

Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik (Chirurgische Klinik I)

der Universität Würzburg

Direktor : Prof. Dr. med. Prof. h. c. Arnulf Thiede

**Die Silikon–beschichtete
Polyesterprothese
Konzept, physikalische und biologische
Eigenschaften**

INAUGURAL – DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der

MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

der

Bayerischen Julius – Maximilians – Universität Würzburg

vorgelegt von

Christiane Körner

aus Borna

Würzburg, August 2007

Referent : Priv. - Doz. Dr. A. Larena-Avellaneda
Korreferent : Prof. Dr. Prof. h. c. A. Thiede
Dekan : Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung : 14.01.2008

Die Promovendin ist Ärztin



ALEXIS CARREL (1873-1944)

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung	1
1.1. Die Arteriosklerose	1
1.1.1. Definition und Pathogenese	2
1.1.2. Epidemiologie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK)	3
1.1.3. Therapeutische Optionen bei der Behandlung der pAVK	4
1.2. Kunststoffe in der Gefäßchirurgie	8
1.2.1. Historische Entwicklung	8
1.2.2. Problematik alloplastischer Gefäßprothesen	10
1.3. Aktueller Stand der Forschung	14
1.3.1. Undichtigkeit der Polyesterprothesen	14
1.3.2. Intimahyperplasie	14
1.4. Fragestellung und Zielsetzung	18
2. Material und Methoden	19
2.1. Herstellung der Silikon-beschichteten Gefäßprothesen	19
2.1.1. Grundgerüst Polyesterprothesen	19
2.1.2. Polydimethylsiloxan (PDMS)	19
2.1.3. Maschinelle Silikon-Beschichtung	21
2.1.4. Oberflächenmodifizierung	22
2.1.5. Medikamenteninkorporation	25
2.1.6. Moleküle zur Elution	25
2.1.7. Sterilisation	28
2.2. Analyse der Prothese	28
2.2.1. Testung der physikalischen Eigenschaften	28
2.2.2. Verwendete Geräte und Medien	31
2.2.3. Testung der biologischen Eigenschaften	35
2.2.4. Testung der Elution bioaktiver Moleküle	41
3. Ergebnisse	44
3.1. Physikalische Eigenschaften	44
3.1.1. Silikon-Gehalt der beschichteten Prothesen	44
3.1.2. Dichtigkeit	46
3.1.3. Compliance	48

3.1.4. Durchstoßkraft	49
3.1.5. Elastizität	50
3.1.6. Berstungsdruck (Burst strength)	51
3.2. Biologische Eigenschaften	52
3.2.1. Makroskopische Betrachtung	52
3.2.2. Rasterelektronenmikroskopie nach Mediumkontakt (Blut)	53
3.2.3. Allgemeine Gerinnungsparameter	55
3.2.4. ELISA	57
3.2.5. Bakterienwachstum bei Gentamycin-Prothesen	59
3.3. Elution von Molekülen	60
3.3.1. ASS (Azetylsalizylsäure)	60
3.3.2. Sudanrot	60
3.3.3. Immunsuppressivum (IS)	61
3.3.4. Sirolimus (Sir)	62
3.4. Beantwortung der Fragestellung	64
4. Diskussion	65
4.1. Silikon (Polydimethylsiloxan, PDMS) und die Herstellung Silikon-beschichteter Prothesen	66
4.2. Physikalische Eigenschaften	68
4.3. Oberflächenoptimierung/biologische Eigenschaften	71
4.4. "Drug releasing graft"	79
4.5. Ziele und Ausblick	81
5. Zusammenfassung	83
6. Literaturverzeichnis	86
7. Anhang	101
7.1. Ergebnisse ELISA	101
7.1.1. Auswertung der Gerinnungseigenschaften der einzelnen Prothesenoberflächen in Abhängigkeit von der Zeit	101
Lebenslauf	106

Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bezeichnung
Si	Silanolat
AH	Alkylhydroxid
PVA	Polyvinylalkohol
PEO	Polyethylenoxid
Zi	Zink-Ionen
PVP	Polyvinylpyrrolidon
PC	Phosphorylcholin
PDMS	Polydimethylsiloxan, Silikon
IVUS	Intravasculärer Ultraschall
ELISA	Enzyme-linked-immuno sorbent assay
PTA	Perkutane transluminale Angioplastie
TEA	Thrombendarteriektomie
PTT	partielle Thromboplastinzeit
TZ	Thrombinzeit
INR	International Ratio
F1	Fibrinogen
TPZ	Thromboplastinzeit (Quick)
AT3	Antithrombin 3
1x (Silikon)	PET-Prothese, mit einer Schicht Silikon modifiziert
2x (Silikon)	PET-Prothese, mit 2 Schichten Silikon modifiziert
3x (Silikon)	PET-Prothese, mit 3 Schichten Silikon modifiziert
PET	Polyethylenterephtalat, Polyester, früher Dacron®
PTFE	Polytetraflourethylen, z.B. Goretex®

1. Einleitung

1.1. *Die Arteriosklerose*

Aktuelle Daten bezeugen, dass die Arteriosklerose in den Industrienationen immer mehr zu einer Volkskrankheit heranwächst [57,58,153]. Kaum ein Mensch über 60 Jahre leidet nicht unter der weitläufig bekannten Arterienverkalkung mit den typischen Folgeerscheinungen wie KHK, zerebrovaskuläre Durchblutungsstörungen oder periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK). Der Herzinfarkt und der zerebrale Insult zählen zu den häufigsten Todesursachen im Erwachsenenalter sowohl in den USA als auch in den westlichen Industrieländern. Allein in Deutschland werden jährlich etwa 35.000 Extremitätenamputationen notwendig, da weder eine medikamentöse noch eine invasiv-chirurgische Therapie zuvor erfolgreich waren.

Die Liste möglicher Therapieansätze ist lang. Neben konservativen Verfahren wie beispielsweise Bewegungstherapie oder pharmazeutische Therapieansätze greift man auf interventionelle Maßnahmen wie zum Beispiel Ballondilatation mit/ohne Stent. An letzter Stelle der Therapieoptionen stehen chirurgische Möglichkeiten wie verschiedene Gefäßersatztechniken oder operative Desobliterationverfahren [65,109].

Vor allem in Bezug auf künstliche Gefäßersatzmaterialien zeigen Langzeitstudien eher ernüchternde Ergebnisse. Dies betrifft vor allem künstliche Gefäßprothesen unterhalb des Kniegelenkes mit einem Innendurchmesser von weniger als 6mm [1,14,82,90,122]. Obwohl die Forschung in vielen Bereichen der Medizin rasante Fortschritte gemacht hat, hat die Entwicklung neuer Materialien für den alloplastischen Gefäßersatz mit optimalen physikalischen, biologischen und chemischen Eigenschaften jahrelang stagniert.

1.1.1. Definition und Pathogenese

Die Pathogenese der Arteriosklerose kann in eine degenerative, entzündliche, mechanische und funktionelle Genese unterteilt werden [57]. Jedoch konnte der genaue Mechanismus der Entstehung bis heute nicht definitiv geklärt werden. Diesbezüglich existieren unterschiedliche Hypothesen, welche sich gegenseitig ergänzen und ständig überarbeitet werden.

Gängige Lehrbuchmeinungen erklären die Pathogenese der Arteriosklerose als eine lokalisierte, herdförmige Erkrankung im Bereich der Intima, welche mit spezifischen Wandveränderungen einhergeht [11,57,65,149]. Durch einen initialen Einriss mit Schädigung des Endothels durch verschiedene äußere Reize wie beispielsweise hämodynamische Veränderungen oder Cholesterinerhöhung der Intima kommt es zu Ablagerung von Thrombozyten und Monozyten in diesem Bereich. Man spricht von der sogenannten "response to injury"-Theorie. Die Monozyten wandeln sich im Gewebe zu Gewebsmakrophagen um, welche Lipide phagozytieren. Nach diesem Vorgang werden sie als Schaumzelle bezeichnet. Es resultieren „Fettstreifen“, welche sich schon im frühen Kindesalter bilden können. Durch die Aggregation der Thrombozyten kommt es zur Ausbildung von Mikroatherome. Aus beiden Zelltypen werden verschiedene Zytokine und Wachstumsfaktoren freigesetzt, welche zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen führen. Als Folge entstehen fibröse Plaques, an die sich wiederum Proteoglykane und Kollagene ablagern können. Ab dem Zeitpunkt der Bindegewebsbildung mit vermehrter Ablagerung von Lipiden und zunehmender Proliferation ist die Arteriosklerose irreversibel. Folge dieser Veränderungen sind Atherombildung, Elastizitätsverlust und letzten Endes eine Lumeneinengung der Gefäße [57,149].

Auf Grundlage einiger Studien konnte die atherogene Potenz verschiedener Faktoren nachgewiesen werden [57]. Zu diesen exogenen und endogenen Noxen zählen unter anderem Hypertonie, Hyperfibrinogenämie, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus, Nikotin sowie auch verschiedene Toxine und Antigen-Antikörper-Komplexe [149]. Aber auch Entzündungen, Hypoxie, psychischer

Stress, familiäre Belastungen und das Alter zählen zu den möglichen schädlichen Faktoren im Rahmen der Entstehung der Arteriosklerose.

1.1.2. Epidemiologie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK)

Die pAVK zählt zu der häufigsten Manifestationsform der Arteriosklerose. Frauen sind in der Regel ab dem 65. Lebensjahr, Männer ab dem 55. Lebensjahr verstärkt gefährdet. In dieser Zeit leidet schon nahezu jeder zweite Mensch an eben erwähnten Gefäßveränderungen [57,58]. Bei Frauen vor der Menopause wirken die Geschlechtshormone vasoprotektiv, so dass sie dreimal seltener betroffen sind als gleichaltrige Männer [42,57]. Bei der pAVK sind in 90% die unteren und in 10% die oberen Extremitäten betroffen.

Im Bereich der unteren Extremität unterteilt man einen Becken- (35%), Oberschenkel- (50%), Unterschenkel- oder peripheren Typ (14%) und einen abdominalen Aortentyp (1%, Leriche-Syndrom) [57]. An der oberen Extremität unterscheidet man einen digitalen Typ (70%), einen Schultertyp (28%) und einen Aortenbogentyp (1-2%) [57].

Häufig verwendet man im Rahmen der klinischen Beurteilung den Begriff der Mehretagenerkrankung. Darunter versteht man die Tatsache, dass mehr als nur ein Gefäßabschnitt von der Arteriosklerose betroffen ist. Dies betrifft also zum Beispiel sowohl die Becken- als auch die Oberschenkelgefäße.

Eingeteilt werden die Symptome der pAVK an den Extremitäten in 4 Stadien (I-IV nach Fontaine). Ursache für klinische Beschwerden kann eine Stenose oder ein kompletter Verschluss des Gefäßes sein. Es konnte festgestellt werden, dass zwei Drittel aller Patienten mit Gefäßveränderungen asymptomatisch sind. Dies ist nur dann möglich, wenn sich die Veränderungen langsam entwickelt haben und somit genügend Zeit zur Ausbildung von Kollateralkreisläufen vorhanden war [133].

1.1.3. Therapeutische Optionen bei der Behandlung der pAVK

In der Therapie der pAVK unterscheidet man zwischen der konservativen, interventionellen und operativen Behandlung.

Konservative Therapie

Die primäre Prävention in jedem Stadium der Erkrankung zur Vermeidung einer Progression besteht in einer Minimierung beziehungsweise kompletten Vermeidung sämtlicher als atheromatös angesehenen Risikofaktoren (siehe dazu Kapitel 1.1.1) [57].

Zur Verhinderung einer arteriellen Thrombose werden Thrombozytenaggregationshemmer (z.B. Azetylsalizylsäure 100-300mg/d oder Clopidogrel 75mg/d) verabreicht [57,149]. Pharmakologisch stehen weiterhin Prostaglandine, Statine, Antibiotika, NO-Donatoren, Östrogene oder Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten als antiaggregatorische Therapie zur Verfügung [115].

Laut der „Antiplatelet Trialist's Collaboration-Study“ kann so die vaskuläre Gesamtmortalität um 20% gesenkt werden. In der CAPRIE-Studie wird darauf hingewiesen, dass Clopidogrel offenbar wirkungsvoller in Bezug auf die Therapie der pAVK als ASS sein soll [7,8,25]. Des Weiteren zählt man zur medikamentösen Dauertherapie Antikoagulantien wie Heparine (unfraktioniert, niedermolekular) und Marcumar.

Daneben existieren verschiedene rheologische Verfahren wie hypervolämische Hämodilution, ein Gefäßtraining durch spezielle Sportgruppen sowie auch spezifische Wundtherapiekonzepte.

Alle diese Therapieprinzipien werden stadienabhängig angewendet.

Interventionelle Therapie

Unter diesem Begriff versteht man perkutan durchgeführten Maßnahmen. Neben seltener durchgeführten Therapien wie CT-gesteuerten lumbale Sympatiko-lyse [65] kommt der Angioplastie eine besondere Bedeutung zu. Man zählt hierzu beispielsweise die Perkutane Transluminale Angioplastie (PTA), die perkutane Atherektomie oder eine Rotationsangioplastie. Bei der PTA wird in der Regel zunächst ein Führungsdraht im betroffenen Gefäß platziert und über diesen ein Ballonkatheter in kollabiertem Zustand in den Bereich der Stenose oder des kurzstreckigen Verschlusses platziert. Anschließend wird der Ballon mit 8-20 atm dilatiert und der betroffene Gefäßabschnitt erweitert. Somit wird die Gefäßinnenwand zusätzlich geglättet [11,65].

Nach Aufdehnung der veränderten Areale kann ein Stent platziert werden. Unter einem Stent versteht man eine scherengitterartige endoskopisch oder radiologisch platzierbare Prothese. Man unterscheidet im Wesentlichen zwischen den Ballon-expandierbaren Stents und den selbst-expandierenden Maschen-Stents [86]. Spezielle Materialien bewirken, dass sich letztgenannter Stenttyp nach Implantation selbständig ausdehnt. Eine dieser sogenannten Form-Gedächtnis-Legierungen besteht aus Nickel-Titan (NiTiNol-Stent) [57,102,103].

Des Weiteren unterscheidet man reine Stents und Stentgrafts. Stentgrafts werden von einer Textilschicht ummantelt und vor allem bei der Aneurysmathherapie verwendet.

Moderne Stents werden heutzutage mit verschiedenen antiproliferativ oder immunsuppressiv wirkenden Substanzen beschichtet [103,106,120] oder so modifiziert, dass sie eine radioaktive Strahlung emittieren können.

Seit Juli 2005 existiert die Zulassung eines neuen DES ("drug-eluting stent", ENDEAVOR™) der Firma Medtronic, welcher aus einer speziellen, hauchdünnen Kobalt-Legierung besteht und mit einem Rapamycin-Analogon beschichtet wird.

Für großes Aufsehen sorgte auch die Entwicklung eines sich auflösenden Koronarstents aus einer speziellen Magnesium-Legierung durch die Arbeitsgruppe von Professor Raimund Erbel aus Essen. Die weitere Forschung zielt auch hier

auf eine Medikamentenbeschichtung und damit Modifizierung der Prothese [5,15,103,106].

Auch die intraarterielle Thrombolyse stellt eine Möglichkeit der Lumeneröffnung bei pAVK dar. Über einen Katheter kann lokal im Bereich der Thrombose ein thrombolytisches Medikament (Streptokinase, Urokinase, r-tPA) injiziert werden [57].

Operative Therapie

Neben den interventionellen Methoden kommen operative Therapieformen zur Anwendung. Man unterscheidet dabei im Wesentlichen zwei Verfahren. Erstens die intramuläre Desobliteration mittels Thrombendarteriektomie (TEA), wobei es zur Lumeneröffnung des Gefäßes kommt. Dies geschieht durch eine Ausschälplastik-Technik oder intraluminal durch Embolektomie oder Thrombektomie. Das zweite Verfahren beruht auf unterschiedlichen Gefäßersatzmöglichkeiten. Beim Gefäßersatz kann man eine Zwischenschaltung (Interponat) von einer Umgehung (Bypass) unterscheiden. Zu weiteren Therapieoptionen zählen Amputationen, Sympathikolysen sowie Wunddebridement [57,65].

Im Rahmen einer TEA wird das Gefäß zunächst längs eröffnet. Man spricht hierbei von einer offenen TEA. Danach wird mit Hilfe spezieller Instrumente das arteriosklerotische Material ausgeschält, wobei dies unter Beachtung der Gefäßwandschichten der Lamina externa et interna erfolgt. Man achtet besonders auf das feste Anhaften der distalen Intima, wobei dies eventuell durch Fixierung mittels einer Naht sichergestellt werden muss. Wenn dies nicht erfolgt, kann es durch die hohen Drücke sowie die vorgegebene Flussrichtung zu einer Gefäßdissektion kommen. Man spricht von einem sogenannten "flap". Verschlussen wird das Gefäß bei grossen Lumina durch Direktnaht oder bei Vorhandensein eines kleinen Lumens durch eine Patchplastik [11,65].

Es existiert von diesem Verfahren auch eine halbgeschlossene Variante. Sie kommt vor allem bei längerstreckigen Verschlüssen zum Einsatz. Das Gefäß

wird in der Regel distal eröffnet und das arteriotische Material mittels eines Ringstrippers entfernt.

Wenn die oben erwähnten Interventionen nicht mehr zu einer Lumeneröffnung führen, muss der entsprechende Gefäßabschnitt komplett ersetzt werden.

Beim Bypassverfahren bleibt der ursprünglich veränderte Gefäßabschnitt in situ erhalten und wird mittels einer Umgehung anatomisch beziehungsweise extra-anatomisch umgangen. Man spricht dann beispielsweise von einem femoro-femorale Crossover-Bypass oder einem subclavio-bifemorale Bypass [11,65].

Die Materialien zum Ersatz von körpereigenen Gefäßen kann man in drei große Untergruppen einteilen: die autologen, also körpereigenen Gefäße, die homologen oder heterologen Bioprothesen und die alloplastischen Kunststoffprothesen. Zu den autologen Materialien zählen Venen wie die V.saphena magna oder V.cephalica und die Arterien wie A. mammaria interna oder A. splenica. Leichenarterien und -venen, sowie die DARDIK-Prothesen werden zu den homologen Materialien gezählt, währenddessen bovine und ovine Prothesen den heterologen Bioprothesen zugeordnet werden. Unter den DARDIK-Prothesen versteht man die von einem Dacronnetz umgebene V. umbilicalis [10,33,105]. Während homologe und heterologe Implantate Sonderindikationen vorbehalten bleiben, stellen autologe Venentransplantate und Kunststoffprothesen die am häufigsten verwendeten Alternativen dar [65].

Oft steht die Vene als Ersatzmaterial nicht zur Verfügung. Dies kann postoperativ im Rahmen einer Varizenoperation nach Babcock-Operation oder Stripping sein, oder aber nach Verwendung als Bypass in der Herzchirurgie gefunden hat. Häufig kann die Vene trotz Vorhandensein nicht verwendet werden, da sie variköse Veränderungen aufzeigt.

Dementsprechend muss immer häufiger auf alloplastische Materialien zurückgegriffen werden. Im Rahmen von Langzeitstudien nach Implantation schmal-lumiger Gefäßprothesen zeigt sich allerdings immer häufiger, dass die Ergebnisse unbefriedigend sind [118,123]. Im Vergleich dazu sind Kunststoffprothesen im großlumigen Bereich der Aorta oder der Beckengefäße den Venenersatz durchaus ebenbürtig, wenn nicht sogar überlegen [17,38,58,61,70,73,115,124].

1.2. Kunststoffe in der Gefäßchirurgie

1.2.1. Historische Entwicklung

Die Idee des Einsatzes künstlicher Blutgefäße ist keineswegs erst in der heutigen Zeit entstanden. Bereits vor über 400 Jahren, genauer gesagt 1543, versuchte Vesalius in tierexperimentellen Studien die Oberschenkelarterien von Hunden durch Strohhalme zu ersetzen. Dabei stellte er einen Verlust der Pulsweite des Blutstromes fest [131,139,140,141]. Es dauerte viele Jahrhunderte, bis die Ergebnisse aus Vesalius Experimenten wieder aufgegriffen wurden. Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde mit verschiedenen Materialien experimentiert, dazu zählten Röhren aus Glas, Silber, Gummi und sogar Elfenbein. Berühmte Vertreter dieser Zeit waren unter anderem Horsley (1915), Tuffier (1917) und Carrel (1912) in Lyon und den USA [26,139,140]. Letztgenannter hatte 1906 schon eine Reihe von Versuchen mit autologen Venentransplantaten durchgeführt. Erstmals wurde eine Gefäßprothese durch Alexis Carrel 1908 in einem Hund transplantiert [26]. 1912 erhielt er für seine Arbeiten den Nobelpreis für Medizin.

Einige Jahrzehnte ruhte die Forschung auf diesem Gebiet bis schließlich den Amerikanern Voorhees, Blakemore und Jaretzki 1951/52 der alles verändernde Durchbruch mit der Entwicklung von Kunststoffröhren gelang. Das Besondere dabei war deren poröse Wand des biologisch indifferenten Materials, welche ein schnelles Einwachsen in den Körper ermöglichte [13,142].

In Deutschland machte sich die Arbeitsgruppe um Linder (1956 und 1958) und Stich bei der Entwicklung von alloplastischen Gefäßprothesen einen Namen. Heutzutage zählen zu den am besten untersuchten und verträglichsten Materialien Polyethylenterephthalat (PET, Polyester, alter Handelsname: Dacron®) und Polytetrafluoroethylen (PTFE, alter Handelsname: Teflon®). 1954 wurde erstmals eine künstliche Gefäßprothese in ein aortoiliakales Segment im Menschen implantiert [65,139].

Polyesterprothesen

Die Polyesterprothesen stellen ein Polymer aus Ethylenterephthalat (PET, Polyester) dar, welche durch eine Esterbindung aneinander gekoppelt sind. Der Polyestergrundstoff wird zunächst geschmolzen und zu einem Garn verarbeitet. Aus diesem Garn können die Prothesen nun entweder gewebt, gewirkt oder gestrickt werden. Der Unterschied in der Herstellung bezieht sich auf die Porosität, die bei gewebten PET-Prothesen äußerst gering ist. Ein Problem stellt die mangelnde Haftung der Neointima an der Prothesenoberfläche dar. Gestrickte Prothesen sind primär undicht, können aber durch diverse Beschichtungen wie beispielsweise Albumin, Gelatine oder Kollagen abgedichtet werden [69,94,125]. Geschieht dies nicht, müssen sie vor Implantation in Patientenblut getränkt werden ("Preclotting"). Vorteil dieser Prothesen ist die bessere Einsprößung von Kapillaren in die Wand der Prothese. Auch das Neoendothel kann hier wesentlich besser an der Oberfläche anhaften, welches einen positiven Effekt der Prothese darstellt. Im klinischen Alltag wird die gestrickte Variante bevorzugt. Gewirkte Prothesen wiederum werden aus vorgeformten Maschen ausgearbeitet. Das so erhaltene Gewebe ist ebenfalls dehnbar und elastisch. Der Vorteil ist eine Dilatationsfähigkeit der fertigen Prothese mit guter Anpassungsfähigkeit an die schwankenden Druckunterschiede im arteriellen Kreislauf [37].

PTFE Prothesen bestehen aus Polytetrafluoroethylenen und zählen ebenfalls zu den Polymeren. Sie sind ohne weitere Beschichtungen primär blutdicht (je nach Porosität der Knoten-Fibrillen-Struktur). Bei der Herstellung werden zunächst einfache Kunststoffröhren geformt. Danach erwärmt man die Röhre erneut, um sie anschließend auseinanderzuziehen („expanded PTFE“, ePTFE), wodurch elektronenmikroskopisch feine Knoten und Fibrillen entstehen. Die Porosität wird bei den PTFE-Prothesen als mittlere Länge der Fibrillen angegeben (in der Regel 20-30 µm). Die Luft zwischen den Fibrillen führt nach Blutkontakt zur Aktivierung der Gerinnungskaskade. Deshalb besteht in der Frühphase

nach Implantation eine erhöhte Thrombosegefahr. Auch hier können Zellen in die Zwischenräume vordringen und die Prothese so inkorporieren [59,84,85].

1.2.2. Problematik alloplastischer Gefäßprothesen

Kunststoffprothesen werfen im Vergleich zu autologen Materialien einige charakteristische Probleme auf. Dies sind insbesondere ihre Thrombogenität und die Neigung zur Induktion der Intimahyperplasie [85].

Thrombogenität

Die Oberfläche aller Kunststoffprothesen gilt primär als thrombogen [97]. Ein großes Problem stellt daher die Offenheitsrate der Prothesen dar, was vor allem im Rahmen von Langzeitstudien nach Implantation von PET-Prothesen gezeigt werden konnte [6,55,60,134,135]. Durch den Fremdoberflächenkontakt wird das intrinsische Gerinnungssystem aktiviert, welches die weitere Gerinnungskaskade in Gang setzt (Abbildung 1). Dadurch lässt sich die erhöhte Thrombosierungsrate nach Gefäßimplantation erklären. Um die Offenheitsrate zu verlängern, wurden die Oberflächen der Prothesen beispielsweise mit Heparin oder Karbon beschichtet. Für die Karbonprothesen konnten jedoch keine relevante Verbesserung der Langzeitergebnisse erzielt werden [73]. Die Heparinprothesen sind noch relativ neu auf dem Markt. Dementsprechend fehlen Langzeitstudien, um zum jetzigen Zeitpunkt Aussagen über die Offenheitsrate zu wagen.

Primäre Gerinnung

Im Rahmen der Hämostase kommt es nach traumatischer oder durch den Chirurgen verursachter Verletzung des Gefäßendothels zur Freisetzung von gerinnungsaktivierenden Faktoren. Dabei laufen vier große Vorgänge ab. Als erstes kommt es zur Vasokonstriktion. Ursächlich dafür werden reflektorische Vorgänge, aber auch die aus den Thrombozyten abgegebenen Mediatoren wie Serotonin, ADP oder Thromboxan A₂ angesehen. Danach folgt zweitens die Aus-

bildung eines Thrombozytenpfropfes oder weißer Thrombus genannt durch Freisetzung von Kollagenfasern und Proteinen wie Fibronectin, Vitronectin und Laminin. Die Thrombozytenadhäsion als dritter Schritt erfolgt durch Kopplung von Oberflächenrezeptoren an die Fasern. Zu den Rezeptoren, auch als Intermediärmoleküle bezeichnet, zählt unter anderem auch der von Willebrand-Faktor. Durch diesen Vorgang werden die Thrombozyten aktiviert, in deren Folge es zur Formveränderung derselben kommt. Außerdem werden die in den Plättchen gespeicherten Moleküle wie beispielsweise der Faktor V, ADP, von Willebrand Faktor, Serotonin oder der platelet derived growth factor (PDGF) freigesetzt. Man spricht hierbei von der Plättchendegranulation. Als Folge dieses Vorganges kommt es zur Plättchenaggregation, also zur Quervernetzung der Thrombozyten mit dem Fibrinogen im Blut. Außerdem werden über komplexe Mechanismen Fibroblasten und glatte Muskelzellen aktiviert [57].

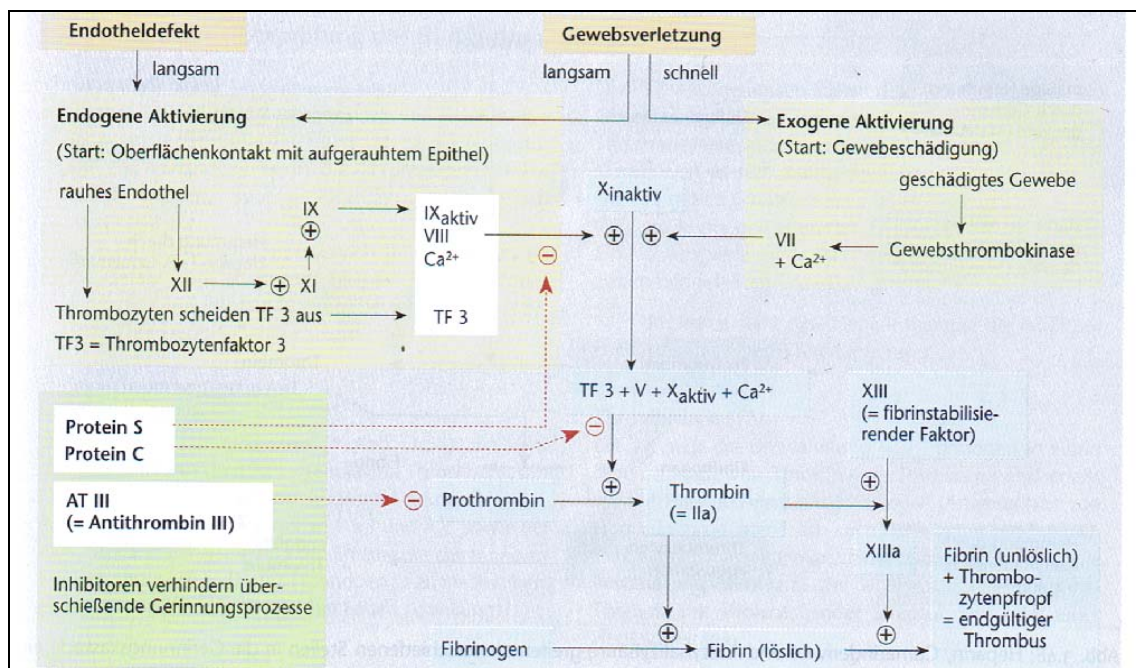


Abbildung 1: Ablauf der Gerinnungskaskade. Aus Basislehrbuch Innere Medizin. Urban&Fischer Verlag, 2.Auflage, 2001

Sekundäre Gerinnung

Durch die Endothelverletzung wird ferner auch die sekundäre Gerinnung, also das plasmatische Gerinnungssystem, aktiviert. Daraufhin kommt es zur Ausbildung eines roten Thrombus. Die Aktivierung kann über zwei verschiedene Wege erfolgen, den extrinsischen und den intrinsischen Abschnitt (Abbildung 1). Das extrinsische System wird aktiviert, wenn es zu schwereren Verletzungen mit Blutverlust in das umliegende Gewebe gekommen ist. Dabei tritt Gewebethromboplastin, welches sich im umliegenden Gewebe befindet, in Kontakt mit dem Blut und setzt die Gerinnungskaskade in Gang. Dieser Vorgang läuft innerhalb von Sekunden ab.

Das intrinsische System definiert sich über die Verletzung des Gefäßendothels mit Freisetzung von Faktor XII (von Willebrand-Faktor). Der Vorgang des intrinsischen Systems dauert wesentlich länger, reagiert aber auch bedeutend empfindlicher [57,65].

Intimahyperplasie (IH)

Man versteht unter der Intimahyperplasie eine Gewebereaktion nach Verletzung des Gefäßendothels, welche beispielsweise nach Implantation einer Gefäßprothese, dem Einbringen eines Stents oder jedem anderen beliebigen Trauma auftritt [32,47,48,53,85,113]. Bekannt ist sie auch unter dem Namen neointimale oder myointimale Hyperplasie.

Die Intimahyperplasie gilt in 40-50% als Hauptursache aller re-stenosierenden Prozesse nach Bypassimplantation [3,43,48,96,130]. Studien konnten diesen Prozess bislang bei allen klinisch verwendeten Materialien nachweisen [36,130]. Sie ist ein mitentscheidender Hauptgrund für das Versagen vor allem schmallumiger Gefäßersatztherapien. Der Ablauf der Intimahyperplasie konnte sehr genau erforscht werden und spielt sich immer nach dem gleichen Schema zwischen der Lamina interna und dem Endothel beziehungsweise der Oberfläche des alloplastischen Prothesenmaterials ab. Es kommt dabei zur Proliferation glatter Muskelzellen aus der Media in die Intima. Gleichzeitig wird durch diese Zellen eine extrazelluläre Matrix unter anderem bestehend aus Elastin, Kol-

lagen Typ I/III, Proteoglykanen, Fibronectin produziert [107]. Es konnte festgestellt werden, dass beim Ablauf dieses Prozesses eine Thrombozytenaktivierung und –anlagerung offensichtlich eine große Rolle spielt [48]. So wurde gezeigt, dass bei diesem Prozess der sogenannte PDGF (platelet derived growth factor) freigesetzt wird, welcher bei der Ausbildung der IH eine entscheidene Rolle spielt (Tabelle 1).

Zeit ab Trauma	Pathophysiologischer Vorgang
30 Minuten	Freisetzung nukleäre Onkogene [10]
24-48 Stunden	Proliferation glatter Muskulatur (GM)(20-30%) in der Media [32,96]
4 Tage	Migration der Zellen in die Intima
1 Woche	Maximale Proliferation der GM [28]
3 Monate	Gleichgewicht aus Proliferation und Migration Intima = 47-80% extrazelluläre Matrix + GM [32,31,151], GM kehren zu kontraktile Ausgangszustand zurück [10]
Sekundär	Infiltration der Gefäßwand mit T-Lymphozyten, Monozyten, Leukozyten (aus Plasma) [107]

Tabelle 1: Pathophysiologie der Intimahyperplasie – zeitlicher Ablauf [85].

1.3. Aktueller Stand der Forschung

1.3.1. Undichtigkeit der Polyesterprothesen

Wie bereits näher erläutert [siehe 1.2.1] unterscheidet man bei PET-Prothesen gewebte, gestrickte und gewirkte Materialien. Das Problem der primär dichten, gewebten Prothesen besteht in einem Ausfransen beim Zuschnitt, was sich vor allem beim Ersatz kleinkalibriger Gefäßverschlüsse auswirkt. Auch die primär dichten ePTFE-Materialien weisen Komplikationen auf. So kommt es häufig zu Stichkanalblutungen aus den Nahtstellen der Gefäßwand. Die beiden anderen Materialtypen müssen aufgrund ihrer primären Undichtigkeit in einem zeitintensiven Schritt zunächst „geclottet“ werden. Daher werden meist beschichtete Materialien verwendet, wobei immer bovine Substanzen wie Kollagen, Gelatine oder Albumin zum Einsatz kommen [9,41,69,94].

Ebenso wie bei den PET-Prothesen hat die Wissenschaft mit der Entwicklung von Beschichtungen boviner Natur reagiert, wie zum Beispiel die SealPTFE™ der Fa. Vascutek. Bei allen bovinen Beschichtungen besteht eine statistische Gefahr der Übertragung von Prionen.

Es besteht also ein dringender Bedarf der Herstellung primär dichter Prothesen, welche möglichst ohne eine Beschichtung mit tierischen Substanzen auskommen.

1.3.2. Intimahyperplasie

Im Wesentlichen kann man die Ansatzpunkte zur Reduktion der Intimahyperplasie in 3 Gruppen unterteilen. Dabei unterscheidet man erstens zwischen einem rein physikalischen, zweitens einem biologischen und drittens einem pharmakologischen Ansatzpunkt (Tabelle 2).

Ansatzpunkte zur Reduktion der Intimahyperplasie	Beispiele
physikalisch	radio aktive Strahlung [72] Oberflächenveränderung [3] Blutstromveränderung [118]
biologisch	"Endothel Cell Seeding" [138] "Tissue engineering" [137] Gentherapie [34]
pharmakologisch	orale/parenterale Applikation [144] lokale Abgabe [119]

Tabelle 2: Ansatzpunkte zur Reduktion der Intimahyperplasie.

Physikalische Modifikationen

Ein wichtiger Ansatzpunkt zur Vermeidung beziehungsweise Verringerung der Intimahyperplasie stellt die Modifikation der Operationstechnik dar. Man spricht vom sogenannten "Anastomotic engineering". Darunter versteht man die Verfeinerung und Optimierung der Gefäßnahttechniken [79,85]. Dieses Verfahren beruht auf dem Prinzip der Reduktion von postoperativ auftretenden hämodynamisch ungünstigen Flussphänomenen. Unter diesem "Shear stress" versteht man eine laminäre Schubspannung des Blutes auf der Grundlage des Blutflusses [120].

Der zweite Ansatzpunkt beschäftigt sich mit der endoluminalen und perkutanen Brachytherapie [62,72,150]. So soll die Offenheitsrate nach perkutaner transluminaler Angioplastie verlängert werden. Jedoch sollten dabei die unerwünschten Nebenwirkungen vor allem im Rahmen der perkutanen Brachytherapie oder der DNA-Veränderungen nicht außer Acht gelassen werden.

Alles in allem stellt sich derzeit die Möglichkeit eines suffizienten alloplastischen Gefäßersatzes für distale Verschlüsse mit sehr kleinem Lumendurchmesser unbefriedigend dar. Dies macht eine kontinuierliche Verbesserung der aktuell verfügbaren Gefäßprothesenmaterialien dringend nötig.

Biologische Modifikationen

Beim "Endothelial Cell Seeding" (ECS) werden entsprechende Kunststoffprothesen mit *in-vitro* gezüchteten Endothelzellen beschichtet [7,53]. Dies gestaltet sich bislang noch äußerst kosten-, zeit- und materialaufwendig. Beim ECS werden perioperativ Venen des Patienten gewonnen und diese mechanisch oder enzymatisch zerstört. Die so gewonnene Zellsuspension enthält hauptsächlich das Endothel der Venen und dient als Spülflüssigkeit der Kunststoffprothesen vor Implantation. Andere Endothelzellendonatoren wie beispielsweise Zellen aus dem Peritoneum oder Fettgewebe sowie Oberflächenmodifikationen von Kunststoffprothesen wurden erforscht. Einige dieser Versuche konnten bereits wissenschaftlich überzeugen [18,49,66,92,138]. Im Hinblick auf Oberflächenmodifikationen wurde vor allem bezüglich verschiedener Beschichtungen zur besseren Adhäsion der Endothelzellen geforscht.

Um die Funktion der Gefäße zu rekonstruieren, kann man das Verfahren des "Tissue engineering" anwenden. Dabei soll ein biologisches Gefäß *in-vitro* gezüchtet werden. Unter Ausnutzung chemischer, technischer und mechanischer Methoden soll die vollständige Funktion und Struktur des defekten Gewebes oder Organs wiederhergestellt werden. Das Verfahren baut sich auf 3 Säulen auf: 1. isolierte Zellen allogenen, autologen oder xenogenen Ursprunges, 2. synthetische oder biologischen Polymere und 3. bioaktive Substanzen, das heisst Applikation von gewebeinduzierenden Stoffen. Resultierend soll unter Anwendung einer oder mehrerer Punkte in Zukunft eine medikamentöse hämolytische Dauertherapie unnötig werden [18,137].

Des Weiteren orientieren sich zunehmend internationale Forschungsgruppen an der Erforschung und Nutzung der Gentherapie zur Hemmung der Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen [34]. Weitreichende Ergebnisse mit signifikanten Langzeitergebnissen stehen allerdings noch aus.

Pharmakologische Ansätze

Auf pharmakologischer Ebene haben sich große Fortschritte im Bereich der lokalen Medikamentenfreisetzung durch die Entwicklung der "drug-eluting stents" ergeben. Das Prinzip eines solchen "drug-eluting stent" basiert auf der kontinuierlichen Abgabe von inkorporierten Molekülen aus der Stentoberfläche. Bei diesen Molekülen handelt es sich um biologisch aktive Substanzen, die zum Beispiel immunsuppressiv (Sirolimus) oder zytostatisch (Paclitaxel) wirken. Auf diese Weise soll die Intimahyperplasie unterdrückt werden [67,83].

Basierend auf Studien konnte festgestellt werden, dass diese Medikamente nur dann wirken, wenn sie aus einem Polymer freigesetzt werden [128,144]. Mittelfristig konnten bislang viel versprechende Ergebnisse belegt werden [44,54,56,64].

Daneben finden Thrombozytenaggregationshemmern und Antikoagulantien in der klinischen Routine breite Anwendung. Positiv in Bezug auf die Intimahyperplasie (IH) konnte hier vor allem Heparin in Studien überzeugen, wohingegen Thrombozyten-aggregationshemmer, Kalziumantagonisten, Steroide, ACE-Hemmer, Wachstumsfaktorenantagonisten oder Lipidsenker diese Wirkung nicht erzielten [32].

Noch nicht in den gefäßchirurgischen Alltag Einzug gefunden haben das Immunsystem beeinflussende Substanzen wie beispielsweise Sirolimus. In verschiedenen Studien konnte bislang schon der antiproliferative Effekt auf die glatten Muskelzellen nachgewiesen werden [95,116]. Dies macht man sich in der Transplantationsmedizin zunutze. Da die chronische Abstoßung auf solchen Proliferationsprozessen beruht, kann man durch die Gabe von Sirolimus diese deutlich verzögern. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen öffnen sich hier unzählige Ansatzpunkte für zukünftige Forschungen.

1.4. Fragestellung und Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist die Herstellung einer neuen, multifunktionellen Gefäßprothese, die den oben genannten Problemen alloplastischer Materialien gerecht wird. Dafür muß ein einfach replizierbarer Mechanismus zur Herstellung dieser Prothesen entwickelt werden.

Neben der primären Dichtigkeit der Prothesen soll besonderes Augenmerk auf die Oberflächenmodifizierung und Medikamentenfreisetzung gelegt werden.

In dieser Disserationsschrift werden das Konzept und die praktische Umsetzung des Herstellungsprozesses dargelegt. Als Ausgangsmaterial dafür dienten herkömmliche Polyesterprothesen.

Zur Änderung der mechanisch-physikalischen Eigenschaften werden wir die Silikon-Beschichtung variieren. Es gilt zu klären, ob diese modifizierten Prothesen vergleichbare Eigenschaften zu herkömmlich genutzten Prothesen aufweisen und ob sie den ISO-Normen gerecht werden können.

Eine Modifikation der biologischen Charakteristika wird durch Beschichtung mit verschiedenen Oberflächenmolekülen vorgenommen und durch die Einbringung von Medikamenten erreicht. Ziel ist, die Thrombogenität zu reduzieren. Diesbezüglich wird besonderes Augenmerk auf den zeitlichen Verlauf der Gerinnungskaskade gelegt werden. Bezüglich der Medikamentenfreisetzung im Sinne einer "drug-release" Prothese stellt sich die Frage, ob dieses Prinzip verwirklicht werden kann und wie sich die zeitliche Elution darstellen wird. Es gilt nachzuweisen, ob die Medikamente an die die Prothesen durchspülende Lösung, an das umgebende Gewebe oder aber an beides abgegeben wird.

Richtungspunkt für weiterführende Forschungen ist der Einsatz der so hergestellten Prothesen im Tierversuch und bei positiven Ergebnissen Testung derselben im menschlichen Körper.

2. Material und Methoden

Basis der neuen Prothesen stellten Polyesterröhrchen dar. Diese wurden maschinell mit einem sogenannten Präpolymer aus Polydimethylsiloxan (PDMS) beschichtet, woraufhin eine regelmäßige Silikon-Ummantelung entstand. In einem zweiten Schritt wurden auf nass-chemischem Weg verschiedene funktionelle Gruppen an der Oberfläche zum dauerhaften Verbleib gebunden (ionogen/kovalent). Abschließend erfolgte die Einbringung von Medikamenten in die Matrix des Silikons. Diese Moleküle waren physikalisch gebunden und konnten mit der Zeit abgegeben werden.

Die Analyse umfasste die Untersuchung der physikalischen und biologischen Eigenschaften. Zur Oberflächenanalyse wurden reine Silikon-Schläuche verwendet, wobei verschiedene funktionelle Gruppen evaluiert wurden. Die Elution der Moleküle wurde in einem eigens dafür entwickelten Kreislaufmodell dargestellt.

2.1. Herstellung der Silikon-beschichteten Gefäßprothesen

2.1.1. Grundgerüst Polyesterprothesen

Als Grundlage dienten unbeschichtete Polyesterprothesen mit einem Innendurchmesser von 6mm (Micron™, Fa. Intervascular). Zum Vergleich wurden neben den unbeschichteten Materialien beschichtete Polyestergrafts (InterGard Silver®, Fa. Intervascular; Meadox knitted Hemashield®, Fa. Boston Scientific) und PTFE-Rohrprothesen (Goretex®strech, Fa. Gore) mit einem Innendurchmesser von 6mm verwendet.

2.1.2. Polydimethylsiloxan (PDMS)

PDMS (Polydimethylsiloxan) ist besser unter dem Namen Silikon bekannt. Es stellt ein Hybrid aus organischer und anorganischer Chemie dar.

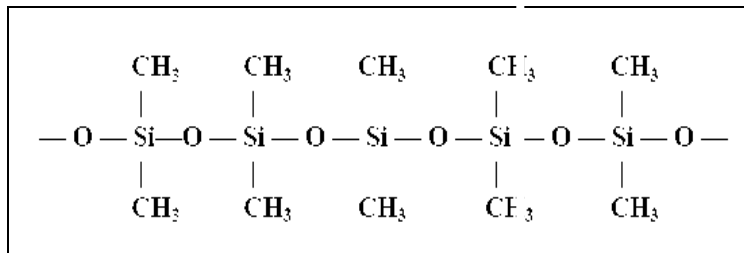


Abbildung 2: Strukturformel des linear aufgebauten, reinen Silikon-Öls. An ein Siloxanmolekül [Si-O] sind jeweils 2 Methylgruppen (CH₃-) gebunden. (aus „Silikon“-Skript von M.Schneider/C. Blodig, Fachschule für Technik/Troisdorf (2002), Seite 2, Internetversion)

Reines Silikon-Öl ist linear aufgebaut (Abbildung 2). Dabei bestehen die Silikonketten aus einem Gerüst aus Si-O-Einheiten, dem Siloxan. An eine Si-O-Einheit sind jeweils 2 Methylgruppen gebunden. Es entsteht das Polydimethylsiloxan. Reines lineares Silikon liegt abhängig vom Molekulargewicht entweder als dünnflüssiges Öl oder aber als sirupartiges Gel vor. Erst die dreidimensionale Quervernetzung des Polymers ergibt die feste Form des Silikons, aus denen auch die im Versuch verwendeten Silikon-Schläuche hergestellt wurden (Abbildung 3).

Auch die Silikon-Schicht, die wir auf die neu modifizierten Prothesen aufbrachten, bestand aus dem dreidimensionalen Silikon.

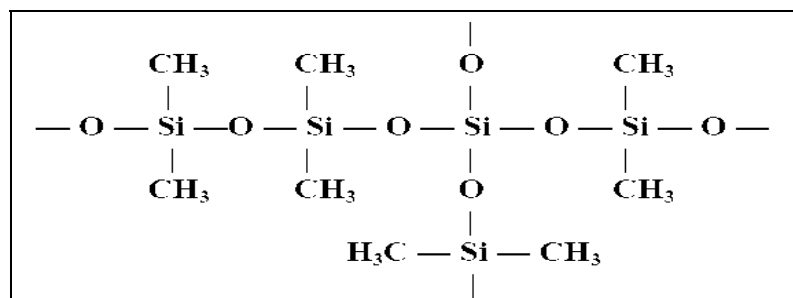


Abbildung 3: Durch Quervernetzung der Polymerketten entsteht die dreidimensionale Form des Silikons. Dadurch nimmt das Silikon seine typische feste Zustandsform an. (aus „Silikon“-Skript von M.Schneider/C. Blodig, Fachschule für Technik/Troisdorf (2002), Seite 3, Internetversion)

Für die Herstellung der Silikon-beschichteten Prothesen wurde eine Lösung aus 60g Ethylazetat und 10,8g Silikon verwendet, die uns durch die Fa. – bionic-surfaces – freundlicherweise bereitgestellt wurde.

2.1.3. Maschinelle Silikon-Beschichtung

Für die Beschichtung von Polyesterprothesen mit Silikon in unterschiedlichen Stärken entwickelten wir eine maschinelle Vorrichtung. Die nachfolgende Skizze verdeutlicht den Aufbau.

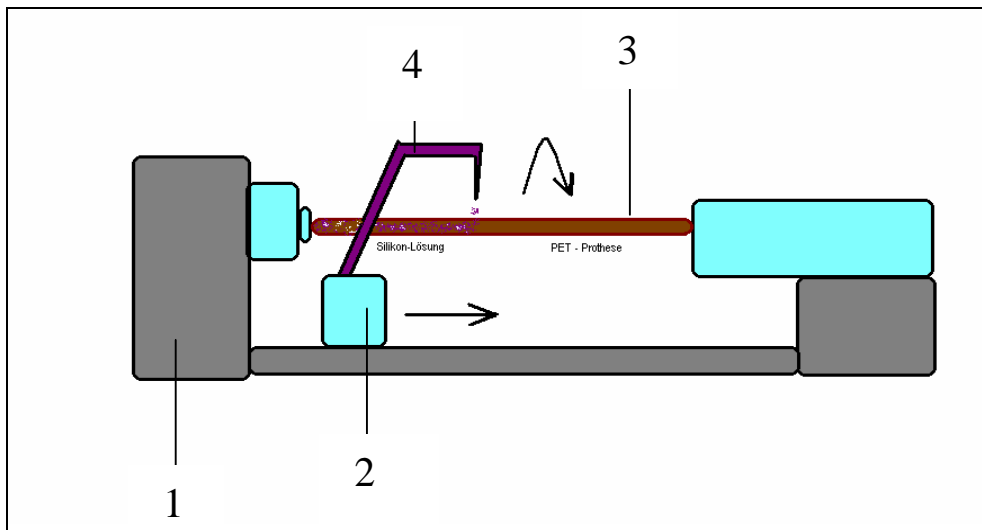


Abbildung 4: Schematischer Aufbau der Silikon-Beschichtungseinheit. Drehrichtung und Vorschub in Pfeilrichtung.

- | | |
|-----|---|
| (1) | Drehbank |
| (2) | Support |
| (3) | Eingespannte Gefäßprothese |
| (4) | Über ein Schlauchsystem tropft kontinuierlich das Präpolymer auf die sich drehende Prothese |

Als Grundbaustein der Silikon-Beschichtungseinheit diente eine Drehbank. Über ein Schlauchsystem wurde ein Infusomat angeschlossen, über welchen das Präpolymer auf die zu beschichtende Prothese aufgebracht werden konnte. Dazu wurde die Prothese in die Werkbank eingespannt und auf die vom Hersteller angegebene Nutzlänge gedehnt.

Die Infusomat-Spritze wurde anschliessend mit der Silikon-Suspension befüllt und mit einem Kunststoffschlauch verbunden. Das andere Ende des Schlauches wurde an einer Kanüle befestigt, die direkt an der Werkbank an einem kleinen Support angebracht war und exakt über der Prothese endete. Dieser

Support bewegte sich stetig in eine definierte Richtung und stellte so eine gleichmäßige Silikon-Verteilung auf der zu beschichtenden Prothese sicher.

Zur Durchführung der ersten Silikon-Beschichtung wurde eine Tropfgeschwindigkeit von 10ml/min gewählt. Nach Beendigung dieses ersten Beschichtungsvorganges musste die Prothese bei 100°C für 30 Minuten getrocknet werden. Durch kontinuierliche Erwärmung und damit Verdunstung des Lösungsmittels konnte die Quervernetzung des Silikon-Öls katalysiert werden. Im Anschluß folgte ein zweiter Beschichtungsschritt, der identisch zum ersten durchgeführt wurde. Da sich das Prothesenmaterial mit jedem Beschichtungsschritt zunehmend mit Silikon sättigte, wurde ab dem zweiten Vorgang eine geringere Tropfgeschwindigkeit von 5ml/min gewählt.

Nach erneuter Trocknung (100°C, 30 Minuten) konnten die Silikon-Beschichtungen beliebig oft wiederholt werden. Wir entschlossen uns, die Prothesen bis maximal 4x zu beschichten, wobei beim dritten und vierten Durchgang eine Tropfgeschwindigkeit von 3ml/min gewählt wurde.

2.1.4. Oberflächenmodifizierung

In Abbildung 5 wird schematisch die Oberflächenmodifizierung der Silikon-Oberflächen dargestellt. Die genauen Arbeitsschritte gelten als "proprietary method" (Firma – bionic-surfaces –). Es wurden verschiedene Moleküle auf nass-chemischem Wege auf die Silikon-Oberfläche aufgebracht. Als Moleküle dienen die unter Tabelle 3 aufgeführten Stoffe.

Surface-modified Silicone Rubber

Surface-modification means:

equipping the surfaces of shaped silicone - PDMS - articles with **functional groups**, e.g.

- ammonium $-NH_3^+$
- carboxylate $-COO^-$
- sulfonate $-SO_3^-$
- hydroxyl $-OH$

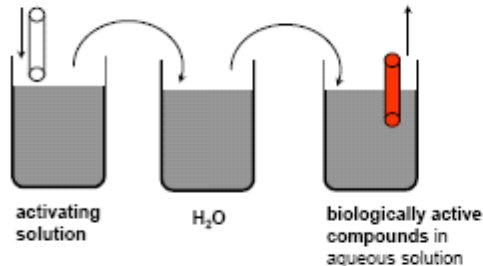


Features of "ordinary" Silicone:

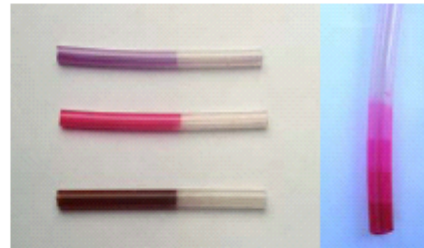
- known since more than 50 years
- standard for life-saving devices
- non degradable
- standardized industrial production ...
- post-cured for 4 h at 200°C
- NO absorption in the UV-range
- availability: "soft as wax and hard as bone"
- from Shore A 20 to 80



Surface-modification is achieved by a simple wet-chemical (washing) process

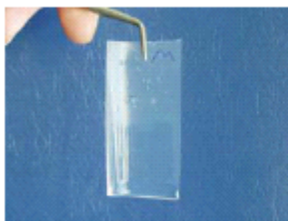


Functional groups are visualized with water-soluble dyes - their density is tailorable

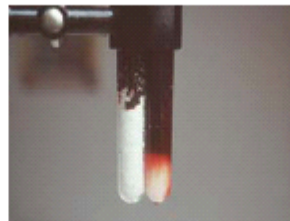


Features of Surface-modified Silicone

stable water-wet silicone surfaces - increase of surface free energy from 22 mN/m to 65 mN/m



improved thromboresistance - whole blood, no additives, in contact with surface-modified and native silicone particles



enhanced cell growth - mammalian cells on surface-modified 3S[®]-CCF (our open-porous cell culture foam)

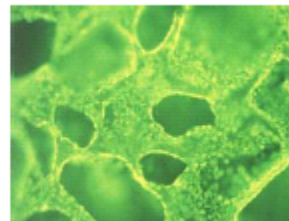


Abbildung 5: Poster über die Technik der Oberflächenmodifizierung von Silikon-Prothesen. Mit freundlicher Genehmigung durch Dr. R. Siegel, - bionic-surfaces – , Würzburg

Molekül	Strukturformel	Eigenschaften
Silanolat		Negativ geladene Oberfläche, Radikalenbildung
Alkylhydroxid		Hydrophile und hydrophobe Anteile
Polyvinylalkohol (PVA)		Verminderte Thrombozyten-Adhärenz, hydrophil
Polyethylenoxid (PEO)		Verringerte Proteinadhärenz
Zinksulfat		Negativ geladene Oberfläche
Silikon (Polydimethylsiloxan, PDMS)		Biologisch inert, hydrophob, verminderte Thrombozytenadhärenz
Polyvinylpyrrolidon (PVP)		Hydrophil; Änderung der Protein-Adhärenz
Phosphorylcholin (PC)		Hydrophobe / lipophile Oberfläche; verringerte Thrombozyten-Adhärenz

Tabelle 3: Übersicht über die verwendeten Moleküle zur Oberflächenmodifikationen, deren Wirkung sowie physikalische Eigenschaften und chemische Struktur [83].

2.1.5. Medikamenteninkorporation

Im Anschluss an die Oberflächenmodifikation wurden die unter 2.1.6 aufgeführten Moleküle auf nass-chemischem Weg in die Silikon-Matrix inkorporiert. Dafür wurden die zu inkorporierenden Moleküle in ein Lösungsmittel gebracht, welches gleichzeitig als Quellmittel für die Silikon-Matrix fungierte. Dieser Prozess unterliegt den Gesetzen der Diffusion (Fick'sches Gesetz) und Konvergenz (Darcy's Gesetz). Im Anschluss an die Kontaktierung der Silikon-Prothesen mit dem Lösungsmittel und Verdunsten desselbigen lagen die bioaktiven Moleküle in der Silikon-Matrix gebunden vor.

2.1.6. Moleküle zur Elution

ASS (Azetylsalizylsäure)

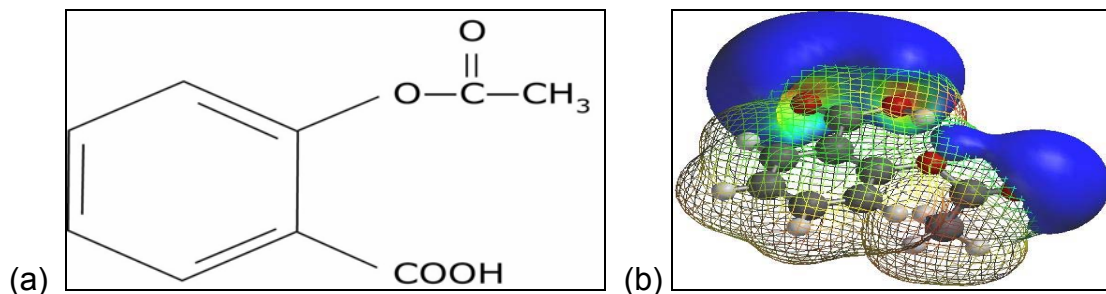


Abbildung 6: Strukturformel (a) sowie 3-D Darstellung (b) von ASS (aus <http://www.wikipedia.org>)

ASS mit seiner analgetischen, antipyretischen, antiphlogistischen und anti-rheumatischen Wirkung wurde schon durch die Kelten und Germanen durch Kochen von Weidenbaumrinden genutzt. 1874 konnte es erstmals großtechnisch hergestellt werden.

Die Wirkung beruht auf der Hemmung der Prostaglandinsynthese durch irreversible, unspezifische Hemmung des Enzyms Cyclooxygenase (COX) sowie der Thromboxansynthese in den Thrombozyten. Die COX-Hemmung dauert die

restliche Überlebenszeit der Thrombozyten an (7-10 Tage), da diese Zellen keine neuen Enzyme bilden können [<http://www.wikipedia.org>].

Sudanrot

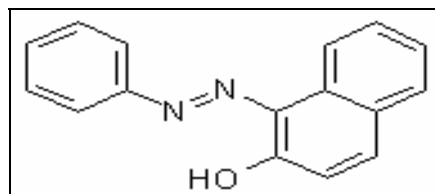


Abbildung 7: Strukturformel von Sudanrot. Adsorptionsmaxima: 375 und 540 nm.

Sudanrot ist ein synthetisch hergestellter, hydrophober Azofarbstoff welcher mittels Photometrie in Flüssigkeiten bestimmt werden kann. Sudan-Farbstoffe können Öle/Fette, Kohlenwasserstoffe sowie Wachse durch Löslichkeit in denselben anfärben.

Gentamycin (Refobacin®)

Gentamycin als Aminoglykosidantibiotikum hemmt die mRNA und verhindert so die Proteinsynthese vor allem gramnegativer Bakterien. Erstmals wurde es zwischen den 60er und 70er Jahren kommerziell vermarktet. Nachteilig zu erwähnen sind die Nephro- und Ototoxizität, weswegen es in der Humanmedizin als Langzeittherapeutikum umstritten ist [<http://www.wikipedia.org>].

Immunsuppressivum (IS)

Bei IS handelt es sich um ein Medikament, welches aus Patent-rechtlichen Gründen nicht näher bezeichnet werden kann. Es besitzt eine immunsuppressive Wirkung.

Sirolimus (= Rapamune®), Fa. Wyeth

Das Immunsuppressivum Sirolimus wurde erstmals auf den südpazifischen Osterinseln entdeckt. Es wird von einem Pilz namens *Streptomyces hydroxyopius* gebildet (Abbildung 8).

Seit 1999 ist es in Kombination mit anderen Immunsuppressiva zur Therapie von Nierentransplantierten durch die FDA zugelassen worden. Das Wirkprinzip von Rapamune®, welches ein makrolytisches Lakton darstellt, gestaltet sich wie folgt. Zunächst wird die Zytokin-Gen-Expression inhibiert. Dadurch wiederum kommt es zu einer Hemmung der T-Lymphozyten-Aktivierung. Die Proliferation der T-Lymphozyten wird durch intrazelluläre Kopplung des Sirolimus an einen FKBP-12 Rezeptor ausgelöst. Außerdem wird durch diese Reaktionen die Produktion der Antikörper gebremst. Das Besondere jedoch ist der ausgeprägte Effekt auf die glatten Muskelzellen mit relativ geringem Nebenwirkungsspektrum.

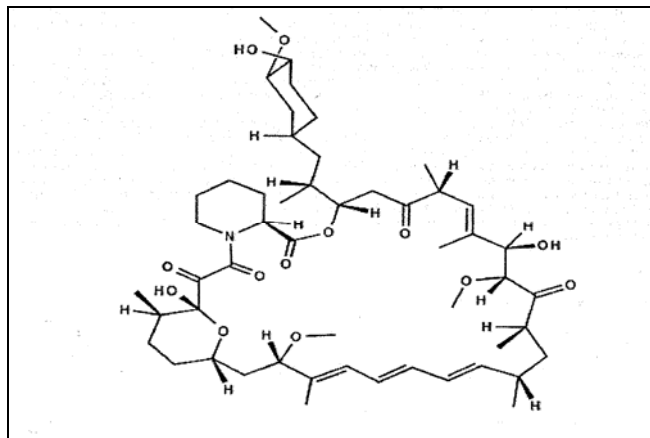


Abbildung 8: Strukturformel von Sirolimus, auch als Rapamycin (Rapamune®) bezeichnet (<http://www.wikipedia.org>).

Der therapeutische Bereich von Sirolimus ist je nach Kombination mit anderen Immunsuppressiva unterschiedlich und schwankt zwischen 4-12µg/L (Kombination mit Azathioprin, Ciclosporin, Sirolimus) und 10-20µg/L bei einer Zweifachkombination mit einem Steroid.

2.1.7. Sterilisation

Als Sterilisationsverfahren der Silikon-beschichteten Prothesen wurde die Plasmasterilisation angewendet (Zentralsterilisation der Universitätsklinik Würzburg). Dieses Verfahren wurde gewählt, da bei höheren Temperaturen die Wirkungswahrscheinlichkeit der Immunsuppressiva nicht mehr gewährleistet werden kann.

2.2. Analyse der Prothese

Die Testung der Prothesen umfasst physikalische und biologische Eigenschaften. Dabei kamen zahlreiche Untersuchungsmethoden zur Anwendung. Es folgt die Auflistung der verwendeten Geräte/Modelle und Testmethoden. Sämtliche Untersuchungen wurden in Anlehnung an die ANSI/ISO Norm 7198 (2001) durchgeführt.

2.2.1. Testung der physikalischen Eigenschaften

Dichtigkeit

Die Dichtigkeit der Prothesen wurde im Kreislaufmodell untersucht. Durch Auffangen der durch die Prothesenwand entweichenden Flüssigkeitsmenge konnte man die Durchlässigkeit der Grafts bestimmen. In der Industrie wird der Flüssigkeitsverlust pro cm^2 pro Minute bei 120mmHg als Qualitätsmerkmal angegeben. Dieser sollte unter $5\text{ml}/\text{cm}^2/\text{min}$ (120mmHg) liegen.

Compliance

Unter Compliance versteht man die druckabhängige Änderung des Prothesendurchmessers (Dehnbarkeit der untersuchten Gefäßprothesen). Die Berechnung erfolgt nach folgender Formel.

$$C = \frac{\Delta D * 100\%}{D * \Delta P}$$

D - Ausgangsdurchmesser

ΔD - Durchmesser-Änderung

ΔP - Druckdifferenz (Einheit:
 $\text{Nm}^{-2} = \text{Pa}$)

C - Compliance

Mittels eines intravaskulären Ultraschallgerätes (IVUS) konnten die Innendurchmesser der Prothesen bei verschiedenen Drücken von 0 und 120mmHg gemessen und so die Compliance errechnet werden.

Durchstoßkraft

Diese physikalische Eigenschaft konnten mit Hilfe eines Tensiometers definiert werden (Instron 4502, Klemmbackenabstand 2cm, Zug/Druckgeschwindigkeit 20mm/min).

Zur Bestimmung der Durchstoßkraft wurde eine Prothesen-Probe mit einer Vorspannung von 2N in das Messgerät eingespannt (verwendete Nadel GR 65, Faden Maxon 2x0). Der Versuch wurde für jede Probe 10 mal wiederholt. Die benötigte Kraft zur Durchstechung der Prothese kam in einem Weg-Kraft-Diagramm graphisch zur Darstellung.

Elastizität

Auch zur Bestimmung der Elastizität der Prothesen wurde das Tensiometer genutzt. Dafür wurden jedoch keine Stücke der Prothesenwand, sondern kleine Röhrenstücke in das Gerät eingespannt.

Zur Bestimmung der Elastizität wurden die Enden des Prothesenstückes jeweils zwischen die Klemmbacken des Tensiometers gespannt und dann parallel zur Längsrichtung 1cm auseinandergezogen. Die dafür notwendige Kraft N konnte dann im Weg-Kraft-Diagramm direkt am Computer abgelesen werden (Software Series IX, Fa. Instron).

Bestimmt wurden die Längs- und Querstabilität, also die Kraft, bei der das Material zerreißt, sowie die Längs- und Querelastizität (Elastizitätsmodul E). Die Elastizität ist charakteristisch für jedes Material und kann mit Hilfe des Hook'schen Gesetzes vereinfacht berechnet werden.

Der Begriff Elastizität steht für die Spannkraft, also dem „Bestreben fester Körper, eine unter dem Einfluss einer äußeren Kraft angenommene Verformung nach Sistieren der Kraft rückgängig zu machen. Die Verlängerung eines elastischen Stabes ist im Allgemeinen der Zugkraft proportional (nach dem Gesetz von Hooke). Sämtliche Körper sind nur innerhalb einer bestimmten Grenze (Elastizitätsgrenze) elastisch. Darüber hinaus tritt bleibende Verformung oder Zerstörung ein.“ (zitiert aus: <http://www.wissen.de>).

Zur Berechnung der Elastizität kann man das Hookesche Gesetz heranziehen.

$$\sigma = E * \varepsilon$$

σ - mechanische Spannung (Einheit: $\text{Nm}^{-2}=\text{Pa}$)

ε - elastische Dehnung ($\Delta l/l_0$)

l_0 - Ausgangslänge (Einheit: m)

Δl - Längenänderung (Einheit: m)

E - Elastizitätsmodul (Einheit: $\text{Nm}^{-2}=\text{Pa}$)

Nach Umstellung der Formel resultiert folgende Gleichung.

$$\sigma = E \cdot \Delta l / l_0$$

$$E = \sigma / \Delta l / l_0$$

Einheit: E in N/mm² = Mpa

Das mit dieser Formel errechnete Elastizitätsmodul ist charakterisch für die untersuchte Prothese.

Die Längssteifigkeit der Prothesen ist vom so genannten "Crimping" abhängig. Man versteht darunter eine ringförmige Plissierung bei Gefäßprothesen zur Erhöhung der Stabilität.

Berstungsdruck

In die Prothesen wurde ein PTA-Ballonkatheter (Durchmesser 12mm, Diamond®, Fa. Boston-Scientific) eingebracht und bis 20atm Druck aufgedehnt. Danach wurde die Prothese makroskopisch untersucht.

2.2.2. Verwendete Geräte und Medien

Kreislaufmodell

Zur Untersuchung der Dichtigkeit, Compliance und Elution wurde ein Kreislaufmodell etabliert (Abbildung 9). Mittels eines Silikon-Schlauches (Fa. A. Hartenstein, Würzburg) mit einem Innendurchmesser von 8mm wurde ein geschlossener Kreislauf angefertigt, welcher an zwei Seiten durch ein Steigrohr unterbrochen war. Das eine Steigrohr war mit einem Behälter verbunden, in dem die Flüssigkeit in Form eines Reservoirs gespeichert wurde. In das Kreislaufmodell wurde des Weiteren ein Flussmesser (DFM/POM + ARS 260 Totaliser, Fa. B. I. O. Tech), ein Druckmesser (GMH 3110, Fa. Greisinger) und eine Turbinenpumpe (12V Pumpe, Fa. Comet) eingebaut. Durch zwei Ventile konnte der Fluss geändert und damit der Druck variierbar geregelt werden. Für unsere Versuche verwendeten wir als Standard einen Fluss von 500ml/min bei einem Druck von 120mmHg. Die Prothesen konnten in den Kreislauf über Verbindungsstücke

(Fa. A. Hartenstein, Würzburg) zwischengeschaltet werden. Zur zeitlich unabhängigen Entnahme von Flüssigkeitsproben wurde eine Kanüle in den Silikon-Schlauch eingebracht.

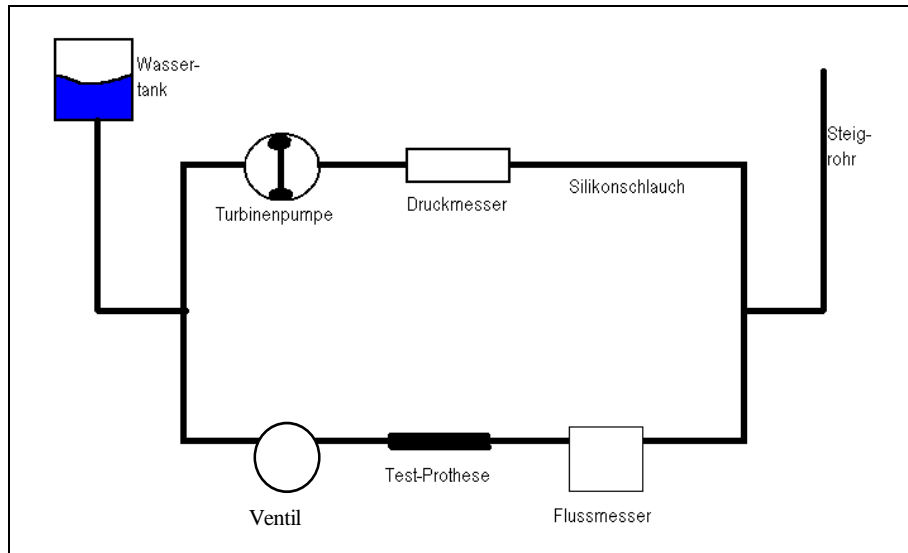


Abbildung 9: Schematische Darstellung des Kreislaufmodells, in den die Prothesen zwischengeschaltet werden können. Dabei sind Druck und Flussgeschwindigkeit variabel.

Intravaskulärer Ultraschall (IVUS)

Mit Hilfe des IVUS (Gerät: Clear-view™ Ultra, Fa Boston Scientific; Sonde: SonicathUltra 20MHz, 5F, Meditech, Fa. Boston Scientific) wurden die Innendurchmesser der Prothesen in Abhängigkeit von Druckschwankungen untersucht. Dazu wurde die Sonde über eine Inzision in der Silikon-Schlauchwand des Kreislaufmodelles eingebracht und der Sondenkopf soweit vorgeschoben, bis dieser in der Mitte der zu untersuchenden Prothese zu liegen kam.

Rotationsmodell

Um die verschiedenen Oberflächen der Prothesen hinsichtlich ihrer Hämokompatibilität zu testen, wurde von uns eigens dafür ein Rotationsmodell entwickelt. Nach Montage einer Haltevorrichtung an das Grundgestell konnten die angebrachten Prothesen um die eigene Längsachse rotieren.

Im Rahmen des Versuchsablaufes wurden die Prothesen mit antikoagulierte Probandenblut (3000IE Heparin i.v. 30 Minuten vor Blutentnahme) bei Raumtemperatur gefüllt und die Enden luftdicht verschlossen. Anschließend wurden die Prothesen an der Querstange des Modells befestigt. Im Folgenden wurde die Querstange in Bewegung versetzt und die Prothesen rotierten gleichmäßig um ihre Querachse. Eine Luftblase zirkulierte bei einer Umdrehung genau einmal durch die komplette Prothese. Nachfolgende Skizze (Abbildung 10) verdeutlicht den Aufbau des Rotationsmodells.

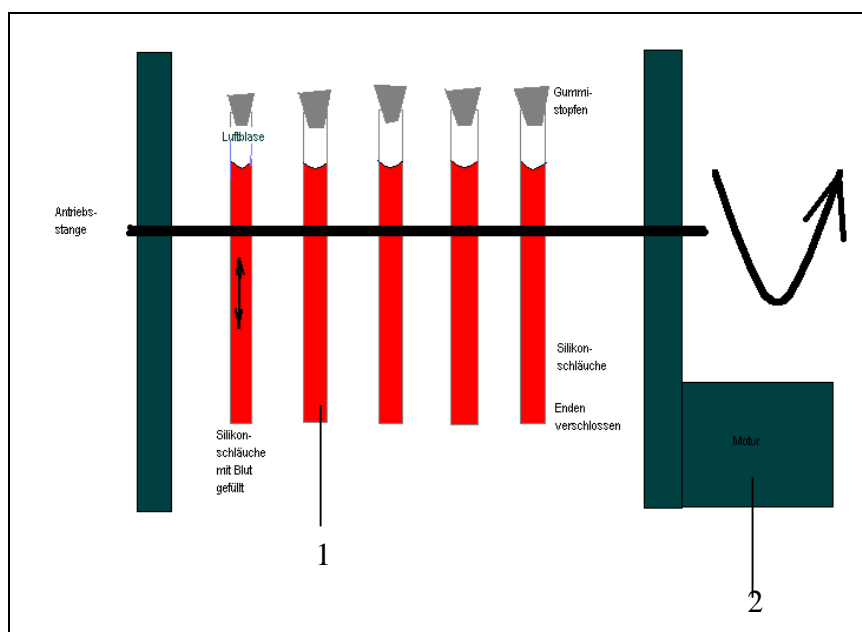


Abbildung 10: Schematische Darstellung des „Rotationsmodells“. Durch kontinuierliche Rotation der blutgefüllten Prothesen wurde die ununterbrochene Blutbewegung gewährleistet.

- (1) Blutgefüllte Gefäßprothese zur Untersuchung der Gerinnungsvorgänge an verschiedenen modifizierten Oberflächen
- (2) Motor

Nach definierten Zeitintervallen wurde das Blut aus den Prothesen entnommen. Insgesamt waren die 7,5ml Blut bei einer Prothesenlänge von 20cm. 4ml wurde bei 7°C, 2000U/min für 10 Minuten zentrifugiert. Das so gewonnene plättchenarme Plasma wurde in Eppendorfröhrchen umgefüllt und bei -20°C tiefgefroren. So war es möglich, die gewonnenen Proben zu einem späteren Zeitpunkt zu analysieren, ohne dass es zu einer enzymatischen Zerstörung der zu untersu-

chenden Gerinnungsfaktoren kam. Die restlichen 2,5ml Blutprobe wurden für die Analyse der Routinefaktoren verwendet (siehe 2.2.3).

Tensiometer

Zur Bestimmung physikalischer Eigenschaften (Quer- und Längssteifigkeit, Durchstosskraft) diente uns ein Tensiometer (INSTRON, 4502. Software: Series IX).

pH-Meter

Zur Analyse der Elution von ASS aus einer Silikon-Modellprothese wurde diese in eine NaCl-Lösung gelegt und in Abhängigkeit von der Zeit pH-Messungen (Mini pH-Meter 201, Conrad Electronic) durchgeführt.

Rasterelektronenmikroskopie (REM)

Zur Oberflächenanalyse der modifizierten Prothesen wurde die REM eingesetzt. Die aus den Prothesen entnommenen Proben wurden in Glutaraldehyd fixiert. Da beim anschließenden Entwässern mit Aceton das Silikon der Prothesen aufquellen würde, musste dies mit Ethanol geschehen. Dieser Schritt wird als Dehydrierung bezeichnet. Anschliessend wurden die Proben mit Hexamethyldisilazane getrocknet.

Für das "freeze etching", also dem ultradünnen Bedampfen der zu untersuchenden Oberfläche mittels Gold-Palladium, wurde das zu untersuchende Objekt auf einem Bänkchen fixiert.

Die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Prothesen geschah in freundlicher Zusammenarbeit mit dem Biozentrum der Universität Würzburg, Theodor-Boveri-Institut, Abteilung für Elektronenmikroskopie (Leiter: Prof. Dr. G. Krohne).

Verwendete Flüssigkeiten im Kreislaufmodell

Für die Standarduntersuchungen wurde 0,9%ige Natriumchloridlösung verwendet. Dazu zählten die Untersuchungen mittels IVUS, die Auswaschversuche für IS und ASS sowie die Untersuchungen der Elution mittels Sudanrot.

Für die Elutions-Tests von Sirolimus verwendeten wir 5%iges humanes Serumalbumin. *In-vivo* Erfahrungen zeigen, daß die Moleküle nach Abgabe aus der Prothese sofort an Proteine gebunden werden (¹). Dies ist bei Versuchen mit Natriumchlorid nicht möglich, da sich in dieser Flüssigkeit keine Proteine befinden. Bei herkömmlichen Standardnachweisen wird so die Konzentration des gelösten Stoffes stets geringer ermittelt. Um nun *in-vitro* vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wählten wir eine Proteinlösung, die dem Blut im menschlichen Körper näher kommt. Die Untersuchung der Proben wurde durch das Labor Limbach in Heidelberg durchgeführt.

2.2.3. Testung der biologischen Eigenschaften

Routineparameter der Gerinnung

Im Rahmen der Testung der Prothesen bei Blutkontakt wurde ein Teil des Blutes zu Laboruntersuchungen an das Zentrallabor der Universität Würzburg unter Leitung von Prof. Dr. U. Walter versandt. Zur Ermittlung wurden die gängigen Routineverfahren angewandt. Dabei lag das Augenmerk auf nachfolgend erläuterte Parameter.

Quick (TPZ=Thromboplastinzeit), INR (International Normalized Ratio)

Die Thromboplastinzeit dient bei der Einnahme von Cumarinen zur Therapiekontrolle und wird im Zitratplasma unter Zugabe von Gewebsthromboplastin bestimmt. Der Normalwert liegt zwischen 70-120%. Da es allerdings viele verschiedene Thromboplastine im Blut gibt und nicht jedes Labor ein und dasselbe

¹ Labor Limbach, Dr. Jochen Beyer, persönliche Mitteilung

Thromboplastin bestimmt, wurde mit dem INR ein weiterer Wert eingeführt, um einen vergleichbaren Standard zu erhalten. Hierbei liegt der Normalwert bei 1. Veränderungen der Thromboplastinzeit deuten auf plasmatische Gerinnungsstörungen hin. Dazu zählt das exogenes System mit den Faktoren II, VII, X, sowie dem Prothrombinkomplex.

PTT (partielle Thromboplastinzeit)

Als früher Gerinnungsmarker nach Fremdoberflächenkontakt gilt die PTT, welche je nach Ausmass der Aktivierung des intrinsischen Systems abfällt. Der Normalwert liegt bei 28-40s. Im Gegensatz zur TPZ erweist sie sich auch nach Verminderung von verschiedenen Vorphasefaktoren wie den Faktoren VIII:c, IX, XI, XII als verlängert.

TZ (Thrombinzeit)

Die TZ (Normwert: 17-22s) dient klinisch als Marker für die Heparintherapie. Sie ist verlängert, wenn die Fibrinogenkonzentration im Blut sinkt oder Gerinnungsinhibitoren von der Oberfläche ins Blut abgegeben werden. Bestimmt wird die TZ aus Zitratplasma unter Zugabe von Thrombin.

Fibrinogen (Faktor I)

Fibrinogen als Grundlage des Thrombins steht als Endprodukt der Gerinnungskaskade. Ebenfalls ist es Teil des Plasmins, einem bedeutenden Enzym der Fibrinolyse. Die Fibrinogenbestimmung gilt einerseits als Suchtest für einen Fibrinogenverbrauch, eine Hypo-, Dysfibrinogenämie oder als Überwachungstherapie einer fibrinolytischen Therapie. Bei Entzündungen, Diabetes mellitus, Tumoren oder nach Operationen kann man häufig erhöhte Werte verzeichnen. Pathologisch niedrige Konzentrationen werden vor allem bei der disseminierten intravasalen Gerinnung (DIC) und der Verbrauchskoagulopathie oder bei einer erhöhten Plasminfreisetzung/-aktivierung mit folgender Hyperfibrinolyse gesehen. Der Normwert beträgt 150-400mg/dl.

Antithrombin III (AT III)

Als Serinproteaseninhibitor hemmt AT III das Gerinnungssystem schon in kleinsten Konzentrationen (Norm: 70-120%). Es wird entweder immunchemisch oder mittels chromogenem Substrat bestimmt und gilt klinisch als wichtiger Hinweis auf eine DIC.

Blutbild

Des Weiteren wurde aus EDTA-Blutproben ein Blutbild mit Bestimmung von Erythrozyten-, Leukozyten-, Thrombozytenzahl und Hämoglobin (Hb) bestimmt.

ELISA-Untersuchungen (enzyme-linked immunosorbent assay)

Zum Nachweis sehr geringer Proteinmengen verwendet man üblicherweise das ELISA –Verfahren. Hiermit können Einzelkomponenten der Gerinnung und Fibrinolyse bestimmt werden.

Für unsere Versuche wurde stets eine Doppelbestimmung durchgeführt (Frau Dragan, Experimentelle Transplantationsimmunologie, Universitätsklinikum Würzburg).

Dieses Verfahren diente bei der vorliegenden Arbeit der quantitativen Analyse von Prothrombinfragment F1+2 (Enzygnost F1+2, nmol/l Dade Behring), β -Thromboglobulin (IU/ml, Roche), D-Dimer (ng/ml, Roche), Tissue Factor (pg/ml, American Diagnostics) und FXIIa (ng/ml, Progen).

An eine Festphase wie beispielsweise der Reagenzglaswand wird ein Antikörper (AK) gekoppelt, der in seinem Epitop gegen das Antigen (AG) gerichtet ist. Das nachzuweisende Agens stellt das Antigen dar. Nun wird eine Probe wie das Blutserum in unserem Fall in das Reagenzglas gefüllt (1) und ein weiterer AK zugegeben. Dieser trägt ein spezielles Enzym, auch Konjugat genannt. Als Konjugat verwendet man beispielsweise Peroxidase (2). Nach einer vorgegebenen Inkubationszeit bildet sich ein sogenanntes "Sandwich". Die Probe hat sich an den AK geheftet, welcher an der Reagenzglaswand fest verankert wird. Auf der anderen Seite hat sich der zweite AK ebenfalls an die Probe geheftet.

Im Anschluss wird das überschüssige Konjugat gründlich ausgewaschen (3). Schließlich gibt man dem Ansatz beispielsweise Ortho-Phenyl-Diphosphat (OPD) im Überschuß zu. Mit Hilfe des Enzyms am zweiten AK wird diese Substanz gespalten und führt zu einem Farbumschlag. Dieser kann photometrisch (4) gemessen werden. Die Änderung der Extinktion verhält sich proportional zur Enzymaktivität und demzufolge auch proportional zur Probenmenge.

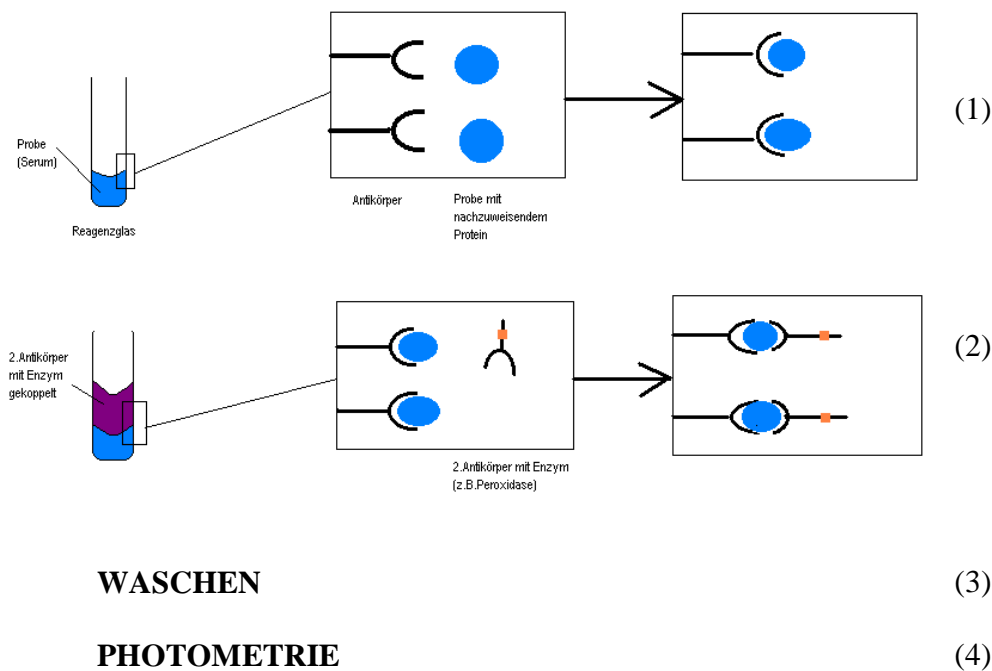


Abbildung 11: Schematischer Ablauf des ELISAs.

- (1) Kontakt der zu bestimmenden Substanz mit den Antikörpern (AK) an der Gefäßoberfläche, wo diese fixiert sind.
- (2) Zugabe eines mit einer Farbsubstanz beladenen weiteren AK-Lösung
- (3) Waschen
- (4) Photometrie

Prothrombin F1+2 (Enzygnost®F1+2Micro, Fa. Dade-Behring)

Als direktes, sensibles Maß für die Aktivität der Gerinnung durch Umwandlung von Prothrombin in Thrombin fällt dieses Molekül als Spaltprodukt ab (Norm: 0,4-1,1nmol/l, Median 0,7; Abbildung 12).

D-Dimere (Asserachrom®D-Dimer, Fa. Roche-Diagnostics)

D-Dimere gelten als Aktivatoren der Fibrinolyse und fallen in diesem Rahmen als Spaltprodukte an. Klinisch sind sie wichtiger Indikator einer frischen Thrombose oder Lungenembolie (Norm: < 250ng/ml). In unserer Arbeit wurden sie zum Nachweis der Fibrinolyse herangezogen.

Faktor XIIa (Imubind®Faktor XIIa, Fa. American Diagnostica)(Hagemann Faktor)

Der Faktor XII (Normwert: 1,73-2,30 ng/ml) gilt als Marker der intrinsischen/endogenen Gerinnung. Dieses System wird durch Kontakt mit einer Fremdoberfläche aktiviert und steht im Mittelpunkt zwischen dem Kininsystem mit der Aktivierung von Plasminogen und Präkallikrein und dem Fibrinolyse-system (Abbildung 12).

Tissue Factor (CD 142, Gewebethromboplastin, Faktor III) (Imubind® Tissue factor, Fa. American Diagnostics)

Tissue Factor als membrangebundenes Glykoprotein befindet sich im extravaskulären Raum und kommt mit dem Blut bei Gefässverletzung in Kontakt. Ein Normalwert für diesen Faktor ist bislang noch nicht etabliert. Es handelt sich hierbei um den potentesten Aktivator des extrinsischen Gerinnungssystems.

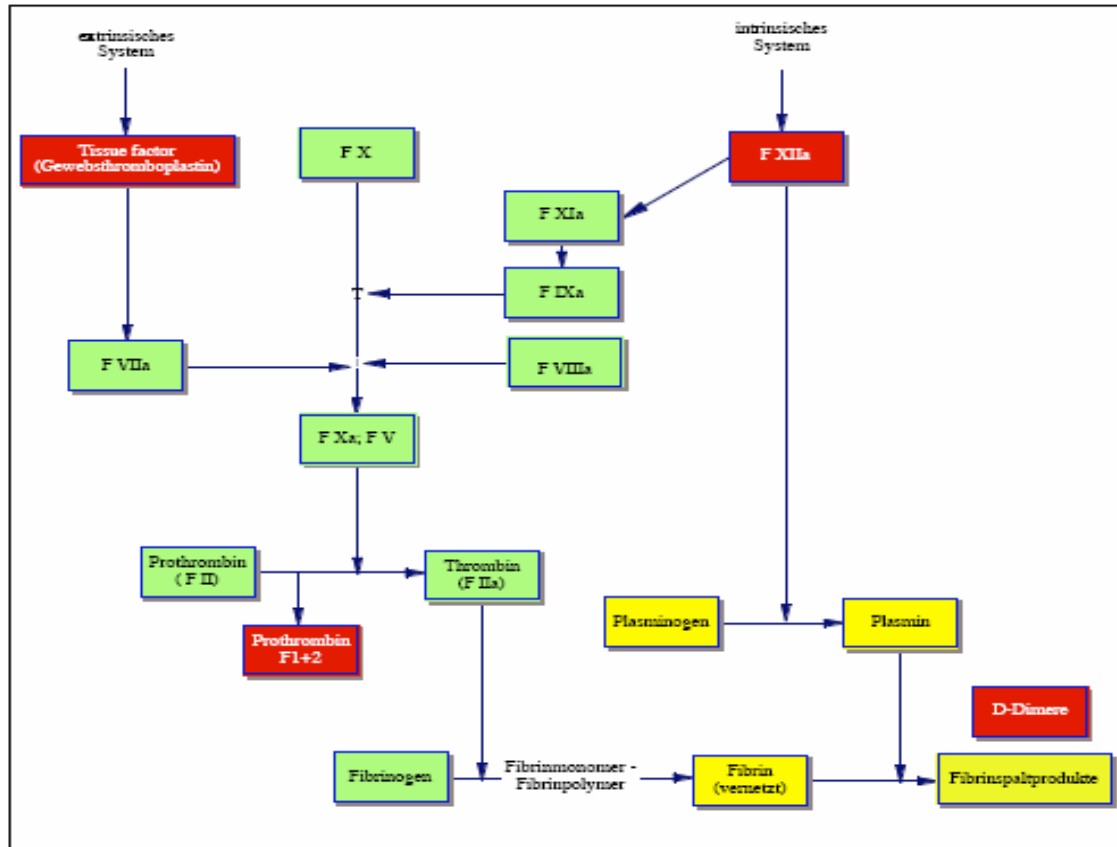


Abbildung 12: Zusammenfassende Übersicht über die untersuchten Gerinnungsparameter im Kontext mit dem plasmatischen Hämostase-System. Grün: Gerinnungssystem. Gelb: Fibrinolyse-System. Rot: untersuchte Parameter (ELISA).

β-Thromboglobulin (Asserachrom® β-TG, Fa. Roche-Diagnostics)

Als Substrat in den α-Granula der Thrombozyten wird es bei Aktivierung derselben ausgeschüttet. Demzufolge steigt die Konzentration mit steigender Aktivierung der Plättchen direkt proportional (Norm: 10-40IU/ml).

Bakterienwachstum bei Gentamycin-Prothesen

Prothesen wurde durch die Fa. – bionic-surfaces - mit Gentamycin beschichtet. Dafür wurde eine Silikon-Prothese in eine gesättigte Gentamycinlösung gelegt. Die Kontaktzeit betrug 5, 10 und 15 Minuten. Im Folgenden wurden von jeder Probe ein 0,5 x 0,5cm großes Stück auf eine Agarplatte aufgebracht. Eine vierte

Probe stammte von einer wärmebehandelten Silikon-Prothese. Die verwendeten Agarplatten waren jeweils mit einer Pilzkultur beimpft (Mikrobiologisches Institut, Prof. Frosch, Universität Würzburg).

Die Proben wurden nach 1, 2, 6, 14 und 56 Stunden entnommen. Mit diesen Proben wurde dann je ein Filterpapierstreifen getränkt und damit die zweite Agarplatte beimpft. Diese beiden Agar-Platten wurden nachfolgend in einem Brutschrank gelagert und die Ergebnisse 24 Stunden später abgelesen.

2.2.4. Testung der Elution bioaktiver Moleküle

ASS (Azetylsalizylsäure)

Zur Untersuchung einer ASS-inkorporierten Silikon-Prothese wurde diese in das Kreislaufmodell eingespannt und kontinuierlich Proben des durchfließenden Mediums (NaCl mit einem pH von 7) entnommen. Mit Hilfe eines pH-Meters wurde der pH-Wert in regelmäßigen Zeitabständen gemessen.

Sudanrot

Um zunächst makroskopisch festzustellen, ob Moleküle von den neu modifizierten Silikon-Prothesen abgegeben werden, markierten wir ein Silikon-Rohr mit Sudanrot. Dabei liegt Sudanrot als hydrophober Stoff in der Matrix und nicht an der Oberfläche vor. Nach definierten Zeitpunkten wurden Proben der Lösung aus dem Kreislaufmodell entnommen und photometrisch untersucht (Abbildung 13).

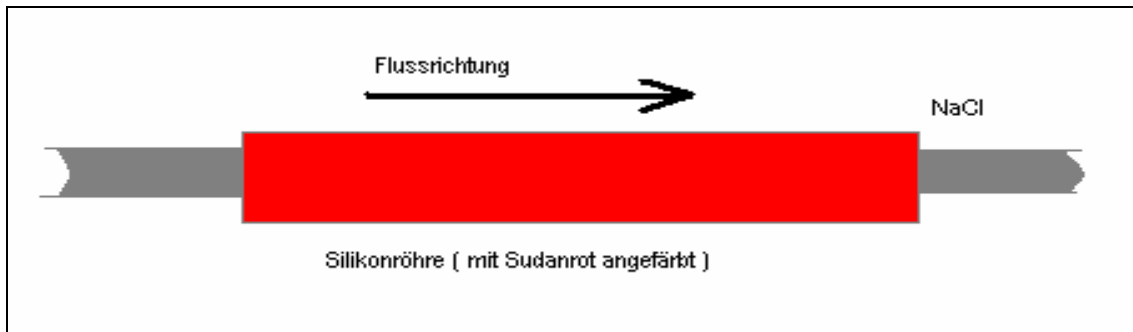


Abbildung 13: Versuchsaufbauskinne zum Nachweis der Elution von Sudanrot aus einer SilikonProthese.

Gentamycin

Eine Gentamycin-inkorporierte Prothese wurde in das Kreislaufmodell eingespannt und mit NaCl-Lösung durchspült. Es wurden Proben der Flüssigkeit zum Nachweis des Gentamycins in der Lösung entnommen und in das Zentrallabor der Universität Würzburg zur Analyse versandt. Nach Beendigung des Versuches wurden Proben der Flüssigkeit und Proben der Prothese auf eine mit einer Bakterienkultur beimpften Agarplatte gebracht und diese 24h bei 37°C bebrütet (Mikrobiologisches Institut der Universität Würzburg, Prof. Frosch).

Immunsuppressivum (IS)

Zur Bestimmung des IS-Spiegels und damit zum Nachweis der Elution aus den Silikon-beschichteten Prothesen wurden ebenfalls Proben der (NaCl-) Lösung zu definierten Zeitpunkten von 5, 15, 30, 60 Minuten sowie 7 und 30 Stunden und 7 und 14 Tagen aus dem Kreislaufmodell entnommen. Die Proben wurden vom Zentrallabor der Universität Würzburg analysiert.

Sirolimus (Rapamune®)

Im Rahmen der durchgeführten Versuche zum Nachweis der Sirolimus-Elution aus Silikon-beschichteten Kunststoffprothesen wurden nach 15, 30, 60 Minuten sowie nach 2, 4, 8, 16 und 32 Stunden Proben der Albuminflüssigkeit aus dem

Kreislaufmodell entnommen. Diese wurden zur exakten Bestimmung des Spiegels an das Labor Limbach in Heidelberg versandt.

3. Ergebnisse

3.1. Physikalische Eigenschaften

3.1.1. Silikon-Gehalt der beschichteten Prothesen

In Tabelle 4 sind Wanddicke, Gewicht und für die modifizierten Prothesen der jeweilige für verschiedene Prothesenmaterialien zusammengefasst.

Mit zunehmender Beschichtungsanzahl nimmt der Silikon-Gehalt je cm² im Milligrammbereich zu, ebenso steigt auch die Wanddicke von 0,33mm bei 1x Silikon-beschichteten Prothesen auf 0,46mm bei 4x Silikon-beschichteten Prothesen an.

Beschichtung	Anzahl	Wanddicke (mm)	Mittleres Gewicht (mg/cm ²)	Mittlerer Silikon-Gehalt (mg/cm ²)
Unbeschichtet (Micron®)	29	0,28±0,31	17,02±0,86	0,00
1x PDMS	7	0,31±0,33	26,82±4,53	9,99±4,56
2x PDMS	9	0,34±0,37	35,08±3,85	17,14±3,99
3x PDMS	8	0,36±0,43	38,05±3,38	20,93±2,82
4x PDMS	3	0,39±0,48	39,91±6,92	23,05±6,66
Intergard™	1	0,35	31,30	0,00
Gore-tex®strech	1	0,40	18,40	0,00
Hemashield™	1	0,37	34,20	0,00

Tabelle 4: Wanddicke, Gewicht und relativer Silikon-Gehalt ausgewählter Prothesen. Die dargestellten Werte repräsentieren Mittelwerte und Standardabweichung.

Elektronenmikroskopie vor Mediumkontakt (Blut)

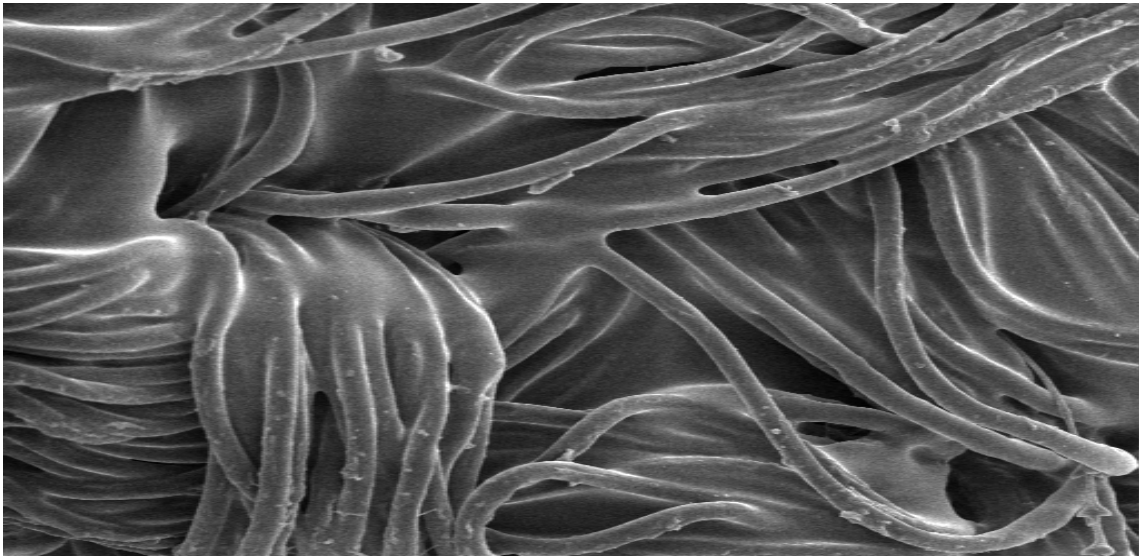


Abbildung 14: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Innenseite einer 3x beschichteten Silikon-Prothese

In Abbildung 14 ist die elektronenmikroskopisch stark vergrößerte Innenoberfläche einer 3x Silikon-beschichteten Prothese dargestellt. Deutlich zu erkennen ist, dass die einzelnen Kunststofffasern der verwendeten Ausgangsprothese (PET) nach Modifikation der Oberfläche mit einer dünnen Silikon-Schicht ummantelt sind. In der Tiefe erkennt man eine flächendeckend aufgespannte Silikon-Schicht.

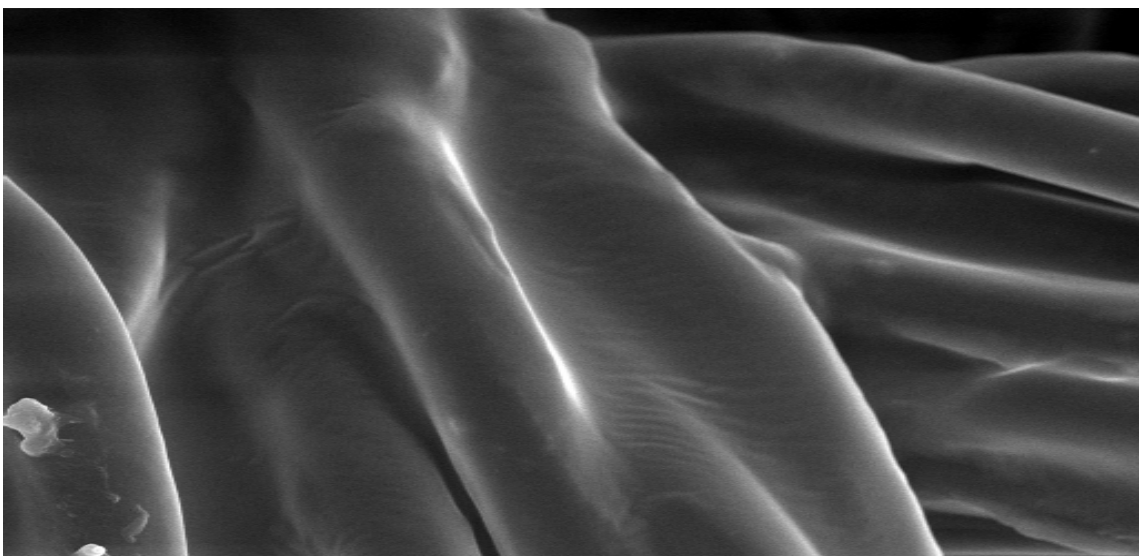


Abbildung 15: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Innenseite einer 1x beschichteten Silikon-Prothese

Noch deutlicher zeigt sich die Innenoberfläche einer 1x beschichteten Prothese bei stärkerer Vergrößerung (Abbildung 15). Auch hier erkennt man deutlich den Silikon-Überzug über die einzelnen Fasern der Ausgangsprothese. Dabei können auch mehrere dieser Fasern von einem einzigen Silikon-Schlauch umgeben sein. Die Ausgangsstruktur der Prothesenwand geht dabei nicht verloren. Man erkennt immer noch die mit tiefen Rillen, Furchen und Hohlräumen durchsetzte

Oberfläche, die für die Migration der glatten Muskelzellen und somit der Inkorporation der Prothese in den Empfänger notwendig ist.

3.1.2. Dichtigkeit

Entsprechend den Erwartungen korreliert die Dichtigkeit der Prothesen mit der auf die Polyesterprothesen aufgetragenen Silikon-Menge. Aus der beschichteten Vergleichsprothese (Intergard®Silver) entweicht über die Prothesenoberfläche 2,55ml/cm² an Testlösung (NaCl).

Beschichtung	Druck (mmHg)	Anzahl	Flüssigkeitsverlust (ml/ cm ²) pro Minute
Unbeschichtet (Micron™)	15	5	> 2000
	120	5	> 2000
1x PDMS	15	6	25,02±2,10
	120	6	55,50±2,50
2x PDMS	15	8	3,07±0,57
	120	8	43,88±2,90
3x PDMS	15	2	0,35±0,13
	120	7	1,39±1,87
4x PDMS	15	3	Dicht
	120	3	Dicht
Intergard™	15	20	2,55±0,19
	120	11	50,45±9,02
Goretex®-strech	120	3	Dicht
	15	3	Dicht
Hemashield™	120	5	Dicht
	15	5	Dicht

Tabelle 5: Dichtigkeit verschiedener Prothesen in Abhängigkeit vom Druck.

Dies entspricht einem von der Fachwelt akzeptiertem Flüssigkeitsaustritt (<5ml/min/cm² bei 120mmHg) durch die Prothesenwand. Für die unbeschichtete Polyesterprothese (Micron®) konnte ein enormer Flüssigkeitsverlust festgestellt werden (Tabelle 5). Die PTFE-Prothese (Goretex®strech) erwies sich als komplett dicht.

Während die 1x Silikon-beschichtete Polyesterprothese noch einen sehr hohen Flüssigkeitsverlust zeigte (24,70ml/cm²), lagen die Werte für die 2x Prothese im akzeptablen Bereich. Die 3x Prothese war nahezu (0,35ml/cm²), die 4x Prothese war komplett dicht (Tabelle 5).

3.1.3. Compliance

Prothese	Anzahl	Compliance (%/mmHg*10 ⁻²)
Unbeschichtet (Micron™)	3	Nicht bestimmbar
1x PDMS	3	Nicht bestimmbar
2x PDMS	13	5,95±0,31
3x PDMS	10	5,20±0,26
4x PDMS	10	3,99±0,23
Intergard™	8	4,98±0,21
Goretex®-streich	7	1,37±0,21
Hemashield™	5	5,56±0,30

Tabelle 6: Darstellung der Compliance der modifizierten Silikon-Polyesterprothesen und der Vergleichsprothesen. Darstellung der Anzahl je Prothese durchgeführter Versuche (n), angegeben sind Mittelwert und Standardabweichung. Die Compliance für die undichten Prothesen war im Kreislaufmodell nicht messbar.

Aufgrund der Undichtigkeit der unbeschichteten und 1x beschichteten Polyesterprothesen konnte die entsprechende Compliance nicht berechnet werden.

Anhand Tabelle 6 ist zu erkennen, dass die Compliance mit 6,0%/mmHg*⁻² bei der 2x Silikon-beschichteten Prothese am größten ist. Damit liegt sie im Bereich von Vergleichswerten herkömmlich verwendeter Polyesterprothesen. Mit zunehmendem Silikon-Gehalt nimmt die Compliance ab. Mit 1,4%/mmHg*⁻² weist die PTFE-Prothese die geringste Compliance auf.

3.1.4. Durchstoßkraft

Prothese	Anzahl	Durchstoßkraft (N)
Unbeschichtet (Micron™)	10	1,60±0,21
1x PDMS	12	1,51±0,18
2x PDMS	21	1,73±0,28
3x PDMS	16	1,85±0,61
4x PDMS	10	2,11±0,31
Intergard™	20	1,88±0,58
Goretex®-strech	6	1,37±0,17

Tabelle 7: Benötigte Durchstoßkraft (N) für die beschichteten und Vergleichsprothesen bei einer definierten Anzahl von Versuchen. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichung.

Die zum Durchstoßen der Prothesen benötigten Kräfte bewegen sich alle in einem vergleichbaren Bereich. Wie anhand Tabelle 7 zu erkennen, gibt es keinen deutlichen Unterschied der Durchstoßkraft der 3x beschichtete Prothese (mit 1,85 N) und der Durchstoßkraft der Intergard™ Vergleichsprothese (1,88N).

Die Menge des auf die PET-Prothesen aufgetragenen Silikons hatte somit keinen Einfluss auf die ermittelte Durchstoßkraft. Das intraoperative Handling bezüglich der durchzuführenden Anastomosennaht sollte bei der 2x Silikonbeschichteten Prothese anhand dieser Ergebnisse nicht von herkömmlichen Prothesen unterscheidbar sein.

3.1.5. Elastizität

Prothese	Anzahl	Quersteifigkeit/ Elastizitätsmodul quer (N/mm ²)	Längssteifigkeit/ Elastizitätsmodul längs (N/mm ²)
Unbeschichtet (Micron™)	6	0,60±0,05	0,20±0,08
1x PDMS	6	0,90±0,05	0,20±0,10
2x PDMS	6	1,20±0,07	0,20±0,05
3x PDMS	12	2,50±0,19	0,20±0,10
4x PDMS	10	3,00±0,23	0,20±0,10
Intergard™	6	0,80±0,10	0,60±0,05
Goretex® strech	7	0,90±0,08	11,00±0,10

Tabelle 8: Elastizität der verschiedenen Prothesen: Angegeben sind die Mittelwerte und Standardabweichung für das Elastizitätsmodul quer und längs.

Anhand Tabelle 8 zu erkennen, korreliert die Quersteifigkeit mit der Silikon-Menge, mit der die Prothesen beschichtet sind. Ab einer 2x Silikon-Beschichtung liegt die Quersteifigkeit der Prothesen über dem durchschnittlichen Wert der Vergleichsprothesen. Dementsprechend beeinflusst die Silikon-Menge auch die Quersteifigkeit.

Die ermittelte Längssteifigkeit, abhängig vom "Crimping" der untersuchten Prothesen, kann für die Betrachtung der Vergleichsprothesen nicht herangezogen werden. Dies liegt daran, dass die verwendeten Prothesen zur Silikon-Beschichtung ein starkes Crimping aufzeigen. Dementsprechend ist das Elastizitätsmodul sehr klein. Die Vergleichsprothesen wiederum weisen ein kleines Crimping auf.

Für die PTFE-Prothesen wurde mit 11,0N/mm² erwartungsgemäß eine sehr hohe Längssteifigkeit festgestellt.

3.1.6. Berstungsdruck (Burst strength)

Weder die Silikon-Prothesen noch die Vergleichsprothesen konnten mit dem 12mm Ballon-Katheter gesprengt werden. Nach Beendigung des Versuches blieb die Silikon-Prothese in der Endform mit einem Innendurchmesser von 12mm liegen und verlor damit ihre Elastizität. Außerdem konnten makroskopische Einrisse in der Wand von 4-5atm festgestellt werden. Bei der Bestimmung der Burst strength konnten keine charakteristischen Unterschiede für die einzelnen Prothesen festgestellt werden ($> 20\text{atm}$). Auch die PTFE-Prothese konnte nicht zum Zerreißen gebracht werden.

3.2. Biologische Eigenschaften

3.2.1. Makroskopische Betrachtung

Bei der visuellen Betrachtung der primär untersuchten Oberflächenmodifikationen fielen im nachfolgenden zusammengefasste Unterschiede auf (Tabelle 9).

Oberflächenmolekül	Thrombenbildung	Fließeigenschaften
Si - Silanolat	Partialthrombus	netzartig
AH - Alkylhydroxid	Wandthrombus	glatt
PVA - Polyvinylalkohol	Kein Thrombus	sehr glatt
PEO - Polyethylenoxid	Partialthrombus	ruckartig
Zn - Zinksulfat	Partialthrombus	netzartig
PDMS - Silikon	Kein Thrombus	netzartig
PVP - Polyvinylpyrrolidon	Kein Thrombus	sehr glatt
PC - Phosphorylcholin	Partialthrombus	netzartig
Intergard™	Minimale Wandthromben	nicht beurteilbar

Tabelle 9: Beurteilung der Makroskopischen Eigenschaften nach Beendigung des Versuches (60 Minuten Laufzeit) und Entfernung des Versuchsmediums Blut. Dabei wurde besonderes Augenmerk auf die Bildung von Thromben und die Fließeigenschaft des Blutes gelegt.

Sowohl bei der PVA-, als auch bei der PDMS- und PVP-Oberfläche konnte nach einer Stunde Laufzeit keine makroskopisch erkennbare Thrombosierung festgestellt werden. Im Vergleich dazu bildete sich bei der AH-Oberflächenmodifikation ein deutlicher Wandthrombus aus. Die Si-, PEO-, Zinksulfat- und PC-Prothesenoberflächen zeigten eine Partialthrombosierung sowie eine netzartig wirkende Beschichtung der Prothesenoberfläche.

3.2.2. Rasterelektronenmikroskopie nach Mediumkontakt (Blut)



Abbildung 16: Elektronenmikroskopisches Bild einer unbeschichteten Prothese nach Blutkontakt, deutlich sind flächige Erythrozytenadhäsionen an der Prothesenoberfläche erkennbar

Nach Kontakt der Prothesenoberfläche einer Ausgangsprothese ohne Silikon-Überzug konnte man bei starker Vergrößerung eine intensive Adhäsion von Erythrozyten an die einzelnen Prothesenfasern erkennen (Abbildung 16). Bei gleicher Vergrößerung war dagegen unter identischen Versuchsbedingungen kaum eine signifikante Adhäsion von Erythrozyten an die Gefäßoberfläche der 2x Prothesen zu erkennen (Abbildung 17).



Abbildung 17: Elektronenmikroskopische Aufnahme einer 2x beschichteten Prothese nach Blutkontakt, die Oberfläche erscheint trotz Blutkontakt frei von Erythrozytenadhäsionen

3.2.3. Allgemeine Gerinnungsparameter

Weitergehend wurden die allgemeinen Gerinnungsparameter untersucht. Wie in Tabelle 10 zu sehen ist, bewegten wir uns in unserem Versuch bei einem INR-Wert um 1, was einer normalen Blutgerinnung (Quick 100%) entspricht. Da sich die INR nicht verändert war dadurch zu erklären, dass Heparin als solches sich nicht auf diesen Parameter der Gerinnung auswirkt, sondern nur zu einer Veränderung der PTT führt (unter der Einschränkung von n=1). Deutliches Zeichen war dabei eine Erhöhung der PTT, wie man sie vor allem bei der PVP-Prothese erkennen kann. Diese Prothese schien die Gerinnung am geringsten zu beeinflussen.

Parameter	Leerprobe	PDMS	AH	PVA	PEO	PVP	PC	Referenzbereich
Quick (TPZ)	107	103	101	97	98	97	120	70-100%
INR	0,95	0,98	0,99	1,03	1,02	1,07	0,88	1,00-2,00
PTT	31,20	53,70	43,20	60,00	53,00	87,00	53,40	18,00-40,00 sek
AT III	105	95	97	100	100	97	90	70-120%
Fibrinogen	2,50	2,40	2,40	2,40	2,50	2,40	2,30	1,00-3,50g/l

Tabelle 10: Zusammenfassung der Gerinnungsparameter nach einer Laufzeit der Blutproben von 60 Minuten im Rotations-Modell (n=1).

Parameter	Zeit (min)	AH	PVA	PDMS	PVP	PC	Referenzwerte
Quick (TPZ) (%)	5	84	100	78	86	-	70-100
	15	83	99	79	88	84	
	30	84	100	83	87	85	
	60	82	100	79	84	85	
	120	84	99	81	92	88	
INR	5	1,13	1,00	1,19	1,12	-	1,00-2,00
	15	1,15	1,01	1,18	1,11	1,13	
	30	1,13	1,00	1,14	1,11	1,13	
	60	1,15	1,00	1,18	1,14	1,12	
	120	1,14	0,99	1,16	1,07	1,11	
PTT (Sek)	5	150	150	150	150	150	18-40
	15	150	150	150	150	150	
	30	150	150	150	150	141	
	60	150	150	150	150	150	
	120	150	150	150	150	150	
TZ (Sek)	5,0	55,9	29,9	8,9	Keine Probe	71,0	15,0-20,0
	15,0	73,1	30,7	150,0		71,0	
	30,0	71,4	27,0	150,0		48,8	
	60,0	64,4	29,6	150,0		45,0	
	120,0	67,3	29,1	150,0		53,8	
AT III (%)	5	98	95	93	81	98	70-120
	15	100	94	91	81	98	
	30	100	90	100	82	99	
	60	97	88	96	81	96	
	120	97	88	94	79	96	
Fibrinogen (g/L)	5	2,0	2,3	2,1	1,6	Keine Probe	1-3,5
	15	2,0	2,3	2,1	1,5		
	30	1,9	2,3	2,2	1,5		
	60	1,9	2,2	2,1	1,5		
	120	1,9	2,3	2,2	1,5		

Tabelle 11: Gerinnungsparameter unter Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufes (Anzahl der durchgeführten Versuche n = 1)

Bei den folgenden Test der Hämokompatibilität unter Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufes (Kinetik) konnte für nahezu alle Prothesen eine typische Erhöhung der PTT-Werte auf über 150 Sekunden durch die Antikoagulation mit Heparin ermittelt werden (Tabelle 11). Eine Ausnahme stellten dabei die PVA- und AH-Oberfläche dar. Der Quick- Wert unterlag erwartungsgemäß keinen entscheidenden Schwankungen. Überdies konnten keine eindeutigen Variabilitäten der einzelnen Gerinnungsfaktoren festgestellt werden.

3.2.4. ELISA

Oberfläche	Anzahl (n)	β – TG (IU/ml)	D-Dimere (ng/ml)	Tissue Factor (pg/ml)	FXIIa (ng/ml)	Prothrombin F1+2 (nmol/l)
NormWerte	-	10 \pm 40	< 250	Keine	2,60 – 3,10	0,40 \pm 1,10
Leer+ Heparin	3	99,47 \pm 14,70	258,53 \pm 49,67	61,77 \pm 19,65	1,88 \pm 1,47	0,85 \pm 0,10
2x PDMS	2	90,15 \pm 14,21	207,35 \pm 114,48	46,60 \pm 8,91	2,80 \pm 2,45	2,91 \pm 1,56
PTFE	2	90,15 \pm 14,21	207,35 \pm 114,48	46,60 \pm 8,01	2,80 \pm 2,45	1,22 \pm 0,55
AH	4	91,40 \pm 11,73	256,63 \pm 80,05	76,88 \pm 40,29	2,09 \pm 1,41	0,95 \pm 0,23
PVA	4	91,03 \pm 13,48	262,35 \pm 94,18	61,30 \pm 28,35	1,69 \pm 1,00	0,94 \pm 0,23
PVP	4	91,20 \pm 12,42	268,48 \pm 95,83	56,93 \pm 24,62	1,71 \pm 0,89	0,80 \pm 0,08
PC	4	88,25 \pm 9,46	228,18 \pm 93,67	63,15 \pm 24,31	2,08 \pm 1,10	1,53 \pm 1,42
PDMS	4	89,93 \pm 8,03	243,78 \pm 94,00	56,80 \pm 19,35	1,87 \pm 1,41	0,83 \pm 0,35

Tabelle 12: Gerinnungsparameter nach 60 minütigem Blutkontakt der Oberflächen. N entspricht der Anzahl der Versuchsabläufe. Angegeben sind Mittelwerte und Standardabweichungen.

Bei der ELISA-Analyse konnte eine differente Aktivierung der plasmatischen Gerinnung bestimmt werden. Gleiches gilt auch für die Aktivität der Fibrinolyse. Unmittelbar nach Kontakt des Blutes mit den Prothesenoberflächen PVP und PC konnte eine Erhöhung des Prothrombins F1+2 nachgewiesen werden (Tabelle 11). Für die anderen untersuchten Oberflächen konnte weder ein Anstieg noch ein Abfall der ELISA-Gerinnungsparameter analysiert werden.

Die D-Dimere als Zeichen der Fibrinolyse erhöhten sich direkt nach Oberflächenkontakt bei den PVP-, AH- und PVA-Prothesen. Danach nahmen die Werte im Laufe der untersuchten zwei Stunden kontinuierlich ab (Tabelle 15, Tabelle 18 im Anhang). Einzige Ausnahme stellte hierbei die PC-Prothese dar, bei der

es zu keiner Zeit zu einem Anstieg der D-Dimere kam. Diese Ergebnisse erscheinen vergleichbar mit den bestimmten Leerwerten.

Graphische Auswertung verschiedener Gerinnungsparameter in Abhängigkeit von der Zeit

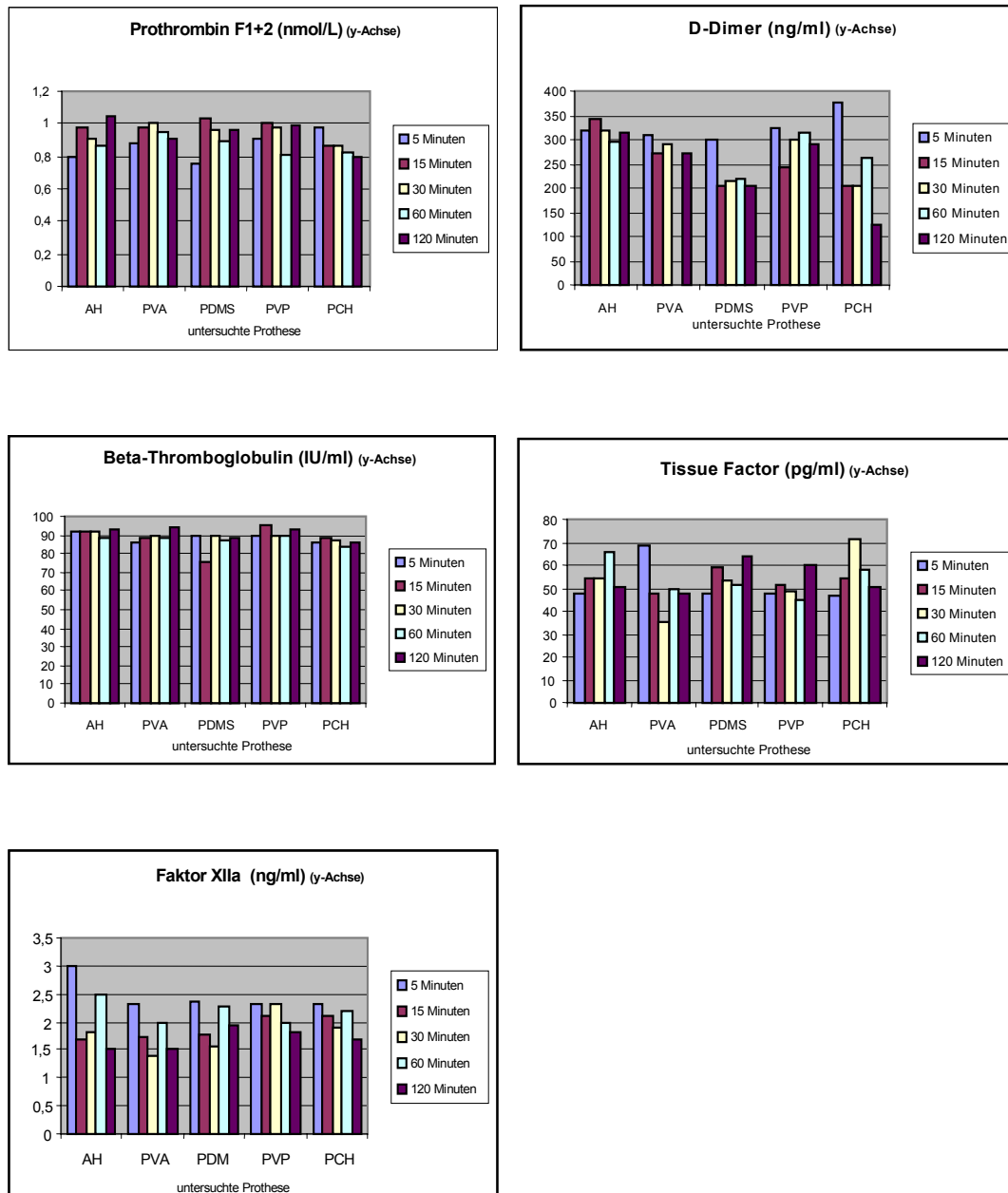


Abbildung 18: Graphische Auswertung spezifischer Gerinnungsparameter unter besonderer Berücksichtigung des zeitlichen Verlaufes nach Blutkontakt. (x-Achse: Testprothese, y-Achse: Einheit des untersuchten Faktors)

Auch für die PDMS-Prothese konnte keine eindeutige Kinetik dargestellt werden. Der Tissue Factor als Zeichen des extrinsischen Gerinnungssystems zeigte keine signifikant von den Normalwerten abweichende Ergebnisse.

Als Marker der intrinsischen Gerinnungsaktivierung wurde der Faktor XIIa analysiert. Dieser war bei der PC-Oberfläche direkt nach Kontaktierung erniedrigt. Im Gegensatz dazu kam es bei gleicher Kontaktzeit zu einem Anstieg dieses Wertes für die PVP-Prothese. Alle weiteren Ergebnisse der übrigen Prothesen zeigten keine eindeutige Kinetik.

Auch das β -Thromboglobulin zeigte für die PC-, AH- und PDMS-Oberfläche einen Abfall der Ergebnisse auf. Eine gegensätzliche Kinetik konnte für die PVA-Prothese extrapoliert werden. Im Gegensatz dazu wurde keine definitive Abweichung der Werte von der Norm für die PVP-Prothese festgestellt. Alle Werte sind Tabelle 15 bis Tabelle 18 im Anhang zu entnehmen.

3.2.5. Bakterienwachstum bei Gentamycin-Prothesen

Nach Beimpfung von Agarplatten mit Auswaschproben der Gentamycin-beschichteten Prothesen (1 Gramm% und 5 Gramm%) und 24-stündiger Bebrütung derselben konnte kein aussagekräftiger Hemmhof erkannt werden.

Ebensowenig wurden Hemmhöfe bei direkt mit Probenstücken der Gentamycin-beschichteten Ausgangsprothese bebrüteten Agarplatten beobachtet.

Nach dem Auswaschversuch im Kreislaufmodell der Gentamycin-inkorporierten Prothesen konnten in den entnommenen NaCl-Proben keine Spuren von Gentamycin nachgewiesen werden.

3.3. Elution von Molekülen

3.3.1. ASS (Azetylsalizylsäure)

Beim Auswaschversuch der mit ASS inkorporierten Prothese konnte eine Senkung des pH-Wertes von 2 Punkten innerhalb von 1 Woche festgestellt werden. Dabei kam es direkt nach Kontakt der Prothese mit der Elutionsflüssigkeit NaCl zu einem schlagartigem Abfall des pH-Wertes, woraufhin der Wert dann im Laufe der Woche kontinuierlich insgesamt um 2 Punkte absank, bis er einen Plateauwert im sauren Bereich erreichte.

3.3.2. Sudanrot

Nach kontinuierlicher Probenentnahme der zirkulierenden Flüssigkeit zu definierten Zeitpunkten konnte photometrisch kein Sudanrot nachgewiesen werden. Dennoch war makroskopisch zu beobachten, dass nach 2 Wochen der hydrophobe Farbstoff kontinuierlich aus der Sudanrot-Prothese in den nachgeschalteten Silikon-Schlauch gewandert war. Unter Berücksichtigung der Flussrichtung (von links nach rechts, Abbildung 19) kann man makroskopisch eine abnehmende Konzentration des Farbstoffes in Flussrichtung erkennen.

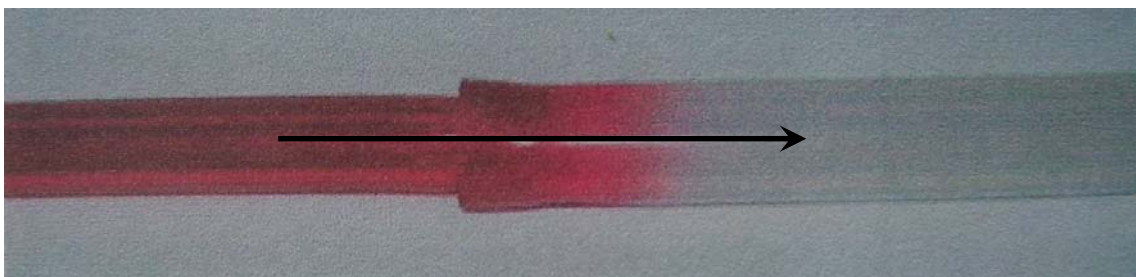


Abbildung 19: Elution von Sudanrot aus einer Silikon-Versuchprothese (links, 6mm Innendurchmesser). Zu erkennen ist der Anastomosenbereich (rechts befindet sich ein Silikon-Schlauch mit 8mm Innendurchmesser), zu Beginn des Versuches war der rechte Schlauch farbstofffrei, der Pfeil markiert die Flussrichtung.

3.3.3. Immunsuppressivum (IS)

Zeit	15 min	30 min	1 h	6 h	1 d	3 d	6 d
Konzentration von IS ($\mu\text{g/l}$)	0	2.3	4.4	17,0	22,0	8,4	8,4

Tabelle 13: IS-Elutionsspiegel (Kreislaufmodell) in Abhängigkeit von der Zeit.

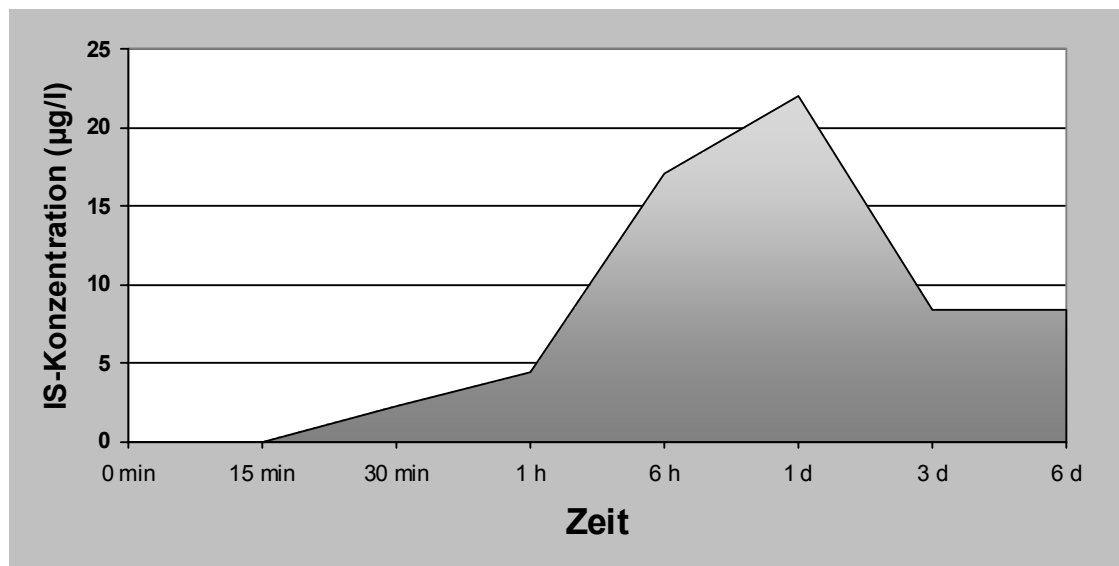


Abbildung 20: Elutionskinetik von IS in Abhängigkeit von der Zeit, erster Nachweis nach 30 Minuten, für die Zeitspanne der ersten 30 Minuten nach Versuchsbeginn wird ein kontinuierlicher Anstieg der Konzentration angenommen.

Wie aus Tabelle 13 und Abbildung 20 ersichtlich, steigt die eluierte Menge IS zunächst rasch bis zu einem Punkt maximum an, sinkt allerdings nach einem Tag genauso schnell bis zum Erreichen eines konstanten Spiegels von $8,4\mu\text{g/l}$ (Plateau-Phase) wieder ab.

3.3.4. Sirolimus (Sir)

Nach Beschichtung einer 2x Prothese mit Sirolimus wurde der Gehalt des Medikamentes in der Prothese mit $1,3\mu\text{g}/\text{cm}^2$. Die Sirolimusmenge in den Flüssigkeitsproben bei Entnahme nach definierten Zeitpunkten ist in Tabelle 14 zusammengefasst.

Zeit	0 min	15 min	30 min	1 h	2 h	4 h	12 h	1 d	2 d
Konzentration von Sir ($\mu\text{g}/\text{l}$)	0,0	4,8	5,0	4,8	5,2	6,7	5,3	7,1	6,2

Tabelle 14: Messung der Elution von Sirolimus, welches in eine 2x Silikon-beschichtete Polyesterprothese inkorporiert wurde. Zur Bestimmung wurden Proben der Albuminlösung in Abhängigkeit von der Zeit zur Analyse gewonnen.

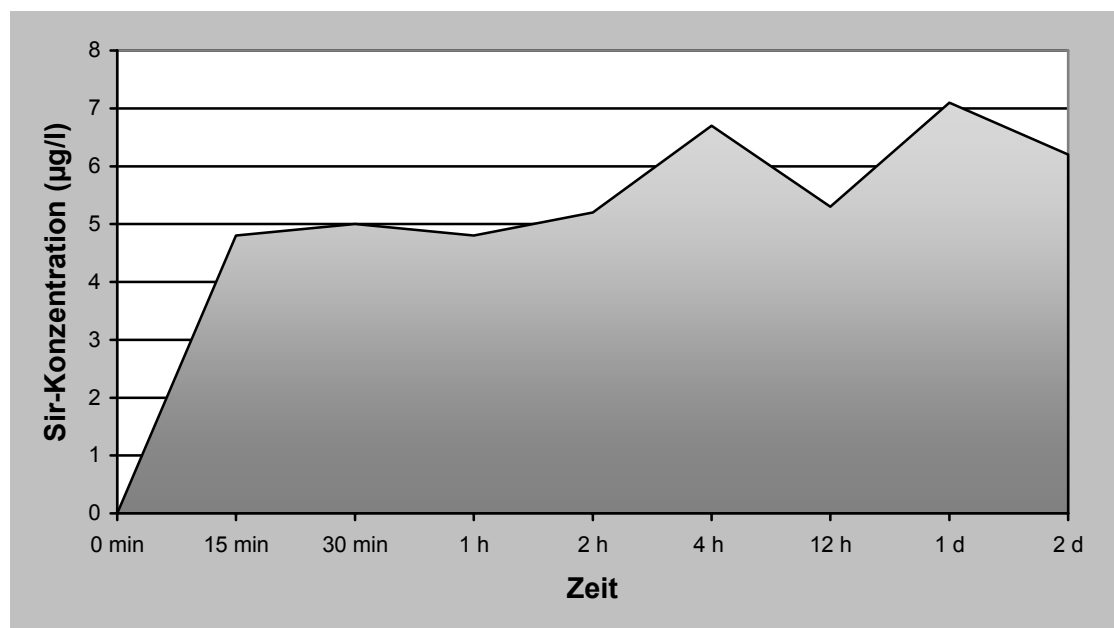


Abbildung 21: Elutionskinetik von Sirolimus in Abhängigkeit von der Zeit, erster Nachweis nach 15 Minuten, für die Zeitspanne der ersten 15 Minuten nach Versuchsbeginn wird ein kontinuierlicher Anstieg der Konzentration angenommen.

Anhand Abbildung 21 zu erkennen, steigt in den ersten 15 Minuten der Spiegel an Sirolimus an, um dann in einen scheinbar gesättigten Bereich überzugehen. Man beachte, dass die Einteilung der x-Achse nicht kontinuierlich verläuft, son-

dem von Minuten über Stunden zu Tagen übergeht. Daher wird ein Sprung in der Konzentrationsentwicklung über die Zeit vorgetäuscht.

3.4. Beantwortung der Fragestellung

In Bezug auf die physikalisch-mechanischen Eigenschaften der von uns modifizierten Prothese konnte eine primäre Dichtigkeit mit Veränderung der Eigenschaften je nach Silikon-Gehalt dargestellt werden. Die ISO-Norm 7198 wurden aufgrund der darliegenden Ergebnisse eingehalten. Für die für den Chirurgen wichtige Nähbarkeit des Materials konnte keine signifikante Abweichung in Anlehnung an Quer- und Längssteifigkeit gezeigt werden.

Im Rahmen von durchgeführten Gerinnungstests konnte materialabhängig keine einheitliche Aktivierung der Gerinnungskaskade festgestellt werden. Offensichtlich kommt es zu einer raschen Aktivierung der Gerinnung sofort nach Oberflächenkontakt. Laut der dargestellten Ergebnisse fielen vor allem PC, gefolgt von PDMS und PVA mit günstigen Eigenschaften bezüglich einer geringeren Thrombogenität auf.

Es konnte gezeigt werden, dass in die Silikon-Matrix der von uns hergestellten Prothese Moleküle eingebracht und in zeitlicher Abhängigkeit auch wieder freigesetzt werden können. Demzufolge kann von einer "drug release" Prothese gesprochen werden. Je nach verwendetem Molekül erfolgt die Freisetzung zeitlich unterschiedlich. Sirolimus wird frühzeitig, IS eher später wieder aus der matrix abgegeben. Die Moleküle werden entweder in das sie umfließende Medium oder die sie umgebende Matrix weitergegeben, was vor allem von der Hydrophilie/-phobie des Moleküls abhängig erscheint.

4. Diskussion

Bislang ist es immer noch nicht gelungen, hinreichend zufriedenstellende Ergebnisse bei kniegelenksüberschreitenden Kunststoffbypassoperationen zu erlangen. Unter Verweis auf deutlich bessere Langzeitstudienresultate nach Stent-Design-Verbesserung bei PTCA [48,56,64] scheint auch bei den Kunststoffprothesen eine Modifikation der Materialien sinnvoll.

Ende der 70er Jahre kam zunehmend die PTFE-Prothese zur klinischen Anwendung. Allerdings wiesen die bislang verwendeten Gefäßersatzmaterialien im Vergleich zum herkömmlichen Venenbypass nur eine schlechte Langzeitoffenheitsprognose auf [1,4,61,70]. Deswegen ist die Entwicklung neuer Prothesenmaterialien auch weiterhin aktuelles Forschungsziel.

„Es besteht für die Industrie ein Entwicklungsbedarf für den Gefäßersatz distal des Kniegelenks, dem nicht nachgekommen wird.“ Dieser Leitsatz, der vor nunmehr 6 Jahren auf einem Workshop in Hamburg geprägt wurde, hat bis heute seine Gültigkeit nicht verloren und spiegelt die aktuelle Forschungslücke wider [58,73].

Zu den wichtigsten Ansatzpunkten moderner Forschungsarbeiten zählen vor allem vier Schwerpunkte. Das "Endothelial cell seeding" (ECS), das "Anastomotic engineering" (AE), die Intimahyperplasie (IH) und die Pharmakotherapie [3,108]. Vor allem die IH verursacht in 40-50% der Fälle die frühzeitige Restenosierung von Gefäßimplantaten [3,48].

Außerdem werden immer neue Materialien zur Beschichtung der Prothesen und deren Wirkung auf die lokale Blutgerinnung ausgetestet. Besonders vielversprechend erscheint in diesem Zusammenhang das Polydimethylsiloxan (Silikon, PDMS), welches in der Klinik bereits einen breiten Anwendungsbereich mit guten Langzeitergebnissen aufweist.

4.1. Silikon (Polydimethylsiloxan, PDMS) und die Herstellung Silikon-beschichteter Prothesen

Silikon wird heutzutage in vielfältiger Form in der Medizin angewendet. Es dient im Rahmen sogenannter "life-saving devices" als Harnleiterersatz, Kathetermaterial oder wird für osteointegrierte Implantate verwendet [76,93]. In der plastischen und ästhetischen Medizin wird es schon seit vielen Jahren routinemäßig zur Augmentation genutzt. Dabei konnte in Langzeitstudien kein signifikanter Nachweis einer etwaigen kanzerogenen Potenz oder andersweitiger gravierender Komplikationen demonstriert werden [21,22,24,76]. Ein weiterer Vorteil besteht in der geringen chemischen Reaktivität des Silikon-Elastomers. Auch in der Shuntchirurgie erforscht man die Einsetzbarkeit von Silikon-Prothesen [40]. Hierbei wurde eine geringere Nachblutungsrate bestätigt. Im Rahmen von tierexperimentellen Vorversuchen zu der hier vorliegenden Arbeit konnte eine sehr geringe Blutungsneigung aus den Stichkanälen der Anastomosenbereiche dargestellt werden [38].

Trotz der scheinbar eindeutigen Vorteile dieses Materials gelang es bisher noch nicht, eine Silikon-beschichtete Gefäßprothese herzustellen, welche im klinischen Alltag Einzug gehalten hätte.

Der primäre Gedanke der vorliegenden Arbeit stützte sich auf die Entwicklung und spätere Etablierung einer reinen Silikon-Medikamenten-Prothese. Diese Idee wurde allerdings relativ schnell verworfen, da die FDA (Food and Drug Administration, USA) 100.000.000 Belastungszyklen für eine Zulassung einer solchen Prothese fordert. Dies würde einen enormen zeitlichen, logistischen und finanziellen Aufwand bedeuten. Da indessen die Polyesterprothesen in Forschung und Praxis sehr gut untersucht und vor allem von der FDA zugelassen sind, versuchten wir, eine Kombination dieser zwei weitläufig erforschten Materialien zu erstellen. Demgemäß entwickelten wir im Rahmen der hier vorliegenden Studie eine Apparatur zur Herstellung Silikon-beschichteter Polyesterprothesen (Silikon-Beschichtungsmaschine).

Bei der Produktion der Silikon-beschichteten Prothesen stützten wir uns unter anderem auf die Theorien von Bourge [19,20]. Dieser beschrieb beispielsweise 2002 die Beschichtung von biologischen Materialien mit Silikon und die Möglichkeit der Anwendung in der Biomedizin. Demzufolge hängt die Herstellung einer Silikon-beschichteten Oberfläche ganz entscheidend vom pH, der Temperatur und vom Typ des verwendeten Silikons ab. Entscheidend ist, daß sich Silikon in reiner Form bei Zimmer-/ Körpertemperatur auflöst, wohingegen es in chemischer Bindung mit einer Oberfläche bei gleicher Temperatur in einer Art Gelform vorkommt [19,20]. Die Selbsthärtung beginnt laut Bourges mit dem Abfall des pH-Wertes. Die Gelform liegt vor, wenn der pH-Wert im alkalischen Bereich liegt. In diesem Zustand befand sich die Silikon-Lösung, die wir mit freundlicher Genehmigung von Herrn Dr. R. Siegel (Fa. – bionic-surfaces -) erhielten. Des weiteren, so Bourges, kann die Kondensation des Silikons durch einen Temperaturanstieg katalysiert werden [19,20]. Diesen Umstand nutzten wir nach jedem Beschichtungsschritt aus, um die Aushärtung der Prothesen zu beschleunigen und so den Zeitaufwand zur Herstellung der Prothesen zu minimieren. Dafür wurde die Prothese nach gleichmässiger Silikon-Benetzung bei 100°C für 30 Minuten ausgehärtet, wobei das Silikon kondensierte.

Obwohl wir den Versuch der Standardisierung aller nötigen Abläufe unternahmen, bestand ein großes Problem dieser Herstellungstechnik in der unterschiedlichen Handhabung durch verschiedene Nutzer des Gerätes. Des Weiteren konnte man durch eine minimale Verschiebung der Kanüle, über die die Silikon-Lösung auf die Prothesen tropfte, die Menge derselben variieren. Außerdem gab es zuweilen Probleme mit dem verwendeten Infusiomaten, da es sich hierbei um ein veraltetes Modell handelte. Im Rahmen des Trocknungsprozesses wurden die Prothesen lediglich in einen Ofen gelegt und 30 Minuten bei 100°C luftgetrocknet. Dabei konnte unter Umständen das Silikon von der Prothese infolge der Schwerkraft in den unteren (aufliegenden) Teil der Prothese absinken. Dadurch war es möglich, dass die Silikon-Beschichtung im Querschnitt einer Prothese nicht überall identisch war. Jedoch wurde der repräsentative Querschnitt mehrerer Prothesen mittels IVUS untersucht und es konnten

keine gravierenden Differenzen festgestellt werden. Dennoch wäre es angebracht, diesen Sachverhalt in kommenden Studien weiter zu untersuchen und gegebenenfalls eine ähnliche um die eigene Achse rotierende Aufhängung zu verwenden, wie sie schon in der Silikon-Maschine genutzt wurde.

4.2. Physikalische Eigenschaften

Die derzeitige Forschungsarbeit zielt immer mehr auf eine bessere Verträglichkeit und verlängerte Offenheitsrate der Prothesen hin. Laut Löhbach et al. sollten "polymere modified grafts" bevorzugt werden, da diese eine besondere Verträglichkeit aufweisen [89].

Primäre Dichtigkeit

Durch die von uns durchgeführte Silikon-Beschichtung konnte eine primär dichte Gefäßprothese hergestellt werden, was eine xenogene Beschichtung überflüssig macht. Demzufolge kann in Zukunft auf die zusätzliche Beschichtung mit Gelatine oder Kollagen boviner Herkunft verzichtet werden, welche seit den 60er Jahren bei Polyesterprothesen benutzt wird [69,94]. Diese Materialien haben in den letzten Jahren eine große Brisanz bezüglich einer möglichen Priorenkontamination erlangt. Ebenfalls wurde beispielsweise in Studien von Hake et al. eine schlechtere Einheilungstendenz bei Tierexperimenten mit Kollagenbeschichteten Prothesen postuliert [59].

Außerdem wird nun ein intraoperatives "Preclotting" unnötig, da die hergestellten Prothesen primär dicht sind. Dies konnten wir mit Hilfe der durchgeführten Dichtigkeitstest bei verschiedenen Drücken nachweisen. Besonders hervorzuheben ist dabei die 2x beschichtete Prothese, welche eine ähnliche Dichtigkeit wie herkömmliche, primär dichte Prothesen aufweist.

Durch die Variabilität in der Herstellung unterschiedlicher Beschichtungsarten konnten auch die mechanischen Eigenschaften der erstellten Silikon-Prothesen manipuliert werden. Dabei muss berücksichtigt werden, daß mit höherer Be-

schichtungszahl die physikalische Stabilität zwar zunahm, sonst aber keinerlei Vorteile erzielt werden konnten.

Compliance/Wandstärke/Elastizität

Es konnte gezeigt werden, dass die 2x mit Silikon-Lösung beschichteten Prothesen in Bezug auf die Wandstärke im statistischen Mittel aller Vergleichsprothesen lagen. Auch in Bezug auf die Compliance der Prothesen fand sich kein charakteristischer Unterschied zu den untersuchten Vergleichsprothesen. Die Dehnbarkeit der PTFE-Prothese soll laut gängiger Literatur $1,2\%/mmHg \cdot 10^{-2}$ aufweisen [117,136], was bei Messungen der von uns modifizierten Prothesen bestätigt werden konnte.

Einige wenige Studien sprechen von einer Stabilisierung der Prothesenwand durch die aufgetragene Silikon-Schicht, so dass die Prothese einem möglichen Abknicken oder einer Kompression deutlich besser standhalten kann. Daher könnte im Rahmen der späteren technischen Herstellung auch auf eine Verstärkung mittels Kunststoffringen oder –spiralen verzichtet werden, die zur Vermeidung eines Prothesenabknickens bei dünnkalibrigen PTFE-Prothesen notwendig ist. Die hohe Compliance von Silikon im Vergleich zu anderen Materialien bleibt über die Zeit konstant [136,147].

Bereits 1978 verwendeten Parr und Hopkinson [111] einen reinen Silikon-graft im Rahmen einer klinischen Studie als Shuntmaterial bei Patienten mit portaler Hypertension. Beide wiesen darauf hin, dass die Konsistenz und auch die tastbare Beschaffenheit der Prothese ähnlich zu der der normalerweise verwendeten Gefäßprothesen seien. Auch wir konnten im Rahmen der durchgeführten physikalischen Tests feststellen, dass die Silikon-beschichteten Prothesen deutlich stabiler in Bezug auf Längs- und Quersteifigkeit waren als die verwendeten Ausgangsprothesen. Allerdings gibt es bislang nur wenige Studien bezüglich der Längs- und Quersteifigkeit als Zeichen für die klinische Handhabung. Im Vergleich zu Studien mit Protein-beschichteten Prothesen zeigten sich bei unseren Prothesen keine nennenswerten Unterschiede [141].

Die Ergebnisse in Bezug auf die Elastizität zeigten uns, dass mit zunehmender Beschichtung die Elastizität abnahm, was ein wichtiger Faktor im Hinblick auf die "Windkesselfunktion" der Arterien darstellt. Auch hier wies wieder die 2x beschichtete Prothese ähnliche Werte zu allen herangezogenen Vergleichsprothesen auf und erfüllte somit in dieser Hinsicht die erforderlichen Eigenschaften.

Durchstoßkraft, Nähbarkeit

Als eine weitere Variable zur Darstellung der physikalischen Eigenschaften der Prothesen diente uns die Durchstoßkraft (N). Auch hier konnte bewiesen werden, dass zum Durchstoßen der 2x Silikon-beschichteten Prothese keine höheren Kräfte aufgewendet werden mussten als analog bei der Testung anderer Prothesen. Eine Beeinträchtigung der Durchstoßkraft kann sich positiv auf die chirurgische Arbeitstechnik im Anastomosenbereich auswirken. Je weniger Kraft aufgewendet werden muss, um so einfacher wird es dem Chirurgen gelingen, eine suffiziente Anastomosierung *in-vivo* herzustellen. Vor allem bei kleinkalibrigen Prothesenanastomosen ist das von grossem Vorteil, da so benachbarte Strukturen geschont und die zu adaptierende Arterie mit grösstmöglicher Vorsicht versorgt werden kann. Im Tierversuch konnte bereits ein unauffälliges Einheilungsverfahren der Silikon-Prothesen gezeigt werden [38,40].

Parr und Hopkinson stellten in ihrer Arbeit eine deutlich bessere Nahtmöglichkeit bei den reinen Silikon-Prothesen fest [111]. Durch veränderte Nahttechniken, wie sie bereits von Friedrich et al. [45] gefordert wurden, kann im Rahmen der Implantation zudem eine vorzeitige IH reduziert werden.

Im Rahmen der vorliegenden experimentellen Studie konnten wir also eine Prothese herstellen, die in allen physikalischen Eigenschaften den herkömmlichen Prothesen (InterGard™ Silver, Intervascular; Meadox knitted Hemashield®, Fa. Boston Scientific, Goretex®streich, Fa. Gore) gleicht beziehungsweise tendenziell überlegen ist.

Im Anschluss daran wurde das Augenmerk auf die biologischen Eigenschaften der Oberfläche nach Blutkontakt gelegt. Es wurde versucht, durch Veränderung der Oberflächenstruktur die Gerinnungseigenschaften der neuen Prothese deutlich zu verbessern.

4.3. Oberflächenoptimierung/biologische Eigenschaften

Oberfläche, Porengröße

Die Oberflächenbeschaffenheit und mikroskopische Porengröße scheint in Bezug auf die Thrombogenität eine große Rolle zu spielen. So steigt die Adsorptionsreaktion deutlich an, wenn die Porengröße der Oberflächenschicht zu gering ist. Ursächlich dafür muss der fehlende Kontakt der Serum-Proteine zur Oberfläche angesehen werden. Demzufolge muss zwar die Proteinadsorption an die Oberfläche vermindert werden, jedoch darf dies nicht wahllos alle Proteine ausschließen. Offensichtlich spielen hier Größe und Gewicht der Proteine sowie die chemischen Beschichtung und Oberflächenstruktur eine große Rolle [16,101].

Um festzustellen, wie dicht die Silikon-Schicht auf die Prothesenoberfläche aufgebracht werden konnte und ob bei der Beschichtung etwaige größere Silikon-Leckstellen auftraten, wurde eine rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Oberflächen vorgenommen. Dabei konnte festgestellt werden, dass der PET-Faden in seiner Integrität nicht verändert wurde (Abbildung 15-Abbildung 17). Nach Blutkontakt konnte die Adsorption von Thrombozyten sowie Fibrinfäden gezeigt werden.

Oberflächenmodifikation

Unter Oberflächenmodifikation versteht man die Verankerung funktioneller Gruppen an die von uns aufgebrachte Silikon-Schicht auf herkömmliche PTFE-Prothesen. Um die veränderten Eigenschaften im Hinblick auf die Thrombogenität unterschiedlicher Substanzen zu testen, wird in der Literatur noch immer am

häufigsten der sogenannte "Chandler-Loop" verwendet [27,98,99,126]. Dieser weist allerdings im Gegensatz zu unserem Modell zwei verschiedene Oberflächen mit dementsprechend unterschiedlichen Gerinnungseigenschaften auf.

Die Veränderung der lumenseitigen Prothesenoberfläche zur Verringerung der Thrombogenität ist in der Gefäßchirurgie keine neue Idee [3,39,73]. So werden bislang vor allem Karbon- und Heparin-Beschichtungen genutzt, um eine frühzeitige Blutgerinnung zu verhindern [3]. Während für Karbon-beschichtete Prothesen keine definitiven Vorteile bewiesen werden konnten, werden zumindest für Heparin-beschichtete Prothesen kurz- bis mittelfristige Prothesenverschlüsse verringert [12,39].

Thrombogenität, "Vroman-Effekt"

Die reine Silikon-Oberfläche scheint noch keine optimalen Eigenschaften im Hinblick auf die Gerinnung zu zeigen, weswegen wir durch gezielte Oberflächenveränderungen mit verschiedenen Substanzen (Tabelle 3) eine Verbesserung erhofften.

Nachdem eine Fremdoberfläche Kontakt mit Blut hatte, folgt die Ablagerung vor allem von Fibrinogen und anderen Proteinen. Es kommt anschliessend zu einem rapiden Austausch mit anderen Molekülen wie Kininogen oder dem Faktor XII. Vor allem die Thrombozyten lagern sich dem auf der Fremdoberfläche anhaftenden Fibrinogen an. Es konnte mehrfach festgestellt werden, dass sich Thrombozyten direkt nach Blutkontakt auf der PET-Oberfläche anlagern. Durch folgende Aktivierung der Thrombozyten kommt es im Anschluss zur Freisetzung von PDFG (Plateled Derived Growth Factor). Dies kann bei der Frühverschlussrate nach Implantation von kleinkalibrigen Prothesen eine entscheidende Rolle spielen. Die ablaufenden Prozesse werden als "Vroman-Effekt" bezeichnet [143].

Jegliche Kunststoffprothese besitzt eine solche thrombogene Oberfläche. Das Besondere an der PET-Prothese ist die mit der Zeit abnehmende Ablagerung von Thrombozyten an der Oberfläche [2,51,80,100,135]. Wenn also ein solcher

Effekt ablaufen würde, müsste man einen Abfall des Fibrinogenspiegels im Blut nachweisen können, was wir in unseren Analysen nicht feststellen konnten. Demzufolge scheint es nicht zu einer massiven Anlagerung von Proteinen an die Fremdoberfläche der von uns modifizierten Prothesen zu kommen. Allerdings sei darauf hingewiesen, dass die von uns untersuchten Oberflächen als eher klein zu bezeichnen sind und der Effekt daher möglicherweise nicht adäquat zum Tragen kommt beziehungsweise dem indirekten Nachweis entgeht. In anderen Versuchen wurde ein Abfall der Thrombozyten nach Fremdoberflächenkontakt nachgewiesen [99], was wir allerdings auch nicht bestätigen konnten.

Antigenität

Ein weiteres Problem besteht in der Antigenität der Polyesterprodukte [152]. So konnten bislang noch keine komplett inerten Biomaterialien entwickelt werden. Infolgedessen kommt es stets zu einem chronischen fortschreitenden Entzündungsprozess. Da die hier vorliegende Arbeit rein experimentell ist, kann zu diesem Zeitpunkt noch keine Aussage über die Antigenität der neu modifizierten Prothesen gemacht werden. Dies soll aber in anschließenden Studien erforscht werden.

Bei bereits durchgeführten tierexperimentellen Vorversuchen konnte allerdings für die rein Silikon-beschichtete Polyesterprothese ohne weitere Oberflächenmodifizierung keine vermehrte Fremdkörperreaktion festgestellt werden [38].

Die Auswirkung unterschiedlicher Oberflächenladungen auf die Thromboseneigung, Monozytenadhäsion und Makrophagenfunktion untersuchten eine Reihe anderer Autoren. Dafür wurden hydrophobe und hydrophile anionische und kationische Oberflächen getestet. Resultierend wurde festgestellt, daß die Zahl der apoptotisch zugrunde gehenden Zellen bei anionischen und hydrophilen Zellen anstieg. Hydrophile und ionische Oberflächen bewirkten eine Zunahme von Adhäsion und Fusion. Demgemäss scheint die Apoptoserate materialabhängig zu sein [23,119].

Hydrophilie

Die von uns untersuchten Oberflächenmoleküle sind zum Teil schon wissenschaftlich auf ihre Gerinnungseigenschaften untersucht worden. Man unterschied dabei nach Hydrophilie und Ladung.

Zu den hydrophilen Materialien zählt beispielsweise das Polyethylenoxid (PEO). Ji konnte positive Eigenschaften für PEO in Kombination mit dem Molekülträger Silikon feststellen [77,87,88,91]. Ausserdem wurden für PEO positive Eigenschaften an blutkontaktierten Oberflächen dargestellt [52,78,87,110].

Auch wir testeten PEO in Kombination mit der Silikon-beschichteten Ausgangsprothese. Während unseren ersten Tests nach primärem Blutkontakt mit der PEO-Oberfläche konnten makroskopisch partielle Thromben festgestellt werden. Die Blutbildanalyse ergab allerdings keinerlei Besonderheiten. Die D-Dimere im Rahmen der ELISA-Untersuchungen zeigten sich in Abhängigkeit von der Zeit positiv und deuteten damit auf eine Fibrinolyse hin. Auch konnte eine Aktivierung der Thrombozyten verzeichnet werden, welche über die gesamte Zeit unverändert war.

Nun stellte sich die Frage, warum die thrombogenen Eigenschaften der von uns modifizierten Prothese derart negativ ausfielen. Eine These hängt mit der thrombogenen Dynamik der Oberfläche mit der Proteinadsorptionspotenz des Materials zusammen [87]. Je nachdem, ob eine Oberfläche als fremd erkannt wird, erfolgt die Adsorption von Proteinen. Nach Ablauf dieser initialen Reaktion können dann Thrombozyten aktiviert werden und infolgedessen die Plättchenadhäsion ablaufen. Infolge kommt es zur Bildung eines Gefäßthrombus. Diese Aktivierung konnten wir durch die Ermittlung des Faktors XIIa darstellen, welcher bei allen untersuchten Oberflächen keine übermässige Aktivierung zeigte. Einzige Ausnahme stellte die Alkylhydroxidoberfläche dar, welche gleich zu Beginn eine Aktivierung des Faktors XIIa aufwies, dann jedoch in Normbereiche absank. Für die PEO-Oberfläche konnte bereits in anderen Studien bewiesen werden, dass es die Proteinadsorption minimiert [52,110]. Dies bedeutet also, dass die gemessene Erhöhung der D-Dimere nicht in einen adäquaten Zusammenhang mit den antigenen Eigenschaften der Prothesenoberfläche zu bringen ist.

In unseren Versuchen wurde zudem für PVA eine geringe thrombogene Eigenschaft festgestellt, was in der Literatur schon mehrfach nachgewiesen werden konnte [30,50].

PVP wiederum wird in der Literatur nur selten in Zusammenhang mit Gefäßprothesen erwähnt. Es verursacht eine geringere Fibrinogenadsorption, was auf Grundlage des Vroman-Effektes zu einer verminderten Thrombozytenadsorption und damit Gerinnung führt [16]. Bei genauer Betrachtung des β -Thromboglobulin im Rahmen der ELISA-Untersuchungen wurde nach initial niedrigem Wert ein signifikanter Anstieg nach einer Stunde festgestellt. Dies galt gleichermaßen für PC. Dieser Effekt wurde bereits durch Godo et al. beschrieben [50]. Die Thrombogenität scheint also nicht allein an die Fibrinogenbedingte Aktivierung der Thrombozyten gekoppelt zu sein.

Hydrophobie

Als hydrophob sind die Phosphorylcholin- (PC) und die PDMS-Oberfläche anzusehen. Wenn man nochmals die Aktivierung der D-Dimere betrachtet, fällt auf, dass vor allem die Silikon-Oberfläche und die PC-Oberfläche eine geringe Aktivierung verursachen. Das wiederum deutet auf eine geringere Thrombusentstehung hin, woraus man schlussfolgern kann, dass diese Oberflächen die Blutgerinnung nur gering aktivieren [104,148]. Für PC konnten lipophile, zellmembranartige Charakteristika festgestellt werden, welche den positiven Effekt auf die Gerinnung bewirken. Dies wird vor allem bei der Beschichtung von Stents und Gefäßprothesen heute schon ausgenutzt [29,75,81,106].

Eine ebenfalls verminderte thrombogene Potenz ist für Silikon (PDMS) bekannt [110], was wir auch in unseren Versuchen wiederfanden. Auch im Hinblick auf die D-Dimere bestätigten sich die Ergebnisse für beide Materialien.

Bei gewisser Erhöhung des β -Thromboglobulins bei allen getesteten Oberflächen sehen wir die Ursache am ehesten in einer Aktivierung und Zerstörung der

Thrombozyten durch mechanische Einflüsse. Möglicherweise sind die Thrombozyten durch Scherkräfte im Rahmen der Untersuchungen im Rotationsmodell sowie initial bei der Blutentnahme aktiviert worden.

Ladung

Um diesen Sachverhalt zu überprüfen, wurden Zinksulfat und Silanolat, die beide eine negative Ladung aufweisen, als Oberflächenmodifikationen angewandt. Beide Materialien sollen die Zelladhäsion minimieren [23,87,91]. Dies konnte jedoch in unseren Experimenten nicht bestätigt werden. Allerdings reicht die Zahl der durchgeführten Versuche nicht aus, um daraus eindeutige Schlussfolgerungen ziehen zu können. Für Silanolat wurde jedoch festgestellt, dass es oxidative Mechanismen auslösen kann und somit über eine gerinnungsaktivierende Potenz verfügt. Dementsprechend hätte dieses Material eine negative Hämokompatibilität [119].

Amphiphilie

Zum Nachweis der Auswirkung hydrophober und hydrophiler Oberflächenstrukturen wurde in unseren Experimenten Alkylhydroxid herangezogen, welches beide Merkmale aufweist. So soll ein Stoff mit hydrophoben Eigenschaften die Thrombogenität nach Blutkontakt minimieren. Im Rahmen der D-Dimer Analyse zeigte AH jedoch eine im Vergleich zu den anderen Oberflächen hohe Aktivierung, welche auch im Verlauf der Zeit nicht nennenswert abnahm. Auch makroskopisch konnte ein grosser wandständiger Thrombus nachgewiesen werden. Dies spricht für eine eher starke Aktivierung der Blutgerinnung. AH zeigte in unseren Versuchen von allen Materialien die schlechtesten Ergebnisse.

Im Rahmen der makroskopischen Betrachtung der einzelnen Oberflächen nach Blutkontakt schnitten PVP (Polyvinylpyrrolidon), Silikon (PDMS) und PVA (Polyvinylalkohol) am besten ab. Bei diesen Oberflächen konnte kein nennenswerter Thrombus festgestellt werden. Eine geringe Thrombozytenadhäsion konnte be-

reits in einer Reihe von Versuchen für Materialien aus PVA bewiesen werden [16].

Bakterienwachstum

Eine weitere Überlegung im Rahmen unserer Studie bezog sich auf die Untersuchung des Bakterienwachstums auf den Prothesenoberflächen. In Vorversuchen zu dieser Arbeit konnte eine offensichtliche Wachstumsminimierung von *Staphylokokkus aureus* für antibakteriell beschichtete Silikonprothesen festgestellt werden (²).

In der Literatur finden sich bislang nur wenige Arbeiten bezüglich Silikonbeschichteter Gefäßprothesen. Harris et al. konnte beispielsweise für die Silikonbeschichtete Dacron®-Prothese eine geringere bakterielle Adhäsion nachweisen [63]. Auch bei Analysen von Silikonbeschichteten Arealen in Kunstherzen konnte eine niedriger bakterielle Besiedelung festgestellt werden. Dacron® allein scheint eine erhöhte Adhärenz von *Staphylococcus epidermidis* aufzuweisen [127,146].

Bei der hier vorliegenden Studie konnten diese Ergebnisse bestätigt werden. Nach 24-stündiger Bebrütung von Silikon-Prothesenstücken konnte kein Bakterienwachstum auf der Agarplatte nachgewiesen werden. Es stellt sich hierbei die Frage, ob dieses Ergebnis ursächlich mit der Menge des aus der Silikon-Röhre diffundierenden Gentamycins lag.

Zusammenfassung

Unsere Studie konnte also schlussfolgernd einige dieser Ergebnisse bestätigen. So ergaben sich für das hydrophile PVP sowohl makroskopisch, elektronenmikroskopisch wie auch laborchemisch sehr gute Ergebnisse. Auch in Bezug auf die ELISA-Ergebnisse konnte eine Aktivierung der Thrombozyten nicht sicher

² Siegel 1992, persönliche Mitteilung

belegt werden. Eine geringe Gerinnungsneigung erwies die PC-beschichtete und damit hydrophobe Prothese.

Auf der PVA-Oberfläche konnten makroskopisch keine Thromben nachgewiesen werden. Die Thrombozytenadhäsion wurde als gering eingestuft, obwohl das β -Thromboglobulin im ELISA-Ergebnis keine sichere Bestätigung dieser These erlaubt.

Die reine PDMS-Prothese erzielte in allen Tests sehr gute Ergebnisse. Makroskopisch wurden kaum Thromben verzeichnet. Desweiteren wurde keine massgebliche Aktivierung der Gerinnungskaskade festgestellt. Dies bestätigt auch die Ergebnisse einer Studie von Park et al., der für dieses Material eine geringe Thrombozytenadhäsion feststellte [110]. Sehr gute antithrombotische Eigenschaften ergaben sich durch eine Albuminanlagerung im Rahmen des Blutkontaktes (Abbildung 19). Silanolat und Zinksulfat, beides negativ geladene Oberflächen, erfüllten die Erwartungen nicht und wiesen in unseren Experimenten deutlich negative Ergebnisse auf.

Schlussfolgernd kann festgestellt werden, daß nicht alle untersuchten Oberflächen die Annahme einer geringeren beziehungsweise verzögerten antithrombotischen Eigenschaften bestätigen konnten. Erwähnenswert scheint in diesem Zusammenhang die Tatsache, daß die Gerinnung und Fibrinolyse unmittelbar nach Blutkontakt mit den Oberflächen maximale Werte für Prothrombin F1+2 und die D-Dimere erreichte.

Folglich scheinen besonders die ersten Minuten nach Implantation der Gefäßprothesen in den Wirt von größter Wichtigkeit zu sein. Derselbe Sachverhalt wurde auch von Stratton et al. experimentell nachgewiesen, der ebenfalls die Bildung von Thromben auf Polyesterprothesen innerhalb von wenigen Minuten beobachten konnte [134]. Diese Tatsache kann für unsere Prothese allerdings bislang nur für *in-vitro* Experimente bestätigt werden. In folgenden tierexperimentellen Studien soll dieser Sachverhalt weiter analysiert werden.

Auf der anderen Seite kann die von uns vermutete Aktivierung des intrinsischen Systems der Gerinnungskaskade nicht eindeutig bewiesen werden. Die Ergebnisse des ELISA-Tests für den Tissue Factor und den Faktor XIIa lassen keine eindeutige Aussage diesbezüglich zu.

4.4. "Drug releasing graft"

Im Rahmen der Entwicklung eines "drug releasing grafts" eröffnet sich nun die Möglichkeit, gezielt lokal Substanzen (Immunsuppressiva, Antibiotika) wirken zu lassen, die einen chronischen Entzündungsprozess inhibieren könnten. Positive Ergebnisse dazu werden in den im Anschluss an diese Publikation folgenden Tierversuchen erwartet.

Es existiert eine Reihe von Studien über "drug eluting stents" (RAVEL, SIRIUS, TAXUS I-VI) [15,35,56,64,74,128]. In der Kardiologie dienen Stents zur Erweiterung von Gefäßverschlüssen. Durch Inkorporierung verschiedener Moleküle (Sirolimus, Abciximab, Paclitaxel) kann die pharmakologische Wirkung lokal einsetzen, ohne eine systemisch hohe Dosis der Medikamente nötig zu machen. Dadurch kann die Nebenwirkungsrate erheblich minimiert werden. Diese Substanzen werden in der Transplantationsmedizin (Sirolimus) und in der Onkologie (Paclitaxel) verwendet. Sie bewirken einen antiproliferativen Effekt vorzugsweise an Endothelzellen und glatten Muskelzellen. Dadurch konnte in der Kardiologie die Re-Stenoserate deutlich gesenkt werden [35,56,64,74,153].

Im Rahmen unserer Studie konnte die kontinuierliche Abgabe der inkorporierten Stoffe an die umliegenden Gewebe nachgewiesen werden (siehe Sudanrot-Versuch, 3.3.2 und 2.1.6). Dabei folgt dieser Prozess den Gesetzen der Konvektion und Diffusion. Zunächst wurde die Abgabe von hydrophiler Salizylsäure durch Abfall des pH-Wertes und damit Ansäuerung des Mediums nachgewiesen (Kapitel 3.3.1).

Schon Hwang und Edelman wiesen theoretisch nach, dass inkorporierte Substanzen nicht nur in das das Lumen durchströmende Blut wandern, sondern auch die umgebenden Strukturen durchdringen [71]. Demnach befinden sich hydrophobe Stoffe im Gewebe, hydrophile eher im sie umgebenden Medium. Auch in unserem Sudanrot-Versuch wurde gezeigt, dass sich der Farbstoff im Kunststoff in Flussrichtung ausbreitete, was auf ein „Wandern“ der Substanz schließen lässt. Als hydrophobes Material wandert Sudanrot im umgebenden

Material, währenddessen beispielsweise Azetylsalizylsäure als hydrophile Substanz eher im Medium verbleibt [Abbildung 7],[71].

Im Folgenden wurde die Elution von immunsuppressiven Stoffen aus der Prothesenoberfläche untersucht. Als untersuchte Arzneimittel wurden IS und Sirolimus (Rapamune®, Wyeth Pharma) verwendet. Im Rahmen der Testreihen wollten wir feststellen, ob es möglich ist, eine gewisse Menge an IS an die Prothesenoberfläche zu binden. Im Anschluss wurde die Elutionskinetik in Abhängigkeit von der Zeit untersucht. Es konnte festgestellt werden, dass in Abhängigkeit von der Zeit der IS-Spiegel in der NaCl-Flüssigkeit des Kreislaufmodells anstieg. Die maximale Konzentration war dabei nach einem Tag erreicht. Wir konnten also nachweisen, dass IS aus der Prothesenmatrix kontinuierlich eluiert. Zwischen dem ersten und dritten Tag kam es zu einem Absinken des Spiegels, was wir darauf zurückführten, daß ein Teil des IS sich wieder im Silikon-Schlauchsystems des Kreislaufmodells anlagert. Nach 3 Tagen stellte sich daraufhin ein konstanter Medikamentenspiegel im NaCl ein.

Im Hinblick auf die Anwendung dieser modifizierten Prothese im Patienten kann davon ausgegangen werden, dass sich das IS auch in benachbarten Strukturen anlagert und so die ablaufende Entzündungsreaktion und Intimahyperplasie hemmt. In Zukunft kann durch die minimale Dosis die Wirkung von IS oder eines beliebigen in die Prothesenoberfläche inkorporierten bioaktiven Stoffes vor Ort geschehen und der restliche Organismus somit vor etwaigen Nebenwirkungen geschont werden. Da die Implantation von Fremdmaterialien immer zu einem chronischen Entzündungsprozeß führt, kann durch auf die Prothesenoberfläche aufgebrauchte entzündungshemmende Substanzen dieser Prozess gehemmt werden.

Die Herstellung eines antibakteriell wirkenden "drug releasing graft" mittels Aufnahme des Antibiotikums aus einem Gentamycin-Bad stellte sich problematisch dar. In unseren Versuchen konnte das Bakterienwachstum auf untersuchten Agradplatten makroskopisch suffizient gehemmt werden. Es muss jedoch darauf hingewiesen werden, dass das Gentamycin lediglich an die Oberfläche gebunden wurde und nicht in das Oberflächenmaterial inkorporiert werden konnte. Daher gelang es in durchgeführten Tests letztendlich nicht, eine ausreichende

Menge an Gentamycin auf der Prothesenoberfläche nachzuweisen, obwohl eine Wirkung im Rahmen des "drug releasing grafts" nachgewiesen werden konnte. Entweder war die Menge des Gentamycins in der Badflüssigkeit zu gering oder es konnte sich nicht eine ausreichend große und damit nachweisbare Menge an die Prothesenoberfläche binden.

4.5. Ziele und Ausblick

Ziel der aktuellen Forschungsarbeit ist die suffiziente Suppression der Intimahyperplasie durch Anwendung des multifunktionellen Ansatzes. Aktuell sind die Ansatzpunkte in Bezug auf Tissue Engineering und Gentherapie zu unausgereift, stellen aber sicherlich in Zukunft vielversprechende Ansatzpunkte dar.

Zusammenfassend lassen sich für die hier dargestellte „multifunktionelle Gefäßprothese“ folgende Vorteile aufzeigen:

Dichtigkeit und physikalische Eigenschaften

Bei der von uns hergestellten Prothese konnte eine primäre Dichtigkeit nachgewiesen werden. Durch eine relativ dünne Silikon-Beschichtung kann somit auch eine Anwendung in Stentgrafts ermöglicht werden, die zur Ausschaltung von Aneurysmen eingesetzt werden können. Ausserdem kann nunmehr auf die Verwendung von bovinen Beschichtungsmaterialien verzichtet werden. Da sich die physikalischen Eigenschaften der von uns entwickelten Prothesen nicht von herkömmlichen Prothesen unterscheiden, muss sich der Chirurg auch nicht an eine andere Handhabung gewöhnen.

Intimahyperplasie

Die Intimahyperplasie entsteht durch verschiedene Ursachen, wobei dieser Vorgang mittels der neu entwickelten Prothese entgegengewirkt werden kann. Diese bietet vor allem Vorteile in Anwendungsbereichen mit sehr geringem Lu-

mendurchmesser, wie beispielsweise distal des Kniegelenkes, bei Restenosen nach Karotidesobliterationen [47] oder Stenose nach AV-Shunts oder AV-Loops [46]. Aber auch in der Herzchirurgie spielt die Intimahyperplasie eine entscheidende Rolle, wenn kein geeigneter Koronarersatz zur Verfügung steht [68].

Thrombogenität

Es kommt zu einer Minimierung der Thrombogenität und damit Reduktion der Sofort- und Frühverschlüsse. Diese positiven Eigenschaften konnten vor allem für PDMS und PC und teilweise auch für PVA festgestellt werden. Durch geringere Aktivierungsrate der Thrombozyten kommt es wiederum zu einer verminderten Freisetzung von PDGF und damit auch zu einer geringeren Ausprägung der Intimahyperplasie.

Multifunktional

Da durch die Multifunktionalität der Prothese die Möglichkeit besteht, verschiedene Substanzen an die Oberfläche zu binden und zu inkorporieren, kann dies auf verschiedensten Ebenen ausgenutzt werden. Dies beinhaltet nicht nur die Suppression der Intimahyperplasie, die Verminderung der Entzündungsreaktion durch Immunsuppressiva und/oder die Anwendung von Antibiotika zur Infektionsminimierung, sondern impliziert beispielsweise auch die Verwendung von Wachstumsfaktoren, welches die Kollateralbildung verbessern könnte. Durch Wachstumsfaktoren könnte eine erwünschte Epithelialisierung beschleunigt werden. Es existieren hierbei also noch viele, bislang noch nicht erforschte Kombinationsmöglichkeiten, welche in künftigen Studien weiter erforscht werden sollen.

5. Zusammenfassung

Einleitung

Bis heute stellen sich die Langzeitergebnisse bei kniegelenksüberschreitenden Gefäßrekonstruktionen mit Kunststoffprothesen unbefriedigend dar. Bei fehlender Eigenvene muss auf Polytetrafluoroethylen (PTFE) oder Polyethylenterephthalat (PET) zurückgegriffen werden, wobei es aufgrund weitreichender Komplikationen wie Undichtigkeit, Infektion, Ausbildung einer Intimahyperplasie und Degradation oft zu einem Implantatversagen kommt. Ein Hauptproblem stellt die thrombogen wirkende Oberfläche dar, welche zu einer relativ hohen Rate an Frühverschlüssen führt.

In der hier vorliegenden Arbeit wird über die Entwicklung einer „multifunktionalen“ Polyesterprothese berichtet mit dem Ziel der (1) Oberflächenmodifikation und Verbesserung der Gerinnungseigenschaften mit Minimierung der Frühverschlussrate und (2) der Entwicklung eines „drug-releasing-graft“ mit Reduktion der Intimahyperplasie.

Material und Methoden

Prothesenherstellung: Als Ausgangsmaterial dienten herkömmliche, gewirkte Polyesterprothesen (Micron®, Fa. Intervascular, 6mm Durchmesser), welche mittels eines von uns etablierten Beschichtungsprozesses mit einer Silikon-Schicht überzogen wurden. Durch ionogene/kovalente Bindung konnten Makromoleküle mittels eines nass-chemischen Verfahrens stabil an die Oberfläche verankert werden. Hierzu zählten Phosphorylcholin (PC), Zinksulfat, PDMS, Alkylhydroxid (AH), Polyvinylalkohol (PVA), Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polyethylenoxid (PEO) und Silanolat. Anschliessend konnten Azetylsalicylsäure, Paclitaxel, Sudanrot und ein Immunsuppressivum, welches aus Patent-rechtlichen Gründen nicht genannt werden kann, ebenfalls nass-chemisch in die Silikon-Matrix eingebracht werden. Im Gegensatz zu den dauerhaft gebundenen Oberflächenmolekülen sollen diese Substanzen im Verlauf aus der Prothese freigesetzt („eluiert“) werden.

Physikalische Eigenschaften: Die Testung erfolgte streng nach den Richtlinien der ISO Norm 7198 und im Vergleich zu herkömmlichen, mit Kollagen beschichteten Prothesen. Mittels eines Tensiometers (INSTRON 4502) wurden die Längs- und Querstabilität sowie –Elastizität, die Fadentrückhaltekraft und der punktuelle Widerstand geprüft. Im Kreislaufmodell wurden die Dichtigkeit und die biaxiale Compliance (Dehnbarkeit) gemessen.

Biologische Eigenschaften: Die biologischen Untersuchungen nach Blutkontakt konnten in einem ebenfalls von uns entwickelten Rotationsmodell analysiert werden. Die Oberflächen wurden makroskopisch und elektronenmikroskopisch beurteilt. Die Blutanalyse erfolgte unter Berücksichtigung der Gerinnungsaktivierung im Routinelabor (Quick, INR, PTT, TZ, AT3, Fibrinogen) sowie mittels speziellen ELISA-Untersuchungen (D-Dimere, Prothrombinfragment F1+2, Tissue factor, Faktor XIIa; β -Thromboglobulin).

Medikamentenelution: Die Medikamentenelutionsanalyse erfolgte im Kreislaufmodell. Dabei kamen unterschiedliche Methoden zur Quantifizierung zur Anwendung: ASS wurde semiquantitativ mittels pH-Metrie gemessen, Sudanrot per Photometrie. Die Medikamentenspiegel wurden in externen Labors ermittelt.

Ergebnisse

Physikalische Eigenschaften: Die Prothese konnte beliebig oft mit Silikon beschichtet werden. Ab einem Silikon-Gehalt von 17,1mg/cm² wurde eine primäre Dichtigkeit demonstriert. Ab einem Wert von 15-20mg/cm² konnte kein signifikanter Unterschied zu herkömmlichen Prothesen festgestellt werden. Der punktuelle Widerstand lag minimal geringer als bei den Vergleichsprothesen. Es konnte eine proportionale Korrelation zwischen dem Grad der Silikonisierung und der Elastizität aufgezeigt werden.

Biologische Eigenschaften: Im Hinblick auf die Thrombogenität konnten positive Eigenschaften bei der PDMS- und PC- sowie bedingt auch bei der PVA-

Oberfläche gesehen werden. Mittels Bestimmung der D-Dimere zeigten sich für einige Prothesen im Verlauf eine Aktivierung der Fibrinolyse. Ein initialer Anstieg von Prothrombin F1+2 gab Hinweise für eine Gerinnungsaktivierung direkt nach Oberflächenkontakt.

Medikamentenabgabe: Die pH-Messungen ergaben einen Abfall nach Kontaktierung mit der ASS-Prothese um 2 Punkte, so dass hier die Abgabe des Moleküls indirekt gezeigt werden konnte. Das hydrophobe Sudanrot konnte in Form von Farbveränderungen im Silikon-Schlauch, nicht aber im Medium gefunden werden (negative Photometrie). Der Nachweis von Sirolimus und IS gelang sowohl im Medium als auch im Silikon-Schlauch mit deutlich unterschiedlicher Kinetik.

Diskussion

Die hier dargestellte, neu entwickelte Silikon-beschichtete Polyesterprothese zeichnet sich gegenüber herkömmlichen Prothesen in vielerlei Hinsicht aus. Da sie primär dicht ist, braucht sie weder in Eigenblut getränkt zu werden ("Clotting"), noch benötigt sie bovine Substanzen, die andere Hersteller verwenden, um eine ausreichende Dichtigkeit zu erhalten. Eine Prionen-Infektion ist somit ausgeschlossen.

Durch physikalische und biologische Tests wurde die Möglichkeit einer vereinfachten intraoperative Handhabung aufgezeigt. Die Thrombogenität der Oberfläche kann durch einfache nass-chemische Modifikation verringert werden. Ebenfalls können Medikamente so eingebracht werden, dass sie im zeitlichen Verlauf eluiert werden und so direkt vor Ort oder aber systemisch wirken. Es ergibt sich die Möglichkeit der Kombination aus Oberflächenoptimierung und Medikamentenkombination mit unterschiedlichen Wirkungen. Eine solche Prothese ist bisher nicht auf dem Markt erhältlich.

Initial soll die so neu entwickelte Prothese für kniegelenksüberschreitende Eingriffe genutzt werden. Es lassen sich in Zukunft aber noch zahlreiche andere Indikationen und weitere Modifikationen ableiten.

6. Literaturverzeichnis

1. AbuRhama AF, Robinson PA, Stuart SP, Witsberger TA, Stewart WA, Boland JP (1993): Polytetrafluoroethylene grafts in infrainguinal arterial revascularisation: factors affecting outcome. *Arch Surg* 128(4): 417-422
2. Allen BT, Mathias CJ, Sicard GA, Welch MJ, Klark RE (1986): Platelet deposition on vascular grafts. The accuracy of in vivo quantitation and the signification of in vivo platelet reactivity. *Ann Surg* 203: 318-328
3. Ao PY, Hawthorne WJ, Vicaretti M, Fletcher JP (2000): Development of intimal hyperplasia in six different vascular prostheses. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 20: 241-249
4. Archie JP Jr (1994): Femoropopliteal bypass with either adequate ipsilateral reversed saphenous vein or obligatory polytetrafluoroethylene. *Ann Vasc Surg* 8: 475-484
5. Armstrong J, Gunn J, Arnold N, Malik N, Chan KH, Vick T, Stratford P, Cumberland DC, Holt CM (2002): Angiopeptin-eluting stents: observations in human vessel and pig coronary arteries. *J Invasive Cardiol* 14(5): 230-238
6. Armstrong J, Narracott AJ, Milton R, Galea J, Sooper GJ, Lawford PV, Hose DR, Cumberland DC, Holt CM (2000): Development of an ex vivo model to investigate the effects of altered hemodynamics on human bypass grafts. *J Med Eng Technol* 24(5): 183-191
7. Arts CHP, Blankensteijn JD, Heijnen-Snyder GJ, Verhagen HJM, Hedeman Joosen PPA, Eikelboom BC, de Groot PG (2002): Reduction of non-endothelial cell contamination of microvascular cell seeded grafts decreases thrombogenicity and intimal hyperplasia. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 23: 29-38
8. Arzneimittelkommission der deutschen Ärzteschaft: Empfehlungen zur Therapie der pAVK. AVP-Sonderheft 7, 1. Auflage, August 1997, Online: http://www.akdae.de/35/72_pAVK_2004_3Auflage.pdf
9. Bascom JU (1961): Gelatin sealing to prevent blood loss from knitted arterial grafts. *Surgery* 50: 504-512
10. Bauter C, Meurice T, Hamon M, McFadden E, Lablanche JM, Bertrand ME (1996): Mechanism and prevention of restenosis from experimental models to clinical practise. *Cardiovasc Res* 41: 835-94

11. Becker HM (1998): Gefäße. In: Siewert JR (Hrsg): Chirurgie. 6. Auflage, Springer Verlag, 417-446
12. Begovac PC, Thomson RC, Fisher JL, Hughson A, Gallhagen A (2003): Improvements in GORE-TEX vascular grafts performance by Carmedia BioActive surface heparin immobilisation. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 25: 432-437
13. Benvenisty AL (1994): Arthur Voorhees Jr – A vascular surgical pioneer and his legacy. *P&S Medical Review*; 2. online: http://www.cpmcnet.columbia.edu/news/review/archives/medrev_v2n10005.html.
14. Berman DE, Lineweaver W, Vasconez B, Buncke H (1986): Microvascular Silicon Replamineform grafts of 2- and 5-cm length: Experimental studies. *J Microsurgery* 7: 132-134
15. Biondi-Zoccai GG, Agostoni P, Abbate A, Testa L, Burzotta F, Lotrionte M, Crea F, Biasucci LM, Vetrovec GW, Colombo A (2005): Adjusted in direct comparison of intracoronary drug-eluting stent: evidence from a metaanalysis of randomized bare-metal-stent-controlled trials. *Int J Cardiol* 100: 119-123
16. Boffa GA, Lucien N, Faure A, Boffa MC (1977): Polytetrafluoroethylene-N-vinylpyrrolidone graft copolymers: affinity with plasma proteins. *J Biomed Mater Res* 11(3): 317-337
17. Bongard A (2002): Die Anwendung von alloplastischen Gefäßprothesen. Online: <http://www.pflege-im-op.de/Praxisberichte/Gefasschirurgie/allopl-prothesen/allopl-prothesen.html>
18. Bosch U, Krettek C (2002): Tissue Engineering von Sehnen- und Ligamentgewebe. *Unfallchirurg* 105: 88-94
19. Bourges X, Weiss P, Coudreuse A, Daculsi G, Legeay G (2002): General properties of silated hydroxyethylcellulose for potential biomedical application. *Biopolymers* 63(4): 232-238
20. Bourges X, Weiss P, Coudreuse A, Daculsi G, Legeay G (2002): Synthesis and general properties of silated-hydroxypropyl methylcellulose in prospect of biomedical use. *Adv Colloid Interface Sci* 99(3): 215-228
21. Brinton LA, Lubin JH, Burich MC (2001): Breast cancer following augmentation mammoplasty. (United States) *Cancer causes Control* 11: 819-827

22. Brinton LA, Brown SL (1997): Breast implants and cancer. *Netl Cancer Inst* 89: 1341-1349
23. Brodbeck WG, Patel J, Voskerician G, Christenson E, Shive MS, Nakayama Y, Matsuda T, Ziats NP, Anderson JM (2002): Biomaterial adherent macrophage apoptosis is increased by hydrophilic and anionic substrates in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 99(16): 10287-10292
24. Cappelle HG van, Deutman R, Horn JR van (2001): Use of Swanson silicone trapezium implant for treatment of primary osteoarthritis: long-term results. *J Bone Joint Surg Am* 83-A: 999-1004
25. CAPRIE-Steering Committee: A randomised, blinded, trial of Clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *Lancet* 1996; 348 (9038): 1329-1339
26. Carrel A (1908): Results of the transplantation of blood vessels, organs and limbs. *J Amer Med Ass* 51: 1662-1667
27. Chandler AB (1958): In vitro thrombotic coagulation of the blood; a method for producing a thrombus. *Lab Invest* 7(2): 110-114
28. Chen C, Hughes JD, Mattar SG, Ku DN, Lumsden AB (1997): Time-course study of intimal hyperplasia in the endarteriectomized canine artery. *J Surg Res* 67: 106-112
29. Chen C, Lumsden AB, Ofenloch JC, Yianni YP, Hanson SR (1997): Phosphorylcholine coating of ePTFE grafts reduces neointimal hyperplasia in canine model. *Ann Vasc Surg* 11: 74-79
30. Cholakis CH, Sefton MV (1969): In vitro platelet interactions with a heparin-polyvinyl alcohol hydrogel. *J Biomed Mater Res* 23: 399-415
31. Clowes AW, Kohler TR (2001): Anatomy, Physiology, and Pharmacology of the Vascular Wall. In: WS Moore (Hrsg) *Vascular Surgery. A Comprehensive Review*. 4. Auflage, W.B. Saunders Verlag, Philadelphia: 35-38
32. Clowes AW, Reidy MA (1991): Prevention of stenosis after vascular reconstruction: pharmacologic control of intimal hyperplasia – a review. *J Vasc Surg* 13: 885-891
33. Conklin BS, Richter ER, Kreuzinger KL, Zhong DS, Chen C (2002): Development and evaluation of a novel decellularized vascular xenograft. *Med Engineering & Physics* 24: 173-183
34. Conte MS, Mann MJ, Simosa HF, Rhyhart KK, Mulligan RC (2002): Genetic interventions for vein bypass graft disease: a review. *J Vasc Surg* 36: 1040-1052

35. Dangas G, Ellis SG, Shlofmitz R, Katz S, Fish D, Martin S, Mehran R, Russel ME, Stone GW, TAXUS-IV Investigators (2005): Outcomes of paclitaxel-eluting stent implantation in patient with stenosis of the left anterior descending coronary artery. *J Am Coll Cardiol* 45: 1186-1192
36. Davies MG, Fulton GJ, Svendsen E, Hagen PO (1999): Time course of the regression of intimal hyperplasia in experimental vein grafts. *J Cardiovasc Pathol* 8: 161-168
37. Debus ES, Dietz UA, Franke S, Larena-Avellaneda A (2005): Naht- und Anastomosentechniken in der Gefäßchirurgie. CD-ROM, 2. Auflage. Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg
38. Debus ES, Larena-Avellaneda A, Dietz UA, Siegel R, Gattenlöhner S, Franke S (2002): Die Silikon-beschichtete Polyesterprothese. Ergebnisse nach subrenalem Aortenersatz im Hundemodell. *Gefäßchirurgie* 7: 65-69
39. Devide C, Hons B, McCollum C (2001): Heparin-bonded Dacron or polytetrafluoroethylene for femoropolliteal bypass grafting: a multicenter trial. *J Vasc Surg* 33: 533-539
40. Drasler WJ, Wilson GJ, Stenoien MD, Jenson ML, George SA, Dutcher RG, Possis ZC (1993): A spun elastomeric graft for dialysis access. *ASAIO J* 39: 114-119
41. Durand B, Dieval F, Chakfe N (10.-12.Dez. 2003): Mechanical approach of large sized arterial prosthesis enductions. In: Chakfe N, Durand B Kretz J (Hrsg.): *New Technologies in Vascular Biomaterials*. Kongressband zum 3. Kongress der ESVB (European Society of vascular Biomaterials), Mulhouse, Frankreich, 103-113
42. Eberhard-Metzger C. (2004): Bundesministerium für Bildung und Forschung. *Herz in Gefahr? Ursachen, Prävention, Therapie – Ergebnisse der Herzkreislaufforschung*. FIBO Druck und Verlag GmbH, Bonn, Berlin, Online: www.gesundheitsforschung-bmbf.de/_media/BMBF_Herz.PDF
43. Echave V, Koornick AR, Haimnov M, Jacobson JH, 2nd (1979): Intimal hyperplasia as a complication of the polytetrafluoroethylene graft for femoral-popliteal bypass. *Surgery* 86: 791-798
44. Faibish RS, Yoshida W, Cohen Y (2002): Contact angle study on polymer-grafted wafers. *J of Colloid Interf Science* 256: 341-350
45. Friedrich RE, Bartel-Friedrich S, Plambeck K (2000): Zum Nachweis von Kollagenosen in experimentellen arteriellen Anastomosen. *Gefäßchirurgie* 5: 33-37

46. Gawenda M, Heckenkamp J, Brunkwall J (2001): Materialwahl bei Prothesenshunt: evidence based? *Gefäßchirurgie* 6: 103-107
47. Gelabert HA, el-Massry S, Moore WS (1994): Carotid endarterectomy with primary closure does not adversely affect the rate of recurrent stenosis. *Arch Surg* 129: 648-654
48. Gershlick AH (2002): Treating arterosclerosis: local drug delivery from laboratory studies to clinical trials. *Atherosclerosis* 160: 259-271
49. Gloeckner DC, Sachs MS, Billar K, Bachrach N (2000): Mechanical evaluation and design of a multilayered collagenous repair biomaterial. *J Biomed Mater Res* 13: 365-373
50. Godo MN, Sefton MV (1999): Characterization of transient platelet contacts on a polyvinyl alcohol hydrogel by video microscopy. *Biomaterials* 20: 1117-1126
51. Goldman M, Norcott C, Hawker RJ, Drolc Z, McCollum CN (1982): Platelet accumulation on mature Dacron grafts in man. *Br J Surg* 69: 38-40
52. Gombotz WR, Wang GH, Horbett TA, Hoffman AS (1991): Protein adsorption to poly(ethylene oxide): surfaces. *J Biomed Mater Res* 25: 1547-1562
53. Gomes D, Louedec L, Plissonnier D, Dauge MC, Henin D, Osborne-Pellegrin M, Michel JB (2001): Endoluminal smooth muscle cell seeding limits intimal hyperplasia. *J Vasc Surg* 34: 707
54. Granke K, Ochsner JL, McClugage SG, Zdrahal P (1993): Analysis of graft healing in a new elastomer-coated vascular prosthesis. *Cardiovasc Surg* 1: 254-261
55. Greenwald SE, Berry CL (2000): Improving vascular grafts: the importance of mechanical and haemodynamic properties. *J Pathol* 190: 292-299
56. Grube E, Bullesfeld L (2002): Initial experience with paclitaxel-coated stents. *J Interv Cardiol* 15: 471-475
57. Hach-Wunderle V (2000): Gefäße. In: Renz-Polster H, Braun J (Hrsg.): *Basislehrbuch Innere Medizin*. 2. Auflage, Urban & Fischer Verlag: 176-241
58. Hach-Wunderle V, Hach W (2001): 29. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Angiologie und Gesellschaft für Gefäßmedizin. *Gefäßchirurgie* 6: 56-58

59. Hake U, Gabbert H, Iversen S, Jakob H, Schmiedt W, Oelert H (1991): Evaluation of the healing of precoated vascular dacron prostheses. *Langenbecks Arch Chir* 376: 323-329
60. Hamlin GW, Rajah SM, Crow MJ, Kester RC(1978): Evaluation of the thrombogenic potential of three types of arterial grafts studied in an artificial circulation. *Br J Surg* 65: 272-276
61. Hanke M, Wolf O, Heider P (2003): Kniegelenüberschreitende Bypässe im Stadium der chronischen kritischen Ischämie. Ergebnisse und Offenheitsrate des Patientengutes der Jahre 1994-1999. *Gefäßchirurgie* 8: 41-45
62. Hansrani M, Overbeck K, Smout J, Stansby G (2002): Intravascular brachytherapy for peripheral vascular disease. *Cochrane Database Syst Rev* CD003504
63. Harris JM, Martin LF (1987): An in vitro study of the properties influencing Staphylococcus epidermidis adhesion to prosthetic vascular graft materials. *Ann Surg.* 5: 612-620
64. Hehrlein C, Arab A, Bode C (2002): Drug-eluting stent: the “magic bullet” for preventing of restenosis? *Bas Res Cardiol* 97: 417-423
65. Hepp W, Markert U (2002): Akute und chronische arterielle Durchblutungsstörungen. In: Berchtold R, Hamelmann H, Peiper HJ (Hrsg.): *Chirurgie*. 4. Auflage, Urban & Fischer Verlag München, Jena; 789-815
66. Herring MP, Gardner AL, Glover J (1978): Endothel sell seeding: A single-staged technique for seeding vascular grafts with autogenous endothelium. *Surgery* 84: 498-504
67. Hilker M, Buerke M, Guckenbiehl M, Schwertz H, Bühler J, Moersig W, Hake U, Oelert H (2003): Rapamycin reduces neointima formation during vascular injury. *VASA* 32: 10-13
68. Hosono M, Ueda M, Suehiro S, Sasako Y, Shibata T, Hattori K, Kinoshita H (2000): Neointimal formation at the sites of anastomosis of the internal thoracic artery grafts after coronary artery bypass grafting in human subjects: an immunohistochemical analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg* 120: 319-328
69. Humphries AW, Hawk WA, Cuthbertson AM (1961): Arterial prothesis of collagen-impregnated Dacron tulle. *Surgery* 50: 947-954
70. Hupp T, Nöldeke S, Quendt J (2001): Femoropolitealer P-I-Bypass – Kunststoff oder Vene? *Gefäßchirurgie* 6: 30-33

71. Hwang CW, Edelman ER (2001): Physiological transport forces govern drug distribution for stent-based delivery. *Circulation* 104: 600-605
72. Illig KA, Williams JP, Lyden SP, Hernady E, Soni A, Davies MG, Schell M, Okunieff P, Rubin P, Green RM (2001): External beam irradiation for inhibition of intimal hyperplasia following prosthetic bypass: preliminary results. *Ann Vasc Surg* 15: 533-538
73. Imig H, Grundmann RT (2000): Gefäßprothesen - wo geht es hin? *Zentralbl Chir* 125: 298-300
74. Iofina E, Radke PW, Skurzewski P, Haager PK, Blindt R, Koch KC, Hanrath P, Vom Dahl J, Hoffmann R (2005): Superiority of sirolimus-eluting stent compared with intracoronary beta-radiation for treatment of in-stent restenosis: a matched comparison. *Heart* (online publiziert, im Druck)
75. Ishihara K, Aragaki R, Ueda T, Watenabe A, Nakabayashi N (1990): Reduced thrombogenicity of polymers having phospholipid polar groups. *J Biomed Mater Res* 24: 1069-1077
76. Jabbour ME, Desgrandchamps F, Angelescu E, Teillac P, Le Duc A (2001): Percutaneous implantation of subcutaneous prosthetic ureters: long-term outcome. *J Endourol* 15: 611-614
77. Ji J, Feng L, Barbosa MA. (2001): Stearyl poly(ethylene oxide) grafted surfaces for preferential adsorption of albumin. *Biomaterials* 22: 3015-3023
78. Kidane A, McPherson T, Shim HS, Park K (2000): Surface modification of polyethylene terephthalate using PEO-polybutadiene-PEO triblock copolymers. *Biointerfaces* 18: 347-353
79. Knez P, Nelson K, Hakimi M, Al-Haidary J, Schneider C, Schmitz-Rixen T (2004): Rotational in vitro compliance measurement of diverse anastomotic configurations: a tool for anastomotic engineering. *J Biomech* 7: 275-80
80. Kotze HF, Heyns AD, Nel CJ, Roodt JP, Herbst CP, Badenhorst PN, Lotter MG (1992): The influence of platelet-graft interaction on platelet survival in patients with aortobifemoral Dacron grafts. *J S Afr Med* 81: 27-31
81. Kuiper KK, Robinson KA, Chronos NA, Cui J, Palmer SJ, Nordrehaug JE (1998): Phosphorylcholine-coated metallic stents in rabbit iliac and porcine coronary arteries. *Scand Cardiovasc J* 32: 261-268
82. Lang W, Schmidt O, Radespiel-Tröger M, Schweiger H (2006): Der supragenuale PTFE-Bypass. *Gefäßchirurgie* 6: 34-40

83. Larena-Avellaneda A (2005): Entwicklung einer neuen, multifunktionellen Prothese zum Einsatz in der Gefäßchirurgie. Med. Habilitationsschrift, Universität Würzburg
84. Larena-Avellaneda A, Debus ES, Siegel R, Körner C, Franke S (2004). Die Medikamenten-tragende silikonbeschichtete Polyesterprothese – Entwicklung des Drug eluting bypasses. Vortrag; International Vascular Workshop XXV, Going, Österreich
85. Larena-Avellaneda A, Franke S (2004): Die Intimahyperplasie - Bedeutung für den Gefäßchirurgen und therapeutische Möglichkeiten. Gefäßchirurgie 9: 89-95
86. Lasserre A, Blohm L (2003): Interventionelle Massnahmen. In: Kurzlehrbuch Radiologie. Urban & Fischer 3: 319-323
87. Lee JH, Jeong BJ, Lee HB (1997): Plasma protein adsorption and platelet adhesion onto comb-like PEO gradient surfaces. J Biomed Mater Res 34: 105-114
88. Litauszki L, Howard L, Salvati L, Tarcha PJ (1997): Surface modified with PEO by Williams reaction and their affinity for proteins. J Biomedical Mat Res 35: 1-8
89. Löhbach C, Bakowsky U, Kneuer C, Jahn D, Graeter T, Schäfers HJ, Lehr CM (2002): Wet chemical modification of PTFE implant surfaces with a specific cell adhesion molecule. Chem Com 1: 2567-2569
90. Lombardi JV, Dougherty MJ, Calligaro KD (2000): Predictors of outcome when reoperating for early infrainguinal bypass occlusion. Ann Vasc Surg 14: 314-355
91. Lowkis B, Szymonowicz M, Rutkowski J (1997): An investigation into vascular prosthesis modified with an electron beam. Polim Med 27: 19-26
92. Lumsden AB, Chen C, Coyle KA, Ofenloch JC, Wang JH, Yasuda HK, Hanson SR (1996): Nonporous silicone polymer coating of expanded polytetrafluoroethylene grafts reduces graft neointimal hyperplasia in dog and baboon models. J Vasc Surg 24: 825-833

93. Lundborg G, Branemark PI (2001): Osseointegrated silicone implants for joint reconstruction after septic arthritis of the metacarpophalangeal joint: a 10-year follow-up. *Scand J plast Reconstr Surg Hand Surg* 35: 311-315
94. Marois Y, Chakfe N, Guidoin R, Duhamel RC, Roy R, Marois M, King MW, Douville Y (1996): An albumin-coated polyester arterial graft: in vivo assessment of biocompatibility and healing characteristics. *Biomaterials* 17: 3-14
95. Marx SO, Jayaraman T, Go LO, Marks AR (1995): Rapamycin-FKBP inhibits cell cycle regulators of proliferation in vascular smooth muscle cells. *Circ Res* 76: 412-417
96. Mason RA, Hui JC, Campell R, Giron F (1987): The effect of endothelial injury on smooth muscle cell proliferation. *J Vasc Surg* 5: 389-392
97. Mason RG, Shermer RW, Zucker WH, Elston RC, Black-Welder WC (1974): An In Vitro System for Estimation of Blood Compatibility of Biomaterials. *J Biomed Mater Res* 4: 341-356
98. Mason RG, Zucker WH, Shinoda BA, Chuang HY, Kingdon HS, Clark HG (1974): Study of the Reactions of Blood with Artificial Surfaces. *Lab Invest* 31(2): 143-155
99. McCollum CN, Crow MJ, Jajah SM, Kester RC (1980): Antithrombotic therapy for vascular prosthesis: an experimental model testing platelet inhibitory drugs. *J Surg* 87(6): 668-676
100. Meister RH, Schweiger H, Lang W (1998): Knitted double-velour Dacron prostheses in aortobifemoral position – long-term performance of different coating materials. *VASA* 27: 236-239
101. Metha M, Ohki T, Veith FJ, Lipsitz EC (2001): All sealed endoleaks are not the same: a treatment strategy based on an ex vivo analysis. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 21(6): 541-544
102. Morgan BDG, Osborne RM (1997): What's in a word: the origin of the word „stent“. *Ann R Coll Engl* 79(2 Suppl): 92-93
103. Mudra H, Büchele W, Mathias K, Schuler G, Sievert H, Theiss W. (2004): Positionspaper zum Einsatz von Medikamenten freisetzenden Stents bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit. *Z Kardiologie* 93: 416-422
104. Neff JA, Caldwell KD, Tresco PA (1998): A novel method for surface modification to promote cell attachment to hydrophobic substrates. *J Biomed Mater Res* 40(4): 522-9

105. Neufang A, Schmiedt W, Kopp H, Dorweiler B, Reinstadler J, Oelert H (2000): Der kniegelenksüberschreitende femoropoliteale Bypass mit der glutaraldehydfixierten denaturierten menschlichen Nabelschnurvene (Dardik-Biograft)-Erfahrungen mit der modifizierten Prothese. *Gefäßchirurgie* 5: 91-98
106. New G, Moses JW, Roubin GS, Leon MB, Colombo A, Iyer SS, Tio FO, Mehran R, Kipshize N (2002): Estrogen-eluting, phosphorylcholine-coated stent implantation is associated with reduced neointimal formation but no delay in vascular repair in a porcine coronary model. *Catheter Cardiovasc Interv* 57: 266-271
107. Newby AC, Zaltsman AB (2000): Molecular mechanisms in intimal hyperplasia. *J Pathol* 190: 300-309
108. Noori N, Scherer R, Perktold K, Czerny M, Karner G, Trubel M, Polterauer P, Schima H (1999): Blood flow in distal end-to-side anastomoses with PTFE and a venous patch: results of an in vitro flow visualisation study. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 18: 191-200
109. Panayiotopoulos YP, Tyrrell MR, Owen SE, Reidly JF, Taylor PR (1997): Outcome and cost analysis after femorocrural and femoropedal grafting for critical limb ischaemia. *Br J Surg* 84: 207-212
110. Park JH, Bae YH (2002): Hydrogels based on poly(ethylene oxide) and poly(tetramethylene oxide) or poly(dimethyl siloxane): synthesis, characterization, in vitro protein adsorption and platelet adhesion. *Biomaterials* 23: 1797-1808
111. Parr DC, Hopkinson BR (1978): Clinical experience with silicone rubber grafts as shunts in portal hypertension. *Br J Surg Vol* 65: 585-587
112. Pärsson H, Jundzill W, Johansson K, Jonung T, Norgren L (1994): Healing characteristics of polymer-coated or collagen-treated Dacron grafts: an experimental porcine study. *Cardiovasc Surg* 2: 242-248
113. Patrick PV, Gelabert HA, Mppre WS, Quinones-Baldrich W, Law MM (1995): Cigarette smoking accelerates carotid artery intimal hyperplasia in a dose-dependent manner. *Stroke* 26: 1409-1414
114. Pfeiffer T, Kever M, Grabitz K, Reiher L, Müller KM, Hildebrand A, Sandmann W (2000): Healing characteristics of small-calibre vascular prostheses coating with plasmin-treated fibrin – an experimental study. *VASA* 29: 117-124
115. Polterauer P, Nanobachvili J, Fuegl A, Huk I (2000): Vascular surgery between the millenniums. *VASA* 29: 17-27

116. Poon M, Marx SO, Gallo R, Badimon JJ, Taubman MB, Marks AR (1996): Rapamycin inhibits vascular smooth muscle cell migration. *J Clin Invest* 98: 2277-2283
117. Pukacki F, Jankowski T, Gabriel M, Oszkinis G, Krasinski Z, Zapalski S (2000): The mechanical properties of fresh and cryopreserved arterial homografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 20: 21-24
118. Raithe D (1994): Spätergebnisse nach femoropoplitealer Rekonstruktion mit der PTFE-Prothese. *Chirurgische Gastroenterologie* 10: 41-46
119. Razzaboni BL, Balsaitis P (1990): Evidence of an oxidative mechanism for the hemolytic activity of silica particles. *Environ Health Perspect* 87: 337-341
120. Rousseau H, Puel J, Joffre F, Sigwart U, Duboucher C, Imbert C, Knight C, Kropf L, Wallsten H (1987): Self-expanding endovascular prosthesis: an experimental study. *Radiology* 164: 709-714
121. Rovira-Bru M, Giralt F, Cohen Y (2001): Protein adsorption onto zirconia modified with terminally grafted polyvinylpyrrolidone. *J Colloid Interface Sci* 235(1): 70-79
122. Rutherford RB, Jones DN, Bergentz SE, Bergentz SE, Bergqvist D (1988): Factors affecting the patency of infrainguinal bypass. *J Vasc Surg* 8: 236-246
123. Sandmann W (2001): Zur Situation der gefäßchirurgischen Forschung in Deutschland. *Gefäßchirurgie* 6: 67-69
124. Schneider E, Morlock M, Riepe G (2001): Langzeitveränderungen von Polyester-Gefäßprothesen im Menschen. *Forschungsbericht 1995-2000*. Online: <http://www.tu-harburg.de/forschung/fobe/1995-2000/a1998.5-10/w.74.965906811964.html>
125. Schoepke W (1988): Untersuchungen zum Einsatz formaldehydkonservierter, innenflächenkonservierter und formfixierter boviner Gefäße als Gefäßtransplantate. *Zentralbl Chir* 113: 436-440
126. Schwarzhaupt A, Schulz S, Bauernschmitt R, Kiencke U (1997): Simulation of human circulation at cardiopulmonary bypass. *J Biomed Sci Instr* 34: 275-280
127. Seare WJ Jr, Pantalos GM, Burns GL, Burt WR, Olsen DB (1993): Quantitative bacterial analysis of porous, fabric, and smooth non-blood contacting implant surfaces and their tissue interfaces in a 169 day pneumatic total artificial heart animal recipient. *ASAIO J* 39: M668-674

128. Silber S (2003): Paclitaxel-eluting stents: are they all equal? An analysis of six randomised controlled trials in de novo lesions of 3,319 patients. *J Interv Cardiol* 16: 485-490
129. Silver JH, Lin JC, Lim F, Tegoulia VA, Chaudhury MK, Cooper SL (1999): Surface properties and hemocompatibility of alkyl-siloxane monolayers supported on silicone rubber: effect of alkyl chain length and ionic functionality. *Biomaterials* 20: 1533-1543
130. Sottiurai VS, Yao JS, Flinn WR, Batson RC (1983): Intimal hyperplasia and neointima: An ultrastructural analysis of thrombosed grafts in humans. *Surgery* 93: 809-817
131. Sperling M (1985): *Gefäßrekonstruktion und Gefäßersatz im Wandel der letzten 25 Jahre*. 1. Auflage, TM Verlag
132. Stanley JC, Burkel WE, Graham LM, Lindblad B (1982): Endothel Cell Seeding of synthetic Vascular Protheses. *Acta Chir. Scand. Suppl.* 529: 17-28
133. Statistisches Bundesamt Wiesbaden (2003): *Statistisches Jahrbuch. Alle kardialen und ischämischen Todesfälle inklusive Schlaganfall*. Online: <http://www.destatis.de>
134. Stratton JR, Thiele BL, Ritchie JL (1982): Platelet deposition on Dacron aortic bifurcation grafts in man: quantitation with indium-111 platelet imaging. *Circulation* 66: 1287-1293
135. Stratton JR, Thiele BL, Ritchie JL (1983): Natural history of platelet deposition on Dacron aortic bifurcation grafts in the first year after implantation. *Am J Cardiol* 52: 371-374
136. Tai NR, Salacinski HJ, Edwards A, Hamilton G, Seifalian AM (2000): Compliance properties of conduits used in vascular reconstruction. *Br J Surg* 87: 1516-1524
137. Teebken OE, Haverich A (2002): Tissue engineering of small vascular grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 23: 475-485
138. Tiwari A, Kidane A, Punshon G, Hamilton G, Seifalian AM (2003): Extraction of cells for single-stage seeding of vascular-bypass grafts. *Biotechnol Appl Biochem* 38: 35-41
139. Van Dongen RJAM (1987): *Geschichte der Gefäßchirurgie*. In: Heberer G, Van Dongen RJAM (Hrsg.): *Gefäßchirurgie*. 1. Auflage; Springer Verlag 3-10

140. Vesalius A (1543): De vivorum sectione nonnulla. Caput XIX. In: De humani corporis fabrica liber VII. Basel: 658-661
141. Vollmar J (1996): Rekonstruktive Chirurgie der Arterien. 4. Auflage, Thieme Verlag Stuttgart, New York
142. Voorhees AB Jr (1985): The development of arterial prostheses. A personal view. Arch Surg 120: 289-295
143. Vroman L, Adams AL, Fischer GC, Munoz PC (1980): Interaction of high molecular weight kininogen, factor XII, and fibrinogen in plasma at interfaces. Blood 55: 156-159
144. Walpoth BH, Pavlicek M, Celik B, Nicolaus B, Schaffner T, Althaus U, Hess OM, Carrel T, Morris RE (2001): Prevention of neointimal proliferation by immunosuppression in synthetic vascular grafts. Eur J Cardiothorac Surg 19: 487-492
145. Wang IW, Anderson JM, Jacobs MR, Marchant RE (1995): Adhesion of Staphylococcus epidermidis to biomedical polymers: contribution of surface thermodynamics and hemodynamics shear conditions. J Biomed Mater Res 29(4): 485-493
146. Wang IW, Anderson JM, Marchant RE (1993): Platelet-mediated adhesion of Staphylococcus epidermidis to hydrophobic NHLBI reference polyethylene. J Biomed Mater Res 27(9): 1119-1128
147. Whalen RL, Cardona RR, Kantrowitz A (1992): A new, all silicone rubber small vessel prosthesis. ASAIO J 38: M207-212
148. White RA, Klein SR, Shors EC (1987): Preservation of compliance in a small diameter microporous, silicone rubber vascular prosthesis. J Cardiovasc Surg (Torino) 28: 485-490
149. Witte K, Haller C (2001): Arteriosklerose und Durchblutungsstörungen. In: Fülgraff G, Palm D, Lemmer B, Brune K (Hrsg.): Pharmakotherapie. Klinische Pharmakologie. 11. überarbeitete Auflage, Urban&Fischer Verlag: 283-301
150. Yoshimura S, Morishita R, Hayashi K, Yamamoto K, Nakagami H, Kaneda Y, Sakai N, Ogihara T (2002): Inhibition of intimal hyperplasia after balloon injury in rat carotid artery model using cis-element 'decoy' of nuclear factor-kappaB binding site as a novel molecular strategy. Gene Ther 9: 1487-1491
151. Zacharias RK, Kirkman TR, Clowes AW (1987): Mechanism of healing in synthetic grafts. J Vasc Surg 6: 429-436

152. Zippel R, Schlosser M, Urban G, Ziegler B, Wilhelm L, Oehme J, Ziegler M, Lorenz D (1999): Antigenität von Polyesterprothesen (Dacron). Tierexperimentelle Untersuchungen an Mäusen. Gefäßchirurgie 4: 91-95
153. Zylka-Menhorn V (2005): Herz-Kreislauf-Erkrankungen: Neue „Mega-Studien“ vorgestellt. Deutsches Ärzteblatt 102 (12): A-808 / B-682 / C-636

Publikationen

1. Larena-Avellaneda A, Debus ES, Siegel R, Körner C, Dietz U, Franke S, Thiede A (2004): Die Silikon-beschichtete Polyester-Prothese. Weiterführende Modifikationen und Vorstellung des „drug releasing graft“. Gefäßchirurgie 9: 105-110
2. Larena-Avellaneda A, Debus ES, Fichter-Feiger S, Körner C, Franke S (2004): Die silikonisierte Polyesterprothesen-Oberflächenmodifikation und Medikamentenfreisetzung. Gefäßchirurgisches Symposium in Berlin
3. Larena-Avellaneda A, Diener H, Dittmann G, Körner C, Siegel R, Dietz UA, Thiede A, Debus ES (2007): Silicone-based multifunctional vascular prothesis – Concept, production, and assessment of the mechanical properties. Ann Vasc Surg 2
4. Larena-Avellaneda, Debus ES, Fichter-Feigl S, Körner C, Franke S. (2003): Die silikonisierte Polyesterprothese – Oberflächenmodifikation und Medikamentenfreisetzung. MedReport 38: 9
5. Larena-Avellaneda, Debus ES, Siegel R, Körner C and Franke S (2004): Die Medikamenten-tragende silikonbeschichtete Polyesterprothese – Entwicklung des Drug eluting bypasses 13.-20. März International Vascular Workshop XXVGoing, Österreich
6. Larena-Avellaneda, Debus ES, Fichter-Feigl S, Körner C, Franke S. (2003): Die silikonisierte Polyesterprothese – Definition der physikalisch-biologischen Eigenschaften und Entwicklung des Drug eluting bypass 17.-20. Sep. 19. Jahreskongress der Deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie, Ulm
7. Larena-Avellaneda, Debus ES, Siegel R, Körner C, Franke S. (2004): Entwicklung des „drug eluting bypass“ – die silikonisierte oberflächenmodifizierte Polyesterprothese. 27.Feb. 11. Norddeutscher Gefäßchirurgentag, Hamburg
8. Larena-Avellaneda, Debus ES, Siegel R, Körner C, Franke S. (2003): Medikamentenfreisetzung aus dem silikonisierten Polyesterbypass – eine Alternative in der peripheren Gefäßchirurgie. 20.-21-Nov. Gemeinsame Jahrestagung, Chirurgische Arbeitsgemeinschaft für Wundheilung, Hamburg

7. Anhang

7.1. Ergebnisse ELISA

7.1.1. Auswertung der Gerinnungseigenschaften der einzelnen Prothesenoberflächen in Abhängigkeit von der Zeit

Alkylhydroxid

n = 3	Enzygnost F1+2 (nmol/L) Dade Behring	β – TG (IU/ml) Roche	D-Dimer (ng/ml) Roche	Tissue Factor (pg/ml) American diagnost- tic	FXIIa (ng/ml) American diagno- stic
Refrenz- bereich	0,40±1,10	10,00 ± 40,00	<250,00	keine	2,60-3,10
5 Min	0,79	91,60	319,00	48,00	3,00
15 Min	0,98	91,40	343,00	54,00	1,70
30 Min	0,91	91,60	320,90	54,20	1,82
60 Min	0,86	88,20	296,40	65,50	2,49
120 Min	1,04	93,40	312,70	50,60	1,52

Tabelle 15: Gerinnungsparameter in Abhängigkeit von der Zeit

Polyvinylalkohol

n = 3	Enzygnost F1+2 (nmol/L) Dade Beh- ring	β – TG (IU/ml) Roche	D-Dimer (ng/ml) Roche	Tissue Fac- tor (pg/ml) American diagnostic	FXIIa (ng/ml) American diagnostic
Referenz- bereich	0,40±1,10	10,00 ± 40,00	<250,00	keine	2,60–3,10
5 Min	0,88	86,20	307,20	68,50	2,30
15 Min	0,97	88,70	271,90	47,70	1,75
30 Min	1,01	90,00	291,20	35,60	1,40
60 Min	0,95	88,20	305,00	49,50	1,98
120 Min	0,91	93,80	269,30	47,20	1,50

Tabelle 16: Gerinnungsparameter in Abhängigkeit von der Zeit

PDMS

n = 3	Enzygnosr F1+2 (nmol/L) Dade Beh- ring	β – TG (IU/ml) Roche	D-Dimer (ng/ml) Roche	Tissue Fac- tor (pg/ml) American diagnostic	FXIIa (ng/ml) American diagnostic
Referenz- bereich	0,40±1,10	10,00 ± 40,00	<250,00	keine	2,60–3,10
5 Min	0,76	89,00	298,80	47,20	2,38
15 Min	1,03	75,70	203,20	59,00	1,76
30 Min	0,96	89,50	214,50	53,60	1,55
60 Min	0,90	87,50	217,70	51,80	2,27
120 Min	0,96	88,90	203,90	64,10	1,96

Tabelle 17: Gerinnungsparameter in Abhängigkeit von der Zeit

Polyvinylpyrrolidon

n = 3	Enzygnost F1+2 (nmol/L) Dade Beh- ring	β – TG (IU/ml) Roche	D-Dimer (ng/ml) Roche	Tissue Fac- tor (pg/ml) American diagnostic	FXIIa (ng/ml) American diagnostic
Referenz- bereich	0,40±1,10	10,00 ± 40,00	<250,00	keine	2,60–3,10
5 Min	0,91	90,00	325,80	47,50	2,30
15 Min	1,00	94,80	241,40	51,40	2,10
30 Min	0,97	89,20	301,60	48,70	2,30
60 Min	0,81	89,00	313,50	45,20	2,00
120 Min	0,99	92,60	291,60	59,80	1,80

Tabelle 18: Gerinnungsparameter in Abhängigkeit von der Zeit

Phosphorylcholin

n = 3	Enzygnosr (F1+2) nmol/L Dade Beh- ring	β – TG (IU/ml) Roche	D-Dimer (ng/ml) Roche	Tissue Fac- tor (pg/ml) American diagnostic	FXIIa (ng/ml) American diagnostic
Referenz- bereich	0,40±1,10	10,00± 40,00	<250,00	keine	2,60–3,10
5 Min	0,97	86,20	374,30	46,90	2,30
15 Min	0,87	88,10	206,80	54,10	2,10
30 Min	0,86	87,30	206,80	71,80	1,90
60 Min	0,83	83,90	260,10	57,70	2,20
120 Min	0,80	85,60	121,50	50,80	1,70

Tabelle 19: Gerinnungsparameter in Abhängigkeit von der Zeit

Beteiligte Personen/Firmen

Fa. - bionic-surfaces -

Dr. R.Siegelt

Auf der Roete 7b

97080 Würzburg

Tel.: +49 (0)931 / 275868

www.bionicsurfaces.de

Danksagung

Diese Arbeit wurde an der Chirurgischen Klinik und Poliklinik (Chirurgische Klinik I) der Universität Würzburg unter der Leitung von PD Dr. A. Larena-Avellaneda erstellt. Ihm sei für die Bereitstellung des Themas sowie der technischen Hilfsmittel und des Arbeitsplatzes sowie für die durchaus kritische Durchsicht der Arbeit gedankt.

Für die technische Hilfestellung im Labor sowie die Durchführung der ELISA-Untersuchungen möchte ich mich besonders bei Frau M. Dragan.

Ebenso sei ein besonderer Dank an Herrn Dr. med. R. Siegel von der Firma – bionic-surfaces - für die Bereitstellung und Entwicklung der Silikon-Modelle ausgesprochen.

Zuletzt möchte ich noch einen Dank an meine Familie und alle Freunde aussprechen, die mich stets ermunterten, nicht aufzugeben und immer an mich glaubten. Norman, Claudine und Katharina, ich danke Euch für die ehrliche Ermutigung und den neuen Anreiz, die Arbeit zu beenden. Vielen Dank auch Dir Josi, für die Rettung in den letzten Stunden. In Erinnerung an den Falkenstein.

Lebenslauf

Name Christiane Körner
Geburtsdatum 08.07.1979
Geburtsort Borna
Staatsangehörigkeit deutsch
Familienstand ledig
Eltern Gudrun Gertraud Körner, geb. Schimmel, Medizinisch-Technische-Assistentin
Dr.med. Klaus Peter Körner, - Facharzt für Allgemeinmedizin

Schulbildung

1986 – 1992 Pestalozzi – Oberschule Borna
1992 – 1998 Gymnasium am Breiten Teich Borna
03.07.1998 Allgemeine Hochschulreife

Studium

1999 – 2004 Studium der Humanmedizin
Julius-Maximilian Universität Würzburg
03/2001 Ärztliche Vorprüfung
03/2002 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
03/2004 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
08/2005 Praktisches Jahr
1.Tertial: Herz-Thorax-Chirurgie Universität Würzburg
2.Tertial: Plastische-, Ästhetische- und Wiederherstellungschirurgie; Traumatologie und Wiederherstellungschirurgie, Universität Würzburg
3.Tertial: Innere Medizin RSE Langnau (Schweiz)
11/2005 Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01/06-12/06 Assistenzärztin Chirurgie/Orthopädie RSE Langnau / Schweiz
seit 01/2007 Assistenzärztin Orthopädie Spital Saanen-Thun-Simmental AG / Schweiz



Thun, den 28.01.2008

[Christiane Körner]