

**Entwicklungsaspekte eines Medizinproduktes zur  
Prävention und Überwachung von  
Hydrierungszuständen**

Dissertation zur Erlangung des  
naturwissenschaftlichen Doktorgrades  
der Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von

Rico Brendtke

aus Sonneberg

Würzburg 2017

Eingereicht am:

Mitglieder der Promotionskommission:

Vorsitzender:

Gutachter: Frau Prof. Heike Walles

Gutachter: PD Vladimir Soukhoroukov

Tag des Promotionskolloquiums: .....

Doktorurkunde ausgehändigt am: .....

## 1. Kurzfassung

Der demografische Wandel und das Populationswachstum stellen eine globale Herausforderung für die Gesundheitssysteme dar. Eine vielversprechende Lösungsstrategie liegt in der digitalen Überwachung, Prävention und Therapie akuter und chronischer Erkrankungen durch die Nutzung von innovativen Technologien aus dem Bereich der personalisierten Medizin.

Die Digitalisierung in der Überwachung von Vitalparametern mittels Sensorik besitzt großes Potential für die längere Gesunderhaltung der Patienten und somit die Entlastung der Gesundheitssysteme im Ganzen.

Da Wassermangel für eine Vielfalt von Krankheiten einen Katalysator darstellt, ist die Hydratation ein wichtiger aber bislang nur invasiv zugänglicher Vitalparameter. Zur Etablierung nicht invasiver Messungen des Wasserhaushaltes am Menschen wurde im Rahmen dieser Arbeit die Eignung der Mikrowellentechnologie untersucht.

Dehydratation resultiert in der Veränderung des Osmolythaushaltes und beeinflusst biochemische Prozesse, was zur Entstehung von Morbidität führen kann. Im Rahmen der Arbeit werden Teilbereiche der Entwicklung eines Medizinproduktes abgebildet. Zu diesem Zweck wird die Machbarkeit der mikrowellenbasierten Analyse des Wasserhaushaltes in einer technischen Machbarkeitsstudie untersucht, um im zweiten Prozessschritt einen technischen Demonstrator *in vitro* und *in vivo* am Probanden erproben zu können. Hochfrequente elektromagnetische Wellen interagieren mit Molekülen, speziell Wasser. Enthält eine Probe freie Wassermoleküle, kann dies im reflektierten Signal detektiert werden. Zur Überprüfung des Sensorsystems *in vitro* dienen humane 3D-Vollhautmodelle mit spezifischer Hydratation und Gewebedichte der Matrixkomponenten als standardisiertes Modell zur Untersuchung definierter Exsikkoseszenarien und des Einflusses verschiedener Modellkomplexitäten. Die Eignungsüberprüfung des Systems mit einem technischen Demonstrator des künftigen Medizinproduktes belegt die Anwendbarkeit des Messsystems zur Erfassung des relativen Wassergehaltes. Die Technologie zeichnet sich durch eine hohe Sensitivität bei der Detektion von Proben mittels Frequenz- und Signalreflektionsdifferenzen aus. Neben den *In-vitro*-Testungen wird das entwickelte Sensorsystem aus regulatorischer Sicht zur klinischen Leistungsüberprüfung vorbereitet und im Rahmen eines bewilligten Ethikvotums *in vivo* erprobt. Die Ergebnisse belegen die Machbarkeit der nichtinvasiven Erfassung des Wasserhaushaltes durch mikrowellenbasierte Messungen. Die Technologie birgt das Potential, in ein körpernahes Sensorsystem integriert zu werden, welches als Medizinprodukt zur persönlichen Gesundheitsüberwachung zugelassen werden kann.

## 2. Abstract

The demographic change and the growth of mankind are challenging worldwide, especially for healthcare systems. One possible solution to keep humans healthier at all ages coeval fighting disease-related consequences is given by modern technologies for personalized disease treatment and digital health monitoring.

The digitalization of the health care through new technological advance in personalized disease treatment and health monitoring using sensor-based technologies helps people to recover from illness or stay healthy, to monitor the health state of patients in need and to assist caregivers during their daily routine. This thesis aims to analyze microwave measurements as a technology to monitor the hydration status as a particularly important vital parameter, which can be catalyst for diverse secondary disorders.

Wireless body area networks (WBANs) are used for individually tailored therapy of disease and preventive monitoring of health parameters. There are some already existing technologies but there is not yet a way to monitor non-invasively the entire health state and especially hydration as a particularly critical vital parameter. WBANs may help to pave the way for personalized medicine, improve acute and preventive healthcare and support individual physical fitness.

Tissue dehydration results in impaired biochemical processes, and can finally cause severe morbidity. The aim of this study was to demonstrate the feasibility of microwave measurements for the non-invasive analysis of the hydration status *in vitro* and *in vivo* and to develop a prototype of a medical device for this measurement. Moreover, accompanying regulatory aspects are considered as a basis for an approval of the sensor technology as medical device. Electromagnetic waves at high frequencies interact with molecules, especially water. Thus, free water molecules can be detected via the reflected microwave signal. To develop the sensor system, human three-dimensional skin equivalents were instituted as a standardized test platform mimicking reproducible exsiccosis scenarios. Therefore, skin equivalents with a specific hydration and density of matrix components were generated and microwave measurements were performed. Hydration-specific spectra allowed deriving the hydration state of the skin models. A further advantage of the skin equivalents was the characterization of the impact of distinct skin components on the measured signals to investigate mechanisms of signal generation. Together with these *in vitro* results, the technology is investigated *in vivo* within initial testing scenarios on test subjects. The results demonstrate the feasibility of non-invasive microwave-based hydration measurements and thus the technologies potential to be integrated in a wearable medical device for personal digital health monitoring.

### 3. Inhaltsverzeichnis

<b>1.</b>	<b>Kurzfassung</b> .....	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>3.</b>	<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>5</b>
<b>4.</b>	<b>Danksagung</b> .....	<b>8</b>
<b>5.</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>9</b>
<b>6.</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>11</b>
6.2.	Der Einfluss des demographischen Wandels auf die Gesundheitssysteme .....	11
6.3.	Personalisierte Diagnostik und Therapie .....	13
6.3.1.	Digitalisierte Selbstüberwachung zur Krankheitsprävention und Fitnessüberprüfung .....	13
6.3.2.	Ethische, rechtliche und soziale Rahmenbedingungen .....	15
6.3.3.	Relevante physiologische Vitalparameter .....	16
6.4.	Der menschliche Wasserhaushalt .....	16
6.5.	Dehydratation – Ursachen, Folgen und klinische Diagnose .....	19
6.6.	Zielgruppenanalyse .....	22
6.7.	Technologien zur Überwachung des Hydrierungszustandes .....	24
6.8.	Entwicklung und Funktionsprüfung eines auf elektromagnetischen Wellen basierenden Dehydratations-Frühwarnsystems .....	27
6.9.	Zulassung von Produkten zur Gesundheitsüberwachung .....	29
6.9.1.	Zulassungsverfahren .....	29
6.10.	Zielsetzung der Arbeit .....	34
<b>7.</b>	<b>Material</b> .....	<b>35</b>
<b>8.</b>	<b>Methoden</b> .....	<b>42</b>
8.2.	Messaufbau für Testungen .....	42
8.2.1.	Antennenentwicklung .....	42
8.2.2.	Materialauswahl und Konstruktion der Messaufbauten .....	42
8.3.	Zellkultur .....	43
8.3.1.	Kultivierung von Zellen .....	43
8.3.2.	Bestimmung der Zellzahl und Vitalität .....	43
8.3.3.	Isolation primärer Zellen aus Hautbiopsien .....	44
8.3.4.	Passagieren von Zellen .....	44
8.3.5.	Herstellung von Dermis- und Vollhaut- Modellen .....	45
8.3.6.	Einfrieren und Auftauen von Zellen .....	46

8.4.	<i>In-vitro</i> -Analyse und Validierung der mikrowellenbasierten Messmethodik.....	46
8.4.1.	Sensitivitätsanalyse der Messaufbauten .....	46
8.4.2.	Vorbehandlung der <i>in-vitro</i> -Testsysteme .....	46
8.4.3.	Messung des Trocken- und Feuchtgewichtes von Hydrogel-basierten Modellen .....	47
8.4.4.	Statistische Analyse .....	47
8.5.	Histologie .....	47
8.5.1.	Fixierung und Paraffineinbettung.....	47
8.5.2.	Vorbereiten der Schnitte für Färbungen .....	48
8.5.3.	Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	48
8.6.	Vorbereitung zulassungsrelevanter Dokumente .....	49
8.6.1.	Zweckbestimmung und Klassifizierung.....	49
8.6.2.	Vorläufige Gefährdungsanalyse nach DIN EN ISO 14971 .....	50
8.6.3.	Beantragung einer klinischen Prüfung.....	52
8.7.	Durchführung einer Erstprüfung des technischen Demonstrators.....	53
<b>9.</b>	<b>Ergebnisse.....</b>	<b>54</b>
8.1.	Biokompatible Materialien verhindern die biologische Unverträglichkeit .....	54
8.2.	Machbarkeitsanalyse mikrowellenbasierter Hydratationserfassung.....	55
8.2.1.	Konstruktion der Messkammer für die Antenne und Anpassung an eine Kompressionsanlage zur Testmodellherstellung .....	55
8.2.2.	Simulation und Fertigung der Patch-Antenne .....	56
8.2.3.	Vergleich der Simulation und Funktionalitätsüberprüfung der Patch-Antenne .....	58
8.2.4.	Charakterisierung spezifischer Reflektionsspektren von Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Polarität und Osmolarität .....	59
8.2.5.	Kalkulation der Interaktionsintensität zwischen Mikrowellen und Material .....	61
8.2.6.	Mikrowellentechnologie ermöglicht die Charakterisierung der Hydratation zellfreier dermaler Testäquivalente.....	62
8.1.7.	Zerstörungsfreie Charakterisierung der Hydratation dermaler Äquivalente mittels Mikrowellentechnologie .....	63
8.1.8.	Charakterisierung von Vollhautmodellen durch mikrowellenbasierte Quantifizierung der Hydratation am Übergang zwischen Luft und Gewebe .....	64
8.1.9.	Mikrowellenbasierte Messungen ermöglichen die Diskriminierung zwischen Analysegruppen .....	66
8.2.	Überprüfung der Funktionalität des technischen Demonstrators .....	67
8.2.1.	Konstruktion .....	67
8.2.2.	Messaufbau des technischen Demonstrators .....	68
8.2.3.	Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Osmolarität sind durch den technischen Demonstrator charakterisierbar .....	69
8.2.4.	Zerstörungsfreie Charakterisierung der Hydratation dermaler Äquivalente mittels des entwickelten Prototyps .....	70
8.2.5.	Charakterisierung von Vollhautmodellen durch mikrowellenbasierte Quantifizierung der Hydratation.....	72
8.2.6.	Prototypbasierte Messungen ermöglichen die Diskriminierung zwischen verschiedenen Analysegruppen.....	73

---

8.3.	Ausarbeitung zulassungsrelevanter Dokumente zur Beantragung einer klinischen Prüfung .....	74
8.3.1.	Zweckbestimmung des Dehydratations-Frühwarnsystems .....	74
8.3.2.	Klassifizierung des aktiven diagnostischen Medizinproduktes nach Medizinproduktegesetz als sonstiges Medizinprodukt der Klasse IIa .....	75
8.3.3.	Bewertung des Dehydratations-Frühwarnsystems anhand der vorläufigen Gefährdungsanalyse nach DIN EN ISO 14971 .....	76
8.2.1.	Beantragung einer klinischen Prüfung an Probanden .....	84
8.3.	Anwendertestungen .....	85
8.3.1.	Vortestungen zur klinischen Überprüfung des technischen Demonstrators .....	86
<b>9.</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>91</b>
<b>10.</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>102</b>
<b>11.</b>	<b>Ausblick .....</b>	<b>103</b>
<b>12.</b>	<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>105</b>
<b>13.</b>	<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>106</b>
<b>14.</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>107</b>
<b>15.</b>	<b>Erklärungen nach §4 Abs. 3 Satz 3, 5, 8 der Promotionsordnung der Fakultät für Biologie .....</b>	<b>117</b>

## 4. Danksagung

Nachfolgend möchte ich einige dankende Worte aussprechen.

Ich danke Frau Prof. Dr. Heike Walles für die Möglichkeit, meine Dissertation am Lehrstuhl für Tissue Engineering und Regenerative Medizin anzufertigen. Als Professorin und Mentorin hatte sie maßgeblichen Anteil an meiner akademischen und beruflichen Entwicklung.

PD Dr. Vladimir Soukhoroukov möchte ich für das Übernehmen des Zweitgutachtens sowie alles, was er im Laufe meines Studiums möglich gemacht hat, danken.

Ein spezielles Dankeschön gilt Dr. Jan Hansmann. Als universitärer Betreuer meiner Arbeit am Lehrstuhl hatte er stets ein offenes Ohr bei auftretenden Fragen im theoretischen oder experimentellen Bereich, immer gute Ideen zu deren Lösung und unterstützte mich während der gesamten Dauer der Promotion.

Ein besonderer Dank gilt der senetics healthcare group GmbH & Co. KG und dem Geschäftsführer Dr. Wolfgang Sening für die Möglichkeit, meine Doktorarbeit im industriellen Umfeld einer Firma anfertigen zu dürfen. Natürlich möchte ich mich auch bei den anderen Mitarbeitern, besonders aber bei Michael bedanken.

Dem Lehrstuhl für technische Elektronik der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg danke ich für die Bereitstellung des technischen Demonstrators zum Zwecke biologischer Testungen. Den Konsortialpartnern des Förderprojektes SeLe danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Zuletzt danke ich Corinna, Anna und Anja, meinen Eltern sowie meiner restlichen Familie, die mich bereits mein ganzes Leben lang rückhaltlos unterstützen.

## 5. Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
μ	Micro
3D	Dreidimensional
ADH	antidiuretische Hormone
ANP	atriales natriuretisches Peptid
Aq.dest.	Destilliertes Wasser
ATP	Adenosintriphosphat
BIA	Bioimpedanz-Analyse
BIS	Bioimpedanz-Spektroskopie
CaCl <sub>2</sub>	Kalziumchlorid
CAD	Computer-aided design
dB	Dezibel
DEXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
DIN	Deutsches Institut für Normung
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DMM	Deuteriumoxid-Verdünnung
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraacetic acid
eHealth	Elektronische Gesundheitslösungen
EM	Elektromagnetisch
EN	Europäische Norm
EtOH	Ethanol
EWG	Europäische Wirtschaftsgemeinschaft
f	Frequenz
FCS	fötalem Kälberserum
FT 3D Skin	Vollhaut-Modell
G	Giga
GCP	good clinical practice
h	Stunde
H <sub>2</sub> O	Wasser
HCl	Salzsäure
hdF	Humane dermale Fibroblasten
heK	Humane epidermale Keratinozyten
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid
Hz	Hertz

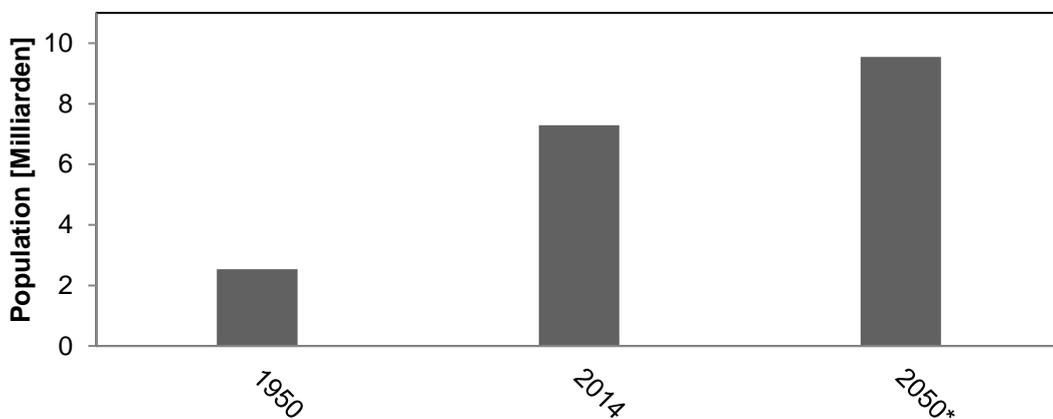
---

ISO	International standardization organisation
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
L	Liter
m	Meter
M	Mega
MDD	Medical Device Directive
MDR	Medical Device Regulation
MeOH	Methanol
MgCl <sub>2</sub>	Magnesiumchlorid
mHealth	Mobile Gesundheitslösungen
ml	Milliliter
mmol	Millimolar
mOsm	Milliosmolar
MPG	Medizinproduktegesetz
NaCl	Natriumchlorid
NCD	noncommunicable disease
NWA	Netzwerkanalysator
P/S	Penicillin/Streptomycin
PBS	Phosphat gepufferte Saline
PFA	Paraformaldehyd
PHM	personal health monitoring
PO <sub>4</sub>	Phosphat
POC	Proof-of-concept
PPSU	Polyphenylsulfon
PrOH	Propanol
PSU	Polysulfon
RL	Return loss
s	Sekunde
SUT	Substance under test
TEWL	transepidermaler Wasserverlust
U	Unit
VE	vollentsalzt
WBANs	Wireless body area network
WHO	Weltgesundheitsorganisation

## 6. Einleitung

### 6.2. Der Einfluss des demographischen Wandels auf die Gesundheitssysteme

Das globale Bevölkerungswachstum hat im 20. Jahrhundert nahezu eine Vervierfachung der Weltbevölkerung bewirkt [1-3]. Dieser Tendenz zufolge werden bis zum Jahr 2050 etwa 10 Milliarden Menschen auf der Erde leben (Abbildung 1) [4], wobei alleine auf dem afrikanischen Kontinent durch die stetig verbesserte Gesundheitsversorgung mit einer Bevölkerungszunahme von 1,1 Milliarden auf 2,4 Milliarden Menschen zu rechnen ist [5, 6].



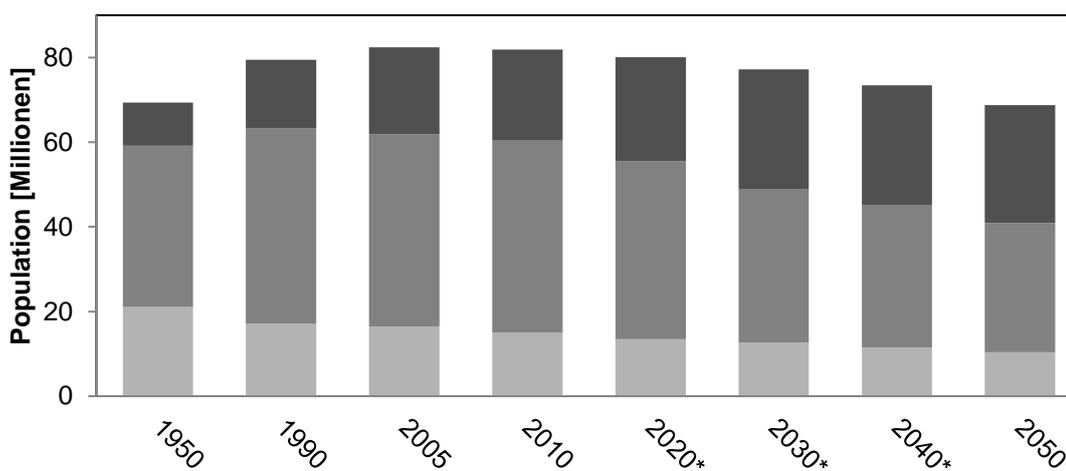
**Abbildung 1: Entwicklung der Weltbevölkerung bis 2050.** Die Weltbevölkerung wächst von 2,53 Milliarden im Jahr 1950 auf 9,55 Milliarden Menschen bis zum Jahr 2050 an (2050 als kalkulierter Wert) [4, 7, 8].

Bei gleichzeitig sinkenden Geburtsraten, höheren Überlebenschancen von Kleinkindern und Menschen im fortschreitenden Alter verändert sich weltweit die Populationsstruktur und einzelne Populationsgruppen sind homogener verteilt [9]. Vor allem in Ländern mit mittlerem bzw. hohem Einkommen tritt dieses Phänomen verstärkt auf [10]. Während bis zur Mitte des 20. Jahrhunderts etwa 14 Millionen Menschen weltweit älter als 80 Jahre wurden, steigt diese Zahl bis 2050 auf 400 Millionen an [11, 12]. Damit wird der Alterungsprozess unserer Population eine Herausforderung für alle Gesellschaften [13]. Der demographische Wandel vollzieht sich besonders schnell in Schwellenländern wie Brasilien, Russland, Indien und China, so dass den Regierungen dieser Länder weniger Zeit verbleibt, adäquat mit entsprechenden Reformen im Gesundheitssektor zu reagieren.

Weltweit stellen sich Gesellschaften der Herausforderung, einer immer größer werdenden Zahl an Menschen bis ins hohe Alter eine zuverlässige Gesundheitsversorgung mit hoher Qualität zu

bieten. Zur Verhinderung gravierender Folgen für das Gesundheitssystem [14] sollte eine Reduktion der Patientenzahl in der Langzeitpflege angestrebt werden [15, 16].

Statistiken des Bundesinstitutes für Bevölkerungsforschung aus dem Jahr 2012 belegen, dass das mittlere Alter der Deutschen mit steigender Tendenz bei Männern etwa 42,8 Jahre, bei Frauen 45,5 Jahre beträgt [17]. Als Konsequenz ist eine starke Veränderung der deutschen Populationsstruktur [18] mit einer Erhöhung der prozentualen Anteils an Personen im Seniorenalter ( 60 Jahre oder älter) auf mehr als 20 % der Bevölkerung zu beobachten (siehe Abbildung 2, dunkelgraue Balken) [19, 20].



**Abbildung 2: Entwicklung der Altersstruktur von 1950 bis 2050 (kalkuliert).** Bei gleichzeitig sinkender Geburtenrate nimmt der Anteil an über 60-jährigen stetig zu (dunkelgraue Balken) im Vergleich zur Altersgruppe zwischen 20-60 Jahren (mittelgraue Balken) und den unter 20-jährigen (hellgraue Balken). Dies wirkt sich auf die Distribution der einzelnen Altersgruppen und Gesamtbevölkerung aus. Mit Sternchen markierte Jahreszahlen wurden kalkuliert [7, 8, 21, 22].

Die nationalen und internationalen Entwicklungen der Bevölkerungszahl und -struktur machen es notwendig, Gesundheitssysteme proaktiv mit Hilfe moderner Versorgungs- und Präventionssysteme an die neue Bedingungen anzupassen [23, 24]. Eine mögliche Lösungsstrategie liegt dabei in der stärkeren Digitalisierung im Gesundheitssektor. Durch den Einsatz von elektronischen Systemen zur Unterstützung der effizienteren Auffassung Patientendaten und personalisierten Versorgung würde eine verbesserte Krankheitsprävention erreicht und auf einzelnen Patienten zugeschnittene Therapie ermöglicht werden.

Mehrere Untersuchungen belegen, dass eine der effektivsten Krankheitspräventionen die Verbesserung des Lebensstils ist. So kann das Auftreten der chronischen Erkrankungen (noncommunicable disease, NCDs) durch den Verzicht auf übermäßigen Konsum von Genussmitteln, eine ausreichende sportliche Betätigung sowie eine ausgewogene Ernährung deutlich verringert werden. Da die NCDs, wie koronare Erkrankungen, Einschränkungen im

Sehen, Schlaganfälle, Atemwegserkrankungen, Hörverlust oder beispielsweise Demenz [25] die weltweite Haupttodesursache sind und im Jahr 2008 etwa 58 % der weltweiten Tode auf NCDs zurückgeführt werden konnten, erweist sich die Verringerung der Betroffenenzahl als eine der wichtigsten Gesundheitssektorziele des 21. Jahrhunderts.

Statistisch gesehen sind NCDs vor allem in Ländern mit einem geringen Pro-Kopf-Einkommen problematisch, da es hier aufgrund der geringeren finanziellen Möglichkeiten sehr schwierig ist, eine effektive Behandlung und Prävention zu erzielen. Dazu zieht die hohe Zahl an NCDs in weniger entwickelten Ländern die sozialen, ökonomischen und gesundheitlichen Folgen nach sich, was zu einer globalen Wirtschaftlichenstagnation auf längere Sicht führen kann [9, 26, 27]. Das Vorbeugen von NCDs durch eine adäquate Überwachung des Gesundheitszustandes kann somit nicht nur einen einzelnen Patienten hilfreich sein, sondern zugleich als ein neuer Weg, um mit den globalen sozialen und wirtschaftlichen Folgen des demographischen Wandels umzugehen, betrachtet werden.

### **6.3. Personalisierte Diagnostik und Therapie**

#### **6.3.1. Digitalisierte Selbstüberwachung zur Krankheitsprävention und Fitnessüberprüfung**

Personalisierte Medizin umschreibt die Bestimmung aller relevanten biologischen Parameter eines Patienten mit dem Ziel, eine persönlich angepasste Therapie mit spezifisch wirksamen Medikamenten zu erhalten, die eine schnellere und gezielte Behandlung ermöglichen [29-31]. Die hohe Effizienz und das Einsparpotential im Gesundheitswesen bescheren diesem Forschungs- und Entwicklungsgebiet große Aufmerksamkeit [32]. Neben der Behandlung von Erkrankungen sollte der Fokus vor allem auf deren Prävention liegen. Zum Erhalt eines funktionellen Gesundheitssystems ist es wichtig, dass die Mehrheit der Menschen möglichst gesund bleibt, gerade in Bezug auf die Herausforderungen, welche durch den demographischen Wandel und die wachsende Weltbevölkerung entstehen. Hierbei kann die Implementierung neuester Technologien umfassend unterstützen.

Die Digitalisierung der Gesundheitsbranche schreitet voran und berücksichtigt neben der Selbstüberwachung weitere Aspekte. Hierzu zählen patientenzentrierte Lösungen, durch welche Patienten und medizinische Leistungsanbieter patientenspezifische Daten sammeln und verwalten. Zudem kann die Telemedizin unterstützen, gerade außerhalb von Städten durch die Beratung eines Patienten zu Hause, beispielsweise mittels Videokonferenzen. Desweiteren bewirkt die Strukturierung von operationalen Krankenhausprozessen die optimierte

Behandlung von Patienten. Prognosemodelle unterstützen die Erstellung von patientenspezifischen Behandlungspfaden auf Basis deren Gesundheitsdaten aus der ambulanten und stationären Pflege und der sonstigen Erfassung von Gesundheitsdaten. Durch Plattformen zur Aufzeichnung von Medikation und Behandlung eines Patienten ist es zudem möglich, die Pflege zu verbessern. Dies entlastet die Gesundheitssysteme, um den steigenden Anforderungen durch den demografischen Wandel entsprechen zu können.

Persönliche Gesundheitsüberwachung (personal health monitoring, PHM) umschreibt eine Kombination aus verschiedenen Kontrollsystemen zur Messung relevanter physiologischer Parameter, um eine Aussage über den Gesundheitszustand zu treffen. Die Nutzung digitaler Lösungen (eHealth) ist somit nicht ausschließlich professionellen Anwendern wie Ärzten und Pflegeern vorbehalten, sondern dient der Gesundheits- und Fitnessüberwachung im Alltag [33-35].

Aktuelle technologische Entwicklungen mit hochintegrierten Schaltungen, drahtloser Kommunikation oder intelligenten Textilien (Smart Textiles) [36-38] ermöglichen miniaturisierte, leichte und intelligente Sensorstrukturen. Diese erfassen und verarbeiten Vitalparameter und sind miteinander koppelbar, so dass mehr als ein Wert gleichzeitig erfasst werden kann. Drahtlose körpernahe Netzwerke (wireless personal or body area networks, WPANs or WBANs) schaffen die Voraussetzung einer digitalisierten Gesundheitsversorgung und damit verbundenen kostengünstigen, nichtinvasiven, kontinuierlichen und ambulanten Messung in Echtzeit [39-42].

Die Zielgruppe umfasst alle Bevölkerungsschichten und Altersstrukturen, was die Akzeptanz dieser innovativen Technologien fördert und zeitgleich die Gelegenheit dazu bietet, Informationen über den allgemeinen Gesundheitszustand der Menschen zu erhalten. Die Gesundheitsdaten können das Individuum dabei unterstützen, gesünder zu leben und zeitlich die Daten dauerhaft und unter Berücksichtigung relevanter Datenschutzrichtlinien in einer elektronischen Patientenakte aufzuzeichnen. Dies erleichtert eine gezielte Krankheitsbehandlung und ermöglicht die Nutzung des PHMs als Frühwarnsystem. Der Einsatz des digitalen Monitorings als solches z.B. bei Stürzen kann dabei die Pflegeeinsätze unterstützen auf eine effizientere, sicherere und wirtschaftlichere Art arbeiten zu können.

Ein weiteres Einsatzgebiet des PHM liegt zudem in der persönlichen Fitnessüberwachung. Im Rahmen eines WBAN-Systems bietet sich die Gelegenheit den Gesundheitszustand selbstständig aufzuzeichnen und auszuwerten. Somit wird es durch die Anwendung des PHM dem Benutzer ermöglicht die Risikofaktoren einer Krankheitsentstehung von zuhause frühestmöglichst zu entdecken und durch die Anpassung der Alltagsgewohnheiten die Krankheitsentstehung

möglichst zu verhindern. Da heutzutage die Nutzung moderner Medien für den Alltagsbewältigung in allen Bevölkerungsschichten immer mehr an Zuspruch gewinnt, entwickeln sich parallel zum wachsenden Bedarf der Markt von innovativen Technologien und diversen Applikationen für personalisiertes digitales Monitoring. Ein Blick auf die bereitstehenden Anwendungen für diverse Betriebssysteme (wie Android) zeigt, dass bereits viele Applikationen verfügbar sind, um den Gesundheitszustand aufzuzeichnen (mobile (m) Health) [43]. Sama *et al.* haben in einer Untersuchung verfügbarer Applikationen aus dem Bereich "Gesundheit und Wohlbefinden" für das Betriebssystem der Firma Apple (iOS) herausgefunden, dass 44 % der 400 verfügbaren Applikationen für Trainings- und Fitnesszwecke genutzt werden. Davon dienten nahezu dreiviertel der Selbstüberwachung, was die hohe Akzeptanz und ein großes Interesse in Bereich des PHM bestätigt.

### **6.3.2. Ethische, rechtliche und soziale Rahmenbedingungen**

Jedes System, welches an der Mensch-Maschine-Schnittstelle eingesetzt wird, soll eine nutzerorientierte Lösung bieten. PHM hat in diesem Zusammenhang nicht nur die regulatorischen Anforderungen zu erfüllen, welche sich aus den nationalen und internationalen Richt- und Leitlinien ableiten lassen. Die Aufnahme und Überwachung von Gesundheitsdaten muss stets Bedenken des Anwenders berücksichtigen. Dies beinhaltet ethische, rechtliche und soziale Aspekte. Produkte müssen zuverlässig und reproduzierbar die Daten aufzeichnen, eine hohe Nutzerfreundlichkeit besitzen und erschwinglich sein. Die Lebensqualität sollte durch die Anwendung verbessert und nicht eingeschränkt werden, sodass eine Stigmatisierung durch Mitmenschen weitestgehend ausgeschlossen werden kann [44]. Demzufolge sind bei der Entwicklung des PHMs nicht nur die technischen Faktoren wie Unabhängigkeit und Autonomie der Messung, sondern zugleich auch die Prävention vor sozialer Isolation zu berücksichtigen. Des Weiteren spielen moralische Faktoren wie die Privatsphäre und Rechtmäßigkeit der Messmethode eine große Rolle für den Anwender [45].

Ein sehr wichtiger Punkt in diesem Zusammenhang ist die Sicherheit persönlicher Informationen [46-49]. Die beste Lösung liegt möglicherweise in einem gleichsam privaten wie professionellen Gesundheitsdatensystem. Individuell erfasste Vitalparameter des Anwenders können Rückschlüsse auf die Krankheitsursachen geben und Unterstützung bei der Suche nach der optimalen Therapie liefern.

### 6.3.3. Relevante physiologische Vitalparameter

PHM-Systeme messen zur Erfassung des Gesundheitszustandes relevante physiologische Vitalparameter wie Blutdruck, Puls, Blutzucker, Sauerstoffgehalt des Blutes, Körpertemperatur sowie Gewicht, Aktivität und Kalorienaufnahme. Momentan sind diverse Gesundheitserfassungssysteme am Markt verfügbar, welche mit zugehörigen Applikationen und Datensicherungssystemen ganzheitliche Lösungen bieten. Beispiele sind die Microsoft HealthVault [50] oder das T400 Tele Health System (Bosch Healthcare, USA) [51] sowie das von Philips entwickelte Heim-Überwachungs-System [52].

Ein wichtiger Vitalparameter, dem bislang aber zu wenig Aufmerksamkeit in Bezug auf die Diagnose des Gesundheitszustandes zuteil gekommen ist und der meist nur bis dato invasiv überwacht werden kann, ist die Hydratation bzw. der Wasserhaushalt einer Person.

### 6.4. Der menschliche Wasserhaushalt

Für den menschlichen Körper ist eine ausgewogene Hydratation der Schlüssel für einen funktionierenden Stoffwechsel und die Durchführung aller lebensnotwendigen Körperfunktionen – ob in Ruhe, während Alltagaktivitäten oder bei einer körperlicher Hochleistung wie Langstreckenlauf bei Hitze [53]. Wasser dient dem Körper als Grundbaustein, Lösungsmittel, Reaktionsmedium und Reaktanz, transportiert Nährstoffe und übernimmt gleichzeitig den Abtransport metabolischer Abfallprodukte für die spätere Exkretion [54]. Zudem ist es essentiell für die Thermoregulation des Körpers, fungiert als Gleitmittel und absorbiert Stöße [55].

Der Mensch besteht zum Großteil aus Wasser. Das Gesamtkörperwasser (Total Body Water, TBW) macht etwa 60 % des Körpergewichtes aus [56]. Betrachtet man unterschiedliche Kompartimente, so variiert der Anteil von 83 % im Blut oder in der Niere [57] über 72 % in der Haut und 22 % im Knochen bis zu lediglich 10 % in Fettgewebe [58]. Eine unzureichende Wasserversorgung führt zu einem verringerten Wasservolumen im Körper und Blut bis hin zu Durchblutungsstörungen [59]. Das verringerte Blutvolumen resultiert in einer kompensatorisch erhöhten Herzschlagrate und verzögerter Füllzeit des Herzens [60]. Die durch Dehydratation verursachte verringerte Leistungsfähigkeit im Alltag zeigt sich in thermoregulatorischem Stress, Hypovolämie und gleichzeitiger Hyperosmolarität [61-67]. Während es Wochen dauern kann, bis ein Nährstoffmangel bei einer Person auftritt, dehydriert der Körper innerhalb weniger Tage. Der Wasserbedarf und physiologisch-notwendige Wasseranteil im Körper hängt von solchen Faktoren wie Alter, Geschlecht, körperliche Betätigung sowie Umweltbedingungen (wie Umgebungstemperatur) ab. So weisen die ältere und adipöse Menschen sowie Frauen

typischerweise einen geringen Wasseranteil im Körper als erwachsene Männer auf [69]. Auch die Aktivität einer Person beeinflusst den Wasserbedarf: Wasserverluste erfolgen durch die Atemluft, Verdunstung an den Epithelien, sowie durch Ausscheidung mit dem Urin [70]. Trotz der Tatsache, dass gerade bei älteren Personen ein erhöhtes Risiko zur Dehydratation besteht, ist der Wasserhaushalt in dieser Population bislang unzureichend erforscht [71]. Anhand der Beobachtungen bewirkt das verringerte Durstgefühl, dass die Älteren zu wenig Flüssigkeit zu sich nehmen. Zusammen mit einer verringerten Nierentätigkeit [72] kann dies schnell zur Dehydratation führen [73]. Folge dieses gestörten Trinkverhaltens ist außerdem die Dysphagie, die auf die Einnahme von Medikamenten Auswirkungen hat und damit zur Verschlechterung des Allgemeingesundheitszustandes führt.

Erkrankungen, die auf Wassermangel zurückzuführen sind, bilden ein wachsendes Problem und verursachen weltweit jährlich mehr als 5 Millionen Todesfälle [68]. Somit wird deutlich, welche große Rolle das Wasser für die Erhaltung der Gesundheit spielt und wie wichtig es somit ist, den Wasserhaushalt des Körpers als Bestandteil von WBANs in PHM Systemen zu erfassen.

Physiologische Regulationsmechanismen sorgen in einem gesunden Körper für eine konstante Wasserbilanz. Wie in der Tabelle 1 gezeigt wird, erfolgt der maßgebliche Teil der Wasseraufnahme durch die Flüssigkeit und Nahrung und des Wasserverlustes durch die Urinabgabe sowie durch die Atmung und über Schleimhäute.

**Tabelle 1: Übersicht der Wasseraufnahme und -abgabe eines durchschnittlichen Erwachsenen [74]**

Wasseraufnahme		Wasserabgabe	
Volumen [ml]	Art	Volumen [ml]	Art
1000 - 1500	Flüssigkeit	1000 – 1800	Urin
700	Bestandteil fester Nahrung	500 – 800	Perspiratio insensibilis (unwillkürlicher Wasserverlust über Haut und Schleimhäute und die Atmung)
300	Oxidationswasser aus dem Stoffwechsel	100	Perspiratio sensibilis (Schwitzen) und Stuhl

Ist die Flüssigkeitsbilanz unausgeglichen und die Wasseraufnahme geringer als der aktuelle Bedarf, steigt die Osmolarität des Serums. Diese definiert sich als Verteilung von Wassermolekülen zwischen Zellinnen- und Außenraum und wird im Hypothalamus kontinuierlich von Osmorezeptoren registriert und die Konzentration von Natrium- und Chlorid Ionen, Bikarbonat, Glukose und Harnstoff auf physiologische Konzentrationen eingestellt. Letzte wird aus dem Verhältnis der Teilchenzahl osmotisch aktiver Substanzen und der Masse des Lösungsmittels (Wasser) bestimmt. Nimmt die Plasmaosmolarität um 1 - 2 % zu, so reagiert der

Körper mit Durstgefühl. Die Füllung der zentralen Blutgefäße und der Vorhöfe des Herzens wird sensorisch erfasst, bei Volumenmangel führt dies zur zusätzlichen Ausschüttung des Hormons Renin, welches ein verstärktes Durstgefühl zur Folge hat [74]. Intra- und Extrazellularraum unterscheiden sich in ihrem Wasservolumen und der Elektrolytkonzentration.

Unter Betrachtung der Wasserhomöostase muss neben dem aufgenommenen und Gesamtkörperwasser die osmotische Konzentration gelöster Ionen berücksichtigt werden. Die Osmolarität der Körperflüssigkeiten und des Plasmas liegt bei 290 mOsm/l. Entspricht die Osmolarität des Blutes genau 290 mOsm/l, bezeichnet man diesen Zustand als isoton. Im Vergleich dazu nennt man eine niedrigere Osmolarität des Blutes hypoton, eine höhere Osmolarität hypertone. Die Osmolarität bezieht sich auf Extrazellulärbereich, da die Änderungen im intrazellulären Bereich durch osmotische Wasserverschiebungen denen des Extrazellularraum entsprechen. Biomembranen sind semipermeabel und weisen für Wasser eine höhere Permeabilität auf, als für Ionen. Bei einem Anstieg der Konzentration osmotisch wirksamer Teilchen im Extrazellularraum (hypertone Störung) strömt Wasser entlang des osmotischen Druckes aus dem Intrazellularraum heraus. Die Zellen verlieren somit Wasser und schrumpfen. Die umgekehrte Reaktion findet bei einer Abnahme der osmotisch wirksamen Konzentration im Extrazellularraum (hypotone Störung) statt. Das Wasser fließt entlang des osmotischen Drucks vom Extrazellularraum in den Intrazellularraum, um den Konzentrationsgradienten der osmotisch aktiven Teilchen auszugleichen und als Folge schwellen die Zellen wieder an. Unter isotonen Bedingungen bleiben bedeutende Wasserverschiebungen über die Membran aus [74]. Natriumionen stellen den größten Teil der Kationen im Extrazellularraum dar und sind somit ausschlaggebend für die Isotonie des Blutplasmas. Die Konzentration beträgt etwa 145 mmol/l, im Intrazellularraum dagegen nur etwa 12 mmol/l. Unter Verbrauch des molekularen Energieäquivalents Adenosintriphosphat (ATP) wird das Konzentrationsverhältnis zwischen Natrium und Kalium Ionen mithilfe der ubiquitär an Zellmembranen vorkommenden Natrium-Kalium-ATPase aufrechterhalten. Diese pumpt aktiv Kalium Ionen in die Zelle hinein und Natriumionen aus der Zelle hinaus. Der so entstehende Natriumgradient unterstützt u.a. Erregungs- und sekundär aktive Transportprozesse an der Zellmembran. Die Natriumausscheidung erfolgt zu 95 % über die Niere, verbleibendes Natrium wird über den Schweiß und den Stuhl abgegeben [74].

Die Steuerung des Wasser- und Elektrolytehaushalts unterliegt Hormonen, die von der Niere und dem Gehirn ausgeschüttet werden. Die wichtigsten Vertreter sind Aldosteron, antidiuretische Hormone (ADH) und atriales natriuretisches Peptid (ANP), welche Resorptionsvorgänge in der Niere bzw. die Aufkonzentration des Harns regulieren [74]. Bei einer hinreichenden Wasserversorgung werden die Zellen besser mit sauerstoffreichem Blut versorgt,

während bereits eine leichte Dehydratation die Aufmerksamkeit beeinflussen und sich auf das Kurzzeitgedächtnis auswirken kann. Im Metabolismus spielen Wassermoleküle eine entscheidende Rolle, so dass jede Zelle ausreichend mit Wasser versorgt sein muss, um die Körperfunktionen ubiquitär aufrecht zu erhalten. Die Verdauung hängt ebenfalls von einer guten Wasserversorgung ab, da Nährstoffe in das Blut rückresorbiert werden, um Zellen versorgen zu können.

## 6.5. Dehydratation – Ursachen, Folgen und klinische Diagnose

Dehydratation kann viele Ursachen und Folgen haben. Als Exzikkose bzw. chronische Form wird eine mangelnde Flüssigkeitsaufnahme über einen längeren Zeitraum bezeichnet. Da es zu keinem plötzlichen Flüssigkeitsverlust und damit einhergehenden sofortigen Reaktionen des Organismus kommt, ist dieser Typus weniger symptomatisch als ein akuter Flüssigkeitsmangel [75]. Folgen sind vor allem Durst, Oligurie, Veränderungen des zentralen Nervensystems, aber auch erhöhte Osmolarität sowie trockene Schleimhäute. Ein Zeichen von Wassermangel ist die allgemeine Schlaptheit – der dehydrierte Körper verlangsamt die Aktivität enzymatischer Prozesse und die betroffene Person fühlt sich müde [76].

Neben chronischem und akutem Wasserverlust, wie durch Gastroenteritis [87, 88] oder einer verringerten Wasseraufnahme, z.B. bei Stomatitis, ist die Dehydratation oftmals eine krankheitsbedingte Folge. Hierzu zählen zystische Fibrose, Diabetes mellitus und insipidus, Hyperparathyreoidismus oder Harnwegerkrankungen. Des Weiteren können Gewichtsverlust, die Medikation oder starke Verbrennungen Wassermangel hervorrufen. Weitere Beispiele für Krankheiten, sind Anorexia Nervosa oder die Malrotation bzw. Volvulus des Darmes.

Da das Wasser eine zentrale Rolle für den Stoffwechsel spielt, führt der Wassermangel im Körper zu gravierenden Störungen aller Organsysteme: von Verdauungstrakt, Blutkreislauf, Bewegungsapparat bis Immunsystem und das Nervensystem. Die Schweregrade wird anhand der Symptomatik eingestuft und durch Befunde belegt. Klinischen Zeichen für eine Dehydratation sind u.a. eine verzögerte Kapillarfüllzeit, verringerte Hautspannung und eine anormale Atmung (Tabelle 2).

**Tabelle 2: klinische Zeichen der Dehydratation [94]**

Symptom	Milde Dehydratation	Moderate Dehydratation	Schwere Dehydratation
Bewusstsein	Wachsam	lethargisch	stumpfsinnig
Kapillare Füllzeit	2 s	2 – 4 s	> 4 s, kühle Lymphdrüsen

Symptom	Milde Dehydratation	Moderate Dehydratation	Schwere Dehydratation
Schleimhaut	normal	trocken	brüchig, ausgetrocknet
Tränen	normal	weniger	keine
Schlagrate Herz	leicht erhöht	erhöht	stark erhöht
Atemtypus	normal	erhöht	erhöht, Hyperpnoe
Blutdruck	normal	normal, orthostatisch	verringert
Puls	normal	schwieriger zu fühlen	schwach, unfühlbar
Hautspannung	normal	verringert	stark verringert
Fontanelle	normal	leicht eingedrückt	ingesunken
Augen	normal	ingesunken	stark eingesunken
Urinmenge	verringert	Oligurie	Oligurie bis Anurie

Die eine der ersten Folgen der Dehydratation ist die beeinträchtigte Ausscheidung der Abbauprodukte des Stoffwechsels und einhergehende Intoxikation des Körpers. Die Akkumulation der Abbauprodukten des Stoffwechsels im Gewebe basiert dabei auf den Verdauungsstörungen. Durch den Wassermangel wird die Funktionalität des Darmes starkens beeinträchtigt. Diesem Phänomen liegt die Wasserhomöostase im Körper zugrunde. Um den Gleichstand aufrechtzuerhalten und die anderen Körperregionen vor einer zu starken Dehydratation zu schützen, rekrutiert der Körper Wassermoleküle aus dem Darmtrakt. Dabei verlangsamt sich aber die Durchführung des Darminhaltes (Darmperistaltik) bis zur Okklusion [83], was zu schwerwiegendsten Folgen wegen der Intoxikation für den Betroffenen führen kann. Wegen den resultierenden Verdauungsproblemen zusammen mit einem übermäßigen Nahrungskonsum, der oftmals als Folge einer gestörten Interpretation des Durstgefühls auftritt, begünstigt der Wassermangel die Gewichtszunahme [86] und Dysregulation des Metabolismus im Menschen.

Die Intoxikation als Konsequenz eines geringen Wasserniveaus kann zu diversen Immunerkrankungen führen, z.B. das Auftreten von Asthma und Allergien [77]. Da sich in einem dehydrierten Körper Toxine und andere Abbauprodukte des Stoffwechsels akkumulieren, die als perfekter Nährboden für Bakterien, Viren und andere Pathogene genutzt werden können, führt die Dehydratation zu vermehrten Infektionen und Entzündungen im Körper [78, 79]. Aufgrund der eingeschränkten Exozytose von Toxinen wird zudem die Entstehung von Psoriasis, Neurodermitis bis hin zu Melanomen begünstigt [80].

Da das Wasser ein wichtiger Teil von Knochen und Knorpel ist, kann die Unterversorgung sich auf den Bewegungsapparat des Menschen auswirken und unter anderem Gelenkschmerzen

und Steifheit verursachen [84, 85]. Eine weitere Folge sind Hautfalten sowie Hautverfärbungen in jungen Jahren [81, 82].

Dehydratation kann nach der Osmolarität, dem Natrium-Ionen-Gehalt im Serum sowie dem Schweregrad kategorisiert werden. Einen geeigneten Marker stellen Osmolaritätsuntersuchungen von Natriumionen unter Annahme eines normalen Glukosespiegels im Serum dar. Isonatriämie wird zwischen 130 – 150 mOsm/l definiert und bezeichnet den Flüssigkeitsverlust bei gleichbleibender Natriumkonzentration im Blut. Es kommt zu einem gleichmäßigen Salz- und Wasserverlust im Intra- und Extravaskularraum. Der Zustand der Hyponatriämie liegt klinisch gesehen bei einer Osmolarität des Serums von weniger als 130 mOsm/l. Die verlorene Flüssigkeit enthält mehr Natriumionen als Wassermoleküle, die geringe Natriumkonzentration im Serum führt dazu, dass Wasser aus dem Intra- in den Extravaskularraum fließt. Dies führt zu einer intravaskulären Volumendepletion bei gleichzeitigem Verlust an Gesamtkörperwasser [89]. Eine Hypernatriämie liegt bei einer Serum-Osmolarität von mehr als 150 mOsm/l vor. Die verlorene Flüssigkeit enthält weniger Natriumionen als das Serum und es werden weniger Natriumionen als Wassermoleküle abgegeben. Weil die Natriumkonzentration im Serum hoch ist, fließt Wasser aus dem Extra- in den Intravaskularraum, so dass die Volumendepletion in Bezug auf das gesamt verlorene Wasser reduziert wird [90, 91]. In hyper- und hyponatriämischen Zuständen kann es zu neurologischen Komplikationen kommen. Starke Hyponatriämie steht durch die Osmolaritätsschwankungen in Zusammenhang mit dem Auftreten von Schlaganfällen. Ein zu schneller Ersatz fehlender Natriumionen ruft bei chronischer Hyponatriämie von mehr als 2 mOsm/l/h eine zentrale pontine Myelinolyse hervor. Bei Hypernatriämie kann ein zu schneller Ersatz von Wasser ebenfalls schädlich sein. Um im hypernatriämischen einen Ausgleich zu erzielen, generieren Zellen osmotisch aktive Partikel (Aquaporine), die bewirken, dass Wassermoleküle zurück in die Zellen fließen können. Bei einer zu starken Zufuhr fehlenden Wassers kommt es möglicherweise dazu, dass zu schnell zu viel Wasser zurück ins Zelllumen transportiert wird und die Zellen in Folge platzen, was die Bildung zerebraler Ödeme begünstigt und durch eine langsame Rehydrierung über einen Zeitraum von bis zu 48 h minimiert werden kann [92].

Vor allem bei älteren Menschen, die ein verringertes Durstgefühl haben [93], ist es möglich, dass eine Dehydratation zusätzliche Morbidität auslöst oder bereits vorhandene Krankheitssymptome verstärkt. Dies kann bei einer schnellen oralen oder intravenösen Rehydrierung reduziert werden, jedoch bei falscher oder zu später Behandlung das Auftreten von Schlaganfällen, Thrombosen und Nierenschädigung nach sich ziehen.

Anhand validierter klinischer Dehydratationsskalen ist es möglich, die erforderliche orale oder intravenöse Flüssigkeitszufuhr abzuschätzen (Tabelle 3) [94].

**Tabelle 3: Gewichtsabnahme bei verschiedenen Dehydratations-Schweregraden [94]**

Schweregrad	Gewicht < 10 kg	Gewicht > 10 kg
Milde Dehydratation	5 % oder 50 ml/kg	3 % oder 30 ml/kg
Moderate Dehydratation	10 % oder 100 ml/kg	6 % oder 60 ml/kg
Schwere Dehydratation	15 % oder 150 ml/kg	9 % oder 90 ml/kg

Trotz einer stetig wachsenden Nachfrage und Bedarf nach einem geeigneten Labortest zur Überprüfung des Dehydrationszustandes werden bislang stattdessen mehrere einzelne Indikatoren untersucht (siehe Tabelle 2 und Tabelle 3), da es keine etablierte Methode zur Kontrolle und Kategorisierung des Wassermangels in Patienten gibt. Ist die Ätiologie gegeben, sind vor allem bei schwerer Dehydratation verschiedene Befunde zu stellen. Hierzu gehört der Natriumionengehalt des Serums, da Hyper- und Hyponatriämie unterschiedlicher Behandlung bedürfen. Ein zu hoher Kaliumionengehalt weist auf ein adrenogenitales Syndrom hin, zu gering kann eine pylorische Stenose oder Alkalose vorliegen. Eine zu niedrige Chloridkonzentration ist Indiz für Hypochloriämie, Hypokaliämie und metabolische Alkalose. Eine schlechte Gewebezirkulation des Blutes resultiert in Milchsäureproduktion, bei der sich das Bicarbonat-Niveau senkt und zur Ansäuerung des Blutes führt. Des Weiteren ist eine Kontrolle des Blutzuckerspiegels notwendig. Eine Renale Hypoperfusion führt zu erhöhtem Blut-Urea-Stickstoff und Creatinin-Level. Wichtig ist zudem die Analyse des Urins sowie die Elektrolytanalyse jeglicher verlorener Flüssigkeit aus Urin und Stuhl, um die Zusammensetzung des Mediums zur Rehydratation *ad libitum* festlegen zu können.

Zur Unterstützung der Diagnose sowie begleitenden Therapiesubvention können PHM-Systeme neben ihrer privaten Anwendung im klinischen Alltag zum Einsatz kommen. Allerdings ist es bislang nicht möglich, direkte Aussagen über den aktuellen Wasserhaushalt eines Patienten zu treffen, da zur Messung mangels Alternativen die Technologien verwendet werden, die in ihrer Anwendung komplex, stationär oder invasiv sind.

## 6.6. Zielgruppenanalyse

Mit zunehmendem Alter verringert sich der prozentuale Wasseranteil im Körper. Dies führt zu einem erhöhten Risiko für einen Wassermangel mit immer stärker ins Gewicht fallenden Symptomen. Die Dehydratation ist mit erhöhten Todesraten von älteren Menschen assoziiert, die sich stationär im Krankenhaus befinden [95] und als Notfälle bzw. wiederholt in eine Klinik eingeliefert werden müssen [96, 97]. In den Vereinigten Staaten von Amerika (USA) ist die Dehydratation eine der zehn häufigsten Ursachen für eine Hospitalisation älterer Menschen.

Eine in den USA durchgeführte Studie zeigte 1999, dass die vermeidbaren und auf Dehydratation zurückzuführenden Kosten bei über einer Milliarde US Dollar gelegen haben [98].

Laut wissenschaftlichen Untersuchungen verringert sich der durchschnittliche Wassergehalt des Menschen zwischen 20 bis 80 Jahren um etwa 15 % [99]. Dies erhöht die Suszeptibilität für dehydratationsbedingte Krankheitssymptome bereits bei geringen Schwankungen des Wasserhaushaltes [100]. Zudem nimmt das Durstgefühl ab und es wird infolge dessen weniger Wasser aufgenommen [101, 102]. Die Nierenfunktion lässt mit zunehmendem Alter nach, so dass der Urin schlechter konzentriert wird und sich der Wasserverlust erhöht [72]. Weitere Ursachen einer verringerten Wasseraufnahme können eine reduzierte Schluckfunktion, schlechtere Mobilität oder verringerte Kommunikationsfähigkeit sein. Der Verlust von Wasser erhöht sich zusätzlich durch die krankheitsbedingte Faktoren wie Inkontinenz, bei zu hohen Außentemperaturen, unzureichender Fürsorge in Pflegeeinrichtungen oder als Nebenwirkung bestimmter Medikamenten. Eine dauerhafte Überwachung des Wasserhaushaltes mittels Hydratationssensorik würde nicht nur für die beschriebenen Risikogruppen eine präventive Massnahme darstellen, um die Morbidität und Verschlechterung des Gesundheitszustandes zu verhindern, sondern nachhaltig der steigenden Belastung des Gesundheitswesens durch die Reduktion der Kosten für die Hospitalisierung- und Nachbehandlung entgegenwirken [103, 104].

Die Europäische Behörde für Lebensmittelsicherheit hat in einem 2010 veröffentlichten Bericht über Wasserbedürfnisse der Menschen herausarbeiten können, dass der durchschnittliche Erwachsene bei moderatem Klima und physischer Aktivität etwa 20 % seines täglichen Wasserbedarfes über die Nahrungsaufnahme deckt. Dementsprechend ist der verbleibende Wasserbedarf über die Aufnahme von Flüssigkeit zu regulieren, was bei Männern einem Volumen von etwa 2,0 l und bei Frauen etwa 1,6 l entspricht [105]. Vor allem am Arbeitsplatz kann es dazu kommen, dass es vergessen wird, zu trinken. Aus diesem Grund sollte man hier stets Zugang zu Flüssigkeit haben. Zudem wird empfohlen, Flüssigkeit selbst dann aufzunehmen, wenn kein direkter Bedarf in Form von Durst besteht [106]. Das gilt im gleichen Maß für sportliche Aktivität, bei der die Muskeln Wärme produzieren, welche abtransportiert wird, um die Körpertemperatur konstant zu halten. Abhängig von der Intensität und Art der sportlichen Betätigung variiert der Wasserverlust zwischen 0,3 - 2,4 l/h. Ein trainierter männlicher Erwachsener verliert unter warmen Umgebungsbedingungen innerhalb einer Stunde Training beim Schwimmen etwa 0,4 l, beim Fußballspielen 1,5 l, bei Wettkämpfen im Tennis etwa 1,6 l und sogar bis zu 1,8 l Wasser beim Laufsport [107]. Diese Art des übungsassoziierten Flüssigkeitsverlustes führt bei Langstreckenläufern oftmals zum Auftreten von Hyponatriämie. Die durch Schwitzen abgegebene Wassermenge hängt davon ab, wie intensiv und unter welchen Umgebungsbedingungen man einer sportlichen Tätigkeit nachgeht. Ohne Ausgleich dehydriert der

Körper, was die Herzschlagrate und Körpertemperatur ansteigen lässt. Grund hierfür ist die Tatsache, dass sich bei einem schlechten Wasserhaushalt das Plasmavolumen reduziert und infolge dessen das Herz stärker schlagen muss, um dem Körper ausreichend Nährstoffe und Sauerstoff zur Verfügung stellen zu können [107]. Studien des American College of Sports Medicine haben belegt, dass Dehydratation die physiologische Anstrengung erhöht, es dadurch zu einer verminderten Leistungsfähigkeit und schnelleren Übersäuerung der Muskeln kommt [108]. Die Amerikanische Akademie für Pädiatrie rät daher, Wasser zur Aufrechterhaltung eines guten Hydratationszustandes vor, während und nach sportlicher Betätigung zu sich zu nehmen und den Zustand des Durstes nicht erst aufkommen zu lassen [109].

Aufgrund diesen Daten zählen die Personen im fortschreitenden Alter sowie die sportlich-aktiven und berufstätige Menschen zu den Hauptzielgruppen für die Anwendung eines PHMs zur kontinuierlichen Analyse des Hydratationszustandes im Körper.

## 6.7. Technologien zur Überwachung des Hydrationszustandes

Es existieren diverse Möglichkeiten, um Aussagen über den aktuellen Wasserhaushalt einer Person zu erhalten. Die Analyse kann sich auf bestimmte Regionen, Körperteile, den gesamten Körper oder Flüssigkeiten bzw. Atemgase beziehen.

Dabei lassen sich die zur Zeit angewendeten Messmethoden zur Analyse des Gesundheitszustandes mittels nicht-invasiven Techniken grob in zwei Gruppen nach der Detektion und Beurteilung der Rohdaten unterscheiden:

- die Anwendung physikalischer Methoden zur Signalanalyse, wobei das Messergebnis von der Wellenlänge, Detektionssensitivität des Empfängers und den angewendeten Algorithmen abhängig ist. Zu dieser „biophysikalischen“ Gruppe zählen solche Methoden wie: Bioimpedanz-Analyse (BIA), Bioimpedanz-Spektroskopie (BIS), Korneometrie und Sonographie bzw. Ultraschall (siehe unten).
- Und basierend auf der biochemischen Auswertung des Gesundheitszustandes mittels Detektion pathophysiologischer Marker in Atemluft und Körperflüssigkeiten (z.B. Urin, Schweiß). Zu diesen Methoden gehören beispielweise die Deuteriumoxid-Verdünnung Methode (DMM), diagnostische Schnelltests, Natriumbromidlösung und die Quantifizierung des transepidermalen Wasserverlustes (siehe unten).

Die Bioimpedanz-Analyse (BIA) misst die Impedanz des Körpers bei einer definierten Frequenz im Frequenzspektrum zwischen  $f = 50 - 100$  kHz. Hier wird die Impedanz in Abhängigkeit des spezifischen Widerstandes des Körpers auf einen angelegten Wechselstrom analysiert. Dieser

hängt neben weiteren Molekülen vor allem vom Vorkommen von Wasser im Gewebe ab [110, 111]. Eine weitere Methode ist die Bioimpedanz-Spektroskopie (BIS), bei der die Impedanz im Gegensatz zur BIA bei multiplen Frequenzen analysiert wird. Über diese Methode können einzelne Körperregionen wie das Bein bis hin zum gesamten Körper untersucht werden, um eine Aussage über das Impedanzspektrum und damit den Wasserhaushalt der Person zu geben [111]. Nachteil der BIA und BIS basierten Messungen ist die Abhängigkeit des Messergebnisses von den ausgewählten Algorithmen, die für Dateninterpretationen angewendet werden, bei gleichen Rohdaten. Dementsprechend hängt das im Rahmen dieser Messungen entstehende Ergebnis größtenteils von der Evaluationsmethodik ab, was zu starken Abweichungen in Bezug auf das entstehende Ergebnis führen kann [111, 112].

Sonographie bzw. Ultraschall analysiert die Hautstruktur bei einer Frequenz von  $f = 20$  MHz, um so Rückschlüsse auf den Wasserhaushalt zuzulassen. Diese Technologie wird unter anderem für andere diagnostische Zwecke oder als Vorsorgeuntersuchung angewendet, um den Verlauf einer Therapie zu kontrollieren bzw. zu beurteilen. Zudem ist es damit möglich, auch tiefer liegende Gewebe nach ihrem Flüssigkeitsgehalt zu beurteilen, allerdings ohne Aussagekraft in Bezug auf den Wasserhaushalt [113].

Eine etablierte Analysemethode, vor allem im kosmetischen Bereich, ist die Korneometrie. Diese analysiert die Hautfeuchte des *Stratum corneum* innerhalb einer Tiefe von  $30 \mu\text{m}$  [114, 115]. Jedoch ist es durch die geringe Eindringtiefe der elektromagnetischen Wellen nur eingeschränkt möglich, eine zuverlässige Extrapolation der aus einer lokalen Messung erhaltenen Daten auf den gesamten Körper durchzuführen.

Durch die Knochendichtemessung (Dual Energy X-ray Absorptiometry, DEXA) können gleichzeitig verschiedene Bestandteile des Körpers zur Bestimmung des Osteoporosegrades oder der Ernährungsanalyse in Bezug auf das Vorliegen von Adipositas analysiert werden.

Die Aufnahme und Analyse der Atemgase ist eine weit verbreitete Methode, die den Gehalt flüchtiger organischer Verbindungen (beispielsweise aus der Atemluft) auswertet. Die diagnostischen Schnelltestungen finden Anwendung für die Bestimmung des Blutzucker oder -Alkohol Konzentration und als eine nicht-invasive Methode die charakteristischen pathophysiologischen Marker für Lungenerkrankungen wie Asthma zu entdecken [116, 117]. Zudem ermöglicht diese Technologie die Überwachung des Hydratationszustandes, da die Quantifizierung des transepidermalen Wasserverlustes (TEWL) ebenfalls über die Haut erfolgen kann [118, 119]. Trotz der Tatsache, dass diese Methode eine hohe Sensitivität aufweist, muss die Zuverlässigkeit der Messdaten durch regelmäßige Kalibrierung sicher gestellt werden, was oftmals nur durch geschultes Fachpersonal übernommen werden kann [120].

Die Verdünnung einer Natriumbromid Lösung ermöglicht eine allgemeine Einschätzung des extrazellulären Wassergehalts, allerdings mit einer eingeschränkten Präzision [121].

Die Deuteriumoxid-Verdünnung (DMM) ist eine Methode zur Analyse des Gesamtkörperwassers mittels Urin, Plasma oder Speichel, die allerdings für eine dauerhafte Analyse des Wasserhaushaltes ungeeignet ist. Speziell im Hinblick auf die private und mobile Nutzung sowie ein dauerhaftes Monitoring sind keine automatische Probenentnahmen möglich [122, 123].

Eine weitere Option zur Bestimmung des Hydratationszustandes eines Patienten ist die Hydrodensitometrie. Hier wird die Wasserverdrängung eines Patienten bestimmt, was jedoch nur stationär und nicht in einer mobilen Umgebung möglich ist. Aus diesem Grund ist diese Technologie für eine dauerhafte Überwachung des Wasserhaushaltes zur Prävention einer Dehydratation ungeeignet [124, 125].

Alle erwähnten Technologien zeigen Limitationen im Hinblick auf die Anwendung im privaten Sektor für ein dauerhaftes Überwachen des Wasserhaushaltes. Dies liegt in erster Linie an einer teilweise bzw. völlig eingeschränkten Mobilität des Messgerätes.

Ein weiterer Grund, welcher für die Nutzung eines Gerätes ausschlaggebend ist, liegt in Nutzer- und Bedienfreundlichkeit. Ein Gerät, welches nur nach ausgiebigen Schulungsmaßnahmen und unter einem entsprechenden professionellen Vorwissen bedient werden kann, ist nicht für eine private Nutzung geeignet. Zudem können Methoden, welche wie z.B. BIS eine Analyse durch ein Spektrum elektromagnetischer Wellen ermöglichen, nur schwerlich so stark miniaturisiert werden, dass man sie in ein mobiles System zur dauerhaften Gesundheitsüberwachung integrieren kann. Die BIA ist eine Methode, welche aufgrund ihrer guten Schaltungsintegrierbarkeit in ein Chipdesign implementiert werden kann. Allerdings variieren die Ergebnisse aufgrund unterschiedlicher Algorithmen.

Im Rahmen des Vergleiches zwischen verschiedenen Technologien wurden Abweichungen in Bezug auf die Robustheit der Datenaufnahme belegt. Dies konnte bereits innerhalb einer Studie bestätigt werden, in der die Bioimpedanzanalyse und die Deuteriumoxid-Verdünnungsmethode verglichen wurden. Messungen mit adipösen Patienten zeigten signifikante Unterschiede und demonstrierten damit die Limitierung, geringe Veränderungen des Gesamtkörperwassers zu erfassen [126, 127]. Ein vergleichbares Problem wurde bei der Wasserhaushaltsüberwachung von Athleten festgestellt, bei der die Bioimpedanzanalyse mit DEXA verglichen werden sollte [128]. Neben der erwähnten Abhängigkeit von Algorithmen bei der Datenauswertung liegt ein weiteres Problem bei der Verwendung von BIA in der eingeschränkten Gültigkeit der einer Analyse zugrundeliegenden Gleichungen über verschiedene Altersgruppen und Ethnizitäten hinweg [129].

Einzelbewertung und Vergleich verfügbarer Methoden zur Analyse des Wasserhaushaltes zeigen, dass viele der genannten Technologien wegen ihren Mobilitäts- und Nutzungseinschränkungen sowie der Datenrobustheit ungeeignet sind, um als Teil eines PHM Systems zur Erfassung des Wasserhaushaltes verwendet werden zu können. Zudem ist es unzureichend, komplexe Vitalparameter bzw. den Gesundheitszustand als Ganzes mit nur einer Technologie zu erfassen. Aufgrund der mannigfaltigen Ursachen und individuellen Therapieanforderungen sind entsprechend zuverlässige und aussagekräftige Diagnosen erforderlich. Diese können zumeist nicht durch einzelne Technologien adressiert werden, was aufgrund der vielen Einflussfaktoren, hoher Komplexität der Daten und aktuellem technischem Stand ebenso auf die Überwachung des Wasserhaushaltes zutrifft.

Eine neuartige Methode, welche sich möglicherweise dazu einsetzen lassen kann, Gewebewasser und weiteren Komponenten zu analysieren, liegt in der Mikrowellentechnologie [130-133]. Diese kann nicht nur kontinuierliche und nichtinvasive Anregungen von Wassermolekülen bewirken, sondern möglicherweise zur Analyse des Wasserhaushaltes und weiterer Vitalparameter wie der Glukosekonzentration genutzt werden.

Mikrowellen sind elektromagnetische Wellen einer Frequenz zwischen  $f = 1 - 300$  GHz. In diesem Frequenzbereich werden Wassermoleküle abhängig von der Frequenz in Rotations- und Vibrationschwingungen versetzt. Über die konzentrationsabhängige Abschwächung der Mikrowellen kann eine Aussage über den Anteil an Wassermolekülen getroffen werden, was die Technologie in Bezug auf die Analyse und Überwachung des Wasserhaushaltes am Menschen vielversprechend macht.

## **6.8. Entwicklung und Funktionsprüfung eines auf elektromagnetischen Wellen basierenden Dehydratations-Frühwarnsystems**

Elektromagnetische (EM) Wellen bestehen aus elektrischen und magnetischen Feldern. Die zeitliche Änderung des elektrischen Feldes hängt mit der räumlichen Änderung des Magnetfeldes zusammen und umgekehrt. Neben Radiowellen, Wärmestrahlung oder Gammastrahlung zählen Mikrowellen zu dieser Wellenkategorie. Bei der Wechselwirkung von EM Strahlung mit Materie wirken Photonen und Quanten des Feldes auf Moleküle, so dass die EM Wellenwirkung einem Teilchen entspricht. Die Wechselwirkung dieser Wellen mit Materie hängt stark von der Frequenz und Leistung ab, mit der sie auf Moleküle treffen. Beim Aufeinandertreffen von EM Wellen mit Molekülen werden diese durch Polarisierungseffekte

beeinflusst. Infolge dessen kommt es zur Brechung, Streuung, Absorption, Reflektion und Transmission der Welle in Abhängigkeit von Molekülen [134].

Aufgrund von substanzspezifischen Interaktionen von elektromagnetischen Wellen und einer Probe ist es möglich, deren relativen Wassergehalt nichtinvasiv zu bestimmen [130, 133]. Die Interaktion von Mikrowellen mit Wassermolekülen in Geweben verursacht lokale Molekülbewegungen. Währenddessen wird die emittierte Energie teilweise vom Gewebe absorbiert und die aufgenommene Energie in thermischer und nichtthermischer Art umgewandelt. Sind diese Wirkungen zu stark, kann dies bei der Anwendung am Nutzer physiologische Gefährdungen hervorrufen. Aus diesem Grund ist bereits während des Entwicklungsprozesses dafür Sorge zu tragen, dass die durch elektromagnetische Felder hervorgerufenen Wirkungen bedenkenlos sind. Gesetzlich ist die maximal zu applizierende Leistung von hochfrequenter EM Strahlung durch die internationale Strahlenschutzkommission sowie die Richtlinie DIN EN 60601 für die elektromagnetische Verträglichkeit von Medizinprodukten reguliert [135, 136].

Die bei der Anwendung am Nutzer zu verwendende Frequenz kann durch den medizinischen Einsatz der elektromagnetischen Wellen aufgrund von Festlegungen der internationalen Fernmeldeunion nicht frei gewählt werden. In Industrie, Wissenschaft und Medizin sind definierte Frequenzbereiche, so genannte ISM-Bänder, verfügbar, innerhalb derer die Hochfrequenz-Anwendungen ablaufen müssen. Dies und die Zweckbestimmung des Dehydratations-Frühwarnsystems als Teil von WBANs für PHM-Zwecke reduziert die Freiheitsgrade bei der Entwicklung eines auf Mikrowellen basierenden Sensormesssystems und definiert zeitgleich die Dimension der Antenne, welche zum Aussenden und Empfangen der Mikrowellen verwendet werden kann.

Die Entwicklung eines Dehydratations-Frühwarnsystems zur Anwendung am Menschen erfordert eine vorherige Validierung und Funktionsüberprüfung. Bei der Etablierung neuer Messmethoden sollen nicht nur technische Charakteristiken des Gerätes sondern auch die physiologische Aufbau des Anwendungsgebietes bedacht werden. So ist die native Haut komplex, und sowohl die Struktur (inklusive des Anteils an Strukturkomponenten und Gewebesteifigkeit) als auch die Dicke variieren individuell stark [137]. Die statistisch aussagekräftige Charakterisierung einer neuen Technologie und deren Kalibrierung mit nativer Haut erfordert aus diesem Grund mehrere zeitaufwändige Überprüfungen und Analysen [111]. Dementsprechend ist ein Schlüsselkriterium für die Entwicklung einer innovativen Sensortechnologie die Überprüfung an standardisierten Testmodellen mit einem definierten Wassergehalt. Die Untersuchung der beschriebenen Effekte an Grenzflächen kann mit

konventionellen Modellsystemen wie Wasserphantomen erfolgen. Da die Phantome jedoch nur annäherungsweise die *In-vivo*-Situation widerspiegeln können, sind biophysiological Modellsysteme vorzuziehen. Auf Grund des etablierten Einsatzes der Hautmodelle für die Wundheilung, Grundlagenforschung und Wirkstofftestung erweisen sich diese biophysiological Modellsysteme als eine geeignete Basis, die Funktionalität neuartiger Technologien zu erforschen. Als Alternative zu nativer Haut bieten die *in vitro* dreidimensionalen (3D) Hautmodelle zudem eine geeignete Testplattform, um definierten Gewebecharakteristiken nachzubilden – von rekonstruierten epidermalen bis hin zu Vollhaut-Modellen [138]. Somit stellen sie eine standardisierte Testplattform unter physiologienahen Bedingungen dar [139] und werden bereits im Rahmen der Richtlinie TG 439 der Organisation für wirtschaftliche Zusammenarbeit und Entwicklung (OECD) für Wirkstofftestungen eingesetzt [140]. Im Gegensatz zu *In-vivo*- oder *Ex-vivo*-Hautproben, erlauben es die Hautmodelle, den Einfluss einzelner Hautschichten zu untersuchen um zugrundeliegende Mechanismen der Interaktion elektromagnetischer Wellen mit Gewebe umfassend analysieren zu können.

## **6.9. Zulassung von Produkten zur Gesundheitsüberwachung**

### **6.9.1. Zulassungsverfahren**

#### **6.9.1.1. Regulatorische Rahmenbedingungen in Europa**

Das europäische Rechtssystem definiert im Bereich der Medizintechnik durch Staatsverträge im Zusammenspiel mit Empfehlungen, Stellungnahmen, Rechtsverordnungen, Direktiven und Entscheidungen die regulatorischen Rahmenbedingungen. Diese sind legal bindend für alle Mitgliedsländer und müssen als Mindestanforderung in nationales Recht umgesetzt werden. Das europäische Zulassungssystem für Medizinprodukte wird von zwei Prinzipien definiert: das neue Konzept und das globale Konzept.

Das neue Konzept (New Approach) hat zur Aufgabe, im Rahmen von europaweit harmonisierten Direktiven einen schnellen Marktzugang für die innovativen Produkte zu erlauben.

Das globale Konzept (Global Approach) bildet das regulatorische Gerüst für das Konformitätsbewertungsverfahren gemäß der harmonisierten Direktiven. Dessen Aufgabe ist die gegenseitige Anerkennung einer einmal durchgeführten Konformitätsbewertung.

Dabei bildet das neue Konzept die Basis für über 20 Richtlinien der europäischen Gemeinschaft (EG), welche seit 1987 in Kraft getreten sind. Diese beschreiben die Einzelheiten der Konformitätsbewertungs- bzw. Zulassungsverfahren nach der Eingruppierung des Produktes in

eine Risikoklasse. Am Ende des Verfahrens wird das Produkt mit einem CE-Zeichen versehen, welches die Distribution im europäischen Binnenmarkt ermöglicht [141].

#### 6.9.1.2. Medizinproduktegesetz

Das Medizinproduktegesetz (MPG) stellt das national gültige Gesetz für das Inverkehrbringen von Medizinprodukten dar. Nach § 1 ist der Zweck dieses Gesetzes, den Verkehr mit Medizinprodukten zu regeln und dadurch Sicherheit, Eignung und Leistung der Medizinprodukten sowie die Gesundheit und den erforderlichen Schutz der Patienten, Anwender und Dritter zu gewährleisten. Dieser Grundsatz wird durch entsprechende Verbotsklauseln im § 4 MPG weiter untermauert [142]. Im § 3 (1) MPG sind Medizinprodukte definiert als „alle einzeln oder miteinander verbunden verwendeten Instrumente, Apparate, Vorrichtungen, Software, Stoffe und Zubereitungen aus Stoffen oder andere Gegenstände einschließlich der vom Hersteller speziell zur Anwendung für diagnostische oder therapeutische Zwecke bestimmen und für einwandfreies Funktionieren des Medizinproduktes eingesetzten Software, die vom Hersteller zur Anwendung für Menschen mittels Ihrer Funktionen zum Zwecke

- a) der Erkennung, Verhütung, Überwachung, Behandlung oder Linderung von Krankheiten,
- b) der Erkennung, Überwachung, Behandlung, Linderung oder Kompensierung von Verletzungen oder Behinderungen,
- c) der Untersuchung, der Ersetzung oder der Veränderung des anatomischen Aufbaus oder eines physiologischen Vorgangs oder
- d) der Empfängnisregelung zu dienen bestimmt sind und deren bestimmungsgemäße Hauptwirkung im oder am menschlichen Körper weder durch pharmakologische oder immunologisch wirkende Mittel noch durch Metabolismus erreicht wird, deren Wirkungsweise aber durch solche Mittel unterstützt werden kann.“ [142]

Weiter heißt es in Absatz 2 des MPG, dass darunter ebenfalls Produkte zählen, welche Wirkstoffe enthalten, die einzeln als Arzneimittel im Sinne des § 2 Abs. 1 des Arzneimittelgesetzes angesehen werden können und eine Funktionsergänzung des Medizinproduktes darstellen, wie z.B. wirkstoffbeschichtete Stents zur Behebung von Gefäßverengungen [142]. Die Zuordnung als Medizinprodukt wird grundlegend von der vom Hersteller beabsichtigten Zweckbestimmung eines Produktes bestimmt. Der Hersteller hat die Pflicht, ein Produkt einer exakten Prüfung in Bezug auf den zukünftigen Anwendungsbereich zu unterziehen. So kann z.B. von einem Sportler eine elektronische Waage in Kombination mit einem Blutdruckmessgerät zur Messung des Körpergewichts und der Überwachung des

Blutdrucks eingesetzt werden, ohne dass es sich nach den Vorgaben des MPG um Medizinprodukte handelt. Falls die Anwendung vom Hersteller ausschließlich für nicht-diagnostische und nicht-therapeutische Zwecke bestimmt ist, kann von einer Identifizierung als Medizinprodukt abgesehen werden. Sind diese Produkte für diagnostische und therapeutische Zwecke bestimmt, wie beispielsweise in der Anwendung durch medizinisches Fachpersonal in einem Pflegeheim, gilt das MPG.

Des Weiteren regelt das MPG neben den Begriffsbestimmungen die Umsetzung der EU-Vorgaben hinsichtlich des Inverkehrbringens, der Inbetriebnahme, medizinischen und technischen Anforderungen sowie der Anforderungen an den Nachweis der vom Hersteller angegebenen Zwecksbestimmung. Hier sind insbesondere Nachweise von Sicherheit, Eignung und Leistung des Medizinprodukts sowie des Schutzes der Patienten und der Anwender die unerlässlichen Bestandteile des Entwicklungsprozesses. Dies muss der Hersteller gemäß des § 6 MPG für sein Medizinprodukt in einem Konformitätsbewertungsverfahren darlegen, um die Erfüllung der „Grundlegenden Anforderungen“ an Qualität, Sicherheit und Unbedenklichkeit nachzuweisen [142]. Neben der klinischen Bewertung, einem Risikomanagement sowie einem nachweisbaren Qualitätsmanagement sieht ein Konformitätsbewertungsverfahren grundsätzlich die Anfertigung einer technischen Dokumentation vor. Deren Umfang hängt von der Risikoklasse des Medizinprodukts ab. Neben den Angaben aus dem MPG sind ggf. weitere nationale Regelungen mitgeltend, darunter Medizinprodukte Verordnung (MPV), Verordnung über klinische Prüfungen von Medizinprodukten (MPKPV), Medizinprodukte-Betreiberverordnung (MPBetreibV), Medizinprodukte-Sicherheitsplanverordnung (MPSV), DIMDI-Verordnung (DIMDIV), Medizinprodukte-Vertriebswegeverordnung (MPVertrV), Medizinprodukte-Verschreibungspflichtverordnung (MPVerschrV), Medizinprodukte-Gebührenverordnung (MPGebV-MPG) [141, 142].

#### 6.9.1.3. Europäische Richtlinien

Für die spätere Zulassung und Vermarktung eines Produktes in der EU muss der Hersteller in diesem Zusammenhang sicherstellen, dass das Produkt entsprechend der Richtlinien der europäischen Wirtschaftsgemeinschaft (EWG) bzw. europäischen Gemeinschaft (EG) gemäß Artikel 1 der Richtlinie 93/42/EWG (Medical Device Directive – MDD) in den Bereich der Medizinprodukte fällt. Weiter ist entscheidend, dass eine Ausschließbarkeit der Kriterien für aktive implantierbare medizinische Geräte (Richtlinie 90/385/EWG) oder *In-vitro*-Diagnostika (Richtlinie 98/79/EG) vorliegt [141]. Die Klassifizierung ist nach den Klassifizierungsregeln des Anhangs IX der Richtlinie 93/42/EWG zu vollziehen.

Die Klasse I Produkte besitzen dabei ein geringes Risikopotenzial, das sind Produkte wie z.B. Mundspatel, Gehhilfe, Kühlakku, Fieberthermometer (Risikoklasse I mit Messfunktion) und Verbandmaterial (Risikoklasse I für sterile Produkte).

Die Klasse IIa Produkte haben ein mittleres Risikopotential. Darunter fallen unter anderem Ultraschallgeräte, Zahnfüllstoffe, Röntgenfilme.

Die Klasse IIb Produkte verfügen über ein erhöhtes Risikopotential, zu diesen Produkten zählen beispielweise die Röntgengeräte, Zahnimplantate, Überwachungsmonitore, externe Defibrillatoren.

In die Kategorie III fallen Produkte mit einem hohen Risiko, wie Hüftimplantate, Herzklappen, Produkte mit unterstützenden Arzneimitteln, Herz-Lungen-Maschinen.

Die Zuteilung der Medizinprodukte zu einzelnen Risikoklassen beinhaltet neben den Kriterien invasiv/nichtinvasiv und aktiv/passiv zudem weitere Merkmale wie die Dauer der Anwendung und für Risikogruppe III spielt bei der Beurteilung auch der Anwendungsort im menschlichen Organismus eine Rolle.

Hinzu kommen im Rahmen der MDD Sonderverfahren, die unabhängig von Ihrer Klassifizierung erfolgen. Darunter fallen Sonderanfertigungen, sowie Medizinprodukte für die klinische Bewertung.

Im Falle der Klassifizierungsvorgaben der MDD ergeben sich für den Hersteller je nach Risikoklasse des Produktes entsprechende Anforderungen an den weiteren Verlauf des Zulassungsverfahrens. Hier gelten, neben Medizinprodukten für klinische Bewertungen, nur für Medizinprodukte der Klasse I vereinfachte Verfahrensanforderungen. In dieser Klasse genügt die Erklärung, dass die Herstellung entsprechend den Regeln der EU erfolgte (Konformitätserklärung). Bei Produkten der weiteren Risikogruppen kann der Hersteller, je nach Klasse, zwischen einer partiellen oder einer umfassenden Eingliederung eines Qualitätssicherungssystems wählen. Nach der Festlegung des Verfahrens beginnt zeitgleich mit der Entwicklung des Produkts die Erstellung der technischen Dokumentation, welche für das Konformitätsbewertungsverfahren benötigt wird. Alle Direktiven legen fest, dass der Hersteller im Konformitätsbewertungsverfahren eine klinische Bewertung für sein Produkt durchlaufen muss [143].

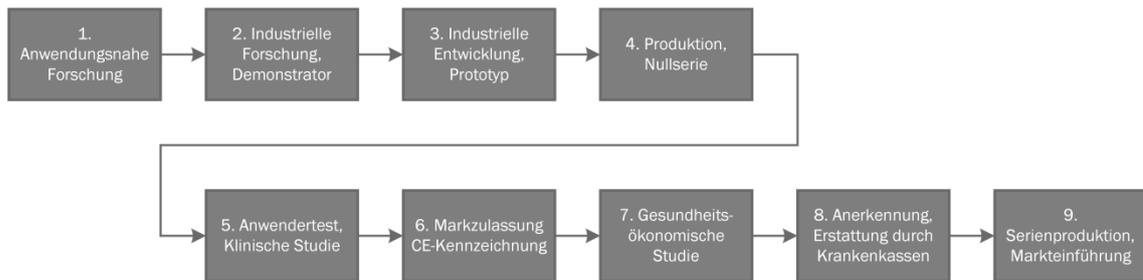
Im Konformitätsbewertungsverfahren werden unterschiedliche beteiligte Stellen adressiert. Die Einbindung einer Benannten Stelle ist eine Konsequenz aus einer risikobasierten Klassifizierung eines Produktes. Benannte Stellen sind staatlich akkreditiert und überprüfen die Konformitätsbewertung des Herstellungsprozesses im Auftrag eines Herstellers, um die

Konformität mit den Normen und Richtlinien zu bescheinigen. Die Stellenwahl des Herstellers ist in der Europäischen Union frei. Die Auswahl erfolgt unter Berücksichtigung von Faktoren wie Anerkennung und Kombination von Zertifikaten, Bekanntheitsgrad in Marktländern außerhalb der Europäischen Union, Fachkompetenz für das entsprechende Produkt, Erreichbarkeit, Verfügbarkeit und durchschnittliche Durchlaufzeiten bei Produktprüfungen [144]. Die Europäische Kommission hat dabei die Informationsaufbereitung und Etablierung themenspezifischer Arbeitsgruppen sowie die Einhaltung der vergleichbaren Auslegung der Interpretation von Gesetzen zur Aufgabe und ist seit dem 1. Mai 2011 dazu verpflichtet, die Europäische Datenbank für Medizinprodukte (Eudamed) zu nutzen. Diese zentralisiert Daten der Richtlinien 90/385/EWG, 93/42/EWG und 98/79/EG, was durch die Zugriffsmöglichkeit der Behörden auf diese Informationen die Marktüberwachung nachhaltig verbessert. Eine weitere Harmonisierung wird künftig durch die 2017 in Kraft getretene Medical Device Regulation (MDR) erzielt, welche sich bis zum Jahr 2020 in der Anwendungsphase befindet und bis dahin durch alle beteiligten Parteien umgesetzt werden muss.

#### 6.9.1.4. Innovationshürden bei der Zulassung

In einer im Jahr 2008 durch das Bundesministerium für Bildung und Forschung veröffentlichten Studie wurden wesentliche Entwicklungsstufen im Zulassungsprozess- von der Entwicklung bis hin zum Produkt- systematisch kategorisiert [145].

Die Darstellung verdeutlicht 9 Phasen im Wertschöpfungsprozess eines Medizinproduktes (siehe Abbildung 3). Anwendungsnahe Forschung überprüft die prinzipielle Machbarkeit einer Technologie in Phase 1. Im nächsten Schritt werden die Forschungsarbeiten mit unmittelbarem industriellem Bezug zum späteren Produkt durchgeführt. In Phase 3 entsteht ein validierter Prototyp der Technologie. In Phase 4 werden Muster für Funktionstestungen erstellt. In der Phase, welche Anwendertestungen umfasst, wird die medizinisch-klinische Eignung des Systems überprüft. Phase 6 befasst sich mit der Marktzulassung und beinhaltet die CE-Kennzeichnung. Im Rahmen einer gesundheitsökonomischen Studie in Phase 7 wird die Anerkennung des Systems durch die gesetzlichen Krankenkassen begutachtet, die Umsetzung erfolgt in Phase 8. Sind diese Phasen abgeschlossen, kommt es zur Serienproduktion (Abbildung 3).



**Abbildung 3: Phasen im medizintechnischen Wertschöpfungsprozess [145].** Anwendungsnahe Forschung führt zur Entwicklung eines technischen Demonstrators, welcher in einen Prototyp umgesetzt wird. Nach Produktion der Nullserie kommt es zur Validierung einer Technologie im Rahmen eines Anwendertests, es werden zulassungsrelevante Unterlagen für die Marktzulassung ausgearbeitet. Anschließend wird die Unterstützung durch gesetzliche Krankenkassen evaluiert und die Markteinführung gestartet.

## 6.10. Zielsetzung der Arbeit

Die Inhalte dieser Arbeit bilden Phasen des medizin-technischen Wertschöpfungsprozesses ab. Zunächst wird das neuartige wissenschaftlich-technische Konzept der mikrowellenbasierten Hydratationsmessung auf die prinzipielle Machbarkeit der Technologie mittels biophysiologicaler Systeme *in vitro* überprüft. Zu diesem Zweck wird die Machbarkeit mit einer selbstkonstruierten und -gefertigten Patch-Antenne an 3D Hautmodellen unterschiedlicher Komplexität als standardisierte Testplattform in einer Konzeptüberprüfungsstudie (proof-of-concept, POC) evaluiert.

Der zweite Teil der Arbeit umfasst Forschungsarbeiten mit einem technischen Demonstrator in Bezug auf das spätere Produkt. Nach der Validierung des Mess- und Testsystems auf seine Eignung wird eine zweite Antenne *in vitro* überprüft, welche die Mikrowellen anwendungsnah am ISM Band bei  $f = 2,5$  GHz aussendet.

Der dritte Teil der Arbeit umfasst die Vorbereitung der Anwendertestungen durch die Beantragung einer klinischen Prüfung sowie die Durchführung von Vorversuchen zu den Probandentestungen.

Im letzten Teil der Dissertation werden zulassungsrelevante Dokumente erstellt, welche unter anderem bei der Beantragung der Anwendertestungen Einsatz finden, so dass diese Arbeit Grundlagen dafür legt, das Dehydratations-Frühwarnsystem als Medizinprodukt zuzulassen.

## 7. Material

Tabelle 4 zeigt die verwendeten Zellen. Primäre Zellen wurden von Vorhautbiopsien junger Spender zwischen einem und drei Jahren unter Gültigkeit des Votum 182/10 der Ethikkommission der Julius-Maximilians-Universität Würzburg entnommen. Die Einverständniserklärung zur Verwendung der Biopsien wurde im Namen der Kinder von den nächsten Angehörigen oder Fürsorgern gegeben.

**Tabelle 4: Zellen/Gewebe**

Testmaterial	Zelltyp	Bezogen von	Herkunft, Sonstiges
Primäre Zellen	Humane dermale Fibroblasten (hDF)	Biopsie aus Isolation vom 08.04.2014	Biopsie aus juveniler Haut (Präputium)
	Humane epidermale Keratinozyten (hEK)	Biopsien vom Fraunhofer Institut für Grenzflächen und Bioverfahrenstechnik IGB, Stuttgart 14_001-C1_35 14_008-C1_05 14_010-C1_01	Biopsie aus juveniler Haut (Präputium)

Falls nicht anderweitig gekennzeichnet, stammen sämtliche Zellkulturmedien und Puffer der Firma Life Technologies GmbH, Darmstadt.

Zur Kultivierung humaner dermaler Fibroblasten (hDF) wurden die Zellen mit Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) und 10 % fötalem Kälberserum (FCS) und 1 % Penicillin/Streptomycin (P/S) versetzt. Die Kultivierung von humanen epidermalen Keratinozyten (hEK) erfolgte mit EpiLife® Medium, welchem epidermale Wachstumsfaktoren und 1 % P/S zugesetzt wurden.

Tabelle 5 zeigt die Zusammensetzung der in dieser Arbeit verwendeten Puffer und Lösungen.

**Tabelle 5: Zusammensetzung der verwendeten Puffer und Lösungen**

Puffer / Lösung	Zusammensetzung	Konzentration
Differenzierungslösung (HCl/EtOH)	HCl 1 M in Ethanol 50 % (v/v)	6.85 % (v/v)
Dispase-Lösung (2 U/ml)	Dispase gelöst in PBS	2 U/ml
Eosin-Lösung	Eosin gelöst in VE-Wasser	10 mg/ml
Ethanol/Aceton 1:2	Ethanol, 96 %	50 % (v/v)

Puffer / Lösung	Zusammensetzung	Konzentration
	Aceton	50 % (v/v)
Hämalaun	Hämatoxylin Natriumjodat Aluminiumkaliumsulfat-Dodecanhydrat Chloralhydrat Zitronensäure gelöst in VE-Wasser Verwendung nach 4-wöchiger Reifung	1,2 g/l 0,2 g/l 20 g/l 20 g/l 1 g/l
Kollagenase-Lösung (500 U/ml)	Kollagenase gelöst in DMEM	500 U/ml
PBS <sup>-</sup>	PBS <sup>-</sup> -Tabletten (5 g) NaCl PO <sub>4</sub> KCl pH 7.2 gelöst in Reinstwasser	140 mM 10 mM 3 mM pro Tablette 500 ml
PBS <sup>-</sup> /EDTA	Na <sub>2</sub> EDTA-Salz x 2 H <sub>2</sub> O pH 7,2 gelöst in PBS <sup>-</sup>	0,54 mM
PBS <sup>+</sup>	MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O CaCl <sub>2</sub> 10 PBS <sup>-</sup> -Tabletten (5 g) pH 7,2 gelöst in Reinstwasser	0,5 mM 0,5 mM 0,9 mM
PFA (4%)	Paraformaldehyd gelöst in PBS <sup>-</sup> bei 60 °C pH 7,4	40 g/l
Trypsinlösung (1x)*	Trypsin/EDTA-Stammlösung (0,5 % (10x)) 1:10 verdünnt mit PBS <sup>-</sup> /EDTA	0,05 %

Die in dieser Arbeit verwendeten Geräte sind in Tabelle 6 aufgelistet.

**Tabelle 6: Verwendete Geräte**

Gerät	Hersteller
Autoklav	
Tecnoclav	Biomedis, Gießen (D)
Tischautoklav	Systemec, Wettenberg (D)
Varioklav	H+P, Hackermoos (D)
Begasungsbrutschrank	Heraeus, Hanau (D)

Gerät	Hersteller
Digitalkamera EOS 1200D	Canon, Krefeld (D)
Einbettautomat	Thermo Fisher Scientific, Dreieich (D)
Einhängethermostat für Wasserbad	Lauda, Lauda-Königshofen (D)
Eismaschine AF-80	Scotsman, Mailand (I)
Eppendorfpipetten (0,5 – 10 µl/ 10 – 100 µl/ 100 – 1000 µl)	Eppendorf, Hamburg (D)
Gefrierschrank -20 °C -80 °C	Liebherr, Biberach a.d. Riss (D) Kendro, München (D)
Gefriertrocknungsautomat Christ Alpha 1-2 LD	Martin Christ Gefriertrocknungsanlagen GmbH, Osterode am Harz (D)
Handzähler	neoLab, Heidelberg (D)
Haut-Analyse-Stift SC-02A	scala electronic gmbh, Stahnsdorf (D)
Heißluftsterilisator	Memmert, Schwabach (D)
Heizblock CH-100	Biosan, Latvia (LV)
Infrarot Thermometer (FTD)	Medisana AG, Neuss (D)
Inkubationsschüttler Multitron Standard	Infors HT, Einsbach (D)
Körperfettwaage	Easy Home, Isingen (D)
Kühlplatte	Leica Biosystems, Wetzlar (D)
Kühlraum	Genheimer, Höchberg (D)
Kühlschrank FKS 5000	Liebherr-Hausgeräte, Biberach an der Riß (D)
Kurzzeitmesser	Carl Roth GmbH, Karlsruhe (D)
Laborabzug	Prutcher Laboratory Systems, Neudörfel (A)
Magnetrührer mit Heizung Typ 720-HPS	VWR, Darmstadt (D)
Microplate Reader Tecan Sunrise	Tecan, Crailsheim (D)
Mikroskop Axiovert 40C AxioVision Observer.D1	Zeiss, Göttingen (D) Zeiss, Göttingen (D)
Multipipette Plus	Eppendorf, Hamburg (D)
Netzgerät Power Supply EV 202 Power Supply EV 243	Peqlab Biotechnologie, Erlangen (D) Peqlab Biotechnologie, Erlangen (D)
Netzwerkanalysator Fieldfox N9918A (NWA)	Agilent Technologies, Santa Clara (USA)
Paraffinausgießstation	Leica Biosystems, Wetzlar (D)
Paraffinstreckbad, Typ 1052	Medax, Kiel (D)
pH-Meter	Mettler Toledo, Giessen (D)
Pipettenstopfmaschine	BellCo Glass Dunn, Asbach (D)

Gerät	Hersteller
Pipettierhilfe Pipetboy	Brand, Wertheim (D)
Reinstwasseranlage	Millipore, Schwalbach (D)
Rollenmischer	Hartenstein, Würzburg (D)
Schlittenmikrotom	Leica Biosystems, Wetzlar (D)
Semi-Dry Elektroblotter PerfectBlue	Peqlab Biotechnologie, Erlangen (D)
Septophag	Hesse, Emmerich (D)
Sicherheitswerkbank Safe 2020	Thermo Fisher Scientific, Dreieich (D)
Spülmaschine	Miele, Gütersloh (D)
Technischer Demonstrator für Testungen	Lehrstuhl für technische Elektronik, Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg, Erlangen (D)
Trockenschrank	Memmert, Schwabach (D)
Vortex Schüttler Genie 2	Carl Roth GmbH, Karlsruhe (D)
Waage	
Analysenwaage	Kern, Balingen-Frommern (D)
Analysenwaage	Dietrich-Waagenbau Merkenbach GmbH, Herborn-Merkenbach (D)
Präzisionswaage	Kern, Balingen-Frommern (D)
Wärmeschrank	Medite, Burgdorf (D)
Wasserbad Julabo	Julabo Labortechnik, Seelbach (D)
Wippschüttler	neoLab, Heidelberg (D)
Zellzählgerät Countess	Invitrogen, Karlsruhe (D)

Tabelle 7 zeigt die verwendeten Verbrauchsmaterialien und Tabelle 8 das benutzte Labormaterial.

**Tabelle 7: Verbrauchsmaterial**

Verbrauchsmaterial	Hersteller
Alufolie	Carl Roth GmbH, Karlsruhe (D)
Combitips Plus (5 / 2.5 / 1 / 0,5 ml)	Eppendorf, Hamburg (D)
Deckgläser (24x60 mm)	Menzel-Gläser, Braunschweig (D)
Einbettfilterpapier	Labonord, Mönchengladbach (D)
Einbettkassetten	Klinipath, Duiven (NL)
Einmalpipetten (5/ 10/ 25 ml)	Greiner Bio-One, Frickenhausen (D)
Filterpapier	Hartenstein, Würzburg (D)
Frischhaltefolie	Toppits, Minden (D)
Handschuhe	
Latex	Cardinal Health, Kleve (D)

<b>Verbrauchsmaterial</b>	<b>Hersteller</b>
Nitril	Kimberly-Clark, Koblenz (D)
Klarsicht-Sterilisierverpackung	Melag, Berlin (D)
Koaxialkabel für SMA-Stecker	Amphenol RF, Danbury (USA)
Koaxialsteckverbinder, 2.92 mm	GigaLane Co. Ltd., Hwaseong-si (KOR)
Koaxialsteckverbinder, SMA-Koaxial	Cinch Connectivity Solutions, Ltd, Essex (UK)
Messaufbau – Polymere Polysulfon (PSU) Polyphenylensulfon (PPSU)	Schmidt & Bartl GmbH, Villingen-Schwenningen (D)
Mikrotom Einmalklingen, Typ A35	pfm medical, Köln (D)
Nunc-24-Well Insertplatten (140627)	neoLab, Heidelberg (D)
Objektträger Polysine™ (25x75x1 mm)	Langenbrinck, Emmendingen (D)
Parafilm M	Carl Roth, Karlsruhe (D)
Pasteurpipetten (230 mm)	Brand, Wertheim (D)
Petrischalen (35x10, 60x15, 94x16, 145x20 mm)	Greiner Bio-One, Frickenhausen (D)
Pipettenspitzen (0,5 – 10 µl/ 10 – 100 µl/ 100 – 1000 µl)	Eppendorf, Hamburg (D)
Zentrifugenröhrchen aus Polypropylen (15 / 50 ml)	Greiner Bio-One, Frickenhausen (D)
Reaktionsgefäße (1,5 / 2 ml)	Sarstedt, Nümbrecht (D)
RO4350 Laminat ( $d = 0,76$ mm)	Rogers Corporation, Gent (B)
Septophag Ersatzbeutel, weiß/transparent	Porod, Frauenhofen (A)
Skalpellklingen, abgerundet	Bayha, Tuttlingen (D)
Sterilfilter (Durchmesser 50 mm, Porengröße 0,2 µm)	Sartorius Stedium Biotech, Göttingen (D)
ThinCert™ Zellkulturinserts und ThinCert™ Platten	Greiner Bio-One, Frickenhausen, (D)
Vernichtungsbeutel PP	Hartenstein, Würzburg (D)
Zählkammer Countess	Invitrogen, Karlsruhe (D)
Zellkultur Multiwell Platten, 6/12/24/96 Well	TPP, Trasadingen (D)
Zellkulturflaschen 25/ 75/ 150 cm <sup>2</sup>	TPP, Trasadingen (D)
Zellsieb 100 µm	BD Biosciences, Heidelberg (D)

**Tabelle 8: Labormaterial**

<b>Labormaterial</b>	<b>Hersteller</b>
Edelstahlgießformen (24x37x9 mm)	Labonord, Mönchengladbach (D)
Färbesystem Glaskasten mit Deckel (110x90x80 mm) Färberahmen aus Glas (90x70x50 mm)	Mercateo, München (D)

Labormaterial	Hersteller
Drahtbügel aus Edelstahl	
Feuchtekammer	Lehrstuhl für TE & Reg. Medizin, Universitätsklinikum Würzburg (D)
Gestell für Reaktionsgefäße	neoLab, Heidelberg (D)
Gestell für Zentrifugenröhrchen	neoLab, Heidelberg (D)
Glaspipetten (2/ 5/ 10/ 25 ml)	Brand, Wertheim (D)
Glaswaren	Schott, Mainz (D)
Kryoröhrchen (1,5 ml)	Nunc, Wiesbaden (D)
Magnetrührstäbchen	Hartenstein, Würzburg (D)
Magnetstabentferner	Hartenstein, Würzburg (D)
Neubauer-Zählkammer	Hartenstein, Würzburg (D)
Pinzetten	Assistent, Sondheim (D)
Skalpellklingenhalter	Bayha, Tuttlingen (D)

Die in dieser Arbeit verwendeten Chemikalien sind in Tabelle 9 aufgelistet.

**Tabelle 9: Chemikalien**

Chemikalie	Hersteller	Katalognummer
2-Propanol	Carl Roth, Karlsruhe (D)	9866.6
Aceton, $\geq 99,5\%$ %, zur Synthese	Carl Roth, Karlsruhe (D)	5025.5
Albumin fraction V (BSA)	Carl Roth, Karlsruhe (D)	T844.2
Calciumchlorid ( $\text{CaCl}_2$ )	VWR, Darmstadt (D)	1.02391.1000
DMEM-Pulver	PAA, Cölbe (D)	G0001,3010
DMSO	Sigma-Aldrich, Seelze (D)	D2438-50ML
Entellan, org. Eindeckmittel	Merck, Darmstadt (D)	1079600500
Eosin	Sigma-Aldrich, Seelze (D)	861006-25G
Ethanol, absolut	Carl Roth, Karlsruhe (D)	9065.2
Ethanol, vergällt (96 %)	Carl Roth, Karlsruhe (D)	T171.2
FCS	Lonza, Köln (D)	DE14-801F
Hämatoxylin	Carl Roth, Karlsruhe (D)	3861.1
Kaliumchlorid (KCl)	Merck, Darmstadt (D)	1049361000
Kaliumdihydrogenphosphat ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ )	Merck, Darmstadt (D)	1048731000
Methanol	Carl Roth, Karlsruhe (D)	HN41.1
3-(4,5-Dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2H-tetrazoliumbromid (MTT)	SERVA Electrophoresis, Heidelberg (D)	20395
Natriumchlorid (NaCl)	Carl Roth, Karlsruhe (D)	HN00.3
Natriumhydrogencarbonat ( $\text{NaHCO}_3$ )	Carl Roth, Karlsruhe (D)	HN01.2

<b>Chemikalie</b>	<b>Hersteller</b>	<b>Katalognummer</b>
Natriumhydroxid (NaOH)-Plätzchen	Carl Roth, Karlsruhe (D)	6771.3
Paraffin, Roti-Plast	Carl Roth, Karlsruhe (D)	6642.6
Paraformaldehyd (PFA)	AppliChem, Darmstadt (D)	A3813,1000
PBS-Tabletten	Invitrogen, Darmstadt (D)	18912-014
Penicillin/Streptomycin (100x)	PAA, Cölbe (D)	P11-010
Reinstwasser	Millipore, Schwalbach (D)	
Salzsäure (HCl) (37 %, 1 M)	VWR, Darmstadt (D)	1.09057.1000
Silpuran 2420 A/B	Wacker Chemie, München (D)	
Tris	Carlth, Karlsruhe (D)	4855.1
Triton-X 100	Carl Roth, Karlsruhe (D)	3051.2
Trypanblau (0,4 %)	Sigma-Aldrich, Seelze (D)	T8154-100ML
Trypsin (0,5 % (10x) with EDTA, 4 Na)	Invitrogen, Darmstadt (D)	18912-014
Tween 20	VWR, Darmstadt (D)	8.22184.0500
Versene (1:5, 1x)	Invitrogen, Darmstadt (D)	15040-033
VE-Wasser	Lehrstuhl für TE & Reg. Medizin, Universitätsklinikum Würzburg (D)	
Xylol	Carl Roth, Karlsruhe (D)	9713.3

## 8. Methoden

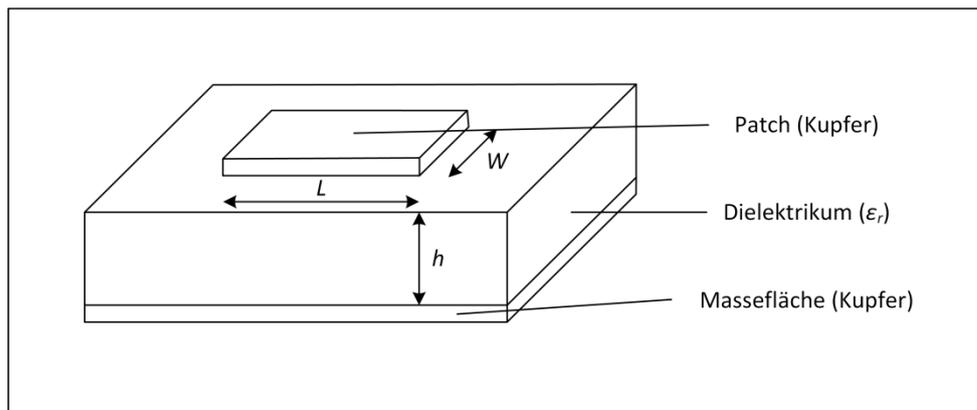
### 8.2. Messaufbau für Testungen

#### 8.2.1. Antennenentwicklung

Die in dieser Arbeit verwendete Patch-Antenne für die POC-Studie basiert auf einem Laminat der Firma Rogers mit der Typbezeichnung RO4350. Dieses besteht aus zwei Kupferschichten, zwischen denen sich das Substrat mit einer Höhe  $h = 0.76$  mm und einer relativen Permittivität von  $\epsilon = 3.48$  As/Vm befindet. Zur Herstellung der Antenne für einen spezifischen Frequenzbereich gilt bei der Kalkulation der Seitenlängen  $L$  des quadratischen Patches:

$$f = \frac{c}{2L\sqrt{\epsilon}} \quad (\text{Gleichung 1})$$

Bei einer avisierten Frequenz des Abstrahlminimums der Patch-Antenne gilt bei einer Frequenz von  $f = 8$  GHz eine Seitenlänge  $L = W = 10,19$  mm (Abbildung 4).



**Abbildung 4: Schematischer Aufbau der Patch-Antenne.** Das Laminat RO4350 besteht aus zwei Kupferschichten, zwischen denen sich ein als Dielektrikum dienendes Substrat befindet. Die Massefläche dient als Abschirmung der Antennenstrahlung nach unten, die Frequenz der elektromagnetischen Strahlung wird durch die Dimension des Patches bestimmt.

Die Umsetzung der Kalkulation zur Prüfung auf die Richtigkeit der Antennendimensionierung erfolgte durch eine Simulation der Antennen-Abstrahlcharakteristik mittels der Simulationssoftware Sonnet Lite (Sonnet Software, Inc., Syracuse, USA).

#### 8.2.2. Materialauswahl und Konstruktion der Messaufbauten

Neben der POC-Patch-Antenne zum Zwecke einer technologischen Machbarkeitsanalyse wurde ein technischer Demonstrator an *in-vitro*-Testsystemen und einem Probanden überprüft.

Zum Zwecke der Validierung beider Prüfmuster diente eine standardisierte Messumgebung in Form von Messreaktoren sowie einer Halterung für den technischen Demonstrator, deren Konstruktion mittels der Computer-Aided-Design (CAD) – Software Solid Works (Dassault Systèmes SolidWorks Corp.; Waltham, USA) erfolgte.

Das zur Fertigung der Konstruktionen durch GT-Labortechnik (Arnstein, D) verwendete Polymermaterial wurde vor der Verarbeitung qualitativ durch die Schmidt+Bartel GmbH (Villingen-Schwenningen, D) auf dessen Eignung für die Anwendung zur Überprüfung von *in-vitro*-Testsystemen und die Anwendung am Probanden durch ein 2.2 Werkszeugnis nach DIN EN 10204 überprüft und als biokompatibel befunden.

### 8.3. Zellkultur

#### 8.3.1. Kultivierung von Zellen

Alle sterilen Arbeiten fanden in einer Sicherheitswerkbank der Klasse II statt. Die Kultivierung der Zellen erfolgte bei 37 °C in Brutschränken mit einer konstanten CO<sub>2</sub>-Konzentration von 5 % und einer mit Wasserdampf gesättigten Atmosphäre.

Die Kontrolle der Zellkulturen erfolgte mittels Lichtmikroskopie. Dabei wurden die Zellen auf deren Morphologie, Wachstumsverhalten sowie mögliche Kontaminationen überprüft. Anschliessend an die visuelle Kontrolle erfolgte der regelmässige Mediumwechsel im zeitlichen Abstand von zwei bis drei Tagen.

#### 8.3.2. Bestimmung der Zellzahl und Vitalität

Mittels Trypanblaufärbung ist es möglich, vitale und tote Zellen bei der Zählung zu unterscheiden. Trypanblau ist ein saurer Azofarbstoff, dessen Anion an Zellproteine bindet, jedoch nur die Membranen toter Zellen passieren kann [146]. Lebende Zellen färben sich nicht, während die toten blau eingefärbt werden. Die Auszählung der Zellen erfolgt in einer Neubauer Zählkammer, einer flachen Glaskammer mit einem Zählgitter auf der Bodenfläche, das durch ein aufgebrachtes Deckgläschen ein definiertes Volumen der auszählenden Zellsuspension fasst.

Zur Zellzählung wurden die resuspendierten Zellen mit einer 0,4 %igen Trypanblaulösung im Verhältnis 1:1 gemischt und 10 µl des Gemisches in die Zählkammer eingebracht. Die Auszählung der vier Großquadrate fand bei 100-facher Vergrößerung statt.

Bestimmung der Lebendzellzahl pro ml [146], modifiziert:

$$ZZV_{ges} = M_{ZZV} \times KF_{NB} \times V_{ZS.ges} \times VF_{TB} \quad (\text{Gleichung 2})$$

Bestimmung der Gesamtzellzahl pro ml:

$$ZZ_{ges} = (M_{ZZV} + M_{ZZT}) \times KF_{NB} \times V_{ZS.ges} \times VF_{TB} \quad (\text{Gleichung 3})$$

Bestimmung der Vitalität:

$$V = \frac{ZZV_{ges}}{ZZ_{ges}} \times 100 \quad (\text{Gleichung 4})$$

### 8.3.3. Isolation primärer Zellen aus Hautbiopsien

Für die Isolation von primären Zellen wurden durchschnittlich 10 cm<sup>2</sup> große humane Hautbiopsien vom Präputium verwendet. Vor Beginn der Gewebeaufarbeitung erfolgte die Dokumentation des Spenderalters, Entnahmeortes, Datum der Operation und Aufarbeitung sowie Herkunft der Biopsie, wobei der Spender anonym blieb. Eine Sterilitätsprobe des Transportmediums diente als Kontrolle. Die Zellisolation fand in sterilen 10 cm<sup>2</sup> Petrischalen nach dem Standardprotokoll des Labors statt. Nach der Überprüfung der Sterilitätskontrolle des Transportmediums auf Kontaminationen am Folgetag setzte sich die weitere Aufarbeitung des Gewebes bei Kontaminationsfreiheit fort.

Zur Isolierung von hEK und dDF wurden die Vorhaut-Biopsien mit PBS (Lösung angesetzt ohne Calcium und Magnesium) gewaschen und in Stücke einer Größe von etwa 5 mm<sup>2</sup> geschnitten, um diese mit Dispase (2 U/mL) bei 4 °C für 15 h zu inkubieren. Daran schloss sich die mechanische Trennung und enzymatische Ablösung der Epidermis mit 0,05 % Trypsin/Ethylendiamintetraacetic acid (EDTA) Puffer bei 37 °C für 5 min, gestoppt durch Zugabe von 10 % FCS, an. Eine hEK-Lösung entstand durch die Resuspension der epidermalen Fragmente. Nach dem Zentrifugieren bei 270 g für 5 min erfolgte die Kultivierung des Zellpellets in EpiLife® Medium mit humanem Keratinozyten-Wachstumsfaktoren und 1 % P/S bei 5 % CO<sub>2</sub> und 37 °C. Für die Kultivierung isolierter hDF wurden dermale Fragmente mit Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) mit 10 % FCS und 1 % P/S behandelt.

### 8.3.4. Passagieren von Zellen

Das Passagieren von adhären Zellen entspricht dem enzymatischen Ablösen bei einer Zelldichte von 80 – 90 % sowie dem Aussäen der Zellen in reduzierter Zellzahl. Passagieren von Zellen ist erforderlich, da sie bei vollständiger Konfluenz teilungsinaktiv werden. Dies übt einen Selektionsdruck auf die Zellen aus und kann dauerhaft zu Veränderungen in der Population führen [146]. Zunächst wurde das Kulturmedium abgenommen und die Zellen mit PBS-/EDTA-Lösung gespült, um Serumreste zu entfernen, da dies die Aktivität des dissoziierenden Trypsins während der 3 – 5 minütigen Inkubation beeinflussen kann [147]. Durch Zugabe des

Komplexbildners EDTA wird die Trypsinierung unterstützt, da EDTA zweiwertige Ionen komplexiert, welche Membranproteine stabilisieren. Die Zellen sollten Trypsin nicht über einen längeren Zeitraum hinweg ausgesetzt werden, um Zellschädigungen zu verhindern. Nach dem Ablösen und Vereinzeln der Zellen durch Zugabe von frischem Medium überführte man mindestens ein Achtel der Zellen in eine neue 75 cm<sup>2</sup> Zellkulturflasche. Für Tumorzellen wurde die Aussaatdichte so gewählt, dass nach 4 Tage Kultivierung ein erneutes Passagieren erfolgen konnte. Bei primären Zellen entsprach die Aussaatdichte den laborinternen Standards, für dermale Fibroblasten wurden  $6,6 \times 10^4$  Zellen/cm<sup>2</sup> in die Kulturfläche eines neuen Kulturgefäßes überführt.

### 8.3.5. Herstellung von Dermis- und Vollhaut- Modellen

Alle *in-vitro*-Modelle basierten auf Kollagen-Typ-I Hydrogelen. Zur Herstellung von zellfreien dermalen Äquivalenten stellte man mit Gelneutralisationslösung (322,5 ml 2xDMEM; 7,5 ml 3 M 4-(2-hydroxyethyl)-1-piperazineethanesulfonic acid (HEPES); 1,25 ml Chondroitin-4-Sulfat; 1,25 ml Chondroitin-6-Sulfat; 7,5 ml FCS) in einem Verhältnis von 1:3 mit Kollagen-Typ I eine Konzentration von  $c = 10$  mg/ml in 0,1 % Essigsäure zu einer finalen Kollagenmasse von 24 mg ( $c = 6,67$  mg/ml), 42 mg ( $c = 11,67$  mg/ml), 60 mg ( $c = 16,67$  mg/ml) oder 96 mg ( $c = 26,67$  mg/ml) ein. Nach erfolgter Gelation folgte die Kompression der Hydrogele auf ein definiertes Volumen.

6-Well ThinCert™ Zellkulturinserts und ThinCert™ Platten dienten zur Kultivierung dermalen Äquivalente. Zur Herstellung der dermalen Komponente wurden  $4,5 \times 10^5$  oder  $9,0 \times 10^5$  hDF pro Insert in Gelneutralisationslösung suspendiert und in einer Rate von 1:3 mit 42 mg Kollagen-Typ-I zu einem finalen Volumen von  $V = 7$  ml vermischt. Nach der Gelierung erfolgte die Kompression der Modelle und die submerse Kultivierung dermalen Modelle in DMEM/4,5 g/l Glukose/1 % L-Glutamin/10 % FCS/L-Pyruvat bei 37 °C für 14 Tage kultiviert. Zellkulturmedium wurde bei Bedarf täglich gewechselt.

Für die Herstellung eines Vollhaut-Modells (Full-Thickness 3D Skin, FT 3D Skin) aus dermalen Modellen wurden zur Generierung einer rekonstruierten humanen Epidermis (rHE)  $2 \times 10^6$  hEK in Epilife® Medium auf die Dermismodelle gegeben und anschließend 1,5 h bei 37 °C inkubiert. Darauf folgend benetzte man die erzeugten Hautäquivalente mit Epilife® und 0,03 mM Kalziumchlorid und nahm das Wachstumsmedium nach 24 h partiell ab, um die 21-tägige Airlift-Kultivierung einzuleiten. Der Kontakt von hDF mit Luft unter Zugabe von Keratinozyten-Wachstumsfaktoren und Ascorbat-2-Phosphat einer Konzentration von 73 mg/ml induziert deren Differenzierung und die damit einhergehende Bildung des *Stratum corneum*.

### **8.3.6. Einfrieren und Auftauen von Zellen**

Das Einfrieren der kultivierten Zellen erfolgte in einem Styroporgefäß mit einer Abkühlgeschwindigkeit von circa 1 °C/Minute bis auf die Zieltemperatur von -80°C. Die einzufrierenden Zellen werden auf eine Zellzahl von mindestens 1 x 10<sup>6</sup> Zellen/ml Kulturmedium eingestellt. Es folgte die Zugabe von je 10 % Serum und DMSO zur Zellsuspension, um ein geeignetes Einfriermedium zu erzeugen. Das Serum (FCS) hat eine Schutzfunktion beim Einfrieren, das Gefrierschutzmittel DMSO diffundiert in die Zellen und verhindert die Eisbildung im Zellinnern [146, 148]. Die Kryoröhrchen wurden in der Styroporbox für mindestens 24 h im -80 °C-Gefrierschrank belassen und zur langfristigen Lagerung in Gefrierboxen, aufbewahrt in einem Tank mit flüssigem Stickstoff, überführt.

Das Auftauen der eingefrorenen Zellen erfolgte durch eine kurze Inkubation des Kryoröhrchens im 37 °C Wasserbad, bis noch ein stecknadelkopfgroßer Eiskern verblieben war. Unter der Sicherheitswerkbank konnte die Zellsuspension mit einer Mikrotiterpipette aufgenommen und in 10 ml des zelltypspezifischen Kulturmediums in ein 50 ml Zentrifugenröhrchen überführt werden, das ebenfalls auf 37 °C vorgewärmt worden war. Nach 5-minütiger Zentrifugation bei 270 g saugte man den Überstand ab, resuspendierte die Zellen in frischem Medium und überführte sie in die Kulturflasche.

## **8.4. *In-vitro*-Analyse und Validierung der mikrowellenbasierten Messmethodik**

### **8.4.1. Sensitivitätsanalyse der Messaufbauten**

Die Überprüfung der Sensitivität der Antenne in Bezug auf die Polarität und Osmolarität erfolgte mit verschiedenen Alkoholen (Methanol, Ethanol und Propanol) sowie Natriumchlorid-Lösungen einer Konzentration von 0,1 sowie 1 als auch 10 und 20 %. Für diese Messungen waren die Messkammern für die POC-Patch-Antenne sowie den technischen Demonstrator vollständig mit der zu analysierenden Lösung aufgefüllt.

### **8.4.2. Vorbehandlung der *in-vitro*-Testsysteme**

Die Polarität der *in-vitro*-Testsysteme wurde durch die Inkubation der Gewebemodelle für 6 h bei 20 % NaCl oder destilliertem Wasser eingestellt, um eine schwere (finale Osmolarität bei 3700 mOsm/l) oder moderate (finale Osmolarität bei 315 mOsm/l) Hypernatriämie [149, 150] bzw. Hyponatriämie einer Osmolarität von 150 mOsm/l zu simulieren [151]. Abhängig von der

Analysemethode war die Epidermis der Vollhautmodelle mittels Pinzetten zu entfernen, um verschiedene Komponenten der Haut miteinander zu vergleichen.

### 8.4.3. Messung des Trocken- und Feuchtgewichtes von Hydrogel-basierten Modellen

Nach der Analyse von *in-vitro*-Testsystemen mit den mikrowellenbasierten Sensoren musste das Feuchtgewicht der Modelle mittels Analysenwaage ermittelt werden. Nach der Gefriertrocknung der Modelle für 48 h im Gefriertrocknungsautomat bestimmte man das Trockengewicht, um anschließend das Verhältnis aus Trocken- und Feuchtgewicht zu berechnen.

### 8.4.4. Statistische Analyse

Jeder Datenpunkt besteht aus drei individuellen Proben, gemessen als Triplikat unter einheitlichen Messbedingungen. Die quantitative Analyse der Daten erfolgte durch einen einseitigen ANOVA-test unter Anwendung des Dunnett's Signifikanztest. Für alle statistischen Analysen galt als Signifikanzniveau ein  $p$ -Wert  $< 0.05$ .

## 8.5. Histologie

### 8.5.1. Fixierung und Paraffineinbettung

Die Fixierung der Hautmodelle erfolgte in 4 % Paraformaldehyd-Lösung über Nacht. Anschließend wurden die Modelle in einen Einbettautomaten zum Paraffineinbetten gegeben. Das verwendete Programm ist in Tabelle 10 dargestellt.

**Tabelle 10: Programm des Einbettautomaten**

Lösung	Zeit / h	Bemerkung
Leitungswasser	1	Auswaschen des Fixativs
Ethanol 50 %	1	Aufsteigende Alkoholreihe zur Entwässerung
Ethanol 70 %	1	
Ethanol 80 %	1	
Ethanol 96 %	1	
Isopropanol I	1	
Isopropanol II	1	
Isopropanol/Xylol (1:2)	1	Entfernen des Alkohols aus dem Gewebe
Xylol I	1	
Xylol II	1	
Paraffin I	1,5	Durchtränken des Gewebes mit Paraffin
Paraffin II	1,5	

Nach der Einbettung wurden die Proben geteilt und in Paraffinblöcke eingegossen, aus welchen anschließend Schnitte für histochemische Färbungen angefertigt werden konnten.

### 8.5.2. Vorbereiten der Schnitte für Färbungen

Für histologische Färbungen ist es erforderlich, das Paraffin aus den Proben zu entfernen, um sie anschließend in wässrigen Bedingungen behandeln zu können. Die Entparaffinierung erfolgte in Xylol, anschließend folgte die Rehydrierung der Proben in einer absteigenden Alkoholreihe. Der Ablauf ist in Tabelle 11 dargestellt.

**Tabelle 11: Protokoll der Entparaffinierung und Rehydrierung von Schnitten**

Zeitablauf / min	Lösung	Bemerkung
10	Xylol I	Paraffinentfernung
10	Xylol II	
3 x auf und abtauchen	Ethanol 96 % I	Absteigende Reihe zur Rehydrierung
3 x auf und abtauchen	Ethanol 96 % II	
3 x auf und abtauchen	Ethanol 70 % I	
3 x auf und abtauchen	Ethanol 50 % I	
5	VE-Wasser	Vollständig rehydriert

### 8.5.3. Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung ist eine Übersichtsfärbung eines Gewebes und färbt die Zellkerne blau, das Zytoplasma der Zellen rot an. Als Färbelösung wird aus dem Farbstoff Hämatoxylin Hämalan nach Mayer eingesetzt. Aufgrund der positiven Ladung binden Hämalane negativ geladene Gewebekomponenten, die Kernfärbung wird durch die Bindung an die Phosphoratome der DNA maßgeblich erzeugt [152]. Eosin färbt als saurer Farbstoff basische Zellkomponenten an, hauptsächlich die Zytoplasmproteine. Die Färbung der Schnitte erfolgte nach kurzem Fixieren in 4 % PFA-Lösung, der Ablauf der HE-Färbung ist in Tabelle 12 zusammengefasst.

**Tabelle 12: Protokoll der Hämatoxylin-Eosin- Färbung**

Zeitablauf (in min)	Lösung	Bemerkung
10 – 30	4 % PFA	Fixieren
	VE-Wasser oder PBS	Waschen
8	Hämalan	Färbung der sauren Zellbestandteile
	VE-Wasser	Auswaschen des überschüssigen Farbstoffs

Zeitablauf (in min)	Lösung	Bemerkung
2x kurz eintauchen	HCl-Ethanol	Differenzierung des Farbstoffs im sauren Milieu
1x eintauchen	VE-Wasser	Spülen
5	Leitungswasser	Bläuen
1	Eosin	Färbung der basischen Bestandteile
	VE-Wasser	Spülen (bis keine Farbe mehr auswäscht)
2x kurz eintauchen	Ethanol 70 %	Aufsteigende Reihe zum Entwässern
2	Ethanol 96 %	
5	2-Propanol I	
5	2-Propanol II	
5	Xylol I	-
5	Xylol II	-

Nachdem sich die HE-gefärbten Schnitte im Xylol II befanden, wurden sie mit Entellan eingedeckt und über Nacht getrocknet.

## 8.6. Vorbereitung zulassungsrelevanter Dokumente

### 8.6.1. Zweckbestimmung und Klassifizierung

Die Zweckbestimmung eines künftigen Produktes legt bereits im Entwicklungsprozess fest, unter welchen Bedingungen eine Anwendung erfolgen darf. Sie besteht aus einer Hauptfunktion, den Anwendern, der Spezifikation der Hauptfunktion, der Anwendungsdauer und -umgebung sowie -einschränkung. Des Weiteren sind einzuhaltende Hygienemaßnahmen und etwaiges Zubehör definiert.

Unter Berücksichtigung dieser Punkte kann festgelegt werden, unter welche Produktklasse der zu entwickelnde Sensor fällt und ob er in die Definition nationaler und internationaler Richt- und Leitlinien für Medizinprodukte fällt.

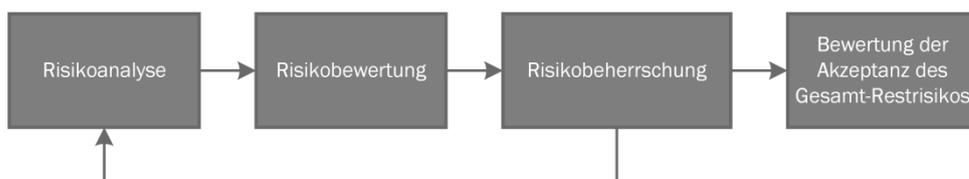
Dies beinhaltet eine Klassifizierung als *in-vitro*-Diagnostikum nach der Richtlinie 98/79/EG, als aktiv implantierbares Medizinprodukt nach der Richtlinie 90/385/EWG beziehungsweise als Medizinprodukt der Klasse I bis III nach der Richtlinie 93/42/EWG.

Der auf Mikrowellen basierende Sensor wurde nach Anhang IX der Richtlinie 93/42/EWG klassifiziert.

### 8.6.2. Vorläufige Gefährdungsanalyse nach DIN EN ISO 14971

Zum Zwecke einer Risikoabschätzung wurde eine Risikoanalyse gemäß der international gültigen Richtlinie DIN EN ISO 14971:2007 – Anwendung des Risikomanagements auf Medizinprodukte in Form einer vorläufigen Gefährdungsanalyse durchgeführt [153]. Die vorläufige Gefährdungsanalyse ist ein induktives Analyseverfahren mit dem Ziel, Gefährdungen, Gefährdungssituationen und Ereignisse festzustellen, welche bei einem zu betrachtenden System, Tätigkeit oder Einrichtung Schaden verursachen können. Die vorläufige Gefährdungsanalyse findet früh in der Entwicklung eines Projekts Anwendung, wenn wenige Angaben über Einzelheiten der Gestaltung oder über Betriebsabläufe vorliegen. Sie ist ein Vorläufer für weitere Risikoanalysen und kann bei der Betrachtung bestehender Systeme oder der Prioritätenvergabe von Gefährdungen nützlich sein.

Der Prozess einer Risikoanalyse im Rahmen dieser Arbeit kann durch Abbildung 5 verdeutlicht werden. Anhand der Zweckbestimmung und Merkmalen, welche mit der Produktsicherheit zusammenhängen, erfolgte die Identifikation und anschließende Bewertung der Gefährdungen. Angeschlossen an die Risikobeurteilung mittels vorher festgelegten Bewertungsmaßstäben wurden Risiken eingestuft. Für nicht akzeptable Risiken musste eine Risikominderungsmaßnahme vorgeschlagen werden, auf Basis derer eine Re-Bewertung erfolgte. Dieser Prozess wiederholt sich, bis Risiken nicht weiter reduziert werden können. Im Anschluss zeigte eine Bewertung der Akzeptanz des Gesamtrestrisikos, ob der in der Zweckbestimmung festgelegte Nutzen mögliche Risiken überwiegt.



**Abbildung 5: Schematischer Ablauf des Risikomanagements (in Anlehnung an die DIN EN ISO 14971).** In der Risikoanalyse werden mögliche Gefährdungen aufgedeckt, anschließend bewertet, und ggf. durch Risikominderungsmaßnahmen und eine erneute Bewertung auf ein akzeptables Niveau abgesenkt (Risikobeherrschung), um anschließend eine Bewertung des Gesamt-Restrisikos vorzunehmen.

Teile des Risikomanagements nach DIN EN ISO 14971 konnten in dieser Arbeit nicht betrachtet werden, da sich das Gesamtprojekt noch in der Entwicklungsphase befand. Aus einer vollständigen Risikobewertung wird im Rahmen der technischen Entwicklung für Medizinprodukte ein Risikomanagementbericht zur Einreichung bei der benannten Stelle erstellt. Risiken, welche erst nach der Zulassung des Produktes entdeckt werden, fließen

weiterhin in die Risikomanagementakte ein, so dass diese stetig im Lebenszyklus eines Produktes ergänzt wird. Für die Risikoanalyse erfolgte die Subklassifizierung der Risiken nach dem Schweregrad *B* sowie der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* in eine halbquantitative Matrix zur Risikobewertung. Durch eine Abfolge von Ereignissen entwickelt sich eine Gefährdung zu einer Gefährdungssituation, die einen Schaden verursachen kann. Dieser hat eine Auftretenswahrscheinlichkeit und einen Schweregrad. Das aus einer Gefährdung hervorgehende Risiko ergibt sich aus der gemeinsamen Betrachtung von *A* und *B*. Die Beschreibungen sowie Definition der Wahrscheinlichkeitsbereiche und Schweregrade unterlagen der Definition eines Teams aus Ingenieuren, Naturwissenschaftlern und Medizinern. Tabelle 13 zeigt die Einteilung der Auftretenswahrscheinlichkeit des Schadens von „häufig“ bis „unwahrscheinlich“ pro Jahr.

**Tabelle 13: Auftretenswahrscheinlichkeit *A* eines Schadens pro Jahr in Anlehnung an die DIN ISO Norm 14971 [153]**

Auftretenswahrscheinlichkeit <i>A</i>	Stufeneinteilung	Schadenfälle pro Jahr
Häufig	5	$\geq 10^{-3}$
Wahrscheinlich	4	$< 10^{-3}$ und $\geq 10^{-4}$
Gelegentlich	3	$< 10^{-4}$ und $\geq 10^{-5}$
Fernliegend	2	$< 10^{-5}$ und $\geq 10^{-6}$
Unwahrscheinlich	1	$< 10^{-6}$

Tabelle 14 zeigt die Einteilung des Schweregrads *B* des Schadens von „katastrophal“ bis „vernachlässigbar“.

**Tabelle 14: Schweregradeinteilung nach DIN EN ISO 14971 [153].**

Schweregrad <i>B</i>	Stufeneinteilung	Beschreibung
Katastrophal	V	Führt zum Tod des Patienten
Kritisch	IV	Führt zu dauernder Behinderung oder einer lebensbedrohlichen Schädigung
Ernst	III	Führt zu einer Schädigung oder Behinderung, die ein sachkundiges medizinisches Eingreifen erfordert
Gering	II	Führt zu einer zeitweiligen Schädigung oder Behinderung, die kein sachkundiges medizinisches Eingreifen erfordert
Vernachlässigbar	I	Unannehmlichkeiten oder zeitweilige Beschwerden

Das durch eine Gefährdung entstehende Risiko ist das Produkt aus der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* eines Schadens und dessen Schweregrad *B*. Tabelle 15 zeigt eine

halbquantitative Risikomatrix wobei die weiß verzeichneten Bereiche für vertretbare und grauen Bereiche für nicht vertretbare Risiken stehen.

**Tabelle 15: Halbquantitative Risikomatrix.** Risikomatrix mit festgelegten Kriterien zur Akzeptanz der Risiken nach Auftretenswahrscheinlichkeit *A* und Schweregrad *B*. Weiße Felder markieren die vertretbaren Risiken. Graue Felder markieren nicht vertretbare Risiken.

		Schweregrad <i>B</i>				
		(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)
Auftrittswahrscheinlichkeit <i>A</i>	(5)					
	(4)					
	(3)					
	(2)					
	(1)					

Schäden mit einem zu hohen Risiko wurden mit Risikominderungsmaßnahmen versehen, erneut nach Schweregrad und Auftretenswahrscheinlichkeit eines Schadens kategorisiert, um sie anschließend in die Risikomatrix einarbeiten zu können. Abschließend konnte aus der präliminären Gefahrenabschätzung eine Risiko-Nutzen-Betrachtung ausgearbeitet werden.

### 8.6.3. Beantragung einer klinischen Prüfung

Im Rahmen einer künftigen Zulassung eines Medizinproduktes muss dieses anhand klinischer Daten auf die Funktionalität und Leistungsfähigkeit in der Anwendung überprüft werden. Um bereits während des Entwicklungsprozesses die Leistungsfähigkeit bewerten zu können, wurde eine klinische Prüfung ausgearbeitet und beantragt, welche als Anschluss an das Projektziel der Dissertation im alltäglichen und klinischen Umfeld durchgeführt wird.

Für die Beantragung musste ein Studienplan nach DIN EN ISO 14155:2012-01 und den Maßgaben guter klinischer Praxis (good clinical practice, GCP) ausgearbeitet und bei der zuständigen Bundesoberbehörde sowie der Ethikkommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg zum Zwecke der Bewilligung über das Informationssystem des Deutschen Institutes für medizinische Dokumentation und Information (DIMDI) beantragt werden [154, 155]. Die Ausarbeitung erfolgte unter Berücksichtigung der Vorgaben des Medizinproduktegesetzes (MPG) sowie der Verordnung über klinische Prüfungen von Medizinprodukten (MPKPV) [142, 143].

## **8.7. Durchführung einer Erstprüfung des technischen Demonstrators an Probanden**

Im Rahmen des Ethikvotums der Ethikkommission der Friedrich-Alexander Universität Erlangen-Nürnberg mit dem Kennzeichen 288\_15 MZ konnten Vorversuche zur klinischen Prüfung an einem Probanden mit dem technischen Demonstrator durchgeführt werden. Der erste Teil dieser Testungen bestand aus der Evaluierung der Messunsicherheit bei unterschiedlich starker Befestigung des technischen Demonstrators am Arm des Probanden. Während der Durchführung wurde der Arm des Probanden unbewegt kontrahiert, entspannt gehalten oder bewegt.

Im zweiten Teil der Vortestungen erfolgte die Datenaufnahme über einen Zeitraum von acht Stunden. Das Messintervall zwischen den Einzelmessungen betrug zwei Stunden. Hierfür wurden Messdaten des technischen Demonstrators zu jedem Zeitpunkt gemeinsam mit dem Gewicht, der Hautfeuchte sowie Umgebungs- und Körpertemperatur aufgenommen, um anschließend mögliche Korrelationen in Bezug auf den Kurvenverlauf zu evaluieren.

## 9. Ergebnisse

### 8.1. Biokompatible Materialien verhindern die biologische Unverträglichkeit

Jegliche Materialien, die während der Testungen im Rahmen dieser Arbeit in Kontakt mit den *in-vitro*-Testmodellen bzw. der Körperoberfläche des Probanden kamen, sollten keine negativen Effekte hinsichtlich ihrer Verträglichkeit im Hinblick auf zytotoxische, sensibilisierende sowie irritative Wirkung zeigen.

Aus diesem Grund wurden in Anlehnung an die DIN EN ISO 10993-1 Materialien auf nachgewiesene Biokompatibilität hin ausgewählt. Die hierbei zu erfüllenden Testungen sind in Tabelle 16 aufgelistet.

**Tabelle 16: Bei der Beurteilung nach Biokompatibilität in Erwägung zu ziehende Prüfungen nach DIN EN ISO 10993-1 [156].** Die Kreuze zeigen die Datenendpunkte, welche zur Beurteilung der biologischen Sicherheit auf Grundlage einer Risikoanalyse notwendig sein können.

Einteilung des Medizinproduktes nach		Biologischer Effekt								
Art des Körperkontaktes		Kontakt-dauer								
Kategorie	Kontakt	A – kurzzeitig (≤ 24 h) B – länger (> 24 h bis 30 Tage) C – dauernd (> 30 Tage)	Zytotoxizität	Sensibilisierung	Irritation	Systemische Toxizität (akut)	Subakute Toxizität	Genotoxizität	Implantation	Hämokompatibilität
Produkt mit Kontakt zu Körperoberflächen	Haut	A	X	X	X					
		B	X	X	X					
		C	X	X	X					
	Schleimhaut	A	X	X	X					
		B	X	X	X					
		C	X	X	X		X	X		
	Verletzte oder geschädigte Hautpartien	A	X	X	X					
		B	X	X	X					
		C	X	X	X		X	X		

Zur Fertigung des Messreaktors für die POC-Patch-Antenne wurde das Polymer Polysulfon (PSU) ausgewählt. Die Messkammer für den technischen Demonstrator sowie die Halterung für den

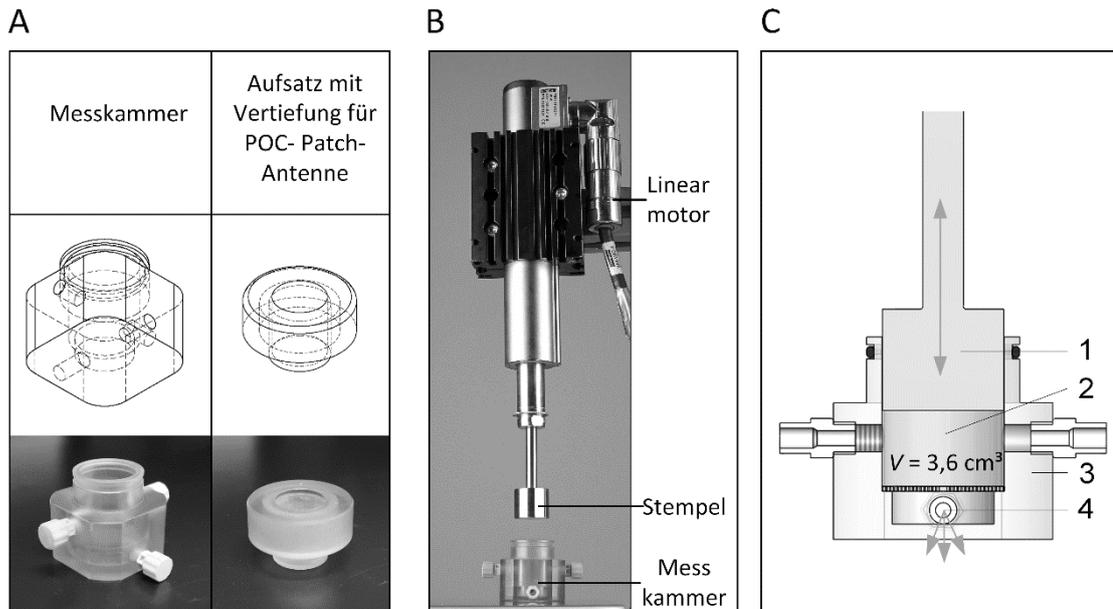
Messaufbau des Armbandeinsatzes waren aus Polyphenylensulfon (PPSU) gefertigt. Als Passivierungsschicht zwischen der Antennenarchitektur des technischen Demonstrators und der *in-vitro*-Modell bzw. Hautoberfläche wurde das biokompatible Silikon Silpuran 2420 vergossen.

## **8.2. Machbarkeitsanalyse mikrowellenbasierter Hydratationserfassung**

Das Ziel der Versuchsreihe war es, ein System zu etablieren, mit dessen Hilfe eine Überprüfung der Machbarkeit mikrowellenbasierter Hydratationserfassung möglich ist. Dies wurde anhand steigender Modellkomplexität und unter Zuhilfenahme eines definierten Testaufbaus mittels einer individuell gefertigten POC-Patch-Antenne durchgeführt. Die hierdurch gewonnenen Erkenntnisse sollten anschließend auf den zu untersuchenden technischen Demonstrator angewendet werden, um dessen technische Eignung sowie Leistungsfähigkeit in Bezug auf eine Weiterentwicklung hin zu einem Sensor-Prototyp sicher zu stellen.

### **8.2.1. Konstruktion der Messkammer für die Antenne und Anpassung an eine Kompressionsanlage zur Testmodellherstellung**

Zur Überprüfung der Testsysteme und Flüssigkeiten mittels Mikrowellen sowie Herstellung standardisierter Modelle mit einer definierten Dimensionierung wurde eine Messkammer sowie ein Aufsatz mit Vertiefung mittels CAD konstruiert und aus dem Polymer PSU gefertigt (Abbildung 6A).



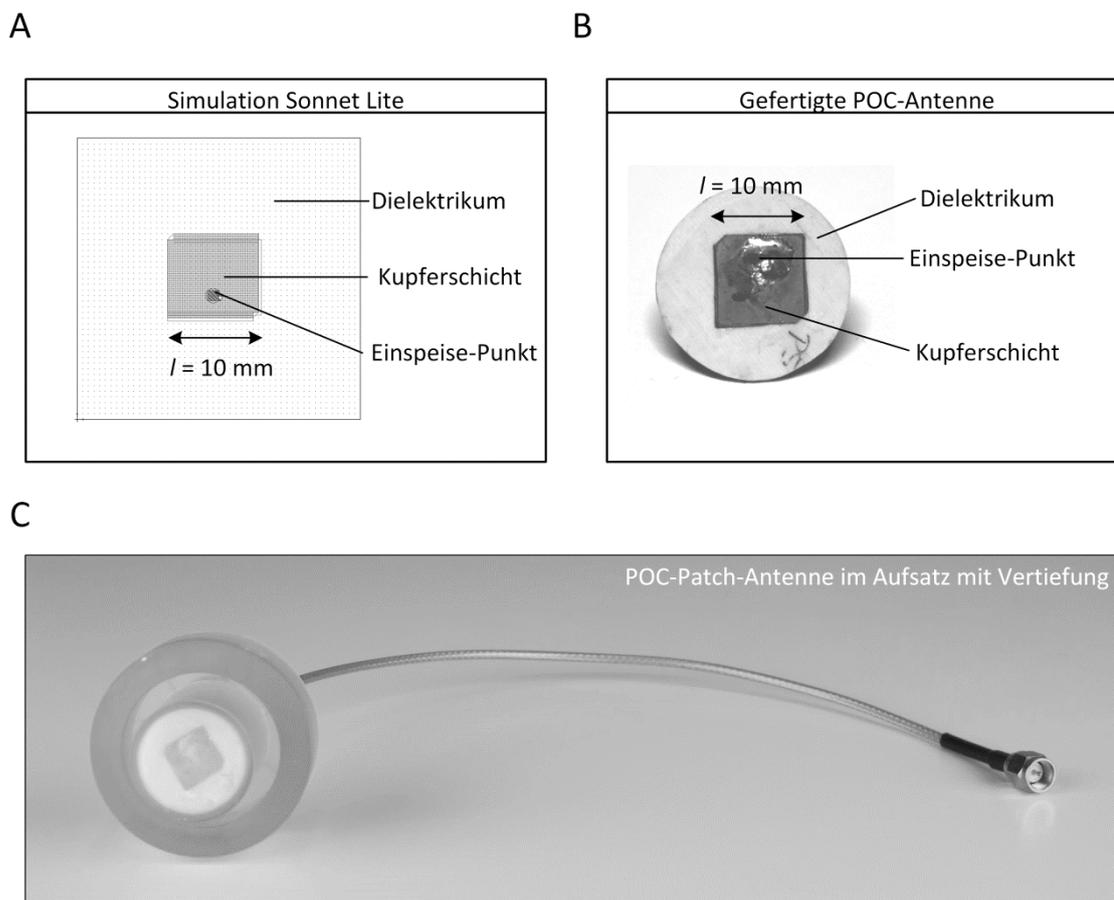
**Abbildung 6: Konstruktionszeichnungen der Messkammern und Kompressionsanlage zur Testsystem-Herstellung.** (A) Konstruktionszeichnung der Messkammer und des Aufsatzes für die POC-Patch-Antenne, gefertigt aus dem biokompatiblen Polymer PSU ( $RE = [\text{mm}]$ ). (B) Linearmotor mit angepasstem Stempel zur Kompression der Kollagen-I-basierten Testsysteme in der Messkammer für auf ein definiertes Volumen von  $V = 3,6 \text{ cm}^3$  mit einer Modellhöhe von  $h = 0,8 \text{ cm}$  bei einer Geschwindigkeit von  $v = 1,3 \times 10^{-5} \text{ m/s}$ . (C) Die Kompressionsanlage ermöglichte die Herstellung derer Äquivalente mit unterschiedlichen Kollagenkonzentrationen zwischen  $c = 6,67 \text{ mg/ml}$  bis  $c = 26,67 \text{ mg/ml}$ . Der Stempel (1) komprimiert das Hydrogel (2) in einem Messreaktor (3). Überschüssiges Wasser wurde durch den Port nahe am Boden der Messkammer abgesaugt (4).

Zur Minimierung des Kontraktionsgrades der *in-vitro*-Testsysteme durch Zugkräfte der hDF mussten alle Hydrogel-basierten Modelle kontinuierlich während der Gelierung des Kollagen-I-Hydrogels mechanisch in der Messkammer komprimiert werden. Hierzu wurde ein linearer Motor des Typ LinMot®PS01-37x120F-HP-C (LinMot USA Inc., Elkhorn, USA) zusammen mit einem individuell angepassten Stempel aus rostfreiem Edelstahl verwendet (Abbildung 6B). Die Steuerung des Linearmotors erfolgte durch eine individualisierte Benutzeroberfläche, die auf einer SIMATIC Programmierumgebung (Siemens AG, Berlin, Germany) basierte. Die Kompression resultierte in einem stets gleichbleibenden Volumen von  $V = 3,6 \text{ cm}^3$  mit einer Modellhöhe von  $h = 0,8 \text{ cm}$  bei einer Geschwindigkeit von  $v = 1,3 \times 10^{-5} \text{ m/s}$  (Abbildung 6C).

### 8.2.2. Simulation und Fertigung der Patch-Antenne

Zur Fertigung einer Breitband-Patch-Antenne mit einem Einspeisepunkt im Mikrowellenbereich bei einer optimalen Resonanzfrequenz von  $f = 7,35 \text{ GHz}$  wurde Rogers RO4350 als Laminat verwendet. Basierend auf der Kalkulation der Dimension des Patches konnte die

Abstrahlcharakteristik mittels der Sonnet Lite Simulationssoftware (Sonnet Software, Inc., Syracuse, USA) überprüft werden (Abbildung 7A), da das Programm eine Berechnung der Antennenkonfiguration unter Berücksichtigung spezifischer Laminateneigenschaften ermöglicht.



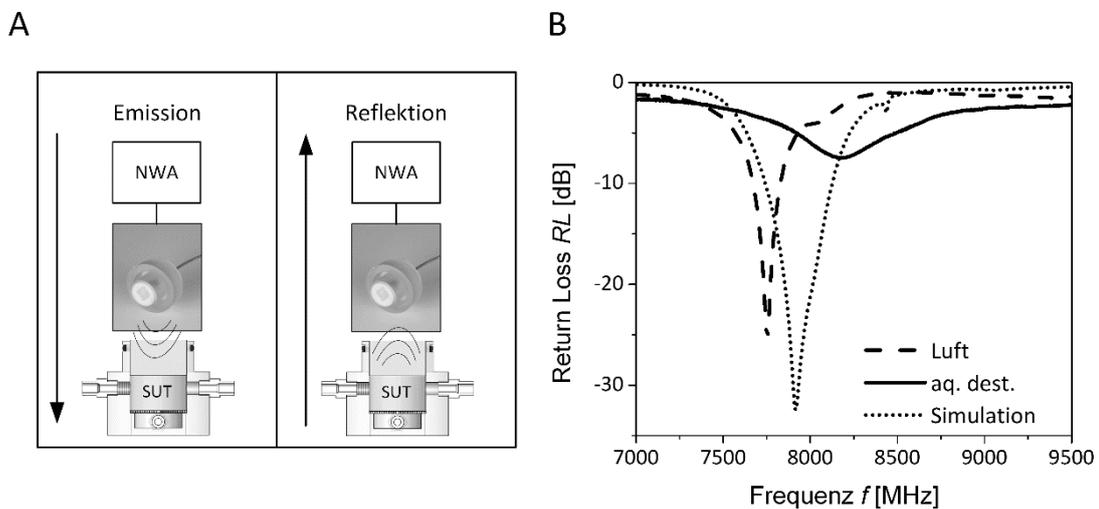
**Abbildung 7: Simulation und Fertigung der POC-Patch-Antenne.** (A) Aufbau der Simulation für die POC-Patch-Antenne, basierend auf den dielektrischen Eigenschaften und dem Aufbau des Laminat Rogers RO4350. Die Simulation wurde mit der Software Sonnet Lite durchgeführt. Die Seitenlänge der quadratischen Patch-Antenne betrug  $l = 10 \text{ mm}$ . Die Simulation berücksichtigt den Einspeisepunkt der elektromagnetischen Wellen, die Fläche der Kupferschicht sowie die spezifischen Eigenschaften des Dielektrikums. (B) Aus Rogers RO4350 gefertigte POC-Patch-Antenne mit der aus den Simulationsdaten berechneten Dimensionierung. (C) POC-Patch-Antenne, befestigt im Aufsatz mit Vertiefung. Die POC-Patch-Antenne ist über einen SMA-Steckverbinder mit einem Hochfrequenzkabel verbunden, welches für Messungen an den Mikrowellen erzeugenden Netzwerkanalysator (NWA) angeschlossen war.

Die Antenne wurde optimiert mittels Simulation unter Berücksichtigung der umgebenden Luft und spezifischen Laminateneigenschaften von RO4350 auf ein lokales Minimum der Abstrahlung bei einer Frequenz von  $f = 7,9 \text{ GHz}$  hin optimiert. Die gefertigte Antenne (Abbildung 7B) wurde anschließend in den Messkammeraufsatz mit Vertiefung eingesetzt und mit einem SMA-

Hochfrequenzkabel verbunden, welches für die Mikrowellenmessungen mit dem NWA verbunden war (Abbildung 7C).

### 8.2.3. Vergleich der Simulation und Funktionalitätsüberprüfung der Patch-Antenne

Zur Überprüfung der Übereinstimmung zwischen Simulations- und Realmessungen wurde die gefertigte POC-Patch-Antenne mit dem NWA verbunden, welcher die Mikrowellen erzeugt. Die Messungen erfolgten in der Messkammer mit einer „Substanz unter Test“ (SUT). Durch Aufsetzen einer Abdeckung, in welcher sich die POC-Patch-Antenne befand, wurde eine definierte Messumgebung erzeugt (Abbildung 8A). Als SUT dienten Kontrollflüssigkeiten oder Testmodelle. Die Analysen erfolgten in einem Frequenzspektrum zwischen 7,0 bis 9,5 GHz mit 3.000 Messpunkten. Zur anschließenden Evaluierung der Spektren wurde die Amplitude am lokalen Minimum (Return Loss,  $RL$ ) und die dazu korrespondierende Frequenz ( $f_{min}$ ) detektiert (Abbildung 8B).  $RL$  kann als Quotient aus der reflektierten und emittierten Leistung in Bel kalkuliert werden. Je geringer  $RL$ , desto höher ist der Signalverlust. Die Detektionszeit pro Messung lag bei der Aufnahme von 3000 Messpunkten pro Spektrum bei weniger als einer Sekunde.

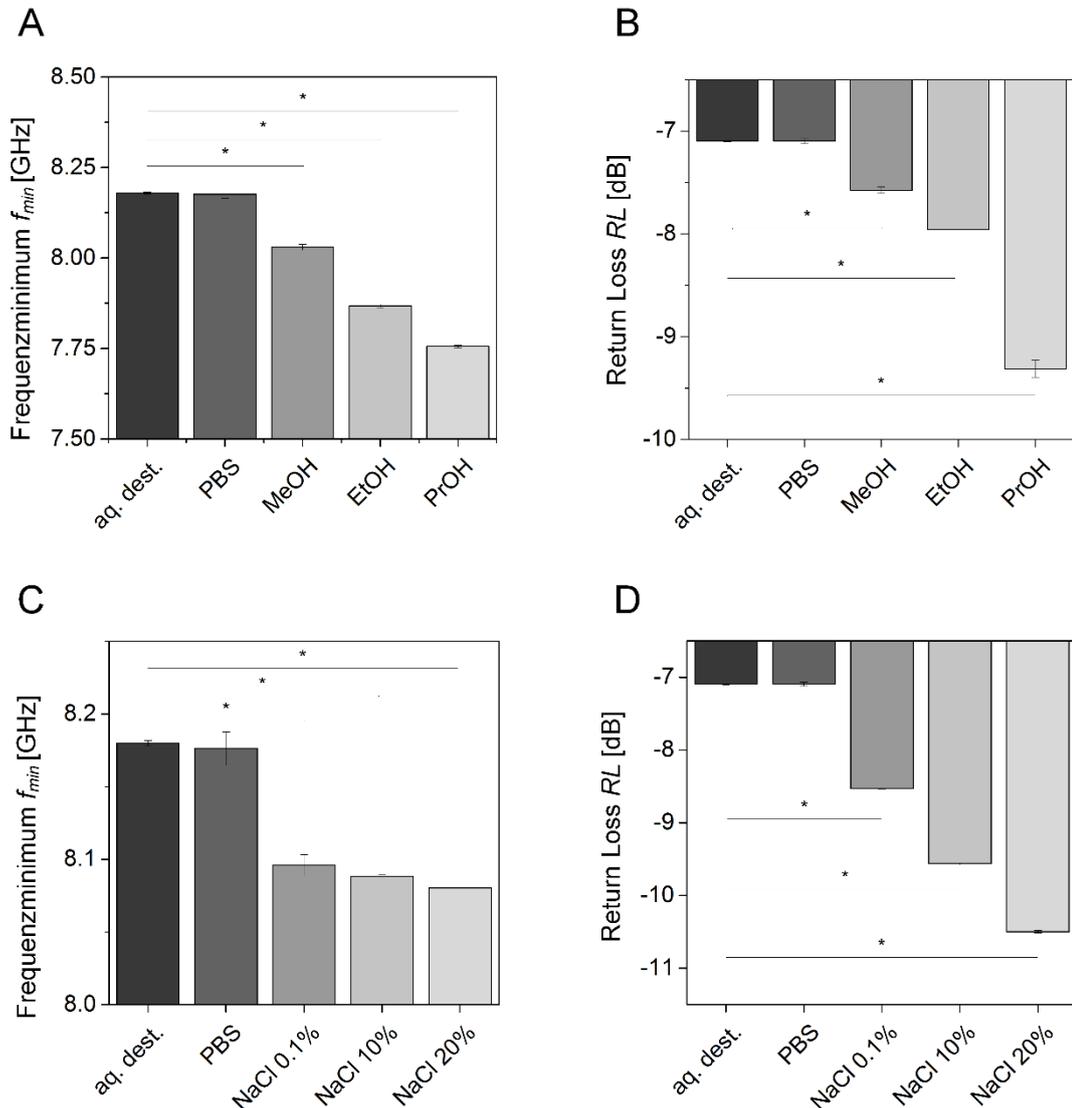


**Abbildung 8: Reflektionsmessung mit Mikrowellen an POC-Patch-Antenne.** (A) Eine Patch-Antenne, optimiert bei einer Frequenz  $f = 7,9$  GHz, wurde mit einem Netzwerkanalysator verbunden, um eine Substanz unter Test (SUT) zu analysieren. Das reflektierte Signal wurde nach der Interaktion des emittierten Signals mit der SUT gemessen. (B) Jede SUT zeigte ein spezifisches lokales Minimum (Return Loss,  $RL$ ) sowie eine dazu korrespondierende Frequenz  $f_{min}$ , exemplarisch für Luft und destilliertes Wasser (aq. dest) gezeigt. Die Realmessungen wurden mit einem Simulationsmodell verglichen. Das Reflektionsminimum sowie die Frequenz bewegten sich bei allen Reflektionsmessungen zwischen 7000 – 9000 MHz.

Ein Vergleich des simulierten und gemessenen Spektrums validierte die computerbasierte Simulation durch Realmessungen. Aus diesem Grund wurde der standardisierte Testaufbau aus POC-Patch-Antenne und Messreaktor für die Versuche zur Durchführung der Machbarkeitsstudie verwendet.

#### **8.2.4. Charakterisierung spezifischer Reflektionsspektren von Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Polarität und Osmolarität**

Die Sensitivität des Messaufbaus zur Evaluation der POC-Patch-Antenne wurde durch die Analyse der Reflektionsspektren von Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Polarität und Osmolarität bestimmt. Bei der Auswertung der Reflektionsspektren wurde  $RL$  an der Frequenz des lokalen Minimums  $f_{min}$  abgelesen (Abbildung 9). Zunächst wurde der Effekt von Flüssigkeiten mit sinkender Polarität im Vergleich zu destilliertem Wasser (aq. dest) untersucht. Die Ergebnisse zeigten eine sinkende  $f_{min}$  bei geringerer Polarität bis hin zu Propanol (PrOH) mit einem Mittelwert von  $f_{PrOH} = 7,75$  GHz im Vergleich zu den Kontrollflüssigkeiten destilliertes Wasser (aq. dest) und PBS mit einem Mittelwert von  $f_{min} = 8,2$  GHz (Abbildung 9A). Der  $RL$  des reflektierten Signals sank bei geringerer Polarität der untersuchten Flüssigkeit (Abbildung 9B).  $RL$  erniedrigte sich von einem Mittelwert für aq. dest von  $RL_{aq. dest} = -7,1$  dB bis zu  $RL_{PrOH} = -9,4$  dB. Dies zeigte einen signifikanten Einfluss der Polarität von Flüssigkeiten auf das Verhalten der Mikrowellen bei Reflektionsmessungen.



**Abbildung 9: Return loss (RL) und  $f_{min}$  von Lösungen unterschiedlicher Polaritäten und Osmolaritäten in Vergleich mit vollentsalztem Wasser (aq. dest.) und Phosphat-gepufferter Saline (PBS).** (A)  $f_{min}$  verringerte sich mit geringerer Polarität. Wasser, welches die höchste Polarität der gemessenen Lösungen aufweist, zeigt die höchste  $f_{min}$  im Vergleich zu Methanol (MeOH), Ethanol (EtOH) und Propanol (PrOH) mit geringerer Polarität. (B) RL verringerte sich mit geringerer Polarität der untersuchten Lösung von aq. dest. zu PrOH. (C)  $f_{min}$  sank bei steigender Osmolarität der untersuchten Lösung von aq. dest. bis zu Natriumchlorid (NaCl)-Lösungen einer Konzentration zwischen 0,1 bis 20 %. (D) RL verringerte sich mit steigender Osmolarität. Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

Eine konstante Osmolarität der Körperflüssigkeiten ist essentiell für das Wohlbefinden von Gewebe. Aus diesem Zusammenhang heraus wurde der Effekt steigender Osmolarität durch NaCl unterschiedlicher Konzentrationen mit den Kontrollflüssigkeiten aq. dest. und PBS verglichen. Die Ergebnisse zeigen ein sinkendes  $f_{min}$  bei einer höheren Osmolarität.  $f_{min}$

verringerte sich von einer mittleren Frequenz von  $f_{aq.dest.} = 8,18$  GHz bei aq. dest bis zu einer Frequenz von  $f_{NaCl20\%} = 8,09$  GHz für die 20 %ige NaCl Lösung (Abbildung 9C). Ein vergleichbarer Verlauf konnte für  $RL$  beobachtet werden. Hier sank die Stärke des reflektierten Signals bei steigender Osmolarität von einem mittleren Wert. von  $RL_{aq.dest.} = -7,1$  dB für aq. dest bis hin zu  $RL_{NaCl20\%} = -10,5$  dB für die Lösung mit 20 % NaCl (Abbildung 9D).

### 8.2.5. Kalkulation der Interaktionsintensität zwischen Mikrowellen und Material

Bei der Wechselwirkung von Mikrowellen und Molekülen kommt es abhängig von der Stärke der elektromagnetischen Wellen von Bewegungen bis hin zur Wärmeentwicklung. Zur Abschätzung, in wie weit eine SUT während der Messungen durch die Interaktion mit den hochfrequenten elektromagnetischen Wellen erwärmt wird, wurde der zu erwartende Temperaturanstieg kalkuliert. Bei einer Leistung von  $P = 0,631$  mW, welche durch den NWA generiert werden kann und einer durchschnittlichen Messdauer von einer Sekunde beträgt der Energieeintrag  $Q$  während einer Messung  $0,631 \times 10^{-3}$  J. Basierend auf diesem Energieeintrag konnte der Temperaturanstieg  $\Delta T$  [K] über die spezifische Wärmekapazität berechnet werden.

$$\Delta T = \frac{Q}{c m} \text{ (Gleichung 5)}$$

Hierfür wurden die Parameter in Gleichung 5 für Wasser kalkuliert, da dieses während der Messungen einen Großteil (hier bitte Prozentangabe abschätzen) der gesamten Probe ausmacht. Bei einer spezifischen Wärmekapazität von  $c = 4,19$  kg/kJ K und einer Masse der SUT von  $m = 3,6$  g, liegt die maximal induzierte Wärme durch Interaktion der Mikrowellen mit den Molekülen bei  $\Delta T = 4,183 \times 10^{-6}$  K.

Die Kalkulation der Eindringtiefe  $\delta$  [m] der Mikrowellen in eine SUT erfolgte bei einer Emissionsfrequenz von  $f = 8,2$  GHz, was dem spezifischen Spektrum von Wasser entspricht. Die Eindringtiefe definiert sich als Distanz von der Oberfläche, bei der verglichen mit der initial applizierten elektrischen Feldstärke noch 37 % verbleiben. Hier berücksichtigt  $\delta$  den sogenannten Skin-Effekt elektromagnetischer Wellen [157]. Die Eindringtiefe ist abhängig von der Kreisfrequenz  $\omega$  [Hz], der Permittivität  $\mu$  [N/A<sup>2</sup>] sowie der elektrischen Leitfähigkeit  $\sigma$  [S/m]:

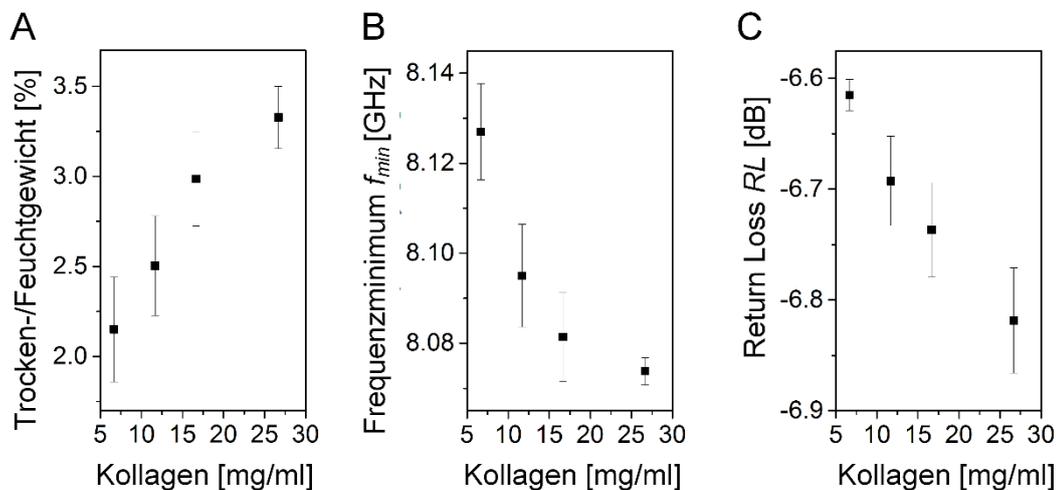
$$\delta = \sqrt{\frac{1}{\omega \mu \sigma}} \text{ (Gleichung 6)}$$

In Analogie zur Gleichung 6 beträgt die Eindringtiefe für die gewählte Frequenz  $\delta = 1,758$  cm. Dies lässt schlussfolgern, dass bei den Messungen die gesamte Probe mit einer Höhe von 0,8 cm dem elektromagnetischen Feld ausgesetzt und das reflektierte Signal ist auch für tiefere Proben bzw. Gewebebereiche ein repräsentativer Parameter. Aus diesem Grund wurden nach der

Analyse von Flüssigkeiten im nächsten Schritt kollagenbasierte Hydrogele als simplifizierte Gewebe betrachtet.

### 8.2.6. Mikrowellentechnologie ermöglicht die Charakterisierung der Hydratation zellfreier dermaler Testäquivalente

Zur Abbildung komplexer und biologisch relevanter Testszenarien bei der Validierung der Mikrowellentechnologie im Vergleich zur reinen Analyse von Lösungen wurden zellfreie dermale Äquivalente in unterschiedlichen Konzentrationen mit gleichbleibendem Salzgehalt durch die beschriebene standardisierte Kompression der Hydrogele generiert.



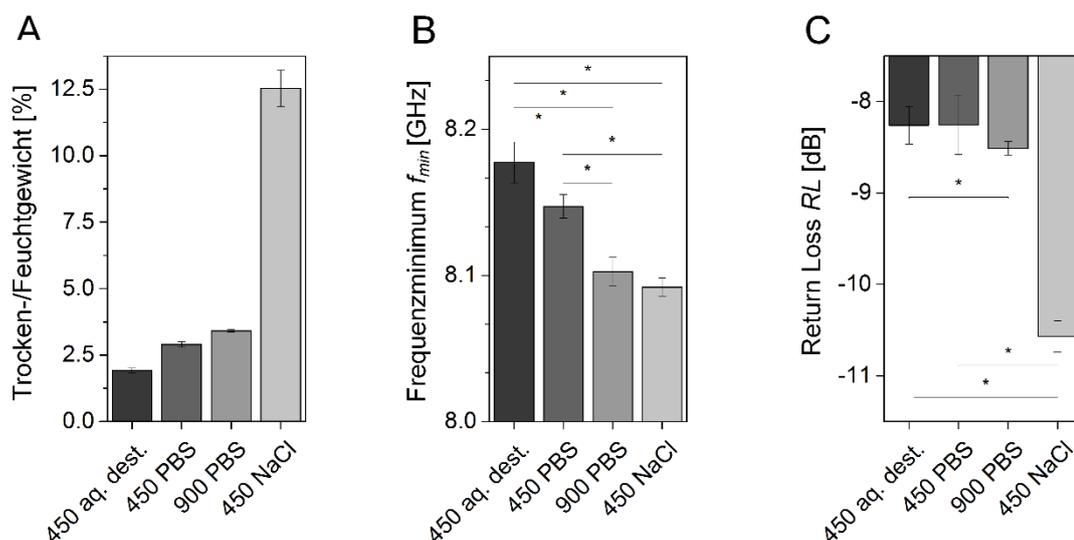
**Abbildung 10: Messungen von zellfreien dermalen Äquivalenten bei unterschiedlicher Kollagenkonzentration.** (A) Vergleich des Trocken- und Feuchtgewichtes zeigte eine Gewichtszunahme bei einer höheren Kollagenkonzentration, während (B)  $f_{min}$  am detektierten Minimum der Reflektion mit höherer Kollagenkonzentration absank und (C)  $RL$  ebenfalls bei höherer Kollagenkonzentration abnahm. Plots zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

Eine Quantifizierung der Kollagenkonzentration durch den Vergleich des Trocken- und Feuchtgewichtes zeigte, dass sich der Wassergehalt bei steigender Kollagenkonzentration im Vergleich zur Kollagenmasse reduzierte (Abbildung 10A). Mit einer steigenden Kollagenkonzentration im Hydrogel verringerte sich  $f_{min}$  von einem Mittelwert von  $f_{24mg} = 8,125$  GHz bei Hydrogelen mit 24 mg Kollagen ( $c = 6,67$  mg/ml) auf eine Frequenz von  $f_{96mg} = 8,075$  GHz für Proben mit einer Kollagenmenge von 96 mg ( $c = 26,67$  mg/ml) (Abbildung 10B). Zeitgleich war  $RL$  bei der höchsten Kollagenkonzentration am geringsten und sank von einem Wert von  $RL = -6,61$  dB für 24 mg Kollagen bis zu  $RL = -6,82$  dB für 96 mg Kollagen pro dermales Äquivalent (Abbildung 10C).

### 8.1.7. Zerstörungsfreie Charakterisierung der Hydratation dermalen Äquivalente mittels Mikrowellentechnologie

Zur Steigerung der Komplexität wurden in diesem Versuchsaufbau hDF in die Hydrogele eingebracht, um die Dermis der Haut zu simulieren, und nach der Kultivierung analysiert. Abbildung 11 zeigt den Effekt von Zellen und unterschiedlichen Salzkonzentrationen auf das reflektierte Mikrowellensignal von Kollagen-Typ-I basierten dermalen Äquivalenten bei verschiedenen Hydratationsszenarien. Der Vergleich des Verhältnisses von Trocken- und Feuchtgewicht zeigt, dass NaCl-behandelte Modelle die höchste Rate durch die Deposition von Salz molekülen aufwiesen (Abbildung 11A). Salzsaturierte Hydrogele beinhalten zusätzliche NaCl Ionen, welche zu einer Erhöhung des Trockengewichtes führen. Betrachtet man  $f_{min}$ , so verringerte sich die Frequenz bei hoher Osmolarität von aq. dest. behandelten dermalen Äquivalenten ( $f_{450aq,dest.} = 8,175$  GHz), welche Hyponatriämie simulierten, hin zu  $f_{450PBS} = 8,16$  GHz für PBS-behandelte Proben (Simulation von Isonatriämie) hinab zu  $f_{450NaCl\ 20\%} = 8,09$  GHz für NaCl-behandelte Modelle bei einer Konzentration von 20 % (Simulation von Hypernatriämie). Zudem schien  $f_{min}$  von der Zellkonzentration abhängig zu sein. Bei einer konstanten Osmolarität zeigten Modell mit der Zellkonzentration von  $4,5 \times 10^5$  hDF (abgekürzt 450) pro Hydrogel höhere  $f_{min}$ -Werte im Vergleich zu Modellen mit  $9 \times 10^5$  Zellen (abgekürzt 900). Hier konnte für  $f_{min}$  eine Frequenz von  $f_{900PBS} = 8,10$  GHz gemessen werden.

Der RL verringerte sich von einer konsistenten Amplitude von  $RL_{450PBS, aq,dest.} \approx -8,3$  dB für PBS- und aq. dest. behandelte Modelle hin zu  $RL_{450NaCl\ 20\%} = -10,7$  dB für Modelle mit 20 % NaCl (Abbildung 11C). Zudem konnte ebenfalls ein Effekt der Zelldichte gezeigt werden, auch wenn die osmolaritätsbedingten Veränderungen überwogen.

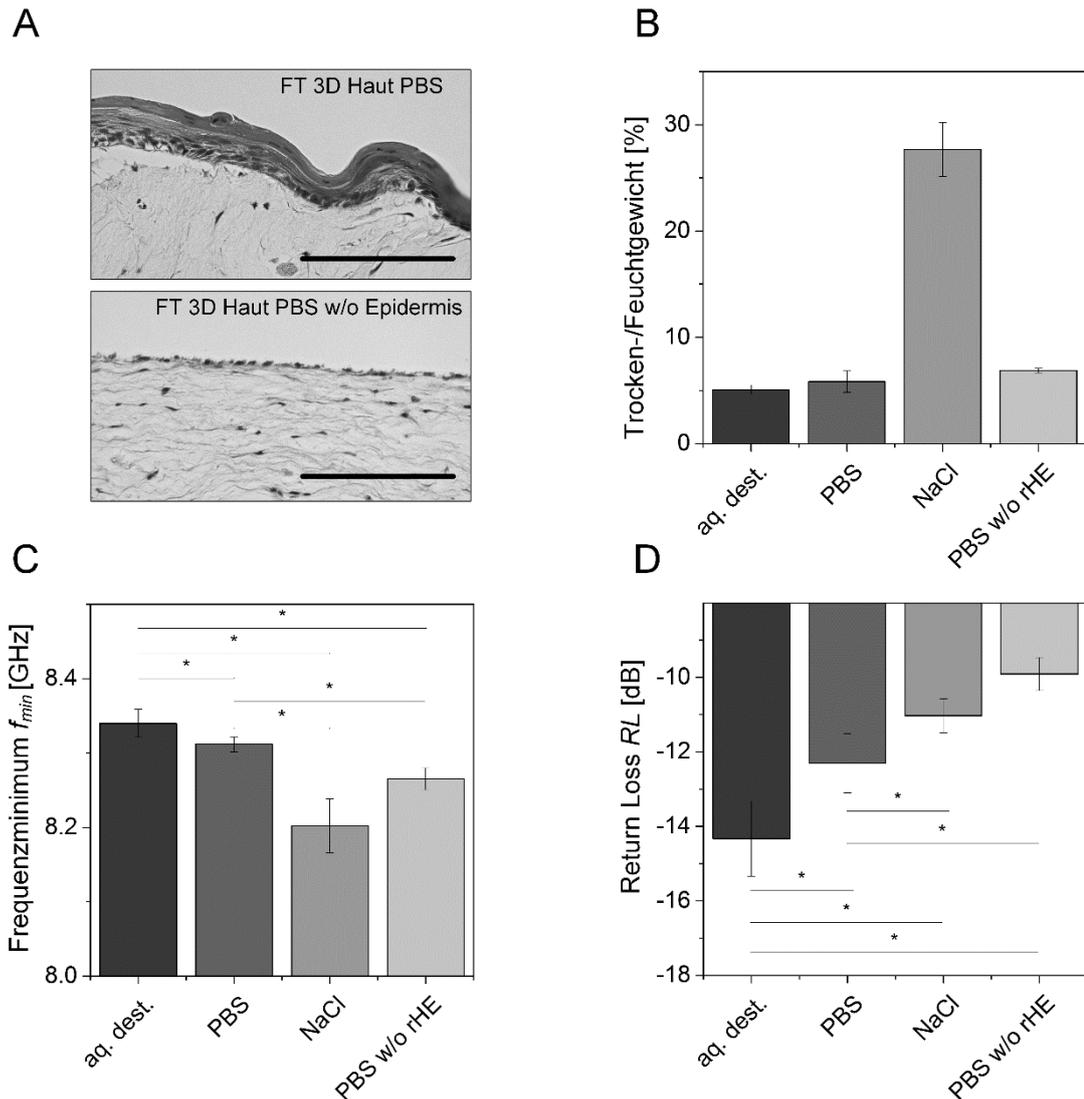


**Abbildung 11: Mikrowellen-Reflektionssignal dermalen Äquivalente bei unterschiedlichen Osmolaritäten und Zellkonzentrationen.** (A) Der Vergleich des Trocken- und Feuchtgewichtes zeigte

einen Anstieg der Trockenkomponente bei höherer Osmolarität und Zellkonzentration. (B)  $f_{min}$  verringerte sich bei höherer Zellkonzentration (von  $4,5 \times 10^5$  zu  $9 \times 10^5$  Zellen) und Osmolaritäten, welche Hypo-, Iso- und Hypernatriämie simulierten. (C) In Analogie zu  $f_{min}$  reduzierte sich auch  $RL$  bei zunehmender Osmolarität. Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

### **8.1.8. Charakterisierung von Vollhautmodellen durch mikrowellenbasierte Quantifizierung der Hydratation am Übergang zwischen Luft und Gewebe**

Native Haut ist mehrschichtig aufgebaut und die Epidermis bildet den Grenzübergang hin zur Umwelt. Zur Abbildung möglicher Effekte dieser Struktur auf die Interaktion der elektromagnetischen Wellen mit Gewebe im *in-vitro*-Testsystem wurde in diesem Versuchsteil mit Vollhautmodellen gearbeitet. Abbildung 12A stellt den histologischen Vergleich zwischen 3D-Vollhautmodellen (FT 3D skin) mit intakter und entfernter Epidermis dar. Der Vergleich des Verhältnisses von Trocken- zu Feuchtgewichtes zeigte keine signifikanten Unterschiede bei der Inkubation mit PBS oder aq. dest. (Abbildung 12B). NaCl-behandelte Proben verfügten bei einer Konzentration von 20 % über den höchsten Trockenanteil mit etwa 27 % im Vergleich zu 5 - 7 % bei den anderen Bedingungen. Dies bestätigte die Beobachtung bei den dermalen Modellen, wo ebenfalls gezeigt werden konnte, dass das Trockengewicht maßgeblich durch die Salzdeposition beeinflusst wird.



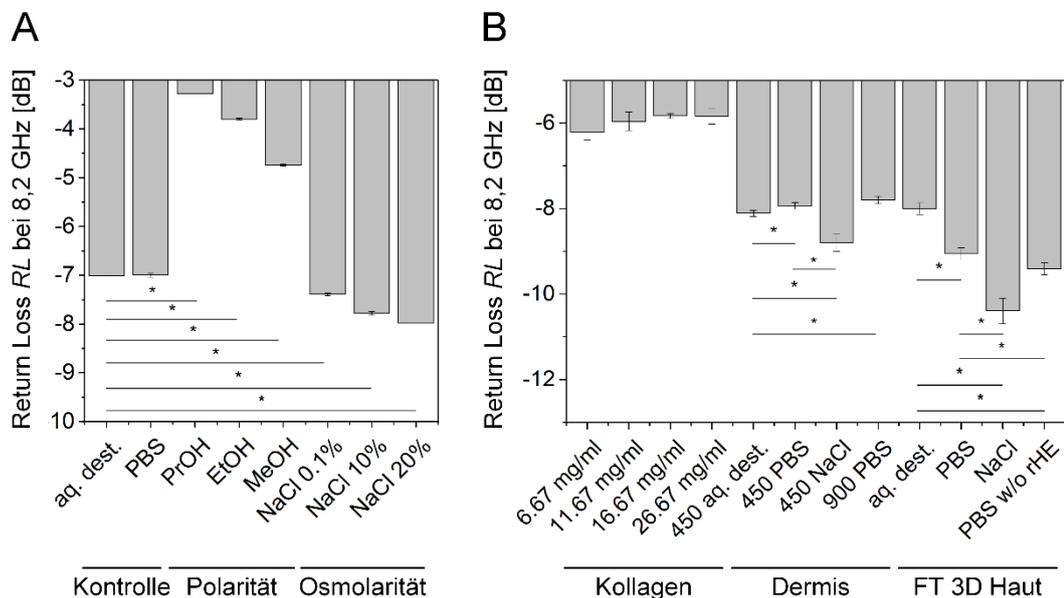
**Abbildung 12: Mikrowellen-Signal von Vollhautmodellen bei unterschiedlicher Osmolarität.** (A) H&E-Färbung von 3D Vollhautmodellen (full-thickness 3D skin models, FT 3D skin) mit intakter und entfernter Epidermis nach der Behandlung der Modelle mit PBS. (B) Das Verhältnis von Trocken- zu Feuchtgewicht stieg mit zunehmender Osmolarität (von aq. dest. zu NaCl), währenddessen (C)  $f_{min}$  mit höher werdender Osmolarität sank. (D)  $RL$  stieg mit höher werdender Osmolarität der umgebenden Lösung und zeigte den höchsten Wert für Modelle ohne eine epidermale Schicht (PBS w/o rHE). Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

Die Analyse von  $f_{min}$  deckte zwei Einflussfaktoren auf. Mit steigender Osmolarität sinkt  $f_{min}$ , was bereits für die dermalen Testmodelle gezeigt wurde. Der Vergleich zu Modellen ohne eine Epidermis zeigte eine Verschiebung von  $f_{min}$  in Präsenz einer epidermalen Schicht hin zu höheren Frequenzen (Abbildung 12C).  $RL$  stieg mit höherer Osmolarität von  $RL_{aq,dest.} = -14,25$  dB für aq. dest. an bis hin zu  $RL_{NaCl} = -11,0$  dB für Hautmodelle, die mit einer Konzentration von 20 % NaCl

inkubiert wurden (Abbildung 12D). Der höchste  $RL$  wurde mit einem Wert von  $a RL_{PBS\ w/o\ rHE} = -10,0$  dB bei den Modellen ohne Epidermis detektiert. Verglichen mit den PBS-inkubierten Modellen mit einer intakten Epidermis ( $RL_{PBS} = -12$  dB) zeigt dies den Effekt einer epidermalen Schicht auf den  $RL$ . Verglichen mit den vorherigen Versuchen kehrte sich somit die Tendenz, dass  $RL$  bei höher werdender Osmolarität abnimmt, um.

### 8.1.9. Mikrowellenbasierte Messungen ermöglichen die Diskriminierung zwischen Analysegruppen

Für die Evaluierung der Robustheit des Sensors und um festzustellen, ob die in dieser Arbeit untersuchte Technologie bei einer definierten Wellenlänge analysieren und aussagekräftige Daten ausgeben kann, wurden die bereits gezeigten Experimente bei einer definierten Frequenz von 8,2 GHz untersucht (Abbildung 13). Im Hinblick auf eine Produktentwicklung würde dies die Komplexität des zu entwickelnden Systems reduzieren. Verglichen mit den Kontrollen aq. dest. und PBS, deren  $RL$  bei  $RL \approx -7,00$  dB lag, zeigten die Messungen mit Lösungen abfallender Polaritäten steigende  $RL$  bis hin zu  $RL_{PrOH} = -3,28$  dB für PrOH. Dem entgegen waren im Rahmen der Messungen mit steigender Osmolarität sinkende Werte für  $RL$  von den Kontrollen bis zu NaCl 20 % mit  $RL_{NaCl20\%} = -7,98$  dB feststellbar (Abbildung 13A).



**Abbildung 13: Reflektiertes Signal der Messungen mit Lösungen und *In-vitro*-Testmodellen bei einer Frequenz von 8,2 GHz.** (A) Mikrowellenbasierte Messungen an Lösungen. Verglichen mit Kontrollflüssigkeiten zeigt  $RL$  steigende Messwerte bei sinkender Polarität bis hin zu PrOH. Osmolaritätsmessungen zeigten sinkende  $RL$  Werte mit steigender Osmolarität bis hin zu NaCl 20 %. (B) Mikrowellenbasierte Messungen an *in-vitro*-Testmodellen.  $RL$  zeigte steigende Messwerte bei einer konstanten Frequenz von 8,2 GHz für Messungen mit zellfreien Kollagen-Hydrogelen (Kollagen).  $RL$  sinkt

bei steigender Osmolarität sowohl bei dermalen (Dermis) als auch Vollhautmodellen (FT 3D skin). Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

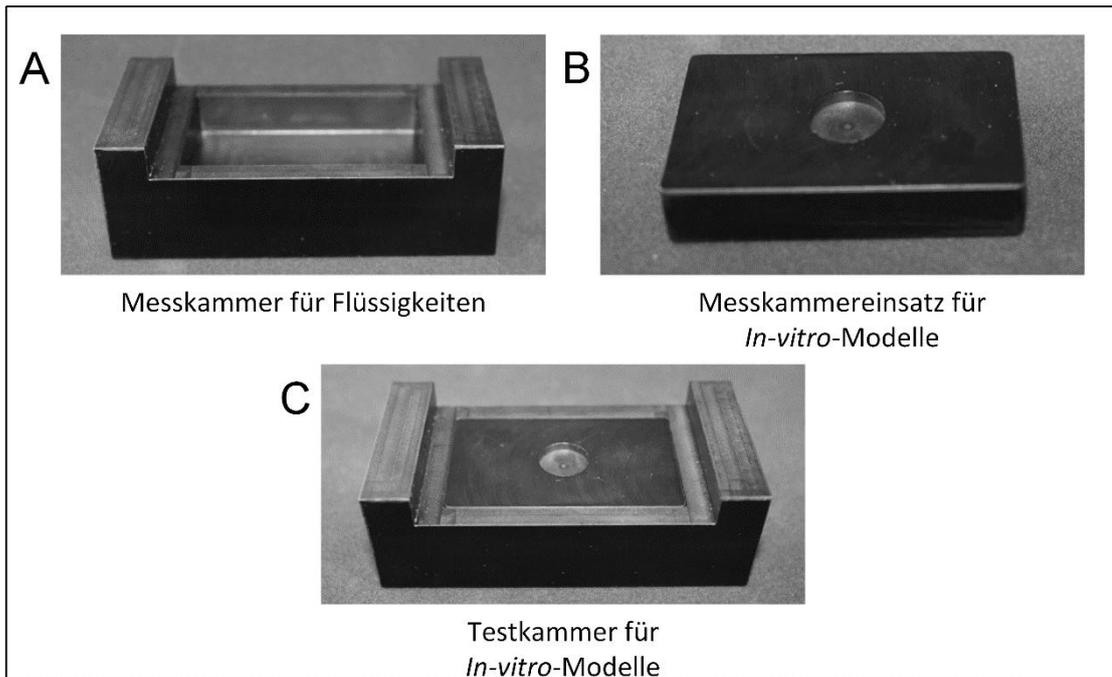
Die Betrachtung des  $RL$  aller untersuchten *In-vitro*-Testmodelle bei einer Frequenz von 8,2 GHz (Abbildung 13B), zeigte für die zellfreien Kollagen-Hydrogele steigende Werte mit einer höheren Kollagenkonzentration von  $RL = -6,22$  dB bis zu  $RL = -5,83$  dB. Wie bereits im Rahmen bei der Untersuchung von Modellen in Flüssigkeiten verschiedener Osmolaritäten festgestellt wurde, zeigten dermale und FT 3D Hautmodelle einen fallenden  $RL$  bei steigender Osmolarität. Für die dermalen Äquivalente sanken die Werte von  $-8$  dB für aq. dest.- und PBS- behandelte Proben hin zu  $RL_{450NaCl\ 20\%} = -8,80$  dB für NaCl behandelte Proben einer Konzentration von 20 % NaCl. Für 3D-Hautmodelle sanken die Messwerte von  $RL_{aq.dest} = -8,00$  dB für aq. dest. behandelte Proben auf  $RL_{NaCl\ 20\%} = -10,39$  dB für mit 20 % NaCl- behandelte Proben.  $RL$  zeigte um 0,35 dB geringere Messwerte für mit PBS-behandelte Proben ohne eine Epidermis im Vergleich zu Proben mit noch intakter Epidermis, was den Einfluss einer epidermalen Schicht auf die Reflektion des Mikrowellensignals bestätigt.

## 8.2. Überprüfung der Funktionalität des technischen Demonstrators

Ziel dieser Messreihe war es, den im Rahmen der Machbarkeitsanalyse mit der POC-Patch-Antenne etablierten Versuchsablauf auf den technischen Demonstrator anzuwenden und so dessen Funktionalität zu bestätigen. Dies war vor allem bezüglich der Anwendbarkeit des Versuchsaufbaus für die Testung am Probanden wichtig, um die Leistungsfähigkeit unter Berücksichtigung der notwendigen Sicherheitsaspekte zu überprüfen.

### 8.2.1. Konstruktion

Im Hinblick auf die Testung mit *in-vitro*-Modellen und Flüssigkeiten sowie auf die Anwendung des Messprinzips am Menschen wurde der technischer Demonstrator mit Testsystemen unterschiedlicher Komplexität überprüft. Zu diesem Zweck wurde für die *in-vitro*-Versuche eine Messkammer (Abbildung 14A) und ein Messkammereinsatz (Abbildung 14B) mittels CAD konstruiert und aus dem biokompatiblen Material Polyphenylsulfon gefertigt. Die Kammer wurde so konstruiert, dass Flüssigkeiten mit dem technischen Demonstrator überprüft werden können. Der Einsatz passte in die Aussparung der Kammer (Abbildung 14C) und konnte für die Untersuchung von Modellen mit dem technischen Demonstrator genutzt werden.

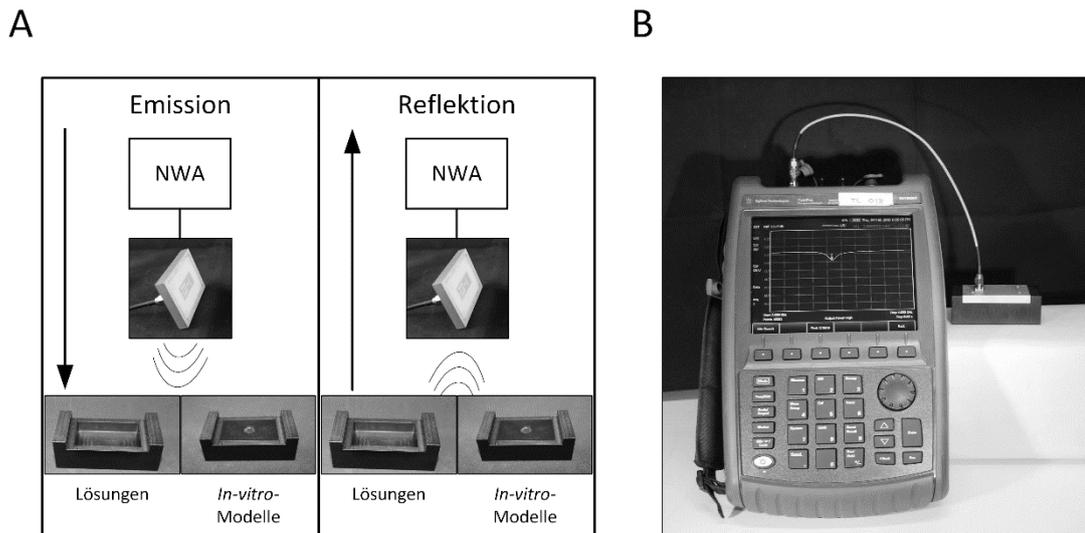


**Abbildung 14: Messkammer für die Überprüfung des technischen Demonstrators.** Messkammer (A) und Messkammereinsatz (B) sowie Zusammenbau der Messkammer (C) für die Überprüfung des technischen Demonstrators. Messkammer und Messkammereinsatz sind aus dem biokompatiblen Material PPSU gefertigt.

### 8.2.2. Messaufbau des technischen Demonstrators

Als Vorbereitung des Versuchsaufbaus wurde die den Modellen zugewandte Seite des technischen Demonstrators mit dem biokompatiblen 2-Komponenten-Silikon Silpuran® 2420 vergossen. Diese Passivierung bildete eine Schicht zwischen der Antennenoberfläche und den SUT.

Basierend auf dem Messprinzip der Reflektion wurde, wie bereits bei der POC-Patch-Antenne, der technische Demonstrator mit dem NWA verbunden und zur Analyse der Proben auf die Messkammer aufgebracht. Je nach Testung wurde mit bzw. ohne den Messkammereinsatz gearbeitet (Abbildung 15A).

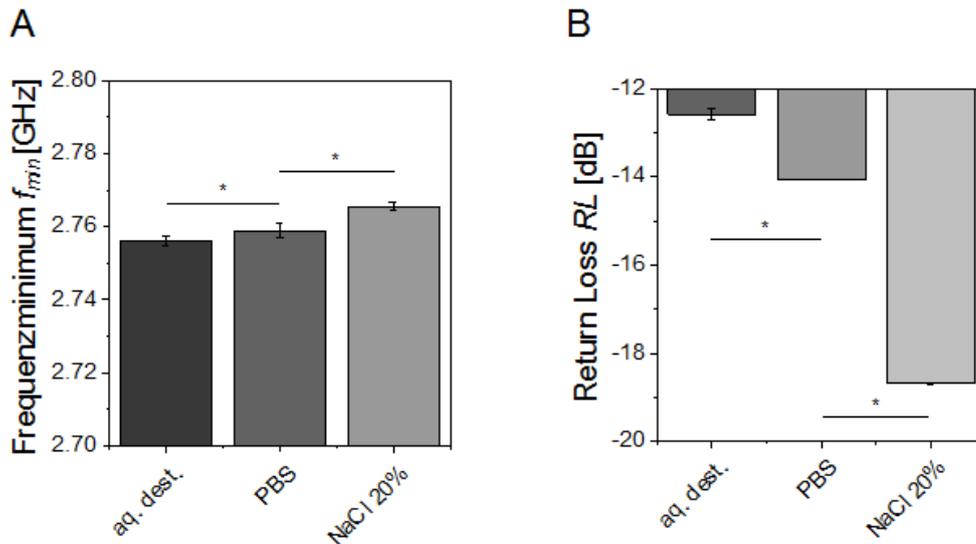


**Abbildung 15: Reflektionsmessung mit Mikrowellen am technischen Demonstrator.** (A) Der technische Demonstrator wurde mit einem NWA verbunden, um eine Lösung bzw. ein *In-vitro*-Modelle (SUT) zu analysieren. Das reflektierte Signal wurde nach der Interaktion des emittierten Signals mit der SUT gemessen. (B) Messaufbau; der technische Demonstrator, verbunden mit dem NWA, wurde zur Analyse der SUT auf die Messkammer aufgesetzt.

Der technische Demonstrator wurde nach einer vorherigen technischen Funktionsüberprüfung zum Zwecke der biologischen Validierung des Messsystems mit dem in Abbildung 15B dargestellten Aufbau überprüft.

### 8.2.3. Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Osmolarität sind durch den technischen Demonstrator charakterisierbar

Die Sensitivität des technischen Demonstrators erfolgte durch Messungen von Flüssigkeiten mit unterschiedlicher Osmolarität. Zur Auswertung der Spektren musste  $RL$  an der Frequenz des lokalen Minimums  $f_{min}$  abgelesen werden.



**Abbildung 16: Return loss ( $RL$ ) und  $f_{min}$  von Lösungen unterschiedlicher Osmolaritäten im Vergleich mit vollentsalztem Wasser (aq. dest.) und phosphatgepufferter Saline (PBS).** (A)  $f_{min}$  erhöht sich bei steigender Osmolarität der untersuchten Lösung von aq. dest. bis zu Natriumchlorid (NaCl) Lösungen einer Konzentration von 20 %. (B)  $RL$  verringerte sich mit steigender Osmolarität. Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

Wie bei der POC-Patch-Antenne wurde mit dem technischen Demonstrator der Effekt unterschiedlicher Osmolaritäten durch NaCl 20% im Vergleich zu aq. dest. und PBS betrachtet. Die Ergebnisse zeigten im Gegensatz zur POC-Patch-Antenne ein steigendes  $f_{min}$  bei einer höheren Osmolarität von einer mittleren Frequenz von  $f_{aq.dest.} = 2,76$  GHz für aq. dest. bis zu einer Frequenz von  $f_{NaCl20\%} = 2,77$  GHz für die 20%ige NaCl Lösung (Abbildung 16A).  $RL$  verringerte sich bei steigender Osmolarität und verschob sich von einem mittleren Wert für aq. dest. bei  $RL_{aq.dest.} = -12,5$  dB nach  $RL_{NaCl20\%} = -18,8$  dB für 20 % NaCl (Abbildung 16B).

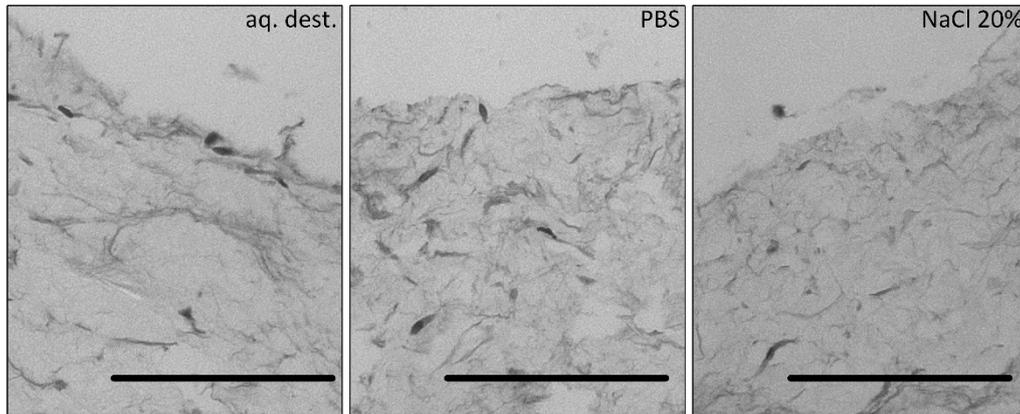
#### 8.2.4. Zerstörungsfreie Charakterisierung der Hydratation dermalen Äquivalente mittels des entwickelten Prototyps

Effekte elektromagnetischer Wellen in einem *in-vitro*-Modell wurden mit dem Einfluss von unterschiedlichen Salzkonzentrationen auf das reflektierte Mikrowellensignal von Kollagen-Typ-I basierten dermalen Äquivalenten untersucht.

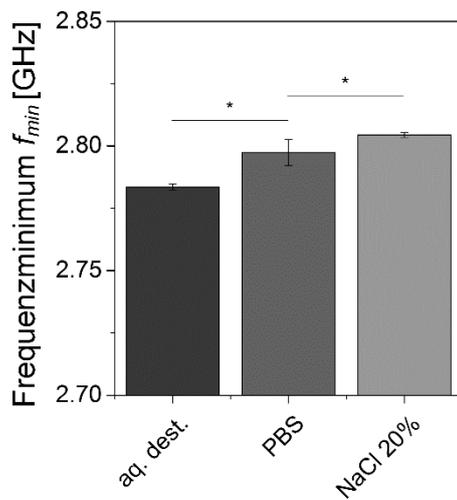
Abbildung 17A zeigt den histologischen Vergleich zwischen Dermismodellen bei unterschiedlicher Osmolarität. Die sinusoidale Zellmorphologie nahm mit ansteigender Osmolarität von aq. dest. hin zu NaCl 20 % zu. Die Messwerte für  $f_{min}$  erhöhten sich gleichsam

mit der Osmolarität und stiegen von aq. dest. mit  $f_{aq.dest.} = 2,78$  GHz (Hyponatriämie) hin zu  $f_{PBS} = 2,8$  GHz für PBS- behandelte Proben (Isonatriämie) bis  $f_{NaCl\ 20\%} = 2,81$  GHz für NaCl-behandelte Modelle bei einer Konzentration von 20 % NaCl (Hypernaträmie) (Abbildung 17A). Dieser Effekt war im Vergleich zur POC-Patch-Antenne gemessenen Ergebnissen umgekehrt.

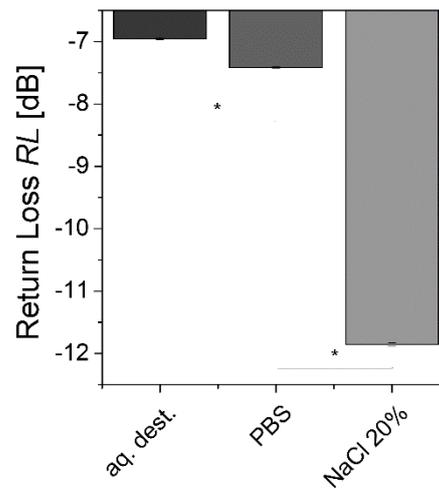
A



B



C

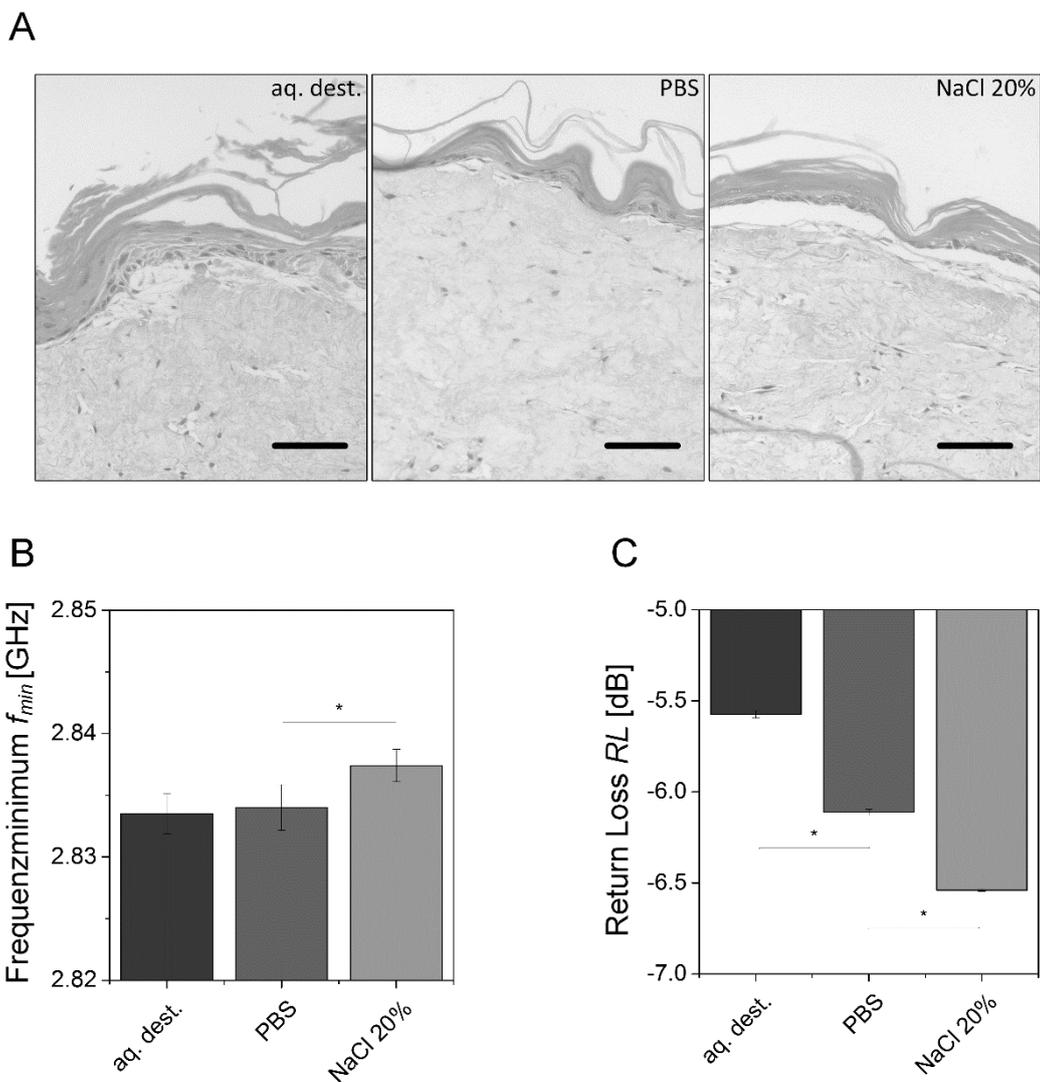


**Abbildung 17: Mikrowellen-Reflektionssignal dermaler Äquivalente bei unterschiedlichen Osmolaritäten.** (A) H&E-Färbung von Dermismodellen zeigen eine zunehmende sinusoidale Zellmorphologie mit steigender Osmolarität von aq. dest. zu NaCl 20 %. (B)  $f_{min}$  erhöhte sich bei höherer Osmolarität, welche Hypo-, Iso- und Hypernaträmie simulierten. (C) In Analogie zu  $f_{min}$  reduzierte sich  $RL$  bei zunehmender Osmolarität. Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikate gemessen wurden.

Der  $RL$  verringerte sich von einer Amplitude von  $RL_{aq,dest.} \approx -7$  dB für aq. dest. behandelte Modelle hin zu  $RL_{NaCl\ 20\%} = -11,9$  dB für Modelle, die mit Salzlösung einer Konzentration von 20 % NaCl behandelt wurden (Abbildung 17C).

### 8.2.5. Charakterisierung von Vollhautmodellen durch mikrowellenbasierte Quantifizierung der Hydratation

Abbildung 18 zeigt den histologischen Vergleich zwischen 3D-Vollhautmodellen (FT 3D skin), welche mit unterschiedlichen Osmolaritäten behandelt wurden. Wie bei den Dermismodellen erkennt man eine zunehmende sinusoidale Form der Zellen mit steigender Osmolarität. Bei den mit 20 % NaCl behandelten Modellen bedingt der hohe Salzgehalt der Zellen ein leichteres Ablösen der Epidermis vom restlichen Modell.



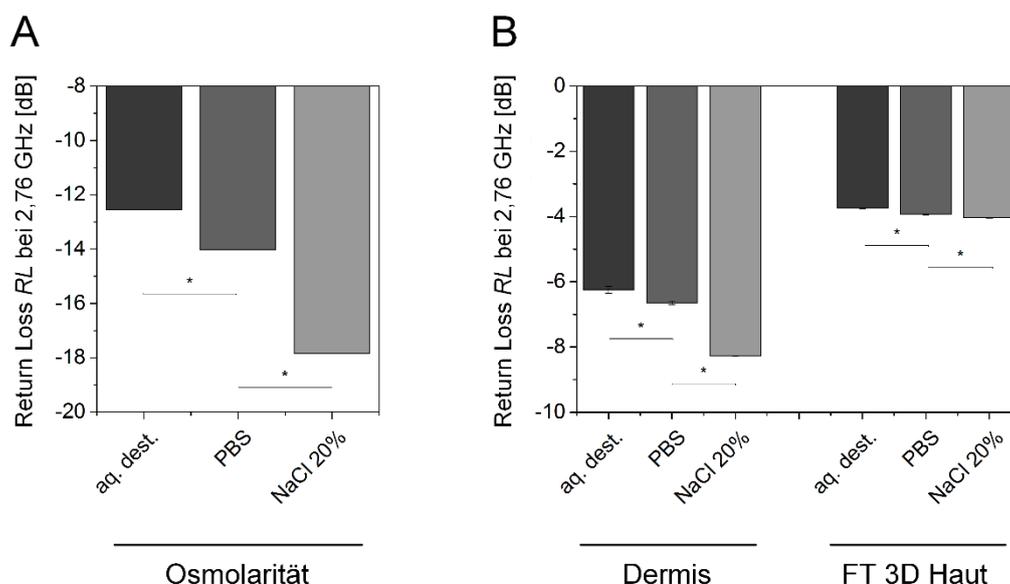
**Abbildung 18: Mikrowellen-Signal von Vollhautmodellen bei unterschiedlicher Osmolarität.** (A) H&E-Färbung von 3D Vollhautmodellen (FT 3D skin) zeigen eine zunehmende sinusoidale Zellmorphologie mit steigender Osmolarität von aq. dest. zu NaCl 20 %. (B)  $f_{min}$  steigt mit höher werdender Osmolarität der

untersuchten Modelle. (C)  $RL$  sank mit steigender Osmolarität der umgebenden Lösung. Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikat gemessen wurden.

Bei der Analyse des Mikrowellensignals konnten zwei Einflussfaktoren detektiert werden.  $f_{min}$  verschiebt sich in Präsenz einer epidermalen Schicht hin zu höheren Frequenzen bei steigender Osmolarität (Abbildung 18B). Dies konnte bereits für die POC-Patch-Antenne gezeigt werden. Zudem konnte festgestellt werden, dass  $RL$  bei höher werdender Osmolarität abnimmt (Abbildung 18C). Diese Tendenz ist umgekehrt zu den Versuchen mit der POC-Patch-Antenne.  $RL$  steigt mit höherer Osmolarität von  $RL_{aq,dest} = -5,55$  dB für aq. dest. an bis hin zu  $RL_{NaCl\ 20\%} = -6,51$  dB für Hautmodelle, die mit einer Konzentration von 20 % NaCl inkubiert wurden.

### 8.2.6. Prototypbasierte Messungen ermöglichen die Diskriminierung zwischen verschiedenen Analysegruppen

Zur Verifizierung der Erfassung aussagekräftiger Daten bei gleichbleibender Frequenz der Analyse wurde  $RL$  der bereits gezeigten Experimente bei einer definierten Frequenz von  $f = 2,76$  GHz untersucht (Abbildung 19). Im Hinblick auf eine Produktentwicklung würde dies die Komplexität des zu entwickelnden Systems reduzieren. Verglichen mit aq. dest. mit  $RL = -12,5$  dB sank  $RL$  mit steigender Osmolarität bis zu  $RL = -18$  dB für NaCl 20 % (Abbildung 19A).



**Abbildung 19: Reflektiertes Signal  $RL$  der Messungen mit Lösungen und *In-vitro*-Testmodellen bei einer Frequenz von 2,76 GHz.** (A) Mikrowellenbasierte Messungen an Lösungen. Das  $RL$  zeigt sinkende Messwerte bei Messungen mit steigender Osmolarität bis hin zu NaCl 20 %. (B) Mikrowellenbasierte Messungen an *In-vitro*-Testmodellen.  $RL$  zeigte sinkende Messwerte bei einer konstanten Frequenz von

$f = 2,76$  GHz für Messungen mit dermalen (Dermis) und Vollhautmodellen (FT 3D skin). Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Sternchen indizieren statistisch relevante Unterschiede ( $p$ -Wert  $\leq 0,5$ ). Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikat gemessen wurden.

Betrachtet man den  $RL$  der untersuchten *in-vitro*-Testmodelle bei einer Frequenz von 2,76 GHz, zeigten dermale und FT 3D Hautmodelle einen fallenden  $RL$  bei steigender Osmolarität (Abbildung 19B). Für die dermalen Äquivalente sanken die Werte von  $RL_{aq,dest.} = -6,25$  dB für aq. dest.- behandelte Proben hin zu  $RL_{NaCl\ 20\%} = -18$  dB für NaCl behandelte Proben einer Konzentration von 20 % NaCl. Für die FT 3D Hautmodelle waren die Unterschiede zwischen den Modellen geringer.  $RL$  sank von  $RL_{aq,dest.} = -3,75$  dB für aq. dest. behandelte Proben hinunter zu  $RL_{NaCl\ 20\%} = -4,1$  dB für Proben, die mit 20 % NaCl behandelt wurden.

### **8.3. Ausarbeitung zulassungsrelevanter Dokumente zur Beantragung einer klinischen Prüfung**

Zur Überprüfung des technischen Demonstrators am Anwender im Rahmen einer klinischen Prüfung und im Hinblick auf die potentielle Zulassung des Dehydratations-Frühwarnsystems als Medizinprodukt wurden Teilaspekte der technischen Dokumentation ausgearbeitet. Mit deren Hilfe sollten die zuständigen Stellen, das Bundesministerium für Arzneimittel und Medizinprodukte sowie die Ethikkommission, zur Bewilligung der klinischen Überprüfung eine Abschätzung hinsichtlich der Sicherheit und Leistungsfähigkeit des technischen Demonstrators unter Berücksichtigung der späteren Anwendung vornehmen. Zur Durchführung dieser Bewertung war es notwendig, neben den praktischen Versuchen zusätzlich auf die beabsichtigte Anwendung und damit einhergehende Risiken einzugehen.

#### **8.3.1. Zweckbestimmung des Dehydratations-Frühwarnsystems**

Das Dehydratations-Frühwarnsystem ist ein tragbares batteriebetriebenes und netzunabhängiges Medizinprodukt, das zur Nutzung auf der Hautoberfläche des Körpers angebracht wird, um den Wasserhaushalt des menschlichen Körpers über einen Zeitraum von mehreren Tagen kontinuierlich zu überwachen und gegebenenfalls frühzeitig eine mögliche Dehydratation zu diagnostizieren. Mögliche Anwendergruppen sind Pflegeeinrichtungen für Senioren sowie Patienten mit dem Verlust des Durstgefühls. Des Weiteren soll der Sensor für die private Überwachung des Gesundheitszustandes verwendet werden können.

Die Hauptfunktion des Dehydratations-Frühwarnsystems ist die nichtinvasive Messung des Wasserbedarfes. Nach dem Auflegen des Sensors auf die Hautoberfläche werden elektromagnetische Wellen in regelmäßigen Abständen im Mikrowellenbereich in den Körper des Patienten gesendet und vom Gewebe absorbiert. Der reflektierte Anteil des Ausgangssignals wird von einem Detektor aufgenommen. Basierend auf der Analyse des reflektierten Signals ergeben sich die Rückschlüsse über den aktuellen relativen Hydratationszustand des menschlichen Körpers. Durch die optionale Kombination mit weiteren nichtinvasiven Messmethoden kann eine Aussage über den Wasserbedarf getroffen werden. Das Aussenden der elektromagnetischen Wellen und weiterer Parameter wie das Messen der Temperatur stellen eine rein physikalische Wirkungsweise dar. Es werden bei der Anwendung keine Zusätze wie pharmakologische oder immunologische Mittel benötigt um die Aussage über den Hydratationszustand des Körpers zu bestimmen.

Die aufgenommenen Daten werden im finalen Produkt an ein externes Speichermedium über neuartige Datenübertragungssysteme wie die Nahfeldkommunikation (Nearfield communication, NFC) übertragen. Das Senden der Daten findet dabei über eine Distanz von wenigen Metern statt.

Bezüglich der Anwendungsumgebung und der Mobilität des Messgerätes kann der Sensor im Freien uneingeschränkt getragen werden. Dabei sollten jedoch noch zu definierende Restriktionen bei der Nutzung im feuchten oder tropischen Milieu, sowie bei extremen Minus- oder Plus-temperaturen beachtet werden. Diese Restriktionen werden im Rahmen von Produktvalidierungsstudien zu einem späteren Entwicklungszeitpunkt an einem produktnahen Messsystem evaluiert. Zur Verhinderung unvorhergesehener Folgen werden Anwendungen des Dehydratationssensors bei Patienten mit Herzschrittmachern, mit aktiven Implantaten sowie bei den Messungen zur Bestimmung der bakteriellen Infektionen, über frischen Thrombosen und bei Schwangerschaft über dem Uterusbereich ausgeschlossen. Die Reinigung und Desinfektion erfolgt durch eine Wischdesinfektion mit einem medizinischen Desinfektionsmittel. Die Anwendung erfolgt ausschließlich entsprechend einer Gebrauchsanleitung, um eine Falschnutzung zu vermeiden. Zur Gewährleistung einer zuverlässigen Datenerfassung ist eine vorherige Kalibrierung des Systems auf den jeweiligen Nutzer vorgesehen.

### **8.3.2. Klassifizierung des aktiven diagnostischen Medizinproduktes nach Medizinproduktegesetz als sonstiges Medizinprodukt der Klasse IIa**

Basierend auf der gültigen Definition von Medizinprodukten und der vorgesehenen Zweckbestimmung wurde das System als Medizinprodukt nach dem Gesetz über

Medizinprodukte (Medizinproduktegesetz, MPG) klassifiziert [142]. Für die Identifikation ist § 3 (1) im MPG gültig. Das Dehydratations-Frühwarnsystem fällt unter den Gültigkeitsbereich sonstiger Medizinprodukte nach der Richtlinie 93/92/EWG, da es zur Untersuchung eines physiologischen Vorgangs und der Überwachung des Hydratationshaushalts eingesetzt wird und kein *in-vitro*-Diagnostikum nach 98/79/EG ist bzw. nicht implantiert wird und damit nicht unter den Gültigkeitsbereich der Richtlinie 90/385/EWG fällt.

Da es zu keinerlei pharmakologischer Wirksamkeit kommt, kann der Gültigkeitsbereich des Arzneimittelgesetzes ausgeschlossen werden.

Die Klassifizierung des Dehydratations-Frühwarnsystems erfolgte nach Anhang IX der Richtlinie 93/42/EWG. Das Medizinprodukt verbleibt länger als 60 Minuten, jedoch kürzer als 30 Tage am Anwender, somit ist die Anwendungsdauer kurzzeitig. Da die Messungen nichtinvasiv erfolgen, ist es kein wiederverwendbares chirurgisches Instrument. Im Betrieb ist das Produkt von einer Stromquelle abhängig und fällt somit unter die Gültigkeit als aktives Medizinprodukt. Des Weiteren ist beabsichtigt, dass das spätere Medizinprodukt auf Basis gemessener Werte eine Handlungsempfehlung bezüglich der Wasseraufnahme gibt. Hinsichtlich dieser Funktion fällt es unter die Kategorie aktiver diagnostischer Medizinprodukte.

Unter Berücksichtigung dieser Einordnung entstehen Einschränkungen hinsichtlich der möglicherweise geltenden Klassifizierungsregeln. Regel 1 – 4 ist für nichtinvasive Produkte gültig, Regel 5 – 8 gilt für invasive Produkte und damit nicht für das zu klassifizierende Produkt. Im Rahmen der zusätzlichen Regeln 10 – 12 für aktive Produkte gilt Regel 10, da das Dehydratations-Frühwarnsystem dazu bestimmt ist, Energie in den Körper des Anwenders abzugeben und die Kontrolle von vitalen Parametern des Körpers zu ermöglichen, ohne dabei den Anwender, z.B. durch Veränderung der Herzfunktion oder des zentralen Nervensystems, zu gefährden. Die besonderen Regeln 13 – 18 sind ebenfalls nicht geltend. Dementsprechend wurde das Dehydratations-Frühwarnsystem als aktives diagnostisches Medizinprodukt der Klasse IIa kategorisiert.

### **8.3.3. Bewertung des Dehydratations-Frühwarnsystems anhand der vorläufigen Gefährdungsanalyse nach DIN EN ISO 14971**

Für die Erstellung einer Risiko-Nutzen-Bewertung, mussten möglicherweise auftretende Gefahrensituationen erfasst, nach ihrem Risiko bewertet und im Falle eines nicht vertretbaren Risikos mit Risikominderungsmaßnahmen versehen werden, um die Gefahrensituation anschließend neu zu bewerten. Die bewerteten Gefahrensituationen und daraus

---

hervorgehenden Risiken und abgeleitete Mitigationsmaßnahmen können Tabelle 17 entnommen werden.

**Tabelle 17: Vorläufige Gefährdungsanalyse.** Einstufung von Gefährdungssituationen nach der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* und dem Schweregrad *B* in unterschiedlichen Risikokategorien und Re-Bewertung von Gefährdungssituationen, welche im Rahmen der Erstbewertung ein nicht vertretbares Risiko ausweisen. Bewertung nach der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* und dem Schweregrad *B* in unterschiedlichen Risikokategorien. Die Einstufung basiert auf dem Schaden, der durch eine Gefährdungssituation verursacht wird.

Nr.	Gefährdung	Vorhersehbare Abfolge von Ereignissen	Gefährdungssituation	Schaden	B	A	Empfohlene Maßnahme	Verbesserter Zustand	B	A
<b>R1</b>	<b>Energetische Gefährdungen</b>									
<b>R1.1</b>	<b>Elektromagnetische Energie</b>									
<b>R1.1.1</b>	<b>Beeinflussung anderer Therapiegeräte</b>	(1) Sensor baut elektrisches Feld (2) Beeinflussung Therapeutische Implantate	Funktionsausfall	Tod des Patienten	V	2	(1) Warnhinweise (2) Angepasste Zweckbestimmung	Therapiegeräte werden nicht beeinflusst, da Nutzung untersagt	V	1
<b>R1.1.2</b>	<b>Beeinflussung anderer Diagnosegeräte</b>	(1) Sensor baut elektrisches Feld (2) Beeinflussung Therapeutische Implantate (Störung)	Funktionsstörung	Schädigung der Organe, Tod	V	2	(1) Warnhinweise (2) Angepasste Zweckbestimmung	Diagnosegeräte werden nicht beeinflusst	V	1
<b>R1.2</b>	<b>Strahlungsenergie – nichtthermische Wirkung</b>	Aussenden der elektromagnetischen Wellen mit einer zu hohen Leistung	Störung biophysiologicaler Prozesse	Unwohlsein, Schädigung der Organe	IV	1	(1) Einhaltung Grenzwerte (2) Verkürzen Messintervalle	Keine Störung	IV	1
<b>R1.3</b>	<b>Thermische Energie</b>									
<b>R1.3.1</b>	<b>Erwärmung des Gewebes</b>	(1) Aussenden Strahlung (2) Erwärmen des Gewebes (3) Wärmeabgabe verhindert	Störung der Stoffwechselfvorgänge	Unwohlsein, Schädigung der Organe	IV	1	(1) Einhaltung Grenzwerte (2) Verkürzen Messintervalle	Keine Schädigung	IV	1
<b>R1.3.2</b>	<b>Überhitzen des Sensors</b>	(1) Hohe Nutzungsdauer (2) Erhitzung (3) Sensorschaltung defekt	keine Messung mehr möglich	Dehydratation	III	1	(1) Einhaltung Grenzwerte (2) Temperaturresistenz	Keine Überhitzung		
<b>R1.4</b>	<b>Mechanische Energie</b>									
<b>R1.4.1</b>	<b>Schwerkraft – Sturz</b>	(1) Sensor stürzt auf den Boden (2) Schaden (3) Defekt	Ausbleiben der Messungen des Wasserhaushaltes	Dehydratation	III	4	(1) Erhöhung der Stabilität durch äußere Gehäuse (2) Stabile Schaltung	Messung nach Sturz möglich	III	2
<b>R1.4.2</b>	<b>Schwerkraft – Verrutschen des Dehydratationssensors</b>	(1) inkorrekte Anbringung (2) Messdaten verfälscht	Falsche, keine Warnung vor Dehydratation	Dehydratation	III	2	N.A.	N.A.	III	2
<b>R1.4.3</b>	<b>Druck</b>	Armelenkt des Patienten ist dicker als der Durchschnitt der Patienten	Sensor drückt zu stark auf Gewebe	Unwohlsein, Schmerz	III	2	N.A.	N.A.	III	2

Nr.	Gefährdung	Vorhersehbare Abfolge von Ereignissen	Gefährdungssituation	Schaden	B	A	Empfohlene Maßnahme	Verbesserter Zustand	B	A
<b>R2</b>	<b>Biochemische Gefährdungen</b>									
<b>R2.1</b>	<b>Biologische Gefährdungen. Bakterien/Viren</b>	(1) Schwer desinfizierbare Stellen (2) unvollständige Desinfektion (3) Erhöhte Keimkontamination	Kontaminiertes Produkt	Infektion	IV	3	(1) Erleichterte Reinigung (2) antibakterielle Oberflächen	Reduzierte mikrobielle Belastung	IV	1
<b>R2.2</b>	<b>Chemische Gefährdung – Reinigung-, Desinfektionsmittel</b>	(1) Desinfektionsmittel reizend (2) Ansammlung von Desinfektionsmittel am Produkt	Kontakt Desinfektionsmittel und Haut	Entzündung, Ausschlag	II	2	N.A.	N.A.	II	2
<b>R2.3</b>	<b>Biokompatibilität</b>	Verwendung nicht biokompatibler Werkstoffe	Materialkontakt zu Haut	Hautreizungen, Ausschlag	III	1	Biokompatible Materialien nach DIN EN ISO 10993-1	Keine Reizungen	III	1
<b>R3</b>	<b>Gefährdungen durch den Zustand des Sensors</b>									
<b>R 3.1</b>	<b>Anfälligkeit des Sensors</b>									
<b>R3.1.1</b>	<b>Elektromagnetische Interferenzen</b>	(1) Signalüberlagerung mit anderen Geräten (2) Messdaten verfälscht	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	Einhaltung zugelassener Frequenzbereiche	Korrekte Datenerfassung	III	2
<b>R3.1.2</b>	<b>Feinstaub</b>	(1) Feinstaub im Geräteinneren (2) Dysfunktion	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	Staubdichtes Gehäuse	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R3.1.3.1</b>	<b>Wasser – Schädigung des Schaltkreises</b>	(1) Feuchtigkeit/Wasserkontakt (2) Dysfunktion	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	Wasserdichtes Gehäuse	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R3.1.3.2</b>	<b>Wasser – Elektrischer Schlag</b>	(1) Feuchtigkeit/Wasserkontakt (2) Kurzschluss	Elektrischer Schlag	Nutzungsbedenken	I	2	Wasserdichtes Gehäuse	erfolgreiche Messung, Vertrauen in Technik	I	2
<b>R3.1.3.3</b>	<b>Wasser – Messung</b>	(1) Schweißansammlung Messstelle (2) Messdaten verfälscht	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	Atmungsaktives Design	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R3.1.4</b>	<b>Temperatur</b>	(1) niedrige Außentemperatur (2) Messdaten des Sensors sind verfälscht	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	(1) Messung Umgebungstemperatur (4) Warnhinweis in Bedienungsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R3.1.5</b>	<b>Lagerung und Bedienung des Geräts außerhalb der vorgeschriebenen Umgebung</b>	(1) niedrige Außentemperatur (2) Messdaten des Sensors sind verfälscht	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	(1) Temperatur beständige Schaltung, Gehäuse (2) Warnhinweis in Bedienungsanleitung	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R3.1.6</b>	<b>Durch Unfall verursachter mechanischer Schaden</b>	(1) mechanischer Schaden (2) Dysfunktion	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	Sturzresistente Schaltung, Gehäuse	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R3.1.7</b>	<b>Witterungsverhältnisse</b>	(1) extreme Nutzungsumgebung (2) reduzierte Lebensdauer	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	3	(1) Alterungstestungen (2) Warnhinweise	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R3.2</b>	<b>Mangelhafte Stromversorgung</b>	(1) keine Stromversorgung	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	Warnung (optisch, Ton, haptisch)	erfolgreiche Messung	III	2

Nr.	Gefährdung	Vorhersehbare Abfolge von Ereignissen	Gefährdungssituation	Schaden	B	A	Empfohlene Maßnahme	Verbesserter Zustand	B	A
<b>R4</b>	<b>Gefährdungen durch den Betrieb</b>									
<b>R4.1</b>	<b>Funktion</b>									
<b>R4.1.1</b>	<b>Unrichtige Ausgabe oder Funktionsweise</b>	(1) Konstruktionsfehler	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	kontinuierliche Qualitätsüberprüfung	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R4.1.2</b>	<b>Unkorrekte Messung</b>	(1) fehlerhafte Anbringung	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	5	(1) detaillierte im Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R4.1.3</b>	<b>Fehlerhafte Datenübertragung</b>	(1) Störungen Datenschnittstelle	Fehlerhafte Warnung	Dehydratation	III	4	(1) Kontrollsysteme (2) Warnhinweis im Störfall	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R4.1.4</b>	<b>Verlust oder Abbau der Funktion – Akkulaufzeit</b>	(1) Lange Nutzungszeiten (2) Abschwächen Akkulaufzeit (3) Abgeschwächtes Signal	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	3	(1) Statusanzeige (2) Funktionskontrolle	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R4.1.5</b>	<b>Verlust oder Abbau der Funktion – Mechanische Drift</b>	(1) Lange Nutzungszeiten (2) Abschwächen Akkulaufzeit (3) Abgeschwächtes Signal	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	3	(1) Festlegung maximale Nutzdauer	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R4.1.6</b>	<b>Zeitfaktor zwischen den Messungen</b>	Große Messabstände	Zu späte Warnung	Dehydratation	III	4	(1) anpassbare Intervallabstände (2) Warnhinweise	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R4.1.7</b>	<b>Keine Erfassung der aktuellen Tätigkeit</b>	Nichtberücksichtigung Betätigungsart	Zu späte Warnung	Dehydratation	III	4	(1) Aufnahme Vergleichsparameter	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R4.2</b>	<b>Anwendungsfehler</b>									
<b>R4.2.1</b>	<b>Aufmerksamkeitsversagen</b>	Ausschließliche Anzeige über Display	keine Warnung	Dehydratation	III	3	Multifaktorielle Rückmeldemechanismen	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R4.2.2</b>	<b>Absichtliches Versagen zur Vermeidung von Mehraufwand</b>	(1) Warnung Dehydratation Pflegebedürftiger (2) keine Anpassung Wasserverabreichung	Kein Einschreiten des Personals	Dehydratation	III	3	(1) Geräteinternes Protokollieren (2) Eskalationsmechanismen	erfolgreiche Messung	III	1
<b>R4.2.3</b>	<b>Versagen aufgrund mangelnder Kenntnisse/ ungeübten Personal</b>	Dehydratationswarnung	Übersehen Warnung	Dehydratation	III	2	(1) Multifaktorielle Rückmeldemechanismen (2) Training zur Nutzung	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R4.3</b>	<b>Komplizierte Bedienbarkeit</b>									
<b>R4.3.1</b>	<b>Missverständliche Ausgabe der Daten</b>	Fehlerhafte Interpretation Daten	Falsche Therapie	Tod des Patienten, Schädigung der Organe	V	2	(1) Training zur Nutzung (2) Usability Test (3) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	V	1
<b>R4.3.2</b>	<b>Komplexes oder verwirrendes Kontrollsystem</b>	(1) Gerät im Ruhezustand oder abgeschaltet	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Usability Test (3) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2
<b>R4.3.3</b>	<b>Unklarer oder zweideutiger Gerätezustand</b>	(1) Akkuzustand nicht sichtbar (2) Gerät im Ruhezustand, abgeschaltet	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Usability Test (3) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2

Nr.	Gefährdung	Vorhersehbare Abfolge von Ereignissen	Gefährdungssituation	Schaden	B	A	Empfohlene Maßnahme	Verbesserter Zustand	B	A
R4.3.4.1	Hörbarkeit, Sichtbarkeit oder Fühlbarkeit des Feedbacks – zu leise	(1) zu geringe Lautstärke Warnsignal	Keine Warnung	Dehydratation	II	4	(1) Anpassung Lautstärke (2) multifaktorielle Warnung	erfolgreiche Messung	II	1
R4.3.4.2	Hörbarkeit, Sichtbarkeit oder Fühlbarkeit des Feedbacks - zu laut	(1) zu hohe Lautstärke Warnsignal	Patient hat Schmerzen	Tinnitus des Patienten, Gehörsturz	III	3	(1) Anpassung Lautstärke (2) multifaktorielle Warnung	erfolgreiche Messung	III	1
R4.3.5	Falsche Identifikation des Patienten	(1) Behandlung mehrerer Patienten (2) gemeinsame Datenanzeige (3) Verwechseln Warnmeldungen	Fehlerhafte Therapie	Schädigung der Organe, Tod	V	2	(1) Training zur Nutzung (2) Usability Test (3) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	V	1
<b>R5</b>	<b>Gefährdungen durch Informationen</b>									
R5.1	<b>Kennzeichnung</b>									
R5.1.1	Unvollständige Gebrauchsanweisung	(1) Anwendungsort unklar (2) fehlerhafte Montage	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2
R5.1.2	Unzureichende Beschreibung der Leistungsmerkmale	Aussenden elektromagnetische Wellen mit zu hoher Intensivität	Störung biophysiologicaler Prozesse	Unwohlsein, Schädigung der Organe	IV	1	N.A. (Einhalten zugelassener Strahlungswerte)	N.A.	IV	1
R5.1.3	Unzureichende Spezifikation der Zweckbestimmung	Unklare Zweckbestimmung	Keine, fehlerhafte Messung	Dehydratation	III	1	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	Nachvollziehbare Zweckbestimmung	III	1
R5.1.4.1	Unzureichende Information über Gebrauchseinschränkungen	Unklare Zweckbestimmung	nicht bestimmungsgemäße Anwendung (verwundete Haut)	Entzündung der Wunde	III	1	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	Nachvollziehbare Zweckbestimmung	III	1
R5.1.4.2	Unzureichende Information über Gebrauchseinschränkungen	Unklare Zweckbestimmung	nicht bestimmungsgemäße Anwendung (am Embryo)	Schädigung des Embryos	V	1	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	Nachvollziehbare Zweckbestimmung	V	1
R5.1.4.3	Unzureichende Information über Gebrauchseinschränkungen	Unklare Zweckbestimmung	nicht bestimmungsgemäße Anwendung (am Tumor)	Stimulieren des Tumorwachstums	V	1	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	Nachvollziehbare Zweckbestimmung	V	1
R5.2	<b>Betriebsanweisung</b>									
R5.2.1	Unzureichende Spezifikation von mit dem Medizinprodukt zu verwendenden Zusatzgeräten	Unklare Zweckbestimmung	Keine Aktion bei Warnhinweisen	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	Nachvollziehbare Zweckbestimmung	III	2
R5.2.2	Unzureichende Spezifikation der Überprüfungen vor Gebrauch	(1) Fehlerhafte Überprüfung vor Anwendung (2) Dysfunktion unerkant	Fehlerhafte, keine Messung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung (3) Warnhinweise	erfolgreiche Messung	III	2
R5.2.3	Überkomplizierte Betriebsanweisungen	Unklare Zweckbestimmung	Fehlerhafte, keine Messung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2

Nr.	Gefährdung	Vorhersehbare Abfolge von Ereignissen	Gefährdungssituation	Schaden	B	A	Empfohlene Maßnahme	Verbesserter Zustand	B	A
R5.3	Warnhinweise zu Nebenwirkungen	(1) Mangelnde Warnhinweise zu Nebenwirkungen	Anwendung des Dehydratationssensors	Eintretende Nebenwirkungen	V	2	(1) Warnhinweise (2) Gebrauchsanleitung	keine Nebenwirkungen	V	1
R5.4	Patientendaten									
R5.4.1	Manipulation des Betriebssystems	Unsichere Datenspeicherung	Einsicht Dritter	Verletzung Privatsphäre, Persönlichkeitsrechte	IV	3	sichere Datenspeicherung	Schutz Privatsphäre, Persönlichkeitsrechte	IV	1
R5.4.2	Unsichere Übermittlung medizinischer Daten	(1) Datenübertragung auf anders Geräten	Einsicht Dritter	Verletzung Privatsphäre, Persönlichkeitsrechte	IV	3	Eindeutige Datenübertragung	Schutz Privatsphäre, Persönlichkeitsrechte	IV	1
R6	Gefährdung durch das Design									
R6.1	Ergonomie									
R6.1.1	Scharfe Kanten oder Stellen	Produktionsrückstände, mangelnde Nachbearbeitung	Kontakt zu empfindliche Haut	Verletzten des Hautgewebes	I	4	Qualitätsüberprüfung vor Freigabe	Reduktion der Verletzungsgefahr	I	1
R6.1.2.1	Armband zur Befestigung zu weit	Fehlerhafte Anbringung (zu locker)	Fehlerhafte, keine Warnung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2
R6.1.2.2	Armband zur Befestigung zu eng	Fehlerhafte Anbringung (zu fest)	Fehlerhafte, keine Warnung	Dehydratation	III	4	(1) Training zur Nutzung (2) Gebrauchsanleitung	erfolgreiche Messung	III	2
R6.1.3	Größe des Dehydratationssensors zu groß	(1) Sensor auffällig (2) Ablegen Sensor	Fehlerhafte, keine Warnung	Dehydratation	III	2	(1) Usability-Test (2) angepasstes Design	Hohe Nutzerakzeptanz	III	2
R6.2	Gewicht									
R6.2.1	Gewicht zu hoch	Sensor zu schwer	Misshaltung Anwender	Schmerzen/ Verspannungen	I	2	(1) Usability-Test (2) angepasstes Design	Hohe Nutzerakzeptanz	I	2
R6.2.2	Gewicht zu hoch	(1) Sensor zu schwer (2) Veränderte Messposition	Fehlerhafte, keine Messung	Dehydratation	III	4	(1) Usability-Test (2) angepasstes Design	erfolgreiche Messung	III	2
R6.3	Ausgrenzung durch Stigmatisierung	(1) Auffälliges Design	Stigmatisierung im Alltag	Unwohlfühlen	I	3	(1) Usability-Test (2) angepasstes Design	Hohe Nutzerakzeptanz	I	3
R6.4	Belastung der Umwelt	Unsachgemäße Entsorgung Batterien	Freisetzen Schadstoffe	Umweltbelastung	I	4	Batterien mit hohen Sicherheitsstandards nutzen	Kein Austritt schädlicher Substanzen	I	2

Die Risiken aus der Erstbewertung wurden in die halbquantitative Risikomatrix eingetragen, um zu visualisieren, welche Gefährdungen vertretbar sind bzw. Risikominderungsmaßnahmen erfordern (Tabelle 18). Die Visualisierung zeigte, dass insgesamt 40 bewertete Gefährdungen im nicht vertretbaren Bereich der Risikomatrix lagen.

**Tabelle 18: Halbquantitative Risikomatrix nach der Erstbewertung zu erwartender Gefahrensituationen.** Einstufung von Gefährdungssituationen nach der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* und dem Schweregrad *B*. Die Auflistung und Bewertung der Gefährdungssituationen kann Tabelle 17 entnommen werden. Graue Felder markieren nicht vertretbare Risiken, weiße Felder vertretbare Risiken.

		Schweregrad <i>B</i>				
		(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)
Auftrittswahrscheinlichkeit <i>A</i>	(5)	-	-	1	-	-
	(4)	1	1	21	-	-
	(3)	1	-	8	3	-
	(2)	3	1	4	-	5
	(1)		-	4	3	2

Für insgesamt 40 Gefährdungen wurden entsprechende Minderungsmaßnahmen vorgeschlagen, mit deren Hilfe das mit einer Situation einhergehende Risiko in den vertretbaren Bereich reduziert werden kann (Tabelle 17). Die Gefahrensituationen wurden unter Berücksichtigung der vorgeschlagenen Minderungsmaßnahmen re-bewertet, um einen Vergleich zur Erstbewertung ziehen zu können (Tabelle 19). Minderungsmaßnahmen, welche bei einigen Gefahren zur Reduktion des Risikos geführt haben, sind: Schulungsmaßnahmen zur effizienten und sicheren Anwendung des Medizinproduktes, ein nutzeroptimiertes Design sowie integrierte Sicherheitsmaßnahmen, die eine sichere und bestimmungsgemäße Anwendung des Systems ermöglichen. Zudem ist ein wichtiger Punkt, eine optimierte Bedienanleitung zu erstellen, mit deren Hilfe es möglich ist, selbst ohne vorherige Unterweisung eine sichere Anwendung zu gewährleisten. Hierbei zeigte sich, dass der Schweregrad *B* unverändert bleibt, es durch Minderungsmaßnahmen jedoch zur Reduktion der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* kommt.

**Tabelle 19: Halbquantitative Risikomatrix nach der Einarbeitung von Risikominderungsmaßnahmen.** Einstufung von Gefährdungssituationen nach der Auftretenswahrscheinlichkeit *A* und dem Schweregrad

B. Die Auflistung und Bewertung der Gefährdungssituationen kann Tabelle 17 und Tabelle 18 entnommen werden. Graue Felder markieren nicht vertretbare Risiken, weiße Felder vertretbare Risiken.

		Schweregrad B				
		(I)	(II)	(III)	(IV)	(V)
Auftrittswahrscheinlichkeit A	(5)	-	-	-	-	-
	(4)	-	-	-	-	-
	(3)	3	-	-	-	-
	(2)	2	2	22	-	-
	(1)	-	-	16	6	7

Nach der Re-Bewertung liegen jegliche Risiken im akzeptablen Bereich der Risikomatrix. Unter Berücksichtigung der bis zu diesem Zeitpunkt darstellbaren Risiken zeigten sich keine nicht akzeptablen Gefährdungen bei der Nutzung des Systems. Die Ergebnisse der vorläufigen Gefährdungsanalyse wurden zusammen mit der Zweckbestimmung und Risikoklassifizierung für die Beantragung einer klinischen Prüfung verwendet, um das Gefährdungs- im Vergleich zum Nutzungspotenzial der Anwendung zu belegen.

### 8.2.1. Beantragung einer klinischen Prüfung an Probanden

Basierend auf den Testergebnissen der Machbarkeitsanalyse und Funktionsüberprüfung des technischen Demonstrators sowie der Zweckbestimmung und Risikobewertung wurde eine klinische Prüfung des Gerätes für die weitere Entwicklung des Messsystems und Zulassung als ein Medizinprodukt Klasse IIa bei der Ethikkommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg sowie der zuständigen Bundesoberbehörde Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte, BfArM) beantragt.

Für die Medizinprodukte der Klasse IIa kann beim BfArM laut MPG § 20 Abs. 1 S. 2 einen Antrag auf das Absehen von der Genehmigungspflicht einer klinischen Prüfung bei Medizinprodukten mit geringem Risiko gestellt werden. Dieser Antrag wurde vorbereitet und umfasste eine Risiko-Nutzen-Bewertung des zu prüfenden Medizinproduktes. Wie diese belegen konnte, überwiegt der potentielle Nutzen durch die Dehydratations-Prävention die möglicherweise auftretenden Gefährdungen. Zudem liegen jegliche Risiken innerhalb des akzeptablen Bereiches.

Die verblindete Studie zur „Ermittlung der optimalen Mikrowellenfrequenz sowie der optimalen Messstelle zur Entdeckung einer Dehydratation mit der neuen Sensortechnologie“ wurde unter

der Studien- und produktspezifischen Eudamed-Nr.: CIV-15-10-013925 registriert, welche durch das DIMDI vergeben wurde. Die Testung hatte das Ziel, durch die Auslösung einer milden akuten Dehydratation von etwa 2 % des Körpergewichtes die Funktionalität des technischen Demonstrators bei der Erfassung des Wasserhaushaltes zu validieren. Teilnehmer sollten gesunde, männlichen Probanden zwischen 18 und 35 Jahren sein. Durch die definierten Ausschlusskriterien waren die Personen mit Begleitmedikation, mit bereits bekannten Erkrankungen wie Bluthochdruck, Diabetes etc. sowie Personen mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen (Herzschrittmacher) aus dem Anwendungstest ausgeschlossen. Des Weiteren wurde die Teilnahme der weiblichen Probanden, Kinder, Personen mit Operation (die innerhalb 3 Monate zum Studienbeginn stattgefunden haben) und mit einer Blut- oder Plasmaspende (bis zu 6 Wochen vor Studienbeginn) von der klinischen Prüfung verhindert. Ein weiteres Ausschlusskriterium war eine bekannte Kontraindikation von Furosemid.

Der Studienablauf in der Klinik beinhaltet die Überprüfung des Dehydratationsgrades unter Verabreichung des Wirkstoffes Furosemid in einer Dosis von 40 mg. Hierbei werden in einem 2 h Zyklus nichtinvasiv Vitalparameter wie Blutdruck, Puls, Impedanz, Gewicht sowie das persönliche Befinden, die Wasser- und Nahrungsaufnahme und -abgabe protokolliert. Im Versuch mit einer Gesamtdauer von 3 Tagen wird an Tag 2 durch die Verabreichung von Furosemid eine Dehydratation von 2 % des Körpergewichtes erzeugt und bis zum Studienende beibehalten. Dementsprechend sollte die klinische Studie stationär stattfinden, so dass die Sicherheit der Probanden über die gesamte Studiendauer hinweg gewährleistet werden kann. Die Teilnahme fand auf freiwilliger Basis statt und die Probanden hatten das Recht, die Zusage zu widerrufen. Dabei wurde zum zusätzlichen Schutz der Probanden eine entsprechende Unfall- und Wegeversicherung abgeschlossen.

Die Bewilligungsbescheide der klinischen Prüfung durch die Ethikkommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg und das BfArM wurden zum 17.02.2016 bzw. 26.11.2015 rechtzeitig vor dem Studienbeginn erteilt.

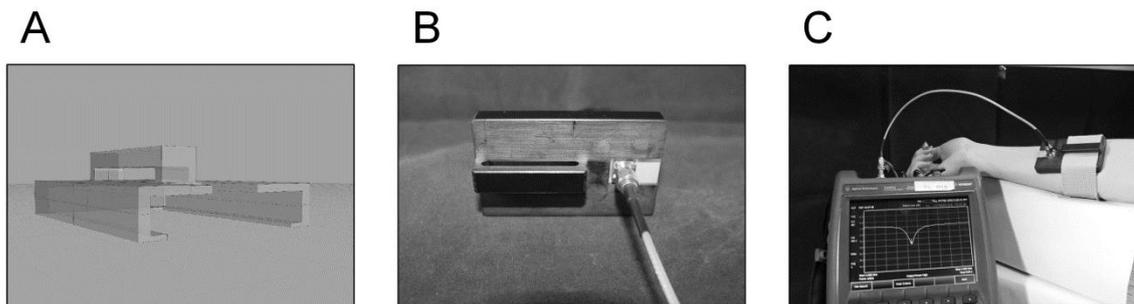
### **8.3. Anwendertestungen**

Zur Vorbereitung der klinischen Überprüfung des Messsystems, welche außerhalb der Betrachtungen dieser Arbeit stattfand, sollten mögliche Einflussfaktoren auf die Datenerfassung sowie eine Erstüberprüfung unter Normbedingungen Rückschlüsse darauf liefern, wie die Funktionsvalidierung am Probanden mit dem technischen Demonstrator ablaufen kann, um das Studienziel zu erreichen.

### 8.3.1. Vortestungen zur klinischen Überprüfung des technischen Demonstrators

#### 8.3.1.1. Konstruktion des Armbandeinsatzes

Mit dem Ziel einer vorläufigen Abschätzung hinsichtlich der Durchführbarkeit mikrowellenbasierter Messungen des Hydratationsgrades am Probanden im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgte die Konstruktion einer Haltevorrichtung für den technischen Demonstrator mittels CAD (Abbildung 20A). Die Vorrichtung wurde aus dem biokompatiblen Material PPSU gefertigt.



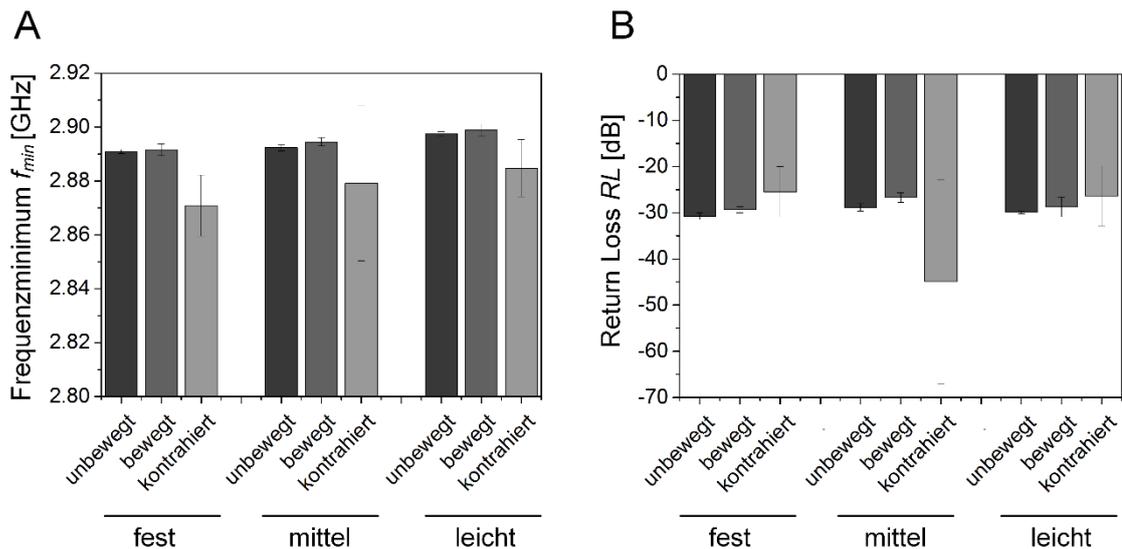
**Abbildung 20: Messaufbau für Probandentestung mittels Mikrowellentechnologie.** (A) CAD-Konstruktion der aus Polyphenylsulfon (PPSU) gefertigten Haltevorrichtung für den technischen Demonstrator. (B) Zusammenbau der Haltevorrichtung und des technischen Demonstrators. (C) Für die Durchführung der Messungen lag der Aufbau mittels eines Fitnessbandes am Arm der Testperson an.

Abbildung 20B zeigt den Zusammenbau der Haltevorrichtung und des technischen Demonstrators. Das Design des Messaufbaus ist so gewählt, dass ein Band zur Befestigung der Vorrichtung am Arm des Probanden justiert werden kann (Abbildung 20C). Zur Gewährleistung der vollständigen Biokompatibilität und Irritabilitätsprävention des Messaufbaus ist die Kontaktfläche zwischen dem technischen Demonstrator und der Haut des Probanden wie bereits bei den *in-vitro*-Versuchen mit dem biokompatiblen Silikon Silpuran 2420 vergossen.

#### 8.3.1.2. Beeinflussung des Mikrowellensignals durch Bewegung und Kontraktion an der Messstelle

Die Betrachtung der Abhängigkeit der mikrowellenbasierenden Messungen von exogenen Faktoren erfolgte durch die Aufnahme von Datenreihen mittels Messung am rechten Unterarm unter verschiedenen Bedingungen (Abbildung 21). Zu diesem Zwecke musste der Sensor mittels eines Bandes fest, mittel oder leicht am Arm des Probanden befestigt werden. Die Arretierung am Proband war hierbei jeweils reproduzierbar. Anschließend hielt der Proband den Arm still (unbewegt) oder bewegte ihn ohne Muskelkontraktion bzw. kontrahierte den Arm während der Messungen.

Bei Betrachtung von  $f_{min}$  (Abbildung 21A) konnte ein Abfallen der Frequenz bei stärkerem Anziehen des technischen Demonstrators am Arm gezeigt werden. Bei der Aufnahme der Daten war der Unterschied zwischen bewegtem und unbewegtem Arm bei festem, mittlerem und leichtem Festziehen minimal bei jeweils leicht erhöhtem  $f_{min}$ . Bei der Kontraktion des Armes während der Messungen lässt sich ein Abfallen um  $f_{min} = 0,02$  GHz bei leichtem, mittlerem und festem Positionieren des Sensors feststellen. Zudem sind unter allen Bedingungen starke Standardabweichungen bei den Messungen mit kontrahiertem Muskel zu sehen.



**Abbildung 21: Mikrowellenbasierte Messungen am rechten Unterarm eines Probanden mit unterschiedlichen Versuchsbedingungen.** (A)  $f_{min}$  sank mit stärkerer Arretierung am Arm ab. Bei der Bewegung während der Datenerfassung waren im Vergleich zur Muskelkontraktion an der Messstelle nur geringe Unterschiede in Bezug auf  $f_{min}$  mit einer geringen Abweichung zwischen den Messungen feststellbar. (B)  $RL$  zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen leichter, mittlerer und fester Positionierung des technischen Demonstrators am Arm. Bei der Bewegung während der Datenerfassung waren im Vergleich zur Muskelkontraktion an der Messstelle nur geringe Unterschiede in Bezug auf  $RL$  mit einer geringen Abweichung zwischen den Messungen feststellbar, mit Kontraktion zeigten sich starke Standardabweichungen. Balkendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Jede untersuchte Gruppe bestand aus drei individuellen Proben, welche im Triplikat gemessen wurden.

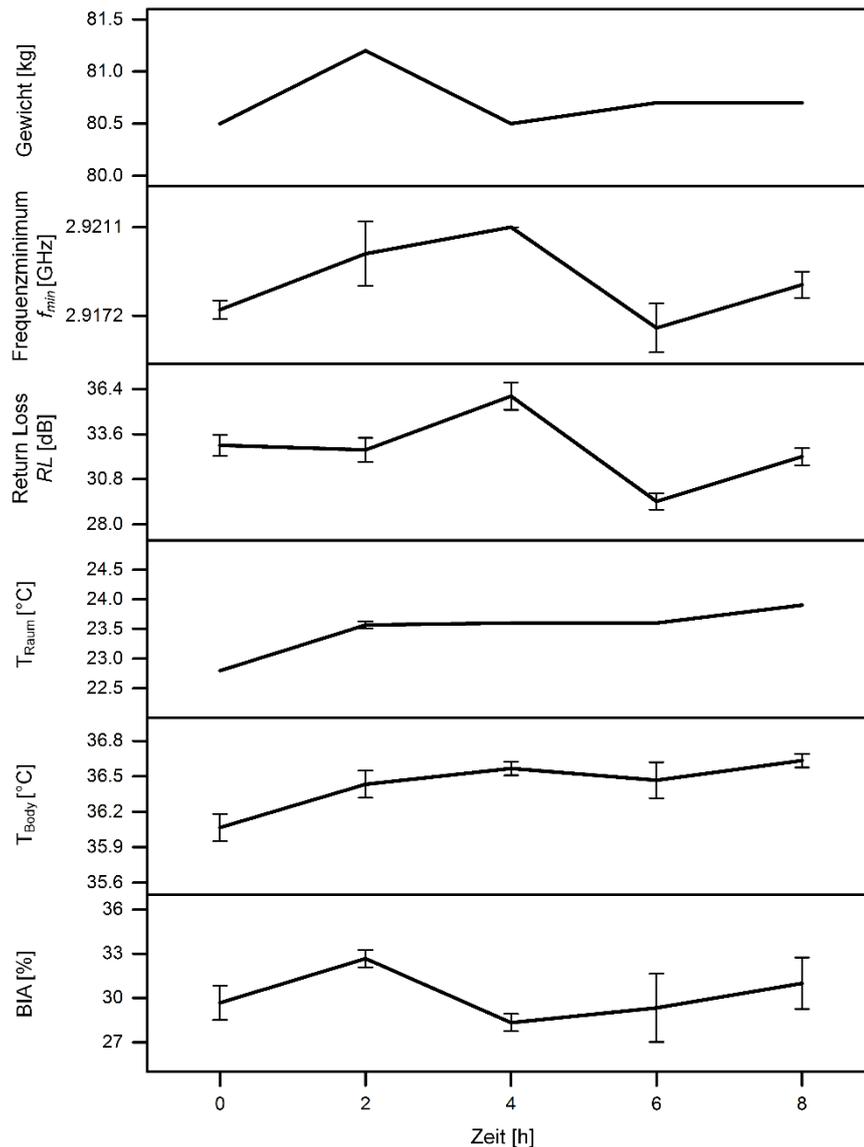
$RL$  zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen leichter, mittlerer und fester Positionierung des technischen Demonstrators am Arm (Abbildung 21B). Bei der Bewegung während der Datenerfassung waren im Vergleich zur Muskelkontraktion an der Messstelle nur geringe Unterschiede in Bezug auf  $RL$  mit einer geringen Abweichung zwischen den Messungen feststellbar. Der Kontraktionsgrad hat den größten Einfluss auf die Qualität und Reproduzierbarkeit bei der Datenerfassung, wobei auch die Straffheit beim Positionieren des

Sensorsystems eine Rolle spielt. Aus diesem Grund wurden die an diese Messreihe angeschlossenen Mikrowellenmessung bei der Erfassung mit weiteren Parametern bei fester Positionierung des technischen Demonstrators am Unterarm des Probanden und ohne Bewegung bei der Datenaufnahme durchgeführt.

#### 8.2.1.1. Mikrowellenmessungen ermöglichen die Zeitverzögerte Erfassung des Wasserhaushaltes

Als Vorversuch zur klinischen Studie und zur Validierung der Funktionalität des technischen Demonstrators im Hinblick auf die Weiterentwicklung des Systems zum Medizinprodukt wurden Messungen an einem Probanden über einen Zeitraum von einem Tag vorgenommen.

Abbildung 22 zeigt die Messergebnisse eines Probanden über 8 Stunden hinweg. Verglichen mit dem Verlauf des Gewichtes lässt sich sowohl bei  $f_{min}$ , als auch bei  $RL$  feststellen, dass der Kurvenverlauf dem des Gewichtes ähnelt, jedoch zeitlich verzögert etwa eine Messreihe später anstieg bzw. abfiel. Der Zeitintervall für eine Messreihe entsprach einem Zeitraum von 2 Stunden.



**Abbildung 22: Erfassung von Vitalparametern und Mikrowellensignalen im Zeitverlauf.** Der zeitliche Kurvenverlauf von  $f_{min}$  und  $RL$  ist im Vergleich zur Gewichtszunahme und –abnahme zeitlich um eine Messung (2 Stunden) verzögert. Die Umgebungstemperatur  $T_{Room}$  sowie die Temperatur  $T_{Body}$  an der Messstelle für die Aufnahme der Mikrowellenmessungen (rechter Unterarm) zeigten einen leichten und vergleichbaren Anstieg der Temperatur im tageszeitlichen Verlauf. Die Feuchtemessung der Hautoberfläche  $BIA$  zeigt einen vergleichbaren Verlauf zu den Schwankungen des Gewichtes. Liniendiagramme zeigen die Mittelwerte, Fehlerbalken die Standardabweichung. Jede untersuchte Gruppe bestand aus einer individuellen Probe, welche im Triplikat gemessen wurde.

Zur Diskriminierung möglicherweise störender Umgebungseinflüsse wurden weitere Parameter erfasst. Die Umgebungstemperatur  $T_{Room}$  sowie die Körpertemperatur an der Messstelle  $T_{Body}$  blieben während des gesamten Messzeitraums nahezu stabil mit Schwankungen um weniger als  $T = 0,5$  °C. Die Detektion der Hautfeuchte mittels Impedanztechnologie ( $BIA$ ) zeigt einen

---

vergleichbaren Verlauf zur Gewichtszunahme bzw. –abnahme bei einer schwankenden Feuchte der Hautoberfläche zwischen 30 – 33 %.

## 9. Diskussion

Durch Wassermangel bedingte Erkrankungen verursachen weltweit jährlich mehr als 5 Millionen Todesfälle [158]. Dementsprechend bildet die Hydratation einen essentiellen Vitalparameter, der vor allem im Bereich der ambulanten und stationären Pflege älterer Personen, während der Arbeit oder beim Sport überwacht werden sollte.

Geräte zum PHM bieten im alltäglichen Gebrauch eine Lösung zur Überwachung der Vitalparameter und könnten durch die Integration einer Technologie zur Hydratationserfassung weiter ergänzt werden. Verfahren zum PHM, welche nicht als Accessoires dienen, sondern zuverlässige Ergebnisse als Behandlungsgrundlage liefern, haben hohen nationalen wie internationalen Standards zu genügen. Als Medizinprodukt müssen die Produktentwicklungen in Anlehnung an die Richtlinie 93/42/EWG im Rahmen eines Konformitätsbewertungsverfahrens auf ihre Funktionalität und Sicherheit hin überprüft werden. Für eine optimale Nutzung im Alltag sind mobile Lösungen passend, welche sich Methoden zu Nutze machen, die eine anwenderfreundliche Bedienung erlauben und keine Einwirkung auf die Benutzerphysiologie haben. Nichtinvasive Messungen bieten dabei einen entscheidenden Vorteil, da die Anwendung eines dauerhaften Monitoring ermöglicht wird.

Das in dieser Arbeit untersuchte Verfahren zur nichtinvasiven Bestimmung der Hydratation basiert auf der Interaktion hochfrequenter elektromagnetischer Strahlung im Mikrowellenbereich mit Gewebe. Ziel dieser Arbeit war es zunächst mittels *in-vitro*-Testsystemen die Machbarkeit mikrowellenbasierter Wasseranalysen von Geweben zu zeigen, um diese anschliessend im Rahmen einer klinischen Prüfung zu bestätigen. Als Vorbereitung zur Anwendertestung wurden dafür relevante Aspekte der Produktzulassung ausgearbeitet, um eine *in-vivo*-Studie beantragen zu können. Basierend auf dem positiven Votum der zuständigen Behörden konnten als Vorversuch zu den Messungen unter Dehydratation *in vivo* der Einfluss exogener Faktoren auf die Datenaufnahme betrachtet und eine Probemessung über einen definierten Zeitraum am nicht dehydrierten Anwender vorgenommen.

Bezogen auf den Zulassungsprozess belegten die Ergebnisse die technologische Machbarkeit im Rahmen anwendungsnaher Forschung. Dies konnte durch einen technischen Demonstrator validiert werden. Potentielle Störeinflüsse auf eine reproduzierbare Datenerfassung während der klinischen Prüfung sowie mögliche Anhaltspunkte für Korrelationen zwischen Messparametern konnten im Rahmen der Vorversuche unter Normbedingungen identifiziert werden. Die Ergebnisse der Arbeit dienen somit als Grundlage zur weiteren Entwicklung eines Dehydratations-Frühwarnsystems bis hin zur Produktreife als Medizinprodukt.

Als Stand der Technik wurden bislang die Überprüfungen der Hydratation von Geweben im Wesentlichen mittels invasiver oder nicht für ein dauerhaftes Monitoring geeigneter Methoden durchgeführt [159]. Beispiele sind Verfahren wie die Analyse der Atemgase oder die Messung des Wasserhaushaltes über die Verdünnung einer Natriumbromid-Lösung. Viele der Messmittel, z.B. DEXA, Hydrodensitometrie oder Sonographie sind nicht transportabel. Invasive Messungen bergen diverse Nachteile in sich. Durch die teils destruktive Interaktion an der Grenzfläche zur Haut wird die Hautintegrität beeinträchtigt, was Verwundungen und Inflammationen verursachen kann. Infolge dessen stellt die Anwendung ein Kontaminationsrisiko dar. Dies ist vor allem in Bezug auf die Nutzung der Technologie bei älteren Menschen bedenklich, da diese meist multimorbid sind und ein nur eingeschränkt funktionales Immunsystem besitzen. Eine alternativ entwickelte Methode ist die Analyse von Speichelproben. Aber wie bereits gezeigt werden konnte, ermöglicht diese Technologie zwar die nicht destruktive Erfassung des Hydratationsstatus, ist jedoch für ein dauerhaftes Monitoring aufgrund der widerkehrenden Probennahme nur eingeschränkt verwendbar [160, 161].

Verglichen zu den erwähnten Methoden könnte die in dieser Arbeit untersuchte mikrowellenbasierte Hydratationsüberwachung signifikante Vorteile bieten. Ein Plus liegt in der altersunabhängigen Zuverlässigkeit des Messsystems aufgrund der Anpassungsmöglichkeit an die entsprechenden Nutzergruppen und –szenarien. Angepasst an den Anwender könnte das mobile System sowohl als Pflaster auf der Haut als auch integriert in ein Wearable am Körper positioniert werden. Damit hätten gleichzeitig sportlich aktive und pflegebedürftige Menschen eine Lösung, mit der man den Wasserhaushalt überwachen kann. Nach den Richt- und Leitlinien des Medizinproduktegesetzes zugelassen ist die Reproduzierbarkeit der Datenerfassung und Sicherheit des Produktes für den Anwender nachgewiesen gewährleistet. Einen weiteren Vorteil der mikrowellenbasierten Messmethode ist die Möglichkeit zur kontinuierlichen Messung, so dass Tendenzen auch über einen längeren Zeitraum hinweg aufgezeichnet werden können, um einer mögliche Dehydratation bereits im Frühstadium vorzubeugen.

Zum Zwecke der Überprüfung des auf elektromagnetischen Wellen basierenden Sensorsystems und dessen Möglichkeit zur Erfassung der Hydratation in unterschiedlichen Szenarien wurde im Rahmen der Arbeit Reflektionsmessungen im Frequenzbereich von Mikrowellen durchgeführt. Unter Verwendung einer eigens entwickelten und gefertigten Antenne (POC-Patch-Antenne) konnte ein Testszenario etabliert werden, welches eine funktionale Überprüfung des technischen Demonstrators ermöglichte. Dieser bildet die Grundlage für die weitere Produktentwicklung.

Wie der Vergleich zeigte, stimmte die Antennencharakteristik der POC-Patch-Antenne mit den elektromagnetischen Eigenschaften aus der computerbasierten Simulation überein. Zum Zwecke der Reduktion möglicher Störeinflüsse und um die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse zu detektieren, wurde sowohl für die POC-Patch-Antenne als auch den technischen Demonstrator eine definierte Messumgebung aus polymerem Werkstoff konstruiert. Die Funktionalität beider Antennen bestätigte sich durch die Analyse von Flüssigkeiten einer definierten Polarität und Osmolarität. Hierbei demonstrierten die Ergebnisse eine hohe Sensitivität, mit deren Hilfe es möglich ist, das maximal reflektierte Signal ( $RL$ ) am Minimum der Frequenz ( $f_{min}$ ) und zudem bei einer konstanten Frequenz von 8,2 GHz für die POC-Patch-Antenne bzw. 2,76 GHz für den technischen Demonstrator zu unterscheiden. Die konstanten Frequenzen entsprachen jeweils dem Absorptionsmaximum von destilliertem Wasser und waren spezifisch für die jeweils verwendete Antenne. Ein Abgleich der Maxima erfolgte mit Lösungen sinkender Polarität und steigender Osmolarität. Wie diese Messungen zeigen, nimmt  $f_{min}$  und  $RL$  mit sinkender Polarität der angeregten Moleküle ab, was bezogen auf die Anwendung am Menschen möglicherweise zusätzliche Erkenntnisse bezüglich der Art des Wassermangels liefert, so dass bei der Behandlung bzw. Flüssigkeitsrückführung gezielt die Elektrolyte zugesetzt werden können, mit denen eine schnelle Normalisierung des Wasser- und Elektrolythaushaltes erzielt wird. Die Betrachtung steigender Osmolarität belegte, dass  $f_{min}$  und  $RL$  mit zunehmender Elektrolytkonzentration abnehmen. Die Osmolarität ist wichtig in Bezug auf eine spätere Anwendung für die Messung der Hydratation, da sich bei nicht normalem Wasserhaushalt die Osmolarität des Serums verändert. Hier kann, möglicherweise unterstützt durch Zusatzsysteme, das Vorliegen einer Hyper- oder Hyponatriämie diagnostiziert werden.

Da eine Charakterisierung von Flüssigkeiten im Gewebe schwieriger ist, betrachteten die nachfolgenden Versuche an den Modellsystemen zudem den Einfluss diverser physiologischer Faktoren, wie sie in vergleichbarer Art bei der Messung am Menschen vorkommen. Hierfür wurde in drei Stufen die steigende Komplexität der Testsysteme von reinem Kollagengewebe ohne dermale Fibroblasten über Kollagengewebe mit Fibroblasten bis hin zu Hautmodellen *in vitro* untersucht. Dies ist für die Entwicklung eines Systems als Medizinprodukt essentiell, weil hier neben der entsprechenden Konformität mit gültigen Normen und Richtlinien die Leistungsfähigkeit des Systems unter Berücksichtigung der Sicherheit des Anwenders untersucht und nachgewiesen werden muss. Im ersten Schritt simulierten Kollagen-Typ-I basierte Hydrogele den Einfluss unterschiedlicher Gewebedichten auf die Reflektion des Mikrowellensignals. Die Ergebnisse zeigen, dass die Kollagenkonzentration von Hydrogelen und damit der Wassergehalt zellfreier Proben unter konstanter Osmolarität unterscheidbar sind. Mit steigender Gewebedichte nimmt die Frequenz am Absorptionsminimum ab und der  $RL$  zu. Die

Konzentrationen der Hydrogele deckte eine physiologisch vorkommende Bandbreite in adulten Menschen ab [162], was auf einen möglichen schnellen Transfer der Technologie für die *in-vivo*-Nutzung hindeutet. Des Weiteren wurde durch die verschiedenen Kollagenkonzentrationen ein Dehydratationsgrad von weniger als 3 % induziert, was die Sensitivität des Messsystems bestätigt [163].

Der Aufbau und die Struktur menschlichen Gewebes ist komplex, und widerspiegelt in seiner Struktur die Komplexität der physiologischen Vorgänge in der Haut. Die Zellen beeinflussen dabei aktiv die Stoffwechselprozesse und passen sich den metabolischen und pathophysiologischen Einwirkungen im Körper an. Unter der Annahme, dass die Komplexität der Gewebe eine Wirkung auf das Verhalten der Mikrowellen hat, wurde in den weiteren Versuchen auf zellbasierte *in-vitro*-Systeme des Tissue Engineering zurückgegriffen. Diese Testmodelle bieten im Gegensatz zur üblichen zweidimensionalen Zellkultur den Vorteil, dass dreidimensionale Gewebemodelle hergestellt werden können, welche die nativen Strukturen im Organismus genauer nachbilden. Hierbei ist es essentiell, zum guten Verständnis der Einflussfaktoren im Rahmen der Testreihe keine multifaktoriellen Veränderungen vorzunehmen, sondern schrittweise die Komplexität zu steigern. Da die Berechnung der Eindringtiefe der Mikrowellen belegt, dass die obersten Hautschichten am stärksten mit der elektromagnetischen Strahlung interagieren, fokussierten sich die *in-vitro*-Testungen dieser Arbeit auf die Analyse der beiden obersten Hautschichten: die Dermis und die Epidermis.

Die Dermis besteht maßgeblich aus Fibroblasten, welche eine extrazelluläre Matrix aus Kollagenfasern bilden. Die Bildung dieser Matrix wurde im *in-vitro*-Modell durch Kollagen-Typ-I Fasern unterstützt, welche während der Modellmaturierung durch die Fibroblasten remodelliert werden. Die Zugkräfte der Fibroblasten sorgen dafür, dass es zu einem Schrumpfen der Modelle kommt, bis eine nahezu native Dichte der Fasern durch die humanen juvenilen Fibroblasten erreicht wird. Bei der Analyse der Dermismodelle mit hDF wurde Hypo-, Iso- und Hypernatriämie simuliert. Die Konzentration der Salzmoleküle entsprach einer pathologischen Salzdepletion [164] sowie einem physiologisch vorkommenden und zu hohen Salzgehalt der Haut [149, 150]. Die Kultivierung in PBS resultierte in einer physiologischen Osmolarität von 300 mOsm/l. Alle getesteten Osmolaritäten konnten mittels des maximalen  $RL$  bei unterschiedlichen  $f_{min}$  oder  $RL$  bei einer konstanten Frequenz analysiert werden. Hierbei war festzustellen, dass das Frequenzminimum mit steigender Osmolarität zu- und der  $RL$  gleichsam abnahm. Interessanterweise war auch die hDF-induzierte Remodellierung und Kontraktion der dermalen Modelle bei unterschiedlich initial eingebrachter Zelldichte detektierbar. Dies zeigt, dass das System auf individuelle Gewebeeigenschaften reagiert. Für die Anwendung am Menschen kann dies bedeuten, dass erfolgreiches Monitoring des Wasserhaushaltes erst nach vorheriger

Kalibrierung auf das jeweilige Individuum möglich ist. Zudem konnte eine Verschiebung von  $f_{min}$  im Vergleich von zellbesiedelten und zellfreien Testsystemen erfasst werden. Diese signifikante Verschiebung belegt, wie bereits die Analyse der Hydrogele, die hohe Sensitivität mikrowellenbasierter Messungen. Sowohl für zellfreie, als auch zellbesiedelte dermale Modelle ermöglichten die Messungen einen hohen Reproduktionsgrad mit nur geringer Varianz, auch innerhalb der einzelnen Analysegruppen. Dies bestätigt die Annahme der Unterscheidungsmöglichkeit verschiedener Hydratationsgrade und systemischen Komplexitäten. Des Weiteren lassen die Messungen schlussfolgern, dass sowohl eine spektroskopische Messung über ein vordefiniertes Frequenzspektrum als auch die Datenaufnahme bei einer Frequenz möglich ist. Im Hinblick auf die Integration innerhalb von PHM-Systemen kann mit der Analyse nur bestimmter Frequenzen die technische Komplexität der elektronischen Komponenten reduziert werden, um das Gesamtsystem möglichst robust und störungsresistent zu halten.

Als Medizinprodukt soll die Messmethode auf unversehrter Haut angewendet werden. Somit interagieren die elektromagnetischen Wellen zusätzlich zum Binde- bzw. dermale Gewebe mit der Epidermis. Der zweckbestimmungsgemäße Einsatz der Technologie auf intakter Haut wurde an *in-vitro*-Testsystemen, den Vollhautmodellen, untersucht. Im Vergleich zu den dermalen Systemen wird hier die Komplexität durch die epidermale Schicht noch nativer nachgebildet. Aufgrund der Tatsache, dass für den Versuchsaufbau ausschließlich primäre humane Zellen verwendet worden sind, erhöht sich die potentielle Übertragbarkeit der Ergebnisse bezogen auf die Anwendung am Menschen. An den Vollhautmodellen wurde zusätzlich zu starken Schwankungen im Salzgehalt der Proben eine geringe Osmolaritätssteigerung im Vergleich zu physiologischen Bedingungen betrachtet. Die Kultivierung der Modelle in einer 0,1 % NaCl Lösung resultierte in einer Osmolarität von 315 mOsm/l, was einer moderaten Hypernatriämie gleichkommt. Sowohl die Analyse von  $RL$  als auch von  $f_{min}$  zeigte sich als geeignet, um die pathologischen und physiologischen Hydratationszustände signifikant voneinander zu unterscheiden. Die Betrachtung der Messungen bei der definierten Frequenz von 2,76 GHz für den technischen Demonstrator bzw. 8,2 GHz für die POC-Patch-Antenne – dem jeweiligen maximalen  $RL$  von aq. dest. bezogen auf die Antennencharakteristik – konnte die Sensitivität des Messsystems validieren. Interessanterweise war es möglich, verschiedene Hautschichten voneinander zu diskriminieren. Die Präsenz einer epidermalen Schicht resultierte in einer signifikanten Verschiebung des reflektierten Signals für variierende und konstante detektierte Frequenzen. Die an den Vollhautmodellen gemessenen Unterschiede in  $RL$  und  $f_{min}$  sind auf den oberflächlich vorhandenen Feuchtegrad zurück zu führen. Verglichen mit den dermalen Modellen zeigten die Vollhautmodelle mit Epidermis eine nahezu trockene Oberfläche.

Zusätzlich dazu verfügt die Epidermis über das hochstrukturierte *Stratum corneum*, welches weitere Signalreflexionen induziert. Zudem hat die Epidermis, wie bereits Untersuchungen mit der Impedanzanalyse gezeigt haben, kapazitive Effekte, die in der Absorption von Teilen der emittierten elektromagnetischen Strahlung resultieren, so dass weniger Energie reflektiert werden kann [165]. Beim Entfernen der Epidermis glich sich das Reflektionsspektrum dem der dermalen zellbesiedelten *in-vitro*-Modelle an, was den Einfluss unterschiedlicher Hautschichten auf das Eindringen elektromagnetischer Strahlung bestätigt. Konkludiert unterstützen die Testungen am technischen Demonstrator die Daten aus der Machbarkeitsanalyse mit der POC-Patch-Antenne.

Somit ist die in dieser Arbeit untersuchte Technologie nicht auf die ausschließliche Analyse von Flüssigkeiten und definierten Materialien beschränkt, sondern birgt das Potential, komplexe biologische Gewebe auf ihre Eigenschaften wie die Integrität der Haut und deren Wassergehalt hin zu untersuchen. Im Umkehrschluss belegt die Beobachtung die Vermutung, dass eine spätere dauerhafte Analyse des Wasserhaushaltes am Anwender eine vorherige Kalibrierung des Messsystems auf das Individuum voraussetzt und die Messungen keinen absoluten Wert ausgeben, sondern eine relative Veränderung bezogen auf eine Normale aufzeigen. Dies kann durch adaptive Kalibrieralgorithmen zur Verrechnung des Signals erfolgen. Eine Kombination mit bereits etablierten nicht destruktiven Technologien sowie einer ausgefeilten Datenanalyse werden dabei helfen, eine zuverlässige Analyse *in vitro* und *in vivo* zu realisieren.

Der experimentelle Versuchsaufbau basierte sowohl bei der Machbarkeitsanalyse, als auch bei Prüfung des technischen Demonstrators auf Komponenten, welche eine Miniaturisierung des gesamten Messsystems zum Zwecke der Integration in ein Wearable oder Pflaster ermöglichen, dass auf unverletzte Haut aufgesetzt messen kann.

Wie die Berechnungen der Strahlungsintensität belegen konnten, liegt die für Messungen erforderlich einzubringende Energie der hochfrequenten elektromagnetischen Wellen sowohl innerhalb der Richtlinien, welche durch die international Strahlenschutzkommission für biologisches Gewebe vorgegeben sind, als auch im Gültigkeitsbereich der internationalen Richtlinie für elektromagnetische Verträglichkeit DIN EN ISO 60601 für Medizinprodukte [135, 136]. Mit einer maximal ausgegebenen Leistung von  $P = 0,631$  mW durch den NWA wird kein relevanter Temperaturanstieg eingebracht. Dies beugt möglichen adversen Effekten wie Degeneration oder Vitalitätsverlust der untersuchten Modelle vor. Aufgrund der kalkulierten Eindringtiefe interagieren die Mikrowellen mit dem gesamten Gewebe, so dass die Einflüsse tiefer liegender Gewebeschichten ebenfalls berücksichtigt werden können. Ein weiterer Vorteil der Technologie ist die geringe Mess- und Detektionszeit von weniger als einer Sekunde, selbst

wenn eine Vielzahl von Datenpunkten innerhalb einer Messung analysiert werden. Mit der angestrebten Optimierung und Integration in ein mobiles System und der Analyse der relevantesten Frequenzen, wie beispielhaft für  $f = 8,2$  GHz bzw.  $f = 2,76$  GHz gezeigt, ist die Datenaufnahmezeit noch weiter reduzierbar.

Zusammengefasst lässt sich für die *in-vitro*-Testungen anhand der Ergebnisse aus der Machbarkeitsstudie und der Überprüfung des technischen Demonstrators schlussfolgern, dass sowohl die Überprüfung der POC-Patch-Antenne zum Nachweis der Machbarkeit als auch die des technischen Demonstrators unter verschiedenen Komplexitäten des Testsystems die Funktionalität der relativeren Erfassung des Wasserhaushaltes durch Mikrowellentechnologie validieren konnten. Aufgrund der Tatsache, dass die Normhydratation unter Berücksichtigung physiologischer Schwankungen des zu analysierenden Gewebes *in vivo* hinsichtlich Faktoren wie Fettgehalt und Knochendichte verschieden ist, kann eine gezielte Messung des Wasserhaushaltes nur nach einer Kalibrierphase des Gesamtsystems auf eine Referenz erfolgen.

Nichtdestotrotz müssen für die Translation des Sensorsystems zum Zwecke des PHM diverse Punkte adressiert und ausgeräumt werden. Hierzu gehört dessen Anpassung für die Erzeugung des Mikrowellensignals innerhalb des ISM-Bandes bei  $f = 2,45$  GHz, da dieses für die Verwendung im medizinischen Bereich am Menschen zugelassen ist. Die Versuche mit den *in-vitro*-Testsystemen waren für die Machbarkeitsstudie und Überprüfung des technischen Demonstrators geeignet. Neben dieser Art von Testungen finden dreidimensionale Gewebemodelle bereits erfolgreich Anwendung zur Untersuchung von Chemikalien und neuen Wirkstoffen in der pharmakologischen Forschung und Entwicklung [140, 153]. Allerdings bilden sie die Komplexität nativer Gewebe nur partiell nach und physiologische Parameter wie Perspiration oder Blutfluss, welche möglicherweise Einfluss auf die Signalreflektion *in vivo* haben können, bleiben unberücksichtigt. Des Weiteren ist die durch dynamische Veränderungen in der interstitiellen Flüssigkeit auftretende physiologische Variation unberücksichtigt und pathologische Konditionen des untersuchten Gewebes können *in vitro* nur partiell nachgestellt werden. Dementsprechend sind diese Faktoren bei der Interpretation der mit Hautmodellen erhaltenen Ergebnisse zu berücksichtigen und zusätzlich Probandentestungen durchzuführen. Ein potentieller Lösungsansatz zur Anwendung der Mikrowellentechnologie als Medizinprodukt liegt in der Integration in ein multisensorisches System. So könnte beispielsweise die Varianz der Hautschichten erfasst und bei der Ergebnisinterpretation durch weitere nichtinvasive Technologien kompensiert werden. Wie bereits gezeigt werden konnte, bieten sich sowohl in der Impedanzspektroskopie zur Messung der epidermalen Barriere-Funktion [165], als auch in der Charakterisierung der Osmolarität und Perspirationsrate von Geweben [166, 167] vielversprechende Kandidaten zur Kombination mit der in dieser Arbeit untersuchten

mikrowellenbasierten Methode. Mittels dieser Erweiterungen könnte selbst eine Vielzahl von Freiheitsgraden beherrscht werden. In der vorliegenden Studie wurde dies kontrolliert, in dem immer nur ein Freiheitsgrad pro Messung angepasst wurde.

Im Rahmen der Entwicklung zu einem Produkt ist bereits zu einem sehr frühen Projektstatus darauf zu achten, dass verwendete Materialien für eine spätere Anwendung am Patienten geeignet sind. Bei Medizinprodukten wird dies gesetzlich durch die ISO 10993 Normenreihe geregelt. Teil eins der Reihe (DIN EN ISO 10993-1 [156]) beschreibt die Testungen, welche in Abhängigkeit der Anwendung des Produktes zu erfüllen sind. Dies ist ein wichtiges Kriterium für die spätere Evaluierung der Sicherheit im Konformitätsbewertungsverfahren. Zur Vermeidung der Entstehung von Entzündungsreaktionen bei der Analyse *in vitro* bzw. bei einer Anwendung an der Testperson wurde an der Kontaktfläche zur Haut mit einem biokompatiblen Silikon gearbeitet. Dieses besitzt verglichen zu herkömmlichen Adhäsiven wie Pflastermaterial eine geringere Haftkraft und ist somit schonend zur Hautoberfläche bei der Anwendung am Patienten.

Die in der Arbeit betrachteten regulatorischen Aspekte bilden einerseits die Grundlage, um das Produkt entsprechend der spezifischen Risikoklasse zulassen zu können. Im Zulassungsprozess liegt das zentrale Augenmerk darin, ein zuverlässiges, für die Zweckbestimmung optimiertes und vor allem sicheres Produkt zu entwickeln. Andererseits dienen die Ausarbeitungen zur Beantragung einer klinischen Erstüberprüfung des technischen Demonstrators an Probanden unter Wassermangel. Die regulatorischen Anforderungen sind hierbei je nach Risiko bei der Verwendung verschieden. Aus diesem Zusammenhang heraus wurde zunächst der bestimmungsgemäße Gebrauch festgelegt. Basierend auf den erhaltenen Ergebnissen resultierte die Zuordnung des Produktes zur Kategorie der Medizinprodukte klassifiziert nach der Richtlinie 93/42/EWG. Bei der Anwendung des Anhang IX dieser Richtlinie zeigte sich, dass das Medizinprodukt der Klasse IIa zugeordnet wird. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass zum Zwecke der ordnungsgemäßen Zulassung eine Konformitätserklärung durch den späteren Vertreiber erfolgen muss, die von einer Benannten Stelle anhand der zur Zulassung notwendigen technischen Dokumentation zu überprüfen ist.

Zum Nachweis der Sicherheit und Anwendungsfreundlichkeit wurde eine präliminäre Gefahrenanalyse durchgeführt, um aus den Ergebnissen abzuleiten, in wieweit bei einer verallgemeinerten Betrachtung des Systems Risiken identifizierbar sind, die eine sichere Anwendung des Produktes verhindern. Hierfür wurden zunächst elektromagnetische Gefährdungen wie die Aussendung zu hochenergetischer Strahlung, die zur Gefährdung des Patienten durch Gewebeveränderungen oder Interferenzen mit anderen Geräten führen. Durch

eine entsprechende Anpassung des Systems an die zulässigen Energiewerte bzw. Warnhinweise in der Nutzerinformation ist dies mitigierbar.

Eine im Verlaufe der Zeit entstehende Gefährdung durch die Ansammlung von gesundheitsgefährdenden Mikroorganismen reduziert sich durch die Verwendung antimikrobiell wirksamer Materialien und einem entsprechend angepassten Design.

Die Robustheit des Systems bezogen auf dessen Zustand und Zuverlässigkeit bei der Datenaufnahme und Übertragung sowie etwaiger Anwendungsfehler durch unzureichende Rückmeldemechanismen wie z.B. Farb- und Tongebung oder Vibration ist im Rahmen der Betrachtung der Nutzerfreundlichkeit nach der Richtlinie IEC 62366-1 zu optimieren und erhöht zudem die Akzeptanz bei der Anwendung.

Weitere Gefährdungen entstehen, wenn der Anwender nicht ausreichend informiert ist bzw. falls erforderlich, nicht trainiert wird. Dies lässt sich vor allem durch eine entsprechend angepasste Nutzerinformation lösen. Insgesamt zeigt die Betrachtung der Risiken, dass es diverse Bereiche gibt, in denen bereits zu einem frühen Zeitpunkt in der Entwicklung Gefährdungen entstehen können. Unter der Berücksichtigung vorgeschlagener Mitigationsmaßnahmen verringern sich daraus entstehende Risiken auf ein Minimum. Damit belegt die Analyse, dass unter Berücksichtigung der vorgeschlagenen Risikominderungsmaßnahmen der Nutzen bei der Anwendung höher ist als die damit verbundenen Risiken.

Ein technischer Demonstrator kann, selbst wenn im weiteren Projektverlauf deutliche Veränderungen des aktuellen Systems und Produktvorstufen entstehen, an Probanden überprüft werden. Aus diesem Grund wurde als Teil dieser Arbeit und basierend auf den verfügbaren Daten eine klinische Prüfung an dehydrierten Probanden beantragt. Zur Durchführung des außerhalb der Betrachtungen dieser wissenschaftlichen Arbeit stattfindenden Tests war es notwendig, die Einwilligung zur Durchführung bei den entsprechend zuständigen Stellen einzuholen. Beim BfArM ist aufgrund der Zuordnung zu Medizinprodukten der Klasse IIa ein Antrag auf Befreiung von der Genehmigungsfrist klinischer Prüfungen zu stellen. Der Inhalt ist hierbei maßgeblich eine Analyse, welche den Nutzen im Vergleich zu erwartbaren Risiken belegt und basierte auf der präliminären Gefahrenbetrachtung sowie Zweckbestimmung. Als weitere Stelle war die entsprechend zuständige Ethikkommission zu informieren. Hier musste ein entsprechender Studienplan nach GCP Vorgaben eingereicht werden, welcher detailliert den Studienablauf, die Aufnahme und Auswertung der Daten beschreibt und als Teil des Nachweises der Leistungsfähigkeit des Systems bei dessen Anwendung dient. Die Beantragung erhielt durch

beide Stellen eine positive Rückmeldung, so dass eine klinische Prüfung des technischen Demonstrators durchführbar war.

Als Vorversuche zur klinischen Prüfung und Ergänzung der *In-vitro*-Testungen wurden Messungen an einem Probanden durchgeführt. Im ersten Versuchsteil der *In-vivo*-Überprüfung war es das Ziel, anatomische Einflüsse auf die Datenaufnahme abschätzen und erste Optimierungen bezogen auf die Datenerfassung evaluieren zu können. Die Testmessungen wurden im Rahmen des Ethikvotums der Ethikkommission der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg durchgeführt. Insgesamt zeigten sich auch bei der Bewegung des Armes nur geringe Abweichungen zwischen Messungen, was die Reproduzierbarkeit der Datenaufnahme bestätigt. Die Durchführung der Messungen erfolgte unter leichtem bis festem Anpressen des Messsystems an die Hautoberfläche am Oberarm bei entspanntem, kontrahiertem und bewegtem Arm. Es konnten Einflussfaktoren auf die reproduzierbare Datenerfassung festgestellt werden. Hierzu zählt die starke Abhängigkeit des Reflektionssignals von der Kontraktion des Muskels. Zudem ist das Messsystem in der aktuellen Version nicht mobil, da Systemkomponenten wie die Energieversorgung oder Signalerzeugung und -verarbeitung zum jetzigen Projektstand noch nicht integriert sind. Dies soll jedoch im weiteren Verlauf der Entwicklung behoben werden, so dass weitere klinische Prüfungen an Probanden unter anwendungsnahen Bedingungen mit einem produktnahen Prototyp durchgeführt werden können. Im Hinblick auf ein Produkt sind die Testungen essentiell, da im Rahmen einer klinischen Prüfung aufgenommene Daten zum Leistungsnachweis des Systems als Teil der klinischen Bewertung in das Konformitätsbewertungsverfahren bei der Zulassung des Medizinproduktes einfließen.

Für die weitere Entwicklung und Optimierung des Sensorsystems im Rahmen der klinischen Prüfung sind die potentielle Störfaktoren zu berücksichtigen, um eine zuverlässige Aussage über den Hydratationsgrad der betroffenen Person treffen zu können. Als Vorbereitung der Anwendertestungen unter Dehydratation hinsichtlich der Durchführbarkeit wurde der tageszeitliche Verlauf der Hydratation mit dem technischen Demonstrator gemessen, ohne den Probanden bezüglich seiner Flüssigkeits- und Nahrungsaufnahme zu beeinflussen und mit weiteren Analysen verglichen. Die Messungen erfolgten in einem Zeitraum von acht Stunden mit einem Intervall von zwei Stunden gewählt, wie dies dem bewilligten Studienablauf der klinischen Prüfung unter Dehydratation entspricht. Die Messungen bestätigten die gewählten Testbedingungen unter Berücksichtigung der Durchführbarkeit bei der Datenerfassung unter GCP des zu untersuchenden mikrowellenbasierten Systems gegenüber anderen Messparametern. Zu häufige Messintervalle stressen den Probanden, was zur Verfälschung von Messergebnissen führen kann. Die Resultate zeigten sowohl für den  $RL$ , als auch für  $f_{min}$  eine

mögliche Korrelation zwischen Hydratation und Gewicht mit einer Zeitverschiebung von zwei Stunden festgestellt. Dies muss jedoch im Rahmen der klinischen Prüfung näher untersucht werden.

Zusammengenommen bietet das in der Entwicklung befindliche Medizinprodukt eine Möglichkeit, den relativen Wassergehalt eines Systems zu bestimmen und so perspektivisch gesehen die Menschen bei der Überwachung ihres Gesundheitszustandes nachhaltig zu unterstützen. Der Unterschied zu herkömmlichen Prüfmethode n liegt dabei darin, dass durch Messergebnisse nichtinvasiv die Dehydratation festgestellt wird. In der Praxis könnten Menschen somit der Krankheitsentstehung entgegenwirken, da sie bei einer zu geringen Wasseraufnahme frühzeitig gewarnt werden. In diesem Zusammenhang ist ein Einsatz im Bereich der Patientenüberwachung und der privaten Gesundheitsdatenerfassung zu erwähnen. Assistierende Systeme in der Pflege können dem dortigen Personal dabei helfen, besser auf Pflegebedürftige eingehen zu können. Im Hinblick auf die Implementierung des Messsystems beim Monitoring des Wasserhaushaltes im Pflegebereich sind längere Messintervalle ausreichend, da es hier typischerweise zu keinem akuten Wasserverlust kommt. Zusätzlich könnte eine detaillierte zeitliche Analyse der Detektionszeit bei der Veränderung des Wasserhaushaltes durch kürzere Messintervalle evaluiert werden, da dies das akute Abfallen des Wasserhaushaltes widerspiegelt. Bei der Nutzung im Rahmen starker körperlicher Aktivität und des damit einhergehenden stärkeren Wasserverlustes in geringerer Zeit sind entsprechend kürzere Messintervalle vorzuziehen, so dass auch in diesem Nutzerszenario eine Dehydratations-Frühwarnung erfolgen kann.

## 10. Zusammenfassung

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die bestehenden Gesundheitssysteme großes Potential hinsichtlich der Integration innovativer technologischer Entwicklungen haben. Dies ist vor allem in Hinblick auf demographische Veränderungen der Populationsstruktur ein wichtiger Faktor, um funktionierende Gesundheitssysteme auch langfristig erhalten zu können.

Das überprüfte Messsystem hat gezeigt, dass es möglich ist, Charakterisierungen mittels eines mikrowellenbasierten Sensorsystems durchzuführen. Neben der Charakterisierung von Lösungen hinsichtlich ihrer Polarität und Osmolarität wurde die Machbarkeit an *in vitro* Modellen mit einem eigens hergestellten Sensor gezeigt und am technischen Demonstrator, der die Basis der weiteren Projektentwicklung bildet, belegt. Die hierbei verwendeten Testsysteme konnten durch ihren modularen Aufbau bezüglich der Komplexität einen Rückschluss auf messungsbeeinflussende Störfaktoren geben, wodurch es möglich sein wird, diese einzelnen Aspekte bei der Anpassung der Messauswertung und Entwicklung eines entsprechenden Algorithmus einzubeziehen. Dies wird dem Messsystem einen Vorteil in Bezug auf die Verlässlichkeit der Datenausgabe im Rahmen der Überwachung des Wasserhaushaltes von Menschen geben können.

Neben den praktischen Versuchen haben die Ausarbeitungen zulassungsrelevanter Aspekte dazu geführt, dass ein detailliertes Bild des späteren Medizinproduktes entstehen konnte. Die ausgearbeitete Zweckbestimmung schränkt die künftige Nutzerpopulation ein, zusammen mit der Messcharakteristik konnte das zukünftige Produkt bereits zu einem frühen Zeitpunkt in Bezug auf die Zulassung kategorisiert und zu erwartende Risiken bewertet werden. Hierbei ergaben sich keinerlei Bedenken hinsichtlich Einschränkungen während der Nutzung durch ein zu großes Risiko des Systems.

Durch das Zusammenspiel der in dieser Arbeit durchgeführten praktischen Versuche und theoretischen Ausarbeitungen war es möglich, zuständige Behörden von der Funktionalität und Sicherheit des Systems für die Anwendung am Patienten zu überzeugen, so dass erfolgreich eine klinische Prüfung auf Basis der Daten dieser wissenschaftlichen Arbeit beantragt und bewilligt worden ist. Die im Rahmen der Dissertation durchgeführten Vorversuche am Probanden bezüglich der Einflussfaktoren von Bewegung und Muskelkontraktion bilden zudem eine erste Basis für eine erfolgreiche Studie und ermöglichen somit die weitere Optimierung des künftigen Dehydratations-Frühwarnsystems.

## 11. Ausblick

Für die notwendige Modernisierung der Gesundheitssysteme rückt die Etablierung einer effizient-funktionierenden medizinischen Versorgung des Einzelnen immer mehr in den Fordergrund. Felder mit großem Potential zur Bewältigung dieser Herausforderung für eine maßgeschneiderte Therapie sind ATMPs und Companion Diagnostics. Hinzu kommt die Krankheitsprävention durch eine personalisierte Gesundheitsüberwachung im Rahmen der Digitalisierung, denn nur dadurch können aufkommende Krankheiten frühzeitig behandelt und die Entstehung chronischer Morbidität vermieden werden.

Neben weiteren Vitalparametern, welche bereits in mobilen Systemen für PHM etabliert sind, ist der persönliche Hydratationsgrad ein wichtiger Gesundheitsaspekt, der dauerhaft überwacht werden sollte, um die Entstehung dehydratationsbedingter Symptome bereits präventiv einzudämmen. Hierzu zählt beispielsweise Bluthochdruck oder Hyperthermie. Zielsetzung der gesundheitsunterstützenden Systeme muss jedoch stets der Anwender und nicht die Technologie sein. Denn nur anwendungsnah entwickelte Medizinprodukte einen tatsächlichen Nutzen bieten und den Menschen dabei helfen können, länger gesund zu bleiben.

Wie in dieser Arbeit gezeigt werden konnte, stellen die mikrowellenbasierten Sensorsysteme einen vielversprechenden Lösungsansatz zur dauerhaften und nichtinvasiven Überwachung des menschlichen Wasserhaushaltes dar. Bislang findet diese Technologie hauptsächlich bei der Material- und Lösungscharakterisierung den praktischen Einsatz [131-133] und wurde nur teilweise für die Charakterisierung biologischer Gewebe *in vitro* oder *in vivo* verwendet, wie in der Mikrowellen-Tomographie [168, 169]. Diese Arbeit zeigt die Anwendbarkeit mikrowellenbasierter Sensortechnologien als neuartiges Gesundheitsüberwachungssystem mit dauerhafter Möglichkeit der nichtinvasiven Überwachung von relativen Veränderungen des Wasserhaushaltes. Um jedoch zu bestätigen, dass die Technologie auch beim Einsatz am Anwender von Nutzen sein kann und im Hinblick auf die Zulassung als Medizinprodukt ist die Validierung der Technologie im Rahmen einer klinischen Prüfung unerlässlich. Diese wird angeschlossen an diese Arbeit im Rahmen eines Durstungsversuches durchgeführt, um zeigen zu können, dass die mikrowellenbasierten Hydratationsbestimmungen nicht nur *in vitro* funktionell sind. Die Leistungsüberprüfung am Anwender erfolgt im weiteren Projektverlauf der Entwicklung im Rahmen einer bereits durch die zuständige Ethikkommission sowie die zuständige Bundesoberbehörde bewilligten klinischen Prüfung mit der durch das DIMDI spezifischen EUDAMED-Nummer CIV-15-10-013925.

Im Rahmen der Erstprüfungen an einer Testperson, welche im Rahmen des Ethikvotums durchgeführt worden sind, konnte in der Dissertation gezeigt werden, dass das System nicht nur

---

*in vitro*, sondern auch bei der *in vivo* Anwendung vielversprechend agiert. Eine spätere Sensorgeneration, welche bereits näher an der letztlichen Produktauslegung ausgerichtet ist, kann im Rahmen der klinischen Prüfung (unter definierten Bedingungen sowie angeschlossen daran in Nutzerstudien an definierten Anwendergruppen) zeigen, inwiefern die in dieser Arbeit untersuchte mikrowellenbasierte Detektion des Wasserhaushaltes in ein zertifiziertes Medizinprodukt zur Dehydratations-Prävention umgesetzt werden kann.

## 12. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Entwicklung der Weltbevölkerung bis 2050.....	11
Abbildung 2: Entwicklung der Altersstruktur von 1950 bis 2050 (kalkuliert). ....	12
Abbildung 3: Phasen im medizintechnischen Wertschöpfungsprozess [145].....	34
Abbildung 4: Schematischer Aufbau der Patch-Antenne.....	42
Abbildung 5: Schematischer Ablauf des Risikomanagements (in Anlehnung an die DIN EN ISO 14971). ....	50
Abbildung 6: Konstruktionszeichnungen der Messkammern und Kompressionsanlage zur Testsystem-Herstellung. ....	56
Abbildung 7: Simulation und Fertigung der POC-Patch-Antenne.....	57
Abbildung 8: Reflektionsmessung mit Mikrowellen an POC-Patch-Antenne. ....	58
Abbildung 9: Return loss ( $RL$ ) und $f_{min}$ von Lösungen unterschiedlicher Polaritäten und Osmolaritäten in Vergleich mit vollentsalztem Wasser (aq. dest.) und Phosphat- gepufferter Saline (PBS). ....	60
Abbildung 10: Messungen von zellfreien dermalen Äquivalenten bei unterschiedlicher Kollagenkonzentration. ....	62
Abbildung 11: Mikrowellen-Reflektionssignal dermalen Äquivalente bei unterschiedlichen Osmolaritäten und Zellkonzentrationen. ....	63
Abbildung 12: Mikrowellen-Signal von Vollhautmodellen bei unterschiedlicher Osmolarität. ....	65
Abbildung 13: Reflektiertes Signal der Messungen mit Lösungen und <i>In-vitro</i> - Testmodellen bei einer Frequenz von 8,2 GHz. ....	66
Abbildung 14: Messkammer für die Überprüfung des technischen Demonstrators. ....	68
Abbildung 15: Reflektionsmessung mit Mikrowellen am technischen Demonstrator. ....	69
Abbildung 16: Return loss ( $RL$ ) und $f_{min}$ von Lösungen unterschiedlicher Osmolaritäten im Vergleich mit vollentsalztem Wasser (aq. dest.) und phosphatgepufferter Saline (PBS). ....	70
Abbildung 17: Mikrowellen-Reflektionssignal dermalen Äquivalente bei unterschiedlichen Osmolaritäten. ....	71
Abbildung 18: Mikrowellen-Signal von Vollhautmodellen bei unterschiedlicher Osmolarität. ....	72
Abbildung 19: Reflektiertes Signal $RL$ der Messungen mit Lösungen und <i>In-vitro</i> - Testmodellen bei einer Frequenz von 2,76 GHz. ....	73
Abbildung 20: Messaufbau für Probandentestung mittels Mikrowellentechnologie. ....	86
Abbildung 21: Mikrowellenbasierte Messungen am rechten Unterarm eines Probanden mit unterschiedlichen Versuchsbedingungen. ....	87
Abbildung 22: Erfassung von Vitalparametern und Mikrowellensignalen im Zeitverlauf. ....	89

## 13. Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1: Übersicht der Wasseraufnahme und -abgabe eines durchschnittlichen Erwachsenen [74] .....</b>	<b>17</b>
<b>Tabelle 2: klinische Zeichen der Dehydratation [94].....</b>	<b>19</b>
<b>Tabelle 3: Gewichtsabnahme bei verschiedenen Dehydratations-Schweregraden [94].....</b>	<b>22</b>
<b>Tabelle 4: Zellen/Gewebe .....</b>	<b>35</b>
<b>Tabelle 5: Zusammensetzung der verwendeten Puffer und Lösungen .....</b>	<b>35</b>
<b>Tabelle 6: Verwendete Geräte .....</b>	<b>36</b>
<b>Tabelle 7: Verbrauchsmaterial .....</b>	<b>38</b>
<b>Tabelle 8: Labormaterial .....</b>	<b>39</b>
<b>Tabelle 9: Chemikalien .....</b>	<b>40</b>
<b>Tabelle 10: Programm des Einbettautomaten .....</b>	<b>47</b>
<b>Tabelle 11: Protokoll der Entparaffinierung und Rehydrierung von Schnitten .....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle 12: Protokoll der Hämatoxylin-Eosin- Färbung .....</b>	<b>48</b>
<b>Tabelle 13: Auftretenswahrscheinlichkeit A eines Schadens pro Jahr in Anlehnung an die DIN ISO Norm 14971 [153] .....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle 14: Schweregradeinteilung nach DIN EN ISO 14971 [153].....</b>	<b>51</b>
<b>Tabelle 15: Halbquantitative Risikomatrix.....</b>	<b>52</b>
<b>Tabelle 16: Bei der Beurteilung nach Biokompatibilität in Erwägung zu ziehende Prüfungen nach DIN EN ISO 10993-1 [156].....</b>	<b>54</b>
<b>Tabelle 17: Vorläufige Gefährdungsanalyse.....</b>	<b>78</b>
<b>Tabelle 18: Halbquantitative Risikomatrix nach der Erstbewertung zu erwartender Gefahrensituationen.. .....</b>	<b>83</b>
<b>Tabelle 19: Halbquantitative Risikomatrix nach der Einarbeitung von Risikominderungsmaßnahmen. ....</b>	<b>83</b>

## 14. Literaturverzeichnis

1. Klingholz, R., *Europe's demographic future*. Imploding Populations in Japan and Germany, 2011: p. 55-62.
2. Lutz, W., *The future population of the world: what can we assume today*. 2013: Routledge.
3. Livi-Bacci, M., *A concise history of world population*. 2012: John Wiley & Sons.
4. Bureau, P.R. *Population Reference Bureau 2013*. Population Reference Bureau 2013 2013; Available from: <http://www.prb.org/Publications/Datasheets/2013/2013-world-population-data-sheet.aspx>
5. Choi, Y. *Demographic transition in sub-Saharan Africa: implications for demographic dividend*. in *2013 Annual Meeting of the Population Association of America*. 2013.
6. Bremner, J., et al., *World Population Highlights: Key Findings From PRB's 2010 World Population Data Sheet*. 2010: Population Reference Bureau.
7. Statista. *Entwicklung der Weltbevölkerung von 1950 bis 2010 (in Milliarden)* 2014 [cited 2014 18.06.]; Available from: <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/1716/umfrage/entwicklung-der-weltbevoelkerung/>.
8. Statista. *Entwicklung der Weltbevölkerungszahl seit Christi Geburt (in Milliarden)* 2014 [cited 2014 18.06.]; Available from: <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/1694/umfrage/entwicklung-der-weltbevoelkerungszahl/>.
9. WHO, *Good health adds life to years: Global brief for World Health Day 2012*. 2012.
10. Reher, D.S., *Economic and social implications of the demographic transition*. Population and Development Review, 2011. **37**(s1): p. 11-33.
11. Boumendil, A., et al., *Prognosis of patients aged 80 years and over admitted in medical intensive care unit*. Intensive care medicine, 2004. **30**(4): p. 647-654.
12. Vincent, G.K. and V.A. Velkoff, *The next four decades: The older population in the United States: 2010 to 2050*. 2010: US Department of Commerce, Economics and Statistics Administration, US Census Bureau.
13. Goli, S. and P. Arokiasamy, *Demographic Transition in India: An Evolutionary Interpretation of Population and Health Trends Using 'Change-Point Analysis'*. PLoS ONE, 2013. **8**(10): p. e76404.
14. Van Lerberghe, W., *The world health report 2008: primary health care: now more than ever*. 2008: World Health Organization.
15. Birg, L., *The Impact of Pharmaceutical Regulation On Generic Competition*. 2013.
16. Bartholomae, F.W. and A.M. Popescu, *The Role of Regional Competition for Demography and Regional Disparities in Germany*. Romanian Journal of Regional Science, 2007. **1**(1): p. 45-70.
17. BiB. *Durchschnittsalter der Bevölkerung in Deutschland, 1871 bis 2012*. 2014 [cited 2014; Available from: [http://www.bib-demografie.de/DE/ZahlenundFakten/02/Abbildungen/a\\_02\\_15\\_durchschnittsalter\\_d\\_ab1871.html](http://www.bib-demografie.de/DE/ZahlenundFakten/02/Abbildungen/a_02_15_durchschnittsalter_d_ab1871.html)].

18. WHO, *Defusing the demographic "time-bomb" in Germany*. Bulletin of the World Health Organization 2012. **Volume 90:2012**(Number 1).
19. Ross, R.M., S.J. Greenhill, and Q.D. Atkinson, *Population structure and cultural geography of a folktale in Europe*. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2013. **280**(1756): p. 20123065.
20. BiB. *Bevölkerungsentwicklung 2013 – Daten, Fakten, Trends zum demografischen Wandel*. 2013 [cited 2013; Available from: [www.bib-demografie.de/SharedDocs/Meldungen/DE/TopThema/broschuere\\_daten\\_fakten\\_trends\\_2013.html](http://www.bib-demografie.de/SharedDocs/Meldungen/DE/TopThema/broschuere_daten_fakten_trends_2013.html)].
21. BiB. *Altersstruktur der Bevölkerung in Deutschland, 1950, 2011 und 2050*. 2012 [cited 2012; Available from: <http://www.demografie-portal.de/SharedDocs/Informieren/DE/Statistiken/Deutschland/Bevoelkerungspyramide.html>].
22. Bundesamt, D.s. *Bevölkerung Deutschlands bis 2050*. 2006 [cited 2014 20.06.]; Available from: [https://www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressekonferenzen/2006/Bevoelkerungsentwicklung/bevoelkerungsprojektion2050.pdf?\\_\\_blob=publicationFile](https://www.destatis.de/DE/PresseService/Presse/Pressekonferenzen/2006/Bevoelkerungsentwicklung/bevoelkerungsprojektion2050.pdf?__blob=publicationFile).
23. Plsek, P., *Complexity and the adoption of innovation in health care*. Accelerating Quality Improvement in Health Care: Strategies to Accelerate the Diffusion of Evidence-Based Innovations. Washington, DC: National Institute for Healthcare Management Foundation and National Committee for Quality in Health Care, 2003.
24. Sweeney, K. and F. Griffiths, *Complexity and healthcare: an introduction*. 2002: Radcliffe Publishing.
25. Singer, M., *Non-Communicable Diseases*. The Wiley Blackwell Encyclopedia of Health, Illness, Behavior, and Society, 2014.
26. Horton, R., *Chronic diseases: the case for urgent global action*. The Lancet, 2007. **370**(9603): p. 1881-1882.
27. Geneau, R., et al., *Raising the priority of preventing chronic diseases: a political process*. The Lancet, 2010. **376**(9753): p. 1689-1698.
28. Alwan, A., et al., *Monitoring and surveillance of chronic non-communicable diseases: progress and capacity in high-burden countries*. The Lancet, 2010. **376**(9755): p. 1861-1868.
29. Swan, M., *Emerging patient-driven health care models: an examination of health social networks, consumer personalized medicine and quantified self-tracking*. International journal of environmental research and public health, 2009. **6**(2): p. 492-525.
30. Lesko, L., *Personalized medicine: elusive dream or imminent reality?* Clinical Pharmacology & Therapeutics, 2007. **81**(6): p. 807-816.
31. Bates, S., *Progress towards personalized medicine*. Drug discovery today, 2010. **15**(3): p. 115-120.
32. Schildmann, J., G. Marckmann, and J. Vollmann, *Personalisierte Medizin. Medizinische, ethische, rechtliche und ökonomische Analysen*. Ethik in der Medizin, 2013: p. 1-4.
33. Nanikashvili, R., *Personal health monitor and a method for health monitoring*. 2009, Google Patents.
34. Flach, E., et al., *Personal health monitoring and care system*. 2006, Google Patents.

35. Pantelopoulos, A. and N.G. Bourbakis, *A survey on wearable sensor-based systems for health monitoring and prognosis*. Systems, Man, and Cybernetics, Part C: Applications and Reviews, IEEE Transactions on, 2010. **40**(1): p. 1-12.
36. Park, S. and S. Jayaraman, *Smart Textiles: Wearable Electronic Systems*. MRS Bulletin, 2003. **28**(08): p. 585-591.
37. Cherenack, K., et al., *Woven Electronic Fibers with Sensing and Display Functions for Smart Textiles*. Advanced Materials, 2010. **22**(45): p. 5178-5182.
38. Inaudi, D. and R. Belli, *Smart Technical Textiles for Structural Health Monitoring*. ACI Special Publication, 2013. **292**.
39. Kunze, C., et al., *Application of ubiquitous computing in personal health monitoring systems*. Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering, 2002. **47**(s1a): p. 360-362.
40. Milenković, A., C. Otto, and E. Jovanov, *Wireless sensor networks for personal health monitoring: Issues and an implementation*. Computer Communications, 2006. **29**(13-14): p. 2521-2533.
41. Shahriyar, R., et al., *Intelligent Mobile Health Monitoring System (IMHMS)*, in *Electronic Healthcare*, P. Kostkova, Editor. 2010, Springer Berlin Heidelberg. p. 5-12.
42. Chakraborty, C., B. Gupta, and S.K. Ghosh, *A Review on Telemedicine-Based WBAN Framework for Patient Monitoring*. Telemedicine and e-Health, 2013. **19**(8): p. 619-626.
43. Sama, P.R., et al., *An Evaluation of Mobile Health Application Tools*. JMIR mHealth and uHealth, 2014. **2**(2): p. e19.
44. Mittelstadt, B., et al., *The Ethical Implications of Personal Health Monitoring*. International Journal of Technoethics (IJT), 2014. **5**(2): p. 37-60.
45. Nordgren, A., *Personal health monitoring: ethical considerations for stakeholders*. Journal of Information, Communication and Ethics in Society, 2013. **11**(3): p. 156-173.
46. Walsh, J.A., E.J. Topol, and S.R. Steinhubl, *Novel wireless devices for cardiac monitoring*. Circulation, 2014. **130**(7): p. 573-581.
47. Blobel, B. and P. Pharow, *Sicheres und nachhaltiges eHealth*. P. Schmücker, K.-H. Ellsäcker (Hrsg.), 2007. **12**.
48. Black, A.D., et al., *The impact of eHealth on the quality and safety of health care: a systematic overview*. PLoS medicine, 2011. **8**(1): p. e1000387.
49. Bernstein, K., et al., *Modelling and implementing electronic health records in Denmark*. International Journal of Medical Informatics, 2005. **74**(2): p. 213-220.
50. Microsoft. *Microsoft HealthVault*. 2014 [cited 2014 13.05.]; Available from: <https://account.healthvault.co.uk/de/de-DE/Directory>.
51. Healthcare, B. *T400 Telehealth System*. 2014 [cited 2014 13.05.]; Available from: [http://www.bosch-healthcare.com/en/us/products/vitelcare\\_t400/vitelcare.html](http://www.bosch-healthcare.com/en/us/products/vitelcare_t400/vitelcare.html).
52. Philips. *Home Monitoring*. 2014 [cited 2014 13.05.]; Available from: [http://www.healthcare.philips.com/main/homehealth/home\\_monitoring/](http://www.healthcare.philips.com/main/homehealth/home_monitoring/).
53. Casa, D.J., et al., *Influence of hydration on physiological function and performance during trail running in the heat*. J Athl Train, 2010. **45**(2): p. 147-56.
54. Kleiner, S.M., *Water: an essential but overlooked nutrient*. J Am Diet Assoc, 1999. **99**(2): p. 200-6.
55. Jequier, E. and F. Constant, *Water as an essential nutrient: the physiological basis of hydration*. Eur J Clin Nutr, 2009. **64**(2): p. 115-123.

56. Armstrong, L.E., *Hydration assessment techniques*. Nutrition reviews, 2005. **63**(s1): p. S40-S54.
57. Laurell, S. and G. Tibbling, *An enzymatic fluorometric micromethod for the determination of glycerol*. Clinica Chimica Acta, 1966. **13**(3): p. 317-322.
58. Gabriel, S., R. Lau, and C. Gabriel, *The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz*. Physics in medicine and biology, 1996. **41**(11): p. 2251.
59. Montain, S.J. and E.F. Coyle, *Influence of graded dehydration on hyperthermia and cardiovascular drift during exercise*. Journal of Applied Physiology, 1992. **73**(4): p. 1340-1350.
60. Turkevich, D., A. Micco, and J.T. Reeves, *Noninvasive measurement of the decrease in left ventricular filling time during maximal exercise in normal subjects*. The American journal of cardiology, 1988. **62**(9): p. 650-652.
61. Judelson, D.A., et al., *Effect of hydration state on strength, power, and resistance exercise performance*. Medicine and science in sports and exercise, 2007. **39**(10): p. 1817.
62. Marino, F.E., D. Kay, and N. Serwach, *Exercise time to fatigue and the critical limiting temperature: effect of hydration*. Journal of Thermal Biology, 2004. **29**(1): p. 21-29.
63. Casa, D.J., et al., *Intravenous versus oral rehydration during a brief period: responses to subsequent exercise in the heat*. Medicine and science in sports and exercise, 2000. **32**(1): p. 124-133.
64. Tucker, R., et al., *Impaired exercise performance in the heat is associated with an anticipatory reduction in skeletal muscle recruitment*. Pflügers Archiv, 2004. **448**(4): p. 422-430.
65. Maresh, C.M., et al., *Perceptual responses in the heat after brief intravenous versus oral rehydration*. Medicine and science in sports and exercise, 2001. **33**(6): p. 1039-1045.
66. González-Alonso, J., R. Mora-Rodríguez, and E.F. Coyle, *Stroke volume during exercise: interaction of environment and hydration*. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2000. **278**(2): p. H321-H330.
67. Sawka, M.N., S.J. Montain, and W.A. Lutzka, *Hydration effects on thermoregulation and performance in the heat*. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2001. **128**(4): p. 679-690.
68. Nations, U. *The World Water Development Report (WWDR)*. 2003 [cited 2014 14.05.].
69. Whitney, E.N., C.B. Cataldo, and S.R. Rolfes, *Understanding normal and clinical nutrition*. 1998: Wadsworth Publishing Company, Inc.
70. Kozier, B., *Fundamentals of nursing: concepts, process and practice*. 2008: Pearson Education.
71. Bossingham, M.J., N.S. Carnell, and W.W. Campbell, *Water balance, hydration status, and fat-free mass hydration in younger and older adults*. Am J Clin Nutr, 2005. **81**(6): p. 1342-50.
72. Bennett, J.A., *Dehydration: hazards and benefits*. Geriatric Nursing, 2000. **21**(2): p. 84-88.
73. Yen, P., *Don't forget the water!* GERIATRIC NURSING, 1998. **19**(5): p. 295-296.
74. Huppelsberg, J. and K. Walter, *Kurzlehrbuch Physiologie*. 2009: Georg Thieme Verlag.

75. Alam, N.H., et al., *SYMptomatic hyponatremia during treatment of dehydrating diarrheal disease with reduced osmolarity oral rehydration solution*. JAMA, 2006. **296**(5): p. 567-573.
76. Chevront, S.N., R. Carter, and M.N. Sawka, *Fluid balance and endurance exercise performance*. Curr Sports Med Rep, 2003. **2**(4): p. 202-8.
77. Batmanghelidj, F. and M.J. Page, *Your body's many cries for water*. 2012: Tantor Media, Incorporated.
78. Hanson, L., L.K. Haynes, and L. Turiano, *Chronic Kidney Disease in Central America: The Big Picture*. American Journal of Public Health, 2014(0): p. e1-e1.
79. Soderland, P., et al., *Chronic kidney disease associated with environmental toxins and exposures*. Advances in chronic kidney disease, 2010. **17**(3): p. 254-264.
80. Schneider, M., *MicroRNAs as novel players in skin development, homeostasis and disease*. British Journal of Dermatology, 2012. **166**(1): p. 22-28.
81. Sadowski, D.C., *Skin Discoloration From Compulsive Bathing in a Patient With Hyperemesis Syndrome*. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2011. **9**(2): p. A22-A22.
82. Cantin, C.M. and C.H. Crisosto, *SKIN BURNING*. Central Valley Postharvest Newsletters, 2011: p. 633.
83. Weiss, K., A. Kuriyan, and H. Flynn Jr, *Central retinal vein occlusion after prolonged vomiting and repeated valsalva maneuvers associated with gastroenteritis and dehydration*. Ophthalmic surgery, lasers & imaging retina, 2013. **45**(3): p. e23-5.
84. Xu, J., et al., *Solid-state NMR spectroscopy provides atomic-level insights into the dehydration of cartilage*. The Journal of Physical Chemistry B, 2011. **115**(33): p. 9948-9954.
85. Oyen, M.L., et al., *Size effects in indentation of hydrated biological tissues*. Journal of Materials Research, 2012. **27**(01): p. 245-255.
86. Keller, W.J., *11 Reasons Why Dehydration is Making You Fat and Sick [Infographic]*.
87. Colletti, J.E., et al., *The management of children with gastroenteritis and dehydration in the emergency department*. The Journal of emergency medicine, 2010. **38**(5): p. 686-98.
88. Parkin, P.C., et al., *Clinical and laboratory assessment of dehydration severity in children with acute gastroenteritis*. Clinical pediatrics, 2010. **49**(3): p. 235-9.
89. Bettari, L., et al., *Hyponatremia and long-term outcomes in chronic heart failure--an observational study from the Duke Databank for Cardiovascular Diseases*. Journal of cardiac failure, 2012. **18**(1): p. 74-81.
90. Arora, S.K., *Hypernatremic disorders in the intensive care unit*. Journal of intensive care medicine, 2012. **28**(1): p. 37-45.
91. Zaki, S.A., et al., *Hypernatremic dehydration due to lactation failure in an exclusively breastfed neonate*. Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia, 2012. **23**(1): p. 125-8.
92. Long, B. and A. Koyfman, *Emergency Medicine Myths: Cerebral Edema in Pediatric Diabetic Ketoacidosis and Intravenous Fluids*. J Emerg Med, 2017. **53**(2): p. 212-221.
93. Arai, S., N. Stotts, and K. Puntillo, *Thirst in Critically Ill Patients: From Physiology to Sensation*. American Journal of Critical Care, 2013. **22**(4): p. 328-335.

94. Goldman, R.D., J.N. Friedman, and P.C. Parkin, *Validation of the Clinical Dehydration Scale for Children With Acute Gastroenteritis*. *Pediatrics*, 2008. **122**(3): p. 545-549.
95. Menten, J., *Oral hydration in older adults: greater awareness is needed in preventing, recognizing, and treating dehydration*. *AJN The American Journal of Nursing*, 2006. **106**(6): p. 40-49.
96. Begum, M.N. and C.S. Johnson, *A review of the literature on dehydration in the institutionalized elderly*. *e-SPEN, the European e-Journal of Clinical Nutrition and Metabolism*, 2010. **5**(1): p. e47-e53.
97. Sheehy, C.M., P.A. Perry, and S.L. Cromwell, *Dehydration: biological considerations, age-related changes, and risk factors in older adults*. *Biological Research for Nursing*, 1999. **1**(1): p. 30-37.
98. Xiao, H., J. Barber, and E.S. Campbell, *Economic burden of dehydration among hospitalized elderly patients*. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 2004. **61**(23): p. 2534-2540.
99. Gille, D., *Overview of the physiological changes and optimal diet in the golden age generation over 50*. *European Review of Aging and Physical Activity*, 2010. **7**(1): p. 27-36.
100. Rikkert, M.G., R.J. Melis, and J.A. Claassen, *Heat waves and dehydration in the elderly*. *BMJ*, 2009. **339**.
101. Schols, J., et al., *Preventing and treating dehydration in the elderly during periods of illness and warm weather*. *JNHA-The Journal of Nutrition, Health and Aging*, 2009. **13**(2): p. 150-157.
102. Kenney, W.L. and P. Chiu, *Influence of age on thirst and fluid intake*. *Medicine and science in sports and exercise*, 2001. **33**(9): p. 1524-1532.
103. Simmons, S.F., C. Alessi, and J.F. Schnelle, *An intervention to increase fluid intake in nursing home residents: prompting and preference compliance*. *Journal of the American Geriatrics Society*, 2001. **49**(7): p. 926-933.
104. Robinson, S.B. and R.B. Rosher, *Can a beverage cart help improve hydration?* *Geriatric Nursing*, 2002. **23**(4): p. 208-211.
105. Agostoni, C., et al., *Scientific opinion on dietary reference values for water*. *EFSA journal*, 2010. **8**(3).
106. Hooper, L., et al., *Water-loss dehydration and aging*. *Mech Ageing Dev*, 2014. **136-137**: p. 50-8.
107. Armstrong, L.E., et al., *Thermal and circulatory responses during exercise: effects of hypohydration, dehydration, and water intake*. *Journal of Applied Physiology*, 1997. **82**(6): p. 2028-2035.
108. Sawka, M., et al., *Exercise and fluid replacement*. *American College of Sports Medicine position stand*. *Med Sci Sports Exerc*, 2007. **39**: p. 377-90.
109. Nutrition, C.o., t.C.o.S. Medicine, and Fitness, *Sports Drinks and Energy Drinks for Children and Adolescents: Are They Appropriate?* *Pediatrics*, 2011. **127**(6): p. 1182-1189.
110. Pietrobelli, A., et al., *New bioimpedance analysis system: improved phenotyping with whole-body analysis*. *Eur J Clin Nutr*, 2004. **58**(11): p. 1479-1484.
111. Jaffrin, M.Y. and H. Morel, *Body fluid volumes measurements by impedance: A review of bioimpedance spectroscopy (BIS) and bioimpedance analysis (BIA) methods*. *Medical Engineering & Physics*, 2008. **30**(10): p. 1257-1269.

112. Khalil, S.F., M.S. Mohktar, and F. Ibrahim, *The Theory and Fundamentals of Bioimpedance Analysis in Clinical Status Monitoring and Diagnosis of Diseases*. Sensors (Basel, Switzerland), 2014. **14**(6): p. 10895-10928.
113. Patrelli, T.S., et al., *Maternal Hydration Therapy Improves the Quantity of Amniotic Fluid and the Pregnancy Outcome in Third-Trimester Isolated Oligohydramnios A Controlled Randomized Institutional Trial*. Journal of Ultrasound in Medicine, 2012. **31**(2): p. 239-244.
114. Gollhausen, R., *Corneometrie und Evaporimetrie zur Untersuchung der Hornschicht-Funktion*. Empfindliche Haut. Diesbach-Verlag, Berlin, 1992: p. 76-91.
115. Uhl, C., *Hautphysiologische Messungen in der täglichen Praxis: Corneometrie und Sebumetrie bei physiologischen und krankhaften Hautveränderungen*, in *Selbstzahlerleistungen in der Dermatologie und der ästhetischen Medizin*. 2005, Springer. p. 321-326.
116. Amann, A., et al., *Applications of breath gas analysis in medicine*. International Journal of Mass Spectrometry, 2004. **239**(2): p. 227-233.
117. Miekisch, W. and J.K. Schubert. *Analysis of breath gas biomarkers for medical applications-from laboratory based measurements to PoC monitoring*. in *CONFERENCE SERIES*. 2013.
118. Fluhr, J.W. and R. Darlenski, *Transepidermal Water Loss (TEWL)*, in *Non Invasive Diagnostic Techniques in Clinical Dermatology*. 2014, Springer. p. 353-356.
119. Vergou, T., et al., *Comparison between TEWL and laser scanning microscopy measurements for the in vivo characterization of the human epidermal barrier*. Journal of biophotonics, 2012. **5**(2): p. 152-158.
120. Imhof, B., P. Xiao, and I. Angelova-Fischer, *TEWL, Closed-Chamber Methods: AquaFlux and VapoMeter*, in *Non Invasive Diagnostic Techniques in Clinical Dermatology*, E. Berardesca, H.I. Maibach, and K.-P. Wilhelm, Editors. 2014, Springer Berlin Heidelberg. p. 345-352.
121. Kim, J., et al., *Extracellular water: sodium bromide dilution estimates compared with other markers in patients with acquired immunodeficiency syndrome*. JPEN J Parenter Enteral Nutr, 1999. **23**(2): p. 61-6.
122. Halliday, D. and A. Miller, *Precise measurement of total body water using trace quantities of deuterium oxide*. Biological Mass Spectrometry, 1977. **4**(2): p. 82-87.
123. Maria Mendes Resende, C., et al., *Body Composition in Obese Adolescents: Deuterium Oxide Dilution Method, Bioelectrical Impedance and Predictive Equations*. Current Nutrition & Food Science, 2013. **9**(1): p. 73-81.
124. Müller, S.-D., *Die bioelektrische Impedanz Analyse (BIA)*. 2011.
125. Mazess, R.B., et al., *Dual-energy x-ray absorptiometry for total-body and regional bone-mineral and soft-tissue composition*. The American journal of clinical nutrition, 1990. **51**(6): p. 1106-1112.
126. Resende, C.M., et al., *Body composition measures of obese adolescents by the deuterium oxide dilution method and by bioelectrical impedance*. Braz J Med Biol Res, 2011. **44**(11): p. 1164-70.
127. Wabitsch, M., et al., *Body composition in 5-18-y-old obese children and adolescents before and after weight reduction as assessed by deuterium dilution and bioelectrical impedance analysis*. Am J Clin Nutr, 1996. **64**(1): p. 1-6.

128. Moon, J.R., *Body composition in athletes and sports nutrition: an examination of the bioimpedance analysis technique*. Eur J Clin Nutr, 2013. **67**(S1): p. S54-S59.
129. Liu, A., et al., *Validation of bioelectrical impedance analysis for total body water assessment against the deuterium dilution technique in Asian children*. Eur J Clin Nutr, 2011. **65**(12): p. 1321-7.
130. Hofmann, M., et al., *Microwave-based noninvasive concentration measurements for biomedical applications*. 2013.
131. Hofmann, M., et al. *A microwave VNA for biomedical in-line concentration measurements*. in *Biomedical Wireless Technologies, Networks, and Sensing Systems (BioWireleSS), 2013 IEEE Topical Conference on*. 2013. IEEE.
132. Hofmann, M., et al. *A microwave sensing system for aqueous concentration measurements based on a microwave reflectometer*. in *Microwave Symposium Digest (MTT), 2012 IEEE MTT-S International*. 2012.
133. Schwerthoeffer, U., R. Weigel, and D. Kissinger. *Microwave Sensor for Precise Permittivity Characterization of Liquids Used for Aqueous Glucose Detection in Medical Applications*. in *Microwave Conference (GeMIC), 2014 German*. 2014.
134. Zhang, K., et al., *In Situ Stringing of Metal Organic Frameworks by SiC Nanowires for High-performance Electromagnetic Radiation Elimination*. ACS Appl Mater Interfaces, 2017.
135. Icrp, *ICRP Statement on Tissue Reactions / Early and Late Effects of Radiation in Normal Tissues and Organs – Threshold Doses for Tissue Reactions in a Radiation Protection Context*. ICRP Publication, 2012. **118**: p. 40 (1/2)-40 (1/2).
136. En and Din, *60601-1 (VDE 0750-1): 2007-07 Medizinische elektrische Geräte–Teil 1: Allgemeine Festlegungen für die Sicherheit einschließlich der wesentlichen Leistungsmerkmale*. Berlin· Offenbach: VDE VERLAG, 2007. **2007-07**.
137. Guiraud, B., et al., *Characterization of a human epidermis model reconstructed from hair follicle keratinocytes and comparison with two commercially models and native skin*. International Journal of Cosmetic Science, 2014. **36**(5): p. 485-493.
138. Rimann, M., et al., *Standardized 3D Bioprinting of Soft Tissue Models with Human Primary Cells*. Journal of Laboratory Automation, 2015.
139. De Wever, B., S. Kurdykowski, and P. Descargues, *Human Skin Models for Research Applications in Pharmacology and Toxicology: Introducing NativeSkin®, the “Missing Link” Bridging Cell Culture and/or Reconstructed Skin Models and Human Clinical Testing*. Applied In Vitro Toxicology, 2015. **1**(1): p. 26-32.
140. Mathes, S.H., H. Ruffner, and U. Graf-Hausner, *The use of skin models in drug development*. Advanced drug delivery reviews, 2014. **69-70**: p. 81-102.
141. Menzel, S., et al., *CE-Zeichen für Medizinprodukte*. Vol. 1. Auflage. 2013: Rampensau&Ferkel Verlag Ettlingen.
142. Verbraucherschutz, B.d.J.u.f., *Gesetz über Medizinprodukte (Medizinproduktegesetz - MPG)*. 2015.
143. Verbraucherschutz, B.d.J.u.f., *Verordnung über klinische Prüfungen von Medizinprodukten (MPKPV)*. 2014.
144. Harer, J., *Anforderungen an Medizinprodukte. Praxisleitfaden für Hersteller und Zulieferer*. 10/2014 ed. Vol. 2. 2014, München: Hanser Verlag.

145. Schlötelburg, C., T. Becks, and A. Mühlbacher, *Identifizierung von Innovationshürden in der Medizintechnik*. Berlin: Bundesministeriums für Bildung und Forschung, 2009.
146. Schmitz, S., *Der Experimentator: Zellkultur*. 2011.
147. Vunjak-Novakovic, G. and R.I. Freshney, *Culture of Cells for Tissue Engineering*. 2013.
148. Meryman, H.T., *Mechanics of Freezing in Living Cells and Tissues*. Science, 1956. **124**(3221): p. 515-521.
149. Daggett, P., et al., *Severe hypernatraemia in adults*. British Medical Journal, 1979. **1**(6172): p. 1177-1180.
150. Fayad, I.M., et al., *Hypernatraemia surveillance during a national diarrhoeal diseases control project in Egypt*. The Lancet, 1992. **339**(8790): p. 389-393.
151. Chisti, M.J., et al., *Hypernatremia in Children With Diarrhea: Presenting Features, Management, Outcome, and Risk Factors for Death*. Clin Pediatr (Phila), 2016.
152. Oertel, B. and Jena, B. Romeis, *Mikroskopische Technik (17. neubearbeitete und erweiterte Auflage, herausgegeben von P. BÖCK)*. 697 S., 49 Abb., ca. 40 Tab. München – Wien – Baltimore 1989. Urban und Schwarzenberg. DM 148,00. ISBN: 3-541-11227-1. Journal of Basic Microbiology. **30**(2): p. 144-144.
153. De Wever, B., et al., *“Open Source”-Based Engineered Human Tissue Models: A New Gold Standard for Nonanimal Testing Through Openness, Transparency, and Collaboration, Promoted by the ALEXANDRA Association*. Applied In Vitro Toxicology, 2015. **1**(1): p. 5-9.
154. Verbraucherschutz, B.d.J.u.f., *DIMDI-Verordnung - DIMDIV*, G.i. Internet, Editor. 2014.
155. ISO, D.E., *DIN EN ISO 14155:2012-01: Klinische Prüfung von Medizinprodukten an Menschen - Gute klinische Praxis*. 2012, DIN EN ISO.
156. Normung, D.I.f., *DIN EN ISO 10993-1:2010-04: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten - Teil 1: Beurteilung und Prüfungen im Rahmen eines Risikomanagementsystems*, B. verlag, Editor. 2010.
157. Wheeler, H.A., *Formulas for the Skin Effect*. Proceedings of the IRE, 1942. **30**(9): p. 412-424.
158. Who, *The World Water Development Report (WWDR)*. 2014. p. 1-230.
159. Oppliger, R.A. and C. Bartok, *Hydration Testing of Athletes*. Sports Medicine, 2012. **32**(15): p. 959-971.
160. Oncescu, V., D. O'Dell, and D. Erickson, *Smartphone based health accessory for colorimetric detection of biomarkers in sweat and saliva*. Lab on a Chip, 2013. **13**(16): p. 3232-3238.
161. Walsh, N.P., et al., *Saliva parameters as potential indices of hydration status during acute dehydration*. Med Sci Sports Exerc, 2004. **36**(9): p. 1535-42.
162. Lovell, C.R., et al., *Type I and III collagen content and fibre distribution in normal human skin during ageing*. The British Journal of Dermatology, 1987. **117**(4): p. 419-28.
163. King, C.K., et al., *Managing acute gastroenteritis among children: oral rehydration, maintenance, and nutritional therapy*. MMWR Recomm Rep, 2003. **52**(Rr-16): p. 1-16.
164. Sterns, R.H., S.M. Silver, and J.K. Hix, *Treatment of Hyponatremia*, in *Hyponatremia: Evaluation and Treatment*, E.E. Simon, Editor. 2013, Springer New York: New York, NY. p. 221-250.

165. Groeber, F., et al., *Impedance Spectroscopy for the Non-Destructive Evaluation of In Vitro Epidermal Models*. *Pharmaceutical research*, 2014: p. 1-10.
166. Solovei, D., et al., *Chemical sensor platform for non-invasive monitoring of activity and dehydration*. *Sensors (Basel, Switzerland)*, 2015. **15**(1): p. 1479-95.
167. Attas-Fox, L., et al., *Evaluation of Tearing in Oculoplastics Assisted by Tear Osmolarity Measurement*. *Orbit*, 2014. **33**(5): p. 331-335.
168. Joines, W.T., et al., *Microwave power absorption differences between normal and malignant tissue*. *International journal of radiation oncology, biology, physics*, 1980. **6**(6): p. 681-7.
169. Semenov, S., *Microwave tomography: review of the progress towards clinical applications*. *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences*, 2009. **367**(1900): p. 3021-3042.

## 15. Erklärungen nach §4 Abs. 3 Satz 3, 5, 8 der Promotionsordnung der Fakultät für Biologie

### Affidavit

I hereby declare that my thesis entitled: „**Entwicklungsaspekte eines Medizinproduktes zur Prävention und Überwachung von Hydrierungszuständen**“ is the result of my own work.

I did not receive any help or support from commercial consultants. All sources and / or materials applied are listed and specified in the thesis.

Furthermore, I verify that the thesis has not been submitted as part of another examination process neither in identical nor in similar form.

### Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, die Dissertation: „**Entwicklungsaspekte eines Medizinproduktes zur Prävention und Überwachung von Hydrierungszuständen**“, eigenständig, d. h. insbesondere selbständig und ohne Hilfe eines kommerziellen Promotionsberaters, angefertigt und keine anderen, als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Ich erkläre außerdem, dass die Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits in einem anderen Prüfungsverfahren vorgelegen hat.

\_\_\_\_\_, den \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Unterschrift