

Aus der Klinik für interdisziplinäre Endoskopie
des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf
Direktor Prof. Dr. med. Nib Soehendra

**In-vitro-Untersuchung
von Polyurethan- und hydrophobierten Sol-Gel-
Beschichtungen
für Gallengangendoprothesen
im Vergleich zu herkömmlichen Beschichtungsmaterialien**

D i s s e r t a t i o n

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Murat Dogan

aus Kozakli

Hamburg

2008

Angenommen vom Fachbereich Medizin
der Universität Hamburg am: 11.07.2008

Veröffentlicht mit Genehmigung des Fachbereichs
Medizin der Universität Hamburg

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. N. Soehendra

Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: PD. Dr. U. Seitz

Prüfungsausschuss, 3. Gutachter/in: Prof. Dr. A de Weerth

Für meine Frau

und für

Meine Kinder Mustafa und Ömer Faruk

1 Arbeitshypothese und Fragestellungen	1
2 Einleitung	2
2. 1 Allgemeines	2
2. 2 Probleme von Gallengangprothesen.....	4
3 Material und Methoden	8
3. 1 Nano-Beschichtung:.....	8
3. 2 Polyurethan.....	10
3.3 Bau der Schwenkvorrichtung:	11
3. 4 Stentvorbereitung.....	12
3. 5 Beschichtungsverfahren des Teflon-Schlauches:	12
3. 6 Galle-Pool	15
3. 7 Bakterien.....	17
3. 8 Rasterelektronenmikroskop (REM)	19
4 ERGEBNISSE	22
4. 1 Nachweis von Antibiotikarückständen.....	22
4. 2 Ergebnisse der REM – Untersuchung.....	22
4. 3 Ergebnisse der einzelnen Beschichtungen	22
4. 4 Ergebnisse der Untersuchungsgruppen im Vergleich	28
4. 5 Vergleich humane Galle vs Schweinegalle (lat.: <i>Sus scrofa domestica</i>)....	30
5 Diskussion	31
5. 1 Allgemeines	31
5. 2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen.....	32
5. 3 Hydrophobie als Verschmutzungsschutz?	33
6 Zusammenfassung.....	34
7 Abbildungsverzeichnis	35
8 Tabellenverzeichnis	36
9 Anhang	37
Anhang A: Makroskopische Abbildungen der Platten	38
Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie	39
Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie	40
Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie	41
Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie	42
Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie	43

10 Literaturverzeichnis	44
11 Lebenslauf	49
12 Danksagung.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
13 Eidesstattliche Erklärung	Fehler! Textmarke nicht definiert.

1 Arbeitshypothese und Fragestellungen

Die Patienten, die an einer malignen Entartung des Pankreaskopfes oder des Gallenganges erkranken, werden in der Regel erst in fortgeschrittener Tumorerkrankung klinisch symptomatisch. Nur eine geringe Anzahl der Patienten können durch eine Operation kurativ behandelt werden. Im Verlaufe der Erkrankung entwickeln Patienten einen Verschlussikterus und ausgeprägten Pruritis, der die Lebensqualität der Patienten deutlich einschränkt. Die Therapie der Wahl ist die endoskopische Implantation einer biliären Endoprothese. Die Einlage des Stents gewährleistet den Abfluss des Gallensekretes und die Patienten werden beschwerdefrei. Leider kommt es innerhalb von 3 bis 6 Monaten häufig zu einer vollständigen Verstopfung des Stents mit Sludge, einer Masse aus Biliubirinat, Proteinen, Bakterien und Nahrungsresten. Eine zu kurze Drainagedauer der Kunststoffstents erfordert häufig erneute Endoskopien. Die Reinterventionen schränken die Lebensqualität der Patienten deutlich ein. Es besteht der Bedarf nach einer kostengünstigen Kunststoffprothese mit reduzierter Verstopfungsneigung.

Mit der nanotechnologischen Sol-Gel-Methode lassen sich kostengünstige Beschichtungen realisieren. Durch gezielte Auswahl geeigneter Ausgangssubstanzen werden physikalische und chemische Eigenschaften der Oberfläche bestimmt. Voruntersuchungen zeigten einerseits die Überlegenheit einiger Sol-Gel-Beschichtungen und andererseits einen Vorteil für glatte Polyurethanoberflächen. Für die aktuelle Arbeit wurden Beschichtungen kombiniert. Außerdem wurde die Methodik durch den Einsatz von Schweinegalle vereinfacht. Somit ergaben sich für uns folgende Fragestellungen:

- 1.) Haftet der Sludge auf die glatte Polyurethanoberfläche schlechter an?
- 2.) Führt ein bestimmtes Verhältnis hydrophiler und hydrophober Eigenschaften zu einer geringeren Adhäsion von Sludge?
- 3.) Werden die Vorteile beider Methoden durch Kombination vereinigt?
- 4.) Gibt es Unterschiede in der Sludgeablagerung zwischen humaner und der Schweinegalle?

2 Einleitung

2. 1 Allgemeines

Tumoren der Bauchspeicheldrüse machen 2-3% aller bösartigen Neubildungen beim Erwachsenen aus. In Deutschland wird die Zahl der jährlichen Neuerkrankungen bei Männern auf etwa 6.000, bei Frauen auf 6.600 geschätzt. [GEKD]

In den letzten Jahren haben Krebserkrankungen der Bauchspeicheldrüse stetig zugenommen.

Das Erkrankungsrisiko nimmt mit dem fünfzigsten Lebensjahr deutlich zu. [LANDIS]

Das Pankreaskarzinom hat eine extrem schlechte 5-Jahres-Überlebensrate. Die meisten Patienten haben zum Zeitpunkt der Diagnose bereits einen fortgeschrittenen Tumor und Fernmetastasen. Deshalb lässt sich die chirurgische Resektion in kurativer Absicht nur bei 15 bis 20% der Patienten durchführen. [WINTER, SCHMIDT, RIDWELSKI, JOHNSTONE]

Der Grund dafür ist, dass die Tumoren wie zum Beispiel Pankreaskopfkarzinome oder Gallengangskarzinome keine spezifischen Frühsymptome bieten. Der Ikterus, welcher aufgrund der Behinderung des Gallenabflusses durch den Tumor entsteht, ist meist das erste Symptom. Zu diesem Zeitpunkt hat der Tumor oft ein inoperables Stadium erreicht. In solchen Fällen beträgt die 5 Jahresüberlebensrate weniger als 2%. [PARKER, COLON, CRESS]

Daher kommt für die meisten Patienten nur ein palliatives Therapiekonzept in Frage.

[BISMUTH, SPEER 1987, BOUGHT, RIEBER]

Die 1979 von Prof. Soehendra in der Universitätsklinik Hamburg Eppendorf eingeführte endoskopische Drainage des Gallengangs ist die palliative Therapie der Wahl.

Sie ist bei gleicher Effektivität kostengünstiger als eine palliative perkutane Drainage oder eine biliodigestive Anastomose und mit einer geringeren Morbiditätsrate behaftet. Außerdem haben die Patienten eine höhere Lebensqualität. [ABRAHAM, ARNOLD, ETTINGHAUSEN, SPEER 1987, RAIKAR, BALLINGER, SIEGEL]

Oft wird die Diagnose eines Tumors der ableitenden Gallenwege in der endoskopischen retrograden Cholangio-Pankreatikographie (ERCP) gestellt, sodass in gleicher Sitzung, ungeachtet der Resektabilität, eine Drainage eingebracht werden kann, um die gestauten Gallensystem zu entlasten.

Auch benigne Erkrankungen können einen Verschlussikterus verursachen.

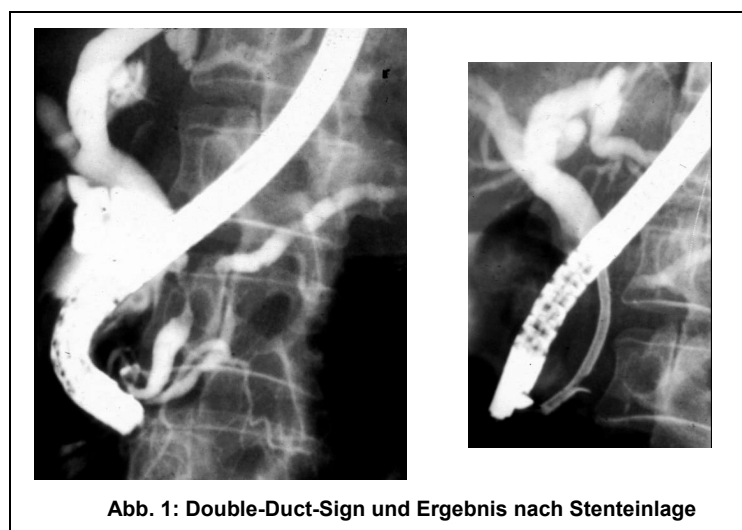
Gallengangstrikturen nach Cholezystektomie mit Verletzung oder Koagulation in zu großer Nähe des Gallengangs, Strikturen nach Leberteilektomien, Anastomosenstrikturen nach

Lebertransplantation oder Kompressionen des distalen Gallengangs im Rahmen einer chronischen Pankreatitis können ebenfalls endoskopisch mit Stents behandelt werden. Bei einer Inzidenz von 10/10.000/Jahr für Pankreaskarzinome und 2/10.000/Jahr für Gallengangkarzinome unter Berücksichtigung der Rate resektabler Patienten mit einem jährlichen Bedarf von nahezu 10.000 endoskopischen Gallengangstents in Deutschland zu rechnen.

Die Ziele der Therapie sind die Verbesserung der Lebensqualität, Schmerzlinderung durch potente Schmerztherapie und die Beseitigung der Cholestase durch endoskopische Intervention. Ein Verschlussikterus führt im Verlauf der Erkrankung, zu ausgeprägtem Pruritus, der die Lebensqualität der Patienten deutlich einschränkt. Außerdem besteht eine hochgradige Gefahr der Cholangitis und Cholangiosepsis. Durch die Einlage eines endoskopischen Gallengangstents, der mittels endoskopisch retrograder Cholangio- und Pankreatikographie (ERCP) bei über 95% der Patienten erfolgreich durchgeführt werden kann, kann der Abfluss der Galle wieder hergestellt werden. Die Cholestaseparameter normalisieren sich in der Regel innerhalb weniger Tage, Haut- und Sklerenikterus sowie Pruritus bilden sich zurück und die Lebensqualität der Patienten bessert sich.

Zur Zeit werden zwei Arten von Stents in der Endoskopie bei der Behandlung des malignen Verschlussikteruses verwendet, 1. der Plastik- (Polyethylen, Teflon) und 2. der selbst-expandierbare Metallstent (SEMS).

Abbildung 1 zeigt das typische "Double-Duct-Sign" bei gestautem Pankreas- und Gallengang bei inoperablem Pankreaskopftumor sowie das Ergebnis nach endoskopisch-transpapillärer Einführung einer Gallengangendoprothese.



Die zur Zeit in der Klinik für interdisziplinäre Endoskopie im UKE überwiegend verwendeten Prothesen zur transpapillären Galleableitung sind sogenannte "Tannenbaum"-Stents aus Teflon (s. Abb. 2). Das bevorzugte Kaliber für eine dauerhaft gute Prothesenfunktion beträgt dabei erfahrungsgemäß 10 French (1 French = 1/3 mm).

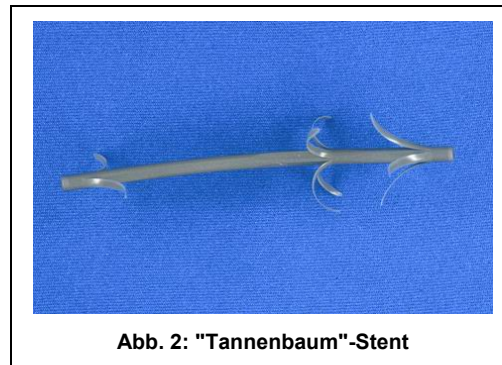


Abb. 2: "Tannenbaum"-Stent

2. 2 Probleme von Gallengangprothesen

Nach ca. drei bis sechs Monaten Liegezeit verstopfen Gallengangstents häufig. [SPEER1998, SUNG JJ, DAVIDS, KNYRIM]

Die Patienten leiden erneut unter Ikterus und Cholangitis. Der erforderliche Stentwechsel führt zur weiteren Belastung des Patienten und Einschränkung seiner Lebensqualität und verursacht weitere Kosten.

Abbildung 3 zeigt einen verstopften Plastikstent, der entfernt werden musste.



Abb. 3: Verstopfte Gallengangendoprothese

Der Mechanismus der Stentverstopfung ist multifaktoriell. Der Beitrag von Bakterien an der Verstopfung von Stents ist gesichert. Werden Stents mit steriler Galle gespült, wird keine Sludgebildung beobachtet. Bespült man dagegen mit infizierter Galle, so zeigt sich schnell eine Sludgebildung. [LEUNG 1988]

Wahrscheinlich finden schon kurz nach Platzierung des Kunststoffstents auf der Oberfläche die ersten Schritte statt, die schließlich innerhalb einiger Monate zu einer vollständigen Verstopfung des Stents mit Sludge, einer Masse aus Bilirubin, Proteinen, Bakterien und Nahrungsresten, führen.

Das initiale Ereignis, ist die Anhaftung von Bakterien auf die innere Oberfläche der Plastikstents. Haben sich die Bakterien einmal an die Oberfläche verankert, können sie sich innerhalb der Glykokalyxmatrix zu Mikrokolonien vermehren und anschließend ein Biofilm bilden. [LEUNG 1988, DAWIDOR 1991, DAWIDOR 1992, GROEN, COENE]

Die genauen Mechanismen der bakteriellen Anhaftung auf die Stentoberfläche sind noch nicht komplett aufgeklärt. Proteine wie Fibronektin, Kollagen, Fibrin und Immunglobuline auf der Oberfläche des Stentmaterials fördern die Anhaftung von Bakterien. [YU J]

Eine prophylaktische Gabe von Antibiotika führte in mehreren Studien zu keiner Verbesserung der Drainageleistung. [GALANDI, DE LEDINGHEN, GOSH, LUMAN, SMIT, TARNASKY]

Eine mögliche Ursache könnte dafür der Biofilm sein, welcher eine physikalische Barriere für das Eindringen des Antibiotikums darstellt. Im Biofilm können sich die Bakterien ungestört weiter vermehren.

Es gibt Unterschiede zwischen den Bakterien bei der Anhaftung auf die Stentoberfläche. Die Bakterien, die so genannte Pili oder Glykokalyx (ein Exopolysaccharid) auf ihrer Oberfläche besitzen, wie z.B. die E.coli, können leichter an die Oberfläche anhaften als die Bakterien, die keine Oberflächenmoleküle besitzen. [LEUNG 1998]

Außerdem wurde beobachtet, dass humane Galle die Bakterien zur Produktion des bakteriellen Enzyms β -Glukuronidase stimuliert. Dieses Enzym dekonjugiert Bilirubin und fällt es als Salze aus. [LEUNG 2001]

Nur wenige der Strategien gegen die Stentverstopfung führten zu einer klinisch spürbaren Verbesserung der Drainagedauer.

Durch neue Endoskope mit größeren Arbeitskanälen wurde es möglich, Stents mit größeren Durchmessern zu legen. Die Vergrößerung der Prothesendurchmesser bis zu 10 French führte zur Verlängerung der Liegedauer. [SPEER 1988]

Durch noch größere Durchmesser konnte jedoch keine weitere Verbesserung der Drainagedauer erreicht werden. [MATSUDA]

Im klinischen Alltag der endoskopischen Abteilung im UKE haben sich heute Teflon-Prothesen durchgesetzt.

Im Jahre 1990 entwickelten Soehendra et al im UKE aus Teflon die Tannenbaum-Prothese. Im Gegensatz zu den Pigtailprothesen, die bis zu diesem Zeitpunkt im UKE verwendet wurden, hat sie eine gerade Form und keine Seitenlöcher. Zur Verankerung werden zwei bis drei Reihen mit je vier Öhrchen in die Prothesenwand geschnitten, ohne sie zu perforieren (s. Abb. 2). Durch den Verzicht auf die Seitenlöcher konnten eine geringere Verstopfungs- und Reinterventionsraten erreicht werden. [SEITZ 1996]

Die Ergebnisse wurden von Tringali et al. bestätigt. England et al. und Schilling et al. berichteten von einem Trend zugunsten des Verzichts auf Seitenlöcher, Signifikanz wurde jedoch nicht erreicht.

Tabelle 1: Vergleich der Stents mit und ohne Seitenlöcher

	N Patienten Stents ohne/ mit Seitenloch	Tage mediane Drainagedauer ohne/mit Seitenloch	
Seitz 1994	55 / 74	448 / 175 *	sign. p=0,02
England 2000	53 / 59	181 / 124	Trend n.s.
Sung 1997	35 / 35	55 / 54	kein Trend
Meyerson 1998	54 / 52	104 / 100	kein Trend
Tringali 2003	60 / 60	189 / 112 *	sign. p=0,0005
Schilling 2003	39 / 41	108 / 58	Trend n.s.

Andere Studien bestätigen diesen Effekt nicht. [SUNG 1997, MEYERSON 1998]

Mehrere Studien weisen deutlich längere Drainagedauer der Metallstents gegenüber den Plastikstents nach. [KASSIS, KASTINELOS, SCHMASSMANN, DAVIDS, KNYRIM]

Dennoch werden die Metallstents im klinischen Alltag wegen zehnfach hohen Kosten nicht routinemäßig eingesetzt. Eine Verlängerung der Überlebensrate der Patienten konnte ebenfalls nicht erreicht werden. Weitere Nachteile sind die erschwerte Repositionierung und die Entfernung von Metallstent bei Dislokationen.

Abbildung 4 zeigt ein Metallstent

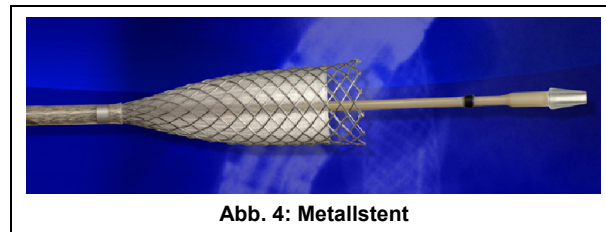


Tabelle 2: Expandierbare Metallstents

	n	Stent	Techn. Probl.	Median Durchg.	Okkl. Rate	At Risk
Bethge,1992	116	div.	16%	—	—	100%
Davids,1992	49	Wallstent	6%	273d	33%	39%
Knyrim,1993	27	Wallstent	—	—	42%	4%
Carr-Locke 1992	27	Wallstent	7%	—	—	—
Hoepffner,1994	51	Wallstent	4%	—	20%	36%
Schmassm,1996	95	Wallstent	10%	300d	17%	4%

Es besteht weiterhin Bedarf nach einer kostengünstigen Kunststoffprothese mit reduzierter Verstopfungsneigung.

Die Oberflächeneigenschaften des Stentmaterials spielen bei der Stentverstopfung eine wichtige Rolle. Durch gezielte Auswahl geeigneter Ausgangssubstanzen können physikalische und chemische Eigenschaften der Oberfläche bestimmt werden.

Mit der nanotechnologischen Sol-Gel-Methode lassen sich kostengünstige Beschichtungen realisieren. Voruntersuchungen zeigten einerseits die Überlegenheit einiger Sol-Gel-Beschichtungen und andererseits einen Vorteil für glatte Polyurethanoberflächen. Um die

Oberfläche zu optimieren werden im aktuellen Versuch beide Beschichtungsformen kombiniert.

3 Material und Methoden

3. 1 Nano-Beschichtung:

Nano kommt von altgr. Nannos (der Zwerg) und bezeichnet bei Maßeinheiten den milliardensten Teil der Einheit.

Bei den Materialien dieser Größenordnung handelt sich um Atome, Moleküle und Cluster, die zum Teil einzeln mit unterschiedlichen Methoden neuartig benutzt werden.

Nanotechnologie gilt als eine der wichtigsten Zukunftstechnologien überhaupt und wird heute in zahlreichen Gebieten wie der Energietechnik, Umwelttechnik, Informationstechnik oder Medizin angewandt.

Nanobeschichtung bezeichnet das Aufbringen von Nanostrukturen auf Oberflächen. Diese Oberflächen werden dadurch beispielsweise superhydrophob (Flüssigkeiten die auf die Oberfläche gelangen, bilden Perlen und laufen ab) oder superhydrophil (Flüssigkeiten die auf die Oberfläche gelangen, bilden einen Flüssigkeitsfilm und laufen ggf. ab).

Beschichtbar sind Metalle, Glas, Kunststoffe und Mineralien.

Die anorganisch-organischen Beschichtungsmaterialien auf Sol-Gel-Basis sind eine neue Entwicklungsrichtung auf dem Gebiet der Nanotechnologie.

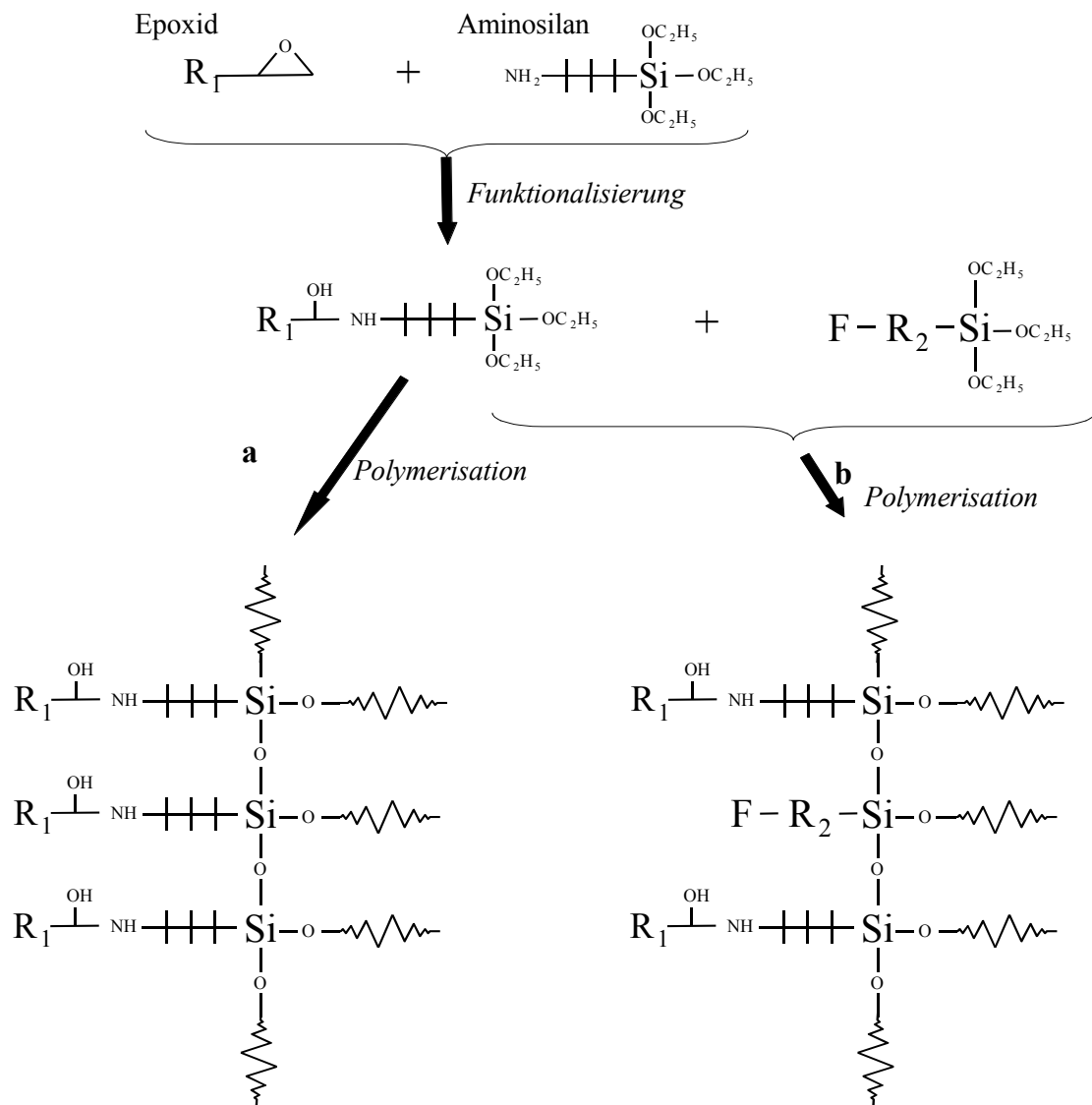
Im Folgenden wird die grundlegende Technik der Synthese von Sol-Gel-Beschichtungsmaterialien erläutert [WIENHOLD1 / WIENHOLD2]

Der Sol-Gel-Prozess ist ein Verfahren zur Synthese von Gelen auf Basis eines Sols. Die Produkte des Prozesses sind sehr feine Pulver, monolithische Keramiken und Gläser, anorganische Membranen, dünne Beschichtungen und Aerogele. Jedes dieser Produkte kann je nach Details im Verfahrenablauf ein breites Spektrum unterschiedlicher und meist besonderer Eigenschaften aufweisen.

Das Sol wird hergestellt, indem Festpartikel eines geringeren Durchmessers von wenigen hundert Nanometern in einer Flüssigkeit gelöst werden. Bei typischen Sol-Gel-Prozessen kommt es zu einer Vielzahl von Hydrolyse- und Polymerisationsreaktionen, die die Herausbildung einer kolloidalen Lösung zur Folge haben. Die Partikel kondensieren daraufhin zu einem Gel.

Die bei diesem Versuch angewandte Sol-Gel-Beschichtung geschieht in 2 Schritten (Abbildung 5). Zuerst reagiert ein organisches Epoxid mit einem organischen Silian (Funktionalisierung), dann erfolgt die katalytisch angeregte Polymerisation.

Abb. 5: Reaktionsschema der Sol-Gel-Synthese



Durch gezielte Auswahl des organischen Epoxid-Liganden und der anorganischen Silan-Liganden können Nano-Beschichtungen mit unterschiedlich physikalischen Eigenschaften hergestellt werden.

Ein hochmolekularer die Elastizität steigernder organischer Rest von 500g/mol (Epilox 50-02, Leuna Harze GmbH, Leuna, Deutschland;) und ein niedermolekularer Kratzresistenz steigernder organischer Rest von 190 g/mol (Epilox 19-00, Leuna Harze GmbH, Leuna, Deutschland) wurden als Epoxidliganden ausgewählt. Der hochmolekulare Ligand erzeugt stärker hydrophobe Eigenschaften der Beschichtung als der niedrigmolekulare.

In allen Fällen wurde Aminopropyltriethoxysilan (Dynasilan AMEO, Degussa AG, Düsseldorf, Deutschland) als anorganische Komponente ausgewählt. Durch Zusatz stärker hydrophober Fluorsilane vor der Polymerisation konnte eine Variation der anorganischen Komponente geschaffen werden.

Alle ausgewählten Komponenten sind Flüssigkeiten, die unproblematisch zu handhaben sind. Zur Erzeugung der unterschiedlichen Beschichtungen werden die Flüssigkeiten bei Raumtemperatur gemischt und verrührt.

3. 2 Polyurethan

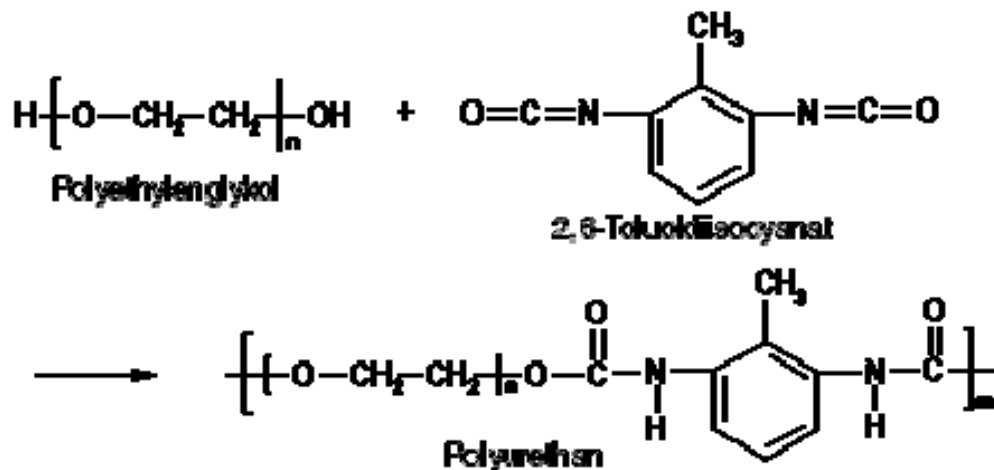
Polyurethan (DIN-Kurzzeichen: PUR) sind Kunststoffe oder Kunstharze, welche aus der Polyadditionsreaktion von Diolen beziehungsweise Polyolen mit Polyisocyanaten entstehen. Charakteristisch für Polyurethane ist die Urethan-Gruppe.



Polyurethane können je nach Wahl des Isocyanats und des Polyols unterschiedliche Eigenschaften aufweisen, zum Beispiel hart und spröde, aber auch weich und elastisch. Im wesentlichen werden die späteren Eigenschaften durch die Polyolkomponente bestimmt, dies weil üblicherweise zum Erreichen gewünschter Eigenschaften nicht die Isocyanatkomponente angepasst (also chemisch verändert wird) sondern die Polyolkomponente.

Aus PUR werden Matratzen, Schuhsohlen, Dichtungen, Lacke, Klebstoffe, Dichtstoffe und vieles mehr hergestellt. Eine der wichtigsten Anwendungen von Polyurethanen ist der Einsatz in Lacken. Hier wird PUR wegen seiner guten Haftungseigenschaften, insbesondere als Grundierung, und wegen seiner hohen Beständigkeit gegen Lösemittel, Chemikalien und Witterungseinflüsse, insbesondere als Deck- und Klarlack, in vielen Anwendungsbereichen verwendet.

Abb. 6: Synthesereaktion Polyurethan



3.3 Bau der Schwenkvorrichtung:

Anforderungen:

Benötigt wurde eine Apparatur, auf der mehrere 12-Well-Plates 10 mal/min in einem definierten Winkel hin- und hergeschwenkt werden können.

Der Neigungswinkel der Plattform musste so gewählt werden, dass die Gallenflüssigkeit während des Betriebes nicht über den Rand der Plates schwappt.

Auch die Regulierbarkeit und die Konstanz der Geschwindigkeit des Schwenkens waren Grundvoraussetzungen bei der Konstruktion.

Konstruktion und Bau:

Die Konstruktion und der Bau der Apparatur fanden in Zusammenarbeit mit der Firma Grosse Medizintechnik GmbH & Co KG in Dahldorf statt.

Der Apparat erfüllte alle Anforderungen: in vier Stufen konnte der Neigungswinkel eingestellt werden; die Geschwindigkeit wurde über ein 12V Netzteil stufenlos geregelt, was bei einer Stromzufuhr von 3,75 V 10 Schwenkbewegungen pro Minute entsprach.

Die Konstruktion bestand aus klimaresistentem Aluminium mit einem Kunststoff-umhüllten Motor, der über eine kugelgelagerte Achse mit dem Plateau verbunden war.

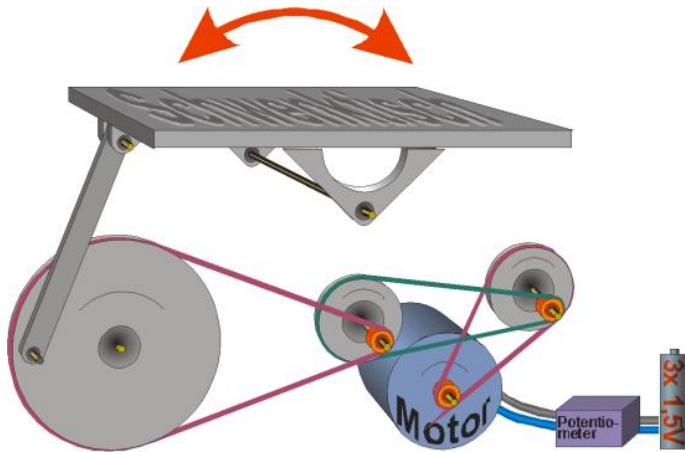


Abb. 7: Schematische Darstellung der Schwenkvorrichtung

3. 4 Stentvorbereitung

Der Beschichtung erfolgte in der Firma von Herrn Hans-Christian Grosse - Medizintechnik/Arzt- und Krankenhausbedarf in Zusammenarbeit mit Dr. Wienhold.

Aus einem Teflonschlauch mit 10 French Durchmesser wurden zuerst ca. 2 cm lange Stücke geschnitten und anschließend in Längsrichtung halbiert. Die Länge richtete sich nach dem Kammerdurchmesser der später verwendeten 12-Well-Plates.

An einem Ende der Teflon-Stents wurde mit einem Lochstanzer ein Loch gestanzt, um dort später einen Befestigungsdraht anzubringen. An diesem Draht konnte die Probe während der Versuchsdurchführung in die entsprechende Flüssigkeit eingetaucht und an einem Drahtgitter zum Abtropfen und Trocknen aufgehängt werden.

3. 5 Beschichtungsverfahren des Teflon-Schlauches:

Das Beschichtungskonzept wurde von Dr. Wienhold entwickelt. Für die aktuelle Arbeit wurden 9 unterschiedliche Beschichtungsformen ausgewählt. Die Auswahl der verwendeten Beschichtungen erfolgte nach Auswertung der Voruntersuchungen von Dr. Seitz. Sie zeigten einerseits die Überlegenheit einiger Sol-Gel-Beschichtungen und andererseits einen Vorteil für glatte Polyurethanoberflächen. In dieser Studie werden die beiden Beschichtungsformen kombiniert, um eine optimale Beschichtung zu erreichen.

Im folgenden werden die getesteten Materialien beschrieben.

- Beschichtung 1: Pur a**
- Beschichtung 2: Pur b**
- Beschichtung 3: Pur c**
- Beschichtung 4: Pur c dünn**
- Beschichtung 5: Pur c dick**
- Beschichtung 6: Pur c + EP50 AE 3**
- Beschichtung 7: Pur c + EP19 AE 3**
- Beschichtung 8: Pur + 202 a**
- Beschichtung 9: Pur + 202 b**
- Beschichtung 10: Teflon**

Erläuterungen zu den einzelnen Beschichtungen

- EP19:** ist ein niedermolekulares Epoxidharz (190 Mol)
mit überwiegend hydrophoben organischen Anteilen
- EP50:** ist ein hochmolekulares Epoxidharz (500 Mol)
mit noch stärker organischen Anteilen
- AE:** ist eine Kopplungssubstanz (Aminoetoxysilan)
- Pur:** Polyurethan
- 202:** Bezeichnung für das silikatische hydrophobe Nanopartikel
a: hohe Schichtdicke
b: niedrigere Schichtdicke

Abkürzungen:

gr: Gramm

MPA= Methoxypropylacetat

BUAC= Butylacetat

WIEN 2004= Polyol-Komponente des Polyurethans

Unterschiedliche Schichtdicken von Polyurethan

	Polyurethan a	Polyurethan b	Polyurethan c
75MPA	5gr.	2,5gr.	2,5gr.
BUAC	15gr.	15gr.	30gr.
Wien 2004	12,5gr.	6,25gr.	6,25gr.

Unterschiedliche Schichtdicken von Nanopartikeln

	Nanopartikel 202a	Nanopartikel 202b
75 MPA	5gr.	2,5gr.
BUAC	5gr.	2,5gr.
Paste	6gr.	30gr.
BUAC	20gr.	20gr.
WIEN 2004	12,5gr.	6,25gr.

Beschichtungsmaterial	Durchführung der Beschichtung
Polyurethan	<ol style="list-style-type: none"> 1. 5 min. Tauchen 2. 5 min. Abtropfen 3. 5 min. Tauchen 4. 5 min. Abtropfen 5. 60 min. bei 130°C
Nanopartikel-Beschichtung (Pur 202a & Pur 200b)	<ol style="list-style-type: none"> 1. 5 min. Tauchen 2. 5 min. Abtropfen 3. 5 min. Tauchen 4. 5 min. Abtropfen 5. 30 min bei 150°C
EP19 und EP 50	<ol style="list-style-type: none"> 1. 5 min. Tauchen 2. 5 min. Abtropfen 3. 5 min. Tauchen 4. 5 min. Abtropfen 5. 60 min bei 150°C

In den Kombinationbeschichtungen Polyurethan plus Epoxid-Sol-Gel und Polyurethan plus Nanopartikel diente Polyurethan als Grundierung.

Mit jedem Material wurden jeweils 16 Teflonstents beschichtet. Die beschichteten Stents wurden einzeln in Plastikhüllen luftdicht eingepackt und bis zur Versuchsdurchführung aufbewahrt.

Abb. 8: Bilder von fertig gestellten Stents



3. 6 Galle-Pool

Sammlung der Galle

Innerhalb von ca.16 Wochen wurden etwa 3 Liter humane Galle gesammelt.

Es wurden in Zusammenarbeit mit den gastroenterologischen Abteilungen des AK Barmbek und AK Altona Patienten ausgewählt, die aufgrund meistens bösartiger hepatobiliärer Erkrankungen mit einer Perkutanen Transhepatischen Drainage versorgt worden waren.

So konnte die Galle ohne zusätzlichen Eingriff einfach gewonnen werden.

Tabelle 3 zeigt alle Patienten mit ihren Diagnosen chronologisch nach dem Entnahmedatum aufgelistet.

Tabelle 3: Patienten und Diagnosen

Pat. Nr.	Datum	Diagnose	Alter	Geschlecht	Krankenhaus	Gewinnung per	Menge in ml
1.	12.07.2005	Maligner Gallengangverschluß	69	männl.	AKB	PTD	100
	13.07.2005					PTD	100
	12.08.2005						75
2.	25.07.2005	Chron. Calcifizierende Pankreatitis	63	männl.	UKE	ERCP	27
3.	11.08.2005	Lebermetastasen bei Colon-Ca	79	männl.	AKA	PTD	
4.	11.08.2005	Klatskin-Tumor	83	weibl.	AKB	PTD	170
	13.08.2005						190
	15.08.2005						615
	17.08.2005						110
5.	13.08.2005	Cholestase bei Z.n. Whipple OP	69	männl.	AKB	PTD	670
	15.08.2005						847
	16.08.2005						821
	17.08.2005						400
	18.08.2005						200
6.	15.08.2005	V.a. PSC	18	männl.	UKE	ERCP	15
7.	15.08.2005	Pankreas-Ca	37	weibl.	UKE	ERCP	2
8.	26.08.2005	Verschluß des dist. Gallengang bei Ösophagus-CA	59	weibl.	UKE	ERCP	27
9.	26.08.2005	Pankreas-Ca	63	männl.	AKB	PTD	331
10.	08.09.2005	Pankreas-Ca	71	weibl.	AKB	PTD	185
	09.08.2005						100
11.	15.09.2005	Maligner Gallengangverschluß	66	weibl.	UKE	ERCP	50
12.	11.11.2005	Pankreas-Ca	69	männl.	AKB	PTD	1000
13.	29.11.2005	Klatskin-Tumor	78	weibl.	AKB	PTD	180
	30.11.2005					PTD	190
	02.12.2005					PTD	200
	03.12.2005					PTD	95
14.	03.12.2005	Maligner Gallengangverschluß	73	weibl.	AKB	PTD	175
15.	04.12.2005	Pankreas-Ca	68	männl.	AKB	PTD	170
16.	06.01.2006	Cholestase bei Z.n. Whipple OP	65	männl.	AKB	PTD	165

Die Patienten wurden über die Entnahme und den Verwendungszweck aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis.

Ein geringerer Anteil der humanen Galle konnte auch in der Endoskopie der Uni-Klinik Eppendorf bei ERCP gewonnen werden.

Es wurde immer anamnestisch sichergestellt, dass die Patienten in einem Zeitraum von einer Woche vor der Entnahme keine Antibiotikatherapie erhalten hatten.

Die von den Patienten entnommene Galle wurde nach Patient und Entnahmetag einzeln gekennzeichnet und bis zur weiteren Verarbeitung getrennt in Falcon Tubes umgefüllt und bei -19°C aufbewahrt, um einer Überwucherung mit Bakterien vorzubeugen.

Galle vom Schwein (lat.: *Sus scrofa domestica*)

Das Sammeln von geeigneter antibiotikafreier humaner Galle stellte sich als sehr zeitaufwendig dar. Zur Erleichterung der Methodik wurde in der aktuellen Versuchsreihe die Galle von Schweine eingeschlossen. Nachdem die Erlaubnis zur Sammlung und Verwendung der Schweinegalle durch das Veterinäramt Hamburg eingeholt wurde, konnte nach Schlachtung der Schweine 1.5 L Schweinegalle gewonnen werden. Für die Sammlung gleicher Mengen humaner Galle würde ein wesentlich längerer Sammlungszeitraum benötigt werden.

Präparation der Galle

Die gesammelte Galle sollte keine Antibiotika, keine festen Reste und keine Bakterien enthalten. Im ersten Schritt wurde mit jeder Gallenprobe zum Nachweis von Antibiotikarückständen einen Hemmstofftest durchgeführt.

Dazu wurden zuerst Agaroseplatten hergestellt, die mit antibiotika-sensitiven Bakterien (*Bazillus subtilis*) beimpft worden waren. Je ein Tropfen Gallenflüssigkeit wurde auf ein Filterpapierscheibchen aufgebracht, getrennt von einander auf die unterteilten Felder der Agaroseplatten aufgelegt und über Nacht bei 37 °C inkubiert. In eines der Felder wurde eine mit Antibiotika getränkte Papierscheibe gelegt, um eine Positivkontrolle zu erhalten.

Die Probe, um die sich ein sog. Hemmhof bildete, war mit Antibiotika versetzt.

Nun stellten wurden aus allen Proben die unterschiedlichen Gallepools hergestellt:

- Gallepool A = Galle vom Schwein
- Gallepool B = humane Galle, Gewinnung durch ERCP und PTD
- Gallepool C = humane Galle, Gewinnung durch PTD

Zum Befreien der Galle von größeren Zellen, Keimen und kristallinen Präzipitaten wurde die Galle zentrifugiert.

Zu diesem Zweck wurde die Galle in 50ml Falcon Tubes gefüllt und in einer Tischzentrifuge je sechs Tubes bei 8000 U/min 20 min zentrifugiert. Anschließend wurde sie zweimal durch einen Papierfilter gegossen und in einem Glaskolben gesammelt.

Für die Versuchsdurchführung erforderliche völlige Keimfreiheit der Galle wurde im letzten Schritt durch Bestrahlung erreicht. Die gefilterte Galle wurde in 500ml Komboflex Transfusionsbeutel zu je 400ml umgefüllt. Die Bestrahlung erfolgte im Institut für Transfusionsmedizin des UKE unter Anleitung von Frau Dr. Lubitz in einem Blutbestrahlungsgerät neun Minuten lang mit 30 Gray.

Die Keimfreiheit wurde durch stichprobenartige Ausstriche auf Agarose-Platten mit jeweils drei Tagen Inkubationsdauer bestätigt. Bis zur weiteren Verwendung wurde die Galle dann steril bei -21 °C aufbewahrt.

3. 7 Bakterien

Bei der Biofilmentstehung spielen die Bakterien eine wesentliche Rolle. Die Bakterien, die eine Pili auf ihrer Oberfläche besitzen und das Enzym β -Glucoronidase produzieren, können zu vermehrter Sludgeentstehung führen. Der Standard-Stamm von E. coli (DH5 α) weist diese beiden Eigenschaften auf und wurde deshalb in allen Versuchen verwendet.

Der Nachweis der bakteriellen β -Glucoronidase-Aktivität erfolgte im Mikrobiologischen Institut des UKE durch den ID 32 E -Test, ein Identifizierungssystem für Enterobakterien.

Eine definierte Keimmenge pro Milliliter wurde wie folgt hergestellt:

In einem ersten Schritt wurde nach Laboranleitung 100 ml Lennox L Agar erstellt:

1g NaCl, 1g Typton-Wasser und 0.5g Hefe-Extrakt wurden mit destilliertem Wasser zu 100ml aufgefüllt und 15 Minuten lang bei 121° C und 1.5 bar autoklaviert.

Eine stecknadelkopfgroße Menge tiefgefrorener Bakterien wurde dann mit Hilfe einer Pipettenspitze in das Medium hineingemischt. Dies wurde über Nacht bei

37 °C im Schüttler inkubiert. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde jeweils 1ml

Bakteriensuspension zusammen mit 250 μ l Glycerin zum Schutz der Keime in Eppendorf-Tubes eingefüllt und bei -80°C aufbewahrt.

Aus dieser Bakteriensuspension wurde eine Verdünnungsreihe in logarithmischen Schritten bis zur 8. Potenz erstellt. Aus der Verdünnungsreihe wurde durch Ausstreichen der Keime auf Agarose-Platten und durch manuelle Auszählung der Kolonien nach der Inkubationszeit die

Keimanzahl pro ml ermittelt. Es wurde eine mittlere Keimanzahl von 80×10^6 Keime pro ml festgestellt.

Versuchsdurchführung

Ein unbeschichteter Teflonstent und jeweils drei Proben von jeder Beschichtung wurden in den 3 verschiedenen Gallenlösungen über 42 Tage inkubiert. Vor dem Versuchsbeginn wurden alle Proben durch Nummerierung von 1-20 und die Gallelösungen durch Benennung mit dem Buchstaben A, B und C verblindet. Die Verblindung wurde erst nach der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung der Proben aufgelöst.

Die Stents wurden mit Hilfe einer Pinzette auf die zuvor nummerierten Felder der 12-Well-Plates in waagerechter Richtung platziert. Die Schwenkrichtung wurde quer eingestellt, so dass ein physiologischer Gallenfluss imitiert werden konnte.

Im nächsten Schritt wurde die in Kombiflex-Beuteln bei -20 °C aufbewahrte Galle im Wasserbad aufgetaut. Mit einer 5 ml-Einmalspritze wurde aus den Beuteln 3 ml Galle entnommen und in das jeweils gekennzeichnete Loch gegeben. So wurden die Felder der 12-Well-Plates mit den unterschiedlichen Gallen befüllt. Die Bakteriensuspension wurde schonend bei Zimmertemperatur aufgetaut. In den Voruntersuchungen wurde mit einer definierten Anzahl von 2×10^6 Keimen / ml gearbeitet. Um die Vergleichbarkeit der Versuche zu erreichen, wurde in jedes Loch mit einer Eppendorfpipette $75\mu\text{l}$ der Bakteriensuspension zugesetzt, um die definierte Anzahl von 2×10^6 Keimen / ml Galle zu erhalten.

Anschließend wurden die 12-Well-Plates mit Parafilm abgedichtet. Dadurch sollte für die E.coli ein geeignetes sauerstoffarmes Milieu geschaffen und eine zusätzliche Kontamination von außen vermindert werden.

Insgesamt wurden die Präparate 42 Tage lang bei 37 °C inkubiert.

Das Bakterienwachstum wurde mit täglichen Ausstrichen auf Agaroseplatten kontrolliert.

Um einen Mangel an Nährstoffen zu vermeiden, wurde bei den Ansätzen alle zwei Tage 1 ml Galle entnommen und durch 1 ml frische Galle aus dem Pool ersetzt. Alle vier Tage wurde der komplette Bakterienansatz analog des oben beschriebenen Inkubationsansatzes ausgetauscht. Der korrekte Versuchsablauf wurde zweimal täglich, jeweils morgens und abends kontrolliert.

3. 8 Rasterelektronenmikroskop (REM)

Stentvorbereitung

Nach 42 Tage wurde die Inkubation der Proben beendet und die Auswertung vorbereitet.

Die Proben wurden zunächst von flüssigen Gallebestandteilen befreit und anschließend mit Phosphatpufferlösung (PBS DOUBLECCO'S, Ca, Mg, Sodium, Bicarbonat) gespült.

15 neue 12-Well-Plates wurden analog zu den verwendeten beschriftet und mit 3%iger Glutaraldehyd-Lösung in 0,05% Phosphatpuffer gefüllt. Die Proben wurden vorsichtig mit einer Pinzette, ohne die Innenfläche zu fassen, in die neuen 12-Well-Plates transportiert und 5 Tage in Glutaraldehyd bei 7°C aufbewahrt.

Das Glutaraldehyd diente zur Fixierung der biologischen Beläge auf der Stentoberfläche.

Nach der Fixierung in Glutaraldehyd erfolgte die endgültige Vorbereitung der Proben für die REM-Untersuchung in Zusammenarbeit mit Klaus Sievert und dem Institut für Neuroanatomie des UKE.

Um die Methodik weiter zu vereinfachen, führten wir zwei verschiedene Trocknungsarten durch. Zuerst wurde das Glutaraldehyd mit einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und die Proben wurden anschließend mehrfach mit einem PBS-Puffer gespült.

Die Proben 61-180 sollten mittels einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert werden.

Es wurde aus Ethanol absolut 100% und Aqua bidest. eine aufsteigende Alkoholreihe von 35%, 50%, 70%, 96% und 100% in autoklavierten Glasflaschen nach Plan hergestellt.

Hinterher wurden die Proben für jeweils 15 min der aufsteigenden Alkoholreihe ausgesetzt. Dabei wurden die Wells wechselnd mit je 4 ml Alkohol-Lösung befüllt und mittels Wasserstrahlpumpe geleert.

Die Proben von 1-60 wurden nach Entfernung des PBS-Puffers vorsichtig in saubere Zellkulturplatten eingelegt und über Nacht bei Zimmertemperatur luftgetrocknet.

Anschließend wurden die Proben auf Stiftprobentellern mit Leitsilber befestigt und bis zum weiteren Verarbeiten in einem mittels Vakuumpumpe evakuierten Exsikkator mit Silicagel gelagert.

Besputtern

Bei der Rasterelektronenmikroskopie entsteht das Bild durch Beschuss mit Elektronen in einem definierten Areal (Raster). Die Oberfläche muss leitfähig sein, denn durch isolierende Materialien kommt es durch den Beschuss von Elektronen zu Aufladungen und somit zu Bildstörungen. Dies wird durch Besputtern mit Gold vermieden.

Die Besputterung erfolgte in Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Riazi in der TU-Harburg mittels Edwards Sputter Coater.

Bis zur rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung wurden die Proben weiterhin in einem mittels Vakuumpumpe evakuiertem Exsikkator mit Silicagel aufbewahrt.

REM-Funktion

Durch das Erhitzen eines Wolframzylinders (Kathode) wird ein Primärelektronenstrahl erzeugt, der durch einen Steuerzylinder (Wehnelt Zylinder) fokussiert und durch eine Anode beschleunigt wird. Anschließend passiert der Primärelektronenstrahl elektromagnetische Spulen, erfährt dadurch eine feine Bündelung und trifft fokussiert auf das Objekt auf.

Mit Hilfe eines XY-Ablenksystems wird ein Zeilenraster erzeugt. Die Objektoberfläche wird zeilenförmig abgetastet, wodurch sogenannte Sekundärelektronen erzeugt werden. Diese werden von einem Detektor aufgefangen, hier entstehen in einem Szintillator Lichtblitze, die von einem Photomultiplier elektrisch rückverwandelt und verstärkt werden. Abschließend wird dieses elektrische Signal auf einem Monitor sichtbar gemacht.

Das zu betrachtende Objekt ist in der Probenkammer auf einem Probentisch befestigt und kann mechanisch in verschiedene Richtungen bewegt werden.

Kriterien der REM – Auswertung

Vor der Untersuchung der Proben im Rasterelektronenmikroskop wurden Kriterien festgelegt, die einer objektiven und vergleichbaren Beurteilung der Beschichtungen dienen sollten.

Demzufolge wurden die Proben mit dem Rasterelektronenmikroskop auf die folgenden Punkte hin untersucht: die Schäden in der Beschichtung, Trocknungsartefakte und Ablagerungen auf der Oberfläche. Die Form und die Schichthöhe, sowie Flächenanteile der Ablagerung wurden getrennt bewertet. Die Beurteilung erfolgte stets durch zwei Personen.

Dazu wurde jede Probe zuerst bei der kleinsten Vergrößerung mäanderförmig durchgemustert, um eine Übersicht zu gewinnen. Die genaueren Beurteilungen der Oberfläche erfolgten mit bis zu 5.000fach reichenden Vergrößerungen. Zur Dokumentation der Ergebnisse wurden von jeder Probe fünf Bilder mit unterschiedlichen Vergrößerungen gemacht.

Tabelle 4: Die Beurteilungskriterien

Ablagerung bez. a. OF	Punkte	Ablagerung bez. a. F.	Punkte	Ablagerung bez. a. SH	Punkte
wen. 10% GO	10	vereinzelt	10	einschichtig	10
wen. 20% GO	9	diffus	7.5	ger. mehrsch.	5
wen. 30% GO	8	netzförmig	5	ger. einsch.	2.5
wen. 40% GO	7	teilw. rasenf.	2.5		
wen. 50% GO	6	rasenförmig	0		
wen. 60% GO	5				
wen. 70% GO	4				
wen. 80% GO	3				
wen. 90% GO	2				
mehr als 90% GO	0				
Beschichtung	Punkte	TRA	Punkte		
Keine Beschädigung	10	gering	10		
10% beschä.	9	mittel	5		
20% beschä.	8	stark	0		
30% beschä.	7				
40% beschä.	6				
50% beschä.	5				
60% beschä.	4				
70% beschä.	3				
80% beschä.	2				
90% beschä.	1				

Abkürzungen: OF: Oberfläche, SH: Schichthöhe, F: Form, TRA: Trocknungsartefakte, GO: Gesamtoberfläche, wen.: weniger, bez. a.: bezogen auf, beschä. : beschädigt, ger. mehrsch. : gering mehrschichtig, ger. einsch. : gering einschichtig, teilw. rasenf. : teilweise rasenförmig

Methode zum Vergleich Galle vom Schwein mit humaner Galle

Gleiche Oberflächen wurden sowohl mit humaner Galle als auch mit Galle von Schweine gespült. Nach Beendigung des Versuchs wurden die Proben mit der REM nach den oben genannten Kriterien beurteilt. Es wurde aus der Ablagerungshöhe und -fläche der Ablagerungsgrad der Prothesen in humaner Galle und Schweinegalle ermittelt. Mit diesen Ergebnissen wurde ein Zweistichproben t-Test zwischen der humanen Galle und der Schweinegalle durchgeführt. Die Nullhypothese lautete; es gibt zwischen der Galle von Schweine und humaner Galle in Bezug auf die Ablagerungsbildung ein Unterschied.

4 ERGEBNISSE

4. 1 Nachweis von Antibiotikarückständen

Außer den Positivkontrollen zeigte keine der Testflächen nach der Inkubationszeit einen Hemmhof.

In Abbildung 9 ist deutlich der Hemmhof einer Positivkontrolle zu erkennen.

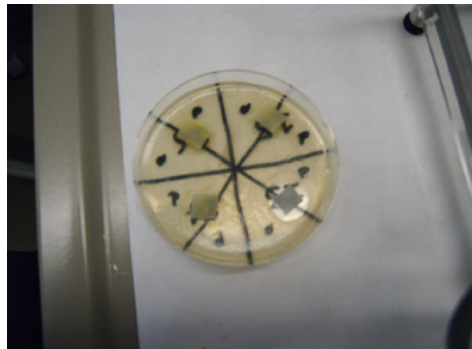


Abb. 9: Hemmhof einer Positivkontrolle

4. 2 Ergebnisse der REM – Untersuchung

Insgesamt wurden 86 Proben mit dem Rasterelektronenmikroskop untersucht. Auf den Oberflächen der Prothesen wurden Ablagerungen unterschiedlichen Ausmaßes gefunden. Überwiegend zeigten sich Ablagerungen in Form von stäbchen- und kugelförmigen Bakterien, kristalline Strukturen sowie größere Konglomerate aus amorphen Strukturen. Auf Proben, auf deren Oberfläche sich eine geringe Ablagerung befand, waren vereinzelte, diffus auf der Oberfläche verteilte, ca. 7-8µm Grosse kugel- und stäbchenförmige Bakterien und einzelne kristalline Strukturen zu erkennen. Dagegen wurden auf Proben mit offenbar dickeren Ablagerungen Bakterien in mehreren Schichten zu großen Konglomeraten angeordnet waren gesehen. Teilweise waren die Bakterien rasenförmig auf der Oberfläche verteilt und standen fadenförmig, teil auch netzartig miteinander in Verbindung. Die Fäden des Netzes entsprachen in Form und Größe den Glykocalix-Brücken zwischen den Bakterien.

4. 3 Ergebnisse der einzelnen Beschichtungen

Polyurethan c dünn beschichtet:

Es wurden 9 Prothesen mit Polyurethan c dünn beschichtet. Vier davon zeigten auf der Oberfläche eine geringere Ablagerung. Große Bereiche dieser Prothesen waren völlig frei von Ablagerung und die Folienschicht auf der Oberfläche war eindeutig zu erkennen. Amorphe

Strukturen, gelegentlich auch kristalline Formen wurden nur auf wenigen begrenzten Arealen beobachtet. Neben großen bakterienfreien Bereichen zeigten sich sonst nur locker verteilte, einzeln liegende Bakterien, die keine Konglomerate bildeten. (Abb. B.1, Abb. B.2)

Zwei der 9 Polyurethan c dünn beschichteten Prothesen präsentierten auf ihrer Oberfläche eine starke Ablagerung. Diese bestand überwiegend aus einer mehrschichtigen amorphen Masse. Sie verteilte sich fast über die gesamte Oberfläche und wurde durchsetzt mit stab- und kugelförmigen Bakterien. Die Bakterien standen wiederum über Fäden miteinander in Verbindung. Kristalline Strukturen waren ebenfalls zu sehen. Nur kleinere Bereiche der Oberfläche waren frei von der amorphen Masse. (Abb. B.4)

Eine mittelgradige Ablagerung wurde auf drei Proben festgestellt. Kugel- und stäbchenförmige Bakterien waren vereinzelt über die gesamte Oberfläche verstreut. Sie waren teilweise in kleinen Gruppen angeordnet. Insgesamt waren weniger als 30 % der Prothesenoberflächen mit Sludge bedeckt. (Abb. B.3)

Die Beschichtung von drei der 9 Prothesen zeigte keinerlei Risse. Dagegen zeigten 4 Prothesen kleinere Risse, kleine Blasenbildungen oder wellige Erhebungen in ca. 20% der Fläche. Auf zwei Prothesen fanden sich kleine Risse in ca. 50% der Oberfläche der Beschichtungsoberfläche.

Polyurethan c dick beschichtet:

Es wurden 9 Prothesen mit Polyurethan c dick beschichtet. Die Mehrzahl dieser Prothesen zeigte auf der Oberfläche eine mittelgradige Ablagerung. Während an einigen Stellen eine geringere Ablagerung von vereinzelt, 1-2µm großen Bakterien festgestellt wurde, konnte auf anderen Bereichen der Prothesen stellenweise eine rasenförmige, mehrschichtige amorphe Masse, die mit stab- und kugelförmigen Bakterien durchsetzt worden war, beobachtet werden. (Abb. B.7)

Bei einer der 9 Prothesen wurde ein mehrschichtiger Sludge, der sich bandförmig über die gesamte Prothese erstreckte, gesehen. Einzelne kristalline Strukturen waren ebenfalls in dem Sludge eingebettet. Die Oberfläche darunter war schwer zu identifizieren. (Abb. B.8)

Zwei der 9 Prothesen zeigten nur geringe Ablagerungen. Nur auf begrenzten Arealen der Oberfläche wurden vereinzelt Ablagerungen von kugel- und stäbchenförmigen Bakterien, die teilweise in kleinen Gruppen angeordnet waren, gesehen. Größere Bereiche der Oberfläche waren völlig frei von Ablagerungen. (Abb. B.6)

Die Beschichtung von zwei der 9 Prothesen zeigte keinerlei Risse. Dagegen zeigten 5 Prothesen kleinere Risse, kleine Blasenbildungen oder wellige Erhebungen in ca. 20 bis 30%

der Fläche. Auf zwei Prothesen fanden sich kleine Risse in ca. 50% der Oberfläche der Beschichtungsoberfläche.

Polyurethan c plus EP50A E3:

Hier wurde Polyurethan c mit einem dem hochmolekularen Epoxid-Sol-Gel kombiniert. Vier der 9 Proben zeigten eine geringe, zwei eine mittelgradige und drei eine ausgeprägtere Ablagerung. Die Form der Ablagerung unterschied sich nicht wesentlich von den anderen Prothesen.

Dementsprechend wurde auf Proben, die eine geringe Ablagerung aufwiesen, eine diffuse Verteilung von vereinzelt 1-2µm großen, stäbchen- und kugelförmigen Bakterien beobachtet. Zum größten Teil war die Oberfläche aber frei von Ablagerung und die Folienschicht konnte eindeutig gesehen werden. An wenigen Stellen wurden auf Bakterien, die in kleinen Gruppen angeordnet waren, angetroffen. Einzelne kristalline Strukturen waren ebenfalls zu erkennen. (Abb. B.9, B.10)

Eine starke Sludgebildung wurde dagegen auf drei Proben gesehen. Größere Bereiche der Oberfläche waren von einer rasenförmigen, mehrschichtigen amorphen Masse bedeckt. Diese bestand aus stab-, brocken- und fadenförmigen Strukturen, die ineinander schleimig verschmolzen waren. Kugelförmige Strukturen waren ebenfalls in dieser Masse eingebettet. Das ganze Bild ähnelte teilweise einer Traubendolde. (Abb. B.12)

Die Beschichtung von acht der 9 Prothesen zeigte keinerlei Risse. Lediglich bei einer Prothese wurden Risse in 30% der Fläche festgestellt. Insgesamt erwies sich die Beschichtung als sehr stabil.

Polyurethan c:

Es wurden 9 Prothesen mit Polyurethan c beschichtet. Fünf davon zeigten auf ihrer Oberfläche eine mittelgradige Ablagerung. Der Sludge bedeckte bei diesen Proben weniger als 40% der Gesamtoberfläche und war in mehreren Schichten aufgebaut. Die Folienschicht darunter konnte auf den ablagerungsfreien Stellen erkannt werden. Im Sludge waren Bakterien in mehreren Schichten zu großen Konglomeraten angeordnet. Auf der Restoberfläche waren einzelne Bakterien verstreut, die manchmal kurze Ketten bildeten. (Abb. B.15) Zwei Prothesen dieser Beschichtungsform boten auf ihrer Oberfläche eine massive Ablagerung in Form von einer amorphen Masse. Diese erstreckte sich flächendeckend über die gesamte Oberfläche. Es wurden bei diesen Prothesen gleichzeitig

größere Risse in der Beschichtung festgestellt. (Abb. B.16) Eine geringere Ablagerung fand sich auf zwei der neun Polyurethan beschichteten Prothesen. (Abb. B.13)

Die Beschichtung von drei der 9 Prothesen zeigte keinerlei Risse. Dagegen zeigten 3 Prothesen kleinere Risse, kleine Blasenbildungen oder wellige Erhebungen in ca. 20 bis 30% der Fläche. Auf einer Prothese fanden sich kleine Risse in ca. 60% der Oberfläche der Beschichtungsoberfläche. Eine der 9 Proben hatte große Risse in der Beschichtung.

Polyurethan a:

Es wurden 9 Prothesen mit Polyurethan a beschichtet. Bei fünf Proben wurden mehr als 50% der gesamten Oberfläche von Sludge bedeckt. Auf der Restoberfläche lagen kugel- und stäbchenförmige Bakterien vereinzelt und die Folienschicht war frei erkennbar.

Zwei der 9 Polyurethan a beschichteten Prothesen zeigten einen mehrschichtigen Sludge, der sich bandförmig über die gesamte Oberfläche zog. Bakterien waren zu großen Konglomeraten in mehreren Schichten eingemauert. Teilweise standen sie über Fäden miteinander in Verbindung, die Fortsätzen ähnelten, und stellten damit auch Verbindungen zu kristalloiden Strukturen her. (Abb. B.20) Eine von diesen Proben hatte an mehreren Stellen Risse in der Folienschicht. Die Folienschicht hatte sich teilweise an einigen Stellen von der Oberfläche gelöst.

Auf zwei der 9 Prothesen ist eine geringe Ablagerung erfolgt. Größere Bereiche der Oberfläche waren von vereinzelt, stäbchen- und kugelförmigen Bakterien bedeckt, die keine Konglomerate bildeten. Der Sludge war nur auf wenigen Stellen zu sehen. (Abb. B. 17)

Die restlichen 4 Proben zeigten eine mittelgradige Ablagerung. (Abb. B.19)

Die Beschichtung von drei der 9 Prothesen zeigte keinerlei Risse. Dagegen zeigten 4 Prothesen kleinere Risse, kleine Blasenbildungen oder wellige Erhebungen in ca. 20 bis 30% der Fläche. Auf zwei Prothesen fanden sich kleine Risse in ca. 50% der Oberfläche der Beschichtungsoberfläche.

Polyurethan b:

Es wurden 9 Prothesen mit Polyurethan b beschichtet. Lediglich eine davon präsentierte eine geringere Ablagerung. (Abb. B.21) Die restlichen 8 Prothesen waren mehr oder weniger von schweren Ablagerungen betroffen. Die meisten davon zeigten auf der Oberfläche eine mehrschichtige amorphe Masse. Fast auf allen Proben wurde mehr als 60% der Oberfläche

von dieser amorphen Masse bedeckt. In der amorphen Masse waren mehrere kugel- und stäbchenförmige Bakterien eingemauert, die auch untereinander Verbindungen über ihre Pili eingingen. Daneben fanden sich Strukturen, die Pflanzenfasern ähnelten und in die gleichmäßige Proteinfoilschicht eingebettet waren. Kristalline und große brockenartige Strukturen waren ebenfalls in dieser Masse eingelagert. Die Folienoberfläche konnte nur auf den abgelagerungsfreien Stellen beurteilt werden. (Abb. B.24)

Die Beschichtung von vier der neun Prothesen zeigte keinerlei Risse. Dagegen zeigten 2 Prothesen kleinere Risse, kleine Blasenbildungen oder wellige Erhebungen in ca. 10 bis 20% der Fläche. Auf zwei Prothesen fanden sich kleine Risse in ca. 50% der Oberfläche der Beschichtungsfläche.

Polyurethan c plus EP19A E3:

Hier wurde Polyurethan c mit einem niedermolekularen Epoxid-Sol-Gel kombiniert. Es wurden 9 Prothesen beschichtet. Eine davon war so beschädigt, dass die Beurteilung der Oberfläche nicht möglich war.

Auf vier der neun Prothesen zeigte sich überwiegend eine mittelgradige Ablagerung. Während ca. 50% der Oberfläche an mehreren Stellen einen mehrschichtigen Schlamm, der überwiegend aus Bakterien gebildet worden war, zeigte, wurde die Restoberfläche von vereinzelten, diffus über der Oberfläche verteilten Bakterien bedeckt. (Abb. B. 27)

Auf einer der Prothesen wurde eine ziemlich geringere Ablagerung festgestellt. Die Folienoberfläche konnte frei von Ablagerungen gemustert werden. Auf der Oberfläche waren vereinzelte Bakterien zu sehen. (Abb. B.25)

Eine starke Schlammgebildung hat sich bei drei der neun Prothesen ereignet. Im Schlamm waren die Bakterien in mehreren Schichten zu großen Konglomeraten angeordnet. Der Schlamm erstreckte sich auf der Oberfläche über weite Strecken. Kristalline Strukturen waren ebenfalls in dieser Masse eingebettet. (Abb. B.28)

Die Beschichtung von acht der neun Prothesen zeigte keinerlei Risse. Lediglich bei einer Prothese wurden Risse in 10% der Fläche festgestellt. Insgesamt erwies sich die Beschichtung als sehr stabil.

Polyurethan plus Nanopartikel 202b:

Es wurden neun Prothesen mit Polyurethan Silicate b beschichtet. Bei vier der 9 Prothesen wurde eine sehr starke Ablagerung festgestellt. Die gesamte Oberfläche der Prothesen wurde fast komplett von einer mehrschichtigen amorphen Masse bedeckt. Die Folienschicht konnte nur an den wenigen ablagerungsfreien Stellen erkannt werden. Die amorphe Masse war überwiegend mit stab- und kugelförmigen Bakterien durchsetzt. Die Bakterien standen wiederum über Fäden miteinander in Verbindung. Kristalline Strukturen waren ebenfalls zu sehen. Nur kleinere Bereiche der Oberfläche waren frei von der amorphen Masse. (Abb. B.32)

Lediglich eine der neun Polyurethan Silikate b beschichteten Prothesen zeigte eine geringe Ablagerung auf ihrer Oberfläche. (Abb. B.29) Die restlichen fünf Prothesen präsentierten über größere Bereiche der Oberfläche teils dicke Konglomerate mit mehrschichtig eingemauerten Bakterien, aber auch teils diffus verteilte Bakterien, die keine Konglomerate bildeten. Zum Teil waren freie Flächen zu erkennen, die nur mit einer dünnen Folie, aber nicht mit Bakterien bedeckt waren. Insgesamt war aber mehr als die Hälfte der Oberfläche bedeckt.

Nur bei einer Probe zeigte die Beschichtung keinerlei Risse. Dagegen zeigten 4 Prothesen kleinere Risse, kleine Blasenbildungen oder wellige Erhebungen in ca. 20% der Fläche. Auf vier Prothesen fanden sich kleine Risse in ca. 50% der Oberfläche der Beschichtung. (Abb. B.30)

Polyurethan plus Nanopartikel 202a:

Es wurden neun Prothesen mit Polyurethan Silicate a beschichtet. Bei zwei Prothesen ist die Beschichtung vor der REM-Untersuchung abgefallen, so dass eine Beurteilung der Oberfläche in Bezug auf die Ablagerung nicht erfolgen konnte.

Zwei der verbliebenen 7 Polyurethan Silikate a beschichteten Prothesen zeigten auf der Oberfläche eine starke Ablagerung. Diese bestand überwiegend aus einer mehrschichtigen amorphen Masse. Sie verteilte sich fast über die gesamte Oberfläche und wurde durchsetzt mit stab- und kugelförmigen Bakterien. Nur kleinere Bereiche der Oberfläche waren frei von der amorphen Masse. (Abb. B.35, B.36)

Die restlichen Proben hatten eine mittelgradige Ablagerung.

Nur eine der 7 Proben hatte keine Beschädigung in der Beschichtung. 4 Prothesen zeigten kleinere Risse in ca. 50% der Oberfläche der Beschichtungsfläche. Dagegen wies die restlichen Prothesen größere Risse in der Beschichtung. (Abb. B.34)

Teflon unbeschichtet:

Es wurden neun unbeschichtete Teflonprothesen parallel zu den beschichteten Prothesen untersucht. Insgesamt zeigten die Teflonprothesen eine mittelmäßige Ablagerungsneigung. Die Ablagerung von Sludge präsentierte sich bei mehreren Prothesen eher an den Seitenrändern und an den wellig aufgeworfenen Bereichen. Zum Teil breitete sich der Sludge vom Rand ausgehend in das Lumen. Er bestand wie bei den beschichteten Prothesen hauptsächlich aus kugel- und stäbchenförmigen Bakterien, die in der mehrschichtigen Masse ineinander verschmolzen. An einigen Stellen wurden einzelne, diffus verteilte Bakterien gesehen. Die Bakterien standen teilweise über kurze Ketten netzartig mit einander verbunden. (Abb. B.37, B.38, B.39, B.40)

Bis auf einige wellige Aufwerfungen an begrenzten Arealen erschien die Oberfläche der Teflonprothesen intakt und glatt.

4. 4 Ergebnisse der Untersuchungsgruppen im Vergleich

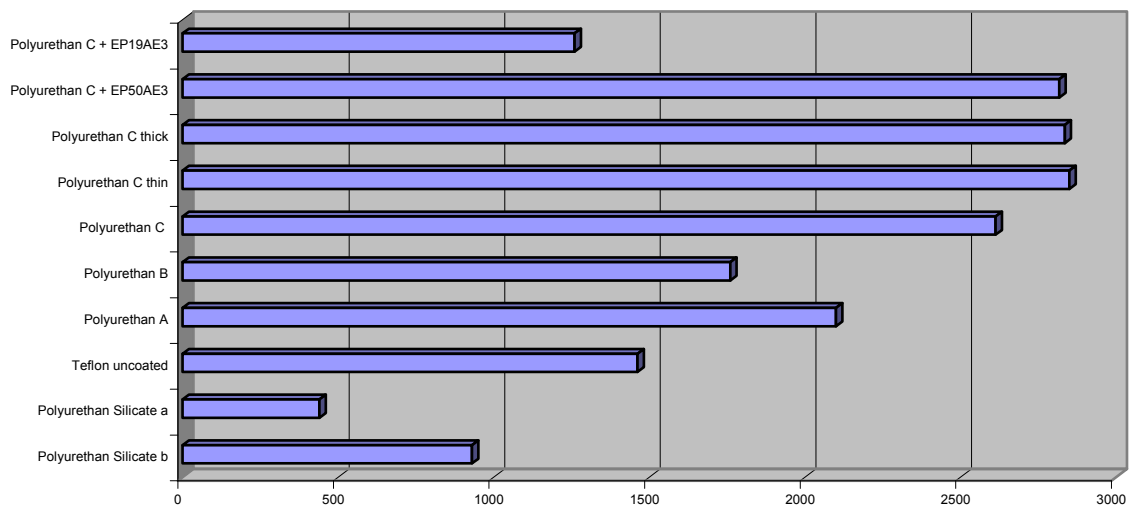
Zur Beurteilung der Beschichtungen wurden die Kriterien in Tabelle 4 jeweils als Grundlage benutzt. Jede Probe wurde analog der Kriterien mit Punkten bewertet. Um eine Aussage zu treffen, wurden die einzelnen Proben den dazugehörigen Beschichtungsgruppen zugeordnet. Aus den Gesamtpunkten der Ablagerungshöhe und Fläche wurde das Diagramm 1 erstellt, welches die Ablagerungsausprägung der einzelnen Beschichtungsformen darstellt.

Die größte Ablagerungsbildung wird auf den Polyurethan plus Nanopartikel beschichteten Prothesen beobachtet. Alle anderen Proben zeigten geringere Ablagerungen.

Darunter schnitt Polyurethan c dünn am besten ab, gefolgt von Polyurethan c dick und Polyurethan c plus hochmolekularer Epoxid-Sol-Gel.

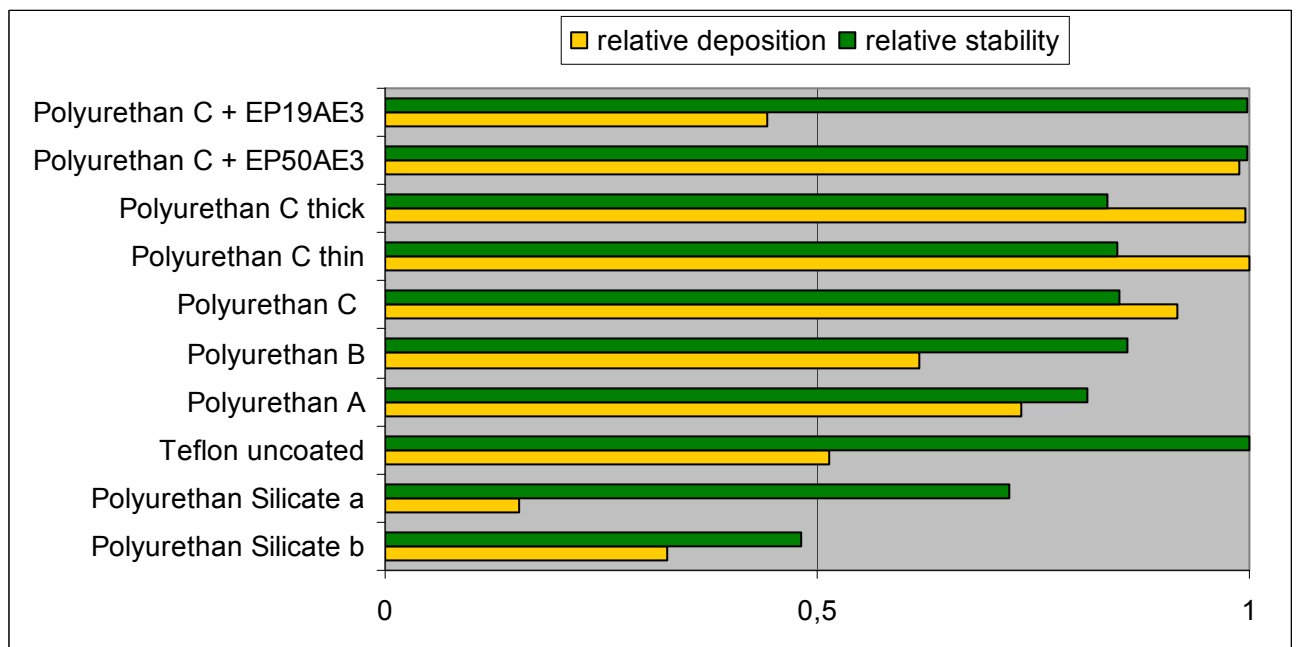
Die übrigen Beschichtungsformen Polyurethan c plus EP19AE3, Polyurethan a, Polyurethan b und unbeschichtete Teflonprothesen nehmen eine Mittelstellung ein.

Diagramm 1: Ablagerungsausprägung der einzelnen Beschichtungsformen



Y-Achse: die Beschichtungsformen, X-Achse: Gesamtpunkte aus Ablagerungshöhe und -fläche, je mehr Punkte desto weniger Ablagerung.

Diagramm 2 : Beschichtungsstabilität/-ausprägung



Die Darstellung in Diagramm 2 bezieht sich einerseits auf das Ausmaß der Ablagerung und andererseits auf die Stabilität der Beschichtung.

Anhand dieses Diagramms wird es deutlich, dass die Prothesen mit der stabileren Beschichtung gleichzeitig eine geringere Ablagerung auf der Oberfläche aufweisen.

Die besten Ergebnisse erzielen passend zu Diagramm 1 die Beschichtungen Polyurethan c plus EP50AE3, Polyurethan c dünn/dick und Polyurethan c.

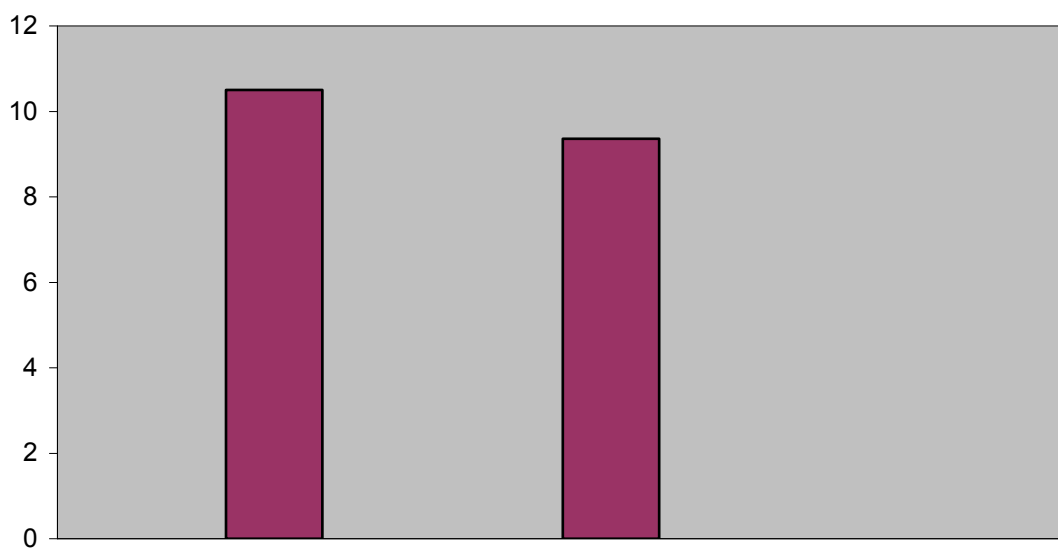
Obwohl die Beschichtung Polyurethan c plus EP19 AE3 sich als relativ stabil erwies, hat sie in Bezug auf die Ablagerung relativ schlecht abgeschnitten.

Die schlechtesten Resultate zeigen in beiden Diagrammen die Polyurethan plus Nanopartikel beschichteten Prothesen.

4. 5 Vergleich humane Galle vs Galle vom Schwein (lat.: *Sus scrofa domestica*).

Der Zweistichproben t-Test ergab keinen signifikanten Unterschied in der Ausprägung der Ablagerung zwischen der menschlichen Galle und der Galle vom Schwein. Die Nullhypothese wird damit widerlegt.

Diagramm 3: Ablagerungsausprägung der Prothesen in humaner und Galle vom Schwein



5 Diskussion

5. 1 Allgemeines

Die endoskopische Stenteinlage ist die Therapie der Wahl bei malignem Verschlussikterus. Da Pankreaskopf-, Gallengangkarzinome oder andere den Gallenabfluss behindernde Neoplasien erst im fortgeschrittenen Stadium symptomatisch werden, ist eine kurative chirurgische Resektion zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bei vielen Patienten aufgrund des lokalen Progresses des Karzinoms nicht mehr möglich. Die Einlage des Stents gewährleistet den Abfluss des Gallensekretes.

Das Verstopfen des Kunststoffstents mit Sludge nach einigen Monaten Liegezeit bleibt bis heute ein ungelöstes Problem. Der Mechanismus der Stentverstopfung ist multifaktoriell und noch nicht vollständig aufgeklärt. Die Rolle der Bakterien bei der Verstopfung von Stents gilt aber als unbestritten und wird praktisch von allen Autoren betont.

Unsere rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen bestätigen die Zusammensetzung des Sludge aus Bakterien, Bilirubin und amorphen Glykoproteinen.

Bei der Anhaftung der Bakterien an der Oberfläche spielen verschiedene Faktoren eine wichtige Rolle, wie zum Beispiel die Glykoproteine der bakteriellen Glykokalix, das bakterielle Wachstum und die Beschaffenheit der Oberfläche.

Eine glattere Oberfläche wird von vielen Autoren als vorteilhaft, jedoch nicht als Schlüssel zur Verhinderung der Stentverstopfung angesehen.

Durch die Oberflächenmoleküle Phosphate, Carboxylgruppen oder Lipopolysaccharide der bakteriellen Zellwand entstehen zwischen der Stentoberfläche und der Bakterien Kräfte, die anziehend oder abstoßend wirken und somit die Anhaftung beeinflussen.

Unser Ziel bei dieser Arbeit war es, zu untersuchen 1. ob der Sludge auf die glatte Polyurethanoberfläche schlechter anhaftet, 2. ob ein bestimmtes Verhältnis hydrophiler und hydrophober Eigenschaften zu einer geringeren Adhäsion von Sludge führt und 3. ob die Kombination beider Methoden die Vorteile vereint. Des Weiteren wollten wir durch die Zugabe von silikatischen hydrophoben Nanopartikeln auf der Oberfläche eine Art Lotusstruktur erzeugen, die schmutzabweisenden Charakter haben sollte.

5. 2 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen

Es wurden bereits eine Reihe von Versuchen unternommen, um die Stentform und das Stentmaterial zu optimieren.

Coene et al. zeigten in vitro Studien, dass Teflonstents im Vergleich zu anderen Plastikstents eine glattere Oberfläche aufweisen. Deshalb war man der Überzeugung, die Teflonstents würden durch die glatte Oberfläche ein maximales Potential zur Vorbeugung der Stentverstopfung haben.

Soehendra et al. stellten einen so genannten Tannenbaumstent aus Teflon ohne Seitenlöcher her und beobachteten eine längere Drainagedauer. Andere Studien konnten die Überlegenheit der Teflonstents nicht bestätigen. [van Berkel 2004, Terruzzi]

Mit dem Rasterelektronenmikroskop lassen sich nicht nur die Proteinschicht und die „Vernetzung“ von Bakterien, sondern auch die Unterschiede in der Oberflächenstruktur einzelner Stentmaterialien erkennen.

Van Berkel et al. untersuchten mit dem Rasterelektronenmikroskop die Oberflächen unbenutzter Stents aus unterschiedlichen Materialien. Sie stellten fest, dass Gallengangendoprothesen sowohl aus Polyethylen als auch aus Teflon die größten Irregularitäten in Form von Löchern oder Kratzern auf ihrer Oberfläche aufwiesen. Die Polyurethanstents präsentierten bei dieser Untersuchung eine extrem glatte Oberfläche. Unebene Stellen können die bakterielle Anhaftung auf der Oberfläche erleichtern und somit zu einer frühzeitigen Stentverstopfung führen.

Im aktuellen Versuch zeigen die Polyurethanstents im Vergleich zu unbeschichteten Teflonstents eindeutig geringere Sludgebildung. Dagegen werden weitaus größere Ablagerungen auf den Polyurethanprothesen, deren Oberfläche zusätzlich mit silikatischen hydrophoben Nanopartikeln beschichtet wurde, gesehen. Die glatte Polyurethanoberfläche wird durch die Silikatpartikel uneben und fördert damit offenbar die Anhaftung von Sludge. Außerdem ist die Beschichtung mit Polyurethan plus Nanopartikel instabil und neigte zur Rissbildung. In einigen Präparaten zeigte sich eine Kumulation von Bakterien an unregelmäßigen Stellen der Prothesenoberfläche.

Die Ergebnisse unserer aktuellen Arbeit bestätigen somit unsere Annahme, dass der Sludge auf die glatte Polyurethanoberfläche schlechter anhaftet als auf die unbeschichtete Teflon. Somit spielt die Glätte der Materialoberfläche eine entscheidende Rolle bei der Akkumulation des Sludge.

Die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen der Prothesen in humaner und Galle vom Schwein zeigten in Bezug auf die Ablagerungsform und -grad keine Unterschiede. Die Galle von Schweine erwies sich für die In-vitro-Untersuchungen geeignet. Daher können weitere In-vitro-Untersuchungen von Sludgeablagerungen auf Kunststoffmaterialien auch mit unproblematisch erhältlicher Galle vom Schwein durchgeführt werden.

5. 3 Hydrophobie als Verschmutzungsschutz?

Mit der nanotechnologischen Sol-Gel-Methode lassen sich kostengünstige Beschichtungen realisieren. Durch gezielte Auswahl geeigneter Ausgangssubstanzen werden physikalische und chemische Eigenschaften der Oberfläche bestimmt.

Alle Oberflächen, ungeachtet ihrer Struktur und ihrer chemischen Zusammensetzung, weisen in Bezug auf die Anhaftung von Wasser hydrophile oder hydrophobe Eigenschaften auf. Auf hydrophoben Oberflächen können die hydrophoben Partikel, dagegen auf hydrophilen Oberflächen die hydrophilen Partikel gut haften. Menschliche Galle und der Sludge enthalten sowohl hydrophile als auch hydrophobe Anteile.

Voruntersuchungen zeigten, dass Sol-Gel-Beschichtungen, die hydrophobe und hydrophile Anteile in einem bestimmten Verhältnis (EP50AE/VI) besitzen, eine signifikant reduzierte Sludgebildung gegenüber herkömmlichem Teflonmaterial aufwiesen. Eine stärkere hydrophile oder stärker hydrophobe Oberfläche führte wiederum zu einer stärkeren Sludgebildung. [SEITZ 2007]

In der aktuellen Versuchsreihe wurde Polyurethan mit Epoxid-Sol-Gel kombiniert, um die Vorteile beider Beschichtungsmethoden zu vereinigen. Die Kombinationsbeschichtung aus Polyurethan plus hochmolekularem Epoxid-Sol-Gel zeigte auch bei unserer Arbeit deutlich geringere Sludgebildung gegenüber unbeschichtetem Teflonmaterial. Die Kombination aus Polyurethan und niedermolekularem Epoxid-Sol-Gel erreichte auch in den vorliegenden Untersuchungen deutlich schlechtere Ergebnisse als hochmolekulare Epoxid-Sol-Gel. Somit bestätigte sich der Vorteil des bewährten Verhältnisses der Hydrophobie zur Hydrophile (EP50AE3). Außerdem wies die Kombinationsbeschichtung aus Polyurethan und Epoxid-Sol-Gel insgesamt sehr wenige Schäden in der Beschichtung auf und bewährte sich als relativ stabile Beschichtung.

6 Zusammenfassung

Die 1979 von Prof. Soehendra in der Universitätsklinik Hamburg Eppendorf eingeführte endoskopische Drainage des Gallengangs ist die palliative Therapie der Wahl bei malignem Verschlussikterus. Die Ziele der Therapie sind die Verbesserung der Lebensqualität, Schmerzlinderung durch potente Schmerztherapie und die Beseitigung der Cholestase in der verbleibenden Lebenszeit der Patienten. Das Verstopfen des Kunststoffstents nach 3 bis 6 Monate Liegezeit mit Sludge, einer Masse aus Bilirubin, Proteinen, Bakterien und Nahrungsresten, bleibt ein ungelöstes Problem.

Wiederholte endoskopische Reinterventionen schränken die Lebensqualität der Patienten ein. Nur wenige der Strategien gegen die Stentverstopfung führten zu einer klinisch spürbaren Verbesserung der Drainagedauer. Metallstents weisen zwar deutlich längere Drainagedauer gegenüber Plastikstents auf, werden aber wegen der hohen Kosten von ca. 1000 € je Stent seltener eingesetzt.

Es besteht der Bedarf nach einer kostengünstigen Kunststoffprothese mit reduzierter Verstopfungsneigung. Die Beschaffenheit der Materialoberfläche spielt eine entscheidende Rolle bei der Bildung des Sludge.

Mit der nanotechnologischen Sol-Gel-Methode lassen sich kostengünstige Beschichtungen realisieren. Voruntersuchungen zeigten einerseits die Überlegenheit einiger Sol-Gel-Beschichtungen und andererseits einen Vorteil für glatte Polyurethanoberflächen.

In der vorliegenden Arbeit wurden beide Beschichtungsformen kombiniert.

72 Teflon-Halbrohren wurden mit neun unterschiedlichen Beschichtungen beschichtet und 42 Tage lang mit bakteriell infizierter humaner und Schweinegalle gespült. Die Proben wurden anschließend rasterelektronenmikroskopisch auf die Sludgeablagerung hin untersucht. Die Polyurethan- und Kombinationsbeschichtung aus Polyurethan plus hochmolekularem Epoxid-Sol-Gel zeigen im Vergleich zu unbeschichteten Teflonstents eindeutig geringere Sludgebildung. Die größte Ablagerungsbildung wird auf den unebenen Polyurethan plus Nanopartikel beschichteten Prothesen beobachtet. Die Bedeutung einer glatten Oberfläche wird durch die aktuellen Ergebnisse bestätigt.

Der Vergleich zwischen der humanen Galle und Galle vom Schwein zeigt in Bezug auf die Ablagerungsbildung keinen signifikanten Unterschied. Durch den Einsatz der Galle vom Schwein könnte in Zukunft die In-vitro-Untersuchungen mit den Gallengangsstents erheblich erleichtert werden.

7 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Double-Duct-Sign und Ergebnis nach Stenteinlage	3
Abb. 2: "Tannenbaum"-Stent.....	4
Abb. 3: Verstopfte Gallengangendoprothese.....	4
Abb. 4: Metallstent.....	7
Abb. 5: Reaktionsschema der Sol-Gel-Synthese.....	9
Abb. 6: Synthesereaktion Polyurethan.....	11
Abb. 7: Schematische Darstellung der Schwenkvorrichtung.....	12
Abb. 8: Bilder von fertig gestellten Stents.....	14
Abb. 9: Nachweis von Antibiotikarückständen	22

8 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Vergleich der Stents mit und ohne Seitenlöcher	6
Tabelle 2: Expandierbare Metallstents	7
Tabelle 3: Patienten und Diagnosen	15
Tabelle 4: Die Beurteilungskriterien	21

9 Anhang

Abb. A.1: Platte 11 Versuchsende.....	38
Abb. A.2: Platte 2 Versuchsende.....	38
Abb. A.3: Platte 3 Versuchsende.....	38
Abb. B.1: Pur c dünn	39
Abb. B.2: Pur c dünn	39
Abb. B.3: Pur c dünn	39
Abb. B.4: Pur dünn	39
Abb. B.5: Pur c dick.....	39
Abb. B.6: Pur dick.....	39
Abb. B.7: Pur c dick.....	39
Abb. B.8: Pur dick.....	39
Abb. B.9: Pur c + EP50AE3	40
Abb. B.10: Pur + EP50AE3	40
Abb. B.11: Pur + EP50AE3	40
Abb. B.12: Pur + EP50AE3	40
Abb. B.13: Pur c	40
Abb. B.14: Pur c	40
Abb. B.15: Pur c	40
Abb. B.16: Pur c	40
Abb. B.17: Pur a	41
Abb. B.18: Pur a	41
Abb. B.19: Pur a	41
Abb. B.20: Pur a	41
Abb. B.21: Pur b.....	41
Abb. B.22: Pur b.....	41
Abb. B.23: Pur b.....	41
Abb. B.24: Pur b.....	41
Abb. B.25: Pur c + EP19AE3	42
Abb. B.26: Pur c + EP19AE3	42
Abb. B.27: Pur c + EP50AE3	42
Abb. B.28: Pur c + EP19AE3	42
Abb. B.29: Pur 202 b.....	42
Abb. B.30: Pur 202 b.....	42
Abb. B.31: Pur 202 b.....	42
Abb. B.32: Pur 202 b.....	42
Abb. B.33: Pur 202 a	43
Abb. B.34: Pur 202 a	43
Abb. B.35: Pur 202 a	43
Abb. B.36: Pur 202 a	43
Abb. B.37: Teflon unbeschichtet.....	43
Abb. B.38: Teflon unbeschichtet.....	43
Abb. B.39: Teflon unbeschichtet.....	43
Abb. B.40: Teflon unbeschichtet.....	43

Anhang A: Makroskopische Abbildungen der Platten

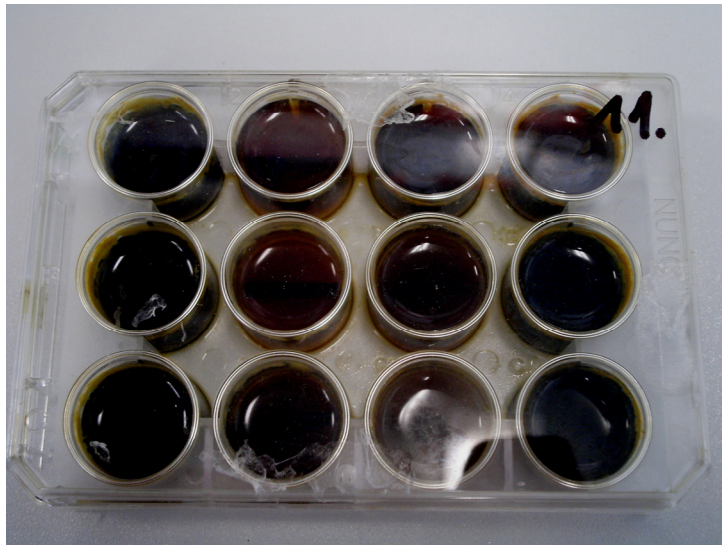


Abb. A.1: Platte 11 Versuchsende



Abb. A.2: Platte 2 Versuchsende

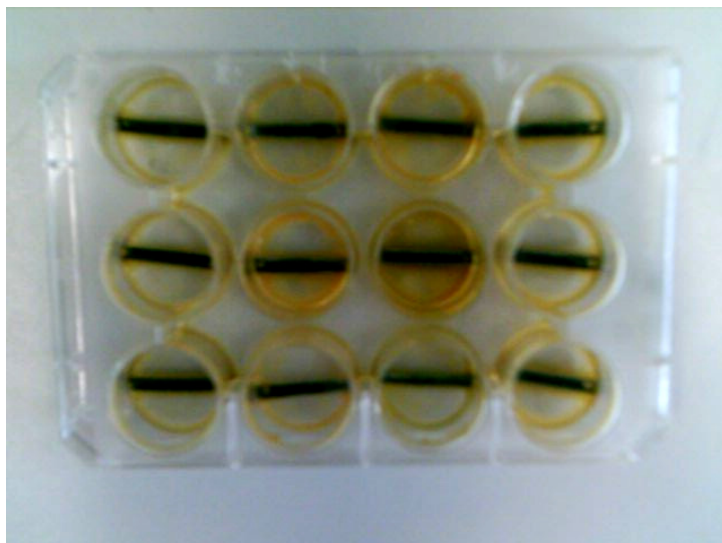


Abb. A.3: Platte 3 Versuchsende

Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie

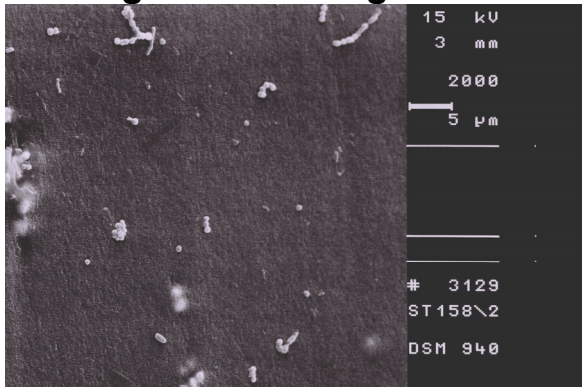


Abb. B.1: Pur c dünn

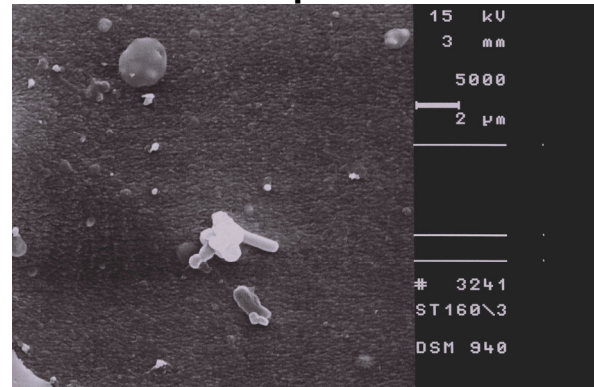


Abb. B.2: Pur c dünn

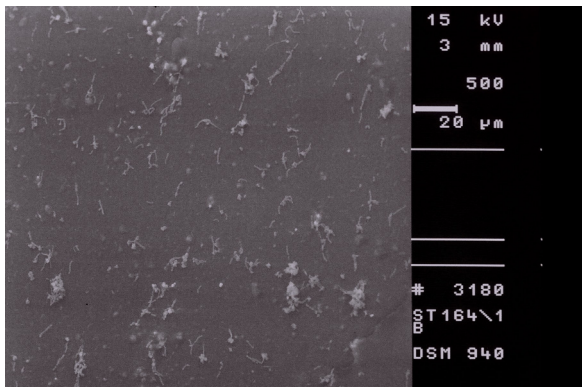


Abb. B.3: Pur c dünn

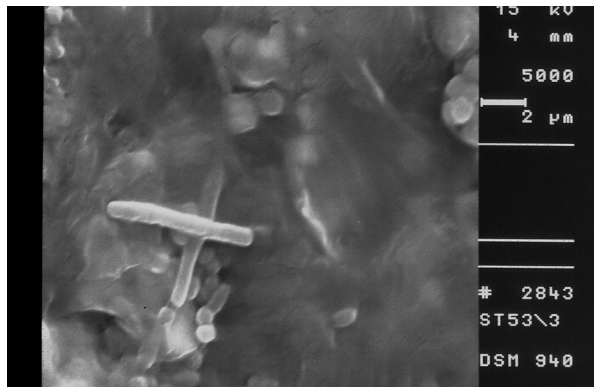


Abb. B.4: Pur c dünn

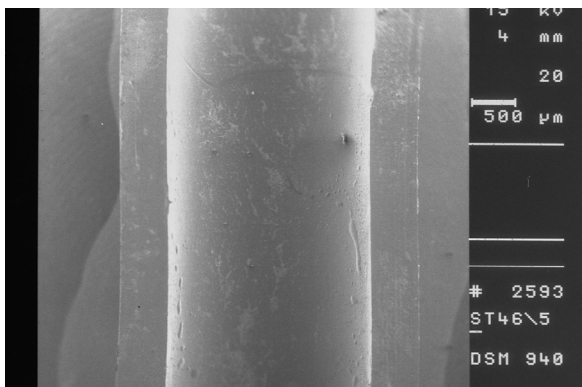


Abb. B.5: Pur c dick

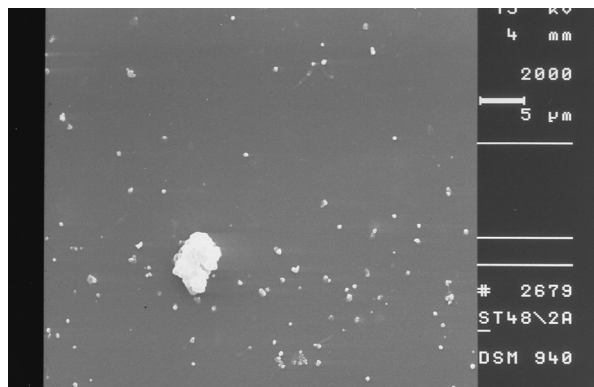


Abb. B.6: Pur c dick

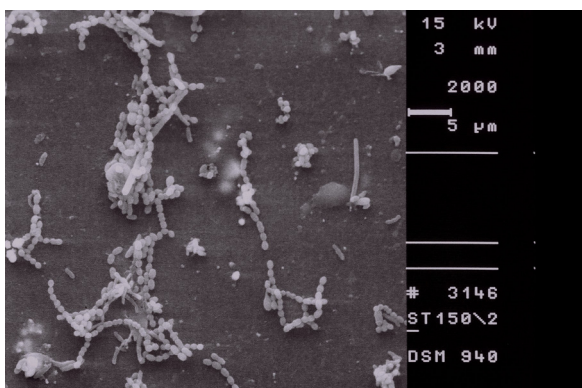


Abb. B.7: Pur c dick

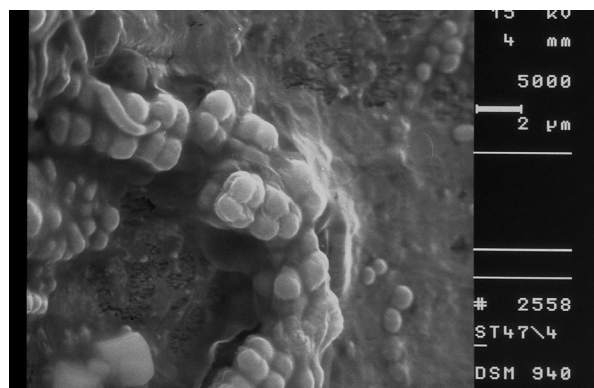


Abb. B.8: Pur c dick

Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie

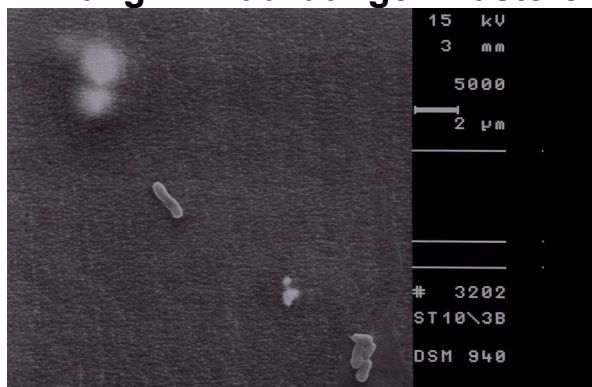


Abb. B.9: Pur c + EP50AE3

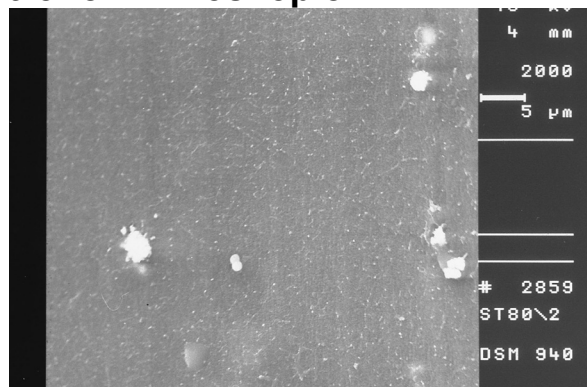


Abb. B.10: Pur c + EP50AE3

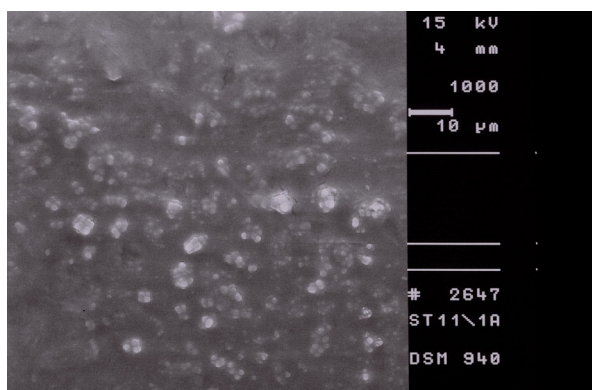


Abb. B.11: Pur c + EP50AE3

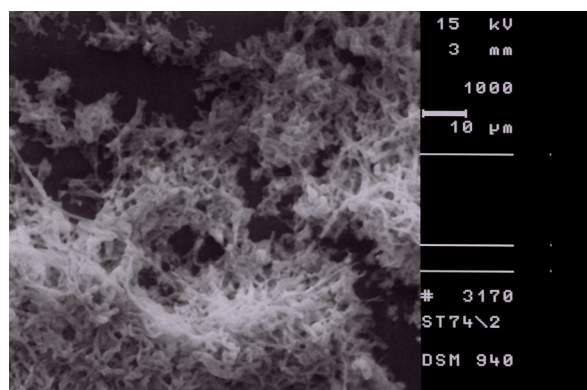


Abb. B.12: Pur c + EP50AE3

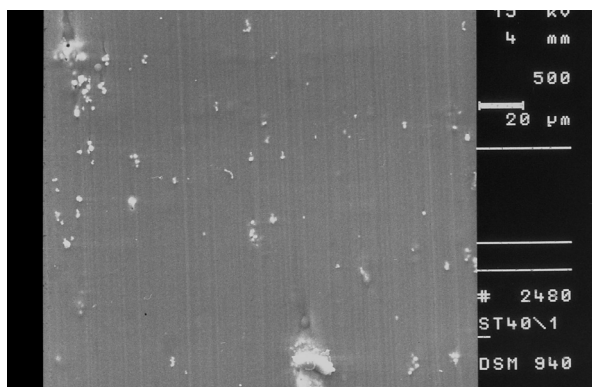


Abb. B.13: Pur c

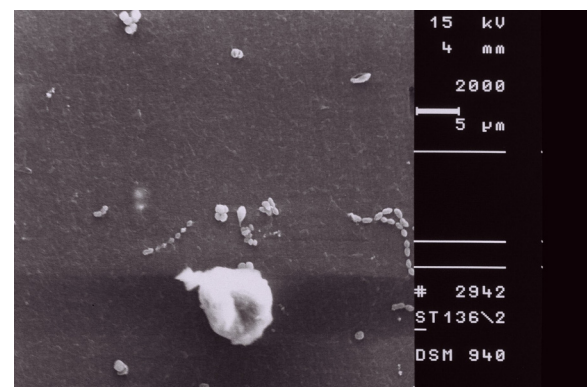


Abb. B.14: Pur c

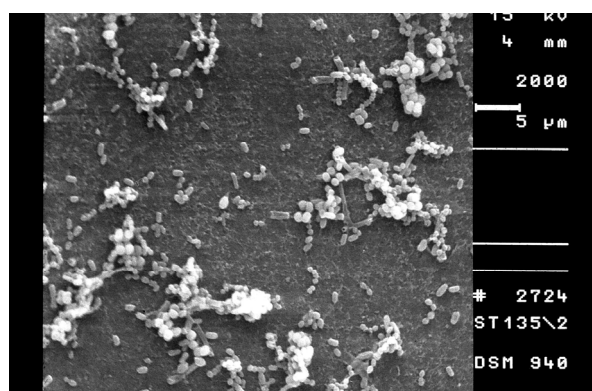


Abb. B.15: Pur c

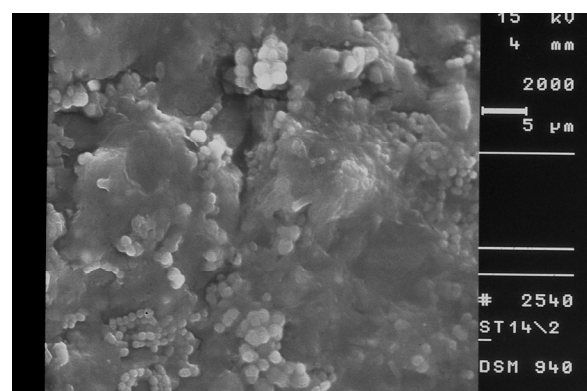


Abb. B.16: Pur c

Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie

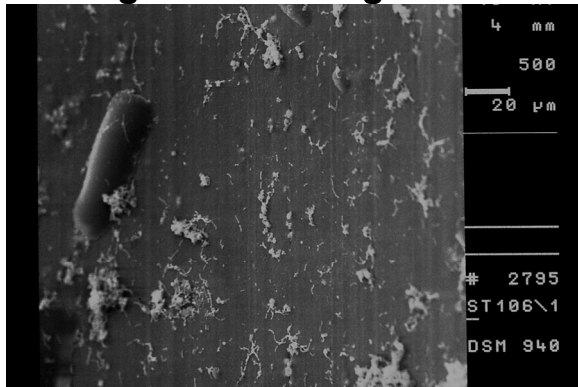


Abb. B.17: Pur a

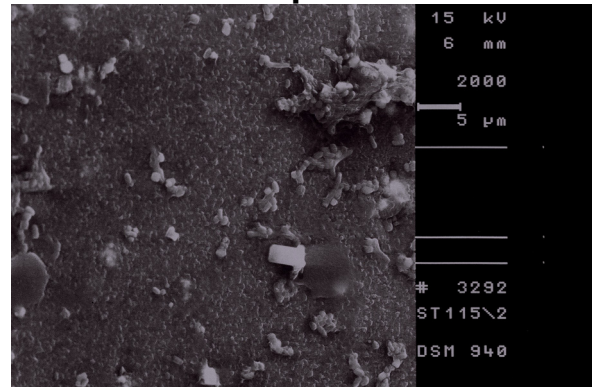


Abb. B.18: Pur a

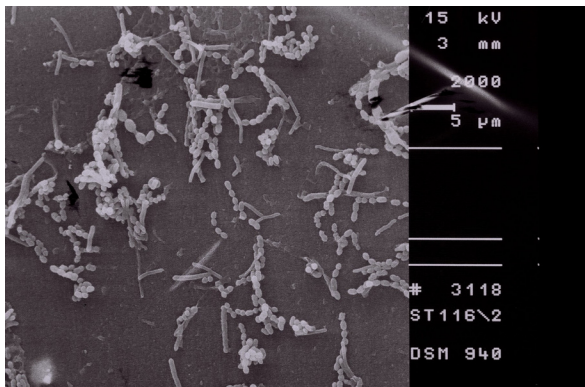


Abb. B.19: Pur a

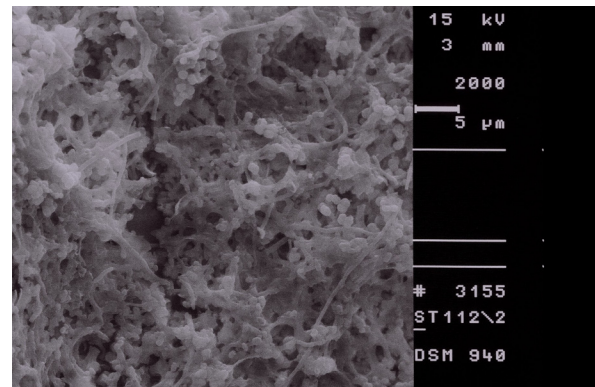


Abb. B.20: Pur a

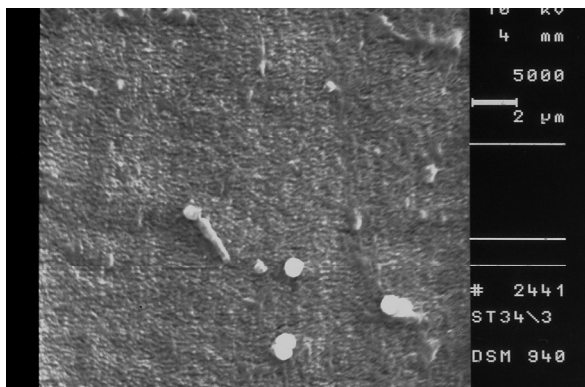


Abb. B.21: Pur b

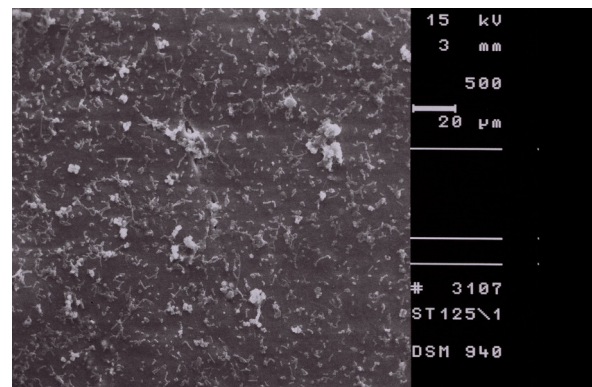


Abb. B.22: Pur b

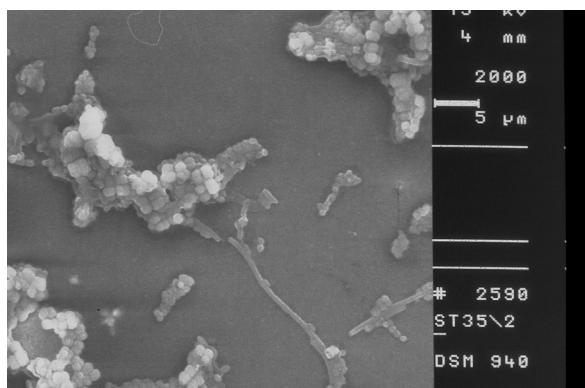


Abb. B.23: Pur b

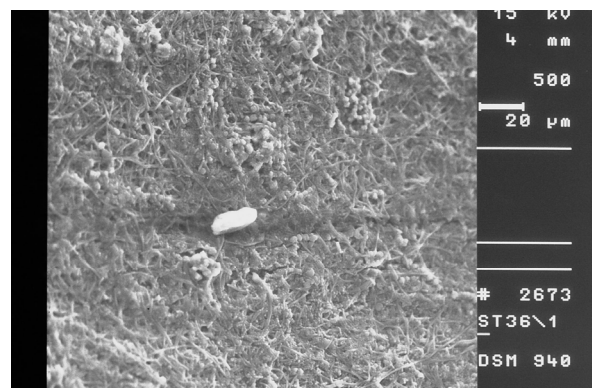


Abb. B.24: Pur b

Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie

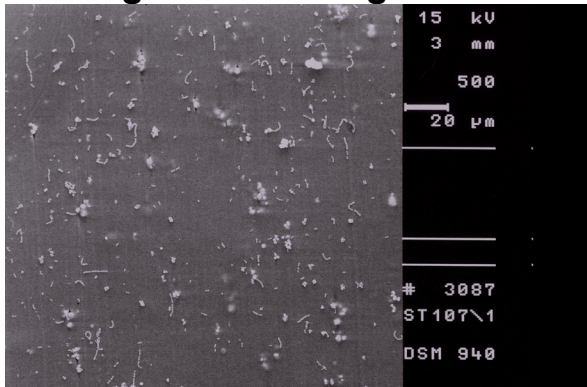


Abb. B.25: Pur c + EP19AE3

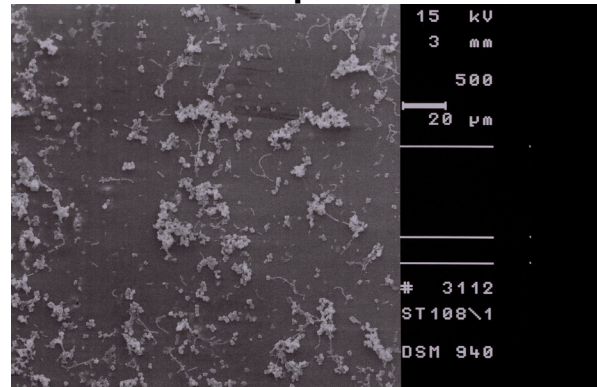


Abb. B.26: Pur c + EP19AE3

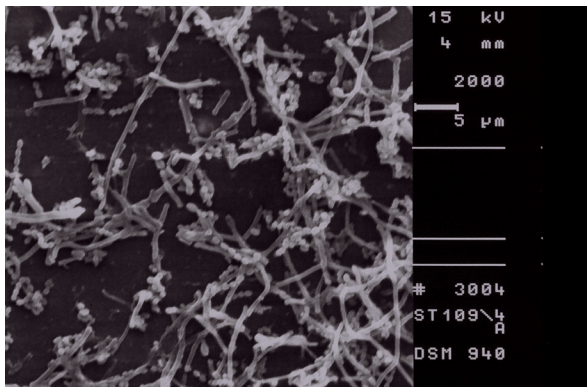


Abb. B.27: Pur c + EP50AE3

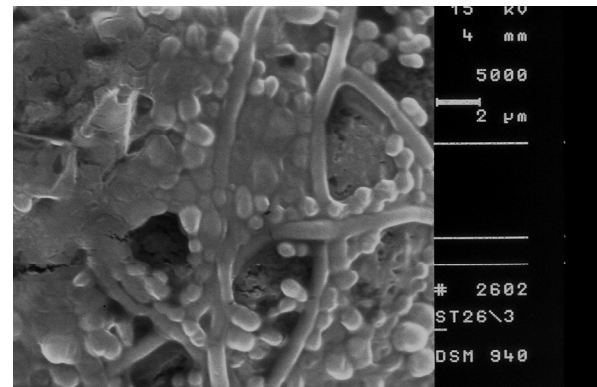


Abb. B.28: Pur c + EP19AE3

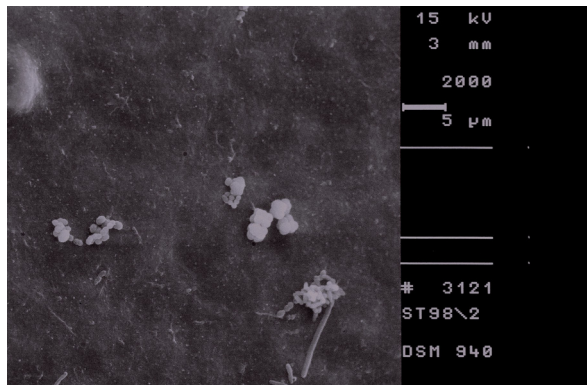


Abb. B.29: Pur 202 b

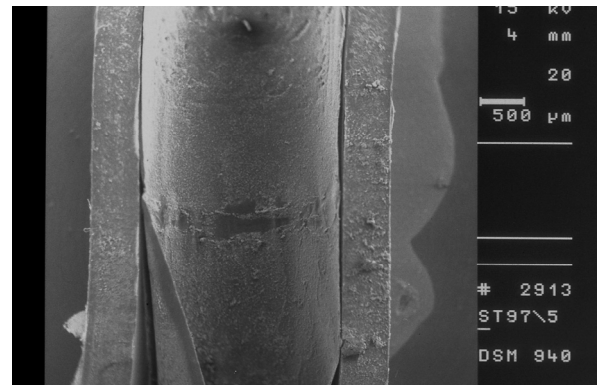


Abb. B.30: Pur 202 b

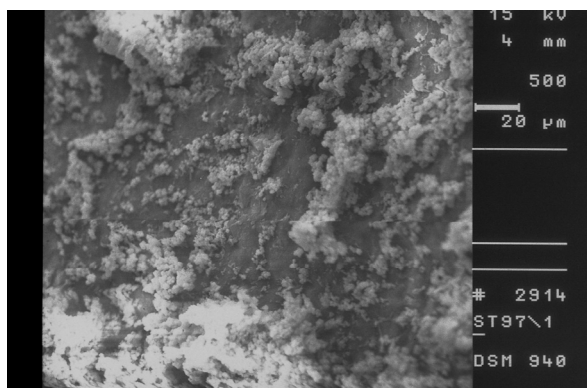


Abb. B.31: Pur 202 b

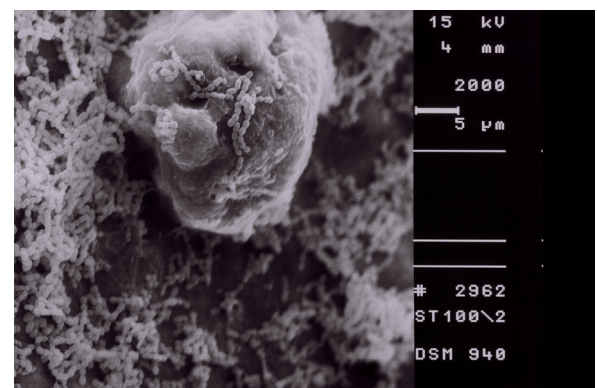


Abb. B.32: Pur 202 b

Anhang B: Abbildungen Rasterelektronenmikroskopie

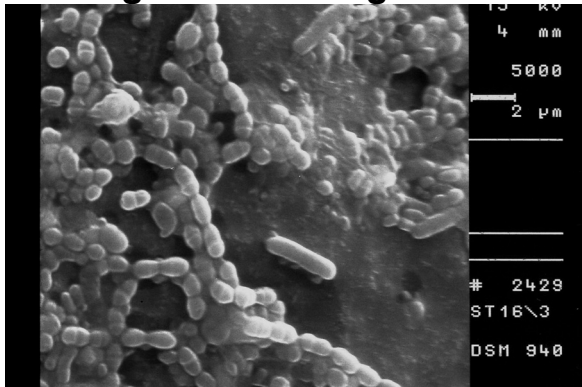


Abb. B.33: Pur 202 a

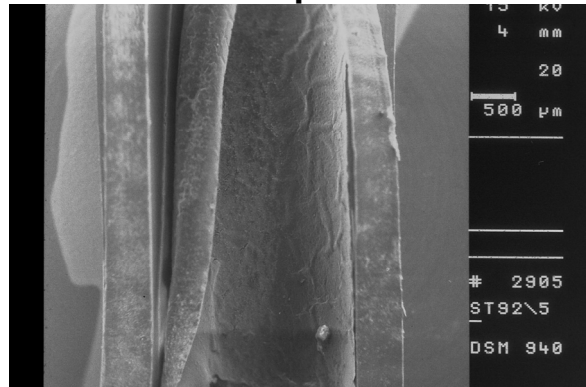


Abb. B.34: Pur 202 a

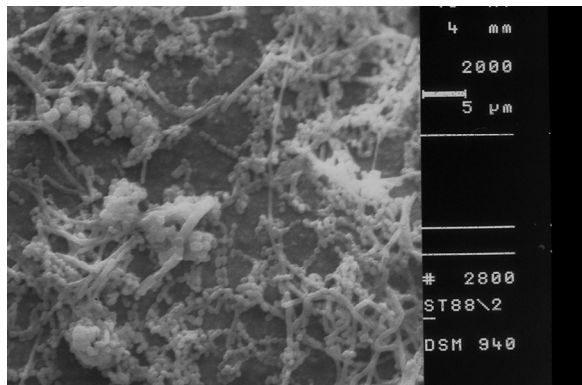


Abb. B.35: Pur 202 a

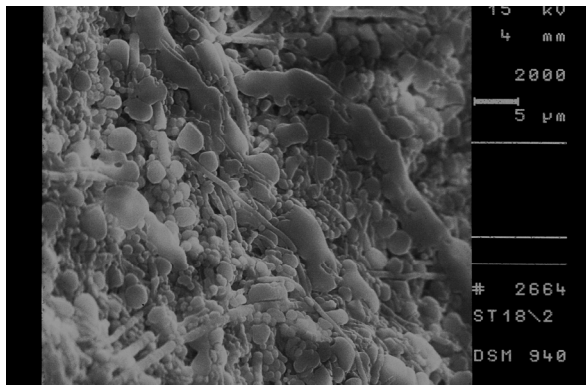


Abb. B.36: Pur 202 a

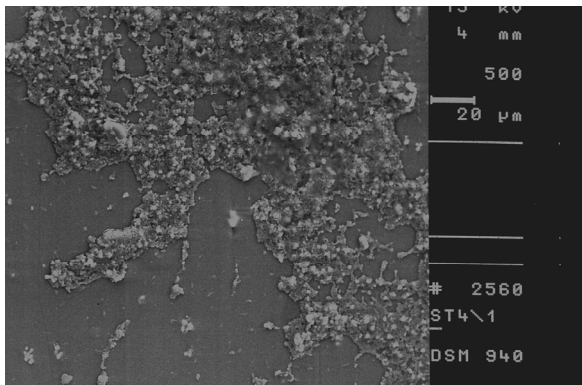


Abb. B.37: Teflon unbeschichtet

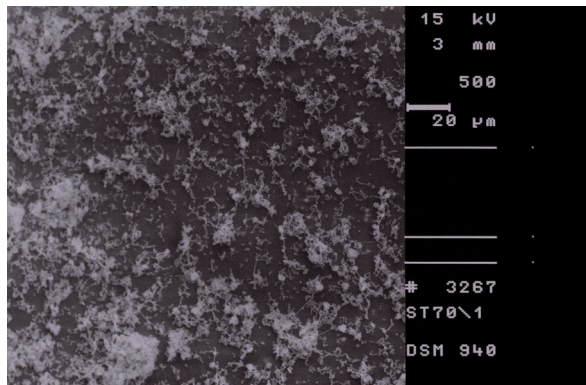


Abb. B.38: Teflon unbeschichtet

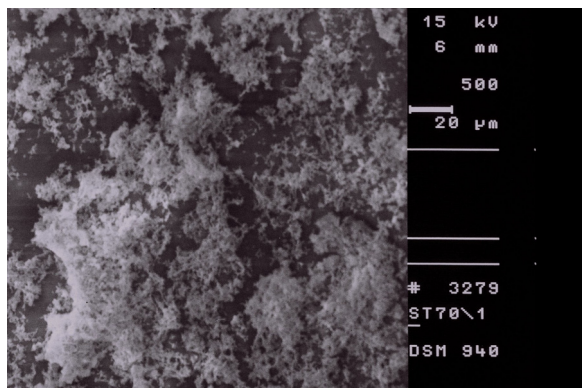


Abb. B.39: Teflon unbeschichtet

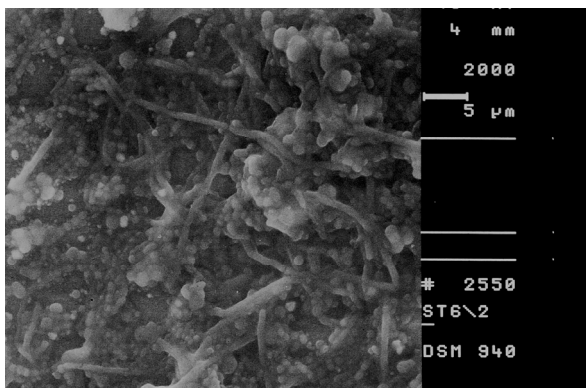


Abb. B.40: Teflon unbeschichtet

10 Literaturverzeichnis

- 1: Abraham NS, Barkun JS, Barkun AN:** *Palliation of malignant biliary obstruction: a prospective trial examining impact on quality of life.* Gastrointest Endosc. 2002 Dec;56(6):835-41.
- 2: Arnold J.C., Riemann J.F.:** *Endoscopic therapy of solid tumors of the gastrointestinal tract.* Internist (Berl), 1998. 39(11): p. 1148-58.
- 3: Ballinger A.B., McHugh M., Catnach S.M., Alstead E.M., Clark M.L.:** *Symptom relief and quality of life after stenting for malignant bile duct obstruction.* Gut, 1994. 35(4): p. 467-70.
- 4. Bethge N, Wagner HJ, Knyrim K, Zimmermann HB, Starck E, Pausch J, Vakil N.:** *Technical failure of biliary metal stent deployment in a series of 116 applications.* Endoscopy. 1992 Jun;24(5):395-400.
- 5: Bismuth, H, Castaing, D, Traynor, O (1988)** *"Resection or palliation: Priority of surgery in the treatment of hilar cancer"* World J Surg 12: 39-47
- 6: Boguth, L, Tatalovic, S, Antonucci, F et al. (1994)** *"Malignant biliary obstruction: Clinical and histopathologic correlation after treatment with self-expanding metal prostheses"* Radiology 192: 669-674
- 7: Coene PP, Groen AK, Cheng J, Out MM, Tytgat GNJ, Huibregtse K.** *Clogging of biliary endoprotheses: a new prospective.* Gut 1990;31:913-7.
- 8: Conlon, KC, Klimstra, DS, Brennan, MF.** *Long-term survival after curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. Clinicopathologic analysis of 5-year survivors.* Ann Surg 1996; 223:273.
- 9: Cress, RD, Yin, D, Clarke, L, et al.** *Survival among patients with adenocarcinoma of the pancreas: a population-based study (United States).* Cancer Causes Control 2006; 17:403.
- 10: Davids P.H., Groen A.K., Rauws E.A., Tytgat G.N., Huibregtse K.:** *Randomised trial of self-expanding metal stents versus polyethylene stents for distal malignant biliary obstruction.* Lancet, 1992. 340(8834-8835): p. 1488-92.
- 11: De Ledingham V., Person B., Legoux J.L., Le Sidaner A., Desaint B., Greef M., Moesch C., Grollier G., Ingrand P., Sautereau D., Beauchant M.:** *Prevention of biliary stent occlusion by ursodeoxycholic acid plus norfloxacin: a multicenter randomized trial.* Dig Dis Sci, 2000. 45(1): p. 145-50
- 12: Dowidar N, Moesgaard F, Matzen P.** *Clogging and other complications of biliary endoprotheses.* Scand J Gastroenterol 1991;26:1132-6.
- 13: D. L. Carr-Locke, Connors, P. B. Cotton, Geenen, Hawes, Jowell, Kozarek, Lehman, Meier, Ostroff, Shapiro, Silvis and Vennes;** *Interim Result of a Multicenter, Randomized Trial: Wallstent Biliary Endoprosthesis vs Plastic stent.* ASGE Nr. 90, 1992.

- 14: Dowidar N, Kolmos HJ, Matzen P.** *Experimental clogging of biliary endoprotheses: role of bacteria, endoprosthesis material and design.* Scand J Gastroenterol 1992;27:77-80.
- 15: England RE, Martin DF, Morris J, Sheridan MB, Frost R, Freeman A, Lawrie B, Deakin M, Fraser I, Smith K.:** *A prospective randomised multicentre trial comparing 10 Fr Teflon Tannenbaum stents with 10 Fr polyethylene Cotton-Leung stents in patients with malignant common duct strictures.* Gut. 2000 Mar;46(3):395-400.
- 16: Ettinghausen S.E., Schwartzentruber D.J., Sindelar W.F.:** *Evolving strategies for the treatment of adenocarcinoma of the pancreas. A review.* J Clin Gastroenterol, 1995. 21(1): p. 48-60.
- 17: Galandi D, Schwarzer G, Bassler D, Allgaier HP:** *Ursodeoxycholic acid and/or antibiotics for prevention of biliary stent occlusion.* Cochrane Database Syst Rev.2002;(3):CD003043.
- 18: GEKD: Gesellschaft der epidemiologischen Krebsregister in Deutschland e.V. in Zusammenarbeit mit dem Robert Koch Institut**
- 19: Ghosh S., Palmer K.R.:** *Prevention of biliary stent occlusion using cyclical antibiotics and ursodeoxycholic acid.* Gut, 1994. 35(12): p. 1757-9.
- 20: Groen AK, Out T, Huibregtse K, Delzenne B, Hoek FJ, Tytgat GNJ.:** *Characterization of the content of occluded biliary endoprotheses.* Endoscopy 1987;19:57-9.
- 21: Hoepffner N, Foerster EC, Högemann B, Domschke W.:** *Long-term experience in Wallstent therapy for malignant choledochal stenosis.* Endoscopy. 1994 Sep;26(7):597-602.
- 22: Knyrim K., Wagner H.J., Pausch J., Vakil N.:** *A prospective, randomized, controlled trial of metal stents for malignant obstruction of The common bile duct.* Endoscopy, 1993.25(3): p. 207-12.
- 23: Kaassis M., Boyer J., Dumas R., Ponchon T., Coumaros D., Delcenserie R., Canard J.M.,Fritsch J., Rey J.F., Burtin P.:** *Plastic or metal stents for malignant stricture of the common bile duct? Results of a randomized prospective study.* Gastrointest Endosc, 2003. 57(2): p. 178-82.
- 24: Katsinelos p, D. Paikos, J. Kountouras, G. Chatzimavroudis, G. Paroutoglou, I. Moschos, A. Gatopoulou, A. Beltsis, C. Zavos and B. Papaziogas** *Tannenbaum and metal stents in the palliative treatment of malignant distal bile duct obstruction: a comparative study of patency and cost effectiveness* Springer Science+Business Media, Inc. 200610.1007/s00464-005-0778-1
- 25: Johnstone PA and Sindelar WF:** *Lymph node involvement and pancreatic resection: correlation with prognosis and local disease control in a clinical trial.* Pancreas 8: 535-539, 1993.
- 26: Landis S.H., Murray T., Bolden S., Wingo P.A.:** *Cancer statistics, 1998.* CA Cancer J Clin, 1998. 48(1): p. 6-29.

- 27: Leung JW, Ling TK, Kung JL, Vallance-Owen J.** *The role of bacteria in the blockage of biliary stents.* Gastrointest Endosc 1988; 34: 19–22
- 28: Leung JW, Liu YL, Leung P, Inciardi J, Chan RCY, Cheng AF.** *Expression of bacterial β -glucuronidase in human bile: an in vitro study.* Gastrointest Endosc 2001;54:346-50.
- 29: Leung JW, Yan-lei Liu, Rapheal C.Y. Chan, Thomas K.W. Ling, Augustine F. Cheng:** *Effects of adherence factors and human bile on bacterial attachment and biliary stent blockage: an in vitro study.* Gastrointest Endosc 2002;56
- 30: Luman W., Ghosh S., Palmer K.R.:** *A combination of ciprofloxacin and Rowachol does not prevent biliary stent occlusion.* Gastrointest Endosc, 1999. 49(3 Pt 1): p. 316-21.
- 31: Matsuda Y., Shimakura K., Akamatsu T.:** *Factors affecting the patency of stents in malignant biliary obstructive disease: univariate and multivariate analysis.* Am J Gastroenterol, 1991. 86(7): p. 843-9.
- 32: Meyerson SM, Geenen JE, Catalano MF, Schmalz MJ, Geene DJ, Seigel J, et al.** *Tannenbaum Teflon stents versus traditional polyethylene stents for treatment of malignant biliary strictures : a multicenter prospective randomized trial.* Gastrointest Endosc 1998; 47: A394.
- 33: Parker SL, Tong T, Bolden S, Wingo PA:** *Cancer statistics, 1997.* CA Cancer J Clin 1997; 47:5–27.
- 34: Raikar G.V., Melin M.M., Ress A., Lettieri S.Z., Poterucha J.J., Nagorney D.M., Donohue J.H.:** *Cost-effective analysis of surgical palliation versus endoscopic stenting in the management of unresectable pancreatic cancer.* Ann Surg Oncol, 1996. 3(5): p. 470-5.
- 35: Ridwelski K, Meyer F, Ebert M, Malfertheiner P and Lippert H:** *Prognostic parameters determining survival in pancreatic carcinoma and, in particular, after palliative treatment.* Dig Dis 19: 85-92, 2001.
- 36: Rieber, A, Brambs, HJ (1997)** "Metallic stents in malignant biliary obstruction" Cardiovasc Intervent Radiol 20: 43-49
- 37: Schmassman A, von Guten E, Knuchel J, Scheurer U, Fehr HF, Halter F.** *Wallstent versus plastic stents in malignant biliary obstruction: effects of stent patency of the first and second stent on patient compliance and survival.* Am J Gastroenterol, 1996 Apr; 91(4): 654-9.
- 38: Schilling D, Rink G, Arnold JC, Benz C, Adamek HE, Jakobs R, Riemann JF.:** *Prospective, randomized, single-center trial comparing 3 different 10F plastic stents in malignant mid and distal bile duct strictures.* Gastrointest Endosc. 2003 Jul;58(1):54-8.
- 39: Schmidt, CM, Powell, ES, Yiannoutsos, CT, et al.** *Pancreaticoduodenectomy: a 20 year experience in 516 patients.* Arch Surg 2004; 139:718.
- 40: Seitz U.:** *Makroskopische, mikrobiologische, rasterelektronenmikroskopische und klinische Untersuchungen über die Verstopfung von Gallengangprothesen und Untersuchung eines daraus resultierenden verbesserten Prothesendesigns.* Dissertation, 1996.

- 41: Seitz U., Vadeyar H., Soehendra N.:** *Prolonged patency with a new-design Teflon biliary prosthesis.* Endoscopy, 1994. 26(5): p. 478-82.
- 42: Seitz U, Block A, Schaefer AC, Wienhold U, Bohnacker S, Siebert K, Seewald S, Thonke F, Wulff H, De Weerth A, Soehendra N.:** *Biliary stent clogging solved by nanotechnology? In vitro study of inorganic-organic sol-gel coatings for teflon stents.* Gastroenterology. 2007 Jul;133(1):65-71.
- 43: Siegel J.H., Snady H.:** *The significance of endoscopically placed prostheses in the management of biliary obstruction due to carcinoma of the pancreas: results of nonoperative decompression in 277 patients.* Am J Gastroenterol, 1986. 81(8): p. 634-41.
- 44: Soehendra N., Reynders-Frederix V.:** *Palliative bile duct drainage - a new endoscopic method of introducing a transpapillary drain.* Endoscopy, 1980. 12(1): p. 8-11.
- 45: Soehendra N., Maydeo A., Eckmann B., Bruckner M., Nam V.C., Grimm H.:** *A new technique for replacing an obstructed biliary endoprosthesis.* Endoscopy, 1990. 22(6): p. 271-2.
- 46: Speer, AG, Cotton, PB, Russell, RC et al. (1987)** *"Randomised trial of endoscopic versus percutaneous stent insertion in malignant obstructive jaundice"* Lancet .: 57-62
- 47: Speer A.G., Cotton P.B., Rode J., Seddon A.M., Neal C.R., Holton J., Costerton J.W.:** *Biliary stent blockage with bacterial biofilm. A light and electron microscopy study.* Ann Intern Med, 1988. 108(4): p. 546-53.
- 48: Speer AG, Cotton PB, MacRae KD.** *Endoscopic management of malignant biliary obstruction: stents of 10 French gauge are preferable to stents of 8 French gauge.* Gastrointest Endosc 1988; 34: 412-417
- 49: Smit J.M., Out M.M., Groen A.K., Huibregtse K., Jansen P.L., van Marle J., Tytgat G.N.:** *A placebo-controlled study on the efficacy of aspirin and doxycycline in preventing clogging of biliary endoprotheses.* Gastrointest Endosc, 1989. 35(6): p. 485-9.
- 50: Sung J.J., Chung S.C.:** *Endoscopic stenting for palliation of malignant biliary obstruction. A review of progress in the last 15 years.* Dig Dis Sci, 1995. 40(6): p. 1167-73.
- 51: Sung J.J., Chung S.C., CP Tsui, Co AL, Li AK.:** *Omitting sideholes in biliary stents does not improve drainage of the obstructed biliary system: a prospective randomized trial.* Gastrointest Endosc 1994; 40: 321-5
- 52: Tarnasky P.R., Cotton P.B.:** *Randomized trial of prevention of biliary stent occlusion by ursodeoxycholic acid plus norfloxacin.* Gastrointest Endosc, 1995. 42(1): p. 103-4.
- 53: Terruzzi V, Umberto Comin, Federico De Grazia, Gian Luigi Toti, Alessandro Zambelli, Sandro Beretta, Giorgio Minoli:** *Prospective randomized trial comparing Tannenbaum Teflon and standard polyethylene stents in distal malignant biliary stenosis.* Gastrointest Endosc 2000;51:23-7

54: Tringali A, Mutignani M, Perri V, Zuccalà G, Cipolletta L, Bianco MA, Rotondano G, Philipper M, Schumacher B, Neuhaus H, Schmit A, Devière J, Costamagna G.: *A prospective, randomized multicenter trial comparing DoubleLayer and polyethylene stents for malignant distal common bile duct strictures.* Endoscopy. 2003 Dec;35(12):992-7.

55: van Berkel A.M., van Marle J., van Veen H., Groen A.K., Huibregtse K.: *A scanning electron microscopic study of biliary stent materials.* Gastrointest Endosc, 2000. 51(1): p. 19-22.

56: van Berkel, Inge L. Huibregtse, Jacques J. G. H. M. Bergman, Erik A. J. Rauws, Marco J. Bruno and Kees Huibregtse *A prospective randomized trial of Tannenbaum-type Tefloncoated stents versus polyethylene stents for distal malignant biliary obstruction.* European Journal of Gastroenterology & Hepatology 2004, 16:213–217

57: Winter, JM, Cameron, JL, Campbell, KA, et al. *1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: a single-institution experience.* J Gastrointest Surg 2006; 10:1199.

58: Wienhold U.: *Alternatives Bindemittelkonzept für Sol-Gel-Beschichtungsmaterialien.* Schriftenreihe VILF-Vorträge, 2001. 4: p. 98-108.

59: Wienhold U., Wagner G.: *Billige Alternative - Organische Polymere können in hybriden Sol-Gel-Beschichtungen teure modifizierte Silane ersetzen.* Farbe&Lack, 2003. 1/2003(109. Jahrgang): p. 82-87.

60: Yu J, Anderson R, Ljungh A. *Protein adsorption and bacterial adhesion to biliary stent materials.* J Surg Res 1996;62:69-73

11 Lebenslauf

Personalien

Name und Vorname	Dogan, Murat
Geburtsdatum / -ort	13.09.1976 in Kozakli (Türkei)
Familienstand	verheiratet
Ehefrau	Güler Dogan, Hausfrau
Kinder	Mustafa Dogan, Ömer Faruk Dogan

Schulbildung

1992	Abitur in der Türkei
1992	Einreise nach Deutschland

Ausbildung

1997-2000	Ausbildung zum Krankenpfleger
SS/02	Beginn Studium der Humanmedizin, Universität Hamburg

Famulaturen

08/04	Chirurgische Notfallaufnahme, Asklepios Klinik Altona
09/04	Zentrale Notaufnahme, Asklepios Klinik Altona
05/06	Kardiologie, Asklepios Klinik Altona
09/06	Gastroenterologie, Asklepios Klinik Altona

Praktisches Jahr

26.02.07-22.04.07	Chirurgie (Asklepios Klinik Altona, Hamburg)
23.04.07-17.06.07	Chirurgie (Hacettepe Tip Fakultesi, Ankara)
18.06.07-07.10.07	Innere Medizin (Asklepios Klinik Altona, Hamburg)
08.10.07-27.01.08	Urologie (Asklepios Klinik Altona, Hamburg)

Examina

01.04.2004	Ärztliche Vorprüfung
	2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 21.05.2008
	Approbation