

**Aus der Chirurgischen Klinik und Poliklinik (Chirurgische Klinik I)  
der Universität Würzburg  
Direktor: Prof. Dr. med. C.-T. Germer**

**Die multifunktionelle Gefäßprothese –  
Weiterentwicklung und Optimierung**

**Inaugural - Dissertationsschrift**

**zur Erlangung der Doktorwürde an der**

**Medizinischen Fakultät**

**der**

**Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg**

**vorgelegt von**

**Christian Haacke**

**aus Brandenburg an der Havel**

**Würzburg, April 2009**

**Referent:** PD Dr. med. A. Larena - Avellaneda

**Korreferent:** Prof. Dr. med. C.-T. Germer

**Dekan:** Prof. Dr. med. M. Frosch

**Tag der mündlichen Prüfung:** 23.06.2009

**Der Promovend ist Zahnarzt**

Gewidmet meinen geliebten Großvätern

Günter Haacke † 2002

und

Kurt Wypior † 2007

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1. Alloplastischer Gefäßersatz im Wandel der Zeit .....	2
1.2. Einheilung von alloplastischem Gefäßersatz .....	7
1.3. Anforderungen an alloplastischen Gefäßersatz .....	8
1.4. Probleme auf dem Weg zur Verwirklichung einer optimalen Gefäßprothese ...	9
1.4.1. Dichtigkeit.....	10
1.4.2. Thrombogenität .....	11
1.4.3. Infektoresistenz .....	15
1.4.4. Einheilung und Intimahyperplasie.....	17
1.5. Zielsetzung.....	19
1.6. Fragestellung .....	19
<b>2. Material und Methoden</b> .....	<b>21</b>
2.1. Herstellungsprozess.....	21
2.1.1. Prothesenbeschichtung .....	21
2.1.2. Oberflächenmodifizierung.....	24
2.1.3. Einbringen von Medikamenten in die Prothesen .....	26
2.2. Untersuchung der Eigenschaften.....	27
2.2.1. Dichtigkeit.....	27
2.2.2. Oberflächenthrombogenität .....	28
2.2.2.1. Allgemeine Gerinnungsparameter .....	29
2.2.2.2. Bestimmung von Fibrinolyse – u. Gerinnungsaktivatoren mittels ELISA.....	30
2.2.2.3. Bestimmung von Gerinnungsaktivatoren mittels Durchflusszytometrie.....	31
2.2.3. Die antiinfektiöse Oberfläche.....	34
2.2.3.1. In vitro Aktivität von Silber–beschichteten Prothesen gegen S. aureus .....	34
2.2.3.2. Biolumineszente Darstellung von bakteriellen Biofilmen in vitro .....	35
2.2.4. Medikamentenelution .....	36
2.2.4.1. Dynamischer Versuch .....	36
2.2.4.2. Statischer Versuch .....	36
<b>3. Ergebnisse</b> .....	<b>38</b>
3.1. Herstellungsprozess.....	38

3.2. Dichtigkeit .....	38
3.2.1. Flüssigkeitsverlust nach Durchstich mit Venenverweilkanülen .....	39
3.2.2. Flüssigkeitsverlust nach Durchstich mit Injektionskanülen .....	39
3.3. Oberflächenthrombogenität.....	43
3.3.1. Allgemeine Gerinnungsparameter .....	43
3.3.2. Bestimmung von Fibrinolyse- u. Gerinnungsaktivatoren mittels ELISA ..	45
3.3.3. Bestimmung von Gerinnungsaktivatoren mittels Durchflusszytometrie ...	48
3.4. Antiinfektiöse Oberfläche .....	52
3.4.1. In vitro Aktivität von Silber-beschichteten Prothesen gegen S. aureus...	52
3.4.1. Biolumineszente Darstellung von bakteriellen Biofilmen in vitro .....	53
3.5. Medikamentenelution .....	54
3.5.1. Dynamischer Versuch .....	54
3.5.2. Statischer Versuch .....	57
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>60</b>
4.1. Silikon .....	60
4.2. Herstellungsprozess.....	62
4.3. Dichtigkeit .....	64
4.4. Oberflächenthrombogenität.....	65
4.5. Antiinfektiöse Oberfläche .....	70
4.6. Medikamentenelution .....	73
4.7. Ausblick.....	78
<b>5. Zusammenfassung .....</b>	<b>80</b>
<b>6. Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>84</b>
<b>7. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>85</b>
<b>8. Danksagung .....</b>	<b>97</b>
<b>9. Mitwirkung an folgenden Veröffentlichungen/Vorträgen .....</b>	<b>98</b>
<b>10. Curriculum vitae .....</b>	<b>99</b>

## 1. Einleitung

Laut WHO verstarben im Jahr 2005 17,5 Millionen Menschen weltweit an den Folgen kardiovaskulärer Erkrankungen. Damit sind diese Erkrankungen mit einem Anteil von 30% die häufigste Todesursache.

Aufgrund ihrer Häufung erhalten die Erkennung und vor allem die Behandlung dieser Leiden in der modernen Medizin einen immer größeren Stellenwert.

Zu den kardiovaskulären Erkrankungen sind die Arteriosklerose und ihre Folgekrankheiten wie die koronare Herzkrankheit, zerebrovaskuläre Erkrankungen, Erkrankungen der hirnversorgenden extrakraniellen Gefäße, arteriosklerotische Aneurysmen, die periphere arterielle Verschlusskrankheit und Venenerkrankungen zu zählen. Zur Gruppe dieser Krankheiten gehören weiterhin die Hypertonie, sowie Herzrhythmusstörungen, Herzklappenfehler und andere Herzerkrankungen.

Die Arteriosklerose ist Ausdruck des Alterungsprozesses des Gefäßsystems. Ihre Folge ist eine Verengung oder ein Verschluss der Arterie mit nachfolgender Durchblutungsstörung und dadurch Sauerstoffnot des Zielorgans.

Beeinflusst wird die Arteriosklerose in ihrer Entwicklung und in ihrem Ausmaß unter anderem durch übermäßig fettreiche Ernährung, Bewegungsarmut, Übergewicht, Diabetes, Tabakkonsum und Hypertonie. Es handelt sich somit um eine so genannte Zivilisationskrankheit, die auf die Lebensverhältnisse des modernen Menschen zurückzuführen ist.

Die Therapie der krankhaften Veränderungen von Gefäßen fällt in den Aufgabenbereich der Gefäßmedizin.

Therapeutische Ansätze, die die Entwicklung der Arteriosklerose beeinflussen sollen, sind neben der notwendigen Änderung der Lebensführung, die Gabe von Medikamenten und Heilmitteln zur Behandlung von Hypertonie und Diabetes und die Bewegungs- und Physiotherapie. Andere Therapien sollen schon vorhandene Folgen der Arteriosklerose, wie Arterienverschlüsse und -verengungen beseitigen. Oftmals kommen hier so genannte minimal invasive Verfahren, wie z.B. die perkutane transluminale Angioplastie (Schlagadernaufdehnung) mittels Ballonkatheter, gegebenenfalls unter Verwendung von Stents zum Einsatz.

Gelingt eine Verbesserung der Blutversorgung mit diesen Maßnahmen nicht, werden die so genannten konventionellen operativen Verfahren durchgeführt. Dazu gehören z.B. die lokale Beseitigung von Engstellen in den Arterien durch Thrombendarteriektomie, oft kombiniert mit einer Erweiterungsplastik durch Einnähen eines Flickens ("Patch"). In vielen Fällen ist die Überbrückung oder Umgehung des erkrankten Arterienteiles durch einen Gefäßersatz (Bypassoperation) erforderlich.

Schlägt eine Verbesserung der Durchblutung fehl, kommt es zum Funktionsverlust des Zielorganes und zum Gewebeuntergang. Sind Extremitäten betroffen, muss oft als Ultima ratio eine Amputation vorgenommen werden.

Für die Rekonstruktion von Gefäßdefekten steht autogener, allogener, xenogener oder alloplastischer Gefäßersatz zur Verfügung. Dem Einsatz von autogenen Transplantaten sind aufgrund der Verfügbarkeit Grenzen gesetzt. Es kommt aber im Rahmen des Möglichen häufig zur Anwendung, da es gegenüber den anderen Materialien mehrere Vorteile aufweist, die an anderer Stelle in dieser Arbeit erwähnt werden. Die xenogenen und allogenen Gefäßprothesen bergen sowohl das Risiko einer Infektion als auch der Abstoßung, sowie weiterer Komplikationen. Sie spielen deshalb in der heutigen Gefäßchirurgie eine untergeordnete Rolle.

Demzufolge kommen heutzutage häufig alloplastische Materialien zum Einsatz

### **1.1. Alloplastischer Gefäßersatz im Wandel der Zeit**

Die Gefäßchirurgie gehört zu den jungen Fachbereichen der Medizin. Die ersten Versuche Gefäße durch künstliche Blutleiter zu ersetzen, wurden aber bereits vor über 400 Jahren unternommen. Andreas Vesalius war es, der im Tierversuch Oberschenkelarterien durch Strohhalme ersetzte, um die Pulswelle zu untersuchen [1].

Erst gegen Ende des 19. Jahrhunderts wurden wieder Forschungen in diesem Gebiet unternommen. Abbe verband Gefäße mittels Glasröhrchen [2], Nitze setzte Eisenbeinringe ein (1897) [3] und Payr beschrieb die Anastomisierung von 2 Gefäßen mittels extraluminärer Magnesiumringe (1900) [4].

Auch andere Materialien wie zum Beispiel Rinderschienbeinknochen [5], Gummi [6], parafinbeschichtetes Silber [7] oder wieder Glas, diesmal durch Carrel 1912 zum Ersatz an der Aorta thoracica verwendet [8], wurden getestet.

Während des 2. Weltkrieges versuchte Blackmore, in Anlehnung an Payr's Technik, Gefäßdefekte durch Vitalliumringe zu überbrücken [9]. Die erste dokumentierte Verwendung von Kunststoff (Methylmethacrylat) als Material zum Gefäßersatz ist auf Hufnagel (1947) zurückzuführen [10].

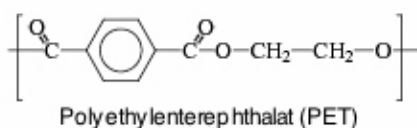
Diese Versuche blieben aber alle erfolglos, da der Gefäßersatz schon nach kürzester Zeit thrombosierte und als Fremdkörper abgestoßen wurde.

Nachdem Vorhees, Blakemoore und Jaretzki herausfanden, dass ein in die Herzkammerwand eines Hundes eingebrachter Seidenfaden nach 153 Tagen von einer Pseudointima umgeben war, schafften sie 1952 endlich den Durchbruch.

In diesem Jahr implantierten sie erfolgreich bei Hunden die ersten Gefäßprothesen aus dem zur Fallschirmherstellung genutzten Vinyon N® [11]. Diese Prothesen blieben durchgängig. Voraussetzung für diesen Erfolg waren die Porosität und die biologisch indifferente Eigenschaft von Vinyon N®.

In den folgenden Jahren kamen weitere textile Prothesen auf den Markt. Erwähnt seien an dieser Stelle Nylon® [12], Orlon® [13], Ivalon® [14], Teflon®, Marlex® [15], Dacron® und Perlon® [16].

Von diesen Materialien konnten sich in der klinischen Anwendung nur Dacron® (Polyethylenterephthalat –PET– oder auch Polyester – Strukturformel siehe Abb. 1.1.) [17] und Teflon®/Goretex® (Polytetrafluorethylen –PTFE-) [18] durchsetzen. Die anderen Materialien wiesen Nachteile wie zu schnelle Materialermüdung, zu geringe Stabilität oder eine ungenügende Biokompatibilität auf.



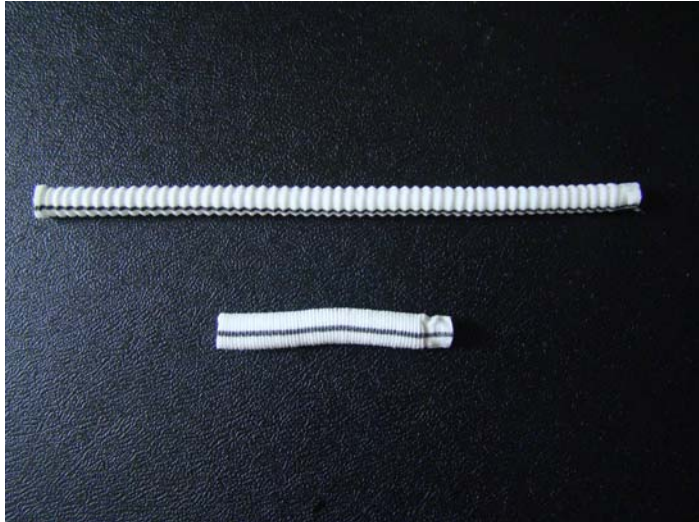
**Abbildung 1.1.:**

vereinfachte Strukturformel von PET

Weitere Fortschritte in der Entwicklung von Gefäßersatz aus Polyester brachten die Einführung von nahtlosen Prothesen durch Self (1955) [19] und die Entwicklung von Prothesen mit einer fortlaufenden Plissierung, auch "Crimping" genannt, durch Edwards (1955) [12]. Ohne Nähte war nun die Herstellung längerer Prothesen möglich und das "Crimping" führte zu einer besseren Längs- und Querelastizität ohne



Gefahr einer Abknickung. Julian stellte 1959 [20] Prothesen mit einem Microcrimping vor, bei denen diese Eigenschaften noch verbessert wurden. Befürchtungen, dass dadurch die Thrombosierungsgefahr erhöht wird, konnten sich nicht bestätigen. Außerdem wurde festgestellt, dass neben dem Material und der Dicke der Prothese auch die Porosität von entscheidender Bedeutung für die Einheilung der Prothese ist [21]. Abbildung 1.2. zeigt eine handelsübliche Polyesterprothese.



**Abbildung 1.2.:**

Handelsübliche nahtlose mit Doppelvelours beschichtete PET-Prothesen (Protegraft® DV1900 der Firma B.Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Zu erkennen ist die Plissierung und der Längsstreifen, welcher intraoperativ der Lagesicherung dient und ein Verdrehen vermeiden soll. Abgebildet sind eine unbeschichtete (unten) und eine mit Silikon beschichtete Prothese (oben). (Eigenmaterial)

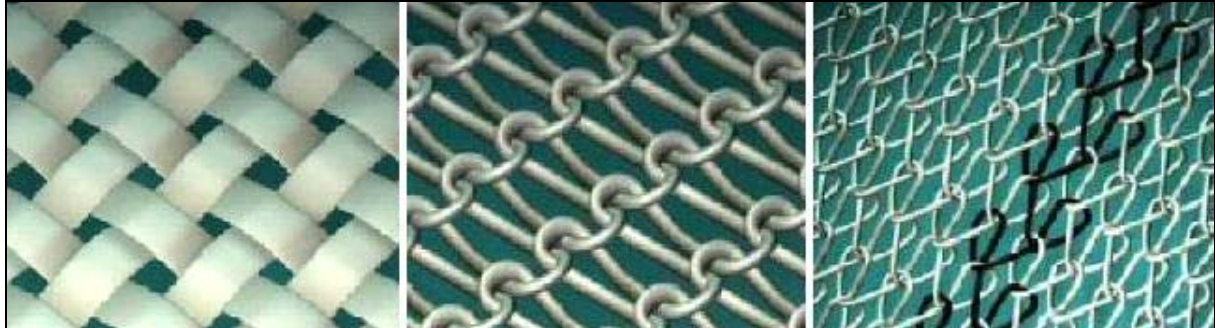
Eine zusätzliche Neuerung war die senkrecht eingearbeitete Veloursbeschichtung (Sauvage 1971) [22]. Velours ist ein textiles Produkt bei dem entweder die Schlingen des Gewebes aufgeschnitten oder bei Gewirken die Oberflächen aufgeraut werden, um eine Oberflächenvergrößerung zu erreichen (Abb. 1.3.). In der Prothese kann es als Leitschiene für die Fibroblasten dienen und so an der Innenseite die Anpassung und Ausbildung der Neointima unterstützen. Außen wird das Einwachsen des Bindegewebes erleichtert und abschließend eine bessere Verankerung erreicht, die gleichzeitig der Ausbreitung von Infektionen entlang der Prothese entgegenwirken soll.



**Abbildung 1.3.:**

50-fache Vergrößerung der äußeren Oberfläche einer bilateral mit Velours beschichteten Dacron®-Prothese. (Bildmaterial aus [23])

PET-Prothesen werden heutzutage computergesteuert in den gewünschten Kalibern und Längen hergestellt. Dabei sind gewebte, gestrickte und gewirkte Formen zu unterscheiden (Abb. 1.4.).



a: Gewebe

b: Gestrick

c: Gewirk

Abbildung 1.4.:

- Ein Gewebe ist ein rechtwinkeliges Flächengebilde aus Fäden. Die längsgerichteten Fäden bezeichnet man als Kettenfäden, die quergerichteten als Schussfäden.
- Gestricke werden in Form von Maschen mit Hilfe eines Fadens und mindestens 2 Nadeln hergestellt.
- Gewirke werden aus Fadensystemen durch Maschenbildung maschinell hergestellt. Man unterscheidet zwischen Kulierwirkware und Kettenwirkware. Kulierwirkware wird aus einem Faden als Rund- oder Flachwirkware, Kettenwirkware hingegen aus mehreren Fäden hergestellt. (Bildmaterial aus [24])

Wie bereits erwähnt, hatte sich PTFE (Strukturformel in Abb. 1.5.) als ebenfalls für den Gefäßersatz geeignetes Material bewährt. Die Prothesen werden aus Tetrafluorethylen, einer gasförmigen Fluor-Kohlenwasserstoff-Verbindung, die nach Verflüssigung durch Destillation gereinigt wird, hergestellt. Anschließend erfolgt die Polymerisation.

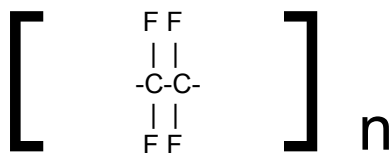


Abbildung 1.5.:

vereinfachte Strukturformel von Polytetrafluoroethylen

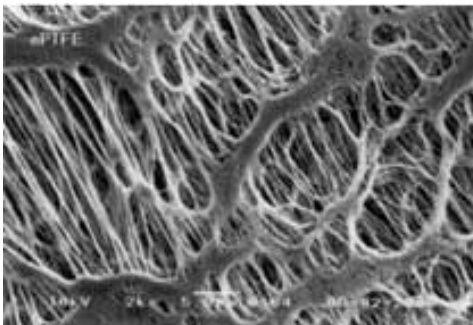
Da das PTFE an sich noch keine optimalen Ergebnisse erbrachte, wurde 1972 durch Soyer die "expanded" PTFE-Prothese der Firma Gore vorgestellt (moderne ePTFE-Prothese in Abb.1.6.) [25]. Bei dieser Prothese wurde das Material einem Reckungsprozess unterzogen durch den eine Knoten-Fibrillen-Struktur, bestehend aus PTFE-Knoten und longitudinal dazu ausgerichteten Fibrillen, entstand (Abb. 1.7.).



**Abbildung 1.6.:**

ePTFE–Prothesen verschiedener Längen und Kaliber. (Bildmaterial der Firma Edward Lifesciences, Irvine, USA)

In diesen Fibrillen richtet sich das PTFE entlang der Expansion aus, wodurch eine höhere Reißfestigkeit entsteht. Auch diese Prothesen sind chemisch inert, zusätzlich besitzen sie eine hohe Mikroporosität, sind aber trotzdem primär dicht. Als Nachteil ist allerdings die fehlende Dehnbarkeit zu sehen, was ein exaktes Zuschneiden auf die benötigte Länge erfordert. Die von Soyer vorgestellte Prothese wurde zunächst nur für den venösen Ersatz getestet. 1973 wurde der Einsatz im arteriellen System [26] und schließlich 1976 die klinische Tauglichkeit erprobt [27].



**Abbildung 1.7.:**

Rasterelektronenmikroskopaufnahme der Knoten–Fibrillen - Struktur des ePTFE (Bildmaterial von [www.vessels.co.jp](http://www.vessels.co.jp))

In den folgenden Jahren wurde die PTFE–Prothese weiteren Optimierungen unterzogen. 1980 kamen die ersten konischen Prothesen und 1992 eine "Stretch"–Prothese mit besserer Längselastizität auf den Markt.

Der Vollständigkeit wegen seien Polyurethanprothesen erwähnt. Dieses Material findet heute aufgrund seiner geringen Resistenz gegen Biodegradation nur noch für intravenöse Katheter Verwendung.

Außerdem wurde die Verwendung von homologen Nabelschnurvenen mit einer Dacronummantelung [28] und die Entwicklung einer Hybridprothese (Fluoropassiv<sup>TM</sup>–

Prothese) [29], bei der die positiven Eigenschaften von PTFE und PET verbunden werden sollten, beschrieben.

Alle Gefäßersatzmaterialien weisen gegenüber einem gesunden Gefäß Nachteile auf. Die Beseitigung dieser Nachteile ist Gegenstand der Forschung. Versuche der Optimierung von Gefäßprothesen beschäftigen sich beispielsweise mit der Bindung von Heparin [30] und Antibiotika [31] an das Prothesenmaterial, dem "endothel-cell-seeding" [32], sowie der Beschichtung mit Karbon [33] oder mit Silikon [34]. Letztere Methode wird in dieser Arbeit untersucht.

## **1.2. Einheilung von alloplastischem Gefäßersatz**

Um die Probleme, die im Zusammenhang mit künstlichen Gefäßersatz auftreten, zu verstehen, muss man sich mit den Prozessen der Einheilung auseinandersetzen.

Diese ähnelt generell dem Einwachsen von inerten Fremdkörpern und kann nach Wesolowski in 4 Phasen eingeteilt werden [35, 36].

1. *Stadium der Abdichtung:* Wird die Prothese nach Implantation mit Blut durchflossen, bildet sich auf der luminalen Seite in den Porositäten ein Fibringerüst aus.
2. *Stadium der Gewebeinvasion:* An der Außenseite der Prothese kommt es in den ersten 3 Wochen nach Implantation zur Ausbildung von Granulationsgewebe, das heißt zum Einwachsen kleiner Blutgefäße und zum Einwandern von Mesenchymzellen und Zellen des Monozyten-Makrophagensystems. Die Innenseite ist mittlerweile von einer Fibrinschicht bedeckt, die Unebenheiten ausgeglichen haben kann.
3. *Stadium der Organisation:* An der Prothese kommt es sowohl innen als auch außen zum Umbau des Granulationsgewebes in ein faserreiches und zellarmeres Bindegewebe, das beidseits eine Art Kapsel bildet. Es entsteht eine Neointima aus organisiertem Fibrin die Endothelinseln enthalten kann. Diese Inseln entstehen hauptsächlich an den Anastomosen als eine Art Endothelmanschette oder in Bereichen an denen durch die Poren transmurale Mikrogefäße eingesprosst sind. Diese Phase kann bis zu 12 Monate dauern.

4. *Stadium der Degeneration:* Nach unterschiedlich langer Zeit kann es in dieser Phase vor allem in der Subintima zu einer Art Fremdkörperreaktion kommen. Zu den Veränderungen gehören die hyaline Degeneration der Bindegewebsfasern, das Auftreten von Intimaödemem, Lipidablagerungen, Spaltbildungen, Dissektionen und das Entstehen von Wandthromben.

Die Einheilung hängt neben der Porenanzahl und –größe, unter anderem noch von der Wandstärke, dem Alter des Patienten, der Versorgung beziehungsweise dem Zustand des Implantatlagers, dem atraumatischen und aseptischen chirurgischen Eingriff und dem Ort der Implantation (subkutan bestehen schlechtere Einheilungstendenzen) ab.

### **1.3. Anforderungen an alloplastischen Gefäßersatz**

Bis in die heutige Zeit ist es nicht gelungen die ideale Gefäßprothese zu entwickeln. Diese Prothese sollte folgende Eigenschaften besitzen [37, 38]:

- geeignete Länge, Kaliber und Wanddicke
- Stabilität und Formtreue bei genügend Elastizität
- eine möglichst hohe Porosität bei ausreichender Dichte
- geringe Thrombogenität
- möglichst keine Fremdkörperreaktion (Indifferenz)
- keine blastogene Potenz
- Sterilisierbarkeit
- geringe Zytotoxizität
- gute Verfügbarkeit (Lagerfähigkeit)
- physikalische und chemische Konstanz
- gute chirurgische Verarbeitbarkeit durch geringe Stichresistenz, gute Schmiegsamkeit und Nahtfähigkeit mit hoher Nahrückhaltekraft ohne Ausreißen des Prothesenrandes, Blutdichtigkeit, Torsions- und Knickstabilität, sowie Servicefreundlichkeit bei Rezidiveingriffen
- gute Einheilung mit geringer Vernarbungstendenz und Neointimabildung
- geringe Kosten.

#### **1.4. Probleme auf dem Weg zur Verwirklichung einer optimalen Gefäßprothese**

Durch die Möglichkeit der Produktion von künstlichem Gefäßersatz wurde die Problematik hinsichtlich der geeigneten Prothesengröße, Sterilisierbarkeit und Verfügbarkeit gelöst.

Für geringe Prothesendurchmesser gilt dies allerdings nur mit Einschränkung. Aufgrund der Eigenschaften des heutigen künstlichen Gefäßersatzes hat sich die Verwendung von alloplastischem Material erst ab größeren Durchmessern (über 6mm) als Erfolg versprechend erwiesen. Sind Ersatzgefäße mit kleinerem Durchmesser (unter 6 mm) erforderlich, werden besser autologe Gefäße genutzt.

Auch was die Toxizität betrifft, hat man in Polyester und PTFE Materialien gefunden, die den Anforderungen weitestgehend entsprechen. Allergische Reaktionen auf das Prothesenmaterial gelten als unwahrscheinlich. Es wird allerdings in diesem Zusammenhang von aseptischen Perigratreaktionen, als eine Art Fremdkörperreaktion, mit Flüssigkeitsansammlungen in Prothesenumgebung berichtet. Diese können im Extremfall einen Austausch des Gefäßersatzes notwendig machen.

In vereinzelten Fällen wird in der Literatur von Angiosarkomen im Zusammenhang mit Dacron®-Prothesen berichtet. Zudem konnte auch in Tierversuchen eine neoplastische Induktion durch PTFE gezeigt werden. Insgesamt wird diese Gefahr aber als sehr gering eingeschätzt [39].

Die mechanischen, physikalischen, chemischen und biochemischen Eigenschaften entsprechen heutzutage weitgehend den allgemeinen Anforderungen an den künstlichen Gefäßersatz. Schwerwiegende Degenerationen kommen bei den heute verwendeten Materialien in den ersten 10 Jahren eher selten vor. Bei langjährigem Einsatz kann es aber aufgrund der rhythmischen Dehnung durch die Pulswelle und in Gelenkbereichen, an denen hohe Biege- und Dehnungsbeanspruchungen auftreten, zu Materialermüdungs- und Verschleißerscheinungen kommen.

Infolgedessen können Dilatationen oder Faserrisse im Prothesenmaterial entstehen, die zu schwerwiegenden Komplikationen (Rupturen, Aneurysmen, Dilatationen) führen würden [40]. Um Aneurysmen am Übergang Prothese/Gefäß zu vermeiden, ist es von Bedeutung, dass die "Compliance" (Dehnbarkeit) des Prothesenmaterials in etwa der des zu ersetzenden Gefäßes entspricht.

Die Anforderungen an eine akzeptable Verarbeitung durch den Chirurgen können aufgrund ihrer unterschiedlichen Eigenschaften nicht alle Materialien im gleichen Maße erfüllen. Die Handhabung wird dabei auch durch die Wandstärke, die Porosität sowie bei Textilprothesen auch durch den Garndurchmesser beeinflusst.

Die Handhabbarkeit von gewebten Polyesterprothesen ist durch ihre Wanddicke, Steifigkeit und die Fransenbildung beim Zuschneiden erschwert. Sie müssen deshalb beim Nähen weit gefasst werden. Sie weisen aber eine hohe Reißfestigkeit und Wandstabilität auf. Ihre Eigenschaften lassen den Einsatz somit überwiegend im Ersatz größerer Gefäße zu.

Gestrickte und gewirkte PET-Prothesen weisen aufgrund ihrer Struktur bessere Verarbeitungseigenschaften und somit einen breiteren Einsatzbereich auf. Durch fehlendes Ausfransen und höhere Flexibilität ist eine bessere Adaption theoretisch auch an kleinere Gefäße möglich.

Das ePTFE erhält durch seine Knoten-Fibrillen-Struktur eine erhöhte Reißfestigkeit, bei verminderter Deformation auf Druck. Außerdem lassen sich die Prothesen aus diesem Material aufgrund der glatten Oberfläche gut thrombektomieren. Als nachteilig sind eine verminderte Knickstabilität, eine geringe Elastizität, eine geringe Nahtrückhaltekraft und die intraoperativen Stichkanalblutungen zu sehen.

#### **1.4.1. Dichtigkeit**

Die Dichtigkeit der Gefäßprothesen hängt im entscheidenden Maße von der Porosität des Materials ab. Gestrickte und teilweise auch gewirkte (abhängig von der Wirkart) PET-Prothesen weisen häufig eine hohe Porosität auf und müssen deshalb präoperativ vorbehandelt werden. Allerdings verfügen sie über eine höhere biologische Wertigkeit und erleichtern die Einheilung.

Verschiedenste Methoden der Vorbehandlung der Prothesen wurden entwickelt. Hierdurch sollen intra- und postoperative Blutverluste verringert und Hämatome verhindert werden. Eine Möglichkeit ist das "pre-clotting" bei dem die Prothese vor Implantation in nicht heparinisertes Patientenblut gelegt und so durch Fibrinbildung abgedichtet wird. Diese Prothese kann dann in den nun heparinisierten Patienten implantiert werden.

Eine weitere Methode, gestrickte und gewirkte PET–Prothesen abzudichten, ist eine Imprägnierung mit bestimmten Substanzen. Anwendung finden einerseits Stoffe boviner Herkunft, wie zum Beispiel Gelatine, Kollagen oder Albumin, die nach einigen Wochen vom Körper resorbiert werden. Andererseits können auch synthetische Materialien oder Polymere (Glutaraldehyd, Silikon u.v.a.) verwendet werden [41-44]. Diese Prothesen sind primär dicht, es ist demnach keine Vorgerinnung von Nöten und der intraoperative Blutverlust ist deutlich reduziert. Ein weiterer Vorteil besteht in der Möglichkeit an die Substanzen Antibiotika zu binden.

Die Beschichtung von Prothesen kann auch zu unerwünschten Nebenwirkungen führen. Es besteht die Gefahr von Unverträglichkeiten, Allergien und Infektionen, beispielsweise mit BSE, die bei xenogenen Stoffen immer beachtet werden muss.

Zudem besteht für den Hersteller ein wirtschaftlicher Nachteil, wenn er beabsichtigt seine Prothesen in die USA zu verkaufen. Dort ist es nicht erlaubt, Materialien anzubieten, die mit xenogenen Material behandelt wurden, welches nicht amerikanischer Herkunft ist.

Außerdem dürfen nach Empfehlungen der Hersteller die mit Gelatine, Kollagen, Albumin oder anderen biologischen Stoffen (z.B. Fibrin) imprägnierten Prothesen nicht resterilisiert werden, da dies zur Denaturierung dieser Stoffe führen könnte.

Gewebte PET–Prothesen besitzen eine geringe Porosität und sind primär dicht. Dies macht eine Vorbehandlung unnötig. Das Gleiche gilt auch für PTFE–Prothesen, die meistens eine Mikroporosität von ca. 20–30 µm aufweisen. Dadurch entsteht eine primäre Dichtigkeit bei noch möglichem Gasaustausch. Als nachteilig sollen sich aber die beim Nähen verursachten Stichkanalblutungen erwiesen haben. Um diese zu minimieren oder Antibiotika beziehungsweise Heparin an das Material zu binden, wurden auch die PTFE-Prothesen teilweise mit Beschichtungen versehen.

#### **1.4.2. Thrombogenität**

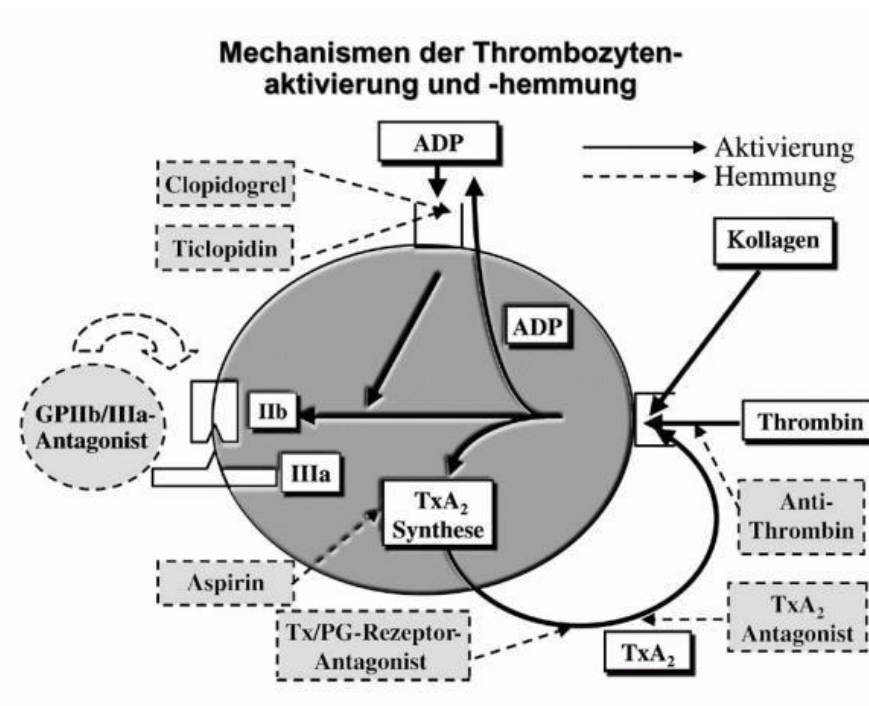
Wie bereits 1856 von Virchow erkannt, sind Veränderungen der Gefäßwand, der Strömungsgeschwindigkeit und der Blutzusammensetzung verantwortlich für die Entstehung von Thrombosen. Da der Ersatz von Gefäßabschnitten unweigerlich zur Veränderung der Gefäßwand führt, ist die damit verbundene Thrombosegefahr leicht zu verstehen.



Die Blutgerinnung –Hämostase– ist ein sehr komplexer Vorgang, der in die primäre Hämostase -die Thrombozytenaggregation- und die sekundäre Hämostase, auch als plasmatische Gerinnung bezeichnet, unterteilt werden kann.

### Thrombozytenaggregation

Kommt das Blut mit einer Fläche in Kontakt, die nicht mit Endothel bedeckt ist, z.B. bei Verletzungen mit dem darunter liegenden Kollagen, oder im Falle von künstlichem Gefäßersatz mit dem synthetischen Material, werden die Thrombozyten aktiviert. Die Aktivierung führt zu einer Formveränderung der Thrombozyten mit Pseudopodienausbildung, wodurch die nicht endothelialisierte Fläche abgedeckt wird. Zusätzlich werden verschiedene Mediatoren ausgeschüttet, was über mehrere Zwischenstufen zur Bindung von Fibrinogen führt. Dies hat wiederum die Bindung anderer Thrombozyten zur Folge (Vorgänge in Abb. 1.8. dargestellt). Nach 1-4 Minuten ist der so genannte weiße Thrombus entstanden.



**Abbildung 1.8.:**  
Darstellung der Thrombozytenaggregation und deren Hemmung. (Bild - material aus [45])

## *Plasmatische Gerinnung*

Einige durch die Thrombozyten ausgeschüttete Mediatoren induzieren die plasmatische Gerinnung. Vereinfacht dargestellt kann diese in 2 Wegen, dem intrinsischen und extrinsischen ablaufen. Der intrinsische Weg wird aktiviert, wenn das Blut mit negativ geladenen Fremdoberflächen in Kontakt kommt. Dadurch wird eine Gerinnungskaskade in Gang gebracht, an der die Faktoren VIII, IX, XI und XII beteiligt sind. Der extrinsische Weg wird durch den Blutkontakt mit Gewebethromboplastin (Faktor III) aus dem verletzten subendothelialen Gewebe aktiviert. Das Gewebethromboplastin bildet zusammen mit dem Faktor VII einen Komplex.

In Anwesenheit von Phospholipiden und Calcium als Ko-Faktoren wird durch beide Wege der Faktor X aktiviert. Dieser wiederum spaltet Prothrombin (Faktor II) zu Thrombin, welches Fibrinogen (Faktor I) zu Fibrin spaltet. Unter Mitwirkung des Faktor XIII entsteht ein stabilisierter Thrombus, der nach Aufnahme von roten Blutkörperchen als roter Thrombus bezeichnet wird.

Die Blutgerinnung kann medikamentös unter anderem durch Thrombozytenaggregationshemmer, Kumarine und Heparin gehemmt werden.

## *Fibrinolyse*

Der Vorgang, der eine unkontrollierte Gerinnung verhindern soll, wird als Fibrinolyse bezeichnet. Physiologisch wird diese durch den Plasminogenaktivator oder Urokinase gestartet, durch den Plasminogen zu Plasmin gespalten wird. Plasmin kann nun Fibrin auflösen. Die Mechanismen der Fibrinolyse werden auch therapeutisch genutzt. Zum Beispiel kommen Streptokinase oder Staphylokinase zum Einsatz (Übersicht der plasmatischen Gerinnung und der Fibrinolyse in Abb.1.9.).



Künstliche Prothesen aktivieren zudem das Komplementsystem, das durch einzelne Komplementfaktoren eine Stimulation der Thrombozytenaggregation induziert [47].

Es gibt Untersuchungen, die PTFE im Vergleich zu Dacron® aufgrund seiner stärkeren negativen Ladung und einer geringeren Aktivierung der humoralen und zellulären Hämostase in Bezug auf die Thrombogenität im Vorteil sehen [48]. Da dieser Vorteil aber mit der Zeit nach der Implantation verloren geht, wurden verschiedene Versuche unternommen eine antithrombogene Prothese zu entwickeln.

Versuche Karbon an die Prothesen zu binden, brachten keine zufrieden stellenden Ergebnisse [33]. Auch die Bindung von Heparin brachte lange Zeit keinen Erfolg.

In den letzten Jahren gab es aber durch die Einführung unterschiedlicher Möglichkeiten, Heparin zu binden, auf diesem Gebiet Fortschritte. Heutzutage gibt es Prothesen mit Heparin-gebundenen Oberflächen. Das Heparin kann nun wiederum Antithrombin binden, welches Thrombin inaktiviert und danach die Bindungsstelle für neues Antithrombin wieder freigibt. Eine Untersuchung ergab geringere Verschlussraten nach Einsatz von Prothesen mit diesen Oberflächen [49].

Ein viel versprechender Forschungsbereich stellt das "endothelial cell seeding" dar. Dabei sollen Endothelzellen unter Verwendung eines Trägers, wie zum Beispiel Kollagen, Gelatine oder Fibronectin, auf der Oberfläche synthetischer Prothesen angesiedelt werden. Wie die geringen Verschlussraten autologer Venen im Vergleich zu denen von künstlichen Prothesen verdeutlichen, ist das Endothel der beste Regulator der Blutgerinnung und der Thrombozytenaggregation. Diese Wirkung erhofft sich die Forschung auch durch das "endothelial cell seeding". Schwierigkeiten verursachen aber die aufwendigen Anzüchtungsverfahren, die Haftung und die Menge der benötigten Zellen und die hohen Kosten.

Auch in diesem Bereich gibt es noch keine kommerziell produzierte antithrombogene Prothese. Deshalb muss die Forschung diesbezüglich fortgeführt werden.

### **1.4.3. Infektesistenz**

Die Infektion einer Gefäßprothese stellt eine schwerwiegende, potentiell lebensbedrohliche Komplikation dar. Sie kann zu septischen Thrombosen, Sepsis, Anastomosenrupturen mit schweren Blutungen und Nahtdehiszenzen führen. Szilagyi klassifi-

ziert die Infektionen nach ihrer Lage, das heißt in oberflächliche mit oder ohne Cutisbeteiligung oder tiefe Infektionen, in 3 Schweregrade. Diese Klassifikation ist auch heute noch die wohl am häufigsten gebrauchte.

Außerdem kann man unterscheiden in frühe (bis 4 Wochen) und späte Infektionen. Frühe Infektionen treten am häufigsten in der Leistengegend, späte Infektionen überwiegend im abdominalen Bereich auf.

Auslöser von Protheseninfektionen sind meist Bakterien, überwiegend *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* und *albus*, *Pseudomonaden* und gramnegative *Enterobacteriaceae* und andere [50], aber auch Pilze, wie zum Beispiel *Candida albicans*. Als therapeutische Maßnahmen kann in Abhängigkeit vom Stadium der Infektion das Wunddebridement des Prothesenlagers und Lokalbehandlung in Verbindung mit Antibiotikatherapie eine Option sein. Meist sind aber Explantation der Prothese, Sicherung der Blutversorgung durch extraanatomische Bypässe oder autologen Gefäßersatz erforderlich [51]. Oftmals ist die Amputation der Extremität aus vitaler Indikation nicht zu umgehen.

Das Auftreten einer Infektion ist von verschiedenen Faktoren abhängig. Dazu zählt vor allem eine mögliche Keimbesiedelung des Prothesenlagers. Es spielen aber auch die Virulenz der Erreger (das beinhaltet auch die Adhärenzfähigkeit an das Prothesenmaterial), die Immunabwehr und die Vorerkrankung des Patienten, operationstechnische Faktoren, Operationszeit, Länge des Krankenhausaufenthaltes und insgesamt das Ausmaß der Kontamination mit Mikroorganismen eine Rolle.

Verschiedene Untersuchungen haben eine Inzidenz tiefer Wundheilungsstörungen nach gefäßrekonstruktiven Maßnahmen von 1,3–6% ergeben [52]. Dabei war auffällig, dass bei alloplastischen Gefäßersatz die tiefen Infektionen relativ deutlich überwogen. Dies hängt unter anderem mit der durch die nicht vorhandene Kapillarisation und Durchblutung fehlende Abwehrmöglichkeit (besonders in den ersten 4 Wochen) der ersetzten Gefäßabschnitte zusammen. Zudem wird durch alloplastische Materialien eine Fremdkörperreaktion ausgelöst, die ein gutes Milieu für eine bakterielle Besiedlung herstellt.

Ziel vieler Forschungen ist die Herstellung einer infektionsresistenten Prothese. In den letzten 25 Jahren wurden verschiedenste Antibiotika an die synthetischen Prothesen gebunden [53, 54]. Dies kann ohne einen Trägerstoff [55] erfolgen. Überwie-

gend finden aber biologische Stoffe wie z.B. Kollagen, Fibrin und Gelatine [56-58] oder andere Stoffe wie z.B. Benzalkoniumchlorid [59] Anwendung.

Auch bei Triclosan- [60] und Silber- [61] gebundenen Prothesen konnte eine deutliche Infektionsresistenz festgestellt werden.

#### **1.4.4. Einheilung und Intimahyperplasie**

Eine schwere Komplikation nach einer Gefäßrekonstruktion ist der Bypassverschluss. Dieser kann durch die so genannte Intimahyperplasie verursacht werden.

Unzählige Studien haben sich mit den Verschlussraten unterschiedlicher Gefäßmaterialien beschäftigt. Es wurde deutlich, dass die autologe Vene im Bezug auf die Verschlussraten den synthetischen Materialien überlegen ist. Dacron® und PTFE scheinen vergleichbare Ergebnisse zu erzielen.

Die Intimahyperplasie, von anderen Autoren auch als myointimale Hyperplasie oder pseudointimale zelluläre Proliferation bezeichnet, stellt, vor allem bei Arterien/ Prothesen kleineren Durchmessers, ein beträchtliches Problem in der Gefäßchirurgie dar. Sie wird besonders an den distalen Anastomosen beobachtet.

Die Intimahyperplasie ist eine unspezifische Reaktion der Intima eines Blutgefäßes auf ein Trauma des Endothels. Weitere ursächliche Faktoren sind Verwirbelungen des Blutflusses durch ungünstige Strömungsverhältnisse an End- zu Seit-Anastomosen ("shear stress") und ein Ungleichgewicht der Compliance am Übergang Prothese/Gefäß ("compliance mismatch") [62].

Bei der Intimahyperplasie kommt es zu einer strukturellen Änderung der inneren Gefäßwand, die sich in einer überschießenden Proliferation der glatten Muskelzellen in der Media äußert. Diese beginnt etwa 24-48 Stunden nach der Gefäßverletzung und dauert normalerweise ungefähr 4 Wochen an [63]. Die Proliferation wird überwiegend durch den basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) induziert [64].

Die glatten Muskelzellen dedifferenzieren sich zu Extrazellulärmatrix-produzierenden Zellen. Nach etwa einer Woche wandert ein Teil der glatten Muskelzellen (ca. 30%) in die Intima aus. Der durch die an der Prothesenwand haftenden Thrombozyten ausgeschüttete Platelet-derived-Growth Factor (PDGF) hat dabei eine Art Lockwirkung [65].

In der Intima kommt es zu einer weiteren Proliferation der Zellen mit vermehrter Extrazellulärmatrixbildung (Kollagen I+III, Elastin) , die schließlich zur Verdickung der Intima und Einengung des Lumens führt [66].

Verschiedene vasoaktive Hormone (Angiotensin II, Katecholamine), Endothelin I und verschiedene Zytokine (u.a. Interleukin I, Metalloproteinasen) scheinen einen stimulierenden Einfluss auf die Vorgänge bei der Intimahyperplasie zu haben [67].

Die Re-endothelialisierung hat einen entscheidenden Einfluss auf die Dauer und somit das Ausmaß der Proliferation. Untersuchungen zeigten, dass an Stellen intakten Endothels die Intimahyperplasie zum Stehen kam [68]. Eine vollständige Endothelialisierung synthetischer Prothesen kommt aber nicht zustande. Dieser Umstand macht die Notwendigkeit, Methoden zur Limitation der intimalen Hyperplasie zu etablieren, verständlich.

Es gibt theoretisch viele Ansätze die Intimahyperplasie zu verhindern [69-73].

Eigentlich fast immer zur Anwendung kommt die Antikoagulantientherapie, vor allem von Aspirin [74] und Heparin [75]. Auch durch Modifikationen der Operationstechnik wird versucht, die Intimahyperplasie im Bereich der distalen Anastomose zu verringern. Eingesetzt werden können externe Stents [76] oder "Patches" [77] und "Cuffs" [78], bei denen im Anastomosenbereich zwischen die Prothese und der Arterie noch kleine Venenstücke zwischengeschaltet werden.

Gute Erfolge wurden außerdem mit der Photodynamischen Therapie [79] erzielt.

Bei Stents ("drug eluting stents") konnte eine Beschichtung mit Paclitaxel und Sirolimus [80] eine Proliferationshemmung erzielen und die Offenheitsrate der Stents positiv beeinflussen. Auf dem Gebiet der Prothesenentwicklung gab es in neuester Zeit diesbezüglich einige Untersuchungen.

Eine Prothese für den klinischen Einsatz konnte jedoch noch nicht entwickelt werden.

## 1.5. Zielsetzung

Wie in den vorigen Absätzen verdeutlicht, ist es Wirtschaft und Forschung bis jetzt nicht gelungen, eine Prothese zu entwickeln, die den sehr komplexen Ansprüchen genügt.

Das Ziel unserer Arbeitsgruppe ist die Entwicklung einer Silikon-beschichteten "multi-funktionellen Gefäßprothese", die in den angesprochenen Bereichen zufrieden stellende Ergebnisse erbringen soll.

Untersuchungen bezüglich physikalischer Parameter und der Testung im Tierversuch stellten die Tauglichkeit im Vergleich zu kommerziell erhältlichen Prothesen unter Beweis [81, 82].

## 1.6. Fragestellung

In der vorliegenden Arbeit soll die Weiterentwicklung und Optimierung der "multi-funktionellen Gefäßprothese" [81] beschrieben werden. Im Blickpunkt stehen folgende Themen:

### Umstellung des Herstellungsprozesses:

Lässt sich die alleinige Beschichtung der Prothesen von außen auf eine kombinierte Beschichtung von außen und innen umstellen und etablieren?

### Dichtigkeit:

Wie verändert sich die Dichtigkeit im Vergleich zur ursprünglich nur von außen beschichteten Prothese?

Wie verhält sich die Verlustrate ("leakage rate") nach Einstich verschiedener Kanülen und Venenverweilkanülen im Vergleich zu kommerziell erhältlichen Prothesen?



### Oberflächenthrombogenität:

Kann durch die an die Oberfläche der Prothese gebundenen Stoffe die Thrombogenität verringert werden?

Welches Molekül bietet sich aufgrund seiner antithrombogen Eigenschaft für den späteren Einsatz an?

### Medikamentenelution

Wird Paclitaxel im Kreislaufmodell und im statischen Versuch eluiert?

Wie lange und in welcher Konzentration wird das Medikament freigesetzt?

### Antiinfektiöse Oberfläche

Hat das an die Prothesenoberfläche gebundene Silber eine bakterizide Wirkung?

Wenn ja, wie stark ist diese Wirkung im Vergleich zu anderen Substanzen?

### Kombination der Eigenschaften

Funktioniert eine Kombination der verschiedenen Eigenschaften zu einer „multi-funktionellen Gefäßprothese“?

## 2. Material und Methoden

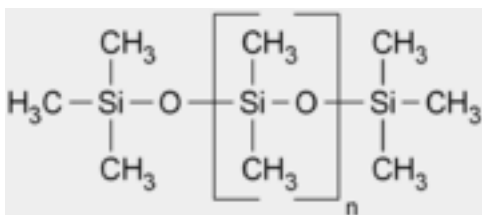
Grundlage unserer Versuche ist die Beschichtung von PET-Prothesen mit Silikon (PDMS=Poly(dimethylsiloxan)). Dadurch sollen die Prothesen abgedichtet und später zur Oberflächenmodifizierung Substanzen an die Beschichtung gebunden werden.

### 2.1. Herstellungsprozess

#### 2.1.1. Prothesenbeschichtung

In den Versuchen werden gewirkte Polyesterprothesen (Protegraft® DV 1900, Fa. B.Braun, Melsungen, Deutschland) mit einem Durchmesser von 6mm verwendet. Diese Prothesen besitzen einen Doppelvelourbesatz und eine hohe Porosität, was ein "Preclotting" vor der Implantation notwendig macht. Diesen Vorgang umgehen wir durch die Beschichtung mit Silikon.

Silikon, auch als Siloxan oder Polysiloxan bezeichnet, ist ein Polymer bestehend aus einem Gerüst aus Silizium- und Sauerstoffatomen. An die Siliziumatome sind zusätzlich Methylgruppen gebunden. Das von uns gebrauchte Material gehört zu den linearen Silikon (Poly(dimethylsiloxan) – Strukturformel in Abb. 2.1.). In Abhängigkeit des Molekulargewichts liegen lineare Silikone vorerst als flüssiges Öl oder als Silikon-Gel vor. Mit zunehmender Vernetzung während der Polymerisation entsteht ein fester Silikonkörper.



**Abbildung 2.1.:**

Strukturformel von catena-Poly[(dimethylsilicium)-m-oxo]  
(Poly(dimethylsiloxan) –PDMS-)

In unserer Arbeitsgruppe wird eine selbsthergestellte Emulsion (45g Elastomer Teil A (viskös), 4,5g Elastomer Teil B (flüssig) + 270g Ethylacetat) aus MED-4011 Silikon mit einem Härtegrad von 30 Shore (Fa. NuSil Technology, Carpinteria, USA) verwendet. Um gleichmäßige und vergleichbare Beschichtungen zu erreichen, wird eine maschinelle Methode von außen angewandt (Abb. 2.2.) [83].

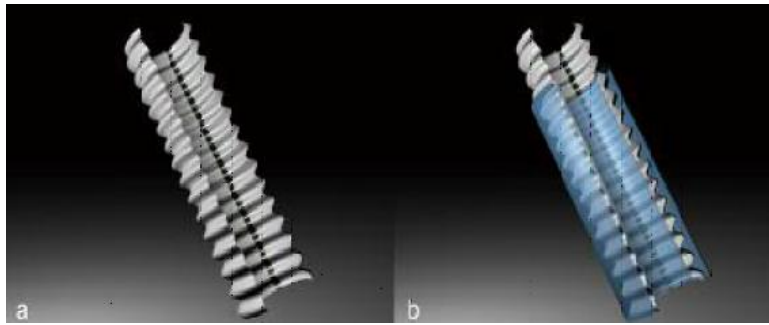
Bei dieser Methode wird eine Polyesterprothese bei 20g Vordehnung auf 21cm Länge zurechtgeschnitten. Auf einer Edelstahlstange mit einem Durchmesser von 4mm werden die Prothesen anschließend auf verstellbaren und geriffelten Metallkoni mittels Draht befestigt. Diese Stangen werden in eine Drehmaschine (PD 400, Firma Proxxon, Niersbach, Deutschland) eingespannt und mit 100U/min in der Längsachse rotiert. Währenddessen fährt ein Support mit einer Geschwindigkeit von 16mm/min entlang dieser Achse. An diesem Support ist eine Perfusornadel durch einen Teflon-Schlauch (Ø4mm der Fa. Pfister und Pfrang, Waldbüttelbrunn, Deutschland) mit der Perfusorspritze verbunden. Durch den Perfusor (Perfusor® segura FT der Fa. B.Braun) wird eine definierte Menge/Zeit auf die rotierende Prothese aufgetropft. Dieser Vorgang wird zweimal wiederholt, wobei beim ersten Durchgang 25ml/h und beim 2. Durchgang 15ml/h auf die Prothese getropft werden.



**Abbildung 2.2.:**

Dargestellt ist die Drehmaschine von Proxxon mit der auf einer Edelstahlstange befestigten Prothese. Darüber (am rechten Ende der Prothese) wird durch eine über einen Schlauch mit dem Perfusor (nicht abgebildet) verbundene Kanüle das Silikon aufgetropft. Der Support (gelb) fährt währenddessen entlang der Prothese (im Beispiel nach links). (Eigenmaterial)

Nach der Beschichtung wird die Prothese samt Trägerstange für 48 Stunden bei 70° C im Wärmeschrank getrocknet. Dabei verdampft das Ethylacetat und hinterlässt eine ausgehärtete polymerisierte Silikonoberfläche. Zudem wird durch die Wärme die Polymerisation beschleunigt.

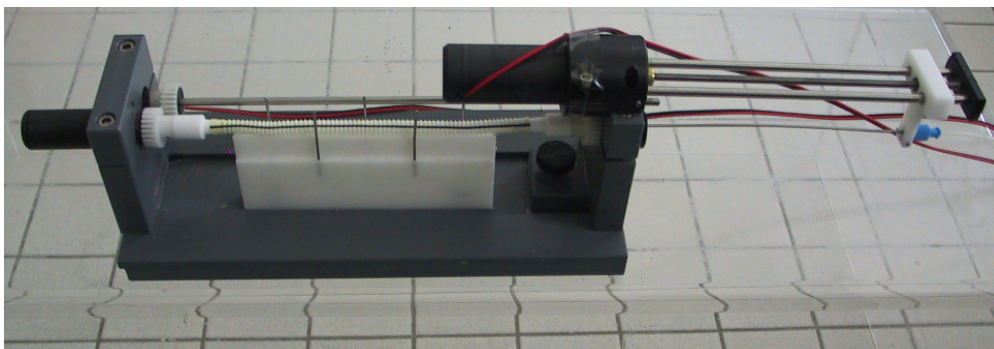


**Abbildung 2.3.:**

Die unbeschichtete Polyesterprothese (a) wird durch eine Silikonschicht abgedichtet (b) (Bildmaterial mit Genehmigung von PD Dr. Larena- Avellaneda, Würzburg)

Um eine vollständige und glatte Oberfläche an der Innenfläche der Prothesenwand zu erhalten, wurde eine Möglichkeit entwickelt, die Prothese in einem 3. Beschichtungsdurchgang von innen zu beschichten (Abb. 2.4.).

Die Prothese wird in eine dafür gebaute Vorrichtung auf Kunststoffkoni eingespannt. Bei der Beschichtung rotiert die Prothese mit 20U/min. Gleichzeitig wird eine Tropfvorrichtung mit einer Geschwindigkeit von 24mm/min im Inneren der Prothese vorwärts bewegt und gibt dabei eine Silikonmenge von 15ml/h ab. Damit es nicht zu einer Tropfenbildung im Prothesenlumen und somit unterschiedlichen Schichtdicken kommt, sollten danach die Überschüsse mit den Fingern ausgestrichen werden. Anschließend wird die Prothese wieder für 48 Stunden im Wärmeschrank getrocknet. Die so beschichteten Prothesen sind als primär dicht anzusehen (Prothese vor und nach der Beschichtung in Abb. 2.3.). Gegebenenfalls muss eine 4. Beschichtung mit einer geringeren Silikonmenge durchgeführt oder die Flussrate erhöht werden.



**Abbildung 2.4.:**

Vorrichtung für die Beschichtung von innen. Die Prothese ist zwischen 2 Koni aufgespannt und rotiert. Gleichzeitig wird das mit dem Perfusor (nicht abgebildet) verbundene (blaues Verbindungsstück) dünne Edelstahlrohr durch die Prothese bewegt und tropft dabei das Silikon ab. Die Prothese ist auf dem weißen Support abgestützt, um ein Durchhängen zu verhindern. (Eigenmaterial)

### 2.1.2. Oberflächenmodifizierung

Um zu untersuchen, ob die antiinfektiösen beziehungsweise antithrombogenen Eigenschaften verbessert werden können, wurden verschiedene Moleküle an die Silikonoberfläche gebunden.

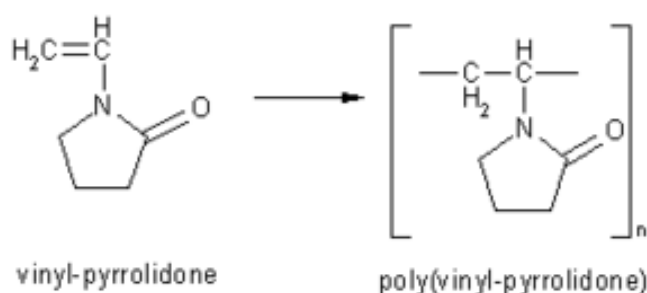
Dies erfolgte in der Firma "bionic surfaces" (Würzburg, Deutschland) durch einen nasschemischen Bearbeitungsschritt. Zur Anwendung kamen Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polyvinylalkohol (PVA), Phosphorylcholin (PC), eine amphotere Oberfläche, Silber und die Kombination von Silber und PVA. Damit die Moleküle gebunden werden können, müssen die Prothesen zunächst durch eine Methanollösung aktiviert werden.

Nach einer Spülung mit de-ionisiertem Wasser können die in einem Lösungsmittel verdünnten Stoffe kovalent an die Prothese gebunden werden. Durch diese feste Bindung verbleiben die Moleküle auf der Oberfläche.

Im Folgenden soll kurz auf die Eigenschaften der gewählten Stoffe eingegangen werden.

*Polyvinylpyrrolidon* - PVP ist ein aus Vinylpyrrolidon zusammengesetztes Polymer (Strukturformel siehe Abb.2.5.). Es wird als amorphes Pulver in Wasser oder organischen Lösungsmittel gelöst und ist als Polymer gesundheitlich unbedenklich. Es findet als Hilfsstoff in der pharmazeutischen Industrie, zum Beispiel in Augentropfen und als Bindemittel in Tabletten Anwendung. Außerdem wird es für die Herstellung von Membranen in der Dialysetechnik und als PVP-Jod in der Wundbehandlung genutzt.

Es wurde bei PVP eine Reduktion der Proteinadsorption festgestellt [84, 85]. Diese Eigenschaft wollen wir zur Schaffung einer antithrombogenen Oberfläche nutzen.

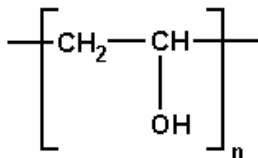


**Abbildung 2.5.:**

Strukturformeln von Vinylpyrrolidon und Polyvinylpyrrolidon

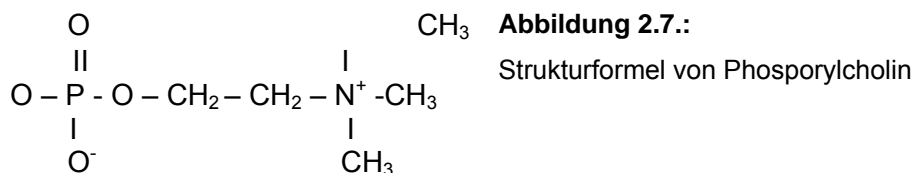
*Polyvinylalkohol* – PVA ist ein aus Polyvinylacetat hergestellter polymerer Kunststoff (Strukturformel siehe Abb.2.6.). Es ist hydrophil, nicht toxisch und besitzt gute adhäsive Eigenschaften. Es wird in selbstauflösenden Nahtmaterialien, Medikamenten und Augentropfen verwendet. Auch bei PVA-modifizierten PDMS-Prothesen wurde eine geringere Proteinbindung nachgewiesen [85].

**Abbildung 2.6.:**



vereinfachte Strukturformel von Polyvinylalkohol

*Phosphorylcholin* - PC, das man als Bestandteil von Zellmembranen kennt, ist eines der wichtigsten Phospholipide (Strukturformel siehe Abb. 2.7.). Es ist ein beständiger, biokompatibler, hydrophiler und bi-ionischer Stoff und wird unter anderem zur Beschichtung von Koronarstents, Kontaktlinsen und Kathetern verwendet. In verschiedenen Studien wurde eine verminderte Adhärenz von Zellen, vor allem für Bakterien, und eine verringerte Proteinbindung bestätigt [86, 87].



**Abbildung 2.7.:**

Strukturformel von Phosphorylcholin

*Amphotere Oberfläche* - Als amphoter (von altgriechisch amphoteris „auf beiderlei Art“) bezeichnet man in der Chemie einen Stoff, der, je nach Milieu oder Reaktionspartner, in der einen oder anderen Weise reagiert. Redox-Amphotere sind zum Beispiel Stoffe, die sowohl oxidierend als auch reduzierend wirken können. In dieser Arbeit bezieht sich dieses Wort allerdings auf die Ladung der Oberfläche. In einem nass-chemischen Vorgang werden verschiedene funktionelle Gruppen an das Silikon gebunden. Das heißt die Oberfläche trägt danach sowohl an- als auch kationische Ladungsträger. Erhofft wird sich dadurch eine antibakterielle Wirkung.

*Silber* - Zum Einsatz kommt das so genannte kolloidale Silber, das heißt in Wasser gelöste elektrisch geladene Silberteilchen. Silber besitzt ein großes Wirkspektrum,

soll keine Resistenzen auslösen und gilt als toxisch unbedenklich. In der Gefäßchirurgie werden unter anderem Silber-gebundene Prothesen in Kombination mit Antibiotika oder allein, dann aber in Verbindung mit Kollagen, angewandt [55, 88]

### 2.1.3. Einbringen von Medikamenten in die Prothesen

*Paclitaxel (Taxol®)* - Paclitaxel wird aus der Rinde der Pazifischen Eibe (*Taxus brevifolia*) beziehungsweise aus den in den Nadeln der Europäischen Eibe (*Taxus baccata*) vorkommenden Baccatin III gewonnen und gehört zur Gruppe der Taxane (Strukturformel Abb. 2.8.). Dieses Medikament wird zur chemotherapeutischen Behandlung von Krebserkrankungen und zur Beeinflussung der Intimahyperplasieentstehung in beschichteten Stents verwendet. Paclitaxel stört den Abbau der Mikrotubuli des Spindelapparates (deshalb auch Spindelgift genannt) während der Zellteilung (Mitose). Da dadurch alle Zellen beeinflusst werden, können verschiedenste Nebenwirkungen auftreten. Hauptsächlich wirkt es aber auf sich schnell-teilende Zellen, z.B. Tumorzellen.

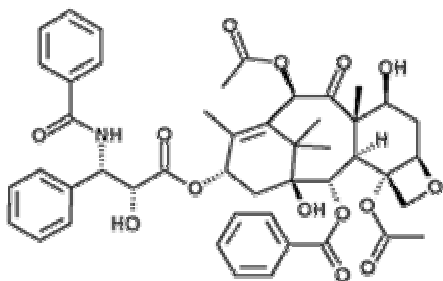


Abbildung 2.8.:

Strukturformel von Paclitaxel (Taxol®)

Zur Untersuchung der Medikamentenelution wurde in einem weiteren nasschemischen Prozess das Medikament Paclitaxel® (Artikel-Nr. 83346, Fa. Sigma-Aldrich Buchs, St. Louis, USA) an die Silikon-beschichteten Prothesen gebunden. Dieser Prozess erfolgte wieder bei "bionic surfaces" durch Dr. Siegel. Dazu wurde 5mg Paclitaxel in 100ml Ethylacetat gelöst. Aus dieser Lösung wurden 50ml entnommen und nochmals mit 50ml Ethylacetat verdünnt. Von dieser 2. Lösung wurden 50ml verworfen, so dass am Ende 2 Lösungen entstanden, wobei die 2. Lösung nur halb so viel Paclitaxel beinhaltet wie die erste. Die Prothesen wurden dann über ca. 48 Stunden mit den jeweiligen Lösungen kontaktiert und anschließend bei Raumtemperatur getrocknet.

## 2.2. Untersuchung der Eigenschaften

### 2.2.1. Dichtigkeit

Das die Silikon-beschichtete Prothese bezüglich der Dichtigkeit im Vergleich mit herkömmlichen Prothesen vergleichbar gut beziehungsweise sogar besser abschneidet, ist durch die Arbeiten unserer Arbeitsgruppe bereits bestätigt worden [34]. Nun sollte festgestellt werden, wie sich die Umstellung des Beschichtungsprozesses auf die Dichtigkeit auswirkt. Außerdem sollte der Flüssigkeitsverlust nach Einstich verschiedener Kanülen und Venenverweilkanülen beurteilt werden.

Der Versuchsaufbau bestand aus einem auf 1,20m Höhe befestigten Wasserreservoir mit Auslaufhahn, einem damit verbundenen 1,20m langen Silikonschlauch (6mm) und einem Schlauchverbindungsstück (beides Fa. Hartenstein, Würzburg, Deutschland) an dem die Prothese mittels Draht befestigt wurde. Das andere Ende der Prothese wurde mit einer Gefäßklemme abgedichtet.

Durch den mit Wasser gefüllten 120cm langen Schlauch wurde ein physiologischer Druck von 120mmHg hergestellt. Das Wasserreservoir stellte sicher, dass der durch die Undichtigkeit der Prothese entstandene Wasserverlust sofort wieder ersetzt wird. Getestet wurden folgende Prothesen:

- eine Silikon-beschichtete Polyesterprothese Protegraft DV 1900 Ø6mm (Fa. B.Braun, Melsungen, Deutschland)
- eine mit Kollagen beschichtete Prothese Intergard® Ø6mm (Fa. Intervascular, Datascope, La Ciotat, Frankreich)
- eine neue 3-schichtige PTFE-Prothese Rapidax® Ø6mm (-PTFE, Elastomer, PTFE- der Fa. Vascutek, Terumo, Inchinnan, Schottland)
- eine herkömmliche PTFE-Prothese Ø6mm (Fa. Gore, Newark, USA).

Zuerst wurde der durch die Porosität der Prothese verursachte durchschnittliche Wasserverlust nach dreimal einer Minute gemessen, indem das ausgetretene Wasser aufgefangen und mit einer Briefwaage gewogen wurde.

Anschließend wurden Kanülen (Microlance™3, Fa. Becton-Dickinson, Franklin Lakes, USA) und Venenverweilkanülen (Vasofix® Safety; Fa. B.Braun, Melsungen, Deutschland) verschiedenen Durchmessers in die Prothesen eingestochen und wie-



der herausgezogen und der durch die resultierenden Defekte bedingte Wasserverlust gemessen. Damit es zu keiner Ergebnisverfälschung kam, wurden bereits eingestochene Prothesenbereiche abgeklemmt.

### **2.2.2. Oberflächenthrombogenität**

Um den Einfluss verschiedener Prothesenoberflächen auf die Gerinnung beurteilen zu können, wurde das mit den Oberflächen kontaktierte Blut hinsichtlich allgemeiner Gerinnungsparameter untersucht. Außerdem wurde die Anwesenheit von Aktivatoren der Gerinnung und der Fibrinolyse analysiert. Zum Einsatz kamen dabei etablierte Methoden wie das ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbend Assay) und die Durchflussszytometrie.

In den verschiedenen Tests wurden folgende Oberflächen untersucht:

- unbeschichtete PET-Prothese Protegraft DV 1900 Ø6mm
- Silikon-beschichtete PET-Prothese Protegraft DV 1900 Ø6mm
- mit PVA, PVA/Silber, PVP, PC und Silber modifizierte Silikon-beschichtete PET-Prothese Protegraft DV 1900 Ø6mm
- PTFE-Prothese Ø6mm (Fa. Gore, Newark, USA)
- mit Gelatine-imprägnierte PET-Prothese Ø6mm (Fa. Vascutek, Terumo, Inchinnan, Schottland)
- Silikonröhrchen Ø6mm

Für die Versuche wurde einem Probanden Blut entnommen. Der Proband war gesund, Nichtraucher und hatte in den 14 Tagen zuvor keine Medikamente eingenommen. Da die Thrombozyten durch eine fehlerhaft durchgeführte Blutentnahme und Schütteln der Blutproben aktiviert werden können, wurde so schonend wie möglich gearbeitet.

Dem Probanden wurde ein Butterfly in eine Armvene gelegt und mit Hilfe eines Dreiwegehahns ohne vorherige Heparinisierung mit einer 10ml Spritze Blut abgenommen. Nach jeder Blutentnahme wurde der Butterfly mit 3ml Kochsalzlösung gespült. Die zu untersuchenden sterilen Prothesen wurden, nach kurzem Einlegen in Ringerlösung, auf einer dafür gebauten Apparatur mit definierter Neigung platziert. Das ab-

genommene Blut wurde nun in die Prothesen gegeben und nach 1 Minute Durchlaufzeit in Zitratröhrchen am anderen Ende wieder aufgefangen. Um zu verhindern, dass schon geronnenes Blut mit entnommen wird, wurden die ersten 3 ml der darauf folgenden Blutentnahme verworfen.

In einer Wiederholung des Versuches wurde nach je 2 Blutentnahmen ein neuer Butterfly gelegt. Dies sollte eine zusätzliche Vorgerinnung verhindern, die auftreten kann, wenn alle Proben über längere Zeit aus einem Butterfly abgenommen werden. Nach Beendigung der Versuche wurden die Proben sofort in das Zentrallabor der Universität Würzburg (Leiter: Prof. Dr. U. Walter, Teil der Auswertung mit Fr. Dr. Kobsar) gebracht, um die allgemeinen Gerinnungsparameter und die Fibrinogenbindung an Thrombozyten bestimmen zu lassen.

Nach einer dritten Durchführung des Versuchsablaufs wurde das entnommene Blut in das Labor der Kinderklinik zur Analyse der Thrombozytenaggregatbildung gebracht.

Im Labor wurden folgende Parameter bestimmt:

### **2.2.2.1. Allgemeine Gerinnungsparameter**

*Quick-Wert (Thomboplastinzeit, Prothrombinzeit)*

Bei der Quick-Wertbestimmung wird plättchenarmes Zitratplasma durch Zusatz von Gewebsthromboplastin und Calciumionen zur Gerinnung gebracht. Die Zeit bis zur Gerinnselbildung wird in Sekunden gemessen und ist abhängig von den Faktoren I, II, V, VII und X. Der Quickwert erfasst Gerinnungsstörungen im extrinsischen System. Normwert: 70-120%

$$\text{Quick (\%)} = \frac{\text{TPZ-Patientenplasma (sec)}}{\text{TPZ-Normalplasmapool (sec)}}$$

*INR (International Normalized Ratio) - Prothrombinratio*

Die INR ist der Quotient aus der Gerinnungszeit des Patientenplasmas und eines Normalplasmas. Normalwert=1. Der therapeutische Bereich liegt zwischen 2,0-4,5.

### *Partielle Thromboplastinzeit (PTT)*

Die PTT überprüft das Intrinsische System. Zur Messung der PTT wird die Gerinnung durch Zugabe von partiellem Thromboplastin (*Plättchenfaktor 3*, einem proteinfreien Phospholipidextrakt), einer oberflächenaktiven Substanz (z.B. Kaolin) und Calcium-Ionen zum Zitratblut wieder in Gang gesetzt und die Zeit bis zum Eintreten der Gerinnung ermittelt. Dadurch lassen sich die Qualität und die Quantität folgender Gerinnungsfaktoren prüfen: I, II, V, VIII, IX, X, XI und XII. Normwert: 20-38sec.

### *Fibrinogen*

Citratplasma wird mit einem großen Überschuss an Thrombin zur Gerinnung gebracht (Methode nach Clauss). Die Gerinnungszeit hängt hierbei weitgehend vom Fibrinogengehalt der Probe ab. Bei Gerinnungsstörungen und bei krankhafter Aktivierung der Blutgerinnung wird der Fibrinogenwert ermittelt. Normwert: 1,8–3,5g/l.

### **2.2.2.2. Bestimmung von Fibrinolyse – u. Gerinnungsaktivatoren mittels ELISA**

#### *Prothrombinfragmente F1+2*

Die Prothrombinfragmente F1+2 werden mittels ELISA nach der Sandwich-Methode quantitativ bestimmt. Dabei bindet das Blut auf Mikrotitrationsplatten mit Antikörpern und wird danach photometrisch gemessen. Die Bestimmung erfolgte mit Hilfe von Enzygnost® F1+2 micro (Fa. Dade Behring GmbH, Eschborn, Deutschland)).

Die Fragmente entstehen bei der Bildung von Thrombin aus Prothrombin und können somit zur Aussage für die Gerinnungsaktivität herangezogen werden.

Referenzbereich: 69–229pmol/l

#### *D-Dimere*

Die D-Dimere sind Spaltprodukte der Fibrinolyse und bewerten die Stärke der Fibrinolyseaktivität. Auch bei der Bestimmung der D-Dimere wird das ELISA angewandt. Da die Dimere mehrere antigene Determinanten besitzen, werden in 2 Immunreaktionen mit 2 verschiedenen Antikörpern Sandwichkomplexe gebildet. Der 2. Antikörper ist markiert, so dass die Menge gebildeter Komplexe photometrisch ge-

messen werden kann. Die Bestimmung erfolgte mit dem Innovance® D-Dimer Kit (Fa. Dade Behring GmbH, Eschborn, Deutschland). Referenzbereich: 0-0,55mg/l FEU (Milligramm pro Liter Fibrinogen äquivalente Einheiten – engl. Fibrinogen Equivalent Units).

### **2.2.2.3. Bestimmung von Gerinnungsaktivatoren mittels Durchflusszytometrie**

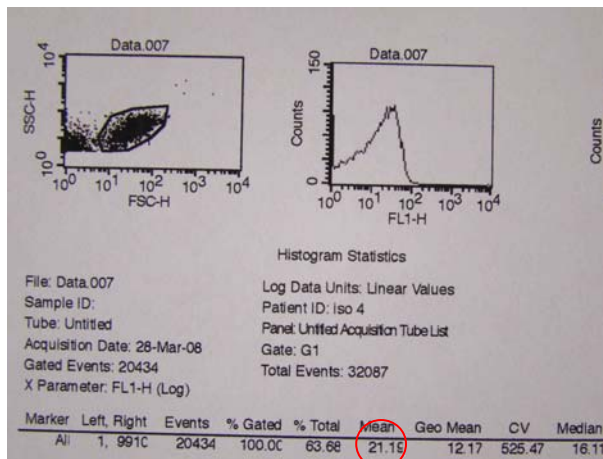
Die Durchflusszytometrie, auch FACS-Analyse genannt, ist ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Oberflächenmolekülen und intrazellulären Proteinen. Grundlage ist die Antigen–Antikörper-Reaktion mit Fluoreszenzfarbstoff-markierten Antikörpern. Zur Analyse werden die Zellen einer Suspension an einem gebündelten Laserstrahl geeigneter Wellenlänge vorbeigeleitet. Durch den monochromatischen (einfarbigem) Laserstrahl werden die Elektronen des Fluoreszenzfarbstoffes auf ein höheres Energieniveau gehoben. Nach dem Laserpuls fallen die Elektronen unter Abgabe von Energie (in Form von Photonen) auf ihr Ursprungsniveau zurück. Die emittierte Photonenkonzentration, die durch einen Photodetektor registriert wird, verhält sich proportional zur Menge an gebundenen Antikörpern/Zelle. Zusätzlich werden durch die Lichtbeugung und –streuung Informationen über die Zellgröße und die Struktur der Zellen gewonnen.

Wir machten uns diese Methode zur Quantifizierung aktivierter Thrombozyten bzw. von an aktivierte Thrombozyten gebundenem Fibrinogen zu Nutzen.

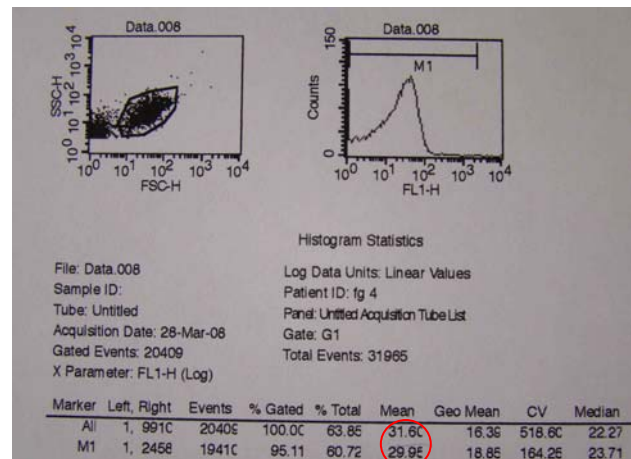
#### *Messung von gebundenem Fibrinogen an Thrombozyten*

In einer weiteren Methode untersuchten wir die Fibrinogenbindung an aktivierte Thrombozyten. Hierzu wurden 2 verschiedene Antikörper verwendet. Der erste Antikörper (IgY-Ak FITC) bindet unspezifisch an verschiedene Bindungsstellen von Blutbestandteilen. Der zweite bindet zusätzlich noch an gebundenes Fibrinogen (Anti-human Fibrinogen/FITC Konjugat). Das heisst, die Menge an gebundenem Anti-human Fibrinogen muss die Menge an gebundenem IgY–Ak übersteigen. Durch Zentrifugieren werden das Blutplasma und die Thrombozyten gewonnen. Von jeder Probe werden 2 Teilmengen genommen und nach einigen Zwischenschritten mit dem Antikörper kontaktiert. Anschließend wird das Ausmaß der eingegangenen Bindungen mittels Durchflusszytometrie analysiert (siehe Abb.2.9.). Die Differenz zwi-

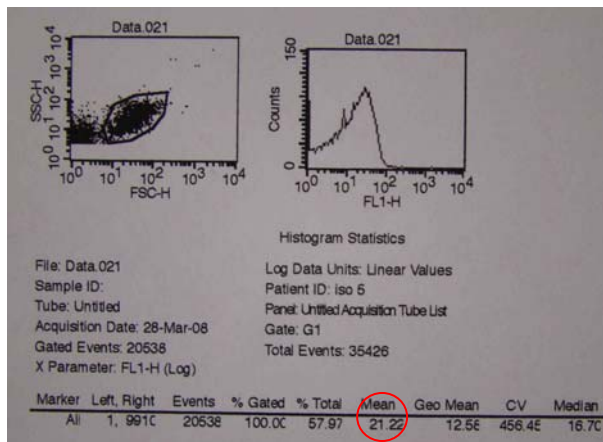
schen den beiden ermittelten Werten ("Mean-Fluorescence"-Werte) ergibt zu jeder Probe das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung. Wichtig dabei ist, dass die "Mean-Fluorescence" der IgY-Bindung bei allen Proben auf vergleichbare Werte (in diesem Versuch in einem Bereich von 19-22) eingestellt wird, da durch eine zu niedrige beziehungsweise hohe Einstellung eine übermäßige Verschiebung der Kurven für die Fibrinogenbindung nach rechts oder links erfolgt. Ein Vergleich wäre dann nicht möglich. Von einer relevanten Gerinnungsaktivierung kann man ab einer Differenz von etwa 10 sprechen.



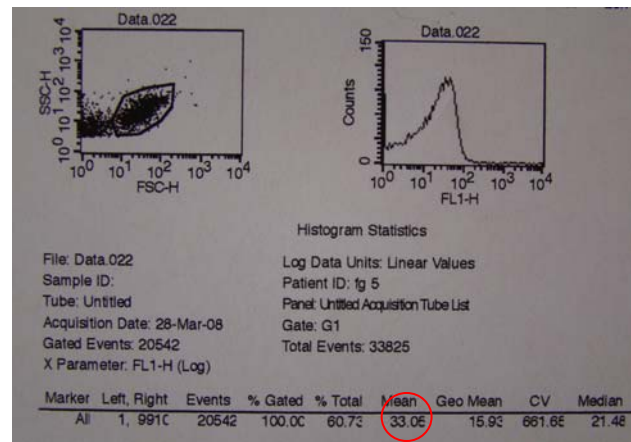
Blut/Kontrolle - IgY-Ak



Blut/Kontrolle - Anti-human-Fibrinogen-Ak



Gelatine-Prothese - IgY-Ak



Gelatine-Prothese - Anti-human-Fibrinogen-Ak

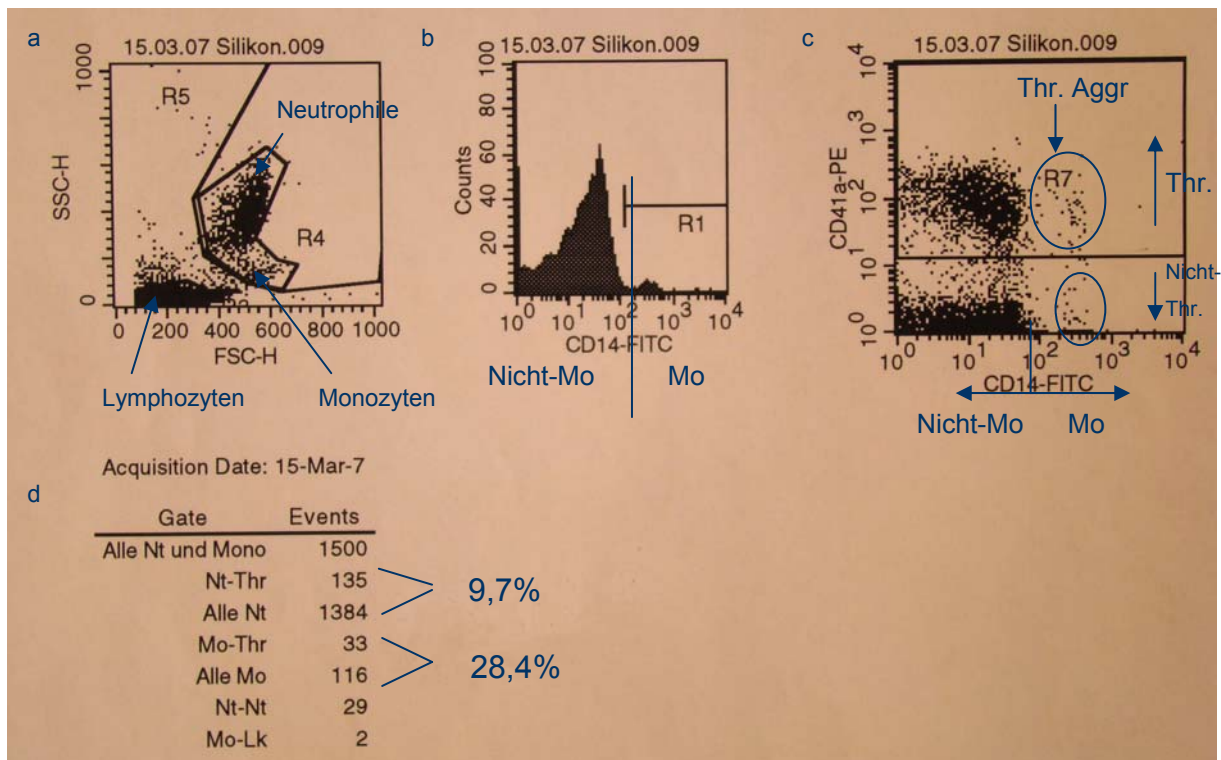
**Abbildung 2.9.:**

Daten der FACS-Analyse. Im Vergleich die Ergebnisse der zu Beginn des Versuches abgenommenen Blutprobe als Kontrolle (oben) und eine Blutprobe nach Durchlauf durch eine Gelatine-Prothese (unten). Links sind die Werte nach Messung der IgY-Bindung, rechts nach Bindung des Fibrinogen-Ak's abgebildet. Rot umrandet sind die "Mean-Fluorescence"-Werte der jeweiligen Probe. Die Differenz zwischen IgY- und Fibrinogenbindung erlaubt eine Aussage über das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung. Im Beispiel erfolgte mit einer Differenz von 11,82 (33,08-21,22) bei der Kollagen-Prothese also eine Gerinnungsaktivierung gegenüber der Kontrolle mit 8,8 (29,96-21,16).

## Messung von Thrombozytenaggregaten

Aktivierte Thrombozyten bilden Aggregate mit Monozyten und neutrophilen Granulozyten. Im Rahmen der Adhäsion aktivierter Thrombozyten an Monozyten sind thrombozytäre Glykoproteinkomplexe IIb/IIIa beteiligt. Diese binden am CD41a-Rezeptor. Ein wichtiger Rezeptor der Monozyten für die Bindung verschiedenster Proteine ist der CD14-Rezeptor.

Zur Quantifizierung der entstandenen Aggregate verwendeten wir jeweils 3µl von CD41a-PE- und CD14-FITC-Antikörpern in 10µl Probandenblut. Nach mehreren Zwischenschritten erfolgte schließlich die FACS-Analyse. In Streudiagrammen ("Scatter Plots") werden die verschiedenen gemessenen Zellpopulationen dargestellt (siehe Abb. 2.10.). Anschließend können sie durch sogenannte Gates voneinander getrennt werden.



**Abbildung 2.10.:**

Bsp. eines Streudiagramms der Thrombozyten-Monozyten-Aggregatbildung

a) Zur Unterscheidung von neutrophilen Granulozyten, Monozyten sowie Lymphozyten wurde CD14-FITC-Antikörper (Monozytenmarker) angewandt. Durch "Gates" (schwarze Linien) wurden die Monozyten von den anderen Subpopulationen getrennt und einzeln dargestellt (b). Nach Bindung von CD41a-PE-Antikörpern (Thrombozytenmarker) konnten die Aggregatbildungen erkenntlich gemacht werden (c). In d) wird der prozentuale Anteil von Neutrophilen-Thrombozyten-Aggregaten und Monozyten-Thrombozyten-Aggregaten dargestellt.

Durch die Bindung der Antikörper sind die Thrombozyten und Monozyten von den anderen Zellen zu unterscheiden. Aus der gemessenen Gesamtzahl der Monozyten bzw. neutrophilen Granulozyten und der Anzahl der gemessenen Neutrophilen-Thrombozyten (N/T)– und Monozyten-Thrombozyten (M/T)–Aggregate lassen sich Prozentwerte errechnen, die miteinander verglichen werden können.

### **2.2.3. Die antiinfektiöse Oberfläche**

Durch die Bindung von Silber an die Prothesenoberfläche soll das Auftreten von Infektionen verhindert beziehungsweise die Gefahr dafür vermindert werden.

#### **2.2.3.1. In vitro Aktivität von Silber–beschichteten Prothesen gegen *S. aureus***

In einem *in vitro* Versuch sollte die Effektivität von Silber–beschichteten Kathetern nachgewiesen werden. Der Versuch erfolgte im Institut für Hygiene und Mikrobiologie der Universität Würzburg in Zusammenarbeit mit Dr. Valenza.

Zur Testung des bakteriziden Effektes und der bakteriellen Adhärenzfähigkeit wurden 3cm lange sterile Katheterstücke aus Silikon mit verschiedenen modifizierten Oberflächen in einer Suspension mit dem *Staphylococcus aureus*–Stamm ATCC 12228 inkubiert.

Die 5 Katheter waren wie folgt beschichtet (in der Fa. "Bionic Surfaces", Würzburg, Deutschland):

- Katheter 1 mit Silber;
- Katheter 2 mit einem Stoff (Name aus patentrechtlichen Gründen nicht genannt), der einen antibakteriziden Effekt aufweisen soll;
- Katheter 3 war ein unbeschichteter nur mit Lösungsmittel behandelter Silikonkatheter und diente als Kontrolle;
- Katheter 4 und 5 erhielten eine amphoteren Beschichtung, wobei Katheter 5 eine um die Hälfte niedrigere Beschichtungsdichte aufwies

Alle Katheter wurden vor Beginn des Versuches in Ringerlösung gewaschen und anschließend getrocknet. Zur Gewinnung der Bakterienkultur sind die Bakterienstämme in 0.5 Farland standard ( $1,3 \times 10^8$  CFU (colony forming units)/ml) vorbereitet und für 24 Stunden bei  $37^\circ \text{C}$  auf dem Rüttler inkubiert worden. Im folgenden Schritt wurden 100 $\mu\text{l}$  der Suspension auf eine Columbia Agar Platte verteilt und mit 5% Schafblut für 24 Stunden bei  $37^\circ \text{C}$  zusammen mit den dazugelegten Katheterstücken inkubiert. Die gewachsenen Kolonien wurden gezählt. Im nächsten Schritt wurden die Katheterstücke entfernt und nach dreimaligem Waschen mit 0,85% NaCl-Lösung in 10ml steriler 0,85% NaCl-Lösung für 90 Sekunden gevortexed. Aus dieser Lösung wurden 100 $\mu\text{l}$  wieder mit 5% Schafblut auf einer Columbia Agar Platte für 24 Stunden bei  $37^\circ \text{C}$  inkubiert und schließlich ausgezählt.

### **2.2.3.2. Biolumineszente Darstellung von bakteriellen Biofilmen *in vitro***

In einem 2. Versuch wurden durch Dr. Lorenz (Chirurgie, Universität Würzburg) mittels einer Kamera lumineszente Signale von vorbehandelten Bakterien auf verschiedenen Prothesenoberflächen aufgenommen. Alle Prothesen hatten einen Durchmesser von 6mm. Untersucht wurden eine Kollagen-beschichtete PET-Prothese Intergard® (Fa. Intervascular, Datascope, La Ciotat, Frankreich) (C), sowie 3 mit Silikon beschichtete PET-Prothesen (Protegraft DV 1900), wobei eine nicht zusätzlich modifiziert (A), eine mit Silber imprägniert (D) und eine mit einer amphoteren Oberfläche (B) versehen wurde. Es sollte eine Aussage über das Ausmaß der bakteriellen Besiedlung getroffen werden. Verwendet wurde ein Staphylococcus aureus-Stamm der mit einem "Lumineszenz Lux Operon" genmanipuliert wurde. So entstanden Staphylococcus aureus xen29- Bakterien die eine messbare Menge an Photonen aussenden. Die Bakterien wurden bei  $37^\circ \text{C}$  zusammen mit den sterilisierten Prothesenteilen für 24 Stunden in einer Nährlösung inkubiert. Um nicht-adhärenente Bakterien zu entfernen, wurden die Prothesenteile anschließend mit einer Natriumchloridlösung gespült. Danach wurden die von den Bakterien abgegebenen Lumineszenzsignale mit einem IVIS 11212 "Charge-coupled Device" (CCD) Kamerasystem (Fa. Xenogen Corp., Alameda, USA) gemessen. Mit Hilfe der mitgelieferten Software konnte die totale Photonenemission quantifiziert werden.



#### **2.2.4. Medikamentenelution**

Die Testung der Paclitaxel–Elution erfolgte in einem dynamischen und einem statischen Versuchsaufbau. Der Versuch wurde mit 2 verschiedenen Prothesen durchgeführt. Die zweite Prothese verfügte dabei nur über die Hälfte der Paclitaxelmenge die an die erste Prothese gebunden war.

##### **2.2.4.1. Dynamischer Versuch**

Zur Durchführung des dynamischen Versuches wurde ein aus PTFE–Schläuchen ( $\varnothing$  6mm, Fa. Hartenstein, Würzburg Deutschland), Schlauchverbindungsstücken (SV22, Fa. Hartenstein) und einem eingebauten 3-Wegehahn (Fa. B.Braun, Melsungen, Deutschland) bestehender Kreislauf aufgebaut. Eine mit Paclitaxel modifizierte Prothese wurde zwischengeschaltet. Als Flüssigkeitsmedium diente 5% Humanalbumin (50g/l Fa. Baxter, Deerfield, USA). Der Flüssigkeitsstrom wurde durch eine Pumpe (Pulsatile Blood Pump, Fa. Harvard Apparatus, Holliston, USA) aufrechterhalten. Um standardisierte Bedingungen zu schaffen, wurde die Pumpe auf 70 Schläge/min eingestellt. Durch einen senkrecht ausgerichteten 1,20m langen PTFE–Schlauch und einen flüssigkeitsgefüllten Trichter (Fa. Rotho, Würenlingen, Schweiz) wurde ein physiologischer Druck erzeugt. Das Modell lief längstens bis zum 21. Tag.

##### **2.2.4.2. Statischer Versuch**

Im statischen Versuch wurde das Humanalbumin bei einer Flussrate von 1ml/h mit einem Perfusor (Perfusor® segura FT der Fa. B.Braun, Melsungen, Deutschland) über einen PTFE–Schlauch ( $\varnothing$  4mm, Fa. Pfister und Pfrang, Waldbüttelbrunn, Deutschland) durch die Prothese gepumpt und in einem Behälter aufgefangen.

Zu festgelegten Zeitpunkten wurden Flüssigkeitsproben entnommen und bei  $-25^{\circ}$  C tiefgefroren. Vor Start des Versuches wurden beide Systeme für 10 Minuten mit destilliertem Wasser gespült. Am Ende wurden alle Proben bei  $-80^{\circ}$ C gefroren.

Zur Quantifizierung des Taxols (durch Fr. Dragan, Experimentelle Transplantationssimmunologie der Universität Würzburg) wurden die Proben auf Raumtemperatur aufgetaut und anschließend mit einem monoklonal Antikörper–basierenden Immuno–

Assay (Fa. Cardax Pharmaceuticals, Aiea, USA) analysiert. Das Immuno-Assay beinhaltet ein Taxol-Protein bindendes Antigen, ein Anti-Taxol Antikörper und Taxol-Standard. Die Auswertung (durch Fr. Prof. Waaga-Gasser, Molekularen Onko-Immunologie Würzburg der Universität Würzburg) erfolgte nach den mitgelieferten TA02-Instruktionen und den dort geforderten Hilfsmitteln.

## **3. Ergebnisse**

### **3.1. Herstellungsprozess**

Die Umstellung des Beschichtungsprozesses konnte realisiert und etabliert werden. Nach 2 Beschichtungen von außen konnte mit der neuen Vorrichtung eine 3. Beschichtung von innen angefügt werden. Dadurch wurden an der Innenfläche eine gleichmäßige Benetzung mit Silikon und eine glatte Oberfläche erzielt. Außerdem wird durch die neue Beschichtungsart Zeit und Silikon gespart, da die Tropfvorrichtung schneller durch die Prothese bewegt wird als bei der Beschichtung von außen. Im Vergleich wird bei der Beschichtung von innen in 6 Minuten 1,37g Silikonlösung auf die Prothese getropft, wohingegen die Beschichtung von außen mit 12 Minuten doppelt so lange dauert und mit 2,74g Silikon die doppelte Menge pro Beschichtungsvorgang verbraucht wird. Wie in den Arbeiten der Arbeitsgruppe gezeigt, nimmt die Polyester-prothese mit der Anzahl der Beschichtungsdurchgänge weniger Silikon auf [81, 82]. Aus diesem Grund konnte die Flussrate in der 2. und 3. Beschichtung von 25ml/min auf 15ml/min reduziert werden.

Die Prothesen wiesen bei einer Länge von 21cm vor der Beschichtung ein Gewicht von  $0,85 \pm 0,05$ g und danach von  $2,25 \pm 0,1$ g auf. Dementsprechend wurden die Prothesen mit  $1,4 \pm 0,15$ g Silikonlösung beschichtet und abgedichtet.

Subjektiv beurteilt, empfand ein erfahrener Chirurg die mittels dem neuem Verfahren beschichteten Prothesen bezüglich ihrer Handhabung als vergleichbar mit den zuvor nur von außen beschichteten beziehungsweise herkömmlichen Prothesen.

### **3.2. Dichtigkeit**

Nach 3 Beschichtungsvorgängen konnte bei 10 getesteten Prothesen und einem Druck von 120mmHg ein durchschnittlicher Wasserverlust von  $0,1 \text{ml/cm}^2/\text{min}$  ermittelt werden. Dieser Wasserverlust trat überwiegend an den Prothesenenden auf.

Im Versuch zur Testung des Flüssigkeitsverlustes waren alle Prothesen außer der herkömmlichen PET-Prothese (Intergard®) primär dicht.

Im Folgenden wird nur auf den durchschnittlichen Wasserverlust nach Kanüleneinstich (unter Berücksichtigung des Verlustes vor Einstich bei der herkömmlichen Prothese Intergard®) eingegangen (siehe Tabelle 3.1. und 3.2.).

### **3.2.1. Flüssigkeitsverlust nach Durchstich mit Venenverweilkanülen**

Nach Durchstich mit der kleinsten Venenverweilkanüle ( $\varnothing$  0,9mm) wurde bei einem Druck von 120mmHg mit im Durchschnitt  $0,05 \pm 0,0$ g/min ausgetretener Flüssigkeit der geringste Verlust bei der Rapidax®-Prothese festgestellt. Die herkömmliche PET-Prothese und die Silikonprothese erzielten mit  $2,14 \pm 1,43$ g/min und  $2,78 \pm 0,32$ g/min vergleichbare Werte. Den größten Verlust hatte die PTFE-Prothese ( $30,35 \pm 4,17$  g/min) zu vermerken. Auch nach Einstich von Venenverweilkanülen größeren Durchmessers (1,1 mm; 1,3mm und 1,8mm) ergaben sich bei dieser Prothese deutlich höhere Verlustraten ( $56,62 \pm 5,41$ g/min,  $45 \pm 5,77$ g/min und  $131,14 \pm 12,29$ g/min) als bei den anderen Prothesen. Die besten Ergebnisse erzielte die Rapidax®-Prothese ( $0,21 \pm 0,07$ g/min;  $1,67 \pm 0,03$ g/min und  $15,1 \pm 1,99$ g/min bei Venenverweilkanülen mit Durchmessern von 1,1mm, 1,3mm und 1,8mm). Bei den mittleren Durchmessern (1,1mm und 1,3mm) schnitt die Silikonprothese deutlich besser ab als die herkömmliche PET-Prothese ( $9,49 \pm 1,06$ g/min und  $10,03 \pm 1,15$ g/min vs.  $17,34 \pm 1,49$ g/min und  $18,47 \pm 3,17$ g/min). Bei der größten Venenverweilkanüle ergaben sich wieder vergleichbare Werte ( $40,57 \pm 1,18$ g/min bei der Silikonprothese und  $38,63 \pm 2,82$ g/min bei der Intergard®) (siehe Tabelle 3.1.).

### **3.2.2. Flüssigkeitsverlust nach Durchstich mit Injektionskanülen**

Der Einstich normaler Kanülen erbrachte ähnliche Ergebnisse. Auch hier hatte die Rapidax bei allen Durchmessern die geringsten Verluste zu verschreiben (siehe Tabelle 3.2.). Für die PTFE-Prothese wurden wieder deutlich höhere Verlustraten als bei den 3 anderen Prothesenarten ermittelt. Bei einem Kanüldurchmesser von 0,9mm ergaben sich durchschnittlich im Vergleich beispielsweise folgende Werte  $4,77 \pm 0,38$ g/min für die Silikonprothese;  $3,87 \pm 1,13$ g/min für die Intergard®;  $44,22 \pm 5,75$ g/min für die PTFE-Prothese und  $1,4 \pm 0,04$ g/min für die Rapidax®. Der

Flüssigkeitsverlust der Silikonprothese und der Intergard® war nach Einstich der verschiedenen Kanülen wieder vergleichbar (siehe Tabelle 3.2.).

Zusammenfassend kann konstatiert werden, dass bei der Rapidax®-Prothese die geringsten und bei der PTFE-Prothese die höchsten Verlustraten verursacht werden. Die Silikon-beschichtete und die herkömmliche PET-Prothese erzielten insgesamt ähnliche Ergebnisse (+/-2 g/Min).

**Tabelle 3.1.:** Ergebnisse des Wasserverlusts nach Einstich unterschiedlicher Venenverweilkanülen in verschiedene Prothesen

Venenverweilkanülen			Silikon-beschichtete PET-Prothese	herkömmliche PET-Prothese Intergard®	PTFE-Prothese	Rapidax®
Durchmesser in mm	Farbe	Messung nach Minuten	Wasserverlust in g/Min	Wasserverlust in g/Min	Wasserverlust in g/Min	Wasserverlust in g/Min
0,9 / 25mm Länge	blau	ohne Einstich		1,92 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	3,15	5,69	35,03	0,05
		2.	2,6	3,46	28,96	0,05
		3.	2,6	3,03	27,05	0,05
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	2,78	2,14	30,35	0,05
		Standardabweichung	0,31	1,43	4,17	0
1,1 / 33mm Länge	rosa	ohne Einstich		1,17 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	9,13	19,95	62,75	0,25
		2.	8,65	18,59	54,58	0,24
		3.	10,68	16,98	52,52	0,13
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	9,49	17,34	56,61	0,21
		Standardabweichung	1,06	1,49	5,41	0,07
1,3 / 45mm Länge	grün	ohne Einstich		1,52 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	11,27	23,58	51,11	1,67
		2.	9,82	18,85	44,25	1,64
		3.	9,01	17,55	39,65	1,7
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	10,03	18,47	45	1,67
		Standardabweichung	1,15	3,17	5,77	0,03
1,8 / 45mm Länge	grau	ohne Einstich		0,8 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	41,38	42,52	144,38	17,38
		2.	39,21	38,77	128,96	13,84
		3.	41,12	36,99	120,09	14,03
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	40,57	38,63	131,14	15,08
		Standardabweichung	1,18	2,82	12,29	1,99

**Tabelle 3.2.:** Ergebnisse des Wasserverlusts nach Einstich unterschiedlicher Injektionskanülen in verschiedene Prothesen

Injektionskanülen			Silikon-Prothese	Intergard®	PTFE	Rapidax®
0,4 / 19mm Länge	grau	ohne Einstich		4,54 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	0,71	6,79	16,88	0,15
		2.	0,6	6,41	14,58	0,05
		3.	0,54	6,4	13,91	0,03
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	0,62	1,99	15,12	0,08
		Standardabweichung	0,09	0,22	1,56	0,06
0,45 / 25mm Länge	braun	ohne Einstich		6,53 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	2,04	8,27	20,27	0
		2.	1,88	8,12	17,22	0
		3.	1,92	7,93	14,67	0,02
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	1,95	1,58	17,39	0,01
		Standardabweichung	0,08	0,17	2,80	0,01
0,8 / 40mm Länge	grün	ohne Einstich		1,67 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	3,15	7,48	54,4	0,79
		2.	3,17	5,65	49,73	0,54
		3.	2,99	5,17	48,54	0,5
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	3,10	4,43	50,89	0,61
		Standardabweichung	0,1	1,22	3,1	0,16
0,9 / 40mm Länge	gelb	ohne Einstich		1,8 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	5,05	6,95	50,47	1,44
		2.	4,91	5,24	39,15	1,37
		3.	4,34	4,81	43,05	1,38
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	4,77	3,87	44,22	1,4
		Standardabweichung	0,38	1,13	5,75	0,04
0,9 / 70mm Länge	gelb	ohne Einstich		6,75 g/Min Ø nach 3 Min.		
		1.	5,8	10,79	59,35	
		2.	5,57	10,1	47,76	
		3.	4,83	10,04	46,24	
		Ø-Verlust abzügl. Ø-Verlust ohne Einstich	5,4	3,56	51,12	
		Standardabweichung	0,51	0,42	7,17	

### 3.3. Oberflächenthrombogenität

#### 3.3.1. Allgemeine Gerinnungsparameter

Im ersten Durchgang des Versuches wurde das Probandenblut für eine Minute mit unterschiedlich oberflächenmodifizierten Prothesen in Kontakt gebracht. Von jeder Modifizierung wurden je 2 Prothesenstücke verwendet.

Die Analyse der allgemeinen Gerinnungsparameter erbrachte für das aufgefangene Blut folgende Ergebnisse (Tabelle 3.3.):

**Tabelle 3.3.:** Allgemeine Gerinnungsparameter nach Blutkontakt mit Prothesen verschiedener Oberflächenmodifizierung für 1 Minute. Proband I; Versuch I

Oberfläche	Quick (%)	PTT (s)	INR	Fibrinogen g/l
Leerprobe	105	26	0,96	2,7
Silikon I	99	22,6	1,01	1,9
Silikon II	104	21,6	0,97	2,0
Silber I	91	23	1,07	1,5
Silber II	102	21,06	0,98	1,8
PVA I	101	25,5	0,99	2,6
PVA II	83	33,2	1,13	1,9
PC I	103	22	0,97	2,3
PC II	98	23,4	1,01	2,0
PVP I	96	24,1	1,03	2,1
PVP II	106	23,1	0,96	2,5
PET I unbeschichtet	105	22,3	0,96	2,6
PET II unbeschichtet	106	22,3	0,96	2,4

Die Analyse ergab bei allen Proben normale Gerinnungsparameter. Es fiel aber je eine Probe der mit Silber- beziehungsweise der mit PVA-beschichteten Prothesen auf. Bei der PVA II-Prothese war der Quickwert im Vergleich zur Leerprobe (105%) mit 83% deutlich verringert. Die Silber I-Prothese wies einen um 14% verringerten Wert auf. Der INR-Wert war bei beiden Prothesen im Vergleich zur Leerprobe dementsprechend erhöht. Dazu passen würden auch die gegenüber der Leerprobe verringerten Fibrinogenwerte, die bei PVA II mit 1,9g/l noch im Referenzbereich (1,8–



3,5g/l) liegt aber bei Silber mit 1,5g/l diesen schon unterschreitet.

Außerdem ist auffällig, dass nur die PVA-Prothesen PTT-Werte erreichten, die im Bereich der Leerprobe (26 sec) oder sogar höher lagen (25,5sec bzw. 33,2sec). Alle weiteren Proben wiesen unauffällige Quick-, INR- und PTT-Werte auf.

**Tabelle 3.4.:** Allgemeine Gerinnungsparameter nach Blutkontakt mit Prothesen verschiedener Oberflächenmodifizierung für 1 Minute. Proband I; Versuch II

Oberfläche	Quick (%)	PTT (s)	INR	Fibrinogen
Leerprobe Beginn	95	30	1,05	2,7
Dacron®-Gelatine	78	33,1	1,17	2,3
Silikon	89	31,6	1,09	2,5
Silber	94	28,5	1,05	2,5
Silber/PVA	90	30,6	1,08	2,5
PVA	94	30,1	1,06	2,6
Silikonröhrchen	92	31,1	1,07	2,5
PTFE	94	28,5	1,06	2,5
PET unbeschichtet	85	30,1	1,12	2,4
Leerprobe Ende	99	26,01	1,02	2,6

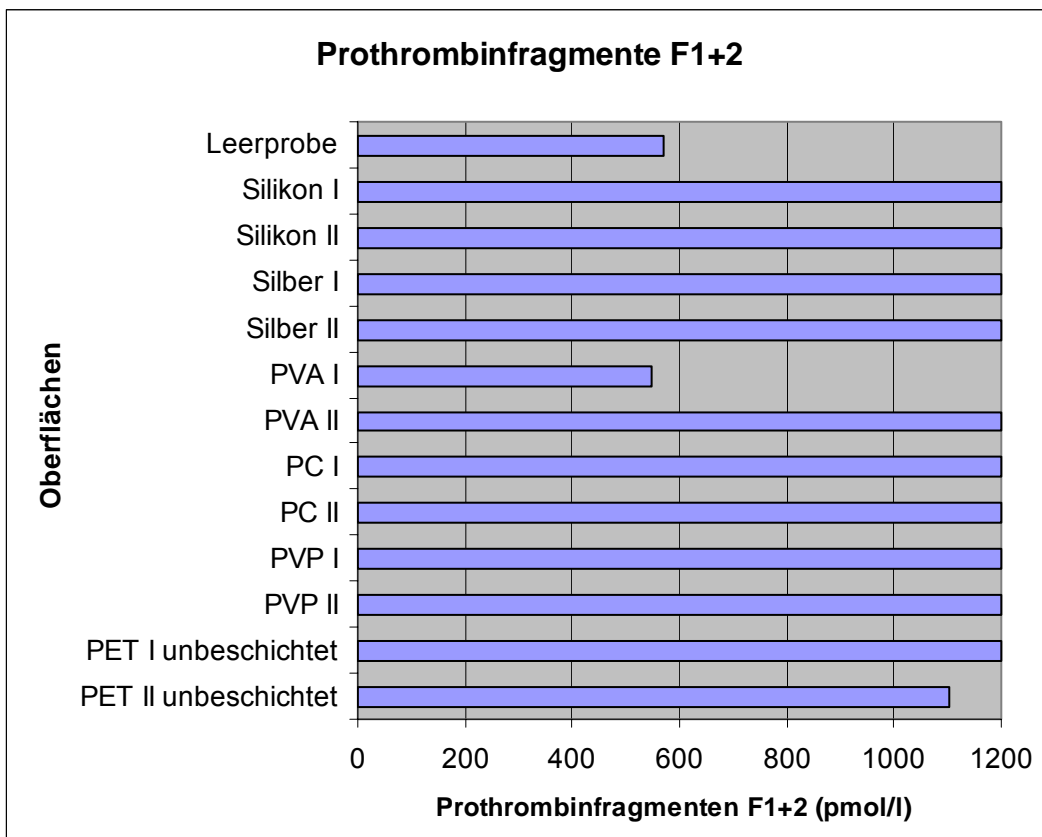
In einem 2. Durchgang mit dem gleichen Probanden wurden herkömmliche Vergleichsprothesen (Gelatine-beschichtete PET und PTFE) und eine Silber/PVA-Prothese mit aufgenommen. Die Oberflächen PC und PVP wurden nicht mehr verwendet.

Die Bestimmung der Routine-Gerinnungsparameter erbrachte auch in diesem Durchgang keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Proben (siehe Tabelle 3.4.). Bei der Dacron®-Gelatine- und der unbeschichteten PET-Prothese wurden zwar die niedrigsten Quick-Werte erreicht, die PTT-Werte unterschieden sich aber nur minimal von dem Ergebnis der Leerprobe. Die Fibrinogenwerte variierten geringfügig ( $\pm 0,2$ ). Es ist demnach keine genaue Aussage über eine verstärkte Gerinnungsaktivierung möglich.

### 3.3.2. Bestimmung von Fibrinolyse- u. Gerinnungsaktivatoren mittels ELISA

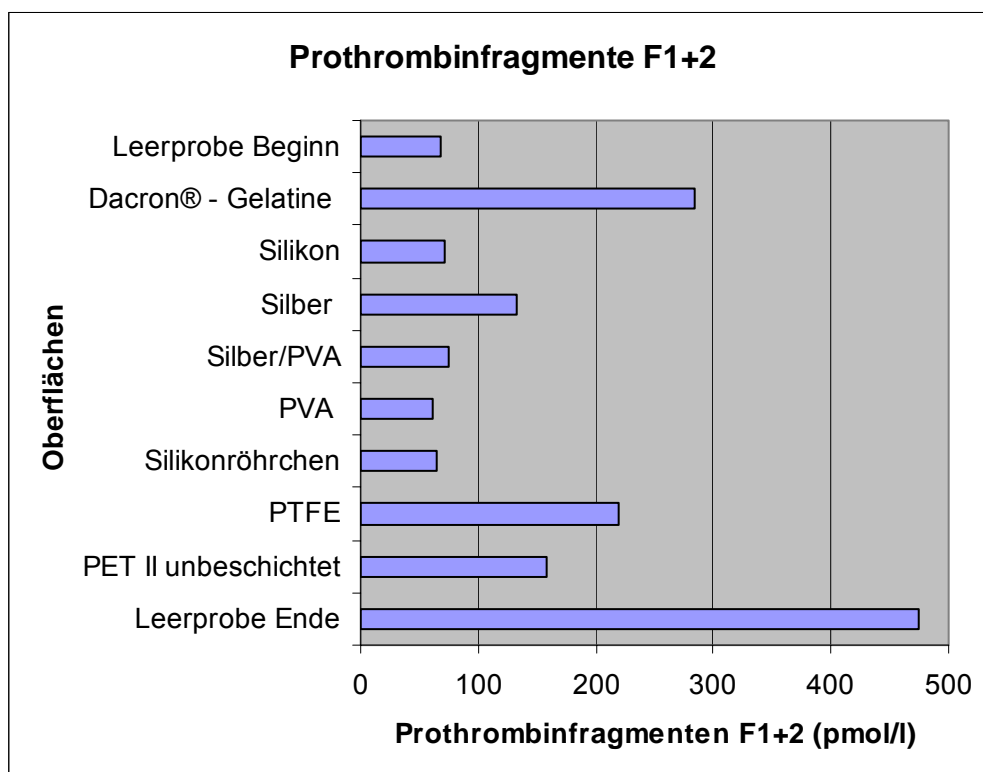
#### Prothrombinfragmente F1+2

Die Bestimmung der Prothrombinfragmente F1+2 erbrachte im ersten Durchgang bei allen Proben Werte, die außerhalb des Referenzbereiches lagen (siehe Abb. 3.1.). Dieser liegt zwischen 69–229pmol/l. Der maximal bestimmbare Wert ist 1200pmol/l. Außer bei der Leerprobe (572pmol/l), PVA I (547pmol/l) und der PET II (1104pmol/l) lagen alle Werte über diesem Grenzwert. Da die Werte sehr hoch ausfallen, ist nicht sicher zu beurteilen, ob diese Erhöhung auf eine verstärkte Gerinnungsaktivierung zurückzuführen oder ob bei der Durchführung des ELISA's oder auch vorher ein Fehler aufgetreten ist.



**Abbildung 3.1.:** Werte der Prothrombinfragmente F1+2 aus dem 1. Durchgang nach Blutkontakt mit verschiedenen Prothesenoberflächen.

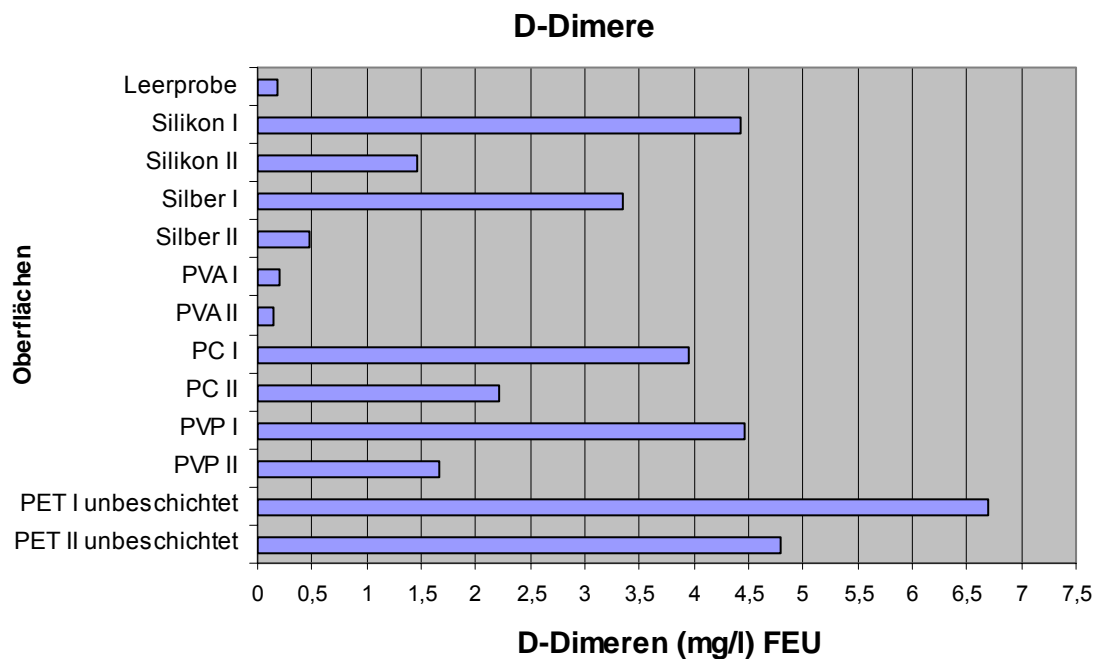
Im 2. Durchgang wurden für das Silikonröhrchen, Silikon, PVA und Silber/PVA Werte ermittelt, die im Bereich der Leerprobe vom Beginn des Versuches liegen (siehe Abb. 3.2.). Diese Proben verursachen scheinbar eine geringe Gerinnungsaktivierung. Die unbeschichtete PET-, die Dacron®-Gelatine- (Wert außerhalb des Referenzbereiches) und die PTFE- Prothese weisen deutlich höhere Werte und somit eine stärkere Aktivierung der Gerinnung auf. Die Silberoberfläche erreicht ein Ergebnis, das im Mittelbereich liegt. Auffällig ist, dass PVA die Aktivierungsfähigkeit des Silbers für die Gerinnung herabsetzen kann. Die meisten Prothrombinfragmente ergab die Leerprobe am Ende. Diese Probe wurde aus einem Butterfly abgenommen, der länger in der Vene lag als die für die übrigen Proben.



**Abbildung 3.2.:** Werte der Prothrombinfragmente F1+2 aus dem 2. Durchgang nach Blutkontakt mit verschiedenen Prothesenoberflächen.

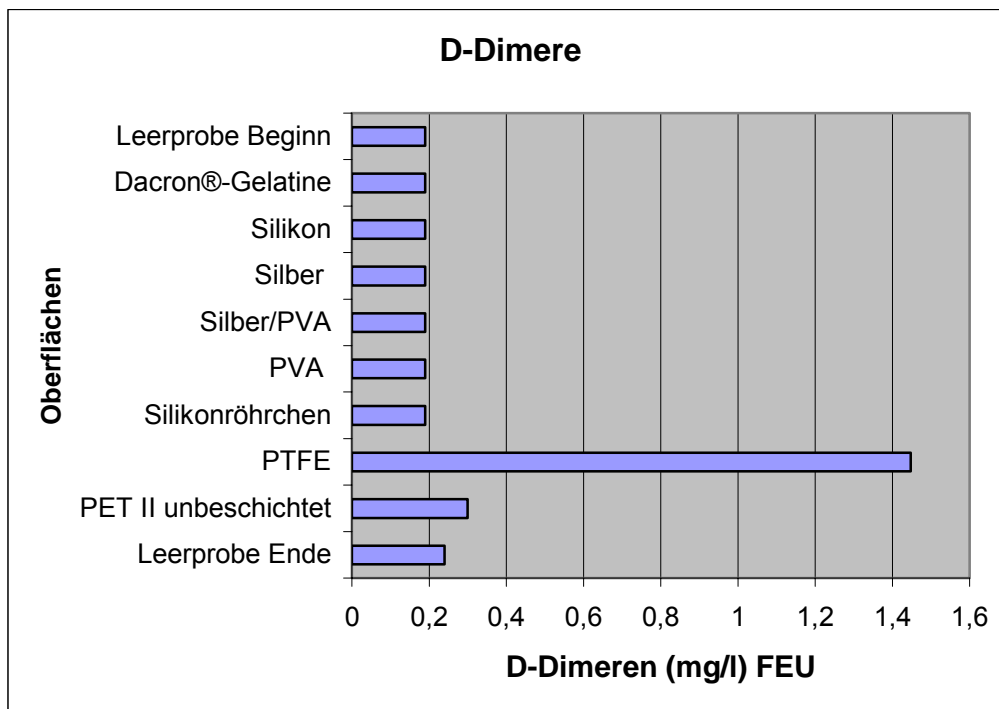
## D-Dimere

Bei der Untersuchung der D-Dimere wiesen die Leerprobe (0,19mg/l) und zusätzlich PVA I(0,2mg/l), PVA II( 0,15mg/l) und Silber (0,47mg/l) die niedrigsten Werte und somit die geringste Gerinnungsaktivierung auf. Diese Proben lagen innerhalb des Referenzbereiches von 0-0,55mg/l FEU. Alle anderen Proben waren zum Teil stark erhöht (siehe Abb. 3.3.).



**Abbildung 3.3.:** Werte der D-Dimere aus dem 1. Durchgang nach Blutkontakt mit verschiedenen Prothesenoberflächen.

Im 2. Durchgang wurden für alle Proben außer für die PTFE-Prothese D-Dimer-Werte von unter 0,2mg/l ermittelt (siehe Abb. 3.4.). Für PTFE lag der Wert bei 1,48 mg/l und somit außerhalb des Referenzbereiches. Auch bei dieser Auswertung sind die Ergebnisse des ersten Durchganges mit Vorsicht zu behandeln. Besonders weil die Mengen an D-Dimeren für Silikon, Silber und PET unbeschichtet jeweils zwischen den gleichen Oberflächen stark voneinander abweichen. Nur für PVA ergaben sich Werte, die beide im Referenzbereich liegen.



**Abbildung 3.4.:** Werte der D-Dimere aus dem 2. Durchgang nach Blutkontakt mit verschiedenen Prothesenoberflächen.

### 3.3.3. Bestimmung von Gerinnungsaktivatoren mittels Durchflusszytometrie

#### *Messung von gebundenem Fibrinogen an Thrombozyten*

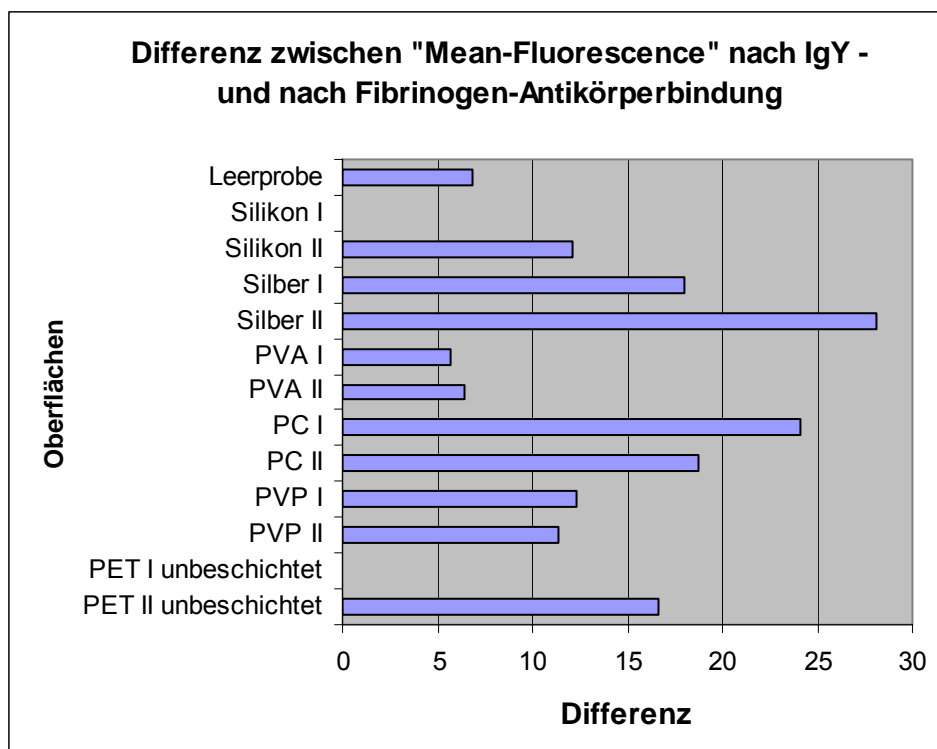
In der zytometrischen Untersuchung wurde die Fibrinogenbindung an aktivierte Thrombozyten analysiert (siehe Tabelle 3.5.).

Im ersten Durchgang konnten 2 Proben nicht exakt ausgewertet werden. Bei Silikon I zeigte sich bereits eine Teilthrombose. Die Fibrinogenbindung war dementsprechend hoch. Bei PET I unbeschichtet konnte zu wenig Blutplasma durch Zentrifugieren gewonnen werden, wodurch der ermittelte Wert zu niedrig ausfiel.

Die PVA-Oberflächen erreichten die niedrigsten Ergebnisse (Differenz von 5,66 und 6,43), die sich im Bereich der Leerprobe (6,81) bewegten. Hier liegt anscheinend die geringste Thrombozytenaktivierung vor. Bei Silber, PC und einer unbeschichteten PET-Prothese wurden die höchsten Differenzen ermittelt. Bei diesen Proben kam es scheinbar zu einer stärkeren Thrombozytenaktivierung. Die "Mean-Fluorescence"-Differenzen zwischen IgY-Ak- und Fibrinogen-Ak-Bindung sind in Abb. 3.5. dargestellt.

**Tabelle 3.5.:** "Mean-Fluorescence"-Werte für die IgY- und Fibrinogen-Antikörperbindung nach Blutkontakt mit verschiedenen Oberflächen

Oberflächen	"Mean-Fluorescence"	
	IgY-Ak	Fibrinogen-Ak
Leerprobe	19,74	26,55
Silikon I	22,22	54,46
Silikon II	23,76	35,84
Silber I	21,73	39,74
Silber II	20,17	48,29
PVA I	20,43	26,09
PVA II	19,09	25,52
PC I	22,36	46,43
PC II	21,36	40,5
PVP I	19,67	31,96
PVP II	21,13	32,5
PET I unbeschichtet	19,29	26,53
PET II unbeschichtet	20,05	36,71



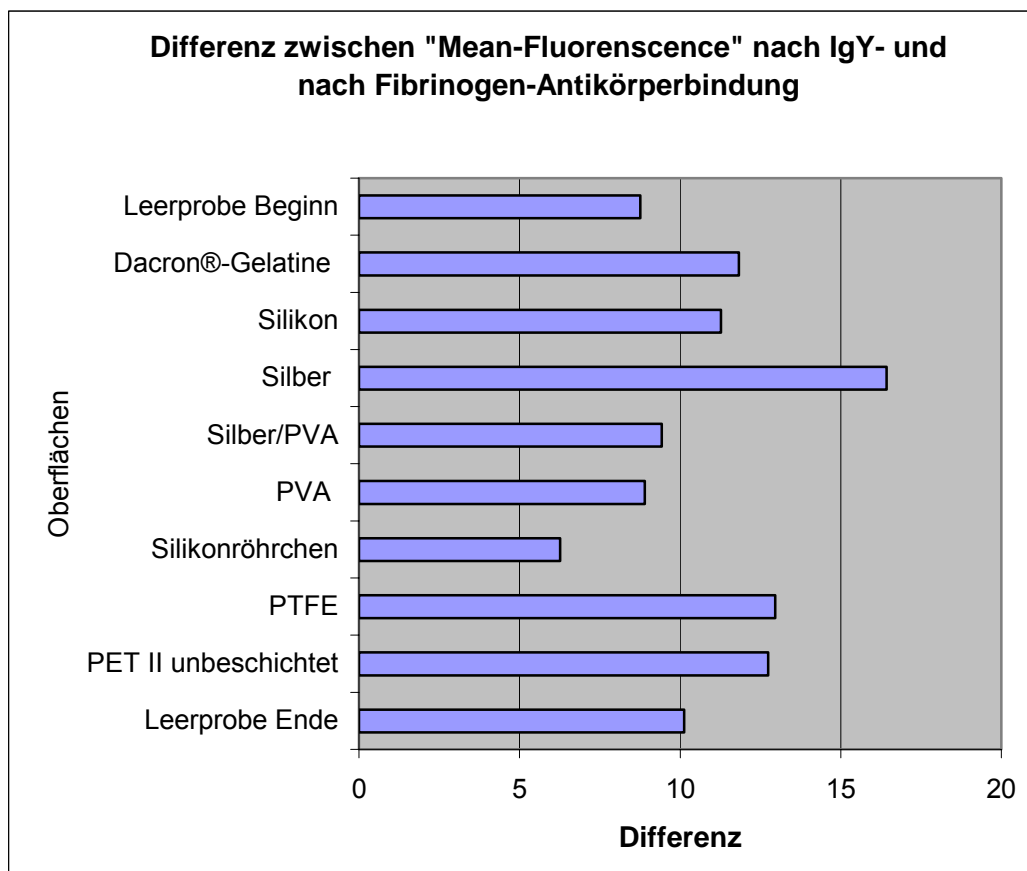
**Abbildung 3.5.:** Differenz zwischen den gemessenen "Mean-Fluorescencen" der Proben mit IgY-Antikörperbindung und denen mit Fibrinogen-Antikörperbindung. 1. Durchgang

Auch wenn die Differenzen im Allgemeinen niedriger ausfielen, konnten im 2. Durchgang die Ergebnisse des ersten bestätigt werden (siehe Abb. 3.6.). PVA erreichte wieder einen Wert (8,9), der mit der Leerprobe (8,76) vergleichbar war. Die niedrigste

Differenz wurde beim Silikonröhrchen ermittelt (6,26). Der höchste Wert ergab sich wiederum bei der Silberoberfläche, wobei durch die Kombination mit PVA dieser deutlich verringert wurde. Bei PTFE, Dacron®-Gelatine, PET unbeschichtet und der Silikonoberfläche waren die Differenzen erhöht (Werte siehe Tabelle 3.6.).

**Tabelle 3.6.:** "Mean-Fluorescence"-Werte für die IgY- und Fibrinogen-Antikörperbindung nach Blutkontakt mit verschiedenen Oberflächen

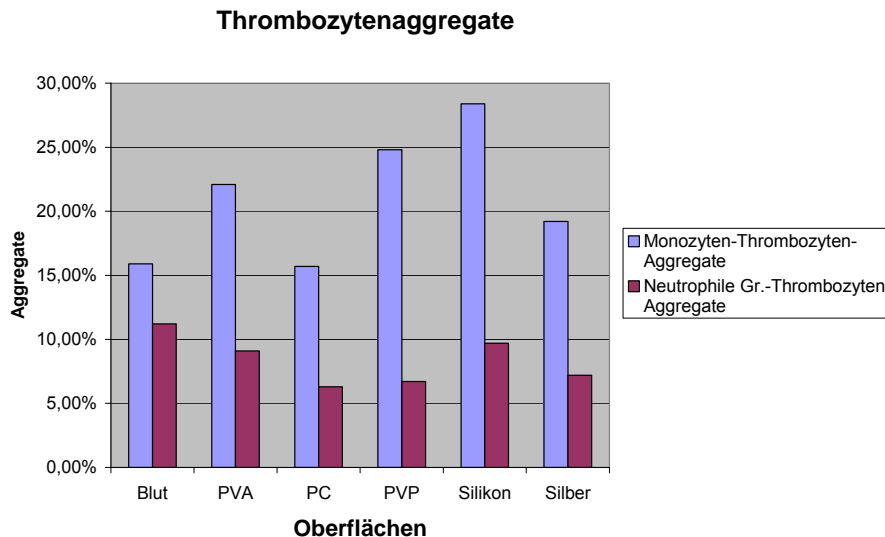
Oberflächen	"Mean-Fluorescence"	
	IgY-Ak	Fibrinogen-Ak
Leerprobe Beginn	21,19	29,95
Dacron® - Kollagen	21,22	33,05
Silikon	20,29	31,56
Silber	20,4	36,83
Silber/PVA	20,71	30,14
PVA	21,88	30,78
Silikonröhrchen	21,87	28,13
PTFE	20,96	33,93
PET II unbeschichtet	20,28	33,02
Leerprobe Ende	20,86	30,98



**Abbildung 3.6.:** Differenz zwischen den gemessenen "Mean-Fluorescencen" der Proben mit IgY-Antikörperbindung und denen mit Fibrinogen-Antikörperbindung. 2. Durchgang

## Messung von Thrombozytenaggregaten

Mittels Durchflusszytometrie wurde die Bildung von Monozyten–Thrombozyten– und neutrophile Granulozyten–Thrombozyten–Aggregaten nach einminütigem Blutkontakt mit verschiedenen Oberflächen bestimmt.



**Abbildung 3.7:** Werte der Monozyten–Thrombozyten– und Neutrophilen–Thrombozyten–Aggregatbildung nach Blutkontakt mit verschiedenen Prothesenoberflächen.

Bei der Blutprobe wurden 15,9% M/T–Aggregate und 11,2% N/T–Aggregate ermittelt (siehe Abb. 3.7.). Diese Werte dienen als Kontrolle. Die mit PC–beschichtete Prothese erreichte mit 15,7% M/T–Aggregaten die niedrigsten Resultate. Dementsprechend scheint bei dieser Probe die geringste Gerinnungsaktivierung vorzuliegen. Silber wies mit 19,2% das zweitniedrigste Ergebnis auf. Der höchste Prozentwert wurde für Silikon mit 28,4% ermittelt. Bei der Anzahl an N/T–Aggregaten wurde dieses Ergebnis bestätigt. Auch hier ergab sich für Silikon mit 9,7% das höchste Resultat und damit nach diesem Versuchsaufbau die höchste Gerinnungsaktivierung. PC hingegen konnte mit 6,3% auch hier den signifikant niedrigsten Wert erreichen, was für die geringste Gerinnungsaktivität spricht. Vergleichbar niedrige Ergebnisse erzielten mit 6,7% und 7,2% die Oberflächen PVP und Silber. Aufgrund von Zweifeln, ob diese Methode aussagekräftig genug ist, wurden die Versuche damit nicht noch einmal wiederholt.



### 3.4. Antiinfektiöse Oberfläche

#### 3.4.1. *In vitro* Aktivität von Silber-beschichteten Prothesen gegen *S. aureus*

Die Untersuchung des bakteriziden Effektes und der bakteriellen Adhärenzfähigkeit an verschiedenen Katheteroberflächen ergab für den Silber-imprägnierten Silikonkatheter eine deutliche Inhibition des Wachstums von *Staphylococcus aureus* (0 CFU/ml – siehe Tabelle 3.7.). Hier konnten kein bakterielles Wachstum und auch keine adhärennten Bakterien an der Katheteroberfläche festgestellt werden.

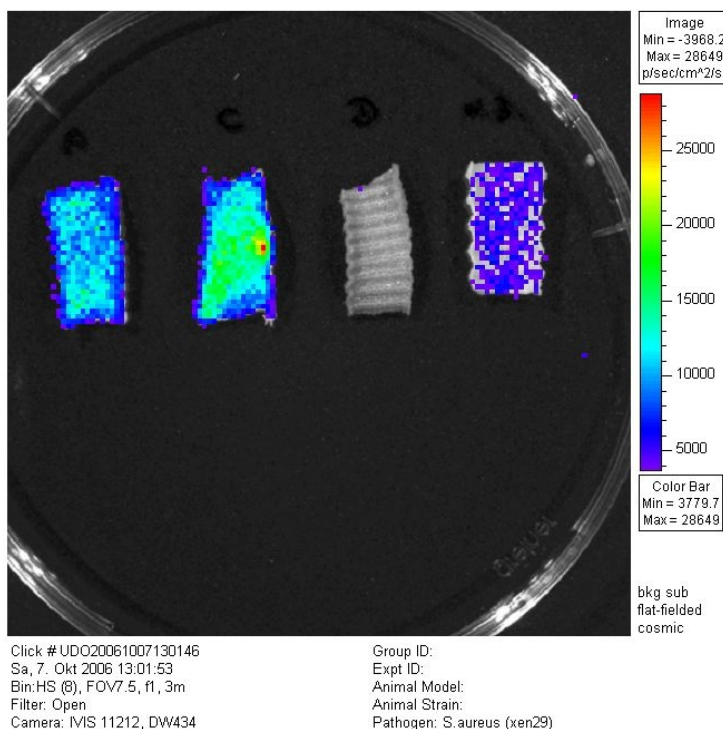
Die Oberfläche, die über eine minimale bakterizide Eigenschaft verfügen sollte, der Kontrollkatheter und der Katheter mit einer amphoteren Oberfläche mit niedrigerer Beschichtungsdichte konnten keinen antibakteriellen Effekt bewirken. Bei diesen Kathetern wurde ein Wachstum von  $4 \times 10^3$  CFU/ml ermittelt. Die amphotere Oberfläche mit hoher Beschichtungsdichte konnte das bakterielle Wachstum hemmen. Bei diesem Katheter wurden  $8 \times 10^2$  CFU gemessen.

**Tabelle 3.7.:** Messung des bakteriellen Wachstums auf verschiedenen Prothesenoberflächen

Oberfläche	bakterielles Wachstum	Anzahl der adhärennten Bakterien (CFU/ml)
Silber	kein Wachstum	0
Oberfläche mit bakterizider Eigenschaft	Wachstum	$4 \times 10^3$
Silikonkatheter (Kontrolle)	Wachstum	$4 \times 10^3$
amphotere Oberfläche	reduziertes Wachstum	$8 \times 10^2$ (5fach reduziert)
amphotere Oberfläche/ niedrigere Beschichtungsdichte	Wachstum	$4 \times 10^3$

### 3.4.1. Biolumineszenz Darstellung von bakteriellen Biofilmen in vitro

Die Messung der von genmanipulierten Bakterien ausgestrahlten Photonen konnte die Ergebnisse des ersten Versuches bestätigen. Wie in Abbildung 3.8. zu erkennen, wurde das bakterielle Wachstum durch die Silberimprägnierung (D – 2. von rechts) auch in diesem Versuch komplett verhindert. Bei dieser Prothese konnten keine Signale aufgenommen werden. Die amphotere Oberfläche (B – ganz rechts) zeigte eine weniger ausgeprägte antibakterielle Wirkung. Dies äußerte sich in einer deutlich geringeren Photonenausstrahlung, als dies bei den Silikon- (A – ganz links) beziehungsweise Kollagen-beschichteten (C – 2. von links) Prothesen der Fall war (siehe Skala rechts neben der Abbildung). Das stärkste Wachstum trat bei der Kollagenprothese auf. Hier wurden die höchsten Werte gemessen.



**Abbildung 3.8.:**

Staphylococcus aureus Xen29  
Bakterien strahlen biolumineszente Signale ab, die mit einer speziellen Kamera gemessen werden können. Prothese A (Silikon) ist komplett mit Bakterien besiedelt. Das stärkste Signal geht von Prothese C (Kollagen) aus. Prothese B (amphotere Oberfläche) ist zwar besiedelt, strahlt aber die wenigsten Photonen ab. Prothese D (Silber) inhibiert das bakterielle Wachstum. Hier konnte kein Signal gemessen werden. (Bildmaterial aus [89])

### 3.5. Medikamentenelution

#### 3.5.1. Dynamischer Versuch

Bei der Paclitaxel-Prothese mit hoher Konzentration konnte bei den Proben bis 24 Stunden nach Versuchsbeginn und vom 3. beziehungsweise 19. Tag Paclitaxel gemessen werden (siehe Tabelle 3.8.). Die Konzentrationen fallen sehr unterschiedlich aus, so dass ein Konzentrationsanstieg oder –abfall nicht direkt zu erkennen ist. Für die Proben vom 4. bis 10. Tag und der vom 21. Tag konnten keine Werte ermittelt werden. Die Werte vom 2. und 12. Tag lagen außerhalb der Eichkurve, so dass auch hier eine Bestimmung nicht möglich war.

**Tabelle 3.8.:** Aus der Prothese mit hoher Paclitaxeldosierung abgegebene Menge an Paclitaxel in einem dynamischen Versuchsaufbau; 1. Durchführung

Zeit	Menge in ng/ml
15 Min.	4,566
30 Min.	0,019
1 h	0,019
2 h	0,727
4 h	0,019
8 h	0,118
16 h	0,296
24 h	0,727
2 d	außerhalb Eichkurve
3 d	11,198
4 d	-
5 d	-
6 d	-
7 d	-
8 d	-
10 d	-
12 d	außerhalb Eichkurve
14 d	-
17 d	-
19 d	1,821
21 d	-

Da aber der Kreislauf in diesem Versuchsaufbau geschlossen war und lediglich ein geringfügiger Flüssigkeitsverlust durch Verdunstung auftreten konnte, hätte das Medikament über den ganzen Versuchszeitraum gemessen werden müssen. Als ursächlich für die unvollständige Ermittlung der Messwerte hielten wir die mehr als dreimonatige Lagerung des ELISA-Kits im Kühlschrank. Der Hersteller empfiehlt einen Gebrauch innerhalb von 3 Monaten. Aus diesem Grund wurden die Messungen mit einem neuen Kit nochmals durchgeführt.

Die Wiederholung der Messung mit einem neuen ELISA-Kit ergab allerdings nur an den Tagen 6,7 und 21 verwertbare Ergebnisse, wobei mit 437,74ng/ml der Wert vom 6. Tag im Vergleich zu allen anderen Messungen sehr hoch ausfällt (siehe Tabelle 3.9.). Alle anderen Messungen lagen außerhalb der Eichkurve.

**Tabelle 3.9.:** Aus der Prothese mit hoher Paclitaxeldosierung abgegebene Menge an Paclitaxel in einem dynamischen Versuchsaufbau; 2. Durchführung

Zeit	Menge in ng/ml
15 Min.	außerhalb Eichkurve
30 Min.	außerhalb Eichkurve
1 h	außerhalb Eichkurve
2 h	außerhalb Eichkurve
4 h	außerhalb Eichkurve
8 h	außerhalb Eichkurve
16 h	außerhalb Eichkurve
24 h	außerhalb Eichkurve
2 d	außerhalb Eichkurve
3 d	außerhalb Eichkurve
4 d	außerhalb Eichkurve
5 d	außerhalb Eichkurve
6 d	437,743
7 d	0,004
8 d	außerhalb Eichkurve
10 d	außerhalb Eichkurve
12 d	außerhalb Eichkurve
14 d	außerhalb Eichkurve
17 d	außerhalb Eichkurve
19 d	außerhalb Eichkurve
21 d	128,656

Im dynamischen Versuchsaufbau zur Untersuchung der Paclitaxelelution aus der Prothese mit der halben Konzentration konnten bei allen Messungen außer dem 4. und 10. Tag Werte ermittelt werden (siehe Tabelle 3.10.). Diese Auswertung wurde nur mit dem neuen Paclitaxel–ELISA–Kit durchgeführt. Auch hier ist ein zeitlicher Verlauf nicht erkennbar, da die Ergebnisse sehr unterschiedlich ausfallen. Aus technischen Gründen musste der Versuch am 10. Tag abgebrochen werden.

**Tabelle 3.10.:** Aus der Prothese mit der halben Paclitaxeldosierung abgegebene Menge an Paclitaxel in einem dynamischen Versuchsaufbau

Zeit	Menge in ng/ml
15 Min.	263,529
30 Min.	540,160
1 h	101,213
2 h	124,333
4 h	128,568
8 h	49,379
16 h	163,317
24 h	128,568
2 d	49,379
3 d	11,204
4 d	außerhalb Eichkurve
5 d	18,079
6 d	62,725
7 d	101,213
8 d	18,079
10 d	außerhalb Eichkurve

### 3.5.2. Statischer Versuch

Auch im statischen Aufbau gelang bei bis auf einer Probe der Nachweis des Medikamentes bis zum 4. Tag nach Versuchsstart (siehe Tabelle 3.11.). Die ermittelten Konzentrationen schwanken auch hier sehr stark.

**Tabelle 3.11.:** Aus der Prothese mit hoher Paclitaxeldosierung abgegebene Menge an Paclitaxel in einem statischen Versuchsaufbau; 1. Durchführung

Zeit	Menge in ng/ml
15 Min.	28,07
30 Min.	4,57
1 h	-
2 h	172,60
4 h	0,73
8 h	172,60
16 h	0,05
24 h	0,73
2 d	0,02
3 d	1,82
4 d	0,12
5 d	-
6 d	-
7 d	-
8 d	-
10 d	-
12 d	-
14 d	-

Die Wiederholung der Messungen mit dem neuen ELISA–Kit ergab Werte in den ersten 24 Stunden (außer nach der 2h) und nach 12 Tagen. Die restlichen Werte liegen außerhalb der Eichkurve und konnten nicht ermittelt werden (siehe Tabelle 3.12.).

**Tabelle 3.12.:** Aus der Prothese mit hoher Paclitaxeldosierung abgegebene Menge an Paclitaxel in einem statischen Versuchsaufbau; 2. Durchführung

Zeit	Menge in ng/ml
15 Min.	46,37
30 Min.	128,66
1 h	46,37
2 h	außerhalb Eichkurve
4 h	0,28
8 h	16,72
16 h	16,72
24 h	16,72
2 d	außerhalb Eichkurve
3 d	außerhalb Eichkurve
4 d	außerhalb Eichkurve
5 d	außerhalb Eichkurve
6 d	außerhalb Eichkurve
7 d	außerhalb Eichkurve
8 d	außerhalb Eichkurve
10 d	außerhalb Eichkurve
12 d	128,66
14 d	außerhalb Eichkurve

Im statischen Versuchsaufbau mit halber Paclitaxel-Konzentration konnte das Medikament bis 24h und vom 12. bis 21. Tag nach Versuchsbeginn gemessen werden (siehe Tabelle 3.13.). Die Werte dazwischen lagen außerhalb der Eichkurve. Die Konzentration vom 17. Tag ist mit 1821,07 ng/ml die höchste in diesem Versuch gemessene Konzentration.

**Tabelle 3.13.:** Aus der Prothese mit der halben Paclitaxeldosierung abgegebene Menge an Paclitaxel in einem statischen Versuchsaufbau

Zeit	Menge in ng/ml
15 Min.	75,96
30 Min.	30,60
1 h	128,57
2 h	6,94
4 h	79,68
8 h	22,96
16 h	49,38
24 h	14,23
2 d	außerhalb Eichkurve
3 d	außerhalb Eichkurve
4 d	außerhalb Eichkurve
5 d	außerhalb Eichkurve
6 d	außerhalb Eichkurve
7 d	außerhalb Eichkurve
8 d	außerhalb Eichkurve
10 d	außerhalb Eichkurve
12 d	263,53
14 d	78,54
17 d	1821,07
19 d	100,25
21 d	127,34



## 4. Diskussion

Die Verwirklichung einer "idealen Gefäßprothese" hat sich bis in die heutige Zeit als äußerst schwierig herausgestellt. Problematisch erscheint dabei die Kombination von antiinfektiösen und sogleich antithrombogenen Oberflächen und solchen, die eine übersteigerte Intimahyperplasie verhindern. Zudem sollte der Gefäßersatz noch primär dicht sein. Vor allem zur Rekonstruktion kleinlumiger Gefäße wäre die Entwicklung einer Prothese mit diesen Eigenschaften wünschenswert. Der Ansatz unserer Arbeitsgruppe zu dieser Problemlösung ist die Beschichtung von PET-Prothesen mit Silikon. Durch Bindung verschiedener Stoffe, die bei Bedarf auch abgegeben werden sollen, möchten wir die gewünschten Eigenschaften erreichen.

### 4.1. Silikon

Silikone finden vielfältige Anwendung in der Kosmetik, der Chirurgie, der Zahnmedizin und anderen Bereichen. Zum Einsatz kommt dieses Material in Herzschrittmachern, künstlichen Herzklappen und Verweilkathetern. Bekannt ist vor allem die Verwendung von Silikon-gefüllten Beuteln zur Augmentation der weiblichen Brust in der plastischen Chirurgie. Gute Erfolge mit Silikon werden zudem bei der Rekonstruktion von Gelenken [90] und Harnleitern [91], hier in Verbindung mit PTFE, erzielt.

Silikone gelten als biokompatibel, inert und unterliegen im Körper nach derzeitigem Wissensstand keiner Degradation. Bei der Verwendung von Silikon zum endoprothetischen Ersatz des Fingermittelgelenkes mit dem "Swanson Silastik-Implantat" [92] oder zur Narbenkorrektur [93] konnte eine geringe Komplikationsrate nach Verwendung von Silikon festgestellt werden. Im Zusammenhang mit Brustimplantaten gilt die Entstehung von Tumoren oder Autoimmunreaktionen als unwahrscheinlich oder konnte noch nicht nachgewiesen werden [94, 95]. Weiterhin ist Silikon hydrophob, wärmebeständig und dielektrisch.

Bereits in den 60er Jahren wurde Silikon in der Gefäßchirurgie angewandt. Ashton et al. implantierten Röhrchen aus gewebtem Silikon in die Vena Cava inferior von Hunden. Die Offenheitsraten von über 50% waren nach Aussagen der Autoren im Ver-

gleich zu herkömmlichen Materialien viel versprechend [96]. Einige Jahre später kombinierte Sparks Dacron® mit Silikonmandrillen (nach dem Erfinder "Sparks-Mandrill"). Die PET-Prothese wurde dabei über das, als Platzhalter fungierende, Mandrill gezogen und nach bindegewebiger Einheilung nach ca. 6-8 Wochen wieder entfernt. Die Kurzzeitergebnisse waren bemerkenswert. Nach 2-3 Jahren kam es aber unter anderem aufgrund der Biodegeneration gehäuft zu Aneurysmen, Rupturen und Spätverschlüssen, so dass dieses Konzept wieder aufgegeben wurde [97]. Der Einsatz von Silikonprothesen als venöse Shunts für die Dialyse konnte sich nicht durchsetzen [98]. Die Verwendung von reinen Silikonprothesen zum Ersatz von Gefäßen kleineren Durchmessers ergab Dehnungseigenschaften ("Compliance") die vergleichbar mit natürlichen Arterien waren [99]. Weiterhin wurden gute Ergebnisse bezüglich der Einheilung, Offenheitsraten und Hämokompatibilität erzielt. Nach Einstich von Nadeln wurde festgestellt, dass sich die Löcher nach kürzester Zeit von selbst verschließen [100]. Durch diese Eigenschaften empfahl sich der Einsatz als Dialyse-Katheter. Eine Langzeitstudie erbrachte zufriedenstellende Ergebnisse [101].

Desweiteren wurde die Kombination von Silikon mit bewährten Ersatzmaterialien geprüft. Untersuchungen mit Silikon-beschichteten PTFE-Prothesen zeigten eine deutliche Reduktion der intimalen Hyperplasie, eine komplikationslose Einheilung und gute Offenheitsraten im Tierversuch [102]. Im Dialyseinsatz konnte eine Silikon-PTFE-Prothese durch, im Vergleich zu normalen PTFE-Prothesen, gute Offenheitsraten und geringe Nachblutungen nach Einstich mit Kanülen überzeugen [103].

Eine Arbeitsgruppe um Scholz verwendete von innen mit Silikon beschichtete bovine Gefäße als AV-Shunt. Auffällig war eine niedrige Thromboserate. Trotzdem konnte sich dieses Verfahren nicht durchsetzen [104].

Auch die Kombination von Silikon und Dacron® wurde untersucht. Moss et al. setzten Silikonprothesen mit Dacron®-Manschetten als Dialyse-Katheter ein und kamen nach einjähriger Testung zu dem Schluss, dass diese Art von Katheter eine Alternative zu den normalerweise verwendeten PTFE-Kathetern darstellt [105].

Eine Silikon-beschichtete PET-Prothese wurde bereits Anfang der 90er Jahre erfolgreich in Tierversuchen getestet [106]. Bei der Anwendung im Menschen konnten aber diese Ergebnisse aufgrund hoher Verschlussraten nicht bestätigt werden. Ursächlich soll die durch die dicke Silikonschicht verursachte niedrigere Dehnbarkeit gewesen sein. Außerdem wurde eine schlechte Handhabbarkeit beschrieben [107].

Bei der von uns entwickelten Silikonprothese ist aus diesem Grund die Silikonschicht dünner.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass Silikon als inertes, biokompatibles und beständiges Material durchaus für den Einsatz in der Gefäßchirurgie in Frage kommt. Von Vorteil sind zudem die festgestellte verbesserte Hämokompatibilität [100, 102, 108], und die geringere bakterielle Adhärenz gegenüber der reinen Dacron®-Oberfläche [109, 110]. Außerdem treten nach Einstich mit Kanülen verminderte Blutungen auf [100, 103]. Oberflächen mit dieser Eigenschaft bezeichnet man auch als "self-sealing surfaces" – selbst versiegelnde Oberflächen. Bei der Kombination von Silikon mit PTFE wurde zudem eine verminderte Intimahyperplasieentstehung festgestellt [102]. Erste Studien lassen auch eine Inhibition der intimalen Hyperplasie induziert durch eine Silikonmanschette vermuten [111]. Die Einheilung der Prothesen verlief meist ohne Komplikationen [99, 102, 106].

Da die Herstellung einer reinen Silikonprothese mit einem erheblichen Aufwand und einer schwierigen Zulassung verbunden ist, entschied sich diese Arbeitsgruppe für die PET-Prothese als Grundgerüst. Dieses Material ist seit Jahrzehnten genauestens erforscht und hat sich in der Gefäßchirurgie bewährt. Durch eine Kombination mit Silikon soll eine verbesserte Oberfläche und die Möglichkeit der Bindung verschiedener Stoffe geschaffen werden. Erste Einsätze der Silikon-beschichteten PET-Prothese im Tierversuch erbrachten gute Ergebnisse bezüglich physikalischer Parameter, der Dichtigkeit, Handhabbarkeit, Einheilung und Offenheitsrate [81, 82].

## **4.2. Herstellungsprozess**

Der Gedanke, eine Beschichtung von innen zu etablieren, konnte gut umgesetzt werden.

Die Technik ist sehr einfach und schnell zu erlernen. Außerdem wird durch das genaue Einstellen der Pumpleistung und der Geschwindigkeit des Supports (Beschichtung von außen) beziehungsweise der Nadel (von innen) ein exaktes Arbeiten gewährleistet. Dies führt zu reproduzierbaren Beschichtungsdicken und ermöglicht dadurch eine Übertragung der in den weiteren Versuchen ermittelten Ergebnisse auf alle von uns beschichteten Prothesen. Zudem kann durch die Beschichtung von in-

nen im 3. Durchgang Zeit und Silikonemulsion gespart werden. Auffällig war, dass die Enden der Prothesen weniger dicht waren als der Rest der Prothese. Dies liegt daran, dass die Prothese zur Beschichtung von innen auf Koni gespannt werden muss. Diese Bereiche werden nicht durch das Silikon erreicht. Eine abschließendes Tränken der Enden in Silikonemulsion oder eine Abschneiden dieser Bereiche ist deshalb zu empfehlen. Weiterhin ist zu beachten, dass die Prothese nach der 2. Beschichtung von der Trägerstange aus Aluminium getrennt wird, da es sonst während der Trocknung im Ofen zum Verkleben kommt. Dies würde beim Abziehen der Prothese zum Aufreißen und zur Fransenbildung der Silikonschicht führen. Die in das Prothesenlumen ragenden Silikonfransen könnten später zu Verwirbelungen des Blutstroms führen und ein Zentrum zur Thrombenbildung darstellen.

Die Aufnahmefähigkeit für Silikon ist bei der PET-Prothese begrenzt. Sie wird geringer mit der Anzahl der Beschichtungsgänge. Überschüssiges Silikon tropft bei der Beschichtung von außen ab. Bei der Beschichtung von innen ist dies nicht möglich. Hier sammelt sich der Überschuss im Lumen der Prothese. Um eine ungleichmäßige Silikondicke zu vermeiden, muss dieser nach dem Durchlauf durch Ausstreichen mit den Fingern entfernt werden. So wird gewährleistet, dass nicht mehr Silikon als für die Abdichtung notwendig verwendet wird.

Sinn der Umstellung des Beschichtungsvorgangs war das Erreichen einer gleichmäßigen Silikonschicht von innen, um die Vorteile dieses Materials (verbesserte Hämo-kompatibilität und geringere bakterielle Adhärenz) auch hier effektiv zu nutzen. Das Silikon kann den Polyester zwar vollkommen durchdringen, aber mit zunehmender Anzahl der Beschichtungsdurchgänge nimmt, wie bereits erwähnt, die Aufnahmefähigkeit ab. Wird die Prothese also nur von außen betropft, kann ab einem bestimmten Zeitpunkt die Emulsion die Prothese nicht mehr bis an die Innenfläche durchdringen. Eine unvollständige innere Silikonoberfläche kann die Folge sein. Bei einer Beschichtung von innen ist das nicht der Fall. Nachteile durch die Umstellung des Beschichtungsvorgangs sind bis jetzt nicht aufgetreten.

### 4.3. Dichtigkeit

Die Kombination von äußerer und innerer Beschichtung hat Prothesen geschaffen, die bezüglich der Dichtigkeit ähnliche Ergebnisse wie die nur von außen beschichteten Prothesen erbracht haben [81]. Sie sind als dicht anzusehen und genügen dem Industriestandard.

In dieser Arbeit wurde der Wasserverlust nach Einstich von Venenverweilkanülen und Injektionskanülen überprüft. Der Versuchsaufbau hatte sich in unserer Arbeitsgruppe zur Testung der Dichtigkeit bereits bewährt [82] und wurde in ähnlicher Ausführung in einer anderen Studie genutzt [112]. Dabei wurde deutlich, dass der Wasserverlust der PTFE-Prothese nach Einstich generell signifikant höher lag als bei den anderen 3 Prothesen. Der Vorteil der primären Dichtigkeit geht in anbetracht der nicht vermeidbaren Stichkanalblutungen somit verloren. Interessant war aber die Abnahme des Verlustes mit der Zeit, die auch, aber im geringeren Maße, bei der herkömmlichen Kollagen-beschichteten PET-Prothese festgestellt werden konnte. Die hohen Standardabweichungen bei der PTFE-Prothese sind deshalb mit dem abnehmenden Wasserverlust zu erklären. Das durch die Nadel verursachte Loch schließt sich demnach geringfügig. Wie bereits (siehe S.57) erwähnt, werden Oberflächen mit diesem Verhalten als "self-sealing surfaces" bezeichnet. Bei der Rapidax®, einer zur Dialyse verwendeten Gefäßprothese, war diese Eigenschaft besonders auffällig. Sie verliert, bedingt durch einen 3-schichtigen Aufbau aus PTFE-Elastomer-PTFE, bei allen Durchmessern deutlich weniger Flüssigkeit als die anderen Proben. Die Silikonprothese erreicht Werte, die vergleichbar mit denen der herkömmlichen Kollagenprothese sind, mit leichten Vorteilen für die Silikonprothese. Besonders bei kleinem Durchmesser der Kanülen schneidet letztere besser ab als die üblicherweise genutzten PTFE- beziehungsweise mit Kollagen-beschichteten Prothesen. Stichkanalblutungen sind bei der Verwendung von Dialysekathetern eine häufig auftretende Komplikation. Die Silikon-beschichtete Prothese empfiehlt sich also für eine Testung im Dialyseinsatz. Da in diesem Bereich aber neben dem geringen Blutverlust unter anderem auch die Offenheitsrate, die Einheilung und das Auftreten von Infektionen von Interesse sind, wäre eine vergleichende Studie mit den üblich eingesetzten Dialyseprothesen notwendig. Diese weisen eine hohe Komplikationsrate von über 30% auf [113, 114]. Stichkanalblutungen, die beim Einnähen des

Gefäßersatzes entstehen, dürften bei der Silikon-Prothese durch die geringen Durchmesser der Nadeln vernachlässigbar gering sein.

#### **4.4. Oberflächenthrombogenität**

Beim Ersatz von Gefäßen mit einem Durchmesser von weniger als 6mm ist die Thrombose die Hauptursache für Frühverschlüsse von synthetischen Gefäßprothesen. Natürliche Gefäße verfügen über verschiedene Mechanismen, die eine Plättchenaktivierung oder das Starten der Gerinnungskaskade verhindern. Die Endothelzellen sind dabei ein entscheidender Faktor. Beim künstlichen Gefäßersatz liegt diese schützende Endothelschicht anfangs nicht beziehungsweise später nur unvollständig vor. Fremdoberflächen sind demnach thrombogen. Versuche, Endothelzellen auf synthetischem Material anzusiedeln und dadurch die natürliche Oberfläche zu imitieren, stellen sich als sehr aufwändig dar. Eine andere Möglichkeit, die Thrombogenität gering zu halten ist die Bindung verschiedener Stoffe an die Prothesenoberflächen. Heparin und Carbon waren in der Vergangenheit die am Häufigsten genutzten Moleküle. Mit bioaktiven Heparin-gebundenen Oberflächen konnten in letzter Zeit gute Ergebnisse erzielt werden [30, 49]. Carbon scheint hingegen keine besseren Offenheitsraten zu erreichen [33].

Unsere Arbeitsgruppe beschäftigt sich aber mit anderen Stoffen, bei denen eine Reduktion der Gerinnungsaktivierung erwartet wird. Diese Stoffe werden an die Silikon-beschichtete Prothese gebunden und dadurch die Oberfläche modifiziert.

Verschiedene Eigenschaften können das Ausmaß der Thrombogenität beeinflussen. Hauptsächlich sind dies die Porosität, die Ladung und die Hydrophilität der Prothesen beziehungsweise der Oberflächen.

##### *Porosität*

Die Porosität hat Einfluss auf die Thrombogenität, die Einheilung, die Neointima- und damit auch auf die Endothelbildung. Kogel et al. beschrieben bei ePTFE-Prothesen mit geringer Porosität (30µm Fibrillenlänge) verminderte Verschlussraten. Erklärt haben sie dies durch die geringere Thrombenbildung in den Maschen. Allerdings war

in diesem Fall die Einheilung wesentlich schlechter als bei größerer Porosität. Bei höherer Porosität war zwar die Einheilung und damit Endothelbildung verbessert, es kam jedoch in den Anastomosenbereichen aufgrund der Intimahyperplasie und anschließenden Stenosierung und Retraktion des Thrombus zum Verschluss der Prothese. Die besten Ergebnisse wurden bei einer Porosität von 75µm erzielt [115]. Bei anderen Studien ergaben sich ebenfalls gute Ergebnisse bei einer Porosität in dieser Größenordnung [33]. Unsere Prothese hat zwar nur eine geringe Porosität, wie auch die Daten zur Dichtigkeit verdeutlichen [34], zeigte im Tierversuch jedoch keine Probleme bei der Einheilung [82].

### *Ladung*

Thrombozyten binden, bedingt durch ihre eigene negative Ladung, bevorzugt an positiv geladene Oberflächen. Daraus lässt sich schließen, dass negativ geladene Moleküle durch eine abstoßende Wirkung die Thrombozytenadhäsion verringern müssten. Einige Untersuchungen konnten dies bestätigen [116]. Bei PTFE wurde beispielsweise eine reduzierte Plättchenbindung gegenüber Dacron® festgestellt. Dieser Vorteil ist wahrscheinlich auf die negative Ladung von PTFE zurückzuführen [48]. In Vorversuchen unserer Arbeitsgruppe wurden Tests mit Silanolat und Zinksulfat, beides negativ geladene Moleküle, durchgeführt. Bei beiden wurden partielle Wandthromben beobachtet und deshalb weitere Untersuchungen mit diesen Stoffen eingestellt [117]. In den eigenen Versuchen wurden keine negativ geladenen Moleküle verwendet. Allerdings nutzten wir mit Silber einen Stoff mit positiver Ladung. Tendenziell konnte für die Silberprothese auch eine verstärkte Aktivierung der Gerinnung festgestellt werden.

### *Hydrophilität*

Desweiteren soll eine erhöhte Affinität von Thrombozyten an hydrophobe Flächen bestehen. Für Silikon, einem hydrophoben Stoff, wurde zwar eine gute Hämokompatibilität herausgefunden [100, 108], doch konnte in verschiedenen Studien durch hydrophile Beschichtungen eine verringerte Proteinadsorption und sogar eine verminderte Zelladhäsion festgestellt werden [84-87]. In diesen Studien wurden die hydrophilen Stoffe PVP, PVA und PC verwendet.

Durch Modifizierung einer Silikon- [85] beziehungsweise einer Polymeroberfläche [84] mit Polyvinylpyrrolidon (PVP) konnte die Adsorption von Lysozym und Albumin gegenüber dem unbehandelten Silikon deutlich reduziert werden.

Für Polyvinylalkohol (PVA) wurde das gleiche Ergebnis ermittelt [85]. Zudem konnte eine verminderte Thrombozytenadhäsion an PVA-Hydrogel festgestellt werden [118]. Auch bei Silikon- [86] und Polymeroberflächen [87] konnte eine Modifizierung mit Phosphorylcholin (Phosphocholin, PC)–enthaltenden Molekülen eine verminderte Proteinbindung und gleichzeitig eine verringerte Adhäsion, Aktivierung und Aggregation der Blutzellen beobachtet werden. Aus der Nutzung von PC–beschichteten urologischen Implantaten, Kontaktlinsen und Stents ist dieser Effekt bereits bekannt. Dabei macht man sich die hydrophile und amphotere Eigenschaft (Zwitterion mit gleichem Anteil an positiven und negativen Ladungen) des PC zu Nutzen, die zur Bildung eines Flüssigkeitsspiegels auf der Oberfläche führt. So sollen das Wachsen von Biofilmen und die Bindung von Proteinen erschwert werden.

Durch die Kombination von negativ geladenen und gleichzeitig hydrophilen Oberflächen konnte die Gerinnungsaktivierung gegenüber Oberflächen, die nur über eine der beiden Eigenschaften verfügten, weiter reduziert werden [119].

Neben der direkten Bindung von Zellen, beispielsweise Thrombozyten, an Fremdoberflächen spielt auch die Proteinadsorption für die Bildung von Thromben eine entscheidende Rolle. Diese Bedeutung besteht insofern, als sich aktivierte Thrombozyten an das ebenfalls an die Fremdoberflächen gebundene Protein Fibrinogen lagern. Die Bindung des Fibrinogens erfolgt sofort nach Kontakt mit der Fremdoberfläche und kann gemessen werden. Zwar wird es kurze Zeit später von einem Protein geringerer Konzentration und einer größeren Affinität zu dieser Oberfläche verdrängt ("Vroman–Effekt" [120]), doch kann ein früher Abfall der Fibrinogenkonzentration beobachtet werden. Dieser Effekt konnte in unseren Versuchen nicht festgestellt werden.

Bei der Messung der Fibrinogenbindung wurden die höchsten Werte für Silber, der unbeschichteten PET–Prothese, der PC–Oberfläche und der PTFE–Prothese ermittelt. Erhöhte Messungen sprechen in diesem Fall für eine starke Bindung an Fibrinogen und somit für eine stärkere Gerinnungsaktivierung. Die niedrigsten Werte wurden durch PVA und überraschenderweise beim Silikonröhrchen erzielt. Interessant ist, dass PVA in Kombination mit Silber in der Lage war die starke Fibrinogenbindung



durch das alleinige Silber zu verringern. Durch diese von uns dargestellte Wirkung wäre es möglich, eine infektresistente Silberprothese einzusetzen, die die Gerinnung weniger aktiviert, als es ohne PVA der Fall wäre.

Die Bestimmung der D-Dimere und Prothrombinfragmente F1+2 bestätigten diese Ergebnisse. Bei der Ermittlung der Prothrombinfragmente F1+2 wurden im 1. Durchgang insgesamt sehr hohe Mengen an Fragmenten gemessen, so dass von einer fehlerhaften Auswertung ausgegangen werden kann. Lediglich eine PVA–Probe hatte einen Wert, der im Referenzbereich lag. Im zweiten Durchgang wiesen PVA, Silikon und das Silikonröhrchen vergleichbare Werte mit der Blutprobe vor dem Start des Versuches auf. Die höchsten Fragmentmengen wurden bei Dacron®-Gelatine, PTFE und der unbeschichteten Prothese ermittelt. Die Blutprobe am Ende des Versuches beinhaltete die meisten Prothrombinfragmente F1+2. Diese Probe wurde als einzige durch einen Butterfly abgenommen, der länger als 5 Minuten lag. Bei den anderen Blutentnahmen wurde diese Zeit deutlich unterschritten und regelmäßig ein neuer Butterfly gelegt. Dies bestätigt unsere Annahme, dass durch Utensilien, die bei der Blutentnahme verwendet werden, ebenfalls eine Gerinnungsaktivierung ausgelöst wird. Dies könnte auch die generell höheren Ergebnisse im ersten Durchgang erklären. Es ist demnach zu empfehlen, nach maximal 5 Minuten einen neuen Butterfly einzustechen.

Die Ermittlung der allgemeinen Gerinnungsparameter erbrachte keine verwertbaren Ergebnisse. Auffällig waren erniedrigte Quick–Werte bei einigen Proben. Ursächlich dafür könnte ein erhöhter Verbrauch an Gerinnungsfaktoren (so genannte Verbrauchskoagulopathie) durch eine verstärkte Aktivierung der Blutgerinnung sein. Da die PTT-Werte aber bei diesen Proben im Normalbereich lagen, kann davon nicht ausgegangen werden. Zudem sind Quick-Werte stark methodenabhängig und aus diesem Grund für vergleichende Studien eher ungeeignet. Auch in einer anderen Arbeit dieser Arbeitsgruppe [81] konnten bei der Bestimmung von Routine–Gerinnungsparametern keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, so dass die Ermittlung von Quick, INR und PTT wahrscheinlich keine genauen Aussagen über das Ausmaß einer Gerinnungsaktivierung erlaubt. Dabei ist allerdings der geringe Stichprobenumfang unserer Tests zu berücksichtigen.

Eine weitere von uns angewandte Methode war die Bestimmung von gebildeten Thrombozytenaggregaten. In den letzten Jahren bestätigten Untersuchungen, dass Monozyten–Thrombozyten–Aggregate ein sensitiver Marker für eine Thrombozytenaktivierung sind [121, 122]. Gleichzeitig, aber im geringeren Maße, sind auch Neutrophilen–Thrombozyten–Aggregate Ausdruck einer Gerinnungsaktivierung [122]. In unserem Versuch ergaben sich die niedrigsten Thrombozyten–Monozyten–Aggregatbildungen bei PC und Silber wohingegen die meisten bei PVP und Silikon entstanden. Bei letzteren würde dementsprechend eine stärkere Gerinnungsaktivierung vorliegen. Die Neutrophilen–Thrombozyten–Aggregate waren bei allen Proben niedriger als bei der Leerprobe. Eine Aussage zur Aktivierung ist deshalb nicht möglich.

Nachdem in den ersten Arbeiten bei der Überprüfung der Thrombogenität heparinisiertes Blut in einem rotierenden Modell für bis zu 2 Stunden mit den Oberflächen kontaktiert wurde [81], wollten wir die Wirkung auf nicht–heparinisiertes Blut testen. Auch wenn die Kontaktzeit von einer Minute sehr kurz erscheint, hielten wir dies trotzdem für sinnvoll, da durch die physiologische Gerinnung die Ergebnisse eventuell verfälscht würden. Wie den Resultaten zu entnehmen ist, konnten auch nach dieser Kontaktzeit Unterschiede ermittelt werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass durch die Beschichtung mit Silikon im Vergleich zur reinen Polyesterprothese in allen Versuchen bessere antithrombogene Eigenschaften für die Silikonprothese erreicht wurden. Außerdem scheint die "multifunktionelle Gefäßprothese" bezüglich der Gerinnungsaktivierung den herkömmlichen Prothesen (Dacron®-Gelatine und PTFE) überlegen zu sein. Durch eine Oberflächenmodifizierung mit PVA kann die Thrombogenität von Silikon weiter gesenkt werden. Zudem ist durch die Kombination von Silber, einem stärker thrombogenem Stoff, und PVA der Einsatz einer infektresistenten Prothese mit geringer Gerinnungsaktivierung möglich. PVA maskiert demnach die Oberfläche.

#### 4.5. Antiinfektiöse Oberfläche

Die Infektion nach Implantation von Gefäßersatz ist eine nur in wenigen Fällen auftretende Komplikation. Je nach Autor wird eine Häufigkeit von 1-6% [52] angegeben, wobei die meisten Autoren von einer eher geringen Inzidenz berichten [123, 124]. Aufgrund der oft schwerwiegenden Folgen mit hohen Letalitätsraten von 11-33,9% und Amputationsraten von 8,7–36% in Abhängigkeit von der Lokalisation des Gefäßersatzes [125-127] ist diese Komplikation unbedingt ernst zu nehmen.

Die Art des Prothesenmaterials und das Vorhandensein einer antibakteriellen Beschichtung kann Einfluss auf das Entstehen einer Infektion haben.

Von Interesse sind dabei die Eigenschaften der Oberfläche und die damit verbundene Affinität Bakterien daran zu binden, sowie die Porosität und der zu erwartende Einheilungserfolg. Untersuchungen ergaben eine höhere Affinität verschiedener Bakterienstämme an Dacron im Vergleich zu PTFE [110, 128]. Verantwortlich dafür soll die niedrige bakterielle Adhäsivität bedingt durch die hydrophobe Oberfläche, die elektrische Ladung und die geringe Porosität von PTFE sein. PTFE-Prothesen werden deshalb auch häufig als relativ "infektionsresistent" bezeichnet. Außerdem wird bei gewebten Dacron®-Prothesen eine geringere Adhärenz für Bakterien als bei gestrickten [110] beschrieben. Andererseits besteht das Risiko einer Infektion bei den gestrickten Dacron®-Prothesen überwiegend im Zeitraum der Einheilung, in dem noch keine schützende Intima gebildet wurde. Die Infektion ist dann zunächst regional begrenzt. Da poröse Materialien über bessere Einheilungseigenschaften verfügen ist die gestrickte Dacron®-Prothese hier gegenüber der gewebten beziehungsweise PTFE-Prothesen im Vorteil.

Dass hydrophobe Flächen die Adhäsivität senken würden, konnte, zumindest für *Staphylococcus epidermidis*, auch in anderen Studien bestätigt werden [129, 130]. Gleiches gilt für die These eine geringere Porosität würde eine geringere bakterielle Besiedlung zur Folge haben [130, 131].

Die Kombination der Polyesterprothese mit Silikon ließ also eine Reduktion der bakteriellen Adhäsivität erwarten. Erstens ist Silikon ein hydrophobes Material und zweitens wird durch die Beschichtung die Porosität reduziert. Im Vergleich zu einer herkömmlichen Kollagen-beschichteten Prothese konnte im Biolumineszenzversuch eine geringere Besiedlung mit *Staphylococcus aureus* festgestellt werden. Im anderen Versuch konnte dies aber nicht beobachtet werden, wobei anzumerken ist, dass

hier keine herkömmliche Prothese mit einbezogen wurde. Die ermittelten Daten würden also dafür sprechen, dass durch die Silikonoberfläche die Adhärenzfähigkeit für *S. aureus* gegenüber einer Kollagen-Prothese verringert wird. Die Oberfläche mit angeblicher antibakterieller Wirkung konnte keine besseren Ergebnisse als die Silikonoberfläche erzielen. Der Einsatz einer Prothese mit dieser Oberflächenmodifizierung bietet sich demnach nicht an.

In einer anderen Arbeit wurde die Keimbesiedlung von amphoteren Silikonoberflächen mit 5 verschiedenen Bakterienstämmen überprüft. Es wurde dabei eine signifikante Reduktion der bakteriellen Besiedlung festgestellt [132]. Weitere Literatur dazu konnte nicht gefunden werden. Allerdings konnten wir diese Ergebnisse bestätigen. In beiden Versuchen wurde das Wachstum durch die amphotere Oberfläche zwar nicht komplett gehemmt, konnte aber ab einer bestimmten Konzentration signifikant verringert werden (siehe Tabelle 3.7. und Abbildung 3.8.). Siegel beschreibt ein Verfahren zur Modifizierung von Feststoffen mit einer amphoteren Schicht [133]. Dabei werden in flüssiger Phase vorliegende funktionelle Gruppen, beispielsweise  $-OH$ ,  $-NH_2$ ,  $-COH$ ,  $-SH$ , an Festkörper kovalent gebunden, die zwei Siliziumgebundene Vinyl- oder Butenylgruppen pro Molekül aufweisen. Die Oberflächenmodifikation erfolgt durch ein Tauchbadverfahren. Die entstandene Modifikation soll äußerst hydrolysestabil sein. Außerdem wird die Oberflächenspannung erhöht und die elektrostatische Aufladung reduziert. Dadurch soll eine elektrochemische Verringerung der Bakterienadhäsion erreicht werden. Silikonoberflächen können mit diesem nass-chemischen Verfahren derart modifiziert werden, dass die so entstandene amphotere oder auch "zero-charge" Oberfläche im gleichem Maße an-ionische wie auch kat-ionische Ladungsträger aufweist. Ein Bakterium, egal welcher Oberflächenladung, wird somit von der gleichnamigen Ladung der amphoteren Silikonoberfläche abgestoßen.

Zur Vermeidung von Infektionen können auch Antibiotika oder antibakteriell wirkende Stoffe an die Prothesenoberfläche gebunden werden [53, 54, 60].

Dazu bedarf es eines Antibiotikums oder eines antibakteriellen, möglichst auch antimykotischen Stoffes, der folgende Anforderungen erfüllt:

- er sollte primär gegen die typischen Erreger von Protheseninfektionen wirksam sein
- ein geringes Risiko zur Resistenzbildung aufweisen
- ein ausreichend hohes Wirkspektrum über einen bestimmten Zeitraum besitzen ohne dabei toxisch zu werden oder allergische Reaktionen auszulösen
- möglichst ohne teure Vorbehandlung an die Prothese gebunden werden können
- und die Einheilung der Prothese und die Blutgerinnung nicht beeinflussen.

In dieser Arbeit wurde die antibakterielle Wirkung von an die Prothese gebundenem Silber überprüft. In beiden Versuchen konnte diese Wirkung auf *S. aureus* festgestellt werden. Die Silber-imprägnierten Prothesen konnten ein bakterielles Wachstum komplett verhindern und erzielten die besten Ergebnisse.

Sowohl *in vivo* als auch *in vitro* konnte die antibiotische Wirkung einer mit Silber-Azetat beziehungsweise einer mit elementarem Silber imprägnierten PET-Prothese bestätigt werden. Zudem wurden keine Nebenwirkungen und eine Freisetzung des Stoffes über die Dauer von 90 Tagen (Studiendauer) festgestellt [88, 134]. Im Vergleich zwischen einer mit Rifampin imprägnierten und einer Silber-gebundenen PET-Prothese wurde bei beiden eine Reduktion von Methicillin-resistenten *S. aureus* (MRSA) festgestellt. Allerdings lag diese Reduktion bei der Silber-Prothese niedriger als bei der Antibiotikum-Prothese. Beide Prothesen waren nicht in der Lage eine vollständige Keimeliminierung von MRSA zu erreichen [135]. Ob dieser Vorteil der Antibiotika-gebundenen Prothese auch bei der Silikon-Silber-Prothese gilt, muss noch untersucht werden. Zu beachten wäre dabei die bereits besprochene geringere bakterielle Adhäsivität an Silikon. Zudem wird in den Studien meistens ein bestimmtes Antibiotikum gewählt, bei dem die Wirkung auf die in der Studie verwendeten Mikroorganismen bewiesen ist. Eine Übertragung der Wirksamkeit dieses Antibiotikums auf alle infektionsauslösenden Keime ist deshalb nicht möglich. In den bereits angesprochenen Studien wurde die Wirkung von Silber auf *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* oder *Escherichia coli* nachgewiesen [134]. Diese Stämme, vor allem die Staphylokokken, sind ursächlich für die meisten Protheseninfektionen [50]. Es ist erwiesen, dass Silber gegen ca. 650 Bakterienarten, aber auch Pilze und Viren wirkt [136]. Es besitzt demzufolge ein sehr gro-

ßes Wirkspektrum. Die Wirkung dieses Metalls war auch schon den alten Chinesen vor über 2000 Jahren bekannt. Um Trinkwasser frisch zu halten, wurde dieses in Silberkrügen gelagert. Zudem ist es absolut ungiftig, führt zu keinen Resistenzen und verursacht auch in höheren Konzentrationen keine Nebenwirkungen [137].

Die von uns angewandten Methoden kamen bereits in anderen Versuchen zur Anwendung und gelten als etabliert [138, 139].

In dieser Arbeit konnte der positive Einfluss von amphoteren Oberflächen auf die bakterielle Adhärenz und die Wirksamkeit von Silber-gebundenen Silikonprothesen auf *S. aureus* nachgewiesen werden. Eine Übertragung auf andere Kokkenbakterien ist wahrscheinlich, muss aber überprüft werden. Dasselbe gilt für die Überprüfung im Tierversuch beziehungsweise später in einer klinischen Studie. Der Einfluss der Hydrophobität und Porosität auf eine geringere Bakterienadhärenz im Vergleich zu einer herkömmlichen Kollagen-beschichteten Prothese kann mit unseren Ergebnissen nur vermutet aber nicht signifikant bewiesen werden. Unsere Untersuchungen ergaben, dass der Einsatz von Silber-beschichteten Prothesen in bestimmten Situationen von Vorteil sein kann.

#### **4.6. Medikamentenelution**

Durch die Wahl des Gefäßersatzes soll die Entwicklung einer intimalen Hyperplasie (IH) beeinflusst und damit auch die durch diese verursachten Stenosen und Verschlüsse verhindert oder zumindest verzögert werden. Neben unterschiedlichen Oberflächen haben auch an die Prothesen gebundene und von diesen abgegebene Medikamente Einfluss auf die IH-Entstehung. In den 90er Jahren wurden Medikamente freisetzende Stents ("drug-eluting-stents" - DES) entwickelt, die die Restenose der Koronargefäße verhindern sollen. Besonders Sirolimus und Paclitaxel scheinen dafür geeignet zu sein. Beide Medikamente besitzen eine anti-proliferative Wirkung und finden vielfältige Anwendung als Immunsuppressivum beziehungsweise Chemotherapeutikum. Die Reduktion der Restenoseraten durch die "drug-eluting-stents" konnte in vielen klinischen Studien unter Beweis gestellt werden [140-142]. Dabei wurden leichte Vorteile für die Sirolimus-eluting stents festgestellt.

Obwohl der Schritt von einem "drug-eluting-stent" zu einer "drug-eluting-graft", also einer Gefäßprothese, die Medikamente freisetzt, nicht mehr weit erscheint, verlaufen Forschungen diesbezüglich sehr schleppend. Im Tierversuch wurden PTFE-Prothesen mit Paclitaxel [143] und Sirolimus [144, 145] implantiert. Beide Medikamente konnten eluiert werden und erreichten nach mehreren Wochen hervorragende Offenheitsraten. Es konnten hingegen keine Studien zur Testung einer Paclitaxel- oder Sirolimus-gebundenen PET-Prothese gefunden werden.

Mit der Silikon-beschichteten und mit Medikamenten beladenen Polyesterprothese unserer Arbeitsgruppe wurde einer der ersten Versuche in diese Richtung unternommen. Im Kreislaufmodell mit Verwendung von humanen Leichenarterien und unter statischen Bedingungen konnte schon nach 15 Minuten Sirolimus nachgewiesen werden [81, 82]. Auch im umliegenden organischen Gewebe wurde das Medikament gemessen. Im Tierversuch war Sirolimus ebenfalls 15 Minuten nach Implantation nachweisbar. Für Patchplastiken mit Sirolimus und Paclitaxel konnte bei je 2 Tieren nach 6 Wochen eine Reduktion der Intimahyperplasie festgestellt werden. In einem größeren Versuchsaufbau mit 12 Tieren wurde nur mit Sirolimus weitergearbeitet. Hier wurde nach längstens 153 Tagen wider Erwarten eine gegenüber den Kollagen-Kontrollprothesen erhöhte Intimahyperplasieentstehung festgestellt. Die Operationstechnik und die Wahl des Versuchstieres waren etabliert. Aufgrund der guten Resultate in den Vorversuchen ist auch die Verwendung von Silikon als Beschichtungsmaterial für die Prothesen als Grund für dieses Ergebnis unwahrscheinlich [82]. Dieses Ergebnis konnte nicht sicher erklärt werden. Ursächlich könnte aber eine zu dicke Silikonschicht oder eine nicht vollständig ausgebildete Intimaentstehung mit resultierender erhöhter Thrombozytenanlagerung gewesen sein.

Als positiv ist aber zu bewerten, dass Medikamente sowohl an die Silikonoberfläche gebunden werden als auch kontinuierlich abgegeben werden können und die Kurzzeitergebnisse eine Reduktion der Intimahyperplasie erbrachten. Dies war besonders bei Paclitaxel auffällig. Deshalb sollten sich folgenden Untersuchungen auf dieses Medikament konzentrieren.

Die Verwendung von Silikon als Träger eines Medikamentes wurde bereits erfolgreich getestet [146]. Mehrere Studien, zum Beispiel das TAXUS-Programm, erbrachten zudem eine bessere Wirkung von Paclitaxel, wenn es aus einem Polymer eluiert

wird [147]. Das Polymer Silikon scheint sich demnach als Trägersubstanz anzubieten.

Der Transport und die Verbreitung von Medikamenten werden unter anderem durch ihre Ladung und Hydrophobität beeinflusst. Hydrophobe, also im Wasser unlösliche Substanzen verbleiben dabei länger an der Oberfläche, an die sie gebunden sind, wohingegen hydrophile Stoffe schneller abtransportiert und beseitigt werden [148]. Paclitaxel ist ein hydrophobes Medikament, bei dem die Verteilung durch Diffusion und Konvektion erfolgt. Dabei bindet ein Großteil sofort an hydrophoben Bindungsstellen. Der noch freie Teil diffundiert durch das Gewebe, bis auch dieser gebunden wird. Dadurch ergibt sich hier eine höhere lokale Konzentration als im Blut, was zu einem größeren und länger andauernden Effekt und gleichzeitig geringeren systemischen Nebenwirkungen führt [148]. In der oben erwähnten Studie wurde außerdem festgestellt, dass im Vergleich zwischen endovaskulärer und perivaskulärer Applikation höhere Konzentrationen und Eindringtiefen im Gewebe bei der endovaskulären Applikationsart erreicht wurden. Ein weiterer Vorteil der Medikamentenabgabe im Inneren des Gefäßes besteht in der höheren Ansammlung von Paclitaxel in der Intima, an der schließlich auch die Unterdrückung der Hyperplasie erfolgen soll [148]. Da die von uns verwendete Prothese in einem nasschemischen Vorgang mit Paclitaxel beladen wurde, ist das Medikament sowohl an der Innen- als auch an der Außenseite gebunden, sodass eine Diffusion von beiden Seiten erfolgen kann.

Weil die Gewebekonzentration mit der Applikationsdauer steigt [148], ist eine ausreichende Menge an gebundenem Paclitaxel die Voraussetzung für einen lang anhaltenden Effekt. Dieser wurde im Tiermodell erst ab einer Konzentration von über 20µg pro Stent erreicht (Reduktion der Intimahyperplasie) [149]. Die Wirkung wurde mit 42µg noch verstärkt, allerdings traten dadurch auch stärkere Nebenwirkungen auf. Nach 90 Tagen konnte keine Intimareduktion mehr erzielt werden [149]. In einer anderen Studie wurden mit 200µg Paclitaxel beladene Stents verwendet [150]. Nach 180 Tagen konnte noch eine Reduktion der Intima und zudem geringe Gewebereaktionen ermittelt werden, obwohl der Stent selbst kein Medikament mehr gebunden hatte. Dies bestätigt die Annahme, dass sich Paclitaxel im Gewebe ansammelt. Die unterschiedlichen Ergebnisse könnten mit der Verwendung verschiedener Polymere in beiden Studien zusammenhängen. So ist es möglich, dass in der 2. Studie zwar weniger Paclitaxel abgegeben wurde, dies aber über einen längeren Zeitraum und dadurch weniger Nebenwirkungen auftraten.



Im Gegensatz zum Sirolimus, das durch zytostatische Mechanismen die Intimahyperplasieentstehung beeinflusst, besteht die Wirkung von Paclitaxel in der Auslösung des apoptotischen Zelltods. Beide Medikamente verhindern die Proliferation von glatten Muskelzellen und Endothelzellen. Paclitaxel verhindert zudem auch bei niedrigeren Konzentrationen die Migration dieser beiden Zelltypen [151]. Da die Medikamente auf alle Zellen wirken, kann es zu Nebenwirkungen kommen. Zum Beispiel besteht die Gefahr einer Stentthrombose, da Sirolimus und Paclitaxel auch die Neubildung der Neointima verhindern und sich so über einen längeren Zeitraum Thrombozyten an dem Stent ansetzen und diesen verschließen können. Diese Komplikation tritt aber selten auf [152].

Auf dem Weltkongress der Kardiologie in Barcelona 2006 kam es zu einer kontroversen Diskussion über die Verwendung von DES. Auslöser war die Veröffentlichung zweier Metaanalysen [153, 154], die die Ergebnisse von Langzeitstudien überprüften. Dabei ergab sich, dass im Vergleich zu nicht beschichteten Metallstents der Einsatz von DES zu erhöhten Restenose- und sogar Todesfallraten führen sollte. Dies wurde besonders für Sirolimus festgestellt. Bei Paclitaxel lag die Ereignisrate geringfügig höher als die der normalen Metallstents. Als Ursache wird die bereits angesprochene ausbleibende Intimabildung mit nachfolgender Thromboseneigung vermutet. Deshalb müssen Patienten, die mit diesen Stents behandelt wurden, länger und intensiver mit Thrombozytenfunktionshemmern (Clopidogrel) behandelt werden. Wie lange die Thrombosegefahr anhält, ist nicht bekannt. Weitere Untersuchungen dazu sind abzuwarten.

Zudem können bei zu hohen Konzentrationen, unter anderem bedingt durch den vermehrt ausgelösten Zelltod, Medianekrosen, Fibrinablagerungen an der Intima, Einheilungsstörungen und Entzündungsreaktionen auftreten, die eine Restenose begünstigen würden [149]. Es ist demnach von entscheidender Bedeutung eine Konzentration zu finden, bei der eine lange Wirkung, möglichst über Monate, und zudem wenig Nebenwirkungen auftreten.

Wie viel von dem in der Lösung vorhandenen 5mg Paclitaxel schließlich an unsere Prothese gebunden wurde, konnte nicht ermittelt werden. Ziel des Versuches war aber die Feststellung, ob und in welchem zeitlichen Verlauf Paclitaxel aus der Silikon-beschichteten PET-Prothese eluiert wird und ob die Messung des Medikamentes mittels des ELISA-Kit's der Firma Cardax Pharmaceuticals möglich ist. Da keine

Informationen über die Anwendung dieses Verfahrens zur Quantifizierung von Paclitaxel in Plasma oder ähnlichen Lösungen in der Literatur gefunden werden konnten, war das Ergebnis unserer Versuchsreihe nicht abzusehen. Eine Studie aus den USA bestätigt aber, dass das Immunoassay zur Messung von "Taxus brevifolia" – Rindenextrakten geeignet ist [155].

Aufgrund der spärlichen Datenlage war das Ergebnis für uns sehr erfreulich. Es gelang sowohl bei der Prothese mit hoher Konzentration an Paclitaxel als auch bei der niedrig konzentrierten Prothese ein Nachweis des Medikamentes im statischen und dynamischen Versuchsaufbau bis zum 21. Tag. Allerdings fielen die ermittelten Werte sehr unterschiedlich aus oder sie konnten bei einigen Proben nicht gemessen beziehungsweise, weil sie außerhalb der Eichkurve lagen, nicht ermittelt werden. Aus diesem Grund ist eine Analyse des zeitlichen Verlaufes der Medikamentenabgabe nicht möglich. Die Ursache kann nicht sicher geklärt werden. Nach der ersten Durchführung des ELISA's hielten wir das zu alte ELISA–Kit für ursächlich. Da aber auch das neu erworbene Kit keine konstanten Messungen erbrachte, ist diese Möglichkeit eher auszuschließen. Da einige Messergebnisse außerhalb der Eichkurve lagen, wäre auch eine unzureichende Verdünnung der Proben möglich. Dies müsste bei einer weiteren Durchführung mit diesem ELISA bedacht werden. Es kann aber mit Sicherheit gesagt werden, dass eine Elution stattgefunden hat.

Da auch bei der Prothese mit halber Paclitaxelkonzentration im statischen Versuch eine Messung des Medikamentes bis zum 21. Tag gelang, wäre nun zuerst die Testung dieser Prothese im Tierversuch zu empfehlen. Bei der hoch konzentrierten Prothese würde eventuell eine Gefahr des Auftretens von Nebenwirkungen bestehen. Falls sich die niedrigere Konzentration für eine dauerhafte Unterdrückung der Intimahyperplasie als zu gering erweist, könnte die Konzentration noch erhöht werden.

Zusammenfassend ist festzustellen, dass der Nachweis, dass Paclitaxel in die Matrix einer Silikon-beschichteten Polyester–Prothese eingebracht und zudem aus dieser bis mindestens zum 21. Tag eluiert werden kann, gelang. Weiterhin bestätigt dieses Ergebnis die Möglichkeit, Paclitaxel mit dem verwendeten Elisa–Kit nachzuweisen.

#### 4.7. Ausblick

Ziel unserer Forschungsbemühungen ist die Entwicklung einer "multifunktionellen Gefäßprothese", die die Probleme, welche im Zusammenhang mit künstlichen Gefäßersatz bestehen, lösen kann. Dies soll ohne aufwendige, kostenintensive und derzeit noch nicht ausgereifte Methoden wie zum Beispiel das "endothel cell seeding" oder die Gentherapie realisiert werden.

Folgende Vorteile haben sich bei der "multifunktionellen Gefäßprothese" gezeigt.

*Dichtigkeit:* Die Silikon-beschichtete Prothese genügt den internationalen Standardanforderungen und kommt ohne bovine Abdichtungssubstanzen aus. Dadurch wären Zulassungsrestriktionen nicht zu erwarten. Desweiteren erscheint die Silikonprothese der PTFE-Prothese im Bezug auf das Entstehen von Stichkanalblutungen im Vorteil. Sie empfiehlt sich demnach für eine Testung im Dialyseeinsatz.

*Thrombogenität:* Durch die Modifizierung der Oberfläche mit Polyvinylalkohol (PVA) kann die Gerinnungsaktivierung im Vergleich zu herkömmlichen Prothesen reduziert werden. Da Thrombosen besonders in der frühen Zeit (bis 4 Wochen) nach Implantation eine häufige Komplikation darstellen, könnte durch die Verwendung dieses Moleküls das Auftreten von Frühverschlüssen gesenkt werden. Ein positiver Nebeneffekt wäre eine geringere Ausschüttung des Platelet-derived-Growth Factors (PDGF) und damit eine zu erwartende Minderung der Intimahyperplasie. Die Effektivität von PVA soll dafür *in-vivo* in einem Tierversuch untersucht werden.

*Infektiösität:* Die alleinige Beschichtung mit Silikon war schon in der Lage, die Besiedlung mit Staphylococcus aureus zu verringern. Die zusätzliche Modifizierung mit Silber konnte die Adhärenz von Bakterien weiterhin sehr effektiv senken. Interessant wäre die Testung einer Beschichtungskombination von Silber und PVA und der anschließende Einsatz im Tiermodell. Durch PVA kann die hohe Thrombogenität des Silbers gesenkt werden. Tiefe Infektionen von Implantaten treten bedingt durch eine fehlende Kapillarisation und eine geringe Durchblutung überwiegend in den ersten 4 Wochen nach Implantation auf. Durch die Silberprothese sollen diese Infektionen verhindert werden. Vorstellbar wäre auch eine zusätzliche Beschichtung der Prothe-

se von außen mit einem Molekül, das eine kontinuierliche Gewebeinkorporation gewährleistet. Dadurch könnte die Gefahr einer Infektion weiter vermindert werden. Außerdem sollte überprüft werden, ob die hier erzielten Ergebnisse auch auf die anderen typischen Protheseninfektionen auslösenden Bakterienstämme übertragen werden können.

*Medikamentenelution:* Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist den Proliferationshemmer Paclitaxel (Taxol®) in die Silikonmatrix einzubringen und ihn bei physiologischen Bedingungen (Druck und Pulsfrequenz) über einen Zeitraum von mindestens 21 Tagen in ein vorbeiströmendes Medium zu eluieren. Deshalb wäre die Testung einer Paclitaxel-Prothese zur Unterdrückung einer Intimahyperplasieentstehung im Tierversuch vorstellbar. Dabei könnte der Einfluss des Medikamentes über einen Zeitraum von mehreren Monaten nach Implantation überprüft werden, da bei "drug-eluting-stents" eine nachhaltige Wirksamkeit bei einer Elution von 1 bis 2 Monaten nachgewiesen werden konnte [150]. Weiterhin sollte die Gerinnungsaktivierung von Paclitaxel in Verbindung mit Silikon und zusammen mit PVA und Silber untersucht werden.

Langfristiges Ziel ist natürlich der Einsatz der "multifunktionellen Gefäßprothese" in einer klinischen Studie, zum Beispiel als Gefäßrekonstruktion im infragenaalen Bereich. Ideal wäre natürlich die Verwendung einer Silikonprothese in der sowohl Silber und PVA gebunden sind und aus der zudem Paclitaxel eluiert wird. Dadurch wäre eine antiinfektiöse Prothese geschaffen die außerdem die Thrombogenität und die Entstehung einer Intimahyperplasie positiv beeinflusst. In dieser möglichen Bindung verschiedenster Moleküle oder Medikamente wird der große Vorteil dieser Prothese gegenüber den herkömmlich eingesetzten Prothesen deutlich.

## 5. Zusammenfassung

### Einleitung

Müssen im Verlauf einer kardiovaskulären Erkrankung geschädigte Gefäßabschnitte ersetzt werden, stehen den Gefäßchirurgen neben organischen Eigen- oder Fremdmaterial hauptsächlich die Kunststoffe Polytetrafluorethylen (PTFE) und Polyethylenterephthalat (PET, Polyester, Dacron®) zum Gefäßersatz zur Verfügung. Im Zusammenhang mit diesen künstlichen Ersatzmaterialien kommt es allerdings häufig zu Komplikationen. Diese sind besonders nach Rekonstruktion kleiner Gefäße durch die Thrombogenität ihrer Oberflächen und eine übersteigerte Intimahyperplasie bedingt. Ursächlich für einen Misserfolg können außerdem eine ungenügende Dichtigkeit und eine Infektion des Gefäßersatzes sein. Diese Arbeit beschäftigt sich mit der Weiterentwicklung einer "multifunktionellen" Silikon-beschichteten und Medikamenten-freisetzenden Gefäßprothese, bei der die Oberflächeneigenschaften optimiert wurden.

### Material und Methoden

Herstellung der Prothesen: Gewirkte Polyesterprothesen wurden maschinell mit Silikon beschichtet. Die ursprünglich mittels einer Drehmaschine nur von außen betroffenen Prothesen sollten zusätzlich auch von innen mit einer Silikonschicht versehen werden. Hierzu wurde eine spezielle Beschichtungsapparatur entwickelt. Durch einen nass-chemischen Prozess wurden in einem zweiten Schritt verschiedene Stoffe kovalent/ionogen an die Oberfläche des Silikons gebunden. Zur Anwendung kamen dabei Polyvinylpyrrolidon (PVP), Polyvinylalkohol (PVA), Phosphorylcholin (PC), eine amphotere Oberfläche, Silber und die Kombination von Silber und PVA. In einem weiteren nass-chemischen Prozess wurde das Medikament Paclitaxel (Taxol®) zur physikalischen Bindung in die Silikonmatrix eingebracht.

Untersuchung der Eigenschaften: Es wurden die Dichtigkeit und die antiinfektiösen Eigenschaften der Prothesen, der Einfluss der an die Oberflächen gebundenen Moleküle auf die Thrombogenität und die Medikamentenelution untersucht.

*Dichtigkeit:* Gemessen wurde der durchschnittliche Wasserverlust der beschichteten Prothese. Zudem wurde der Flüssigkeitsverlust einer Silikon-beschichteten Prothese im Vergleich zu einer PTFE- (Fa.Gore), einer 3-schichtigen PTFE- (Rapidax®, Fa. Vascutek) und einer mit Kollagen beschichteten Prothese (Intergard®, Fa. Intervascular) nach Einstich von verschiedenen Kanülen (Ø 0,4mm; 0,45mm; 0,8mm und 0,9mm - Microlance™3, Fa. Becton-Dickinson) und Venenverweilkanülen (Ø 0,9mm; 1,1mm; 1,3mm und 1,8mm - Vasofix® Safety; Fa. B.Braun) untersucht.

*Oberflächenthrombogenität:* Um den Einfluss verschiedener Prothesenoberflächen auf die Gerinnung beurteilen zu können, wurde das mit den Oberflächen kontaktierte Blut hinsichtlich allgemeiner Gerinnungsparameter (Quick, INR, PTT und Fibrinogen) untersucht. Außerdem wurde die Anwesenheit von Aktivatoren der Gerinnung (Prothrombinfragmente F1+2) und der Fibrinolyse (D-Dimere) mittels ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbend Assay) ermittelt. Um eine zusätzliche Einschätzung über das Ausmaß der Gerinnungsaktivierung zu gewinnen, wurde die Menge an Thrombozytenaggregaten und gebundenem Fibrinogen an Thrombozyten mit Hilfe der Durchflusszytometrie gemessen.

*Die antiinfektiöse Oberfläche:* In einem *in-vitro* Versuch sollte die Effektivität von Silber und einer amphoteren Oberfläche auf Silikonkathetern gegen *S. aureus* nachgewiesen werden. Dazu wurden die Katheterstücke auf einer Agarplatte in Schafblut mit einer Bakteriensuspension inkubiert und anschließend die anhaftenden Bakterien quantifiziert. In einem 2.Versuch wurden die antiinfektiösen Eigenschaften einer Kollagenprothese sowie von 3 mit Silikon beschichteten PET-Prothesen, wobei eine nicht zusätzlich modifiziert, eine mit Silber imprägniert und eine mit einer amphoteren Oberfläche versehen wurde, untersucht. Diese Prothesen wurden mit einem *Staphylococcus aureus* xen29- Stamm inkubiert und anschließend die von Bakterien abgegebenen Lumineszenzsignale mit einem Kamerasystem gemessen.

*Medikamentenelution:* Im Kreislaufmodell und in einem statischen Versuchsaufbau wurde mit Hilfe eines monoklonal Antikörper-basierenden Immuno-Assay (Fa. Cardax Pharmaceuticals, Hawaii, USA) die Elution von Paclitaxel aus der Prothese in ein vorbeifließendes Medium (Humanalbumin) nachgewiesen. Dieses Medikament ist ein Proliferationshemmer und soll Prothesenverschlüsse durch eine überschießende Intimahyperplasie verhindern.

## Ergebnisse

Herstellung der Prothesen. Die Umstellung des Beschichtungsvorgangs mit einer 3. Beschichtung von innen konnte realisiert werden. Dadurch können Silikon und Zeit eingespart werden. Zudem wird die Silikonschicht an der Innenoberfläche verstärkt.

### Untersuchung der Eigenschaften:

*Dichtigkeit:* Bei der Untersuchung des Flüssigkeitsverlustes nach Einstich von Kanülen und Venenverweilkanülen zeigten sich die geringsten Verlustraten bei der Rapi-dax®-Prothese und die höchsten bei der PTFE-Prothese. Die Silikon-beschichtete und die herkömmliche PET-Prothese erzielten insgesamt ähnliche Ergebnisse. Nach Durchstich mit einer Kanüle ( $\varnothing$  0,9mm) wurden beispielsweise Verluste von  $4,77 \pm 0,38$ g/min für die Silikonprothese,  $3,87 \pm 1,13$ g/min für die Intergard® (PET-Prothese),  $44,22 \pm 5,75$ g/min für die PTFE-Prothese und  $1,4 \pm 0,04$ g/min für die Rapi-dax® gemessen.

*Oberflächenthrombogenität:* Durch die Beschichtung mit Silikon konnte im Vergleich zur reinen Polyesterprothese und gegenüber den herkömmlichen Prothesen (Dacron®-Gelatine und PTFE) in allen Versuchen eine geringere Gerinnungsaktivierung für die Silikonprothese festgestellt werden. Die zusätzliche Oberflächenmodifizierung von Silikon - und Silberprothesen mit PVA erbrachte niedrigere Gerinnungswerte als die alleinigen Oberflächen.

*Die antiinfektiöse Oberfläche:* Im ersten Versuch konnten keine S.aureus an der Oberfläche des Silikonkatheters gezählt werden. Das Bakterienwachstum wurde vollständig inhibiert. Die amphotere Oberfläche hingegen konnte das bakterielle Wachstum im Vergleich zur reinen Silikonoberfläche nur leicht hemmen. Der 2. Versuch konnte diese Ergebnisse bestätigen. Bei der Silber-imprägnierten Prothese wurden keine Lumineszenzsignale gemessen. Es fand kein Bakterienwachstum statt. Die meisten Signale gingen von der Kollagenprothese (größtes bakterielles Wachstum) aus. Die amphotere Oberfläche konnte im Vergleich zur Silikon-beschichteten Prothese eine geringe antibakterielle Wirkung erzielen.

*Medikamentenelution:* Paclitaxel konnte im Kreislaufmodell und auch im statischen Versuchsaufbau über einen Zeitraum von bis zu 21 Tagen im Humanalbumin nachgewiesen werden.

## **Diskussion**

Durch die Beschichtung mit Silikon wird eine primäre Dichtigkeit erreicht. Außerdem konnten nun die Prothesen durch die Umstellung des Herstellungsverfahrens in besserer Qualität und schneller hergestellt werden. Es konnte nachgewiesen werden, dass die Eigenschaften der einzelnen Moleküle in der Kombinationsprothese erhalten bleiben: so konnte die Thrombogenität der antiinfektiösen Silberprothese durch das PVA aufgehoben werden. Die Elution des Paclitaxels war unabhängig von der Oberflächenbeschichtung. Alternativ können auch andere Moleküle und Medikamente verwendet werden. Ziel ist nun die Testung dieser Prothese zunächst im Tierversuch und auf lange Sicht in einer klinischen Studie. Insbesondere bietet sich eine vergleichende Studie mit herkömmlichen Prothesen im Dialyseinsatz an, da die Silikonprothese hinsichtlich der Dichtigkeit besonders bei Venenverweilkanülen mittleren Durchmessers gegenüber PTFE- und einer Polyester-Prothese überzeugen konnte.



## 6. Abkürzungsverzeichnis

<b>Abkürzung</b>	<b>Bedeutung</b>
<b>Ak</b>	Antikörper
<b>CFU</b>	Colony Forming Units
<b>CD</b>	Cluster of Differentiation (Zelloberflächenantigene)
<b>DES</b>	drug-eluting-stents
<b>ePTFE</b>	expanded Polytetraflourethylen
<b>ELISA</b>	Enzyme - Linked Immuno Sorbend Assay
<b>FACS</b>	Fluorescence Activated Cell Sorting (Durchflusszytometrie)
<b>FGF</b>	Fibroblast Growth Factor
<b>FITC</b>	Fluoreszeinisothiocyanat
<b>INR</b>	International Normalized Ratio
<b>PC</b>	Phosphorylcholin
<b>PET</b>	Polyethylenterephthalat
<b>PDGF</b>	Plateled Derived Growth Factor
<b>PDMS</b>	Polydimethylsiloxan
<b>PTT</b>	Partielle Thromboplastinzeit
<b>PVA</b>	Polyvinylalkohol
<b>PVP</b>	Polyvinylpyrrolidon

## 7. Literaturverzeichnis

1. Vesalius, A. *De vivorum sectione nonnulla. Caput XIX In: De humani corporis fabrica libri septem*; Basel; 1543; 658-61.
2. Abbe, R. *The surgery of the hand*. N Y Med J. 1894; 59: 33-40.
3. Nitze, M. *Anfänge der Ringanastomosen*. Zbl Chir. 1897; 39: 1042-45.
4. Payr, E. *Beiträge zur Technik der Blutgefäß- und Nervennaht nebst Mitteilungen über die Verwendung eines resorbierbaren Metalls in der Chirurgie*. Arch Klin Chir. 1900; 62: 67-93.
5. Muir, E. *A new device for anastomosing blood vessels*. Lancet. 1914; 34: 211-13.
6. Horsley, J.S. *Surgery of the vessels*, 1.Auflage; Mosby, St. Louis; 1915; 31-45.
7. Tuffier, M. *De l'intubation dans les plaies des grosses arteres*. Bull Acad Med. 1915; 74: 455-57.
8. Carrel, A. *Results of permanent intubation of the thoracic aorta*. Surg Gynecol Obstet. 1912; 15: 245-48.
9. Blackmore, A., Lord, JW., Stefco, PL. *The severed primary artery in the war wounded. A non sutured method of bridging arterial defects*. Surgery. 1942; 12: 488-508.
10. Hufnagel, C. *Permanent intubation of the aorta*. Arch of Surg 1947; 54: 382-89.
11. Voorhees, A.B., Jaretzki, A., Blakemore, A. H. *The use of tubes constructed from vinyon "N" cloth in bridging arterial defects*. Ann Surg. 1952; 135: 332-36.
12. Edwards, W.S., Tapp, J. S. *Chemically treated nylon tubes as arterial grafts*. Surgery. 1955; 38: 61-70.
13. Hufnagel, C.A., Rabil, P. *Replacement of arterial segments utilizing flexible orlon prostheses*. AMA Arch Surg. 1955; 70: 105-10.
14. Kunlin, J. *Disadvantages of ivalon used as arterial prothesis*. Mem Acad Chir 1956; 82: 1047-50.
15. Ochsner, J.C., Ashes, C., DeBakey, M.E. et al. *Experimental evaluation of Marlex prostheses*. Proc Soc Exp Biol Med. 1961; 107: 208-10.
16. Paschold, K., Fiehring, H., Vick, J. *On the hemodynamics of alloplastic Perlon and Lanon vascular prostheses*. Zentralbl Chir. 1961; 86: 139-44.

17. Szilagyi, D.E., France, L. C., Smith, R. F., et al. *The clinical use of an elastic dacron prosthesis*. AMA Arch Surg. 1958; 77: 538-51.
18. Edwards, W.S., Lyons, C. *Three years' experience with peripheral arterial grafts of crimped nylon and teflon*. Surg Gynecol Obstet. 1958; 107: 62-8.
19. Self, M.M., Cooley, D. A., DeBakey, M. E., et al. *The use of braided nylon tubes for aortic replacement*. Ann Surg. 1955; 142: 836-43.
20. Julian, O.C., Deterling, R. A., Jr., Dye, W. S. et al. *Dacron tube and bifurcation arterial prostheses produced to specification. II. Continued clinical use and the addition of micro-crimping*. AMA Arch Surg. 1959; 78: 260-70.
21. Harrison, J.H., Davalos, P. A. *Influence of porosity on synthetic grafts. Fate in animals*. Arch Surg. 1961; 82: 8-13.
22. Sauvage, L.R., Berger, K., Wood, S. J. et al. *An external velour surface for porous arterial prostheses*. Surgery. 1971; 70: 940-53.
23. Durmuş, T. *Blood vessel substitutes*. Metu Biomat - online: [http://www.biomed.metu.edu.tr/courses/term\\_papers/Blood-Vessel-Substitutes\\_durmus.htm](http://www.biomed.metu.edu.tr/courses/term_papers/Blood-Vessel-Substitutes_durmus.htm) (2008); Ankara; 2002.
24. Debus, E., Dietz, UA., Larena-Avellaneda, A. *Naht- und Anastomosetechniken in der Gefäßchirurgie, CD-ROM, 2. Auflage*. Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg; 2005.
25. Soyer, T., Lempinen, M., Cooper, P. et al. *A new venous prosthesis*. Surgery. 1972; 72: 864-72.
26. Matsumoto, H., Hasegawa, T., Fuse, K. et al. *A new vascular prosthesis for a small caliber artery*. Surgery. 1973; 74: 519-23.
27. Campbell, C.D., Brooks, D. H., Webster, M. W., et al. *The use of expanded microporous polytetrafluoroethylene for limb salvage: a preliminary report*. Surgery. 1976; 79: 485-91.
28. Dardik, H.D., Ibrahim, I. M., Sprayregen, S., et al. *Clinical experience with modified human umbilical cord vein for arterial bypass*. Surgery. 1976; 79: 618-24.
29. Guidoin, R., Marois, Y., Zhang, Z. et al. *The benefits of fluoropassivation of polyester arterial prostheses as observed in a canine model*. Asaio J. 1994; 40: 870-9.
30. Walluscheck, K.P., Bierkandt, S., Brandt, M., et al. *Infrainguinal ePTFE vascular graft with bioactive surface heparin bonding. First clinical results*. J Cardio-vasc Surg. 2005; 46: 425-30.

31. White, J.V., Benvenisty, A. I., Reemtsma, K., et al. *Simple methods for direct antibiotic protection of synthetic vascular grafts*. J Vasc Surg. 1984; 1: 372-80.
32. Graham, L.M., Vinter, D. W., Ford, J. W. et al. *Endothelial cell seeding of prosthetic vascular grafts: early experimental studies with cultured autologous canine endothelium*. Arch Surg. 1980; 115: 929-33.
33. Akers, D.L., Du, Y. H., Kempczinski, R. F. *The effect of carbon coating and porosity on early patency of expanded polytetrafluoroethylene grafts: an experimental study*. J Vasc Surg. 1993; 18: 10-5.
34. Larena-Avellaneda, A., Dittmann, G., Haacke, C., et al. *Silicone-based vascular prosthesis: assessment of the mechanical properties*. Ann Vasc Surg. 2008; 22: 106-14.
35. Vollmar. *Rekonstruktive Chirurgie der Arterien*, 3. Auflage. Thieme Verlag Stuttgart; New York; 1982; 50-4.
36. Wesolowski, S.A. *The Healing of Vascular Prostheses*. Surgery. 1965; 57: 319-24.
37. Giessler, R. *Gefäßrekonstruktionen*. In: Heberer, G., van Dongen, R.J.A.M. (Hrsg.) *Gefäßchirurgie. Aus der allgemeinen und speziellen Operationslehre* 1. Auflage. Springer-Verlag; Berlin, Heidelberg, New York; 2003; 80-8.
38. Schmidt, R., Bruns, C., Planck, H. *Gefäßchirurgie - eine Einführung*, 1. Auflage. Johann Ambrosius Barth Verlag;; Heidelberg, Leipzig; 1995; 53-7.
39. Weiss, W.M., Riles, T. S., Gouge, T. H., et al. *Angiosarcoma at the site of a Dacron vascular prosthesis: a case report and literature review*. J Vasc Surg. 1991; 14: 87-91.
40. Riepe, G., Loos, J., Imig, H. et al. *Long-term in vivo alterations of polyester vascular grafts in humans*. Eur J Vasc Endovasc Surg. 1997; 13: 540-8.
41. Ratto, G.B., Motta, G. *Small-caliber arterial prostheses: influence of porosity*. J Chir 1983; 120: 337-42.
42. Domurado, D., Guidoin, R., Marois, M. et al. *Albuminated dacron prostheses as improved blood vessel substitutes*. J Bioeng. 1978; 2: 79-91.
43. Stegmann, T., Haverich, A., Borst, H. G. *Clinical experience with a new collagen-coated Dacron double-velour prosthesis*. Thorac Cardiovasc Surg. 1986; 34: 54-6.
44. Prager, M.R., Hoblaj, T., Nanobashvili, J. et al. *Collagen- versus gelatine-coated Dacron versus stretch PTFE bifurcation grafts for aortoiliac occlusive disease: long-term results of a prospective, randomized multicenter trial*. Surgery. 2003; 134: 80-5.

45. Huber, K.e.a. *Mechanismen der Thrombozytenaktivierung - und hemmung.* Journal für Kardiologie. 2003; 10 554 - 60.
46. Sarkar, S., Sales, K. M., Hamilton, G., et al. *Addressing thrombogenicity in vascular graft construction.* J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2007; 82: 100-8.
47. Polley, M.J., Nachman, R. L. *Human platelet activation by C3a and C3a des-arg.* J Exp Med. 1983; 158: 603-15.
48. Hamlin, G.W., Rajah, S. M., Crow, M. J., et al. *Evaluation of the thrombogenic potential of three types of arterial graft studied in an artificial circulation.* Br J Surg. 1978; 65: 272-6.
49. Peeters, P., Verbist, J., Deloose, K., et al. *Results with heparin bonded polytetrafluoroethylene grafts for femorodistal bypasses.* J Cardiovasc Surg 2006; 47: 407-13.
50. Zühlke, H.V., Harnoss, B.-M., Lorenz, E.P.M. *Staphylokokken als Ursache septischer Gefäßkomplikationen. In: Septische Gefäßchirurgie, 2. Auflage.* Blackwell Wissenschaft; Berlin; 1994; 63-4.
51. Mertens, R.A., O'Hara, P. J., Hertzner, N. R. et al. *Surgical management of infrainguinal arterial prosthetic graft infections: review of a thirty-five-year experience.* J Vasc Surg. 1995; 21: 782-91.
52. Zühlke, H.V., Harnoss, B.-M., Lorenz, E.P.M. *Postoperative Infektionen in der Gefäßchirurgie. In: Septische Gefäßchirurgie, 2. Auflage.* Blackwell Wissenschaft; Berlin; 1994; 12-7.
53. Rutledge, R., Baker, V. V., Sherertz, R., et al. *Rifampin and cefazolin as prophylactic agents. A comparison in an animal model of vascular graft infection.* Arch Surg. 1982; 117: 1164-5.
54. Haverich, A., Hirt, S., Karck, M. et al. *Prevention of graft infection by bonding of gentamycin to Dacron prostheses.* J Vasc Surg. 1992; 15: 187-93.
55. Modak, S.M., Sampath, L., Fox, C. L., Jr., et al. *A new method for the direct incorporation of antibiotic in prosthetic vascular grafts.* Surg Gynecol Obstet. 1987; 164: 143-7.
56. Ney, A.L., Kelly, P. H., Tsukayama, D. T., et al. *Fibrin glue-antibiotic suspension in the prevention of prosthetic graft infection.* J Trauma. 1990; 30: 1000-6.
57. Moore, W.S., Chvapil, M., Seiffert, G., et al. *Development of an infection-resistant vascular prosthesis.* Arch Surg. 1981; 116: 1403-7.
58. Gahtan, V., Esses, G. E., Bandyk, D. F. et al. *Antistaphylococcal activity of rifampin-bonded gelatin-impregnated Dacron grafts.* J Surg Res. 1995; 58: 105-10.

59. Greco, R.S., Harvey, R. A., Smilow, P. C., et al. *Prevention of vascular prosthetic infection by a benzalkonium-oxacillin bonded polytetrafluoroethylene graft.* Surg Gynecol Obstet. 1982; 155: 28-32.
60. Hernandez-Richter, T., Schardey, H. M., Lohlein, F. *The prevention and treatment of vascular graft infection with a Triclosan (Irgasan)-bonded Dacron graft: an experimental study in the pig.* Eur J Vasc Endovasc Surg. 2000; 20: 413-8.
61. Hardman, S., Cope, A., Swann, A. et al. *An in vitro model to compare the antimicrobial activity of silver-coated versus rifampicin-soaked vascular grafts.* Ann Vasc Surg. 2004; 18: 308-13.
62. Tortoriello, A., Pedrizzetti, G. *Flow-tissue interaction with compliance mismatch in a model stented artery.* J Biomech. 2004; 37: 1-11.
63. Clowes, A.W., Clowes, M. M., Fingerle, J., et al. *Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. V. Role of acute distension in the induction of smooth muscle proliferation.* Lab Invest. 1989; 60: 360-4.
64. Lindner, V., Olson, N. E., Clowes, A. W., et al. *Inhibition of smooth muscle cell proliferation in injured rat arteries. Interaction of heparin with basic fibroblast growth factor.* J Clin Invest. 1992; 90: 2044-9.
65. Koyama, N., Hart, C. E., Clowes, A. W. *Different functions of the platelet-derived growth factor-alpha and -beta receptors for the migration and proliferation of cultured baboon smooth muscle cells.* Circ Res. 1994; 75: 682-91.
66. Davies, M.G., Hagen, P. O. *Pathobiology of intimal hyperplasia.* Br J Surg. 1994; 81: 1254-69.
67. Newby, A.C., Zaltsman, A. B. *Molecular mechanisms in intimal hyperplasia.* J Pathol. 2000; 190: 300-9.
68. Asahara, T., Bauters, C., Pastore, C. et al. *Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery.* Circulation. 1995; 91: 2793-801.
69. Hart, C.E., Kraiss, L. W., Vergel, S. et al. *PDGFbeta receptor blockade inhibits intimal hyperplasia in the baboon.* Circulation. 1999; 99: 564-9.
70. Radke, P.W., Figulla, H. R., Drexler, H., et al. *A double-blind, randomized, placebo-controlled multicenter clinical trial to evaluate the effects of the angiotensin II receptor blocker candesartan cilexetil on intimal hyperplasia after coronary stent implantation.* Am Heart J. 2006; 152: 761 e1-6.
71. Gimeno, M.J., Gonzalez, J., Rodriguez, M. *Potential role of a new anti-beta3 integrin antibody in the development of intimal hyperplasia after vascular sur-*

- gery: an *in vitro* smooth muscle cell model. *Histol Histopathol.* 2001; 16: 821-6.
72. Okamoto, Y., Satomura, K., Nakayama, K. *A matrix metalloproteinase inhibitor, ONO-4817, suppresses the development of aortic intimal hyperplasia in experimental hyperlipidemic rabbit.* *Int Heart J.* 2007; 48: 369-78.
  73. Wang, C.H., Cherg, W. J., Yang, N. I. et al. *Late-outgrowth endothelial cells attenuate intimal hyperplasia contributed by mesenchymal stem cells after vascular injury.* *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28: 54-60.
  74. Quinones-Baldrich, W.J., Ziomek, S., Henderson, T., et al. *Patency and intimal hyperplasia: the effect of aspirin on small arterial anastomosis.* *Ann Vasc Surg.* 1988; 2: 50-6.
  75. Clowes, A.W., Clowes, M. M. *Regulation of smooth muscle proliferation by heparin in vitro and in vivo.* *Int Angiol.* 1987; 6: 45-51.
  76. Zou, R.J., Zou, L. J., Huang, S. D. et al. *Effect of external stents on prevention of intimal hyperplasia in a canine vein graft model.* *Chin Med J* 2007; 120: 2264-7.
  77. Noori, N., Scherer, R., Perktold, K. *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.* 1999; 18: 191-200.
  78. Kissin, M., Kansal, N., Pappas, P. J. *Vein interposition cuffs decrease the intimal hyperplastic response of polytetrafluoroethylene bypass grafts.* *J Vasc Surg.* 2000; 31: 69-83.
  79. Ortu, P., LaMuraglia, G. M., Roberts, W. G. et al. *Photodynamic therapy of arteries. A novel approach for treatment of experimental intimal hyperplasia.* *Circulation.* 1992; 85: 1189-96.
  80. Liuzzo, J.P., Ambrose, J. A., Coppola, J. T. *Sirolimus- and taxol-eluting stents differ towards intimal hyperplasia and re-endothelialization.* *J Invasive Cardiol.* 2005; 17: 497-502.
  81. Larena-Avellaneda, A. *Entwicklung einer neuen, multifunktionellen Gefäßprothese zum Einsatz in der Gefäßchirurgie.* Habilitationsschrift; Würzburg; 2005.
  82. Dittmann, G. *Die multifunktionelle Gefäßprothese - Analyse physikalischer Eigenschaften, Versuche zur Medikamentenfreisetzung und Erprobung im Tiermodell.* Dissertationsschrift; Würzburg; 2007.
  83. Larena-Avellaneda, A., Debus, E., Siegel, R., et al. *Die Silikon-beschichtete Polyester-Prothese: Weiterführende Modifikationen und Vorstellung des „drug releasing graft“.* *Gefäßchirurgie.* 2004; 9: 105-10.

84. Rovira-Bru, M., Giralt, F., Cohen, Y. *Protein Adsorption onto Zirconia Modified with Terminally Grafted Polyvinylpyrrolidone*. J Colloid Interface Sci. 2001; 235: 70-9.
85. Wu, D., Zhao, B., Dai, Z. et al. *Grafting epoxy-modified hydrophilic polymers onto poly(dimethylsiloxane) microfluidic chip to resist nonspecific protein adsorption*. Lab Chip. 2006; 6: 942-7.
86. Feng, W., Zhu, S., Ishihara, K., et al. *Adsorption of fibrinogen and lysozyme on silicon grafted with poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) via surface-initiated atom transfer radical polymerization*. Langmuir. 2005; 21: 5980-7.
87. Ishihara, K., Tsuji, T., Kurosaki, T., et al. *Hemocompatibility on graft copolymers composed of poly(2-methacryloyloxyethyl phosphorylcholine) side chain and poly(n-butyl methacrylate) backbone*. J Biomed Mater Res. 1994; 28: 225-32.
88. Ricco, J.B. *InterGard silver bifurcated graft: features and results of a multicenter clinical study*. J Vasc Surg. 2006; 44: 339-46.
89. Larena-Avellaneda, A. *Künstliche Gefäßprothesen: Probleme und Lösungen*. Med Welt. 2008; 6: 229-35.
90. Lin, H.H., Wyrick, J. D., Stern, P. J. *Proximal interphalangeal joint silicone replacement arthroplasty: clinical results using an anterior approach*. J Hand Surg [Am]. 1995; 20: 123-32.
91. Erickson, B.A., Navai, N., Patil, M., et al. *A prospective, randomized trial evaluating the use of hydrogel coated latex versus all silicone urethral catheters after urethral reconstructive surgery*. J Urol. 2008; 179: 203-6.
92. Foliart, D.E. *Swanson silicone finger joint implants: a review of the literature regarding long-term complications*. J Hand Surg 1995; 20: 445-9.
93. Zappi, E., Barnett, J. G., Zappi, M., et al. *The long-term host response to liquid silicone injected during soft tissue augmentation procedures: a microscopic appraisal*. Dermatol Surg. 2007; 33 186-92.
94. Elejabertia, J. *Silicone in autoimmune diseases and cancer*. Rev Med Univ Navarra. 1999; 43: 62-7.
95. Siggelkow, W., Klosterhalfen, B., Klinge, U. et al. *Analysis of local complications following explantation of silicone breast implants*. Breast. 2004; 13: 122-8.
96. Ashton, F., Geddes, R., Fejfar, J. *Woven silicone rubber as a venous prosthesis*. Br Med J. 1969; 3: 409-10.



97. Guidoin, R., Thevenet, A., Noel, H. P., et al. *The Sparks-Mandril arterial prosthesis. An ingenious concept, a total failure. What can we learn from it?* J Mal Vasc. 1984; 9: 277-83.
98. Parr, D.C., Hopkinson, B. R. *Clinical experience with silicone rubber grafts as shunts in portal hypertension.* Br J Surg. 1978; 65: 585-7.
99. White, R.A., Klein, S. R., Shors, E. C. *Preservation of compliance in a small diameter microporous, silicone rubber vascular prosthesis.* J Cardiovasc Surg 1987; 28: 485-90.
100. Stimpson, C., White, R., Klein, S., et al. *Patency and durability of small diameter silicone rubber vascular prostheses.* Biomater Artif Cells Artif Organs. 1989; 17: 31-43.
101. McLaughlin, K., Jones, B., Mactier, R., Porteus, C. *Long-term vascular access for hemodialysis using silicon dual-lumen catheters with guidewire replacement of catheters for technique salvage.* Am J Kidney Dis. 1997; 29: 553-9.
102. Lumsden, A.B., Chen, C., Coyle, K. A. et al. *Nonporous silicone polymer coating of expanded polytetrafluoroethylene grafts reduces graft neointimal hyperplasia in dog and baboon models.* J Vasc Surg. 1996; 24: 825-33.
103. Schanzer, H., Martinelli, G., Burrows, L., et al. *Clinical trial of a self-sealing PTFE-silicone dialysis graft.* ASAIO Trans. 1989; 35: 211-3.
104. Scholz, H., Naundorf, M., Matthes, G., et al. *Use of formaldehyde-preserved, silicone-coated inner surface and form-fixed bovine blood vessels as vascular transplants.* Zentralbl Chir. 1988; 113: 436-40.
105. Moss, A.H., Vasilakis, C., Holley, J. L. et al. *Use of a silicone dual-lumen catheter with a Dacron cuff as a long-term vascular access for hemodialysis patients.* Am J Kidney Dis. 1990; 16: 211-5.
106. Granke, K., Ochsner, J. L., McClugage, S. G., et al. *Analysis of graft healing in a new elastomer-coated vascular prosthesis.* Cardiovasc Surg. 1993; 1: 254-61.
107. Bjorck, C.G., Bergqvist, D., Glimaker, H., et al. *Increased thrombogenicity after polymer coating: experiences with the first version of a new woven Dacron graft for aortic reconstruction.* Eur J Surg. 1994; 160: 9-16.
108. Spiller, D., Losi, P., Briganti, E., et al. *PDMS content affects in vitro hemocompatibility of synthetic vascular grafts.* J Mater Sci Mater Med. 2007; 18: 1097-104.
109. Wang, I.W., Anderson, J. M., Jacobs, M. R., et al. *Adhesion of Staphylococcus epidermidis to biomedical polymers: contributions of surface thermodynamics and hemodynamic shear conditions.* J Biomed Mater Res. 1995; 29: 485-93.

110. Harris, J.M., Martin, L. F. *An in vitro study of the properties influencing Staphylococcus epidermidis adhesion to prosthetic vascular graft materials.* Ann Surg. 1987; 206: 612-20.
111. Martin, J. *Learning from vascular remodelling.* Clin Exp Allergy. 2000; 30 33-6.
112. Kadoba, K., Schoen, F. J., Jonas, R. A. *Experimental comparison of albumin-sealed and gelatin-sealed knitted Dacron conduits. Porosity control, handling, sealant resorption, and healing.* J Thorac Cardiovasc Surg. 1992; 103: 1059-67.
113. Sert, S., Demirogullari, B., Ziya Anadol, A., et al. *Bovine and PTFE vascular graft results in hemodialysis patients.* J Vasc Access. 2000; 1: 148-51.
114. Senkaya, I., Aytac,, Il, Eercan, A. K. *The graft selection for haemodialysis.* Vasa. 2003; 32: 209-13.
115. Kogel, H., Vollmar, J.F., Proschek, P., et al. *Einheilung von Kunststoffprothesen in Arterien und Venen. In: Maurer, P.C., Dörrler, J., v. Sommoggy, St. (Hrsg.): Gefäßchirurgie im Fortschritt - Neuentwicklungen, Kontroversen, Grenzen, Perspektiven. , 1. Auflage. Georg Thieme Verlag Stuttgart; New York; 1991; 106-13.*
116. Lee, J.H., Khang, G., Lee, J. W., et al. *Platelet adhesion onto chargeable functional group gradient surfaces.* J Biomed Mater Res. 1998; 40: 180-6.
117. Körner, C. *Die Silikon - beschichtete Polyesterprothese - Konzept, physikalische und biologische Eigenschaften.* Dissertationsschrift; Würzburg; 2007; 52-9.
118. Godo, M.N., Sefton, M. V. *Characterization of transient platelet contacts on a polyvinyl alcohol hydrogel by video microscopy.* Biomaterials. 1999; 20: 1117-26.
119. Lee, J.H., Oh, S. H., Kim, W. G. *MMA/MPEOMA/VSA copolymer as a novel blood-compatible material: ex vivo platelet adhesion study.* J Mater Sci Mater Med. 2004; 15: 155-9.
120. Vroman, L., Adams, A. L., Fischer, G. C., et al. *Interaction of high molecular weight kininogen, factor XII, and fibrinogen in plasma at interfaces.* Blood. 1980; 55: 156-9.
121. Furman, M.I., Benoit, S. E., Barnard, M. R., et al. *Increased platelet reactivity and circulating monocyte-platelet aggregates in patients with stable coronary artery disease.* J Am Coll Cardiol. 1998; 31: 352-8.
122. Michelson, A.D., Barnard, M. R., Krueger, L. A., et al. *Circulating monocyte-platelet aggregates are a more sensitive marker of in vivo platelet activation than platelet surface P-selectin: studies in baboons, human coronary intervention, and human acute myocardial infarction.* Circulation. 2001; 104: 1533-7.

123. Macbeth, G.A., Rubin, J. R., McIntyre, K. E., Jr., et al. *The relevance of arterial wall microbiology to the treatment of prosthetic graft infections: graft infection vs. arterial infection.* J Vasc Surg. 1984; 1: 750-6.
124. Lorentzen, J.E., Nielsen, O. M., Arendrup, H., et al. *Vascular graft infection: an analysis of sixty-two graft infections in 2411 consecutively implanted synthetic vascular grafts.* Surgery. 1985; 98: 81-6.
125. Liekweg, W.G., Jr., Greenfield, L. J. *Vascular prosthetic infections: collected experience and results of treatment.* Surgery. 1977; 81: 335-42.
126. Pounds, L.L., Montes-Walters, M., Mayhall, C. G., et al. *A changing pattern of infection after major vascular reconstructions.* Vasc Endovascular Surg. 2005; 39: 511-7.
127. Pirrelli, S., Arici, V., Bozzani, A., et al. *Aortic graft infections: treatment with arterial allograft.* Transplant Proc. 2005; 37: 2694-6.
128. Rosenman, J.E., Pearce, W. H., Kempczinski, R. F. *Bacterial adherence to vascular grafts after in vitro bacteremia.* J Surg Res. 1985; 38: 648-55.
129. Ferreiros, C.M., Carballo, J., Criado, M. T. *Surface free energy and interaction of Staphylococcus epidermidis with biomaterials.* FEMS Microbiol Lett. 1989; 51: 89-94.
130. Tang, H., Cao, T., Liang, X., et al. *Influence of silicone surface roughness and hydrophobicity on adhesion and colonization of Staphylococcus epidermidis.* J Biomed Mater Res A. 2008; 88: 454-63.
131. Verheyen, C.C., Dhert, W. J., de Blicq-Hogervorst, J. M., et al. *Adherence to a metal, polymer and composite by Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis.* Biomaterials. 1993; 14: 383-91.
132. Kutz, A.F. *Dissertation - Auswirkungen von Beschichtungen auf die Oberflächenstruktur und Keimbeseidlung von Silikon.* 2004.
133. Siegel, R. *Verfahren zur kovalenten Modifizierung von chemisch definierten, in flüssiger Phase vorliegenden, funktionelle Gruppen enthaltenden Verbindungen; Patentschrift Aktenzeichen 19732774.5, Offenlegungsschrift DE 19732774A1; 1999.*
134. Ueberrueck, T., Zippel, R., Tautenhahn, J., et al. *Vascular graft infections: in vitro and in vivo investigations of a new vascular graft with long-term protection.* J Biomed Mater Res B Appl Biomater. 2005; 74: 601-7.
135. Schmach, D., Armstrong, P., Johnson, B., et al. *Graft infectivity of rifampin and silver-bonded polyester grafts to MRSA contamination.* Vasc Endovascular Surg. 2005; 39: 411-20.

136. Pies, J. *Immun mit kolloidalem Silber*, 3. Auflage. VAK Verlag; Kirchzarten; 1989; 13-6.
137. Harges, J., Ahrens, H., Gebert, C., et al. *Lack of toxicological side-effects in silver-coated megaprotheses in humans*. *Biomaterials*. 2007; 28: 2869-75.
138. Kuhn, D.M., George, T., Chandra, J., et al. *Antifungal susceptibility of Candida biofilms: unique efficacy of amphotericin B lipid formulations and echinocandins*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2002; 46: 1773-80.
139. Kadurugamuwa, J.L., Modi, K., Yu, J., et al. *Noninvasive biophotonic imaging for monitoring of catheter-associated urinary tract infections and therapy in mice*. *Infect Immun*. 2005; 73: 3878-87.
140. Goy, J.J., Stauffer, J. C., Siegenthaler, M., et al. *A prospective randomized comparison between paclitaxel and sirolimus stents in the real world of interventional cardiology: the TAXi trial*. *J Am Coll Cardiol*. 2005; 45: 308-11.
141. Suh, J.W., Park, J. S., Cho, H. J., et al. *Sirolimus-eluting stent showed better one-year outcomes than paclitaxel-eluting stent in a real life setting of coronary intervention in Koreans*. *Int J Cardiol*. 2007; 117: 31-6.
142. Kastrati, A., Mehilli, J., von Beckerath, N., et al. *Sirolimus-eluting stent or paclitaxel-eluting stent vs balloon angioplasty for prevention of recurrences in patients with coronary in-stent restenosis: a randomized controlled trial*. *Jama*. 2005; 293: 165-71.
143. Lee, B.H., Lee, J. E., Lee, K. W., et al. *Coating with paclitaxel improves graft survival in a porcine model of haemodialysis graft stenosis*. *Nephrol Dial Transplant*. 2007; 22: 2800-4.
144. Ishii, Y., Kronengold, R. T., Virmani, R., et al. *Novel bioengineered small caliber vascular graft with excellent one-month patency*. *Ann Thorac Surg*. 2007; 83: 517-25.
145. Cagiannos, C., Abul-Khoudoud, O. R., DeRijk, W., et al. *Rapamycin-coated expanded polytetrafluoroethylene bypass grafts exhibit decreased anastomotic neointimal hyperplasia in a porcine model*. *J Vasc Surg*. 2005; 42: 980-8.
146. van der Vleuten, P.A., Wijpkema, J. S., van den Heuvel, A. F., et al. *Treatment synergy of silicon carbide-coated stenting and abciximab for complex coronary artery lesions: clinical results of a single-center study*. *Ital Heart J*. 2004; 5: 663-6.
147. Grube, E., Buellesfeld, L. *Paclitaxel-eluting stents: current clinical experience*. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2004; 4: 355-60.
148. Creel, C.J., Lovich, M. A., Edelman, E. R. *Arterial paclitaxel distribution and deposition*. *Circ Res*. 2000; 86: 879-84.

149. Farb, A., Heller, P. F., Shroff, S., et al. *Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent*. *Circulation*. 2001; 104: 473-9.
150. Drachman, D.E., Edelman, E. R., Seifert, P., et al. *Neointimal thickening after stent delivery of paclitaxel: change in composition and arrest of growth over six months*. *J Am Coll Cardiol*. 2000; 36: 2325-32.
151. Parry, T.J., Brosius, R., Thyagarajan, R., et al. *Drug-eluting stents: sirolimus and paclitaxel differentially affect cultured cells and injured arteries*. *Eur J Pharmacol*. 2005; 524: 19-29.
152. Trabattoni, D., Fabbiochi, F., Montorsi, P., et al. *Stent thrombosis after sirolimus- and paclitaxel-eluting stent implantation in daily clinical practice: analysis of a single center registry*. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2007; 70: 415-21.
153. Nordmann, A.J., Briel, M., Bucher, H. C. *Mortality in randomized controlled trials comparing drug-eluting vs. bare metal stents in coronary artery disease: a meta-analysis*. *Eur Heart J*. 2006; 27: 2784-814.
154. Camenzind, E. *Treatment of in-stent restenosis--back to the future?* *N Engl J Med*. 2006; 355: 2149-51.
155. Grothaus, P.G., Bignami, G. S., O'Malley, S., et al. *Taxane-specific monoclonal antibodies: measurement of taxol, baccatin III, and "total taxanes" in Taxus brevifolia extracts by enzyme immunoassay*. *J Nat Prod*. 1995; 58: 1003-14.

## 8. Danksagung

Mein ganz besonderer und herzlicher Dank gilt an erster Stelle meinem Doktorvater Herrn PD Dr. A. Larena-Avellaneda für die Überlassung der Arbeit, die engagierte Betreuung, die schnellen Korrekturen, die Unterstützung während der Arbeit und das in mich gesetzte Vertrauen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Frau Prof. Dr. A. Waaga-Gasser und Frau M. Dragan aus der Molekularen Onko-Immunologie Würzburg für die Durchführung und Auswertung des Paclitaxel-ELISA's.[4]

Dank gilt des weiteren Dr. R. Siegel für sein zur Verfügung gestelltes Know-How in der Arbeit mit Silikonen und seiner Hilfsbereitschaft bei entstandenen Fragen.

Diese Arbeit wäre ohne die Vorarbeit und das Engagement meines Vorgängers cand. med. G. Dittmann nicht machbar gewesen.

Herrn Kaderschabek von der Technikwerkstatt am Hubland möchte ich für die tatkräftige Hilfe bei dem Bau der Beschichtungsmaschine danken.

Meinen Dank möchte ich Fr. Dr. A. Kobsar und Herrn PD Dr. M. Eigenthaler vom Institut für Klinische Biochemie und Pathobiochemie für die Hilfe bei einigen FACS-Analysen aussprechen.

Ich danke Herrn Dr. A. Sturm und Fr. Samfass für die Unterstützung bei der Durchführung einer FACS-Analyse.

Ich möchte Fr. F. Graunke für die Hilfe bei den Versuchen danken.

Abschließend gilt mein ganz besonderer Dank meinem Vater Dr. W. Haacke für die kritischen Ratschläge, hilfreichen Denkanstöße und Korrekturen bei der Umsetzung dieser Arbeit.

## 9. Mitwirkung an folgenden Veröffentlichungen/Vorträgen

1. Larena-Avellaneda A., Dittmann G., Haacke C., Dietz U., Siegel R., Debus E. S. and Franke S. Die Silikon-beschichtete "multifunktionelle Gefäßprothese": Update; 18. - 20. Juli 2007, 84. Jahrestagung der Vereinigung Bayerischer Chirurgen, Aschaffenburg

2. Larena-Avellaneda, A., Dittmann, G., Haacke, C., Graunke, F., Siegel, R., Dietz, U. A., Debus, E. S. *Silicone-based vascular prosthesis: assessment of the mechanical properties*. Ann Vasc Surg. 2008 Jan-Feb;22(1):106-14.

## **10. Curriculum vitae**

### **Angaben zur Person:**

Name: Christian Haacke  
Geboren am: 29.10.1981 in Brandenburg a. d. Havel  
Aktuelle Adresse: Jakobistr. 34  
30163 Hannover  
Familienstand: ledig  
Nationalität: deutsch

### **Schulische Ausbildung:**

09/1988 – 07/1994 Franz – Ziegler Grundschule  
09/1994 – 06/2001 von Saldern Gymnasium  
21.6.2001 Abitur

### **Wehrdienst:**

07/2001 – 08/2002 Ableistung des Zivildienstes im Fahrdienst der Johanniter in  
Brandenburg

### **Hochschulausbildung:**

10/2002 – 11/2007 Studium der Zahnmedizin an der Julius-Maximilians-Universität in  
Würzburg  
15.03.2005 Physikum  
07.11.2007 Staatsexamen

### **Assistenzzeit:**

ab 07/2008 Anstellung als Zahnarzt in Hannover

Hannover, den 01.04.2009