> (P value)	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9	0,9
<b>Wilcoxon Test</b> (P value)	0,7	0,7	0,4	0,4	0,4	0,4

**Tabelle 5**

Subject No.	T <sub>GIRmax</sub> (min)		T <sub>GIR10%</sub> (min)		T <sub>GIR50%</sub> (min)	
	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus
1	150	270	3	21	92	208
3	55	65	32	31	44	49
4	45	50	16	21	36	35
5	80	135	49	21	61	106
6	130	240	11	43	29	56
7	90	85	33	54	54	74
8	85	75	9	39	61	58
9	75	70	16	34	45	49
10	105	100	3	28	31	41
11	65	110	26	39	44	68
12	80	135	36	44	64	78
13	95	100	27	32	58	50
15	65	90	29	32	47	65
16	55	80	8	41	22	63
17	180	195	18	42	57	74
18	65	45	16	16	51	27
19	75	75	14	26	32	46
20	210	240	25	41	53	64
21	60	110	41	50	52	57
22	195	225	42	62	64	79
Group Mean (min)	98	124	22,7	35,8	49,8	67,3
SE (min)	10,9	15,6	2,9	2,6	3,5	8,3
Median (min)	80	100	21,5	36,5	51,5	60,5
IQ (min)	65;123	75;180	11,7;32,7	26,5;42,7	38;60,2	49;74
T-Test (P value)	0,004	0,004	0,005	0,005	0,04	0,04
Wilcoxon Test (P value)	0,002	0,002	0,003	0,003	0,04	0,04

**Tabelle 6**

Subject No.	T <sub>GIR30min</sub> (mg/kg/min)		T <sub>GIR60min</sub> (mg/kg/min)		T <sub>GIR120min</sub> (mg/kg/min)	
	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus
1	3,44	0,46	1,21	1,01	4,65	1,47
3	0,37	0,62	6,86	6,45	5,02	6,45
4	6,1	6,17	13,41	13,89	16,59	9,26
5	0	1,76	2,63	1,87	3,29	6,15
6	3,72	0,43	4,58	5,71	5,87	3,71
7	0,78	0	5,79	2,2	7,02	4,4
8	0,09	0	1,7	3,4	2,37	4,82
9	2,15	0,45	4,66	7,13	6,36	5,17
10	7,82	1,11	11,17	9,17	12,85	9,22
11	0,61	0	4,08	3,61	4,08	9,13
12	0	0	1,19	0,5	2,66	2,43
13	0,57	0	2,57	2,46	3,52	4,2
15	1,14	0,68	13,27	3,64	10,48	7,06
16	5,21	0	8,13	0,63	7,08	2,32
17	0,56	0	1,85	2,12	2,41	3,5
18	1,34	3,38	5,59	3,56	4,88	3,45
19	2,41	1,77	7,46	7,3	7,57	9,18
20	0,48	0	1,55	1,61	2,13	3,13
21	0	0	4,97	3	3,28	5,2
22	0,25	0	1,52	0,34	2,27	3,87
Group Mean (mg/kg/min)	1,8	0,8	5,2	3,9	5,7	5,2
SE (mg/kg/min)	0,5	0,3	0,8	0,7	0,8	0,5
Median(mg/kg/min)	0,6	0,2	4,6	3,2	4,7	4,6
IQ (mg/kg/min)	0,2;3,1	0;1	1,7;7,3	1,6;6,2	2,8;7	3,4;6,9
T-Test(P value)	0,04	0,04	0,07	0,07	0,4	0,4
Wilcoxon Test (P value)	0,01	0,01	0,06	0,06	0,5	0,5

**Tabelle 7**

Subject No.	AUC <sub>GIRtotal</sub> (mg/kg)		AUC <sub>GIR0-TGIRmax</sub> (mg/kg)	
	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus
1	1350,05	684,05	429,65	480,8
3	892,7	1061,45	65,55	109,8
4	2687,9	2001,65	202,75	267,5
5	1293,4	1802,3	66,95	303,5
6	1838,6	1665,5	539,35	1121,15
7	1362,3	1269,9	310,75	149,5
8	591,35	852,8	71	98,3
9	1428,75	1241,1	203,4	147,1
10	2336,05	1776,05	993,9	482
11	1024,4	1471,7	86,2	352,1
12	579,95	522,7	49,05	151,9
13	1146	1063	172,55	169,2
15	2803,85	2044,05	245,95	245,95
16	1789,15	869,3	221,85	33,25
17	907,75	1339	309,95	543,55
18	880,35	815,6	118,55	68,7
19	1542,85	1561,5	286,8	241,15
20	593,35	918,1	365,15	573,1
21	1309,1	1374,3	37,8	236
22	763,7	1081,3	352,55	619,3
Group				
Mean (mg/kg)	1356	1270	256	319
SE (mg/kg)	147	98	49	57
Median (mg/kg)	1301	1255	212	243
IQ (mg/kg)	883;1727	881;1639	74,8;342	147;481
T-Test <sub>(P value)</sub>	0,3	0,3	0,2	0,2
Wilcoxon Test <sub>(P value)</sub>	0,5	0,5	0,1	0,1

**Tabelle 8**

Subject No.	T <sub>GIR10%AUC(min)</sub>		T <sub>GIR50%AUC(min)</sub>	
	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus
1	55	83	200	226
3	58	65	125	142
4	48	46	118	124
5	92	114	214	227
6	64	80	188	203
7	68	83	136	173
8	77	73	157	139
9	65	67	152	157
10	44	60	117	143
11	68	83	167	152
12	83	96	172	185
13	82	83	213	190
15	67	85	170	190
16	50	102	145	234
17	90	97	223	215
18	60	48	123	137
19	57	65	137	137
20	76	95	182	207
21	79	90	201	193
22	92	103	203	207
Group				
Mean <sub>(min)</sub>	68	80	167	179
SE <sub>(min)</sub>	3,2	4	7,7	7,8
Median <sub>(min)</sub>	67,5	83	168	187
IQ <sub>(min)</sub>	57,2;80,2	65,5;95,7	136;200	142;207
T-Test <sub>(P value)</sub>	0,006	0,006	0,04	0,04
Wilcoxon Test <sub>(P value)</sub>	0,003	0,003	0,04	0,04

**Tabelle 9**

Subject No.	AUC <sub>GIR0-30min</sub> (mg/kg)		AUC <sub>GIR0-60min</sub> (mg/kg)		AUC <sub>GIR0-120min</sub> (mg/kg)	
	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus	Short Bolus	Long Bolus
1	76,25	6,35	141,8	22,85	291,6	168,5
3	0	1,25	99,85	77,55	420,85	390,2
4	44,2	27,8	449,65	498,55	1367,9	958,5
5	0	5,5	12,1	64,9	241,3	211,25
6	28,7	0	164,75	42,9	480,65	330,65
7	6,15	0	83,55	14,3	571,95	359,45
8	7,6	0	21,3	34,05	200,25	335
9	21,5	0	121,85	75,8	505,05	413,55
10	93,6	0	413,4	183,3	1221,55	669,75
11	1,55	0	65,8	36	323,3	443,4
12	0	0	11,5	4,95	159,95	115,45
13	1,9	0	44,7	43,5	283,3	255,45
15	4,55	0	179,6	69,4	886,6	477,2
16	57,25	0	262,5	7,9	726,65	130,45
17	1,85	0	30,2	22,05	157,1	214,75
18	19	14,65	90,6	132,85	419,55	351,35
19	22,5	0	174,9	121,7	635,25	618,35
20	0	0	28,55	14,25	159,2	157
21	0	0	37,8	20	291,3	288
22	0,85	0	17,25	0	135,35	172,15
Group Mean (mg/kg)	19,3	2,7	122	74,3	473	353
SE (mg/kg)	6,1	1,5	28,1	24,7	77,8	46,7
Median(mg/kg)	5,35	0,2	87	39,4	371	332
IQ (mg/kg)	0,2;27,1	0;1	28,9;172	15,7;77,1	210,5;619	181;435
T-Test(P value)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
Wilcoxon Test (P value)	0,006	0,006	0,01	0,01	0,01	0,01