

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für interdisziplinäre Endoskopie
Direktor Prof. Dr. med. Thomas Rösch

Qualitative und semi-quantitative In-vitro-Untersuchung nanotechnologisch erzeugter Polyurethanbeschichtungen mit und ohne Nanopartikel für Kunststoffstents zur Gallengangdrainage

DISSERTATION

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von

Katja Masurat

aus Wedel

Hamburg 2014

Angenommen von der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg am: 02.12.2015

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. Uwe Seitz

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Martina Sterneck

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. Andreas de Weerth

Inhaltsverzeichnis

1	Arbeitshypothese und Fragestellung	1
2	Einleitung	2
2.1	Epidemiologie, Ätiologie und Risikofaktoren	2
2.2	Clogging – die Problematik der Gallengangendoprothese.....	5
3	Material und Methoden.....	7
3.1	Material	7
3.1.1	Geräte, Chemikalien und Verbrauchsutensilien	7
3.1.2	Biologische Materialien	8
3.1.2.1	Untersuchungsmedium humane Gallenflüssigkeit	8
3.1.2.2	Beschichtungsmaterial	9
3.1.3	Beschichtung der Proben	9
3.1.3.1	Probe: Wie	9
3.1.3.2	Probe: Wieg202c.....	12
3.2	Methoden	13
3.2.1	Bau der Schwenkapparatur.....	13
3.2.2	Aufbereitung der Gallenflüssigkeit	14
3.2.3	Mikrobiologischer Test.....	14
3.2.4	Zentrifugieren der Galle	15
3.2.5	Bestrahlung der Galle	15
3.2.6	Ansatz des Untersuchungsmediums.....	15
3.2.7	Zuschnitt der Stentprothesen	16
3.2.8	Beschichtungsverfahren.....	16
3.2.8.1	Haftungsproblematik – Ursachenforschung – Lösungsansätze	17
3.2.8.2	Geometrie – Rettungsanker alternativer Methodik zur Überprüfung der Oberflächeneigenschaften?	18
3.2.9	Versuchsanordnung	18
3.2.9.1	Verblindungsschema.....	18
3.2.9.2	Füllmenge der Kammern.....	19
3.2.9.3	Inkubation und Beobachtungszeitraum.....	19
3.2.10	Aufbereitung und Konservierung der Stentproben	20
3.2.10.1	Entwässerung	21
3.2.11.1	Semi-quantitative Methode zur Auswertung.....	21
3.2.11.2	Qualitative Methode zur Auswertung	22
3.2.11.3	Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung.....	22
3.2.11.4	Aufbau des Rasterelektronenmikroskops	22
3.2.11.5	Sputtern der Proben.....	23
3.2.11.6	Kriterien zur Auswertung und Dokumentation	23

4	Ergebnisse	25
4.1	Semi-quantitative Auswertung der beschichteten Gallengangendoprothesen	25
4.1.1	Überprüfung der semi-quantitativen Auswertung	26
4.2	Qualitative rasterelektronenmikroskopische Beurteilung	28
4.3	Ergebnis der einzelnen Beschichtungen	28
4.4	Ergebnis der Probengeometrie	42
4.5	Gesamtergebnis	43
5	Diskussion	44
6	Zusammenfassung	51
7	Abbildungsverzeichnis	52
8	Tabellenverzeichnis	53
9	Anhang: Abbildungen REM	54
10	Literaturverzeichnis	70
11	Abkürzungsverzeichnis	77
12	Danksagung	79
13	Lebenslauf	80
14	Veröffentlichungen	81
15	Eidesstattliche Versicherung	82

1 Arbeitshypothese und Fragestellung

Patienten mit fortgeschrittenem Pankreaskopfkarcinom haben eine geringe Lebenserwartung. Häufig leiden die betroffenen Patienten aufgrund der Tumorausweitung an einer Stenosierung der extrahepatischen Gallenwege mit Cholestase. Der hieraus resultierende Juckreiz sowie die Gefahr einer sekundären Cholangitis führte dazu in der Palliativmedizin als Methode der ersten Wahl das endoskopische Stenting des Gallengangs mit einer Kunststoffprothese, die den Galleabfluß gewährt, zu etablieren.

Problematisch stellt sich in der Praxis nach etwa drei bis sechs Monaten das Verstopfen der Gallengangendoprothese durch Sludge dar. Diverse Ansätze wie das Beschichten der Kunststoffstents durch Antibiotika oder Konstruktionsveränderungen boten keine Lösung für das dargestellte Problem. Aufgrund der zwanzigfach erhöhten Materialkosten kommen Metallstents im klinischen Alltag nur äußerst selten zum Einsatz. Vor diesem Hintergrund besteht der Bedarf nach einer kostengünstigen Kunststoffprothese mit reduzierter Okklusionsneigung.

In einer Voruntersuchung wurde bereits der Beweis geliefert, dass ein In-vitro-Versuchsaufbau zur Untersuchung modifizierter Teflonstents mit hydrophobierten und anorganisch-organischen Beschichtungsmaterialien kostengünstig, sowohl materiell als auch personell, umsetzbar ist. Es konnte insbesondere dargelegt werden, dass Kunststoffstents mit einer hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtung weniger Adhäsion von Bakterien im Vergleich zu unbeschichteten Teflonprothesen aufweisen.

In der vorliegenden Arbeit wurde das Beschichtungs- und Auswertungsverfahren modifiziert und die Anzahl der zu untersuchenden Proben vergrößert sowie um Polyethylenprothesen erweitert.

Arbeitshypothese:

Gallengangendoprothesen aus Teflon und Polyethylen werden durch gezielte Auswahl geeigneter Ausgangssubstanzen physikalischer und chemischer Eigenschaften der Oberfläche so positiv beeinflusst, dass es im Vergleich zu herkömmlichen biliären Drainagen zu einer geringeren Anhaftung von Sludge am implantierten Gallengangstent kommt.

Hieraus ergibt sich folgende Fragestellung:

Bietet die qualitative und semi-quantitative In-vitro-Untersuchung nanotechnologisch erzeugter Polyurethanbeschichtungen mit und ohne Nanopartikel für Kunststoffstents eine Alternative zur herkömmlichen Gallengangdrainage?

2 Einleitung

2.1 Epidemiologie, Ätiologie und Risikofaktoren

Das Pankreaskarzinom ist eine maligne Erkrankung der Bauchspeicheldrüse. Zu 90% handelt es sich dabei um ein duktales Adenokarzinom der kleinen Pankreasgänge. In Deutschland erkranken ungefähr 10.000 Patienten pro Jahr. Die Inzidenz beträgt 12 Fälle pro 100.000 Einwohner in Westeuropa. 30.000 Menschen sterben pro Jahr in den USA an dieser Erkrankung. Es stellt die vierthäufigste Todesursache aufgrund eines bösartigen Tumors beim Mann und die fünfhäufigste bei der Frau dar. Das Risiko Männer/Frauen beträgt 2:1 mit einem Häufigkeitsgipfel zwischen dem 6. und 8. Lebensjahrzehnt. Aus epidemischen Studien ist bekannt, dass Pankreaskarzinome im Zunehmen begriffen sind. Die Ätiologie ist unbekannt. Bei einem kleinen Anteil der Patienten liegt ein familiäres Pankreaskarzinom vor.

Dem Tabakkonsum und der Exposition gegenüber aromatischen Aminen kommt unter den exogenen Einflüssen die stärkste Bedeutung zu (relatives Risiko 2-3) (Falk et al. 1990, Howe et al. 1991, Doll et al. 1994, Van Rees et al. 1999). Als weitere Risikofaktoren werden chronische Pankreatitiden (relatives Risiko 15) und Alkoholkonsum angeschuldigt (Lowenfels et al. 1993, Silverman et al. 1995). Darüber hinaus gehen die autosomal-dominant vererbten hereditären Pankreatitiden mit einem erhöhten Risiko einher.

Das Pankreaskarzinom ist mit ca. 75% im Caput lokalisiert, 15% im Corpus und 10% im Caudabereich. Die papillennahen Tumoren weisen häufig einen schmerzlosen Ikterus auf. Insgesamt überwiegen jedoch uncharakteristische Symptome wie Oberbauchbeschwerden, Gewichtsverlust, Rückenschmerzen (Hollerbach et al. 2001).

Auf Grund seiner schweren Erkennbarkeit im Frühstadium sowie seiner Resistenz gegenüber Medikamenten und Bestrahlung, hat das Pankreaskarzinom mit unter 5% eine niedrige 5-Jahres-Überlebensrate. Die einzige heilende Therapiemöglichkeit ist die Operation, die jedoch nur bei kleinen Tumoren ohne Hinweis auf Metastasen Erfolg verspricht. Circa 52% der Patienten weisen zum Zeitpunkt der Diagnose bereits einen fortgeschrittenen Tumor und Fernmetastasen auf. Hieraus resultierend lässt sich die chirurgische Resektion in kurativer Absicht nur bei 15 bis 20% der Patienten durchführen (Johnstone et al. 1993, Niederhuber et al. 1995, Ridwelski et al. 2001, Schmidt et al. 2004, Winter et al. 2006).

Insbesondere bei Patienten mit einem Lebensalter von größer 60 Jahren mit neu aufgetretenen Rückenbeschwerden oder Diabetes mellitus, sollte ein malignes Geschehen mit in Betracht gezogen werden (Landis et al. 1998).

Die geringe Vorhersagekraft der Computertomographie sowie der Magnetresonanztomographie bezüglich der Resektabilität haben den Einsatz peripankreatisch einsetzbarer bildgebender Verfahren wie Endosonographie und laparoskopische Sonographie gefördert. Durch diese Untersuchungstechniken lassen sich sowohl die Sensitivität als auch die Spezifität auf über 80% erhöhen. Jedoch gilt, dass die Sensitivität beider diagnostischer Verfahren hinsichtlich einer tatsächlichen histologisch verifizierten Gefäßinfiltration bei unter 67% liegt (Rösch 1995, Calett et al. 1996, Gress et al. 1999, Bissing et al. 2002). Die erhöhte Sensitivität der endo- bzw. laparoskopisch sonographischen Verfahren ermöglicht die Diagnostik auch kleinerer Tumoren, somit früherer Tumorstadien, sowie die Beurteilung des regionalen Lymphknotenstatus. Die Spezifität kann durch die Feinnadelbiopsie noch gesteigert werden (Giovannini et al. 1995). Dennoch ist bei Nachweis von Fernmetastasen sowie langstreckiger Gefäßinfiltration des Portalvenensystems, der Arteria mesenterica superior und der Arteria hepatica eine kurative Resektion unmöglich.

Hinsichtlich der niedrigen 5-Jahres-Überlebensrate kann die Aussage getroffen werden, dass sich nach kurativer chirurgischer Resektion des Tumors die Gesamtüberlebensrate aller Pankreaskarzinome zwar um 20% erhöht, dennoch werden gegenwärtig trotz Wissenszugewinn über die Molekularbiologie prognostisch unbefriedigende Ergebnisse präsentiert.

Im Sinne des palliativen Ansatzes steht neben der Schmerztherapie durch Medikamente die Entlastung des Gallengangsystems im Vordergrund. Das Verfahren der ersten Wahl bei tumorbedingtem Ikterus stellt die bereits im Jahr 1979 eingeführte Implantation einer biliären Pigtail-Endoprothese nach Soehendra dar (Soehendra et al. 1980, Soehendra et al. 1992).



Abb. 1: Tumöröse Papilla Vateri mit liegender Pigtail-Prothese.



Abb. 2: Doppel-Pigtail-Prothese im Gallengang; Perforation des proximalen Endes ins Duodenum.

Anstelle der bogenförmigen Kunststoffdrainage wird seit 1990 in der Klinik und Poliklinik für Interdisziplinäre Endoskopie am Universitätskrankenhaus Hamburg-Eppendorf zur transpapillären Galleableitung überwiegend der sogenannte Tannenbaum-Stent aus Teflon verwendet. Damit die gerade geformte Prothese in Position gehalten wird, werden proximal vier und distal zwei kleine Öhrchen in die Wand geschnitten – wodurch sich auch die Namensgebung ableitet.



Abb. 3: Tannenbaum-Stent.

Teflon hat sich im klinischen Alltag bewährt. Gegenüber anderen Materialien, wie Polyurethan und Polyethylen, weist es einen niedrigeren Reibungskoeffizienten auf (Van Berkel et al. 2000). Daher sollte sich Sludge leichter von Teflon als von anderen Materialien ablösen.

Alternativ hat sich der biliäre Metallstent, erhältlich als selbstexpandierender Wallstent® oder ballonexpandierender Streckerstent®, im Klinikalltag nicht durchgesetzt. Mit einem Prothesendurchmesser von 1cm ist die Stenteinlage technisch nicht schwierig. Limitierend für den Einsatz dieser Gallengangendoprothese stellen sich jedoch die zu hohen Kosten mit circa 1000€ dar (Yeole et al. 1999). Obgleich die Okklusionsrate von 33% im Vergleich zu Teflonstents mit 54% deutlich niedriger ausfällt, kann aufgrund von Tumorein- und überwuchs keine signifikant längere Überlebensdauer erzielt werden. Diese Komplikation muss individuell abgestimmt therapiert werden. Entweder durch das Einlegen einer Kunststoffprothese oder eines zweiten Metallstents durch den verstopften initial eingelegten Metallstent hindurch. Eine weitere Möglichkeit bietet das thermische Verfahren. Die weiterentwickelten beschichteten Metallstents ermöglichen durch eine Silikon- oder Polyurethanoberfläche eine längere Drainagezeit (Silvis et al. 1994, Kawase et al. 1995).

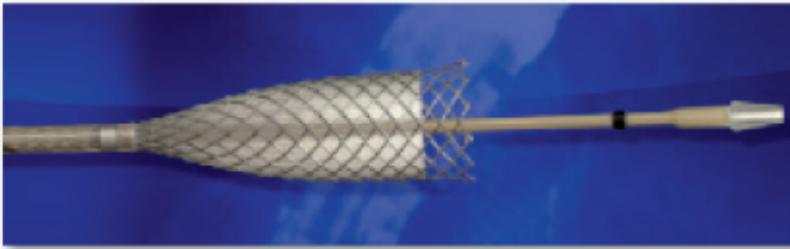


Abb. 4: Metallstent.

Für eine dauerhafte Prothesenfunktion wird ein Kaliber von 10 French (1 French = 1/3 mm) benötigt. Das Ergebnis der Speer-Studie ergab für 10 French eine Liegedauer von 32 Wochen, 8 French hingegen lediglich 12 Wochen.

Speer empfiehlt aufgrund von Malignitätsgefahr Stents von mindestens 10 French Durchmesser für die endoskopische Behandlung bei Gallengangobstruktion zu verwenden (Speer et al. 1988). Bei der Einlage noch größerer Gallengangendoprothesen konnte jedoch weder eine Verbesserung der Drainage noch eine Verlängerung der Liegedauer nachgewiesen werden (Matsuda et al. 1999). Nach Einlegen des Ductus hepatuscoledochus (DHC) -Stent mittels endoskopisch retrograder Cholangio- und Pankreatikographie (ERCP), ist zum einen mit einer Normalisierung der extrahepatischen Cholestase zu rechnen und zum anderen auch ein Rückgang der Cholangitisgefahr zu verzeichnen.

2.2 Clogging – die Problematik der Gallengangendoprothese

Das als Clogging bezeichnete Verstopfen der endoskopischen Gallengangdrainage stellt ein bis zum heutigen Tage ungelöstes Problem dar. Nach nur wenigen Monaten Liegedauer wird der Abfluss der Galle durch Ablagerung von Sludge behindert (Provansai-Cheylan et al. 1989, Smits et al. 1997, Van Berkel et al. 1998, Van Berkel et al. 2000, Van Berkel et al. 2005).

Der Gallengries, im Englischen als Sludge bezeichnet, ist eine körnige Entmischung der Gallenflüssigkeit, die kleinste Gallensteinchen (ca. 0,5–1 mm) enthält. Das zähe, gelb-orangefarbene bis schwarzbraune Material besteht überwiegend aus Bilirubin, Palmitat, Albumin, Glycoproteinen, Mukopolysacchariden, Calciumcarbonat und – Fettsäuren sowie Nahrungsresten (Farnbacher et al. 2005) und wird auch als Mikrolithiasis bezeichnet (Frey 2001). Smit beschrieb, dass sich bei einer geringen Sludgemenge ein im Verhältnis höherer Proteinanteil und ein niedriger Pflanzenfaseranteil nachweisen lässt. (Smit et al. 1989).

Nach Einlage des Stents fördern Fibrin, Kollagen, Immunglobuline und Proteine die Anhaftung von Bakterien. Durch bakteriell entstandene Glykoproteine bildet sich auf der Prothesenoberfläche ein sogenannter Biofilm. Der in der physiologischen Flora vorkommende *Escherichia coli* Keim produziert das Enzym β -Glucuronidase, welches in der Lage ist Bilirubin zu dekonjugieren und es als Salz auszufällen.

Durch Akkumulation der biologischen Materialien kommt es wie unten aufgeführt zur Bildung einer sandigen Substanz, die bei der betroffenen Patientenklientel zum Clogging des Stents mit einem wiederkehrenden Ikterus und ansteigender Cholesta-separameter führt. Um der Gefahr einer sekundären Cholangitis entgegenzuwirken, muss sich der Patient zur regelmäßigen ambulanten Wiedervorstellung einfinden.

Mit Hilfe des von Soehendra eingeführten Stent-Retrievers ist der Prothesenwechsel zwar technisch einfach durchführbar, dennoch bedeutet die Reintervention für den Patienten eine immense Einschränkung der Lebensqualität (Soehendra et al. 1990, Soehendra et al. 2003).



Abb. 5: Verstopfte Gallengangendoprothese.

Leung hat in randomisierten Studien gezeigt, dass durch das Aufbringen von Antibiotika auf die Gallengangendoprothese keine längere Liegedauer aufgrund verminderter Sludgebildung zu erzielen ist. Der gewünschte Effekt, dass durch bakterielle β -Glucuronidase ausgefällte Bilirubin würde sich verringern, stellte sich durch diese Maßnahme nicht ein.

In einem In-vitro-Versuch konnte mit silberbeschichteten Stents eine minimale Tendenz zu einer geringeren Sludgeablagerung beobachtet werden. Für die Klinik erbrachte diese Studie jedoch keinen relevanten Vorteil. Untersuchungen, in denen zusätzlich Ursodesoxycholsäure oder Acetylsalicylsäure verabreicht wurden, zeigten hinsichtlich der Drainageleistung klinisch ebenfalls keine relevante Verbesserung (Leung et al. 1988, Leung et al. 1992, Leung et al. 2000).

3 Material und Methoden

3.1 Material

3.1.1 Geräte, Chemikalien und Verbrauchsutensilien

In Tabelle 1 werden die verwendeten Materialien, Gegenstände sowie deren Bezugsquellen aufgeführt.

Geräte		
Zentrifuge	Type: 5804R	
Rotor: F 34-6-36 (6 x 85 ml)		Fa. Eppendorf
Wasserbad	Thermomix BU	Fa. Braun
Gefrierschrank -21 °C	Comfort	Fa. Liebherr
Gefrierschrank -80 °C		Fa. Kryotec
Inkubator	Type: 2771	Fa. Köttermann
Schüttler	Type: 3005	Fa. GFL
Autoklav	Sanoclav	Fa. Wolf
Sputter-Gerät	SEM-Coating System	Fa. Bio-Rad
Stiftprobenteller 0,8 cm	#G301	Fa. Plano GmbH
Rasterelektronenmikroskop	Type: DSM 90	Fa. Zeiss
Chemikalien		
NaCl		Fa. J. T. Baker
Trypton-Wasser	#1.10859.500	Fa. Merck
Hefeextrakt	#1.03753.500	Fa. Merck
LB-Agar (Luria Bertani Agar)	#22700-025	Fa. Invitrogen
Glutaraldehydlösung	#1.04239.1000	Fa. Merck
Phosphatpuffer (PBS)		
Ampicillinpulver	#835269	Fa. Roche
Glycerin	#1.04093.1000	Fa. Merck
E. coli (DH5α)	# 6943-1	Fa. Clontech
Verbrauchsutensilien		
Pipettenspitzen 1000 blau	#740296	Fa. Greiner
200 gelb	#739296	
Zellkulturplatten (12-well-plates)	#150628	Fa. Nunc
Petrischalen	#663102	Fa. Greiner
50 ml - Falcon-Tubes	#2070	Fa. Bacton Dickinson
1,5 ml - Tubes	#616201	Fa. Greiner
Faltenfilter 150 mm	#10312245	Fa. Schleicher&Schuell

Tab. 1: Verwendete Geräte, Chemikalien und Verbrauchsutensilien.

3.1.2 Biologische Materialien

3.1.2.1 Untersuchungsmedium humane Gallenflüssigkeit

Um die experimentelle Versuchungsreihe so physiologisch und realistisch wie möglich durchzuführen, wurde ein Gallepool aus humaner Gallenflüssigkeit gewonnen. Von dem Gebrauch synthetischer Galle wurde aus zwei Gründen Abstand genommen. Zum einen aus Kostengründen und zum anderen sollten die Versuchsbedingungen zur besseren Vergleichbarkeit mit der Arbeit von A.-C. Schäfer nicht zu sehr abweichen.

In Zusammenarbeit mit der Gastroenterologischen Abteilung der Asklepios Kliniken Barmbek (Abteilung für Endoskopie) und Altona (Klinik für Gastroenterologie) wurden die ausgewählten Patienten mit hepatobiliären Erkrankungen über den Sinn und Zweck der entnommenen Gallenflüssigkeit aufgeklärt und gaben ihr Einverständnis zur weiteren Verwendung. Die Betroffenen waren mit einem Drainagekatheter, einer sogenannten perkutanen transhepatischen Cholangiodrainage (PTCD), versorgt. Über diesen Weg der Gallenflüssigkeitsentnahme entstand weder ein zusätzlicher Aufwand noch eine weitere Belastung für den Patienten. Um sicher zu stellen, dass die entnommene Galle keine Antibiotikarückstände aufweist, wurde die Krankenakte hinsichtlich der verordneten Medikation studiert.

Die Aufbewahrung erfolgte in mit Entnahmedatum versehenen 500 ml Glasflaschen. Bis zur Testung auf Antibiotikarückstände wurde die Gallenflüssigkeit getrennt voneinander bei 8° C im Laborkühlschrank gelagert.

Tabelle 2 stellt eine Auflistung der entnommenen Galle nach Datum, Klinik, Patient, Medikation und Abfüllmenge dar.

Datum	Klinik	Patient	Medikation	Menge
23.03.	AKA	Fr. L.	Zienam, Clexane, Norvasc, Xanet, Pantozol (zuletzt am 17.03.)	300 ml
23.03.	AKA	Fr. L.	Zienam, Clexane, Norvasc, Xanet, Pantozol (zuletzt am 17.03.)	500 ml
24.03.	AKB	Fr. S.	Clont, Rocephin (Ceftriaxon), Metamizol (zuletzt am 16.03)	120 ml
24.03.	AKA	Fr. L.	Clont, Rocephin (Ceftriaxon), Metamizol (zuletzt am 16.03)	400 ml
25.03.	AKA	Fr. L.	Clont, Rocephin (Ceftriaxon), Metamizol (zuletzt am 16.03)	500 ml

Tab. 2: Information zu entnommenen humanen Gallen.
AKA (Allgemeines Krankenhaus Altona) und AKB (Allgemeines Krankenhaus Barmbek).

3.1.2.2 Beschichtungsmaterial

Das Konzept der Oberflächenbeschichtung wurde ausschließlich von Herrn Dr. Uwe Wienhold, Chemiker, Fa. Wienhold-Consult, Magdeburg, entwickelt.

In der vorliegenden In-vitro-Studie wurden Siliciumdioxidpartikel- und Polyurethanbeschichtungen auf dem Rohmaterial Teflon und Polyethylen bewertet.

3.1.3 Beschichtung der Proben

3.1.3.1 Probe: Wie

Die Probe „Wie“ ist ein 2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem, welches „Easy to Clean“ (ETC) Eigenschaften besitzt. Bei sogenannten Easy to clean Oberflächen perlt Wasser ab (hydrophob eingestellt). Fälschlicherweise wird diese selbstreinigende Funktion nicht selten mit anderen Reinigungssystemen, insbesondere dem Lotus-Effekt®, verwechselt. Im Gegensatz dazu ist diese Oberfläche glatt statt rau. Sie besitzt eine herabgesetzte Oberflächenenergie und dadurch reduzierte Anziehungskraft, was in einer verminderten Adhäsionskraft resultiert. Diese sorgt dafür, dass Wasser abgestoßen wird, sich zu Kugeln zusammenzieht und es zum berühmten Abperleffekt kommt. Hierbei handelt es sich grundsätzlich um hydrophobe, das heißt wasserabweisende Oberflächen. Ferner ist auch das Material Teflon nicht mit ETC-Oberflächen zu verwechseln. Teflon besitzt eine in alle Richtungen wirkende Antihaft-Eigenschaft (Birkhäuser Basel 2008).

Polyurethan:

Polyurethane (PU, DIN-Kurzzeichen: PUR) sind lösemittelhaltige Kunststoffe oder Kunstharze, die durch die Polyadditionsreaktion von Polyisocyanaten mit Polyolen entstehen. Die Verknüpfung erfolgt durch die Reaktion einer Isocyanatgruppe ($-N=C=O$) eines Moleküls mit einer Hydroxylgruppe ($-OH$) eines anderen Moleküls unter Bildung einer Urethangruppe ($-NH-CO-O-$).

Das Kohlenstoffatom der Isocyanatgruppe ($-N=C=O$) ist wegen der benachbarten elektronegativeren Sauerstoff- und Stickstoffatome positiviert. Ein freies Elektronenpaar des Sauerstoffatoms der Hydroxylgruppe ($-OH$) „klappt“ zum positivierten Kohlenstoffatom und bildet mit diesem eine Bindung aus. Gleichzeitig wird ein Bindungselektronenpaar der $N=C$ Doppelbindung zum Stickstoffatom verschoben. Dadurch trägt das Stickstoffatom eine negative Ladung und das Sauerstoffatom eine positive Ladung. Zum Ladungsausgleich wird das Proton der ursprünglichen Hydroxylgruppe auf das Stickstoffatom der ursprünglichen Isocyanatgruppe übertragen, wobei die Urethangruppe entsteht.

Die Polyurethanbildung erfordert mindestens zwei verschiedene Monomere, im einfachsten Fall Diol und Diisocyanat. Sie verläuft in Stufen. Zunächst entsteht aus Diol und Diisocyanat ein bifunktionelles Molekül mit einer Isocyanatgruppe (-N=C=O) und einer Hydroxylgruppe (-OH). Dieses kann an beiden Enden mit weiteren Monomeren reagieren.

Dabei entstehen wie in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt kurze Molekülketten, sogenannte Oligomere. Diese können mit weiteren Monomeren, anderen Oligomeren oder bereits gebildeten Polymeren reagieren.

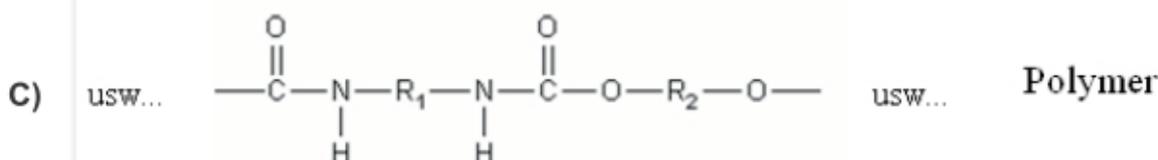
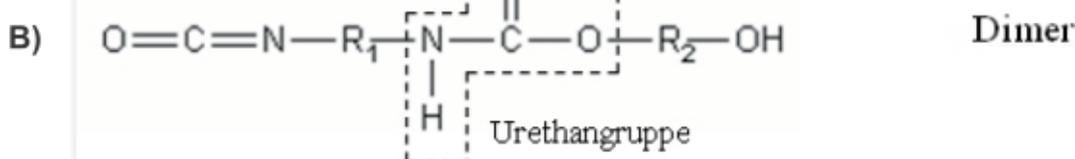


Abb. 6: A/B/C Synthesereaktion: Entstehung von Polyurethan.
 (Abbildung mit freundlicher Genehmigung durch Dr. Uwe Wienhold, Chemiker, Fa. Wienhold-Consult, Magdeburg)

1-Komponenten System:

Polyole als Überbegriff stellt eine rein chemische Nomenklatur dar, die das Vorhandensein mehrerer Hydroxylgruppen anzeigt. Bei Raumtemperatur sind Polyole meist hochviskos bis fest. Dies liegt begründet in der Tatsache, dass sich Wasserstoffbrücken unter den einzelnen Molekülen ausbilden. Hochverzweigte, gesättigte Polyester stellen die Basis für hochvernetzte Beschichtungen und sind verantwortlich für die Eigenschaften ETC.

2-Komponenten System:

Isocyanate lassen sich durch Umsetzen von Phosgen mit den entsprechenden Aminen herstellen. Dabei wird in zwei Schritten Chlorwasserstoff abgespalten:

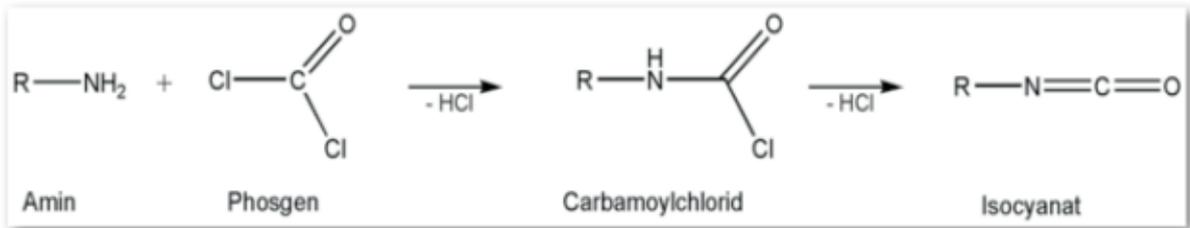


Abb. 7: Herstellung von Isocyanat.

(Abbildung mit freundlicher Genehmigung durch Dr. Uwe Wienhold, Chemiker, Fa. Wienhold-Consult, Magdeburg)

Das Verhältnis Polyol/Isocyanat bestimmt die Vernetzungsdichte und dient als „Härter“.

In der Abbildung 8 ist der Vergleich zwischen beschichteter und unbeschichteter Materialoberfläche dargestellt.



Abb. 8: Darstellung ETC-Effekt: Material beschichtet versus unbeschichtet.

(Abbildung mit freundlicher Genehmigung durch Dr. Uwe Wienhold, Chemiker, Fa. Wienhold-Consult, Magdeburg)

Durch die Etablierung von sehr glatten Oberflächen (Rauheit ca. 7 nm) mit einer sehr niedrigen freien Oberflächenenergie können Schmutz und Mikroorganismen nur schwer an der Oberfläche anhaften. Die Abbildung 9 zeigt die „Wie“-Beschichtung auf den jeweiligen Stentmaterialproben.

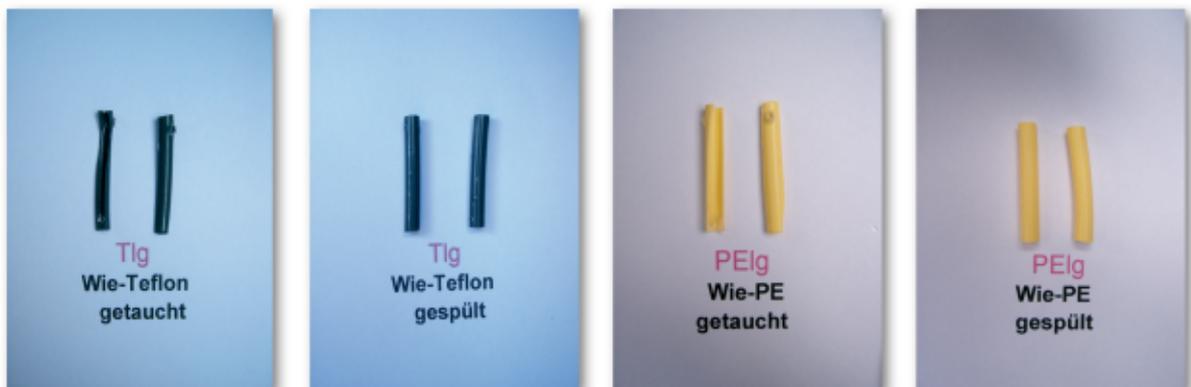


Abb. 9: Beschichtete Wie-Teflonprobe halbrund+getaucht/rund+gespült und beschichtete Wie-(PE)Polyethylenprobe halbrund+getaucht/rund+gespült.

3.1.3.2 Probe: Wieg202c

„Wieg“ stellt ein analoges Beschichtungssystem zu „Wie“ dar. Die Probe „Wieg202c“ ist im Vergleich mit hydrophobierten Nanopartikeln mit einer Größe von 20nm auf der Basis von pyrogener Kieselsäure (Siliciumdioxid= SiO_2) zusätzlich hydrophobiert, um möglicherweise eine strukturierte Oberfläche des Beschichtungssystems zu erhalten.

Siliciumdioxid:

Synthetisches SiO_2 , das meist amorph vorliegt, wird großtechnisch in unterschiedlichen Prozessen in großen Mengen erzeugt. Die großtechnische Herstellung von synthetischem SiO_2 erfolgt hauptsächlich über Fällungsprozesse ausgehend von Wasserglas, das durch Aufschließen von Quarzsand mit Natriumcarbonat oder Kaliumcarbonat erhältlich ist. So erzeugtes SiO_2 nennt man je nach Prozessbedingungen Fällungskieselsäuren oder Kieselgele. Eine weitere wichtige Herstellungsvariante ist die Erzeugung von so genanntem pyrogenem SiO_2 in einer Knallgasflamme, ausgehend von flüssigen Chlorsilanen wie Siliciumtetrachlorid (SiCl_4).

Pyrogene Kieselsäuren sind amorphe SiO_2 -Pulver von 5-50 nm Durchmesser und mit einer spezifischen Oberfläche von 50-600 m^2/g . Der Name verweist auf das häufig angewandte Herstellungsverfahren durch Flammenhydrolyse – der bei der Verbrennung von Knallgas entstehende Wasserdampf zersetzt Silane zu SiO_2 .

Abbildung 10 zeigt die mit Nanopartikel beschichteten Gallengangprothesen.

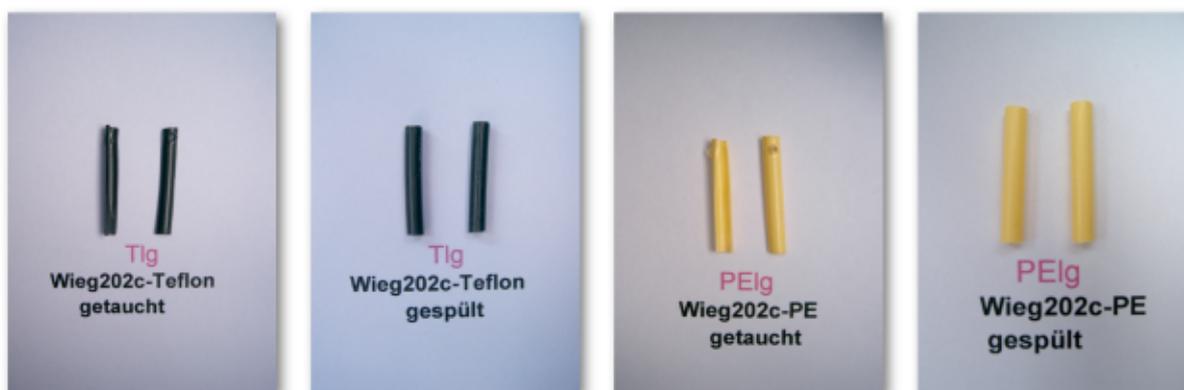


Abb. 10: Beschichtete Wieg202c-Teflonprobe halbrund+getaucht/rund+gespült und beschichtete Wieg202c-(PE) Polyethylenprobe halbrund+getaucht/rund+gespült.

Im Gegensatz zu den Arbeiten von A.-C. Schäfer und S. Haag wurden keine hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungen untersucht.

3.2 Methoden

3.2.1 Bau der Schwenkapparatur

Die bisher vorliegenden In-vitro-Untersuchungen über Biofilm- und Sludgeentstehung auf Gallengangendoprothesen erforderten einen sehr hohen maschinellen und personellen Aufwand (Lammer et al. 1986, Dowidar et al. 1992, Leung et al. 1992, McAllister et al. 1993, Hofman et al. 1994).

Dem entgegen sollte in Anlehnung an die Versuchsreihe von A.-C. Schäfer auch bei dieser Arbeit nach einer kostengünstigen und effektiven Lösung Ausschau gehalten werden. Benötigt wurde eine Konstruktion, die es ermöglicht ein gleichmäßiges, kontinuierliches Hin- und Herschwenken des flüssigen Mediums Galle in 6 übereinander gelagerten 12-Well-Plates in-vitro zu imitieren.

Mit freundlicher Unterstützung durch Fa. Hans-Christian Grosse, Medizintechnik/ Arzt- und Krankenhausbedarf GmbH & Co KG Dahldorf, wurde eine Schwenkvorrichtung konstruiert, die einerseits im Vergleich zu Voruntersuchungen noch weniger Stellfläche im Inkubator einnimmt und andererseits eine bestimmte Schwenkfrequenz sowie einen Neigungswinkel von 10° nicht überschreitet. Des Weiteren musste die Apparatur aus einem Baumaterial angefertigt werden, welches über Wochen der Temperatur von 37°C standhält.

Als Basis und Halterung für die Well-Plates wurde eine 16×10 cm große klimaresistente Aluminiumplatte. Das Baumaterial wurde freundlicherweise von der Fa. Vomek, Schlossereibetrieb Ellerhoop, Mitarbeiter Herr Ralf Dicks, zur Verfügung gestellt. Um das Inkubationsmedium während des Betriebes nicht über den Rand der Well-Plates treten zu lassen, konnte der Neigungswinkel optimal in vier Stufen eingestellt werden. Die Geschwindigkeit wurde über ein 12 Volt Netzteil (Conrad Elektronik) stufenlos geregelt. Für die Versuchsreihe wurde eine Stromzufuhr von $3,75\text{V} = 10$ Schwenkbewegungen/min gewählt. Angetrieben wurde die Schwenkvorrichtung durch einen kleinen kunststoffummantelten Motor, der über ein Kugellager mit der Grundplatte in Verbindung stand. Die Abbildung 11 zeigt die nach Aufmaß gefertigte Schwenkapparatur.

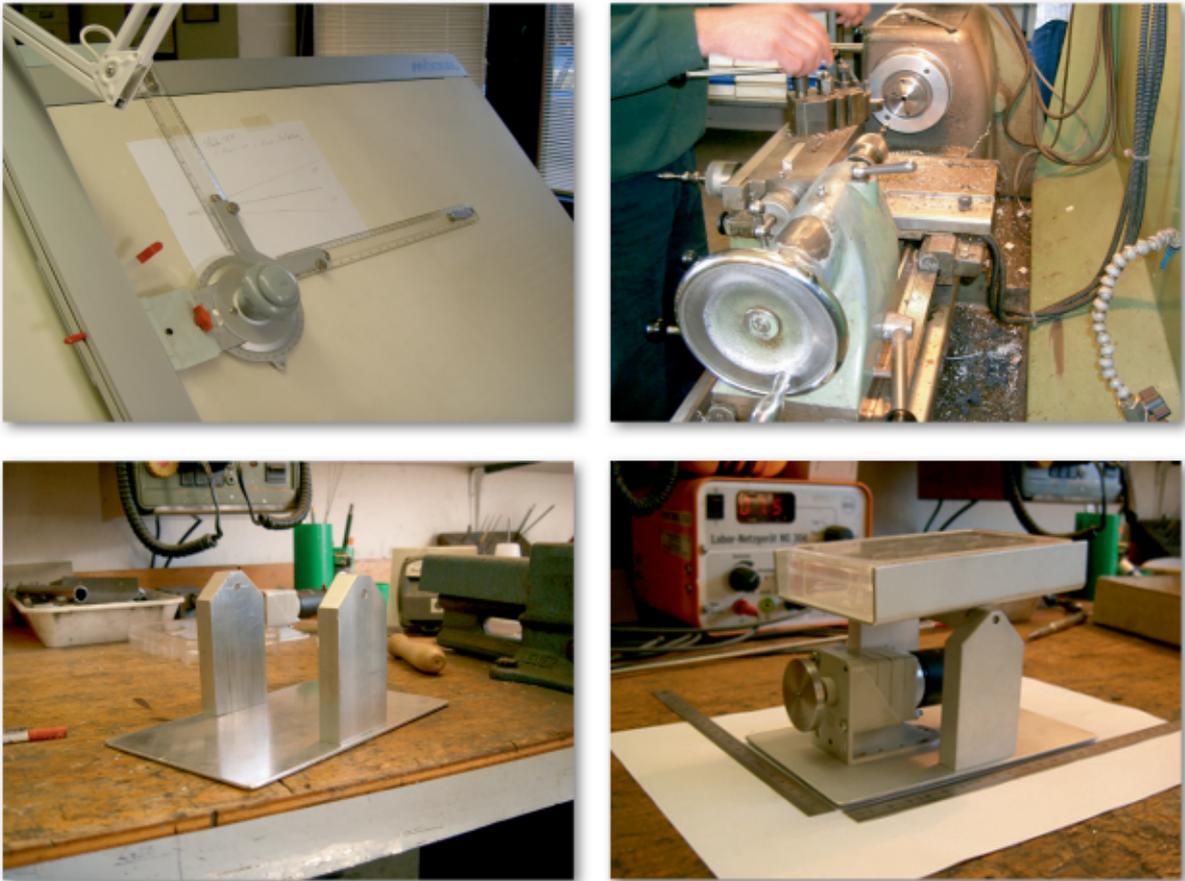


Abb. 11: Planung und Bau der Schwenkapparatur mit Well-Plates.

3.2.2 Aufbereitung der Gallenflüssigkeit

Die einzelnen Galleproben wurden zunächst strikt getrennt voneinander aufbewahrt. Damit in der nachfolgenden Versuchsreihe ein definitives Bakteriumwachstum gewährleistet war, wurde jede Abnahmemenge auf Antibiotikarückstände getestet. Bei negativem Testergebnis, d.h. kein Nachweis von Antibiotikaspuren, konnte die Galle gepoolt werden.

3.2.3 Mikrobiologischer Test

In Zusammenarbeit mit Herrn Dr. Zöllner, Institut für Mikrobiologie am Universitätskrankenhaus Hamburg-Eppendorf, wurde der Test auf Antibiotikarückstände in der Galle durchgeführt.

Zu Beginn der Testung wurde der mit *Bazillus* beimpfte Nährboden in 12 Testflächen aufgeteilt und mit den Ziffern 1-5 gekennzeichnet. Die identisch beschrifteten Gallenproben wurden mit einer 10 µl Pipette gemäß den markierten Flächen aufgetragen, wobei je zwei Testflächen mit der gleichen Probe bestückt wurden. Im Anschluss wurde die Agaroseplatte für 24 Std. bei 37°C inkubiert. Hätte sich um eine Testfläche ein sogenannter Hemmhof gebildet, wäre dies ein Anzeichen dafür gewesen, dass

die Galleprobe mit Antibiotika versetzt gewesen wäre. In diesem Fall hätte sie verworfen und entsorgt werden müssen. Nach Ablauf der Inkubationszeit, war in keiner der Probe ein Antibiotikarückstand nachzuweisen. Die 5 verschiedenen Flaschen konnten im Folgeschritt in einem Behältnis gepoolt werden

3.2.4 Zentrifugieren der Galle

Die Galle wurde aus den Glasflaschen portionsweise in 12 á 50 ml Falcon-Tubes abgefüllt. Je 6 Tubes wurden über einen Zeitraum von 20 min bei 8000 Umdrehungen/min und einer Temperatur von 15°C mittels einer Tischzentrifuge von großen Zellen, Keimen und kristallinen Präzipitaten getrennt. Im zweiten Arbeitsschritt wurde ein 500 ml Millipore Sterifilter an eine Wasserstrahlpumpe gekoppelt. Der Überstand der zentrifugierten Röhrchen wurde mittels dieses Sterifilters filtriert. Im darunter befindlichen Auffangbehälter sammelte sich die von Schwebeteilchen befreite Galle. Die Flüssigkeit wurde in einer 1800 ml Glasfalsche gepoolt. Die Gesamtmenge der gefilterten Galle betrug 1600 ml. Anschließend fand die Abfüllung von je 45 ml gereinigter humaner Gallenflüssigkeit in 36 á 50 ml Falcon-Tubes statt. Bis zur weiteren Verarbeitung erfolgte die Einlagerung bei -21°C.

3.2.5 Bestrahlung der Galle

In der Klinik und Poliklinik für Chirurgie am Universitätskrankenhaus Hamburg-Eppendorf, Abteilung Transfusionsmedizin, erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau Dr. Lubitz die Bestrahlung der Galle. Dieser Vorgang war notwendig, um die Flüssigkeit zu sterilisieren. Durch die absolute Keimfreiheit konnte gewährleistet werden, dass in der geplanten Versuchsreihe ein kontrolliertes Wachstum unter dem eingesetzten Bakterienstamm stattfinden kann.

Die tiefgekühlten Tubes wurden für den Transport auf Trockeneis gelagert, in Styroporboxen verstaut und lediglich für die Bestrahlungsdauer von 9 min, entsprechend 30 Gray, entnommen. Zur Durchführung diente ein Blutbestrahlungsgerät der Fa. Hans Wällischmiller GmbH Markdorf Rossendorf vom Typ HWM 400D. Bis zur Verwendung wurde der Galle-Pool erneut bei -21° C tiefgefroren.

3.2.6 Ansatz des Untersuchungsmediums

Beim Ansatz des Gallemediums orientierten S. Haag und ich uns zur Gewährleistung der Vergleichbarkeit an den Versuchsbedingungen von A.-C. Schäfer, die 3 ml Gallenflüssigkeit mit 75 µl E. coli- Bakteriumsuspension versetzte. Dieser Keim besitzt β -Glucuronidase Aktivität, die bei der Entstehung des Biofilmes eine bedeutende Rolle spielt.

Bei dieser Arbeit konnte auf die Beobachtung des Bakteriumwachstums mittels Fluoreszenzmikroskopie sowie einer Doxycyclin-versetzten Kontroll-Leerprobe verzichtet werden. Der Nachweis bakterieller Sludgebildung wurde bereits durch A.-C. Schäfer erbracht.

Der verwendete Standard-Stamm E. coli (DH5 α) wurde von der Fa. Clontech, Heidelberg (pDsRed2; Katalog #6943-1) hergestellt. Das Plasmid pDsRed2 enthält eine Origin-Sequenz für die Vermehrung in Bakterien, ein Ampicillin-Resistenz-Gen sowie das DsRed2- Gen für ein rot-fluoreszierendes Protein (RFP).

Um fahrlässig eingeschleppte Keime oder auch bereits im Inkubator vorhandene Bakterien umgehend zu eliminieren, wurde im Unterschied zu dem damals verwendeten Medium 300 μ l statt 100 μ l Ampicillin-Lösung zugesetzt. Bei dieser Wirkstoffkonzentration von 100 μ g/ml Galle konnte eine wesentliche Wachstumsbeeinträchtigung von DH5 α ausgeschlossen werden. In 1 ml Bakteriensuspension befanden sich 1.000.000 Keime.

3.2.7 Zuschnitt der Stentprothesen

Das in dieser Studie verwendete Teflonrohrmaterial wurde von der Fa. Hans-Christian Grosse, Medizintechnik/Arzt- und Krankenhausbedarf GmbH & Co KG Dahldorf, gestellt.

Der klinische Einsatz sieht vor, Stents verschiedener Längen und Durchmesser individuell aus einem Teflonschlauch anzupassen. In Anlehnung an die Praxis, entschieden wir uns Teflon und Polyethylen mit einem Durchmesser von 10 Fr als Probenmaterial zu verwenden. Der Innendurchmesser der verwendeten 12-Well-Plates weist 20mm auf. Um ein Aufliegen der Materialien zu verhindern, wurden die Stents auf ca. 22 mm Länge zugeschnitten.

3.2.8 Beschichtungsverfahren

Die ursprüngliche Vorgehensweise in der Studie von A.-C. Schäfer sah vor, den Teflonschlauch erst nach dem Beschichtungsverfahren zu schneiden. Dies führte zu erheblichen Beschädigungen der Oberflächenstruktur, so dass die Proben nur bedingt auswertbar waren.

Zur Optimierung wurden in dieser Studie die verwendeten Proben vor der Beschichtung auf entsprechende Länge geschnitten. Ein Teil der ca. 20mm langen Teflonstents wurde halbiert und anschließend wie in Abbildung 12 dokumentiert am Ende der Probe mit einem Loch versehen, durch welches ein Befestigungsdraht gezogen wurde. An dieser Haltevorrichtung konnte die Probe in die jeweilige Flüssigkeit eingetaucht werden, um dann im zweiten Schritt zum Abtropfen des Überstandes und Trocknen an einem Gitter sicher befestigt zu werden. Daraus resultierende Gewichts-differenzen unter 10% wurden toleriert.

Die restlichen, nicht halbierten Proben, wurden schonend mittels einer Pinzette im Tauchverfahren beschichtet. Um sicher zu stellen, dass auch die Innenseite beschichtet wird, wurden die runden Prothesen mehrfach mit einer Spritze durchgespült. Die Trocknung fand auf einem Dorn in einer Aluminiumschale statt. Das Trocknungsverfahren wurde z.T. in einem Trockenschrank bei 90°C durchgeführt.



Abb. 12: Stentproben im Trocknungsverfahren **A:** Halbrunde Prothese: Abtropfen des Überstandes der Stentbeschichtung. **B:** Runde Prothese: Trocknung der Stentbeschichtung in der Aluminiumschale. **C:** Trocknung der Stentbeschichtung im Trockenschrank bei 90°C.

3.2.8.1 Haftungsproblematik – Ursachenforschung – Lösungsansätze

Um die Gallengangprothesen unversehrt von Magdeburg nach Hamburg zu transportieren, wurden sie von der Drahtaufhängung gelöst und in Plastikbehälter gelagert. Beim Entfernen des Drahtes löste sich ein Teil der Beschichtung ab.

Folgende Ursachen wurden diskutiert:

- Teflon ist als Trägermaterial für einige Beschichtungsarten zu glatt – aufgrund dessen ungeeignet
- Die Viskosität des Beschichtungsmaterials ist zu hoch – dadurch wurde eine zu große Schichtdicke erreicht
- Das Trägermaterial oder die Beschichtung dehnen sich beim Trocknen im Trockenschrank bei 90°C aus – dieser Vorgang führte zum Abplatzen der Beschichtung

Die nachstehenden Lösungsansätze wurden mit Dr. Uwe Wienhold, Chemiker, Fa. Wienhold-Consult, Magdeburg, diskutiert und durchgeführt:

- Alternativ wird neben Teflon Polyethylen aus Beständen der Klinik und Poliklinik für Interdisziplinäre Endoskopie am UKE als Trägermaterial verwendet
- Die Viskosität der verschiedenen Beschichtungsmaterialien wird durch Verdünnung mit Lösungsmittel verringert
- Die Trocknung der beschichteten Proben findet bei 20°C Raumtemperatur statt

3.2.8.2 Geometrie – Rettungsanker alternativer Methodik zur Überprüfung der Oberflächeneigenschaften?

Beim Anfertigen der Proben wurde wie oben beschrieben ersichtlich, dass diese nicht exakt identisch nach Größe und Gewicht zugeschnitten werden konnten. Die Quantifizierung der Versuchsreihe wurde durch die unterschiedlichen Formen -rund bzw. halbrund – zusätzlich erschwert.

Alternativ wurde der Einsatz von quadratischen Plättchen diskutiert. Durch eine definierte Größeneinheit hätte eine präzisere Aussage hinsichtlich des Gewichts der Anhaftungsmaterialien in Bezug auf die Probenfläche getroffen werden können. Jedoch erwies sich dieser Denkansatz zum einen aus Kostengründen nicht praktikabel. Zum anderen kann diese geometrische Form als praxisfremd gewertet werden, da sie keine Aussage zur Haftung der Beschichtung auf dem im klinischen Einsatz verwendeten Teflonschlauch zulassen würde.

3.2.9 Versuchsanordnung

3.2.9.1 Verblindungsschema

In Kooperation mit S. Haag flossen in die Untersuchung insgesamt 14 Beschichtungsarten, zuzüglich der Referenzprobe „Teflon unbeschichtet“, ein. Von den halbrunden Proben wurden jeweils 10, von den Runden jeweils 2 angefertigt und beschichtet. Die endgültige Menge von 68 Proben teilte sich auf jeweils 7 Halbrunde und jeweils 2 der Runden für die Referenzprobe auf.

Die verschiedenen Proben, 14 beschichtete plus die Referenzprobe, wurden von einem unabhängigen Mitarbeiter des Labors verblindet und in neuer Reihenfolge willkürlich mit den Ziffern 1 bis 15 versehen. Die Identifikation durch den Untersucher war somit ausgeschlossen.

Diese Arbeit befasst sich ausschließlich mit den Stents folgender Ziffern:

Ziffer 01(08)

Ziffer 02(13)

Ziffer 06(14)

Ziffer 07(10)

Ziffer 11(07)

Ziffer 12(09)

Ziffer 13(11)

Ziffer 15(12) plus die Referenzprobe Teflon

Ziffer 09(15)

Die in Klammern gesetzte Ziffer entspricht der vor der Verblindung laufenden Zahl in der Zellkulturplatte, die bis nach Abschluss der Auswertung unzugänglich aufbewahrt wurde.

Um beim Bestücken der einzelnen Kammern sowie auch bei der Auswertung, der Gefahr einer Verwechslung entgegenzuwirken, wurden die Zellkulturplatten für die Studie wie in Abbildung 13 dargestellt gekennzeichnet.

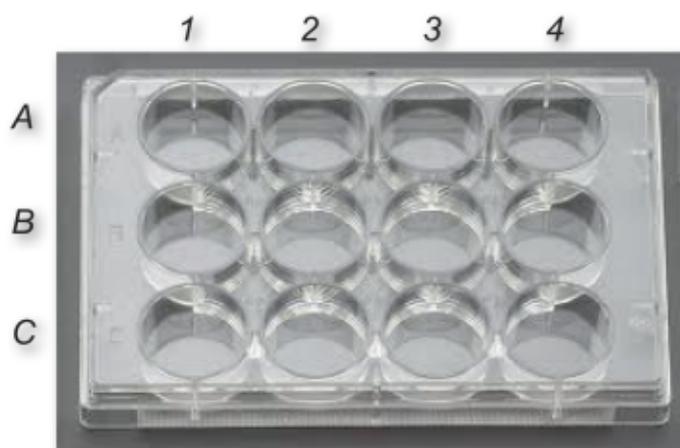


Abb. 13: Kennzeichnung der Zellkulturplatte.

3.2.9.2 Füllmenge der Kammern

Zur Bestimmung der optimalen Füllmenge der Kammern wurde eine Testreihe mit 3 ml, 3,5 ml und 4 ml durchgeführt. Einerseits mussten die Proben vollständig mit dem Medium bedeckt sein, andererseits musste ein Übertreten der Flüssigkeit über den Rand der Well-Plates beim Schwenken vermieden werden. Bei vollem Neigungswinkel wurden 3,5 ml als optimale Befüllungseinheit bestimmt. Da jedoch für die gesamte Versuchsreihe eine begrenzte Flüssigkeitsmenge von 1600 ml zur Verfügung stand, wurde die Füllmenge von 3 ml gewählt.

3.2.9.3 Inkubation und Beobachtungszeitraum

Die Planung und Durchführung dieser Studie erfolgte in gemeinschaftlicher Zusammenarbeit mit S. Haag.

Insgesamt wurden in dieser Studie 43 Proben (nebst Referenzproben) sowie 25 weitere Endoprothesen durch S. Haag untersucht. Für den Beobachtungszeitraum von 40 Tagen im Inkubator bei 37 °C wurde ein chronologischer Plan erstellt, der die Zeitpunkte für den Austausch von Substrat für das Bakterienwachstum und Gallenflüssigkeit festlegte.

Im Vorfeld wurde die in der Studie eingesetzte Schwenkvorrichtung einem Testdurchlauf unterzogen. Die 12-Well-Plates wurden dabei mit je 3 ml H₂O bestückt. Diese Füllmenge garantierte, dass einerseits die Stentproben vollständig im Medium lagen und andererseits wurde dadurch ein Überlaufen der Kammern vermieden. Mittels eines Riemens erfolgte die sichere Befestigung der Schwenkvorrichtung. Letztlich folgte die Einpassung in den Inkubator, die Installation der Stromversorgung mit einer Leistung von 3,75 Volt, die einer Tischschwenkfrequenz von 20/min entspricht.

Um eine Kontamination des Untersuchungsmediums mit Bakterien oder Pilzsporen zu verhindern, wurde für den Ansatz des Mediums eine 250 ml Glasflasche autoklaviert. Der erste Ansatz bestand aus:

- 210 ml Galle
- 5,25 ml Bakteriensuspension
- 210 µl Ampicillin-Lösung

Um dies herzustellen, wurden fünf Falcon-Tubes á 45 ml Galle, 6 ml Bakteriensuspension und 1 ml Ampicillin-Lösung in einem Wasserbad bei 37° C aufgetaut. Die nicht verwendete Restmenge wurde dokumentiert und wieder bei -21° C tiefgefroren.

Nach erstmaliger Befüllung der Kammern mit je 3 ml Galle, 75 µl Bakteriensuspension und 3 µl Ampicillin war nach 4 Tagen jeweils 1 ml Medium aus der Kammer zu entnehmen und entsprechend 1 ml neue Galle und Ampicillin hinzuzufügen. Dieser Vorgang diente zum einen zur Reduzierung der Bakterienkonzentration und zum anderen sollte den verbliebenen Bakterien unverbrauchtes Substrat zugeführt werden. Für die Substratzufuhr wurden 70 ml Gallenflüssigkeit, 70 µl Ampicillin-Lösung in einer autoklavierten Glasflasche mit dem Fassungsvermögen von 80 ml gemischt und auf die Kammern verteilt. Nach einer Woche erfolgte ein kompletter Austausch des Untersuchungsmediums. Die Entnahme des verbrauchten Mediums erfolgte mittels einer 50 ml Spritze. Die Flüssigkeit wurde ordnungsgemäß gesammelt, autoklaviert und entsorgt.

Das Verschließen der Zellkulturplatten mit Parafilm™ sorgte für die nötige Luftabschirmung und verringerte gleichzeitig den Flüssigkeitsverlust durch Verdunstung.

Da die Platten je nach Lage bzw. Höhe einem unterschiedlichen Neigungswinkel ausgesetzt waren, wurde die Reihenfolge auf der Schwenkvorrichtung notiert und im zeitlich festgelegten Intervall im Rotationsprinzip von der oberen zur unteren Position verändert. Dies hatte zur Folge, dass jede Probe im Verlauf der Studie den gleichen Versuchsbedingungen unterlag und die Stents durch das Hin- und Herschwenken der Well-Platten kontinuierlich mit dem Galle-Medium perfundiert wurden.

Der fehlerfreie Versuchsablauf wurde täglich morgens und abends kontrolliert und dokumentiert.

3.2.10 Aufbereitung und Konservierung der Stentproben

Die Aufbereitung der Proben sowie die rasterelektronenmikroskopische Auswertung wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut der Neuroanatomie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf unter Anweisung von Herrn K. Sieverts durchgeführt.

Beim Trocknen organischer Materialien an der Umgebungsluft können durch starken Wasserverlust und der daraus resultierenden Oberflächenspannung Schrumpffakte entstehen. Aus diesem Grund wurde nach Ablauf der 40 Untersuchungstage im ersten Schritt mittels Wasserstrahlenpumpe das verwendete Medium aus dem Kammern entfernt und die Stents durch Spülen mit Phosphatpufferlösung (PBS) (PBS DUBLECCO'S; Ca²⁺, Mg²⁺, Na⁺, HCO₃⁻) von flüssigen Gallenbestandteilen befreit. Im Anschluss folgte die 9-tägige Fixierung mit 3%iger Glutaraldehyd- Lösung in 0,05% PBS.

3.2.10.1 Entwässerung

Die Entwässerung bzw. Trocknung der Beläge, die für die rasterelektronenmikroskopische Auswertung unabdingbar war, erfolgte durch kontrollierten Wasserentzug. Die für eine aufsteigende Alkoholreihe erforderlichen Reagenzien wurden in autoklavierten Glasflaschen mit Ethanol 100% absolut und Aqua bidest. wie in Tabelle 3 aufgeführt mit den Konzentrationen 35%, 50%, 70%, 96% und abschließend 100% pyrogenfrei hergestellt.

Die bis dahin in Glutaraldehyd gelagerten Proben wurden in PBS gewaschen und im nächsten Schritt für jeweils 15 Minuten in die aufsteigende Alkoholreihe gelegt. Dabei wurden die mit 4 ml gefüllten Kammern Mittels einer Wasserstrahlpumpe entleert, um im Anschluss mit der nächst höheren Konzentration erneut bestückt werden zu können. Das in den Proben enthaltene Ethanol verdampfte an der Luft. Die abschließende Trockenlagerung erfolgte in einem evakuierten Exsikkator mit Silicagel.

Konzentration	Ethanol absolut (ml)	Aqua bidest. (ml)
35 %	98	182
50%	140	140
96%	196	84
100%	280	0

Tab.3: Ansatz und Mischungsverhältnis der Alkoholreihe.

3.2.11 Auswertungsmethode

Basierend auf der Annahme, Sludgeablagerung auf der Stentoberfläche führe zu einer Gewichtszunahme der Endoprothese, bestand die Auswertungsmethode aus einem semi-quantitativen und einem qualitativen Ansatz.

3.2.11.1 Semi-quantitative Methode zur Auswertung

Die semi-quantitative Beurteilung erfolgte durch Vermessen der Proben und Wiegen des Trockengewichts vor und nach Abschluss der Versuchsreihe. Bei diesem Vorgang wurde durch das Tragen von Handschuhen das Risiko einer Kontamination der Stents minimiert. Mittels Pinzette wurden die Proben einzeln aus der Zellkulturplatte entnommen und mit einer Schubleere die jeweilige Länge sowie der Durchmesser bestimmt. Im Anschluss wurde auf einer Feinwaage das Gewicht ermittelt.

Da Luftfeuchtigkeit einen Wasserfilm auf der Probe bildet, d.h. die Ergebnisse dadurch verfälscht werden könnten, mussten die Stents absolut trocken sein. Um die Prothesen von jeglicher Feuchtigkeit zu befreien, wurden die bestückten Plates zunächst in einem mit Silicagel gefüllten Behälter gelagert. Der Prozess für den Entzug der Feuchtigkeit erfolgte in einem luftundurchlässigen Plastikbehälter. Nach der Datenerhebung wurden die Well-Plates mit Parafilm™ verschlossen und bis zum Versuchsbeginn eingelagert.

3.2.11.2 Qualitative Methode zur Auswertung

Nach Ablauf der vorgesehenen Laufzeit von 40 Tagen wurde die Inkubation beendet und die Auswertung der Proben vorbereitet. Die folgenden Arbeitsschritte erfolgten in Zusammenarbeit mit dem Institut für Neuroanatomie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf.

Durch behutsames Spülen in PBS wurden die Untersuchungsmaterialien von den flüssigen Gallebestandteilen befreit. Für die im weiteren Verlauf vorgesehene Rasterelektronenmikroskopische Auswertung wurden die Stents analog zu den beschrifteten Zellkulturplatten in neue Well-Plates überführt und mit jeweils 3 ml 3%iger Glutaraldehyd-Lösung in 0,05% molarem PBS fixiert. Die Fixierung der anhaftenden biologischen Beläge auf der Oberfläche betrug 9 Tage.

3.2.11.3 Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) eignet sich zur Darstellung leitender Oberflächen. Sollen wie in der vorliegenden Arbeit biologische Objekte untersucht werden, müssen diese erst durch Aufdampfen eines Metallfilmes leitend gemacht werden. Im Vergleich zum Lichtmikroskop liegt das bestmögliche Auflösungsvermögen um den Faktor 100 höher und erreicht somit den Nanometerbereich. Der nutzbare Vergrößerungsbereich reicht von 5 bis 100.000fach, wobei bei dieser Auswertung maximal bis 10.000fach vergrößert wurde. Das für diese Studie verwendete REM vom Typ DSM 940 ist ein Produkt der Fa. Carl Zeiss, Jena, Deutschland. Mit diesem Mikroskop ist eine Spiegelreflexkamera verbunden. Für die Fotoaufnahmen wurden Ilford FP 4, 36er s/w Filme verwendet.

3.2.11.4 Aufbau des Rasterelektronenmikroskops

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. Mittels eines XY-Ablenkensystems wird ein Zeilenraster erzeugt. Die Objektoberfläche wird zeilenförmig abgetastet, wodurch sogenannte Sekundärelektronen erzeugt werden. Diese werden von einem Detektor aufgefangen und zu einem Szintillator geleitet, der sie in Lichtblitze umwandelt. Die entstandenen Lichtblitze werden von einem Fotomultiplier elektrisch rückverwandelt und verstärkt. Das erzeugte elektrische Signal wird auf einem Monitor sichtbar gemacht.

3.2.11.5 *Sputtern der Proben*

Durch das Aufbringen einer leitfähigen Schicht auf die Oberfläche der Proben werden Bildstörungen, die während der Untersuchung mit dem REM entstehen können, vermieden.

Die notwendigen Stiftprobenteller der Fa. Agar, Specimen Stubs 0.5, Nr. G 301, sind aus Aluminium gefertigt und weisen einen Durchmesser von 8 mm auf. Um die sichere Befestigung zu gewährleisten, wurden die Stents auf 10 mm gekürzt. Zur Verstärkung der elektrischen Leitfähigkeit, wurden die Proben mit Leitsilber aufgeklebt.

Zum Besputtern der Stents wurden jeweils drei Stiftprobenteller gleichzeitig in den Sputter Coater gestellt. Mittels des Sem-Coating Systems der Fa. Bio-Rad Laboratories GmbH (Microscience Division) München, wurde innerhalb von zwei Minuten eine Goldschicht aufgetragen. Damit der Elektronenfluss nicht durch andere Moleküle abgelenkt wird, wurde die im Sputter enthaltene Luft gegen Argon ausgetauscht. Durch diesen Vorgang entsteht im Inneren des Sputter Coaters ein Druck von 0,08 torr.

Die Trocknung der Stentproben erfolgte in einem mittels Vakuumpumpe evakuiertem Exsikkator mit Silicagel. Der Zeitraum für die Trocknung betrug 5 Tage. Bis zur Auswertung unter dem Rasterelektronenmikroskop wurden die beschrifteten und bestückten Stiftprobenteller in einem evakuierten Exsikkator mit Silicagel als Trockenmittel gelagert.

3.2.11.6 *Kriterien zur Auswertung und Dokumentation*

Jede Probe ist wie unter Tabelle 4 aufgeführt durch im Vorfeld festgelegter qualitativer und quantitativer Kriterien bewertet worden.

Halbrunde Stentabschnitte wurden hinsichtlich der Annahme unterschiedlicher Fließeigenschaften des Gallemediums und eventuell daraus resultierender Verschmutzung der Oberfläche gegenüber runden Endoprothesen bewertet. Die Ergebnisse der rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung wurden stets zu zweit durchgeführt und tabellarisch dokumentiert – sowohl in Über- als auch in Detailansicht fotografisch festgehalten. Anhand dieser Resultate wurden die unterschiedlichen Oberflächen miteinander verglichen und eine Rangfolge in Anlehnung an das „Schulnoten-System“ aufgestellt. Zunächst galt es, den Zustand der Beschichtung in Bezug auf Ablösungen vom Trägermaterial, Beschädigungen oder Unregelmäßigkeiten zu beurteilen. Die weitere Auswertung bezog sich auf die Begutachtung der beschichteten Flächen, welche mäanderförmig durchmustert wurden.

Die Anhaftung von Bakterien an Endoprothesenoberflächen stellt den initialen Prozess der Stentokklusion dar – jegliches biologische Material wie Proteinfilm und Sludge wird von ihnen gebildet. Die dadurch prozentual besiedelte Fläche und Dichte wurde separat bewertet und in Relation zu den bakteriellen Produkten gesetzt.

Auch der aufliegende Biofilm wurde in Prozent zur Gesamtoberfläche gemessen und qualitativ in Höhe und Struktur sowie nach der Lokalisation auf der Probe bewertet.

Weitere Kriterien zur Beurteilung der Oberflächeneigenschaften stellten die Verteilung von Sludge, dessen Größe und Struktur dar. Des Weiteren sind Besonderheiten wie Beschichtungstropfen, Artefakte und Unregelmäßigkeiten der Oberfläche sowie die Vergrößerungen der Fotoaufnahmen festgehalten worden.

Beschichtung	Grading
Bis 100% intakt	0
Bis 75 % intakt	1
Bis 50 % intakt	2
Bis 25 % intakt	3
0 % intakt	4

Bakterienwuchs/GO (Gesamtoberfläche)	Grading
0 %	0
Bis zu 25 %	1
Bis zu 50 %	2
Bis zu 75 %	3
Bis zu 100 %	4

Bakterienwuchs/ Dichte	Grading
0 %	0
Bis zu 25 %	1
Bis zu 50 %	2
Bis zu 75 %	3
Bis zu 100%	4
Kolonien	5
Bakterienrasen	BR

Biofilm/GO (Gesamtoberfläche)	Grading
0 %	0
Bis zu 25 %	1
Bis zu 50 %	2
Bis zu 75 %	3
Bis zu 100 %	4

Sludge/ Schichthöhe	Grading
0 %	0
Bis zu 25 %	1
Bis zu 50 %	2
Bis zu 75 %	3
Bis zu 100 %	4

Sludge/GO (Gesamtoberfläche)	Grading
0 %	0
Bis zu 25 %	1
Bis zu 50 %	2
Bis zu 75 %	3
Bis zu 100 %	4

Biofilm/ Schichthöhe	Grading
Nicht vorhanden	0
Dünn, einschichtig	1
Dick, mehrschichtig	2

Tab. 4: Auswertungskriterien zur Untersuchung der Stentproben.

4 Ergebnisse

Bei der Auswertung wurden eine semi-quantitative und eine qualitative Beurteilung der zu untersuchenden Gallengangendoprothesen vorgenommen.

4.1 Semi-quantitative Auswertung der beschichteten Gallengangendoprothesen

Bei der Auswertung der einzelnen Endgewichte zeigte sich bei 43 Proben lediglich bei 4 Stents, entsprechend 9,3%, eine Gewichtszunahme, wobei hingegen bei 30,2% eine Gewichtsabnahme zu verzeichnen ist. Ein Vergleich mit der REM-Auswertung wies kein Korrelat bezüglich der Gewichtsunterschiede auf.

Die Ergebnisse zeigen, dass sogar innerhalb einer Beschichtungsart – insbesondere bei „Wie-PE“ – trotz dichtem Biobelag das Gewicht abnahm. Tabelle 5 zeigt die Auflistung der untersuchten Stentproben mit Ausgangsgewicht, Endgewicht sowie Prothesenlänge. Die rotmarkierten Zahlen bedeuten Gewichtszunahme, die grünmarkierten Zahlen verweisen auf eine Gewichtsabnahme.

Proben-Nr.	Ausgangsgewicht (mg)	Endgewicht (mg)	Länge (mm)
01-1 = Wie, Teflon gespült	214	215	20,5
01-2 = Wie, Teflon gespült	226	226	21,5
02-1 = Wieg202c, PE getaucht	92	100	22,0
02-2 = Wieg202c, PE getaucht	79	79	22,0
02-3 = Wieg202c, PE getaucht	102	102	22,0
02-4 = Wieg202c, PE getaucht	99	99	22,5
02-5 = Wieg202c, PE getaucht	103	104	22,5
02-6 = Wieg202c, PE getaucht	87	87	21,5
02-7 = Wieg202c, PE getaucht	102	102	22,0
06-1 = Wieg202c, PE gespült	178	180	21,0
06-2 = Wieg202c, PE gespült	184	186	22,0
07-1 = Wieg202c, Teflon gespült	223	224	21,0
07-2 = Wieg202c, Teflon gespült	228	228	21,5

Proben-Nr.	Ausgangsgewicht (mg)	Endgewicht (mg)	Länge (mm)
09-2 = Teflon unbeschichtet	137	137	21,5
09-3 = Teflon unbeschichtet	185	185	22,0
09-4 = Teflon unbeschichtet	175	175	22,0
09-5 = Teflon unbeschichtet	125	125	21,5
09-6 = Teflon unbeschichtet	160	160	22,0
09-7 = Teflon unbeschichtet	168	167	22,0
11-1 = Wie, Teflon getaucht	155	156	22,0
11-2 = Wie, Teflon getaucht	125	125	21,0
11-3 = Wie-Teflon, getaucht	113	113	22,0
11-4 = Wie-Teflon, getaucht	120	119	23,0
11-5 = Wie-Teflon, getaucht	100	99	22,2
11-6 = Wie, Teflon getaucht	114	114	21,0
11-7 = Wie, Teflon getaucht	115	113	22,0
12-1 = Wieg202c, Teflon getaucht	134	135	21,5
12-2 = Wieg202c, Teflon getaucht	145	144	21,5
12-3 = Wieg202c, Teflon getaucht	106	106	22,0
12-4 = Wieg202c, Teflon getaucht	123	122	22,0
12-5 = Wieg202c, Teflon getaucht	116	116	22,0
12-6 = Wieg202c, Teflon getaucht	99	99	22,0
12-7 = Wieg202c, Teflon getaucht	116	116	22,0
13-1 = Wie, PE getaucht	109	108	21,0
13-2 = Wie, PE getaucht	108	108	21,0
13-3 = Wie, PE getaucht	84	82	21,0
13-4 = Wie, PE getaucht	75	74	21,5
13-5 = Wie, PE getaucht	122	122	22,0
13-6 = Wie, PE getaucht	75	74	21,5
13-7 = Wie, PE getaucht	123	122	21,5
15-1 = Wie, PE gespült	184	182	22,0
15-2 = Wie, PE gespült	173	172	21,0

Tab. 5: Auswertung der Prothesenendgewichte

4.1.1 Überprüfung der semi-quantitativen Auswertung

Als Ursache der Gewichtsabnahme könnte das Auslösen von im Teflon und Polyethylen enthaltenen sogenannten Weichmachern verantwortlich sein. Weichmacher sind Ester höherer Alkohole und bewirken die Vernetzung von Molekülen, die entscheidend für die Flexibilität eines Materials sind.

In einer Testreihe zur Überprüfung der semi-quantitativen Methode wurde unbehandeltes Teflon 12 fr (braun) sowie 10 fr (weiß) auf 35 mm Länge geschnitten (insgesamt 42 Proben) und für einen Zeitraum von 20 Tagen in Well-Plates auf der Schwenkvorrichtung bei 37°C im Inkubator unten genannten diversen Medien ausgesetzt. Das Gewicht wurde vor und nach Versuchsbeginn mittels Feinwaage dokumentiert.

Nach Ansatz der Medien wurden vier 6-Well-Plates nach Vorgabe beschriftet, wobei sich in jeder Zellkulturplatte zwei Proben befanden, ein brauner 12 fr und ein weißer 10 fr Stent. In der vierten Zellkulturplatte war je eine Probe enthalten (Tabelle 6).

Well-Plate	Medium
I1 – I3	kein Medium
I4 – I6	je 6 ml NaCl-Lösung 0,9 %
II1 – II3	je 6 ml PBS pH 6
II4 – II6	je 6 ml PBS pH 8
III1 – III3	je 6 ml Alkohol absolut 100 % unvergelt
III4 – III6	je 6 ml Alkohol 70 %
IV1 – IV3	je 6 ml Aqua bidest
IV4 – IV6	je 6 ml Sonnenblumenöl

Tab. 6: Verteilung der Zellkulturplatten und Medien im Rahmen der Testreihe zur Überprüfung der semi-quantitativen Methode.

Zum Versuchsstart wurden die Plates mit Parafilm™ verschlossen, auf der Schwenkvorrichtung befestigt, die Schwenkvorrichtung im Inkubator installiert und auf 3,75 V Leistung eingestellt. Um den optimalen Kontakt zur Teflonoberfläche zu gewährleisten, fand ein Mediaustausch statt. Dabei wurde das Medium mittels einer Wasserstrahlpumpe abgesaugt und anschließend nach dem vorgegebenen Schema neu befüllt.

Nach Versuchsende erfolgte das Absaugen des Mediums. Die Proben sind durch Waschen von Resten des Mediums befreit worden. Die NaCl- und PBS-Proben wurden mit Aqua bidest, die Öl-Proben mit PBS + Tween 20 (0,05 %) mit Aqua bidest gewaschen. Der Trocknungsprozess fand zunächst auf beschriftetem Filterpapier an der Luft statt, es folgte die Überführung der Proben in vorbereitete Plates mit Silicagel in einen Trockenbehälter.

Bei nur 3 der insgesamt 42 Proben konnte eine Gewichtsabnahme von je 1 mg festgestellt werden. Die in Sonnenblumenöl gelagerten Proben verzeichneten eine Gewichtszunahme von je 1 mg, die durch Ölanhaftungen erklärt wurde.

Es konnte somit nicht bestätigt werden, dass durch die Einwirkung der oben beschriebenen Medien Bestandteile des Teflons ausgelöst wurden. Als Ursache der Gewichtsabnahme innerhalb der Hauptmessreihe wurden die jeweiligen Beschichtungen ausgemacht. Zum einen könnten aufgetretene Haftungsprobleme auf der Teflonoberfläche ursächlich sein. Zum anderen könnte diskutiert werden, ob durch das Einwirken der einzelnen Umwelteinflüsse Teile der Beschichtungen gelöst werden könnten.

4.2 Qualitative rasterelektronenmikroskopische Beurteilung

Unter dem REM konnte bei jeder Probe deutlich zwischen intakter und beschädigter Oberfläche unterschieden werden, so dass in die Beurteilung ausschließlich beschichtete Stentabschnitte (ausgeschlossen die Referenzprobe) flossen. Aufgrund der Haftungsproblematik wurde der Beschichtungszustand gesondert gewertet. Die fotografische Dokumentation der rasterelektronenmikroskopischen Aufnahmen befindet sich in Kapitel 9.

4.3 Ergebnis der einzelnen Beschichtungen

In Tabelle 7 sind die in dieser In-vitro-Studie untersuchten Beschichtungsarten „Wie“ und „Wieg202c“ auf den Materialien Teflon und Polyethylen sowie Teflon unbeschichtet unter den Kriterien Beschichtung, Proteinfilm, Sludgebildung, Bakteriendichte sowie Besonderheiten dokumentiert. Ferner beinhaltet die Tabelle die Anzahl und Vergrößerung der Bildaufnahmen sowie die Erfassung der Gesamtnote.

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
01. Wie: Teflon, gespült							
01-1	intakt	einzelne Areale mit Proteinfilm auf ca. 50% der Oberfläche	beginnend	Einzelne sichtbar, keine Kolonien		50, 500, 1000, 2000	1,8
01-2	intakt	einzelne Areale mit Proteinfilm auf ca. 25% der Oberfläche	beginnend und fortgeschritten	vereinzelt auf der gesamten Oberfläche		50, 100, 500, 2x 2000	
02. Wieg202c: Polyethylen, getaucht							
02-1	durch Schneiden oder Sputtern gebrochen	100% der Oberfläche	fortgeschritten	mehrschichtiger Bakterienrasen, Kolonien	Fältelung der Oberfläche auf 30 % der Fläche; an einem Ende der Probe dicke Bioschicht (Sludge/Bakterien/Protein)	2x 50, 500, 2x 2000, 5000	4,2
02-2	an einem Ende abgerissen	100% der Oberfläche	fortgeschrittene Sludgebildung, Schluchten	mehrschichtiger Bakterienrasen, Kolonien	dicke Bioschicht (Sludge/Bakterien/Protein), Schrumpfartefakt der Oberfläche, löst sich ab	12, 25, 50, 500, 1000, 2000, 5000, 700 (Sludge)	4,2
02-3	in der Mitte eingerissen	100% der Oberfläche	fortgeschrittene Sludgebildung, Schluchten	mehrschichtiger Bakterienrasen, Kolonien, tlw. Eingemauert in amorphem Material	dicker Biofilm löst sich mit und ohne Beschichtung vom Untergrund ab	13, 50, 130, 2x 2000	4,2

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
02-4	teilweise abgelöst vom Untergrund	100%	fortgeschrittene Sludgebildung, Schluchten	mehrschichtiger Bakterienrasen, Kolonien, teilweise eingemauert in amorphem Material	dicker Biofilm löst sich mit und ohne Beschichtung vom Untergrund ab	16, 100, 1000, 2000	4,2
02-5	eventuell vollständig von der Probe abgelöst	sehr dünn 100 % der Oberfläche	geringe Sludgebildung	vereinzelt liegende Bakterien, teilweise eingemauert in amorphem Material	Loch für Aufhängung sichtbar	20, 200, 2000	4,2
02-6	teilweise abgelöst vom Untergrund, am Ende abgerissen	100%	fortgeschrittene Sludgebildung	mehrschichtiger Bakterienrasen, Kolonien, teilweise eingemauert in amorphem Material	dicker Biofilm löst sich mit und ohne Beschichtung vom Untergrund ab	17, 50, 500, 650, 1000, 2000	4,2
02-7	2/3 abgerissen	mit Beschichtung abgerissen, Rest 100%	ausgeprägte Sludgebildung	mehrschichtiger Bakterienrasen, Kolonien, teilweise eingemauert in amorphem Material	auch dort, wo der Film abgerissen ist, finden sich Bakterien und Sludge	20, 200, 500, 2x 2000	4,2
06. Wieg202c: Polyethylen, gespült							
06-1	intakt	100%, mehrschichtig, dicke Plaques	massive Sludgebildung, auch dicke Klumpen mit Bakterien, auch große Kalziumkristalle	massive Bakterienbesiedelung, teilweise eingemauert in dicken Biofilm, Kolonien	Artefakte als Folge der Präparation – Ablösung des Biofilms	17, 200, 500, 1000, 2000	5,9

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
06-2	intakt	100%, mehrschichtig, dicke Plaques	massive Sludgebildung, auch dicke Klumpen mit Bakterien, auch große Kalziumkristalle	massive Bakterienbesiedelung, teilweise eingemauert in dicken Biofilm, Kolonien	Biofilm teilweise abgerissen – Photo: Übergang zur beschichteten Oberfläche	20, 200, 500, 1000, 2000	5,9
07. Wieg202c: Teflon, gespült							
07-1	ca. 20 % der Beschichtung ist mit Biofilm abgelöst worden	80 % mit dickem Biofilm überzogen, tw. abgelöst	massive Sludgebildung in allen Stadien	dichte Bakterienbesiedelung auf der gesamten Oberfläche, teilweise eingemauert in dicken Biofilm, Kolonien		18, 100, 500, 1000, 2000	4,0
07-2	25 % der Beschichtung beim Schneiden abgeplatzt	100 % mit dickem Biofilm überzogen, mehrschichtig	massive Sludgebildung in allen Stadien, Schluchten	dichte Bakterienbesiedelung auf der gesamten Oberfläche, teilweise eingemauert in dicken Biofilm, Kolonien	Sludge erinnert an Bimsstein, zerklüftet, Krater	20, 2x 500, 1000, 2x 2000	4,0
09. Teflon, unbeschichtet							
09-1	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	Kratzspuren auf der Oberfläche	20, 100, 200, 2000	1,9
09-2	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	besonders in Längsrillen Ansammlungen von Bakterien	20, 1000, 2x 2000, 5000	1,9

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
09-3	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	auf den Schnittkannten dicker Biofilm mit Bakterienhaufen	20, 1000, 2x 2000, 5000	1,9
09-4	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	20, 100, 300, 500	1,9
09-5	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	auf den Schnittkannten dicker Biofilm mit Bakterienhaufen, Oberflächendefekt mit Sludgeanhäufung	20, 2x 1000	1,9
09-6	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	auf den Schnittkannten dicker Biofilm mit Bakterienhaufen	20, 3x 1000, 2000	1,9
09-7	keine	100 % mit sehr dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	geringe Sludgebildung	vereinzelte Bakteriennester, kaum freie Bakterien	auf den Schnittkannten dicker Biofilm mit Bakterienhaufen	20, 200, 2x 1000, 1200, 2x 2000, 5000	1,9

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
11. Wie: Teflon, getaucht							
11-1	eventuell total abgelöst	100 % mit dünnem filzartigem Proteinfilm überzogen	sehr große Sludgeklumpen	massives Bakterienwachstum auf der gesamten Oberfläche, Haufenbildung		30, 200, 2000	2,0
11-2	zur Hälfte abgelöst und liegt verschoben dem Untergrund auf	filzartiger Proteinfilm auf der einen Hälfte der Probe	geringe Sludgebildung	geringes Bakterienwachstum	an einer Hälfte sind die Längsrillen des Teflon sichtbar, dort vermehrt Bakterienvorkommen, auf der anderen Hälfte Beschichtung mit kleinen 1 µm großen Löchern sichtbar	20, 200, 4x 1000, 2000	2,0
11-3	an manchen Stellen Beschichtung abgerissen	vereinzelte Areale mit Proteinfilm	geringe Sludgebildung	kaum Bakterien im Lumen, auf den Schnittkanten vermehrt		20, 3x 500	2,0
11-4	teilweise abgeplatzt	große Teile der Oberfläche mit dickem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung	starkes Bakterienwachstum, Haufen- und Koloniebildung	Außenseite der Probe wird beurteilt, eventuell, Beschichtung mit Biofilm abgelöst	20, 200, 3x 500, 2000	2,0

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
11-5	zu 70 % mit oder ohne Biofilm vom Untergrund abgelöst und liegt am anderen Ende der Probe auf	kein Proteinfilm auf der Beschichtung sichtbar, am anderen Ende der Probe mehrschichtiger Biofilm	auf der unbeschichteten Fläche größere Areale mit Proteinfilm, besonders an der Übergangskante, beschichtete Fläche fast frei	auf der unbeschichteten Fläche massives Bakterienwachstum mit Haufen und Kolonien, auf der beschichteten keine Bakterien	Übergangskante beschichtet/unbeschichtet	20, 100, 500, 1000, 2x 2000	2,0
11-6	komplett abgelöst	Bewertung nicht möglich	Bewertung nicht möglich	Bewertung nicht möglich	Bewertung nicht möglich	20, 2x 500, 2x 1000	2,0
11-7	komplett abgelöst	Bewertung nicht möglich	Bewertung nicht möglich	Bewertung nicht möglich	Bewertung nicht möglich	20, 200, 500, 1000, 2000	2,0
12. Wieg202c: Teflon, getaucht							
12-1	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm und in der tiefe der Krypten	das in der Tiefe des Wells liegende Ende der Probe ist millimeterdick mit Sludge verkrustet und bildet tiefe Krypten	20, 30, 200, 2x 500, 1000, 2000	6,0
12-2	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm und in der tiefe der Krypten	das in der Tiefe des Wells liegende Ende der Probe ist millimeterdick mit Sludge verkrustet und bildet tiefe Krypten	20, 30, 50, 2x 500, 1000	6,0

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
12-3	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm und in der tiefe der Krypten	das in der Tiefe des Wells liegende Ende der Probe ist millimeterdick mit Sludge verkrustet und bildet tiefe Krypten	20, 25, 200, 3x 500, 1000	6,0
12-4	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm und in der tiefe der Krypten	das in der Tiefe des Wells liegende Ende der Probe ist millimeterdick mit Sludge verkrustet und bildet tiefe Krypten	2x 30, 200, 2x 500, 1000	6,0
12-5	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm und in der tiefe der Krypten	das in der Tiefe des Wells liegende Ende der Probe ist millimeterdick mit Sludge verkrustet und bildet tiefe Krypten	25, 30, 100, 500	6,0
12-6	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm und in der tiefe der Krypten	das in der Tiefe des Wells liegende Ende der Probe ist millimeterdick mit Sludge verkrustet und bildet tiefe Krypten	25, 30	6,0

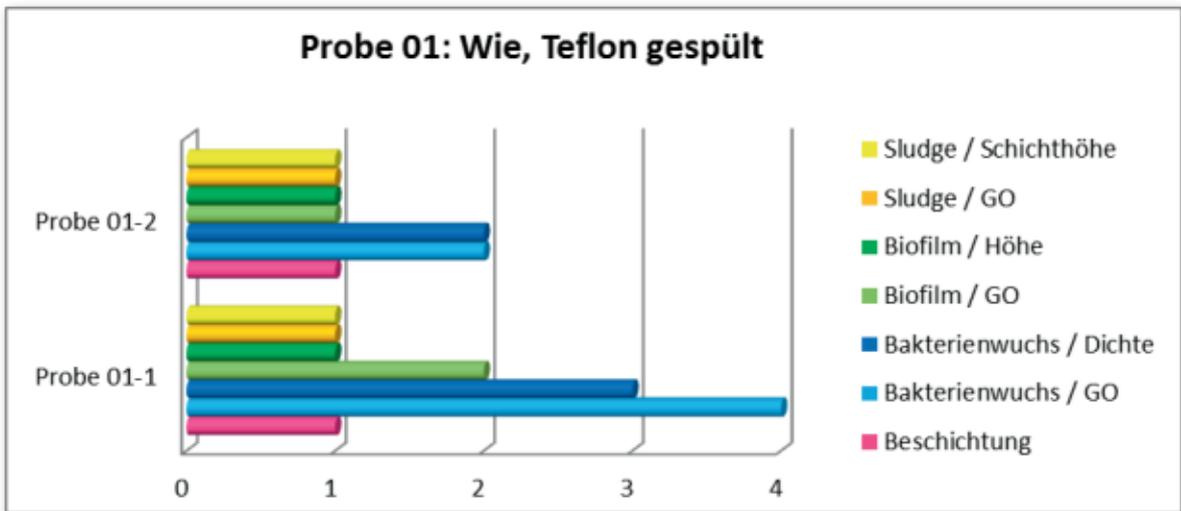
Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
12-7	intakt	100 % mit teppichartigem Biofilm überzogen	massive Sludgebildung mit großen Klumpen und Schluchten	dichter Bakterienrasen auf der gesamten Probe, teilweise eingemauert in dicken Biofilm	Probe mit Loch für Aufhängung, auf dem Lochrand ist Biofilm und Sludge hoch getürmt und dicht mit Bakterien bewachsen	25, 2x 200, 500	6,0
13. Wie: Polyethylen, getaucht							
13-1	intakt, gleichmäßige körnige Oberflächenstruktur, Tropfen	vereinzelte Areale mit Biofilm, am Tropfen der Beschichtung mehrschichtig	kleine Sludgekrümel auf der gesamten Oberfläche	einzelne liegende Bakterien auf der gesamten Oberfläche, an Biofilmarealen und am Beschichtungstropfen vermehrt	Längsrillen mit großem Abstand zueinander	30, 50, 3x 500, 3x 1000, 2000	3,2
13-2	intakt, gleichmäßige körnige Oberflächenstruktur, Tropfen	Proteinfilm fast auf der gesamten Oberfläche	ausgeprägte Sludgebildung in allen Stadien	gesamte Oberfläche von Bakterien besiedelt, teilweise eingemauert in Biofilm, Haufen und Kolonien	scharfer Übergang von dicker zu dünner beschichtetem	25, 3x 500, 2000	3,2
13-3	intakt, gleichmäßige körnige Oberflächenstruktur, keine Tropfen	vereinzelte Areale mit Biofilm	kleine Sludgekrümel auf der gesamten Oberfläche	einzelne liegende Bakterien auf der gesamten Oberfläche, an Biofilmarealen auch in Haufen liegend	Längsrillen mit großem Abstand zueinander	30, 200, 500, 1000	3,2

Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
13-4	intakt, gleichmäßige körnige Oberflächenstruktur, keine Tropfen	vereinzelte Areale mit Biofilm	kleine Sludgekrümel auf der gesamten Oberfläche	einzeln liegende Bakterien auf der gesamten Oberfläche, an Biofilmarealen auch in Haufen liegend	Längsrillen mit großem Abstand zueinander	30, 400, 500	3,2
13-5	intakt, unterschiedlich hohe körnige Oberflächenstruktur, Tropfen	Proteinfilm fast auf der gesamten Oberfläche	ausgeprägte Sludgebildung in allen Stadien	gesamte Oberfläche von Bakterien besiedelt, teilweise eingemauert in Biofilm, Haufen und Kolonien	Längsrillen mit großem Abstand zueinander	27, 2x 500, 1000	3,2
13-6	intakt, unterschiedlich hohe körnige Oberflächenstruktur, Tropfen	vereinzelte Areale mit Biofilm	kleine Sludgekrümel auf der gesamten Oberfläche	einzeln liegende Bakterien auf der gesamten Oberfläche, an Biofilmarealen auch in Haufen liegend	Längsrillen mit großem Abstand zueinander	30, 200, 1000	3,2
13-7	intakt, gleichmäßige körnige Oberflächenstruktur, keine Tropfen	vereinzelte Areale mit Biofilm	kleine Sludgekrümel auf der gesamten Oberfläche	einzeln liegende Bakterien auf der gesamten Oberfläche, an Biofilmarealen auch in Haufen liegend	Längsrillen mit großem Abstand zueinander	50, 500, 1000	3,2

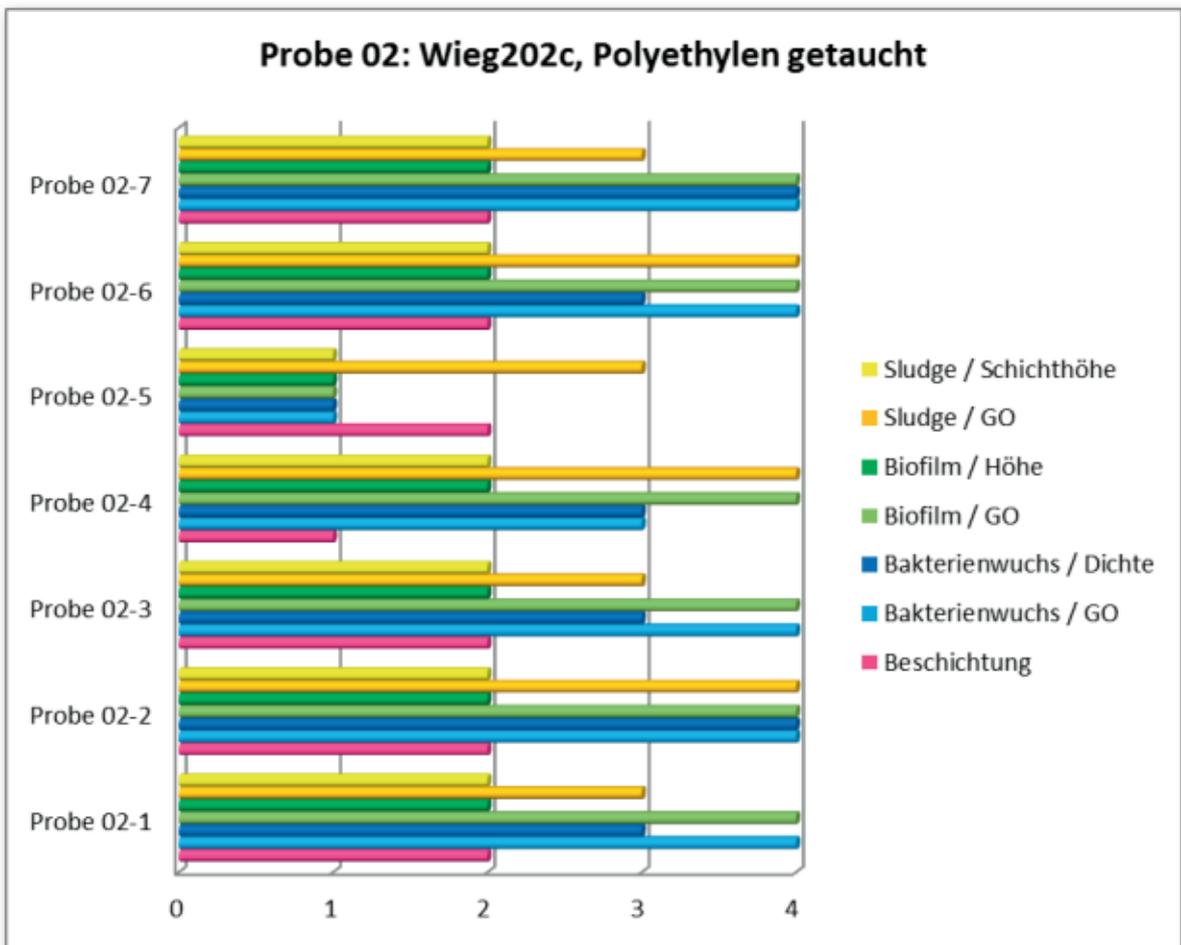
Probe	Beschichtung	Proteinfilm	Sludgebildung	Bakteriendichte	Besonderheiten	Fotos	Gesamtnote
15. Wie: Polyethylen, gespült							
15-1	intakt, kleine Artefakte, gleichmäßige körnige Oberfläche	vereinzelte Areale mit Proteinfilm	geringe Sludgebildung in frühen Stadien	nur vereinzelte Bakterien auf der Oberfläche sichtbar, keine Haufen oder Kolonien	runde, nicht-halbierete Probe von außen betrachtet	50, 200, 500, 1000	2,2
15-2	intakt, kleine Artefakte, gleichmäßige körnige Oberfläche	vereinzelte Areale mit Proteinfilm	geringe Sludgebildung in frühen Stadien	nur vereinzelte Bakterien auf der Oberfläche sichtbar, keine Haufen oder Kolonien	runde, nicht-halbierete Probe von außen betrachtet	2x 50, 500, 1000	2,2

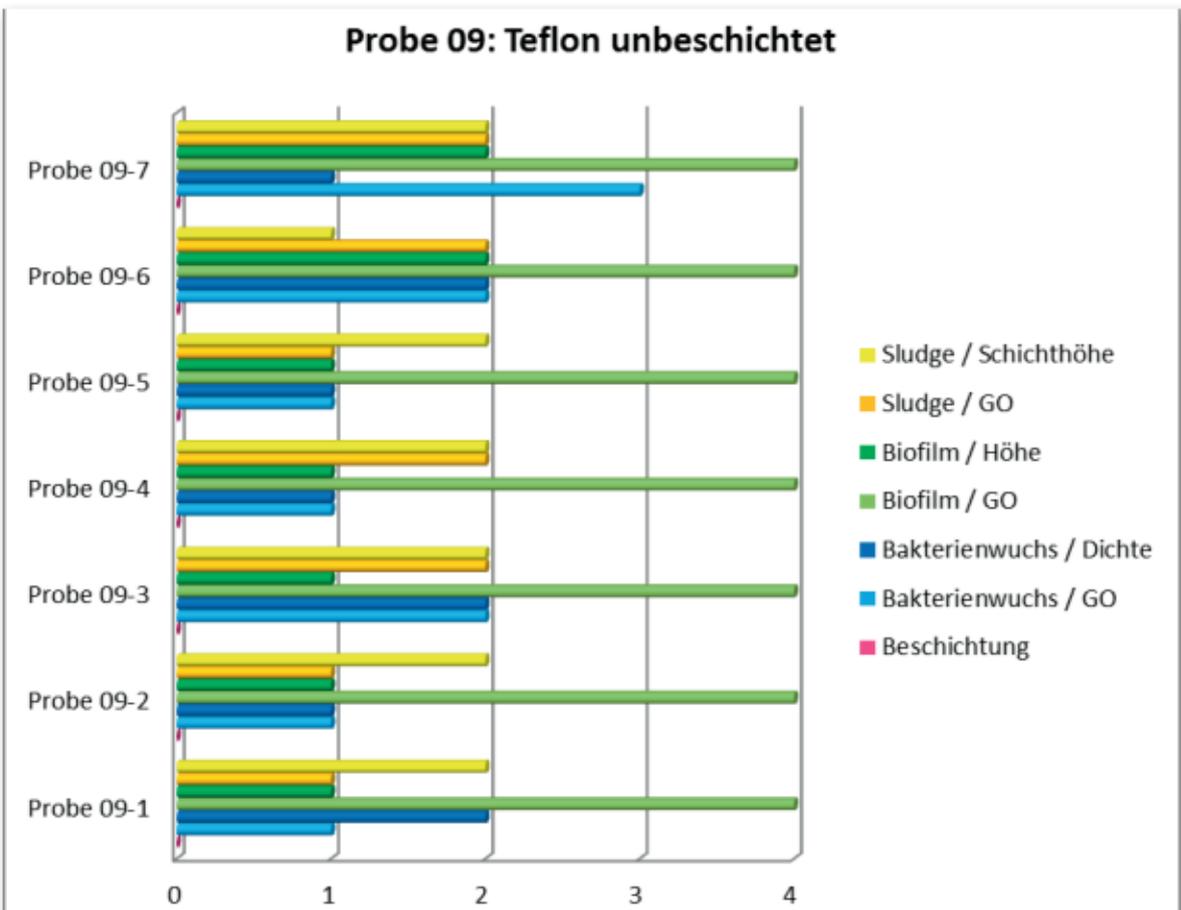
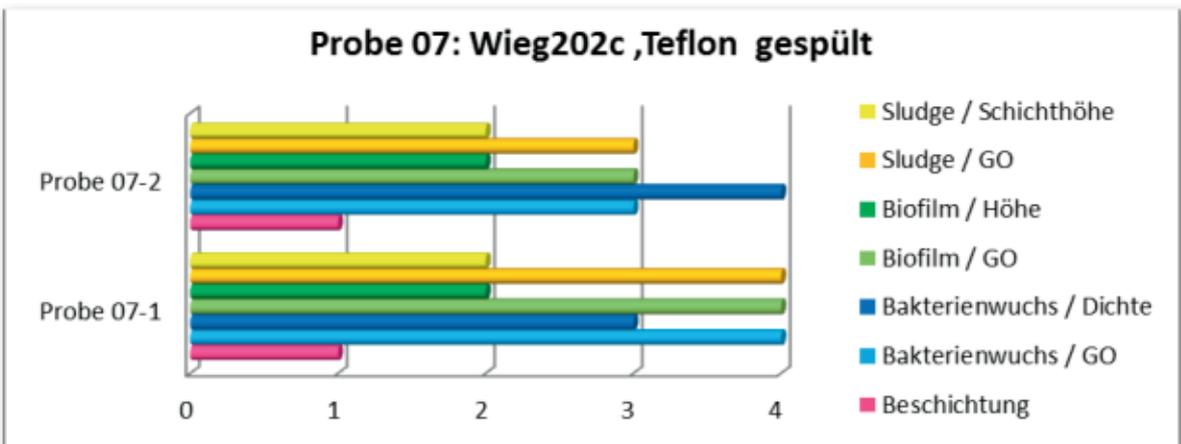
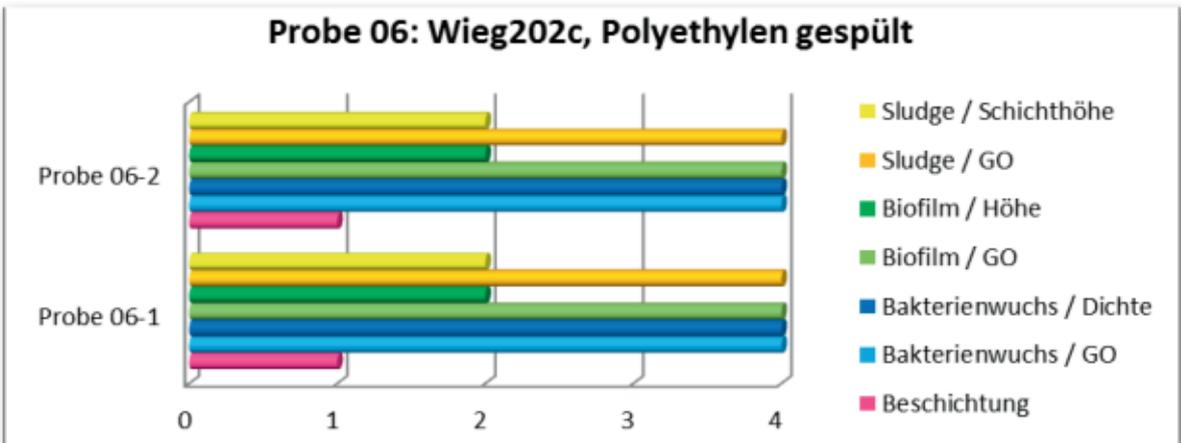
Tab. 7: Ergebnis der einzelnen Beschichtungen

Zur Beurteilung der Beschichtungen wurden die im Kapitel „Methoden“ in Tabelle 4 aufgeführten Bewertungskriterien angewandt und in den folgenden Diagrammen dargestellt.

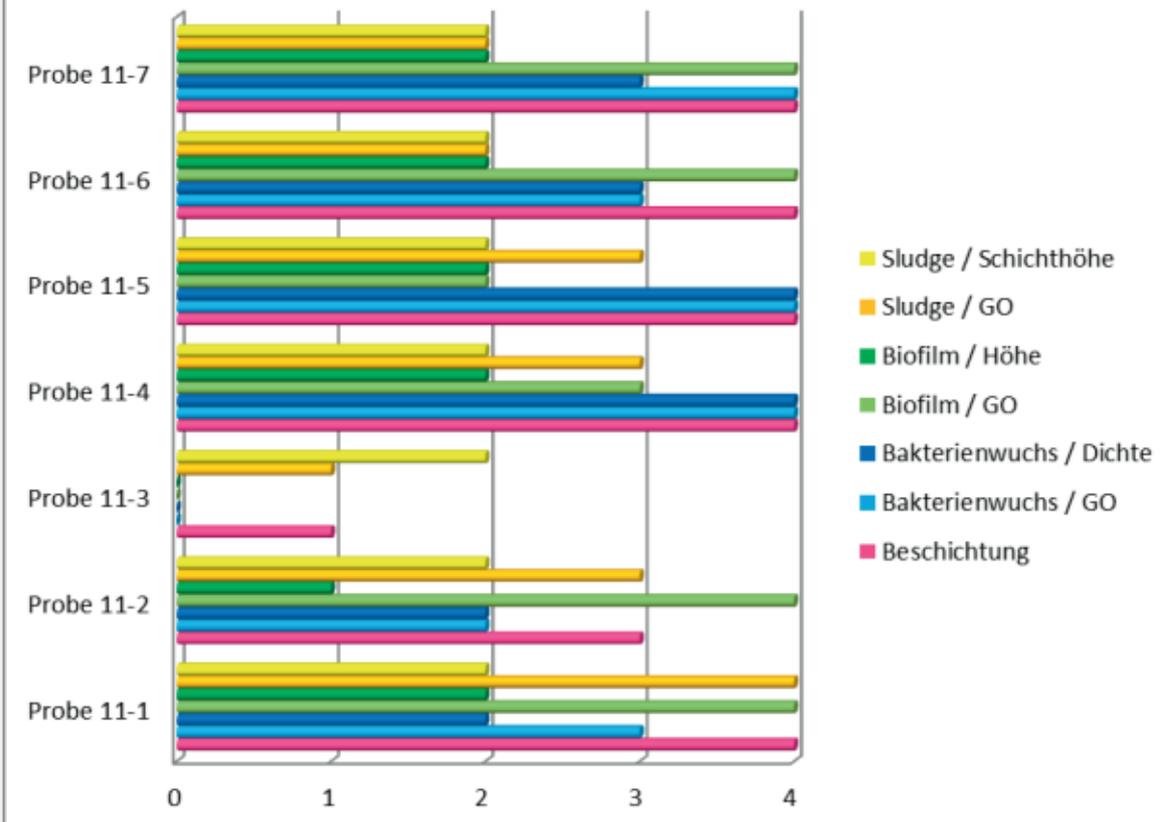


Legende: Y-Achse = Probenanzahl der Beschichtungsart, X-Achse = Bewertungskriterien mit Grading.

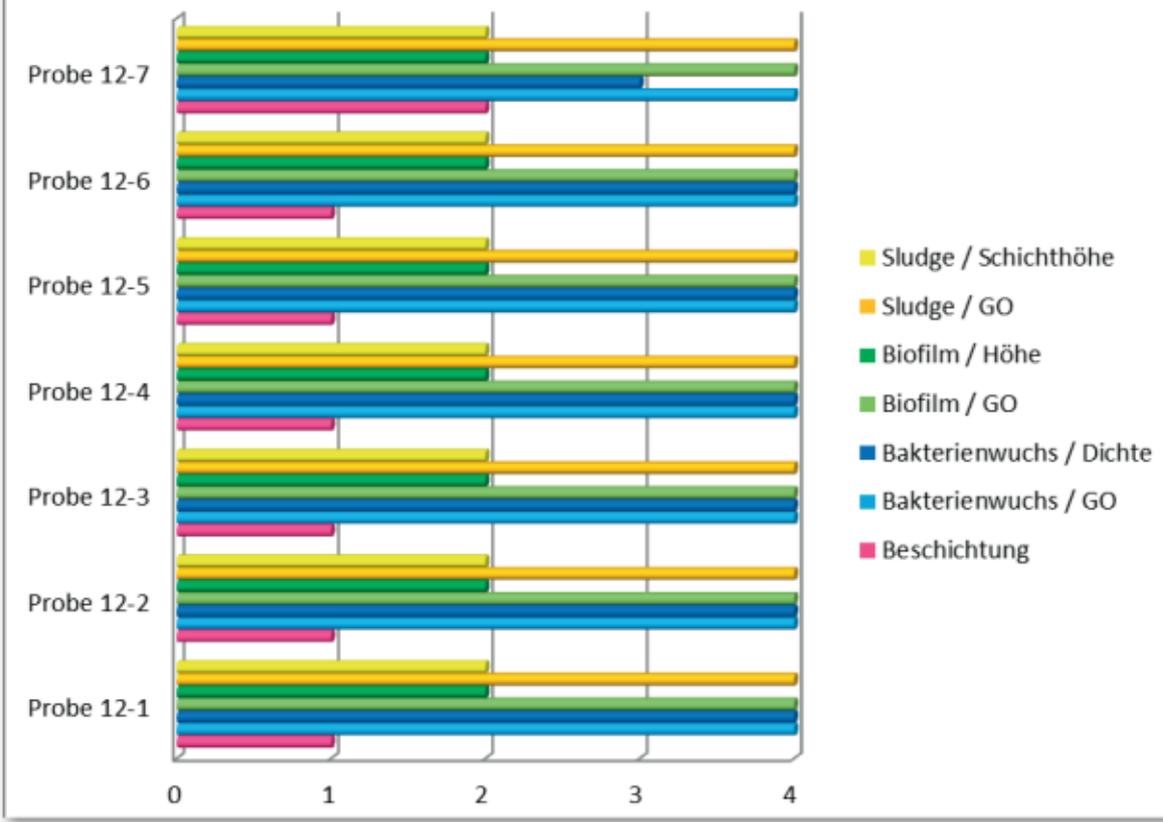


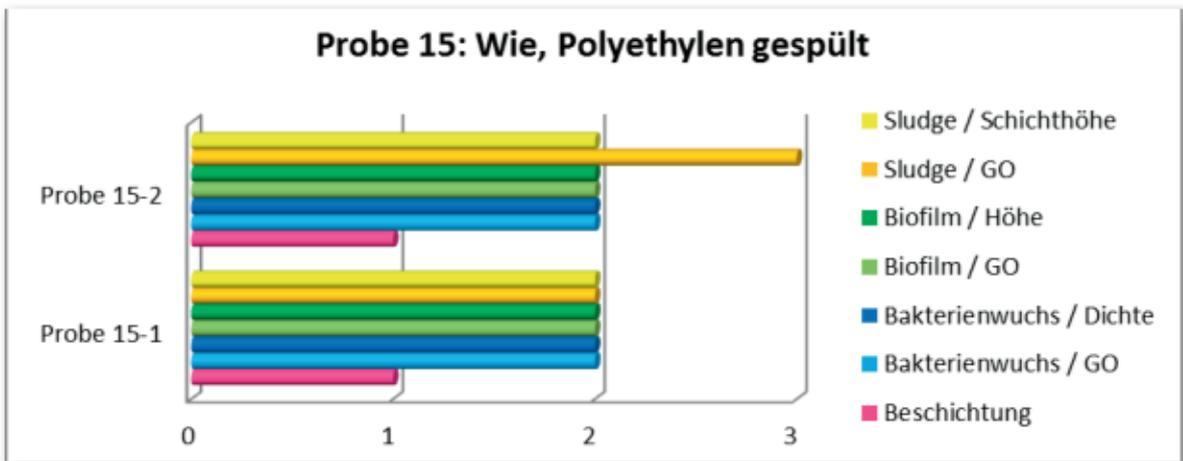
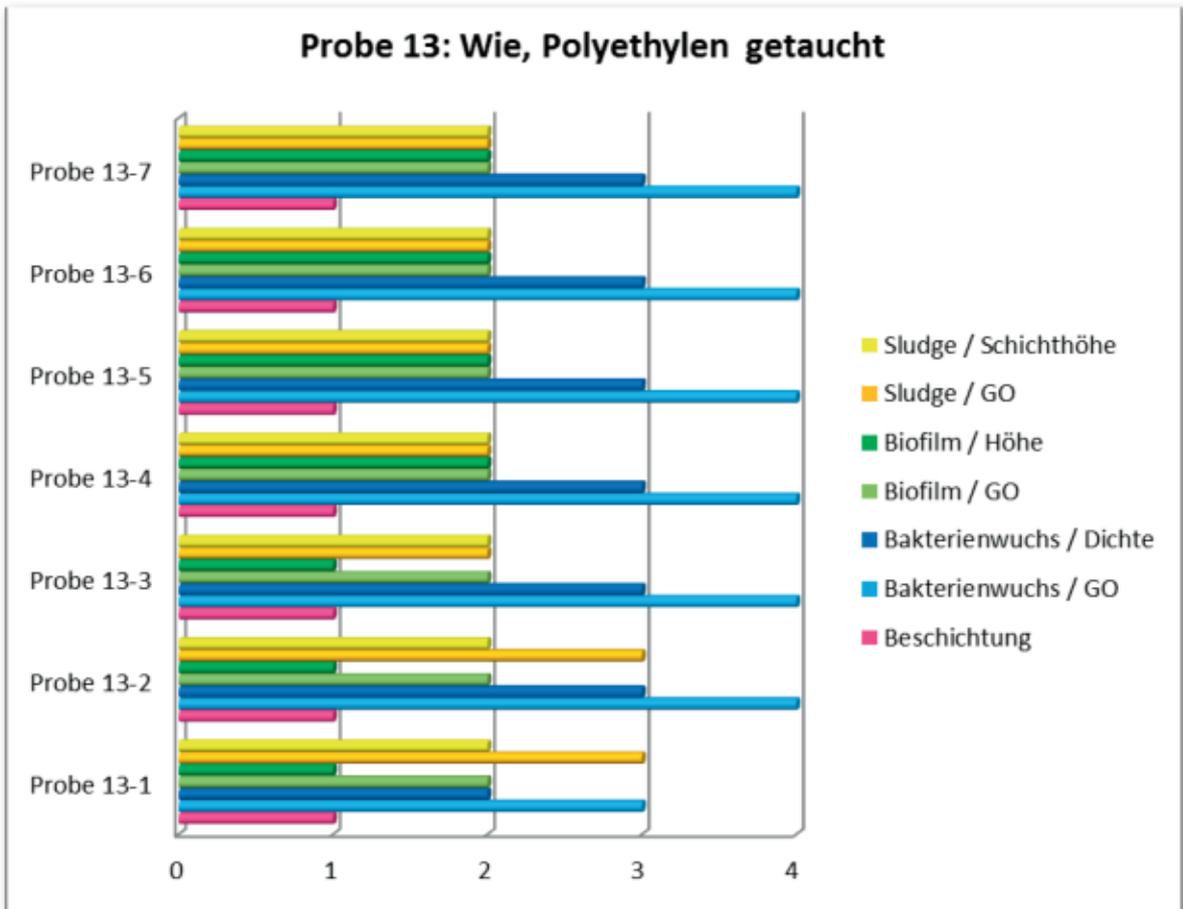


Probe 11: Wie, Teflon getaucht



Probe 12: Wieg202, Teflon getaucht





4.4 Ergebnis der Probengeometrie

Im Vergleich zwischen halbrunder und runder Geometrie der Proben ergaben sich Unterschiede. Die runde Form wies eine um ein bis zwei Grad größere Verunreinigung der Oberflächen hinsichtlich aller angewandten Beurteilungskriterien auf. Sowohl die Menge an Bakterien sowie die mit Biofilm überzogene Fläche als auch das Auftreten von Sludge waren deutlich erhöht. Diese Tendenz war für alle beschichteten und unbeschichteten Stentproben gleichermaßen nachweisbar.

4.5 Gesamtergebnis

Im Vergleich der gebildeten Untersuchungsgruppen, ergibt sich nach der Auswertung der einzelnen Beschichtungen sowie der unbeschichteten Teflon-Referenzprobe, folgende Rangfolge im Hinblick auf ihre Fähigkeit, Sludgebildung zu vermeiden.

Reihenfolge von 1. entspricht einer guten Eignung bis 9. entspricht einer schlechten Eignung. Die in Klammern gesetzte Ziffer zeigt die an das Schulnotensystem angelehnte Bewertung.

1. Wie: Teflon, gespült (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem ohne Nanopartikel) (1,8)
2. Referenzprobe: Teflon, unbeschichtet (1,9)
3. Wie: Teflon, getaucht (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem ohne Nanopartikel) (2,0)
4. Wie: Polyethylen, gespült (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem ohne Nanopartikel) (2,2)
5. Wie: Polyethylen, getaucht (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem ohne Nanopartikel) (3,2)
6. Wieg202c: Teflon, gespült (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem mit Nanopartikel) (4,0)
7. Wieg202c: Polyethylen, getaucht (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem mit Nanopartikel) (4,2)
8. Wieg202c: Polyethylen, gespült (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem mit Nanopartikel) (5,9)
9. Wieg202c: Teflon, getaucht (2-Komponenten Polyurethan Beschichtungssystem mit Nanopartikel) (6,0)

Die geringsten Anhaftungen fanden sich auf der 2-Komponenten-Polyurethanbeschichtung (Wie), die im Vergleich zu herkömmlichen Teflonstents eine geringere Proteinfilm und Sludgeauflagerung aufwies. Die Anzahl an Bakterien auf der Probenoberfläche ist geringfügig niedriger ausgefallen.

Die Ergebnisse mit Siliciumdioxidpartikel (Wieg202c) beschichteten Gallengangdrainagen zeigten keinen entscheidenden Vorteil hinsichtlich der genannten Untersuchungskriterien. Aufgrund nicht ausreichender Haftung einiger Beschichtungen am Teflon, die auf eine wahrscheinlich zu hohe Schichtdicke sowie auf die Probenaufbereitung nach der Inkubation zurückzuführen ist, konnte keine quantitative Aussage über die Sludgeauflagerungen getroffen werden.

5 Diskussion

Eine chirurgische Resektion der Pankreasneoplasie ist meist aufgrund des fortgeschrittenen Stadiums zum Zeitpunkt der Diagnosestellung nicht mehr möglich. Die palliative Therapie der Wahl beim malignen Verschlussikterus stellt die Stentimplantation dar. Die Einlage der Endoprothese gewährt den Gallensekretabfluß. Bis zum sogenannten Clogging – zur Verstopfung der Stenteinlage vergehen durchschnittlich drei bis sechs Monate. Die endoskopische Reintervention stellt eine Belastung für den Patienten dar. Die Implantation von erheblich teureren, selbstexpandierenden Metallstents mit einem Kostenfaktor von circa 1000 € je Stent, bietet zwar eine signifikant längere Drainagedauer, ist jedoch mit einem Tumorein- und überwuchs behaftet (Huibregtse et al. 1992, Knyrim et al. 1993, Wagner et al. 1993, Neuhaus und Schuhmacher 1998, Kaassis et al. 2003).

Der Mechanismus der Okklusion ist multifaktoriell und wurde bereits von mehreren Autoren diskutiert (Wosiewicz et al. 1985, Groen et al. 1987, Provansai-Cheylan et al. 1989, Coene et al. 1990, Moesch et al. 1991, Dowidar et al. 1992, Sung und Chung 1995, Libby und Leung 1996, Smits et al. 1997, Van Berkel et al. 1998, Van Berkel et al. 2000, Van Berkel et al. 2005). Eine prophylaktische Antibiotikagabe führte in mehreren randomisierten Studien zu keiner Verlängerung der Drainagedauer. Eine Erklärung dafür ist, dass die Glykoproteine und der Sludge der Bakterien eine physikalische Barriere für das Antibiotikum darstellen (Smit 1989, Ghosh 1994, Tarnasky 1995, Luman 1999, De Ledinghen 2000, Galandi 2002).

Bis zum heutigen Tag stehen wir vor einem ungelösten Problem: Wie kann im klinischen Einsatz die Liegedauer von Gallengangendoprothesen verlängert werden?

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen in der rasterelektronischen Untersuchung die Zusammensetzung des Sludge aus Bakterien, Bilirubinaten sowie Proteinen. Dass Bakterien hierbei eine Schlüsselrolle einnehmen, wurde bereits von Leung et al. postuliert (Leung et al. 1988). Dies wurde im Umkehrschluß in der Arbeit von A.-C. Schäfer bestätigt. Die Studienergebnisse von Stentproben ohne Bakterienzusatz wiesen keine Sludgebildung auf. Ferner wurde in dieser In-vitro-Untersuchung in einem hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungsverfahren bewiesen, dass eine Oberflächenmodifikation mit sowohl hydrophoben als auch hydrophilen Anteilen in einem Anteil von circa 75 zu 25 % die Adhäsion von Bakterien am Stentmaterial signifikant mindert und folglich die Sludgeentstehung reduziert wird (Schäfer 2004).

Ungeachtet der Struktur sowie der chemischen Zusammensetzung lassen sich alle Oberflächen in Bezug auf die Anhaftung von Wasser in zwei Gruppen unterteilen. Entweder sind sie hydrophil, sprich wasserliebend oder sie sind hydrophob, sprich wassermeidend. Wässrige Flüssigkeiten verteilen sich auf hydrophilen Oberflächen gleichmäßig, hingegen sie auf hydrophoben Oberflächen abperlen.

In den 1970er Jahren wurde dieser Vorgang erstmalig bei der Lotuspflanze beobachtet. Regentropfen perlen an den Blättern der Lotusblume ab und nehmen dabei alle Schmutzpartikel, die auf der Oberfläche vorhanden sind, mit. Dieser Effekt, d.h. die geringe Benetzbarkeit einer Oberfläche, welcher auf die extrem hydrophobe Oberflächenstruktur der Lotuspflanze zurückzuführen ist, wird als Lotus-Effekt® bezeichnet. Für das Verständnis entscheidend ist, dass nicht elektrische oder chemische Effekte dafür verantwortlich sind, sondern nanometergroße „Unregelmäßigkeiten“.

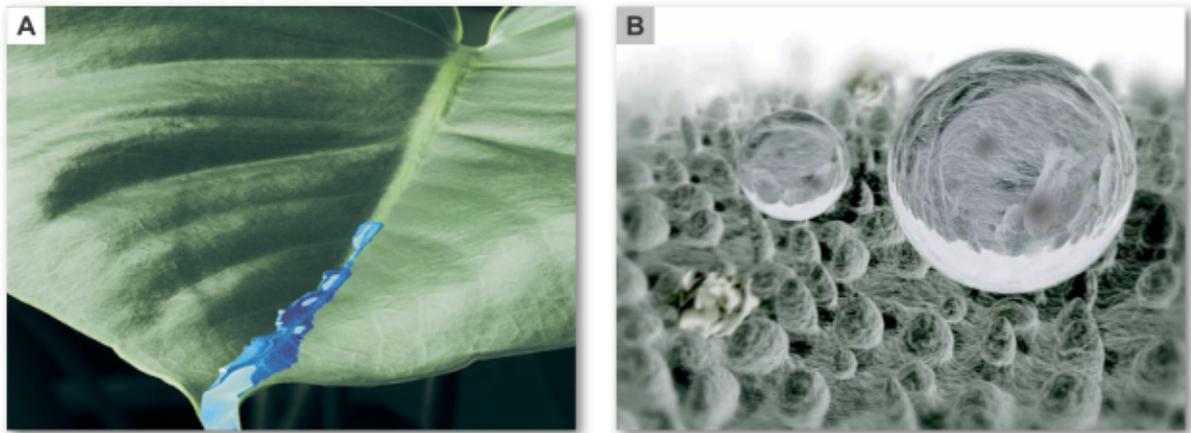


Abb. 14: A Lotusblatt. Quelle: www.nanotol.de/was-ist-nano B Ein Wassertropfen perlt auf der Oberfläche eines Lotusblattes ab. Quelle: www.focus.de/fotos/william-thielicke.

Inzwischen wurden zahlreiche weitere „Nano-Effekte“ in der Natur beschrieben, z.B. auf der Haifischhaut. Hier sorgen Unebenheiten im Nanometerbereich dafür, dass weniger Reibung zwischen Haut und Wasser auftritt. Durch diese Eigenschaft können Haie schneller durch das Wasser gleiten.

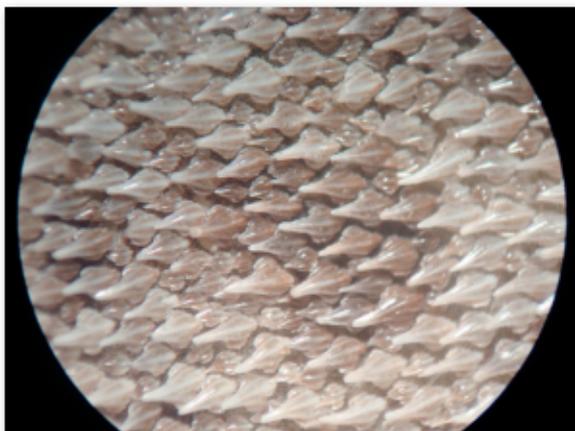


Abb.15: Haifischhaut, vergrößert.
Quelle: www.biotechnikum.eu/uploads/pics/08_Haifischhaut_web.jpg

In den 1990er Jahren wurde die bis dahin nur in der Natur zu beobachtende Fähigkeit der Selbstreinigung in biometrisch-technische Produkte übertragen. Es wurden Oberflächen nach dem Vorbild der Natur erzeugt, bei denen durch Nano-Struktur-Gestaltung der Oberfläche die gewünschten Effekte bewirkt werden konnten.

Betrachtet man Oberflächen, die mit einer Nanobeschichtung versehen wurden unter dem Mikroskop, so erkennt man sehr deutlich, wie sich ein Netz aus Nano-Polymeren über die Oberfläche zieht, welches sich eng mit der Oberfläche verbunden hat.

Aufgrund der geringen Größe erzeugter Solpartikel im Nanometerbereich lässt sich der Sol-Gel-Prozess als Teil der chemischen Nanotechnologie verstehen. Im Gegensatz dazu kommt es auf unstrukturierten, glatten Oberflächen, wie z.B. Teflon, zum Gleiten von Flüssigkeiten. Dies bewirkt jedoch nur eine geringe Schmutzentfernung (Wienhold 2001, Wienhold 2003).



Abb.16: Schmutzabweisende Wirkung eines mit hydrophoben Partikeln modifizierten hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungsmaterials. (Abbildung mit freundlicher Genehmigung durch Dr. Uwe Wienhold, Chemiker, Fa. Wienhold-Consult, Magdeburg).

Produkte der Nanotechnologie sind inzwischen auf unterschiedlichsten Oberflächen anwendbar und erhöhen die Widerstandsfähigkeit gegenüber Schmutz und anderer schädlicher Umwelteinflüsse dauerhaft, indem sie die Oberfläche durch eine dünne Schicht aus Nanopolymeren schützen. Barthlott ist Inhaber eines Basispatent sowie der Marke Lotus-Effekt®.

Selbstreinigende Oberflächen sind von zunehmend technischer und wirtschaftlicher Bedeutung. Heutzutage findet sich eine Vielzahl an Industriekooperationen auf dem Markt. Unter anderem wirbt die Autolackindustrie mit nanotechnologisch erzeugten Lackversiegelungen. Weitere Anwendungen gibt es beispielsweise bei selbstreinigenden Markisen, Planen und Segeln, die sonst schnell verschmutzen und schwer zu reinigen sind. Ebenso hat sich die Textilbranche den Lotus-Effekt® zu Nutze gemacht. So ist es möglich, dass selbst hartnäckige Lebensmittel wie Rotwein oder Tomatensoße problemlos an der Kleidung abperlen.

Beim Reinigen von Oberflächen spielt eine Vielzahl von Faktoren zusammen. Zum einen die chemische Beschaffenheit der Oberfläche, deren mechanische Eigenschaft sowie die Art des Schmutzes. Zum anderen die verwendeten Reinigungssubstanzen. Des Weiteren sind den physikalischen Bedingungen wie Temperatur und Bewegung der Reinigungslösung Beachtung zu schenken.

Die traditionelle Sichtweise geht davon aus, dass Unebenheiten die bakterielle Anhaftung auf der Oberfläche erleichtern können und somit zu einer frühzeitigen Stentverstopfung führen. 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.

Die grundlegende Überlegung hinter der vorgestellten Arbeit ist, dass Oberflächen Sludge genauso abstoßen können wie Schmutz. Ähnlich wie beim Lotus-Effekt® oder den anderen dargestellten Beispielen, soll eine speziell gestaltete Oberfläche den gewünschten Effekt erzielen.

Die Oberfläche einer Gallengangendoprothese muss zur Gewährleistung einer dauerhaften Drainage mehreren Einflüssen gerecht werden. Die Zusammensetzung der Galle variiert von Menschen zu Mensch. Viskösere Galle fließt schlechter und fällt leichter Gallosalze aus. Gallensteine bilden sich vor allem in der Gallenblase. Dort ist die Galle aufgrund von Wasserresorption konzentrierter und visköser. Tumorpatienten neigen oft zu geringer Flüssigkeitsaufnahme, was ebenfalls zu einer Erhöhung der Galleviskosität führen dürfte. Befällt der Tumor den Ductus cysticus oder die Gallenblase, so entfallen damit die stoßartigen Spülungen durch Kontraktion der Gallenblase nach Stimulation über Cholezystokinin.

Das Ziel dieser Arbeit ist, eine kostengünstige Alternative gegenüber herkömmlichen Teflonstents zu entwickeln. Die Oberfläche sollte eine geringe Adhäsion gegenüber Sludge aufweisen und dadurch das Clogging des Stents verhindern. Folglich soll für den Tumorpatienten eine verbesserte Palliation erreicht werden, die bis zum Lebensende keinen erneuten Stentwechsel erfordert.

Viele Anzeichen sprechen dafür, dass die Beschaffenheit der Materialoberfläche eine entscheidende Rolle bei der Sludgebildung einnimmt. Es gibt zwei verschiedene Arten von Kunststoffstents. Die geraden biliären Stents des Amsterdam-Standard-Typs werden aus Polyethylen hergestellt, andere verwendete Materialien sind Teflon und Polyurethan. Teflon hat einen geringeren Reibungskoeffizient und eine glattere Oberfläche als Polyethylen. In-vitro-Studien zeigten für Teflon eine geringere Absorption von Proteinen und eine geringere Ansammlung von Sludge (Coene et al. 1990, Dowidar et al. 1992). Jedoch konnten klinische Studien nicht nachweisen, dass diese Faktoren in einer verlängerten Durchgängigkeit resultieren (Teruzzi et al. 2000, Van Berkel 1998). In einer randomisierten Studie über die Stenteinlage bei malignen distalen Gallengangobstruktionen zeigten sich bei Teflon- wie bei Polyethylenstents ähnliche Durchgängigkeitsraten. Polyurethanstents zeigen unter dem Elektronenmikroskop eine glattere Oberfläche als Polyethylen (Van Berkel et al. 2000). Daraus resultiert jedoch keine verlängerte Durchflusszeit. Die zweite Art des Kunststoffstents

stellt der Pigtail-Stent dar. Beim Einführen wird er über einen Führungsgrad begradigt, um im Anschluß nach dessen Rückzug in seine Schweineschwanzform zurückzukehren. Zur Drainage befinden sich zwei Löcher in der Seite des Stents. Das „Double-Pigtail“- Design verhindert eine Migration sowohl nach proximal als auch nach distal und bietet den Vorteil einer sicheren Verankerung.

In-vitro-Studien haben gezeigt, dass der Gallefluss durch einen geraden Stent signifikant besser als durch einen Pigtail-Stent gleichen Durchmessers ist. Dies läßt sich auf die gebogene Form und die kleinen Drainagelöcher des Letzteren zurückführen (Scheeres et al. 1990). Ein weiterer Vorteil ist die leichte Kanülierung mit einem Führungsdraht zur Auswechslung des Stents über den Draht. Die Seitenlöcher stellen erfahrungsgemäß den häufigsten Ort der Sludgeansammlung dar. Dies kann durch die Wirbel des Gallenflusses und die rauen Ecken erklärt werden, die eine Bakterien- und Sludgebesiedelung fördern. In einer klinischen Studie wurde bei Stents ohne Seitenlöcher eine signifikant geringere Sludgeansammlung als bei solchen mit Seitenlöchern dokumentiert (Coene et al. 1990). Dies führte zur Entwicklung des Tannenbaumstents, der aus Teflon besteht und keine Seitenlöcher besitzt. In einer Pilotstudie zeigte dieser eine längere Durchgängigkeitszeit als konventionelle Polyethylenstents mit Seitenlöchern (Binmoeller et al. 1995, Seitz 1996). Allerdings konnten diese Vorteile von Stents ohne Seitenlöcher in nachfolgenden Studien nicht bestätigt werden (Sung et al. 1994, Meyerson et al. 1998, Van Berkel 1998, Terruzzi et al. 2000).

In der Arbeit von A.-C. Schäfer wurde erstmalig die Methodik der Untersuchung zahlreicher Oberflächen mit systematisch modifizierter Oberflächeneigenschaften angewandt. Die Voruntersuchungen zeigten einerseits die Überlegenheit einiger Sol-Gel-Beschichtungen und andererseits einen Vorteil für glatte Polyurethanoberflächen.

In der vorliegenden In-vitro-Studie wurde das Beschichtungs- und Auswertungsverfahren im Vergleich zu vorherigen Studien modifiziert. Darüber hinaus wurde die Untersuchungsreihe durch Polyethylenprothesen erweitert. Siliciumdioxidpartikel und Polyurethanbeschichtungen wurden einerseits auf Teflon sowie ergänzend auf Polyethylen untersucht.

Die Ergebnisse wurden sowohl durch ein semi-quantitatives als auch durch ein qualitatives Auswertungsverfahren erhoben. Die semi-quantitative Auswertung erfolgte mittels einer Feinwaage. Es stand zur Diskussion, ob die unerwartete und im Grunde genommen unerwünschte Gewichtsabnahme der beschichteten Gallengangendothesen auf das Auslösen von im Teflon und Polyethylen enthaltenen sogenannten Weichmachern zurückzuführen ist. Zur Überprüfung der semi-quantitativen Auswertungsmethode, wurde unbehandeltes Teflon über einen definierten Zeitraum in Zellkulturplatten im Inkubator diversen Medien ausgesetzt.

Bei jedoch nur 3 der insgesamt 42 Proben konnte durch die Einwirkung der Medien NaCl Lsg. 0,9%, PBS pH 6 und 8, Alkohol absolut 100% und 70% sowie Aqua bidest. eine Gewichtsabnahme verzeichnet werden. Es konnte somit nicht bestätigt werden, dass durch die Einwirkung der Medien Bestandteile aus dem Objektträger ausgelöst werden.

Die Reihe der in Sonnenblumenöl gelagerten Proben verzeichnete eine Gewichtszunahme, die durch Ölanhaftung erklärt wurde. Die Ursache des Gewichtsverlust von 30,2% der Stentproben in der Hauptmessreihe wurde folglich zum einen den jeweiligen Beschichtungsarten zugeschrieben werden, zum anderen könnten auch vom Objektträger ausgehende Haftungsprobleme zugrunde liegen.

Qualitativ konnte rasterelektronenmikroskopisch deutlich zwischen intakter und beschädigter Oberfläche unterschieden werden. Die Annahme, dass es einen Zusammenhang zwischen dem aufgetretenen Gewichtsverlust sowie dem Ablösen der Beschichtung auf dem Trägermaterial gibt, wird durch dieses Ergebnis verhärtet.

Im Vergleich zu herkömmlichen Teflonstents konnte in der hier vorliegenden experimentellen Studie auf dem 2-Komponenten-Polyurethan-beschichtungssystem (Wie) eine geringere Protein- und Sludgeauflagerung nachgewiesen werden.

Weitaus größere Ablagerungen wurden dagegen auf den Polyurethanprothesen, deren Oberfläche zusätzlich mit hydrophoben Siliciumdioxidpartikeln (Wieg202c) beschichtet wurde, nachgewiesen. Die glatte Polyurethanoberfläche wurde durch die Nanopartikel uneben und fördert damit offenbar die Anhaftung von Sludge. Darüber hinaus erwies sich die Beschichtung mit Polyurethan plus Nanopartikel als instabil und neigt zur Rissbildung. In einigen Präparaten zeigt sich eine Kumulation von Bakterien an unregelmäßigen Stellen der Prothesenoberfläche.

Basierend auf den Erkenntnissen der Studie von A.-C. Schäfer sowie der hier vorliegenden Untersuchungsergebnisse, erwies sich in der Folgestudie von M. Dogan die Kombinationsbeschichtung aus Polyurethan und hochmolekularem Epoxid-Sol-Gel als stabil und mit weniger Schäden in der Beschichtung. Gegenüber nativen Teflonmaterial wurde eine geringere Sludgebildung nachgewiesen (Dogan 2008).

In einer weiterführenden In-vitro-Untersuchung unter der Leitung von PD Dr. U. Seitz, wurde aufgrund der hier erstmalig aufgetretenen Anhaftungsproblematik, die Zusammensetzung und Konzentration nanotechnologisch erzeugter Sol-Gel-Beschichtungen auf Teflonoberflächen optimiert und die Stabilität, die Haftungsfähigkeit auf dem Trägermaterial, durch einen Primer verbessert. Hierzu wurden die Sol-Gel-Beschichtungen mit einem niedermolekularen und mit einem hochmolekularen Epoxid-Harz gekoppelt und jeweils in drei unterschiedlichen Verdünnungen hergestellt.

Des Weiteren zeigte sich auf den beschichteten Stents das Verfahren der Alkoholtrocknung, welches im Vergleich zur Lufttrocknung die schonendere Trocknungsart sein soll, kein signifikanter Vorteil hinsichtlich der Artefaktbildung (Agdirlioglu 2008).

Die ursprüngliche Vorgehensweise in der Studie von A.-C. Schäfer sah vor, den Teflonschlauch erst nach dem Beschichtungsverfahren zu schneiden. Dies führte zu erheblichen Beschädigungen der Oberflächenstruktur, so dass die Proben nur bedingt auswertbar waren.

Zur Optimierung des Beschichtungsverfahrens, wurden die in dieser Studie verwendeten Proben vor der Beschichtung auf entsprechende Länge geschnitten. Ein Teil der ca. 20mm langen Teflonstents wurde halbiert und anschließend am Ende der Probe mit einem Loch versehen, durch welches ein Befestigungsdraht gezogen wurde. An dieser Haltevorrichtung konnte die Probe in die jeweilige Flüssigkeit eingetaucht werden, um dann im zweiten Schritt zum Abtropfen des Überstandes und Trocknen an einem Gitter sicher befestigt zu werden.

Die für diese Studie konstruierte Schwenkapparatur stellt eine kostengünstige und effektive Erfindung zur Imitation des humanen Gallefluß dar. Die Grundlage für den Bau erfolgte in Anlehnung an die Voruntersuchung von A.-C. Schäfer. Durch Verwendung eines alternativen Baumaterials, hier klimaresistentes Aluminium, gelang es jedoch eine Schwenkvorrichtung kleineren Ausmaßes zu bauen, die im Vergleich noch weniger Stellfläche im Inkubator einnimmt. Betrieben mit einem kleinen kunststoffummantelten Motor wurde die Geschwindigkeit über ein 12 Volt Netzteil stufenlos geregelt.

Neben diesem Vorteil ist hervorzuheben, dass sowohl für die Umsetzung der Schwenkapparatur als auch im Hinblick auf die Durchführung dieser experimentellen Studie im Ganzen, der monetäre Aufwand gering war. Fördermittel, zum Beispiel über die Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG), wurden nicht benötigt.

6 Zusammenfassung

Das seit 1979 von Prof. Soehendra an der Universität Hamburg-Eppendorf entwickelte Verfahren des endoskopischen Stenting des Gallengangs mit Kunststoffprothesen zur Palliation des malignen Verschlussesikterus ist heutzutage weltweit die Methode der Wahl. Ein bisher noch unzureichend gelöstes Problem stellt die Okklusion des Kunststoffstents mit Sludge dar, welches zu belastenden, endoskopischen Reinterventionen führt. Metallstents weisen zwar eine deutlich längere Drainagedauer gegenüber Plastikstents auf, sind aber aufgrund höherer Kosten sowie anderer Komplikationen problematisch.

In der vorliegenden In-vitro-Untersuchung wurden Proben von Gallengangendoprothesen aus Teflon und Polyethylen mit verschiedenen nanotechnologisch erzeugten Oberflächen aus Polyurethan und Nanopartikeln verschiedener Größe beschichtet. Ziel ist es, mögliche Vorteile dieser Beschichtungen gegenüber herkömmlichen Teflon in Bezug auf die Anhaftung von biliärem Sludge aufzuzeigen, um im klinischen Einsatz die Liegezeiten von Gallengangendoprothesen verlängern zu können.

Es wurden Siliciumdioxid- und Polyurethanbeschichtungen sowohl auf Teflon als auch auf Polyethylen im Vergleich zu herkömmlichen Teflonprothesen untersucht. Die Proben wurden über einen definierten Zeitraum mit antibiotikafreier, humaner, bakteriell infizierter Galle auf einer für den Studienzweck entwickelten Schwenkvorrichtung zur Imitation des physiologischen Gallefluß durchspült und inkubiert. Die entstandenen Sludgeablagerungen wurden rasterelektronenmikroskopisch qualitativ und mittels einer Feinwaage semi-quantitativ ausgewertet. Im Vergleich zur abgeschlossenen Dissertation von A.-C. Schäfer wurde das Beschichtungsverfahren modifiziert, die Untersuchungsreihe durch Polyethylenprothesen erweitert, eine höhere Anzahl von Proben untersucht, die Beurteilungskriterien verfeinert sowie ein quantitativer Ansatz versucht.

Mit den hier vorgelegten In-vitro-Ergebnissen wurde ein potentieller Vorteil der 2-Komponenten-Polyurethanbeschichtung von Gallengangstents belegt. Es verbindet sich hiermit die Hoffnung auf eine kostengünstige Modifikation von Plastikprothesen, die zur Vermeidung von Reinterventionen führt. Vor dem klinischen Einsatz sollte jedoch die Haftung der Beschichtung auf dem Stent verbessert werden. Anzudenken wäre in weiterführenden Studien die Entwicklung eines „Primer“ zu untersuchen, der eine verbesserte Anhaftung der Beschichtungsmaterialien an die Teflonoberfläche ermöglicht.

7 **Abbildungsverzeichnis**

Abb. 1: Tumoröse Papilla Vateri mit liegender Pigtail-Prothese.	3
Abb. 2: Doppel-Pigtail-Prothese im Gallengang; Perforation des proximalen Endes ins Duodenum.....	3
Abb. 3: Tannenbaum-Stent.....	4
Abb. 4: Metallstent.....	5
Abb. 5: Verstopfte Gallengangendoprothese	6
Abb. 6: A/B/C Synthesereaktion: Entstehung von Polyurethan.....	10
Abb. 7: Herstellung von Isocyanat.....	11
Abb. 8: Darstellung ETC-Effekt: Material beschichtet versus unbeschichtet.....	11
Abb. 9: Beschichtete Wie-Teflonprobe halbrund+getaucht/rund+gespült und beschichtete Wie-(PE)Polyethylenprobe halbrund+getaucht/rund+gespült	11
Abb. 10: Beschichtete Wieg202c-Teflonprobe halbrund+getaucht/rund+gespült und beschichtete Wieg202c-(PE)Polyethylenprobe halbrund+getaucht/rund+gespült	12
Abb. 11: Planung und Bau der Schwenkapparatur mit Well-Plates.....	14
Abb. 12: Stentproben im Trocknungsverfahren	17
Abb. 13: Kennzeichnung der Zellkulturplatte.....	19
Abb. 14: A Lotusblatt. B Ein Wassertropfen perlt auf der Oberfläche eines Lotusblattes ab	45
Abb.15: Haifischhaut, vergrößert.....	45
Abb.16: Schmutzabweisende Wirkung eines mit hydrophoben Partikeln modifizierten hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungsmaterials	46

8 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Verwendete Geräte, Chemikalien und Verbrauchsutensilien.....	7
Tab. 2: Information zu entnommenen humanen Gallen.....	8
Tab.3: Ansatz und Mischungsverhältnis der Alkoholreihe	21
Tab. 4: Auswertungskriterien zur Untersuchung der Stentproben	24
Tab. 5: Auswertung der Prothesenendgewichte	26
Tab. 6: Verteilung der Zellkulturplatten und Medien im Rahmen der Testreihe zur Überprüfung der semi-quantitativen Methode.....	27
Tab. 7: Ergebnis der einzelnen Beschichtungen	38

9 Anhang: Abbildungen REM

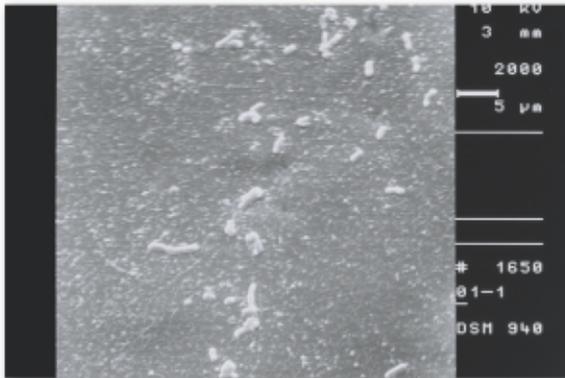


Abb. 1: Wie, Teflon gespült.

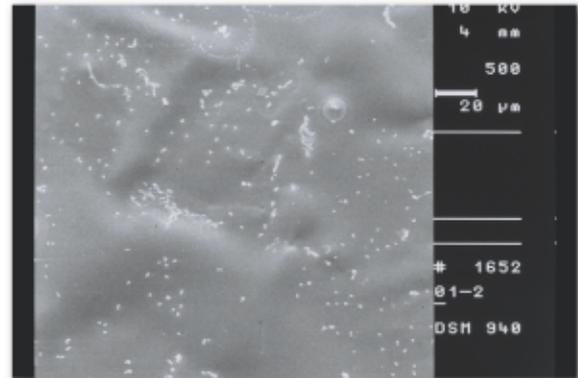


Abb. 2: Wie, Teflon gespült.

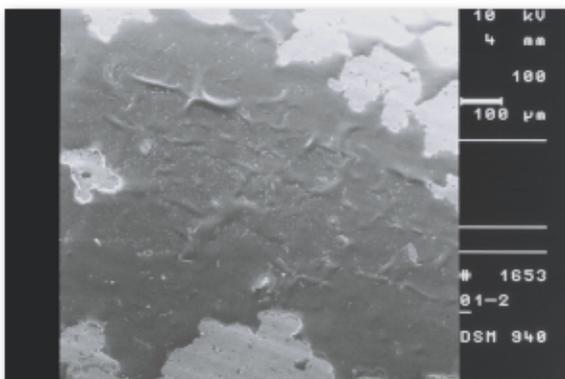


Abb. 3: Wie, Teflon gespült.

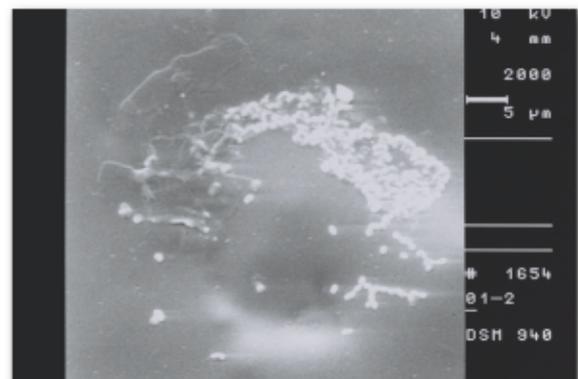


Abb. 4: Wie, Teflon gespült.

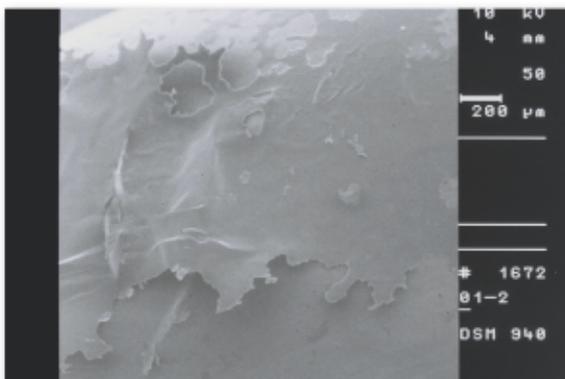


Abb. 5: Wie, Teflon gespült.

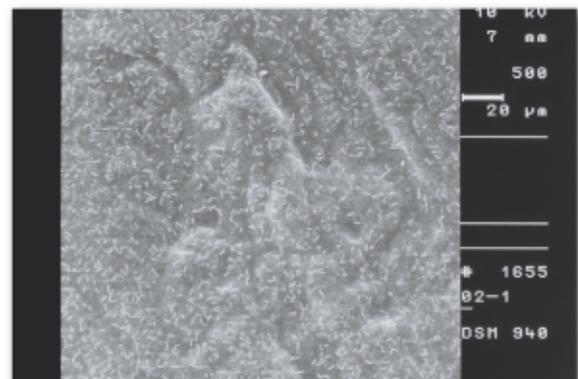


Abb. 6: Wieg202c, PE getaucht.

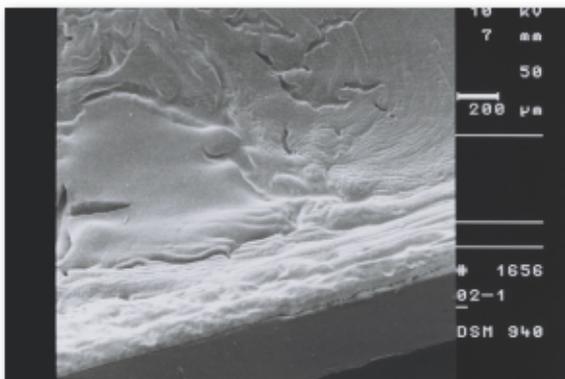


Abb. 7: Wieg202c, PE getaucht.

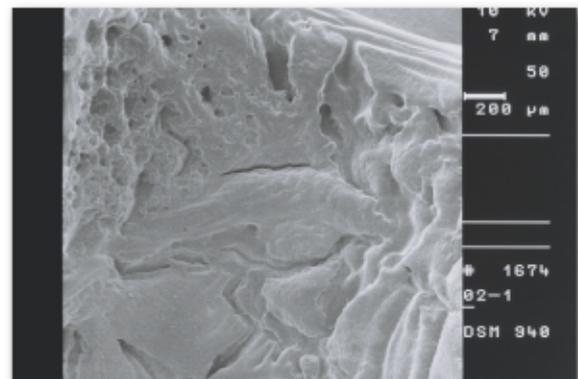


Abb. 8: Wieg202c, PE getaucht.

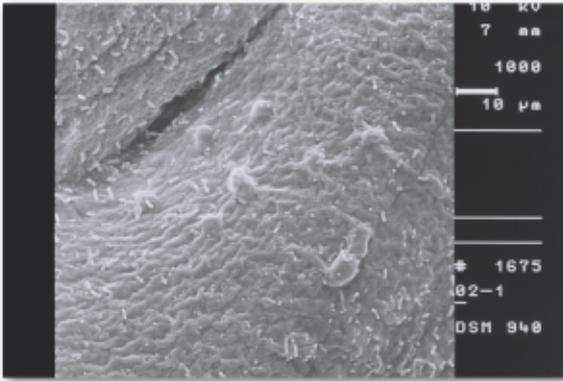


Abb. 9: Wieg202c, PE getaucht.

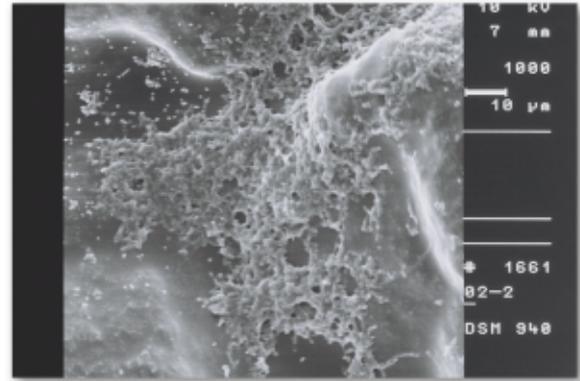


Abb. 10: Wieg202c, PE getaucht.

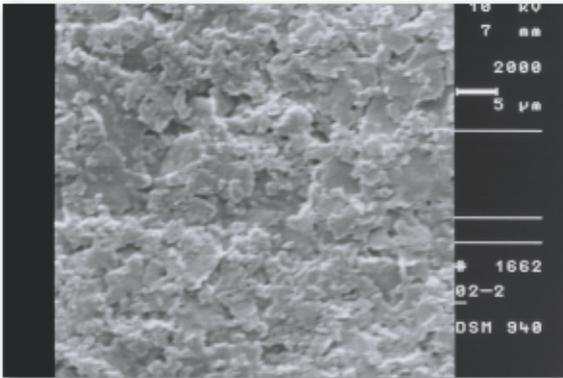


Abb. 11: Wieg202c, PE getaucht.

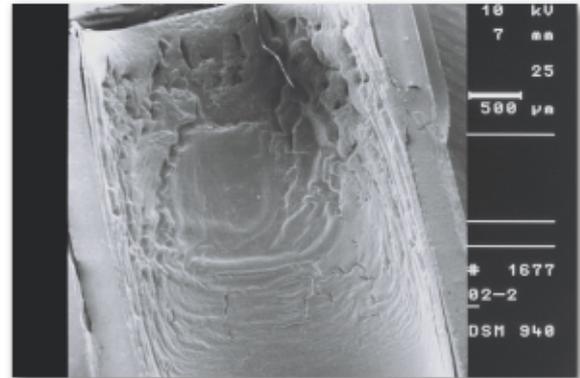


Abb. 12: Wieg202c, PE getaucht.

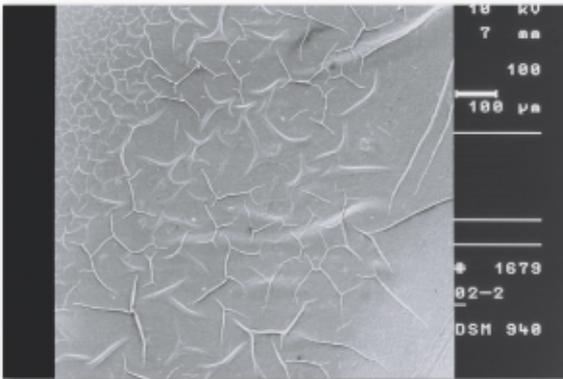


Abb. 13: Wieg202c, PE getaucht.

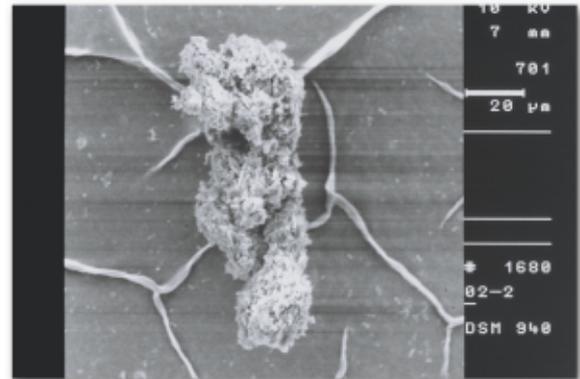


Abb. 14: Wieg202c, PE getaucht.

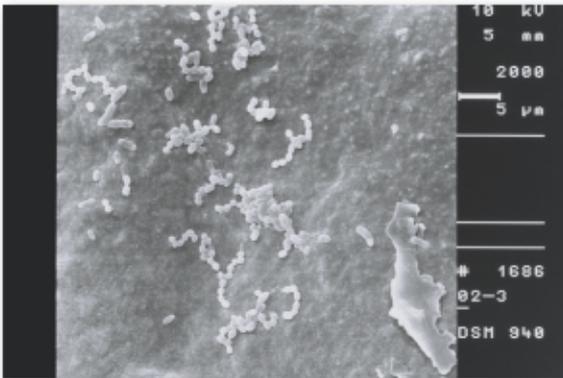


Abb. 15: Wieg202c, PE getaucht.

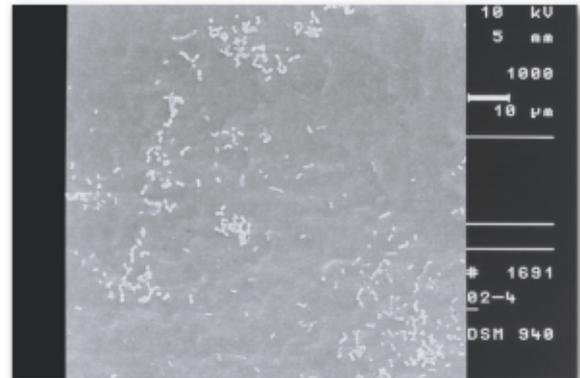


Abb. 16: Wieg202c, PE getaucht.

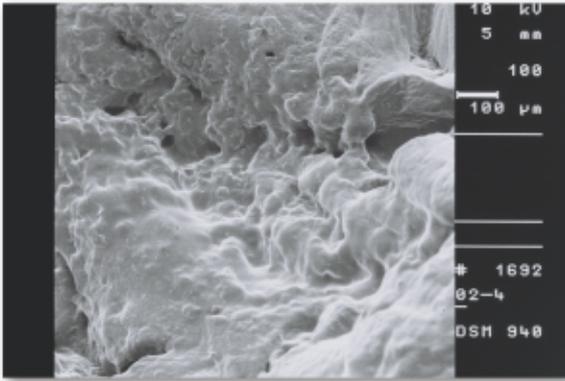


Abb. 17: Wieg202c, PE getaucht.

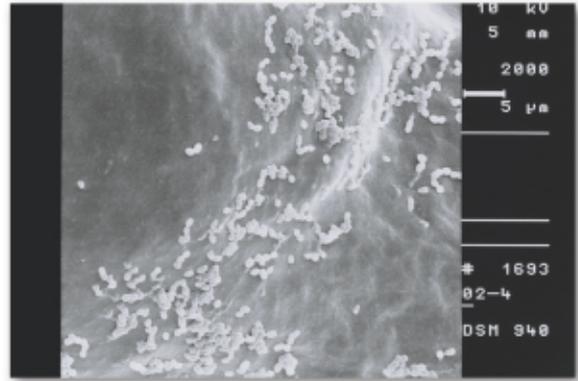


Abb. 18: Wieg202c, PE getaucht.

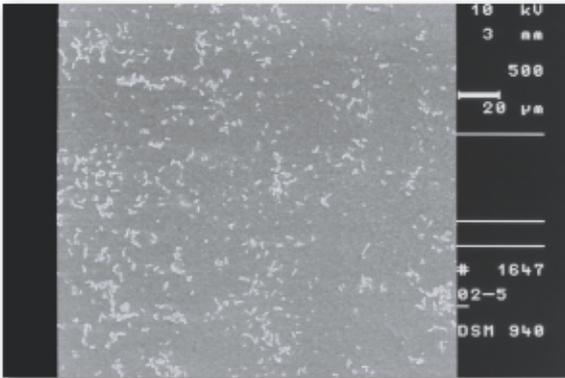


Abb. 19: Wieg202c, PE getaucht.

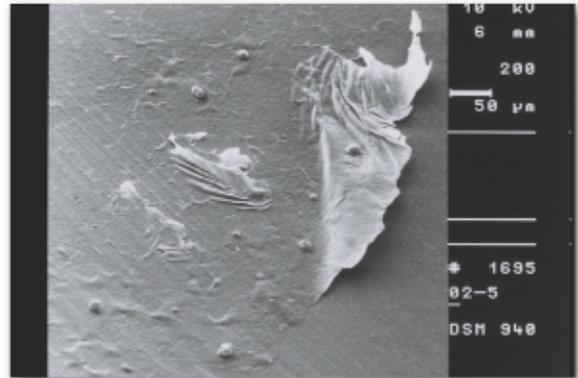


Abb. 20: Wieg202c, PE getaucht.

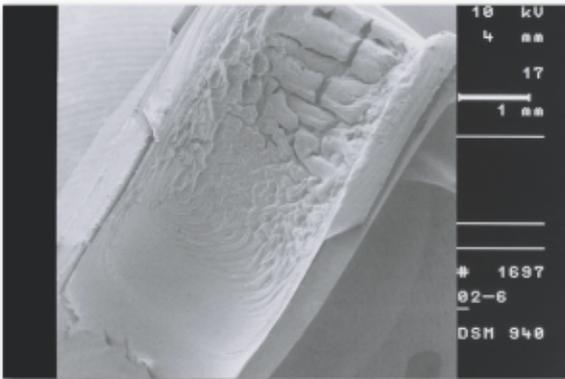


Abb. 21: Wieg202c, PE getaucht.

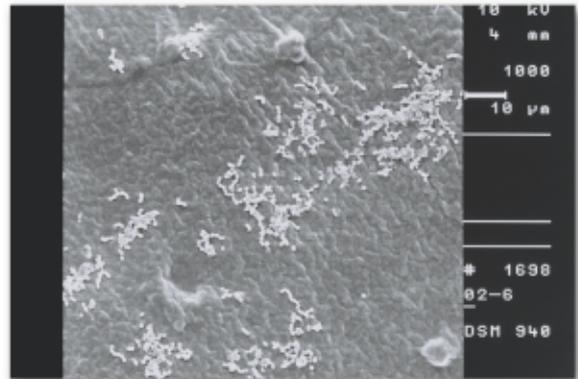


Abb. 22: Wieg202c, PE getaucht.

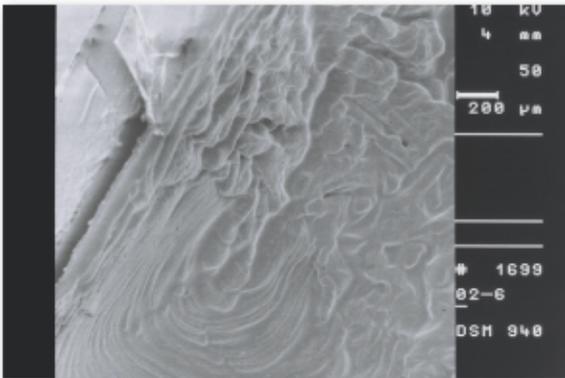


Abb. 23: Wieg202c, PE getaucht.

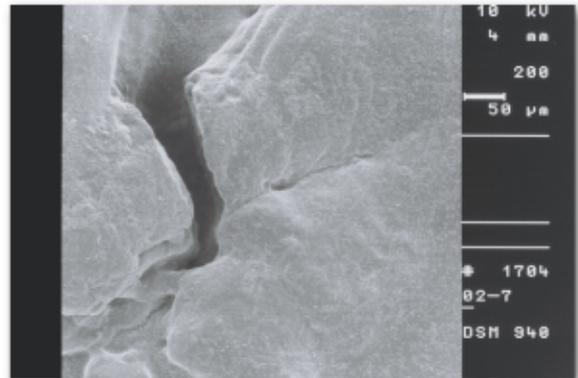


Abb. 24: Wieg202c, PE getaucht.

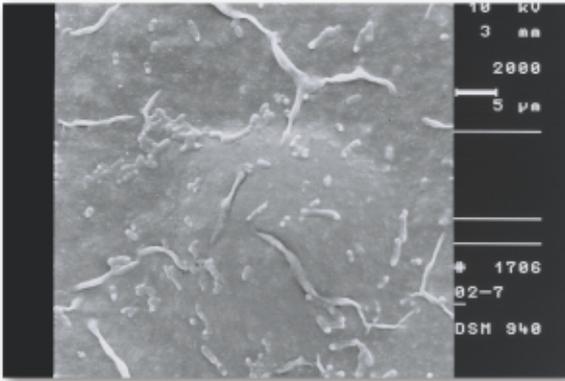


Abb. 25: Wieg202c, PE getaucht.

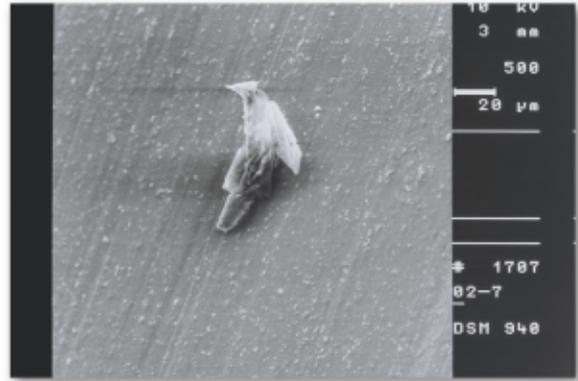


Abb. 26: Wieg202c, PE getaucht.

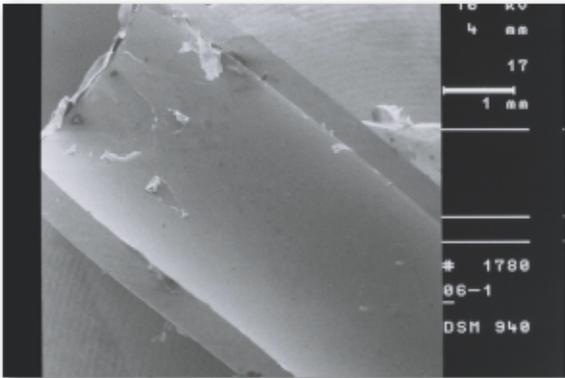


Abb. 27: Wieg202c, PE gespült.

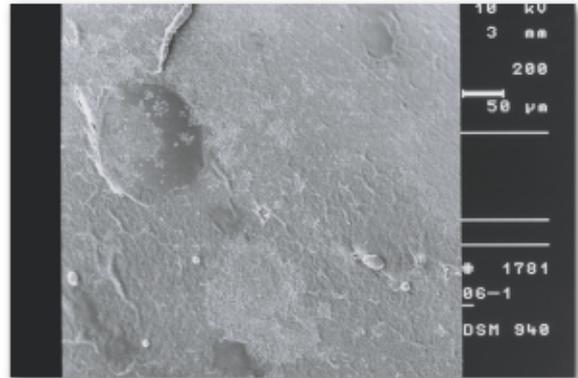


Abb. 28: Wieg202c, PE gespült.

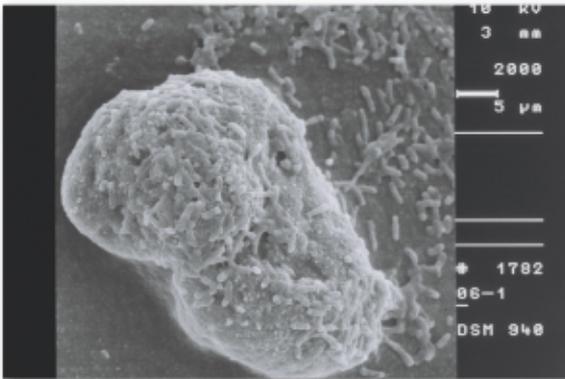


Abb. 29: Wieg202c, PE gespült.

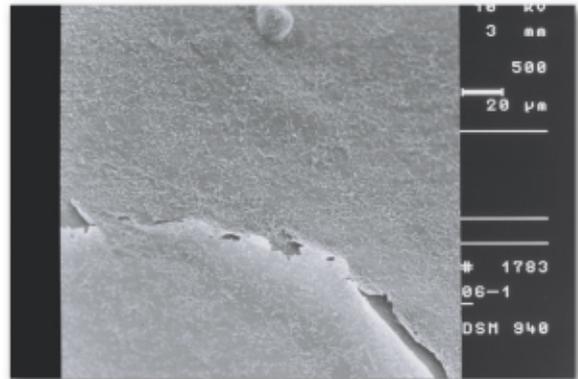


Abb. 30: Wieg202c, PE gespült.

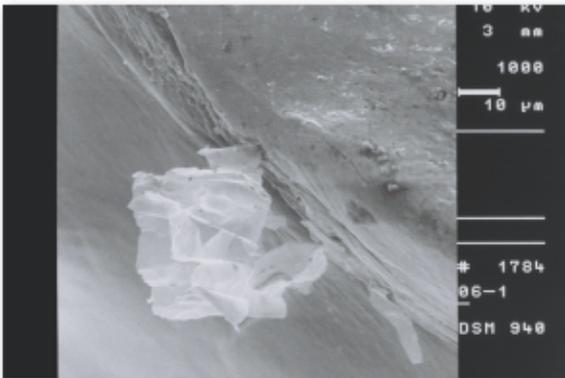


Abb. 31: Wieg202c, PE gespült.

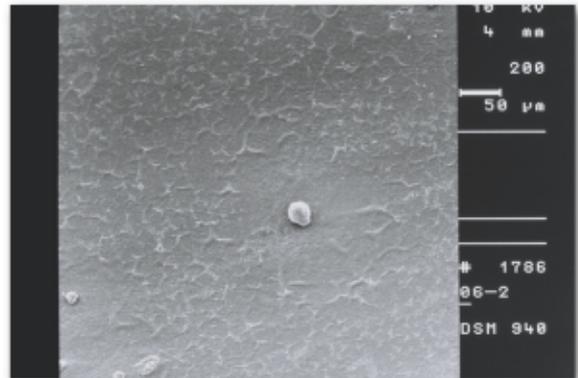


Abb. 32: Wieg202c, PE gespült.

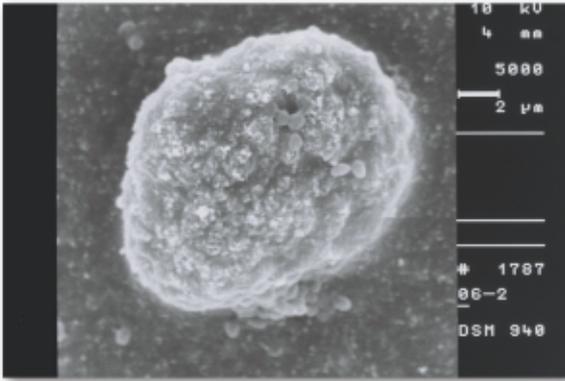


Abb. 33: Wieg202c, PE gespült.

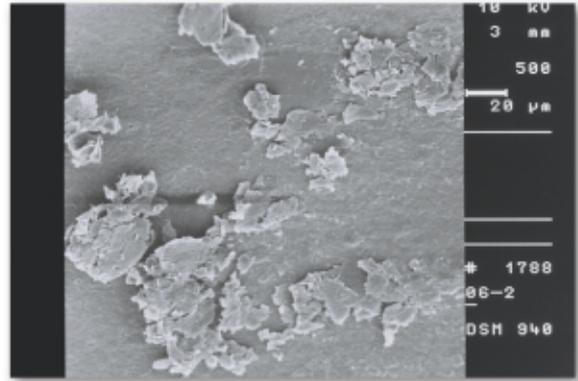


Abb. 34: Wieg202c, PE gespült.

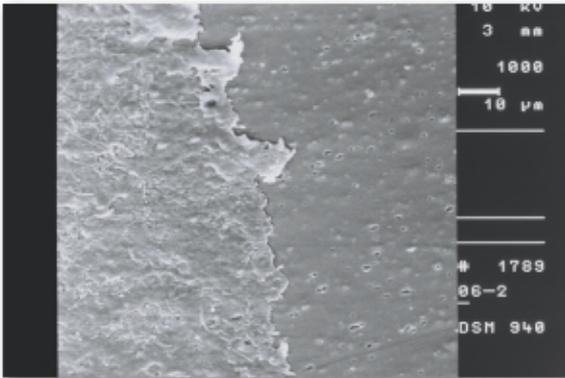


Abb. 35: Wieg202c, PE gespült.

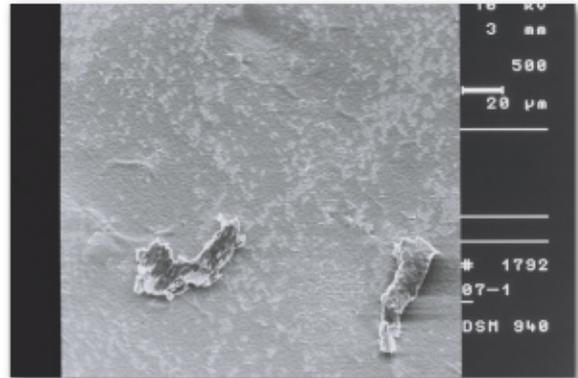


Abb. 36: Wieg202c, Teflon gespült.

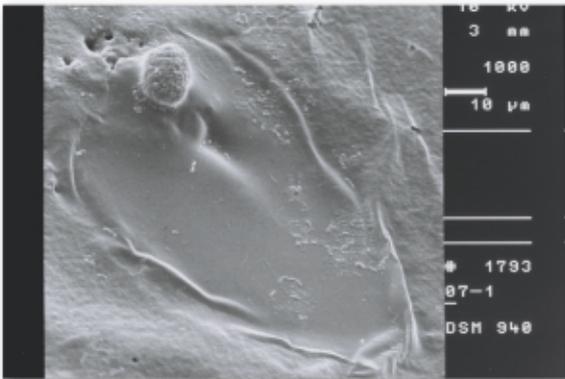


Abb. 37: Wieg202c, Teflon gespült.

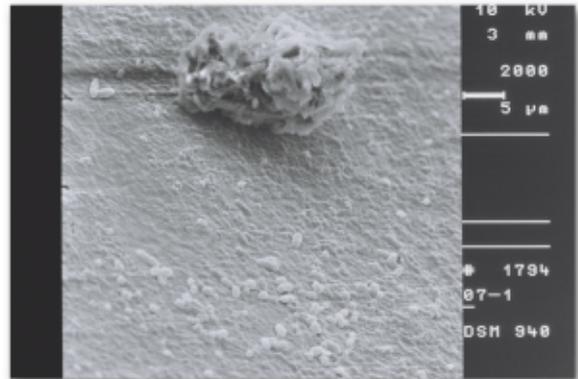


Abb. 38: Wieg202c, Teflon gespült.

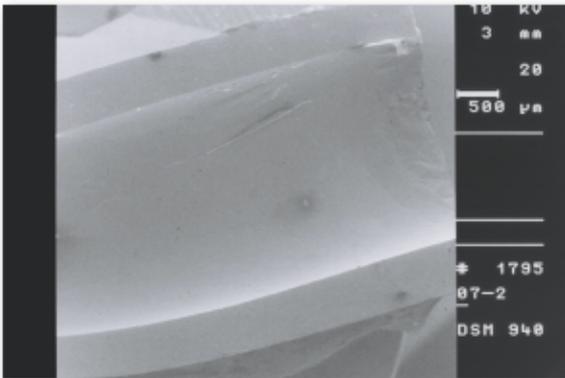


Abb. 39: Wieg202c, Teflon gespült.

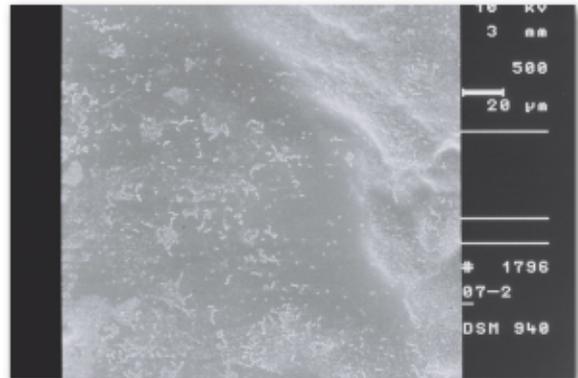


Abb. 40: Wieg202c, Teflon gespült.

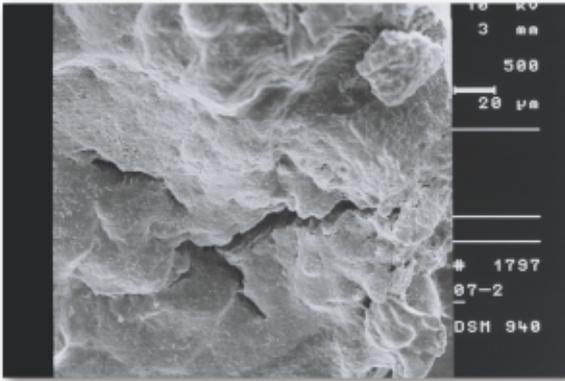


Abb. 41: Wieg202c, Teflon gespült.

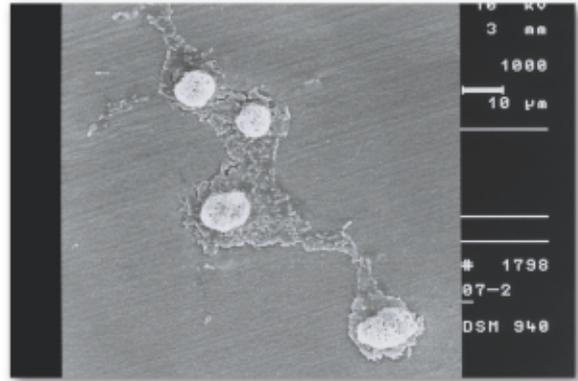


Abb. 42: Wieg202c, Teflon gespült.

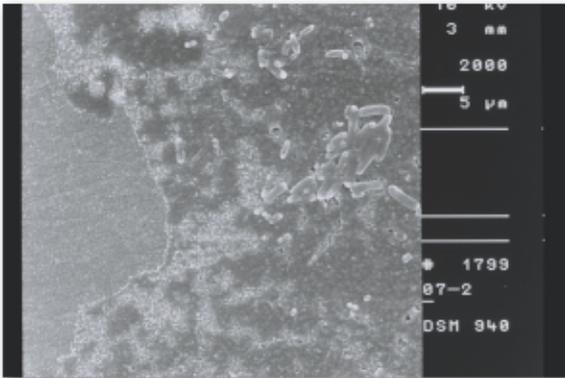


Abb. 43: Wieg202c, Teflon gespült.

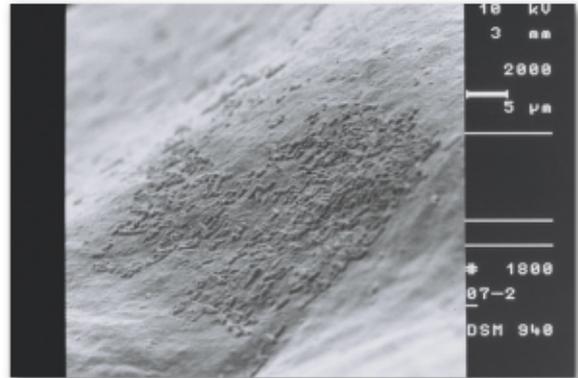


Abb. 44: Wieg202c, Teflon gespült.

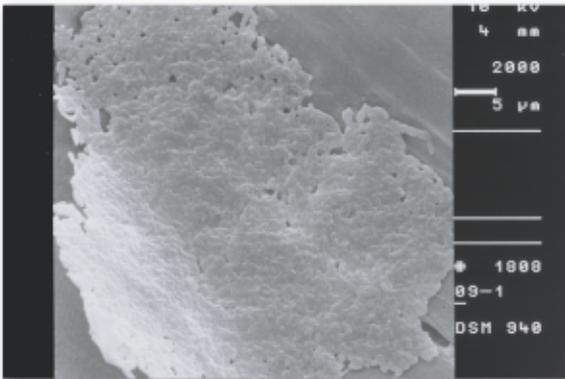


Abb. 45: Teflon unbeschichtet.

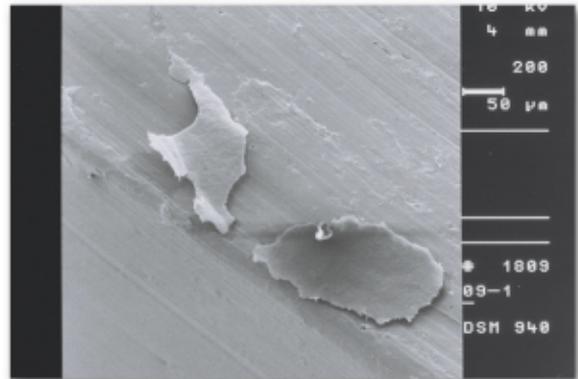


Abb. 46: Teflon unbeschichtet.

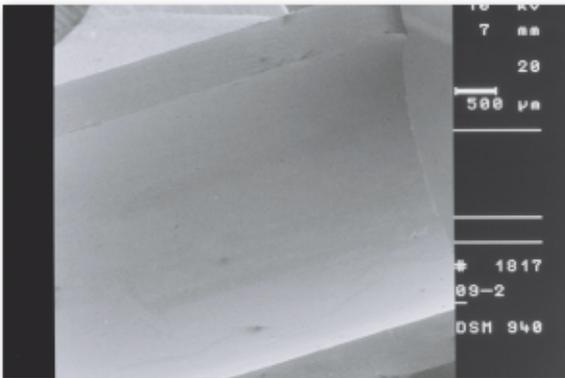


Abb. 47: Teflon unbeschichtet.

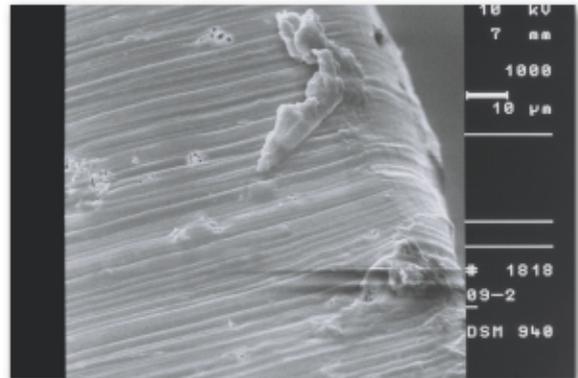


Abb. 48: Teflon unbeschichtet.

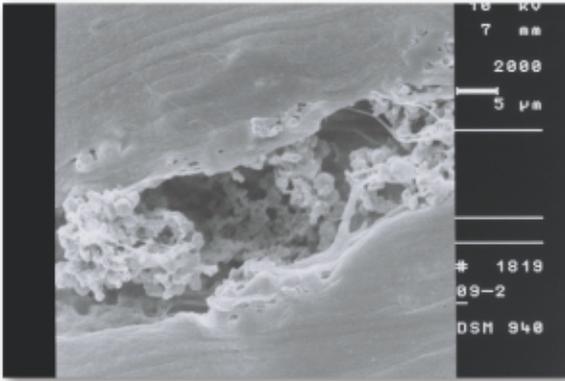


Abb. 49: Teflon unbeschichtet.

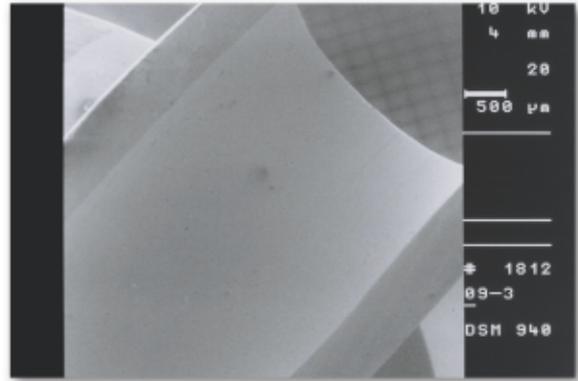


Abb. 50: Teflon unbeschichtet.

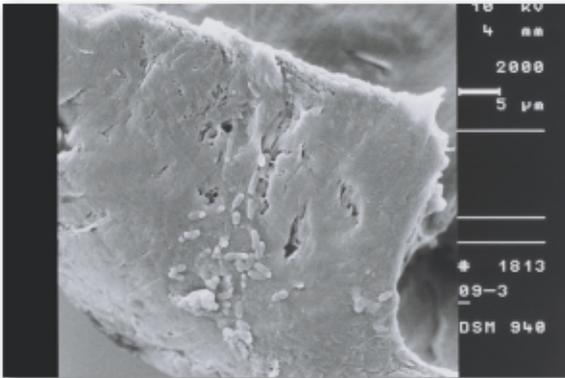


Abb. 51: Teflon unbeschichtet.

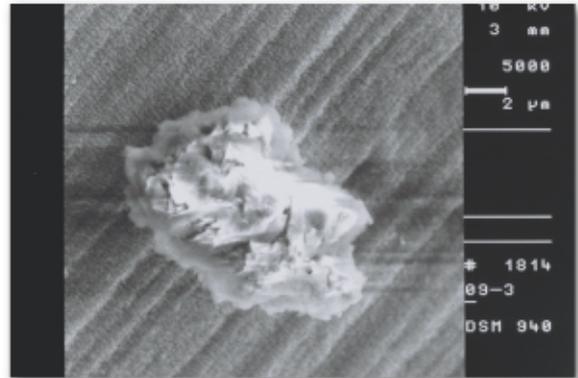


Abb. 52: Teflon unbeschichtet.

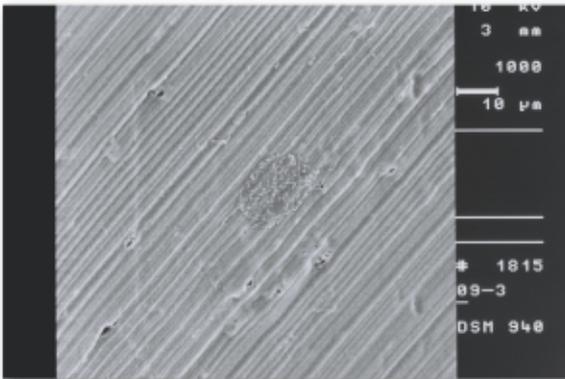


Abb. 53: Teflon unbeschichtet.

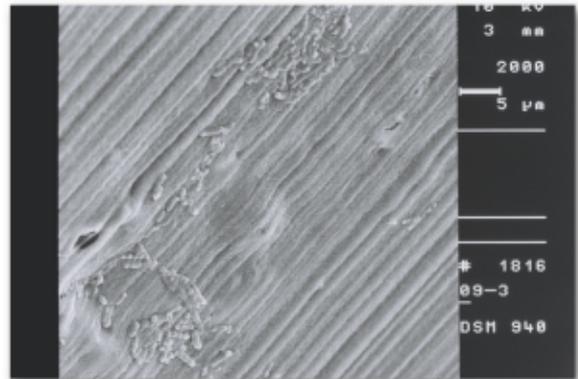


Abb. 54: Teflon unbeschichtet.

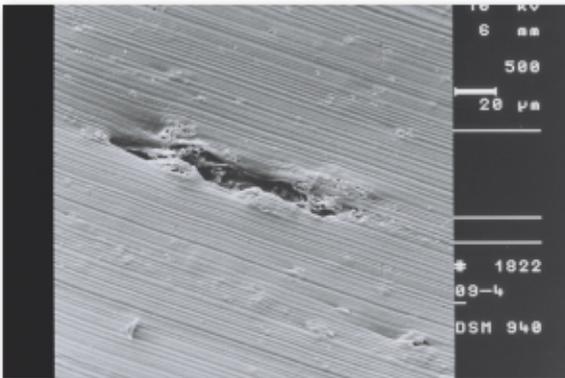


Abb. 55: Teflon unbeschichtet.

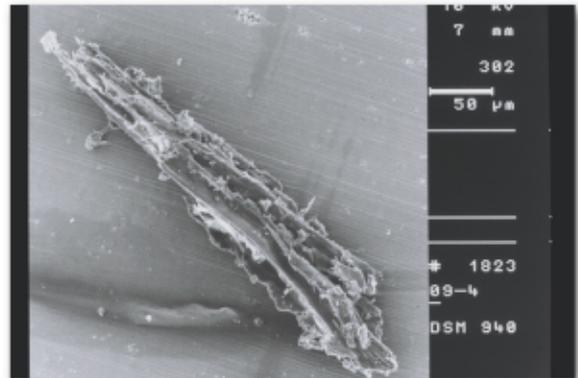


Abb. 56: Teflon unbeschichtet.

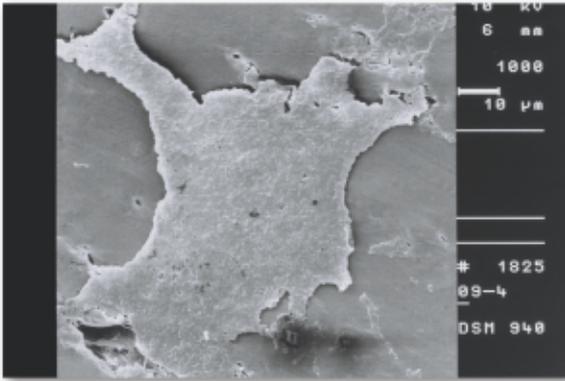


Abb. 57: Teflon unbeschichtet.

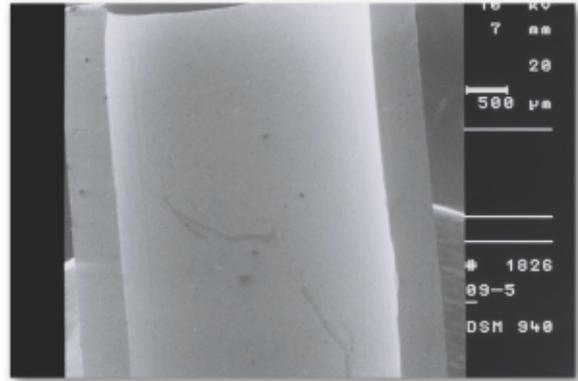


Abb. 58: Teflon unbeschichtet.

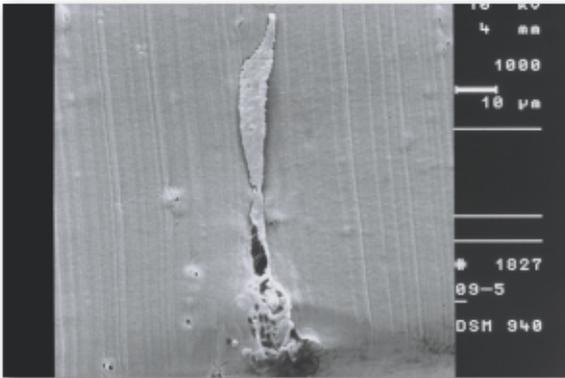


Abb. 59: Teflon unbeschichtet.

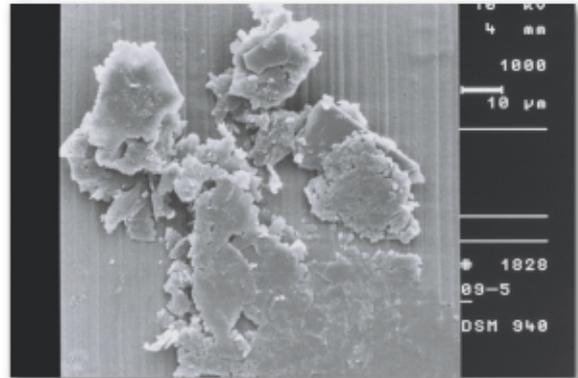


Abb. 60: Teflon unbeschichtet.

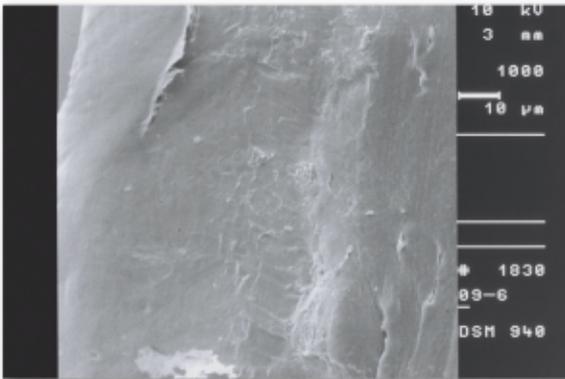


Abb. 61: Teflon unbeschichtet.

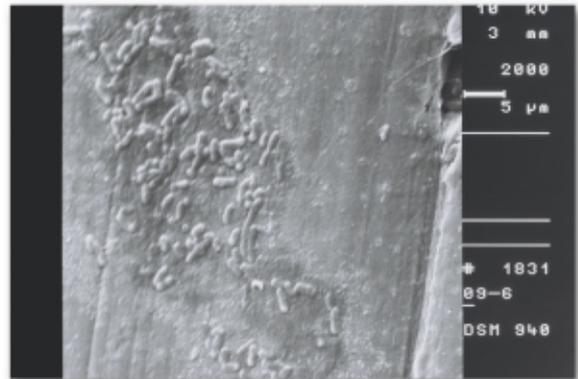


Abb. 62: Teflon unbeschichtet.

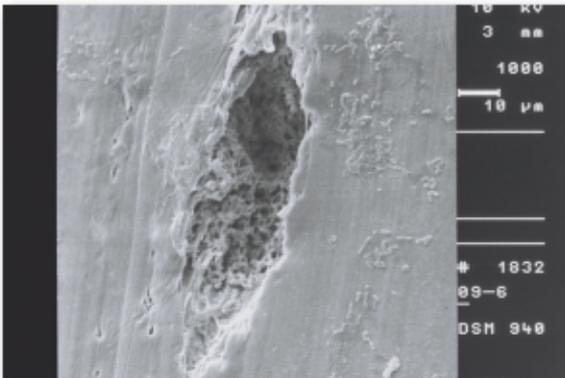


Abb. 63: Teflon unbeschichtet.

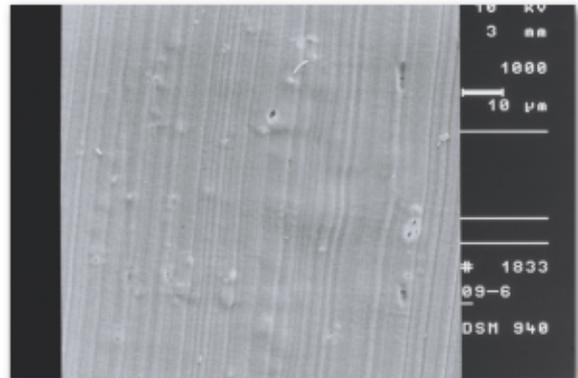


Abb. 64: Teflon unbeschichtet.

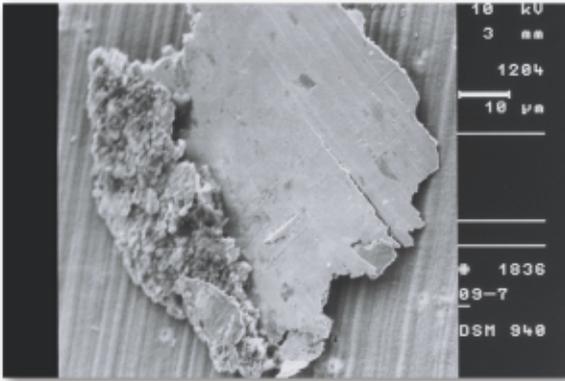


Abb. 65: Teflon unbeschichtet.

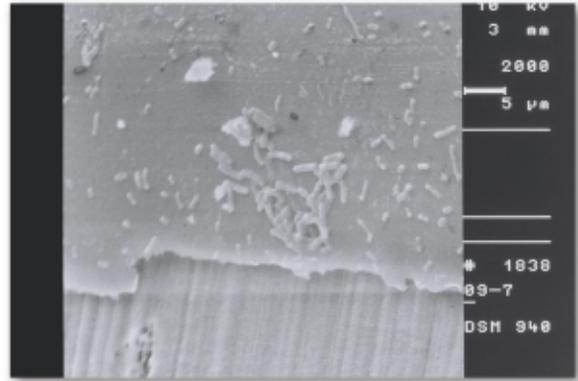


Abb. 66: Teflon unbeschichtet.

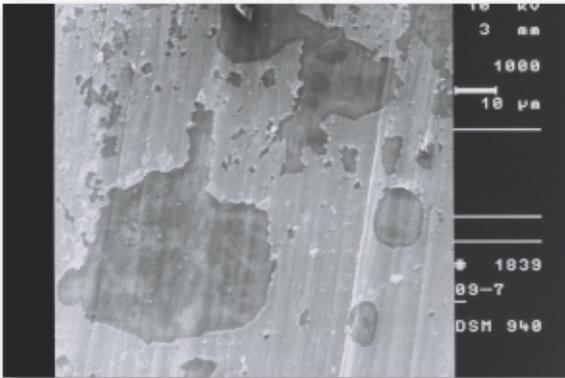


Abb. 67: Teflon unbeschichtet.

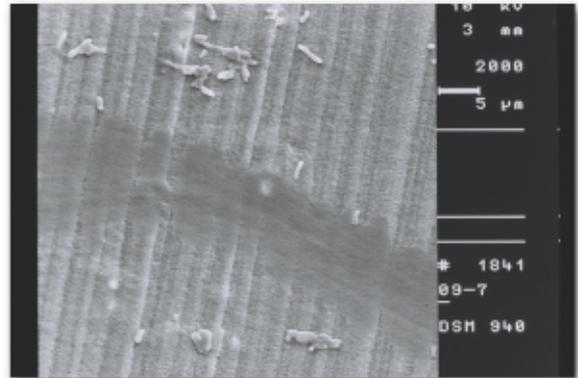


Abb. 68: Teflon unbeschichtet.

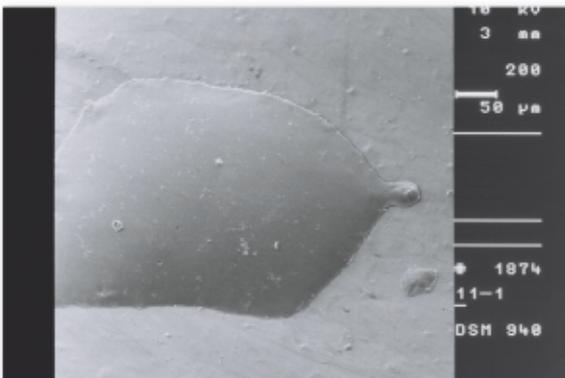


Abb. 69: Wie, Teflon getaucht.

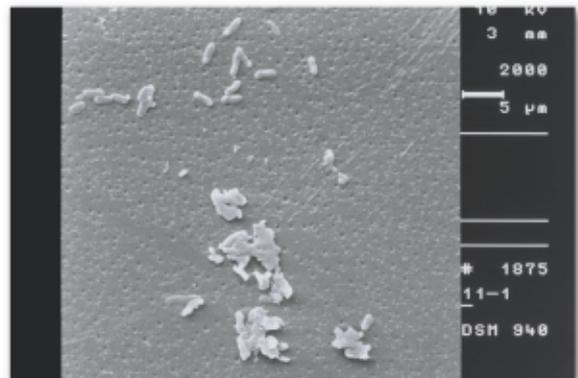


Abb. 70: Wie, Teflon getaucht.

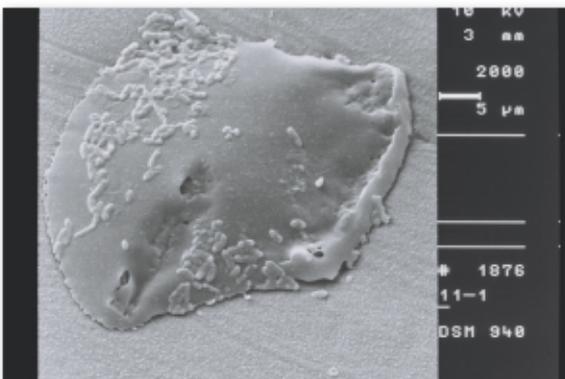


Abb. 71: Wie, Teflon getaucht.

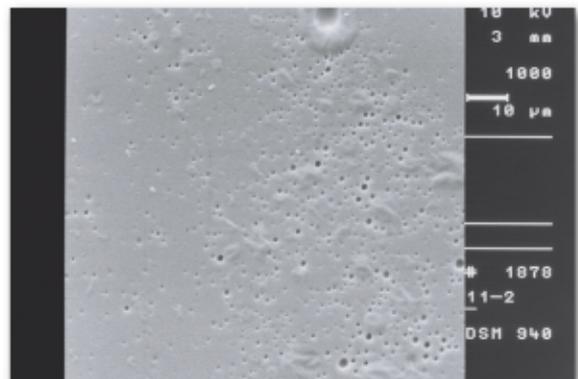


Abb. 72: Wie, Teflon getaucht.

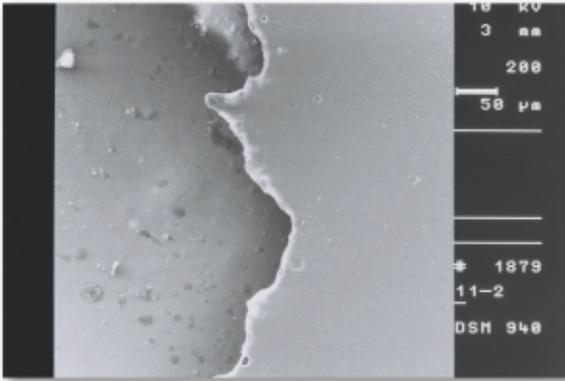


Abb. 73: Wie, Teflon getaucht.

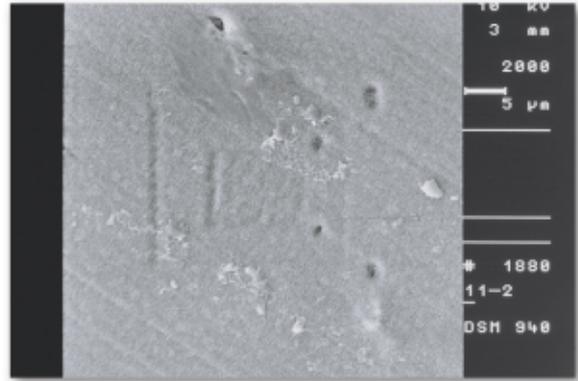


Abb. 74: Wie, Teflon getaucht.

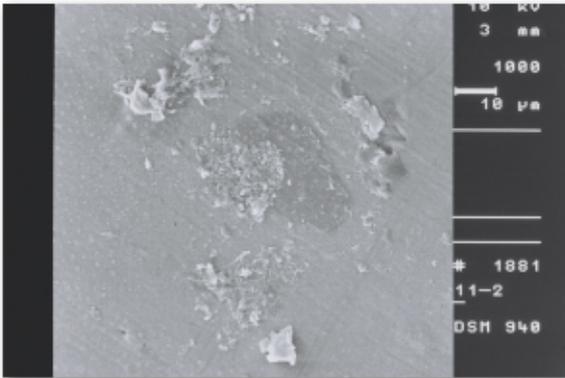


Abb. 75: Wie, Teflon getaucht.

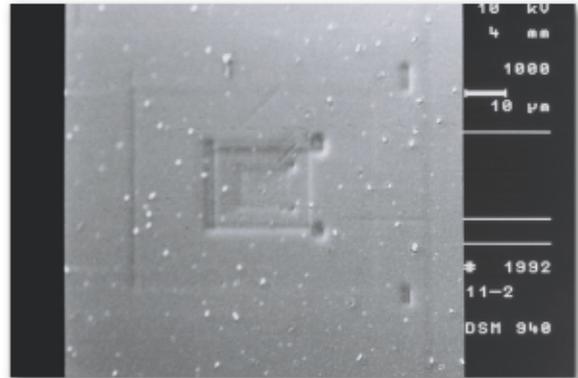


Abb. 76: Wie, Teflon getaucht.

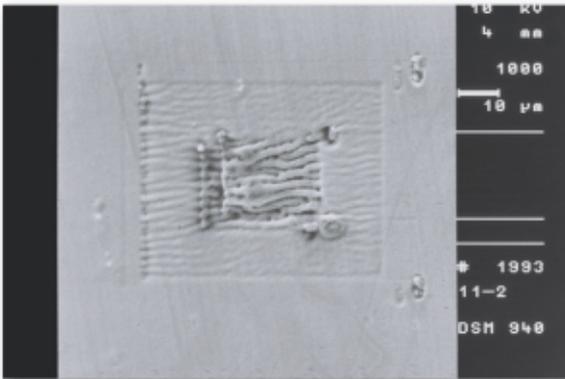


Abb. 77: Wie, Teflon getaucht.

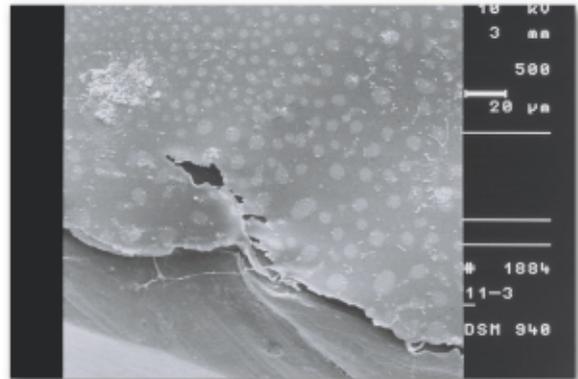


Abb. 78: Wie, Teflon getaucht.

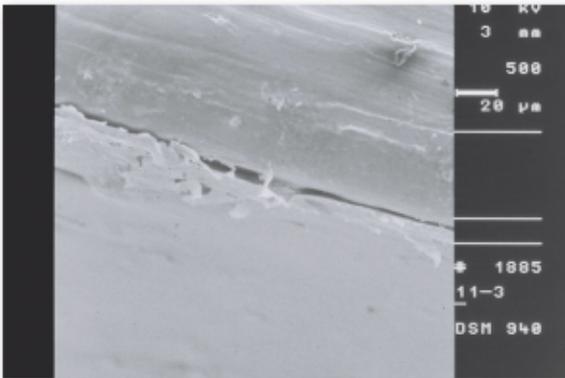


Abb. 79: Wie, Teflon getaucht.

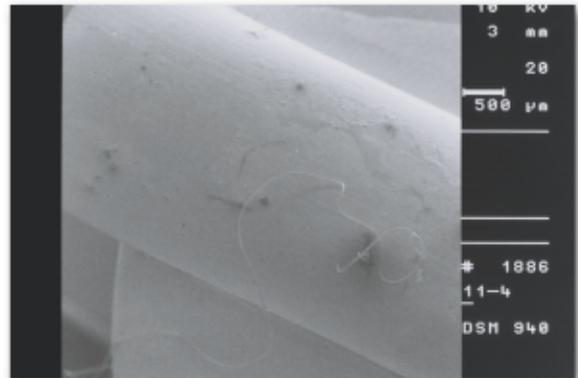


Abb. 80: Wie, Teflon getaucht.

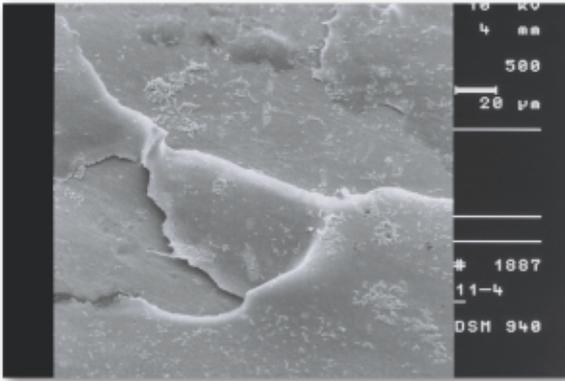


Abb. 81: Wie, Teflon getaucht.

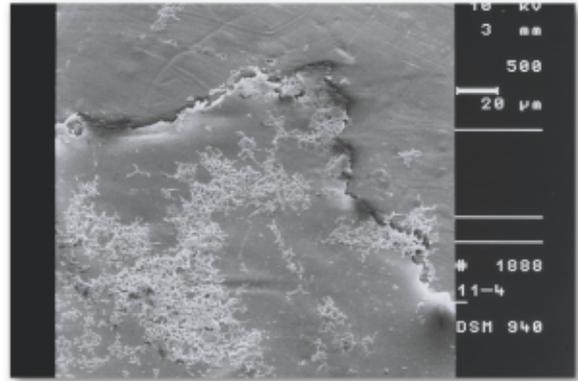


Abb. 82: Wie, Teflon getaucht.

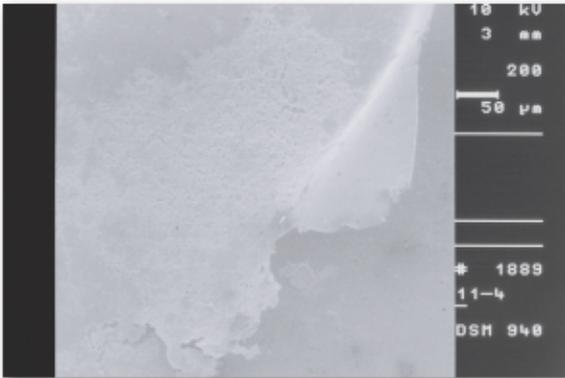


Abb. 83: Wie, Teflon getaucht.

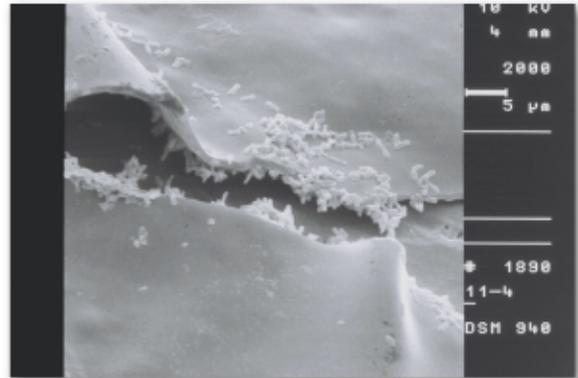


Abb. 84: Wie, Teflon getaucht.

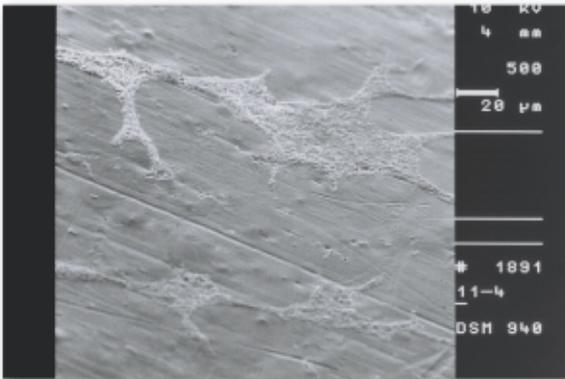


Abb. 85: Wie, Teflon getaucht.

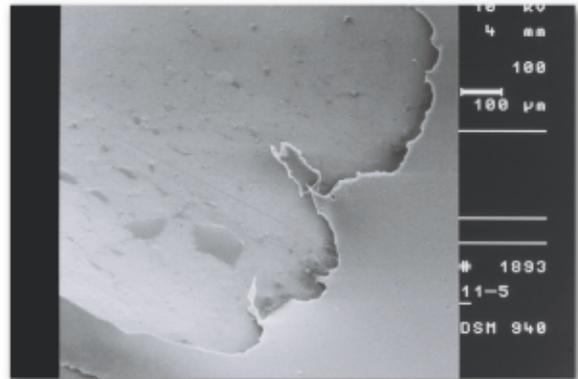


Abb. 86: Wie, Teflon getaucht.

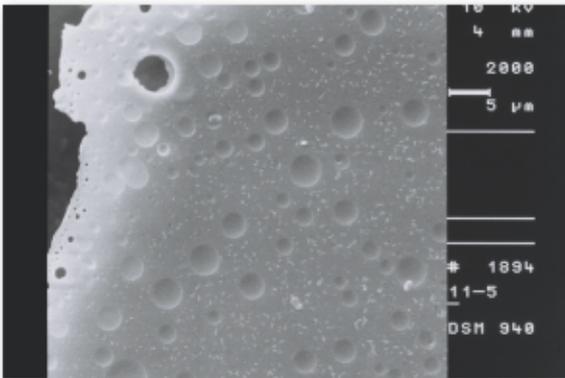


Abb. 87: Wie, Teflon getaucht.

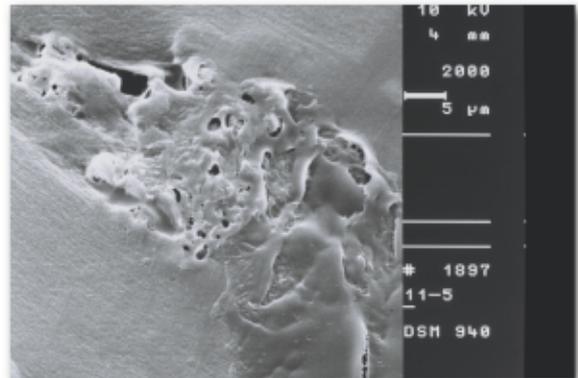


Abb. 88: Wie, Teflon getaucht.

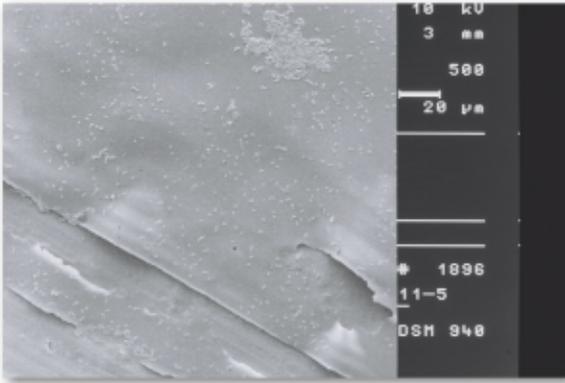


Abb. 89: Wie, Teflon getaucht.

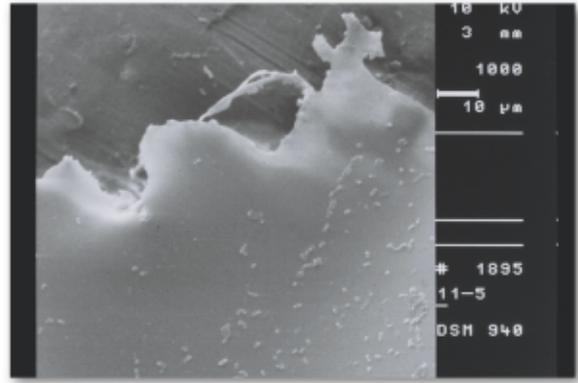


Abb. 90: Wie, Teflon getaucht.

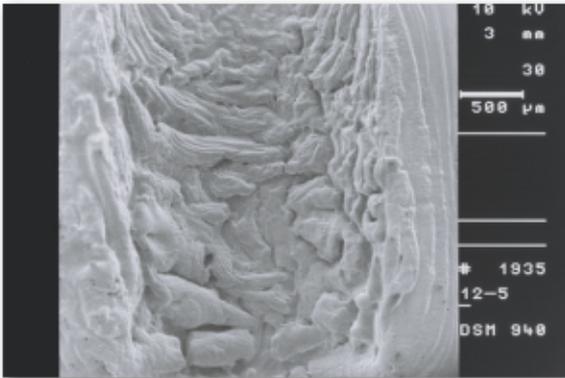


Abb. 91: Wieg202c, Teflon getaucht.

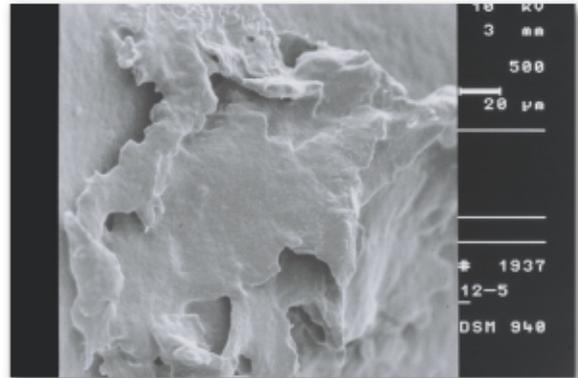


Abb. 92: Wieg202c, Teflon getaucht.

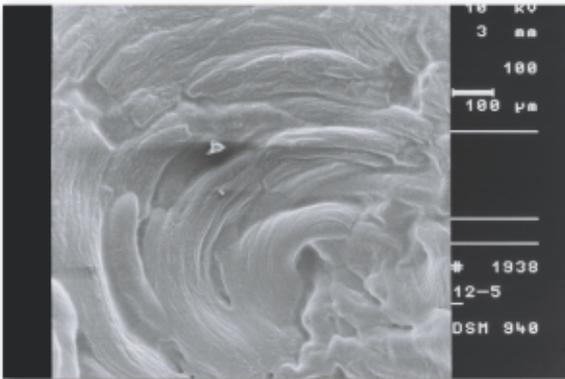


Abb. 93: Wieg202c, Teflon getaucht.

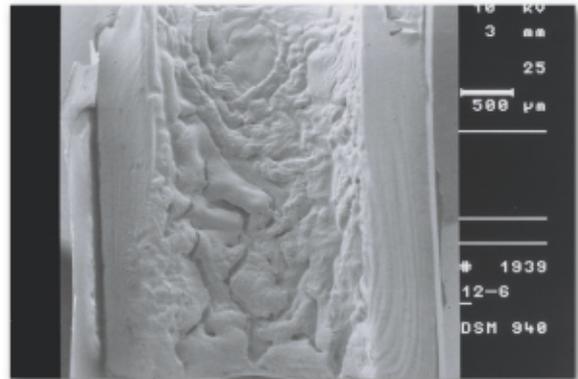


Abb. 94: Wieg202c, Teflon getaucht.

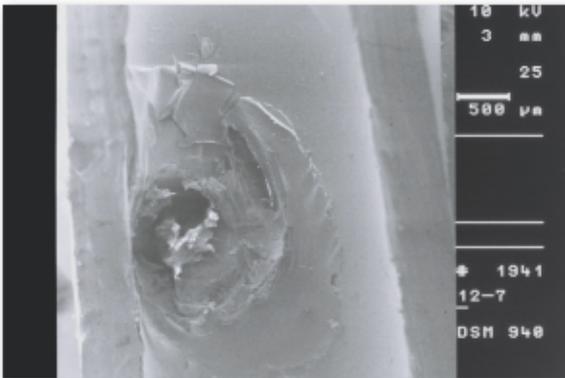


Abb. 95: Wieg202c, Teflon getaucht.

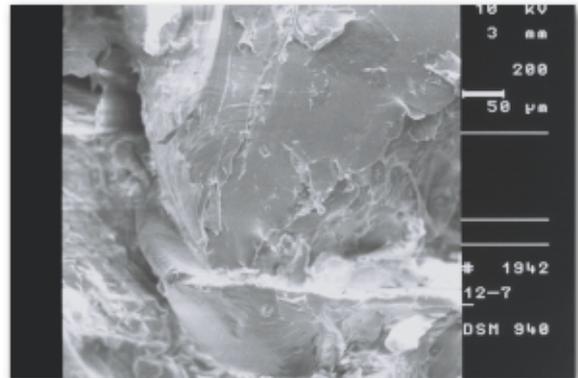


Abb. 96: Wieg202c, Teflon getaucht.

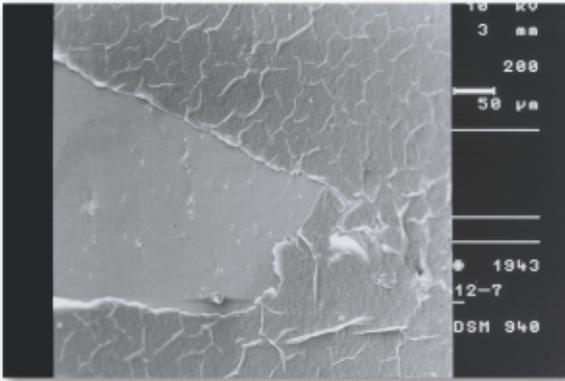


Abb. 97: Wieg202c, Teflon getaucht.

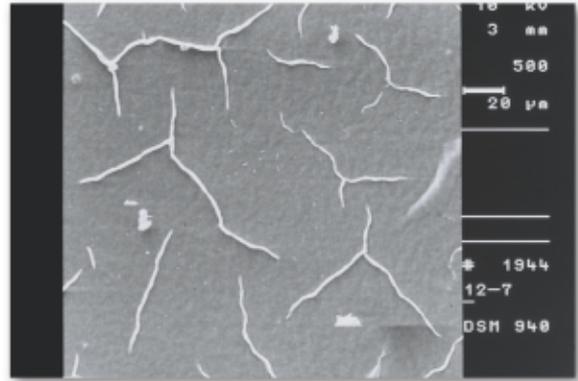


Abb. 98: Wieg202c, Teflon getaucht.

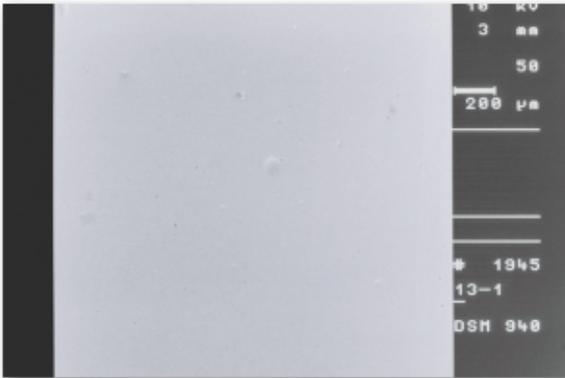


Abb. 99: Wie, PE getaucht.

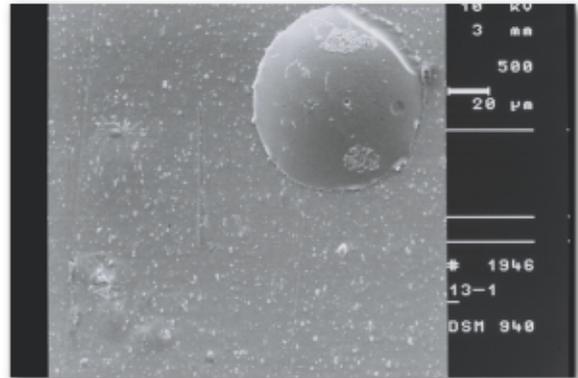


Abb. 100: Wie, PE getaucht.

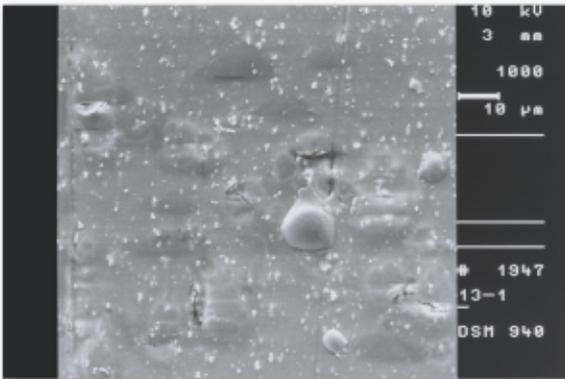


Abb. 101: Wie, PE getaucht.

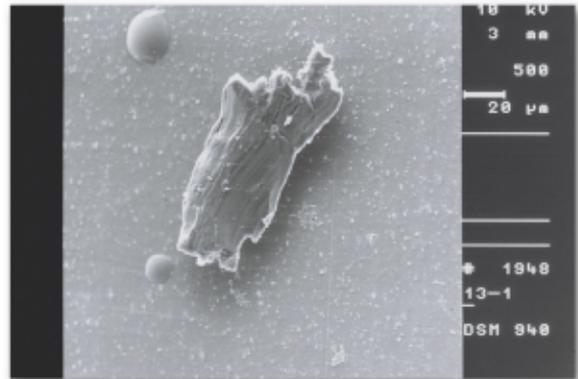


Abb. 102: Wie, PE getaucht.

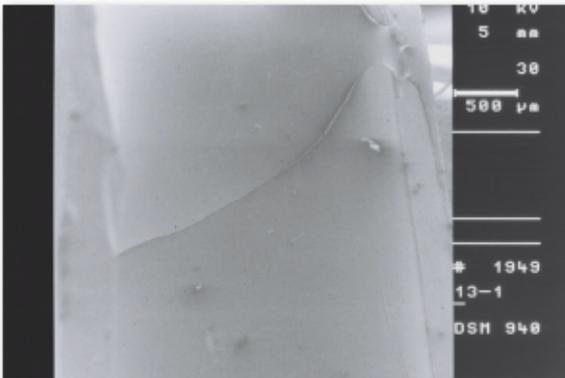


Abb. 103: Wie, PE getaucht.

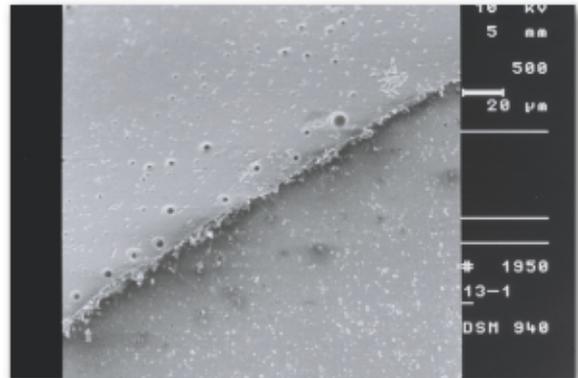


Abb. 104: Wie, PE getaucht.

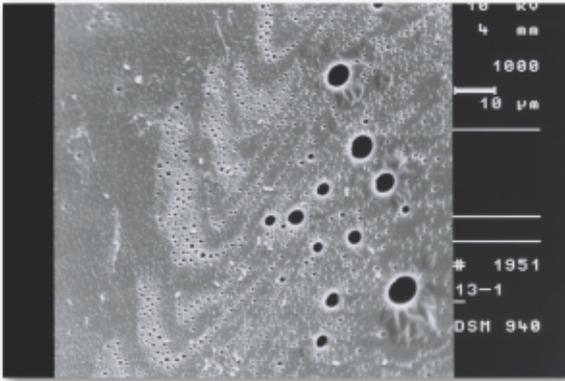


Abb. 105: Wie, PE getaucht.

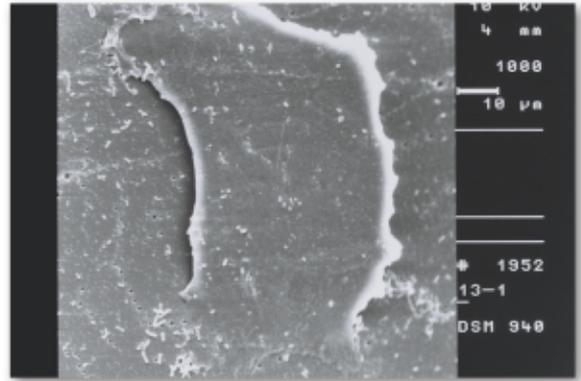


Abb. 106: Wie, PE getaucht.

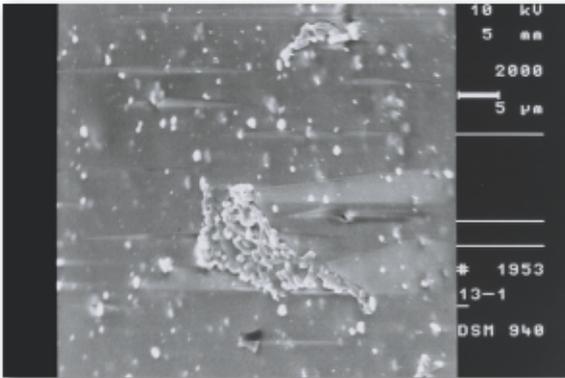


Abb. 107: Wie, PE getaucht.

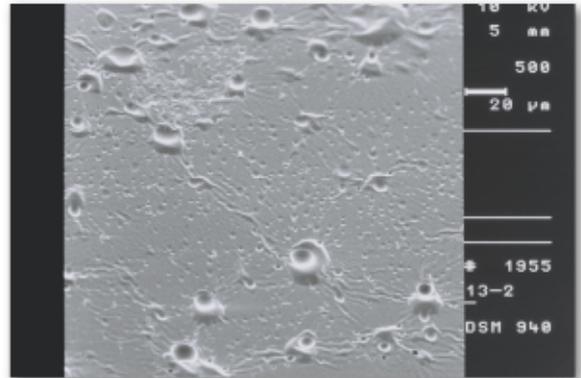


Abb. 108: Wie, PE getaucht.

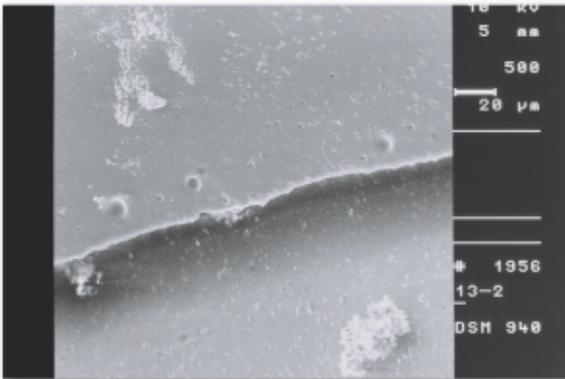


Abb. 109: Wie, PE getaucht.

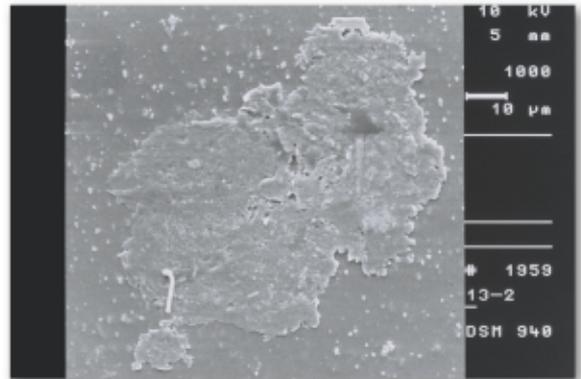


Abb. 110: Wie, PE getaucht.

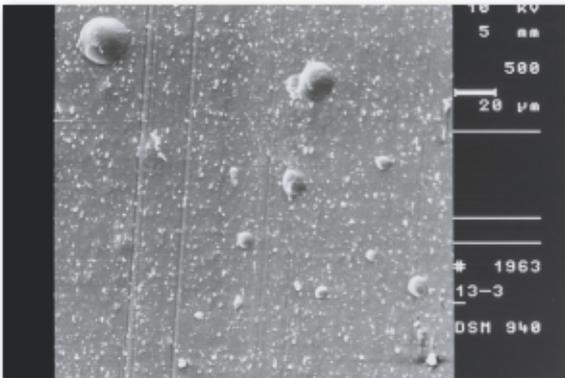


Abb. 111: Wie, PE getaucht.

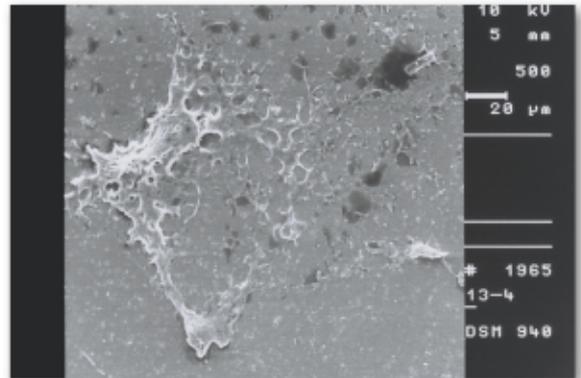


Abb. 112: Wie, PE getaucht.

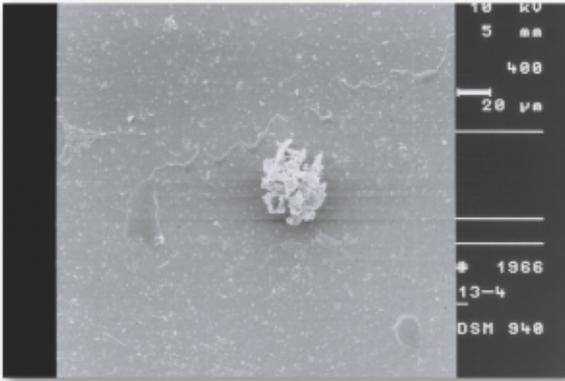


Abb. 113: Wie, PE getaucht.

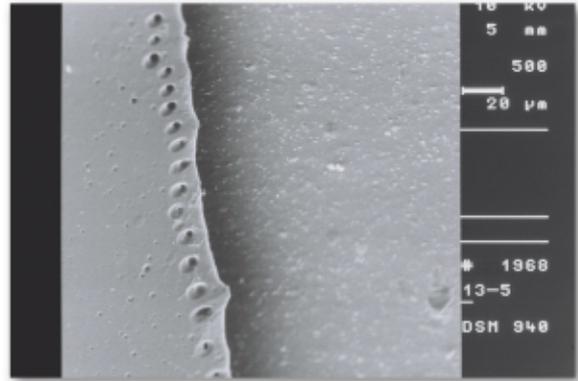


Abb. 114: Wie, PE getaucht.

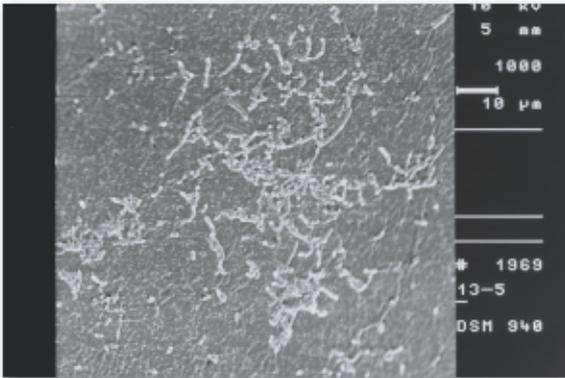


Abb. 115: Wie, PE getaucht.

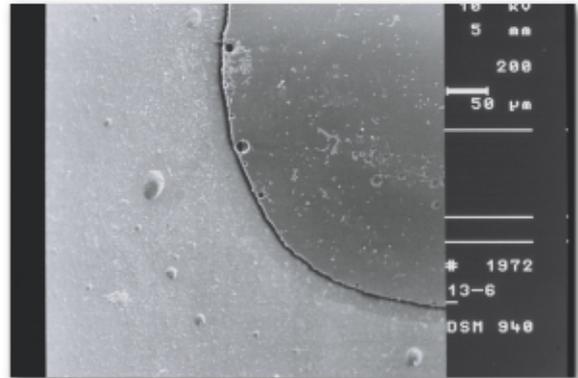


Abb. 116: Wie, PE getaucht.

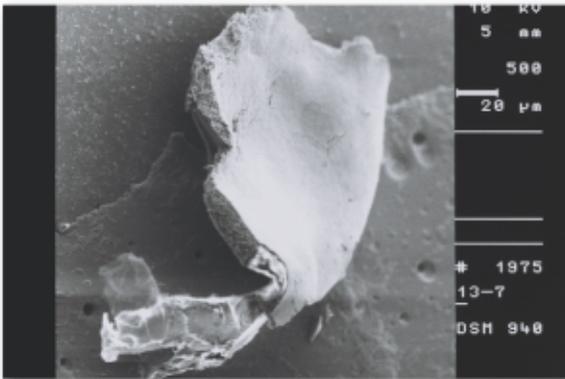


Abb. 117: Wie, PE getaucht.

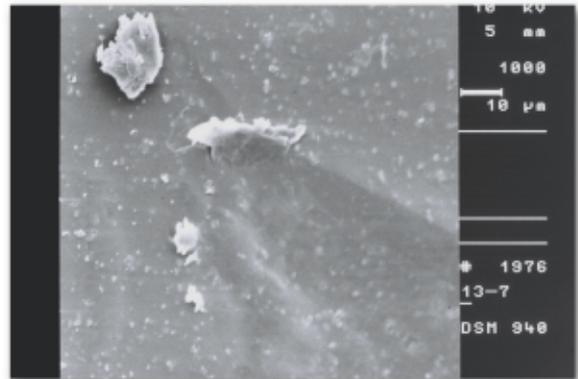


Abb. 118: Wie, PE getaucht.

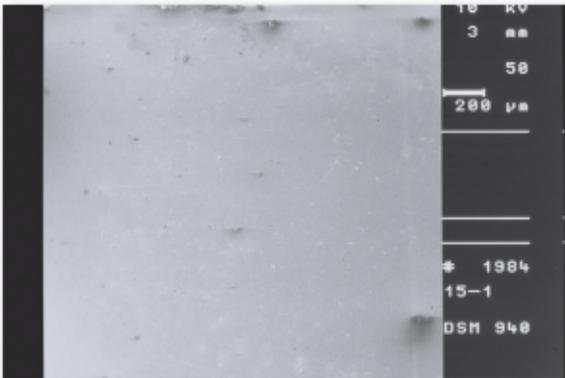


Abb. 119: Wie, PE gespült.

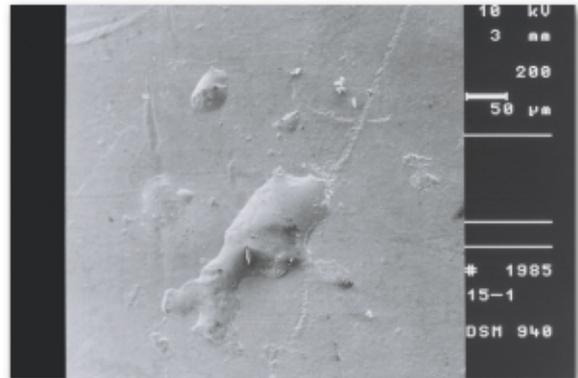


Abb. 120: Wie, PE gespült.

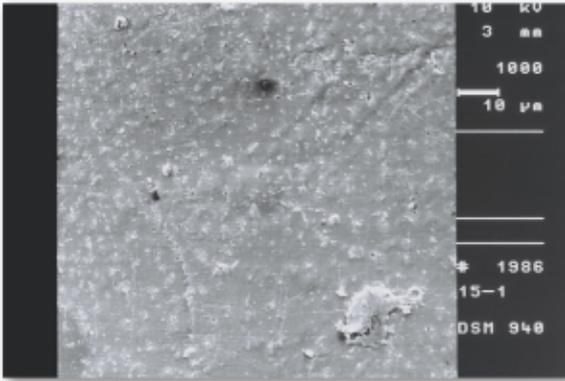


Abb. 121: Wie, PE gespült.

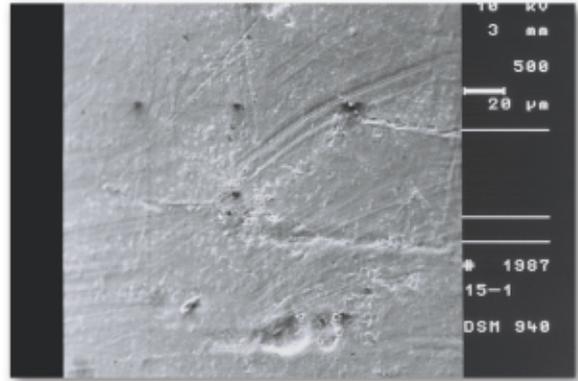


Abb. 122: Wie, PE gespült.

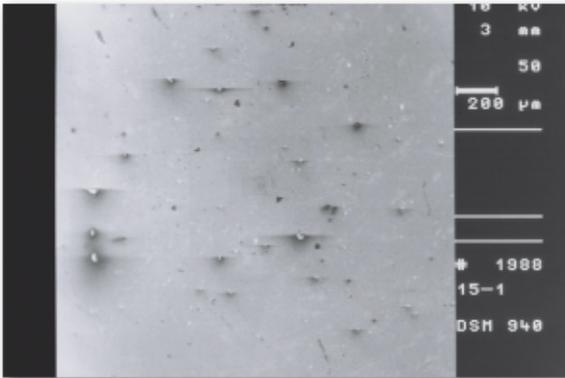


Abb. 123: Wie, PE gespült.

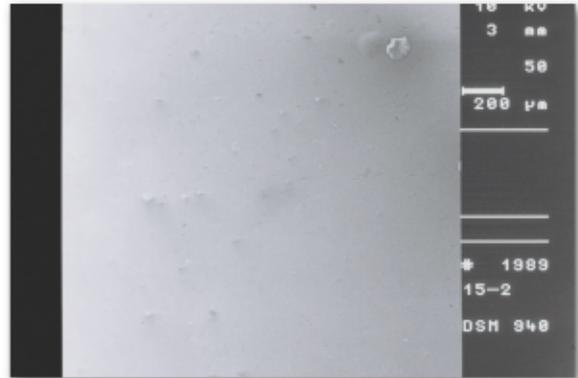


Abb. 124: Wie, PE gespült.

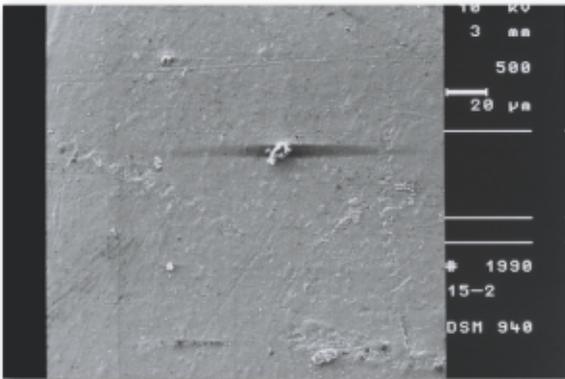


Abb. 125: Wie, PE gespült.

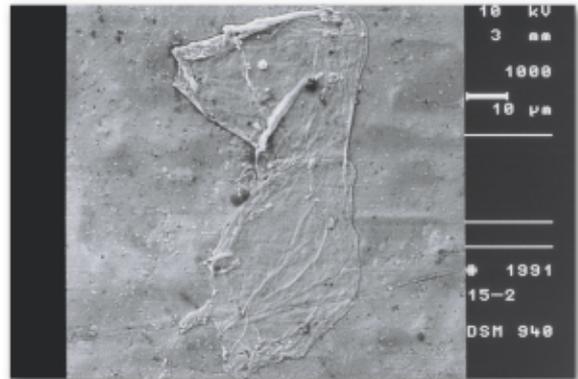


Abb. 126: Wie, PE gespült.

10 Literaturverzeichnis

Agdirlioglu T (2008) In-vitro-Untersuchung von hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungen für Gallengangendoprothesen im Vergleich zu unbeschichteten Teflonendoprothesen. Med. Dissertation. Universität Hamburg

Barthlott W, Neinhuis C (1998) Lotus-Effekt und Autolack: Die Selbstreinigungsfähigkeit mikrostrukturierter Oberflächen. *Biologie in unserer Zeit*, p 314-321

Bissing KD, Mayerle J, Lerch MM, Friess H, Büchler MW (2002) Der unklare Pankreastumor: Wann stenten, wann operieren? *Dtsch Med Wochenschr*; 126: Suppl 2 p 107-114

Calett G, Ferrari A (1996) Endoscopic ultrasonography, *Endoscopy*, 28: p 156-173

Coene PP, Groen AK, Cheng J, Out MM, Tytgat GN, Huibregtse K (1990) Clogging of biliary endoprotheses: a new perspective. *Gut* 31(8): p 913-7

De Leding V, Person B, Legoux JL, Le Sidaner A, Desaint B, Greef M, Moesch C, Grollier G, Ingrand P, Sautereau D, Beauchant M. (2000) Prevention of biliary stent occlusion by ursodeoxycholic acid plus norfloxacin: a multicenter randomized trial. *Dig Dis Sci*, 45(1): p 145-150

Dogan M (2008) In-vitro-Untersuchung von Polyurethan- und hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungen für Gallengangendoprothesen im Vergleich zu herkömmlichen Beschichtungsmaterialien. Med.Dissertation. Universität Hamburg

Doll R, Peto R, Wheatley K. et al. (1994) Mortality in relation to smoking. 40 year' observation on male british doctors. *Brit Med J* 309: p 901-911

Dowidar N, Kolmos HJ, Matzen P (1992) Experimental clogging of biliary endoprotheses. Role of bacteria, endoprosthesis material and design. *Scand J Gastroenterol*, 27 (1): p77-80

Falk RT, Pickle LW, Fontham ET (1990) Occupation and pancreatic cancer risk in Louisiana. *Am J Intern Med*, 18: p 565-576

Farnbacher MJ, Voll RE, Faisser R, Wehler M, Hahn EG, Lohr M, Schneider HAT (2005) Composition of clogging material in pancreatic endoprotheses. *Dtsch, Gastrointest Endosc.*; 61(7): p 862-6

Frey M, Criblez D (2001) Cholezystolithiasis. *Schweiz Med Forum* Nr. 32/33, 15. August

Galandi D, Schwarzer G, Bassler D, Allgaier HP (2002) Ursodeoxycholic acid and/or antibiotics for prevention of biliary stent occlusion. *Cochrane Database Syst. Rev.* (3):CD003043

Ghosh S, Palmer KR (1994) Prevention of biliary stent occlusion using cyclical antibiotics and ursodeoxycholic acid. *Gut* 35 (12): p 1757-9

Giovannini M, Seitz JF, Monges G, Perrier H, Rabbia I (1995) Fine-needle aspiration cytology guided by endoscopic ultrasonography: results in 141 patients. *Endoscopy*; 27: p 171-177

Gress FG, Hawes RH, Savides TJ et al. (1999) Role of EUS in the preoperative staging of pancreatic cancer: a large single-center experience, *Gastroint Endosc*; 50: p 786-791

Groen AK, Out T, Huibregtse K, Delzenne B, Hoek FJ, Tytgat GN (1987) Characterization of the content of occluded biliary endoprotheses. *Endoscopy*, 19(2): p 57-9

Hoffman BJ, Cunningham JT, Marsh WH, O'Brien JJ, Watson J (1994) An in vitro comparison of biofilm formation on various biliary stent materials. *Gastrointest Endosc*, 40(5): p 581-3

Hollerbach S, Reiser M, Schmiegel HW (2001) Die Pankreasraumforderung: Diagnostik und endoskopische Therapiemöglichkeiten. *Dtsch Med Wochensh*; 126: Suppl 2 126-135

Howe GR, Jain M, Burch JD et al. (1991) Cigarette smoking and cancer of the pancreas: evidence from a population-based-control-study in Toronto Canada. *Int J Cancer*; 47: p 323-328

Huibregtse K, Carr-Locke DL, Cremer M, Domschke W, Fockens P, Foerster E, Hagenmuller F, Hatfield AR, Lefebvre JF, Liquory CL, et al. (1992) Biliary stent occlusion – a problem solved with self-expanding metal stents? European Wallstent Study Group. *Endoscopy*, 24(5): p 391-4

Internet www.nanotol.de/was-ist-nano

Internet www.focus.de/fotos/william-thielicke

Internet www.biotechnikum.eu/uploads/pics/08_Haifischhaut_web.jpg

Johnstone PA and Sindelar WF (1993) Lymph node involvement and pancreatic resection: correlation with prognosis and local disease control in a clinical trial. *Pancreas* 8: p 535-539

Kaassis M, Boyer J, Dumas R, Ponchon T, Coumaros D, Delcenserie R, Canard JM, Fritsch J, Rey JF, Burtin P (2003) Plastic or metal stents for malignant stricture of the common bile duct? Results of a randomized prospective study. *Gastrointest Endosc*, 57(2): p 178-82

Kawase Y, Kawanishi M, Motoyama A, Kawa H, Sugimoto H, Hara H (1995) Trial of biliary endoprotheses with polyurethane-covered metallic stents versus uncovered metallic stents. *AGA-Abstract*

Knyrim K, Wagner HJ, Pausch J, Vakil N (1993) A prospective, randomized, controlled trial of metal stents for malignant obstruction of the common bile duct. *Endoscopy*, 25(3): p 207-12

Lammer J, Stoffler G, Petek WW, Hofler H (1986) In vitro long-term perfusion of different materials for biliary endoprotheses. *Invest Radiol*, 21(4): p 329-31

Landis SH, Murray T, Bolden S, Wingo PA (1998) Cancer statistics, *CA Cancer J Clin*, 48 (1): p 6-29

Leung JW, Lau GT, Sung JJ, Costerton JW (1992) Decreased bacterial adherence to silver-coated stent material: an in vitro study. *Gastrointest Endosc*, 38(3): p 228-40

Leung JW, Ling TK, Kung JL, Vallance-Owen J (1988) The role of bacteria in the blockage of biliary stents. *Gastrointest Endosc*, 34(1): p 19-22

Leung JW, Liu YL, Desta TD, Libby ED, Inciardi JF, Lam K (2000) In vitro evaluation of antibiotic prophylaxis in the prevention of biliary stent blockage. *Gastrointest Endosc*, 51(3): p 296-303

Libby ED, Leung JW (1996) Prevention of biliary stent clogging: a clinical review. *Am J Gastroenterol*, 91(7): p 1301-8

Lowenfels AB, Maisonneuve P, Cavallini G. et al. (1993) Pancreatic and the risk of pancreatic cancer. *N Engl J Med*, 328: p 1433-1437

Luman W, Ghosh S, Palmer KR (1999) A combination of ciprofloxacin and Rowachol does not prevent biliary stent occlusion. *Gastrointest Endosc*; 49: p 316-21

McAllister EW, Carey LC, Brady PG, Heller R, Kovacs SG (1993) The role of polymeric surface smoothness of biliary stents in bacterial adherence, biofilm deposition, and stent occlusion. *Gastrointest Endosc*, 39(3): p 422-5

Matsuda Y, Shimakura K, Akamatsu T (1999) Factors affecting the patency of stents in malignant biliary obstructive disease: univariate and multivariate analysis. *Am J Gastroenterol*, 86(7): p 843-9

Meyerson SM., Geenen JE., Catalano MF, Schmalz MJ, Geene DJ, Seigel J, et al. (1998) Tannenbaum Teflon stents versus traditional polyethylene stents for treatment of malignant biliary strictures: a multicenter prospective randomized trial. *Gastrointest Endos*, 47 A: p 394

Moesch C, Sautereau D, Cessot F, Berry P, Mounier M, Gainant A, Pillegand B (1991) Physicochemical and bacteriological analysis of the contents of occluded biliary endoprostheses. *Hepatology*, 14(6): p 1142-6

Neuhaus H, Schumacher B (1998) Use of metal stents in gastroenterology. *Z Gastroenterol*, 36(2): p 121-34

Niederhuber JF, Brennan MF, Menck HR (1995) The National Cancer Data Base report on pancreatic cancer. *Cancer*, 76(9): p 1671-7

Provansal-Cheylan M, Bernard JP, Mariani A, Soehendrs N, Cremer M, Sahel J, Sarles H (1989) Occluded pancreatic endoprotheses - analysis of the clogging material. *Endoscopy*, 21(2): p 63-9

Ridwelski K, Meyer F, Ebert M, Malfertheiner P, Lippert H (2001) Prognostic parameters determining survival in pancreatic carcinoma and, in particular, after palliative treatment. *Dig Dis* 19: p 85-92

Rösch T (1995) Staging of pancreatic cancer: Analysis of literature results. *Gastrointest Endosc Clin N Am*, 5: p 735-739

Salazar-Bravo J, Ruedas L A, Yates T L (2002) Mammalian reservoirs of arenaviruses. *Curr Top Microbiol Immunol* 262, p 25-63

Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. 2. Aufl., Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor.

Scheeres D, O'Brien W, Ponsky L, Ponsky J (1990) Endoscopic Stent configuration and bile flow rates in a variable diameter bile duct model. *Surg Endosc*, 4: p 91-3

Schäfer AC (2004) In vitro-Untersuchung von hydrophobierten Sol-Gel-Beschichtungen für Gallengangendoprothesen im Vergleich zu herkömmlichen Beschichtungsverfahren. Med.Dissertation. Universität Hamburg

Schmidt CM, Powell ES, Yiannoutsos CT et al. (2004) Pancreaticoduodenectomy: a 20 year experience in 516 patients. *Arch Surg*, 139: p 718

Seitz U (1996) Makroskopische mikrobiologische rasterelektronenmikroskopische und klinische Untersuchung über die Verstopfung von Gallengangprothesen und Untersuchung eines daraus resultierenden verbesserten Prothesendesigns. Med. Dissertation, Universität Hamburg

Seitz U, Seewald S, He X, Akaraviputh T, Thonke F, Soehendra N (2003) The new Soehendra stent retriever makes stent exchange much easier. *Endoscopy*, 35(1): p 98

Seitz U, Block A, Schaefer AC, Wienhold U, Bohnacker S, Siebert K, Seewald S, Thonke F, Wulff H, De Weerth A, Soehendra N (2007) Biliary stent clogging solved by nanotechnology? In vitro study inorganic-organic sol-gel coatings for Teflon stents. *Gastroenterology*, 133 (1): p 65-71

Silvis SE, Sieverst CE Jr, Vennes JA, Abeyta BK, Brennecke LH (1994) Comparison of covered versus uncovered wire mesh stents in the canine biliary tract. *Gastrointest Endosc*, 40 (1): p 17-21

Silverman DT, Brown LM, Hoover RN et al. (1995) Alcohol and pancreatic cancer in blacks and whites in the United States. *Cancer Res*, 55: p 4899-4905

Smit JM, Out M, Groen AK, Huibregtse K, Jansen P, van MJ, Tytgat G (1989) A placebo-controlled study on the efficacy of aspirin and doxycycline in preventing clogging of biliary endoprotheses. *Gastrointest Endosc*, 35: p 485-489

Smits ME, Groen Ak, Mok KS, van Marle J, Tytgat GN, Huibregste K (1997) Analysis of occluded pancreatic stents and juices in patients with chronic pancreatitis. *Gastrointest Endosc.*, 45(1): p 52-8

Soehendra N, Binmoeller F, Grimm H (1992) Endoscopy therapy for biliary obstruction, *World J Surg*; 16: p 1066-1073

Soehendra N, Maydeo A, Eckmann B, Bruckner M, Nam VC, Grimm H (1990) A new technique for replacing an obstructed biliary endoprosthesis. *Endoscopy*, 22(6): p 271-2

Soehendra N, Reynders-Frederix V (1980) Palliative bile duct drainage - a new endoscopic method of introducing a transpapillary drain. *Endoscopy*, 12(1): p 8-11

Speer AG, Cotton PB, MacRae KD (1988) Endoscopic management of malignant biliary obstruction: stents of 10 French gauge are preferable to stents of 8 French gauge. *Gastrointest Endosc*, 34(5): p 412-17

Sung JJ, Chung SC (1995) Endoscopic stenting for palliation of malignant biliary obstruction. A review of progress in the last 15 years. *Dig Dis Sci*, 40(6): p 1167-73

Sung JJ, Chung SC, CP Tsui, CO AI, Li AK (1994) Omitting sideholes in biliary stents does not improve drainage of the obstructed biliary system: a prospective randomized trial. *Gastrointest Endosc*, 40: p 321-5

Tarnasky PR, Cotton PB (1995) Randomized trial of prevention of biliary stent occlusion by ursodeoxycholic acid plus norfloxacin. *Gastrointest Endosc.*, 42(1): p 103-4

Teruzzi V, Comin U, De Grazia F et al. (2000) Prospective randomized trial comparing „Tannenbaum“ Teflon and traditional polyethylene stents in distal malignant biliary stenosis. *Gastrointest Endosc*, 51:p 23-7

Van Berkel AM, Boland C, Redekop WK, Bergman JJ, Groen AK, Tytgat GN, Huibregtse K (1998) A prospective randomized trial of Teflon versus polyethylene stents for distal malignant biliary obstruction. *NL, Endoscopy*, 30(8): p 727-9

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

Van Berkel AM, van Marle J, Groen AK, Bruno MJ (2005) Mechanisms of biliary stent clogging: confocal laser scanning and scanning electron microscopy. *NL, Endoscopy*, 37(8): p 729-34

Van Rees BP, Tascilar M, Hruban RH, Giardiello FM, Tersmette AC, Offerhaus GJA (1999) Remote partial gastrectomy as a risk factor for pancreatic cancer: potential for preventive strategies. *Ann Oncol*, 10: Suppl: p 204-207

Wagner HJ, Knyrim K, Vakil N, Klose KJ (1993) Plastic endoprotheses versus metal stents in the palliative treatment of malignant hilar biliary obstruction. A prospective and randomized trial. *Endoscopy*, 25(3): p 213-8

Wosiewicz U, Schrameyer B, Zimmermann E (1985) Investigation on the incrustation and obstruction of bile duct endoprotheses. *Acta Endoscopica*, 15(5): p 395-403

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

Wienhold U (2001) Alternatives Bindemittelkonzept für Sol-Gel-Beschichtungsmaterialien

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

Yeoh KG, Zimmermann MJ, Cunningham JT, Cotton PB (1999) Comparative costs of metal versus plastic biliary stent strategies for malignant obstructive jaundice by decision analysis. *Gastrointest Endosc*; 49: p 466-471

11 Abkürzungsverzeichnis

°	Grad
°C	Grad Celsius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter
µm	Mikrometer
€	Euro
Abb.	Abbildung
AK	Allgemeines Krankenhaus
AKB	Allgemeines Krankenhaus Barmbek
Bakt.susp.	Bakterien- Suspension
Ca ²⁺	Calcium
chron.	chronisch
cm	Zentimeter
DFG	Deutsche Forschungsgemeinschaft
Doxy	Doxycyclin
DIN	Deutsche Industrienorm
E. coli	Escheria coli
ERCP	endoskopische retrograde Cholangio- und Pankreatikographie
et al.	et alii
ETC	Easy to clean
Fa.	Firma
Fr	French
g	Gramm
GA	Glutaraldehyd
Geschl.	Geschlecht
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GO	Gesamtoberfläche
Gy	Gray
HCO ₃ ⁻	Hydrogencarbonate
h	Stunde
l	Liter
KG	Kommanditgesellschaft
LB Agar	Luria Bertani Agar
m ²	Quadratmeter
Mg ²⁺	Magnesium
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter
Na ⁺	Natrium
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer

Nr.	Nummer
Pat.	Patient
PBS	Phosphat-Puffer
PE	Polyethylen
PSC	primär sklerosierende Cholangitis
PTCD	percutane transhepatische Cholangiodrainage
PU	Polyurethan
R	registrierte trademark
REM	Rasterelektronenmikroskop
rez.	rezidivierend
SiO ₂	Siliciumdioxid
Tab.	Tabelle
TM	trademark
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
V	Volt
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil

12 Danksagung

Am Ende der Dissertation möchte ich mich in erster Linie für die Überlassung des Arbeitsthemas sowie die Möglichkeit zur Verwirklichung dieser experimentellen Studie in der Klinik für interdisziplinäre Endoskopie am UKE bei Herrn Prof. Dr. med. N. Soehendra bedanken.

Für die umfassend freundliche und über die Jahre bestehende kompetente Betreuung möchte ich Herrn PD Dr. med. Uwe Seitz herzlich danken.

Bei Herrn Dr. med. A. Block bedanke ich mich für die Möglichkeit der Durchführung der In-vitro-Untersuchung in seinem Labor sowie die stets engagierte wissenschaftliche Begleitung meiner Arbeit.

Ferner danke ich für die Bereitstellung und Herstellung der Testmaterialien Herrn H.-C. Grosse und Herrn Dr. U. Wienhold sowie meinem Bruder Herrn R. Dicks für den gespendeten Rohstoff zum Bau der Schwenkapparatur.

Frau Dr. B. Lubitz aus dem Institut für Transfusionsmedizin am UKE danke ich zur Probenvorbereitung für die Nutzung des Blutbestrahlungsgerätes.

Aus dem Institut für Neuroanatomie des UKE bedanke ich mich bei Herrn Prof. U. Schumacher für das zur Verfügung stellen des Rasterelektronenmikroskops. Ein Dankeschön möchte ich auch an Herrn K. Siebert für die technische Betreuung beim Anfertigen der Bildaufnahmen richten.

Meiner Familie gilt mein besonderer Dank, die mir durch ihre liebevolle Unterstützung die nötige Zeit zur Ausarbeitung meiner Dissertation geschenkt hat.

Von ganzem Herzen danke ich meinem Mann Frank und unseren Kindern Helen und Linus – ihr steht mir immer zur Seite und gebt mir die Kraft, meine Ziele zu erreichen.

Abschließend bedanke ich mich zutiefst bei meinen lieben Eltern, die alles Erdenkliche für mich tun – danke für Euren niemals endenden Glauben an mich.

13 Lebenslauf

Personalien

Vor- und Zuname Katja Masurat, geb. Dicks
Geburtsdatum/-ort 16.08.72 in Wedel
Familienstand verheiratet, zwei Kinder
Staatsangehörigkeit deutsch

Schulbildung

1995-1996 Fachoberschule Fachbereich Sozialpädagogik
in Hamburg, Fachhochschulreife

Berufsausbildung

1989-1992 KKH Pinneberg, Krankenschwester
1994-1995 Rettungsdienst Pinneberg, Rettungsassistentin

Studium

1996-2000 Fachhochschule Kiel FB Sozialwesen
Schwerpunkt Rehabilitation/Gesundheitswesen
Diplom-Sozialpädagogin
10/2000-11/2003 Studium der Humanmedizin an der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel
(Physikum 2002, Erstes Staatsexamen 2003)
12/2003-10/2006 Studium der Humanmedizin am Universitätsklinikum
Eppendorf-Hamburg (Zweites Staatsexamen 2005,
Drittes Staatsexamen 2006)

Praktisches Jahr

06/2006-09/2006 Anästhesiologie Albertinen Krankenhaus, Hamburg
02/2006-06/2006 Chirurgie Groote Schuur Hospital, Kapstadt/SA
10/2005-02/2006 Innere Medizin Albertinen Krankenhaus, Hamburg
17.01.2007 Approbation als Ärztin

Berufserfahrung

05/2008-02/2014 Assistenzärztin am Regio Klinikum Elmshorn,
Innere Medizin
seit 03/2014 Assistenzärztin im MVZ am Holsteincenter in Itzehoe

Zusatzbezeichnung

08/2013 Notfallmedizin

14 Veröffentlichungen

Seitz U, Block A, Wienhold U, Masurat K, Haag H , Siebert K , Sadikin J, Leong Ang T, Frederick DY, Seewald S, Thonke F, Bohnacker S, Soehendra N (2005)
Nanotechnology on Biliary Stents Reduces Sludge Accumulation. Gastrointestinal Endoscopy, Vol. 61, Issue 5: p AB239

15 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe 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.

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

Katja Masurat