

Sonderheft Medizintechnik

Hinrich Habeck Vorwort	Seite 3	Christian Stark, Felix Fiedler, Stefan Müller Optische Konzentrationsbestimmung von Laktat in Blutplasma mittels NIR-Spektroskopie	Seite 41
Henrik Botterweck, Stefan Fischer Der BioMedTec Wissenschaftscampus Lübeck - mehr als Bio, Med und Tec?	Seite 4	Benjamin Weber, Bodo Nestler Kalibration von Pulsoxymetern durch direkte Spektralmodulation	Seite 45
Christian Buj, Jens Horstmann, Ralf Brinkmann Kontaktfreie Photoakustische Tomographie	Seite 7	Matthias Weber, Klaas Bente, Anselm v. Gladiß, Matthias Graeser, Thorsten M. Buzug Magnetische Partikelbildgebung mit einer feldfreien Linie	Seite 50
Felix Fiedler, Christian Stark, Stefan Müller Magnetophorese zur Trennung der Blutbestandteile für die optische Bestimmung von Laktat	Seite 10	Christian Bollmeyer, Martin Mackenberg, Hartmut Gehring, Horst Hellbrück Entwicklung einer kompakten Sensorplattform für den prototypischen Einsatz in der Medizintechnik	Seite 53
Jens Hagenah, Michael Scharfschwerdt, Achim Schweikard Von Herzchirurgie und Support Vector Maschinen: Wie ein lernender Algorithmus helfen kann, Herzklappenprothesen zu individualisieren	Seite 14	Jürgen Grein, Mathias Beyerlein Ophthalmotechnologie in der Biomedizintechnik – „Sehen“ meets „Technik“	Seite 58
Stephan Klein, Lutz Wunsch, Sean Luenz, Hala El-Shaffey, Franziska Hainer Eine neue Repositionshilfe für die Kinderchirurgie	Seite 19	Bodo Nestler Horizontenerweiterung: Ein Forschungssemester am Technion in Haifa	Seite 60
Tobias Klepsch, Henrik Botterweck Gefäß-Gewebe-Transport von Wirkstoffen beschichteter Implantate: Modellierung der Transportvorgänge	Seite 22	Stephan Klein, Farina Steinert, Wen-Huang Wang, Stefanie Wichmann, Heike Wachenhausen, Folker Spitzenberger, Rolf Granow Online-Lehre für die Medizintechnik im Bereich Regulatory Affairs	Seite 63
Jan Krieger, Christian Damiani, Christian Hübner, Stephan Klein Gefäß-Gewebe-Transport von Wirkstoffen beschichteter Implantate: Phänomenologische Modellierung	Seite 26	Jürgen Tchorz, Markus Kallinger Der Studiengang Hörakustik an der FH Lübeck	Seite 66
Lars Kreutzburg, Vit Dolezal, Christian Hübner Dynamik nanoskaliger Partikel an Gefäßwänden	Seite 30	Silke Venker, Thorsten M. Buzug, Stephan Klein Der gemeinsame internationale Master-Studiengang Biomedical Engineering in Lübeck	Seite 69
Roma Kusche, Steffen Kaufmann, Ankit Malhotra, Paula Klimach, Martin Ryschka Wearable zur Langzeitbestimmung der arteriellen Gefäßsteifigkeit	Seite 34	Ullrich Wenkebach Kurz zurücklehnen und dann weiter... vorgestellt von Henning Schwarz Neuerscheinungen	Seite 71 Seite 74
Benjamin Redmer, Bodo Nestler Optische Messung von Hämoglobinderivaten in nicht-hämolyisiertem humanem Vollblut	Seite 38	Impressum	Seite 78



20. Jahrgang - März 2017

ISSN: 1618-5528

impulse

Aus Forschung und Lehre



FACH
HOCHSCHULE
LÜBECK

University of Applied Sciences

www.fh-luebeck.de

GEFÄSS-GEWEBE-TRANSPORT VON WIRKSTOFFEN BESCHICHTETER IMPLANTATE: PHÄNOMENOLOGISCHE MODELLIERUNG

JAN KRIEGER, CHRISTIAN DAMIANI, CHRISTIAN HÜBNER, STEPHAN KLEIN

Einleitung

Das Teilprojekt A des gemeinsamen Forschungskollegs LUMEN der Universität zu Lübeck und der Fachhochschule Lübeck ist durch die Frage motiviert, wie zukünftige Entwicklungen von Beschichtungen für orthopädische Implantate einfacher, schneller und kostengünstiger durchgeführt werden können. Der Ansatz hier ist, den Aufwand des Zulassungsprozesses zu reduzieren, indem für Hersteller von orthopädischen Implantaten eine Methode entwickelt wird, die die benötigte Anzahl der sehr zeit- und kostenintensiven Tierversuche reduziert [1].

Hierzu wurde im Rahmen des Projektes ein Prüfstand entwickelt, an dem verschiedene künstliche Materialien auf ihre Befähigung untersucht werden, biologisches Gewebe zu simulieren.

Mit diesen Materialien sollen im nächsten Schritt Situationen nachgebildet werden wie sie z.B. bei der Einheilung von orthopädischen Implantaten vorkommen. Auf diese Art und Weise können z.B. Freisetzungskarakteristika von Arzneistoffen oder Beschichtungsmethoden untersucht werden, ohne dass es notwendig ist, Tierversuche durchzuführen.

Eine Voraussetzung hierfür ist, dass die entscheidenden Parameter der entwickelten Materialien (Diffusionswiderstand, pH-Wert, Durchmesser, Temperatur), die zur Substitution der biologischen Gewebe verwendet werden, mit diesen möglichst gut übereinstimmen.

Grundlagen

Beschichtete Implantate geben Wirkstoffe in ihre Umgebung ab, welche Heilungs- und Anwachsprozesse unterstützen [2] oder die Besiedlung der Implantatoberfläche mit Mikroorganismen unterdrücken [3]. Obwohl die Mechanismen der Arzneistofffreisetzung und des Transportes in das umliegende Gewebe nur in Grundzügen bekannt sind, haben beschichtete orthopädische Implantate bereits ein breites Anwendungsspektrum in der Zahnheilkunde, der Orthopädie und bei Stents gefunden [4, 5, 6]. In-vitro Untersuchungen zur Wirkstofffreisetzung korrelieren nur schlecht mit der in-vivo Freisetzung [7]. Standardverfahren zur Untersuchung der Freisetzung bestimmen die Stoffmengen lediglich makroskopisch, eine Übertragung auf die Realität und die Optimierung der Beschichtungen und Stoffmengen ist hierdurch praktisch nicht möglich.

In diesem Projekt wird die Freisetzung der Wirkstoffe von der Implantatoberfläche, die anschließende Diffusion durch eine Barriere (Blutgerinnsel, Bindegewebe, Knochenmatrix, etc.) und schließlich der fluidische (Ab)transport der freigesetzten Stoffe durch kapillare Gefäßen betrachtet und mit Hilfe eines Prüfstandes simuliert. Kernstück der Untersuchungsmethode ist eine künstliche Diffusionsbarriere, die in dem Aufbau die Rolle des biologischen Gewebes übernimmt, welches in direktem Kontakt mit der Implantatoberfläche steht. Hierzu werden zurzeit verschiedene Materialien wie Hydrogele im Prüfstand vermessen und die Diffusionswiderstandswerte mit Werten von biologischem Gewebe wie frischem Blut, geronnenen Blut oder Bindegewebe verglichen. Auf diese Art und Weise wird eine Datenbank mit Materialien und Randparametern wie Durchmesser, Temperatur oder pH-Wert erstellt, die es zukünftig erlauben soll, die Wirkstofffreisetzung und -ausbreitung in-vitro mit wesentlich besserer in-vivo Korrelation zu bestimmen und somit die Anzahl der benötigten Tierversuche zu reduzieren.

Material und Methoden

Kernstück des Prüfstands ist eine Durchflusszelle mit wechselbarem Einsatz. Je nach gewählter Untersuchungsmethode können beschichtete Implantatdummies oder die Wirkstoffdiffusion aus einem Reservoir untersucht werden. Abbildung 1 zeigt die beiden Freisetzungsprinzipien schematisch. In Variante a) wird ein Implantatdummy im Vorfeld mit dem Testwirkstoff beschichtet und anschließend mit der Hydrogelmembran vom Blutfluss abgetrennt. In Variante b) erfolgt die Diffusion des Testwirkstoffes aus einem Reservoir durch die aufgelegte Hydrogelmembran in den Blutfluss.

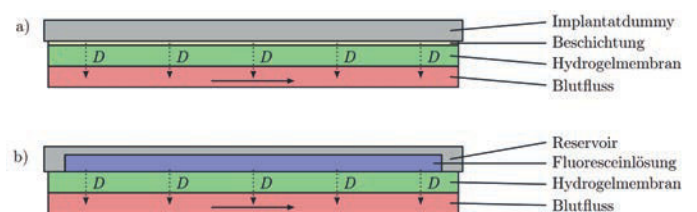


Abbildung 1. Der Probenaufbau ist abhängig von der gewählten Untersuchungsmethode. a) Diffusion von einer beschichteten Implantatoberfläche. b) Diffusion aus einem Wirkstoffreservoir. Bei beiden Varianten erfolgt die Diffusion des Testwirkstoffes durch eine Hydrogelmembran, die in dem Versuchsaufbau biologisches Gewebe simuliert.

Als Testwirkstoff wird in beiden Varianten Fluorescein verwendet, da sich dieses sehr gut spektroskopisch detektieren lässt. Die Detektionsmethode wird weiter unten im Detail beschrieben. Die Fluoresceinlösung aus Variante b) basiert auf phosphatgepufferter Lösung (PBS) und hat je nach Verdünnungsstufe eine Konzentration von zwischen 1 und 100 μM . Für den simulierten Blutfluss wird ebenfalls phosphatgepufferte Lösung (10 ml im Schlauchsystem) verwendet. Die Durchflusszelle ist im Schnitt in Abbildung 2 dargestellt, Abbildung 3 zeigt ein Foto.

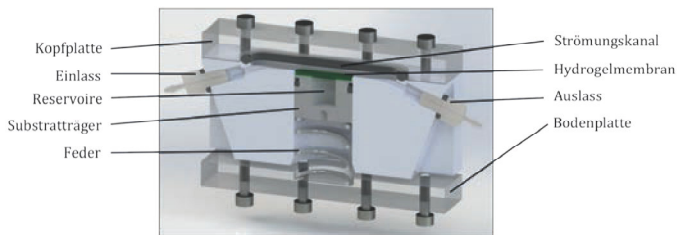


Abbildung 2. CAD-Skizze der Durchflusszelle. Kopf- und Bodenplatte lassen sich vom Hauptkörper abnehmen um den Substratträger einzufügen. Dieser wird von einer Feder in Position gehalten und nach oben von der Hydrogelmembran abgeschlossen. Die Hydrogelmembran hat direkten Kontakt zum Strömungskanal. Die Diffusion der Testwirkstoffe erfolgt aus dem Reservoir bzw. der Oberfläche des Implantatdummies (hier nicht dargestellt) durch die Hydrogelmembran in den Strömungskanal. Durch diesen zirkuliert über Schläuche am Einlass und Auslass das Zirkulationsmedium (10 ml PBS).

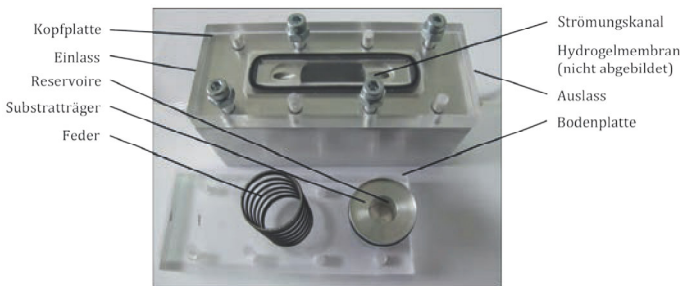


Abbildung 3. Foto der Durchflusszelle im demontierten Zustand. Der Substratträger (hier in der Variante b)) kann von unten in den Hauptkörper eingeschoben werden und wird anschließend durch die Feder und die Bodenplatte fixiert. Die Hydrogelmembran ist auf dem Foto nicht dargestellt.

Abgebildet ist die Variante b) mit separatem Reservoir. Dieses wird nach oben von der Hydrogelmembran abgeschlossen und kann von unten in den Hauptkörper eingeführt werden. Die Bodenplatte und die Feder fixieren den Substratträger. Die Kopfplatte ist ebenfalls abnehmbar, um die Durchflusszelle zwischen den Experimenten leichter reinigen zu können. Der Strömungskanal ist durch einen O-Ring abgedichtet und endet an zwei Schlauchtüllen mit $\frac{1}{4}$ "-28 Feingewinde, die als Einlass und Auslass dienen.

Bei der Befüllung des Reservoirs mit dem Testwirkstoff (Fluoresceinlösung) muss darauf geachtet werden, das Reservoir komplett zu befüllen, um sicher zu stellen, dass der Testwirkstoff auch Kontakt mit der Hydrogelmembran hat. Die Hydrogelmembran wird durch zwei Lippen nach oben hin fixiert. Damit wird verhindert, dass sie von der Feder in den Strömungskanal gedrückt wird. Das Fenster zwischen Hydrogelmembran und Strömungskanal, durch das der Diffusionstransport erfolgen kann, ist ca. $2,3 \text{ cm}^2$ groß.

Der Substratträger ist so konstruiert, dass er Hydrogelmembranen unterschiedlicher Dicke aufnehmen kann (Minimum 1 mm), um somit biologische Membranen unterschiedlicher Dicke zu simulieren.

Um die Hydrogelmembran in ihren Eigenschaften zu variieren, können allerdings noch weitere Parameter verändert werden. So kann z.B. im Herstellungsprozess das Ausgangsmaterial (Monomermischung) oder das Mischungsverhältnis verändert werden. Die Hydrogelmembranen bestehen immer aus einer Monomermischung die mit einem UV-Initiator vermischt wird. Im Anschluss wird das Gemisch in eine Form gegossen und im UV-Ofen bei 18 W Heizleistung 60 min polymerisiert. Bevor die ausgehärtete Hydrogelplatte verwendet werden kann muss sie 24 Stunden in destilliertem Wasser quellen. Anschließend kann die benötigte Größe einfach ausgestanzt werden. Ein Foto der Hydrogelplatte vor dem Aushärtungsprozess im UV-Ofen ist in Abbildung 4 zu sehen.



Abbildung 4. Links: Substratträger mit aufgelegter 2 mm Hydrogelmembran und 2mm Hydrogelmembran. Der Durchmesser beträgt jeweils 23 mm, die Dicke jeweils 2 mm. Rechts: Das Monomer-UV-Initiator Gemisch wird wie hier abgebildet in eine Form gegossen und anschließend im 18 W UV-Ofen 60 Min polymerisiert. Am Anschluss muss die Hydrogelplatte 24 Stunden in destilliertem Wasser quellen. Die Stücke, die für Messungen gebraucht werden, können dann ausgestanzt werden.

Der Durchmesser der Hydrogelmembranen, die auf den Substratträger aufgelegt werden, beträgt immer 23 mm. Abbildung 4 (rechts) zeigt einen Substratträger mit 2 mm Hydrogelmembran.

Die Detektionsmethode des diffundierten Testwirkstoffes basiert auf der Messung von Fluoreszenz. Aus diesem Grund muss z.Z. Fluorescein als Testwirkstoff verwendet werden. Die Unterscheidung des Diffusionsverhaltens von Fluorescein von tatsächlich verwendeten Arzneistoffen wie Gentamicin

unterscheidet wird noch untersucht. Für die Zukunft ist aber geplant in einer Kooperation mit dem Institut für Physik der Universität zu Lübeck, an dem unter anderem das LUMEN Teilprojekt C bearbeitet wird, tatsächlich verwendete Wirkstoffe mit fluoreszierenden Molekülen zu markieren und so deren Transport durch die Diffusionsbarriere zu messen.

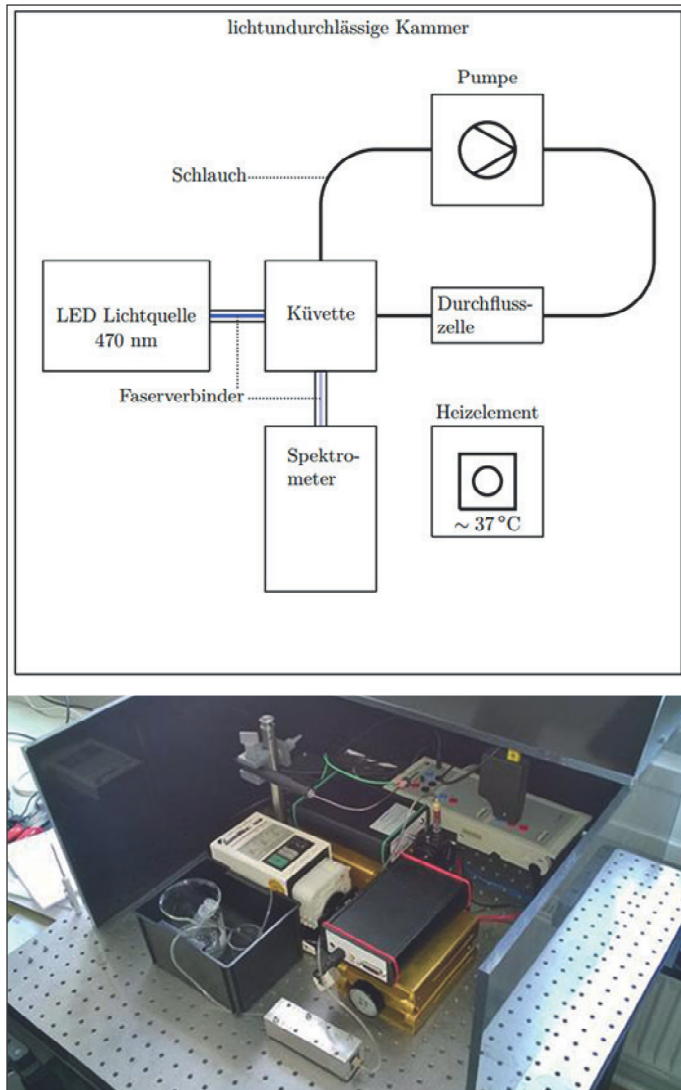


Abbildung 5. Oben: Skizze des Versuchsaufbaus. Die Durchflusszelle ist Teil des geschlossenen Kreislaufs. Die Detektion des Fluoresceins erfolgt mit Hilfe einer LED Lichtquelle mit 470 nm Wellenlänge, die die Moleküle zur Fluoreszenz anregt, und eines Spektrometers. Der gesamte Aufbau ist gegen Licht und Wärme isoliert. Unten: Foto des Versuchsaufbaus. Grün die LED-Lichtquelle, rot das Spektrometer. Im Vordergrund gut zu erkennen ist die Durchflusszelle mit angeschlossenen Schläuchen. Im Hintergrund die Regelung für die Temperaturkontrolle.

Der Prüfstand ist als geschlossenes System konstruiert. Dies bedeutet, dass das Medium, welches als Blutersatzstoff eingesetzt wird (10 ml PBS), durch die Durchflusszelle zirkuliert. Ebenfalls Teil des Kreislaufs ist die Durchflussküvette, die zusammen mit einer UV-Lichtquelle (AvaLight 475, Avantes, Niederlande) und

einem Spektrometer zur Detektion der Fluoresceinmoleküle dient. Die UV-Lichtquelle regt im Durchflussmedium die Fluoresceinmoleküle zur Fluoreszenz an. Das Fluoreszenzlicht wird 90° versetzt zur Lichtquelle über eine Faser zum Spektrometer (Avantes 2048-L, Avantes, Niederlande) geleitet. Über einen PC werden die Intensitätsdaten des Spektrometers gesammelt und können später als Intensitätskurve über der Zeit dargestellt werden. Um eine Verfälschung der erhobenen Daten durch Streulicht von außen zu vermeiden, befindet sich der gesamte Aufbau in einer UV-VIS undurchlässigen Kammer. Diese sorgt im Zusammenspiel mit einem geregelten Heizelement außerdem für eine konstante Temperatur von 37 °C innerhalb der Kammer. Der gesamte Aufbau ist als Skizze (oben) und als Foto (unten) in Abbildung 5 zu sehen

Ergebnisse

Mit dem Prüfstand wurden bereits Messungen an verschiedenen Hydrogelmembranen durchgeführt. In Abbildung 6 ist das Diffusionsprofil von 500 µl 1µM PB-Fluoresceinlösung durch eine 2 mm dicke Hydrogelmembran dargestellt. Die Kurve zeigt einen sigmoiden Verlauf was darauf hinweist, dass die Hydrogelmembran ca. 4,5 Stunden benötigt bis sie mit Fluorescein gesättigt ist und erst dann ihr volles Transportpotential entfaltet. Der Wendepunkt der Kurve ist nach ca. 6 Stunden. Nach 20 Stunden ist ein Gleichgewicht zwischen Reservoir und Zirkulationsmedium erreicht. Die Fluoresceinkonzentration steigt nicht weiter.

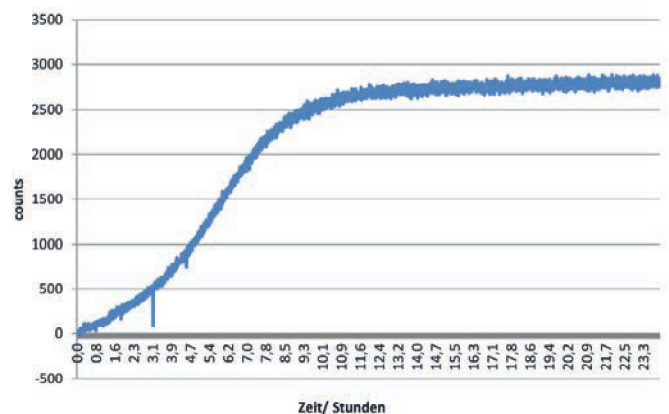


Abbildung 6. Freisetzungskurve von 500 µl 1µM PB-Fluoresceinlösung durch eine 2 mm dicke Hydrogelschicht in 10 ml PBS Zirkulationsmedium. Die Integrationszeit betrug bei der Messung 3 Sekunden, das Averaging 2. Die Messzeit betrug nahezu 24 Stunden. Die Temperregelung war nicht im Betrieb.

Ausblick

Um die Diffusionswerte der Hydrogelmembranen mit denen von biologischem Gewebe vergleichen zu können, ist es auf Grund der sehr schlechten Datenlage in der Literatur notwendig,

selbst die Diffusionseigenschaften der wichtigsten Arzneistoffe und Testwirkstoffe (Fluorescein) durch biologisches Gewebe zu bestimmen. Hierzu wird zurzeit eine neue Durchflusszelle entwickelt, die es unter anderem erlaubt, die Diffusion von Wirkstoffen durch Plättchen aus geronnenem Blut zu messen.

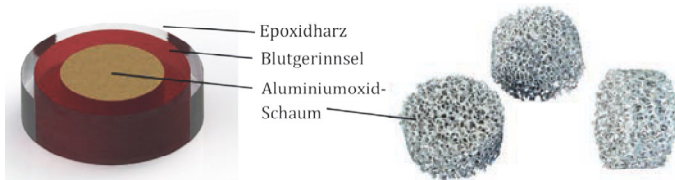


Abbildung 7. Links: Um die mechanische Stabilität der Blutgerinnsel zu erhöhen, werden diese um einen Kern aus Aluminiumoxid-Schaum herum aufgebaut. Eine weitere Ummantelung mit Epoxidharz sorgt dafür, dass der Prüfkörper in die Durchflusszelle eingespannt werden kann, ohne das Blutgerinnsel mechanisch zu beanspruchen oder zu beschädigen. Rechts: Beispielbild von Aluminiumoxid-Schaum-Proben, die den selbst hergestellten Blutgerinnseln Struktur geben und sie damit mechanisch stabilisieren.

Um die Arbeit mit den fragilen Blutgerinnseln zu erleichtern, wird hierzu eine Stützstruktur aus inertem Aluminiumoxid-Schaum verwendet, in deren Poren Blutkonserven zur Gerinnung gebracht werden. Das Prinzip und ein Beispielfoto des Aluminiumoxid-Schaums ist in Abbildung 7 dargestellt. Die neue Durchflusszelle befindet sich in der Fertigung. Ein CAD-Modell ist in Abbildung 8 dargestellt.

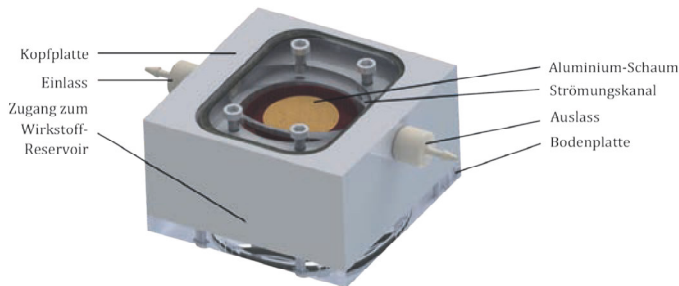


Abbildung 8. Weiterentwickelte Durchflusszelle, die auch für Diffusionsversuche an biologischen Proben konstruiert ist. Im Inneren ist das eingesetzte Blutgerinnsel mit Aluminiumoxid-Schaum-Kern erkennbar.

Danksagung

Diese Publikation ist ein Ergebnis der laufenden Arbeiten in dem vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderten Promotionskolleg LUMEN - Luebeck Medical Engineering der Fachhochschule Lübeck und der Universität zu Lübeck, mit der Förderkennziffer 13 GW 0172 B.

Literatur

[1] Anderegg, C. et al: A critical look at animal experimentation. In: The Medical Research Modernization Committee 2006, 1-34

[2] Van der Stok, J. et al: Osteostatin-Coated Porous Titanium Can Improve Early Bone Regeneration of Cortical Bone Defects in Rats. In: Tissue Engineering Part A., May 2015, 21(9-10): 1495-1506. doi:10.1089/ten.tea.2014.0476

[3] Zhao, G, Zhong, H, Zhang, M, Hong, Y: Effects of antimicrobial peptides on Staphylococcus aureus growth and biofilm formation in vitro following isolation from implant-associated infections. In: Int J Clin Exp Med., Jan 2015, 15;8(1): 1546-51

[4] Uhm, Sh. Et al: Fabrication of bioactive, antibacterial TiO₂ nanotube surfaces, coated with magnetron sputtered Ag nanostructures for dental applications. In: J Nanosci Nanotechnol., Oct 2014, 14(10): 7847-54

[5] Jennings, Ja. et al.: Novel Antibiotic-loaded Point-of-care Implant Coating Inhibits Biofilm. In: Clin Orthop Relat Res., Jul 2015, 473(7): 2270-82. doi: 10.1007/s11999-014-4130-8

[6] Bedair, Tmm. et al.: Effects of interfacial layer wettability and thickness on the coating morphology and sirolimus release for drug-eluting stent. In: J Colloid Interface Sci., Aug 2015, 24, 460: 189-199. doi: 10.1016/j.jcis.2015.08.051

[7] Seidlitz, A. et al.: In vitro study of sirolimus release from a drug-eluting stent: Comparison of the release profiles obtained using different test setups. In: Eur J Pharm Biopharm., Jun 2015, 93: 328-38. doi: 10.1016/j.ejpb.2015.04.016

Autoren

Jan Krieger, M.Sc.

Fachhochschule Lübeck
Medizinische Sensor- und Gerätetechnik
(korrespondierender Autor)

Mönkhofer Weg 239
23562 Lübeck

E-Mail: jan.krieger@fh-luebeck.de

Christian Damiani

Fachhochschule Lübeck
Medizinische Sensor- und Gerätetechnik

Prof. Dr. rer. nat. Christian Hübner

Universität zu Lübeck
Institut für Physik

Prof. Dr.-Ing. Stephan Klein

Fachhochschule Lübeck
Medizinische Sensor- und Gerätetechnik

bildlich gesprochen, vom Kopf zu den Füßen, indem sie nach Kopfverletzungen und Verletzungen der Wirbelsäure, nach Thoraxverletzungen und solchen des Abdomens schließlich mit Verletzungen der Extremitäten enden. Jedes Kapitel ist zudem in sich strukturiert. Stets folgt einer Beschreibung der jeweiligen Anatomie eine Analyse der Verletzungen und, wo möglich, ein Abschnitt zur Prävention. Den Schluß bilden jeweils eine Zusammenfassung mit Aufgaben und ein zumeist umfangreiches Literaturverzeichnis. Am Ende des Buches finden sich die Lösungen der gestellten Aufgaben sowie ein vergleichsweise kurz gehaltenes Sachverzeichnis. Der untadelige Text wird, fast überflüssig zu betonen, durch eine Vielzahl sehr anschaulicher Bilder und Graphiken unterstützt. Selbst der Einband unterscheidet sich wohltuend von so mancher heute leider immer öfter anzutreffenden Seitenverpackung. Fest, robust und dauerhaft tritt dieser Band dem Leser entgegen, der ihn getrost nach Hause tragen kann in der Gewißheit, eine Fülle an Inhalt schwarz auf weiß zu besitzen.

IMPRESSUM

HERAUSGEBER

Präsidium der Fachhochschule Lübeck
Mönkhofer Weg 239
23562 Lübeck
www.fh-luebeck.de

REDAKTION

Autoren/-innen
Schlussredaktion:

Prof. Dr.-Ing. Stephan Klein
Labor für Medizinische Sensor- und Gerätetechnik
Fachhochschule Lübeck
www.msgt.fh-luebeck.de

Frank Mindt, M.A.
Pressestelle
Fachhochschule Lübeck
Telefon: 0451 300 - 5305
Fax: 0451 300 - 5470
E-mail: presse@fh-luebeck.de

SATZ UND LAYOUT

Thowo - Thorben Wolkowski
E-mail: info@thowo.de
www.thowo.de

FOTOS

Autoren/-innen, Pressestelle

ISSN 1618 5528

AUFLAGE
600 Exemplare