

**Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
der Technischen Universität München**

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. B. Gänsbacher)

**Eine resorbierbare Poly-D,L-Laktid-Beschichtung zur
Ausrüstung medizinischer Implantate:
mit antithrombogenen Oberflächen in der Neonatologie
und antiinfektiven Oberflächen in der Orthopädie**

Hans Gollwitzer

*Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin
der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines
Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.*

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. A. Stemberger
2. Univ.-Prof. Dr. Dr. B. Pontz

*Die Dissertation wurde am 07.01.2002 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 08.05.2002 angenommen.*

Meinen Eltern



Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG UND ZIELSETZUNG	6
1.1	Biomaterialien in der Medizin	6
1.2	Implantat-assoziierte Infektionen	6
1.3	Thromboembolische Komplikationen durch Biomaterialien	12
1.4	Bioabbaubare Polymere – Implantate als Arzneistoffträger	15
1.5	Das Polymer Poly-D,L-Laktid (PDLLA)	19
1.6	Aufgabenstellung	21
2	MATERIAL UND METHODEN	23
2.1	Materialien	23
2.1.1	Arzneistoffträger / Polymer	23
2.1.2	Arzneistoffe	23
2.1.3	Biologische Materialien	24
2.1.4	Biomaterialien	24
2.1.5	Geräte	25
2.1.6	Materialien zur Durchführung gerinnungsanalytischer Untersuchungen	26
2.2	Die Beschichtungstechnologie	27
2.3	Mechanische Eigenschaften der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung	28
2.3.1	Beschichtungsstabilität bei Einwirkung kombinierter Scher- und Zugkräfte	28
2.3.2	Beschichtungsabrieb bei Einwirkung von Scherkräften	29
2.3.3	Stabilität bei Längendehnung	30
2.4	Poly-D,L-Laktid als antiinfektive Oberfläche für orthopädische Implantate	31
2.4.1	Masse der aufgetragenen Beschichtung	31
2.4.2	Antibiotikaelution aus der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung	32
2.4.3	Mikrobiologische Untersuchung der PDLLA-Beschichtung	32

2.5	PDLLA als antithrombogene Oberfläche für die Neonatologie	33
2.5.1	Stabilität verschiedener Katheter in organischen Lösungsmitteln	33
2.5.2	Die modifizierte Beschichtungstechnologie für zentralvenöse Katheter	34
2.5.3	Katheter im humanen Staseversuch	34
3	ERGEBNISSE	37
3.1	Mechanische Eigenschaften der PDLLA-Beschichtung	37
3.1.1	Beschichtungsstabilität bei Einwirkung kombinierter Scher- und Zugkräfte	37
3.1.2	Beschichtungsabrieb bei Einwirkung von Scherkräften	40
3.1.3	Stabilität bei Längendehnung	43
3.2	PDLLA als antiinfektive Oberfläche für orthopädische Implantate	46
3.2.1	Masse der aufgetragenen Beschichtung	46
3.2.2	Antibiotika-elution aus der Poly-D,L-Laktidbeschichtung	46
3.2.3	Mikrobiologische Untersuchung der PDLLA-Beschichtung	47
3.3	PDLLA als antithrombogene Oberfläche für Neonatologie und Kardiologie	51
3.3.1	Stabilität verschiedener Katheter in organischen Lösungsmitteln	51
3.3.2	Die modifizierte Beschichtungstechnologie für zentralvenöse Katheter	52
3.3.3	Katheter im humanen Staseversuch	53
4	DISKUSSION	56
4.1	Mechanische Eigenschaften der Oberflächenbeschichtung	56
4.1.1	Einfluss von Trägermaterial und dessen Konzentration auf die Stabilität der Beschichtung	56
4.1.2	Einfluss des Lösungsmittels auf die Stabilität der Oberflächenbeschichtung	57
4.1.3	Beschichtungsstabilität nach intramedullärer Implantation	59
4.1.4	Beschichtungsstabilität bei Längendehnung einer speziellen Aluminiumlegierung	59

4.2	Antiinfektive Eigenschaften	60
4.2.1	Ermittlung der aufgetragenen Beschichtungs- und Arzneistoffmenge	60
4.2.2	Antibiotikaelution aus der Poly-D,L-Laktidbeschichtung	61
4.2.3	Mikrobiologische Untersuchung der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung	62
4.3	Antithrombogene Eigenschaften	65
4.4	Allgemeine Bewertung der Oberflächenbeschichtung	66
5	ZUSAMMENFASSUNG	69
6	LITERATURVERZEICHNIS	71
7	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	78
8	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	79
9	ANHANG	81
10	LEBENS LAUF	92
11	DANKSAGUNG	93

1 Einleitung und Zielsetzung

1.1 Biomaterialien in der Medizin

Die Entwicklung von Biomaterialien und deren Anwendung in der Medizin hat in der Wende zum 21. Jahrhunderts große Fortschritte erreicht und ist heute ein fester Bestandteil der modernen Medizin. Biomaterialien sind jedoch keine Erfindung des 20. Jahrhunderts, sondern wurden bereits um 1000 vor Christus eingesetzt. So dienten Goldfäden als Nähte bei Hernienoperationen, Silber und Gold wurden als künstliche Kronen und Edelsteine wurden als Zahnersatz implantiert (Lemons 1996, S.283).

Als Biomaterialien definiert man nach Williams Materialien, welche in der Human-, Zahn- und Veterinärmedizin eingesetzt werden und über längere Zeit mit einem Organismus in Kontakt stehen (Williams 1987, S.3421). Dazu gehören Zahnimplantate genauso wie Hüftendoprothesen, Koronarstents, Katheter, Insulinpumpen, intraokulare Kunstlinsen, Gefäßprothesen u.v.a.m. Bei jeder Operation kommt der menschliche Organismus mit Instrumenten und Implantaten aus verschiedensten Werkstoffen in Kontakt. Selbst der abschließende Wundverschluss mit Nahtmaterial bedeutet letztendlich den Einsatz eines Biomaterials. Obwohl inzwischen etliche Biomaterialien wie Gefäß- und Gelenkendoprothesen routinemäßig implantiert werden, gibt es noch zahlreiche ungelöste und die Anwendung limitierende Probleme, wie das Kunstherz als Extrembeispiel zeigt. Entscheidender Faktor für den Erfolg von Implantaten ist die Wechselbeziehung zwischen lebendem Gewebe und Fremdmaterial (Gristina 1987, S.1589) mit der dabei resultierenden Grenzzone zwischen Implantat und Organismus, dem sogenannten Interface.

1.2 Implantat-assoziierte Infektionen

Seit Anbeginn des Einsatzes von Biomaterialien stellen Infektionen und die mangelnde Gewebeintegration des Implantates die wichtigsten Komplikationen dar, welche nach wie vor den uneingeschränkten Einsatz körperfremder Materialien limitieren. So ist die Infektion noch heute die häufigste klinisch relevante Komplikation nach chirurgischen Eingriffen und Implantation von Biomaterialien (de Lalla 1999, S.440). Fremdkörper erhöhen die Infektiosität bakterieller Erreger und somit auch die Infektionsgefahr, wie Elek und Conen 1957 eindrucksvoll nachweisen konnten. Bereits ein einziger implantierter

Seidenfaden reduzierte bei *in vivo* Versuchen die für eine Infektion notwendige Keimzahl („minimum pustule forming dose“) um mindestens den Faktor 10.000 (Elek 1957, S.582).

582

S. D. ELEK AND P. E. CONEN

mechanism. Sutures were infected with strain No. 4, recovered from an experimental lesion in a volunteer. The viable counts showed that the entire length of a suture contained approximately 3×10^4 cocci. Two volunteers (L, M) each received 3 sutures: one stitch was tied with the customary degree of tension, another was tied with an abnormal degree of tightness and the third stitch was pulled right through. Twenty-four hours later both volunteers became very ill and the remaining sutures had to be removed. Where the stitch had been pulled through practically no reaction was visible, although subsequent examination of the suture showed that at least $\frac{1}{5}$ of the inoculum was swept off and left in the tissues. At the other two sites after 48 hours very large stitch abscesses developed. Although according to the volunteers the severity of the lesion at the site of the tight stitches was greater, objectively no clear difference could be found. In spite of penicillin therapy the lesions progressed to the size of an orange, caused fever and other systemic manifestations and took over a week to resolve.

This experiment convincingly demonstrated the enhancing effect of a stitch, but led to great difficulty in finding further volunteers. Another stitch infected with approximately 3×10^2 organisms was inserted into a single volunteer (A) with a sterile stitch as control. Within 24 hours a small stitch abscess exuding pus was produced, even with this small dose, while the sterile stitch showed no reaction. The experiment was discontinued and penicillin treatment instituted at that stage. As the buried part of the stitch contained at the most 10^2 cocci, the result represents a virulence enhancement of the order of at least 10,000 times.

Abbildung 1: Ausschnitt aus dem Originalartikel von Elek und Conen aus dem Jahre 1957

Webb et. al. konnten später eine reversible Erhöhung der Antibiotikaresistenz von Bakterien nachweisen, welche an Knochen anhaften (Webb 1994, S.30). Gerade Implantat-assoziierte Infektionen und die daraus folgende unvollständige Gewebeintegration (Black 1984, S.11; Gristina 1987, S.1588) können die Lebensqualität der Betroffenen empfindlich beeinflussen. Eine Sanierung des Infektlagers erfordert meist die Entfernung des Implantates und stellt für den Patienten und sein soziales Umfeld eine enorme Belastung dar.

Jedes Implantat wird unmittelbar nach Einbringen in einen Organismus von einer unregelmäßigen Schicht aus Proteinen und Glykoproteinen wie Fibrinogen, Fibronectin, Kollagen, Albumin und Vitronectin überzogen (Gristina 1994, S.109; von Eiff 1998, S.5; Habash 1999, S.887ff.). Dieser sogenannte „conditioning film“ stellt auf der Biomaterialoberfläche eine Angriffsfläche für körpereigene und körperfremde Zellen dar. Es folgt eine Art Wettlauf zwischen Körperzellen und Bakterien um die Neubesiedelung der Oberfläche, das sogenannte „race for the surface“ (Gristina 1991, S.368).

Eine Vielzahl von Keimen kann sich auf der Implantatoberfläche ansiedeln und einen aus Bakterien, Ionen, Metallen und exozellulären Produkten bestehenden „biofilm“ bilden

(Habash 1999, S.892f.; Gristina 1987, S.1593f.), wobei Biofilmbildung nicht mit Schleimbildung gleichzusetzen ist (Christensen 1990, S.2908f.).

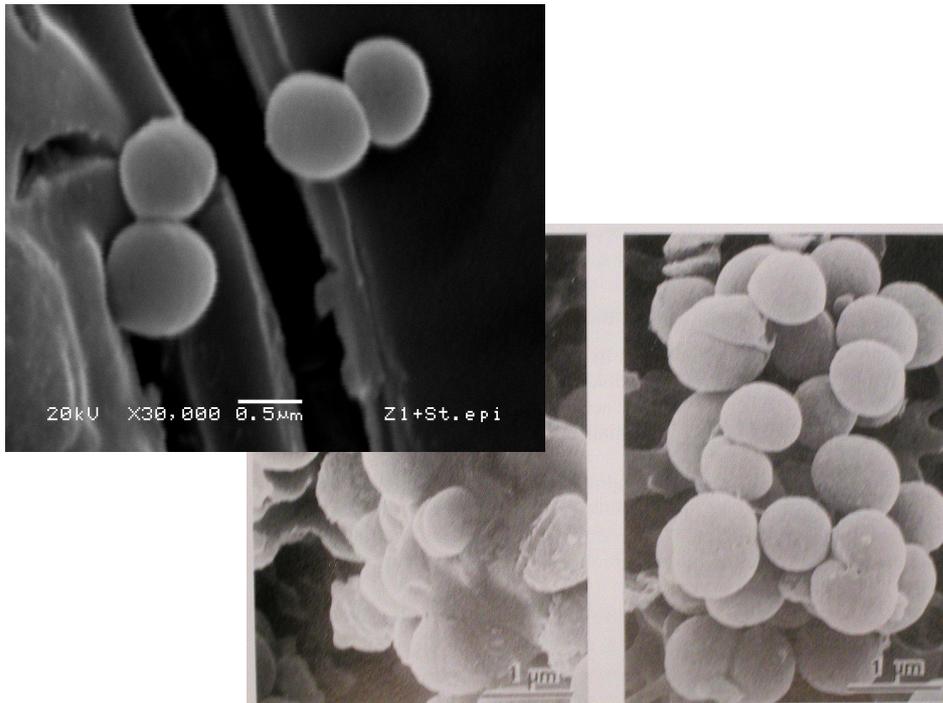


Abbildung 2: Implantatbesiedelung mit Staphylococcus epidermidis: nach 2 Stunden (links; eigene Aufnahme) und nach 24 Stunden (rechts; Yasuda 1999, S.581)

In diesem Biofilm (vgl. Abbildung 2 und Abbildung 3) schaffen die Keime einerseits ein für sie vorteilhaftes Mikroklima mit hohen Konzentrationen an Nährstoffen und virulenzsteigernden Ionen, andererseits können sie freie Energie an der Implantatoberfläche als Katalysatorenergie einsetzen (Gristina 1991, S.366). Freiwerdende chemische Substanzen, Metallionen und abgebaute Polymerbestandteile können die im Biofilm gebundenen Keime zu ihren Gunsten verwerten. Außerdem bietet dieser Biofilm Schutz vor körpereigener Immunabwehr (Peters 1989, S.72; Bayston 1990, S.866; Gristina 1994, S.108) und ermöglicht hohe Resistenzen gegenüber systemisch und lokal applizierten Antibiotika (Gristina 1991, S.368; Webb 1994, S.30; v. Eiff 1999, S.845). Diese erreichen meist, trotz hoher lokaler Konzentrationen deutlich über der jeweiligen minimalen bakteriziden Konzentration (MBK), keine komplette Eradikation der Bakterien (O'Reilly 1992, S.2695; Dunne 1993, S.2522; Darouiche 1994, S.722). Gewinnen die körpereigenen Zellen dieses „race for the surface“, so können sie auf der Implantatoberfläche eine flächendeckende Schicht vitaler Zellen bilden. Eine Infektion wird dadurch deutlich erschwert oder sogar unmöglich.

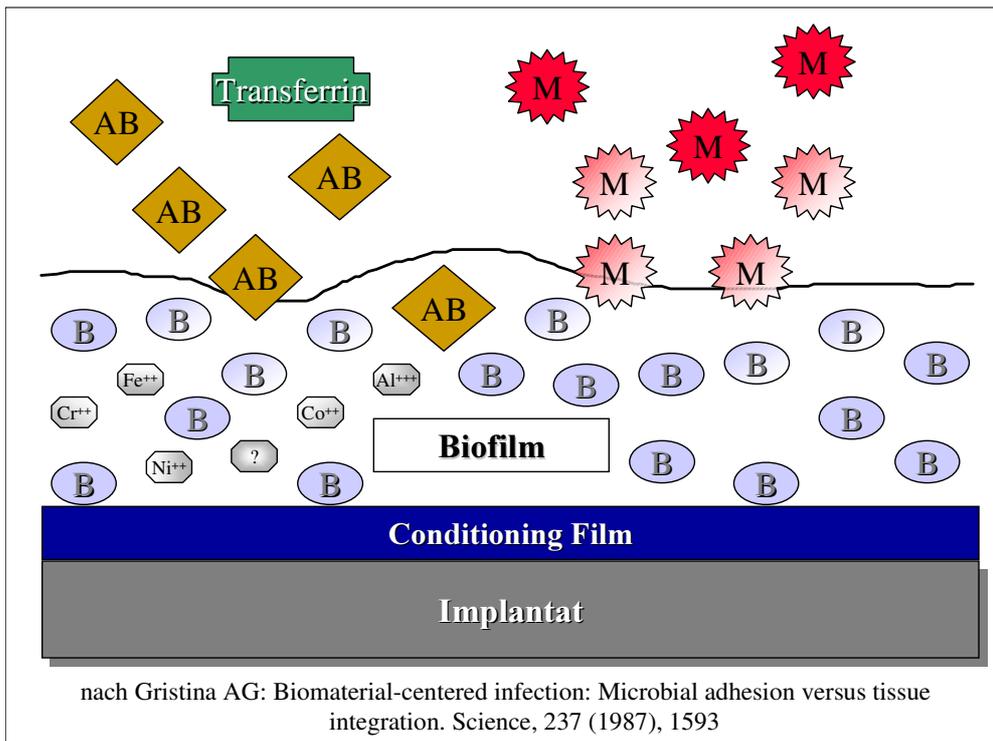


Abbildung 3: Biofilmbildung. Schutz der Bakterien (B) vor Makrophagen (M) und Antibiotika (AB)
 Cr^{++} = Chrom; Ni^{++} = Nickel; Co^{++} = Cobalt; Al^{+++} = Aluminium; Fe^{++} = Eisen

Die während einer Operation eingeschleppten Mikroorganismen können auf der Implantatoberfläche für viele Monate persistieren, bevor eine klinisch manifeste Infektion ausbricht. Definitionsgemäß geht man bei Infektionen innerhalb der ersten zwei Jahre *post implantationem* davon aus, dass die entsprechenden Bakterien nicht hämatogen gestreut sondern direkt während der Implantation in den Körper gelangt sind (Rupp 1994, S.239).

Bei Implantat-assoziierten Infektionen werden als Erreger hauptsächlich *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus epidermidis* (Gristina 1994, S.108; de Lalla 1999, S.440), des weiteren *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, β -hämolyisierende Streptokokken und *Escherichia coli* isoliert. Über Pilzinfektionen wird nur in Einzelfällen berichtet (Cardinal 1996, S.248). *Staphylococcus epidermidis*, ein auf der menschlichen Haut natürlich vorkommender Saprophyt, hat sich in den letzten Jahren zu einem der häufigsten Erreger Implantat-assoziiierter Infektionen entwickelt. Gerade das vermehrte Auftreten multiresistenter Stämme bereitet im klinischen Alltag zunehmend Probleme. Wie bei *Staphylococcus aureus* treten auch bei *Staphylococcus epidermidis* in rasch zunehmendem Maße Methicillin-resistente Stämme als Problemkeime auf („*methicillin resistant staphylococcus epidermidis*“, MRSE). *Staphylococcus epidermidis* zeigt eine gewisse

Vorliebe für Polymere, während *Staphylococcus aureus* vorwiegend bei Infektionen metallischer Implantate zu finden ist (Gristina 1994, S.108).

Bei der Behandlung offener Frakturen mittels Fixateur externe zählt auch heute noch die sogenannte „pin tract infection“ zu den wichtigsten, den Behandlungserfolg limitierenden, Komplikationen. Infektionsraten von 4% bis 100% sind in der Literatur beschrieben (Green 1983, S.113; Ahlborg 1999, S.116; Garberina 2001, S.174). Auch in der Endoprothetik stellen Infektionen gefürchtete Komplikationen dar. Durch Protheseninfektionen scheitern primär implantierte Hüftgelenke trotz chirurgischer Intervention und hochdosierter Antibiotikatherapie in bis zu 1% der Fälle. Kniegelenksendoprothesen und Ellenbogen-Endoprothesen weisen mit bis zu 5% bzw. 7% noch höhere Infektionsraten auf (Gristina 1991, S.363, Bengtson 1991, S.302; Nasser 1994, S.153; Bauer 1999, S.484). Bei Revisionseingriffen ist die kumulierte Infektionsrate noch deutlich höher und auch in der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie zählen Infektionen zu den häufigsten Implantat-assoziierten Komplikationen (Esposito 1999, S.475). Eine notwendig werdende Therapie stellt für Arzt und Patient eine große Herausforderung dar. So kann die Infektion einer Kniegelenksendoprothese in bis zu 52% zu einer Arthrodesis und in bis zu 9% sogar zu einer Amputation der betroffenen Extremität führen (Kramhoft 1994, S.618). Selbst bei den wesentlich häufigeren „aseptischen Lockerungen“ von Hüftgelenksendoprothesen konnten Perdreau-Remington et. al. durch eine verlängerte Bebrütung der mikrobiologischen Operationspräparate in 76% der Fälle positive bakterielle Kulturen gewinnen (Perdreau-Remington 1996, S.164).

Gerade aufgrund der Hartnäckigkeit Implantat-assoziiertes Infektionen muss eine effektive Infektionsprophylaxe oberstes Ziel sein. Befinden sich anti-infektiöse Oberflächen noch im Entwicklungsstadium, so stehen in der systemischen und, mittels imprägniertem Knochenzement, auch lokalen Antibiotikaprophylaxe bereits effektive Maßnahmen zur Vorbeugung einer Infektion zur Verfügung. Die Anwendung spezieller Reinraum-Operationssäle (vgl. Abbildung 4) kann das Auftreten von Endoprotheseninfektionen zusätzlich reduzieren (Strachan 1995, S.55).

Bei Weichteil- und Knocheninfektionen stellt das gründliche chirurgische Débridement von nekrotischem Gewebe und Fremdkörpern die Basismaßnahme dar, eine Entfernung des Implantates lässt sich jedoch oft nicht vermeiden.



Abbildung 4: Kniegelenksoperation im Reinraum-OP
(Homepage des „Hospital for Special Surgery“, New York, www.hss.edu)

Lokale Antiseptika- und Antibiotikaaanwendungen können die chirurgische Therapie lediglich unterstützen und sind keine echte Alternative zur chirurgischen Sanierung des Infektlagers. Dazu gehören Anwendungen wie Knochenzement als Antibiotika-Depot und Polymethylmetacrylat (PMMA)-Antibiotika-Ketten, welche den Nachteil einer Reoperation zur Entfernung des Trägermaterials mit sich bringen. Resorbierbare Trägerstoffe wie der Kollagen-Antibiotika-Verbund und Fibrin-Antibiotika-Kombinationen besitzen nur eine unzureichende mechanische Belastbarkeit, so dass ihr Einsatz in Kombination mit belastungstragenden Implantaten deutlich limitiert ist. Zur Reduktion katheter-assoziiertes Infektionen wurden metallbeschichtete zentralvenöse Katheter entwickelt. Silber zeigte als Oberflächenbeschichtung antibakterielle Wirkung, wie zahlreiche Studien belegen (Schierholz 1998, S.3632; Carbon 1999, S.71f.; Bechert 1999, S.S27; Ahearn 1995, S.375f.). Auch für Kupfer sind bakterienhemmende Eigenschaften beschrieben worden (Kielemoes 2001, S.150; Hubacher 2001, S.561). Eine Modifikation der Implantatoberfläche könnte einen vielversprechenden Ansatz zur Verringerung der bakteriellen Adhäsion darstellen und gleichzeitig die Implantatintegration fördern.

In Orthopädie und Unfallchirurgie findet heute v.a. das Antibiotikum Gentamicin Anwendung in der lokalen Infektionsprophylaxe. Gentamicin gehört zur Gruppe der Aminoglykosid-Antibiotika und zeigt ein breites Wirkungsspektrum gegen typische Erreger Implantat-assoziiertes Infektionen wie Staphylokokken, Escherichia coli, Klebsiellen und Pseudomonas aeruginosa. Durch Hemmung der Proteinbiosynthese und Zellwandschädigung wirken die Aminoglykosid-Antibiotika bakterizid auf proliferierende

sowie ruhende Erreger. Gentamicin wird heute in Knochenzement (z.B. Palacos®-Knochenzement) eingearbeitet, um Implantate lokal mit einer ausreichenden Wirkstoffmenge auszurüsten. Diese hilft einer Infektion vorzubeugen oder verbliebene Keime im sanierten Infektlager zu eliminieren. Gentamicin wird auch als Bestandteil von Kollagenschwämmen (z.B. Sulmycin-Implant®) und sogenannten „Antibiotika-Kugeln“ (z.B. Septopal®-Kugelketten) lokal nach chirurgischer Herdsanierung eingesetzt. Wie bei vielen anderen Antibiotika treten auch bei Gentamicin in letzter Zeit vermehrt Resistenzen auf, welche Anlass geben den alleinigen bzw. unüberlegten Einsatz dieses Breitspektrumantibiotikums zu überdenken. Besonders das Auftreten Gentamicin-resistenter „small colony variants“ der Species *Staphylococcus aureus* hat in der Literatur Beachtung gefunden (Musher 1977; S.362ff., von Eiff 1997, S.1250; von Eiff 1998, S.270).

Teicoplanin, ein Glykopeptid-Antibiotikum, wirkt ausschließlich bakterizid auf proliferierende grampositive Bakterien durch Hemmung der Zellwandsynthese. Teicoplanin wird wie Vancomycin v.a. als Reserveantibiotikum zur Therapie resistenter Staphylokokkeninfektionen eingesetzt. Durch die Zunahme Methicillin-resistenter Stämme von *Staphylococcus aureus* (MRSA) und *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) haben hier die Glykopeptid-Antibiotika eine große Bedeutung erlangt. Eine Kombination dieses neuen hochwirksamen Antibiotikums mit dem bereits klinisch häufig eingesetzten Gentamicin könnte das Auftreten resistenter Stämme deutlich vermindern und bei gemeinsamer lokaler Anwendung im Sinne einer protrahierten Freisetzung wirken.

1.3 Thromboembolische Komplikationen durch Biomaterialien

Ein weiteres wichtiges Anwendungsgebiet für Biomaterialien ist der temporäre und dauerhafte Einsatz intravasaler Biomaterialien. Gefäßprothesen, Koronarstents sowie intraarterielle und intravenöse Katheter sind essentielle Bestandteile moderner Diagnose- und Therapieverfahren. Bereits 1973 wurden in den USA mehr als 25% der hospitalisierten Patienten mit einem intravenösen Katheter versorgt (Maki 1973, S.867). Wichtige Beispiele sind periphere und zentralvenöse Katheter zur Flüssigkeits- und Elektrolytsubstitution, zur parenteralen Ernährung und zur intravenösen Verabreichung von Medikamenten, Blut und Blutprodukten. Außerdem werden Katheter zur Durchführung moderner invasiver Diagnose- und Therapieverfahren wie Herzkatheteruntersuchung,

Ballondilatation stenosierter Koronararterien und Katheterablation akzessorischer Leitungsbündel bei Herzrhythmusstörungen eingesetzt. Große Bedeutung haben zentralvenöse Katheter in der Intensivmedizin.

Die häufigsten Komplikationen bei der Anwendung intravasaler Biomaterialien sind Infektionen und die Aktivierung der Blutgerinnung mit konsekutiver Thrombenbildung (Lersch 1999, S.71). Pierce beschreibt Infektionen zentralvenöser Zugänge mit positiven Blutkulturen in 30% der Fälle und die Bildung von Thromben an 5% der implantierten Katheter (Pierce 2000, S.967). Dabei lässt sich auch ein Zusammenhang zwischen Thrombusformation und Infektion nachweisen (David 1993, S.338; Pierce 2000, S.967). Gerade die Verwendung intravenöser bzw. intraarterieller Katheter bei Neu- und Frühgeborenen ist mit einem besonders hohen Thromboserisiko verbunden. Nabelvenenkatheter und andere zentralvenöse Zugänge sind bei Neugeborenen für mehr als 80% der Thrombosen verantwortlich. Bei bis zu 65% aller Säuglinge, die mit einem liegenden Nabelvenenkatheter verstarben und autopsiert wurden, konnten Thrombosen nachgewiesen werden (Sutor 1998, S.699). Ursächlich dafür ist die spezielle Gerinnungssituation bei Neugeborenen, aber auch der geringe Katheter- und Gefäßdurchmesser, welcher durch ein hohes Oberflächen-Volumen-Verhältnis Thrombosen und Thromboembolien begünstigt. Bei etwa 17% der Katheter-assoziierten Thrombosen sind Lungenembolien zu erwarten (Kooij 1997, S.238).

Die Mechanismen der Hämostase schützen den Organismus bei Gewebsverletzungen vor Blutverlust. Die Blutgerinnung als zentraler Vorgang der Blutungsstillung kommt erst durch das Zusammenwirken von zellulären (Thrombozyten), vaskulären (Blutgefäße) und plasmatischen (Gerinnungsfaktoren) Komponenten zustande. Neben diesen prokoagulatorischen Faktoren spielen Inhibitoren der Gerinnung eine wichtige Rolle für die Regulation des Hämostasesystems. Antikoagulatorisch wirken im Organismus Antithrombin (durch Bildung inaktiver Komplexe bevorzugt mit den Gerinnungsfaktoren Thrombin und Faktor Xa), Fibrin(-ogen)-Spaltprodukte (durch Hemmung der Fibrinmonomer-Polymerisation durch Kettenabbruch), das aktivierte Protein C (durch proteolytische Spaltung von Faktor Va und VIIIa) und Protein S (als Co-Faktor des aktivierten Protein C).

Kommt es zum Kontakt zwischen Blut und Biomaterial, so erfolgt über den Oberflächenkontakt eine endogene Aktivierung der Gerinnungskaskade. Die hierbei

aktivierte Kontaktphase der Blutgerinnung führt zur Aktivierung des Hageman-Faktors (Gerinnungsfaktor XII) und mündet in die plasmatische Gerinnungskaskade. Es kommt schließlich zur Umwandlung von Prothrombin in Thrombin, welches die Bildung von Fibrin aus Fibrinogen verursacht. Durch die Wirkung des gleichzeitig von Thrombin aktivierten fibrinstabilisierenden Faktors (XIII) wird Fibrin vernetzt, wodurch unlösliche „Gerinnsel“ gebildet werden.

Viele Arbeitsgruppen beschäftigen sich mit der Synthese antithrombogener Polymere, welche darauf abzielen, spezifische Blut-Fremdkörper-Interaktionen wie Thrombusformation und Plättchenaktivierung zu verhindern. Dabei muss ein solches Polymer zahlreiche biologische und mechanische Kriterien erfüllen und entsprechend neu entwickelt und getestet werden. Bisherige Ansätze zur Herstellung antithrombogener Oberflächen sind hydrophile Oberflächen (z.B. mit Albumin oder Polyethylenoxid; Kim 1996, S.298). Mason et. al. konnten zeigen, dass Thrombozyten an Albumin-beschichteten Oberflächen nur eine geringe Adhäsionsfähigkeit haben (Mason 1971, S.680ff.), während an Oberflächen gebundenes Fibrinogen oder γ -Globuline die Thrombozytenadhäsion fördern. Polyethylenoxid (PEO) reduziert ebenfalls die Proteinadsorption an der Oberfläche und hemmt somit das Fortlaufen der Gerinnungskaskade (Kim 1996, S.298). Weitere Ansätze sind die Einarbeitung antikoagulatorischer Wirkstoffe wie Heparin in die Polymeroberfläche. Positive Ergebnisse zeigen sich sowohl für in der Oberfläche gebundenes Heparin, als auch für Oberflächen die den Wirkstoff freisetzen (Pierce 2000, S.968f.; Kim 1996, S.299ff.). Heparin, das über Antithrombin III in die Gerinnungskaskade eingreift, ist in seiner Wirksamkeit von AT III abhängig und wird somit bei dessen Mangel ineffektiv. Neben den typischen Gefahren antikoagulatorischer Wirkstoffe besteht beim Einsatz dieses Gerinnungshemmers das Risiko Heparin-induzierter Thrombozytopenien (HIT), die beachtet werden müssen.

Aktuell existieren eine Vielzahl antikoagulatorischer Wirkstoffe, die an unterschiedlichen Stufen der Gerinnungskaskade aktiv werden. Polyethylenglykol (PEG)-Hirudin als Thrombinhemmer und Iloprost als Thrombozytenaggregationshemmer wurden in früheren Arbeiten der Arbeitsgruppe bereits erfolgreich eingesetzt (Herrmann 1999, S.54).

Polyethylenglycol (PEG)-Hirudin der Firma Knoll AG ist ein antikoagulatorisches Protein mit einem Molekulargewicht von 17.000 Dalton, welches durch Bindung zweier aktivierter Polyethylenglycolgruppen aus rekombinatem Hirudin hergestellt wird. Hirudin, mit 7.000

Dalton Molekulargewicht ein sehr kleines Protein (Buchwald 1993, S.249), wurde 1884 erstmals in den Speicheldrüsen des Blutegels (*Hirudo medicinalis*) nachgewiesen. Heute kann dieses 65 Aminosäuren umfassende Polypeptid rekombinant hergestellt werden (Gallo 1999, S.V27; Markwardt 1989, S.163f.). Die Hirudine wirken im Organismus durch direkte Thrombinhemmung mit großer Affinität und Spezifität antikoagulatorisch (Gallo 1999, S.V27). PEG-Hirudin besitzt eine beträchtlich längere Halbwertszeit als das rekombinante Hirudin. Die Thrombinhemmung führt zu einer Verlängerung der Prothrombinzeit (PTT), welche auch zum Monitoring bei Hirudinapplikation dient. Im Gegensatz zu Heparin können die Hirudinderivate auch bei bekannter Neigung zur Heparin-induzierten Thrombozytopenie (HIT) und bei Antithrombin-III- Mangel eingesetzt werden (Hoechst Marion Roussel 1999, S.1). Erste vielversprechende klinische Ergebnisse zum Einsatz von Hirudin als Adjuvans bei der Thrombolyse akuter Myokardinfarkte liegen bereits vor (Gallo 1999, S.V27). Derzeit existiert noch kein spezifisches Antidot gegen Hirudine.

Zur Ergänzung der antikoagulatorischen Wirkung von PEG-Hirudin wurde bereits in vorhergehenden Arbeiten der Arbeitsgruppe Iloprost eingesetzt. Iloprost (Ilomedin®) der Firma Schering AG ist ein Derivat des Prostaglandins PGI₂ und somit ein potenter Hemmer der Thrombozytenaggregation. Ilomedin® wird heute routinemäßig v.a. bei fortgeschrittener Thrombangiitis obliterans (Buerger Krankheit) mit schweren Durchblutungsstörungen indiziert (Schering 2001, S.1). Durch die hohe Affinität zum Prostaglandinrezeptor unterbindet Iloprost die Aktivierung der Adenylatcyclase und somit die Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten (Schrör 1996, S.11).

Eine Kombination beider Wirkstoffe zur Erzielung synergistischer antikoagulatorischer Effekte bei Reduzierung der Nebenwirkungen erscheint durch die unterschiedlichen Wirkmechanismen sinnvoll und konnte bereits bestätigt werden (Herrmann 1999, S.54).

1.4 Bioabbaubare Polymere – Implantate als Arzneistoffträger

Polymere erlangen als Implantatwerkstoffe und als Arzneistoffträger („drug delivery systems“) immer größeren Stellenwert. Neben biostabilen gibt es auch abbaubare Polymere, welche durch physiologische Prozesse im Körper gespalten werden. Dieser Abbau kann je nach Mechanismus entweder durch hydrolytische oder durch enzymatische Spaltung erfolgen. Da Wasser im Organismus ubiquitär vorhanden ist, findet Hydrolyse im

gesamten Körper statt, während enzymatische Spaltung an spezifische Organe gebunden ist. Eingearbeitete Wirkstoffe können also über einen enzymatischen Polymerabbau selektiv an einem definierten Wirkort freigesetzt werden („drug targeting“). Weiterhin unterscheidet man bei resorbierbaren Polymeren den „Abbau in der Masse“, die sogenannte „bulk degradation“, vom Oberflächenabbau, der „surface erosion“ (Lendlein 1999, S.285). Bulk degradation beobachtet man, wenn der Einstrom des Lösungsmittels in das Polymer schneller vor sich geht als die Abspaltung einzelner Polymerbestandteile von der Implantatoberfläche (z.B. durch Hydrolyse). Die Polymerspaltung findet dabei im gesamten Polymer statt, ein Massenverlust erfolgt erst nach Erreichen einer „kritischen Polymermasse“. Beim Abbau durch bulk degradation kann somit ein Wirkstoff lange nahezu komplett im Polymer gebunden bleiben, um nach Erreichen der kritischen Polymermasse und dem folgenden Zerfall des Polymers sehr rasch freigesetzt zu werden. Beim Abbau durch surface erosion hingegen werden kleinere Oligo- und Polymere nach und nach von der Oberfläche abgespalten, wodurch ein früher Gewichtsverlust des Polymers zu beobachten ist. Ursächlich ist eine schnelle Polymerspaltung bei relativ langsamen Einstrom des Lösungsmittels. Dies ist beispielsweise bei hydrophoben Polymeren mit gleichzeitig hoher Hydrolyserate zu beobachten.

Da die meisten bioabbaubaren Polymere über aliphatische α -ständige Ester- oder Anhydridbindungen verfügen, erfolgt der Abbau im Organismus meist durch Hydrolyse. Vorteilig ist die konstante Verfügbarkeit von Wasser in allen Weichgeweben, die auch von Patient zu Patient nur geringfügig variiert. Somit sind größere Abweichungen in der Freisetzungskinetik eingearbeiteter Wirkstoffe zwischen unterschiedlichen Organen und verschiedenen Patienten bei diesen Polymeren nahezu ausgeschlossen. Die hydrolytische Spaltung kann zum einen Quervernetzungen zwischen einzelnen Polymerketten betreffen, zum anderen Polymerseitenketten abspalten und zur Bildung polarer oder geladener Gruppen führen. Der häufigste Abbaumechanismus ist jedoch eine direkte Spaltung des Polymergerüsts („polymer backbone“) mit der Bildung kleinerer Oligo- und Polymere (Kohn 1996, S.70).

Während sich viele Arbeiten mit strukturellen und chemischen Veränderungen der Oberflächen zur Optimierung des Implantat-Gewebe-Interface befassen (z.B. Reduktion elektrostatischer und hydrophober Interaktionen, Modifikation der Absorption von

Serumproteinen), konzentriert sich die vorliegende Arbeit auf die Entwicklung eines lokalen Arzneistoff-Träger-Systems auf Basis eines bioresorbierbaren Polymers.

Die vorgestellte Arzneistoff-Träger-Beschichtung wird durch den Organismus resorbiert, wodurch Reoperationen zur Entfernung erschöpfter Wirkstoffdepots vermieden werden können. Ein anderer Vorteil ist der lokale Einsatz der Wirksubstanzen in einem Trägersystem. Solche Trägersysteme ermöglichen prophylaktisch und therapeutisch hohe Konzentrationen am Einsatzort über einen ausreichend langen Zeitraum. Gleichzeitig werden die Risiken und Nebenwirkungen für den Organismus im Vergleich zu einer systemischen Anwendung der Wirksubstanzen minimiert (Cowsar 1974, 12f.). Hohe lokale Arzneistoffkonzentrationen bei niedrigen systemischen Wirkstoffspiegeln sind vor allem in jenen Problemfällen wünschenswert, bei welchen Medikamente mit häufigen und / oder schwerwiegenden Nebenwirkungen eingesetzt werden müssen. Dies betrifft auch den Einsatz hochwirksamer Antibiotika in der septischen Chirurgie. Das Wirkprinzip der vorgestellte lokalen Arzneistoff-Träger-Kombination ist in Abbildung 5 erklärt.

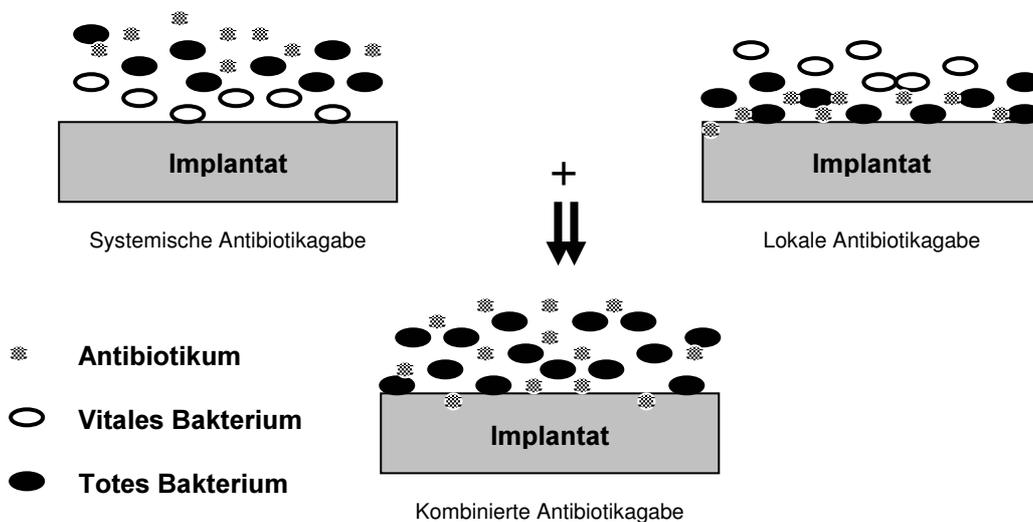


Abbildung 5: Wirkprinzip der Arzneistoff-Träger-Kombination zur Unterstützung einer systemischen Antibiotikaphylaxe durch Wirkstofffreisetzung aus dem Implantat (nach Gristina, A.G. et al. Microbes, metals, and other nonbiological substrata in man. In: Orthopedic Infection: Diagnosis and Treatment. W.B. Saunders Co. (1989), 26-36)

Bei der Verwendung von Trägersystemen unterscheidet man Modelle mit einer verzögert bzw. retardiert ablaufenden Freisetzung („sustained release“), deren Kinetik zu großen Teilen von der Implantatumgebung abhängt, von Modellen mit einer kontinuierlichen

Wirkstofffreisetzung und konstanter Freisetzungskinetik („controlled release“), welche durch das Trägersystem selbst definiert ist (Baker 1974, S.17).

Um die Wirkstoffkonzentration am Einsatzort sicher voraussagen zu können und eine langdauernde Konzentration im Wirkungsbereich zu erzielen, ist somit definitionsgemäß eine kontrollierte Freisetzung („controlled release“) zu fordern. Wirkstoffspitzen im Bereich toxischer Dosen sind durch eine kontinuierliche lokale Freisetzung ebenso zu vermeiden wie ein rascher Abfall der Arzneistoffkonzentration unter die minimale wirksame Dosis (vgl. Abbildung 6).

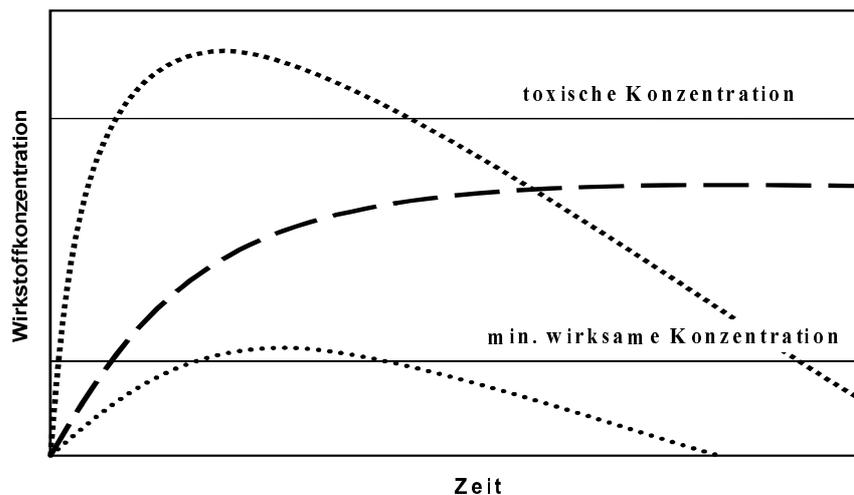


Abbildung 6: Wirkstoffkonzentration nach einmaliger Applikation (gepunktete Linien) und bei kontinuierlicher kontrollierter Freisetzung (gestrichelte Linie).

Langer und Peppas (Langer 1981, S.201f.) definieren ein ideales Trägersystem grundsätzlich durch:

- eine konstante Wirkstofffreisetzung,
- Kompatibilität mit dem umgebenden Gewebe,
- gute Handhabbarkeit für den Anwender,
- ein hohes Wirkstoff-Träger-Verhältnis,
- eine einfache und kostengünstige Herstellung,
- eine sichere Anwendbarkeit,
- gute mechanische Stabilität und
- eine einfache Sterilisation.

Neben dem Abbauverhalten des Polymers bestimmen zusätzlich die chemischen Eigenschaften von Polymer und Wirkstoff, die Wirkstoffkonzentration und die Partikelgröße die Freisetzungskinetik eingebrachter Arzneimittel. Man unterscheidet

letztlich „erosionskontrollierte Freisetzungparameter“, welche v.a. von der Abbaugeschwindigkeit des Polymers abhängen von „diffusionskontrollierten Freisetzungparametern“, welche eine Wirkstofffreisetzung aus dem intakten Polymer durch Diffusion ermöglichen (Langer 1994, S.102).

Eine wichtige zu fordernde Eigenschaft der Arzneistoffträger ist eine weitgehend vom Patienten unabhängige Freisetzungskinetik, um eine reproduzierbare und vorhersehbare Wirkstoffkonzentration am Einsatzort zu erhalten. Wasser ist in nahezu unbegrenzter Form im menschlichen Organismus vorhanden und variiert in seiner Konzentration zwischen den einzelnen Individuen nur gering. Somit bietet sich eine wasserinduzierte Freisetzung, wie es bei der hydrolytischen Spaltung der Fall ist, für eine interindividuell ausgeglichene und reproduzierbare Freisetzungskinetik an.

1.5 Das Polymer Poly-D,L-Laktid (PDLLA)

Polymilchsäure (Polylaktid, PLA) wurde neben Polyglykolsäure (PGA) bereits früh für die Anwendung in der Medizin entdeckt und seit den 50er Jahren in Kombination mit PGA als resorbierbares Nahtmaterial eingesetzt. Dabei macht man sich die langsamere Bioerosion des Polylaktids zunutze, um eine längere mechanisch stabile Nahtsicherung zu erhalten. Polyglykolsäure erodiert insgesamt deutlich schneller als die Polylaktide und ist als Nahtmaterial nach etwa 2 Wochen praktisch komplett vom Organismus abgebaut. Poly-D,L-Laktid als amorphes Material wird im Vergleich zum semikristallinen Poly-L-Laktid ebenfalls schneller abgebaut (Kohn 1996, S.71f.; Schakenraad 1991, S.260).

Das Resomer R203® der Firma Boehringer Ingelheim, ein Polymer des Poly-D,L-Laktids (PDLLA) mit spezifischen Gewicht von 29.500 Dalton bietet uns die Möglichkeit, medizinische Implantate mit einer bioresorbierbaren und biokompatiblen Oberflächenbeschichtung zu versehen. Die chemische Struktur wird durch $-\text{[C}_2\text{H}_4\text{O}_2\text{]}_n-$ charakterisiert, das Polymer liegt als Racemat aus gleichen Teilen des D- und L-Enantiomers vor. Dieses mittels Kaltbeschichtungstechnologie auf Biomaterialien aufbrachte Polymer wird im Organismus durch Hydrolyse gespalten und so über Monate langsam degradiert (Pitt 1981, S.217; Cutright 1974, S.144; Schakenraad 1991, S.265; Kohn 1996, S.71). Ab einer kritischen Molmasse von etwa 10.000 wird das Polymer löslich, wodurch das Polymergerüst rasch an Gewicht verliert (Schakenraad 1991, S.265.). Abhängig von der initialen Molmasse werden nach Pitt Poly-D,L-Laktid-Proben einer

molaren Masse von 14.000 in 28 Wochen absorbiert, bei einer Masse von 49.000 dauert die Resorption hingegen 60 Wochen (Pitt 1981, S. 217). Generell dauert der Abbau *in vivo* länger als *in vitro*, was durch eine höhere Verfügbarkeit von Wasser *in vitro* und die Bildung einer Pseudokapsel *in vivo* zu erklären ist (Schakenraad 1991, S.265).

Die natürliche Biokompatibilität der Polymilchsäure (Schakenraad 1991, S.261; Giardino 1999, S.305f.) beruht auf der hydrolytischen Spaltung des Polymers in Laktidoligo- und monomere, welche in den Zitratzyklus des Organismus eingespeist werden. Da bei Poly-D,L-Laktid die Hydrolyserate im Vergleich zur Diffusionsrate der meisten Wirkstoffe langsam ist, werden diese Arzneistoffe vorzugsweise durch Diffusion freigesetzt. Der Abbau des Polymers erfolgt hauptsächlich durch bulk degradation (Heller 1996, S.353). Die Polymermasse bleibt dabei über lange Zeit nahezu konstant, bevor ein rascher Zerfall des Gesamtpolymers nach Erreichen der kritischen Molmasse von etwa 10.000 stattfindet (Pitt 1981, S. 216f.). Essentiell für diese resorbierbaren Polymere ist eine absolut trockene Lagerung (z.B. im Exsikkator), um einer Hydrolyse und Zerstörung des Polymergerüsts vor Implantation vorzubeugen.

Neben dem reinen Poly-D,L-Laktid wurde in mehreren Versuchen dieser Arbeit das Resomer® LT706 der Firma Boehringer Ingelheim zur Modifikation der Oberflächenbeschichtung eingesetzt. Dem Resomer® LT706 liegt als chemische Struktur Poly-L-Laktid-co-Trimethylencarbonat zugrunde, es handelt sich somit um ein Co-Polymer aus Milchsäure und Trimethylencarbonat in einem Massenverhältnis von 70:30 (Herstellerinformation). Dieses Polymer besitzt eine hohe Viskosität und wurde in mechanischen Untersuchungen mit dem Resomer® R203 kombiniert, um die Elastizität der Oberflächenbeschichtung zu verbessern.

Ein wichtiges Problem beim Einsatz bioresorbierbarer Polymere ist die Sterilisation. Für verschiedene Polymere wie PLA, PGA, PDS (Polydioxanon) und aliphatische Polyester konnte eine Beschädigung des Polymergerüsts durch Radikalbildung nach Sterilisation durch Gammabestrahlung nachgewiesen werden. Ethylenoxidsterilisation gilt als sicheres Sterilisationsverfahren, welches auch für Kunststoffe und Polymere anwendbar ist (Kohn 1996, S.72). Nachteilig ist die Notwendigkeit einer „Entgasung“, um das hochgiftige Ethylenoxid wieder aus dem sterilisierten Material zu entfernen. Ein Verbleib von Ethylenoxidresten im Polymer kann meistens nicht vollständig vermieden werden. Die Problematik der Sterilisation kann durch eine aseptische Polymer-Implantat-Herstellung

umgangen werden. Dabei wird das Polymer im Lösungsmittel durch Sterilfilter (Porengröße 0,2µl) gereinigt und anschließend unter aseptischen Bedingungen (z.B. im Reinraum unter laminar-air-flow) mit dem sterilen Implantat kombiniert. Dadurch kann man eine Zerstörung der Polymerstruktur und eingearbeiteter labiler Arzneistoffe und eine Verunreinigung mit toxischen Substanzen vermeiden.

1.6 Aufgabenstellung

Die Problematik der Implantat-assoziierten Komplikationen wurde in den vorausgehenden Kapiteln ausführlich erörtert. Im Mittelpunkt stehen dabei v.a. die Implantat-assoziierte Infektion und die Aktivierung der Gerinnungskaskade. Eine alleinige Veränderung der Implantatoberfläche hat den Vorteil, dass die Biokompatibilität verbessert werden kann, ohne Implantatdesign und Herstellungsprozess zu verändern. Auch müssen die Anwender, also das medizinische Personal, nicht neu geschult werden. Eine bioresorbierbare Oberflächenbeschichtung schützt im Idealfall in der ersten Zeit nach Implantation das Biomaterial vor Komplikationen, wird in der Folge langsam durch den Organismus resorbiert und sichert das Implantat bis zur vollständigen Integration in den Organismus. Arzneistoffe können ebenfalls in bioresorbierbare Polymere eingearbeitet und daraus kontinuierlich freigesetzt werden, um die Gewebeintegration des Implantates zu verbessern und prophylaktisch oder auch therapeutisch Komplikationen zu reduzieren.

Implantate müssen je nach Einsatzgebiet unterschiedlichen mechanischen Voraussetzungen gerecht werden. So erfordern orthopädische oder unfallchirurgische Operationstechniken Implantate, die hohen Druck-, Biege- und Scherkräften standhalten, um während der intraossären Implantation stabil zu bleiben. Koronarstents zur Prävention der Restenose nach Gefäßdilatation bei koronarer Herzkrankheit werden während der Implantation in Herzkranzgefäße mittels Ballondilatation auf ein Vielfaches ihres ursprünglichen Umfangs gedehnt und das Metallgitter dabei einer enormen Verformung unterworfen. Zentralvenöse Katheter müssen eine gewisse Elastizität aufweisen und dürfen keine zu hohe Steifigkeit besitzen, um während des Einbringens in Blutgefäße die Gefäßwand nicht zu schädigen oder gar zu durchstoßen.

Bringt man nun eine Beschichtung auf Implantate solch unterschiedlicher Anwendungsgebiete und unterschiedlicher mechanischer Grundeigenschaften, so dürfen die mechanischen Qualitäten der Oberflächenbeschichtung den an die Implantate gesetzten

Bedingungen nicht zuwider laufen. Außerdem muss die neu aufgebrachte Oberfläche stabil an das Implantat gebunden bleiben und sollte während der Implantation seine Eigenschaften so wenig wie möglich verändern.

Implantat-assoziierte Infektionen stellen v.a. in der Unfallchirurgie nach großen Weichteilverletzungen ein häufiges Problem dar. In der Endoprothetik deutlich seltener auftretend, haben Infektionen dort teilweise verheerende Folgen und führen meist zur Explantation der Endoprothese. Eine Oberflächenbeschichtung sollte hier zum einen die bakterielle Adhäsion am Implantat reduzieren, zum anderen die Wachstumsfähigkeit anhaftender Keime hemmen oder die Keime im Idealfall sogar abtöten. Eingearbeitete Antibiotika könnten die Oberflächeneigenschaften hier entscheidend verbessern und nach Freisetzung zu einem lokal bakteriostatischen bzw. bakteriziden Milieu führen. Je nach Antibiogramm könnten selektiv die wirksamsten Antibiotika (-kombinationen) auf das Implantat aufgebracht werden.

Ebenso könnte eine Oberflächenbeschichtung die Biomaterial-Blut-Interaktionen im kardiovaskulären System günstig beeinflussen. Eine Reduzierung der Gerinnungsaktivierung durch biokompatible Polymere könnte die Thromboembolierate ebenso reduzieren wie ein lokales Wirkstoffdepot antithrombogener Substanzen. Angriffspunkte antithrombogener Arzneistoffe sind letztendlich in sämtlichen Stufen der Gerinnungskaskade vorstellbar. Ein Nebeneffekt einer antithrombogenen Oberfläche ist auch eine Reduzierung Implantat-assoziiierter Infektionen im Blutkreislauf.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, das bioresorbierbare Polymer Poly-D,L-Laktid auf seine Eigenschaften als biokompatible Oberflächenbeschichtung zu prüfen:

- Getestet werden sollten die mechanischen Eigenschaften der Oberflächenbeschichtung, v.a. im Hinblick auf einen Einsatz in Orthopädie und Unfallchirurgie.
- Eine neue Antibiotika-Polymer-Kombination sollte entwickelt und bezüglich ihrer antiinfektiven Eigenschaften *in vitro* geprüft werden.
- Weiter sollte versucht werden, die vorliegende antithrombogene Oberflächenbeschichtung (Herrmann 1999, S.51; Förster 1999, S.62) für einen Einsatz in Neonatologie und Intensivmedizin zu modifizieren.

2 Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Arzneistoffträger / Polymer

Das Resomer® R203 und das Resomer® LT706 der Firma Boehringer Ingelheim wurden zur Beschichtung der Proben verwendet.

2.1.2 Arzneistoffe

2.1.2.1 Farbstoffe

- Methylviolett:

Methylviolett der Firma Merck wurde in 0,1%-iger Konzentration als Farbstoff in die Beschichtung eingearbeitet.

- Fettschwarz:

Fettschwarz (R2768 der Firma Sico) als lipophiler Farbstoff mit guter Löslichkeit in Ethylacetat diente in 0,1%-iger Konzentration als Farbstoff bei photometrischen Bestimmungen.

- Coumarin 152A:

Der fluoreszierende Farbstoff Coumarin 152A (LC 4810 der Firma Lambdaphysik) wurde ebenfalls in 0,1%-iger Konzentration in das Poly-D,L-Laktid eingebracht. Bei Verwendung von Licht mit einer Wellenlänge von 800nm zeigt dieser Farbstoff eine deutliche Fluoreszenz.

2.1.2.2 Antibiotika

- Gentamicin:

Verwendet wurde die Trockensubstanz von Gentamicinsulfat der Firma COM Pharma.

- Teicoplanin:

Teicoplanin (Targozid®) der Firma Höchst / Aventis wurde als Trockensubstanz in die Beschichtung eingearbeitet.

2.1.2.3 Antithrombogene Substanzen

- Hirudin:

Polyethylenglycol (PEG)-Hirudin wurde uns von der Firma Knoll AG freundlicherweise zur Verfügung gestellt und lag als steriles Lyophilisat vor.

- Iloprost:

Iloprost (Ilomedin®) wurde freundlicherweise von der Firma Schering AG zur Verfügung gestellt.

2.1.3 Biologische Materialien

2.1.3.1 Knochen

Zur Testung der Beschichtungsstabilität auf metallischen Implantaten wurden humane Kadaverfemora sowie Tibiae von Kadaverratten (Sprague Dawley Ratten) verwendet.

2.1.3.2 Bakterien

Ein schleim- und biofilmbildender Stamm der Species Staphylococcus epidermidis wurde freundlicherweise vom Institut für Klinikhygiene der TU München zur Verfügung gestellt.

2.1.4 Biomaterialien

2.1.4.1 Koronarstents

In den Untersuchungen zur Stabilität der Oberflächenbeschichtungen wurden handelsübliche Koronarstents eingesetzt. Die Stahlstents wurden freundlicherweise von der Firma In Flow Dynamics überlassen.

2.1.4.2 Testkörper für Zugversuche

Als Zugproben dienten Flachstangen aus AlMgSiO,5F22 mit einem Querschnitt von 20x2mm.

Werkstoffkenndaten laut Hersteller: Bruchdehnung A5: 12-26%; E-Modul 70.000N/m²; Zugfestigkeit R_m = 215-260N/mm²; F_{max} = 8.600-10.400N.

2.1.4.3 Orthopädische Implantate

- Kirschner-Drähte:

Verwendung handelsüblicher Kirschner-Drähte aus rostfreiem Stahl (V2A-Stahl nach ISO 5832-1) und Drähte einer typischen Titanlegierung (TiAl₆V₄ nach ISO 5832-11 bzw. ISO 5832-3) der Firma Synthes GmbH & Co. KG.

- Endoprothesen:

Endoprothesenmodule einer Cobalt-Chrom-Molybdän-Legierung des MML-Systems (Modular-München-Lübeck) mit interkonnektierenden Oberflächen der Firma ESKA Implants. In dieser Arbeit wurden Stiele zur intramedullären Implantation mit einer Länge von 12,0cm und einem Durchmesser von 1,3cm eingesetzt.

2.1.4.4 Neugeborenenkatheter

Zur Beschichtung wurden ausschließlich zentralvenöse Katheter verwendet.

- medexmedical, 27G ZV Einlumen-Katheter 20cm, Code MXC 0720, Medex Medical Inc., Medex Medical GmbH, Ratingen
- medexmedical, 2F ZV Einlumen-Katheter 33cm, Code MXC 1033-2, Medex Medical Inc., Medex Medical GmbH, Ratingen
- Sherwood Medical, Nabelgefäßkatheter Polyurethan, Sentinel Line TM, Sherwood Medical GmbH, Sulzbach/Ts.
- Vygon, Epicutaneo-Cava-Katheter, Silikon, 50cm, Ø=0,3-0,6mm, Art.-Nr. 2184.005 Vygon GmbH & Co. KG, Aachen
- medexmedical, Zentrales Venenkatheter-Set, 16ga, 1,10 x 1,70; Cat-No MXA 221-30-17-V; Medex Medical Inc., Medex Medical GmbH, Ratingen

2.1.5 Geräte

- Rasterelektronenmikroskop:

Das Gerät JEOL 5900 Low Vacuum mit Röntec EDX-Detektor wurde freundlicherweise vom Institut für Technische Chemie der TU München zur Verfügung gestellt.

- Kritisch-Punkt-Trockner:

BAL-TEC Critical Point Dryer 03 der Firma Balzers

- Autocoating Unit:
Polaron SEM Autocoating Unit E5200 zur Probenpräparation für die Rasterelektronenmikroskopie.
- Präzisionswaage:
Präzisionswaage „MC1 research RC 210P“ der Firma Sartorius
- Photometer:
Beckman Photometer DU-600 mit Hellma Präzisionsküvetten (Typen Nr. 100-OS)
- Messgerät zur Bestimmung der Thrombozytenaggregation:
APACT (Automated Platelet Aggregation Coagulation Tracer)
- Zentrifuge:
Megafuge 1.0R mit Rotor-Nr. 2252 der Firma Sorvall / Heraeus
190 x G entspricht 1.000U/min, 1.700 x G entspricht 3.000U/min
- Ultraschallgerät:
Das Ultraschallgerät Bandelin Sonorex RK255H wurde freundlicherweise vom Institut für Klinikhygiene der TU München zur Verfügung gestellt.
- Universalmessgerät:
Universalprüfmaschine WOLPERT TZZ 707
- Dehnungsmesser:
Feindehnungsmesser ZV 1069-01 der Firma Wolpert
Dehnungsmessstreifen (DMS) EP-08-250BG-120Ω der Firma Measurement Group

2.1.6 Materialien zur Durchführung gerinnungsanalytischer Untersuchungen

- Natriumcitrat:
Natriumcitrat-2-Hydrat-Lösung (31,3mg/ml) zur Unterbrechung der Gerinnungskaskade im humanen Stasemodell.
- Kollagen:
Kollagen mölab (Kalbshaut) als rekonstituiertes Lyophilisat mit einer Konzentration von 1,9mg/ml Aqua ad injectionem. Kollagen diente in dieser Arbeit zur Aktivierung der Thrombozytenaggregation im APACT-Meßgerät.

2.2 Die Beschichtungstechnologie

Alle Beschichtungsvorgänge zur Herstellung von Poly-D,L-Laktid-Oberflächen für mikrobiologische Untersuchungen wurden mit sterilen Materialien unter aseptischen Bedingungen durchgeführt. Die Beschichtung erfolgte dabei im Reinraum an einem „laminar-air-flow“-Arbeitsplatz.

Nach vollständigem Auflösen des Polymers im organischen Lösungsmittel wird das zu beschichtende Implantat für mindestens fünf Sekunden in die Beschichtungslösung getaucht. Nach Entnahme wird die mit Beschichtungslösung überzogene Probe an Luft getrocknet. Gleichmäßiges Schwenken garantiert eine gleichmäßige Verteilung des Polylaktids auf der Oberfläche. Die Trockenzeit ist abhängig vom Siedepunkt des gewählten organischen Lösungsmittels. Nach dem Trocknen greift man die zu beschichtende Probe mit entsprechender Halterung an einer anderen Stelle um einen flächendeckenden Überzug zu erreichen und wiederholt den ersten Beschichtungsvorgang. Bei Bedarf können weitere Beschichtungsvorgänge folgen, man erzielt damit eine dickere Polymerbeschichtung. Nach letztmaligem Trocknen werden die Proben in Folie eingeschweißt und im Exsikkator aufbewahrt, um die Beschichtung vor Feuchtigkeit zu schützen.

Alle Beschichtungsarbeiten müssen an einem Arbeitsplatz mit Luftabzugshaube durchgeführt werden. Um unerwünschtes Abdampfen der Lösungsmittel und somit eine Konzentrierung des Polymers in der Beschichtungslösung zu verhindern, müssen die entsprechenden Gefäße zwischen den jeweiligen Beschichtungsschritten mit einem Stopfen verschlossen bzw. in Trockeneis gekühlt werden.

2.3 Mechanische Eigenschaften der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung

2.3.1 Beschichtungsstabilität bei Einwirkung kombinierter Scher- und Zugkräfte

2.3.1.1 Einfluss von Trägermaterial und dessen Konzentration auf die Beschichtungsstabilität

Stahlstents der Firma In Flow Dynamics (n = 6) wurden mit unterschiedlichen Konzentrationen der Resomere® R203 und LT706 mittels solvent-casting-Verfahrens mit Chloroform als Lösungsmittel beschichtet (vgl. Tabelle 1). Das Gewicht der Koronarstents vor und nach dem Beschichtungsvorgang, sowie nach Dilatation durch handelsübliche Ballonkatheter (Durchmesser d = 3mm, Druck p = 8atm), wurde mittels Präzisionswaage bestimmt. Daraus konnte der jeweilige dilationsbedingte Beschichtungsverlust berechnet werden.

	Trägermaterial	Konzentration pro ml CHCl ₃
I	R203 (PDLLA)	33,3mg
II	R203 (PDLLA)	66,7mg
III	R203 (PDLLA)	133,3mg
IV	97,5% R203 (PDLLA) + 2,5% LT706	66,7mg + 1,7mg
V	95% R203 (PDLLA) + 5% LT706	66,7mg + 3,33mg

Tabelle 1: Versuchsgruppen, Trägermaterial und Konzentration

2.3.1.2 Einfluss des Lösungsmittels auf die Stabilität der Oberflächenbeschichtung

Es wurden jeweils 6 Stahlstents mit 33,3mg, 66,7mg und 133,3mg Poly-D,L-Laktid pro Milliliter Chloroform sowie Ethylacetat beschichtet, um den Einfluss der organischen Lösungsmittel auf die Beschichtungsstabilität zu vergleichen. Die zu prüfenden Koronarstents wurden nach Beschichtung mit handelsüblichen Ballonkathetern *lege artis*

dilatiert ($d = 3\text{mm}$, $p = 8\text{atm}$) und der dabei auftretende Beschichtungsverlust mittels Präzisionswaage bestimmt.

2.3.2 Beschichtungsabrieb bei Einwirkung von Scherkräften

2.3.2.1 Abriebbestimmung von Kirschner-Drähten

Als Proben dienten je zehn handelsübliche Kirschner-Drähte aus rostfreiem V2A-Stahl und Titan (TiAl_6V_4) der Stärke 1,8mm mit einer Länge von je 50mm. Diese wurden mit einer Poly-D,L-Laktid-Beschichtung (133mg PDLLA/ml Chloroform) versehen.

Die Kirschnerdrähte wurden zunächst mit Chloroform von eventuell anhaftenden Schmutz- und Fettpartikeln gereinigt. Vor und nach dem Beschichten erfolgte eine Gewichtsbestimmung der Drähte mittels Präzisionswaage zur Ermittlung der Beschichtungsmenge. Anschließend wurden die Metalldrähte ohne vorheriges Aufbohren als intramedulläre Kraftträger von proximal in Tibiae von Kadaverratten (Sprague Dawley Ratten) eingebracht. Nach Explantation und Ablösen anhaftender Knochen- und Markreste wurde das Gewicht von Kirschner-Draht samt Beschichtung erneut ermittelt. Aus der jeweiligen Gewichts Differenz konnte der absolute und relative Beschichtungsabrieb errechnet werden.

2.3.2.2 Abriebbestimmung von Tumorendoprothesen

14 Tumorendoprothesenmodule (Fa. ESKA Implants, MML-Tumorendoprothesensystem, Durchmesser $d = 13\text{mm}$) aus einer Cobalt-Chrom-Molybdän-Legierung wurden in einer kalten Beschichtungstechnologie mit Poly-D,L-Laktid (133mg/ml Ethylacetat) und Fettschwarz als Farbstoff versehen. Dabei ist nach 5-minütiger Beschichtung auf gleichmäßiges Schwenken während der Trockenphase zu achten, um eine gleichmäßige Verteilung des Polylaktids zu garantieren. Die Beschichtungslösungen (BL) wurden jeweils photometrisch analysiert und eine Relation zwischen Farbstoffmenge und angesetzter Polylaktidmenge hergestellt (Farbstoff-PDLLA-Quotient „Q“).

Bei sieben der beschichteten Prothesen wurde die Poly-D,L-Laktid-Beschichtung nach dem Aufbringen ohne weitere Behandlung wieder vollständig durch Ethylacetat von der Prothese abgelöst und photometrisch quantifiziert.

Die andere Hälfte der beschichteten Prothesen ($n = 7$) wurde unter standardisierten Bedingungen *lege artis* nach vorheriger Eröffnung des Markraumes durch einen

Markraumböhrer von proximal diaphysär in humane Leichenfemora implantiert. Dabei ist auf adäquate Hygiene zu achten (Handschuhe!). Nach radiologischer Lagekontrolle in zwei Ebenen (langstreckiger Kontakt zwischen Implantat und innerer Kortikalis als entscheidendes Kriterium, vgl. Abbildung 9) wurden die Prothesen mittels Osteotomie explantiert (vgl. Abbildung 7). Anhaftende Knochenmarksreste wurden mechanisch vollständig entfernt und anschließend durch Spülung mit destilliertem Wasser weiter gereinigt. Der eingearbeitete Farbstoff (Fettschwarz) bleibt während der Behandlung mit Aqua dest. vollständig in der Beschichtung gebunden, was Vorversuche zeigen konnten. Anschließend wurde die noch auf der Prothese verbliebene Poly-D,L-Laktid-Menge in einem definierten Volumen Ethylacetat abgelöst und die Absorption im Photometer gemessen.



Abbildung 7: Tumorprothesenmodul nach Implantation und Osteotomie

2.3.3 Stabilität bei Längendehnung

Als zu beschichtende Proben dienten Aluminium-Flachstangen mit einem Querschnitt von 20 x 2mm und einer Probenlänge von 130mm. Darauf wurden bei allen Versuchen 200µl der Beschichtungslösung per solvent-casting-technique gleichmäßig aufgebracht. Sämtliche Versuche wurden mittels Universalprüfmaschine (Typ WOLPERT TZZ 707) mit einer 50kN Kraftmessdose durchgeführt, die Längendehnung wurde bei den nichtzerstörenden

Messungen (Gruppe 1) mittels Feindehnungsmesser (maximal zugelassene Dehnung $\epsilon_{\max}=4\%$; Wolpert ZV 1069-01) bestimmt. Bei Längendehnung bis zum Versagen der Testkörper (Gruppe 2) wurden Dehnungsmessstreifen (maximal zugelassene Dehnung $\epsilon_{\max}=20\%$; Measurement Group EP-08-250BG-120 Ω) eingesetzt. Die Proben der Gruppe 3 sollten einen möglichen Einfluss des Lösungsmittels auf die Rissfestigkeit der Beschichtung aufdecken und wurden keiner Kraft- bzw. Dehnungsmessung unterzogen. Die Prüfgeschwindigkeit v_B betrug jeweils 10mm/min, die freie Einspannlänge der Proben 105mm. Zur besseren Visualisierung wurde ein Farbstoff in die Beschichtung eingearbeitet (Methylviolett 0,01%).

In der Versuchsreihe der Gruppe 2 wurden zusätzlich Zugversuche mit zwei als Referenz dienenden unbeschichteten Proben durchgeführt, auch hier wurden Bruchkraft und Bruchdehnung ermittelt.

Proben-Nr.	Polymer	Polymerkonzentration	Lösungsmittel	Längendehnung
1.1-1.5	Poly-D,L-Laktid (R203)	67mg/ml	Chloroform	4%
2.1-2.5	Poly-D,L-Laktid (R203)	67mg/ml	Chloroform	Bruchdehnung
3.1-3.3	Poly-D,L-Laktid (R203)	133mg/ml	Ethylacetat	Bruchdehnung
3.4-3.6	Poly-D,L-Laktid (R203)	133mg/ml	Chloroform	Bruchdehnung

Tabelle 2: Beschichtungen zur Bestimmung der Längendehnung

Nach erfolgter Längendehnung wurden die Beschichtungen makroskopisch, licht- und rasterelektronenmikroskopisch auf Oberflächenveränderungen untersucht.

2.4 Poly-D,L-Laktid als antiinfektive Oberfläche für orthopädische Implantate

2.4.1 Masse der aufgetragenen Beschichtung

Um Anhaltspunkte über die Menge des aufgetragenen Poly-D,L-Laktids zu gewinnen und dadurch Rückschlüsse auf die Menge eingearbeiteter Wirkstoffe treffen zu können, wurden 24 Kirschner-Drähte der Stärke 1,5mm aus nichtrostendem Stahl nach dem Standardverfahren beschichtet (133mg PDLLA pro Milliliter Ethylacetat). Eine Gewichtsbestimmung mittels Präzisionswaage erfolgte vor und nach Beschichtung.

2.4.2 Antibiotikaelution aus der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung

Die Freisetzungsversuche umfassten insgesamt vier Versuchsgruppen, die Elution erfolgte in PBS-Puffer bei einem pH-Wert von 7,4. Dabei wurden jeweils Kirschner-Drähte aus antimagnetischem, rostfreiem Stahl (n = 4; Stärke 1,5; je Probe 15cm Drahtlänge) mit Poly-D,L-Laktid beschichtet (133mg PDLLA pro Milliliter Ethylacetat). Bei den Versuchsgruppen I und II wurden die Antibiotika in die Beschichtung eingearbeitet. Bei den Versuchsgruppen III und IV wurden die Kirschner-Drähte mit dem reinen Trägermaterial beschichtet und die Antibiotika direkt in die Elutionslösung eingebracht, um die Antibiotikastabilität während der gesamten Versuchsdauer zu dokumentieren. Die Prozentangaben der Antibiotika beziehen sich auf die Gewichtsmengen der Arzneistoffträger.

Gruppe I: 5% Gentamicin in der Beschichtung

Gruppe II: 5% Teicoplanin in der Beschichtung

Gruppe III: 40mg Gentamicin in der Elutionslösung

Gruppe IV: 40mg Teicoplanin in der Elutionslösung

Nach dem Beschichtungsvorgang wurden die Proben im Brutschrank bei 37°C in jeweils 10ml PBS-Puffer (pH = 7,4) vier Tage lang inkubiert und in regelmäßigen Abständen geschwenkt, um eine gleichmäßige Verteilung gelöster Stoffe zu gewährleisten.

Zu den Zeitpunkten 10 Minuten, 1 Stunde, 6, 24 und 96 Stunden wurden je 500µl-Proben nach erneutem Schwenken entnommen. Die Volumenveränderungen durch Probenentnahme mussten in der späteren Konzentrationsberechnung Beachtung finden.

2.4.3 Mikrobiologische Untersuchung der PDLLA-Beschichtung

Als Implantate dienten wiederum handelsübliche Kirschner-Drähte aus rostfreiem Stahl und Titan (TiAl₆V₄) mit einem Durchmesser von 1,8mm und einer Länge von 12,0mm. Die Oberflächenbeschichtung wurde aus Poly-D,L-Laktid in der Standardkonzentration von 133mg pro Milliliter Ethylacetat hergestellt. Als Antibiotika wurden Gentamicin und Teicoplanin in einer Massenkonzentration von insgesamt 5% in die Beschichtung eingearbeitet. Testkeim war ein schleimbildender Stamm der Species Staphylococcus epidermidis, ein typischer Erreger Implantat-assoziiierter Infektionen. Die durchgeführten Untersuchungen umfassten insgesamt 100 Proben (n = 10). Die Prozentangaben der Antibiotika beziehen sich wiederum auf die Gewichtsmengen der Arzneistoffträger.

- Gruppe I:** unbeschichtete Kirschner-Drähte
- Gruppe II:** Poly-D,L-Laktid als Oberflächenbeschichtung
- Gruppe III:** Poly-D,L-Laktid + Gentamicin 5%
- Gruppe IV:** Poly-D,L-Laktid + Teicoplanin 5%
- Gruppe V:** Poly-D,L-Laktid + Gentamicin 1,67% + Teicoplanin 3,33%

Die beim Wachstumsmodell eingesetzten Testkeime müssen standardisiert einen Tag vor Versuchsbeginn frisch auf Nährböden überimpft und 24 Stunden bei 37°C bebrütet werden. Die Keime befinden sich dann in der logarithmischen Wachstumsphase und weisen ein homogenes Wachstumsverhalten auf.

Von den Staphylokokken wurde durch Abgleichen mit *Mac Farland 0,5* eine Bakteriensuspension definierter Konzentration (5×10^7 Kolonie bildende Einheiten KBE pro Milliliter) in isotoner Kochsalzlösung hergestellt. Diese Bakteriensuspension wurde schließlich mit 0,9%-iger Kochsalzlösung 1:200 verdünnt. Die auf diese Weise hergestellte Inkubationslösung enthielt $2,5 \times 10^5$ KBE *Staphylococcus epidermidis* pro Milliliter.

Die Kirschner-Drähte sämtlicher Versuchsgruppen wurden in je 2ml Inkubationslösung für 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Nach Entnahme wurden die Proben standardisiert in drei aufeinander folgenden Waschgängen mit NaCl 0,9% von lose anhaftenden Keimen befreit. Anschließend wurden die Kirschner-Drähte zu jeweils 2ml 0,5%-iger Trypsinlösung gegeben und die fest anhaftenden Keime 15 Minuten im Ultraschallbad abgelöst. Je 100µl der bakterienhaltigen Trypsinlösungen wurden in zunehmenden Verdünnungen auf Müller-Hinton-Nährböden überimpft und bei 37°C im Brutschrank gezüchtet. Die Auszählung der Kolonie bildenden Einheiten erfolgte nach 48 Stunden.

2.5 PDLLA als antithrombogene Oberfläche für die Neonatologie

2.5.1 Stabilität verschiedener Katheter in organischen Lösungsmitteln

Die zu testenden Katheter wurden in Chloroform und Ethylacetat inkubiert und makroskopisch nach 5 Minuten, 3 Stunden und 24 Stunden beobachtet. Falls die Katheter nach 24 Stunden makroskopisch unverändert vorlagen, wurden zusätzlich mikroskopische Untersuchungen auf Oberflächenveränderungen durchgeführt.

Folgende zentralvenöse Neugeborenenkatheter wurden getestet:

1. Medexmedical: 27G ZV Einlumen-Katheter, 20cm
2. Medexmedical: 2F ZV Einlumen-Katheter, 33cm
3. Sherwood Medical: Nabelgefäßkatheter Polyurethan, Sentinel Line TM
4. Vygon: Epicutaneo-Cava-Katheter, Silikon, 50cm
5. Medexmedical: Zentrales Venenkatheter-Set, 16ga

2.5.2 Die modifizierte Beschichtungstechnologie für zentralvenöse Katheter

Die Katheter wurden mit einer Lösung von 67,7mg Poly-D,L-Laktid pro Milliliter Lösungsmittel und einem Farbstoffzusatz von 0,1 Prozent Methylviolett (bei Chloroform) bzw. Fettschwarz (bei Ethylacetat) beschichtet. Die genaue Vorgehensweise ist im Ergebnisteil beschrieben (vgl. Kapitel 3.3.2).

2.5.3 Katheter im humanen Staseversuch

2.5.3.1 Versuchsaufbau und Durchführung

Das humane Stasemodell ist unter aseptischen Bedingungen durchzuführen. Der Versuchsproband muss nüchtern und gesund sein und darf in den letzten zehn Tagen keine Substanzen eingenommen haben, welche die Blutgerinnung beeinflussen können. Bei mehrmaliger Versuchswiederholung in kurzer Zeit empfiehlt sich eine Hämoglobin-Kontrolle und der Verzicht auf zusätzliche Blutspenden. Das hier angewandte humane Stasemodell wurde von Schmidmaier 1999 beschrieben und zur Untersuchung zentralvenöser Neugeborenenkatheter modifiziert (Schmidmaier 1999, S.33).

Die zu testenden Neugeborenenkatheter (je 2 x 2cm Probenlänge) werden unter aseptischen Bedingungen beschichtet und in sterile 10ml-Spritzen eingebracht. Eppendorf-Cups sind mit je 0,4ml Natriumcitrat-Lösung vorzufüllen. Die Fixierlösung für die rasterelektronenmikroskopische Untersuchung ist anzusetzen und in Glasreagenzgläser zu füllen.

Mit Hilfe eines großlumigen Butterfly-Blutabnahmesystems wird am Unterarm des Probanden ein venöser Zugang gelegt und fixiert. Nach Venenpunktion ist der Stauschlauch zu lösen, um keine verfälschten Werte durch Schädigung der Thrombozyten zu erhalten. Sämtliche Blutabnahmen sollen lediglich durch den passiven Venendruck erfolgen.

Aus dem Venenkatheter wird EDTA- und Zitratblut zur Kontrolle der Blut- und Gerinnungsparameter des Probanden entnommen (kleines Blutbild, TPZ, PTT, Fibrinogen). Außerdem wird der sog. Nullwert (2ml Vollblut in eine leere 10ml-Spritze) entnommen, um später Aussagen über die Thrombogenität der Materialien des Stasemodells treffen zu können (Nullwert des Systems). Der Arm liegt während des gesamten Versuches ruhig auf einer Arbeitsplatte und wird abgepolstert.

Die Zeit wird notiert und eine Stoppuhr gestartet. Es ist auf gleichmäßiges und zügiges Arbeiten zu achten. Alle 45 Sekunden wird eine Spritze mit 2ml Probandenblut gefüllt und mit dem darin enthaltenen Neugeborenenkatheter in Stase gelassen. Nach Entnahme der letzten Blutprobe wird der Venenverweilkatheter vom Arm des Probanden entfernt. Nach jeweils 5-minütiger Stase werden zu jeder Spritze 0,4ml Natriumcitrat zugegeben und die Gerinnung damit unterbunden. Das Blut wird zur Gerinnungsanalyse weiterverarbeitet.

Als Proben dienten zentralvenöse Neugeborenenkatheter (Medexmedical-27G ZV Einlumen-Katheter) der Länge 4cm, welche freundlicherweise von der Firma Medexmedical zur Verfügung gestellt wurden (n = 4). Poly-D,L-Laktid wurde mittels Kaltbeschichtungs-technologie auf die Katheter der Gruppen II mit V aufgebracht (133mg PDLLA pro Milliliter Ethylacetat). Die Prozentangaben der Arzneistoffe beziehen sich auf die Gewichtsmengen des Arzneistoffträgers. Folgende Versuchgruppen wurden untersucht:

Gruppe I: unbeschichtete Katheter

Gruppe II: Poly-D,L-Laktid als Oberflächenbeschichtung

Gruppe III: Poly-D,L-Laktid + Iloprost 5%

Gruppe IV: Poly-D,L-Laktid + PEG-Hirudin 5%

Gruppe V: Poly-D,L-Laktid + Iloprost 1% + PEG-Hirudin 5%

2.5.3.2 Gerinnungsanalytische Untersuchungen

Das im „Stasemodell“ mit den zu testenden Biomaterialien in Kontakt getretene Blut wird durch gerinnungsanalytische Untersuchungen charakterisiert. Stellvertretend wurde bei allen getesteten Kathetern die Thrombozytenaggregation bestimmt. Die zu testenden Blutproben werden nach Unterbrechung der Gerinnungskaskade (durch Zugabe von Natriumzitratlösung) unverzüglich bei 190 x G für 20 Minuten zentrifugiert und das überstehende (\underline{p} latelet rich \underline{p} lasma = PRP) vorsichtig mit einer Pipette abgehoben. Das

restliche Probenmaterial wird weitere 10 Minuten bei 1700 x G zentrifugiert. Der dabei entstehende Überstand entspricht dem (*platelet poor plasma* = PPP).

Vor jeder Messung wird der jeweilige Kanal des Messgerätes (APACT) mit plättchenarmen Plasma auf einen Wert von 100% Transmission und mittels plättchenreichem Plasma auf einen Wert von 0% Transmission geeicht. Anschließend gibt man jeweils 5µl Induktorensuspension (rekonstituiertes Kollagen) zu 295µl des plättchenreichem Plasma und startet das Messgerätes. Mittels Computer wird die jeweilige Transmission als indirektes Maß für die Thrombozytenaggregation abhängig von der Zeit (t = 700 sec.) dargestellt. Nach Abschluss der Messungen hat eine Plättchenfunktionsprüfung zu erfolgen, da die Aktivität der Thrombozyten in vivo bereits nach wenigen Stunden rasch abnimmt.



3 Ergebnisse

Sämtlichen in dieser Arbeit angewandten Beschichtungsverfahren liegt eine sogenannte Kaltbeschichtungstechnologie zugrunde. Dazu wird das Poly-D,L-Laktid in einem bei Raumtemperatur flüchtigen organischen Lösungsmittel gelöst. Mit diesem „solvent-casting“-Verfahren werden die verschiedenen Implantate bei Raumtemperatur mit einem gleichmäßigen Polymerfilm überzogen.

3.1 Mechanische Eigenschaften der PDLLA-Beschichtung

3.1.1 Beschichtungsstabilität bei Einwirkung kombinierter Scher- und Zugkräfte

Der Einfluss des Trägermaterials (Resomer® R203 alleine bzw. in Kombination mit dem Resomer® LT706), deren Konzentration und der Einfluss des gewählten organischen Lösungsmittels (Ethylacetat bzw. Chloroform) auf die Stabilität der Oberflächenbeschichtung wurde anhand eines Koronarstentmodells geprüft. Die Koronarstents wurden in den vorliegenden Versuchsreihen mit handelsüblichen, in der Klinik eingesetzten Ballonkathetern *lege artis* dilatiert. Der dabei auftretende Verlust an Oberflächenbeschichtung wurde mittels Präzisionswaage bestimmt.

3.1.1.1 Einfluss von Trägermaterial und dessen Konzentration auf die Beschichtungsstabilität

Untersucht man den Einfluss der Trägermaterialkonzentration auf die Beschichtung, so zeigt sich zunächst eine Zunahme der Beschichtungsmenge bzw. der Beschichtungsdicke korrelierend zur eingesetzten Polymerkonzentration in der Beschichtungslösung. Mit ansteigender Polymermenge in der Beschichtungslösung steigt auch die Beschichtungsmenge auf den Koronarstents (vgl. Tabelle 3). Auf den Proben der höchsten Polymerkonzentration (Gruppe III) befindet sich eine signifikant größere Beschichtungsmenge als auf den Proben der Gruppe I ($p < 0,05$, Mann-Whitney-Test).

Bezüglich des relativen Beschichtungsverlustes während Dilatation ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen den verschiedenen Polymerkonzentrationen. Die relativ große Menge an Beschichtungsverlust entsteht durch ein Abplatzen makroskopisch

sichtbarer Partikel, was auch zu einem Verlust der Oberflächenkontinuität führt. Das Abplatzen größerer Partikel erklärt auch die hohen Standardabweichungen in den vorliegenden Versuchen.

n=6	Trägermaterial pro ml CHCl ₃	Beschichtung in mg pro 10mg Stentgewicht	Beschichtungsverlust in %
I	33,3mg R203	0,60±0,33	37,4±26,5
II	66,7mg R203	1,16±0,58	28,0±28,1
III	133,3mg R203	1,70±0,24	36,9±10,2
IV	97,5% R203+2,5% LT706	1,46±0,48	48,7±24,6
V	95% R203 + 5% LT706	0,90±0,41	10,9±9,9

Tabelle 3: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Trägermaterial und dessen Konzentration

Ein zusätzliches Einbringen des Resomers® LT706 in die Polymerbeschichtung zeigt erst ab einer Konzentration von 5% einen positiven Effekt auf die Polymerstabilität. Das in Lösung hochvisköse Polymer führt zu einer Zunahme der Beschichtungselastizität und somit zu einem deutlich geringeren Beschichtungsverlust während der Dilatation der Koronarstents.

3.1.1.2 Einfluss des Lösungsmittels auf die Stabilität der Oberflächenbeschichtung

Jeweils 6 Stahlstents wurden mit 33,3mg, 66,7mg und 133,3mg Poly-D,L-Laktid pro Milliliter Chloroform bzw. Ethylacetat beschichtet, um den Einfluss des gewählten Lösungsmittels auf die mechanischen Eigenschaften der Oberflächenbeschichtung zu ermitteln. Dabei ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen den beiden Lösungsmitteln.

Die mit Ethylacetat als Lösungsmittel beschichteten Koronarstents zeigen einen deutlich geringeren Beschichtungsverlust als die Stents der Chloroformgruppen (2,1% bei Ethylacetat gegenüber 36,6% bei Chloroform; vgl. Tabelle 4). Die durch Ethylacetat hergestellte Poly-D,L-Laktid-Oberflächenbeschichtung zeigt somit unter Einwirkung kombinierter Zug- und Scherkräfte bei starker Verformung eine signifikant bessere Haftfähigkeit auf metallischen Implantaten ($p < 0,05$, Mann-Whitney-Test).

Auch bei dieser Versuchsreihe zeigt sich, dass unabhängig vom gewählten Lösungsmittel die Menge an aufgebrachtem Polymer von der Poly-D,L-Laktid-Menge in der Beschichtungslösung abhängig ist. Außerdem kann man mit Chloroform als Lösungsmittel bei gleicher Polymerkonzentration in der Beschichtungslösung etwa die doppelte Menge an Poly-D,L-Laktid (1,12mg bei Chloroform gegenüber 0,59mg bei Ethylacetat; vgl. Tabelle 4) auf das Metallimplantat auftragen. Bei 33,3mg/ml und bei 133,3mg/ml sind die Unterschiede zwischen Chloroform und Ethylacetat hinsichtlich der Beschichtungsmenge signifikant ($p < 0,05$, Mann-Whitney-Test).

n=6 PDLLA pro ml	Chloroform		Ethylacetat	
	Beschichtung in mg pro 10mg Stentgewicht	Beschichtungs- verlust in %	Beschichtung in mg pro 10mg Stentgewicht	Beschichtungs- verlust in %
33,3mg	0,66±0,24	39,4±19,2	0,22±0,08	4,9±10,9
66,7mg	1,16±0,58	28,0±28,1	0,63±0,23	0,7±1,9
133,3mg	1,67±0,19	40,3±9,8	0,93±0,32	0,7±1,1
Gesamt	1,16±0,56	35,9±20,1	0,59±0,37	2,1±6,4

Tabelle 4: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel

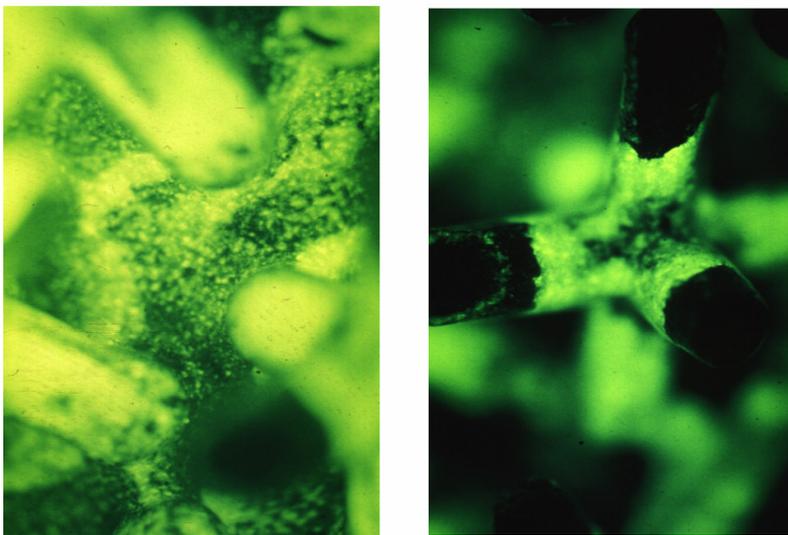


Abbildung 8: Poly-D,L-Laktid-Beschichtung auf Tumorprothese mit interkonnektierender Oberfläche (links: Ethylacetat als Lösungsmittel, rechts: Chloroform; Farbstoff Coumarin 152A)

Vergleicht man beide Beschichtungen qualitativ unter dem Lichtmikroskop, so zeigt sich bei der Ethylacetatgruppe eine gleichmäßigere Verteilung der Oberflächenbeschichtung. Eine flächendeckende Beschichtung wird auf allen getesteten Implantaten erreicht.

Die Chloroformgruppe zeigt hingegen eine größere Anzahl unbeschichteter Stellen und Flächen mit „Polymerklumpen“ (vgl. Abbildung 8), was letztendlich auch die größere Beschichtungsmenge auf den Implantaten erklärt. Eine Abhängigkeit der Polymerstabilität von der Ausgangskonzentration in der Beschichtungslösung lässt sich wiederum nicht nachweisen.

3.1.2 Beschichtungsabrieb bei Einwirkung von Scherkräften

Um die Anwendung dieser bioresorbierbaren Oberflächenbeschichtung auf Gebiete wie Unfallchirurgie und Orthopädie erweitern zu können, musste zunächst die mechanische Stabilität der Beschichtung beim Kontakt von Implantat, Beschichtung und Knochen geprüft werden. Als Proben wurden gängige, in Orthopädie und Unfallchirurgie eingesetzte Metallimplantate verwendet.

3.1.2.1 Abriebbestimmung von Kirschner-Drähten

Der Beschichtungsabrieb nach intramedullärer Implantation in Rattentibiae wurde für Stahl- und Titanimplantate bestimmt. Implantiert man mit Poly-D,L-Laktid beschichtete Kirschner-Drähte als intramedulläre Kraftträger, so entsteht bei Stahlimplantaten ein Beschichtungsabrieb von 4,09% und bei Titanimplantaten ein Abrieb von 3,94%. Auf Kirschner-Drähten bleiben etwa 96% der Polylaktidbeschichtung gebunden (vgl. Tabelle 5). Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen Stahl und Titan ($p > 0,05$, Mann-Whitney-Test).

Material	Beschichtungsmenge [mg]	Beschichtungsverlust [mg]	Beschichtungsverlust [%]
Stahl	3,92±1,06	0,15±0,11	4,09±3,36
Titan	3,83±1,44	0,13±0,09	3,94±3,82

Tabelle 5: Beschichtungsabrieb von Kirschner-Drähten während intramedullärer Implantation

3.1.2.2 Abriebbestimmung von Tumorendoprothesen

Gemessen wurde der Beschichtungsabrieb von Endoprothesenmodulen einer Cobalt-Chrom-Molybdän-Legierung. Diese Implantate werden in der Orthopädie zur

Überbrückung großer Knochendefekte nach Tumorchirurgie oder beim Endoprothesenwechsel eingesetzt.

Die große Masse des Endoprothesenmoduls (ca. 800g) im Vergleich zur geringen Menge der etwa 100µm dicken Beschichtung macht eine genaue Ermittlung des Beschichtungsabriebs über die alleinige Gewichtsbestimmung unmöglich. Um die Beschichtungsmenge vor und nach Implantation und somit den Beschichtungsverlust während der intraossären Implantation messen zu können, wurde ein photometrisches Messverfahren zur indirekten Beschichtungsbestimmung etabliert. Dabei wurde ein Farbstoff (Sico Fettschwarz R2768 in 0,1%iger Konzentration) in die Beschichtung eingearbeitet. Anhand der Verdünnungsreihen von Sico Fettschwarz in Ethylacetat (n = 3) konnte beim Absorptionsmaximum von 591,5nm eine Eichkurve erstellt werden. Bei bekannter Polymerkonzentration kann mittels Eichkurve eine Relation zwischen eingearbeitetem Farbstoff (über die Absorption der Beschichtungslösung) und eingewogenem Polymer hergestellt („Farbstoff-Polymer-Quotient Q“) werden. Daraus lässt sich indirekt die Beschichtungsmenge bestimmen. Der Beschichtungsverlust nach intramedullärer Implantation wurde schließlich aus den Ergebnissen der jeweils sieben implantierten und sieben nicht implantierten Endoprothesen errechnet.

Bei der intraossären Implantation in humane Leichenfemora wurde in einem kliniknahen Modell ein implantationsbedingter Beschichtungsabrieb von lediglich 3,97% ermittelt. Der Beschichtungsverlust liegt dabei nicht konzentriert an der Einschlagsöffnung vor, sondern verteilt sich gleichmäßig über die gesamte Implantationsfläche.

PDLLA-Beschichtung ohne Implantation in mg	116,44±18,65
PDLLA-Beschichtung nach Implantation in mg	111,82±18,33
Beschichtungsverlust durch Implantation [mg]	4,62
Beschichtungsverlust durch Implantation [%]	3,97

Tabelle 6: Beschichtungsverlust von Tumorprothesen durch intramedulläre Implantation

Zur Vermeidung von Messfehlern durch anhaftende Knochenmarksreste, wurde eine Ethylacetatemulsion mit großen Mengen an Knochenmark hergestellt und photometrisch untersucht. Das dabei gemessene Absorptionsmaximum liegt bei einer Wellenlänge von 269nm. Bei der in den vorliegenden Versuchsreihen relevanten Wellenlänge von 591,5nm verursachen die Verunreinigungen praktisch keine Absorption (Extinktion von 0,0048 im

Vergleich zu Messwerten in der Größenordnung von 0,5). Eine relevante Verfälschung der Ergebnisse durch evtl. anhaftende Knochenmarksreste konnte somit ausgeschlossen werden.

Bringt man handelsübliche Metallimplantate mit einer bioresorbierbaren Oberflächenbeschichtung aus Poly-D,L-Laktid als intramedulläre Kraftträger in Röhrenknochen ein, so beobachtet man einen Beschichtungsabrieb von durchschnittlich etwa 4% bei Stahlimplantaten, Titanimplantaten und Implantaten einer Kobalt-Chrom-Molybdän-Legierung. Durchschnittlich verbleiben somit 96% der Beschichtung fest an das metallische Implantat gebunden. Es zeigte sich eine gleichmäßige Verteilung der abgeriebenen Farbpartikel entlang des Implantatlagers an der inneren Kortikalis. Ein langstreckiger Kontakt zwischen Implantat und innerer Kortikalis konnte radiologisch bestätigt werden (vgl. Abbildung 9).

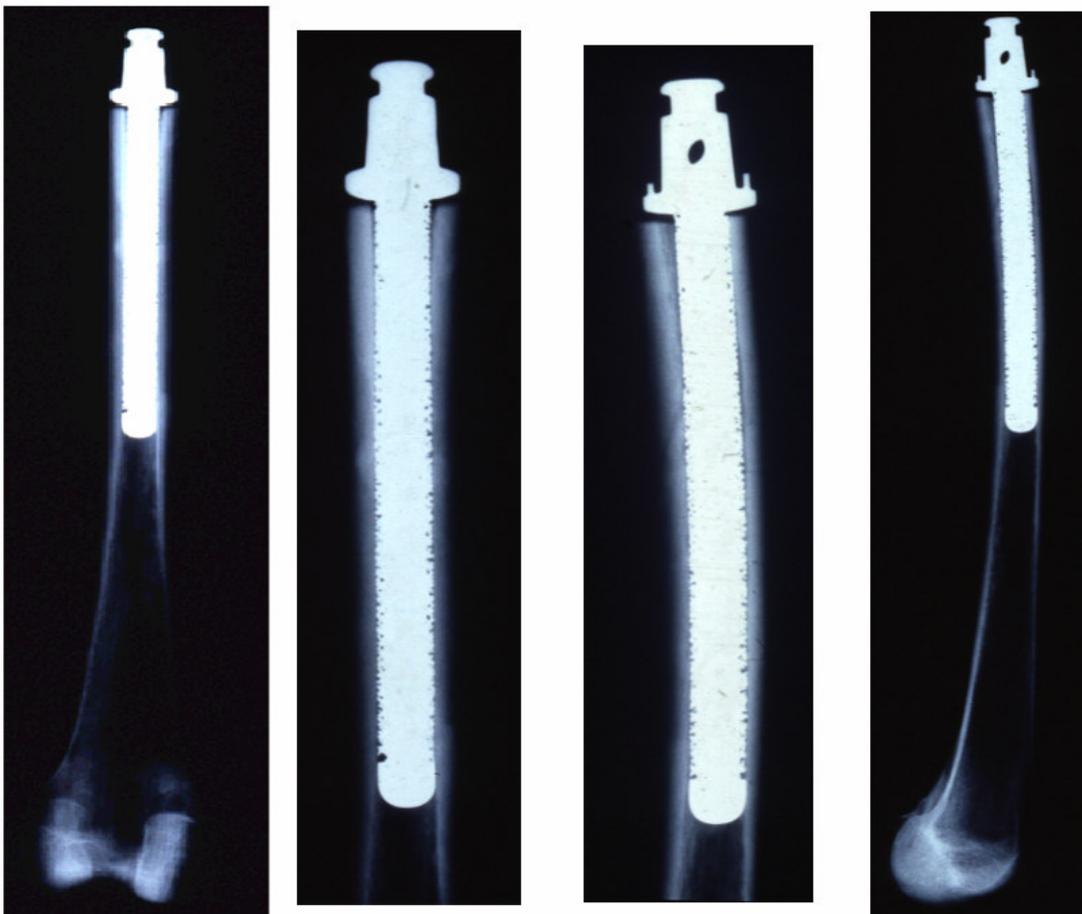


Abbildung 9: Röntgenkontrolle nach intramedullärer Implantation

3.1.3 Stabilität bei Längendehnung

Zur Ermittlung der Haftfestigkeit der Beschichtung auf metallischen Implantaten und des Verhaltens des Polymers bei Einwirkung von Längendehnung wurden definierte Zugversuche mit Zugplatten einer Aluminiumlegierung durchgeführt.

3.1.3.1 Versuchsgruppe 1 (Proben 1.1 - 1.5)

Nach erfolgter Längendehnung um durchschnittlich 4% waren sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch keine Veränderungen der Beschichtungsoberfläche zu erkennen. Die Polylaktidbeschichtung zeigte keine Risse und kein Abplatzen von der Metalloberfläche.

Proben-Nr.	Polymer	Kraft F[N]	Längendehnung ϵ [%]
1.1	Poly-D,L-Laktid	10406	4%
1.2	Poly-D,L-Laktid	10438	4%
1.3	Poly-D,L-Laktid	10375	4%
1.4	Poly-D,L-Laktid	10563	4%
1.5	Poly-D,L-Laktid	10406	4%

Tabelle 7: Längendehnung und Dehnungskraft, Gruppe 1

3.1.3.2 Versuchsgruppe 2 (Proben 2.1 - 2.5)

Proben-Nr.	Polymer	Bruchkraft [N]	Längendehnung ϵ [%]
2.1	Poly-D,L-Laktid	10.563	Bruchdehnung 7,94%
2.2	Poly-D,L-Laktid	-	Bruchdehnung 7,27%
2.3	Poly-D,L-Laktid	-	Bruchdehnung 7,63%
2.4	Poly-D,L-Laktid	10.563	Bruchdehnung 8,18%
2.5	Poly-D,L-Laktid	10.594	Bruchdehnung 7,86%
Mittelwert		10.573 ± 15	7,78 ± 0,31

Tabelle 8: Längendehnung und Bruchkraft, Gruppe 2

Die ermittelten Bruchkräfte der beiden mit Dehnungsmessstreifen versehenen unbeschichteten Proben lagen im Bereich der vom Hersteller genannten Werte. Im Bereich der Dehnungsmessstreifen ergab sich eine Bruchdehnung von $\epsilon=8,1\%$ bzw. $\epsilon=7,3\%$

(Bruchkraft $F=10.500\text{N}$ bzw. $F=10.590\text{N}$). Bei den beschichteten Proben lag die maximale Dehnung bei durchschnittlich $\epsilon=7,8\pm 0,3$, die Bruchkraft bei $F=10.573\pm 15\text{N}$. Es besteht kein signifikanter Unterschied zwischen den unbeschichteten und den beschichteten Proben. Die Beschichtung zeigt somit keinen Einfluss auf die mechanischen Eigenschaften der Aluminiumproben.

Auch bei Dehnung bis zum Probenbruch konnte makroskopisch und lichtmikroskopisch, selbst im Bereich der Bruchstelle, keine Veränderung der Beschichtungsfläche oder ein Abplatzen der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung festgestellt werden (vgl. Abbildung 10). Im Bereich der Dehnungsmessstreifen lagen ebenfalls sämtliche Proben selbst bei rasterelektronenmikroskopischer Untersuchung unverändert vor. Die Beschichtung bleibt somit bis zu einer Längendehnung von mindestens 8% stabil (Abbildung 10). Lediglich nahe der Abrissstelle konnten unter dem Rasterelektronenmikroskop regelmäßige, quer zur Zugrichtung verlaufende Mikrorisse nachgewiesen werden. In diesem Bereich muss aber auch von einer Dehnung deutlich über $\epsilon = 8\%$ ausgegangen werden (vgl. Abbildung 11).

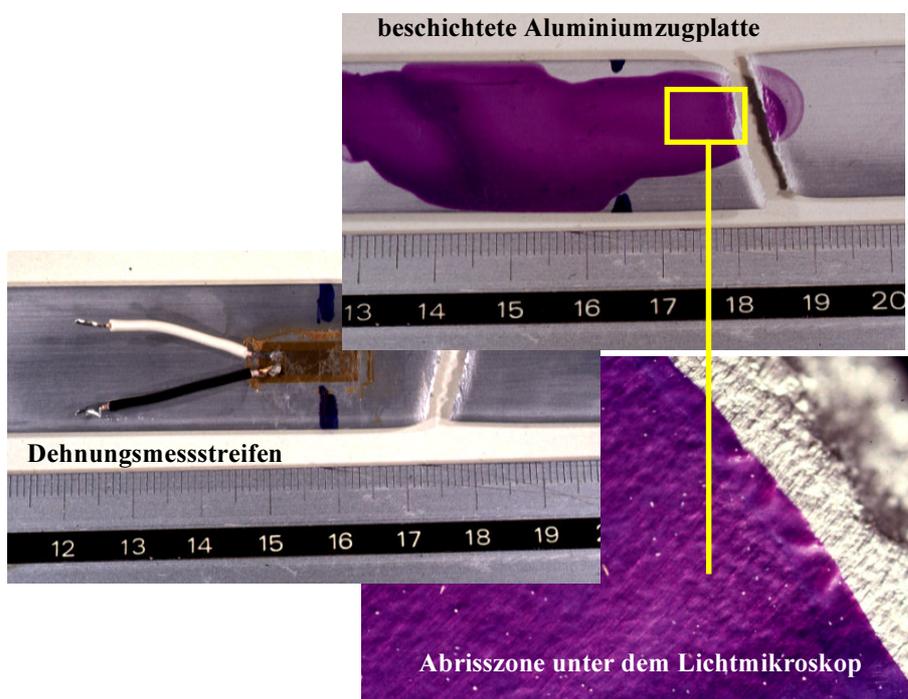


Abbildung 10: Beschichtete Aluminiumzugplatte nach Bruchdehnung

3.1.3.3 Versuchsgruppe 3 (Proben 3.1 - 3.6)

Dehnt man die in doppelter Konzentration aufgebrachten Poly-D,L-Laktid-Beschichtungen (133mg PDLLA pro Milliliter Lösungsmittel) bis zum Bruch der Testplatten, so kann man makroskopisch wie auch lichtmikroskopisch erneut keine Veränderungen der Oberfläche erkennen. Im Rasterelektronenmikroskop zeigen sich jedoch, wie bei den Proben der Versuchsgruppe 2, an Stellen stärkerer Dehnung regelmäßige Risse in der Beschichtung. Diese verlaufen senkrecht zur Zugrichtung und sind auf die erfolgte Längendehnung zurückzuführen. Zwischen den via Ethylacetat und Chloroform hergestellten Beschichtungen zeigt sich kein Unterschied bezüglich der Stabilität bei isolierter Längendehnung.

Proben-Nr.	Polymer	Lösungsmittel	Längendehnung
3.1-3.3	133,3mg Poly-D,L-Laktid / ml	Ethylacetat	Bruchdehnung
3.4-3.6	133,3mg Poly-D,L-Laktid / ml	Chloroform	Bruchdehnung

Tabelle 9: Längendehnung und Lösungsmittel, Gruppe 3

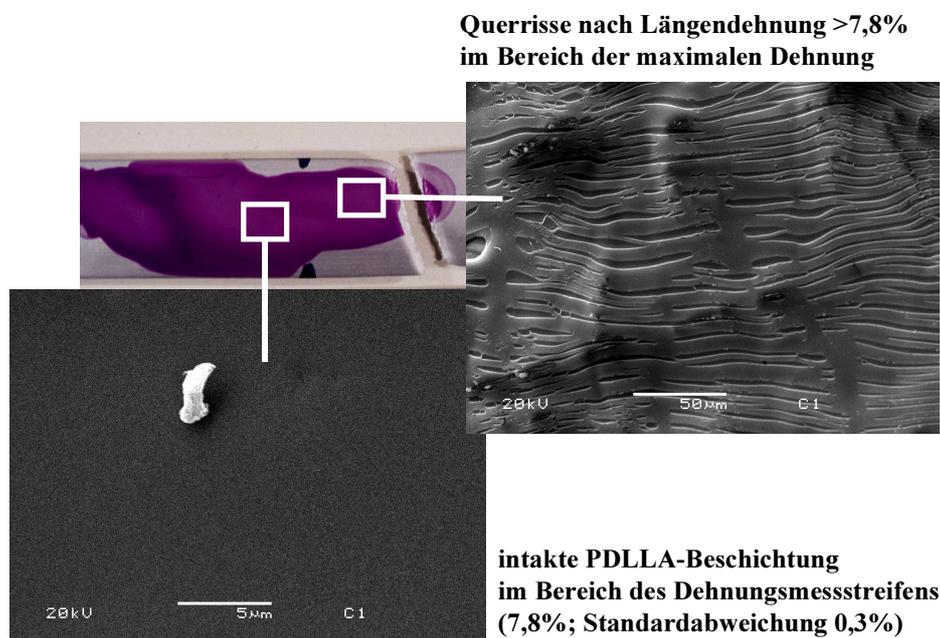


Abbildung 11: Querrisse in der Polylaktid-Beschichtung im Bereich der Abrisszone (oben rechts), unbeschädigte Beschichtung im Bereich der Dehnungsmessstreifen (unten links)

3.2 PDLLA als antiinfektive Oberfläche für orthopädische Implantate

3.2.1 Masse der aufgetragenen Beschichtung

Um Anhaltspunkte über die Menge des aufgetragenen Poly-D,L-Laktids zu gewinnen und dadurch Rückschlüsse auf die Menge eingearbeiteter Wirkstoffe treffen zu können, wurden 24 Kirschner-Drähte der Stärke 1,5mm nach dem Standardverfahren beschichtet (133mg PDLLA pro Milliliter Ethylacetat) und die Beschichtungsmenge mittels Präzisionswaage bestimmt.

K-Draht-Durchmesser [mm]	1,0	1,2	1,4	1,5	1,6	1,8	2,0
Beschichtung [mg/cm Drahtlänge]	0,29	0,35	0,40	0,43	0,46	0,52	0,58
Wirkstoffmenge [µg/cm] bei 5%-iger Konzentration	14,5	17,3	20,2	21,7	23,1	26,0	28,9

Tabelle 10: Durchschnittliche Beschichtungs- und Wirkstoffmenge auf Kirschner-Drähten

Auf Kirschner-Drähte aus rostfreiem Stahl mit Durchmesser 1,5mm bringt man mittels Standardkaltbeschichtungstechnologie durchschnittlich 0,92mg Poly-D,L-Laktid pro Quadratzentimeter Drahtoberfläche auf (Standardabweichung 0,32mg / cm²). In Tabelle 10 sind in Abhängigkeit vom Durchmesser des Implantates die entsprechenden Beschichtungs- sowie Wirkstoffmengen angegeben.

3.2.2 Antibiotikaelution aus der Poly-D,L-Laktidbeschichtung

Um das Freisetzungverhalten verschiedener Antibiotika aus dem Arzneistoffträger Resomer® R203 zu dokumentieren, wurden *in vitro* Elutionsversuche durchgeführt. Als Antibiotika wurden Gentamicin und Teicoplanin in die Beschichtung eingearbeitet.

Bei den Versuchsgruppen I (Gentamicin 5%) und II (Teicoplanin 5%) kann eine kontinuierliche Antibiotikafreisetzung während der gesamten Versuchsdauer (96 Stunden) nachgewiesen werden (vgl. Tabelle 11). Nach einem anfänglichen Peak in den ersten 10 Minuten erfolgt eine langsame und kontinuierliche Wirkstofffreisetzung. Gentamicin wird zu Beginn schneller freigesetzt, Teicoplanin zeigt einen vergleichsweise geringeren Peak. Nach etwa 6 Stunden verläuft die Freisetzungskurve beider Antibiotika nahezu parallel.

Gentamicin wird bereits in den ersten Minuten sehr schnell freigesetzt, so dass nach 10 Minuten bereits 27,2% eluiert vorliegen. Die Freisetzungskurve flacht dann sehr schnell ab, in den nächsten 96 Stunden gehen nur noch weitere 9,9% in Lösung.

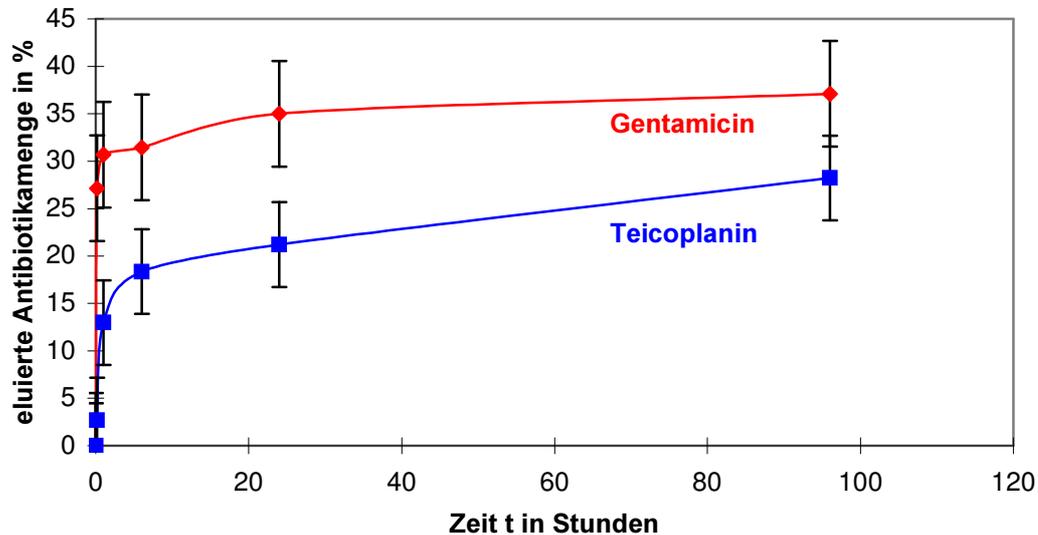


Abbildung 12: Elution von Gentamicin und Teicoplanin aus Poly-D,L-Laktid in Prozent der eingewogenen Menge

Teicoplanin wird deutlich verzögerter freigesetzt als Gentamicin. So sind nach einer Stunde erst 13,0% der eingearbeiteten Antibiotikamenge in Lösung. Der anfänglichen Peak dauert etwa bis 6 Stunden an bevor das verbliebene Teicoplanin nur noch langsam und kontinuierlich an die Elutionslösung abgegeben wird.

Antibiotikum	0 Minuten	10 Minuten	1 Stunde	6 Stunden	24 Stunden	96 Stunden
Gentamicin [%]	0,0±0,0	27,2±9,7	30,7±11,9	31,4±10,5	35,0±12,1	37,1±14,2
Teicoplanin [%]	0,0±0,0	2,7±0,9	13,0±7,2	18,4±9,7	21,2±12,0	28,2±13,3

Tabelle 11: Elution der Antibiotika aus Poly-D,L-Laktid in Prozent der eingewogenen Menge

Die Antibiotikakonzentrationen der Kontrollgruppen III und IV bleiben über die gesamte Versuchsdauer konstant. Die Stabilität von Gentamicin und Teicoplanin in PBS-Puffer konnte für mindestens 4 Tage nachgewiesen werden.

3.2.3 Mikrobiologische Untersuchung der PDLLA-Beschichtung

In einem Wachstumsmodell sollte quantitativ die bakterielle Adhäsion und Wachstumsfähigkeit an Stahl- und Titanimplantaten einerseits und an Polylaktid-Antibiotika-modifizierten Oberflächen andererseits verglichen werden.

Als Implantate dienten jeweils 10 handelsübliche Kirschner Drähte aus Stahl und Titan (n=10). Die Werte sind in KBE (Kolonie-bildende Einheiten) je Nährboden angegeben (vgl. Tabelle 12), welche die Anzahl der wachstumsfähigen Keime auf den Implantaten direkt proportional widerspiegeln. Die komplette Ablösung der anhaftenden Keime durch die Ultraschallbehandlung konnte rasterelektronenmikroskopisch bestätigt werden (vgl. Abbildung 13).

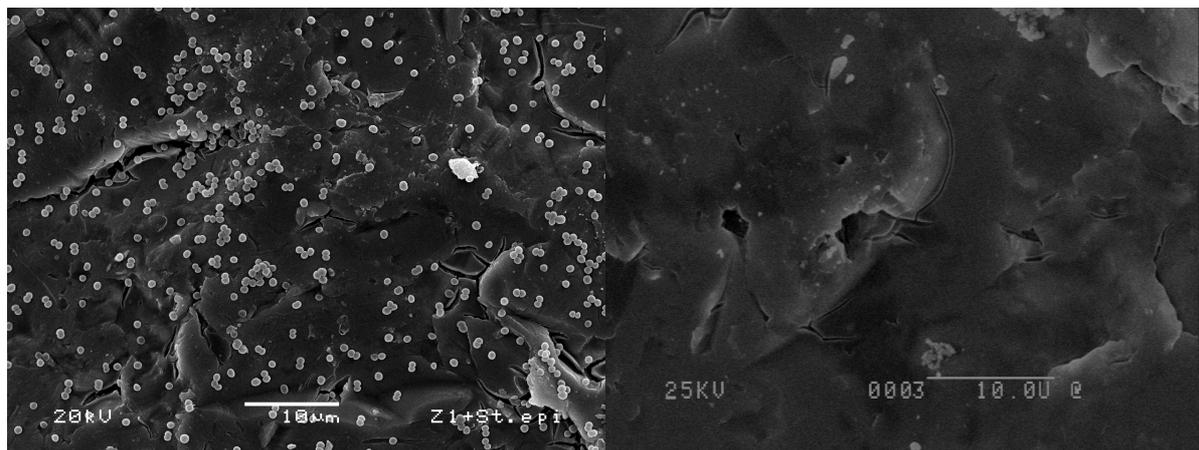


Abbildung 13: Komplett Ablösung anhaftender Staphylokokken durch 15-minütige Ultraschallbehandlung (Implantat links nach Inkubation, rechts nach Ultraschallbehandlung)

Kirschner-Draht	Stahl [KBE]	Titan [KBE]
Unbeschichtet	146,5±122,2	139,2±50,6
PDLLA	50,0±39,3	16±14,4
PDLLA + Gentamicin (5%)	5,0±6,8	3,2±6,3
PDLLA + Teicoplanin (5%)	16,6±10,1	9,8±9,7
PDLLA + Gentamicin (1,67%) + Teicoplanin (3,33%)	5,1±7,4	3,0±4,2

Tabelle 12: Wachstum von Staph. epidermidis nach Adhäsion an Kirschner-Drähten (in KBE)

Es zeigte sich bei sämtlichen Proben mit Poly-D,L-Laktid-Beschichtungen ein deutlich vermindertes Keimwachstum gegenüber den unbeschichteten Kirschner-Drähten. Die Zahl der vermehrungsfähigen Staphylokokken beträgt bereits bei einer reinen Poly-D,L-Laktid-Oberflächenbeschichtung nur etwa 15-30% verglichen mit unbeschichteten Implantaten. Die dabei auftretende Keimreduktion ist hochsignifikant ($p < 0,0001$; Kruskal Wallis Test und Mann-Whitney-Test; Marcus 1976). Durch eine Kombination von Poly-D,L-Laktid mit Antibiotika wie Gentamicin und/oder Teicoplanin wird ein Bakterienwachstum nach Kontakt mit dem Implantat fast komplett unterbunden. Antibiotika führen gegenüber der

reinen Milchsäurebeschichtung zu einer weiteren hochsignifikanten Reduktion anhaftender wachstumsfähiger Keime ($p < 0,0001$; Kruskal Wallis Test und Mann-Whitney-Test). Die Unterschiede zwischen den Antibiotika-PDLLA-Kombinationen sind nicht signifikant ($p > 0,05$, Mann-Whitney-Test).

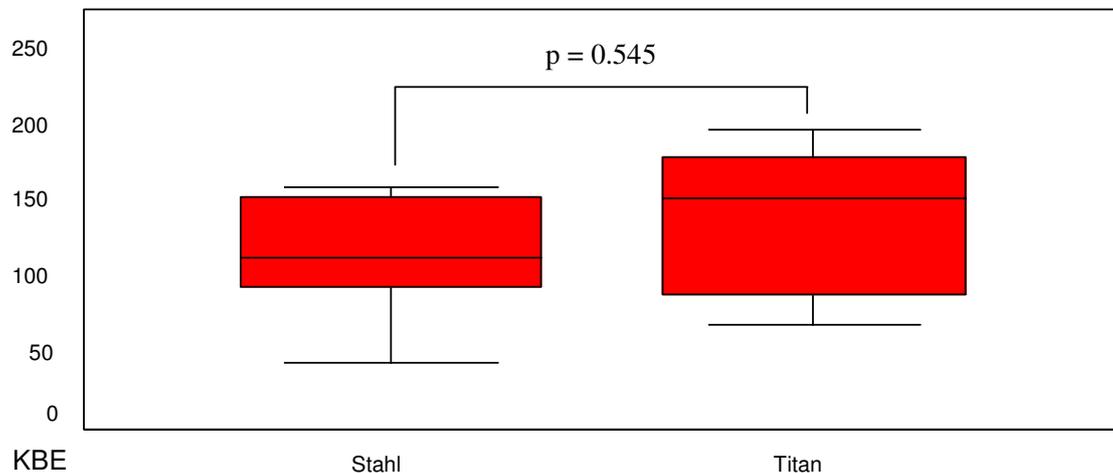


Abbildung 14: Adhäsion vermehrungsfähiger *Staph. epidermidis* an rostfreiem Stahl und $TiAl_6V_4$

Ein signifikanter Unterschied zwischen Titan und Stahl ist in Bezug auf die Anzahl anhaftender wachstumsfähiger Bakterien nicht festzustellen ($p = 0,545$).

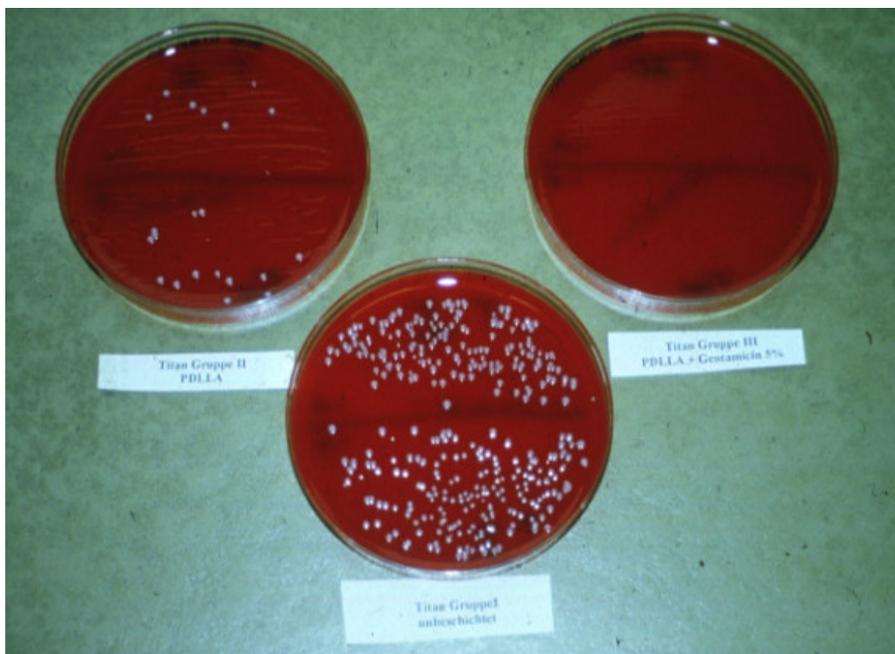


Abbildung 15: KBE nach Inkubation mit unbeschichteten und beschichteten Kirschner-Drähten: unbeschichtet (unten), nach Poly-D,L-Laktid-Beschichtung (oben links) und Poly-D,L-Laktid-Gentamicin-Kombination (oben rechts)

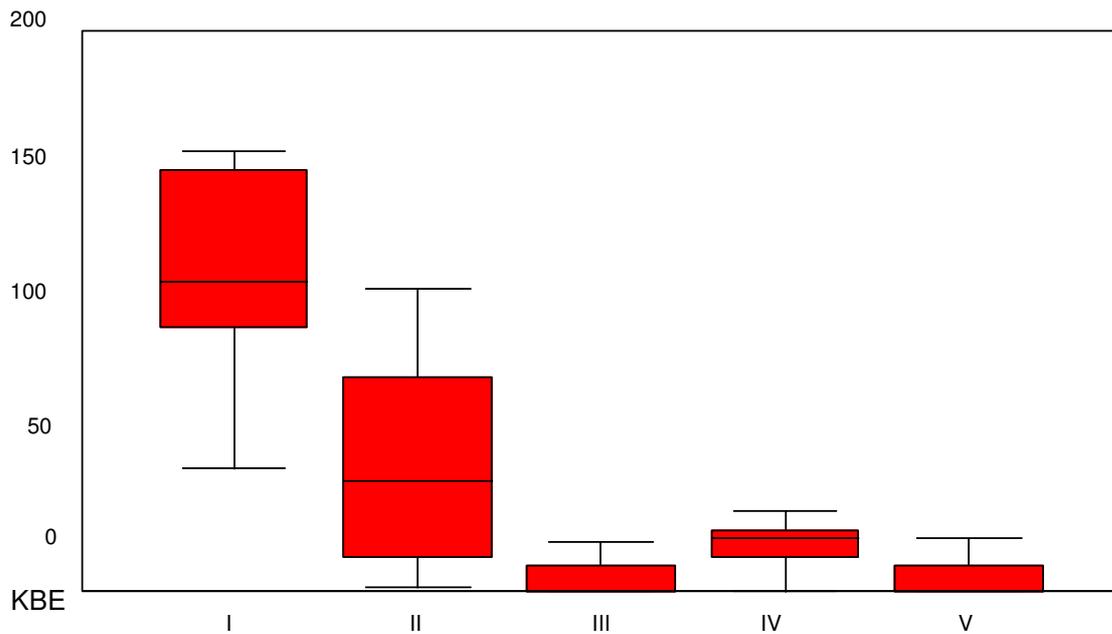


Abbildung 16: Adhäsion vermehrungsfähiger Staph. epidermidis an rostfreiem Stahl und PDLLA-Antibiotika-modifizierten Oberflächen

- Gruppe I:** unbeschichtete Kirschner-Drähte
- Gruppe II:** Poly-D,L-Laktid als Oberflächenbeschichtung
- Gruppe III:** Poly-D,L-Laktid + Gentamicin 5%
- Gruppe IV:** Poly-D,L-Laktid + Teicoplanin 5%
- Gruppe V:** Poly-D,L-Laktid + Gentamicin 1,67% + Teicoplanin 3,33%

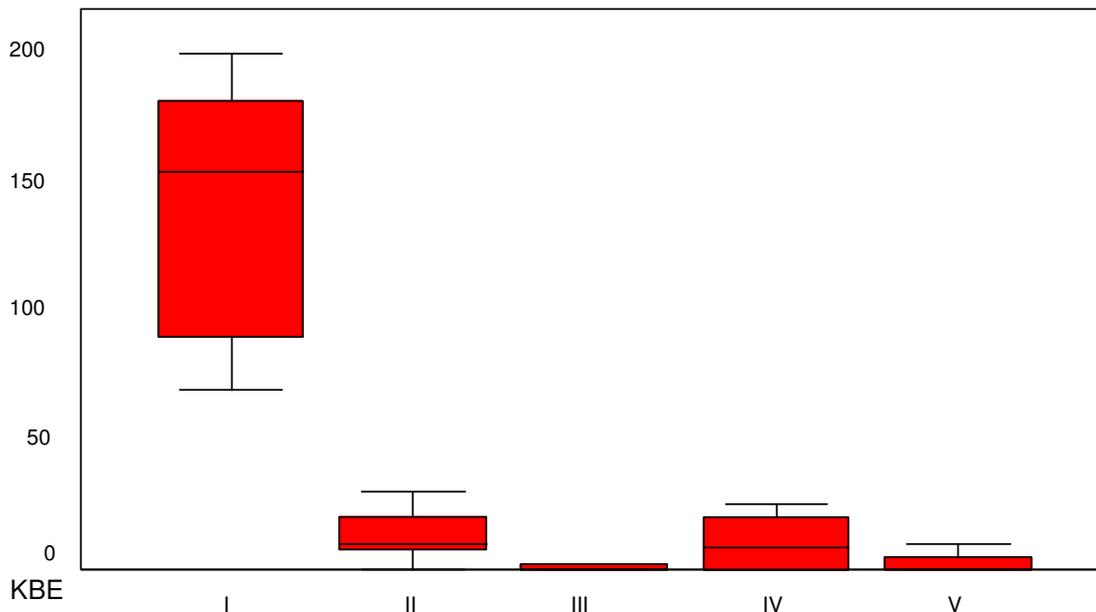


Abbildung 17: Adhäsion vermehrungsfähiger Staph. epidermidis an TiAl₆V₄ und PDLLA-Antibiotika-modifizierten Oberflächen

3.3 PDLLA als antithrombogene Oberfläche für Neonatologie und Kardiologie

3.3.1 Stabilität verschiedener Katheter in organischen Lösungsmitteln

Vor dem Beschichten der Neugeborenenkatheter musste ein Lösungsmittel gefunden werden, welches die Oberfläche der aus verschiedenen Kunststoffen bestehenden Katheter nicht verändert. Die Stabilität verschiedener zentralvenöser Neugeborenenkatheter wurde in organischen Lösungsmitteln geprüft

Das bei dieser Kaltbeschichtungstechnologie häufig verwendete Chloroform führte bei fast allen getesteten Kathetern zu einer kompletten Zerstörung der Oberflächenstruktur und Auflösung der Kunststoffe. Lediglich der aus Silikon bestehende Epicutaneo-Cava-Katheter bleibt nach 24 Stunden im Chloroformbad makroskopisch und mikroskopisch unverändert (vgl. Tabelle 13).

Katheter	Material	Chloroform			Ethylacetat		
		5min	3h	24h	5min	3h	24h
1, medexmedical 27G ZV Einlumen-Katheter	Polyurethan	--	--	--	++	++	++
2, medexmedical 2F ZV Einlumen-Katheter	Polyurethan	--	--	--	++	++	++
3, Sherwood Medical, Nabelgefäßkatheter	Polyurethan	-	-	--	++	++	++
4, Vygon, Epicutaneo-Cava-Katheter	Silikon	++	++	++	++	++	++
5, medexmedical Venenkatheter-Set 16ga	Polyurethan	--	--	--	++	++	++

Tabelle 13: Stabilität zentralvenöser Neugeborenenkatheter in organischen Lösungsmitteln
(-- Kunststoff aufgelöst; - deformiert; + makroskopisch stabil; ++ makro- und mikroskopisch stabil)

Ethylacetat verändert selbst nach 24-stündigem Kontakt bei keinem der getesteten Katheter die Oberflächenmorphologie. Somit scheint Ethylacetat für die weiterführenden Versuche geeignet, zumal beim normalen Beschichtungsvorgang nur ein sehr kurzer Kontakt von wenigen Sekunden zwischen Probe und Lösungsmittel besteht.

3.3.2 Die modifizierte Beschichtungstechnologie für zentralvenöse Katheter

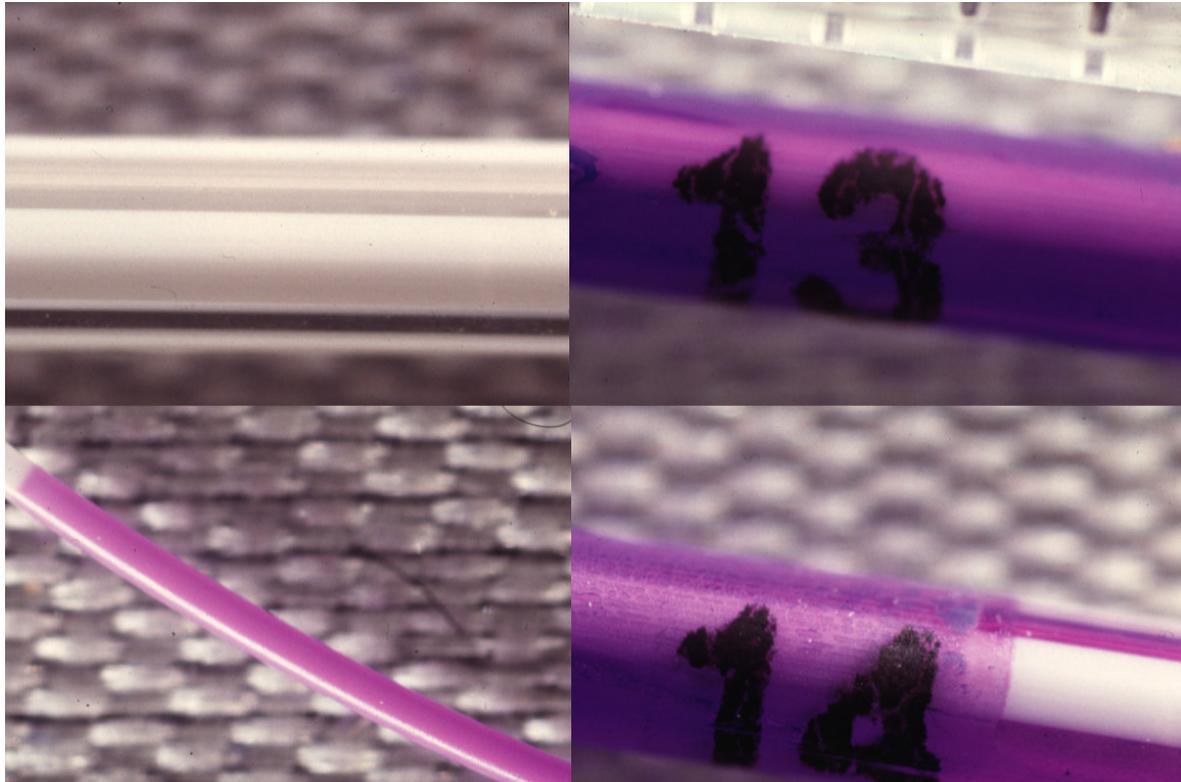


Abbildung 18: Unbeschichteter (links oben) und Poly-D,L-Laktid beschichtete zentralvenöse Neugeborenenkatheter (Lösungsmittel Ethylacetat)

Um zentralvenöse Katheter aus der Neonatologie mit einer gleichmäßigen Poly-D,L-Laktid-Oberfläche versehen zu können, musste die von Schmidmaier 1999 beschriebene Beschichtungstechnologie modifiziert werden. Ein Problem stellt dabei der geringe Innendurchmesser der Katheterlumina dar. Legt man Katheter in die Beschichtungslösung, so füllt sich das Lumen nicht mit Flüssigkeit. Um dieses Problem zu überwinden, kann man sich die Kapillarkräfte des geringen Katheterlumens zunutze machen. Nach Entfernung des Führungsdrahtes taucht man den Neugeborenenkatheter bei geöffnetem Katheteransatz senkrecht in die Beschichtungslösung ein. Dabei steigt die Flüssigkeit innerhalb des Lumens durch kapilläre Kräfte sogar über den externen Flüssigkeitsspiegel. Um ein Verstopfen des Lumens durch die trocknende Beschichtungslösung zu vermeiden, wird eine mit Luft gefüllte Spritze auf das proximale Katheterende aufgesetzt und das Lumen mehrmals gefühlvoll „durchgeblasen“. Dabei wird das Poly-D,L-laktid gleichmäßig

auf der inneren Katheteroberfläche verteilt (vgl. Abbildung 18) und zugleich die Durchgängigkeit des Lumens garantiert. Nach vollständigem Trocknen ist die Beschichtung stabil und der zunächst entfernte Führungsdraht kann wieder in das Katheterlumen eingebracht werden.

3.3.3 Katheter im humanen Staseversuch

Mit dem Stasemodell (modifiziert nach Schmidmaier 1999, S.33) sollte die Thrombogenität der unbeschichteten und beschichteten Katheter im Humanblut untersucht werden. Dabei wurde der Einfluss der verschiedenen Oberflächen und Oberflächenmodifikationen auf die Thrombozytenfunktion des Humanblutes mittels APACK (Automated Platelet Aggregation Coagulation Tracer) bestimmt. Das Messprinzip beruht auf der quantitativen Messung der durch Kollagen induzierten Thrombozytenaggregation und beruht auf der turbodimerischen Bestimmung von Zellsuspensionen (Born 1962, S.67f.). Damit gelingt auch der Nachweis sowie die Quantifizierung von Plättchenaggregationshemmern wie Iloprost.

Plättchenreiches Plasma (*platelet rich plasma* – PRP) besitzt eine geringe Durchlässigkeit für langwelliges Licht, wohingegen plättchenarmes Plasma (*platelet poor plasma* – PPP) langwelliges Licht nahezu nicht absorbiert. Der APACK misst die prozentuale Lichtdurchlässigkeit des Plasmas vor und nach Aggregation (ausgelöst durch einen Induktor, z.B. Kollagen). In einer Zeit-/ Transmissions-Kurve wird durch einen angeschlossenen Computer die optische Dichte des Plasmas als physikalisches Korrelat der Thrombozytenaggregation dargestellt.

Katheter	Max. Aggregation [%]	Max. Gradient [%]
0 (Nullwert des Systems)	91,8±6,3	91,4±22,5
I (unbeschichtet)	93,2±4,8	102,3±48,6
II (PDLLA)	90,1±3,4	93,9±35,9
III (PDLLA + Iloprost 5%)	3,5±2,4	nicht messbar
IV (PDLLA + PEG-Hirudin 5%)	79,1±27,9	50,5±27,0
V (PDLLA + Iloprost 1% + PEG-Hirudin 5%)	8,1±3,7	13,2±7,5

Tabelle 14: Thrombozytenfunktion nach Kontakt beschichteter Katheter im Stasemodell

Im humanen Stasemodell wurde die maximale Aggregation und der maximale Aggregationsgradient als Maß für die Thrombozytenfunktion bestimmt.

Sämtliche Laborparameter der Probanden befanden sich im Normbereich (kleines Blutbild, aPTT, TPZ, Fibrinogen).

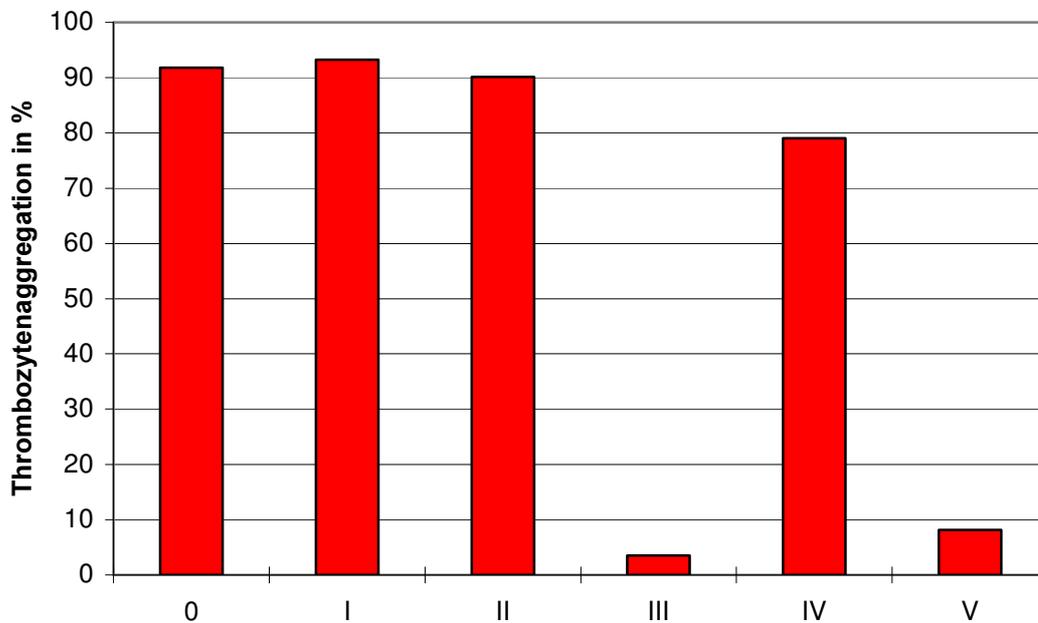


Abbildung 19: Maximale Thrombozytenaggregation nach Kontakt beschichteter Katheter im Staseversuch

- 0** Nullwert des Systems
- I** unbeschichtete Katheter
- II** Poly-D,L-Laktid-beschichtete Katheter
- III** Poly-D,L-Laktid + Iloprost 5%
- IV** Poly-D,L-Laktid + PEG-Hirudin 5%
- V** Poly-D,L-Laktid + Iloprost 1% + PEG-Hirudin 5%

Es zeigte sich bei den Iloprost enthaltenden Proben eine fast vollständige Aufhebung der Aggregationsfähigkeit von Thrombozyten nach Blutkontakt. Die maximale Thrombozytenaggregation wird auf unter 10% reduziert. Der maximale Gradient ist messtechnisch bei den meisten Proben nicht mehr bestimmbar. Diese deutliche Thrombozytenhemmung spricht für eine Freisetzung wirksamer Mengen von Iloprost aus der Beschichtung. Poly-D,L-Laktid als reine Oberflächenbeschichtung zeigt keinerlei Einfluss auf die Thrombozytenfunktion (vgl. Tabelle 14). Die Reduktion der Thrombozytenaggregation durch PEG-Hirudin ist deutlich geringer als bei den Iloprost-haltigen Proben.

Der maximale Gradient der Thrombozytenaggregation wird durch Iloprost ebenfalls deutlich reduziert und ist in den Proben der Gruppe III (Poly-D,L-Laktid + Iloprost 5%) nicht messbar.

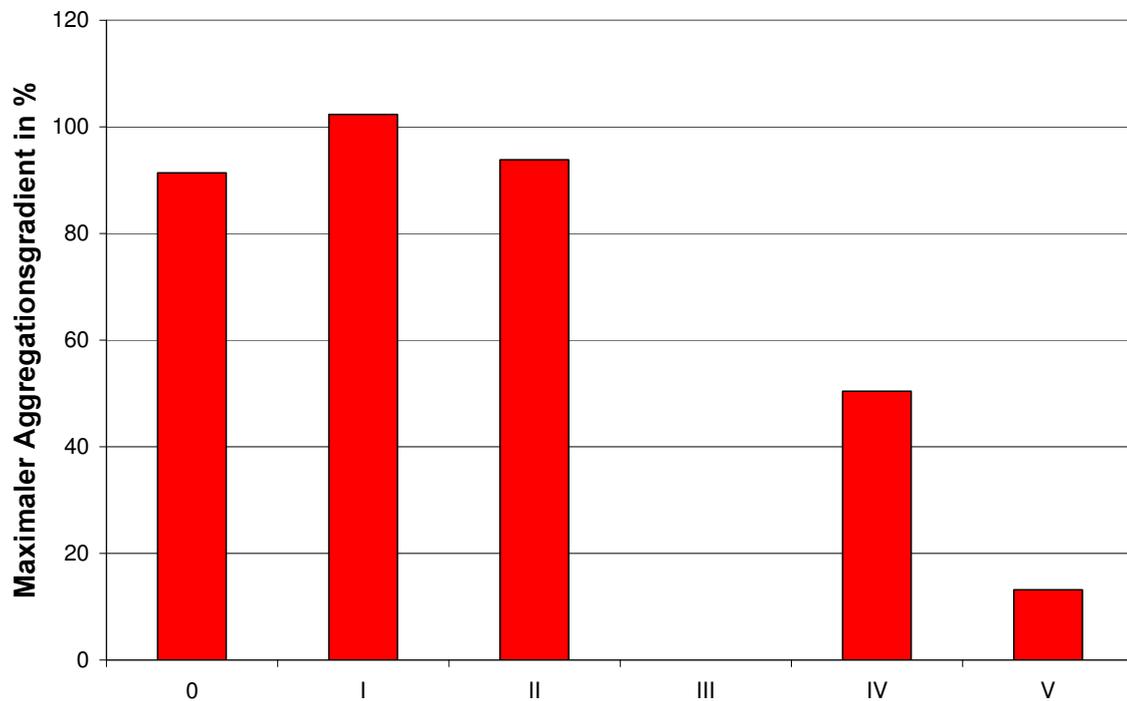


Abbildung 20: Maximaler Aggregationsgradient nach Kontakt beschichteter Katheter im Stasemodell

- 0** Nullwert des Systems
- I** unbeschichtete Katheter
- II** Poly-D,L-Laktid-beschichtete Katheter
- III** Poly-D,L-Laktid + Iloprost 5%
- IV** Poly-D,L-Laktid + PEG-Hirudin 5%
- V** Poly-D,L-Laktid + Iloprost 1% + PEG-Hirudin 5%

Da es sich hierbei um Stichproben handelt (n = 4) sind keine Signifikanzniveaus angegeben.

4 Diskussion

Zahlreiche vom Körper abbaubare Polymere werden derzeit in der Medizin eingesetzt und neue Polymere in der medizinischen und biologischen Forschung erprobt. Das in dieser Arbeit untersuchte Poly-D,L-Laktid (PDLA) gehört zur Familie der Milchsäurepolymere, die heute in verschiedensten Gebieten der Medizin Anwendung finden. So dienen gewobene Poly-D,L-Laktid-Fasern beispielsweise als Gerüst zum Aufbau von Gewebe im Rahmen des tissue engineering, wie zur Regeneration von Knorpel (Gugula Z. 2000, S.187), Knochen und peripheren Nerven (Giardino 1999, S.305f.). Außerdem wird Polylaktid zur verzögerten DNS-Freisetzung (Shea 1999, S.551ff) eingesetzt, ebenso wie injizierbare Mikrosphären zur verzögerten Wirkstofffreisetzung (Luo 1999, S.1302f.) oder zur prolongierten Präsentation von Antigenen bei Vakzinierung (Venkataprasad 1999, S.1816). Weitere Anwendungsgebiete sind bioresorbierbare Osteosynthesematerialien in der Orthopädie (Athanasίου 1998, S.726) und Nahtanker für Bänder und Sehnen (Stahelin 1997, S.238). Die größte Verbreitung haben diese Polymere nach wie vor als bioresorbierbares Nahtmaterial, meist in Kombination mit Polyglykolsäure.

In der vorliegenden Arbeit war es Aufgabe, die mechanischen Eigenschaften und somit die Beschichtungsstabilität des Polymers auf verschiedenen in der Klinik eingesetzten Implantaten zu untersuchen. Weiter sollten die antiinfektiven und antithrombogenen Eigenschaften verschiedener Beschichtungen getestet werden.

4.1 Mechanische Eigenschaften der Oberflächenbeschichtung

4.1.1 Einfluss von Trägermaterial und dessen Konzentration auf die Stabilität der Beschichtung

Untersuchungen zum Einfluss des Trägermaterials respektive dessen Konzentration auf die mechanischen Eigenschaften ergaben, dass die auf das Implantat aufgebrachte Beschichtungsmenge durch die im organischen Lösungsmittel gelöste Polymerkonzentration gesteuert werden kann. Die Beschichtungsmenge steigt mit zunehmender Polymerkonzentration, jedoch stehen beide Parameter nicht in direkt proportionalem Verhältnis zueinander. Kombiniert man das Poly-D,L-Laktid (Resomer® R203®) mit dem schon in geringer Konzentration deutlich visköser erscheinendem

Resomer® LT706, so wirkt sich das zusätzlich eingearbeitete Polymer erst ab einer Massenkonzentration von 5% positiv auf die Beschichtungsstabilität aus. Die Elastizität der Beschichtung lässt sich mittels LT706 im Bedarfsfall verbessern. Da aber für die hier vorgestellten Anwendungen mit dem niedermolekularen Poly-D,L-Laktid alleine bereits eine stabile und elastische Beschichtung erzielt werden kann, wurde in den folgenden Versuchen auf einen Einsatz des Resomers® LT706 verzichtet.

4.1.2 Einfluss des Lösungsmittels auf die Stabilität der Oberflächenbeschichtung

Die eingesetzten Polymere können in flüchtigen organischen Lösungsmitteln gelöst werden. Dabei sind die auffälligsten Unterschiede zwischen Chloroform und Ethylacetat v.a. makroskopisch sichtbare Unterschiede hinsichtlich einer flächendeckenden Oberflächenbeschichtung. So zeigen via Ethylacetat hergestellte Beschichtungen eine gleichmäßig dünne und flächendeckende Oberfläche, während Chloroform zu ungleichmäßigeren Oberflächen mit Beschichtungsdefekten und „Beschichtungsklumpen“ führt. Vergleichbare Ergebnisse zeigten die mit Poly-D,L-Laktid beschichteten Tumorendoprothesenmodule (vgl. Abbildung 8 und Abbildung 22). Dieses Phänomen könnte mit dem niedrigeren Siedepunkt von Chloroform erklärt werden. Im Vergleich zu Ethylacetat werden Implantate inhomogen beschichtet, erklärbar durch Tropfenbildung beim Trockenvorgang durch ein schnelleres Verdampfen des Lösungsmittels. Eine Folge davon sind die beschriebenen Beschichtungslücken.

Generell ist bei Verwendung von Chloroform mit signifikant höheren Beschichtungsmengen auf den Implantaten zu rechnen, wobei gleichzeitig die qualitativen Unterschiede zu beachten sind. Nach Dehnung zeigen die mittels Ethylacetat beschichteten Oberflächen signifikant stabilere Eigenschaften als Beschichtungen, die mittels Chloroform aufgetragen wurden. Beeindruckend ist dieser Beschichtungsverlust am Modell „Ballondilatation beschichteter Koronarstents“ aufgezeigt, mit 2% bei Ethylacetat verglichen mit 39% bei Chloroform.

Für Anwendungen, bei welchen eine flächendeckende Beschichtung erforderlich ist, wie bei antithrombogenen Beschichtungen zum Schutz vor Kontaktaktivierung der Blutgerinnung, empfiehlt sich somit Ethylacetat als Lösungsmittel. Benötigt man lediglich ein bioresorbierbares Depot eines Arzneistoffträgers, so können mittels Chloroform

größere Beschichtungs- und somit auch Wirkstoffmengen auf das Implantat aufgebracht werden.

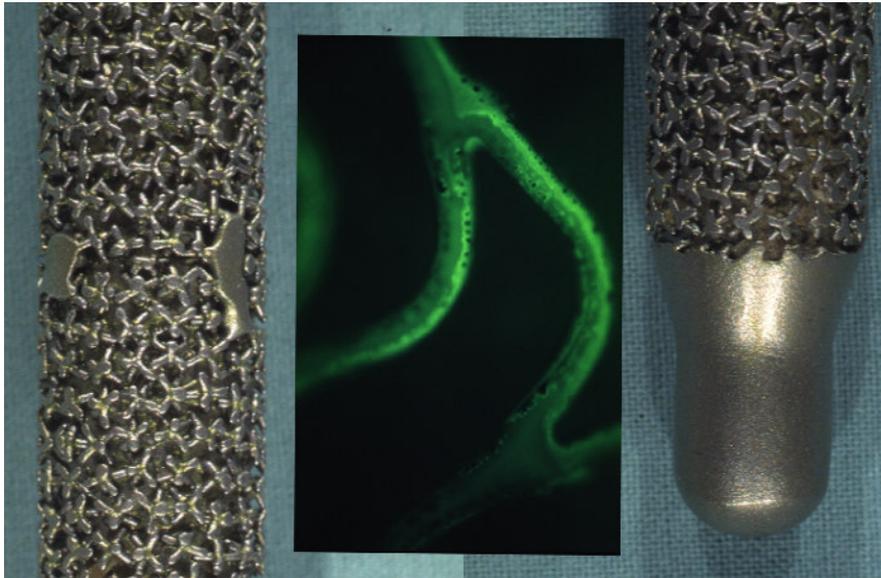


Abbildung 21: Beschichtete Tumorprothese nach Explantation (außen) und Koronarstent nach Dilatation (Mitte); Lösungsmittel Ethylacetat



Abbildung 22: Poly-D,L-Laktid-Beschichtung auf Tumorprothese mit interkonnektierender Oberfläche, Lösungsmittel Chloroform

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist die unterschiedliche Toxizität der beiden anorganischen Lösungsmittel. In weiterführenden Versuchen konnten mittels rasterelektronenmikroskopischer EDX-Analyse selbst nach einjähriger Probenlagerung im Exsikkator noch deutliche Restmengen des Elements Chlor in der Beschichtung nachgewiesen werden (bisher unveröffentlichte eigene Ergebnisse). Dies spricht für Chloroformreste in via

Chloroform hergestellten Oberflächen. Für Ethylacetat lässt sich in der EDX-Analyse kein spezifisches Element nachweisen. Ethylacetat weist aber von Natur aus eine deutlich geringere Toxizität auf und darf in höheren Konzentrationen in den Körper verbracht werden. Nach Möglichkeit sollte deshalb Ethylacetat der Vorzug gegeben werden.

4.1.3 Beschichtungsstabilität nach intramedullärer Implantation

In kliniknahen Modellen wurde die Stabilität der Oberflächenbeschichtung auf intramedullären Kraftträgern untersucht. Während der Implantation von Kirschner-Drähten in Rattentibiae bzw. von Tumorendoprothesen in humane Leichenfemora konnte die Stabilität belegt werden. Die Beschichtung blieb zu durchschnittlich 96% auf den unterschiedlichen metallischen Proben gebunden. Weiter konnten bei Verwendung handelsüblicher Legierungen wie Kobalt-Chrom-Molybdän, V2A-Stahl und Titan-Aluminium-Vanadium keine signifikanten Unterschiede beobachtet werden. Der Beschichtungsabrieb wurde nicht konzentriert an der Öffnung des Bohrloches nachgewiesen, sondern verteilte sich gleichmäßig über das gesamte Implantatlager. Gerade die Implantationsversuche beschichteter Endoprothesen in humane Femora sind am klinischen Einsatz orientiert, die Ergebnisse können somit durchaus auf die Klinik übertragen werden. Größte Bedeutung haben diese Ergebnisse für in die Oberfläche eingearbeitete Wirkstoffe, die wegen des geringen Beschichtungsabriebs an der Grenzzone zwischen Biomaterial und Gewebe wirksam werden. Durch die gleichmäßige Verteilung des Beschichtungsabriebs werden eingebrachte Arzneimittel zu fast 100% im Implantatlager verfügbar.

4.1.4 Beschichtungsstabilität bei Längendehnung einer speziellen Aluminiumlegierung

Mittels Licht- und Rasterelektronenmikroskopie wurde die Beschichtung auf Oberflächenveränderungen nach Längendehnung geprüft. Im Bereich des Dehnungsmessstreifens waren bei Bruchdehnung Längenveränderungen von durchschnittlich 7,8% zu messen. Die Beschichtung zeigte sich dort anhand rasterelektronenmikroskopischer Aufnahmen unverändert. Lediglich im Abrissbereich der Metallplatten, wo auch die Beschichtung bis zum Versagen gedehnt wurde und somit Längenveränderungen von deutlich über 7,8% auftraten, waren nur rasterelektronenmikroskopisch regelmäßige Risse quer zur Dehnungsrichtung nachweisbar. Die Poly-D,L-

Laktid-Beschichtung blieb trotz Rissbildung stabil auf den Aluminiumplatten gebunden. In die Beschichtung eingearbeitete Arzneistoffe bleiben somit selbst bei Dehnungen über 7,8% vollständig auf dem Implantat und können vor Ort die ihnen zugeordnete Wirkung entfalten. Implantatdehnungen über 8% sind bei der Verwendung metallischer Implantate im täglichen Einsatz in Orthopädie und Unfallchirurgie nicht zu erwarten.

4.2 Antiinfektive Eigenschaften

Die Infektionsgefährdung implantierter Biomaterialien wurde bereits in der Einleitung ausführlich abgehandelt. Die Sanierung des Infektlagers und Therapie einer manifesten Weichteil- bzw. Knocheninfektion stellt für Arzt und Patient eine große Herausforderung dar und bedeutet meist eine enorme körperliche und seelische Belastung für den Betroffenen. Eine wirksame Prophylaxe der bakteriellen Besiedelung könnte durch eine antiinfektive Oberflächenbeschichtung erreicht werden. In der vorliegenden Arbeit sollte eine antiinfektive Oberflächenbeschichtung für medizinische Implantate auf Basis einer Poly-D,L-Laktid-Antibiotika-Kombination getestet werden.

4.2.1 Ermittlung der aufgetragenen Beschichtungs- und Arzneistoffmenge

In die Oberflächenbeschichtung homogen eingearbeitete Wirkstoffe werden nach Heller kontinuierlich freigesetzt, die Elution der Arzneimittel aus Poly-D,L-Laktid erfolgt hauptsächlich durch Diffusion (Heller 1996, S.353). Die auf die Implantate aufgetragene und somit auch die freizusetzende Wirkstoffmenge ist von der Beschichtungsdicke und der Implantatoberfläche abhängig. Exemplarisch wurden in dieser Arbeit die Beschichtungs- und Wirkstoffmengen anhand des Modells beschichteter Kirschner-Drähte bestimmt. In weiterführenden Versuchen müssen nun die optimalen lokalen Arzneistoffkonzentrationen ermittelt werden um ideale Implantat-Polylaktid-Antibiotika-Kombinationen herstellen zu können. Die lokal verfügbare Wirkstoffkonzentration für die optimale Wirksamkeit eines Antibiotikums ist vom Gewebe, der Durchblutung und dem Erregertyp abhängig. So benötigt man in gut perfundierten Geweben höhere Wirkstoffkonzentrationen, um den Abtransport der Arzneimittel durch die Blutzirkulation auszugleichen. Des Weiteren sollte die Toxizität des eingearbeiteten Arzneistoffes beachtet werden, um systemisch toxische Dosierungen zu vermeiden. Die Gefahr von Nebenwirkungen oder einer systemischen

Überdosierung wird durch das hier vorgestellten „Drug-delivery-systems“ gegenüber einer systemischen Anwendung deutlich reduziert.

4.2.2 Antibiotikaelution aus der Poly-D,L-Laktidbeschichtung

Poly-D,L-Laktid als lokaler Arzneistoffträger wird vornehmlich durch „bulk degradation“ abgebaut und eingearbeitete Wirkstoffe werden daraus hauptsächlich durch Diffusion freigesetzt. In den durchgeführten Versuchen zeigt sich bei den Antibiotika Gentamicin und Teicoplanin eine ausgeprägte Freisetzungsspitze innerhalb der ersten Stunde. Dieser Peak entsteht durch oberflächlich lokalisierte Arzneistoffpartikel, welche nicht durch den Arzneistoffträger diffundieren müssen sondern direkt aus der Beschichtungsoberfläche ausgewaschen werden. Dies ermöglicht bereits kurz nach Implantation einen lokal wirksamen Antibiotikaspiegel in der unmittelbaren Umgebung des Implantates. Hierdurch können Antibiotika von Beginn an einer bakteriellen Besiedelung entgegenwirken. Gerade perioperativ ist das Immunsystem des Organismus geschwächt und kann durch Antibiotikagaben wirksam unterstützt werden. Mit den Implantaten eingebrachte Bakterien können sich nicht auf der Oberfläche absiedeln, durch die antibiotikahaltige Beschichtung wird die Schleim- und Biofilmbildung verhindert. Insbesondere der initiale Freisetzungsspeak der lokalen Antibiotikatherapie hat in der frühen Phase nach Implantation der Biomaterialien große Bedeutung.

Sind die Antibiotikapartikel schließlich von der Beschichtungsoberfläche ausgewaschen, erfolgt die weitere Wirkstofffreisetzung durch Diffusion aus tieferen Polymerschichten. Die Elutionskurve flacht dabei deutlich ab und es ist eine kontinuierliche Wirkstofffreisetzung über die gesamte Versuchsdauer von 96 Stunden zu beobachten. Abhängig von der Geometrie wird bei ovalen bzw. runden Implantaten die Oberfläche mit zunehmendem Durchmesser vergrößert, d.h. tiefere Schichten besitzen ein geringeres Volumen als oberflächliche Schichten gleicher Dicke. Dies wirkt sich folglich auch auf die enthaltene Wirkstoffmenge und deren Freisetzung aus. Mit zunehmender Freisetzungsdauer werden die Wirkstoffe aus tieferen Schichten freigesetzt, die Freisetzungskurve flacht ab (vgl. Abbildung 23).

Die vorgestellte Poly-D,L-Laktid-Beschichtung besitzt eine Dicke von durchschnittlich 100µm (Schmidmaier 1999, nicht veröffentlicht). Die Beschichtungsdicke spielt daher bei der Pharmakokinetik eingearbeiteter Wirkstoffe lediglich eine untergeordnete Rolle.

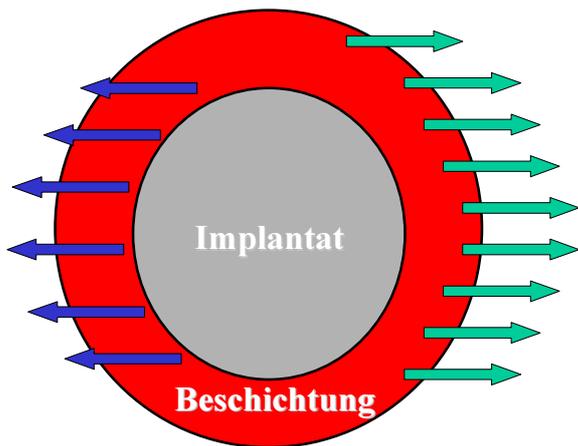


Abbildung 23: Wirkstofffreisetzung: größere Freisetzungsmenge aus oberflächlichen Schichten (rechts) gegenüber tieferen Schichten (links) durch größeres Volumen (nach Langer 1994, S.103)

4.2.3 Mikrobiologische Untersuchung der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung

Die Wirkung der Oberflächenbeschichtung auf die bakterielle Implantatbesiedelung wurde in einem Wachstumsmodell untersucht. Als Testkeim diente ein schleimbildender Stamm der Species *Staphylococcus epidermidis*. Hier handelt es sich um einen typischen Erreger Implantat-assoziiierter Infektionen. *Staphylococcus epidermidis* gehört zur Gruppe der koagulase-negativen Staphylokokken und ist als apathogener Saprophyt ein Bewohner der menschlichen Hautflora. Die wichtigsten Virulenzfaktoren, welche *Staphylococcus epidermidis* zum gefürchteten Erreger von Fremdkörperinfektionen machen, sind die Fähigkeiten Schleim und Biofilm zu bilden. Mehr als 50% der Implantat-assoziierten Infektionen werden durch die Species *Staphylococcus epidermidis* verursacht. Dieser meist nosokomial erworbene Keim weist zu mehr als 80% Resistenzen gegenüber Methicillin auf (Rupp 1994, S.232). Als wirksame Reserveantibiotika verbleiben meist Vancomycin, Rifampicin und Teicoplanin (Rupp 1994, S.232). Es ist bekannt, dass zirka 10-30% aller vaskulären Katheter von *Staphylococcus epidermidis* besiedelt und etwa 40% der Endoprotheseninfektionen durch diesen Keim verursacht werden (Rupp 1994, S.239). *Staph. epidermidis* scheint somit als Keim zur Testung neuer antiinfektiver Oberflächen bestens geeignet, zumal der hier eingesetzte Stamm zusätzlich die Virulenzfaktoren der Biofilm- und Schleimbildung aufweist.

Derzeit ist die Bedeutung vieler bakterieller Komponenten und Blutbestandteile für die Mechanismen der bakteriellen Adhäsion *in vitro* nur unvollständig aufgeklärt. In einer

Vielzahl durchgeführter Untersuchungen wurde die Bedeutung verschiedener Adhäsine wie „*capsular polysaccharide/adhesin*“ (PS/A), „*slime-associated antigen*“, „*cluster-associated adhesin*“, „*hemagglutinin*“ (Rupp 1994, S.233), „*proteinaceous antigen*“ (Timmerman 1991, S.4190) und „*clumping factor*“ (Moreillon 1995, S.4740) für die Adhäsion von Staphylokokken an Implantaten nachgewiesen. Für diverse Blutbestandteilen wie Thrombospondin, Laminin, Fibronectin oder Fibrinogen (Herrmann 1988, S.697; Vaudaux 1989, S.868f.; Herrmann 1991, S.286; Yu 1995, S.597f.) sind adhäsionsfördernde Einflüsse beschrieben. Es gibt jedoch auch Studien, die einen positiven Einfluss von Blutbestandteilen auf die bakterielle Adhäsion *in vitro* ausschließen (Muller 1991, S.3325), bzw. sogar eine bis zu 90%-ige Reduktion der bakteriellen Adhäsion nach Kontakt mit menschlichem Serum beschreiben (Pascual 1986, S.520; Herrmann 1988, S.696). In der vorliegenden Arbeit wurden die Implantate in physiologischer Kochsalzlösung inkubiert, um Einflüsse durch Zellen, Proteine und andere Blutbestandteile zu vermeiden. Weitere Untersuchungen mit Humanplasma oder Humanserum könnten den Einfluss verschiedener Blutbestandteile auf die bakterielle Adhäsion der hier vorgestellten Beschichtung weiter aufklären. Generell müssen jedoch die Ergebnisse bakterieller *in vitro* Untersuchungen kritisch beurteilt werden. So relativierten beispielsweise Darouiche et. al. im Tiermodell die Bedeutung verschiedener mikrobieller Oberflächenproteine für Protheseninfektionen (Darouiche 1997, S.77f.).

Untersuchungen aus unserer Arbeitsgruppe zeigten eine gesteigerte Anhaftung radioaktiv markierter Keime an Polylaktid-beschichteten Oberflächen gegenüber unbeschichteten Metallimplantaten (Gollwitzer 2000, S.363f.). Die Ergebnisse der Anhaftungsversuche gelten sowohl für reine Poly-D,L-Laktid-Beschichtungen als auch für PDLLA-Antibiotika-Kombinationen. Eine Erklärung für diese Beobachtung könnte in der Veränderung der Oberfläche, der chemischen Zusammensetzung und der Ladungsverteilung der Beschichtung liegen. Eingearbeitete und wieder freigesetzte Antibiotikapartikel können in der Oberflächenbeschichtung kleine Erosionen zurücklassen, dadurch die Oberfläche vergrößern und die bakterielle Anhaftung zusätzlich begünstigen.

Bei den hier vorgelegten radioaktiven Anhaftungsversuchen werden sämtliche auf der Oberfläche platzierten und vorher radioaktiv markierten Bakterien gemessen, ohne Aussage über deren Vitalität und Wachstumsfähigkeit. Für die Klinik spielt aber gerade die Vermehrungsfähigkeit der Keime eine entscheidende Rolle. Denn nur vitale und vermehrungsfähige Bakterien können die Oberfläche besiedeln und über die Bildung eines

bakteriellen Biofilms schwer therapierbare Implantatinfektionen auslösen. Nicht vermehrungsfähige Keime können dagegen vom Immunsystem abgetötet und eliminiert werden. In der vorliegenden Arbeit wurde deshalb spezieller Wert auf die Untersuchung der Wachstumsfähigkeit anhaftender Keime gelegt, was in dem beschriebenen Wachstumsmodell auch umgesetzt werden konnte.

Die Ergebnisse des bakteriellen Wachstumsmodells zur Anhaftung vermehrungsfähiger, und damit klinisch relevanter, Staphylokokken belegen, dass bereits das reine Poly-D,L-Laktid die Anhaftung *wachstumsfähiger* Keime *in vitro* hochsignifikant gegenüber den unbeschichteten Stahl- und Titanlegierungen reduziert. Reines Poly-D,L-Laktid verstärkt zwar insgesamt die Anhaftung von Bakterien, hat aber gleichzeitig eine ausgeprägte bakteriostatische, wenn nicht sogar bakterizide Wirkung. Die irreversible Wachstumshemmung, die nach Ablösung der Keime vom Implantat und Bebrütung auf Nährböden nachgewiesen wurde, spricht für eine bakterizide Wirkung. Auf der Poly-D,L-Laktid-Oberfläche anhaftende Keime werden nahezu komplett abgetötet. Die zusätzlich in die Beschichtung eingearbeiteten Antibiotika, wie am Beispiel von Gentamicin und Teicoplanin gezeigt, verstärken nochmals hochsignifikant den bakteriziden Effekt der Oberflächenbeschichtung.

Gentamicin erweist sich im Vergleich zu Teicoplanin als das tendenziell wirkungsvollere Antibiotikum. Diese Tatsache muss jedoch aufgrund des Versuchsaufbaus relativiert werden. So wird die bakterielle Adhäsion im vorliegenden Modell in physiologischer Kochsalzlösung bestimmt, in welcher die getesteten Staphylokokken keine oder eine nur geringe Proliferation zeigen. Gentamicin wirkt bakteriostatisch auf proliferierende und ruhende Erreger, während das hochpotente Teicoplanin lediglich gegenüber proliferierenden Keimen wirksam ist. Dadurch lässt sich die bessere antiinfektive Wirkung des Aminoglykosids erklären. In bakteriellen Nährlösungen könnte dieser „Standort-“ bzw. „Wirkungsvorteil“ des Gentamicins ausgeschlossen werden.

Die Effektivität der Antibiotika in der Beschichtung und nach Freisetzung bestätigt weiterhin, dass die eingearbeiteten Wirkstoffe während des Beschichtungsvorgangs stabil bleiben und ihre Wirksamkeit in Gegenwart des Polymers und der organischen Lösungsmittel nicht verlieren.

4.3 Antithrombogene Eigenschaften

Die Aktivierung der Gerinnungskaskade nach Blutkontakt von Biomaterialien ist eine bekannte Problematik. Thromben führen zu einer konsekutiven Erhöhung der Emboliegefahr, weiter neigen thrombosierte Katheter bzw. Katheter mit anhängenden Blutgerinnseln verstärkt zu Infektionen und signifikanten Bakteriämien (Pierce C.M. 2000, S.967). Antithrombogene Oberflächen könnten diese Komplikationen reduzieren oder sogar verhindern. Die Gerinnung wird von der Außenfläche des im Blutkreislauf flotierenden Katheters aktiviert, aber auch das innere Lumen des Katheters kann bei einem Zurücklaufen von Blut zur Thrombenbildung führen und diese nach erneutem Anspülen in den Blutkreislauf freisetzen. Der Katheter kann verstopfen und muss dann entfernt werden. In dieser Arbeit wurde daher eine Methode entwickelt, bei welcher auch die innere Oberfläche des Katheters gleichmäßig mit Poly-D,L-Laktid zu beschichtet werden kann.

Zentralvenöse Katheter werden aktuell aus verschiedenen Kunststoffen wie Polyurethan, Polyvinylchlorid und Silikon hergestellt. Die Katheter zeigen daher unterschiedliche Stabilität gegenüber organischen Lösungsmitteln wie Chloroform oder Ethylacetat. In dieser Arbeit durchgeführte Untersuchungen haben gezeigt, dass Ethylacetat die Katheteroberfläche sämtlicher Katheter nicht verändert und eine gleichmäßige Beschichtung aller geprüften Kunststoffe ermöglicht.

Eine weitere Problematik ergibt sich hinsichtlich der Lösungsmittelreste in der Beschichtung. Die mittels Chloroform beschichteten metallischen Implantate zeigten selbst nach einem Jahr noch deutlich messbare Chloroformkonzentrationen. Lösungsmittelreste sind natürlich auch bei Ethylacetat denkbar, jedoch sollte aufgrund der geringeren Toxizität diesem Lösungsmittel der Vorzug gegeben werden.

Die bekannte antithrombogene Wirkung der Oberflächenbeschichtung (Herrmann 1999, S.51) mit signifikanter Hemmung der Thrombozytenaggregation konnte im modifizierten humanen Stasemodell bestätigt werden. Iloprost enthaltende Beschichtungen reduzieren die Thrombozytenaggregationsfähigkeit im Staseblut konzentrationsabhängig auf unter 10%. Weiterführende Untersuchungen zur Wirksamkeit der Oberflächenbeschichtung für Neugeborenenkatheter *in vivo* werden aktuell von der Arbeitsgruppe durchgeführt.

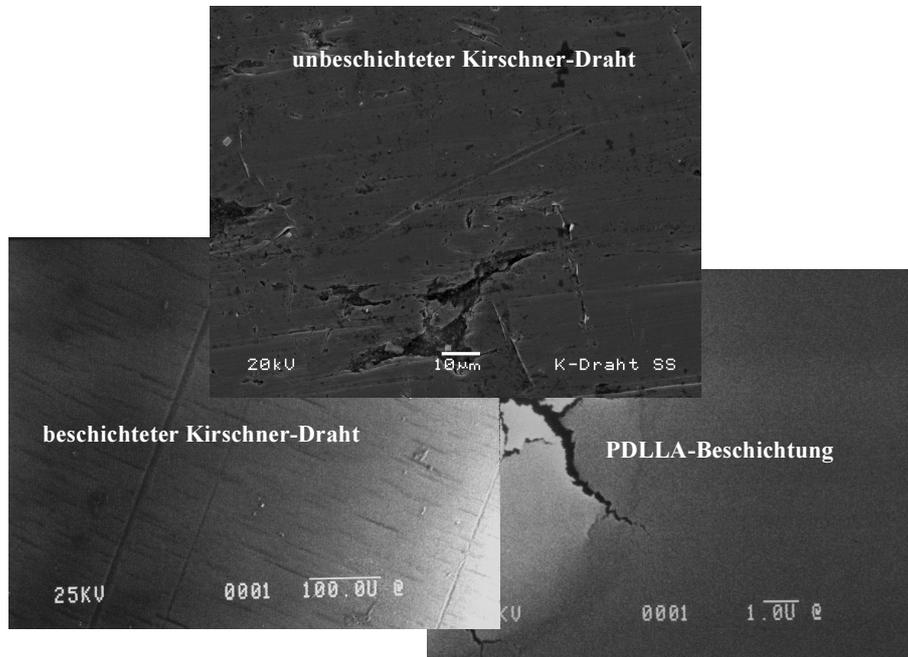
4.4 Allgemeine Bewertung der Oberflächenbeschichtung

Poly-D,L-Laktid ist ein biokompatibles und bioresorbierbares Polymer, das sich sehr gut zur Ausrüstung medizinischer Implantate mit antithrombogenen und antiinfektiven Oberflächenbeschichtungen eignet.

In der Gesamtbeurteilung dieser Oberflächenbeschichtung darf man ein bekanntes Problem nicht außer Acht lassen: Bei der Verwendung von Polylaktiden als bioresorbierbare Implantate in Orthopädie und Unfallchirurgie sind Osteolysen beschrieben, welche nach etwa sechs Woche die Integration des Implantates gefährden können (Suganuma 1993, S.21f.). Über Osteolysen mit Fremdkörperreaktionen in unmittelbarer Nachbarschaft resorbierbarer Schrauben aus Poly-L-Laktid wurde wiederholt in der Literatur berichtet (Böstman 1990, S.593; Böstman 1991, S.681) Als Ursachen werden inflammatorische Fremdkörperreaktionen um das resorbierbare Polymer (Suganuma 1993, S.18) und eine lokale Änderung des pH-Wertes diskutiert (Suganuma 1993, S.25). Schmidmaier et. al. konnten jedoch für die vorliegende Poly-D,L-Laktid-Oberflächenbeschichtung eine hohe Biokompatibilität im Knochenlager nachweisen (Schmidmaier 2001, S.106). Außerdem beschleunigte dieses niedermolekulare Polymer nach Beschichtung von Kirschner-Drähten die Frakturheilung im Tiermodell. Untersucht wurde dabei die Knochenheilung definierter Tibiafrakturen nach intramedullärer Stabilisierung mit beschichteten und unbeschichteten Titan-Kirschner-Drähten. Die Poly-D,L-Laktid-Beschichtung zeigte nach 42 Tagen eine beschleunigte Frakturheilung im Vergleich zu den Kontrollgruppen. Diese Aussagen wurden radiologisch, histologisch und biomechanisch nachgewiesen. Weiterhin konnte Schmidmaier eine zusätzliche Beschleunigung der Knochenheilung durch die in die Oberflächenbeschichtung eingearbeiteten Wachstumsfaktoren IGF-I und TGF- β 1 belegen.

Vergleicht man diese neuartige Oberflächenbeschichtung mit den Forderungen an ein ideales Arzneistoffträgermaterial, welche Langer und Peppas bereits 1981 formulierten, so erfüllt das von unserer Arbeitsgruppe eingesetzte Poly-D,L-Laktid die Forderung der konstanten Wirkstofffreisetzung. Im Rahmen dieser Arbeit konnte diese Aussage für die Antibiotika Gentamicin und Teicoplanin belegt werden. In seiner Dissertation belegte Schmidmaier diese kontinuierliche Wirkstofffreisetzung bereits für die antithrombogenen Arzneistoffe Iloprost und PEG-Hirudin (Schmidmaier 1999), des weiteren in Folgearbeiten für die Wachstumsfaktoren IGF-I und TGF- β 1 (Schmidmaier 2001, S.106). Die

Freisetzungskinetik mit einem anfänglichen Peak und anschließend kontinuierlicher Wirkstofffreisetzung erlaubt eine sichere Anwendung. Die lokal messbaren Arzneistoffkonzentrationen erreichen keine toxischen Werte und ermöglichen somit einen sicheren Einsatz dieser auf Implantate verbrachten Arzneistoff-Träger-Kombination.



**Abbildung 24: Poly-D,L-Laktid-Beschichtung auf Kirschner-Drähten unter dem Rasterelektronenmikroskop (eigene Aufnahmen)
Der Riss rechts unten entspricht einem Artefakt durch den Elektronenstrahl.**

Eine ausgezeichnete mechanische Widerstandskraft der Poly-D,L-Laktid-Beschichtung konnte in der vorliegenden Arbeit nachgewiesen werden. Der durchschnittliche Beschichtungsabrieb erreichte bei intraossärer Implantation höchstens vier Prozent. Dies verdeutlicht die ausgesprochene Stabilität der Beschichtung auf metallischen Implantaten, da bei dieser Prozedur maximale Scherkräfte auf das Polymer und die Polymer-Implantat-Grenzschicht wirken. Die Biokompatibilität von Poly-D,L-Laktid ist aus der Literatur und aus klinischen Studien bereits bekannt, so wird Polylaktid als resorbierbares Nahtmaterial seit mehreren Jahrzehnten erfolgreich eingesetzt. Das niedermolekulare Polylaktid ist in Pulverform nach Auflösen in organischen Lösungsmitteln leicht handhabbar und kann mittels Kaltbeschichtungstechnologie einfach auf die unterschiedlichsten Implantate aufgebracht werden. Der Preis für 100 Gramm dieses Polymers beträgt zirka DM 250.- und verdeutlicht die kostengünstige Herstellung. Ein relativ hohes Wirkstoff-Träger-Verhältnis, wie von Lucke et. al. bereits bis zehn Prozent Massenanteil belegt (Lucke 2000, S.362),

garantiert bei Bedarf eine ausreichend hohe Wirkstoffkonzentration am Anwendungsort und spricht für den effektiven Einsatz des Trägermaterials. Das Polymer kann weiterhin im Herstellungsprozess durch Sterilfiltration von Keimen befreit und anschließend aseptisch auf Biomaterialien aufgebracht werden. Eine nachträgliche Sterilisation unsteril aufgetragener Oberflächenbeschichtungen mittels Ethylenoxid wird derzeit diskutiert. Somit erfüllt das Poly-D,L-Laktid alle im Rahmen der Oberflächenbeschichtung von Implantaten wichtigen Anforderungen, die an ein ideales Trägersystem für Arzneimittel zu stellen sind.

Poly-D,L-Laktid kann als stabiles Polymer auf verschiedene Biomaterialien aufgebracht werden, ohne die mechanischen Eigenschaften der selbst Implantate zu verändern. Dies konnten Versuche an zentralvenösen Kathetern für Neugeborene belegen. Neugeborenenkatheter weisen in unbeschichtetem Zustand eine hohe Elastizität auf, um beim Einbringen ein Durchstechen der Gefäßwand zu vermeiden. Ein Einbringen der Katheter ist jedoch nur unter Verwendung eines Führungsdrahtes möglich. Laut Hersteller der getesteten Katheter (Medex Medical) ist eine gewisse Zunahme der Kathetersteifigkeit erwünscht und konnte durch eine Beschichtung mit Poly-D,L-Laktid erzielt werden (eigene unveröffentlichte Ergebnisse).

Die Kombination von Wirkstoffen im Sinne einer multifunktionellen und maßgeschneiderten Oberfläche kann mit dieser bioabbaubaren Oberflächenbeschichtung erreicht werden. Wirkstoffe können nach Bedarf „maßgeschneidert“ eingearbeitet werden und so das Anwendungspotential der Oberflächenbeschichtung patientengerecht erweitern. In der Praxis könnte dies bedeuten, dass

- je nach Antibiogramm eine gezielte Antibiotikaprophylaxe im infektgefährdeten Implantatlager durchgeführt werden kann.
- bei vorbestehenden Pseudarthrosen aufgetragene Wachstumsfaktoren die Heilungschancen verbessern.
- je nach Blutkontakt maßangefertigte intravasale Katheter zur Versorgung von Risikopatienten für thromboembolische Komplikationen eingesetzt werden können.

Die Arbeitsgruppe versucht derzeit diese Fragen praxisnah zu realisieren und die verschiedenen Möglichkeiten des klinischen Einsatzes vorzubereiten.

5 Zusammenfassung

Implantat-assoziierte Infektionen und Thromboembolien sind beim Einsatz von Biomaterialien gefürchtete Komplikationen. Um das Auftreten dieser Komplikationen zu reduzieren werden neue Strategien zur Optimierung der Implantatoberfläche entwickelt. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, eine neue bioresorbierbare Oberflächenbeschichtung auf der Basis von Poly-D,L-Laktid hinsichtlich der mechanischen Eigenschaften zu prüfen. Weiter war es Aufgabe, eine neue Antibiotika-Polylaktid-Kombination als antiinfektive Oberfläche für metallische Implantate *in vitro* zu testen. Außerdem sollte die von der Arbeitsgruppe entwickelte antithrombogene Poly-D,L-Laktid-Beschichtung für die Beschichtung von zentralvenösen Kathetern modifiziert werden.

Als Beschichtungsgrundlage diente ein Polymer des Poly-D,L-Laktids (Resomer® R203 der Firma Boehringer Ingelheim). In einem organischen Lösungsmittel gelöst kann es mittels Kaltbeschichtungstechnologie auf Implantate aufgebracht werden. Anhand mechanischer Untersuchungen wurde der Einfluss von Lösungsmittel, Arzneistoffträger und Polymerkonzentration auf die Beschichtungsstabilität untersucht. Dabei zeigte Poly-D,L-Laktid als Oberflächenbeschichtung selbst unter extremer mechanischer Beanspruchung einen Beschichtungsverlust von weniger als 4%. Bei intraossärer Implantation in humane Leichenfemora fand sich der Abrieb gleichmäßig verteilt an der Kortikalisinnenseite. In die Beschichtung eingearbeitete Wirkstoffe wären somit zu ca. 96% im Knochen verfügbar. Durch entsprechende Wahl von Lösungsmittel und Arzneistoffträgerkonzentration lassen sich somit Stabilität und Dicke der Beschichtung modifizieren. Eine Kombination des Poly-D,L-Laktids mit dem Resomer® LT706 (Poly-L-Laktid-co-Trimethylencarbonat) verbessert ab 5% Massenanteil die Elastizität der Oberflächenbeschichtung. Bei Längendehnung bis 8% bleibt Poly-D,L-Laktid unverändert. Bei stärkeren Dehnungen treten unter dem Rasterelektronenmikroskop sichtbare Mikrorisse quer zur Zugrichtung auf.

Zur Entwicklung einer antiinfektiven Oberfläche wurden die Antibiotika Gentamicin und Teicoplanin in 5%-iger Konzentration in das resorbierbare Polymer eingearbeitet. Bei Prüfung des Freisetzungsverhaltens der eingearbeiteten Wirkstoffe zeigt sich ein initialer Peak und anschließend eine langsame und kontinuierliche Elution der eingebrachten

Antibiotika. Teicoplanin wird langsamer freigesetzt als Gentamicin, nach etwa 6 Stunden verlaufen dann die Freisetzungskurven nahezu parallel. Die bakteriziden Eigenschaften der Beschichtung wurden in Gegenwart hoher Konzentrationen humanpathogener Keime *in vitro* getestet. Dabei reduziert bereits das reine Polymer die Zahl anhaftender wachstumsfähiger Keime hochsignifikant, zusätzlich eingearbeitete Antibiotika unterbinden ein Bakterienwachstum nach Kontakt mit dem beschichteten Implantat fast komplett.

Schließlich wurde die von der Arbeitsgruppe entwickelte antithrombogene Poly-D,L-Laktid-Beschichtung für die Anwendung auf zentralvenösen Kathetern modifiziert. Mit Ethylacetat als Lösungsmittel und der im Rahmen dieser Arbeit entwickelten Beschichtungstechnologie können selbst zentralvenöse Katheter für Neugeborene gleichmäßig innen wie außen beschichtet werden. Die antithrombogenen Eigenschaften der Oberflächenbeschichtung konnten im humanen Stasemodell bestätigt werden.

Poly-D,L-Laktid erweist sich als mechanisch stabile, biokompatible und resorbierbare Oberflächenbeschichtung für Biomaterialien zur Erzielung antithrombogener und antiinfektiver Eigenschaften. Eine Kombination der Polylaktid-Beschichtung mit verschiedenen Wirkstoffen im Sinne einer maßgeschneiderten multifunktionellen Beschichtung medizinischer Implantate erscheint realisierbar und wird derzeit von der Arbeitsgruppe als neue Möglichkeit zur Verbesserung bewährter Biomaterialien weiter bearbeitet.

6 Literaturverzeichnis

Ahearn, D.G., May, L.L., Gabriel, M.M. Adherence of organisms to silver-coated surfaces. *J. Ind. Microbiology*, 15 (1995), 372-376

Ahlborg, H.G., Josefsson, P.O. Pin-tract complications in external fixation of fractures of the distal radius. *Acta Orthop. Scand.*, 70 (1999), 116-118

Athanasίου, K.A., Agrawal, C.M., Barber, F.A., Burkhart, S.S. Orthopedic applications for PLA-PGA biodegradable polymers. *Arthroscopy*, 14 (1998), 726-737

Baker, R.W., Lonsdale, H.K. Controlled release: mechanisms and rate. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 47 (1974), 15-71

Bauer, T.W., Schils, J. The pathology of total joint arthroplasty. II. Mechanisms of implant failure. *Skeletal. Radiol.*, 28 (1999), 483-497

Bayston, R., Rodgers, J. Production of extra-cellular slime by *Staphylococcus epidermidis* during stationary phase of growth: its association with adherence to implantable devices. *J. Clin. Pathol.*, 43 (1990), 866-870

Bechert, T., Boswald, M., Lugauer, S., Regenfus, A., Greil, J., Guggenbichler, J.P. The Erlanger silver catheter: in vitro results for antimicrobial activity. *Infection, Suppl. 1*, 27 (1999), S24-29

Bengtson, S., Knutson, K. The infected knee arthroplasty. *Acta Orthop. Scand.*, 62 (1991), 301-311

Black, J. Systemic effects of biomaterials. *Biomaterials*, 5 (1984), 11-18

Born, G.V.R. Quantitative investigations into the aggregation of blood platelets. *J. Physiol.*, 162 (1962), P67-68

Böstman, O., Hirvensalo, E., Makinen, J., Rokkanen, P. Foreign-body reactions to fracture fixation implants of biodegradable synthetic polymers. *J. Bone Joint Surg.*, 72-B (1990), 592-596

Böstman, O.M. Osteolytic changes accompanying degradation of adsorbable fracture fixation implants. *J. Bone Joint Surg.*, 73-B (1991), 679-682

Buchwald, A.B., Sandrock, D., Unterberg, C., Ebbecke, M., Nebendahl, K., Lüders, S., Munz, D., Wiegand, V. Platelet and fibrin deposition on coronary stents in minipigs: effects hirudin versus heparin. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1 (1993), 249-254

Carbon, R.T., Lugauer, S., Geltner, U. Reducing catheter associated infections with silver impregnated catheters in long term therapy of children. *Infection, Suppl. 1*, 27 (1999), 69-73

- Cardinal, E., Braustein, E.M., Capello, W.N., Heck, D.A. *Candida albicans* infection of prosthetic joints. *Orthopedics*, 19 (1996), 247-251
- Christensen, G.D., Barker, L.P., Mawhinney, T.P., Baddour, L.M., Simpson, W.A. Identification of an antigenic marker of slime production for *Staphylococcus epidermidis*. *Infect. Immun.*, 58 (1990), 2906-2911
- Cowsar, D.R. Introduction to controlled release. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 47 (1974), 1-13
- Cutright, D.E., Perez, B., Beasley, J.D., Larson, W.J., Posey, W.R. Degradation rates of polymers and copolymers of polylactic and glycolic acids. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.*, 37 (1974), 142-152
- Darouiche, R.O., Dhir, A., Miller, A.J., Landon, G.C., Raad, I.I., Musher, D.M. Vancomycin penetration into biofilm covering infected prostheses and effect on bacteria. *J. Infect. Dis.*, 170 (1994), 720-723
- Darouiche, R.O., Landon, G.C., Patti, J.M., Nguyen, L.L., Fernau, R.C., McDevitt, D., Greene, C., Foster, T., Klima, M. Role of *Staphylococcus aureus* surface adhesins in orthopedic device infection: are results model-dependent? *J. Med. Microbiol.*, 46 (1997), 75-79
- David, M., Andrew, M. Venous thromboembolic complications in children. *J. Pediatr.*, 123 (1993), 337-346
- De Lalla, F. Antimicrobial chemotherapy in the control of surgical infectious complications. *J. Chemotherapy*, 11 (1999), 440-445
- Dunne, W.M.Jr., Mason, E.O.Jr., Kaplan, S.L. Diffusion of rifampin and vancomycin through a *Staphylococcus epidermidis* biofilm. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 37 (1993), 2522-2526
- Elek, S.D., Conen, P.E. The virulence of *Staphylococcus pyogenes* for man: a study of the problems of wound infection. *Br. J. Exp. Pathology*, 38 (1957), 573-586
- Esposito, M., Hirsch, J., Lekholm, U., Thomsen, P. Differential diagnosis and treatment strategies for biologic complication and failing oral implants: a review of the literature. *Int. J. Oral Maxillofac. Implants*, 14 (1999), 473-490
- Förster, C. *Hämokompatible Biomaterialien durch eine biodegradierbare Arzneimittelbeschichtung*. Dissertation an der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München, 1999
- Gallo, R., Chesebro, J.H., Badimon, J.J. Treatment of unstable angina: role of antithrombotic therapy. *Thromb. Res.*, 95 (1999), V15-V31
- Garberina, M.J., Fitch, R.D., Hoffmann, E.D., Hardaker, W.T., Vail, T.P., Scully, S.P. Knee arthrodesis with circular external fixation. *Clin. Orthop.*, 382 (2001), 168-178

Giardino, R., Fini, M., Aldini, N.N., Giavaresi, G., Rocca, M. Polylactide bioabsorbable polymers for guided tissue regeneration. *J. Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*, 47 (1999), 303-308

Gollwitzer, H., Lucke, M., Schmidmaier, G., Ibrahim, K., Meyer, H., Stemberger, A. Eine bakteriostatische biodegradierbare Poly-D,L-Laktid-Beschichtung für metallische Implantate - Untersuchungen zur Anhaftung von Bakterien. In: „Hefte zu Der Unfallchirurg: 64. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V.“, Haas, N.P., Stürmer, K.M. (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 2000, 363-364

Gordon, J.E., Kelly-Hahn, J., Carpenter, C.J., Schoenecker, P.L. Pin site care during external fixation in children: results of a nihilistic approach. *J. Pediatr. Orthop.*, 20 (2000), 163-165

Green, S.A. Complications of External Skeletal Fixation. *Clin. Orthop.*, 180 (1983), 109-116

Gristina A.G., Naylor P.T., Myrvik, N. Mechanisms of musculoskeletal sepsis. *Orthop. Clin. North Am.*, 22 (1991), 363-371

Gristina, A.G. Biomaterial-centered infection: Microbial adhesion versus tissue integration. *Science*, 237 (1987), 1588-1595

Gristina, A.G.: Implant Failure and the Immuno-Incompetent Fibro-Inflammatory Zone. *Clin. Orthop.*, 298 (1994), 106-118

Gugula, Z., Gogolewski, S. *In vitro* growth and activity of primary chondrocytes on a resorbable polylactide three-dimensional scaffold. *J. Biomed. Mat. Res.*, 49 (2000), 183-191

Habash, M., Reid, G. Microbial biofilms: their development and significance for medical device-related infections. *J. Clin. Pharmacol.*, 39 (1999), 887-898

Heller, J. Drug delivery systems. In: „Biomaterials Science“, Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E. (Hrsg.), Academic Press, San Diego-London-Boston-New York-Sydney-Tokyo-Toronto, 1996, 346-356

Herrmann, M., Suchard, S.J., Boxer, L.A., Waldvogel, F.A., Lew, P.D. Thrombospondin binds to *Staphylococcus aureus* and promotes staphylococcal adherence to surfaces. *Infect. Immun.*, 59 (1991), 279-288

Herrmann, M., Vaudaux, P.E., Pittet, D., Auckenthaler, R., Lew, D.P., Schumacher-Perdreau, F., Peters, G., Waldvogel, F.A. Fibronectin, fibrinogen, and laminin act as mediators of adherence of clinical staphylococcal isolates to foreign material. *J. Infect. Dis.*, 158 (1988), 693-701

Herrmann, R., Schmidmaier, G., Märkl, B., Resch, A., Hähnel, I., Stemberger, A., Alt, E. Antithrombogenic coatings of stents using a biodegradable drug delivery technology. *Thromb. Haemost.*, 82 (1999), 51-57

Hoechst Marion Roussel Deutschland GmbH. Fachinformation Refludan®. Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V., FachInfo-Service, Postfach 1255, 88322 Aulendorf, (1999), 1-4

Hubacher, D., Lara-Ricalde, R., Taylor, D.J., Guerra-Infante, F., Guzmán-Rodríguez, R. Use of copper intrauterine devices and the risk of tubal infertility among nulligravid woman. *N. Engl. J. Med.*, 345 (2001), 561-567

Kielemoes, J., Varstraete, W. Influence of copper-alloying of austenitic stainless steel on multi-species biofilm development. *Lett. Appl. Microbiol.*, 33 (2001), 148-152

Kim, S.W. Nonthrombogenic treatments and strategies. In: „Biomaterials Science“, Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E. (Hrsg.), Academic Press, San Diego-London-Boston-New York-Sydney-Tokyo-Toronto, 1996, 297-308

Kohn J., Langer R. Bioresorbable and bioerodible materials. In: „Biomaterials Science“, Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E. (Hrsg.), Academic Press, San Diego-London-Boston-New York-Sydney-Tokyo-Toronto, 1996, 64-73

Kooji, J.D., van der Zant, F.M., van Beek, E.J., Reekers, J.A. Pulmonary embolism in deep venous thrombosis of the upper extremity: more often in catheter-related thrombosis. *Neth. J. Med.*, 50 (1997), 238-242

Kramhofs, M., Bodtker, S., Carlsen, A. Outcome of infected total knee arthroplasty. *J. Arthroplasty*, 9 (1994), 617-621

Langer R. 1994 Whitaker Lecture: Polymers for drug delivery and tissue engineering. *Annals of Biomedical Engineering*, 23 (1994), 101-111

Langer, R., Peppas, N.A. Present and future applications of biomaterials in controlled delivery systems. *Biomaterials*, 2 (1981), 201-214

Lemons, J.E. Application of materials in medicine and dentistry. In: „Biomaterials Science“, Ratner, B.D., Hoffman, A.S., Schoen, F.J., Lemons, J.E. (Hrsg.), Academic Press, San Diego-London-Boston-New York-Sydney-Tokyo-Toronto, 1996, 283-297

Lendlein, A. Polymere als Implantatwerkstoffe. *Chemie in unserer Zeit*, 33 (1999), 279-295

Lersch, C., Paschalidis, M., Theiss, W. Tiefe Venenthrombosen durch zentralvenöse Katheter. *Review. VASA*, 28 (1999), 71-78

Lucke, M., Schmidmaier, G., Gollwitzer, H., Raschke, M. Entwicklung einer biodegradierbaren und antibiotisch wirksamen Beschichtung von Implantaten. In: „Hefte zu Der Unfallchirurg: 64. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Unfallchirurgie e.V.“, Haas, N.P., Stürmer, K.M. (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 2000, 362-363

Luo, D., Woodrow-Mumford, K., Belcheva, N., Saltzman, W.M. Controlled DNA delivery systems. *Pharma. Res.*, 16 (1999), 1300-1308

- Maki, D.M., Goldman, D.A., Rhame, F.S. Infection control in intravenous therapy. *Ann. Int. Med.*, 79 (1973), 867-887
- Marcus, R., Peritz, E., Gabriel, K.R. On closed Testing procedures with special reference to ordered analysis of variance. *Biometrika*, 63, (1976), 655-660
- Markwardt, F. Hirudin als Antikoagulans: ein Comeback. *Die gelben Hefte*, 24 (1989), 163-170
- Mason, R.G., Read, M.S., Brinkhaus, K.M. Effect of fibrinogen concentration on platelet adhesion to glass. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 137 (1971), 680-682
- Moreillon, P., Entenza, J.M., Francioli, P., McDevitt, D., Foster, T.J., François, P., Vaudaux, P. Role of *Staphylococcus aureus* coagulase and clumping factor in pathogenesis of experimental endocarditis. *Infect. Immun.*, 63 (1995), 4738-4743
- Muller, E., Takeda, S., Goldmann, D.A., Pier, G.B. Blood proteins do not promote adherence of coagulase-negative staphylococci to biomaterials. *Infect. Immun.*, 59 (1991), 3323-3326
- Musher, D.M., Baughn, R.E., Templeton, G.B., Minuth, J.N. Emergence of variant forms of *Staphylococcus aureus* after exposure to Gentamicin and infectivity of the variants in experimental animals. *J. Infect. Dis.*, 136 (1977), 360-369
- Nasser, S. The incidence of sepsis after total hip replacement arthroplasty. *Semin. Arthroplasty*, 5 (1994), 153-159
- O'Reilly, T., Kunz, S., Sande, E., Zak, O., Sande, M.A., Täuber, M.G. Relationship between antibiotic concentration in bone and efficacy of treatment of staphylococcal osteomyelitis in rats: Azithromycin compared with Clindamycin and Rifampin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 36 (1992), 2693-2697
- Pascual, A., Fleer, A., Westerdal, N.A.C., Verhoef, J. Modulation of adherence of coagulase-negative staphylococci to Teflon catheters in vitro. *Eur. J. Clin. Microbiol.*, 5 (1986), 518-522
- Perdreau-Remington, F., Stefanik, D., Peters, G., Ludwig, C., Rütt, J., Wenzel, R., Pulverer, G. A four-year prospective study on microbial ecology of explanted prosthetic hips in 52 patients with "aseptic" prosthetic joint loosening. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 15 (1996), 160-165
- Peters, G., Gray, E.D., Johnson, G.M. Immunomodulating properties of extracellular slime substance. In: „Infections associated with indwelling medical devices“, Bisno, A.L., Waldvogel, F.A. (Hrsg.), American Society for Microbiology, Washington, D.C., 1989, 61-74
- Pierce, C.M., Wade, A., Mock, Q. Heparin-bonded central venous lines reduce thrombotic and infective complications in critically ill children. *Intensive Care Med.*, 26 (2000), 967-972

- Pitt, C.G., Gratzl, M.M., Kimmel, G.L., Surles, J., Schindler, A. Aliphatic polyesters II. The degradation of poly(DL-lactide), poly(ϵ -caprolactone) and their copolymers *in vivo*. *Biomaterials*, 2 (1981), 215-220
- Rupp, M.E., Archer, G.L. Coagulase-negative staphylococci: pathogens associated with medical progress. *Clin. Inf. Dis.*, 19 (1994), 231-245
- Schakenraad, J.M., Dijkstra, P.J. Biocompatibility of Poly (DL-lactic acid/glycine) copolymers. *Clin. Materials*, 7 (1991), 253-269
- Schering Deutschland GmbH. Fachinformation Ilomedin®. Bundesverband der Pharmazeutischen Industrie e.V., FachInfo-Service, Postfach 1255, 88322 Aulendorf, (2001), 1-3
- Schierholz, J.M., Rump, A.F.E., Pulverer G., Beuth, J. Anti-infective catheters: novel strategies to prevent nosocomial infections in oncology. *Anticancer Research*, 18 (1998), 3629-3638
- Schmidmaier, G. Entwicklung einer antithrombogenen Beschichtung von Biomaterialien. Dissertation an der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München, 1999
- Schmidmaier, G., Raschke, M. Das Implantat als Arzneistoffträger: Lokal induzierte Knochenheilung. *Biomaterialien*, 2 (2001), 106
- Schrör, K. Pharmakokinetik und Pharmakodynamik von Prostacyclin und seine Analoga. In: „Prostacyclin aktuell“, Schering AG, Berlin (Hrsg.), 1996, 11-12
- Shea, L.D., Smiley, E., Bonadio, J., Mooney, D.J. DNA delivery from polymer matrices for tissue engineering. *Nature Biotechnology*, 17 (1999), 551-554
- Stahelin, A.C., Weiler, A., Rufenacht, H., Hoffmann, R., Geissmann, A., Feinstein, R. Clinical degradation and biocompatibility of different bioabsorbable interference screws: a report of six cases. *Arthroscopy*, 13 (1997), 238-244
- Strachan, C.J.L. The prevention of orthopedic implant and vascular graft infection. *J. Hosp. Infect.*, 30 (1995), 54-63
- Suganuma J., Alexander H. Biological response of intramedullary bone to Poly-L-lactic acid. *J. Applied Biomaterials*. 4 (1993), 13-27
- Sutor, A.H., Andrew, M., Brooker, L.A.C., Israels, S.J. Perinatal thromboembolic disease: risk to the fetus and newborn. In: „Cardiovascular Thrombosis: Thrombocardiology and Thromboneurology“, Second Edition, Verstaete, M., Fuster, V., Topol, E.J. (Hrsg.), Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1998, 691-705
- Timmerman, C.P., Fleeer, A., Besnier, J.M., de Graaf, L., Cremers, F., Verhoef, J. Characterization of a proteinaceous adhesin of *Staphylococcus epidermidis* which mediates attachment to polystyrene. *Infect. Immun.*, 59 (1991), 4187-4192

- v. Eiff, C., Bettin, D., Proctor, R.A., Rolauffs, B., Lindner, N., Winkelmann, W., Peters, G. Recovery of small colony variants of *Staphylococcus aureus* following Gentamicin bead placement for osteomyelitis. *Clin. Inf. Dis.*, 25 (1997), 1250-1251
- v. Eiff, C., Heilmann, C., Peters, G. New aspects on staphylococcal infections associated with orthopedic implants. *Hip International*, 8 (1998), 1-9
- v. Eiff, C., Heilmann, C., Peters, G.: New aspects in the molecular basis of polymer-associated infections due to staphylococci. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 18 (1999), 843-846
- v. Eiff, C., Lindner, N., Proctor, R.A., Winkelmann, W., Peters, G. Auftreten von Gentamicin-resistenten Small Colony Variants von *S. aureus* nach Einsetzen von Gentamicin-Ketten bei Osteomyelitis als mögliche Ursache für Rezidive. *Z. Orthop.*, 136 (1998), 268-271
- Vaudaux, P., Pittet, D., Haeberli, A., Huggler, E., Nydegger, U.E., Lew, D.P., Waldvogel, F.A. Host factors selectively increase staphylococcal adherence on inserted catheters: a role for fibronectin and fibrinogen or fibrin. *J. Infect. Dis.*, 160 (1989), 865-875
- Venkataprasad, N., Coombes, A.G.A., Singh, M., Wilkinson, K., Hudecz, F., Davis, S.S., Vordermeier, H.M. Induction of cellular immunity to a mycobacterial antigen adsorbed on lamellar particles of lactide polymers. *Vaccine*, 17 (1999), 1814-1819
- Webb, L.X., Holman, J., de Araujo, B., Zaccaro, D.J., Gordon, E.S. Antibiotic resistance in *Staphylococci* adherent to cortical bone. *J. Orthop. Trauma*, 8 (1994), 28-33
- Williams, D.F. Tissue biomaterials interaction. *J. Mater. Sci.*, (1987), 3421-3445
- Wooley, P.H., Nasser, S., Fitzgerald, R.H.Jr. The immune response to implant materials in humans. *Clin. Orthop.*, 326 (1996), 63-70
- Yasuda, H., Koga, T., Fukuoka, T. In vitro and in vivo models of bacterial biofilms. *Meth. Enzym.*, 310 (1999), 577-595
- Yu, J.L., Andersson, R., Wang, L.Q., Bengmark, S., Ljungh, A. Fibronectin on the surface of biliary drain materials – a role in bacterial adherence. *J. Surg. Res.*, 59 (1995), 596-600

7 Abkürzungsverzeichnis

Al ⁺⁺	Aluminium-Ion
APACT	Automated Platelet Aggregation Coagulation Tracer
AT III	Antithrombin III
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
Co ⁺⁺	Cobalt-Ion
Cr ⁺⁺	Chrom-Ion
DNS	Desoxyribonucleinsäure
Fe ⁺⁺	Eisen-Ion
IGF-I	Insuline-like-Growth-Factor-I
KBE	Kolonie bildende Einheiten
MBK	minimale bacterizide Konzentration
MRSA	Methicillin resistenter Staphylococcus aureus
MRSE	Methicillin resistenter Staphylococcus epidermidis
MIK	minimale inhibitorische Konzentration
Ni ⁺⁺	Nickel-Ion
PBS-Puffer	„phosphate buffered saline“-Puffer
PDLA	Poly-D-Laktid
PDLLA	Poly-D,L-Laktid
PDS	Polydioxanon
PEO	Polyethylenoxid
PGA	Poly-glycolic-acid (Polyglykolsäure)
PLA	Polylaktid
PLLA	Poly-L-Laktid
PPP	platelet poor plasma
PRP	platelet rich plasma
PS/A	capsular polysaccharide/adhesin
TGF-β1	Tissue-Growth-Factor-β1
TPZ	Thromboplastinzeit, Quick-Wert

8 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Ausschnitt aus dem Originalartikel von Elek und Conen aus dem Jahre 1957	7
Abbildung 2:	Implantatbesiedelung mit <i>Staphylococcus epidermidis</i> : nach 2 Stunden und nach 24 Stunden	8
Abbildung 3:	Biofilmbildung. Schutz der Bakterien (B) vor Makrophagen (M) und Antibiotika (AB)	9
Abbildung 4:	Kniegelenksoperation im Reinraum-OP (Homepage des „Hospital for Special Surgery“, New York, www.hss.edu)	11
Abbildung 5:	Wirkprinzip der Arzneistoff-Träger-Kombination zur Unterstützung einer systemischen Antibiotikaphylaxe durch Wirkstofffreisetzung aus dem Implantat	17
Abbildung 6:	Wirkstoffkonzentration nach einmaliger Applikation und bei kontinuierlicher kontrollierter Freisetzung	18
Abbildung 7:	Tumorprothesenmodul nach Implantation und Osteotomie	30
Abbildung 8:	Poly-D,L-Laktid-Beschichtung auf Tumorprothese mit interkonnektierender Oberfläche	39
Abbildung 9:	Röntgenkontrolle nach intramedullärer Implantation	42
Abbildung 10:	Beschichtete Aluminiumzugplatte nach Bruchdehnung	44
Abbildung 11:	Querrisse in der Polylaktid-Beschichtung im Bereich der Abrisszone, unbeschädigte Beschichtung im Bereich der Dehnungsmessstreifen	45
Abbildung 12:	Elution von Gentamicin und Teicoplanin aus Poly-D,L-Laktid in Prozent der eingewogenen Menge	47

Abbildung 13:	Komplette Ablösung anhaftender Staphylokokken durch 15-minütige Ultraschall-behandlung	48
Abbildung 14:	Adhäsion vermehrungsfähiger Staph. epidermidis an rostfreiem Stahl und TiAl ₆ V ₄	49
Abbildung 15:	KBE nach Inkubation mit unbeschichteten und beschichteten Kirschner-Drähten	49
Abbildung 16:	Adhäsion vermehrungsfähiger Staph. epidermidis an rostfreiem Stahl und PDLLA-Antibiotika-modifizierten Oberflächen	50
Abbildung 17:	Adhäsion vermehrungsfähiger Staph. epidermidis an TiAl ₆ V ₄ und PDLLA-Antibiotika-modifizierten Oberflächen	50
Abbildung 18:	Unbeschichteter und Poly-D,L-Laktid beschichtete zentralvenöse Neugeborenenkatheter (Lösungsmittel Ethylacetat)	52
Abbildung 19:	Maximale Thrombozytenaggregation nach Kontakt beschichteter Katheter im Staseversuch	54
Abbildung 20:	Maximaler Aggregationsgradient nach Kontakt beschichteter Katheter im Stasemodell	55
Abbildung 21:	Beschichtete Tumorprothese nach Explantation und Koronarstent nach Dilatation; Lösungsmittel Ethylacetat	58
Abbildung 22:	Poly-D,L-Laktid-Beschichtung auf Tumorprothese mit interkonnektierender Oberfläche, Lösungsmittel Chloroform	58
Abbildung 23:	Wirkstofffreisetzung: größere Freisetzungsmenge aus oberflächlichen Schichten gegenüber tieferen Schichten	62
Abbildung 24:	Poly-D,L-Laktid-Beschichtung auf Kirschner-Drähten unter dem Rasterelektronenmikroskop	67

9 Anhang

9.1 Beschichtungsstabilität bei Einwirkung kombinierter Scher- und Zugkräfte (Kapitel 3.1.1)

9.1.1 Einfluss von Trägermaterial und dessen Konzentration auf die Beschichtungsstabilität (Kapitel 3.1.1.1)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung	Gewicht nach Beschichtung	Gewicht nach Aufdehnen	Beschichtung vor Aufdehnen	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[%]
1	8,75	9,51	9,07	0,87	0,50	57,9
4	7,92	8,44	8,20	0,66	0,30	46,2
5	9,75	10,00	9,87	0,26	0,13	52,0
6	9,25	10,24	9,64	1,07	0,65	60,6
31	13,55	14,23	14,20	0,50	0,02	4,4
32	12,35	12,67	12,66	0,26	0,01	3,1
Standardabw.				0,33	0,26	26,5
Mittelwert	10,26	10,85	10,61	0,60	0,27	37,4

Tabelle 15: Beschichtungsverlust nach Dilatation von Stahlstents beschichtet mit 33,3mg PDLLA pro Milliliter Chloroform (zu S.36)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung	Gewicht nach Beschichtung	Gewicht nach Aufdehnen	Beschichtung vor Aufdehnen	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[%]
7	8,24	8,94	8,43	0,85	0,62	72,9
8	7,55	8,29	8,26	0,98	0,04	4,1
9	7,69	8,07	8,03	0,49	0,05	10,5
10	8,17	9,31	8,93	1,40	0,47	33,3
11	8,07	9,84	9,03	2,19	1,00	45,8
12	8,22	9,07	9,06	1,03	0,01	1,2
Standardabw.				0,58	0,40	28,1
Mittelwert	7,99	8,92	8,62	1,16	0,37	28,0

Tabelle 16: Beschichtungsverlust nach Dilatation von Stahlstents beschichtet mit 66,7mg PDLLA pro Milliliter Chloroform (zu S.36)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung [mg]	Gewicht nach Beschichtung [mg]	Gewicht nach Aufdehnen [mg]	Beschichtung vor Aufdehnen [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [%]
37	13,25	15,35	14,78	2,10	0,57	27,1
14	7,82	9,15	8,59	1,70	0,72	42,1
15	7,74	8,88	8,52	1,47	0,47	30,7
16	9,52	10,89	10,44	1,44	0,47	32,8
17	9,53	11,12	10,59	1,67	0,56	33,3
18	9,20	10,87	9,95	1,82	1,00	55,1
Standardabw.				0,24	0,22	10,2
Mittelwert	8,76	10,18	9,62	1,70	0,64	36,9

Tabelle 17: Beschichtungsverlust nach Dilatation von Stahlstents beschichtet mit 133,3mg PDLLA pro Milliliter Chloroform (zu S.36)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung [mg]	Gewicht nach Beschichtung [mg]	Gewicht nach Aufdehnen [mg]	Beschichtung vor Aufdehnen [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [%]
19	8,56	9,73	8,86	1,37	1,02	75,0
20	8,82	10,25	9,48	1,62	0,87	53,8
21	8,38	9,44	8,88	1,26	0,67	52,8
22	7,84	9,06	8,45	1,56	0,78	50,0
23	7,49	8,06	8,05	0,76	0,01	1,8
24	6,76	8,26	7,38	2,22	1,30	58,7
Standardabw.				0,48	0,47	24,6
Mittelwert	7,98	9,13	8,52	1,46	0,78	48,7

Tabelle 18: Beschichtungsverlust nach Dilatation von Stahlstents beschichtet mit 66,7mg PDLLA + 1,67mg Resomer® LT706 pro Milliliter Chloroform (zu S.36)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung [mg]	Gewicht nach Beschichtung [mg]	Gewicht nach Aufdehnen [mg]	Beschichtung vor Aufdehnen [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [%]
30*	14,58	15,49	15,33	0,62	0,16	17,6
25	6,76	7,40	7,40	0,95	0,00	0,0
26	9,55	10,03	10,00	0,50	0,03	6,3
27	9,23	10,45	10,44	1,32	0,01	0,8
28	7,16	8,26	8,00	1,54	0,36	23,6
29	7,18	7,70	7,61	0,72	0,13	17,3
Standardabw.				0,41	0,15	9,9
Mittelwert	7,98	8,77	8,69	0,94	0,11	10,9

Tabelle 19: Beschichtungsverlust nach Dilatation von Stahlstents beschichtet mit 66,7mg PDLLA + 3,33mg Resomer® LT706 pro Milliliter Chloroform (zu S.36)

9.1.2 Einfluss des Lösungsmittels auf die Stabilität der Oberflächenbeschichtung (Kapitel 3.1.1.2)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung [mg]	Gewicht nach Beschichtung [mg]	Gewicht nach Aufdehnen [mg]	Beschichtung vor Aufdehnen [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [%]
4	7,92	8,44	8,20	0,66	0,30	46,2
5	9,75	10,00	9,87	0,26	0,13	52,0
32	12,35	12,67	12,66	0,26	0,01	3,1
34	13,33	14,64	13,77	0,98	0,65	66,4
35	13,83	15,26	14,65	1,03	0,44	42,7
36	14,01	15,07	14,61	0,76	0,33	43,4
Standardabw.				0,34	0,23	21,1
Mittelwert				0,66	0,31	42,3

Tabelle 20: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel: 33,3mgPDLLA pro Milliliter Chloroform (zu S.37)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung [mg]	Gewicht nach Beschichtung [mg]	Gewicht nach Aufdehnen [mg]	Beschichtung vor Aufdehnen [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [%]
7	8,24	8,94	8,43	0,85	0,62	72,9
8	7,55	8,29	8,26	0,98	0,04	4,1
9	7,69	8,07	8,03	0,49	0,05	10,5
10	8,17	9,31	8,93	1,40	0,47	33,3
11	8,07	9,84	9,03	2,19	1,00	45,8
12	8,22	9,07	9,06	1,03	0,01	1,2
Standardabw.				0,58	0,40	28,1
Mittelwert	7,99	8,92	8,62	1,16	0,37	28,0

Tabelle 21: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel: 66,7mgPDLLA pro Milliliter Chloroform (zu S.37)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung [mg]	Gewicht nach Beschichtung [mg]	Gewicht nach Aufdehnen [mg]	Beschichtung vor Aufdehnen [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [mg / 10mg Stentgewicht]	Beschichtungsverlust [%]
14	7,82	9,15	8,59	1,70	0,72	42,1
15	7,74	8,88	8,52	1,47	0,47	30,7
16	9,52	10,89	10,44	1,44	0,47	32,8
17	9,53	11,12	10,59	1,67	0,56	33,3
18	9,20	10,87	9,95	1,82	1,00	55,1
13	8,28	9,89	9,12	1,94	0,93	47,8
Standardabw.				0,19	0,23	9,76
Mittelwert	8,68	10,13	9,54	1,67	0,69	40,30

Tabelle 22: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel: 133,3mgPDLLA pro Milliliter Chloroform (zu S.37)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung	Gewicht nach Beschichtung	Gewicht nach Aufdehnen	Beschichtung vor Aufdehnen	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[%]
13	24,02	24,50	24,51	0,20	0,00	-2,1
14	23,14	23,78	23,75	0,28	0,01	4,7
15	22,22	22,82	22,82	0,27	0,00	0,0
16	24,57	24,96	24,96	0,16	0,00	0,0
17	17,50	17,65	17,61	0,09	0,02	26,7
18	19,20	19,79	19,79	0,31	0,00	0,0
Standardabw.				0,08	0,01	10,9
Mittelwert	21,78	22,25	22,24	0,22	0,01	4,9

Tabelle 23: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel: 33,3mgPDLLA pro Milliliter Ethylacetat (zu S.37)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung	Gewicht nach Beschichtung	Gewicht nach Aufdehnen	Beschichtung vor Aufdehnen	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[%]
1	17,88	19,47	19,48	0,89	-0,01	-0,6
2	16,44	17,36	17,36	0,56	0,00	0,0
3	23,12	24,70	24,72	0,68	-0,01	-1,3
4	23,15	25,20	25,20	0,89	0,00	0,0
5	17,92	18,78	18,75	0,48	0,02	3,5
6	24,07	24,81	24,79	0,31	0,01	2,7
Standardabw.				0,23	0,01	1,9
Mittelwert	20,43	21,72	21,72	0,63	0,00	0,7

Tabelle 24: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel: 66,7mgPDLLA pro Milliliter Ethylacetat (zu S.37)

Nummer	Gewicht vor Beschichtung	Gewicht nach Beschichtung	Gewicht nach Aufdehnen	Beschichtung vor Aufdehnen	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[mg / 10mg Stentgewicht]	[%]
7	22,31	25,71	25,72	1,52	0,00	-0,3
8	24,10	25,87	25,87	0,73	0,00	0,0
9	19,77	21,43	21,39	0,84	0,02	2,4
10	21,26	22,98	22,95	0,81	0,01	1,7
11	24,34	25,88	25,88	0,63	0,00	0,0
12	18,98	20,96	20,95	1,04	0,01	0,5
Standardabw.				0,32	0,01	1,1
Mittelwert	21,79	23,81	23,79	0,93	0,01	0,7

Tabelle 25: Beschichtungsverlust in Abhängigkeit vom Lösungsmittel: 133,3mgPDLLA pro Milliliter Ethylacetat (zu S.37)

9.2 Beschichtungsabrieb bei Einwirkung von Scherkräften (Kapitel 3.1.2)

9.2.1 Abriebbestimmung von Kirschner-Drähten (Kapitel 3.1.2.1)

K-Draht	unbeschichtet	beschichtet	Beschichtung vor Implantation	Beschichtung nach Implantation	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	[%]
1	1106,1	1110,0	4,20	3,90	0,30	7,10
2	1119,3	1122,8	3,60	3,50	0,10	2,80
3	1105,7	1107,4	1,90	1,70	0,20	10,50
4	1090,9	1095,0	4,30	4,10	0,20	4,70
5	1104,6	1108,4	4,10	3,80	0,30	7,30
6	1094,4	1098,8	4,50	4,40	0,10	2,20
7	1070,1	1073,2	3,20	3,20	0,00	0,00
8	1115,7	1118,9	3,30	3,20	0,10	3,00
9	1091,9	1097,7	6,00	5,80	0,20	3,30
10	1146,8	1150,9	4,10	4,10	0,00	0,00
Mittelwert	1104,6	1108,3	3,92	3,77	0,15	4,09
Standabw.	20,5	20,4	1,06	1,04	0,11	3,36

Tabelle 26: Beschichtungsabrieb von Kirschner-Drähten (Stahl) während intramedullärer Implantation (zu S.38)

K-Draht	unbeschichtet	beschichtet	Beschichtung vor Implantation	Beschichtung nach Implantation	Beschichtungsverlust	Beschichtungsverlust
	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	[mg]	[%]
1	607,9	601,4	6,60	6,50	0,10	1,50
2	579,7	575,1	4,80	4,60	0,20	4,20
3	583,2	580,9	2,40	2,30	0,10	4,20
4	575,3	573,5	2,00	1,80	0,20	10,00
5	595,9	591,3	4,60	4,60	0,00	0,00
6	610,0	605,6	4,50	4,40	0,10	2,20
7	603,4	601,0	2,70	2,40	0,30	11,10
8	591,8	587,4	4,50	4,40	0,10	2,20
9	578,7	576,3	2,50	2,40	0,10	4,00
10	594,4	590,7	3,70	3,70	0,00	0,00
Mittelwert	592,0	588,3	3,83	3,71	0,13	3,94
Standabw.	12,5	11,7	1,44	1,47	0,09	3,82

Tabelle 27: Beschichtungsabrieb von Kirschner-Drähten (Titan) während intramedullärer Implantation (zu S.38)

9.2.2 Abriebbestimmung von Tumorendoprothesen (Kapitel 3.1.2.2)

Fettschwarz in 0,001%	0,25	0,33	0,50	0,67	1,00	1,25	1,43	1,67	2,00
Absorption bei 591,5nm	0,1545	0,2000	0,3262	0,4051	0,6080	0,8472	0,9888	1,0898	1,3620

Tabelle 28: Eichkurve Fettschwarz in Ethylacetat bei 591,5nm (n=3); zu S.39

Die Funktion der Eichkurve ($y=1,4641x+0,0308$) diene bei der weiteren Auswertung zur Berechnung der Polymermenge über den „Farbstoff-Polymer-Quotienten Q“.

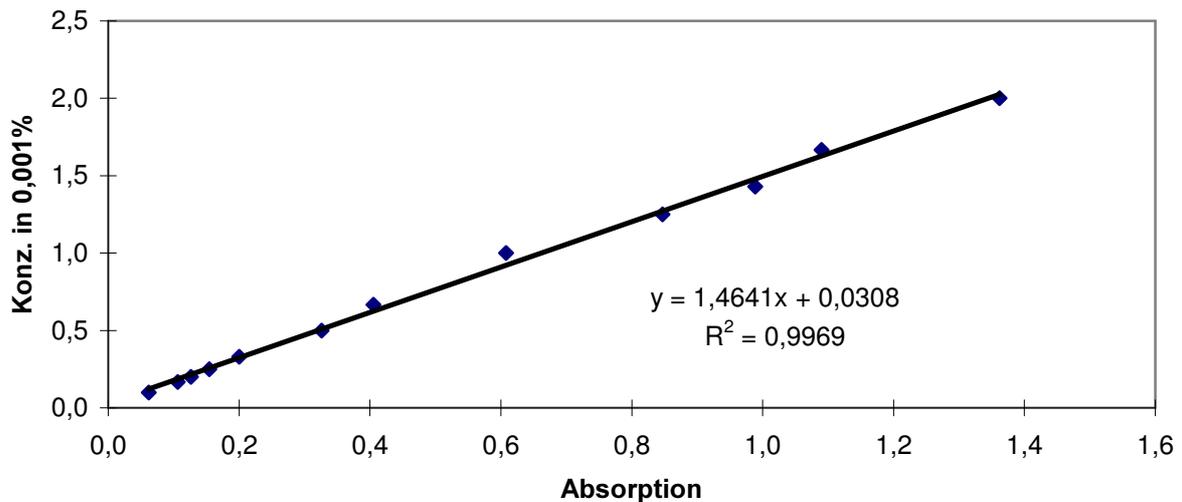


Abbildung 25: Eichkurve für Fettschwarz in Ethylacetat bei 591,5nm

Zunächst werden die sieben Prothesen ausgewertet, die nur beschichtet und anschließend eluiert wurden. Auf diese Weise kann man über die Eichkurve und den Farbstoff-Polymer-Quotienten die durchschnittliche Beschichtungsmenge pro Tumorphrothesenmodul bestimmen.

Probe	Absorption Beschichtungslösung (1:100)	Farbstoffkonzentration in der BL [mg FS / ml]	Farbstoff-Polymer-Quotient „Q“ [mg R203/mg FS]
1	0,5081	0,7747	172,1076
2	0,6252	0,9462	140,9212
3	0,4813	0,7355	181,2896
4	0,4917	0,7507	177,6125
5	0,5457	0,8298	160,6892
6	0,5818	0,8826	151,0665
7	0,5000	0,7629	174,7832
Mittelwert	0,5334	0,8118	165,4957
Standardabw.	0,0534	0,0782	15,0635

Tabelle 29: Berechnung des Farbstoff-Polymer-Quotienten aus der Absorption (nicht implantierte Prothesen); BL = Beschichtungslösung; FS = Fettschwarz (zu S.39)

Probe	Absorption der Elutionslösung (V=28ml)	Fettschwarzmenge je Prothese [mg]	PDLLA je Prothese [mg]
1	1,6087	0,6681	114,99
2	1,4885	0,6188	87,21
3	1,9503	0,8081	146,51
4	1,7494	0,7258	128,91
5	1,8174	0,7537	121,11
6	1,6852	0,6995	105,67
7	1,5241	0,6334	110,71
Mittelwert	1,6891	0,7011	116,44
Standardabw.	0,1645	0,0674	18,6500

Tabelle 30: Polyaktidmenge je Prothesenmodul vor Implantation
EL = Elutionslösung; FS = Fettschwarz (zu S.39)

Die gleiche Berechnung erfolgte für die implantierten und wieder explantierten Prothesenmodule:

Probe	Absorption Beschichtungslösung (1:100)	Farbstoffkonzentration in der BL [mg FS / ml]	Farbstoff-Polymer-Quotient „Q“ [mg R203/mg FS]
1	0,4806	0,7344	181,5426
2	0,5666	0,8604	154,9741
3	0,4648	0,7113	187,4466
4	0,5991	0,9079	1,46,8522
5	0,6519	0,9852	135,3299
6	0,5642	0,8568	155,6096
7	0,5440	0,8273	161,1726
Mittelwert	0,5530	0,8405	160,4182
Standardabw.	0,0650	0,0951	18,4552

Tabelle 31: Berechnung des Farbstoff-Polymer-Quotienten aus der Absorption (nach Implantation); BL = Beschichtungslösung; FS = Fettschwarz (zu S.39)

Probe	Absorption der Elutionslösung (V=28ml)	Fettschwarzmenge je Prothese [mg]	PDLLA je Prothese [mg]
1	1,5221	0,6326	114,84
2	1,9918	0,8252	127,88
3	1,8539	0,7686	144,08
4	1,6842	0,6991	102,66
5	1,7103	0,7098	96,05
6	1,4682	0,6105	95,00
7	1,5260	0,6342	102,22
Mittelwert	1,6795	0,6971	111,82
Standardabw.	0,1923	0,0788	18,3266

Tabelle 32: Polyaktidmenge je Prothesenmodul nach Implantation
EL = Elutionslösung; FS = Fettschwarz (zu S.39)

9.3 Beschichtungsmenge je Kirschner-Draht (Kapitel 3.2.1)

Draht	Vor Beschichtung [g]	Nach Beschichtung [g]	Beschichtung [mg]	Beschichtung pro cm ² K-Draht [mg/cm ²]
1	2,02359	2,02998	6,39	0,89
2	2,01173	2,01522	3,49	0,49
3	2,03751	2,04562	8,11	1,13
4	2,04060	2,04402	3,42	0,48
5	2,05730	2,06233	5,03	0,70
6	2,04883	2,05253	3,70	0,52
7	2,09127	2,10035	9,08	1,27
8	2,01091	2,01954	8,63	1,20
9	2,08556	2,09319	7,63	1,06
10	2,03546	2,04883	13,37	1,86
11	2,05277	2,06054	7,77	1,08
12	2,03059	2,03871	8,12	1,13
13	2,03203	2,04047	8,44	1,18
14	2,03986	2,04535	5,49	0,77
15	2,08594	2,09040	4,46	0,62
16	2,06241	2,06941	7,00	0,98
17	2,09747	2,10437	6,90	0,96
18	2,03829	2,04405	5,76	0,80
19	2,09133	2,09712	5,79	0,81
20	2,04374	2,04747	3,73	0,52
21	2,03374	2,04192	8,18	1,14
22	2,06967	2,07598	6,31	0,88
23	2,05253	2,05688	4,35	0,61
24	2,07350	2,08036	6,86	0,96
Mittelwert	2,05194	2,05853	6,58	0,92
Standardabw.	0,02526	0,02528	2,29	0,32

Tabelle 33: Beschichtungsmenge pro Kirschner-Draht (zu S.44)

9.4 Antibiotikaelution aus der Poly-D,L-Laktidbeschichtung (Kapitel 3.2.2)

	1	2	3	4	Mittelwert	Mittelwert
Zeit	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	[%]
0 min	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,0
10 min	7,83	7,61	8,05	3,53	6,76 ± 2,16	27,2 ± 9,7
1 h	8,33	8,92	9,51	3,80	7,64 ± 2,60	30,7 ± 11,9
6 h	8,87	8,61	10,58	3,87	7,98 ± 2,88	31,4 ± 10,5
24 h	9,48	9,73	11,71	4,40	8,83 ± 3,12	35,0 ± 12,1
96 h	10,33	10,70	11,94	4,34	9,33 ± 3,40	37,1 ± 14,1

Tabelle 34: Gentamicinkonzentration in der Elutionslösung (zu S.45)

	1	2	3	4	Mittelwert	Mittelwert
Zeit	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	mg/l	[%]
0 min	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00 ± 0,00	0,0 ± 0,0
10 min	0,64	0,62	0,61	1,53	0,85 ± 0,45	2,7 ± 0,9
1 h	2,26	4,58*	3,12	9,97	5,12 ± 4,22	13,0 ± 7,2
6 h	2,71	2,73	5,87	15,11	6,61 ± 5,86	18,4 ± 9,7
24 h	2,56	3,06	7,58	17,91	7,78 ± 7,12	21,2 ± 12,0
96 h	4,44	4,91	8,28	21,80	9,86 ± 8,14	28,2 ± 13,3

Tabelle 35: Teicoplaninkonzentration in der Elutionslösung (zu S.45)

* geht nicht in die Berechnung ein

9.5 Mikrobiologische Untersuchung der PDLLA-Beschichtung (Kapitel 3.2.3)

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5
1	45	79	0	16	0
2	480	12	0	12	0
3	96	2	0	18	1
4	107	7	10	0	0
5	122	99	12	0	10
6	99	111	18	20	5
7	162	39	0	22	20
8	76	31	0	28	0
9	122	78	0	29	15
10	156	42	10	21	0
Standardabw.	122,2	39,3	6,8	10,1	7,4
Mittelwert	146,5	50,0	5,0	16,6	5,1

Tabelle 36: Wachstum von *Staph. epidermidis* nach Adhäsion an Kirschner-Drähten aus Stahl (in KBE = kolonie bildende Einheiten); zu S.46

Gruppe I: unbeschichtete Kirschner-Drähte

Gruppe II: Poly-D,L-Laktid als Oberflächenbeschichtung

Gruppe III: Poly-D,L-Laktid + Gentamicin 5%

Gruppe IV: Poly-D,L-Laktid + Teicoplanin 5%

Gruppe V: Poly-D,L-Laktid + Gentamicin 1,67% + Teicoplanin 3,33%

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4	Gruppe 5
1	90	8	0	1	0
2	200	10	0	0	0
3	160	7	0	0	0
4	182	10	2	7	0
5	150	20	0	20	0
6	80	15	15	20	5
7	70	0	0	25	5
8	92	10	15	15	0
9	188	30	0	0	10
10	180	50	0	10	10
Standardabw.	50,6	14,4	6,3	9,7	4,2
Mittelwert	139,2	16,0	3,2	9,8	3,0

Tabelle 37: Wachstum von *Staph. epidermidis* nach Adhäsion an Kirschner-Drähten aus Titan (in KBE = kolonie bildende Einheiten); zu S.46

9.6 Katheter im humanen Staseversuch (Kapitel 3.2.3)

Proband	0	I	II	III	IV	V
1	85,3	91,0	91,4	1,2	63,6	7,1
2	90,6	88,0	93,5	5,9	51,5	4,1
3	90,7	94,8	90,1	3,4	86,3	8,4
4	100,5	99,1	85,5	-	114,8	12,9
Standardabw.	6,3	4,8	3,4	2,4	27,9	3,7
Mittelwert	91,8	93,2	90,1	3,5	79,1	8,1

Tabelle 38: Maximale Thrombozytenaggregation nach Kontakt mit Neugeborenenkatheter im humanen Stasemodell (zu S.51)

- 0 Nullwert des Systems
- I unbeschichtete Katheter
- II Poly-D,L-Laktid-beschichtete Katheter
- III Poly-D,L-Laktid + Iloprost 5%
- IV Poly-D,L-Laktid + PEG-Hirudin 5%
- V Poly-D,L-Laktid + Iloprost 1% + PEG-Hirudin 5%

Proband	0	I	II	III	IV	V
1	100,5	51,4	110,2	-	18,1	5,1
2	78,7	101,2	93,5	-	41,2	9,0
3	118,4	88,6	127,6	-	61,5	17,1
4	67,9	168	44,2	-	81	21,5
Standardabw.	22,5	48,6	35,9	nicht messbar	27,0	7,5
Mittelwert	91,4	102,3	93,9	nicht messbar	50,5	13,2

Tabelle 39: Maximaler Aggregationsgradient nach Kontakt mit Neugeborenenkatheter im humanen Stasemodell (zu S.51)

10 Lebenslauf

Angaben zur Person

<i>Name:</i>	Hans Gollwitzer
<i>Geburtstag und -ort:</i>	12. April 1974 in Deggendorf
<i>Familienstand:</i>	ledig
<i>Nationalität:</i>	deutsch

Schul- und Berufsausbildung

Juli 1993:	Abitur am Comenius Gymnasium Deggendorf
1993 - 1995:	Vorklinisches Studium an der TU München
Herbst 1995:	Ärztliche Vorprüfung (Physikum)
Wintersemester 1995 / 96:	Kulturaufenthalt und Sprachstudium an der Universität ESADE, Barcelona, Spanien
April 1996 - Oktober 1999:	Klinisches Studium an der TU München
Frühjahr 1997:	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (1. Staatsexamen)
1. Februar - 23. April 1999:	Aufenthalt am Cornell University Medical College New York als Austauschstudent der TU München
Herbst 1999:	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (2. Staatsexamen)
Oktober 1999 - Oktober 2000:	Praktisches Jahr am Klinikum Rechts der Isar München (Innere Medizin, Orthopädie) und am Kantonsspital Luzern (Chirurgie)
Herbst 2000:	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (3. Staatsexamen)
Seit Januar 2001:	Arzt im Praktikum an der Klinik und Poliklinik für Orthopädie und Sportorthopädie der TU München, Klinikum rechts der Isar München

11 Danksagung

Danken möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Bernd Gänsbacher, der es mir ermöglichte, am Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung die vorliegende Dissertation durchzuführen.

Ganz besonders herzlicher Dank gilt Herrn Prof. Dr. rer. nat. Dr. med. habil. Axel W. Stemberger, meinem Doktorvater, für die ausgezeichnete und ausgesprochen kompetente Betreuung während der gesamten Arbeit.

Herzlich bedanken möchte ich mich auch bei Frau PD Dr. med. Ines Kappstein für die hilfreichen Ratschläge zur Durchführung der mikrobiologischen Untersuchungen. Mein besonderer Dank gilt dabei auch Frau Vicky Vatou und Frau Moussi Chihaja für die engagierte Unterstützung.

Außerdem gilt mein Dank allen Mitarbeiter der Biomechanik der Orthopädischen und Sportorthopädischen Klinik und Poliklinik, die bei den mechanischen Untersuchungen hilfreich zur Verfügung standen.

Weiterhin möchte ich Frau Dipl.-math. Raymonde Busch für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung ganz herzlich danken.

Unterstützung fand ich bei allen Mitarbeitern des Institutes für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung in einer guten Zusammenarbeit.

Für die Unterstützung und die mir entgegengebrachte Geduld meiner Familie und meiner Freunde während dieser Zeit bin ich sehr dankbar.

Hans Gollwitzer