

Bionisch inspirierte Nanobeschichtung zur Reduktion von bakteriellem Wachstum auf Gefäßprothesen

Dissertation

zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin (Dr. med.)

an der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Shahabuddin Ohdah

aus

Hamburg

2026

Betreuer:in / Gutachter:in der Dissertation: Prof. Dr. Simon Pecha

Gutachter:in der Dissertation: PD Dr. Christoph Sinning

Vorsitz der Prüfungskommission: PD Dr. Christoph Sinning

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Tilo Kölbel

Mitglied der Prüfungskommission: Prof. Dr. Holger Rohde

Datum der mündlichen Prüfung: 23.07.2026

Inhaltsverzeichnis

1. Arbeitshypothese und Fragestellung	4
2. Einleitung	5
3. Material und Methoden	13
4. Ergebnisse	30
5. Diskussion	55
6. Zusammenfassung	64
7. Literaturverzeichnis	66
8. Abkürzungsverzeichnis	72
9. Abbildungsverzeichnis	76
10. Tabellenverzeichnis	77
11. Publikation	78
12. Erklärung des Eigenanteils	79
13. Eidesstattliche Versicherung	80
14. Danksagung	81

1. Arbeitshypothese und Fragestellung

Ziel dieser Forschungsarbeit ist aufzuzeigen, wie durch die Beschichtung von Gefäßprothesen mit Siliziumdioxid-Nanopartikeln superhydrophobe Oberflächen generiert werden können, die die Anhaftung von Bakterien verhindern beziehungsweise erheblich reduzieren.

1. Herstellung von Siliziumdioxid-Nanopartikel zur Beschichtung von Gefäßprothesen.
2. Beschichtung von Gefäßprothesen und Analyse der Oberflächeneigenschaften von beschichteten und unbeschichteten Gefäßprothesen mittels goniometrischer Bestimmung der Kontakt- und Abrollwinkel.
3. Herstellung von Luciferase exprimierenden Bakterien.
4. Untersuchung der Biolumineszenzeigenschaften der Bakterien und quantifizierende Analyse der bakteriellen Besiedlung auf den Gefäßprothesen mittels Biolumineszenzbildgebung.
5. Analyse der mechanischen Belastbarkeit und Effizienz der beschichteten Gefäßprothesen hinsichtlich einer bakteriellen Besiedlung.
6. Prüfung der Siliziumdioxid-Nanopartikel auf Zytotoxizität und Zellintegrität.

2. Einleitung

In den letzten Jahren ist die Anzahl der Implantationen von medizinischen Geräten stetig gestiegen (Basu und Eggington 2019). Gründe hierfür sind eine alternde Bevölkerung, bessere Überlebensraten bei chronischen Erkrankungen, erweiterte Indikationen und der breite Einsatz minimalinvasiver Techniken. Parallel dazu nimmt jedoch auch die Zahl der infektionsassoziierten Komplikationen zu. In Abhängigkeit von dieser Entwicklung gibt es auch eine wachsende Anzahl an Infektionen im Zusammenhang mit medizinischen Geräten (Darouiche 2001, Arnold und Chu 2018). In den Vereinigten Staaten treten jedes Jahr fast zwei Millionen infektionsbedingte Erkrankungen auf, die mit erheblicher Morbidität, Mortalität und medizinischen Kosten verbunden sind (van Epps und Younger 2016). Am häufigsten sind diese Infektionen mit kardiovaskulären Implantaten wie Herzklappenprothesen (Del Val D. et al. 2023), Herzschrittmacher- oder ICD-Geräten (Dai M. Cai C. Vaibhav V. et al. 2019, Lakkireddy et al. 2023), linksventrikulären Assistenzgeräten (Aslam S. et al. 2024) oder Gefäßprothesen (Wilson WR et al. 2016) verbunden, die Oberflächen für bakterielle Adhäsion bereitstellen. Vor dem Hintergrund einer alternden Bevölkerung und wachsender Indikationsbreite ist davon auszugehen, dass die absolute Zahl dieser Komplikationen weiter ansteigen wird.

Trotz technischer Fortschritte bleiben Infektionen von Gefäß(endo)grafts (VGEI) eine der schwerwiegendsten Komplikationen mit hoher Morbidität und relevanter Mortalität. Gefäßprothesen ersetzen erkrankte oder geschädigte Arterienabschnitte und werden offenchirurgisch als Gefäßgrafts oder endovaskulär als Stent-Grafts implantiert. Als Materialien kommen autologes, allo- oder xenogenes Gewebe, sowie synthetische Materialien (z. B. PET/Dacron, ePTFE) zum Einsatz. Die Pathogenese ist multifaktoriell. Eine perioperative Kontamination (Haut, Lymphbahnen, intraabdominelle Organe) oder eine spätere hämatogene Besiedelung kann zur bakteriellen Anhaftung an das Implantat führen (D. Costa et al. 2023). Thorakale Aorteninfektionen treten im Vergleich zu Infektionen im Bereich abdominalen oder peripherer Gefäßrekonstruktionen insgesamt seltener auf, sind jedoch aufgrund ihrer anatomischen Lage und der häufig komplexen chirurgischen Versorgung mit einer

besonders hohen Morbidität und Mortalität verbunden. Infektionen im thorakalen Abschnitt betreffen häufig große Gefäßprothesen in unmittelbarer Nähe zu lebenswichtigen Strukturen wie Herz, Lunge und Mediastinum. Dadurch können sich septische Komplikationen rasch systemisch ausbreiten. Operative Revisionen sind technisch anspruchsvoll und mit einem erheblichen Risiko verbunden. Zudem erschweren vorangegangene Eingriffe, Narbenbildung sowie die eingeschränkten Möglichkeiten einer vollständigen Explantation oder Rekonstruktion zusätzlich die Therapie. Demgegenüber treten Infektionen nach abdominalen und peripheren Gefäßrekonstruktionen insgesamt deutlich häufiger auf, was vor allem mit der größeren Anzahl entsprechender Eingriffe sowie mit patientenspezifischen Risikofaktoren zusammenhängt. Insbesondere bei aortobifemorale, femorale oder infrainguinale Rekonstruktionen spielen lokale Durchblutungsstörungen, Diabetes mellitus, Adipositas, chronische Niereninsuffizienz und eine erhöhte bakterielle Besiedlung im Leistenbereich eine wichtige Rolle. Auch die Nähe zu Hautfalten, lymphatischem Gewebe und potenziell kontaminierten Operationsfeldern begünstigt das Auftreten von Infektionen. Das individuelle Risiko sowie der klinische Verlauf unterscheiden sich daher erheblich je nach Lokalisation der Rekonstruktion, Ausmaß der Grunderkrankung und vorhandenen Begleiterkrankungen. Insgesamt ergibt sich ein breites Spektrum von lokal begrenzten Infektionen bis hin zu schwerwiegenden systemischen Verläufen, die eine komplexe chirurgische und antiinfektive Therapie erfordern. Bei perioperativer Kontamination oder bei späterer hämatogener Streuung aus entfernten Infektionsherden steht bei Implantat- und Gefäßprotheseninfektionen die bakterielle Adhäsion an Fremdoberflächen mit anschließender Biofilmbildung im Mittelpunkt der Pathogenese. Unmittelbar nach der Implantation lagern sich Wirtsproteine wie Fibrinogen, Fibronectin und weitere Matrixbestandteile auf der Oberfläche des Materials an und bilden eine sogenannte Konditionierungsschicht. Diese Schicht erleichtert die Anheftung von Mikroorganismen, da viele bakterielle Spezies über spezifische Adhäsionsmoleküle verfügen, die gezielt an solche Wirtsproteine binden. Nach der initialen Adhäsion kommt es zur Ausbildung eines bakteriellen Zellverbundes, der sich schrittweise zu einem strukturierten Biofilm entwickelt. Dieser Biofilm besteht aus einer extrazellulären Matrix aus

Polysacchariden, Proteinen, Lipiden und extrazellulärer DNA, die die eingebetteten Bakterien mechanisch stabilisiert und gleichzeitig die Penetration von Antibiotika sowie die Effektivität der Immunabwehr deutlich reduziert. Innerhalb des Biofilms zeigen die Erreger eine veränderte Stoffwechselaktivität und eine erhöhte Toleranz gegenüber antimikrobiellen Substanzen, wodurch sie gegenüber konventionellen Therapieansätzen wesentlich weniger empfindlich sind. Aus dem reifen Biofilm können kontinuierlich einzelne Bakterien freigesetzt werden, die lokale Entzündungsreaktionen unterhalten oder zu rezidivierenden Bakteriämien und systemischen Infektionen führen.

Das Erregerspektrum wird vor allem von Haut- und Krankenhauskeimen dominiert. Am häufigsten werden *Staphylococcus aureus*, einschließlich methicillinresistenter Stämme, sowie koagulasenegative Staphylokokken nachgewiesen, die aufgrund ihrer ausgeprägten Fähigkeit zur Biofilmbildung eine besondere klinische Bedeutung besitzen. Daneben treten gramnegative Erreger wie *Pseudomonas aeruginosa* oder Vertreter der *Enterobacterales* auf, die häufig mit schweren und rasch progredienten Verläufen assoziiert sind. In Einzelfällen können auch Pilzinfektionen auftreten, insbesondere bei immunsupprimierten Patienten oder nach langdauernder antibiotischer Therapie. Das jeweilige Erregerspektrum wird durch mehrere Faktoren beeinflusst, darunter die Implantationsregion, das lokale Krankenhausmikrobiom sowie der zeitliche Abstand zum operativen Eingriff. Frühinfektionen sind häufiger mit hochvirulenten Erregern assoziiert, während bei Spätinfektionen eher niedrigvirulente, biofilmassoziierte Keime nachweisbar sind (Wilson WR et al. 2016).

Die ausgeprägte Biofilmbildung stellt einen wesentlichen Grund für die häufig schwierige und langwierige Behandlung dieser Infektionen dar. Obwohl Antibiotika bei frei zirkulierenden Bakterien in der Blutbahn in der Regel sehr wirksam sind, ist ihre Effektivität gegenüber Biofilmen deutlich eingeschränkt, da die extrazelluläre Matrix als Diffusionsbarriere wirkt und die im Biofilm befindlichen Bakterien einen reduzierten Stoffwechsel aufweisen (Hall und Mah 2017, Rather und Mandal 2021). Die zunehmende Häufigkeit implantatassoziierten Infektionen hat zu einem breiten Einsatz antimikrobieller Therapien geführt und gleichzeitig die Selektion resistenter Erreger begünstigt, sodass multiresistente Varianten wie MRSA oder MRSE eine

wachsende klinische Bedeutung erlangen (Huemer et al. 2020). Klinisch resultieren daraus häufig wiederholte Revisionseingriffe, verlängerte Krankenhausaufenthalte, Funktionsverlust des Implantats sowie eine deutlich erhöhte Morbidität und Mortalität (Kaushik A. et al. 2025). Neben mikrobiellen Faktoren spielen auch patientenbezogene und prozedurbedingte Einflüsse eine wichtige Rolle bei der Entstehung solcher Infektionen. Zu den wichtigsten patientenseitigen Risikofaktoren zählen höheres Lebensalter, männliches Geschlecht, Adipositas, Diabetes mellitus, chronische Niereninsuffizienz mit Dialysepflicht, chronische Lungenerkrankungen, Immunsuppression sowie kardiale Begleiterkrankungen. Auch längere Krankenhausaufenthalte, Hautläsionen an den unteren Extremitäten, Leisteninzisionen und eine Nasenbesiedlung mit *Staphylococcus aureus* erhöhen das Risiko einer postoperativen Infektion. Auf prozeduraler Ebene begünstigen eine lange Operationsdauer, Eingriffe in potenziell kontaminierten Operationsfeldern, wiederholte Revisionen, Anastomosen in infektgefährdeten Regionen sowie eine unzureichende perioperative Antibiotikaphylaxe die bakterielle Besiedlung von Implantaten. Aufgrund der limitierten therapeutischen Möglichkeiten bei etablierten Biofilminfektionen rückt die Prävention der bakteriellen Adhäsion zunehmend in den Fokus der Forschung. Verschiedene Strategien wurden entwickelt, um die Besiedlung medizinischer Implantate bereits im Frühstadium zu verhindern (Veerachamy et al. 2014). Dabei lassen sich grundsätzlich aktive und passive Oberflächenmodifikationen unterscheiden. Aktive Ansätze beruhen auf der Freisetzung antimikrobieller Substanzen, beispielsweise Stickstoffmonoxid oder Silberionen, die bakterizid wirken sollen (Gao et al. 2011, Patra et al. 2018). Der Nutzen dieser Verfahren wird jedoch durch potenzielle Zytotoxizität, die Gefahr der Resistenzentwicklung, begrenzte Wirkstoffdepots sowie eine im Verlauf abnehmende Freisetzungsrate eingeschränkt, sodass die Langzeitwirksamkeit häufig begrenzt ist (Souza und Keck 2014). Als alternative Strategie wurden daher passive, antiadhäsive Oberflächenmodifikationen entwickelt, die nicht auf bakterielle Abtötung, sondern auf die Verhinderung der initialen Anheftung abzielen. Hierzu zählen polymerbasierte Beschichtungen, beispielsweise auf Basis von Polyurethan oder Polyethylenglykol, die in experimentellen Untersuchungen eine reduzierte bakterielle Adhäsion zeigen konnten

(Park et al. 1998). In vivo ist die Wirksamkeit solcher Beschichtungen jedoch variabel und wird durch zahlreiche Faktoren beeinflusst, darunter die chemische Zusammensetzung der Oberfläche, deren Mikro- und Nanotopographie, die Ausbildung einer Protein-Korona nach Implantation, sowie das jeweilige Erregerspektrum. Diese komplexen Wechselwirkungen erklären, warum trotz moderner Materialentwicklung Implantat assoziierte Infektionen weiterhin eine erhebliche klinische Herausforderung darstellen.

Auf der Suche nach neuartigen und innovativen Lösungsansätzen sahen wir den "Lotus-Effekt" als eine mögliche vielversprechende Strategie zur Vermeidung von Keimbesiedlungen von Gefäßprothesen. Die selbstreinigenden Eigenschaften durch die superhydrophobe Oberfläche machten wir uns zu Nutze und versuchten, dieses bionische Prinzip in die medizinische Therapie zu integrieren. Der Lotus-Effekt wurde erstmals 1997 von Barthlott und Neinhuis beschrieben (Barthlott und Neinhuis 1997). Die Selbstreinigung des Lotus-Effektes beruht auf einer hierarchischen Mikro-/Nanostruktur der Blattoberfläche in Kombination mit einer sehr niedrigen Oberflächenenergie. Auf vielen Pflanzenblättern (z.B. Lotus) bilden papilläre Mikrokörperchen der Epidermis eine Basisstruktur, die von epikutikulären Wachskristallen im Nanometerbereich überlagert wird. Diese Doppelrauhigkeit führt zum Cassie-Baxter-Benetzungszustand (Bhushan und Jung 2006). Zwischen Tropfen und Festkörper verbleiben Luftpolster, sodass die reale Fest-Flüssig-Kontaktfläche stark reduziert ist. Typisch sind statische Kontaktwinkel $>150^\circ$ und sehr geringe Kontaktwinkelhysterese, bereits bei geringer Neigung („Roll-off angle“) setzen sich Tropfen in Bewegung (Truong et al. 2010). Die Konsequenz ist eine drastisch verminderte Benetzbarkeit. Wasser formt nahezu kugelförmige Tropfen, die schon unter geringer Schwerkraftwirkung oder durch leichte Luftströmung über die Oberfläche rollen. Während dieses Rollens wirken Kapillar- und van-der-Waals-Kräfte zwischen Tropfen und Partikeln stärker als die Adhäsionskräfte zwischen Partikeln und der wachshaltigen Blattoberfläche. Schmutz-, Staub- und Mikroorganismen werden daher vom Tropfen aufgenommen und mitgeführt. Dieser Selbstreinigungsmechanismus entfernt Partikel und Biofilmsansätze, ohne dass die Oberfläche selbst benetzt oder chemisch verändert wird. Funktionell hat dies mehrere

Vorteile für die Pflanze. Die Entfernung von Partikeln und Biofilmen reduziert Lichtstreuung und Abschattung auf der Blattoberfläche. Die Optische Klarheit führt zur Verbesserung der Photonenverfügbarkeit und damit steigt die Photosynthese im aktiven Gewebe. Es kommt ebenfalls zur Verbesserung des Gas- und Wasserhaushaltes. Durch die Verhinderung eines zusammenhängenden Wasserfilms wird der Gasaustausch (CO₂-Aufnahme, O₂-Abgabe) unterstützt und stationäre Blockaden werden vermindert. Darüber hinaus kommt es zu einem Pathogenschutz, durch Verkürzung der Verweildauer von Feuchtigkeit und mangelnde Haftung, welche die Ansiedlung von Pilzsporen und Bakterien erschwert.

2.1 Hintergrund

Hydrophobie beschreibt eine schlechte Benetzbarkeit der Oberfläche mit Flüssigkeit, welche durch eine hohe Oberflächenenergie und daraus resultierenden hohen Kontaktwinkel charakterisiert ist. Eine zentrale Rolle in der Physik spielt hier die Youngsche Gleichung, um das Verhalten von Flüssigkeiten auf verschiedenen Oberflächen zu verstehen. Sie gilt für ideale Festkörperoberflächen, welche homogen, unlöslich, nicht reaktiv und nicht deformierbar sind:

$$\cos\theta = \frac{\sigma_s - \sigma_{LS}}{\sigma_L}$$

Sie beschreibt die Beziehung zwischen dem Kontaktwinkel θ , der Oberflächenspannung des Festkörpers σ_s , der Oberflächenspannung der Flüssigkeit σ_L und der Grenzflächenenergie σ_{LS} . Die Oberflächenspannung kann durch die Beeinflussung der Materialienzusammensetzung, ein Beschichten der Oberfläche oder das Erzeugen von nanorauen Oberflächen verändert werden, was wiederum Auswirkungen auf den Kontaktwinkel hat. Eine Oberfläche gilt ab einem Kontaktwinkel von $>90^\circ$ als hydrophob und ab einem Kontaktwinkel von $>150^\circ$ als superhydrophob (Latthe et al. 2014).

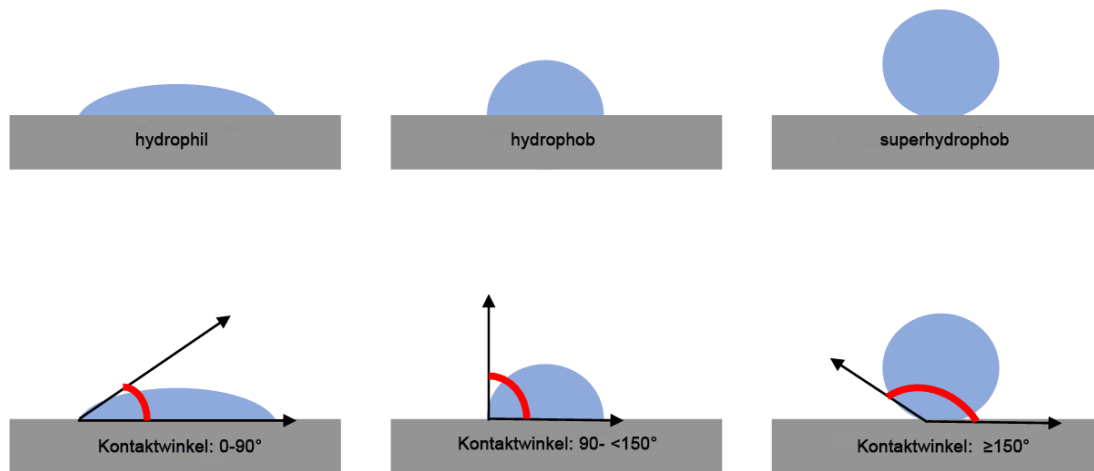


Abbildung 1: Übersicht über Kontaktwinkel von hydrophil bis superhydrophob.

Echte Nichtbenetzbarkeit ist im physikalischen Sinn an den Cassie–Baxter-Zustand gebunden. In diesem Zustand ruht der Tropfen nicht in den Rauigkeitsstrukturen, sondern auf deren Spitzen, während die Zwischenräume mit eingeschlossener Luft gefüllt sind. Dadurch verringert sich der feste–flüssige Kontakt auf ein Minimum; der Tropfen „sieht“ überwiegend Luft statt Festkörper. Qualitativ lässt sich Nichtbenetzbarkeit daher so definieren, dass die tatsächlich benetzte Fläche, also der Anteil der Oberfläche, der vom Tropfen wirklich berührt wird, möglichst klein ist. Je kleiner dieser benetzte Flächenanteil ausfällt, desto größer ist der scheinbare Kontaktwinkel und desto geringer sind Adhäsion und Kontaktwinkelhysterese. Der Tropfen lässt sich leicht bewegen oder perlt sogar selbständig ab. Energetisch entspricht dies einem Zustand minimaler Grenzflächenenergie, weil das System durch die Luftpolster den teuren Festkörper–Flüssig-Kontakt vermeidet. Wird der benetzte Flächenanteil hingegen größer, etwa durch zu grobe oder zu weiche Topografie, hohen hydrostatischen Druck oder Kontamination, kollabiert die Luftschicht, der Tropfen dringt in die Struktur ein und das System wechselt in den Wenzel-Zustand mit deutlich höherer Benetzung (Cassie A.B.D. und Baxter S. 1944, Wenzel 1936).

Cassie-Baxter-Benetzungszustand

Der Cassie-Baxter-Zustand beschreibt die scheinbare Benetzung von rauen, meist hierarchisch mikro/nanostrukturierten Oberflächen, bei der die Flüssigkeit nicht die Rauigkeit „ausfüllt“, sondern auf einer Verbundoberfläche aus Feststoff und eingeschlossener Luft („Plastron“) sitzt. Dadurch ist die reale Fest-Flüssig-Kontaktfläche stark reduziert, Tropfen zeigen sehr große Kontaktwinkel und rollen leicht ab („Lotus-Effekt“). Je nach hydrostatischem Druck, Abrieb, Vibration und Oberfläche können der Cassie-Baxter-Benetzungszustand und der Wenzel-Zustand sich jeweils stabilisieren oder ineinander übergehen.

Modellgleichung (für eine Feststoff-/Luft-Verbundoberfläche):

$$\cos\theta^* = \varphi_s(\cos\theta + 1) - 1 = \varphi_s \cos\theta - (1 - \varphi_s)$$

- θ^* : scheinbarer Kontaktwinkel (makroskopisch beobachtet)
- θ : intrinsischer Kontaktwinkel des glatten Materials
- φ_s : Arealanteil Feststoff im Kontakt (Rest $1 - \varphi_s$ ist Luft)

Je kleiner φ_s (hoher Luftanteil) ist und je hydrophober das Basismaterial (großes θ) ist, desto größer wird θ^* (typisch $>150^\circ$ bei superhydrophoben Oberflächen) und desto geringer sind die Kontaktwinkelhysterese.

Abgrenzung zum Wenzel-Zustand:

Wenzel: Die Flüssigkeit dringt in die Rauigkeit ein, wodurch die reale Kontaktfläche und die Benetzbarkeit verstärkt wird und gleichzeitig auch die Hydrophobie oder Hydrophilie.

3. Material und Methoden

3.1 Hilfsmittel und Geräte

Tabelle 1: Hilfsmittel und Geräte

Bezeichnung	Firma
200µl Eppendorfggefäße PCR getestet	Eppendorf, Deutschland
T-175 Flasche	Sarstedt, Deutschland
T-75 Flasche	Sarstedt, Deutschland
6-Well Zellkulturplatte	Sarstedt, Deutschland
12-well Zellkulturplatte	Sarstedt, Deutschland
Bildverarbeitungs-Software Fiji	Image J.2
Biolumineszenz Kamera-IVIS	Perkin Elmer Precisely
Digitalwaage	Sartorius
Deckgläser	Marienfeld, Deutschland
Dracon-Prothesen	Vascutek Terumo, Schottland
Falkon-Röhrchen (15/30ml)	Greiner
Glasgefäße	Schott, Deutschland
Glasschalen	Roth, Leica
Graph Pad Prism	GraphPad Software, Inc
Heissblock	Leica, Deutschland
HVAD	Medtronic, Dublin, Irland
IVIS 200 System	PerkinElmer, Waltham, USA
Living Image 3.1	Media Cybernetics, Rockville, USA
Kühlschrank (4°C-8°C)	Liebherr

Kühlzentrifuge	Eppendorf, Deutschland
Latexhandschuhe	Supermax Healthcare Inc. USA
Lichtmikroskop für Zellkultur	Zeiss
Mikroskop	Carl Zeiss, Deutschland
Mikrowelle	Samsung
NanoDrop ND-1000 Spectrophotometer	Thermo Fischer, USA
Neubauerzählkammer	Glaswarenfabrik Karl Hecht KG, Deutschland
Objektträger superfrost	Menzelgläser, Deutschland
Objektträgerboxen	Roth, Deutschland
Objektträgermappe	Roth, Deutschland
Pipettenspitzen Biosphere Filter Tip (10/100/1000 µl)	Sarstedt, Deutschland
Sterilfilter (0,2 µm)	Sarstedt, Deutschland
Sterilwerkbank LaminAir	Heraeus, Deutschland
Tiefkühltruhe (-20°C)	Liebherr
Tiefkühltruhe (-80°C)	Thermo Scientific
Tischzentrifuge	Eppendorf, Deutschland
Vortexer	Scientific Industries
Wärmeschrank (37°C)	Binder
Wasserbad	Medax Nagel GmbH, Deutschland
Zentrifuge	Sigma

3.2 Chemikalien und Lösungen

Tabelle 2: Chemikalien und Lösungen

Substanz	Firma	Katalognummer
DMEM	Life Technologies	10829-018
Matrigel	BD	356231
Essentiel 8 Flex-Media	Thermo Fischer	A2858501
B-27® Minus Insulin	Thermo Fischer	A1895601
B-27® Supplement	Thermo Fischer	17504044
hiPSC	Gibco	2365526
PBS	Gibco	10010-015
Agarose	Invitrogen	16500-100
DAPI	Invitrogen	D1306
Ethanol	Merck	64175
Ammoniumhydroxid	Merck	1336216
Tetraethylorthosilikat	Evonik	C82604

Plasmide (Katalog Nr.)	Firma
pSF-OXB20-FLUC (OGS412)	Sigma Aldrich
pMDLg/pRRE (#12251)	Addgene, Watertown, USA
pRSV-Rev (#12253)	Addgene, Watertown, USA
pMD2.G (#12259)	Addgene, Watertown, USA

Tabelle 3: BLI-Imaging

Chemikalien (Katalog Nr.)	Firma
Phosphate-buffered saline (PBS, 1X), sterile filtered (10010023)	Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA
D-Luciferin (L-8220A)	Biosynth AG, Staad, Schweiz

3.3 Zellkulturmedien und Lösungen

Tabelle 4: Zellkulturmedien

Medium	Zusammensetzung
2x DMEM	1ml 10x DMEM 1 ml Horse-Serum
10x DMEM	670 mg 10x DMEM 5 ml ddH ₂ O
DMEM	3,7 g/L NAHCO ₃ 1,0 g/L D-Glucose L-Glutamine
EHT-Medium	500 ml DMEM 50 ml Horse-Serum 500 µl Aprotinin 500 µl Insulin
Einfriermedium	10 ml DMSO 90 ml FCS

Essential 8 Flex Basal Medium	DMEM/ F12 (HAM) (1:1) 15 mM HEPES L-Glutamine 1,743 g/L Sodium Bicarbonat
hiPS-Medium	500 ml Essential 8 Flex® Basal Medium 10 ml Essential 8 Flex® Supplement
Kardiomyozyten Differenzierungsmedium- Tag 0	500 ml RMPI 1640 + GlutaMAX™-I 10 ml B27® minus Insulin 300 µl CHIR 99021
Kardiomyozyten Differenzierungsmedium- Tag 2/5	500 ml RMPI 1640 + GlutaMAX™-I 10 ml B27® minus Insulin
Kardiomyozyten Differenzierungsmedium- Tag 3	500 ml RMPI 1640 + GlutaMAX™-I 10 ml B27® minus Insulin 500 µl IWR-1
Kardiomyozyten Differenzierungsmedium- Tag 7	500 ml RMPI 1640 + GlutaMAX™-I 10 ml B27® Supplement
Kardiomyozyten Differenzierungsmedium- Hungermedium	500 ml RPMI 1640 10 ml B27® Supplement
Nicht-Kardiomyozyten-Medium	500 ml DMEM 57 ml Fetal-Calf-Serum 5,7 ml Penicilin/Streptomycin 5,7 ml Glutamin
LB-Agar	Trypton 10 g/l Hefeextrakt 5 g/l NaCl 10 g/l Agar-Agar 15 g/l pH 7,0 ± 0,2
LB („lysogeny broth“)- Medium	Trypton 10 g/l Hefeextrakt 5 g/l NaCl 10 g/l

	pH 7,0 ± 0,2
SOC(„super optimal broth“)-Medium	2 % pflanzliches Pepton 0.5 % Hefeextrakt 10 mM NaCl 2.5 mM KCl 10 mM MgCl ₂ 1 0 mM MgSO ₄ 20 mM Glucose
Kanamycin	50 g/ml (Sigma Aldrich)

3.4 Herstellung von Nanopartikeln

Die Herstellung von Siliziumdioxid-Nanopartikel erfolgte mithilfe der modifizierten Stöber-Methode, die auf einem Alkoxid-Sol-Gel-Verfahren basiert. Tetraethylorthosilikat (TEOS) wurde als Silica-Vorläufer verwendet, um ein kolloidales Sol-Gel-System zu erzeugen und Ammoniak wurde als Katalysator zugefügt. In einem Rundkolben wurde eine Lösung aus 50 ml Ethanol (Merck, 64175), 10 ml destilliertem Wasser und 3 ml 28-30% Ammoniumhydroxid NH₄OH (Merck, 1336216) hergestellt. Zu dieser Lösung wurden 10 ml TEOS (Evonik, C82604) hinzugefügt und bei Raumtemperatur mit 500 U/min für eine Stunde gerührt. Die Lösung wurde mit Rühren auf 60 °C erhitzt und weitere vier Stunden inkubiert, um die Bildung von Nanopartikeln abzuschließen. Die Lösung wurde bei 6000 U/min für zehn Minuten zentrifugiert, um die SiO₂-Nanopartikel zu sammeln. Die Partikel wurden zweimal mit Ethanol und zweimal mit destilliertem Wasser gewaschen, um Verunreinigungen zu entfernen. Die Partikel wurden in einem Ofen bei 60 °C für zwei Stunden getrocknet. Optional können die Partikel in einer Lösung dispergiert werden, um sie weiter zu verwenden. Die Menge an Ammoniumhydroxid kann je nach gewünschter Partikelgröße angepasst werden. Ein höherer Ammoniumhydroxidgehalt führt zu kleineren Partikeln, während ein geringerer Gehalt zu größeren Partikeln führt. Elektronenmikroskopische Abbildung der Nanopartikel wurde durchgeführt und die Größe der Nanopartikel systematisch gemessen.

3.5 Nanotechnologische Beschichtung

Für die Beschichtung verwendeten wir handelsübliche, implantierbare Dacron-Gefäßprothesen aus Polyethylenterephthalat (Vascutek Terumo, Schottland). Die Prothesen wurden zunächst gereinigt (Spülung in Ethanol und deionisiertem Wasser) und unter staubarmen Bedingungen getrocknet. Anschließend brachten wir eine Suspension der zuvor mittels chemischer Fällung hergestellten Siliziumdioxid-Nanopartikel (SiO_2) im Sinne einer Tauch- bzw. Sprühbeschichtung auf das Prothesenmaterial auf. Nach dem Abziehen der überschüssigen Suspension erfolgte das Trocknen bei Raumtemperatur.

Während des Trocknungsprozesses konsolidierte sich der Nanopartikelbelag durch Kapillarkräfte, die Partikel lagerten sich dauerhaft an den PET-Fasern an. Die Haftung beruht primär auf van-der-Waals-Wechselwirkungen sowie einer mikromechanischen Verklammerung der Partikel in der textilen Faserstruktur. Eine „Polymerisation“ findet hierbei nicht statt, vielmehr handelt es sich um die Ausbildung einer dicht gepackten, physikalisch gebundenen Partikelschicht.

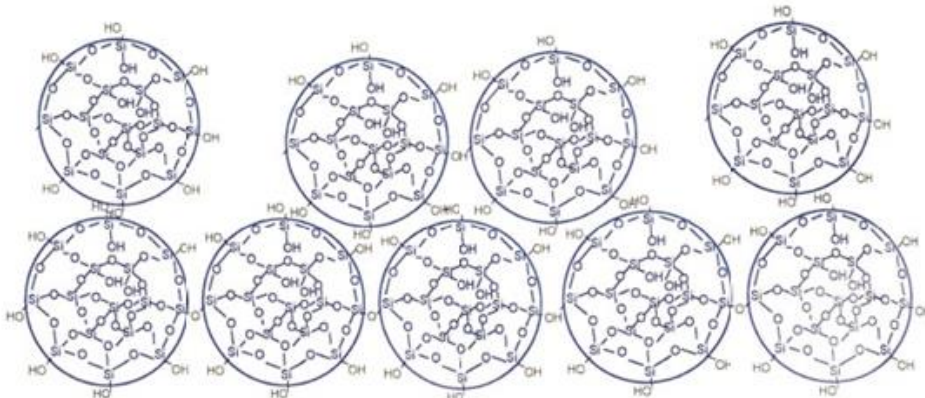


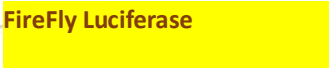
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Nanopartikelbildung.

3.6 Oberflächenanalyse

Um die Oberflächenmorphologie der beschichteten Prothesen und ihre nanoskalige Rauheit zu bewerten, wurden sie nach der Beschichtung mittels Elektronenmikroskopie untersucht. Die Benetzbarkeit der superhydrophoben Prothesen wurde zusätzlich durch Kontaktwinkel- und Abrollwinkel- sowie Kipp-Tropfenmessungen analysiert. Der Kontaktwinkel wurde durch statische sessile Tropfen (SSD)-Analyse und unter Verwendung von Goniometrie gemessen. Das verwendete Tropfenvolumen betrug 5 μ l, und die Experimente wurden bei Raumtemperatur (RT) durchgeführt.

3.7 Herstellung biolumineszierender Bakterien

Für die Transformation hitzeschock-kompetenter *E. coli* werden 100 μ l Zellen auf Eis vollständig aufgetaut und mit 1 μ l (ca. 5ng) pSF-OXB20-FLUC (Sigma Aldrich, OGS412) Plasmid-DNA vorsichtig gemischt, ohne zu vortexen. Nach 5 min Inkubation auf Eis erfolgt der Hitzeschock exakt 60 s bei 42 °C, anschließend werden die Zellen 2 min auf Eis gekühlt. Zur Regeneration werden 250 μ l vorgewärmtes SOC-Medium (37 °C) zugegeben, kurz homogenisiert und die Suspension 60 min bei 37 °C unter Schütteln ($\approx$ 200–250 rpm) inkubiert. Danach werden 50–200 μ l der Kultur—gegebenenfalls zusätzlich eine 1:10-Verdünnung—auf vorgewärmte, getrocknete LB-Agarplatten mit Kanamycin (Endkonzentration 50 μ g/ml) als Selektionsantibiotikum ausplattiert und 16–18 h bei 37 °C inkubiert, bis deutlich sichtbare Kolonien erscheinen. Eine Negativkontrolle ohne DNA dient dem Ausschluss von Kontaminationen. Bei geringer Koloniezahl wurde die Erholungszeit auf bis zu 90 min verlängert, weniger salzhaltige DNA verwendet oder ein größeres Ausplattier-Volumen gewählt.



inkubiert. Nach 18 Stunden Inkubation wurden die geformten Kolonien gezählt und flächenbezogen als CFU/cm² auf den Nährplatten ausgewertet.

Nach der Inkubation wurden die koloniebildenden Einheiten (CFU) für beide Proben analysiert, um die Einschätzung der bakteriellen Ausgangsbesiedelung der Gefäßprothesen zu bestimmen.

3.9 Perfusionsexperimente

Zur Bewertung der bakterienabweisenden Wirksamkeit unter hämodynamischen Bedingungen wurde ein geschlossener artifizieller (Mock) Kreislauf aufgebaut, der von einer kontinuierlichen Zentrifugalpumpe in Form eines LVAD-Systems (HVAD; Medtronic, Dublin, Irland) angetrieben wurde. Der Kreislauf bestand aus Reservoir, Pumpe, sowie einer Gefäßprothese („Outflow-Graft“) in der das zu prüfende Prothesenareal integriert wurde. Die Versuche wurden unter kontinuierlichem Fluss durchgeführt, wobei die Pumpendrehzahl während jedes einzelnen Versuchs konstant gehalten wurde.

Es kamen entweder beschichtete Gefäßprothesen mit der superhydrophobe SiO₂-Nanopartikeloberflächen oder unbeschichtete Prothesen als Kontrollgruppe zum Einsatz. Die Proben wurden als standardisierte Segmente in identischer Länge bzw. Fläche in der Outflow-Strecke eingebracht, um eine flächenbezogene Auswertung zu ermöglichen.

Als Perfusionsmedium diente humanes, heparinisiertes Vollblut. Ergänzend wurden Vergleichsversuche mit bakterienhaltigem LB-Medium durchgeführt. Für die mikrobiologische Belastung wurden definierte Konzentrationen aus *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* und für die BLI-Analysen biolumineszente *Escherichia coli* (*Luc+*) eingesetzt. Die Inokulationskonzentration wurde vor jedem Lauf durch optische Dichtemessungen verifiziert und zwischen den Gruppen angeglichen.

Nach Stabilisierung des Kreislaufs erfolgte die Inokulation der Bakterien in das Reservoir. Die Outflow-Grafts wurden zu vordefinierten Zeitpunkten ausgebaut und anschließend für die Endpunktermessungen aufbereitet. Für die

Biolumineszenzuntersuchungen wurde Luciferin (100µM) eine Minute vor dem Endpunkt ins Reservoir gegeben und es erfolgte unverzüglich die BLI- Analyse.

3.10 Zellkultur

Um den Einfluss von Nanopartikeln auf verschiedene Zellen zu untersuchen, verwendeten wir typische menschliche Zelltypen: HEK293T-Zellen, Fibroblasten, menschliche induzierte pluripotente Stammzell (hiPSC)-abgeleitete Kardiomyozyten (CMs) und Endothelzellen (ECs). Für die Herstellung von hiPSC-CMs und hiPSC-ECs verwendeten wir ein spezielles Protokoll, das es uns ermöglichte, sowohl hiPSC-CMs als auch hiPSC-ECs aus hiPSC durch gezielte Aktivierung und Hemmung des Beta-Catenin/Wnt-Signalwegs zu produzieren. Unsere menschlichen iPSCs wurden von Gibco bereitgestellt und charakterisiert (Lot.Nr.:2365526).

3.10.1 Kultivierung der human induzierten pluripotenten Zellen (hiPSC)

Die Kultivierung der hiPSC-Zellen erfolgte in Kulturschalen, die vor der Passage für 30 Minuten bei Raumtemperatur mit Matrigel beschichtet wurden. Standardmäßig wurden die Stammzellen in Suspension in 6-Well-Zellkulturplatten kultiviert. Nach dem Entfernen des überschüssigen Matrigels erfolgte die Kultivierung der hiPSC-Zellen im IPS-Medium. Die Zellen wurden im Inkubator bei 37 °C, 5 % CO₂, 5 % O₂ und 95 % relativer Luftfeuchtigkeit gehalten. Der Mediumwechsel fand an jedem Werktag mit Ausnahme des Mittwochs statt. Sobald eine Konfluenz von 90 % erreicht war, wurde das Differenzierungsprotokoll zur Entwicklung von Kardiomyozyten eingeleitet.

3.10.2 Kryokonservierung der hiPS-Zellen

Zur Kryokonservierung der hiPS-Zellen wurden diese zunächst für zehn Minuten bei 37°C mit Versene behandelt und anschließend dissoziiert. Nach dem Entfernen der Versene-Lösung wurden die Zellen in 1 ml Einfriermedium (bestehend aus DMSO und FCS) aufgenommen. Der Gefriervorgang erfolgte in einem mit Isopropanol gefüllten Gefrierbehälter bei -80 °C. Durch eine kontrollierte Abkühlrate von 1 °C pro Minute

wurde eine Schädigung der Zellen verhindert. Für die Wiederaufzucht wurden die Zellen mittels eines ThawStar®-automatischen Auftausystems aufgetaut, in 10 ml frischem Medium resuspendiert und bei 800 g für 4 Minuten zentrifugiert, um das kryoprotektive DMSO zu entfernen. Der resultierende Zellpellet wurde erneut in Medium aufgenommen und auf Matrigel®-beschichteten Kulturfラスchen ausplattiert. Um eine spontane Differenzierung zu vermeiden, wurden die Zellen stets vor Erreichen der Konfluenz passagiert.

3.10.3 Lentivirus-Produktion und Transduktion von hiPS-Zellen

Humane induzierte pluripotente Stammzellen (hiPSCs) wurden mit einem Lentiviral-Vektorsystem der dritten Generation transduziert. Zur Herstellung des Lentiviral-Vektors wurden HEK293T-Zellen (8×10^6 Zellen/Platte) in DMEM (High Glucose) mit 10 % FBS, 1 % GlutaMAX und 1 % Penicillin/Streptomycin in T175-Flaschen bis zu einer Konfluenz von ca. 65 % kultiviert. Nach Erreichen der Konfluenz wurden 25 µl einer 25 mM-Chloroquin-Lösung zugesetzt (Endkonzentration laut Ansatz: 25 mM). Pro T175-Flasche kamen 2,63 ml H₂O, 123,3 µl CaCl₂ (2 M), 63 µl pLX313-Firefly-Luciferase-Plasmid (Addgene), 10 µl pMDLg/pRRE-Plasmid (Addgene), 10 µl pRSV-Rev-Plasmid (Addgene) und 8,3 µl pMD2.G-Plasmid (Addgene) zum Einsatz. Die so gebildeten DNA/CaCl₂-Komplexe wurden den HEK293T-Zellen zur Transfektion zugegeben. Die erfolgreiche Transfektion des Luciferase-Gens wurde in den Produzentenzellen mittels Biolumineszenz-Imaging (BLI) überprüft. Die erzeugten Viruspartikel wurden anschließend mithilfe einer Ultrazentrifuge konzentriert.

Für die Virustransduktion wurden 200.000 hiPS-Zellen auf eine mit Matrigel beschichtete 6-Well-Platte ausgesät (2,5 ml Medium pro Well mit 200.000 Zellen). Das hiPSC-Medium wurde gegen 1,5 ml Opti-MEM™ ausgetauscht und 5 µl Polybren (8 µg/ml Endkonzentration) zugesetzt. Transduziert wurde mit 200 µl des Lentivirus mit einer Multiplicity of Infection (MOI) von 10. Nach 4-stündiger Inkubation wurden 2,5 ml frisches hiPSC-Medium zugegeben und die Platte wurde für 24 Stunden nicht bewegt. Nach 48 Stunden erfolgte ein vollständiger Medienwechsel. Zur Kontrolle der erfolgreichen Vektorintegration wurden Luciferase-positive (Luc+) hiPSCs über den

Hygromycin-Selektionsmarker isoliert. Der Einbau des Zielgens sowie die resultierende Luciferase-Aktivität wurden durch Biolumineszenz-Imaging verifiziert. Hierzu wurden die Zellen einmal vorsichtig mit PBS gewaschen und anschließend steril nach Zugabe von Luciferin (1:10 in PBS) inkubiert.

3.10.4 Differenzierung der hiPS-Zellen zu hiPSC-Kardiomyozyten

Nach der Kultivierung und Passagierung der hiPSC-Zellen bei 70-90% Konfluenz wurde die Differenzierung zu Kardiomyozyten eingeleitet. Das Protokoll folgte einem standardisierten Schema mit Wnt-Modulation:

- Tag 0: Die Zellen wurden in RPMI 1640 + GlutaMAX™ mit B27 Minus Insulin Supplement und dem Wnt-Aktivator CHIR 99021 für 48 Stunden kultiviert.

- Tag 2: Das Medium wurde gegen RPMI 1640 + GlutaMAX™ mit B27 Minus Insulin Supplement ausgetauscht und für 24 Stunden inkubiert, um die Differenzierung zu mesodermalen Progenitorzellen zu fördern.

- Tag 3: Zur Induktion der kardialen Differenzierung wurde das Medium durch RPMI 1640 + GlutaMAX™ mit B27 Minus Insulin Supplement und dem Wnt-Inhibitor CHIR IWR-1

ersetzt (48 Stunden Inkubation).

- Tag 7: Nach einem Mediumwechsel zu RPMI 1640 + GlutaMAX™ mit vollem B27 Supplement war die Induktionsphase abgeschlossen. Die nun differenzierten Kardiomyozyten reiften anschließend in diesem Medium weiter, welches alle zwei Tage erneuert wurde.

Zur Aufreinigung der Kulturen wurden die Zellen von Tag 9-11 und erneut von Tag 15-17 für je 48 Stunden in „Hungermedium“ (RPMI 1640 + B27 Supplement) inkubiert. Hierfür werden die differenzierten Zellen einem Glukoseentzug unterzogen, um die Reinheit der Kardiomyozyten weiter zu erhöhen. Dieser Ansatz nutzt die metabolischen Unterschiede zwischen Kardiomyozyten und anderen Zelltypen, um Nicht-Kardiomyozyten selektiv zu eliminieren.

3.10.5 Zellzahlbestimmung

Vor dem Auflegen des Deckglases wurden die Randleisten der Zählkammer angefeuchtet. Für die Zählung wurde eine 1:1-Mischung aus 10 µl Zellsuspension und 10 µl Trypanblau hergestellt. Trypanblau dient hauptsächlich zur Unterscheidung zwischen lebenden und toten Zellen, da der Farbstoff nur geschädigte Zellen färbt und intakte Zellmembranen nicht passieren kann. Bei sehr dichten Suspensionen erfolgte eine Vorverdünnung (1:10 in PBS), um Zählfehler durch Überlagerung zu vermeiden. Die Mischung wurde vorsichtig an den Rand des Deckglases pipettiert, woraufhin die Zählkammer durch Kapillarwirkung gleichmäßig gefüllt wurde. Anschließend wurden unter dem Mikroskop die vier äußeren Quadranten (jeweils 1 mm²) ausgewertet. Um Doppelzählungen zu vermeiden, wurden nur Zellen erfasst, die auf der oberen oder linken Begrenzungslinie eines der 16 Unterquadrate lagen. Die endgültige Zellzahl (N) liegt nach Berechnung durch folgende Formel vor: $\text{Zellzahl} = 2 \times 10 \times 10^4 \times n$.

3.11 Toxizitäts- und Vitalitätsassay

Zur Beurteilung der möglichen zytotoxischen Effekte der Nanopartikel wurden verschiedene Zelltypen (hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Endothelzellen, Fibroblasten sowie HEK293T-Zellen) mit Nanopartikeln inkubiert und anschließend die Zellintegrität sowie die Zellvitalität systematisch analysiert. Zur Analyse der Zellintegrität mittels DAPI-Integritätsassay wurden die Zellen mit 4 µl 4',6-Diamidino-2-phenylindol (DAPI; Invitrogen, D1306) für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Danach erfolgte die Fixierung mit Paraformaldehyd (PFA), gefolgt von der weiteren Verarbeitung im Rahmen der Immunhistochemie. Die verschiedenen Zellen wurden anschließend mit einem konfokalen Mikroskop (Zeiss Apotome) untersucht. Image J wurde verwendet, um die mittlere Fluoreszenzintensität von DAPI (DAPI MFI) für alle Zellen zu bestimmen und die Zellintegrität zu analysieren. Zellen mit intakter Zellmembran und ohne Zellstress sollten kein DAPI in die Zelle aufnehmen, solange die Zellen nicht technisch permeabilisiert wurden. Die gemessene DAPI MFI korreliert mit der DAPI-Aufnahme der Zellen, was auf Zellstress hindeutet. Als Positivkontrolle inkubierten wir Zellen mit 15% Ethanol (EtOH). Zur Untersuchung

der Vitalität der Zellen transduzierten wir die Zellen mit dem Reporterenzym Luciferase. Für hiPSCs verwendeten wir ein Lentiviral-System (Amsbio; Cat.No.: LVP434) mit der integrierten Luciferase unter dem humanen Promotor EF1-alpha mit Resistenz gegen Puromycin als Selektionsmarker. Fibroblasten und HEK293T wurden mit dem gleichen Lentiviral-System transduziert. Die Luciferase-Aktivität innerhalb der Zellen wurde durch BLI-Imaging getestet. Die Luc+ hiPSCs wurden zur Differenzierung in Luc+ hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten und Luc+ hiPSC-abgeleitete Endothelzellen verwendet. Wir inkubierten dann die luciferasepositiven Zellen (Luc+) 24 Stunden lang mit Nanopartikeln und validierten die verschiedenen Zelltypen durch Biolumineszenzbildgebung. Dazu wurden jeweils 200.000 Luc+ Zellen ausgesät, und die Wells wurden zuvor mit Nanopartikeln beschichtet und gemessen. Die gemessene Gesamtphotonenemission korreliert mit der Anzahl der lebenden Zellen. Der BLI-Vitalitätsassay kann somit Informationen über die Anzahl der lebenden Zellen nach Inkubation mit den Nanopartikeln liefern. Auch hier diente die Inkubation mit 15% EtOH als Positivkontrolle.

3.12 Biolumineszenzbildgebung

Die Biolumineszenzbildgebung (Bioluminescence Imaging, BLI) ist ein hochoempfindliches, nicht-invasives Verfahren zur Detektion und Quantifizierung lebender Zellen, die zuvor genetisch mit dem Reporterenzym Luciferase markiert wurden. Das Prinzip der Methode beruht auf der enzymatischen Umsetzung des Substrats Luciferin durch die Luciferase, wobei unter Verbrauch von ATP und Sauerstoff Licht im sichtbaren Spektralbereich emittiert wird. Die Intensität der emittierten Photonen ist dabei direkt von der metabolischen Aktivität und der Anzahl lebensfähiger Luciferase-positiver Zellen abhängig und kann mit einem geeigneten optischen Detektionssystem quantitativ erfasst werden.

Für die vorliegenden Experimente wurde die Biolumineszenzbildgebung eingesetzt, um sowohl die bakterielle Besiedlung als auch die Zellviabilität auf beschichteten und unbeschichteten Gefäßprothesen quantitativ zu analysieren. Hierzu wurden Luciferase-exprimierende *E. coli* (*Luc⁺ E. coli*) verwendet, die nach Kontakt mit den

jeweiligen Prothesenoberflächen eine messbare Photonemission erzeugen. Nach Zugabe des Luciferin-Substrats wurden die Prothesenoberflächen mit einem gekühlten CCD-Kamerasystem aufgenommen, das eine hochempfindliche Detektion auch sehr schwacher Lichtsignale ermöglicht. Alle Aufnahmen erfolgten unter konstanten Kameraeinstellungen, um eine direkte Vergleichbarkeit zwischen den einzelnen Messungen sicherzustellen.

Die Bildaufnahme wurde mit dem IVIS 200 Imaging System (PerkinElmer, Waltham, USA) durchgeführt. Dieses System erlaubt eine standardisierte und reproduzierbare Erfassung der Photonemission aus definierten Messbereichen. Zur quantitativen Auswertung wurden für jede Probe Regionen von Interesse (Region of Interest, ROI) festgelegt. Die gemessenen Signale wurden zunächst um den Hintergrund korrigiert und anschließend auf die jeweils benetzte Prothesenoberfläche normiert, um Unterschiede in der Probengeometrie und Flüssigkeitsverteilung zu berücksichtigen. Die Photonensignale wurden in der Einheit Photonen pro Sekunde pro Quadratcentimeter pro Steradian ($\text{p/s/cm}^2/\text{sr}$) angegeben, die eine quantitative Vergleichbarkeit der Biolumineszenzintensität ermöglicht.

Die Auswertung der Bilddaten erfolgte mit der Software Living Image 3.1 (Media Cybernetics, Rockville, USA), mit der sowohl die Definition der ROI als auch die Berechnung der Signalintensität durchgeführt wurde. Neben der Analyse der Prothesenoberflächen wurden auch die zugehörigen Spüllösungen untersucht, um freigesetzte oder nicht adhärente Bakterien zu erfassen. Durch den direkten Vergleich der Biolumineszenzsignale zwischen beschichteten und unbeschichteten Prothesen konnte der Einfluss der Oberflächenmodifikation auf die bakterielle Anhaftung und das Überleben der Zellen quantitativ bestimmt werden.

3.13 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde mithilfe von Graph Pad Prism (Prism 8) durchgeführt. Die Daten werden als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung dargestellt. P-Werte $< 0,05$ gelten als signifikant. Die Daten wurden unter Verwendung des zweiseitigen Student's

t-Tests. auf signifikante Unterschiede getestet (ns $p > 0,05$, * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$).

4. Ergebnisse

4.1 Oberflächenanalyse

Siliziumdioxid-Nanopartikel (SiO_2) wurden nach dem klassischen Stöber-Verfahren erfolgreich synthetisiert. Nach Abschluss der Hydrolyse- und Kondensationsreaktionen wurden die Kolloide durch wiederholtes Zentrifugieren und Resuspendieren in Ethanol/Wasser gereinigt, um Restreagenzien und niedermolekulare Nebenprodukte zu entfernen. Anschließend erfolgte die Lagerung als stabile Suspension.

Die elektronenmikroskopische Charakterisierung der Präparate (isolierte Aufnahme einzelner Proben) zeigte überwiegend sphärische Partikel mit glatter Oberfläche. Die gemessenen Partikeldurchmesser lagen im Bereich von etwa 20 bis 180 nm. Diese Größenordnung ist konsistent mit der erwarteten Einstellbarkeit des Stöber-Prozesses und reflektiert die gezielte Anpassung der Synthesebedingungen auf kleinere ($\approx 20\text{--}50$ nm) bzw. größere ($\approx 100\text{--}180$ nm) Kolloide. Die beobachtete Morphologie spricht für eine homogene, dichte SiO_2 -Kondensation ohne ausgeprägte Aggregatbildung unter den gewählten Bedingungen. Ergänzend deutet die im ethanolischen Medium stabile Kolloidalität auf eine ausreichende elektrostatische bzw. sterische Stabilisierung der Partikel hin, was für nachfolgende Beschichtung vorteilhaft ist. Insgesamt bestätigen die mikroskopischen Befunde die erfolgreiche Herstellung gut definierter SiO_2 -Nanopartikel im angestrebten Größenfenster.

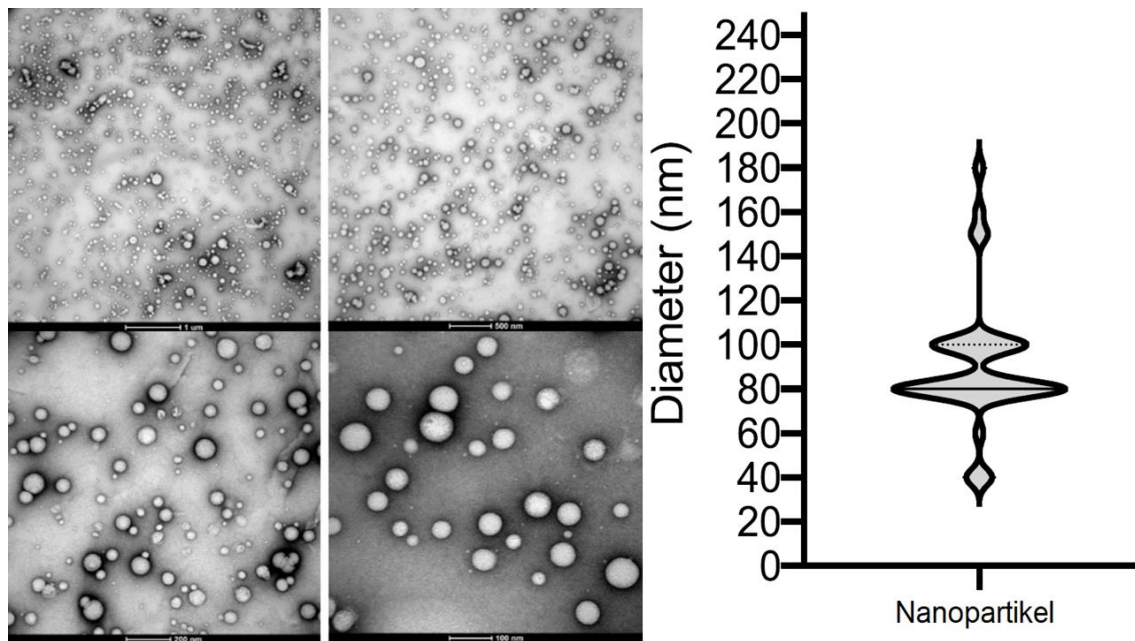


Abbildung 4: Elektronenmikroskopie einer Nanopartikellösung und Geigendiagramm der Nanopartikeldurchmesser.

Nach der nanoskaligen Beschichtung der Gefäßprothesen wurden sämtliche Einzelgrafts systematisch hinsichtlich ihrer benetzungs- und topographiebezogenen Oberflächeneigenschaften charakterisiert. Die goniometrische Messung des statischen Wasserkontaktwinkels ergab für alle beschichteten Proben Werte $> 150^\circ$ (Mittelwert $154^\circ \pm 3^\circ$) und damit wurde das Kriterium der Superhydrophobie erfüllt. Parallel dazu lag der mittlere Abrollwinkel für 5- μ l-Wassertropfen bei $9^\circ \pm 2^\circ$. Die Kombination aus sehr hohem scheinbarem Kontaktwinkel und niedrigem Abrollwinkel weist auf geringe Kontaktwinkelhysterese und eine ausgeprägte Selbstreinigungstendenz hin (Cassie-Baxter Zustand).

Zur Analyse der Oberflächennanorauigkeit wurde das Prothesenmaterial mittels Elektronenmikroskopie untersucht. Die Aufnahmen der beschichteten Grafts zeigten eine für superhydrophobe Oberflächen typische, feinraue Nanotopographie mit dicht verteilten Strukturelementen im Sub-100-nm-Bereich. Im direkten Vergleich wiesen unbeschichtete Referenzproben eine deutlich glattere Faseroberfläche ohne Hierarchiestrukturen auf. Diese morphologischen Befunde stehen im Einklang mit den goniometrischen Ergebnissen und belegen, dass die erzeugte Nanorauigkeit maßgeblich zur beobachteten Superhydrophobie der beschichteten Gefäßprothesen beiträgt.



Abbildung 5: Makroskopische Eigenschaften einer beschichteten vs. unbeschichteten Prothese und Verhalten eines Wassertropfens auf einer beschichteten vs. unbeschichteten Prothese.

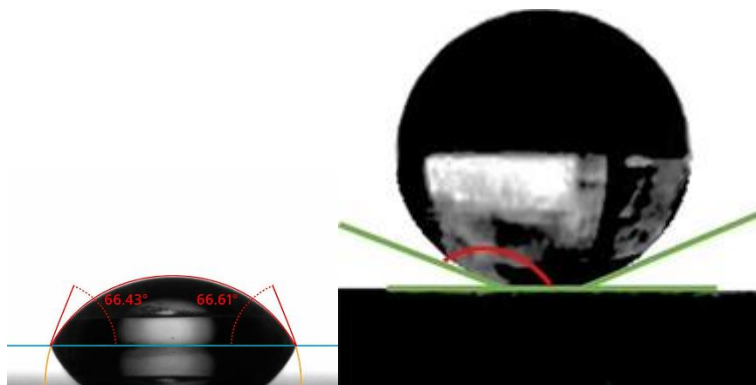


Abbildung 6: Berechnung des goniometrischen Kontaktwinkels.

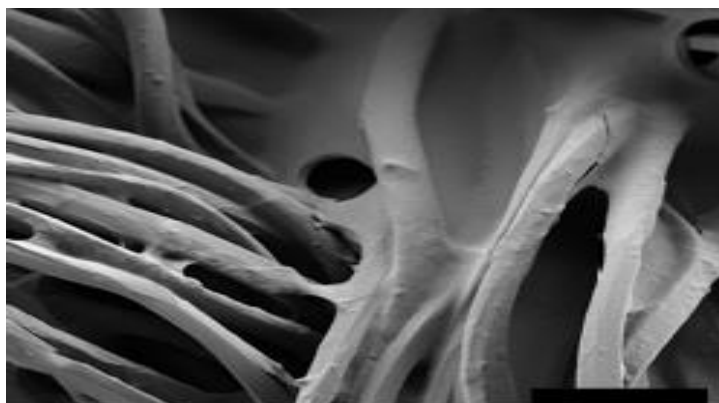


Abbildung 7: Elektronenmikroskopie einer beschichteten Prothese.

4.2 Biolumineszenzuntersuchung transformierter Bakterien

Die Transformation mit dem Plasmid pSF-OXB20-FLUC gelang reproduzierbar. Auf den Kanamycin-haltigen Selektionsplatten (50 µg/ml) wuchsen zahlreiche, klar abgrenzbare Kolonien. Ausgewählte Transformanten ließen sich in flüssigem LB-Medium unter Kanamycin-Selektion stabil propagieren.

Zur Funktionsprüfung des Reporters zeigten die *pSF-OXB20-FLUC-positiven E. coli* nach Zugabe von D-Luciferin in einer seriellen Verdünnungsreihe eine deutlich zellzahlabhängige Biolumineszenz. Mit abnehmender Zellzahl nahm das gemessene Photonsignal proportional ab, untransformierte Kontrollkulturen blieben auf Hintergrundniveau. Damit wurde sowohl die erfolgreiche Aufnahme des Plasmids als auch die prinzipielle Eignung der biolumineszenten Messung zur quantitativen Abschätzung der Zellzahl in diesem System bestätigt.

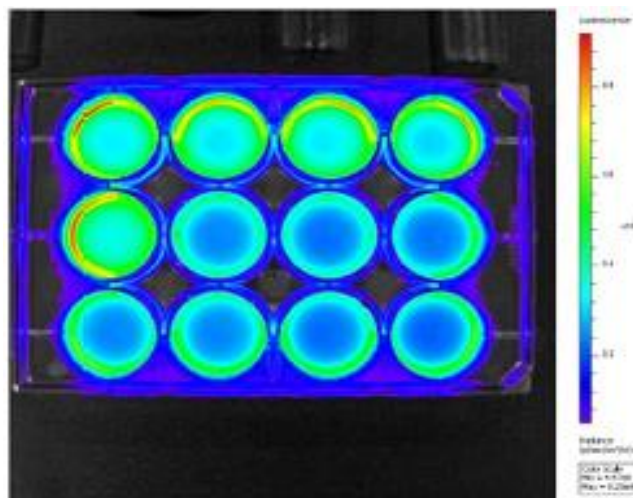


Abbildung 8: Titrationsreihe von Luciferase-positiven (Photonen emittierenden) E. coli-Bakterien.

4.3 Kulturplatten-Analyse der mit Bakterien besiedelten Gefäßprothesen

Zur Quantifizierung der bakteriellen Besiedlung beschichteter und unbeschichteter Gefäß-Patches wurden die Proben 2 h unter Rotation in einer definierten Bakteriensuspension inkubiert. Anschließend erfolgte eine Abklatschkultur

(Kontaktplattierung) auf geeigneten Agarplatten, die 18 h inkubiert wurden. Die anfängliche Oberflächenkolonisierung wurde anhand der Zahl koloniebildender Einheiten (CFU) bzw. des prozentual bedeckten Plattenanteils bestimmt und zum Vergleich zwischen den Gruppen herangezogen.

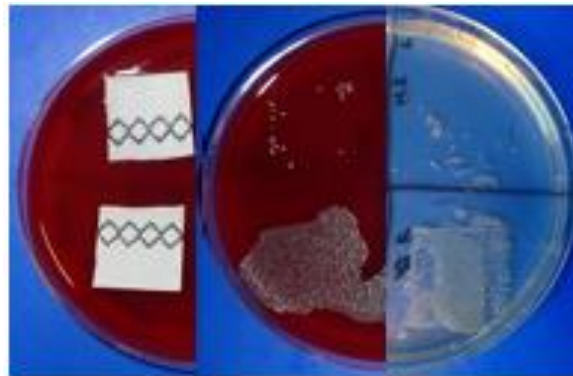


Abbildung 9: Vergleich von beschichteten (oben) und unbeschichteten (unten)

Gefäßprothesen nach Abklatsch auf Agarplatten und 18-stündiger Inkubation.

Staphylococcus aureus wurde auf rotem Agar, Escherichia coli auf transparentem Agar angezüchtet.

Zur Quantifizierung der bakteriellen Besiedlung beschichteter und unbeschichteter Gefäß-Patches wurden die Proben 2 h unter Rotation in einer definierten Bakteriensuspension inkubiert. Anschließend erfolgte eine Abklatschkultur (Kontaktplattierung) auf geeigneten Agarplatten, die 18 h inkubiert wurden. Die anfängliche Oberflächenkolonisierung wurde anhand der Zahl koloniebildender Einheiten (CFU) bzw. des prozentual bedeckten Plattenanteils bestimmt und zum Vergleich zwischen den Gruppen herangezogen. Im Vergleich zu unbeschichteten Kontrollen zeigte das superhydrophobe Material eine deutlich reduzierte bakterielle Besiedlung: Nach Inokulation mit *S. aureus* sank sie um 87 %, nach Inokulation mit *E. coli* um 83 %.

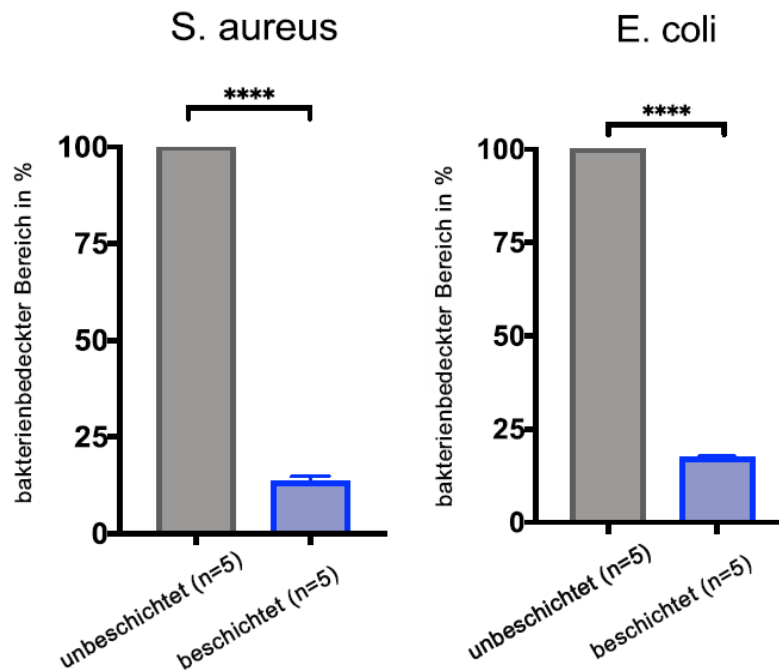


Abbildung 10 Ergebnisse der CFU für S. aureus und E. coli von beschichteten vs. unbeschichteten Gefäß-Patches nach Perfusion mit einer Bakterienlösung

Zur möglichst realitätsnahen Nachbildung physiologischer Strömungsbedingungen wurden die beschichteten und unbeschichteten Gefäßprothesen in einem Mock-Zirkulationssystem untersucht. Hierbei kam eine HVAD (HeartWare Ventricular Assist Device) zum Einsatz, die einen kontinuierlichen Blutfluss generierte und somit hämodynamische Bedingungen simulierte, wie sie auch im klinischen Einsatz vorliegen. Ziel dieses Versuchsaufbaus war es, den Einfluss der Oberflächenmodifikation unter dynamischen, strömungsabhängigen Bedingungen auf die bakterielle Adhäsion und das Wachstum zu evaluieren.

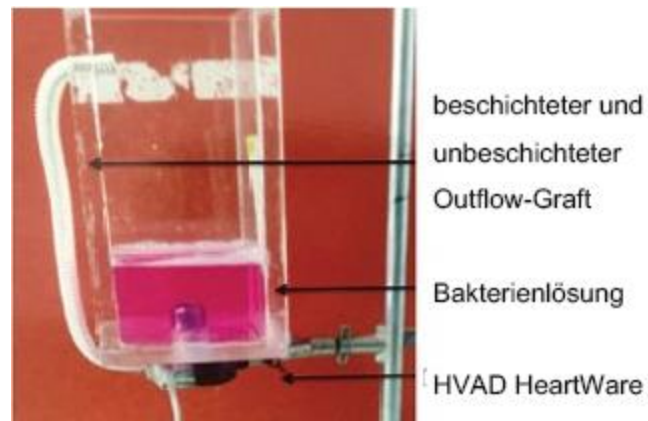


Abbildung 11: Künstliches Perfusionssystem mit linksventrikulärem Unterstützungssystem (LVAD) und gefärbter Bakterienlösung.

Nach Durchführung der Experimente wurde die bakterielle Besiedlung der Prothesen mittels koloniebildender Einheiten (colony-forming units, CFU) quantitativ bestimmt. Die CFU-Analyse zeigte eine deutliche Reduktion des bakteriellen Wachstums auf den beschichteten Prothesen im Vergleich zu den unbeschichteten Kontrollprothesen. Konkret konnte für mit *Staphylococcus aureus* inokulierte Outflow-Grafts eine Reduktion der bakteriellen Kolonisation um 81 % nachgewiesen werden. Für mit *Escherichia coli* inokulierte Prothesen ergab sich eine vergleichbare, wenn auch etwas geringere Reduktion von 76 %.

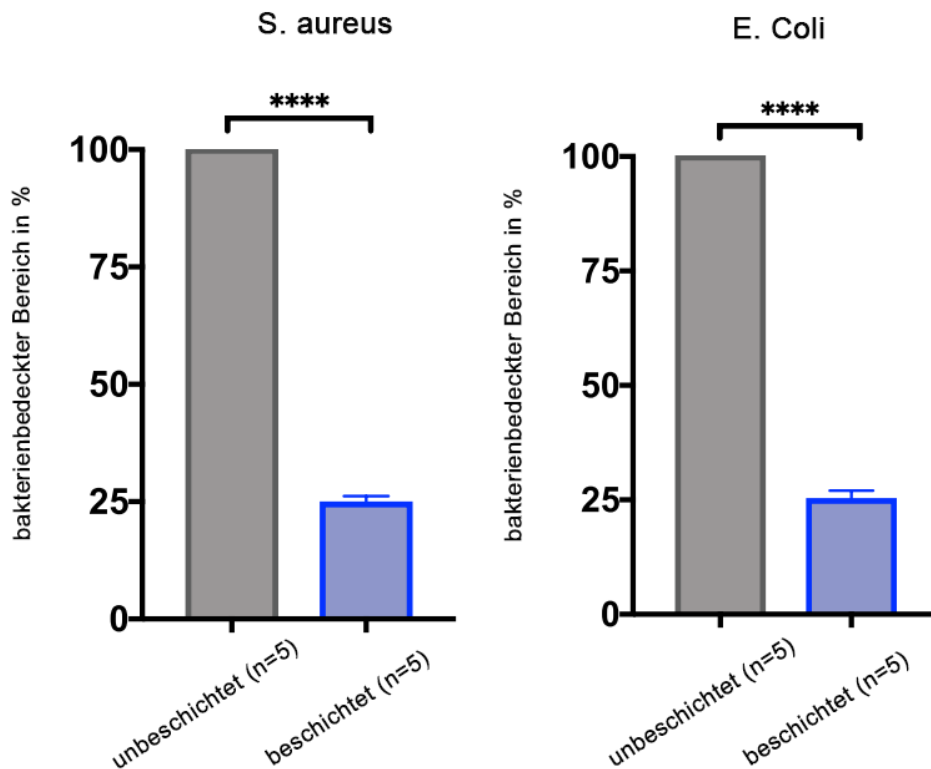


Abbildung 12: Ergebnisse der CFU für S. aureus und E. coli von beschichteten vs. unbeschichteten Outflow-Grafts nach Perfusion mit einer Bakterienlösung.

4.4 BLI-Analyse der mit Bakterien besiedelten Gefäßprothesen

Für eine hochempfindliche Quantifizierung der bakteriellen Besiedlung wurde das superhydrophobe Prothesenmaterial durch Biolumineszenz Imaging (BLI) analysiert. BLI ermöglicht eine klare Korrelation zwischen der aktuellen Zellzahl und der Signalintensität (Close et al., 2011). BLI-Experimente zeigten eine statistisch signifikante Reduktion der bakteriellen Besiedlung für superhydrophob beschichtete Prothesen (Gruppe A) im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen (Gruppe B) (t=0 min: Gruppe A $5,9 \times 10^6$ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 5×10^8 [p/s/cm²/sr], $p < 0,0001$; t=5 min: Gruppe A $2,4 \times 10^7$ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B $7,7 \times 10^8$ [p/s/cm²/sr], $p < 0,0001$; t=30 min: Gruppe A $3,0 \times 10^7$ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 7×10^8 [p/s/cm²/sr], $p < 0,0001$; t=60 min: Gruppe A $4,2 \times 10^7$ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B $7,6 \times 10^8$ [p/s/cm²/sr], $p < 0,0001$).

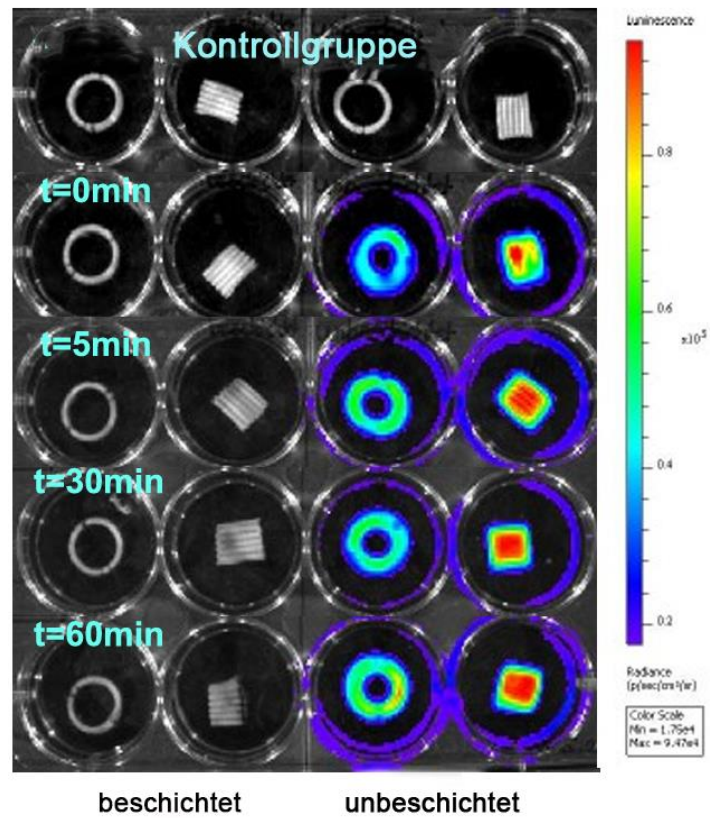


Abbildung 13: Bakterielle Besiedlung mittels BLI von Gefäßprothesen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Inkubation mit LB-Medium als Trägersubstanz

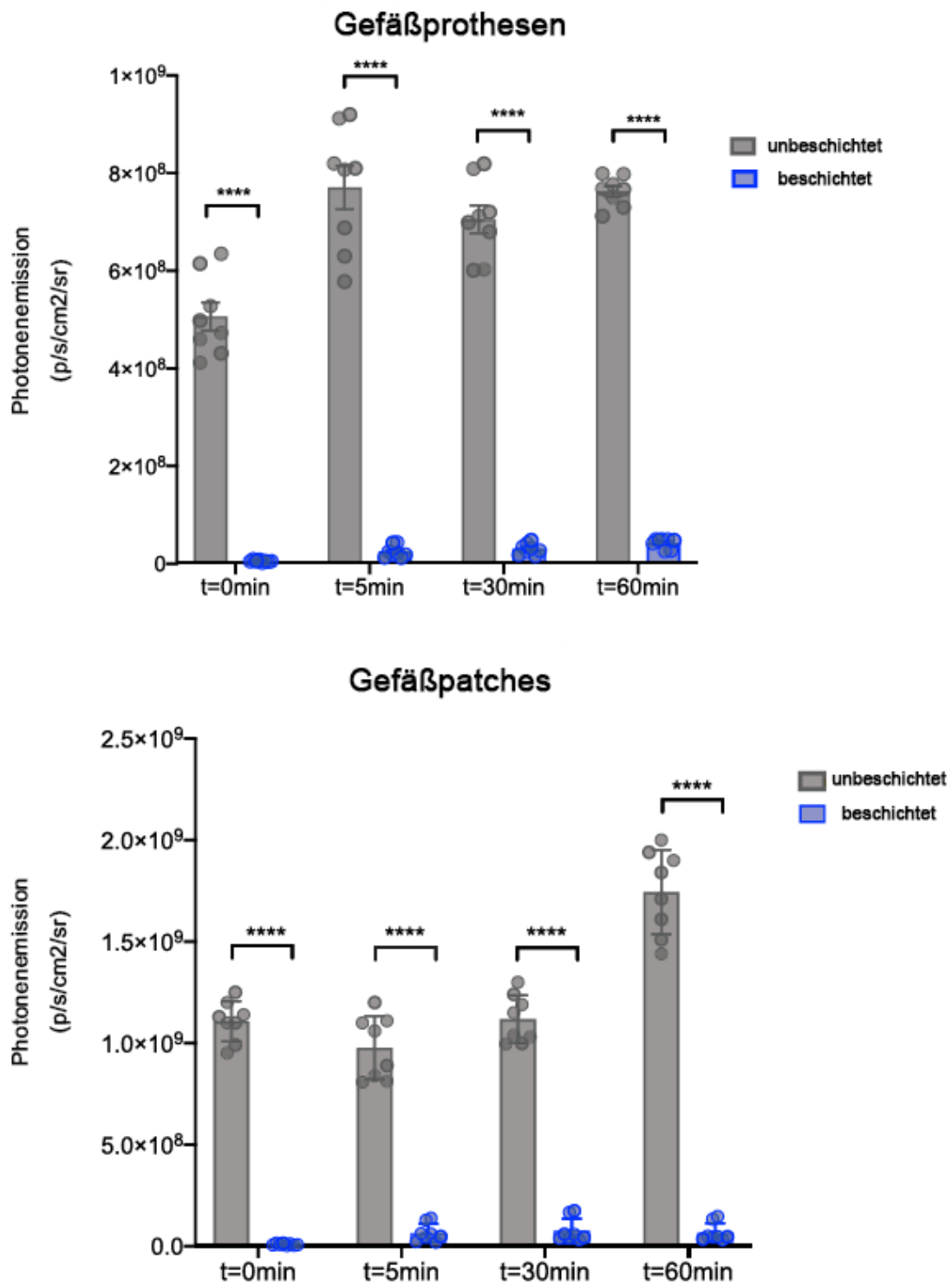


Abbildung 14: Analyse der Photonenemission beschichteter vs. unbeschichteter Prothesen zu verschiedenen Zeitpunkten.

Ähnliche Ergebnisse wurden für Patches beobachtet (t=0 min: Gruppe A 9,77×10⁶ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 1,1×10⁹ [p/s/cm²/sr], p<0,0001; t=30 min: Gruppe A

7,7x10⁷ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 1,1x10⁹ [p/s/cm²/sr], p<0,0001; t=60 min: Gruppe A 6,7x10⁷ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 1,7x10⁹ [p/s/cm²/sr], p<0,0001) nach Inkubation unter mechanischem Stress zu allen Zeitpunkten.

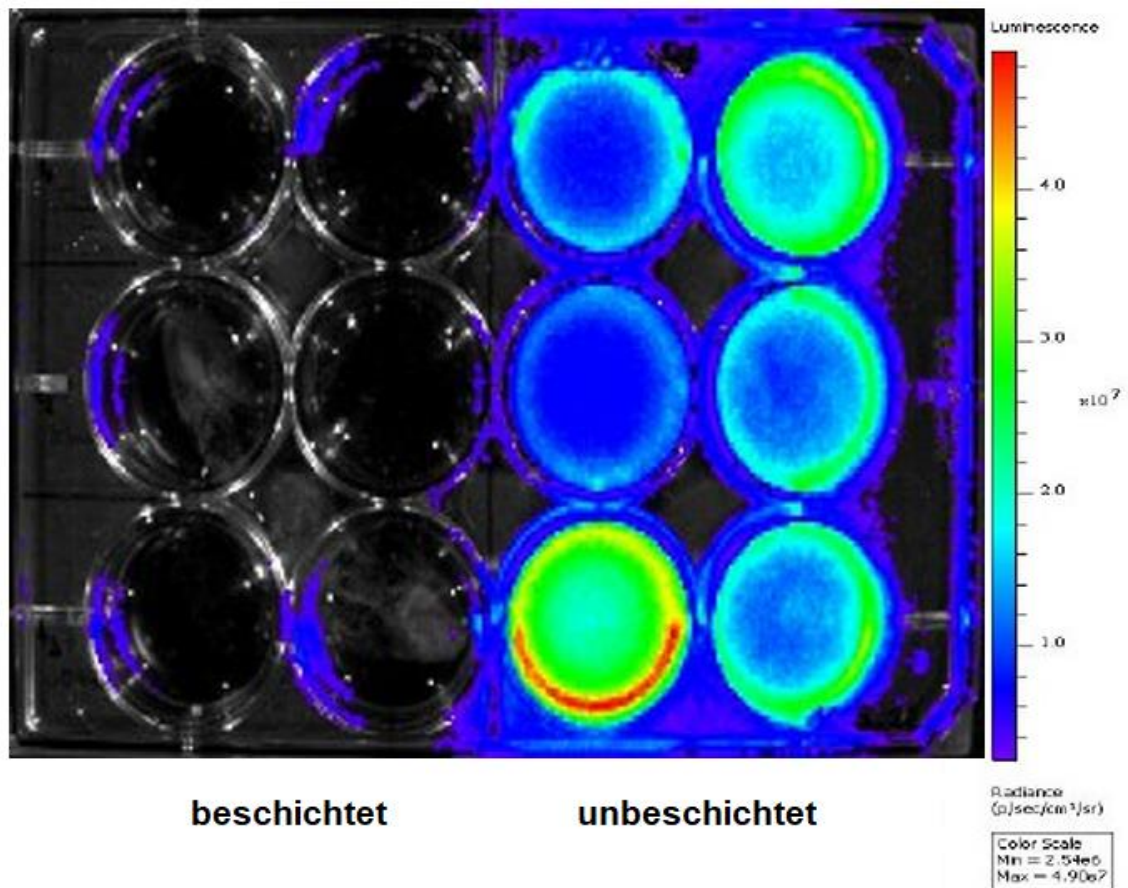


Abbildung 15: BLI der Spüllösung nach 60 Minuten von beschichteten vs. unbeschichteten Patches.

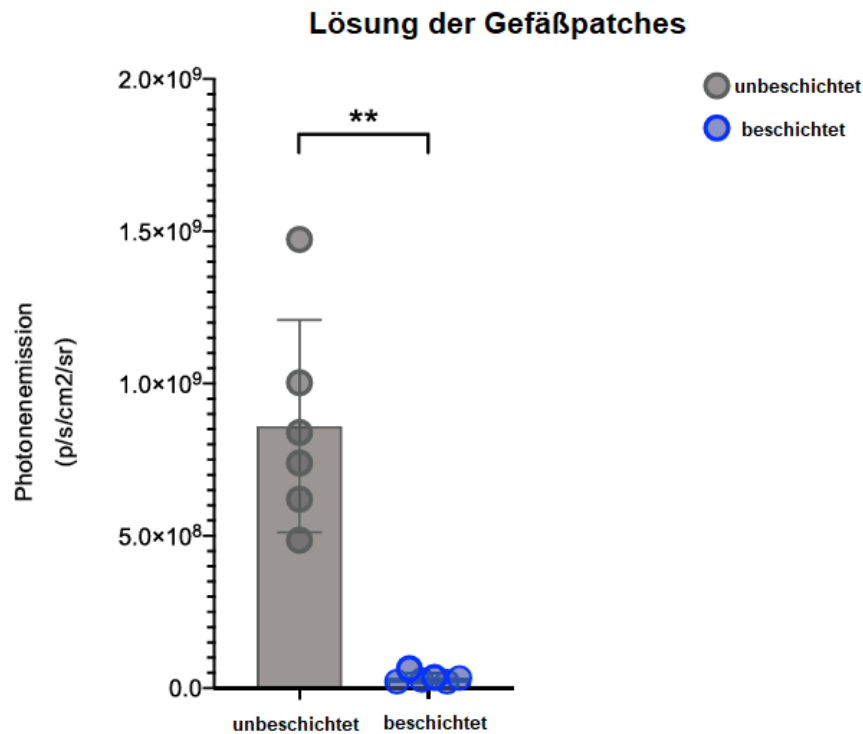


Abbildung 16: Analyse der Photonenemission der Spüllösung von beschichteten vs. unbeschichteten Patches.

Nach der Endmessung ($t=60$ min) zeigten die beschichteten Gefäßprothesen eine Reduktion von 94% ($p=0,0002$), die Gefäßpatches eine Reduktion von 96,2% ($p<0,0001$) im Vergleich zu ihren unbeschichteten Äquivalenten. Die BLI-Analyse der Spüllösung von sowohl beschichteten als auch unbeschichteten Gefäßtransplantaten nach $t=60$ min ergab eine 96%ige Reduktion der bakteriellen Belastung ($p=0,002$). Unsere BLI-Analyse von Outflow-Grafts nach Perfusion mit Luc⁺ Bakterien in LB-Medium zeigte eine signifikante Reduktion der bakteriellen Besiedlung zu allen Zeitpunkten ($t=2=0,0007$; $t=15=0,001$), eine 97%ige Reduktion ($t=30<0,0001$) nach der Endmessung der Mock-Zirkulation.

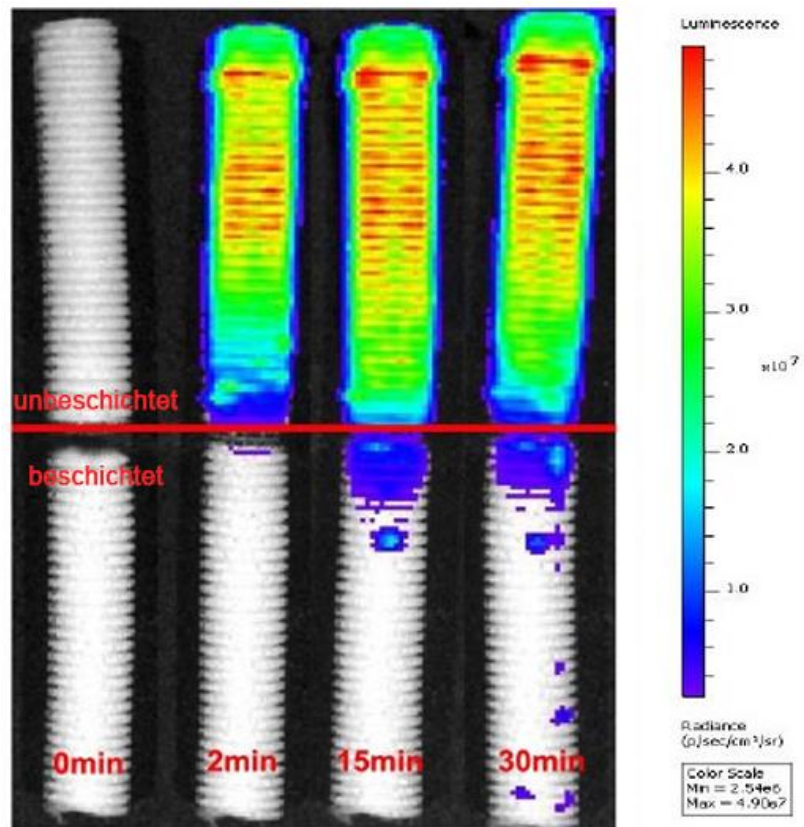


Abbildung 17 Bildgebung (Luc+) *E. coli* mittels BLI von Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten nach künstlicher Perfusion mit LB-Medium als Trägersubstanz.

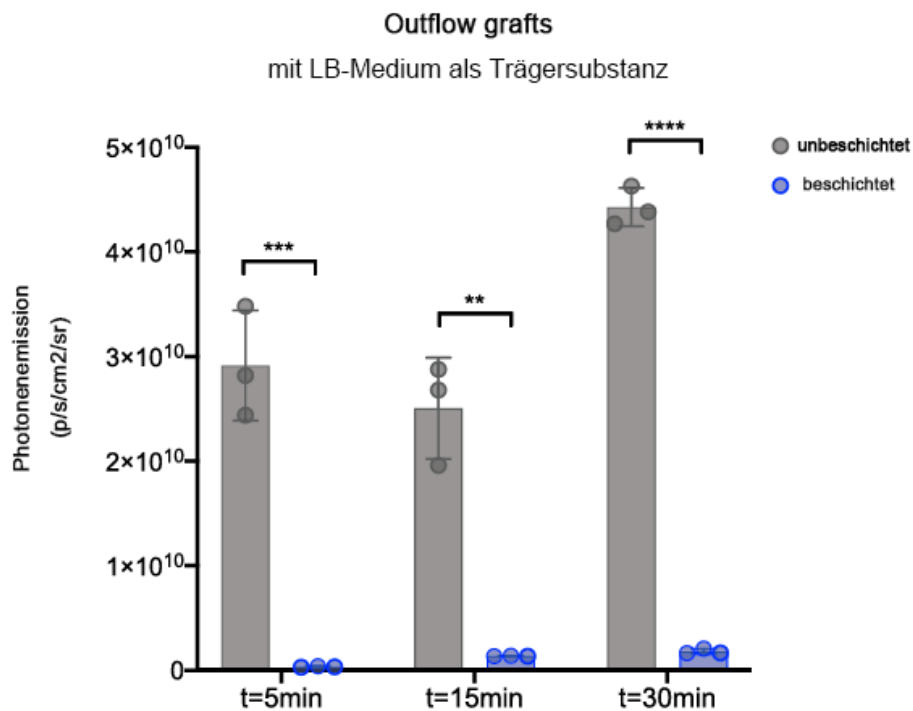


Abbildung 18: Analyse der Photonenemission von beschichteten vs. unbeschichteten Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten.

Im LVAD-getriebenen In-vitro-Kreislauf ergaben die BLI-Analysen der Outflow-Grafts, die mit Luc⁺-Bakterien in heparinisiertem Blut perfundiert wurden, ähnliche Ergebnisse (t=2min: Gruppe A 1,1x10⁷ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 7,3x10⁸ [p/s/cm²/sr], p=0,0005; t=15min: Gruppe A 1,3x10⁸ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 4,0x10⁹ [p/s/cm²/sr], p=0,0005; t=30min: Gruppe A 1,0x10⁸ [p/s/cm²/sr] vs. Gruppe B 4,2x10⁹, p<0,0001).

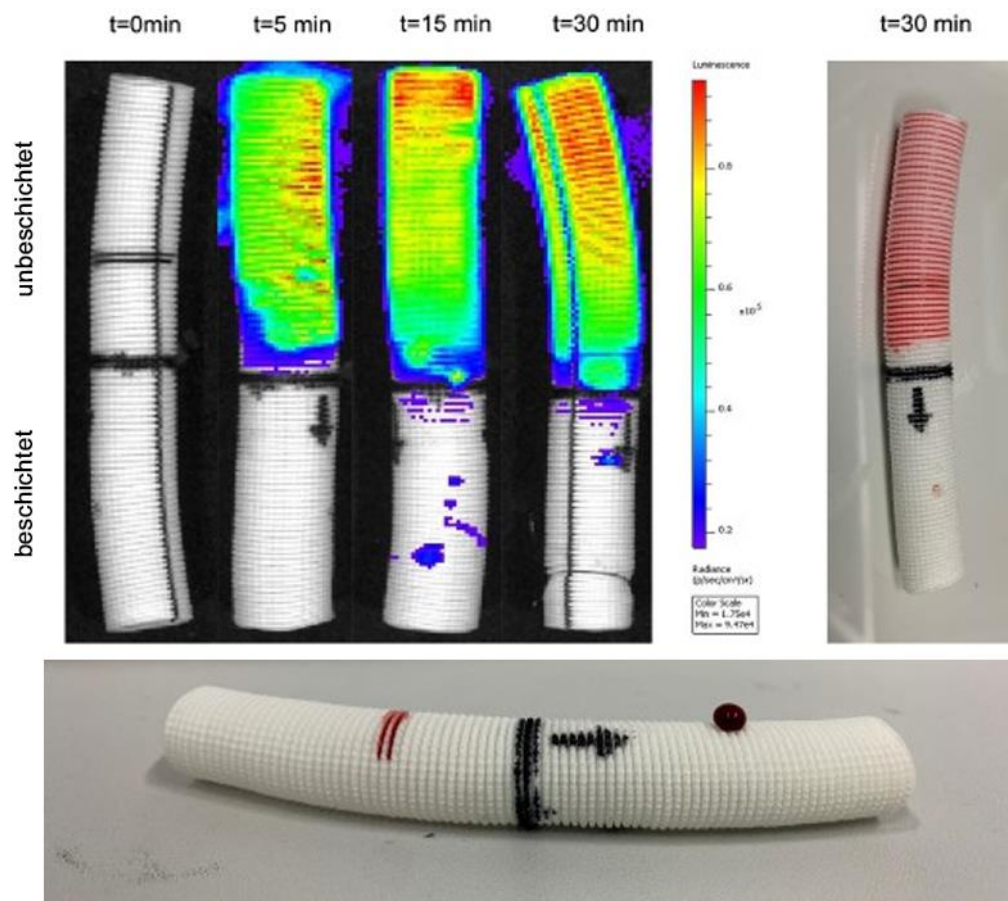


Abbildung 19: Bildgebung (Luc+) *E. coli* mittels BLI von Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten nach künstlicher Perfusion mit Blut als Trägersubstanz

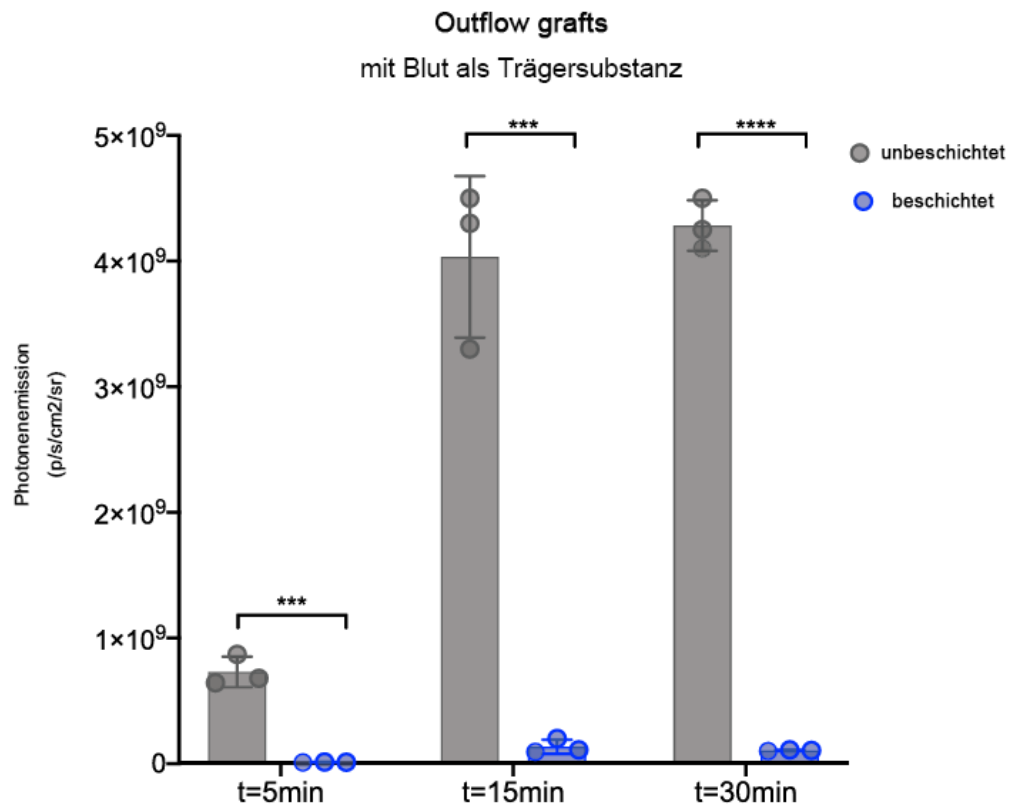


Abbildung 20: Analyse der Photonenemission von beschichteten vs. unbeschichteten Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten.

4.5 Differenzierung der hiPS-Zellen zu hiPS-Kardiomyozyten

Die erfolgreiche Differenzierung human induzierter pluripotenter Stammzellen (hiPSCs) in Kardiomyozyten erforderte eine initiale Zellkonfluenz von 75–90 %. Vor der Differenzierung wurden die hiPSCs einer strengen Qualitätskontrolle unterzogen. Diese umfasste eine tägliche lichtmikroskopische Untersuchung, die Überprüfung eines normalen Karyotyps und eine quantitative Bewertung der Pluripotenz. Zusätzlich wurden regelmäßige Tests auf Mykoplasmenkontamination durchgeführt. Durchflusszytometrie und qPCR-Analysen bestätigten, dass die Zellen ihren pluripotenten Zustand, gekennzeichnet durch die Expression von SSEA-3, SSEA-4 und TRA-1-60, auch nach mehreren Passagen beibehielten.

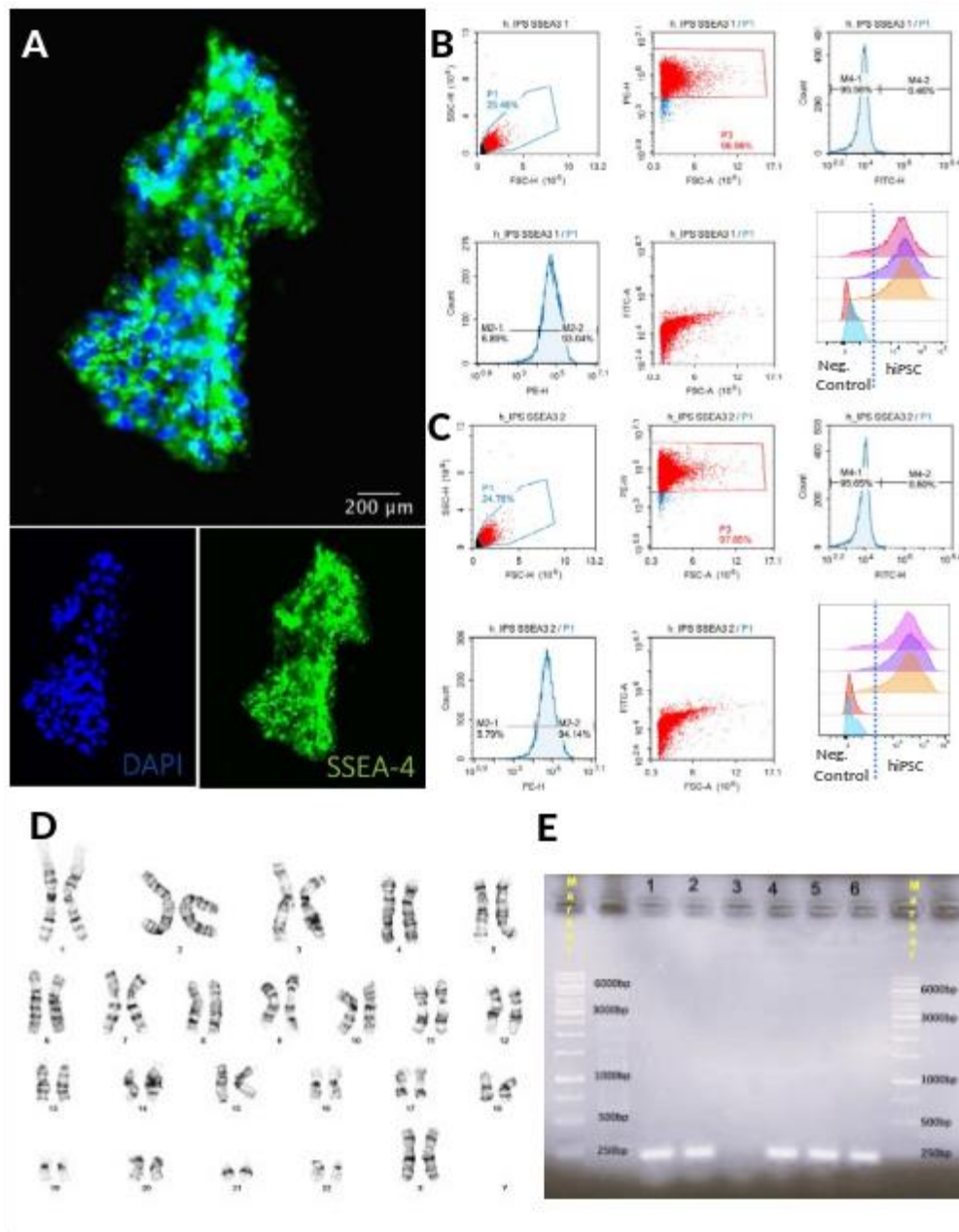


Abbildung 21: Qualitätsprüfung und Charakterisierung von hiPSCs

(A) Immunhistochemische Färbung für SSEA-4 (grün) und DAPI (blau) in hiPSCs.

(B, C) Durchflusszytometrie: 96,96 % / 97,85 % SSEA-3-positive Zellen (P3). Gating-Strategie (FlowJo): Gesamtpopulation (P0); Singlets (P1); Gate für PE-H/SSEA-3; Histogramm PE-H/SSEA-3, links = Negativkontrolle, rechts = gefärbte Zellen.

(D) Karyotyp hiPSCs: weiblicher Karyotyp 46, XX ohne numerische oder strukturelle Aberrationen.

(E) Mykoplasmen-PCR auf 2 % TAE-Agarosegel: Spur 1/4: Überstand hiPSCs (Coriell Institute, USA); Spur 2/5: Überstand hiPSCs (hausintern); Spur 3: Kontrollreaktion ohne Template (H_2O); Spur 6: interne Kontrolle. Zwei Banden weisen

auf eine Mykoplasmeninfektion hin, eine Bande auf eine frei von Mykoplasmen kultivierte Probe

Das Differenzierungsprotokoll wurde entwickelt, um wichtige Stadien der embryonalen Herzentwicklung durch sequenzielle Modulation spezifischer Signalwege nachzubilden. Die Differenzierung erfolgte in 2D-Kulturen mit RPMI 1640 GlutaMax™-I als Basismedium, ergänzt mit 10 ml B-27 Supplement. Um die Konsistenz zu gewährleisten, wurde das Kulturmedium frisch zubereitet und innerhalb von zwei Wochen verwendet.

Die Induktion mesodermaler Vorläuferzellen wurde durch Aktivierung des Wnt-Signalwegs mit dem niedermolekularen Agonisten CHIR-99021 eingeleitet, einem entscheidenden Schritt für die mesodermale Entwicklung. Die Effizienz der Differenzierung variierte zwischen den Experimenten. Es sei darauf hingewiesen, dass andere Protokolle Wachstumsfaktoren wie BMP4, Activin A und bFGF nutzen, um den Wnt-Signalweg zu beeinflussen (Mummery et al., 2012). Da Insulin die Differenzierung in diesem frühen Stadium hemmt, wurde bis zum 7. Tag ein B-27-Supplement ohne Insulin verwendet.

Die anschließende Hemmung des Wnt-Signalwegs mit IWR-1 war für eine effiziente kardiale Induktion unerlässlich. Ab dem 7. Tag wurde dem Medium erneut Insulin zugesetzt, um die Entwicklung kardialer Vorläuferzellen zu unterstützen, da es die Differenzierungseffizienz in diesem Stadium signifikant verbesserte.

Um den Prozess zu standardisieren und die resultierende Zellpopulation anzureichern, wurden die Kulturen von den Tagen 9–11 und 15–17 über 72 Stunden einer metabolischen Selektion mit „Hungermedium“ (RPMI 1640™-I ohne Glukose, ergänzt mit B-27 plus Insulin) unterzogen. Dies trug dazu bei, nicht-kardiomyozytäre Zellen zu eliminieren. Alle differenzierten Zellen durchliefen zwei Runden dieser Selektion und wurden erst ab Tag 18 für Experimente verwendet.

Die erfolgreiche Differenzierung wurde routinemäßig durch PCR-Analysen der kardialspezifischen Genexpression bestätigt. Die Qualitätskontrolle nach der Differenzierung umfasste eine lichtmikroskopische Auswertung und quantitative

Durchflusszytometrie für kardiales Troponin T (cTnT). Troponin T (cTnT) ist ein herzspezifisches Strukturprotein der kontraktilen Einheit (Sarkomer) in Kardiomyozyten und ist Teil des Troponin-Komplexes.

4.6 Toxizitäts- und Vitalitätsassays

Um die Toxizität von Nanopartikeln auf Zellen zu analysieren, haben wir die Integrität und Vitalität von Zellen nach Inkubation mit Nanopartikeln untersucht. Der DAPI-Integritätsassay (Woo et al., 2021) zeigte, dass nach 24 Stunden Inkubation von Zellen mit Nanopartikeln kein signifikanter Unterschied im DAPI MFI zwischen der positiven Kontrolle (keine Behandlung der Zellen) und den mit Nanopartikeln inkubierten Zellen ($p_{EC} = 0,0688$, $p_{CM} = 0,6010$, $p_{HEK293T} = 0,1289$, $p_{Fibroblasts} = 0,0822$) festgestellt wurde, was mit der DAPI-Aufnahme und somit der Integrität der Zellen korreliert. Dies galt für alle vier verschiedenen Zelltypen; für ECs (MFI_{untreated} = 31,97; MFI_{Nanoparticles} = 35,99; MFI_{EtOH} = 69,38), CMs (MFI_{untreated} = 33,21; MFI_{Nanoparticles} = 35,69; MFI_{EtOH} = 67,54), HEK293T (MFI_{untreated} = 19,43; MFI_{Nanoparticles} = 21,59; MFI_{EtOH} = 44), Fibroblasts (MFI_{untreated} = 15,55; MFI_{Nanoparticles} = 18,51; MFI_{EtOH} = 26,90). Der DAPI MFI zwischen der unbehandelten Kontrolle und der negativen Kontrolle mit EtOH war für alle Zelltypen signifikant ($p < 0,0001$).

Aus humanen iPS-Zellen gewonnene Kardiomyozyten

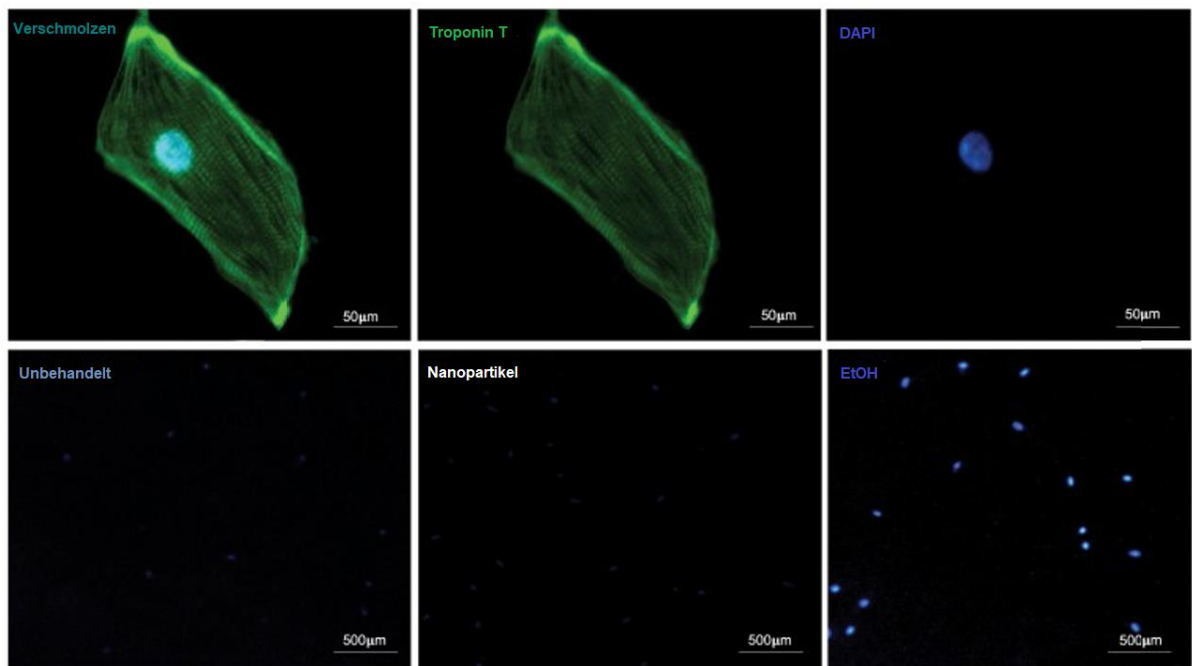


Abbildung 22: Konfokale Mikroskopie von hiPSC-CMs unter verschiedenen Bedingungen.

DAPI-Aufnahmetest für verschiedene Zelltypen

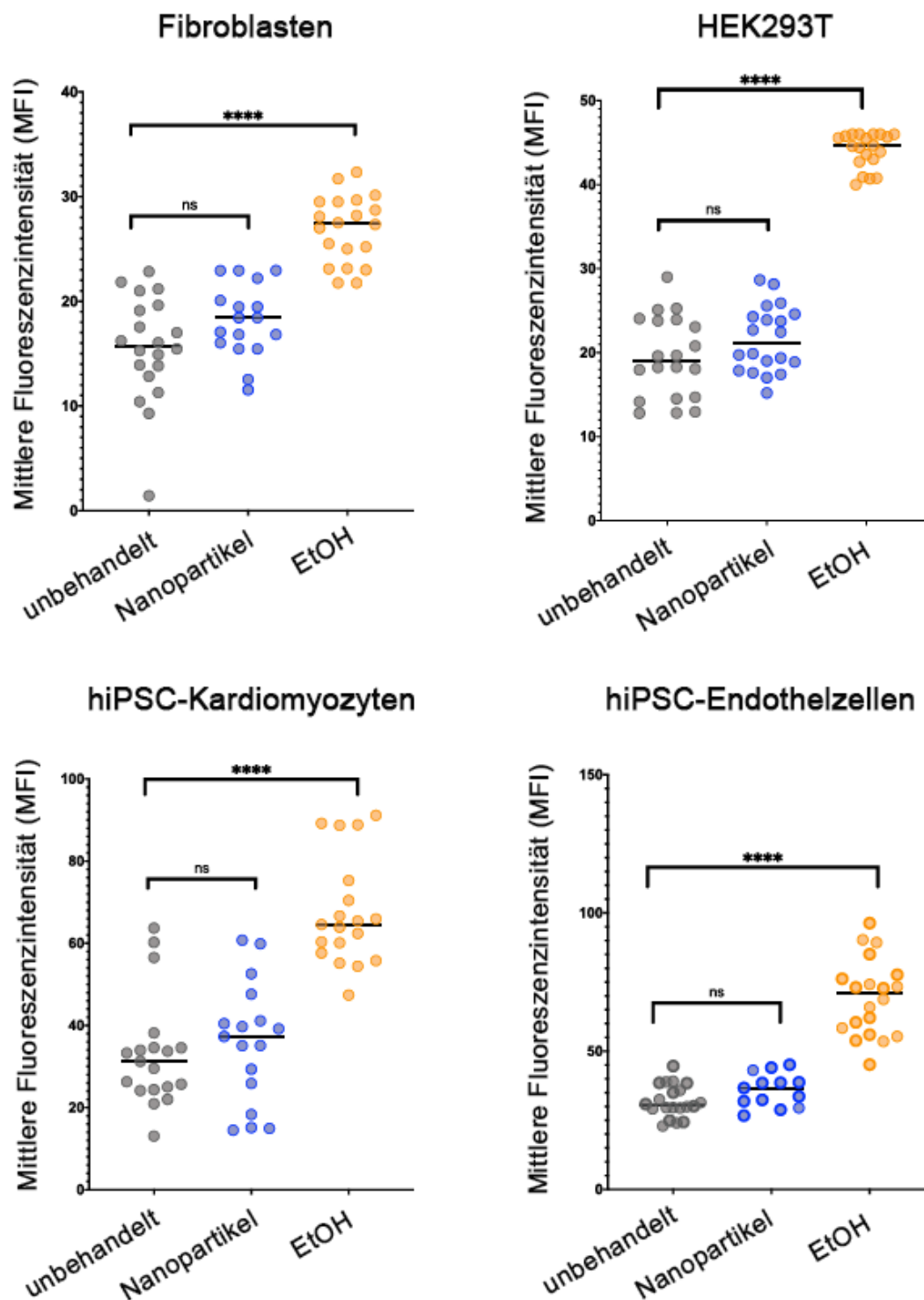


Abbildung 23: DAPI-Aufnahmetest für verschiedene menschliche Zelltypen (Fibroblasten, HEK293T, hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Endothelzellen).

Um das Überleben der Zellen nach der Inkubation mit Nanopartikeln und die Toxizität der Nanopartikel zu untersuchen, wurden diese Zellen durch BLI analysiert. Das Photonemissionssignal korreliert mit der Anzahl der lebenden Zellen (Welsh and Noguchi, 2012). Zellen ohne Stoffwechsel haben aufgrund der ATP-abhängigen Reaktion keine Luciferase-Enzymaktivität mehr und metabolisieren daher das Substrat Luciferin nicht mehr. Für ECs (unbehandelt: $3,37 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]; Nanopartikel: $2,71 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]; EtOH: $1,05 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]), für CMs (unbehandelt: $2,27 \times 10^6$ [p/s/cm²/sr]; Nanopartikel: $1,5 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]; EtOH: $1,02 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]) für HEK293Ts (unbehandelt: $1,67 \times 10^6$ [p/s/cm²/sr]; Nanopartikel: $1,97 \times 10^6$ [p/s/cm²/sr]; EtOH: $1,43 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]), für Fibroblasts (unbehandelt: $6,22 \times 10^6$ [p/s/cm²/sr]; Nanopartikel: $7,24 \times 10^6$ [p/s/cm²/sr]; EtOH: $2,96 \times 10^5$ [p/s/cm²/sr]) gab es keine Signifikanz zwischen der unbehandelten Kontrolle und den mit Nanopartikeln inkubierten Zellen ($p > 0,05$); der Unterschied zwischen der Kontrolle und den mit EtOH behandelten Zellen war für alle vier Zelltypen signifikant ($p < 0,0001$).

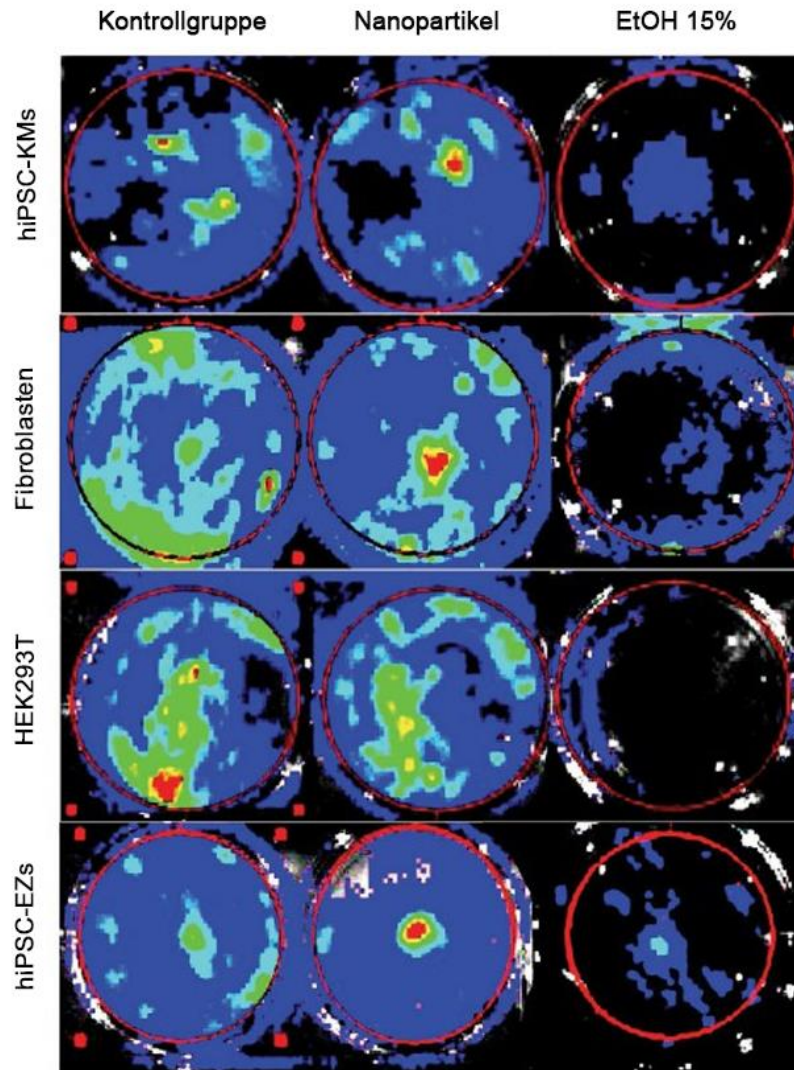


Abbildung 24: Biolumineszenzbildgebung im Toxizitätsassay verschiedener menschlicher Zelltypen (Fibroblasten, HEK293T, hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Endothelzellen) mit Kontrollzellen, Nanopartikeln und EtOH.

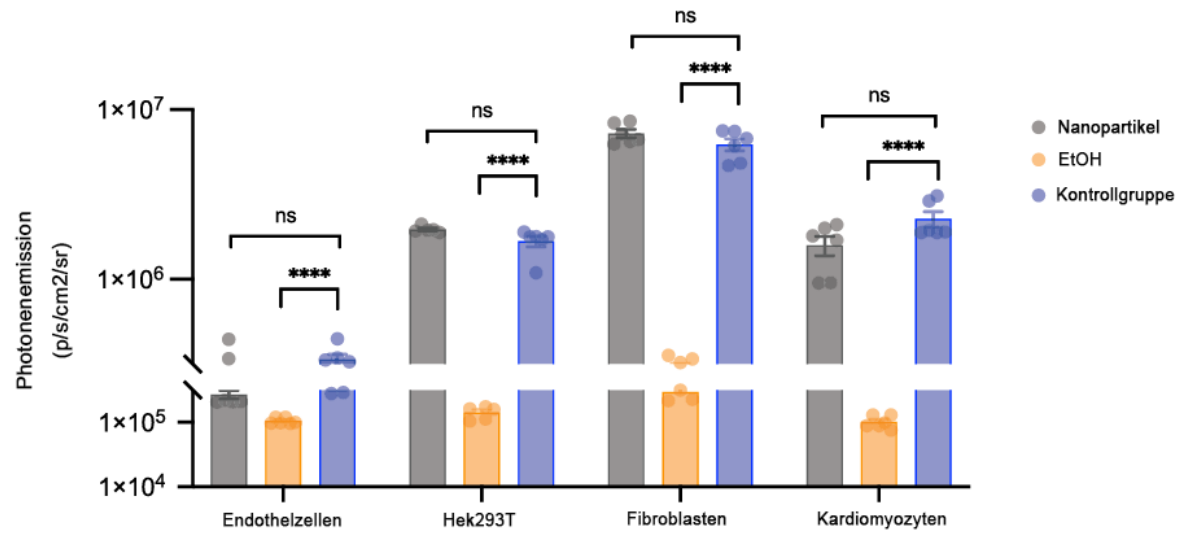


Abbildung 25: Vergleich der Photonenemission im Toxizitätsassay verschiedener menschlicher Zelltypen (Fibroblasten, HEK293T, hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Endothelzellen).

5. Diskussion

In dieser experimentellen Dissertation haben wir erfolgreich den bionischen „Lotus-Effekt“ nachgebildet, um beschichtete Gefäßprothesen mit nanoskaliger Rauheit und superhydrophoben Eigenschaften zu schaffen. Die Oberfläche zeigte einen mittleren Wasserkontaktwinkel von $154^\circ \pm 3^\circ$ und einen mittleren Wasserrollwinkel von $9^\circ \pm 2^\circ$. Die hier in der Arbeit erzeugten Oberflächen liegen im Bereich anspruchsvoller Cassie-Baxter-Zustände und belegen eine ausgeprägte Nichtbenetzbarkeit. Funktionell ging diese Oberflächenphysik mit einer signifikant verminderten bakteriellen Primäradhäsion und Kolonisation einher. Die Ergebnisse zeigten sich konsistent in CFU-Assays (*E. coli* und *S. aureus*) und im Biolumineszenz-Imaging (BLI) mit luciferase-positiven *E. coli*, mit einer signifikanten Reduktion der Besiedelung zum spätesten Messzeitpunkt, ebenfalls unter mechanischer Beanspruchung und in einer künstlichen Zirkulation mit heparinisiertem menschlichem Blut.

Die schützenden Effekte der superhydrophoben Beschichtung waren in Biolumineszenz-Imaging-Experimenten mit luciferase-positivem *E. coli* ersichtlich. Die beschichteten Gefäßprothesen zeigten eine erhebliche Reduktion der bakteriellen Besiedelung zu allen Zeitpunkten, wobei eine Reduktion von 97% am letzten Zeitpunkt erreicht wurde. Dies unterstreicht das Potenzial von superhydrophoben Beschichtungen, die bakterielle Besiedelung von implantierbaren medizinischen Prothesen zu verhindern.

In Anlehnung an den natürlichen Lotus-Effekt, die Kombination aus nanoskaliger Rauheit und niedriger Oberflächenenergie, die zu ausgeprägter Nichtbenetzbarkeit und damit zu Selbstreinigung führt, stellen superhydrophobe Beschichtungen eine aussichtsreiche Oberflächenmodifikation für implantierbare Medizinprodukte dar, da sie die Primäradhäsion mikrobieller Keime verringern und die Ablösung anhaftender Partikel begünstigen. Synthetische superhydrophobe Oberflächen werden gezielt hergestellt, um die günstigen Grenzflächeneigenschaften solcher Materialien auszunutzen. Durch passende Oberflächenchemie und -morphologie bleibt Luft an der Material-Wasser-Grenze eingeschlossen. Die hierfür verwendeten Werkstoffe besitzen

von Natur aus eine sehr niedrige Oberflächenenergie, typisch für nichtpolare Chemiegruppen wie Kohlenwasserstoffe bzw. Fluorcarbone und dicht gepackte, stabile Atomstrukturen. Dadurch erreichen sie bereits ohne zusätzliche Aufrauung hohe statische Kontaktwinkel (bis etwa 120°) (Falde et al. 2016). Die von uns erzeugten Nanopartikel haben polare OH-Gruppen, somit könnten die superhydrophoben Effekte durch Substitution dieser durch unpolare Seitengruppen verstärkt werden.

Zur Erzeugung ausgeprägter Superhydrophobie wird diese niedrige Oberflächenenergie mit Mikro-/Nanotopographie kombiniert. Das gelingt entweder „bottom-up“, indem ein bereits raues Substrat mit einem niedrig-energetischen Film beschichtet wird (z.B. durch chemische Abscheidung, Kolloid-Assemblies, Layer-by-Layer-Aufbau, Electrospraying oder Electrospinning), oder „top-down“, indem die Rauheit direkt in das Material eingebracht wird (z. B. mittels Lithographie). Bei der chemischen Abscheidung etwa wird eine vorhandene Rauheit funktional überzogen und so Superhydrophobie erzeugt (Ma M et al. 2005, Shin et al. 2016). Abgesehen von der Reduktion bakterieller Kontamination könnten diese Beschichtungen auch die hämodynamischen Strömungsprofile verbessern und die Hämokompatibilität erhöhen, wodurch das Risiko der Bildung von Thromben verringert wird.

Im Kontext der Implantation von Prothesenmaterial ist die Verhinderung bakterieller Kontamination entscheidend, um Infektionen zu vermeiden, die schwerwiegend und potenziell tödlich sein können. Trotz verschiedener Ansätze zur strukturellen Modifikation von Prothesenmaterialien bleibt die bakterielle Infektion eine große Herausforderung. Die nanoskalige Rauheit und superhydrophoben Eigenschaften unseres beschichteten Prothesenmaterials reduzierten signifikant das bakterielle Wachstum. Diese Reduktion der bakteriellen Besiedlung ist auf den begrenzten Kontakt zwischen der Materialoberfläche und Körperflüssigkeiten zurückzuführen.

Zwei Hauptansätze existieren für die Entwicklung superhydrophober Oberflächen: die Erzeugung von Nanostrukturen auf hydrophoben Substraten oder die chemische Modifikation von Oberflächen. In unserer Studie beschichteten wir Gefäßprothesen mit SiO₂-Nanopartikeln, um superhydrophobe Eigenschaften zu erzielen. Diese nicht-

kovalente Beschichtung, angetrieben von Van-der-Waals-Kräften, führte zu nanoskaliger Rauheit. Unsere Schutzeffekte gegen bakterielle Besiedlung wurden durch verschiedene Experimente, einschließlich CFU-Analyse und BLI-Imaging, bestätigt.

In biomedizinischen Anwendungen ist der benetzte Zustand einer Oberfläche in aller Regel nur metastabil. Sein Fortbestand hängt empfindlich von Werkstoff, Mikro-/Nanotopographie, dem initialen Benetzungszustand sowie von gelösten Bestandteilen und Tensiden in der Flüssigkeit ab. Bereits moderate äußere Anregungen oder Änderungen der Oberflächenenergie z. B. durch Zugabe eines Tensids können die eingeschlossene Luftschicht verdrängen und in einen vollständig benetzten Zustand überführen. Das ist besonders relevant, weil biologische Medien typischerweise Salze, Proteine/Tenside (z. B. Serumalbumin) und mechanische Beanspruchungen durch Zug- und Druckkräfte enthalten. Diese Metastabilität kann je nach Zielsetzung nützlich sein oder hinderlich (ungewollter Kollaps der Luftpolster).

Ein zentrales Entwicklungsziel ist die Verhinderung von Proteinadsorption. Generell zeigen superhydrophobe Oberflächen mit großen scheinbaren Kontaktwinkeln und geringer Hysterese über längere Zeiträume eine geringere Proteinauflagerung als Oberflächen mit kleineren Winkeln. Mehrere Arbeiten belegen zudem eine selektive Proteinadsorption, die bereits allein durch die lokale Krümmung von Mikro-/Nanostrukturen beeinflusst wird. Ein Hinweis darauf, dass nahezu jedes Basismaterial durch geeignete Topographie Selbstreinigungseigenschaften erhalten kann (Ruhoff et al. 2022, Gerasimovich et al. 2025). Kritisch ist jedoch, dass so bald eine ursprünglich luftgepolsterte, raue Oberfläche vollständig benetzt (Wenzel-Zustand), vergrößert sich die hohe reale Kontaktfläche die Gesamtadsorption im Vergleich zu einer glatten Referenz deutlich. Vielversprechend sind deshalb selbstreinigende Systeme, die ihre Oberflächenzustände aktiv auffrischen z.B. durch periodische Scherung, reversible Benetzungsumschaltung oder erneutes einfangen von Luftpolstern, um die antiadhäsive Wirkung dauerhaft zu stabilisieren (Lett et al. 2011, Barthlott et al. 2010, Ceccio 2010, Gandyra et al. 2020).

Während unsere beschichteten Prothesen eine bemerkenswerte Schutzwirkung gegen bakterielle Besiedlung zeigten, gibt es Herausforderungen die zu bewältigen sind. Die nicht-kovalente Natur der superhydrophoben Beschichtung könnte dazu führen, dass diese mit der Zeit an Wirksamkeit verliert. Unsere Experimente zeigten, dass 30 Minuten Zirkulation immer noch eine signifikante Reduktion der bakteriellen Besiedlung ermöglichten. Bei längerer Dauer nahm die Besiedlung jedoch zu, was auf eine potenzielle Begrenzung hinweist. Zukünftige Untersuchungen sollten Techniken erforschen, um dauerhafte superhydrophobe Eigenschaften für implantierbare Materialien zu erreichen. Allerdings könnte der zeitlich begrenzte Effekt in dem Zusammenhang mit den Gefäßprothesen vorteilhaft sein, da nach der initialen Phase der Implantation das größte Risiko der Kontamination besteht (Costa et al. 2023). Durch die Keimabweisenden Eigenschaften der Beschichtung könnte in dieser kritischen Phase eine Besiedlung verhindert werden. Im weiteren Verlauf kann es dann zur biologischen Innenauskleidung auf der luminalen Oberfläche der Prothese kommen. Funktionell ist, dass der Versuch des Körpers eine zunächst fremde und häufig thrombogene Oberfläche (z.B. ePTFE, Dacron) in eine gefäßähnliche, zell- und matrixbasierte Schicht zu überführen. Der entscheidende Vorteil liegt darin, dass eine gut ausgebildete Neo-Intima, die idealerweise mit Endothelzellen bedeckt ist, die Prothese hämodynamisch und biologisch verbessert. Eine endothelisierte Oberfläche wirkt antithrombotisch und reduziert die Thrombozytenadhäsion. Durch Reduktion der Gerinnungsaktivierung wird insbesondere das Risiko von Frühthrombosen und mikrothrombotischen Ablagerungen an der Protheseninnenwand drastisch gesenkt (Tomizawa et al. 2005). Gleichzeitig trägt die Neo-Intima dazu bei, die anhaltende Fremdkörper- und Entzündungsreaktion zu begrenzen. Wenn sich die luminalen Oberfläche durch Zellen und extrazelluläre Matrix stabilisiert, nimmt die direkte Interaktion von Blutbestandteilen mit dem synthetischen Material ab, was chronische Entzündung, überschießende Proteinadsorption und proinflammatorische Aktivierungsschleifen reduzieren und somit die Biokompatibilität verbessern.

Ein weiterer Nutzen ist die bessere funktionelle Integration in das Gefäßsystem, insbesondere an den Anastomosen. Eine reife, organisierte Neo-Intima kann den Übergang zwischen nativer Gefäßwand und Prothese biologisch abdichten,

Strömungsunregelmäßigkeiten abmildern und die Wandreaktion stabilisieren. In einem optimalen Szenario übernimmt das Endothel zudem regulatorische Funktionen z.B. über NO/Prostazyklin Sekretion und wirkt damit als aktive, vasoprotektive Oberfläche. Durch diese Endothelfunktion können die Entzündungen, Thrombosen und der Gefäßtonus moduliert werden. Indirekt kann dies die Langzeit-Offenheitsrate (Patency) unterstützen, weil eine biologisch angepasste Innenoberfläche weniger anfällig für wiederholte Thrombenauflagerungen, progrediente Lumeneinengung und proinflammatorische Umbauvorgänge ist. Auch im Kontext von Infektionen wird diskutiert, dass eine gut integrierte, teils vaskularisierte Gewebestruktur an der Prothese die lokale Abwehr und Gewebeversorgung verbessern kann.

Wichtig ist die Balance zwischen Neo-Intima und überschießender Hyperplasie. Neo-Intima-Bildung ist dann vorteilhaft, wenn sie geordnet und funktionell möglichst mit Endothelzellen bekleidet erfolgt. Wenn der Umbau dagegen in eine überschießende Intimahyperplasie übergeht, kann sie selbst zur zentralen Ursache von Stenosen und späteren Okklusionen werden. Klassischerweise tritt das an Anastomosen oder bei kleinelumigen Anwendungen wie Shunts auf. Die Neo-Intima ist im Idealfall eine biologische Verbesserung der Prothese, solange die Gewebereaktion kontrolliert bleibt und nicht in pathologisches Remodeling übergeht.

Hinsichtlich der Toxizität zeigen unsere in-vitro erhobenen Daten ein konsistentes Sicherheitsprofil der eingesetzten Nanopartikel über mehrere humanrelevante Zellmodelle hinweg. In den durchgeführten Viabilitäts- und Integritätsanalysen ergaben sich keine Hinweise auf zellschädigende Effekte: Weder die membranäre Integrität noch die metabolische Aktivität, die Lebensfähigkeit oder das Überleben der untersuchten Zellen wurden durch die Nanopartikel nachteilig beeinflusst. Bemerkenswert ist dabei, dass dieser Befund zelltypenübergreifend auftrat und somit nicht auf ein einzelnes, besonders robustes Zellmodell beschränkt blieb. Dadurch wird die Aussagekraft der Ergebnisse gestärkt, da unterschiedliche Zelltypen unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber physikalischen und chemischen Stimuli aufweisen und Nanopartikel je nach Zelltyp variierende Interaktionsmuster zeigen können.

Aus diesen Beobachtungen lässt sich ableiten, dass die entwickelte nanotechnologische Beschichtung, zumindest unter den hier untersuchten experimentellen Bedingungen, biologisch gut verträglich ist und ein relevantes Potenzial für den Einsatz in der Medizintechnik besitzt. Insbesondere in Anwendungsfeldern, in denen implantierbare Materialien dauerhaft oder über lange Zeiträume mit Gewebe und Körperflüssigkeiten in Kontakt stehen, ist eine verlässliche zelluläre Verträglichkeit eine wesentliche Voraussetzung für eine spätere Translation. Vor diesem Hintergrund erscheint die Beschichtung als prinzipiell sichere und praktikable Option für unterschiedliche Implantatklassen, bei denen sowohl Biokompatibilität als auch funktionelle Oberflächeneigenschaften eine zentrale Rolle spielen. Dazu zählen beispielsweise Herzschrittmachersonden, bei denen Materialkontakt und mögliche lokale Gewebereaktionen klinisch relevant sind, Herzklappenprothesen, die durch den direkten Kontakt mit Blut besonders hohe Anforderungen an Oberflächensicherheit und Materialstabilität stellen, sowie orthopädische Endoprothesen, bei denen Langzeitstabilität und eine geringe entzündliche Reaktivität entscheidend sind.

Insgesamt unterstützen die Ergebnisse somit die Annahme, dass die Nanopartikelbeschichtung nicht nur eine funktionelle, sondern auch eine sicherheitsrelevante Grundlage für die Weiterentwicklung implantierbarer Medizinprodukte darstellen kann. Gleichzeitig bilden diese Daten einen wichtigen Ausgangspunkt für weiterführende Untersuchungen, um die Verträglichkeit unter komplexeren Bedingungen, etwa unter dynamischer Belastung, in Ko-Kultursystemen oder in vivo, zu bestätigen und die Sicherheit für eine spätere klinische Anwendung umfassend abzusichern.

Zusammenfassend stellt unsere Studie eine nanotechnologische Beschichtung mit superhydrophoben Eigenschaften als vielversprechende Strategie vor, um die bakterielle Besiedlung von Gefäßprothesen zu reduzieren. Die schützenden Effekte in Verbindung mit minimaler Toxizität machen diese Beschichtung zu einem potenziellen Kandidaten zur Verbesserung der Sicherheit und Wirksamkeit implantierbarer medizinischer Geräte. Weitere Forschung sollte sich darauf konzentrieren, die

Haltbarkeit von superhydrophoben Beschichtungen zu optimieren und deren Anwendbarkeit auf verschiedene medizinische Implantate zu untersuchen.

5.1 Limitationen dieser Dissertation

Limitationen dieser Dissertation ergeben sich vor allem aus dem gewählten experimentellen Schwerpunkt und dem damit verbundenen Übertragbarkeitsgrad der Ergebnisse. Ein wichtiger Punkt ist, dass die Arbeit überwiegend auf in-vitro Analysen basiert. Damit ist die Aussagekraft hinsichtlich der klinischen Übertragbarkeit begrenzt, da relevante Einflussgrößen wie Schubspannung, pulsatile Belastung, Fremdkörperreaktion und Langzeitdegradation in statischen oder vereinfachten Kultursystemen nicht vollständig erfasst werden.

Vor diesem Hintergrund wäre es für zukünftige Arbeiten wichtig, die gewonnenen Erkenntnisse durch zusätzliche longitudinale Implantationsexperimente zu ergänzen. Darüber hinaus stellen die bisherigen Untersuchungen zur Toxizität und Zellintegrität der SiO₂-Nanopartikel zwar einen wichtigen ersten Schritt dar, sind jedoch als Voruntersuchungen zu verstehen. Für eine fundierte Bewertung der Sicherheit sind weiterführende Biokompatibilitätsanalysen unerlässlich. Dazu zählen neben erweiterten Zytotoxizitätsassays insbesondere Untersuchungen zu genotoxischen Effekten, proinflammatorischer Aktivierung, Zellfunktionsanalysen (z.B. Proliferation, Migration, Differenzierung) und Tests zur Hämokompatibilität.

5.2 Ausblick

Die vorliegende Dissertation liefert wichtige experimentelle Grundlagen zur Entwicklung superhydrophober, nanobeschichteter Gefäßprothesen mit deutlich reduzierter bakterieller Kolonisation. Aufbauend auf diesen Ergebnissen ergeben sich mehrere vielversprechende Perspektiven für zukünftige Forschung, die sowohl die wissenschaftliche Vertiefung als auch die klinische Translation betreffen. Ein entscheidender nächster Schritt besteht in der Überführung der bislang überwiegend in-vitro gewonnenen Erkenntnisse in geeignete in-vivo Modelle. Nur durch

longitudinale Implantationsstudien lassen sich komplexe biologische Prozesse wie Fremdkörperreaktion, Immunantwort, Neo-Intima-Bildung, Gewebeintegration sowie mögliche Langzeitveränderungen der superhydrophoben Oberfläche unter physiologischen hämodynamischen Bedingungen valide beurteilen. Insbesondere die Stabilität der Nanobeschichtung unter pulsatilem Blutfluss und mechanischer Dauerbelastung stellt hierbei einen entscheidenden Aspekt dar.

Darüber hinaus sollte die Biokompatibilität der SiO₂-Nanopartikel in erweiterten Untersuchungen analysiert werden. Während erste Toxizitäts- und Viabilitätsanalysen keine zellschädigenden Effekte zeigten, sind umfassendere Sicherheitsbewertungen erforderlich, um potenzielle Langzeiteffekte, subzelluläre Veränderungen, inflammatorische Signalwege sowie mögliche genotoxische oder oxidative Stressreaktionen auszuschließen. Ergänzend wären Untersuchungen zur Hämkompatibilität von besonderer Relevanz, da Interaktionen mit Thrombozyten, dem Komplementsystem und der plasmatischen Gerinnung für den klinischen Einsatz von Gefäßprothesen essenziell sind. Auch die Frage einer möglichen Freisetzung oder Degradation von Nanopartikeln im Langzeitverlauf sollte systematisch adressiert werden.

Ein weiterer wichtiger Forschungsschwerpunkt liegt in der Optimierung der Oberflächenarchitektur. Zukünftige Arbeiten könnten untersuchen, inwiefern sich die superhydrophobe Nanostruktur gezielt mit biofunktionellen Beschichtungen kombinieren lässt, beispielsweise zur Förderung einer kontrollierten Endothelialisierung bei gleichzeitiger Hemmung bakterieller Adhärenz. Eine solche duale Funktionalität könnte dazu beitragen, sowohl das Infektionsrisiko als auch thrombotische Komplikationen weiter zu reduzieren und die Langzeit-Offenheit von Gefäßprothesen zu verbessern. Ebenso erscheint die Übertragbarkeit des Beschichtungskonzepts auf unterschiedliche Prothesenmaterialien und Gefäßdurchmesser als relevantes Entwicklungsziel.

Schließlich eröffnet der in dieser Arbeit verfolgte bionische Ansatz unter Nutzung des Lotus-Effekts auch Anwendungsmöglichkeiten über die Gefäßchirurgie hinaus. Denkbar sind Einsätze bei anderen implantierbaren Medizinprodukten, bei denen bakterielle Besiedlung eine zentrale Rolle spielt, etwa bei Herzklappen, Kathetern,

Schrittmachersonden oder orthopädischen Implantaten. Insgesamt bietet die Dissertation somit eine solide Grundlage für weiterführende präklinische und translationale Studien, mit dem langfristigen Ziel, innovative, infektionsresistente Biomaterialien für den klinischen Einsatz zu etablieren.

6. Zusammenfassung

Prothetische Materialien stellen eine Quelle bakterieller Infektionen dar und sind mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität verbunden. Unter Nutzung des bionischen „Lotus-Effekts“ wurden durch eine Nanobeschichtung superhydrophobe Gefäßprothesen hergestellt und deren Resistenz gegenüber bakterieller Kolonisation untersucht. Die mittels Siliziumdioxid-Nanopartikeln (SiO_2) beschichteten Gefäßprothesen wiesen eine nanoskalige Oberflächenrauigkeit mit superhydrophoben Eigenschaften auf. Beschichtete- und unbehandelte Prothesen wurden mit unterschiedlichen bakteriellen Lösungen, einschließlich heparinisiertem Blut, unter mechanischer Belastung sowie während einer künstlichen Perfusion inkubiert und anschließend analysiert. Zudem wurden Untersuchungen zur Bioviabilität und Toxizität der SiO_2 -Nanopartikel durchgeführt.

Die Durchmesser der SiO_2 -Nanopartikel lagen zwischen 20 und 180 nm. Beschichtete Prothesen zeigten einen Wasserkontaktwinkel von über 150° (Mittelwert $154 \pm 3^\circ$) sowie einen mittleren Wasserabrollwinkel von $9^\circ \pm 2^\circ$, was die Kriterien der Superhydrophobizität erfüllt. Toxizitäts- und Viabilitätsexperimente ergaben keine toxischen Effekte der SiO_2 -Nanopartikel auf aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen abgeleitete Kardiomyozyten, Endothelzellen, Fibroblasten und HEK293T-Zellen. Nach künstlicher Perfusion mit einer bakteriellen Lösung (Luciferase-positive *Escherichia coli*) zeigten biolumineszenzbasierte Bildgebungsanalysen eine signifikante Reduktion der bakteriellen Kolonisation bei superhydrophob beschichteten Prothesen im Vergleich zu unbehandelten Kontrollen. Bei der finalen Messung ($t = 60 \text{ min}$) wurde eine Reduktion der bakteriellen Kolonisation um 97 % bei den superhydrophob beschichteten Gefäßprothesen beobachtet.

Superhydrophobe Gefäßprothesen führten zu einer drastischen Reduktion des bakteriellen Wachstums. Während der künstlichen Perfusion konnten die schützenden superhydrophoben Effekte der Gefäßprothesen mithilfe der Biolumineszenzbildgebung eindeutig bestätigt werden.

6.2 Summary

Prosthetic materials are a source of bacterial infections, with significant morbidity and mortality. Utilizing the bionic "Lotus effect," we generated superhydrophobic vascular prostheses by nanocoating and investigated their resistance to bacterial colonization. Nanoparticles were generated from silicon dioxide (SiO_2) and coated vascular prostheses developed a nanoscale roughness with superhydrophobic characteristics. Coated grafts and untreated controls were incubated with different bacterial solutions including heparinized blood under mechanical stress and during artificial perfusion and were analyzed. Biocompatibility- and toxicity analyses of SiO_2 nanoparticles were performed. Diameters of SiO_2 nanoparticles ranged between 20 and 180 nm. Coated prostheses showed a water contact angle of $> 150^\circ$ (mean $154 \pm 3^\circ$) and a mean water roll-off angle of $9^\circ \pm 2^\circ$. Toxicity and viability experiments demonstrated no toxic effects of SiO_2 nanoparticles on human induced pluripotent stem cell-derived cardiomyocytes endothelial cells, fibroblasts, and HEK239T cells. After artificial perfusion with a bacterial solution (Luciferase⁺ *Escherichia coli*), bioluminescence imaging measurements showed a significant reduction of bacterial colonization of superhydrophobic material-coated prostheses compared to that of untreated controls. At the final measurement ($t = 60$ min), a 97% reduction of bacterial colonization was observed with superhydrophobic material-coated prostheses. Superhydrophobic vascular prostheses tremendously reduced bacterial growth. During artificial perfusion, the protective superhydrophobic effects of the vascular grafts could be confirmed using bioluminescence imaging.

7. Literaturverzeichnis

Allocati, N.; Masulli, M.; Alexeyev, M. F.; Di Ilio, C. Escherichia Coli in Europe: An Overview. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2013, 10 (12), 6235–6254.

Aslam S, Cowger J, Shah P, Stosor V, Copeland H, Reed A, Morales D, Giblin G, Mathew J, Morrissey O, Morejon P, Nicoara A, Molina E. *J Heart Lung Transplant*. 2024 Jul;43(7):1039-1050. doi: 10.1016/j.healun.2024.03.004. Epub 2024 May 1. PMID: 38691077

Barthlott, W.; Neinhuis, C. Purity of the Sacred Lotus, or Escape from Contamination in Biological Surfaces. *Planta* 1997, 202 (1), 1–8.

Bashaw, M. A.; Keister, K. J. Perioperative Strategies for Surgical Site Infection Prevention. *AORN J*. 2019, 109 (1), 68–78.

Basu, R.; Eggington, S. Intrinsic Properties of Medical Devices: Considerations for Economic Evaluation. *Expert Rev. Pharmacoeconomics Outcomes Res*. 2019, 19 (6), 619–626, DOI: 10.1080/14737167.2020.1693268.

Bondareva, J. V.; Aslyamov, T. F.; Kvashnin, A. G.; Dyakonov, P. V.; Kuzminova, Y. O.; Mankelevich, Y. A.; Voronina, E. N.; Dagesyan, S. A.; Egorov, A. V.; Khmel'nitsky, R. A.; Tarkhov, M. A.; Suetin, N. V.; Akhatov, I. S.; Evlashin, S. A. Environmentally Friendly Method of Silicon Recycling: Synthesis of Silica Nanoparticles in an Aqueous Solution. *ACS Sustainable Chem. Eng*. 2020, 8 (37), 14006–14012.

Bhushan B, Jung YC. Micro-and nanoscale characterization of hydrophobic and hydrophilic leaf surfaces. *Nanotechnology*. 2006; 17:2758

Cassie ABD, Baxter S. Wettability of porous surfaces. *Trans. Faraday Soc*. 1944; 40:546–551.

Ceccio. 2011. Friction Drag Reduction of External Flows with Bubble and Gas Injection. *Annual Review Fluid Mechanics*. 42:183-203. <https://doi.org/10.1146/annurev-fluid-121108-145504>

Chambers, H. F.; Bayer, A. S. Native-Valve Infective Endocarditis. *N. Engl. J. Med*. 2020, 383 (6), 567–576, DOI: 10.1056/NEJMcp2000400.

Close, D. M.; Xu, T.; Sayler, G. S.; Ripp, S. In Vivo Bioluminescent Imaging (BLI): Noninvasive Visualization and Interrogation of Biological Processes in Living Animals. *Sensors* 2011, 11 (1), 180–206.

Cohen, J.; Vincent, J. L.; Adhikari, N. K. J.; Machado, F. R.; Angus, D. C.; Calandra, T.; Jaton, K.; Giulieri, S.; Delaloye, J.; Opal, S.; Tracey, K.; van der Poll, T.; Pelfrene, E. Sepsis: Roadmap for Future Research. *Lancet Infect. Dis.* 2015, 15 (5), 581–614, DOI: 10.1016/S1473-3099(15)70112-X.

Costa, D.; Andreucci, M.; Ielapi, N.; Serraino, G.F.; Mastroberto, P.; Bracale, U.M.; Serra, R. Infection of Vascular Prostheses: A Comprehensive Review. *Prosthesis* 2023,5, 148–166

D'Souza, S. A Review of In Vitro Drug Release Test Methods for Nano-Sized Dosage Forms. *Adv. Pharm.* 2014, 2014, 304757 DOI: 10.1155/2014/304757.

Del Val D., Panagides V., Mestres C.A., Miró J.M., Rodés-Cabau J. Infective endocarditis after transcatheter aortic valve replacement: JACC state-of-the-art review. *J Am Coll Cardiol.* 2023; 81:4: 394-412.

Darouiche, R. O. Device-Associated Infections: A Macroproblem That Starts with Microadherence. *Clin. Infect. Dis.* 2001, 33 (9), 1567–1572, DOI: 10.1086/323130.

Dai M. Cai C. Vaibhav V., et al. Trends of cardiovascular implantable electronic device infection in 3 decades: a population-based study. *J Am Coll Cardiol EP.* 2019; 5:1071-1080.

Eric J Falde, Stefan T Yohe, Yolonda L Colson, Mark W Grinstaff. Superhydrophobic Materials for Biomedical Applications.: *Biomaterials.* 2016 Jul 9; 104:87–103. doi: 10.1016.

Evgeniia Gerasimovich; Alexander Karaulov; Igor Nabiev; Alyona Sukhanova. Nanomaterials (Basel). Protein Adsorption on Nano- and Microparticles: Dependence on Morphological and Physicochemical Properties of Particles and Effect on Particle-Cell Interactions 2025 Jul 1;15(13):1013. doi: 10.3390/nano15131013.

D. Gandyra, S. Walheim, S. Gorb, P. Ditsche, W. Barthlott, Th. Schimmel: Air Retention under Water by the Floating Fern *Salvinia*: The Crucial Role of a Trapped Air Layer as a Pneumatic Spring, *Small*, 2003425 (2020).

Ganguly, P.; Breen, A.; Pillai, S. C. Toxicity of Nanomaterials: Exposure, Pathways, Assessment, and Recent Advances. *ACS Biomater Sci. Eng.* 2018, 4 (7), 2237–2275.

Gao, P.; Nie, X.; Zou, M.; Shi, Y.; Cheng, G. Recent Advances in Materials for Extended-Release Antibiotic Delivery System. *J. Antibiot.* 2011, 64 (9), 625–634, DOI: 10.1038/ja.2011.58.

Golden, M. A.; Hanson, S. R.; Kirkman, T. R.; Schneider, P. A.; Clowes, A. W. Healing of Polytetrafluoroethylene Arterial Grafts Is Influenced by Graft Porosity. *J. Vasc. Surg.* 1990, 11 (6), 838–845, DOI: 10.1016/0741-5214(90)90082-L.

Goldstein, D. J.; Oz, M. C.; Rose, E. A. Implantable Left Ventricular Assist Devices. *N. Engl. J. Med.* 1998, 339 (21), 1522–1533, DOI: 10.1056/NEJM199811193392107.

Hall, C. W.; Mah, T. F. Molecular Mechanisms of Biofilm Based Antibiotic Resistance and Tolerance in Pathogenic Bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 2017, 41 (3), 276–301.

Huang, Y. W.; Cambre, M.; Lee, H. J. The Toxicity of Nanoparticles Depends on Multiple Molecular and Physicochemical Mechanisms. *Int. J. Mol. Sci.* 2017, 18 (12), No. 2702, DOI: 10.3390/ijms18122702.

Kaushik A, Kest H, Sood M, Thieman C, Steussy BW, Padomek M, Gupta S. Antibiotics (Basel). 2024 Nov 25;13(12):1132. doi: 10.3390/antibiotics13121132. PMID: 39766522

Klug, D.; Lacroix, D.; Savoye, C.; Goullard, L.; Grandmougin, D.; Hennequin, J. L.; Kacet, S.; Lekieffre, J. Systemic infection related to endocarditis on pacemaker leads: clinical presentation and management. *Circulation* 1997, 95 (8), 2098–2107, DOI: 10.1161/01.CIR.95.8.2098.

Kumar, A.; Nanda, D. Methods and Fabrication Techniques of Superhydrophobic Surfaces. In *Superhydrophobic Polymer Coatings: Fundamentals, Design, Fabrication, and Applications*; Elsevier, 2019; pp 43–75 DOI: 10.1016/B978-0-12-816671-0.00004-7.

Lakkireddy DR, Segar DS, Sood A, Wu M, Rao A, Sohail MR, Pokorney SD, Blomström-Lundqvist C, Piccini JP, Granger CB. J Am Coll Cardiol. 2023 Apr 4;81(13):1283-1295. doi: 10.1016/j.jacc.2023.01.038. PMID: 36990548

Latthe, S. S.; Terashima, C.; Nakata, K.; Fujishima, A. Superhydrophobic Surfaces Developed by Mimicking Hierarchical Surface Morphology of Lotus Leaf. *Molecules* 2014, 19 (4), 4256– 4283.

Phys Rev Lett. Underwater restoration and retention of gases on superhydrophobic surfaces for drag reduction 2011 Jan 7;106(1):014502.

Mattapally, S.; Zhu, W.; Fast, V. G.; Gao, L.; Worley, C.; Kannappan, R.; Borovjagin, A. V.; Zhang, J. Spheroids of Cardiomyocytes Derived from Human-Induced Pluripotent Stem Cells Improve Recovery from Myocardial Injury in Mice. *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 2018, 315, H327–H339, DOI: 10.1152/ajpheart.00688.2017. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c18634> ACS Appl. Mater. Interfaces ACS Applied Materials & Interfaces.

Ma M, Mao Y, Gupta M, Gleason KK, Rutledge GC. Superhydrophobic fabrics produced by electrospinning and chemical vapor deposition. *Macromolecules*. 2005;38: 9742–9748.

Miller, J. M.; Mardhekar, N. M.; Pretorius, D.; Krishnamurthy, P.; Rajasekaran, N. S.; Zhang, J.; Kannappan, R. DNA Damage-Free IPS Cells Exhibit Potential to Yield Competent Cardiomyocytes. *Am. J. Physiol.: Heart Circ. Physiol.* 2020, 318, H801–H815, DOI: 10.1152/ajpheart.00658.2019.

Nabera, C. K. Staphylococcus Aureus Bacteremia: Epidemiology, Pathophysiology, and Management Strategies. *Clin. Infect. Dis.* 2009, 48 (Supplement_4), S231–S237, DOI: 10.1086/598189.

Park, K. D.; Kim, Y. S.; Han, D. K.; Kim, Y. H.; Lee, E. H. B.; Suh, H.; Choi, K. S. Bacterial Adhesion on PEG Modified Polyurethane Surfaces. *Biomaterials* 1998, 19 (7–9), 851–859.

Patra, J. K.; Das, G.; Fraceto, L. F.; Campos, E. V. R.; Rodriguez-Torres, M. D. P.; Acosta-Torres, L. S.; Diaz-Torres, L. A.; Grillo, R.; Swamy, M. K.; Sharma, S.; Habtemariam, S.;

Shin, H. S. Nano Based Drug Delivery Systems: Recent Developments and Future Prospects. *J. Nanobiotechnol.* 2018, 16 (1), 71 DOI: 10.1186/s12951-018-0392-8.

Rather, M. A.; Gupta, K.; Mandal, M. Microbial Biofilm: Formation, Architecture, Antibiotic Resistance, and Control Strategies. *Braz. J. Microbiol.* 2021, 52 (4), 1701–1718, DOI: 10.1007/s42770-021-00624-x.

Sánchez, P. F.; Brey, E. M.; Briceno, J. C. Endothelialization Mechanisms in Vascular Grafts. *J. Tissue Eng. Regener. Med.* 2018, 12 (11), 2164–2178, DOI: 10.1002/term.2747.

Sera Shin, Jungmok Seo, Heetak Han, Subin Kang, Hyunchul Kim, Taeyoon Lee Bio-Inspired Extreme Wetting Surfaces for Biomedical Applications Materials (Basel). 2016 Feb 19;9(2):116. doi: 10.3390/ma9020116

Susan D'Souza, Cornelia M. Keck: A Review of In Vitro Drug Release Test Methods for Nano-Sized Dosage Forms. Hindawi Publishing Corporation 2014, 2-8.

Strachan, C. J. L. Antibiotic Prophylaxis in Peripheral Vascular and Orthopaedic Prosthetic Surgery. *J. Antimicrob. Chemother.* 1993, 31, 65–78, DOI: 10.1093/jac/31.suppl_B.65.

Tomizawa Y. *Ann Thorac Surg.* Endothelialization and functional neointima on vascular grafts in humans. 2005 Apr;79(4):1465; author reply 1465-6.

Truong, V. K.; Lapovok, R.; Estrin, Y. S.; Rundell, S.; Wang, J. Y.; Fluke, C. J.; Crawford, R. J.; Ivanova, E. P. The Influence of Nano Scale Surface Roughness on Bacterial Adhesion to Ultrafine-Grained Titanium. *Biomaterials* 2010, 31 (13), 3674–3683.

Van Epps, J. S.; Younger, J. G. Implantable Device Related Infection. *Shock* 2016, 46 (6), 597. www.acsami.org Research Article

Veerachamy, S.; Yarlagadda, T.; Manivasagam, G.; Yarlagadda, P. K. Bacterial Adherence and Biofilm Formation on Medical Implants: A Review. *Proc. Inst. Mech. Eng., Part H* 2014, 228 (10), 1083–1099, DOI: 10.1177/0954411914556137.

Verho, T.; Bower, C.; Andrew, P.; Franssila, S.; Ikkala, O.; Ras, R. H. A. Mechanically Durable Superhydrophobic Surfaces. *Adv. Mater.* 2011, 23 (5), 673–678.

Victoria Thusgaard Ruhoff; Guillermo Moreno-Pescador; Weria Pezeshkian; Poul Martin Bendix. *Biochem Soc Trans.* Strength in numbers: effect of protein crowding on the shape of cell membranes 2022 Oct 10;50(5):1257–1267. doi: 10.1042/BST20210883.

Vongpatanasin, W.; Hillis, L. D.; Lange, R. A. Prosthetic Heart Valves. *N. Engl. J. Med.* 1996, 335 (6), 407–416, DOI: 10.1056/NEJM199608083350607.

Welsh, D. K.; Noguchi, T. Cellular Bioluminescence Imaging. *Cold Spring Harb Protoc* 2012, 2012 (8), 852–866, DOI: 10.1101/pdb.err072298.

Wilson WR, Bower TC, Creager MA, Amin-Hanjani S, O'Gara PT, Lockhart PB, Darouiche RO, Ramlawi B, Derdeyn CP, Bolger AF, Levison ME, Taubert KA, Baltimore RS, Baddour LM; American Heart Association Committee on Rheumatic Fever, Endocarditis, and Kawasaki Disease of the Council on Cardiovascular Disease in the Young; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Cardiovascular Radiology and Intervention; Council on Cardiovascular Surgery and Anesthesia; Council on Peripheral Vascular Disease; and Stroke Council. *Circulation*. 2016 Nov 15;134(20): e412–e460. doi: 10.1161/CIR.0000000000000457. Epub 2016 Oct 13. PMID: 2773795.

Woo, M. S.; Ufer, F.; Rothhammer, N.; Di Liberto, G.; Binkle, L.; Haferkamp, U.; Sonner, J. K.; Engler, J. B.; Hornig, S.; Bauer, S.; Wagner, I.; Egervari, K.; Raber, J.; Duvoisin, R. M.; Pless, O.; Merkler, D.; Friese, M. A. Neuronal Metabotropic Glutamate Receptor 8 Protects against Neurodegeneration in CNS Inflammation. *J. Exp. Med.* 2021, 218 (5), No. e20201290, DOI: 10.1084/jem.20201290.

8. Abkürzungsverzeichnis

A

B

BLI Bioluminescence imaging

C

°C Grad Celsius

Cat. No Catalog number

CFU colony forming unit, koloniebildende Einheit

cm² Quadratzentimeter

CM Cardiomyocytes, Kardiomyozyten

CO₂ Kohlenstoffdioxid

D

DAPI 4',6-Diamidin-2-phenylindol

DMEM Dulbecco's Modified Eagle's Medium

E

EC Endothelzellen

EHT Engineered heart tissue, künstliches Herzgewebe

et al. und weitere

EtOH Ethanol

F

FACS-Analyse fluoreszenzaktivierte Zellanalyse

G

H

HEK293T-Zellen Humane embryonale Nieren 293- Zellen

hiPS human induzierte pluripotente Stammzelle

H₂O Wasser

HVAD Heartware Ventricular Assist Device. Linksherzunterstützungssystem

I

ICD implantable cardioverter defibrillator, Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator

IVIS In Vivo Imaging System

K

KM Kardiomyozyten

L

μl Mikroliter

l Liter

LB-Medium Lysogeny broth-Medium

M

μm Mikrometer

MFI mittlere Fluoreszenzintensität

min Minute

ml Milliliter

N

NH₄OH Ammoniumhydroxid

nm Nanometer

O

P

P Photon

PBS Phosphate buffered saline, Phosphat-gepufferte Salzlösung

PFA Paraformaldehyd

Q

R

RT Raumtemperatur

S

s, sek Sekunde

SiO₂ Siliciumdioxid

SSD Static sessile Drop, statischer liegender Tropfen

Sr Steradian

T

TEOS Tetraethylorthosilikat

U

U Unit, Einheit

UKE Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

V

W

X

Y

Z

z.B. zum Beispiel

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Übersicht über Kontaktwinkel von hydrophil bis superhydrophob	11
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Nanopartikelbildung	19
Abbildung 3: Vektorkarte des Plasmids pSF-OXB20-Fluc zur bakteriellen Expression von Luciferase unter der Kontrolle des starken konstitutiven Promotors OXB20.....	21
Abbildung 4: Elektronenmikroskopie einer Nanopartikellösung und Geigendiagramm der Nanopartikeldurchmesser	31
Abbildung 5: Makroskopische Eigenschaften einer beschichteten vs. unbeschichteten Prothese und Verhalten eines Wassertropfens auf einer beschichteten vs. unbeschichteten Prothese.....	32
Abbildung 6: Berechnung des goniometrischen Kontaktwinkels	32
Abbildung 7: Elektronenmikroskopie einer beschichteten Prothese	32
Abbildung 8: Titrationsreihe von Luciferase-positiven (Photonen emittierenden) E. coli-Bakterien.....	33
Abbildung 9: Vergleich von beschichteten (oben) und unbeschichteten (unten) Gefäßprothesen nach Abklatsch auf Agarplatten und 18-stündiger Inkubation. Staphylococcus aureus wurde auf rotem Agar, Escherichia coli auf transparentem Agar angezüchtet.	34
Abbildung 10: Ergebnisse der CFU für S. aureus und E. coli von beschichteten vs. unbeschichteten Gefäß-Patches nach Perfusion mit einer Bakterienlösung	35
Abbildung 11: Künstliches Perfusionssystem mit linksventrikulärem Unterstützungssystem (LVAD) und gefärbter Bakterienlösung.....	36
Abbildung 12: Ergebnisse der CFU für S. aureus und E. coli von beschichteten vs. unbeschichteten Outflow-Grafts nach Perfusion mit einer Bakterienlösung.....	37
Abbildung 13: Bakterielle Besiedlung mittels BLI von Gefäßprothesen zu verschiedenen Zeitpunkten nach Inkubation mit LB-Medium als Trägersubstanz.....	38
Abbildung 14: Analyse der Photonenemission beschichteter vs. unbeschichteter Prothesen zu verschiedenen Zeitpunkten.....	39
Abbildung 15: BLI der Spüllösung nach 60 Minuten von beschichteten vs. unbeschichteten Patches.....	40

Abbildung 16: Analyse der Photonenemission der Spüllösung von beschichteten vs. unbeschichteten Patches	41
Abbildung 17: Bildgebung (Luc+) E. coli mittels BLI von Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten nach künstlicher Perfusion mit LB-Medium als Trägersubstanz	42
Abbildung 18: Analyse der Photonenemission von beschichteten vs. unbeschichteten Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten	43
Abbildung 19: Bildgebung (Luc+) E. coli mittels BLI von Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten nach künstlicher Perfusion mit Blut als Trägersubstanz	44
Abbildung 20: Analyse der Photonenemission von beschichteten vs. unbeschichteten Outflow-Grafts zu verschiedenen Zeitpunkten	45
Abbildung 21: Qualitätsprüfung und Charakterisierung von hiPSCs	47
Abbildung 22: Konfokale Mikroskopie von hiPSC-CMs unter verschiedenen Bedingungen	50
Abbildung 23: DAPI-Aufnahmetest für verschiedene menschliche Zelltypen (Fibroblasten, HEK293T, hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Endothelzellen)	51
Abbildung 24: Biolumineszenzbildgebung im Toxizitätsassay verschiedener menschlicher Zelltypen (Fibroblasten, HEK293T, hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Endothelzellen) mit Kontrollzellen, Nanopartikeln und EtOH.)	53
Abbildung 25: Vergleich der Photonenemission im Toxizitätsassay verschiedener menschlicher Zelltypen (Fibroblasten, HEK293T, hiPSC-abgeleitete Kardiomyozyten, hiPSC-abgeleitete Dendothelzellen).	54

10. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Hilfsmittel und Geräte	13
Tabelle 2: Chemikalien und Lösungen	15
Tabelle 3: BLI-Imaging	16
Tabelle 4: Zellkulturmedien	16

11. Publikation

Die Grundlage für diese Arbeit bildet der folgende wissenschaftliche Artikel:

Bionic Nanocoating of Prosthetic Grafts Significantly Reduces Bacterial Growth

Simon Pecha, Lukas Reuter, **Shahabuddin Ohdah**, Johannes Petersen, Christiane Pahrman, Pinar Aytar Çelik, Ahmet Çabuk, Hermann Reichensperner, Yalin Yildirim.

ACS Appl Mater Interfaces. 2024 Mar 20;16(11):13534-13542. doi: 10.1021/acsami.3c18634. Epub 2024 Mar 6. PMID: 38447594 PMCID: PMC10958452.

12. Erklärung des Eigenanteils

Shahabuddin Ohdah:

Planung und Durchführung der wissenschaftlichen Arbeit. Herstellung und Analyse der Siliziumdioxid-Nanopartikel. Beschichtung der Gefäßprothesen. Untersuchung der hydrophoben Effekte und Bakterienbesiedlung der Gefäßprothesen. Durchführung von BLI-Analysen. Toxikologische Analyse der Nanopartikel. Beteiligung an den histologischen Untersuchungen.

Lukas Reuter:

Differenzierung der IPS-Zellen in Endothelzellen und Durchführung der histologischen Untersuchungen. Unterstützung bei den BLI-Analysen.

Christiane Pahrman:

Unterstützung bei Zell- und Bakterienkulturarbeiten. Unterstützung bei der Differenzierung der IPS-Zellen in Kardiomyozyten/Endothelzellen.

Prof. Dr. med Simon Pecha:

Supervision der wissenschaftlichen Arbeit.

Dr. med Yalin Yildirim:

Supervision der wissenschaftlichen Arbeit. Gestaltung des Gesamtprojekts. Mitwirkung bei der Auswertung der Daten.

13. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe, insbesondere ohne entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- und Beratungsdiensten, verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe. Das gilt insbesondere auch für alle Informationen aus Internetquellen.

Soweit beim Verfassen der Dissertation KI-basierte Tools („Chatbots“) verwendet wurden, versichere ich ausdrücklich, den daraus generierten Anteil deutlich kenntlich gemacht zu haben. Die „Stellungnahme des Präsidiums der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) zum Einfluss generativer Modelle für die Text- und Bilderstellung auf die Wissenschaften und das Förderhandeln der DFG“ aus September 2023 wurde dabei beachtet.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

09.08.2026

Datum



Unterschrift

14. Danksagung

Herrn Prof. Dr. Girdauskas danke ich für die Ermöglichung der Durchführung dieser Dissertation an der Klinik für Herzchirurgie am UHZ sowie die Bereitstellung sämtlicher Ressourcen.

Mein besonderer Dank gilt Dr. Yalin Yildirim nicht nur für die Überlassung des Themas, sondern auch für die wertvollen Anregungen, die Expertise und die Freude an der Forschung, die er auf mich übertragen konnte.

Ebenso danke ich Prof. Dr. Simon Pecha für die durchgehende Unterstützung, gewissenhafte Hilfe und konstruktive Kritik, die mich stets vorangetrieben haben.

Christiane Pahrman danke ich für die Unterstützung bei den Zell- und Bakterienkulturarbeiten im Labor. Die Erfahrung und der Frohsinn, die an den Tag gelegt wurden, sind in dieser Kombination einzigartig und so nicht wiederzufinden.

Außerdem danke ich Lukas Reuter für die Zusammenarbeit, das Mitwirken und die praktische Unterstützung.

Mein größter Dank gilt meinen Eltern, meinen Schwestern und meiner Frau, die mit ihrer bedingungslosen Liebe und Unterstützung meinen Weg nicht nur geebnet, sondern auch erleichtert haben.