

**Kinderklinik und Poliklinik der Technischen Universität  
München  
Kinderklinik Schwabing**

# **Eignung der Subkutanen Mikrodialyse für die klinische Anwendung in der Pädiatrie**

**Alexandra Hack**

**Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen  
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines**

**Doktors der Medizin**

**genehmigten Dissertation.**

**Vorsitzender Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier**

**Prüfer der Dissertation 1. Priv.-Doz. Dr. F. A. M. Baumeister  
2. Univ.-Prof. Dr. U. Heemann**

**Die Dissertation wurde am 22.12.2006 bei der Technischen Universität  
München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 21.03.2007  
angenommen.**

*Für meinen Vater*



**Eignung der Subkutanen Mikrodialyse für die klinische Anwendung  
in der Pädiatrie**

---

Alexandra Hack

Teile dieser Dissertation wurden in folgenden Arbeiten veröffentlicht:

*Original-Arbeiten in peer reviewed journals*

1. **Hack A**, Busch V, Pascher B, Busch R, Bieger I, Gempel K, Baumeister FAM (2006):  
Monitoring of ketogenic diet for carnitine metabolites by subcutaneous microdialysis.  
Pediatr Res 60(1):93-96
2. Baumeister FAM, **Hack A**, Busch R (2006):  
Glucose-Monitoring with Continuous Subcutaneous Microdialysis in Neonatal Diabetes Mellitus.  
Klin Pädiatrie 218(4):230-232
3. **Hack A**, Busch V, Gempel K, Baumeister FAM (2005):  
Subcutaneous microdialysis for children - safe biochemical tissue monitoring based on a minimal traumatizing no touch insertion technique.  
Eur J Med Res 10: 419-425

*Buchbeiträge*

1. Baumeister FAM, Busch V, **Hack A**, Pascher B, Gempel K (2006):  
Biochemisches Therapie-Monitoring mittels subkutaner Mikro dialyse bei mitochondrialen Enzephalomyopathien.  
In: Aktuelle Neuropädiatrie 2005.  
Herausgeber D. Wenzel, R. Trollmann  
Novartis Pharma Verlag, Nürnberg, 2006, S. 48-54  
ISBN 3-933185-69-6
2. Baumeister FAM, **Hack A**, Liebhaber GM, Riemann E, Freisinger P, Gempel K (2005):  
Effektivität der Ketogenen Diät bei neurometabolischen Erkrankungen. In: Aktuelle Neuropädiatrie 2004.  
Herausgeber M. Steinlein, F. Kaufmann, K. Fuhrer, S. Strotzi  
Novartis Pharma Verlag, Nürnberg, 2005, S. 334-338  
ISBN 3-933185-64-5

*Kongreßbeiträge/ Publierte Abstracts*

1. Baumeister FAM, **Hack A**, Pascher B, Busch V, Gempel K(2005):  
Biochemical therapy monitoring with subcutaneous microdialysis in mitochondrial encephalomyopathies.  
31. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropädiatrie, Erlangen, 21.-23.04.2005.  
Neuropediatrics 36 (2): 129, V9

2. **Hack A**, Busch V, Pascher B, Gempel K, Baumeister FAM (2005):  
Changes in carnitine metabolism in children with intractable epilepsy under ketogenic diet, demonstrated by subcutaneous microdialysis.  
31. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropädiatrie, Erlangen, 21.-23.04.2005.  
Neuropediatrics 36 (2): 155, P73
3. **Hack A**, Busch V, Pascher B, Gempel K, Baumeister FAM (2005):  
Subcutaneous microdialysis - a safe and minimal-invasive method for biochemical tissue monitoring in mitochondrial diseases.  
31. Jahrestagung der Gesellschaft für Neuropädiatrie, Erlangen, 21.-23.04.2005.  
Neuropediatrics 36 (2): 141, P25
4. Pascher B, **Hack A**, Busch V, Gempel K, Baumeister FAM (2005):  
Monitoring des Carnitin-Stoffwechsels mittels subkutaner Mikrodialyse bei Kindern mit pharmakoresistenter Epilepsie unter ketogener Diät.  
101. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Bremen 29.9.-2.10.2005.  
Monatsschr Kinderheilkd 153, Suppl. 2: K025.05P
5. Busch V, **Hack A**, Pascher B, Gempel K, Baumeister FAM (2005):  
Subkutane Mikrodialyse - eine nebenwirkungsarme minimalinvasive Methode für ein biochemisches Gewebsmonitoring bei Mitochondriopathien.  
101. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kinderheilkunde und Jugendmedizin, Bremen 29.9.-2.10.2005.  
Monatsschr Kinderheilkd 153, Suppl. 2: K078.06P

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>9</b>
1.1	Die subkutane Mikrodialyse in der Pädiatrie . . . . .	9
1.2	Fragestellungen, Zielsetzungen . . . . .	10
<b>2</b>	<b>Grundlagen</b>	<b>12</b>
2.1	Prinzip der Mikrodialyse . . . . .	12
2.2	Klinischer Stellenwert der Mikrodialyse . . . . .	14
<b>3</b>	<b>Patienten und Methodik</b>	<b>18</b>
3.1	Patienten . . . . .	18
3.2	Methodik . . . . .	19
3.2.1	Mikrodialysekatheter . . . . .	19
3.2.2	Analyse der Mikrodialysatproben: MD- Analyser . . . . .	20
3.2.3	Tandem-Massenspektrometrie . . . . .	22
3.2.4	Analyse der Blutproben . . . . .	22
3.3	Angaben zur Statistik . . . . .	22
<b>4</b>	<b>Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie</b>	<b>23</b>
4.1	Die Subkutane Mikrodialyse - eine nebenwirkungsarme minimalinvasive Methode für ein biochemisches Gewebs-Monitoring . . . . .	23
4.1.1	Hintergrund und Fragestellung . . . . .	23
4.1.2	Patienten und Methodik . . . . .	24
4.1.3	Ergebnisse . . . . .	28
4.1.4	Diskussion und Schlussfolgerungen . . . . .	30
4.2	Therapiemonitoring mit subkutaner Mikrodialyse bei Komplex I Defekt der Atmungskette . . . . .	34
4.2.1	Hintergrund . . . . .	34
4.2.2	Fragestellung . . . . .	36
4.2.3	Patient und Methodik . . . . .	36
4.2.4	Ergebnisse . . . . .	38
4.2.5	Diskussion und Schlussfolgerungen . . . . .	40
4.3	Therapiemonitoring mit subkutaner Mikrodialyse bei PDH-Defekt . . . . .	42
4.3.1	Hintergrund . . . . .	42
4.3.2	Fragestellung . . . . .	44
4.3.3	Patient und Methode . . . . .	44

## *Inhaltsverzeichnis*

4.3.4	Ergebnisse . . . . .	44
4.3.5	Diskussion und Schlussfolgerungen . . . . .	45
4.4	Glukose-Monitoring bei neonatalem Diabetes mellitus . . . . .	46
4.4.1	Hintergrund und Fragestellung . . . . .	46
4.4.2	Patient und Methodik . . . . .	47
4.4.3	Ergebnisse . . . . .	48
4.4.4	Diskussion und Schlussfolgerungen . . . . .	51
4.5	Monitoring des Carnitin-Stoffwechsels bei Kindern mit pharmako- resistenter Epilepsie unter Ketogener Diät . . . . .	52
4.5.1	Hintergrund . . . . .	52
4.5.2	Fragestellung . . . . .	53
4.5.3	Patienten und Methodik . . . . .	54
4.5.4	Ergebnisse . . . . .	56
4.5.5	Diskussion und Schlussfolgerungen . . . . .	60
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b>	<b>62</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>65</b>
	<b>Abbildungsverzeichnis</b>	<b>78</b>
	<b>Tabellenverzeichnis</b>	<b>79</b>
	<b>Danksagungen</b>	<b>80</b>

# Verzeichnis der Abkürzungen

CoA	Coenzym A
C0	freies Carnitin
C2	Acetylcarnitin
C4OH	Hydroxybutyrylcarnitin
ELBW	extremely low birth weight (Geburtsgewicht < 1000g)
EMLA	Creme aus zwei hautbetäubenden Medikamenten (Lidocain und Prilocain)
KD	Ketogene Diät
LCT	long chain triglycerides
M	Molar (=mol/L)
MD	Mikrodialyse
Sc MD	subkutane Mikrodialyse
MELAS	myopathy, encephalopathy, lactic acidosis and stroke-like episodes
MW	molecular weight
NDM	Neonataler Diabetes mellitus
NMR/ MRT	nuclear magnetic resonance/ Magnetresonanztomographie
β-OHB	β-Hydroxybutyrat
PDH	Pyruvatdehydrogenase
PDH E1	Pyruvatdehydrogenase Enzym 1
PEG	perkutane endoskopische Gastrostomie
RFLP	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus
RR	Relative Recovery
SD	Standartabweichung
SGA	small for gestional age (Geburtsgewicht < 10.Perzentile)
UF	Ultrafiltrat

## 1.1 Die subkutane Mikrodialyse in der Pädiatrie

Viele diagnostische und therapeutische Entscheidungen in der Medizin basieren auf regelmäßigen Blutabnahmen. Die Methode ist altbewährt, akzeptiert, einfach durchzuführen und die Referenzwerte sind gut bekannt. Doch gerade für Kinder sind Blutabnahmen häufig schmerzhaft und belastend, Blutwerte zum Teil abnahmetechnisch verfälscht, die Zahl von Messwerten gering.

Die **Mikrodialyse (MD)** ist eine in den letzten 3 Jahrzehnten entwickelte Sammelmethode, angewendet im Interstitium von Geweben. Unabhängig von Blutentnahmen und bei minimalem Gewebstrauma ermöglicht sie über mehrere Tage bis Wochen hinweg die kontinuierliche Erfassung niedermolekularer Metabolite im Gewebe. Mittels eines ins zu untersuchende Gewebe implantierten, fortlaufend perfundierten Mikrodialysekatheters werden kontinuierlich winzige Mengen der niedermolekularen Substanzen (z.B. Glukose oder Laktat) aus dem Interstitium von Geweben heraus dialysiert (Abschnitt 2.1). Die Abnahme der Proben erfolgt ohne Alteration des Patienten auch im Schlaf. Eine engmaschige Analyse des Dialysats (z.B. stündlich) ermöglicht die Erstellung von Tagesprofilen der Metabolite und damit ein intensivstes Monitoring eines gefährdeten Organs (z.B. Gehirn) oder Patienten (z.B. Glukosemonitoring bei Hypoglykämiegefahr).

Die **subkutane Mikrodialyse** ist für die Pädiatrie aufgrund der Reduktion von Traumatisierung und Stress bei gleichzeitig noch intensiverem Monitoring der Stoffwechselsituation als blutsparende diagnostische Methode von besonderer Attraktivität. Abgesehen von der Implantation des Katheters (vergleichbar mit dem Legen eines intravenösen Zugangs) erfolgt das Gewebemonitoring ohne Berührung des Patienten (z.B. im Schlaf). Die Methode gelingt durch die in dieser Arbeit vorgestellten Methodik sogar bei extrem kleinen Frühgeborenen (ELBW, <1000g) komplikationslos über einen Zeitraum von bis zu 16 Tagen.

Eine PubMed Suche im Dezember 2005 ergab 12 Veröffentlichungen zur Anwendung der Mikrodialyse im Subkutangewebe von Neugeborenen, Säuglingen, Kindern oder Jugendlichen (Kapitel 2.2.2). Sie hat sich in diesen Studien als vor-

teilhaft, sicher und nebenwirkungsarm erwiesen, ist allerdings insbesondere im Hinblick auf Nebenwirkungen und Komplikationen bei Kindern kaum erforscht und war bisher sehr wenigen und speziellen Indikationen vorbehalten. Die Mikrodialyse bietet neue Optionen für klinische und wissenschaftliche Fragestellungen in der Pädiatrie. Eine besondere Bedeutung der Mikrodialyse könnte im Management sowie der Optimierung von Therapien liegen.

### 1.2 Fragestellungen, Zielsetzungen

Zielsetzung dieser Arbeit war es, die subkutane MD hinsichtlich ihrer Eignung für die klinische Anwendung bei Kindern zu untersuchen.

Die erste zu untersuchende Frage war:

- **Ist die sc MD eine nebenwirkungsarme Methode bei Kindern aller Altersstufen und auch bei längerer Anwendung über ein bis zwei Wochen?**

In diesem Sinne wurden im Rahmen dieser Arbeit prospektiv an einem großen pädiatrischen Patientenkollektiv Komplikationen und Probleme in Zusammenhang mit Implantation des MD-Katheters und Verlauf der subkutanen MD erfasst und ausgewertet (Kapitel 4.1).

Die weiteren Fragestellungen zielen auf sinnvolle Anwendungsmöglichkeiten der sc MD in der Pädiatrie.

In der vorliegenden Studie wurde die subkutane Mikrodialyse bei konkreten neuropädiatrischen Fragestellungen eingesetzt: Stoffwechselmonitoring bei Mitochondriopathien (Kapitel 4.2 und 4.3), Langzeit-Glukosemonitoring bei einem Neugeborenen mit Neonatalem Diabetes mellitus (Kap. 4.4), sowie Untersuchung der Dynamik des subkutanen Carnitinstoffwechsels bei Stoffwechsellumstellung von Normalkost zu Ketogener Diät (Kap. 4.5).

Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

- **Eignet sich die sc MD zur Darstellung metabolischer Veränderungen im Verlauf und damit zum Therapiemonitoring?**
- **Kann die sc MD zur objektiven Beurteilung der Effizienz einer Therapie beitragen?**

## 1 Einleitung

- **Eignet sich das Gewebsmonitoring mit der subkutanen MD für ein Monitoring der Blutglukose bei Neugeborenen mit Diabetes mellitus?**
- **Welche Veränderungen zeigen sich im subkutanen Carnitinspektrum während der Umstellung der Ernährung auf Ketogene Diät?**
- **Wie hoch ist die Wiederfindungsrate (Relative Recovery, Kap. 2.1) des verwendeten Mikrodialysesystems für Carnitine?**

Es erfolgte eine Bestimmung der Relativen Recovery in vitro für freies Carnitin, Acetylcarnitin sowie Hydroxybutyrylcarnitin.

Die Mikro dialyse ist eine innovative blutsparende Methode beruhend auf einem metabolischen Gewebsmonitoring. Vorteile sind ihre geringe Invasivität, die Möglichkeit eines kontinuierlichen Monitorings über einen langen Zeitraum unabhängig von Blutentnahmen sowie die Nutzung der regionalen Organchemie für diagnostische und therapeutische Zwecke (Ungerstedt 1991, S. 372).

Die MD-Technik entwickelte sich aus Bestrebungen von Bito und Delgado, neurochemische Substanzen aus dem Extrazellulärraum des Gehirns zu gewinnen. Tossmann und Ungerstedt modifizierten und standardisierten diese Methode, die auf der Diffusion niedermolekularer, wasserlöslicher und somit dialysierbarer Substanzen beruht (Landolt 1996, S. 270).

## 2.1 Prinzip der Mikro dialyse

Die Mikro dialyse beruht auf dem Prinzip der künstlichen Kapillare. Grundprinzip und zahlreiche Modifikationen sind in der Literatur ausführlich beschrieben (z.B. Ungerstedt 1991, S. 367; Arner 1991, S. 382; Landolt 1996, S.270; Baumeister 2001, S. 1188).

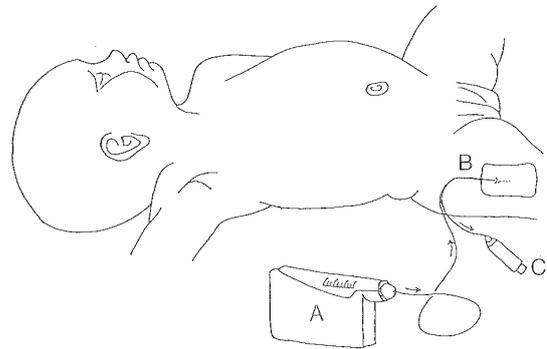
Das Mikro dialysesystem besteht aus folgenden Komponenten:

- doppelumiger **MD-Katheter** (zu- und abführende Leitung, an der Spitze die Dialysemembran), der steril ins Gewebe implantiert wird (Kap. 4.1.2)
- tragbare, etwa 5 mal 9 cm große **MD-Perfusionspumpe**, bestückt mit einer Perfusionspritze (gefüllt mit physiologischer Kochsalzlösung), die den Katheter über die zuführende Leitung kontinuierlich perfundiert
- Auffanggefäße (**Microvials**), in denen das Dialysat aus der abführenden Katheterleitung gesammelt wird. Die Microvials werden manuell in den MD-Analyser (Kap. 3.2.2) transferiert und analysiert.

## 2 Grundlagen

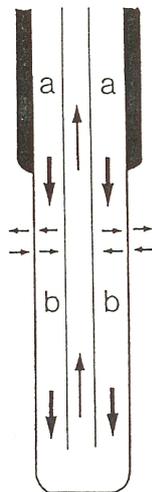
### **Abb. 2.1:** Applikation der subkutanen Mikrodialyse am Säugling

Die Spitze des Mikrodialysekatheters, an der die Dialyse stattfindet, befindet sich im Subkutangewebe am Oberschenkel(B). Der Katheter wird mithilfe der Mikrodialysepumpe (A) kontinuierlich perfundiert ( $0,3\mu\text{l}/\text{min}$ ), das Dialysat in Mikroviales (C) aufgefangen. Das Mikroviale befindet sich in einem Vialhalter am Ende des abführenden Schenkels.



(Quelle: Baumeister 2001, S. 1188)

Die ins Gewebe implantierte Spitze des Mikrodialysekatheters besteht aus einer zylindrischen Dialysemembran, die mit physiologischer Kochsalzlösung kontinuierlich perfundiert wird. Über diese Membran gleichen sich die Konzentrationen niedermolekularer Substanzen ( $\text{MW} < 20.000$  Dalton) von Perfusat und dem extrazellulären Medium an (Abb. 2.2).



### **Abb. 2.2:** Schematische Darstellung der Spitze eines Mikrodialysekatheters

Der Schaft (a) des Mikrodialysekatheters ist doppelwändig. Das Perfusat strömt im äußeren Lumen zu und erreicht so die zylindrische Dialysemembran (Spitze, b). Über die Dialysemembran erfolgt durch Diffusion (kleine Pfeile) der Austausch mit dem umgebenden Medium. Im inneren Lumen erfolgt der Abstrom des Mikrodialysats.

(Quelle: Baumeister 2003, S.88)

Die Relative Recovery (%) eines Mikrodialysesystems gibt an, wie weit sich die Konzentration im Dialysat der Konzentration im umgebenden Medium des Katheters angeglichen hat. Die Wiederfindungsrate ist abhängig von Faktoren wie Länge der Dialysemembran, Perfusionsrate, Diffusionsgeschwindigkeit der Substanzen im extrazellulären Raum, Membraneigenschaften und Eigenschaften der Substanzen selbst (Horal 1995, S. 5). Unter Berücksichtigung dieser Aspekte er-

## 2 Grundlagen

laubt die Analyse des gewonnenen Dialysates Rückschlüsse auf die interstitiellen Gewebkonzentrationen der bestimmten Substanzen.

MD-Katheter (Diffusionskapazität) und Pumpe (Perfusionsrate) sind aufeinander abgestimmt und bilden die Funktionseinheit des MD-Systems.

Für die quantitative MD in der klinischen Routine lässt sich durch Auswahl eines geeigneten MD-Systems (möglichst große Membranoberfläche und niedrige Perfusionsrate) eine möglichst konstante an 100% grenzende Relative Recovery erreichen. Sowohl für das von Horal u. Hildingsson (Horal 1995, S. 6; Hildingsson 1996, S. 590; Hildingsson 2000, S.284) verwendete subkutane Mikrodialysesystem als auch für das für die Anwendung bei Neugeborenen modifizierte System (Baumeister 2001, S.1189) ist eine hohe Relative Recovery in vitro und in vivo für Harnstoff, Glukose und Laktat von nahezu 100% beschrieben. Wichtig ist aber, auf eine möglichst atraumatische Implantation der Mikrodialysekatheter zu achten, da eine Traumatisierung des Gewebes bei der Implantation die Relative Recovery für Stunden stark beeinträchtigen kann. Baumeister konnte zeigen, dass die hohe Relative Recovery in vivo seines MD-Systems über eine Woche bis zu 16 Tagen nach minimal traumatisierender Implantation der subkutanen Katheter stabil blieb (Baumeister 2001, S. 1189). Eine konstante, möglichst hohe Wiederfindungsrate eines MD-Systems ist Voraussetzung für klinische Anwendungen, da neben relativen Änderungen auch die absoluten Werte der Gewebkonzentrationen von Bedeutung sind (Baumeister 2003, S. 92).

### 2.2 Klinischer Stellenwert der Mikrodialyse

Entwickelt aus neurowissenschaftlichen Versuchen von Bito (1966) und Delgado (1972) an Gehirnen von Hunden und Affen, gewinnt die Anwendung der Mikrodialyse in Klinik und Forschung in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung, einhergehend mit einem beträchtlichen Anstieg der Veröffentlichungen zum Thema Mikrodialyse.

Vorwiegend tierexperimentelle Arbeiten beschreiben die Untersuchung zahlreicher Substanzgruppen (z.B. Metabolite, Neurotransmitter, Mediatoren, Hormone, Elektrolyte und Pharmaka) mit der MD und die Anwendung in nahezu jedem Gewebe. Angefangen mit Untersuchungen des Gehirnstoffwechsels an Tieren wurde die MD in immer mehr Gewebearten eingesetzt, z.B. in Haut, Muskel, Knochen,

## 2 Grundlagen

Blut, Leber, Niere, Verdauungsorgane, Lunge, Auge, Rückenmark, Drüsen und Tumorgewebe.

Eine PubMed Suche im Dezember 2005 ergab 10185 Artikel zu „microdialysis“, darunter 1697 Artikel zu „microdialysis AND human“. Am Menschen wurde die Mikrodialyse zu klinischen und pharmakologischen Zwecken in folgenden Geweben eingesetzt:

- subkutanes Fettgewebe (z.B. Arner 1991, Bolinder 1993, Horal 1995, Hil- dingsson 1996 und 2000, Kamel 1999, Stenninger 2001, Damian 2001, Bau- meister 2001, Rolinski 2001, Enokkson 2003, Beregszaszi 2003, Heptulla 2003, Ahlsson 2004, Holzinger 2006), darunter in 12 Studien an Kindern und Jugendlichen
- Skelettmuskel (z.B. Rosdahl 1993 und 1997, Muller 1996, Henriksson 2005)
- Herzmuskel (z.B. Kennergren 1999 und 2003, Bahlmann 2004)
- Knochen (z.B. Thorsen 1996)
- Blut (z.B. Paez 1997)
- Gehirn (z.B. Persson 1992 und 1996, Landolt 1996, Hillered 1999, Tolias 2002, Richards 2003, Ahlsson 2004), darunter in 3 Studien an Kindern
- Lunge (z.B. Herkner 2002, Tomaselli 2004, Hutschala 2005)
- Leber (z.B. Silva 2005)
- Intraperitoneal bzw. Intestinum (z.B. Tenhunen 1999, Jansson 2003)
- Tumoren bzw. Metastasen (z.B. Blochl-Daum 1996, Müller M 1997, Dab- rosin 2005)

Ungerstedt behauptete schon 1991, dass sich die Mikrodialyse zu einer Sammel- methode für die klinische Routine entwickeln werde (Ungerstedt 1991, S. 371). Und in der Tat hat sie ihren Eingang in die Klinik gefunden, wenn wir von einer routinemäßigen Anwendung auch noch weit entfernt sind. Wegen der noch relativ hohen Kosten und hohen Anforderungen an die Analytik ist zurzeit ein Monito- ring mittels MD noch besonderen Fragestellungen bzw. Indikationen vorbehalten (Baumeister 2003, S. 94).

Zusammenfassend überzeugt die Methode der MD durch:

## 2 Grundlagen

- Minimale Invasivität u. Handling: abgesehen von der Implantation des Katheters (vergleichbar mit dem Legen einer intravenösen Kanüle) erfolgt das Monitoring ohne Irritation oder Berührung des Patienten (z.B. im Schlaf)
- Keine Blutentnahmen nötig, dadurch Minimierung des iatrogenen Blutverlustes und damit insbesondere für Kinder verbundenen Stress
- Kontinuierliches und damit intensivstes Monitoring des Metabolismus von zahlreichen niedermolekularen Substanzen im Gewebe (z.B. nahezu lückenloses Glukosemonitoring zur Erfassung asymptomatischer Hypoglykämien)
- Mit Ausnahme der ersten Minuten bis Stunden keine Verfälschung der Werte durch Irritation des Gewebes (kapilläre Blutwerte häufig durch Quetschung des Gewebes verfälscht!)
- Nutzung der lokalen Organchemie für diagnostische und therapeutische Zwecke (Therapiemonitoring)
- Einsatz unter prinzipiell zwei Gesichtspunkten (Baumeister 2003, S. 92): Monitoring eines gefährdeten Organs (z.B. Gehirn: Cerebrale MD) - Monitoring eines gefährdeten Patienten (Subkutane MD)
- Anwendung bei Patienten jeder Altersgruppe; die subkutane MD ist durch geeignete Modifikation von Implantationstechnik und -ort auch bei extrem kleinen Frühgeborenen unter 1000g komplikationslos anwendbar (Baumeister 2003, S. 92)

Am häufigsten in der klinischen Anwendung sind die Cerebrale und die Subkutane Mikrodialyse.

Die **Cerebrale Mikrodialyse** ist Beispiel für das biochemische Monitoring eines gefährdeten Organs: sie ermöglicht eine direkte Aussage über den lokalen Gewebsstoffwechsel im gefährdeten Organ (Gehirnstoffwechsel in der Intensivmedizin). Neurochemisches Langzeitmonitoring wurde erstmalig 1992 von Persson und Hillered beschrieben (Persson 1992, S. 72). Vor allem in der Intensivmedizin hat sich die cerebrale MD bis heute als sehr nützlich erwiesen. Gemessen werden hier hauptsächlich Parameter des Energiestoffwechsels wie Laktat, Pyruvat u. Glukose, Neurotransmitter und Aminosäuren, die neben diagnostischem auch von prognostischem (z. B. Outcome von Patienten mit Schädelhirntrauma)

## 2 Grundlagen

und therapeutischen Wert sind (Auswirkungen therapeutischer Maßnahmen auf den cerebralen Stoffwechsel). Auch bei **Kindern** wurde in den letzten Jahren die Cerebrale MD für ein neurometabolisches Langzeitmonitoring eingesetzt, z.B. zur Darstellung des Glutamatmetabolismus bei Kindern mit schweren Schädelhirntraumen (Tolias 2002, S. 368; Richards 2003, S. 101) oder im Rahmen des Therapiemonitoring bei kindlichem Diabetes (Ahlsson 2004, S. 89). In einer laufenden Studie an der Kinderklinik der Technischen Universität München erfolgt die Anwendung der cerebralen MD zum neurochemischen Monitoring/ Erfassung von Komplikationen bei Frühgeborenen mit posthämorrhagischem Hydrocephalus.

Die **Subkutane Mikrodialyse** - das eigentliche Thema dieser Arbeit - wird seit über 10 Jahren bei Erwachsenen erfolgreich durchgeführt. Die PubMed Suche im Dezember 2005 ergab 310 Artikel zu „subcutaneous microdialysis AND human“. Auch bei **Kindern** verschiedener Altersstufen wird die sc MD seit gut einem Jahrzehnt erfolgreich, allerdings nur bei sehr speziellen Fragestellungen eingesetzt. Die Reduktion von Traumatisierung und Stress durch wiederholte Blutentnahmen hat in der Kinderheilkunde einen besonderen Stellenwert. Insbesondere für die Neonatologie sind blutsparende diagnostische Methoden wegen des geringen Blutvolumens kranker Früh- und Neugeborener von besonderer Attraktivität (Baumeister 2001, S. 1187).

Bisher beschreiben 12 Studien eine Anwendung der Mikrodialyse im Subkutangewebe von Neugeborenen, Säuglingen, Kindern oder Jugendlichen. Ein Monitoring mit der sc MD erfolgte in 8 Studien an Neugeborenen und Säuglingen (Horal 1995, Stenninger 2001, Baumeister 2001, Rolinski 2001, Hildingsson 1996 und 2000, Holzinger 2005), in 3 Studien an Kindern (Kamel 1999, Beregszaszi 2003, Ahlsson 2004) und in 2 Studien an Jugendlichen (Enoksson 2000, Heptulla 2003), siehe Tabelle 4.2 Kapitel 4.1. Dabei wurde die sc MD eingesetzt für ein Glukosemonitoring bei Kindern mit Hypoglykämiegefahr (Ahlsson 2004, Baumeister 2001, Horal 1995, Kamel 1999, Rolinski 2001, Stenninger 2001, Holzinger 2005), für ein Stoffwechselmonitoring (Laktat, Glycerol) nach operativen Eingriffen (Hildingsson 1996 und 2000), sowie für ein Glycerolmonitoring (lipolytischer Index) bei HIV-infizierten Kindern mit Lipohypertrophie (Beregszaszi 2003), bei adipösen Mädchen (Enoksson 2000) und bei Jugendlichen mit schlecht eingestellten Typ 1 Diabetes mellitus (Heptulla 2003).

Die Untersuchungen erfolgten im Rahmen der Studie:

„*Biochemisches Bedside-Monitoring mittels subkutaner Mikrodialyse*“ [Projekt Nr. 232/99].

Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Technischen Universität München anerkannt, alle Eltern unterzeichneten die schriftliche Einverständniserklärung.

Das verwendete Mikrodialysesystem (CMA/Microdialysis, Solna, Sweden) ist CE zertifiziert und zugelassen für die routinemäßige klinische Anwendung im menschlichen Hirngewebe und Subkutangewebe.

## 3.1 Patienten

Mit Zustimmung der Erziehungsberechtigten wurden 42 Kinder verschiedener Altersklassen (Kategorien) in die Studie aufgenommen, bei denen insgesamt 48 subkutane Mikrodialysen durchgeführt wurden, darunter

- 21mal bei **Früh- und Neugeborenen (Kategorie 1)** mit einem medianen Gewicht von 2,5kg (0,6 bis 4,0kg) und einem medianen Gestationsalter von 38,3 Wochen (24,4 bis 42,8 Wochen), darunter 5 ELBW infants mit einem Geburtsgewicht unter 1000g (600-900g)
- 7mal bei **Säuglingen (Kategorie 2)** mit einem medianen Alter von 4,8 Monaten (1,5 bis 12 Monate)
- 13mal bei **Kleinkindern/Kindern (Kategorie 3)** mit einem medianen Alter von 2,8 Jahren (1,1 bis 6,5 Jahre) und
- 7mal bei **Schulkindern (Kategorie 4)** mit einem medianen Alter von 11,8 Jahren (7,5 bis 15,3 Jahre)

Indikationen zur subkutanen MD	Anzahl der Patienten	Monitoring: MD-Parameter
(V.a.) Mitochondriopathie, Laktatazidose	12	Laktat, Pyruvat
Überwachung bei Einstellung auf Ketogene Diät	9	Glukose, Laktat, Carnitine
Hypoglykämie-Risiko (SGA, neonataler Diab.mell./ Hyperinsulinismus, Diab.mell. Typ1)	20	Glukose
Aminoazidopathien (Phenylketonurie, Ahornsiruperkrankung, Glutarazidurie)	3	Aminosäuren
schwerst beeinträchtigte Neugeborene (Asphyxie, Nekrotisierende Enterocolitis, Pneumothorax, Sepsis)	4	Laktat, Glukose

**Tabelle 3.1:** Indikationen für das biochemische Bedside-Monitoring mit der subkutanen Mikrodialyse

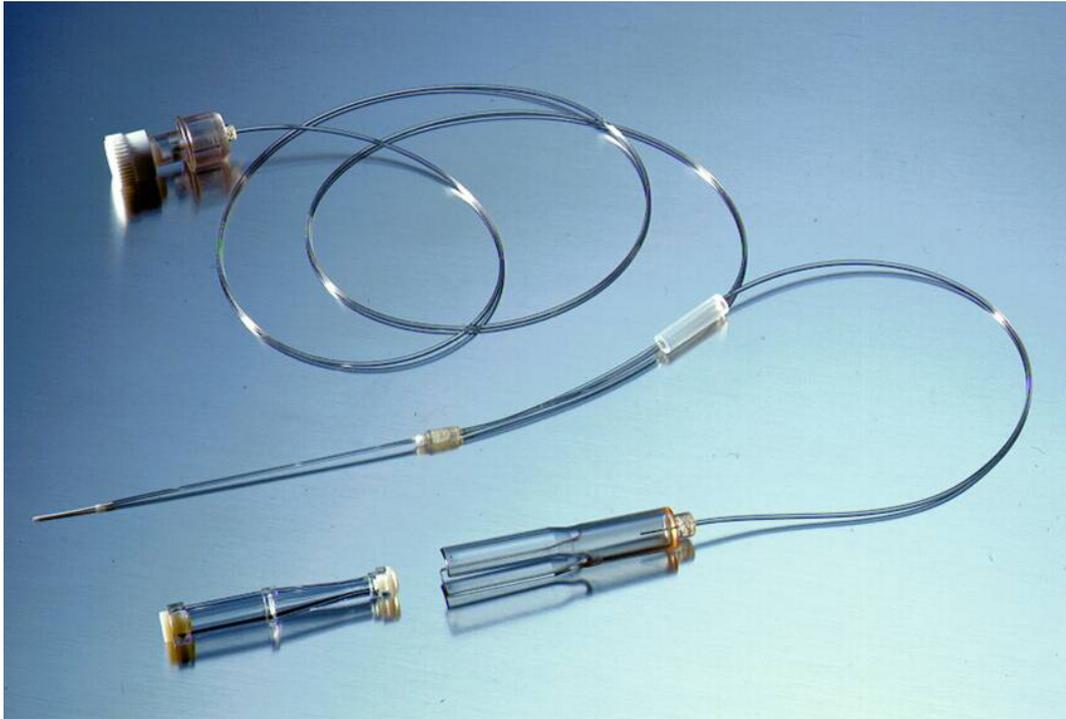
## 3.2 Methodik

### 3.2.1 Mikrodialysekatheter

Zur Anwendung kamen ausschließlich Mikrodialysekatheter des Typs CMA 70 (CMA/Microdialysis, Solna, Sweden, Abb. 3.1). Die Spitze des Katheters wird aus einer 10mm (für Neugeborene und Säuglinge) bzw. 20mm (für ältere Kinder) langen Dialysemembran aus Polyamid gebildet und hat einen Durchmesser von 0,6mm. Der Molekulare Cut-off der Dialysemembran beträgt 20000 Dalton.

Die Insertion der Katheter erfolgte mittels einer minimal traumatisierenden No-Touch Insertionstechnik, siehe Kap. 4.1.2.

Zur Perfusion der Katheter diente eine batteriegetriebene CMA 106 Mikrodialyse-Pumpe (CMA/Microdialysis AB, Solna, Sweden). Dabei wurde sterile isotone Kochsalzlösung (NaCl 0,9% Braun Melsungen, Deutschland) wurde mit einer Geschwindigkeit von 0,3  $\mu$ l/min durch das System gepumpt, Mikroküvetten (Microvials, CMA/Microdialysis, Solna, Sweden) fingen das Dialysat aus dem abführenden Schenkel auf.



**Abb. 3.1:** *Mikrodialysekatheter CMA 70*

Der CMA 70 Mikrodialysekatheter wurde für die Anwendung im Hirngewebe entwickelt und besitzt hierfür die CE Kennzeichnung. Die Spitze des Mikrodialysekatheters wird von der 10mm langen Dialysemembran (D) aus Polyamid gebildet. Der Durchmesser der Spitze beträgt 0,6mm. Die Spitze wird von einem flexiblen Polyurethanschacht (S) von 6cm Länge und 0,9mm Durchmesser getragen. Zu-leitung (Z), Verbindungsstück für Perfusorspritze (P), abführende Leitung (A), Verbindungsstück für die Auffanggefäße, Mikrovials (M). (Quelle: CMA/Microdialysis)

#### **3.2.2 Analyse der Mikrodialysatproben: MD- Analyser**

Die Analyse des Dialysats erfolgte unmittelbar nach Probengewinnung am Bett des Patienten im CMA 600 Microdialysis Analyser (CMA/Mikrodialysis, Solna, Sweden; Abb. 3.2). Der Analyser kann mit Probenvolumina von  $1\mu\text{l}$  pro Analyse arbeiten. Die Analysedauer beträgt 1,5 Minuten. Der CMA 600 Analyser arbeitet enzymatisch und misst photometrisch. Bestimmt wurden Glukose, Laktat, Pyruvat und Glycerol.



Bildschirm

Analyser

Tastatur

Computer

Drucker

Transformator

**Abb. 3.2:** CMA 600 Microdialysis Analyser  
(Quelle: CMA/Microdialysis)

### 3.2.3 Tandem-Massenspektrometrie

Freies Carnitin, Acylcarnitine und Aminosäuren im Serum und in Dialysatresten wurden nach vorheriger Butylierung in einem Elektrospray-Triple Quadrupol Massenspektrometer vom Typ Perkin Elmer API 365 quantifiziert. Die Analysen im Massenspektrometer erfolgten aus je 15  $\mu$ l Serum bzw. Plasma (Gempel 2002, S. 19) bzw. 2,8  $\mu$ l Mikrodialysat. Die Tandem-Massenspektrometrie erlaubt die simultane Messung von freiem Carnitin, Acetylcarnitinen und Aminosäuren aus wenigen Mikrolitern Dialyse-Flüssigkeit mit hoher Genauigkeit. Das Prinzip basiert auf Ionisierung der Analyte, Massentrennung nach dem Masse-Ladungsverhältnis und Ionennachweis (Müller P 2003, S. 236).

### 3.2.4 Analyse der Blutproben

Glukosemessungen im Kapillarblut erfolgten mit dem Glukosemessgerät ®Akku-check Comfort (Roche Diagnostics, Munich, Germany) sowie im Labor enzymatisch mit Glukose-Dehydrogenase.

Die Bestimmung der Laktatwerte im venösen Blut, stabilisiert durch Na-Fluorid (Monovette Fa. Sarstedt), erfolgte enzymatisch mit Laktat-Dehydrogenase.

Ketonkörperbestimmungen ( $\beta$ -Hydroxybutyrat) im venösen Blut erfolgten etwa 6-stündlich mit einem Messgerät in Taschenformat (Precision Xtra®, Fa. MediSense).

## 3.3 Angaben zur Statistik

Die Auswertung der Daten erfolgte mit Excel 2003 von Microsoft Office® sowie der Statistiksoftware SPSS, Version 11.5, in Zusammenarbeit mit dem Institut für medizinische Statistik und Epidemiologie (IMSE) der Technischen Universität München.

# Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie 4

---

## **4.1 Die Subkutane Mikrodialyse - eine nebenwirkungsarme minimalinvasive Methode für ein biochemisches Gewebs-Monitoring**

### **4.1.1 Hintergrund und Fragestellung**

In der Literatur finden sich nur 12 Studien zur Anwendung der Mikrodialyse im Subkutangewebe bei Neugeborenen, Säuglingen, Kindern oder Jugendlichen. Für die bisherigen Anwendungen, insbesondere auch bei Frühgeborenen, sind keine relevanten Nebenwirkungen beschrieben. Allerdings wird auch bis auf eine Ausnahme (Baumeister 2001, S. 1187) in den Studien auf Komplikationen und Nebenwirkungen beim Legen des Katheters bzw. im Verlauf der Mikrodialyse nicht näher eingegangen.

Ziel der Arbeit war nun prospektiv an einem großen pädiatrischen Patientenkollektiv die Komplikationen und Probleme in Zusammenhang mit der Mikrodialyse im Subkutangewebe von Kindern systematisch zu erfassen. Besonderes Augenmerk liegt dabei auf der von uns verwendeten Minimal-Traumatisierenden No-Touch Insertionstechnik für den MD Katheter.

#### **Fragestellung:**

- Ist die sc MD eine komplikationsarme Methode bei Kindern aller Altersstufen und auch bei längerer Anwendung über ein bis zwei Wochen?

## 4.1.2 Patienten und Methodik

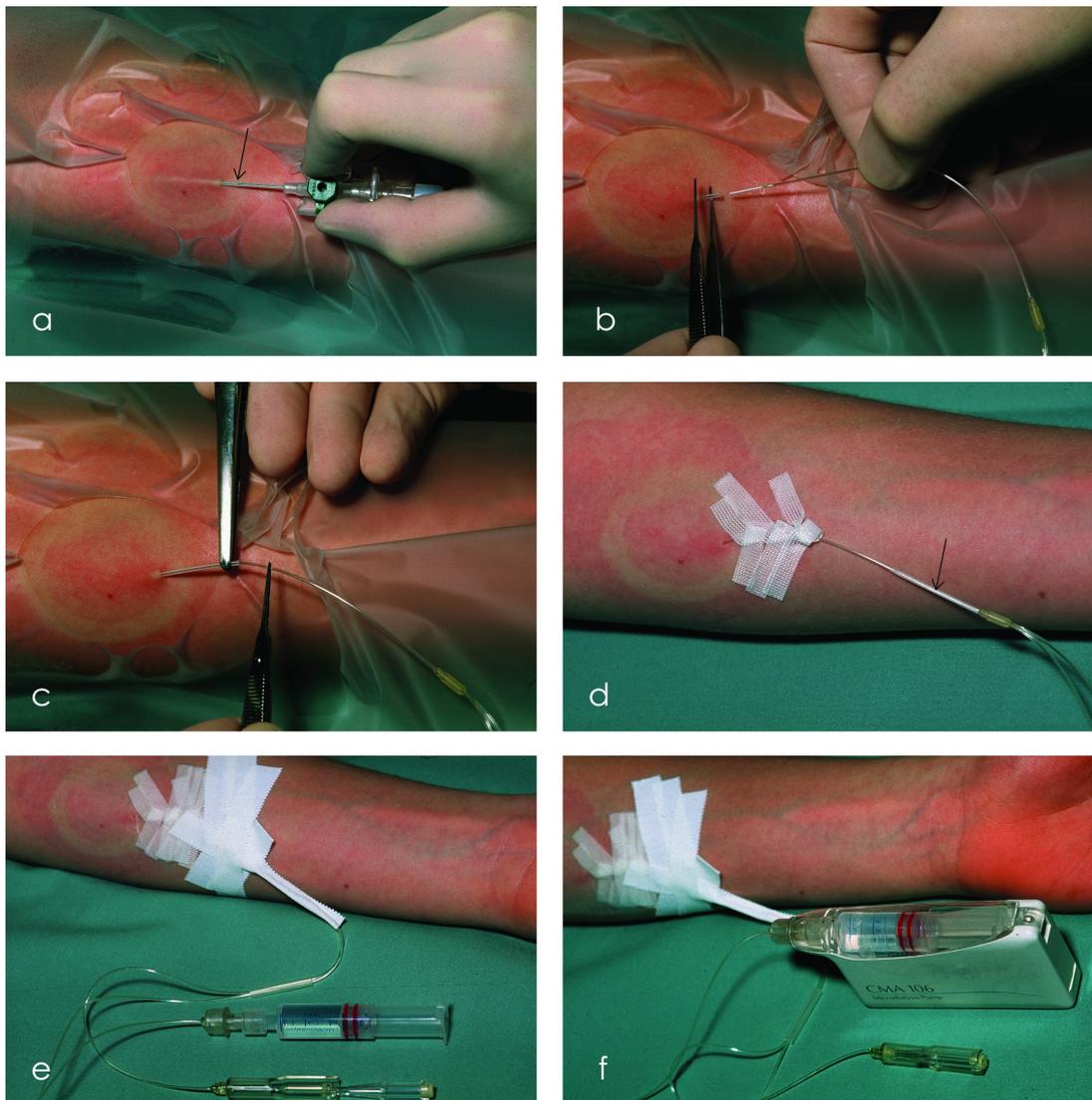
### Patienten

Es wurden bei 42 Kindern aus 4 Alterskategorien (siehe Kap. 3.1) ein kontinuierliches Bedside-Monitoring mit der subkutanen Mikrodialyse durchgeführt. Insgesamt erfolgten 48 subkutane Mikrodialysen, zumeist zur Überwachung des Energiestoffwechsels (Laktat, Pyruvat) bei Laktatazidosen, zum Glukosemonitoring bei Hypoglykämierisiko, seltener bei Störungen des Aminosäure-Stoffwechsels oder anderen Erkrankungen, siehe Tabelle 3.1

### No-Touch Insertionstechnik

Die verwendeten Mikrodialysekatheter (CMA 70, Kap. 3.2.1) hatten eine Membranalänge von 10mm für Neugeborene/ Säuglinge und 20mm für ältere Kinder. Die Implantation erfolgte in das subkutane Fettgewebe im Bereich des lateralen Oberschenkels (Neugeborene, Säuglinge) bzw. des Unterarms (ältere Kinder). Nach transdermaler Lokalanästhesie (EMLA-Creme, Wedel, Deutschland) und Hautdesinfektion wurden die Katheter unter sterilen Bedingungen gelegt. Das EMLA Pflaster wurde für mindestens 1 Stunde belassen, um neben einer ausreichenden lokalen Anästhesie auch eine lokale Vasokonstriktion für minimale Blutung zu erzielen. Anschließend erfolgte die Implantation des MD-Katheters in das Subkutangewebe knapp unter das Corium. Dabei wurde eine minimal traumatisierende Insertionstechnik verwendet, wobei die Spitze des Katheters ohne Berührung der Haut über das Lumen einer Venenverweilkanüle (Vasofix Braunüle, 18G; Braun Melsungen, Deutschland) in das Gewebe vorgeschoben wird. Eine detaillierte Beschreibung des Vorgangs zeigt Abbildung 4.1.

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie



**Abb. 4.1:** Schrittweise Insertion des MD-Katheters in das Subkutangewebe mit der minimal traumatisierenden No-Touch Insertionstechnik (Jugendlicher, Unterarm)

Vorbereitung: Die Plastikkanüle einer Venenverweilkanüle wird 20mm von der Spitze aus gesehen eingeschnitten (Pfeil in Abb. a zeigt auf die Schnittlinie), die CMA 106 Spritze wird mit 2,5ml NaCl 0,9% gefüllt und das MD-System mit 0,3 $\mu$ l/min perfundiert. Das Insertionsgebiet wird steril gesäubert und abgedeckt.

- a** Die Haut wird mit der vom Metallmandrin geschienten, preparierten Kanüle scharf durchstoßen. Anschließend wird der Mandrin 2mm zurückgezogen und die vom Mandrin geschiente Plastikkanüle langsam etwa 13mm weit in das Subkutangewebe vorgeschoben, wobei das Gewebe stumpf gespreitet

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

wird.

- b** Der Mandrin wird entfernt und der Katheter mit seiner an der Spitze befindlichen Dialysemembran (10mm, weiß) steril über das Lumen der subkutan liegenden Plastikkanüle vorgeschoben.
- c** Die Plastikkanüle wird über den Schaft des Katheters zurückgezogen, sodass die Spitze des Mikrodialysekatheters frei im Subkutangewebe liegt. Die Kanüle verbleibt am Schaft außerhalb der Haut (Pfeil in Abb. 4.1 *Bild: d*)
- d** Der Katheter wird mit Plasterstreifen an der Haut fixiert.
- e** Die Einstichstelle wird mit einem durchsichtigen Pflaster steril abgedeckt, die CMA 106 Spritze mit der zuführenden Leitung verbunden. Ein Microvial wird in den Vialholder der abführenden Leitung platziert.
- f** Die Spritze wird in die CMA 106 MD-Pumpe platziert, das ganze System kann nun an der Haut fixiert werden.

Die Perfusion des Mikrodialysekatheters erfolgt mittels einer CMA 106 Mikrodialyse-Pumpe, steriler isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0,9% Braun Melsungen, Deutschland) und mit einer Geschwindigkeit von  $0,3\mu\text{l}/\text{min}$ . Die Analyse des Dialysats erfolgte unmittelbar nach Probengewinnung am Bett des Patienten mit dem CMA 600 Analyser. Die Dialysatreste wurden eingefroren und für spätere Carnitin- bzw. Aminosäureanalysen verwendet.

#### **Dokumentation**

In standardisierten Dokumentationsbögen (siehe Abb. 4.2) wurden Nebenwirkungen und Komplikationen aller durchgeführten Mikrodialysen festgehalten. Alle 48 Dokumentationsbögen zu Implantation und Verlauf der subkutanen Mikrodialyse gingen in die Auswertungen ein.

## NEBENWIRKUNGEN-KOMPLIKATIONEN (DOKUMENTATIONSBOGEN)

### Implantation des Katheters

Datum:

**Sedierung/Analgesie?** ja / nein

Medikament:

**Emler-Pflaster?** ja / nein

Schwellung ja / nein

Rötung ja / nein

**Hautpunktion:**

Blutung ja / nein

Mehr als ein Stichversuch ja / nein Zahl:

Schmerzen (Mimik/Abwehr) ja / nein

Herzfrequenzanstieg während des Legens ja / nein

Herzfrequenz vor: und beim Legen (max. HF):

### Verlauf der Mikrodialyse

Lokalreaktion ja / nein

Lokal-Infektion ja / nein

Erreger im Abstrich:

Systemische Infektion (durch Katheter) ja / nein

Erreger: BK/LP/Kath-Spitze/Urin

Lokale-Blutung ja / nein

Akzidentelle Dislokation ja / nein

### Abbruch/Ende

Datum: Dialyse-Tag:

Wegen Komplikation ja / nein

Welche?

Wundsekret nach Entfernung ja / nein

Wenn ja Abstrich:

Blutung bei Entfernung: ja / nein

Rötung bei Entfernung ja / nein

Schwellung bei Entfernung ja / nein

Blut an der Sondenspitze ja / nein

Spitze der Sonde Intakt ja / nein

**Narbenbildung** (Tastbefund nach einer Woche) ja / nein

*Abb. 4.2: Dokumentationbogen - Nebenwirkungen-Komplikationen*

### 4.1.3 Ergebnisse

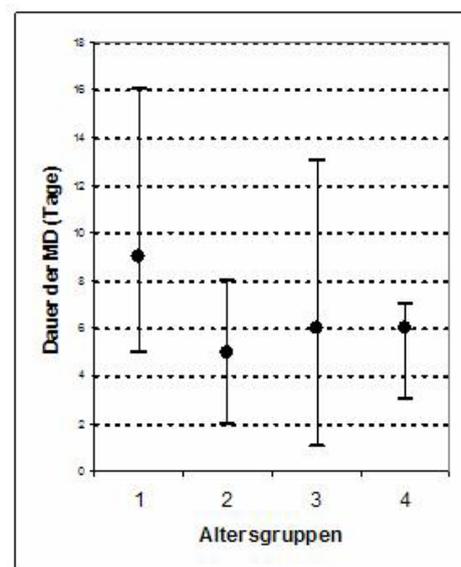
Im Rahmen dieser Studie stellte sich die sc MD als komplikationsarme Methode dar, die bei Kindern aller Altersstufen auch über einen längeren Zeitraum sicher durchgeführt werden konnte.

Es wurden 48 subkutane Mikrodialysen bei 42 Kindern zwischen 0 und 15,5 Jahren durchgeführt. Die Dauer der sc MD betrug zumeist eine Woche (1-16 Tage), siehe Abb. 4.3. Bei den 5 Frühgeborenen mit Gewicht unter 1000g erfolgte die Mikrodialyse über eine Dauer von 9 bis 16 Tagen.

**Abb. 4.3:** Dauer der Mikrodialyse in den 4 Alterskategorien

- Median
- Max / Min

- 1 = Früh- und Neugeborene (n=21)
- 2 = Säuglinge (n=7)
- 3 = Kinder 1-6 Jahre (n=13)
- 4 = Schulkinder 7-15 Jahre (n=7)



Durch die Wahl der Implantationsstelle, die Kürze der Dialysemembran und die verwendete No-Touch Insertionstechnik konnte die subkutane Mikrodialyse bei allen Kindern einschließlich der fünf extrem kleinen Frühgeborenen ohne relevante Komplikationen durchgeführt werden (Tabelle 4.1).

Die Implantation des subkutanen Mikrodialysekatheters kann mit dem Legen einer intravenösen Kanüle verglichen werden. Bei der **Insertion der Katheter** wurde bei 3 Patienten (6%) versehentlich eine Vene punktiert, sodass ein zweiter Stich erfolgte. Bei 13 Patienten (27%) kam es zu einer geringfügigen Blutung (1-3 Tropfen) und für fast jedes zweite Kind (40%) war trotz Lokalanästhesie (EMLA) die Insertion schmerzhaft. Die geringfügigen Blutungen und Schmerzreaktionen wurden dabei vorwiegend bei den kleinen Kindern beobachtet (Kategorie 1-3). Die Schmerzreaktionen waren vergleichbar mit dem Legen einer intravenösen Kanüle. Bei 2 Patienten kam es zu einer lokalen Reaktion (Rötung, Schwellung) infolge

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

der Lokalanästhesie (EMLA).

Im **Verlauf der subkutanen Mikrodialyse** traten kaum Probleme auf: bei 2 Patienten musste das Monitoring nach 4 bzw. 12 Tagen aufgrund einer Perfusionstörung/Fehlfunktion des MD-Systems abgebrochen werden, ebenso bei 2 Patienten nach 5 bzw. 9 Tagen wegen akzidenteller Dislokation des Katheters. In 2 Fällen kam es zu einer lokalen Einblutung um den Katheter (einmal wegen erkrankungsbedingter Thrombopenie), ohne dass das Monitoring dadurch beeinflusst wurde. 2 Patienten verstarben am 2. bzw. 4.Tag der Mikrodialyse an der Schwere ihrer Grunderkrankung.

Bei keinem Patienten kam es durch die sc MD zu einer lokalen oder systemischen Infektion. Eine lokale Unverträglichkeitsreaktion wurde nicht beobachtet. Die Mikrodialysekatheter wurden von allen Patienten gut toleriert und beeinträchtigten nicht die Spontanmotorik. Das Wechseln der Microvials gelang ohne Irritation der Patienten, auch im Schlaf. Nach Entfernen der Mikrodialysekatheter waren unter der Stereolupe alle Katheter intakt. Kein Kind entwickelte eine Narbe im Bereich der Insertionsstelle.

<b>Komplikationen/ Probleme im Zusammenhang mit der Subkutanen Mikrodialyse bei insgesamt 48 Anwendungen</b>	<b>Häufigkeit (%)</b>	
<b>Kompl-LokAnästh (EMLA)</b>	Rötung/ Schwellung	4
<b>Kompl-Insertion des MD-Katheters</b>	Fehlfunktion	6
	Blutung (geringfügig, 1-3 Tropfen)	27
	Schmerz (Mimik, Abwehr)	40
<b>Kompl-Verlauf der MD</b>	Lokale Infektion	0
	Systemische Infektion	0
	Lok. Einblutung um MD-Katheter	4
	Lokale Rötung	0
	Wundsekret	0
	Narbenbildung	0
	Katheter-Dislokation	4
	Perfusionsstörung des MD-Katheters	4
	Abbrechen der MD-Katheterspitze (Beurteilung mit Stereolupe nach Entfernung)	0

**Tabelle 4.1:** Komplikationen und Probleme im Zusammenhang mit der Mikrodialyse

#### 4.1.4 Diskussion und Schlussfolgerungen

Die Arbeit demonstriert eine Langzeitanwendung der subkutanen Mikrodialyse an dem bisher größten pädiatrischen Patientenkollektiv. Insgesamt wurden 48 subkutane Mikrodialysen bei 42 Kindern zwischen 0 und 15,5 Jahren durchgeführt, darunter 5 ELBW infants mit einem Gewicht unter 1000g.

Im Rahmen dieser Studie stellte sich die Methode als sicher und nebenwirkungsarm heraus und wurde von allen Patienten gut toleriert.

Die Implantation der Mikrodialyse-Katheter mit der beschriebenen minimal traumatisierenden No-Touch Technik ist einfach durchzuführen und kann hinsichtlich der Belastung für den Patienten mit dem Legen einer Venenverweilkanüle verglichen werden.

Von dem Neurochirurgen W.J. Faillace wurde bereits eine No-Touch Technik zur ventrikuloperitonealen Shuntanlage beschrieben, um die Rate von Shuntinfektionen zu senken. Durch eine hochsterile Handhabung der Shuntinstrumente, die streng von den übrigen operativen Instrumenten getrennt wurden und nicht mit Haut in Berührung kamen, konnte die Rate von Shuntinfektionen um 2/3 reduziert werden (Faillace 1995, S. 344).

Mit Ausnahme von 2 früheren Studien unserer Arbeitsgruppe (Baumeister 2001, Rolinski 2001) sowie einer neuesten Mikrodialysestudie zum Glukosemonitoring bei Neonatalem Diabetes (Holzinger 2005) waren allen in der Literatur beschriebenen Studien zur sc MD bei Kindern (Horal 1995, Hildingsson 1996 und 2000, Kamel 1999, Enoksson 2000, Steninger 2001, Beregszaszi 2003, Heptulla 2003) gemeinsam:

- Die Verwendung von Mikrodialysekathetern mit einer langen Dialysemembran (30mm)
- Die Implantation im Bereich der Bauchdecke, wodurch die Anwendbarkeit der sc MD eingeschränkt wurde. Speziell bei Frühgeborenen mit dünner Bauchdecke besteht die Gefahr der Perforation in die Bauchhöhle. Eine nicht ausreichende Dicke des Subkutangewebes war ein Ausschlusskriterium für die Teilnahme an diesen Studien. Kein Patient hatte ein Körpergewicht unter 1000g, der leichteste Patient war ein „very low birth weight infant“ (<1500g) mit einem Körpergewicht von 1040g (Horal 1995, S. 3)

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

- Ein komplikationsloser Verlauf, bei einer maximalen Dauer des Monitorings von 4,5 Tagen

Baumeister entschied sich für die Verwendung eines Mikrodialysekatheters mit einer kürzeren Membranlänge (10mm) und wählte den lateralen Oberschenkel als Insertionsort für die Katheter. Damit war es möglich, die sc MD unabhängig von der Dicke des Subkutangewebes auch bei extrem kleinen Frühgeborenen (<1000g) über bis zu 16 Tagen sicher anzuwenden.

Diese 13 Patienten aus der Studie von Baumeister 2001 gingen nochmals in die aktuelle Studienauswertung ein. Insgesamt konnte bei allen Kindern durch die Wahl der Implantationsstelle (lateraler Oberschenkel, Unterarm), die Kürze der Dialysemembran (10 bzw. 20mm) und die verwendete No-Touch Insertionstechnik die subkutane Mikrodialyse sicher durchgeführt werden, einschließlich der fünf extrem kleinen Frühgeborenen mit spärlichem subkutanen Fettgewebe.

Bisher beschreiben nur 12 Studien (PubMed Dezember 2005) die Anwendung der Mikrodialyse im Subkutangewebe bei Neugeborenen, Säuglingen oder Kindern, wobei die sc MD als einfach, problemlos und sicher beschrieben wird.

Die Subkutane Mikrodialyse wurde zuerst bei Neugeborenen bis zu einer Dauer von 4 Tagen angewendet, um den Gewebstoffwechsel in den ersten Lebenstagen (Horal 1995) oder perioperativ (Hildingsson 1996 und 2000) zu untersuchen. Es sind keine Nebenwirkungen beschrieben, insbesondere keine Infektionen, keine Blutungen oder Unverträglichkeitsreaktionen. Bei weiteren 12 Neugeborenen war die sc MD einfach durchzuführen und verlief ohne Komplikationen (Steninger 2001, S. 29). In der Studie von Baumeister (2001) wurde explizit nach Nebenwirkungen der Methode geforscht, auch hier konnte sie als sicher und nebenwirkungsarm deklariert werden. Weitere Veröffentlichungen zur Anwendung der sc MD bei Kindern und Jugendlichen erwähnen keine Nebenwirkungen oder Komplikationen (Kamel 1999, Rolinski 2001, Enoksson 2000, Beregszaszi 2003, Heptulla 2003).

Tabelle 4.2 zeigt eine Übersicht über bisherige und die aktuelle Studie zur Anwendung der sc MD in der Pädiatrie.

Auch in Studien an Erwachsenen sind bisher keine Nebenwirkungen beschrieben, insbesondere keine lokalen oder generalisierten Infektionen, Katheter-Dislokationen oder Blutungskomplikationen (Damian 2001, S. 650). Lediglich über einen Fall von Perfusionsstörung des Katheters wurde berichtet (Bolinder 1993, S. 1082).

**Nach eingehenden Untersuchungen zu Nebenwirkungen und Komplikationen kann die subkutane Mikrodialyse bei Kindern aller Altersstufen unter den hier beschriebenen Anwendungsbedingungen als eine sichere und nebenwirkungsarme Methode für ein metabolisches Langzeit-Monitoring deklariert werden.**

**Sie erlaubt ein intensivstes Gewebemonitoring ohne nennenswerte Belastung selbst für kleinste Patienten (Frühgeborene).**

Erstautor, Erscheinungsjahr	Patienten	Gewicht [kg]	Stoffwechselmonitoring				MD- Dauer [Tage]	Anästhesie	Beschreibung von Nebenwirkungen
			Glukose	Laktat	Glycerol	andere			
Horat, 1995	7 Neugeb.	1.0 - 3.2	X	X			1.5 - 4	k.A. <sup>1</sup>	
Hildingsson, 1996	14 Neugeb.	1.9 - 4.1	X	X	X		1 - 4,5	Vollnarkose	X <sup>2</sup>
Kamel, 1999	6 Kinder	k.A. <sup>1</sup>	X		X		1	k.A. <sup>1</sup>	
Enoksson, 2000	17 Jugendl.	k.A. <sup>1</sup>			X		k.A. <sup>1</sup>	lokale <sup>3</sup>	
Hildingsson, 2000	13 Neugeb., 12 Kinder	1.9 - 4.8, 5.0 - 20.0	X	X			1	Vollnarkose	
Baumeister, 2001	13 Neugeb.	0.8 - 7.0	X	X		Harnstoff	4 - 16	lokale <sup>3</sup>	X <sup>4</sup>
Rolinski, 2001	5 Neugeb.	1.2 - 2.8	X	X		Amino- säuren	8-16	lokale <sup>3</sup>	
Steninger, 2001	12 Neugeb.	3.4 - 5.3	X	X	X		1	keine	
Beregszaszi, 2003	20 Kinder	k.A. <sup>1</sup>			X		k.A. <sup>1</sup>	lokale <sup>3</sup>	
Heptulla, 2003	16 Jugendl.	62.7 <sup>5</sup>			X		1	lokale <sup>3</sup>	
Ahlsson, 2004	1 Kind	32.0	X				3	Vollnarkose	
Holzinger, 2005	1 Neugeb.	k.A. <sup>1</sup>	X				12 <sup>6</sup>	lokale <sup>3</sup>	X <sup>6</sup>
aktuelle Studie (Hack), 2005	21 Neugeb., 7 Säuglinge, 20 Kinder	0.6-49.5	X	X		Pyruvat, Amino- säuren, Carnitine	1-16	lokale <sup>3</sup>	X

**Tabelle 4.2:** Zusammenstellung bisheriger Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

1 keine Angabe

2 Entz. Reaktion (0/14), Blutung (0/14), Infektion (0/14), Hautrötung (0/14)

3 EMLA

4 akzidentelle Venenpunktion (4/13), akzidentelle Dislokation des Katheters (2/13), Perfusionsstörung (1/13), Einblutung um den MD-Katheter (1/13); lokale/system. Infektion (0/13), Hautrötung (0/13), Narbenbildung (0/13)

5 Mittelwert

6 im Zeitraum von 12 Tagen wurden drei MD-Katheter gelegt. Probleme: 1) akzidentelle Dislokation sowie 2) akzidentelle Venenpunktion mit Okklusion des Katheters

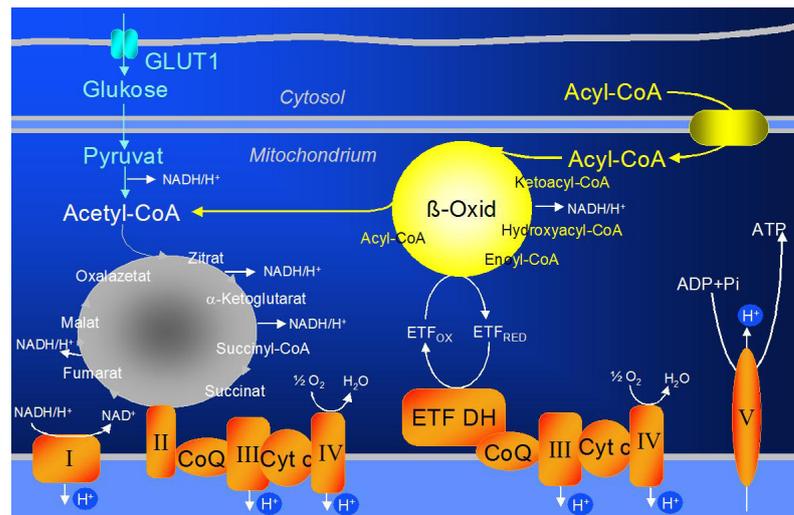
## 4.2 Therapiemonitoring mit subkutaner Mikrodialyse bei Komplex I Defekt der Atmungskette

### 4.2.1 Hintergrund

Bei Atmungskettendefekten (syn. Mitochondriopathien, Erkrankungen der oxidativen Phosphorylierung, hereditäre Laktatazidose) handelt es sich um Störungen der mitochondrialen Energiegewinnung. Sie sind durch eine große klinische Variabilität ihrer Symptomkonstellation verschiedener betroffener Organe gekennzeichnet und reichen von im Neugeborenenalter tödlich verlaufenden Formen bis zu einer isolierten, milden Myopathie. Der intrazelluläre Energiemangel macht sich besonders in Organen mit hohem Energiebedarf (Zentrales Nervensystem, Muskulatur) bemerkbar. Durch den Defekt in der Atmungskette, der sich in jedem der 5 Atmungskettenkomplexe befinden kann, kommt es zu einem Rückstau an Substraten im gesamten Energiestoffwechsel. Aus der Akkumulation von nicht verarbeiteten Pyruvat resultiert v.a. ein erheblicher Anstieg von Laktat in Blut, Liquor und Gewebe mit Laktatazidose. Trotz fortschreitenden Wissens um die molekularen Grundlagen mitochondrialer Enzephalomyopathien sind die Therapieoptionen bei diesen Erkrankungen leider höchst unzureichend. Neben symptomatischer Therapie (Antikonvulsiva, Bicarbonat, PEG-Anlage etc.) umfassen Behandlungsstrategien die Verabreichung von verschiedenen Vitaminen, Cofaktoren, Coenzymen und Sauerstoffradikalfängern, zumeist basierend auf theoretischen Überlegungen oder in vitro Daten (DiMauro 2004, S. 233). Nach den Leitlinien Kinderheilkunde und Jugendmedizin zur Erbliehen Laktatazidose wird auch zur Ketogenen Diät bei der Behandlung von Komplex I Defekten der Atmungskette geraten (Hoffmann 1997, S. 4). Die Ketogene Diät ist eine therapeutische Ernährungsform, die durch ihren hohen Fettanteil und starke Reduktion von Kohlenhydraten zur Ketonämie führt. Es resultiert eine Umstellung des Stoffwechsels von einer Energiegewinnung vorwiegend aus Glukose auf die Energieerzeugung aus Fettsäuren, vergleichbar den physiologischen Veränderungen im Hungerzustand. Ketonkörper (v.a.  $\beta$ -Hydroxybutyrat), energiereiche Abbauprodukte der Fettsäuren, werden zu einem der wichtigsten Substrate für den Energiestoffwechsel. Insbesondere das Gehirn, dessen Neurone langkettige Fettsäuren nicht verstoffwechseln können, nutzt

Ketonkörper für seinen Energiestoffwechsel.

Bei der Behandlung von Komplex I Defekten der Atmungskette besteht die Überlegung darin, dass Reduktionsäquivalente aus der  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren über das Elektronentransfer-Flavoprotein unter Umgehung von Komplex I direkt an Komplex III der Atmungskette abgegeben werden können (Baumeister 2004, S. 64), siehe Abb. 4.4.



**Abb. 4.4:** Mitochondrialer Stoffwechsel

Das Schema zeigt die Beziehungen zwischen  $\beta$ -Oxidation (gelb), Zitratzyklus (grau) und Atmungskette (orange). Im Rahmen der  $\beta$ -Oxidation können über den Elektronentransferfaktor (ETF) Wasserstoff bzw. Elektronen von der Acyl-CoA-Dehydrogenase über die Elektronentransferfaktor-Dehydrogenase (ETF-DH) in die Atmungskette eingeschleust werden. Dieser Energietransfer ist unabhängig von Komplex I und II der Atmungskette.

*Abkürzungen:* ETF<sub>ox</sub>, oxidierte Form des Elektronentransfer-Flavoproteins; ETF<sub>red</sub>, reduzierte Form des ETF; ETF-DH, ETF-Dehydrogenase.

(Quelle: Baumeister 2004, S. 63, Schema in Anlehnung an DiMauro 2003 und Zeviani 1989)

Die Behandlung von Atmungskettendefekten mit einer fettreichen oder Ketogenen Diät stützt sich bisher jedoch auf Einzelfälle (z.B. Munnich 1996, S. 262; Panetta 2004, S. 490). Im Kontext mit Mitochondriopathien wird der Begriff Ketogene Diät häufig mit fettreich gleichgesetzt ohne zwischen fettreicher und fettreicher ketoseinduzierender Ernährung zu differenzieren. Doch gerade diese Unterscheidung besitzt erhebliche Bedeutung für den cerebralen Energiestoffwechsel.

Aufgrund der geringen Datenlage sowie der Variabilität der Krankheitsverläufe ist der Einfluss einer fettreichen bis ketogenen Diät auf den Stoffwechsel (Laktat) sowie die klinischen Symptome bei Mitochondriopathien individuell zu objektivieren.

#### 4.2.2 Fragestellung

Ein besonderes Problem bei der Behandlung von Mitochondriopathien ist die Beurteilung der Effektivität von Therapiemaßnahmen, insbesondere vor dem Hintergrund der großen Variabilität der klinischen Symptomatik und Verläufe dieser Erkrankungen.

Die Methodik der subkutanen Mikrodialyse ermöglicht, durch die Verfügbarkeit einer Vielzahl von Messwerten unter standardisierten Bedingungen, die Auswirkungen von Therapien auf den Gewebstoffwechsel individuell zu erfassen. Ziel war es, erstmalig bei einer Patientin mit Komplex I Defekt der Atmungskette die metabolischen Auswirkungen der Ketogenen Diät anhand von subkutanen Gewebslaktatwerten zu untersuchen.

##### Fragestellungen:

- **Lässt sich durch Monitoring der extrazellulären Laktatwerte mit der kontinuierlichen Subkutanen Mikrodialyse eine Verbesserung der Stoffwechselsituation unter Ketogener Diät zeigen?**
- **Inwieweit eignet sich die subkutane Mikrodialyse zur objektiven Quantifizierung des Therapieerfolgs (Ketogene Diät) und inwieweit kann sie zur Therapieoptimierung (Feineinstellung der Diät) beitragen?**

#### 4.2.3 Patient und Methodik

Bei der heute 7jährigen Patientin wurde im Alter von 4,1 Jahren ein isolierter Komplex I Defekt der Atmungskette durch eine Muskelbiopsie biochemisch gesichert (verminderte Aktivität der NADH-CoQ10-Oxidoreduktase). Molekulargenetische Untersuchungen ergaben eine MELAS-Mutation (MELAS 3243 RFLP) mit hohem Heteroplasmiegrad (70%), was die klinische Symptomatik des Kindes

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

erklärt. Kurz nach ihrem 4. Geburtstag erlitt V.N. einen ersten, sekundär generalisierten Krampfanfall. Bei den Untersuchungen fand sich eine deutliche Laktatazidämie sowie eine Laktaterhöhung im Liquor auf 11 mmol/L. Neben der fokalen Epilepsie und persistierenden Laktatazidose zeigte sie eine deutliche statomotorische und mentale Entwicklungsverzögerung, eine muskuläre Hypotonie, Ataxie, Mikrocephalie und eine schwere Gedeihstörung. Die kraniale NMR-Spektroskopie zeigte ein Leigh-Syndrom mit Laktaterhöhung in den Läsionen der Basalganglien. Zunächst erfolgte eine Behandlung mit Riboflavin und Coenzym Q10, unter welcher Epilepsie und Laktatazidose persistierten. Die morgendlichen Nüchternlaktatwerte im Blut lagen zwischen 5,8-10,8 mmol/L (normal < 2,2).

Die Patientin wurde im Alter von 4,6 Jahren erstmals auf Ketogene Diät (75% Fettanteil bezogen auf Gesamtkalorien,  $\beta$ -Hydroxybutyratwerte im Blut 2,5 - 3,5 mmol/L) eingestellt, worunter es zu einer erheblichen Verbesserung der morgendlichen Laktatwerte im Blut (im Mittel  $\pm$ SD 3,6  $\pm$  0,2 mmol/L, n=13) sowie zu einer klinischen Verbesserung kam (keine erneuten Krampfanfälle in den folgenden 9 Monaten ohne antikonvulsive Therapie, Besserung der mentalen und motorischen Leistungen sowie erheblich verbessertes Gedeihen). Aufgrund des Verdachtes einer Pankreatitis (Lipaseanstieg, Bauchschmerzen) im Rahmen der Ketogenen Diät wurde nach 9 Monaten die Diät beendet. Mit Verlust der Ketonämie wurde ein deutlicher Anstieg der Nüchternlaktatwerte im Blut (6,7  $\pm$  0,3 mmol/L, n=6) beobachtet, sie zeigte Rückschritte in Entwicklung und Gedeihen. Es kam erneut zu Krampfanfällen 2 Wochen nach Beendigung der Ketogenen Diät (ca. 1 pro Monat) und es erfolgte eine antikonvulsive Therapie mit Oxcarbamazepin. Da die Pankreaswerte auch nach Absetzen der Diät leicht erhöht blieben, erfolgte nach 4 Monaten eine erneute Einstellung auf Ketogene Diät, worunter V. wieder anfallsfrei wurde. Die morgendlichen Laktatwerte im Blut fielen wieder auf im Mittel  $\pm$ SD 3,2  $\pm$  0,2 mmol/L (n=19).

Um herauszufinden, welcher Fettanteil in der Ketogenen Diät den größten metabolischen Effekt erreicht, verwendeten wir bei der erneuten Einstellung auf die Diät die subkutane Mikrodialyse. Der Fettanteil der Diät wurde alle 2 Tage von 70% auf 80 und 90% gesteigert. Während dieser Einstellungsphase der Ketogenen Diät wurde der Patientin ein Mikrodialysekatheter (CMA 70) am Unterarm implantiert (wie in Kap. 4.1.2 beschrieben). Es erfolgte die kontinuierliche Überwachung der subkutanen Gewebslaktatwerte mit der Mikrodialyse über 7 Tage, um die Diät in Bezug auf die Effektivität auf die Stoffwechselsituation darstellen

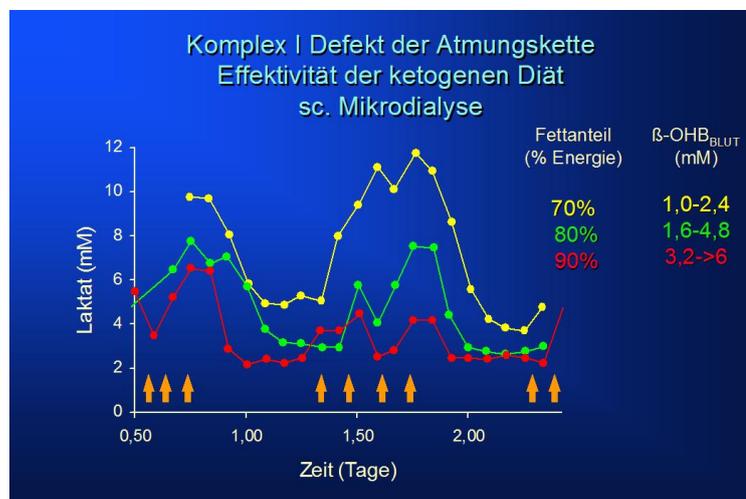
zu können. Alle 2 Std. wurden die Laktatkonzentrationen im Dialysat im CMA 600 Mikrodialyse Analyser bestimmt. Parallel dazu wurden ca. alle 6 Std. im venösen bzw. kapillären Blut die Ketonkörper ( $\beta$ -Hydroxybutyrat) und Laktatwerte bestimmt.

#### 4.2.4 Ergebnisse

Durch das kontinuierliche Monitoring der Patientin mit der subkutanen MD ließ sich zeigen, dass es mit Steigerung des Fettanteils der Nahrung und Zunahme der Ketonämie zu einer eindeutigen Abnahme der Gewebslaktatwerte und damit zu einer Verbesserung der Stoffwechselsituation unter Ketogener Diät kam (Abb. 4.5 und 4.6).

Mit Steigerung des Fettanteils der Nahrung (% der kcal/Tag) kam es bei der Patientin zur Zunahme der Ketonämie, wie die  $\beta$ -Hydroxybutyratwerte im Blut im Verlauf zeigen (LCT-Diät <70%:  $\beta$ -OH-Butyrat 1,0-2,4 mM; 80%:  $\beta$ -OH-Butyrat 1,6-4,8mM; 90%:  $\beta$ -OH-Butyrat 3,2-6mM).

Es ließ sich zeigen, dass mit zunehmendem Fettanteil in der Nahrung und zunehmender Ketonämie die Laktatwerte abnehmen (Abb. 4.5).

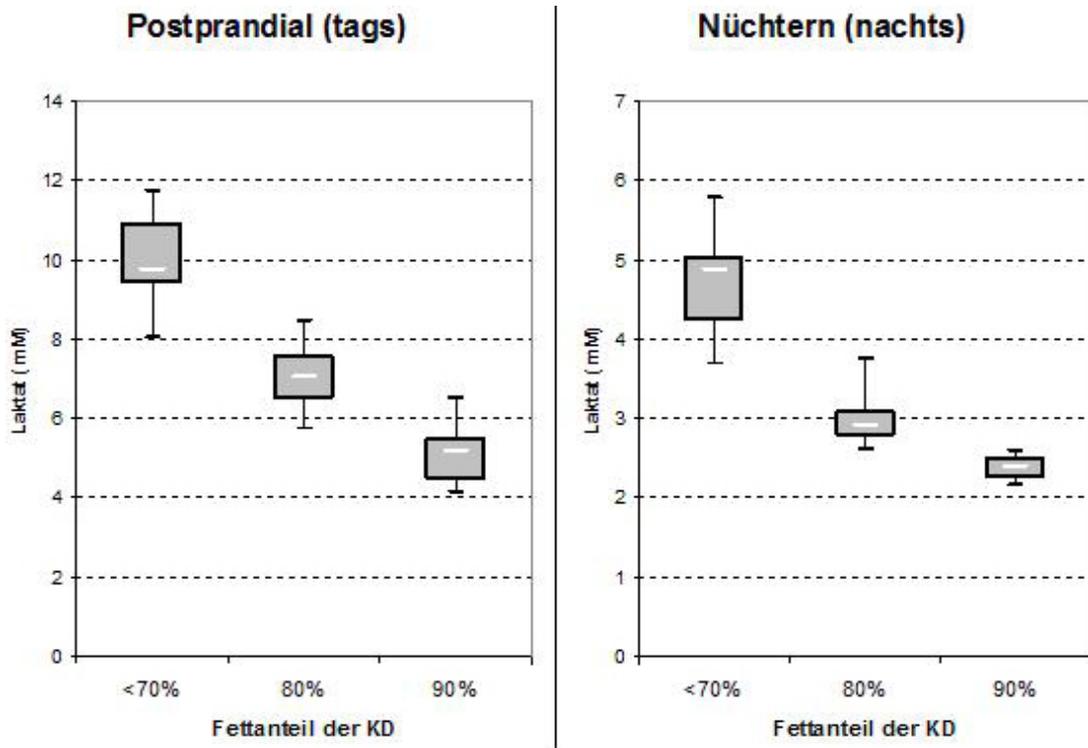


**Abb. 4.5:** Zeitlicher Verlauf der subkutanen Gewebslaktatwerte in der Einstellungsphase der Ketogenen Diät

In Abhängigkeit vom Fettanteil der Nahrung (10% Steigerung alle 2 Tage) kam es mit zunehmender Ketose zu einer stetigen Abnahme der subkutanen Laktatwerte. Die im morgendlichen Nüchternzustand niedrigeren Laktatwerte stiegen über den Tag in Assoziation mit der Nahrungsaufnahme (graue Pfeile). Die Gewebslaktatmessungen im MD-Analyser erfolgten 2 stündlich.

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

Die drei Diäten (70%, 80%, 90%) unterschieden sich sowohl hinsichtlich der Nüchtern-Laktatwerte als auch der postprandialen Laktatwert signifikant voneinander (Abb. 4.6). Die Abnahme des postprandialen Geweblaktats mit Steigerung des Fettanteils der Nahrung war hochsignifikant: 70% vs. 80% ( $P=8 \cdot 10^{-5}$ ), 70% vs. 90% ( $P=4 \cdot 10^{-5}$ ) und 80% vs. 90% ( $P=0.001$ ). Ebenfalls hochsignifikant war die Abnahme der subkutanen Geweblaktatwerte bei nüchternem Zustand der Patientin (70% vs. 80%:  $P=8 \cdot 10^{-5}$ , 70% vs. 90%:  $P=4 \cdot 10^{-5}$ , 80% vs. 90%:  $P=4 \cdot 10^{-5}$ ). Getestet wurde mit den Tests nach Kruskal-Wallis (für 3 Stichproben) und Mann-Whitney (für 2 Stichproben) auf einem Signifikanzlevel von 5%. Da unter 2 Bedingungen, nämlich postprandial und nüchtern, getestet wurde, beträgt das Signifikanzniveau nach Bonferroni-Korrektur jetzt 2,5%.



**Abb. 4.6:** Geweblaktat subkutan in Abhängigkeit vom Fettanteil der Ketogenen Diät. Alle 2 Tage wurde der Fettanteil der Nahrung gesteigert, die Abnahme der subkutanen Laktatwerte war hochsignifikant. Die Boxplots basieren auf je 9 Meßwerten. Bereich: 25.-75. Perzentile, Whisker Bereich: Min/Max, Balken weiß: Median

### 4.2.5 Diskussion und Schlussfolgerungen

Mittels kontinuierlicher subkutaner MD ließ sich bei dieser Patientin mit Komplex I Defekt der Atmungskette erstmalig zeigen, dass es mit Steigerung des Fettanteils der Nahrung und Zunahme der Ketonämie zu einer hochsignifikanten Abnahme der Gewebslaktatwerte kam. Diese nachgewiesene Verbesserung des Stoffwechsels in der Peripherie (subkutanes Fettgewebe) sollte sich auch in einer Abnahme des Gewebslaktats im ZNS widerspiegeln und sich somit positiv auf die neurologische Symptomatik auswirken. Die Klinik der Patientin zeigte eine eindeutige Besserung: Anfallsreduktion, Besserung der Ataxie sowie gesteigerte Vigilanz. Durch das kontinuierliche Gewebsmonitoring mittels subkutaner Mikrodialyse ließ sich somit zeigen, dass nicht nur die ketotische Stoffwechsellage sondern auch das Ausmaß der Ketonämie entscheidend für die Verbesserung des Gewebsstoffwechsels ist. Bei jedem Kind mit Mitochondriopathie sollte die diätetische Behandlung daher individuell eingestellt und optimiert werden.

**Die subkutane Mikrodialyse ermöglichte durch die Verfügbarkeit einer Vielzahl von Messwerten unter standardisierten Bedingungen erstmalig bei einer Patientin mit Komplex I Defekt, minimal invasiv signifikante Auswirkungen von Therapiemaßnahmen (Ketogene Diät) auf den Gewebsstoffwechsel darzustellen. Damit gestattete die sc MD die objektive Beurteilung des Effekts der Ketogenen Diät auf den Energiestoffwechsel und die individuelle Bestimmung des optimalen Fettanteils (Feineinstellung der Diät).**

Beruhend auf theoretischen Überlegungen wird nach den Leitlinien zur Erblischen Laktatazidose (Hoffmann 1997, S. 4) eine fettreiche, ketogene Diät bei Defekten des Komplex I der Atmungskette als hilfreich empfohlen, ohne näher auf den Anteil des Fettes in der Nahrung und die daraus resultierende Veränderung der Stoffwechselsituation einzugehen. Auch Panetta (2004) beschreibt die Anwendung einer fettreichen (50-60% der Kalorien) bis ketogenen Diät (ohne Angabe des Fettanteils der Nahrung) bei 5 Patienten mit Komplex I Defekt der Atmungskette, die von den Patienten gut toleriert wurde und sich als möglicherweise effektiv auf kurze Sicht zeigte (Panetta 2004 S. 497). Als Beurteilungsmaß diente vorwiegend die Klinik der Patienten (Muskeltonus, Entwicklung, Anfallsmuster). Wiederholte Säure-Basen- und Laktat-Bestimmungen im Plasma (ohne Angabe von Häufigkeit und Zeitpunkten der Messungen) standen in der Arbeit von Panetta nicht in

Beziehung zur klinischen Symptomatik und waren somit nicht hilfreich im Hinblick auf die Effektivitätsbeurteilung (Panetta 2004 S. 496).

Häufig wird die Klinik (mentale und motorische Entwicklung, Gewichtsverlauf, Anfallshäufigkeit, Vigilanz etc.) von Patienten als subjektives Beurteilungsmaß für die Effektivität einer Therapie herangezogen. Doch die Seltenheit der Erkrankung und die große Variabilität der Klinischen Symptomatik und Verläufe von Mitochondriopathien macht die Effektivitätsbeurteilung von Therapieversuchen äußerst schwierig (Panetta 2004, S. 495). In Studien von Artuch und Mitarbeitern (1998) erwies sich bei Patienten mit Mitochondriopathien die engmaschige Bestimmung der Laktatwerte im Blut in Kombination mit klinischer Untersuchung und cranialem MRT als sinnvollstes Maß für eine Einschätzung des Therapieerfolgs. Dabei scheint der jeweilige genetische und biochemische Defekt von großer Bedeutung für den klinischen Verlauf zu sein (Artuch 1998, S. 844). Auch andere Möglichkeiten zur Objektivierung von Therapieerfolgen wurden getestet, z.B. Wiederholte Muskelbiopsie bei Komplex I Defekt (Scholte 1995), <sup>31</sup>P NMR des Gehirns (Peterson 1995), nichtinvasive Gewebs-Oximetrie (Kazuo 1999), Belastungstests und Plasmalaktatmessungen (Roef 2002).

Vorteil der Mikrodialyse ist die nahezu kontinuierliche Analyse des Mikrodialysats, die Darstellung der metabolischen Veränderungen im zeitlichen Verlauf, und die im Vergleich zu Blutwerten geringe Anfälligkeit für Artefakte (Laktat insbesondere bei Kindern häufig abnahmetechnisch verfälscht).

**Die subkutane Mikrodialyse ist somit ein viel versprechendes Instrument zur objektiven Beurteilung des Effekts von Therapiemaßnahmen auf den Gewebsstoffwechsel bei Mitochondriopathien und kann wie dargestellt zur individuellen Therapieoptimierung beitragen.**

## 4.3 Therapiemonitoring mit subkutaner Mikrodialyse bei PDH-Defekt

### 4.3.1 Hintergrund

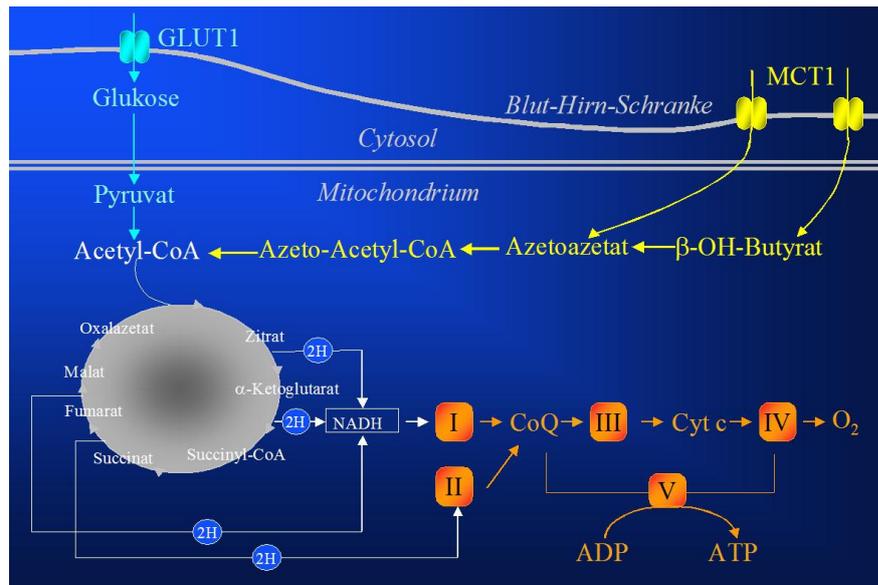
Der Pyruvatdehydrogenasemangel stellt eine weitere neurometabolische Erkrankung aus der Gruppe der erblichen Laktatazidosen dar. Die mitochondriale Pyruvatdehydrogenase (PDH), ein Komplex aus 3 Enzymen, metabolisiert Pyruvat zu Acetyl-CoA, welches ein essentielles Substrat für den Citratzyklus ist. Die PDH ist damit ein Schlüsselenzym des Energiestoffwechsels. Am häufigsten von einem Mangel betroffen ist die Pyruvatdecarboxylase, Enzym 1 des Komplexes. Das Ausmaß des Energiedefizits hängt von der Restaktivität des Enzyms ab (Richard 2003, S. 2). Kinder mit sehr geringer Restaktivität (<15%) überleben zumeist das Neugeborenenalter nicht. Je nach Restaktivität variieren die Symptome von unspezifischen Symptomen (Müdigkeit, Trinkschwäche) zu den Leitsymptomen psychomotorische und mentale Entwicklungsverzögerung, Ataxie, zentrale Hypotonie, Augenbewegungsstörungen, Epilepsien, Apnoen und progrediente Enzephalopathie. Schwere Laktatazidosen und Leigh Syndrom (subakute nekrotisierende Enzephalopathie) finden sich vor allem bei männlichen Betroffenen (Richard 2003, S. 3). Die Kinder können bereits pränatal auffällig werden, meist beginnen die neurologischen Symptome in der frühen Kindheit. Laborchemisch zeigen sich typischerweise massive Laktat- und Pyruvaterhöhung in Blut, Liquor und anderen Geweben sowie eine Hyperalaninämie.

Die Behandlungsstrategien beim PDH-Mangel sind aufgrund der Seltenheit der Erkrankung nicht einheitlich. Eine Heilung ist bisher nicht möglich, ein Stillstand des fortschreitenden neurologischen Schadens selten.

Die Verabreichung von Cofaktoren (Biotin, Thiamin) zählt zum Standard in der Therapie des PDH-Mangels, noch erforscht wird die Behandlung mit dem Enzymaktivator Dichloroacetat (Stacpoole 1997, S. 535; Fouque 2003, S. 793). Die Ketogene Diät wird seit beinahe drei Jahrzehnten in der Therapie des Pyruvatdehydrogenasemangels eingesetzt (Wexler 1997, S. 1655). Beschrieben wurden stabilere Krankheitsverläufe, klinische Fortschritte, Normalisierung der Laktatazidämie und als Kasuistik die Rückbildung von cerebralen Veränderungen im NMR (Falk 1976 S. 720; Cederbaum 1976, S. 718; Wijburg 1992, S. 150). Durch die Ver-

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

wertung von Ketonkörpern als alternatives Substrat verlieren Stoffwechselforgänge im Abbau der Glucose proximal von Acetyl-CoA, d.h. vom Glucosetransport an der Bluthirnschranke über die Glykolyse bis zur Pyruvatdehydrogenase, an Bedeutung (siehe Abb. 4.7). So können die Ketone den PDH-Defekt wirksam kompensieren.



**Abb. 4.7:** Cerebraler Stoffwechsel von Ketonkörpern

Neuronen sind für ihren Energiestoffwechsel auf Ketonkörper oder Glukose angewiesen. Die Ketonkörper ( $\beta$ -OH-Butyrat und Azetoazetat) gelangen mittels eines eigenen Carriers, dem Monocarboxylat-Transporter (MCT 1), über die Blut-Hirn-Schranke, und werden letztendlich in 2 Moleküle Acetyl-CoA umgewandelt, die dann in den Zitratzyklus (grau) eingeschleust werden können. Durch die Nutzung von Ketonkörpern verlieren Stoffwechselforgänge im Abbau der Glukose proximal von Acetyl-CoA, vom Glucosetransport an der Blut-Hirn-Schranke (GLUT1) über Glykolyse bis zur Pyruvatdehydrogenase, für den cerebralen Energiestoffwechsel an Bedeutung.

(Quelle: Baumeister 2004, S. 32)

Für Störungen der Pyruvatdecarboxylase (E1) konnte gezeigt werden, dass ein frühzeitiger Behandlungsbeginn mit Ketogener Diät und möglichst radikale Kohlenhydrat-Restriktion mit Normalisierung der Laktatazidämie und Verbesserung der Prognose hinsichtlich Lebensdauer und neurologischer Entwicklung verbunden ist (Wexler 1997, S. 1660).

### 4.3.2 Fragestellung

Ziel war es, bei einem Patienten mit gesichertem PDH E1 Defekt die Auswirkungen der Ketogenen Diät auf den Gewebsstoffwechsel mittels subkutaner Mikrodialyse zu objektivieren.

#### Fragestellung:

- **Lässt sich mit der Mikrodialyse eine signifikante Verbesserung des Gewebsstoffwechsels (Laktat, Pyruvat) unter Ketogener Diät zeigen und kann die subkutane kontinuierliche Mikrodialyse hierdurch einen Beitrag zur objektiven Beurteilung der Effektivität der Ketogenen Diät bei PDH-Mangel leisten?**

### 4.3.3 Patient und Methode

Der Säugling A.O. war im Alter von 30 Tagen durch eine muskuläre Hypotonie, Apnoe und schwere Laktatazidose mit Serumlaktatwerten von 6-8(-12) mmol/L aufgefallen. Im Alter von 10 Wochen wurde ein PDH (E1) Defekt nachgewiesen. Im Alter von 3 Monaten wurde mit der Ketogenen Diät begonnen.

Der Junge wurde zweimal, zuerst im Alter von 3 Monaten (vor Ketogener Diät), dann im Alter von 5 Monaten (unter Ketogener Diät, LCT- Diät, 85% der kcal als Fett) für jeweils 4,5 bzw. 3,5 Tage mit der kontinuierlichen subkutanen Mikrodialyse gemonitort. Als Implantationsort für den MD-Katheter diente der rechte bzw. linke Oberschenkel. Im CMA600 Analyser wurden zweistündlich die Konzentrationen von Laktat, Pyruvat und Glucose im Dialysat bestimmt. Das MD-Monitoring verlief beide Male komplikationslos.

Die Ketonkörper ( $\beta$ -OHB) wurden etwa alle 6 Stunden im venösen bzw. kapillären Blut bestimmt.

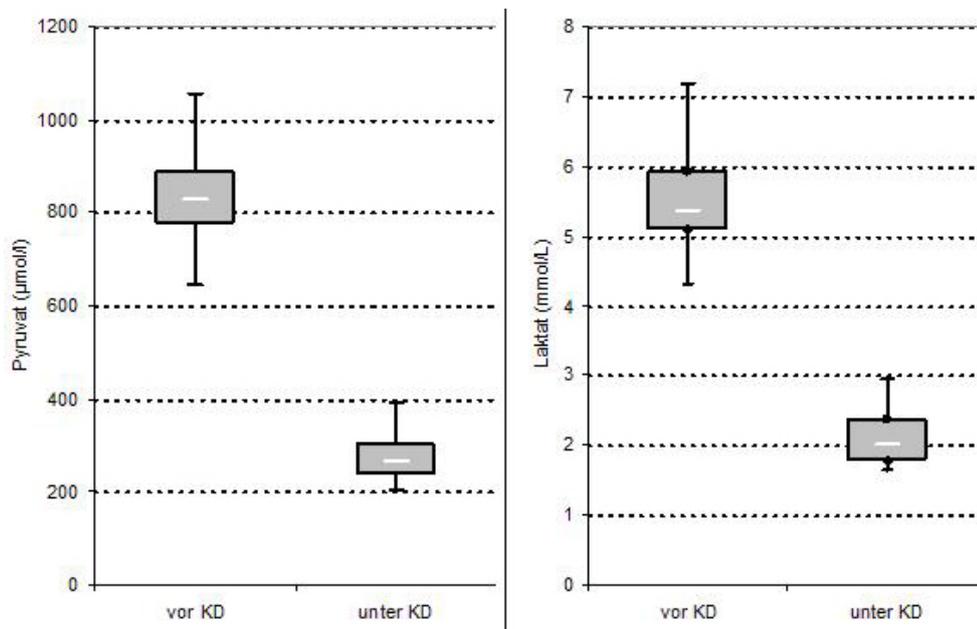
### 4.3.4 Ergebnisse

Das kontinuierliche Monitoring mit sc MD zeigte bei dem Säugling mit gesichertem PDH E1 Defekt eine wesentliche Verbesserung der Laktat- und Pyruvatwerte im Gewebe unter Ketogener Diät.

Vor Einleitung der Diät waren sowohl Laktat als auch Pyruvat im Gewebe deutlich erhöht mit Werten von 4,3 bis 7,2mmol/L (Laktat; normal < 2,2mmol/L),

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

bzw. 644 bis 1055  $\mu\text{mol/L}$  (Pyruvat; normal  $<90 \mu\text{mol/L}$ ). Beim Monitoring unter Ketogener Diät ( $\beta\text{-OH-Butyrat } 2\text{-}3\text{mM}$ ) lagen die Werte signifikant niedriger mit Werten von 1,65 bis 2,93  $\text{mmol/L}$  (Laktat,  $p=3 \cdot 10^{-9}$ ) bzw. 201 bis 392  $\mu\text{mol/L}$  (Pyruvat,  $p=3 \cdot 10^{-9}$ ), siehe Abb. 4.8.



**Abb. 4.8:** *Metabolisches Gewebsmonitoring (Pyruvat, Laktat) mit subkutaner Mikrodialyse bei einem Säugling mit PDH (E1) Defekt vor und unter Ketogener Diät*  
Nachweis eines signifikanten Abfalls von Pyruvat und Laktat im Subkutangewebe unter KD. Die Boxplots beinhalten je 24 Messwerte. Bereich: 25.-75. Perzentile, Whisker Bereich: Min/Max, Balken weiß: Median

#### 4.3.5 Diskussion und Schlussfolgerungen

Das biochemische Gewebsmonitoring mit der subkutanen Mikrodialyse ermöglichte auch bei diesem Patienten mit Mitochondriopathie (PDH E1 Defekt), durch die Verfügbarkeit einer Vielzahl von Messwerten unter standardisierten Bedingungen, minimal invasiv die signifikante Auswirkung der Therapie mit Ketogener Diät auf den Gewebsstoffwechsel darzustellen.

Wie schon in Kap. 4.2.5 diskutiert, ist die Effektivitätsbeurteilung von Therapiemaßnahmen anhand klinischer Kriterien bei kongenitalen Laktatazidosen aufgrund der Variabilität der Erkrankungsverläufe schwierig (Schulze 1998, S. 691).

Um den Effekt einer Therapie individuell zu objektivieren, wurde bereits eine Kombination verschiedener in vivo Methoden vorgeschlagen (Schulze 1998, S. 692). Schulze nutzte die Bestimmung von Glukoseoxidationsrate in vivo in Kombination mit 1H MRS des Gehirns, um den Effekt von Therapiemaßnahmen (Dichloroazetat) bei einer Patientin mit PDH E1 Defekt zu verifizieren, konnte allerdings keinen signifikanten Effekt der Behandlung nachweisen (Schulze 1998, S. 692).

**Im Rahmen dieser Arbeit konnte mithilfe der subkutanen Mikrodialyse bei einem Patienten mit PDH E1 Defekt eine signifikante Verbesserung der Geweblaktat- und -pyruvatwerte unter Ketogener Diät nachgewiesen werden. Insgesamt lässt sich somit im Einzelfall für den E1 Defekt des Pyruvatdehydrogenasekomplexes die Effektivität der Ketogenen Diät objektivieren.**

## **4.4 Glukose-Monitoring bei neonatalem Diabetes mellitus**

### **4.4.1 Hintergrund und Fragestellung**

Neonataler Diabetes mellitus (NDM), definiert als eine mindestens 2 Wochen andauernde Hyperglykämie im ersten Lebensmonat, die eine Insulintherapie erfordert, ist selten. Seine Inzidenz wird auf etwa 1 zu 450000 bis 1 zu 650000 Neugeborene geschätzt, wovon ca. 50% einen permanenten Diabetes entwickeln (v Mühlendahl 1995, S. 704). Der NDM kann sehr instabil sein und seine Behandlung ist oft schwierig. Inadäquate Insulintherapie führt zu Hyperglykämien, aus übermäßiger Insulintherapie resultieren Hypoglykämien. Studien beschrieben einen Zusammenhang zwischen Hyperglykämien (auch im Rahmen des neonatalen Diabetes) und intrazerebralen Blutungen (Manzar 1999, S. 78). Aber auch hypoglykämische Episoden (sowohl symptomatische wie asymptomatische) können die Entwicklung des Gehirns erheblich schädigen (Moore 1999, S. 838).

Ein engmaschiges Glukosemonitoring ist also erforderlich, um eine adäquate Insulintherapie zu gewährleisten. Häufige Blutglukosebestimmungen bedeuten insbesondere für kleine und kranke Neugeborene einen erheblichen Stress und Traumatisierung.

Im Vergleich zu wiederholten Blutglukosemessungen ermöglicht die kontinuierliche subkutane Mikrodialyse ein wahrscheinlich effizienteres Glukosemonitoring und ist ein viel versprechender Ansatz, insbesondere für Neugeborene die schmerzhaften Blutentnahmen zu reduzieren (Baumeister 2001, S. 1191).

Ein Langzeit-Glukosemonitoring mit der subkutanen Mikrodialyse wurde bereits erfolgreich eingesetzt bei Neugeborenen mit Hypoglykämierisiko (Baumeister 2001), ebenso bei erwachsenen Diabetikern zur Optimierung der Insulintherapie (Bolinder 1992, 1993 und 1997).

Im Rahmen dieser Arbeit wurde bei einem Neugeborenen mit Pankreasagenesie und Neonatalem Diabetes ein Langzeit-Monitoring mit der subkutanen Mikrodialyse im Hinblick auf folgende **Fragestellungen** durchgeführt:

- **Inwieweit korreliert das Blutglukoseprofil mit dem Glukoseprofil des Subkutangewebes?**
- **Eignet sich das Gewebsmonitoring mit der subkutanen MD für ein Monitoring der Blutglukose bei Neugeborenen mit Diabetes mellitus und lassen sich dadurch schmerzhafte Blutentnahmen reduzieren?**

#### 4.4.2 Patient und Methodik

Für die Dauer von sieben Tagen erfolgte ein engmaschiges Glukosemonitoring bei einem sechs Monate alten Säugling mit seit Geburt bestehendem, schwer einstellbarem Diabetes mellitus aufgrund einer Pankreasagenesie. Pankreasagenesie ist eine extrem seltene Ursache eines NDM. Bei unserer Patientin (beschrieben von Baumeister 2005, S.77) fiel bereits am 2. Lebenstag eine Hyperglykämie ( $>13,9\text{mM}$ ) sowie Glukosurie, jedoch keine Ketonurie auf. Am 3. Lebenstag wurde eine Insulintherapie begonnen, zunächst intravenös und später subkutan. Zahlreiche Modifikationen ihres Insulinschemas brachten nicht den erwünschten Erfolg, die Blutglukosewerte zu stabilisieren. Im Alter von 4,5 Monaten wurde die Patientin, eingestellt auf 2-4 IU Lente Insulin als Morgen- und Abenddosis, nach Hause entlassen. Dort schwankte die Blutglukose zwischen 0,6 und 32,3mM, von der Mutter wurden 2 Krampfanfälle beobachtet.

Die Patientin wurde im Alter von 6 Monaten wegen der erheblich schwankenden Werte erneut stationär aufgenommen, der HbA1c-Wert betrug 7,2% (normal 3-

6%). Der Säugling reagierte sehr sensitiv auf das Insulin. Nach s.c. Injektion von 0,25 IU Normalinsulin fiel die Blutglukose um 17,1mM innerhalb einer Stunde. Um Hypoglykämien frühzeitig erkennen und behandeln zu können und um die Beziehung zwischen den Glukoseschwankungen und therapeutischen Maßnahmen beurteilen zu können, war eine engmaschige Kontrolle des Blutzuckers notwendig. Die stündlichen kapillären Blutzuckermessungen waren für den Säugling schmerzhaft, störten den Schlaf und bedeuteten auch für die Eltern eine emotionelle Belastung.

Während der Neueinstellung der Insulintherapie erfolgte in Ergänzung zu den häufigen kapillären Blutzuckermessungen die Bestimmung der subkutanen interstitiellen Glukosekonzentrationen mittels kontinuierlicher subkutaner Mikrodialyse über 7 Tage. Als Implantationsort für den MD-Katheter (CMA 70) diente der rechte laterale Oberschenkel. Die Implantation des MD-Katheters (wie in Kap. 4.1.2 beschrieben) sowie das Monitoring erfolgten komplikationslos, der agile Säugling war durch den Katheter nicht beeinträchtigt, der Schlaf war durch die häufigen Vialwechsel nicht gestört. Die Dialysatglukosekonzentrationen wurden, soweit im Rahmen des Stationsbetriebs möglich, etwa alle 15 min. im CMA Analyser bestimmt, häufig erfolgten die Messungen 1-2stündlich.

Für das verwendete Mikrodialysesystem ist eine hohe Relative Recovery für Glukose in vitro und in vivo von nahezu 100% beschrieben (Baumeister 2001, S. 1189).

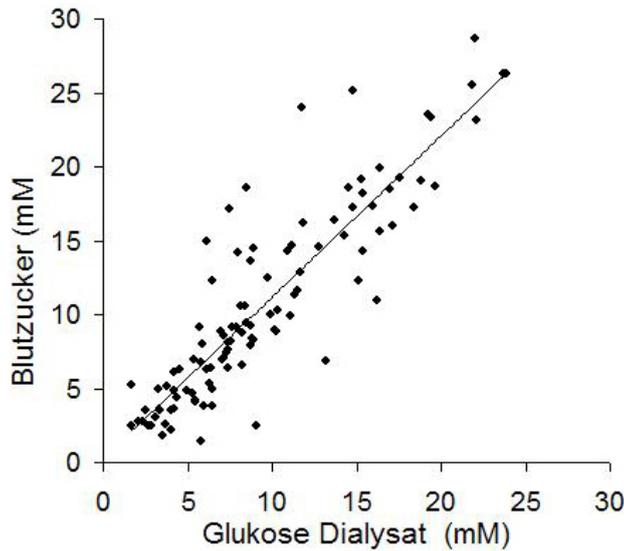
Basierend auf dem engmaschigen Glukosemonitoring (subkutan und kapillär) wurde die Insulintherapie modifiziert: es erfolgten nun regelmäßige s.c. Injektionen von NPH-Insulin (0,5-0,75 IU) vor den Mahlzeiten. Bei Blutzuckerwerten über 16,7mM erhielt die Patientin zusätzlich 0,25 IU Normalinsulin. Unter diesem Spritzschema zeigte die Patientin deutlich verbesserte Blutzuckerwerte, meist zwischen 4,5 und 14 mM, und der Insulinbedarf fiel kontinuierlich (auf 2,5 IU/Tag). Schließlich erhielt die Patientin 4 Mahlzeiten und jeweils 0,5 IU NPH-Insulin s.c., sowie zusätzlich 0,25 IU Normalinsulin pro 4mM Anstieg bei Werten über 7mM.

### 4.4.3 Ergebnisse

Im Rahmen des Monitorings ergaben sich 104 Wertepaare von Blut- und Dialysatglukose (Abb. 4.9). Die Blutglukosekonzentrationen schwankten zwischen 1,4 und 28,7mM. Beruhend auf den 104 Wertepaaren fand sich eine hohe Korrelation

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

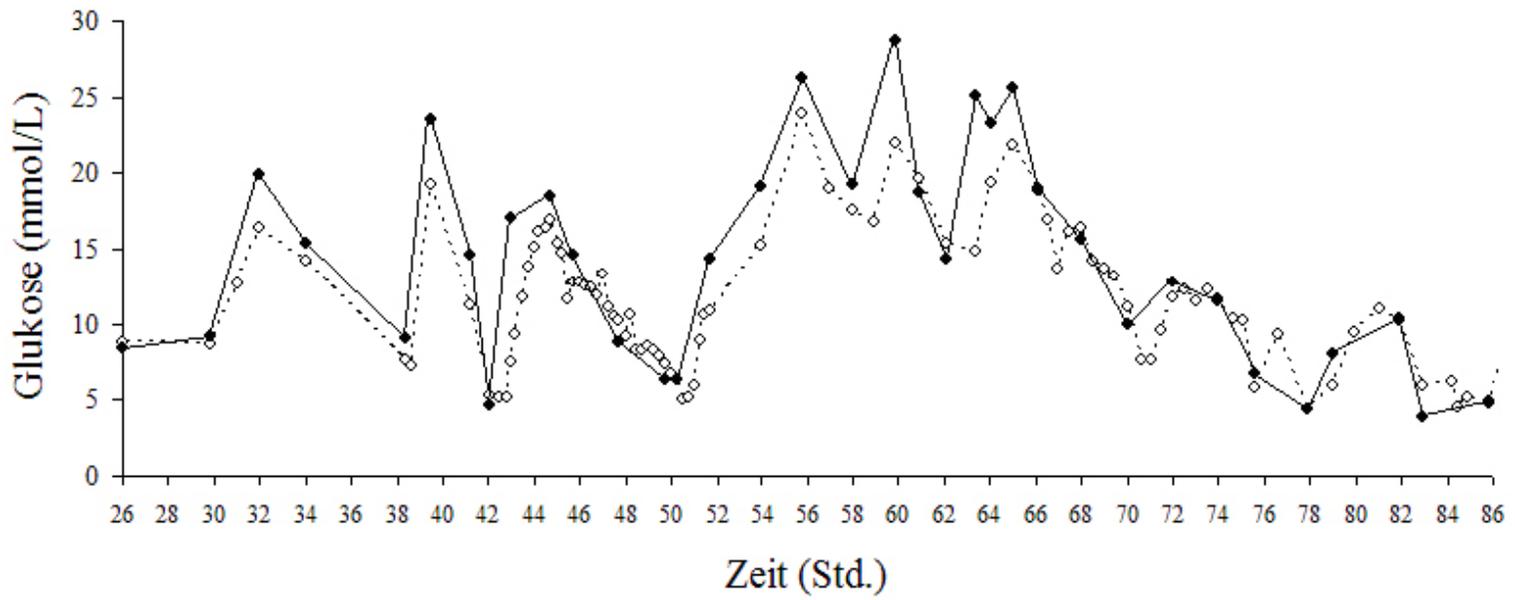
( $r=0,89$ ;  $p<0,000001$ ) zwischen subkutaner interstitieller Gewebskonzentration (X) und der Blutglukosekonzentration (Y) ( $Y = 1,1 X + 0,29$ ).



**Abb. 4.9:** Korrelation zwischen Blutzucker und Dialysatglukose, basierend auf 104 Wertepaaren ( $r=0,89$ )

Es fand sich jedoch ein signifikanter Unterschied zwischen der medianen Glukosekonzentration im Blut (9,02mM) und der im Dialysat (8,2mM) (Wilcoxon-Test;  $p=0,0003$ ).

Schwankungen der kapillären Blutglukosekonzentrationen wurden von gleichsinnigen Veränderungen der Glukosekonzentrationen im Subkutangewebe gefolgt. Es fand sich hierbei jedoch eine sehr variable, klinisch relevante zeitliche Verzögerung zwischen Blut- und Gewebsglukosekonzentration von bis zu einer Stunde (Abb. 4.10).



**Abb. 4.10:** Ausschnitt aus dem Glukoseprofil der Patientin mit neonatalem Diabetes mellitus  
 Kapilläre Blutglukosemessungen = schwarze Punkte; subkutane Gewebsglukose (Mikrodialysat) = weiße Punkte.

#### 4.4.4 Diskussion und Schlussfolgerungen

Neonataler Diabetes mellitus kann sehr instabil sein und seine Behandlung stellt eine Herausforderung dar. Ein engmaschiges Glukosemonitoring ist erforderlich, um eine adäquate Insulintherapie zu gewährleisten. Die subkutane Mikrodialyse ist eine viel versprechende Methode, Blutverluste bei Neugeborenen zu reduzieren bei gleichzeitig sehr engmaschigem Monitoring des Blutzuckers.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde bei einem Neugeborenen mit Neonatalem Diabetes mellitus ein Langzeit-Monitoring mit der subkutanen Mikrodialyse durchgeführt. Das subkutane Glukoseprofil spiegelt die Veränderungen der Blutglukose wieder. Bei diesem 6 Monate alten Säugling zeigte sich eine ähnlich gute Korrelation zwischen Blut- und Gewebsglukose ( $r=0,89$ ) wie bei Erwachsenen Typ1-Diabetikern ( $r=0,88$ ) (Bolinder 1993, S. 83). Auch Holzinger beschreibt in einem aktuellen Fallbericht (Langzeit-Glukosemonitoring mit subkutaner Mikrodialyse bei einem Patienten mit transientem neonatalen Diabetes) eine hohe Korrelation von  $r=0,91$  zwischen Dialysat- und Blutglukose (Holzinger 2005, S. 90). In der Studie von Horal an 7 hypoglykämiegefährdeten Neugeborenen wurde ebenfalls eine enge Korrelation ( $r=0,97$ ) zwischen Blutzucker und der mittels Mikrodialyse bestimmten subkutanen Glukosekonzentration im Bereich zwischen 1,9 bis 5,9 mmol/L dargestellt (Horal 1995, S. 8). Im Einklang dazu standen die Ergebnisse der Studie von Baumeister an 13 hypoglykämiegefährdeten Neugeborenen: in einem Wertebereich von 1,5 bis 20,8 mmol/L fand sich zwischen Blutzucker und interstitieller subkutaner Gewebsglukose eine signifikante Korrelation ( $r=0,882$ ; Baumeister 2001, S. 1191). Hier zeigte allerdings der Mikrodialysat/Blut-Quotient für Glukose im normoglykämischen Bereich eine höhere Variabilität als im hyperglykämischen, wahrscheinlich aufgrund einer zeitlichen Verzögerung zwischen der Blutzucker- und der interstitiellen Glukose-Kinetik. Auch bei der hier beschriebenen Patientin mit NDM zeigten trotz der hohen Korrelation einzelne Wertepaare von Blut- und Gewebsglukose starke Abweichungen (Abb. 4.9). Vermutlich sind die Variationen in den Differenzen von Blut- und Gewebsglukose bedingt durch die Verzögerung des subkutanen Glukoseprofils im Vergleich zur Blutglukose (Abb. 4.10). Unter experimentellen Bedingungen (Insulininjektion) wurde an Kindern gezeigt, dass Schwankungen des Blutzuckers mit einer konstanten zeitlichen Verzögerung von gleichsinnigen Veränderungen der subkutanen interstitiellen Gewebsglukose gefolgt werden (Kamel 1999, S. 44).

Studien von Summers et al. ergaben, dass diese zeitliche Verzögerung von Patient zu Patient sehr variieren kann (Summers 1999, S. 426). So sei es wichtig, das System individuell bei jedem Patienten hinsichtlich dieser „lag-time“ zu überprüfen, bevor es für Glukosemessungen bei Diabetikern eingesetzt wird (Summers 1999, S. 427).

Bei der beschriebenen Patientin zeigte sich unter klinischen Bedingungen eine große Variabilität der lag-time (Abb. 4.10).

Ziel weiterer Untersuchungen sollte es daher sein, eine engere zeitliche Verknüpfung zwischen subkutaner interstitieller Glukosekonzentration und dem Blutzucker zu erreichen, z.B. durch Modulation der lokalen Vasoregulation. Hierdurch würde die subkutane Mikrodialyse ein zuverlässiges Blutglukose-Monitoring bei gleichzeitiger Reduktion von Traumatisierung und Stress durch häufige kapilläre Blutzuckermessungen ermöglichen.

Sowohl bei der hier beschriebenen Patientin mit NDM als auch bei der von Holzinger beschriebenen Patientin mit transientem NDM war ein engmaschiges Glukosemonitoring mittels subkutaner Mikrodialyse hilfreich für die Einstellung der Insulintherapie.

## 4.5 Monitoring des Carnitin-Stoffwechsels bei Kindern mit pharmakoresistenter Epilepsie unter Ketogener Diät

### 4.5.1 Hintergrund

Die Ketogene Diät ist eine effektive Behandlungsmöglichkeit für Kinder mit pharmakoresistenter Epilepsie bei fehlender epilepsiechirurgischer Indikation (Freeman 1998, S. 1358). Bei einem Drittel der Behandelten führt sie zu einer Anfallsreduktion um über 90% (Lefevre 2000, S. 1; Baumeister 2003, S. 81). Unter Ketogener Diät kommt es zu grundlegenden Veränderungen im zerebralen Energiestoffwechsel vergleichbar einem Zustand prolongierten Fastens. Ketonkörper, Abbauprodukte der Fettsäuren, werden zur Hauptquelle der Energieerzeugung für das Gehirn. Ein normaler Fettsäureabbau ist Voraussetzung für eine effiziente Ketogenese. **Carnitin**, eine trimethylierte Aminosäure, transportiert Fettsäuren als Acylcarnitine in die mitochondriale Matrix und ist somit ein wichtiger Cofaktor bei der

$\beta$ -Oxidation der Fettsäuren und der Ketogenese. Ein ausreichend hoher Carnitinspiegel ist Voraussetzung für eine effiziente Ketogenese (DeVivo 1998, S. 1221). Störungen des Carnitin-abhängigen Fettsäuretransports sind eine absolute Kontraindikation für eine Behandlung mit Ketogener Diät.

Verminderungen des freien Carnitins im Serum können unter Ketogener Diät auftreten (Rutledge 1989, S. 472; Demeritte 1996, S. 305; DeVivo 1998, S. 1220; Lin 1998, S. 168; Sankar 1999, S. 196; Berry-Kravis 2001, S. 1448), vermutlich durch eine verminderte Aufnahme mit der Nahrung, einen vermehrten Verbrauch sowie renale Verluste (DeVivo 1998, S. 1220). Ein symptomatischer Carnitinnmangel unter KD ist aber selten (Lin 1998, S. 168). Regelmäßige Kontrollen des Carnitinspiegels und ggf. eine Substitution sind vor KD und unter Langzeitbehandlung erforderlich (Baumeister 2003, S. 125). Der genaue Metabolismus von Carnitin während ketogener Ernährung ist bisher nicht untersucht worden. Allerdings demonstrieren zahlreiche Fastenstudien an Tieren und Menschen typische Veränderungen von Carnitin und Acylcarnitinen in Abhängigkeit von der Ernährungssituation. Beschrieben ist häufig ein Abfall des freien Carnitins bei gleichzeitig deutlichem Anstieg von lang- und insbesondere kurzkettigen Acylcarnitinen während des Fastens bzw. diabetischer, ketotischer Stoffwechsellage.

#### 4.5.2 Fragestellung

- **Welche Veränderungen zeigt das Carnitinspektrum im zeitlichen Verlauf während der Einstellung von Patienten auf Ketogene Diät?**

Da die Mikrodialyse in Kombination mit der Tandem-Massenspektrometrie bisher noch nicht für Studien des Carnitinmetabolismus eingesetzt wurde, erfolgten im Rahmen dieser Arbeit in vitro Untersuchungen zur Bestimmung der Relativen Recovery (Abschnitt 2.1) des verwendeten Mikrodialysesystems für Carnitine.

- **Wie hoch ist die Wiederfindungsrate des verwendeten Systems für freies Carnitin, Acetylcarnitin und Hydroxybutyrylcarnitin?**
- **Eignet sich die Mikrodialyse für eine Bestimmung von Carnitinen im Gewebe?**

### 4.5.3 Patienten und Methodik

#### Patienten

Mit subkutaner Mikrodialyse und Tandem-Massenspektrometrie wurde systematisch die zeitliche Dynamik der Veränderungen von freiem Carnitin (C0), Acetylcarnitin (C2) und Hydroxybutyrylcarnitin (C4OH) im subkutanen Gewebe von 7 Kindern während der Umstellungsphase auf Ketogene Ernährung untersucht.

Die Patienten wurden wegen Pharmakoresistenz ihrer Epilepsie auf KD eingestellt. Das Alter der Kinder betrug im Median (Streuung) 2,5 (0,9-10,6) Jahre. Um den Eintritt in die ketotische Stoffwechsellage zu beschleunigen, hatten die Kinder zunächst eine 24stündige Fastenphase (Beginn 19Uhr am Tag der Anlage des MD-Katheters). Um 19Uhr des darauf folgenden Abends wurde mit einer 4:1 LCT-Diät (4 Teile Fett, 1 Teil Eiweiß+Kohlenhydrate bezogen auf die Gewichtsteile) begonnen. Am ersten Abend erhielten die Kinder 1/3 der für sie geplanten Kalorienmenge, die Steigerung der geplanten Gesamtmenge an Kalorien erfolgte dann über die beiden folgenden Tage (2.Tag 2/3 und 3.Tag 3/3 des Kalorienbedarfs).

Da die Gefahr der Stoffwechselentgleisung insbesondere während der Fastenphase und der Umstellung der Ernährung auf KD gegeben ist, erfolgte ein intensives biochemisches bedside Monitoring mittels kontinuierlicher subkutaner Mikrodialyse (Glukose- und Laktatmonitoring am Bett des Patienten). Ergänzend zum Glukose- und Laktatmonitoring erfolgte in den Dialysat-Resten die Bestimmung des Carnitin-Spektrums (Carnitin und Acylcarnitine) mittels Tandem-Massenspektrometrie.

Zusätzlich wurden im Nüchternblut (einmal täglich) und etwa alle 6 Stunden im Kapillarblut Ketonkörper ( $\beta$ -Hydroxybutyrat) und Glukose gemessen und Blutgaschecks durchgeführt.

#### Mikrodialyse

Den 7 Patienten wurde wie in Kap. 4.1.2 beschrieben ein CMA 70 Mikrodialyskatheter mit einer Membranlänge von 20mm am Unterarm bzw. Oberschenkel implantiert und für 4 bis 7 Tage dort belassen. Das System wurde mit einer Perfusionsrate von  $0,3\mu\text{l}/\text{min}$  perfundiert und die Glukose- und Laktatkonzentrationen im Dialysat ca. alle 2 Stunden im Mikrodialyse-Analyser bestimmt. Die Dialysa-

trete wurden bei  $-21^{\circ}\text{C}$  eingefroren für eine spätere Carnitinbestimmung mittels Tandem-Massenspektrometrie.

### **Bestimmung der Relativen Recovery für Carnitine in vitro**

Für die Bestimmung der interstitiellen Konzentrationen mit der Mikrodialyse ist die Kenntnis der Relativen Recovery (RR) eines MD-Systems Voraussetzung (Abschnitt 2.1). Für das von uns verwendete System (CMA 106 MD-Pumpe, Perfusionrate  $0,3\mu\text{l}/\text{min}$ , MD-Katheter CMA 70, Membranlänge 20mm) bestimmte Baumeister (2001) bereits die RR für Harnstoff, Glukose und Laktat. Das System besitzt in vitro eine hohe Relative Recovery von 100% (Harnstoff  $100\pm 2\%$ , Glukose  $101\pm 3\%$ , Laktat  $103\pm 4\%$ ). Im Rahmen des Carnitin-Monitorings mittels MD interessierte uns nun die Relative Recovery des verwendeten MD-Systems für Carnitine, insbesondere für das freie Carnitin, Acetylcarnitin und Hydroxybutyrylcarnitin.

Zur Bestimmung der RR in vitro erfolgten Mikrodialysen in ultrafiltriertem Humanserum mit 6 Verdünnungsstufen. Die Ultrafiltration (cutoff 20.000 Dalton) erfolgte, um Matrixeffekte durch Serumproteine zu vermeiden und um das den MD-Katheter umgebende Medium möglichst ähnlich der Gewebsflüssigkeit zu gestalten.

#### *Versuchsablauf:*

- 200ml Humanserum wurde mit Azid versetzt und kühl gelagert
- Herstellen einer Stocklösung (hochkonzentrierte Lösung versch. Carnitine und Aminosäuren).  
Konzentrationen der Stocklösung: freies Carnitin (C0) 4mM, Acetylcarnitin (C2) 1mM; außerdem Leucin 10mM, Valin 10mM, Arginin 10mM, Phenylalanin 10mM, Tyrosin 1mM
- Herstellen verschiedener Verdünnungsstufen des Ausgangsserums durch Verdünnung mit 0,9% NaCl bzw. Anreichern des Serums mit Stocklösung. Insgesamt wurden 6 unterschiedlich konzentrierte Seren hergestellt. Sie enthielten freies Carnitin in einem Bereich zwischen 5 und  $174\mu\text{M}$ , Acetylcarnitin zwischen 7 und  $65\mu\text{M}$  sowie Hydroxybutyrylcarnitin zwischen 0,09 und  $0,43\mu\text{M}$

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

- Ultrafiltration der Seren: von jeder Konzentrationsstufe wurden mind. 7,5ml Ultrafiltrat hergestellt (CENTRISART Zentrifugal-Ultrafilter, 20.000 MW-CO CTA; Zentrifuge Hettich Rotixa/K)
- Mikrodialyse (CMA 106 MD-Pumpe, Perfusionsrate 0,3 $\mu$ l/min, CMA 70 MD-Katheter, Membranlänge 20mm) der Ultrafiltrate bei Raumtemperatur (22°C). Äquilibration des MD-Systems vor Probenahme im Mittel 9,6 (4-16) Std. Pro Verdünnungsstufe 3 Probeentnahmen im Abstand von jeweils 1 Stunde.
- Analyse der Mikrodialysate und Ultrafiltrate mittels Tandem-Massenspektrometrie (API 365-183, siehe Kap. 3.2.3)

### 4.5.4 Ergebnisse

#### Relative Recovery

Der Quotient aus Konzentration eines Stoffes im Mikrodialysat und der Konzentration dieses Stoffes im umgebenden Medium (Ultrafiltrat, UF) gibt die Wiederfindungsrate (RR) des verwendeten Mikrodialysesystems an. Für das von uns verwendete System errechnet sich eine RR von im Mittel 86% ( $\pm 7\%$ ) für das freie Carnitin (C0), 88% ( $\pm 7\%$ ) für Acetylcarnitin (C2) und 83% ( $\pm 9\%$ ) für das  $\beta$ -Hydroxybutyrylcarnitin (C4OH), siehe Tabelle 4.3.

Carnitine	Relative Recovery (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)	Getesteter Bereich der Carnitinkonz. [ $\mu$ M]
C0	86 $\pm$ 7%	5-174
C2	88 $\pm$ 7%	7-65
C4OH	83 $\pm$ 9%	0.09-0.43

*Tabelle 4.3: Relative Recovery der Carnitine in vitro*

#### Dynamik der Carnitinveränderungen unter Ketogener Diät

Während der Zeit des 24 stündigen Fastens stiegen die Ketonkörper im Blut ( $\beta$ -OHB) von initial 0,13mM ( $\pm 0,14$ mM) auf 2,80mM ( $\pm 1,91$ mM). Mit Beginn der Ketogenen Diät stiegen diese weiter und überschritten bereits nach 2 Tagen bei allen Patienten 5mM.

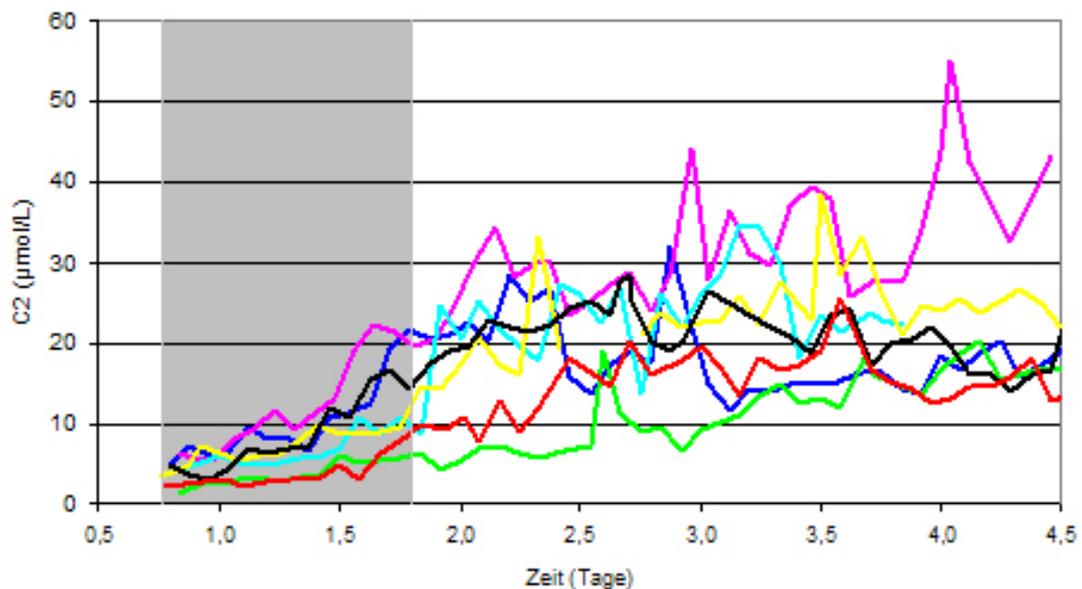
#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

Mit dem Auftreten der Ketose kam es zu signifikanten Veränderungen im Carnitinspektrum des Subkutangewebes:

**Acetylcarnitin** stieg bereits während des Fastens von im Median (Streuung) 5,13 (2,39-6,49)  $\mu\text{M}$  auf 13,13 (5,35-21,1)  $\mu\text{M}$  nach 24 Std ( $p=0,001$ ). Mit Beginn der KD stieg das C2 weiter auf 22,42 (9,13-27,24)  $\mu\text{M}$  nach 24 Std. ketogener Ernährung und blieb anschließend in diesem Bereich (Abb. 4.11 sowie 4.14a).

Ebenso stieg das **Hydroxybutyrylcarnitin** im Subkutangewebe um das 3,6fache während des Fastentages, von im Median (Streuung) 0,01 (0,01-0,02)  $\mu\text{M}$  auf 0,05 (0,04-0,22)  $\mu\text{M}$  ( $p=0,0025$ ). C4OH erreichte 0,33 (0,12-0,41)  $\mu\text{M}$  nach 24 Std. ketogener Ernährung, also das 23fache des Wertes unter nicht-ketogener Ernährung (Abb. 4.12 sowie 4.14b).

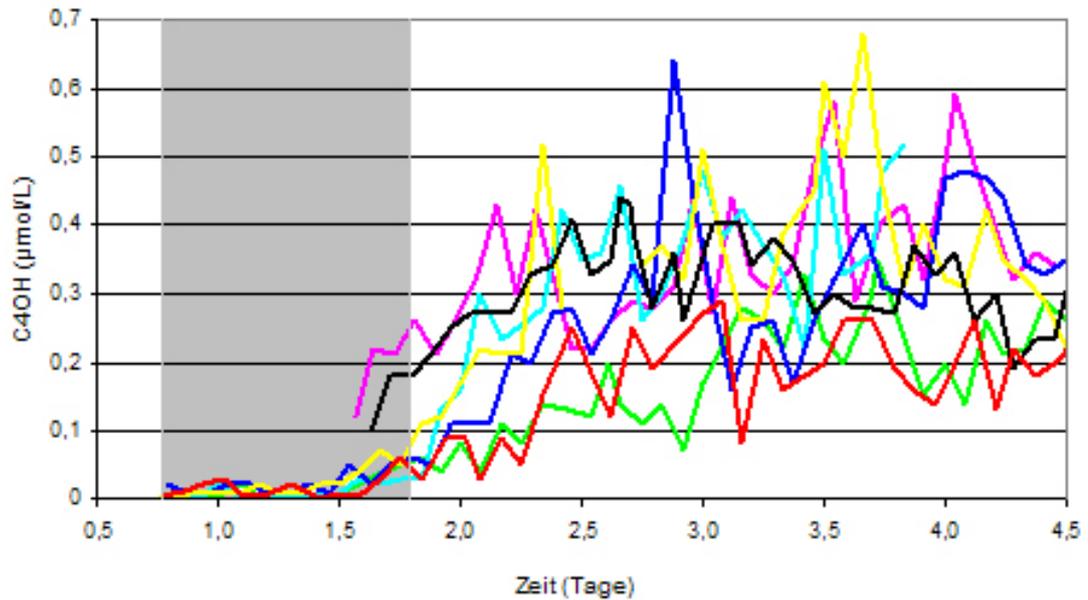
Das **freie Carnitin** im Gewebe fiel leicht ab, von 33,68 (22,48-54,7)  $\mu\text{M}$  auf 28,24 (20,89-33,94)  $\mu\text{M}$  während des Fastens (nicht signifikant), und erreichte 23,62 (19,31-28,83)  $\mu\text{M}$  nach 48 Std. ketogener Ernährung (signifikant unterschiedlich zum Ausgangswert,  $p=0,0045$ ), siehe Abb. 4.13 sowie 4.14c.



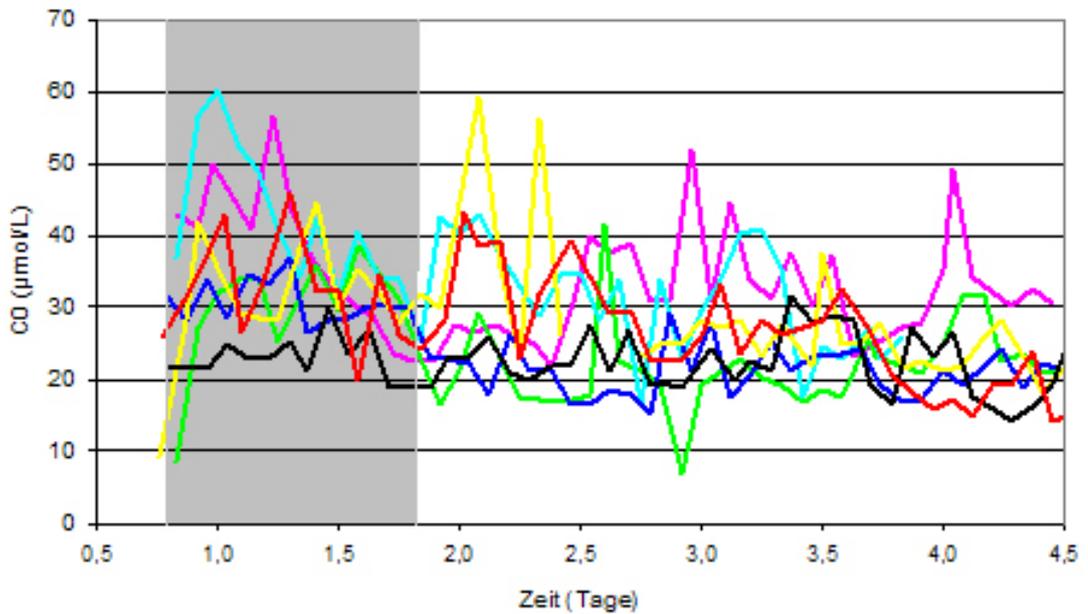
**Abb. 4.11:** Individuelle Acetylcarnitin-Verläufe im Subkutangewebe von 7 Patienten bei Einstellung auf Ketogene Diät

Die Fastenphase ist grau hinterlegt, anschließend wurde mit der Ketogenen Diät begonnen. Die Messungen erfolgten in der Regel zweistündlich.

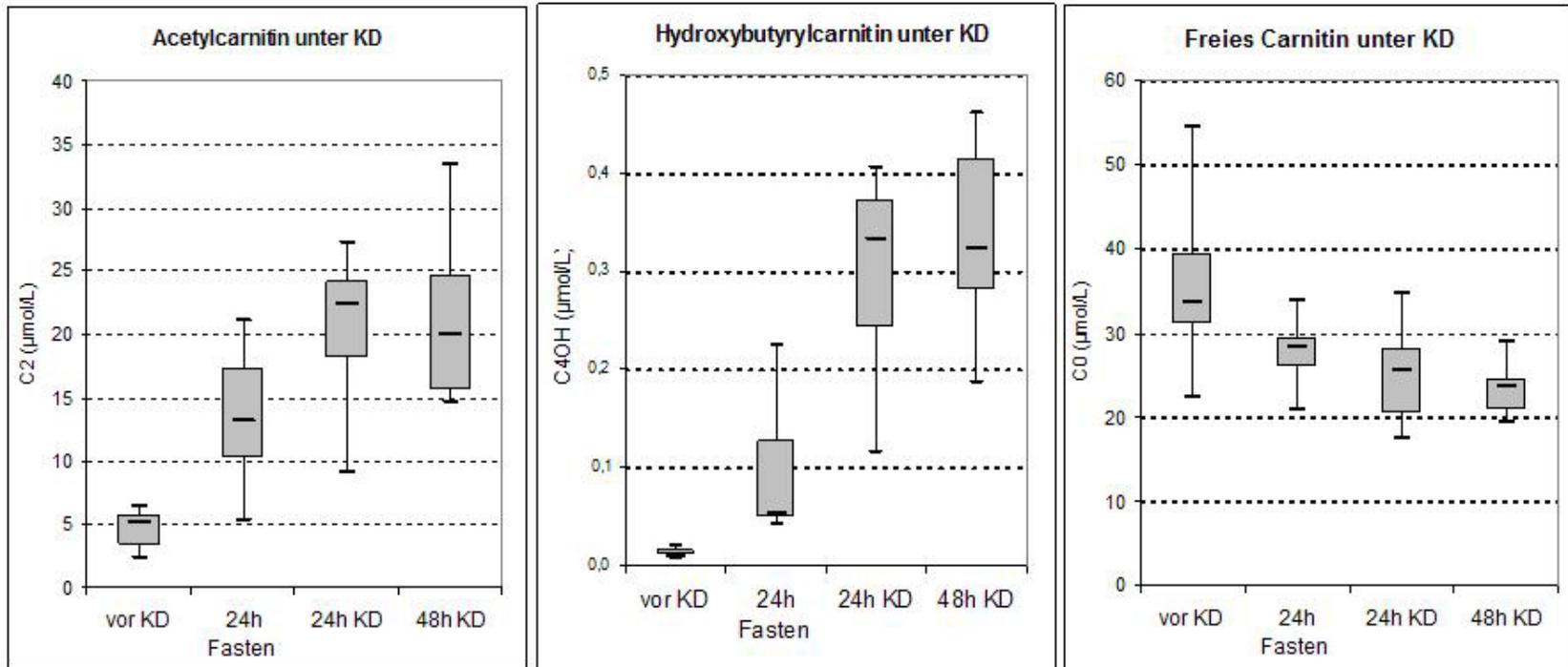
4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie



**Abb. 4.12:** Individuelle Hydroxybutyrylcarnitin-Verläufe im Subkutangewebe von 7 Patienten bei Einstellung auf Ketogene Diät  
Die Fastenphase ist grau hinterlegt, anschließend wurde mit der Ketogenen Diät begonnen. Die Messungen erfolgten in der Regel zweistündlich.



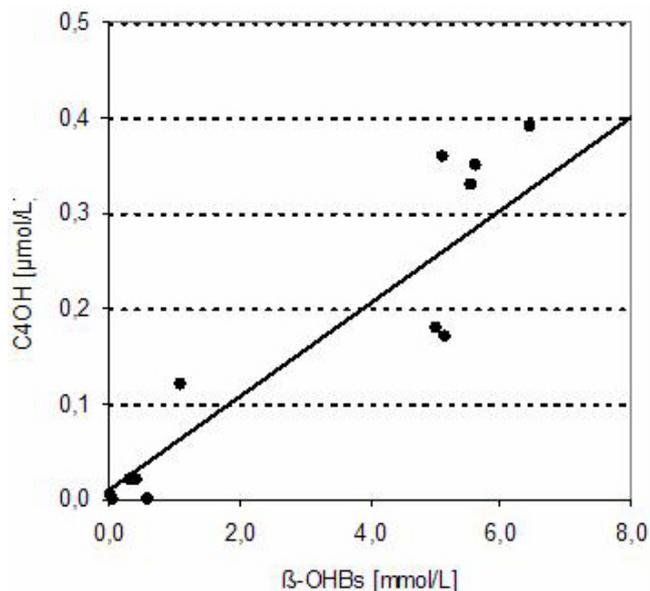
**Abb. 4.13:** Individuelle Verläufe des freien Carnitins im Subkutangewebe von 7 Patienten bei Einstellung auf Ketogene Diät  
Die Fastenphase ist grau hinterlegt, anschließend wurde mit der Ketogenen Diät begonnen. Die Messungen erfolgten in der Regel zweistündlich.



**Abb. 4.14:** Signifikante Veränderung der Carnitine (C2, C4OH, C0) mit steigender Ketose  
 C2 [ $\mu\text{mol/L}$ ] und C4OH [ $\mu\text{mol/L}$ ] zeigten einen signifikanten Anstieg während des Fastens, der sich unter Ketogener Ernährung fortsetzt ( $p_{\text{C2}}=2 \cdot 10^{-7}$ ,  $p_{\text{C4OH}}=1,4 \cdot 10^{-5}$ ). Das subkutane C0 [ $\mu\text{mol/L}$ ] zeigte eine fallende Tendenz ( $p=0,001$ ). Die Boxplots basieren auf je 28 Werten (4 von jedem der 7 Patienten zu 4 Zeitintervallen).

#### 4 Eigene klinische Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie

Es fand sich eine hohe Korrelation zwischen den  $\beta$ -Hydroxybutyratwerten im Serum ( $\beta$ -OHBs) und Hydroxybutyrylcarnitin im Mikrodialysat ( $r=0,91$ , Abb. 4.15) sowie eine nur mäßige Korrelation zwischen  $\beta$ -OHBs und Acetylcarnitin im Mikrodialysat ( $r=0,7$ ).



**Abb. 4.15:** Korrelation zwischen  $\beta$ -Hydroxybutyrat ( $\beta$ -OHBs) im Serum und Hydroxybutyrylcarnitin (C4OH) im subkutanen Gewebe ( $r=0.91$ ; Diagramm umfasst Daten von 7 Patienten)

Im Serum der Patienten zeigten sich - entsprechend den Veränderungen der Carnitine im Subkutangewebe - ein leichter Abfall des freien Carnitins sowie ein deutlicher Anstieg von C2 und C4OH. Die Carnitinveränderungen im Serum der Patienten korrelierten allerdings nur mäßig mit denen im Subkutangewebe (Dialysat):

- Korrelation C2 im Dialysat vs. C2 im Serum:  $r=0,71$
- Korrelation C4OH im Dialysat vs. C4OH im Serum:  $r=0,66$
- Korrelation C0 im Dialysat vs. C0 im Serum:  $r=0,76$

#### 4.5.5 Diskussion und Schlussfolgerungen

Auf Grund der hohen Relativen Recovery in vitro von etwa 85% kann man davon ausgehen, dass die Mikrodialysat-Konzentration die interstitielle subkutane Gewebkonzentration repräsentiert. **Somit eignet sich das verwendete MD-System für eine Untersuchung von Carnitinen im Gewebe.**

Des Weiteren demonstriert diese Arbeit erstmals die Dynamik des subkutanen Carnitinstoffwechsels im Gefolge der erhöhten Fettsäure-Oxidation und Ketonkörpersynthese bei Einstellung auf Ketogene Diät. Schon während der Fastenphase, aber noch eindeutiger mit Beginn der Ketogenen Diät kommt es parallel zum Anstieg der Ketose zu einem langsamen aber stetigen Abfall von freiem Carnitin bei gleichzeitig erheblichen Anstieg von Acetyl- und Hydroxybutyrylcarnitin im subkutanen Gewebe. Hierbei handelt es sich um gewebsspezifische Veränderungen des Carnitinstoffwechsels, wofür die nur mäßige Korrelation zwischen den Carnitinveränderungen im Subkutangewebe und denen im Serum spricht.

Die Ketogene Diät führt wie Fasten durch die vermehrte Fettsäureoxidation zu einer Erhöhung des mitochondrialen Acetyl-CoA-Pools. Über die Carnitin-Acetyltransferase erfolgt in den Mitochondrien die Kopplung an Carnitin und Regenerierung von freiem CoA, was somit wieder für den Stoffwechsel zur Verfügung steht. Das  $\beta$ -Hydroxybutyrat wird proportional zum Serumspiegel ebenfalls zu einem geringen Teil an Carnitin gekoppelt, vermutlich in einer unspezifischen enzymatischen Reaktion.

Laut Literatur zeigen Fastenstudien an Tieren und Menschen gleichartige Veränderungen der Carnitine: ein langsamer Abfall des freien Carnitins im Plasma und im Urin bei gleichzeitig starkem Anstieg von lang- und insbesondere kurzkettigen Acylcarnitinen wurde während des Fastens bzw. diabetischer, ketotischer Stoffwechsellage mehrmals beschrieben (Frohlich 1978, S.555; Brass 1978, S. 2689; Genuth 1979, Hoppel 1980, S. E411; Hoppel 1982, S. E169; Brady 1986, S. 670; Matsuyuki 1990, S. 443; Yamaguti 1996, S. 742). Veränderungen des Hydroxybutyrylcarnitins während ketotischer Stoffwechsellage werden im Rahmen dieser Arbeit erstmalig beschrieben.

**Die Mikrodialyse ermöglicht es, neben einem klinisch-biochemischen Bedside-Monitoring (Glukose, Laktat) gefährdeter Patienten auch zu Fragen der Grundlagenforschung (durch Auswertung von Dialysatresten) beizutragen - in diesem Fall zur Erforschung des Carnitinmetabolismus im Subkutangewebe bei Beginn einer Ernährungstherapie - und das ohne zusätzliche Traumata oder Blutverluste für den Patienten, was - wie schon mehrfach betont - insbesondere in der Pädiatrie ein wichtiger Gesichtspunkt ist.**

Die Mikrodialyse ist eine Sammelmethode. Unabhängig von Blutentnahmen und bei minimalem Gewebstrauma ermöglicht sie die kontinuierliche Erfassung niedermolekularer Metabolite im Gewebe.

Für die Pädiatrie ist die subkutane Mikrodialyse aufgrund der Reduktion von Blutentnahmen bei gleichzeitig sehr intensivem Monitoring der Stoffwechselsituation von besonderer Attraktivität.

In der Literatur finden sich nur 12 Veröffentlichungen zur Anwendung der Mikrodialyse im Subkutangewebe von Kindern verschiedenster Altersklassen, wobei eine fundierte Bewertung von Nebenwirkungen und Komplikationen jedoch fehlt.

In der vorliegenden Arbeit wurde die subkutane MD hinsichtlich ihrer Eignung für den klinischen Einsatz in Bezug auf Nebenwirkungen und Anwendungsmöglichkeiten bei Kindern untersucht.

**Komplikationen und Probleme in Zusammenhang mit der Mikrodialyse** wurden systematisch bei 48 subkutanen Mikrodialysen an 42 Patienten erfasst. Im Rahmen dieser Studie stellte sich die sc MD unter den in der Arbeit beschriebenen Anwendungsbedingungen als komplikationsarme Methode dar, die bei Kindern aller Altersstufen über einen Zeitraum von bis zu 16 Tagen sicher durchgeführt werden kann. Die Implantation der Mikrodialyse-Katheter mit der minimal traumatisierenden No-Touch Technik ist einfach durchzuführen und kann hinsichtlich der Belastung für den Patienten mit dem Legen einer Venenverweilkanüle verglichen werden. Probleme im Verlauf der Mikrodialyse waren selten (Perfusionsstörung, Katheterdislokation, Einblutung), bei keinem Patienten kam es zu einer Infektion lokal oder systemisch, zu Unverträglichkeitsreaktionen oder zu Narbenbildung. Die Mikrodialyse erlaubt somit ein intensivstes Gewebemonitoring ohne nennenswerte Belastung selbst für kleinste Patienten (unter 1000g).

In der vorliegenden Arbeit wurde die subkutane Mikrodialyse des Weiteren zur Beantwortung klinischer und wissenschaftlicher Fragestellungen eingesetzt.

Insbesondere bewährte sich die subkutane Mikrodialyse **bei Mitochondriopathien** zur Objektivierung des Effekts von Therapiemaßnahmen auf den Gewebsstoffwechsel. Ein besonderes Problem bei der Behandlung von Mitochondriopathien ist es, die Effektivität von Therapiemaßnahmen zu beurteilen, insbesondere vor dem Hintergrund der großen Variabilität der klinischen Symptomatik und Verläufe dieser Erkrankungen. Die Mikrodialyse ermöglichte im Rahmen dieser Studie - durch die Verfügbarkeit einer Vielzahl von Messwerten unter standardisierten Bedingungen - bei Patienten mit Pyruvatdehydrogenasemangel und isoliertem Komplex I Defekt der Atmungskette minimal invasiv signifikante Auswirkungen von Therapiemaßnahmen (Ketogene Diät) auf den Gewebsstoffwechsel darzustellen. Bei einem Säugling mit PDH E1 Defekt konnte die subkutane Mikrodialyse eine eindeutige Verbesserung der Gewebslaktat- und -pyruvatwerte unter Ketogener Diät zeigen und lieferte somit einen wichtigen Beitrag zur objektiven Beurteilung der individuellen Effektivität der Ketogenen Diät bei dieser Erkrankung.

Für ein fünfjähriges Mädchen mit biochemisch gesichertem Komplex I Defekt der Atmungskette konnte durch das Gewebsmonitoring erstmalig gezeigt werden, dass nicht nur die ketotische Stoffwechsellage sondern auch das Ausmaß der Ketonämie entscheidend für die Verbesserung des Gewebsstoffwechsels ist. Damit war die subkutane Mikrodialyse nicht nur eine große Unterstützung bei der objektiven Beurteilung des Therapieeffekts auf den Gewebsstoffwechsel, sondern ermöglichte auch eine Therapieoptimierung (Feineinstellung der Diät).

Als weiterer Schwerpunkt dieser Arbeit wurde ein **Langzeit-Glukosemonitoring bei einem Neugeborenen mit Neonatalem Diabetes mellitus** durchgeführt. Neonataler Diabetes kann sehr instabil sein und ein engmaschiges Glukosemonitoring ist erforderlich, um eine adäquate Insulintherapie zu gewährleisten. In der vorliegenden Arbeit wurde demonstriert, dass sich die subkutane Mikrodialyse für die Erfassung von Schwankungen der Glukosekonzentration insbesondere bei Diabetes mellitus im Säuglingsalter eignet und eine viel versprechende Methode ist, Blutverluste bei Neugeborenen zu reduzieren. In dem beschriebenen Fall unterstützte die subkutane Mikrodialyse durch ein engmaschiges Glukosemonitoring die Optimierung der Insulintherapie. Für die klinische Anwendung stellt jedoch die große Variabilität der zeitlichen Verzögerung zwischen Blutzucker und subkutaner Glukosekonzentration ein klinisch relevantes Problem dar, welches noch

weiterer Bearbeitung bedarf.

Der letzte Schwerpunkt dieser Arbeit beschreibt die **Dynamik des subkutanen Carnitinstoffwechsels** im Gefolge der erhöhten Fettsäureoxidation und Ketonkörpersynthese bei Beginn einer Ketogenen Diät. Im Subkutangewebe von 7 Kindern wurden systematisch die Veränderungen von freiem Carnitin, Acetylcarnitin und Hydroxybutyrylcarnitin während der Umstellung der Ernährung auf Ketogene Diät untersucht.

Da die Mikrodialyse in Kombination mit der Tandem-Massenspektrometrie bisher noch nicht für Studien von Carnitinveränderungen im Gewebe eingesetzt worden ist, wurden im Rahmen dieser Arbeit zunächst *in vitro* Experimente zur Bestimmung der Relativen Recovery des verwendeten Mikrodialysesystems für Carnitine durchgeführt. Für das von uns verwendete System errechnete sich eine hohe Relative Recovery von im Mittel 86% für das freie Carnitin, 88% für Acetylcarnitin, und 83% für das  $\beta$ -Hydroxybutyrylcarnitin. Auf Grund der hohen Relativen Recovery kann man davon ausgehen, dass die Mikrodialysatkonzentration die interstitielle subkutane Gewebskonzentration repräsentiert und sich die Methode für eine Untersuchung von Carnitinen im Gewebe eignet.

Die Arbeit demonstriert erstmals die Dynamik des subkutanen Carnitinstoffwechsels bei Ernährungsumstellung auf Ketogene Diät. Schon während der Fastenphase, aber noch eindeutiger mit Beginn der Ketogenen Diät kommt es parallel zum Anstieg der Ketose zu einem langsamen aber stetigen Abfall von freiem Carnitin bei gleichzeitig erheblichen Anstieg von Acetyl- und Hydroxybutyrylcarnitin im subkutanen Gewebe. Veränderungen des Hydroxybutyrylcarnitins während ketotischer Stoffwechsellage wurden im Rahmen dieser Arbeit erstmalig beschrieben. Somit ermöglicht es die Mikrodialyse, neben einem klinisch-biochemischen Bedside-Monitoring gefährdeter Patienten ohne zusätzliche Traumata oder Blutverluste auch zu Fragen der Grundlagenforschung (durch Auswertung von Dialysatresten) beizutragen.

# Literaturverzeichnis

- [1] **Ahlsson F, Gedeberg R, Hesselager G, Tuvemo T, Enblad P.**  
Treatment of extreme hyperglycemia monitored with intracerebral Microdialysis.  
Pediatr Crit Care Med 5 (2004):89-92
- [2] **Arner P, Bolinder J.**  
Microdialysis of adipose tissue.  
J Intern Med 230 (1991):381-386
- [3] **Artuch R, Vilaseca MA, Pineda M.**  
Biochemical monitoring of the treatment in paediatric patients with mitochondrial disease.  
J Inher Metab Dis 21 (1998):837-845
- [4] **Bahlmann L, Misfeld M, Klaus S, Leptien A, Heringlake M, Schmucker P, Sievers HH, Ungerstedt U, Kraatz EG.**  
Myocardial redox state during coronary artery bypass grafting assessed with microdialysis.  
Intensive Care Med 30 (2004):889-894
- [5] **Baumeister FAM, Rolinski B, Busch R, Emmrich P.**  
Glucose Monitoring With Long-Term Subcutaneous Microdialysis in Neonates.  
Pediatrics 108 (2001):1187-1192
- [6] **Baumeister FAM**  
Metabolisches Gewebs-Monitoring mit der subkutanen Mikrodialyse in der Neonatologie.  
Neuropädiatrie in Klinik und Praxis 2 (2003):86-94
- [7] **Baumeister FAM, Liebhaber GM, Riemann E, Gempel K.**  
Die Ketogene Diät: Renaissance einer vergessenen Therapie: Grundlagen, Indikationen und Effektivität.  
Kinder- und Jugendmedizin 3 (2003):76-86
- [8] **Baumeister FAM**  
Ketogene Diät - Ernährung als Therapiestrategie - Von den naturwissenschaftlichen Grundlagen zur praktischen Anwendung.  
Sps Publications, Heilbronn, 2004, ISBN 3-936145-19-9

- [9] **Baumeister FAM, Hack A, Liebhaber G, Riemann E, Freisinger P, Gempel K.**  
Effektivität der Ketogenen Diät bei neurometabolischen Erkrankungen.  
In: Aktuelle Neuropädiatrie 2004.  
Herausgeber M. Steinlein, F. Kaufmann, K. Fuhrer, S. Strotzi  
Novartis Pharma Verlag, Nürnberg, 2005, S. 334-338  
ISBN 3-933185-64-5
- [10] **Baumeister FAM, Engelsberger I, Schulze A.**  
Pancreatic Agenesis as Cause for Neonatal Diabetes Mellitus.  
Klin Pädiatr 217 (2005):76-81
- [11] **Baumeister FAM, Hack A, Pascher B, Busch V, Gempel K.**  
Biochemical therapy monitoring with subcutaneous microdialysis in mitochondrial encephalomyopathies.  
Neuropediatrics 36 (2005):129,V9
- [12] **Baumeister FAM, Busch V, Hack A, Pascher B, Gempel K.**  
Biochemisches Therapie-Monitoring mittels subkutaner Mikrodialyse bei mitochondrialen Enzephalomyopathien.  
In: Aktuelle Neuropädiatrie 2005.  
Herausgeber D. Wenzel, R. Trollmann  
Novartis Pharma Verlag, Nürnberg, 2006, S. 48-54  
ISBN 3-933185-69-6
- [13] **Baumeister FAM, Hack A, Busch R.**  
Glucose-Monitoring with Continuous Subcutaneous Microdialysis in Neonatal Diabetes Mellitus.  
Klin Pädiatrie 218 (2006):230-232
- [14] **Beregszaszi M, Jaquet D, Levine M, Ortega-Rodriguez E, Baltakse V, Polak M, Levy-Marchal C.**  
Severe insulin resistance contrasting with mild anthropometric changes in the adipose tissue of HIV-infected children with lipohypertrophy.  
Int J Obes Relat Metab Disord 27 (2003):25-30
- [15] **Berry-Kravis E, Booth G, Sanchez AC, Woodbury-Kolb J.**  
Carnitine levels and the ketogenic diet.  
Epilepsia 42 (2001):1445-1451
- [16] **Blochl-Daum B, Muller M, Meisinger V, Eichler HG, Fassolt A, Pehamberger H.**  
Measurement of extracellular fluid carboplatin kinetics in melanoma metastases with microdialysis.  
Br J Cancer 73 (1996):920-924

- [17] **Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P.**  
Microdialysis measurement of the absolute glucose concentration in subcutaneous adipose tissue allowing glucose monitoring in diabetic patients.  
*Diabetologia* 35 (1992):1177-1180
- [18] **Bolinder J, Ungerstedt U, Arner P.**  
Long-term continuous glucose monitoring with microdialysis in ambulatory insulin-dependent diabetic patients.  
*Lancet* 342 (1993):1080-1085
- [19] **Bolinder J, Hagström-Toft E, Ungerstedt U, Arner P.**  
Self-monitoring of blood glucose in typ I diabetic patients: comparison with continuous microdialysis measurements of glucose in subcutaneous adipose tissue during ordinary life conditions.  
*Diabet Care* 20 (1997):64-70
- [20] **Brady LJ, Brady PS, Lauri A, Davis AT, Hoppel CL.**  
Carnitine metabolism in lean and obese Zucker rats during starvation.  
*J Nutr* 116 (1986):668-674
- [21] **Brass EP, Hoppel CL.**  
Carnitine metabolism in the fasting rat.  
*J Biol Chem* 253 (1978):2688-2693
- [22] **Bremer J.**  
Carnitine - metabolism and functions.  
*Physiol Rev* 63 (1983):1420-1480
- [23] **Busch V, Hack A, Pascher B, Gempel K, Baumeister FAM**  
Subkutane Mikrodialyse - eine nebenwirkungsarme minimalinvasive Methode für ein biochemisches Gewebsmonitoring bei Mitochondriopathien.  
*Monatsschr Kinderheilkd* 153 (2005), Suppl.2:K078.06P
- [24] **Cederbaum SD, Blass JP, Minkoff N, Brown WJ, Cotton ME, Harris SH.**  
Sensitivity to carbohydrate in a patient with familial intermittend lactic acidosis and pyruvate dehydrogenase deficiency.  
*Pediatr Res* 10 (1976):713-720
- [25] **CMA/Microdialysis**  
Microdialysis medical device products USA  
[www.microdialysis.se](http://www.microdialysis.se)  
Stand: 26.01.2005

- [26] **Costa CC, de Almeida IT, Jakobs C, Poll-The B-T, Duran M.**  
Dynamic changes of plasma acylcarnitine levels induced by fasting and sunflower oil challenge test in children.  
*Pediatr Res* 46 (1999):440-444
- [27] **Dabrosin C.**  
Microdialysis - an in vivo technique for studies of growth factors in breast cancer.  
*Front Biosci* 10 (2005):1329-1335
- [28] **Damian MS, Sauter W, Reichmann H.**  
Subcutaneous microdialysis in mitochondrial cytopathy.  
*Muscle Nerve* 24 (2001):648-653
- [29] **Demeritte EL, Ventimiglia J, Coyne M, Nigro MA.**  
Organic acid disorders and the ketogenic diet.  
*Ann Neurol* 40 (1996):305
- [30] **DeVivo DC, Bohan TP, Coulter DL, Dreifuss FE, Greenwood RS, Nordli DR, Shields WD, Stafstrom CE, Tein I.**  
L-Carnitine supplementation in childhood epilepsy: current perspectives.  
*Epilepsia* 39 (1998):1216-1225
- [31] **DiMauro S, Schon EA.**  
Mitochondrial respiratory-chain diseases.  
*N Engl J Med* 348 (2003):2656-2668
- [32] **DiMauro S, Mancuso M, Naini A.**  
Mitochondrial Encephalomyopathies: Therapeutic Approach.  
*Ann NY Acad Sci* 1011 (2004):232-245
- [33] **Enoksson S, Talbot M, Rife F, Tamborlane WV, Sherwin RS, Caprio S.**  
Impaired in vivo stimulation of lipolysis in adipose tissue by selective beta2-adrenergic agonist in obese adolescent girls.  
*Diabetes* 49 (2000):2149-2153
- [34] **Faillace WJ.**  
A no-touch technique protocol to diminish cerebrospinal fluid shunt infection.  
*Surg Neurol* 43 (1995):344-350
- [35] **Falk RE, Cederbaum SD, Blass JP, Gibson GE, Pieter Kark RA, Carrel RE.**  
Ketogenic diet in the management of pyruvate dehydrogenase deficiency.  
*Pediatrics* 58 (1976):713-721

- [36] **Fouque F, Brivet M, Boutron A, Vequaud C, Marsac C, Zabot M, Benelli C.**  
Differential effect of DCA Treatment on the Pyruvate Dehydrogenase Complex in Patients with Severe PDHC Deficiency.  
Ped Res 53 (2003):793-799
- [37] **Freeman JM, Kelly MJ, Freeman JB.**  
The epilepsy diet treatment: An introduction to the ketogenic diet.  
Demos Publications, New York, 2nd edition, 1996
- [38] **Freeman JM, Vining PG, Pillas DJ, Pyzik PL, Casey JC, Kelly MT.**  
The efficacy of the Ketogenic Diet-1998: A prospective evaluation of intervention in 150 children.  
Pediatrics 102 (1998):1358-1363
- [39] **Fritz IB.**  
Carnitine and its role in fatty acid metabolism.  
Adv Lipid Res 1 (1963):285-334
- [40] **Frohlich J, Secombe DW, Jahn P, Dodek P, Hynie I.**  
Effect on fasting on free and esterified carnitine levels in human serum and urine: correlation of serum levels of free fatty acids and 3-hydroxybutyrate.  
Metabolism 27 (1978):555-561
- [41] **Gempel K, Kiechl S, Hofmann S, Lochmüller H, Kiechl-Kohlendorfer U, Willeit J, Sperl W, Rettinger A, Bieger I, Pongratz D, Gerbitz KD, Bauer MF.**  
Screening for carnitine palmitoyltransferase II deficiency by tandem mass spectrometry.  
J Inherit Metab Dis 25 (2002):17-27
- [42] **Genuth SM, Hoppel CL.**  
Plasma and urine carnitine in diabetic ketosis.  
Diabetes 28 (1979):1083-1087
- [43] **Hack A, Busch V, Pascher B, Gempel K, Baumeister FAM**  
Changes in carnitine metabolism in children with intractable epilepsy under ketogenic diet, demonstrated by subcutaneous microdialysis.  
Neuropediatrics 36 (2005):155,P73
- [44] **Hack A, Busch V, Pascher B, Gempel K, Baumeister FAM**  
Subcutaneous microdialysis - a safe and minimal-invasive method for biochemical tissue monitoring in mitochondrial diseases.  
Neuropediatrics 36 (2005):141,P25

- [45] **Hack A, Busch V, Gempel K, Baumeister FAM**  
Subcutaneous microdialysis for children - safe biochemical tissue monitoring based on a minimal traumatizing no touch insertion technique.  
Eur J Med Res 10 (2005): 419-425
- [46] **Hack A, Busch V, Pascher B, Busch R, Bieger I, Gempel K, Baumeister FAM**  
Monitoring of ketogenic diet for carnitine metabolites by subcutaneous microdialysis.  
Pediatr Res 60 (2006):93-96
- [47] **Hashiguchi Y, Sakakida M, Nishida K, Uemura T, Kajiwara KI, Shichiri M.**  
Development of a miniaturized glucose monitoring system by combining a needle-type glucose sensor with microdialysis sampling method: Long-term subcutaneous tissue glucose monitoring in ambulatory diabetic patients.  
Diabetes Care 17 (1994):387-396
- [48] **Henriksson J, Knol M.**  
A single bout of exercise is followed by a prolonged decrease in the interstitial glucose concentration in skeletal muscle.  
Acta Physiol Scand 185 (2005):313-320
- [49] **Heptulla RA, Stewart A, Enocksson S, Rife F, Yong-Zhan Ma T, Sherwin RS, Tamborlane WV, Caprio S.**  
In situ evidence that peripheral insulin resistance in adolescents with poorly controlled type 1 diabetes is associated with impaired suppression of lipolysis: a microdialysis study.  
Pediatr Res 53 (2003):830-835
- [50] **Herkner H, Müller MR, Kreischitz N, Mayer BX, Frossard M, Joukhadar C, Klein N, Lackner E, Muller M.**  
Closed chest microdialysis to measure antibiotic penetration into human lung tissue.  
Am J Resp Crit Care Med 165 (2002):273-276
- [51] **Hildingsson U, Sellden H, Ungerstedt U, Marcus C.**  
Microdialysis for metabolic monitoring in neonates after surgery.  
Acta Paediatr 85 (1996):589-594
- [52] **Hildingsson U, Lonnqvist PA, Sellden H, Eksborg S, Ungerstedt U, Marcus C.**  
Age-dependent variations in white adipose tissue glycerol and lactate production after surgery measured by microdialysis in neonates and children.  
Paediatr Anaesth 10 (2000):283-289

- [53] **Hillered L, Persson L.**  
Neurochemical monitoring of the acutely injured human brain.  
Scand J Clin Lab Invest 299[Suppl] (1999):9-18
- [54] **Hillered L, Persson L.**  
Theory and practice of microdialysis - prospect for future clinical use.  
Acta Neurochir 75[Suppl] (1999):3-6
- [55] **Hoffmann GF, Lehnert W. (1997)**  
Leitlinien zur Erblischen Laktatazidose.  
In: Leitlinien Kinder- und Jugendmedizin der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften ([www.uni-duesseldorf.de](http://www.uni-duesseldorf.de))  
Stand: 30.03.2004
- [56] **Holzinger A, Bonfig W, Kusser B, Eggermann T, Müller H, Münch H-G.**  
Use of long-term microdialysis subcutaneous glucose monitoring in the management of neonatal diabetes.  
Biol Neonate 89 (2006):88-91 [Epub Sept. 2005]
- [57] **Hoppel CL, Genuth SM.**  
Carnitine metabolism in normal-weight and obese human subjects during fasting.  
Am J Physiol 238 (1980):E409-E415
- [58] **Hoppel CL, Genuth SM.**  
Urinary excretion of acetylcarnitine during human diabetic and fasting ketosis.  
Am J Physiol 243 (1982):E168-E172
- [59] **Horál M, Ungerstedt U, Persson B, Westgren M, Marcus C.**  
Metabolic adaptation in IUGR neonates determined with microdialysis - A pilot study.  
Early Hum Dev 42 (1995):1-14
- [60] **Hutschala D, Skhirtladze K, Zuckermann A, Wisser W, Jaksch P, Mayer-Helm BX, Burgmann H, Wolner E, Muller M, Tschernko EM.**  
In vivo measurement of levofloxacin penetration into lung tissue after cardiac surgery.  
Antimicrob Agents Chemother 49 (2005):5107-5111
- [61] **Jansson K, Ungerstedt J, Jonsson T, Redler B, Andersson M, Ungerstedt U, Norgren L.**

- Human intraperitoneal microdialysis: increased lactate/pyruvate ratio suggests early visceral ischaemia. A pilot study.  
Scand J Gastroenterol 38 (2003):1007-1011
- [62] **Kamel A, Norgren S, Persson B, Marcus C.**  
Insulin induced hypoglycaemia: comparison of glucose and glycerol concentrations in plasma and microdialysate from subcutaneous adipose tissue.  
Arch Dis Child 80 (1999):42-45
- [63] **Kennergren C, Mantovani V, Lonnroth P, Berglin E, Hamberger A.**  
Monitoring of extracellular aspartate aminotransferase and troponin T by microdialysis during and after cardioplegic heart arrest.  
Cardiology 92 (1999):162-170
- [64] **Kennergren C, Mantovani V, Strindberg L, Berglin E, Hamberger A, Lonnroth P.**  
Myocardial interstitial glucose and lactate before, during and after cardioplegic heart arrest.  
Am J Physiol Endocrinol Metab 284 (2003):E788-794
- [65] **Landolt H, Langemann H.**  
Cerebral microdialysis as a diagnostic tool in acute brain injury.  
European Journal of Anaesthesiology 13 (1996):169-278
- [66] **Lefevre F, Aronson N.**  
Ketogenic diet for the treatment of refractory epilepsy in children: A systematic review of efficiency.  
Pediatrics 105 (2000):1-7
- [67] **Lin MI, Mitchell G, Chen LS, Davis KA.**  
Symptomatic carnitine depletion is uncommon in children on ketogenic diet.  
Epilepsia 39 (1998):168
- [68] **Manzar S.**  
Neonatal diabetes and severe intracerebral haemorrhage.  
Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed 81 (1999):F77-F79
- [69] **Matsuyuki M.**  
Mitochondrial changes and carnitine status in fasting rats.  
Acta Paediatr Jpn 32 (1990):443-448
- [70] **Moore AM, Perlman M.**  
Symptomatic hypoglycaemia in otherwise healthy, breastfed term newborns.  
Pediatrics 103 (1999):837-839

- [71] **v Mühlendahl KE, Herkenhoff H.**  
Long-term course of neonatal diabetes.  
N Engl J Med 333 (1995):704-708
- [72] **Müller M, Mader RM, Steiner B, Steger GG, Jansen B, Gnant M, et al.**  
5-Fluorouracil kinetics in the interstitial tumor space: clinical response in breast cancer patients.  
Cancer Res 57 (1997):2598-2601
- [73] **Müller M.**  
Microdialysis.  
BMJ 324 (2002):588-591
- [74] **Müller P, Ceglarek U, Stach B, Kiess W, Bührdel P, Pfäffle R, Thiery J.**  
Tandem-Massenspektrometrie (Tandem-MS) in der pädiatrischen Stoffwechsellanalytik mit einheitlichen Richtlinien für das Neugeborenen-screening in Deutschland.  
Kinder- und Jugendmedizin 3 (2003):236-239
- [75] **Muller M, Holmang A, Andersson OK, Eichler HG, Lonroth P.**  
Measurement of interstitial muscle glucose and lactate concentrations during an oral glucose tolerance test.  
Am J Physiol Endocrinol Metab 271 (1996):34-36
- [76] **Munnich A, Rotig A, Chretien D, Saudubray JM, Cormier V, Rustin P.**  
Clinical presentations and laboratory investigations in respiratory chain deficiency.  
Eur J Pediatr 155 (1996):262-274
- [77] **Nakahara D, Ozaki N, Nagatsu T.**  
In vivo microdialysis of neurotransmitters and their metabolites.  
In: Methods in neurotransmitter and neuropeptide research. Parvez SH, Naoi M, Nagatsu T, Parvez S (Hrsg)  
Elsevier Science Publishers, 1993, SS. 219-248
- [78] **Paez X, Hernandez L.**  
Blood Microdialysis in humans: a new method for monitoring plasma compounds.  
Life Sciences 61 (1997):847-856
- [79] **Panetta J, Smith LJ, Boneh A.**  
Effect of high-dose vitamins, coenzyme Q and high-fat diet in paediatric

- patients with mitochondrial diseases.  
J Inherit Metab Dis 27 (2004):487-498
- [80] **Pascher B, Liebhaber G, Hack A, Busch V, Riemann E, Baumeister FAM**  
Efficiency of the ketogenic diet in children with pharmaco-resistant epilepsies.  
Neuropediatrics 36 (2005):154, P72
- [81] **Pascher B, Liebhaber G, Hack A, Busch V, Riemann E, Baumeister FAM**  
Effektivität der Ketogenen Diät bei Kindern mit pharmakoresistenten Epilepsien.  
Monatsschr Kinderheilkd 153 (2005), Suppl.2:K025.04P
- [82] **Pascher B, Hack A, Busch V, Gempel K, Baumeister FAM**  
Monitoring des Carnitin-Stoffwechsels mittels subkutaner Mikrodialyse bei Kindern mit pharmakoresistenter Epilepsie unter Ketogener Diät.  
Monatsschr Kinderheilkd 153 (2005), Suppl.2:K025.05P
- [83] **Persson L, Hillered L.**  
Chemical monitoring of neurosurgical intensive care patients using intracerebral Microdialysis.  
J Neurosurg 76 (1992):72-80
- [84] **Persson L, Valtysson J, Enblad P, Wörme P-E, Cesarini K, Lewén A, Hillered L.**  
Neurochemical monitoring using intracerebral microdialysis in patients with subarachnoid hemorrhage.  
J Neurosurg 84 (1996):606-616
- [85] **Peterson PL.**  
The treatment of mitochondrial myopathies and encephalomyopathies.  
Biochimica et Biophysica Acta 1271 (1995):275-280
- [86] **Richard EF, Benke PJ. (2003)**  
Pyruvate Dehydrogenase Complex Deficiency.  
([www.emedicine.com/ped/topic1969.htm](http://www.emedicine.com/ped/topic1969.htm))  
Stand: 21.08.2004
- [87] **Richards DA, Toliaas CM, Sgouros S, Bowery NG.**  
Extracellular glutamine to glutamate ratio may predict outcome in the injured brain: a clinical Microdialysis study in children.  
Pharmacological Research 48 (2003):101-109
- [88] **Roef MJ, de Meer K, Reijngoud D-J, Straver H, de Barse M, Kalhan SC, Berger R.**

- Triacylglycerol infusion does not improve hyperlactemia in resting patients with mitochondrial myopathy due to complex I deficiency.  
*Am J Clin Nutr* 75 (2002):228-236
- [89] **Rolinski B, Baumeister F, Roscher A.**  
Determination of amino acid tissue concentrations by microdialysis: method evaluation and relation to plasma values.  
*Amino Acids* 21 (2001):129-138
- [90] **Rosdahl H, Ungerstedt U, Jorfeldt L, Henrikson J.**  
Interstitial glucose and lactate balance in human skeletal muscle and adipose tissue studied by microdialysis.  
*J Physiol* 471 (1993):637-657
- [91] **Rosdahl H, Ungerstedt U, Henriksson J.**  
Microdialysis in human skeletal muscle and adipose tissue at low flow rates is possible if dextran-70 is added to prevent loss of perfusion fluid.  
*Acta Physiol Scand* 159 (1997):261-262
- [92] **Rutledge SL, Kinsman SL, Geraghty MT, Vining EPG, Thomas G.**  
Hypocarnitinemia and the ketogenic diet.  
*Ann Neurol* 26 (1989):472
- [93] **Sankar R, Soter de Menezes M.**  
Metabolic and endocrine aspects of the ketogenic diet.  
*Epilepsy Res* 37 (1999):191-201
- [94] **Scholte HR, Busch HFM, Bakker HD, Bogaard JM, Luyt-Houwen IEM, Kuyt LP.**  
Riboflavin-responsive complex I deficiency.  
*Biochimica et Biophysica Acta* 127 (1995):75-83
- [95] **Schulze A, Mayatepek E, Langhans CD, Bachert P, Ruitenbeek W, Rating D.**  
In vivo methods useful for therapy monitoring in lactic acidosis.  
*J Inher Metab Dis* 21 (1998):691-692
- [96] **Silva MA, Richards DA, Bramhall SR, Adams DH, Mirza DF, Murphy N.**  
A study of the metabolites of ischemia-reperfusion injury and selected aminoacids in the liver using microdialysis during transplantation.  
*Transplantation* 79 (2005):828-835
- [97] **Stacpoole PW, Barnes CL, Hurbanis MD, Cannon SL, Kerr DS.**  
Treatment of congenital lactic acidosis with dichloroacetate.  
*Arch Dis Child* 77 (1997):535-541

- [98] **Stenninger E, Eriksson E, Stigfur A, Schollin J, Aman J.**  
Monitoring of early postnatal glucose homeostasis and cerebral function in newborn infants of diabetic mothers. A pilot study.  
Early Hum Dev 62 (2001):23-32
- [99] **Summers LKM, Clark ML, Humphreys SM, Bugler J, Frayn KN.**  
The use of Microdialysis to monitor rapid changes in glucose concentration.  
Horm Metab Res 31 (1999):424-428
- [100] **Tenhunen JJ, Kosunen H, Alhava E, Tuomisto L, Takala JA.**  
Intestinal luminal microdialysis: a new approach to assess gut mucosal ischemia.  
Anesthesiol 91 (1999):1807-1815
- [101] **Thorsen K, Kristoffersson AO, Lerner UH, Lorentzon RP.**  
In situ microdialysis in bone tissue. Stimulation of prostaglandin E2 release by weight-bearing mechanical loading.  
J Clin Invest 98 (1996):2446-2449
- [102] **Tolias CM, Richards DA, Bowery NG, Sgouros S.**  
Extracellular glutamate in the brains of children with severe head injuries: a pilot Microdialysis study.  
Childs Nerv Syst 18 (2002):368-374
- [103] **Tomaselli F, Maier A, Matzi V, Smolle-Juttner FM, Dittrich P.**  
Penetration of meropenem into pneumonic human lung tissue as measured by in vivo microdialysis.  
Antimicrob Agents Chemother 48 (2004):2228-2232
- [104] **Ungerstedt U.**  
Microdialysis-principles and applications for studies in animal and man.  
J Intern Med 230 (1991):365-373
- [105] **Wexler ID, Hemalatha SG, McConnell J, Buist NRM, Dahl HH, Berry SA, Cederbaum SD, Patel MS, Kerr DS.**  
Outcome of pyruvate dehydrogenase deficiency treated with ketogenic diets. Studies in patients with identical mutations.  
Neurology 49 (1997):1655-1661
- [106] **Wientjes KJ, Vonk P, Vonk-van Klei Y, Schoonen AJ, Kossen NW.**  
Microdialysis of glucose in subcutaneous adipose tissue up to 3 weeks in healthy volunteers.  
Diabetes Care 21 (1998):1481-1488

- [107] **Wijburg FA, Barth PG, Bindoff LA, Birch-Machin MA, van der Blij JF, Ruitenbeek W, Turnbull DM, Schutgens RBH.**  
Leigh syndrome associated with a deficiency of the pyruvate dehydrogenase complex: Results of treatment with a ketogenic diet.  
Neuropediatrics 23 (1992):147-152
- [108] **Yamaguti K, Kuratsune H, Watanabe Y, Takahashi M, Nakamoto I, Machii T, Jacobsson G, Onoe H, Matsumura K, Valind S, Langström B, Kitani T.**  
Acylcarnitine metabolism during fasting and after refeeding.  
Biochem Biophys Res Commun 225 (1996):740-746
- [109] **Zeviani M, Bonilla E, De Vivo DC, DiMauro S.**  
Mitochondrial diseases.  
Neurol Clin 7 (1989):123-156

# Abbildungsverzeichnis

2.1	Applikation der subkutanen Mikrodialyse am Säugling . . . . .	13
2.2	Schematische Darstellung der Spitze eines Mikrodialysekatheters .	13
3.1	Mikrodialysekatheter CMA 70 . . . . .	20
3.2	CMA 600 Microdialysis Analyser . . . . .	21
4.1	Schrittweise Insertion des MD-Katheters in das Subkutangewebe mit der minimal traumatisierenden No-Touch Insertionstechnik (Jugendlicher, Unterarm) . . . . .	25
4.2	Dokumentationbogen - Nebenwirkungen-Komplikationen . . . . .	27
4.3	Dauer der Mikrodialyse in den 4 Alterskategorien . . . . .	28
4.4	Mitochondrialer Stoffwechsel . . . . .	35
4.5	Zeitlicher Verlauf der subkutanen Gewebslaktatwerte in der Einstellungsphase der Ketogenen Diät . . . . .	38
4.6	Gewebslaktat subkutan in Abhängigkeit vom Fettanteil der Ketogenen Diät . . . . .	39
4.7	Cerebraler Stoffwechsel von Ketonkörpern . . . . .	43
4.8	Metabolisches Gewebsmonitoring (Pyruvat, Laktat) mit subkutaner Mikrodialyse bei einem Säugling mit PDH (E1) Defekt vor und unter Ketogener Diät . . . . .	45
4.9	Korrelation zwischen Blutzucker und Dialysatglukose, basierend auf 104 Wertepaaren ( $r=0,89$ ) . . . . .	49
4.10	Ausschnitt aus dem Glukoseprofil der Patientin mit neonatalem Diabetes mellitus . . . . .	50
4.11	Individuelle Acetylcarnitin-Verläufe im Subkutangewebe von 7 Patienten bei Einstellung auf Ketogene Diät . . . . .	57
4.12	Individuelle Hydroxybutyrylcarnitin-Verläufe im Subkutangewebe von 7 Patienten bei Einstellung auf Ketogene Diät . . . . .	58
4.13	Individuelle Verläufe des freien Carnitins im Subkutangewebe von 7 Patienten bei Einstellung auf Ketogene Diät . . . . .	58
4.14	Signifikante Veränderung der Carnitine (C2, C4OH, C0) mit steigender Ketose . . . . .	59
4.15	Korrelation zwischen $\beta$ -Hydroxybutyrat ( $\beta$ -OHBs) im Serum und Hydroxybutyrylcarnitin (C4OH) im subkutanen Gewebe . . . . .	60

# Tabellenverzeichnis

3.1	Indikationen für das biochemische Bedside-Monitoring mit der subkutanen Mikrodialyse . . . . .	19
4.1	Komplikationen und Probleme im Zusammenhang mit der Mikrodialyse . . . . .	29
4.2	Zusammenstellung bisheriger Anwendungen der subkutanen Mikrodialyse in der Pädiatrie . . . . .	33
4.3	Relative Recovery der Carnitine in vitro . . . . .	56

# Danksagungen

Ich danke Herrn Prof. Dr. S. Burdach, der mir als Direktor der Kinderklinik und Poliklinik der TU München, diese Arbeit ermöglicht hat.

Meinen besonderen Dank möchte ich meinem Doktorvater, Herrn PD Dr. F. Baumeister, aussprechen, der mir in den letzten beiden Jahren ein hervorragender Betreuer war, mich tatkräftig bei meinen Publikationen motiviert und unterstützt hat und von dem ich in den letzten Jahren auch in der klinischen Praxis sehr viel gelernt habe.

Vielen herzlichen Dank auch an Herrn Dr. K. Gempel vom Institut für Klinische Chemie des Krankenhauses München Schwabing, der für meine zahlreichen Fragen immer ein offenes Ohr hatte und mir bei den Mikrodialyse-Versuchen im Labor mit Rat und Tat zur Seite stand.

Auch Frau Iris Bieger, Medizinisch Technische Assistentin am Institut für Klinische Chemie des Krankenhauses München Schwabing, gilt mein herzlichster Dank. Sie hat mich geduldig und kompetent bei den Mikrodialyse-Versuchen im Labor angeleitet und mich in die Geheimnisse der Tandem-Massenspektrometrie eingeweiht.

Vielen Dank an Frau R. Busch vom Institut für medizinische Statistik und Epidemiologie (IMSE) der Technischen Universität München für die gute Zusammenarbeit bei der statistischen Auswertung meiner Ergebnisse.

Danke an Frau Dr. V. Busch und Frau Dr. B. Pascher, Stationsärztinnen der Station 24b, für die gute und erfreuliche Zusammenarbeit bei den Publikationen.

Mein allgemeiner Dank geht an die Schwestern der Station 24b der Kinderklinik Schwabing für die konstruktive Zusammenarbeit bei der Durchführung der klinischen Studie.

Letztendlich gilt mein Dank meiner Familie, die mir über Monate hinweg Diskussionspartner und moralische Stütze war. Danke meiner Mutter für die Überarbeitung in Sachen Rechtschreibung und Formulierung, sowie meinen Brüdern, die mir bei der Layoutierung dieses Dokuments und insbesondere bei den Graphiken tatkräftig zur Seite standen.