

DIETMAR WERKL

UNTERSUCHUNGEN ZUM EINSATZ VON
KUNSTSTOFFEN IN GERÄTEN ZUR MESSUNG
BIOLOGISCHER FLÜSSIGKEITEN

DIPLOMARBEIT

FH
HS
K

BETREUUNG UND BEGUTACHTUNG: DR. H. KRONEIS
DR. H. OFFENBACHER
DR. H. RÜTHER
DR. B. SCHAFFAR
W. D. STEINBÖCK

INSTITUT FÜR WERKSTOFFKUNDE UND -PRÜFUNG DER
KUNSTSTOFFE
MONTANUNIVERSITÄT LEOBEN

32.765

SEPTEMBER 2000





Vorstand: o.Univ.Prof. Dipl.-Ing. Dr.mont. Reinhold W. Lang, Franz-Josef-Straße 18, A-8700 Leoben

Diplomarbeit

für Herrn cand. ing. Dietmar WERKL

Thema: Untersuchungen zum Einsatz von Kunststoffen in Geräten zur Messung biologischer Flüssigkeiten

Aufgabenstellung:

Kunststoffe werden in den letzten Jahrzehnten in zunehmendem Maße auch im medizinisch-technischen Bereich eingesetzt. Häufig kommen sie dabei mit Körperflüssigkeiten in Kontakt, sodass ein besseres Verständnis der spezifischen Wechselwirkungen zwischen Kunststoffen bzw. Kunststoffoberflächen und derartigen Körperflüssigkeiten von zentraler Bedeutung für die Verbesserung der Funktionsfähigkeit von Kunststoffprodukten in derartigen Anwendungen ist.

Eine spezielle Anwendung von Kunststoffen in der Medizintechnik sind Blutanalysegeräte. Im Rahmen der Diplomarbeit sollen daher die Wechselwirkungen zwischen verschiedenen Kunststoffen (Polyethylen, weichmacherhaltiges Polyvinylchlorid, Polytetrafluorethylen, Silikonelastomer, Acrylnitril-Butadien-Copolmer) und Blut systematisch untersucht werden. Dazu sind geeignete Prüfmethode auszuwählen und anzuwenden. Die Ergebnisse der Arbeit sind in übersichtlicher Form darzustellen und zu diskutieren, wobei die dazu bereits existierende Literatur in angemessener Weise zu berücksichtigen ist.

Leoben, 18.03.1999

(o. Univ.-Prof. Dr. R.W. Lang)

(Dietmar Werkl)

DANKSAGUNG

Ich bedanke mich bei Herrn. O. Univ. Prof. Dipl.-Ing. Dr. Reinhold W. Lang, Vorstand des Instituts für Werkstoffkunde und –prüfung der Kunststoffe an der Montanuniversität Leoben, für die Möglichkeit der Durchführung, die freundliche Unterstützung sowie für die Durchsicht dieser Arbeit.

Für die ständige Hilfestellung bei wissenschaftlichen und organisatorischen Fragen sowie für die kollegiale Betreuung und aufmerksames Korrekturlesen gilt mein besonderer Dank Herrn Dr. Helmut Offenbacher, Herrn Dr. Herbert Kroneis, Herrn Dr. Horst Rüther, Herrn Dr. Bernhard Schaffar und Herrn Wolf-Dietrich Steinböck. Ihre Bereitschaft mir über jeden Bereich der Anwendung umfassende Auskunft zu geben, hat die Konkretisierung dieses umfangreichen Themas sehr erleichtert.

Abschließend sei an dieser Stelle noch Herrn Walter Rath für die fachkundige Erstellung der ausgezeichneten Rasterelektronenmikroskop Aufnahmen gedankt. Ein herzlicher Dank für aufmerksames und mühevollles Korrekturlesen gilt Herrn Dipl.-Ing. Christian Weigl.

ERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Diplomarbeit selbstständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt und keine weiteren als die zitierten Quellen verwendet habe.

Graz, September 2000



(Dietmar Werkl)

Inhaltsangabe

Kurzfassung	III
Abstract	IV
1 Einleitung	1
2 Problemstellung und Zielsetzung	2
3 Hintergrund	4
3.1 Das Blut	4
3.1.1 Blutbestandteile	4
3.1.2 Plasmaproteine	5
3.1.3 Blutgerinnung	6
3.2 Biomaterialien	7
3.2.1 Biokompatibilität	8
3.2.2 Charakterisierung der Biokompatibilität	11
3.2.3 Hämokompatibilität	13
3.2.4 Degradation und Resorption	17
4 Grundlagen	19
4.1 Adhäsion	19
4.1.1 Spezifische und nichtspezifische Adhäsion	19
4.1.2 Hydrophilie und Hydrophobie	20
4.1.3 Oberflächenenergie	21
4.2 Oberflächen	26
4.2.1 Charakterisierung der Oberfläche von Biomaterialien	26
4.2.2 Verbesserung der Hämokompatibilität	30
4.3 Kunststoffe in der Medizintechnik	33
4.3.1 Polytetrafluorethylen	33
4.3.2 Polyethylen	33
4.3.3 Acrylnitril/ Butadien Copolymer	34
4.3.4 Silikonkautschuk	34
4.3.5 Weichgemachtes Polyvinylchlorid	35

5	Methodik und Experimentelles	37
	5.1 Auswahl der Methode	39
	5.2 Modifizierte Kapillarmethode	41
	5.3 Werkstoffe	46
	5.4 Verwendete Flüssigkeiten	47
	5.5 Versuchsdurchführung	48
	5.5.1 Probenkonditionierung	48
	5.5.2 Benetzung mit Blut	49
	5.5.3 Kapillarmessung	50
	5.5.4 Reinigungslösungen	51
	5.6 Rasterelektronenmikroskopie	52
	5.6.1 Probenpräparation	53
6	Ergebnisse	55
	6.1 Unbenetzte Materialien	55
	6.2 Benetzte Materialien	58
	6.3 Benetzte Materialien nach der Reinigung mit Waschlösungen	65
	6.4 Rasterelektronenmikroskopie	70
7	Diskussion	81
	7.1 Polytetrafluorethylen	82
	7.2 High Density Polyethylen	83
	7.3 Barex®	83
	7.4 Silikonkautschuk	85
	7.5 Tygon®	85
8	Zusammenfassung	87
	Literatur	93

Kurzfassung

Kunststoffe, die in Analysegeräten zur Messung biologischer Flüssigkeiten eingesetzt werden, unterliegen besonderen Anforderungen. Der regelmäßig wechselnde Kontakt mit biologischen Flüssigkeiten wie Blut-Plasma oder Urin stellt eine außergewöhnliche Beanspruchung für das Material dar. Auch eine Veränderung der Flüssigkeiten durch das Material kann beobachtet werden. Völlig inerte Werkstoffe, die keinerlei Wechselwirkungen mit der Flüssigkeit eingehen, sind technisch nicht zu realisieren. Die Mechanismen der Wechselwirkungen zu kennen, ist daher die Grundlage eines gezielten Einsatzes von Kunststoffen für diese spezielle Anwendung.

Die Untersuchungen des Einsatzes wurden an 5 häufig in Analysegeräten eingesetzten Kunststoffen durchgeführt. Es wurde auf eine breite Streuung des Materialtyps geachtet, um allgemeine Aussagen über deren Einsatz treffen zu können. Gewählt wurden die zwei teilkristallinen Polymere Polytetrafluorethylen (PTFE) und Polyethylen (PE), ein Copolymer aus Acrylnitril und Butadien (Barex®), ein Polyvinylchlorid-weich (Tygon®) und ein Silikon-Kautschuk. Untersucht wurde die Benetzbarkeit und die Ablagerung von Proteinen. Beides sind Indikatoren für die Wechselwirkung zwischen Material und biologischer Flüssigkeit.

Zur Messung der Proteinbeschichtung wurde die modifizierte Kapillarmethode verwendet. Dabei wurde der Kontaktwinkel zwischen fester Oberfläche und Flüssigkeit bestimmt, indem unterschiedliche blutbenetzte Materialien als Kapillaren mit destilliertem Wasser vermessen wurden. Diese Ergebnisse wurden mit den Aufnahmen der Rasterelektronenmikroskopie verknüpft.

Für den Einsatz in Analysegeräten zeigen sich stark hydrophile Materialien als am besten geeignet. Hydrophile Oberflächeneigenschaften reduzieren die Wechselwirkung mit Blut, minimieren die Ablagerungen und weisen die geringste Adhäsionsarbeit von Proteinen auf.

Abstract

Polymers used in blood analysers have to fulfil specific requirements. A material can be considered as blood-compatible when its interaction with blood does not provoke any damage of blood cells or any change in the structure of plasma proteins. The products must maintain their function effectively in an aggressive environment over the desired period of time. Predictions on the interactions between the material surface and the adsorbed proteins can only be formulated by having an exact knowledge of the processes taking place at the interface. Part of this diploma thesis is aimed at choosing material parameters that dominate these processes, building a classification of materials already used in the blood analysers, and helping to choose new materials on the basis of these parameters.

The study has been carried out on five different polymers: PTFE, HDPE, Barex®, silicon- rubber and Tygon®. The free surface energy of the material is the driving force for adsorbing plasma proteins. Several methods are available to determine this physical parameter of polymer surfaces. Another parameter is the degree of protein layer deposition. The quantity of plasma proteins irreversibly adsorbed onto the surface is an indicator of the level of interaction on the interface between blood and polymer.

A modified capillary method has been devised for determining the contact angle between fluid and different materials. With this method it is possible to measure liquid contact angles in the presence of different plasma protein layers on polymer surfaces. The contact angles inside polymer capillaries that had been exposed to blood were determined with distilled water. The results of these measurements were compared with scanning electron microscope visualisation.

The materials with strongly hydrophilic surfaces have been found to perform best. The adsorption energy of plasma proteins is reduced, leading to less contamination of the surfaces. These materials reduce the interactions between blood and surface.

1 Einleitung

Kunststoffe werden in der Medizin seit den 60er-Jahren eingesetzt. Damals wurden diese in erster Linie als Einwegprodukte verwendet. Das Hauptargument für diesen Einsatz war die Möglichkeit hoher Sterilität der Produkte. Dies stellte einen enormen Fortschritt dar, der half, die Infektionsgefahr infolge wiederverwendbarer Artikel aus Glas und Metall signifikant zu senken. Zu dieser Zeit wurden auch die ersten Kunststoffe und Elastomere als Implantate eingesetzt. Damals entstand ein erstes Verständnis für die speziellen Vorgänge an Organismus und Material bei direktem Kontakt organischer Flüssigkeiten und Gewebe mit einem Polymer. Werkstoffe, die in diesem Bereich eingesetzt sind, werden als „Biomaterialien“ bezeichnet [1]. Sie müssen besondere Anforderungen hinsichtlich ihres Einsatzes im Kontakt mit organischen Stoffen erfüllen, die weit über die mechanische und physikalische Eignung hinausgehen.

Erst in den 80er-Jahren wurde eine einheitliche Definition für Biomaterialien formuliert. Es wurde eine Reihe von Untersuchungsmethoden festgelegt, welche die Biokompatibilität von Werkstoffen überprüfbar machte. Die Komplexität der Wechselwirkungen, die sich zwischen einem Material und einem Organismus ereignen, lässt auch heute noch Fragen offen. Dennoch kann der Einsatz von Kunststoffen im Kontakt mit organischen Flüssigkeiten und Geweben durch wissenschaftliche Erkenntnisse heute spezifischer erfolgen, als noch vor wenigen Jahren. Das Prinzip von „Versuch und Irrtum“ wird in jüngerer Zeit durch die genaue Analyse der Wechselwirkungen zwischen Werkstoff und Organismus abgelöst. Maßgeschneiderte Kunststoffe die exakt für einen Anwendungsfall modelliert werden können, werden nach heutigem Stand des Wissens vermehrt in der Medizintechnik eingesetzt.

2 Problemstellung und Zielsetzung

Kunststoffe, die in der Medizintechnik eingesetzt werden, müssen Anforderungen entsprechen, die sich wesentlich von anderen Einsatzgebieten unterscheiden. Vor allem ist die Körperverschträglichkeit des Werkstoffes zu beachten. Diese Eigenschaft wird als Biokompatibilität bezeichnet. Sie resultiert aus den chemischen, physikalischen und mechanischen Wechselwirkungen, die zwischen dem Material und der biologischen Flüssigkeit stattfinden [1]. Erst wenn ein Werkstoff diese Voraussetzungen erfüllt, können allgemeine physikalische bzw. mechanische Kriterien an den Werkstoff angelegt werden. Kunststoffe, die im Kontakt mit Blut eingesetzt werden, sind weiters ständig einem flüssigen Medium ausgesetzt. Durch die Morphologie eines Kunststoffes, treten unter diesen Einsatzbedingungen eine Vielzahl an Wechselwirkungen auf. So kommt es zu Solvation und Diffusion von Gasen, die in der Flüssigkeit gelöst sind. Weiters kann die Flüssigkeit auch zur Quellung des Kunststoffes führen. Enzyme können eine Degradation des Kunststoffes oder der Additive bewirken, welche aus dem Kunststoff gelöst werden können. All diese Einflüsse bestimmen die Lebensdauer eines Kunststoffes in der Medizintechnik wesentlich.

Im speziellen Bereich der „in vitro-Messung“ von Blutparametern, kann eine gewisse Einschränkung an die Anforderung der Biokompatibilität gemacht werden. Das Blut, welches in den Kontakt mit den zu untersuchenden Kunststoffen tritt, wird nicht wieder in den Körper zurückgeleitet. Dadurch fallen besondere Anforderungen weg, die bei Implantaten von großer Bedeutung wären, wie Kanzerogenität, Toxizität sowie die Mutagenität eines Werkstoffes [1]. Bei der Auswahl eines geeigneten Werkstoffes für dieses Einsatzgebiet ist weiters zu beachten, dass der Kontakt nicht nur auf biologische Flüssigkeiten wie Blut, Plasma oder Urin beschränkt ist. Auch Reinigungslösungen, die chemisch sehr aggressiv wirken, sind regelmäßig im Kontakt mit diesen Materialien.

Die Zielsetzung dieser Arbeit ist, einen Überblick über derzeit mögliche Charakterisierungen von Materialien im Einsatz mit Blut zu schaffen. Es sollen charakteristische Materialparameter herausgearbeitet werden, die Aufschluss über die Blutverträglichkeit eines Werkstoffes geben. Parameter sollen auf ihre Tauglichkeit im speziellen Einsatz eines Messgerätes überprüft werden. Ein weiterer wichtiger Aspekt ist das Aufzeigen der Mechanismen, die zwischen einem Material und Blut wirken und deren Auswirkungen auf die Lebensdauer eines Materials. Auch die durch Kontakt verursachte Veränderung des Blutes soll berücksichtigt und erfasst werden. Die für eine unverfälschte Messung der Blutparameter notwendigen Voraussetzungen eines Materials sollen hierbei besonders Beachtung finden.

Als erstes wird der in der Literatur gefundene Hintergrund der Biokompatibilität dargestellt. Danach werden physikalische Grundlagen, die für das Verständnis der Mechanismen an der Schnittstelle Blut und Oberfläche nötig sind erarbeitet. Schließlich wird eine besonders repräsentative Messmethode ausgewählt, um bereits eingesetzte Materialien vor diesem Hintergrund zu beleuchten. Die Messergebnisse werden anschließend mit den bereits bestehenden praktischen Erfahrungen verglichen und interpretiert. Diese Messmethode und die ermittelten Ergebnisse sollen als Entscheidungsgrundlage für neue Materialien dienen, die zukünftig in einem Messgerät eingesetzt werden, beziehungsweise als Ersatz für bereits verwendete Materialien in Frage kommen.

3 Hintergrund

Der Einsatz von Kunststoffen im Kontakt mit biologischen Flüssigkeiten, macht es notwendig, das Medium genauer zu betrachten, dem der Kunststoff ausgesetzt ist. Wechselwirkungen zwischen dem Werkstoff und der Flüssigkeit können nicht unterbunden werden, sodass es notwendig ist, sowohl die Eigenschaften des Materials, als auch die Mechanismen durch den Kontakt mit biologischen Flüssigkeiten genau zu analysieren. Die vernünftige Auswahl eines Werkstoffes kann nur unter Berücksichtigung des Einsatzgebietes und dessen Besonderheiten erfolgreich sein. Aus diesem Grund sollen einleitend einige medizinische Begriffe des Blutes erläutert werden, die in späterer Folge immer wieder Erwähnung finden, um das Verständnis für diesen speziellen Anwendungsfall zu erleichtern. Vor allem sind besondere Reaktionen, wie die Gerinnung des Blutes, für das Verständnis von großer Bedeutung.

3.1 Das Blut

3.1.1 Blutbestandteile

Blut besteht aus dem gelblichen Plasma und den darin suspendierten roten Blutzellen (*Erythrozyten*), den weißen Blutzellen (*Leukozyten*) und den Blutplättchen (*Thrombozyten*). Serum ist die Bezeichnung für Blutplasma, welches vom Protein Fibrinogen befreit wurde. Der Anteil der Erythrozyten am Blutvolumen wird *Hämatokritwert* genannt. Er beträgt bei gesunden erwachsenen Männern 0,44 - 0,46, bei Frauen 0,41 - 0,43. Neugeborene haben einen um etwa 20% höheren, Kleinkinder einen um etwa 10% niedrigeren Hämatokritwert als Frauen.

Bezogen auf Wasser beträgt die mittlere relative Blutviskosität eines gesunden Erwachsenen 3,5 - 5,4 mPas, die von Blutplasma 1,9 - 2,6 mPas. Die Viskosität des Blutes nimmt mit steigendem Hämatokritwert exponentiell zu. Eine krankhafte Erhöhung des Hämatokritwert würde eine Mehrbelastung des Herzens zur Folge haben was zur Minderversorgung von Organen führen kann.

3.1.2 Plasmaproteine

Die hohe Viskosität des Plasmas beruht fast ausschließlich auf seinem Proteingehalt, der 65 - 80 g/l beträgt. Wegen der hohen Molmasse der Proteine entspricht diese Konzentration einer Molalität von nur rund 1 mmol/kg. Blutplasma enthält ein Gemisch von wahrscheinlich über 100 verschiedenen Proteinen, wovon die Meisten allerdings nur in Spuren vorkommen. Die Molmassen der einzelnen Proteine liegen zwischen 44.000 und 130.000 g/mol. Eine Trennung der verschiedenen Proteine durch Elektrophorese liefert zunächst fünf Fraktionen:

- Albumin
- α_1 -Globuline
- α_2 -Globuline
- β -Globuline
- γ -Globuline

Abbildung 3.1 zeigt die relative Häufigkeit dieser Proteinfractionen im Blut. Die Aufspaltung erfolgt über die Molmasse. Durch das Anlegen einer Spannung wandern die Proteine auf einem Papierstreifen von der Kathode zur Anode, in Abhängigkeit von ihrer Molmasse und ihrer Ladung.

Proteine tragen den Haupteinfluss bei der Reaktion zwischen der Oberfläche eines Werkstoffes und dem Blut, dass mit diesem in Kontakt tritt. Innerhalb weniger Sekunden bildet sich ein Proteinfilm, der sich zwischen Material und Blut legt. Dieser Film ist für die weitere Reaktion mit dem Werkstoff maßgeblich.

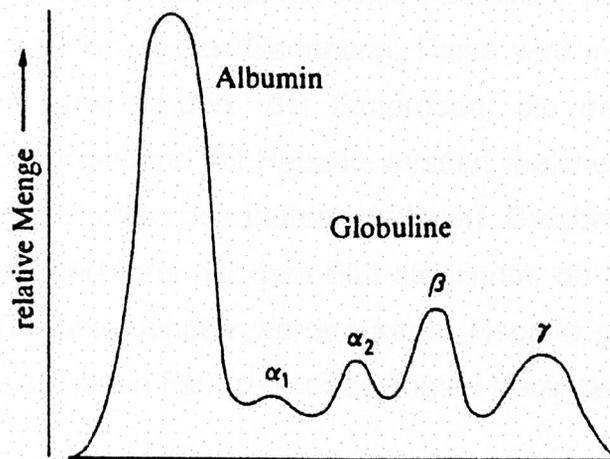


Abb. 3.1: Elektrophorese Diagramm der Serumproteine [2]

3.1.3 Blutgerinnung

Der zur Blutgerinnung führende Mechanismus wurde bereits 1905 von Morawitz [2] beschrieben (Abbildung 3.2). Blut gerinnt außerhalb des Körpers innerhalb weniger Minuten. Dies gilt auch für den Kontakt mit einer fremden Oberfläche. Beim Zerfall von Thrombozyten entsteht der sogenannte Prothrombinaktivator, der den Eiweißkörper Prothrombin in Thrombin umwandelt. Thrombin spaltet aus dem im Plasma gelösten Fibrinogen Fibrin ab, welches das fädenartige Gerüst der Gerinnsel bildet. Durch den Faserstoff Fibrin geht das Blut aus dem flüssigen zunächst in einen gallertartigen Zustand über.

Besteht auf einem Material bereits ein irreversibler Proteinfilm, so können sich in weiterer Folge auch Thrombozyten anlagern. Dies ist der Start der Blutgerinnung. Die Blutplättchen bilden einen Thrombozytenpfropfen. Diese Adhäsion wird als *von Willebrand-Faktor* bezeichnet. Zur irreversiblen Vernetzung aggregierter Thrombozyten ist Fibrinogen erforderlich, welches mit spezifischen Rezeptoren der aktivierten Plättchenmembran reagiert und auf diese Weise viele Plättchen miteinander verknüpft [2].

Die Hauptreaktion von Blut, wenn es mit einer Oberfläche außerhalb des Körpers in Kontakt tritt, ist die Initiierung der Gerinnung. Diese wird in der Medizin auf unterschiedlichste Weise unterbunden. Bei Blutproben, die dem Körper entnommen werden, ist das Blut vorwiegend mit Heparin versetzt, welches in die Gerinnungskaskade eingreift und ein Stocken des Blutes verhindert. Das bedeutet jedoch nicht, dass keine Reaktion der Oberfläche mit dem Blut stattfindet, da die Gerinnung nicht am Beginn der Kaskade unterbunden werden kann. Heparin greift erst später in die Gerinnung ein, was auf jeden Fall zu einer bedingten Veränderung des Blutes führt.

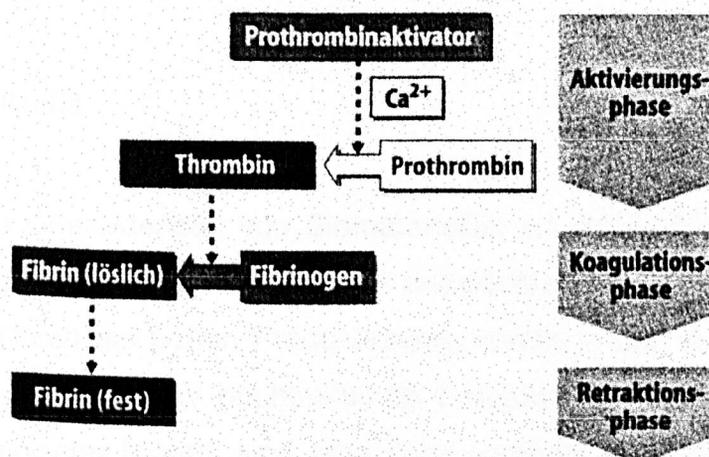


Abb. 3.2: Schema der Blutgerinnung [2]

3.2 Biomaterialien

Zusammen mit dem großen Fortschritt, der bei der Entwicklung neuer strukturell und funktionell optimierter Materialien erreicht wurde, ist in den letzten Jahrzehnten eine enorme Vielzahl neuer Entwicklungen auch in der Technologie der Biomaterialien zu beobachten. Vor ungefähr 40 Jahren wurden die ersten synthetischen Materialien in der Medizintechnik zum Schutz und zur Verlängerung des menschlichen Lebens eingesetzt. Darunter waren die ersten künstlichen Herzklappen, Herzschrittmacher, Gefäßtransplantate und künstliche Nieren.

Später folgten durch verbesserte Materialeigenschaften künstliche Gelenke, orthopädische Einsätze sowie intraokulare Linsen. Diese Materialien mußten zusätzlich zu ihren mechanischen und physikalischen Eigenschaften vor allem auf die Besonder-

heiten des biologischen Milieus abgestimmt werden. Anfänglich war die Materialauswahl getragen vom „Trial- and Error“-Prinzip [3].

Am Beginn der 80er-Jahre wurde das Konzept der "Biomaterialien" durch die NIH Consensus Development Conference on the Clinical Applications of Biomaterials (1982) definiert. " Biomaterialien sind Materialien oder Teile eines Systems von Materialien, natürlichen oder synthetischen Ursprungs, welche über einen bestimmten Zeitraum ein Organ oder eine Funktion des Körpers behandeln, unterstützen oder ersetzen" [4].

3.2.1 Biokompatibilität

Die bedeutendste Charakteristik von Biomaterialien ist deren Biokompatibilität. Nur wenn diese Voraussetzung erfüllt ist, können andere Auswahlkriterien an das Material gestellt werden. Durch die hohen Produktionsstandards in der Verarbeitungstechnik ist es heute möglich qualitativ hochstehende Produkte herzustellen und zu entwickeln. Denn biologische Milieus sind eine sehr aggressive Umgebung. Diese Produkte dürfen über den Zeitraum ihres Einsatzes ihre Eigenschaften nicht wesentlich verändern, was etwa durch Degradation möglicherweise passieren kann. Dies kann nur gewährleistet werden, wenn das Produkt biokompatibel ist. Degradation wird hierbei durch den Kontakt mit der biologischen Flüssigkeit ausgelöst. Es kommt zur Spaltung kovalenter Bindungen des Kunststoffes in niedermolekulare Anteile, die aus dem Material gewaschen werden können und somit den Werkstoff nachhaltig schädigen [1].

Anfänglich wurde Biokompatibilität mit der Inertheit eines Materials gleichgesetzt. Es sollte jede Reaktion zwischen Material und biologischer Flüssigkeit vermieden werden. Das Material darf im Kontakt mit einer biologischen Flüssigkeit keine Thrombogenität zeigen. Thromben sind eine Folge der Gerinnung, die durch Proteinadsorption an einer Oberfläche entsteht. Diese Proteinadsorption leitet in letzter Folge die Gerinnung durch Plättchenadhäsion ein.

Ein Konzept, beruhend auf inerten Materialien ist jedoch fragwürdig, da jeder Kunststoff mit dem umgebenden Milieu interagiert. Gase diffundieren durch das Material und Flüssigkeiten können wie Lösungsmittel in den Kunststoff eindringen und ihn quellen. Es gibt also nur eine Toleranz, in der sich die Wechselwirkung zwischen Medium und Material bewegen darf. Williams [4] schlug daher eine Definition vor, in der Biokompatibilität beschrieben wird als "die Fähigkeit eines Materials in einem speziellen Einsatzbereich Wechselwirkungen in tolerierbarem Rahmen zu halten." Diese Definition setzt die genaue Kenntnis der Prozesse zwischen der Oberfläche des eingesetzten Materials und der biologischen Flüssigkeit voraus. Auch die Kontaktzeit ist von Bedeutung, die ein Material einer biologischen Flüssigkeit ausgesetzt ist. Diese entscheidet ebenfalls über die Anforderungen an das Material.

Im Speziellen darf ein biokompatibles Material auf keinen Fall folgende Reaktionen verursachen [5]:

- Immunologische Reaktionen und Allergien
- Fremdkörperreaktionen
- Cytotoxische Wirkungen
- Einfluß auf Zellwachstum und Zellspezialisierung
- Kanzerogene, teratogene und mutagene Wirkung
- Biodegradation

Während des Kontakts mit dem Medium kann eine biologische Flüssigkeit durch ihre Aggressivität zur Degradation des Materials führen. Hydrolytische und oxidative Reaktionen können das Material derart schädigen, dass eine Reduktion der mechanischen Stabilität auftritt und Degradationsprodukte ausgeschwemmt werden [6].

Eine Vielzahl an sich überlappenden Prozessen bestimmen die Biokompatibilität. Sie setzt sich zusammen aus mechanischen, chemischen und physikalischen Eigenschaften. Die daraus resultierenden Wechselwirkungen mit der biologischen Flüssigkeit und die Toleranz dieser Wechselwirkungen sind von entscheidender Bedeutung für den Einsatz eines Werkstoffes [7]. Beeinflussende Faktoren sind die chemische Struktur der Oberfläche, die Hydrophilie bzw. Hydrophobie eines Materials, die Seitengruppen und deren Polarität, die Morphologie - wie etwa die amorphen und kristallinen Bereiche der Oberfläche - und schließlich die Rauheit des Materials (Abbildung 3.3).

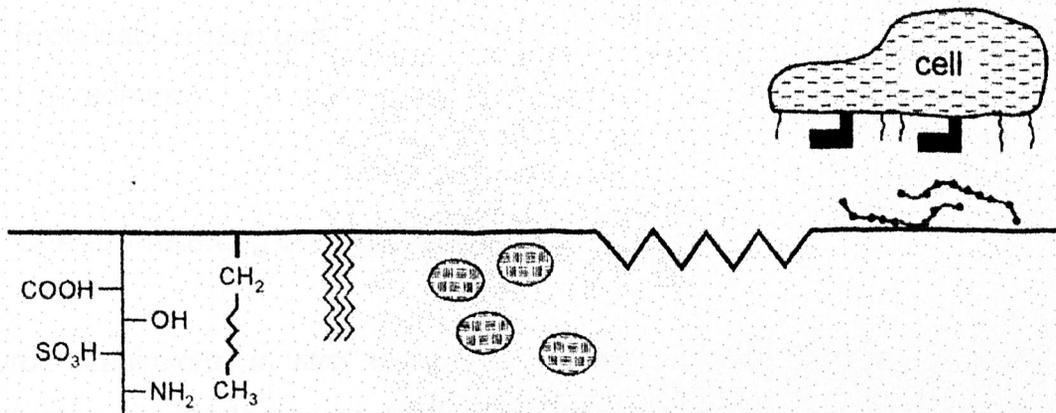


Abb. 3.3: Parameter, welche die Wechselwirkung des Materials mit der biologischen Flüssigkeit beeinflussen [3].

Die Eigenschaften an Oberflächen von Werkstoffen können sich von den Eigenschaften des Werkstoffes selbst unterscheiden, da die Oberflächenenergie mit der Beweglichkeit der Kettensegmente unpolarer Gruppen eine Bewegung hin zur Oberfläche bewirken [8,9]. Die Migration niedermolekularer Elemente des Kunststoffes zur Oberfläche bewirkt eine Veränderung der Oberflächenenergie des Materials [10,11]. Analysemethoden, die daher besonders auf die Eigenschaften der Oberflächen eingehen sind aus diesem Grund sinnvoll. Nur rein materialspezifische Untersuchungen allein könnten das Problem nicht vollständig erfassen.

Die Anforderung der Biokompatibilität ist im konkreten Fall der Blutmessung zwar nur bedingt notwendig, aber die Vielzahl an Untersuchungsmethoden und Erkenntnisse, die sich aus dieser Problemstellung ergeben, sind natürlich auch in einem Blutmessgerät interessant. Der Schlüssel zum Verständnis der Wechselwirkungen zwischen Blut und Oberfläche ist eine genaue Kenntnis aller möglichen Mechanismen und Reaktionen an dieser Schnittstelle. Diese Kriterien sind bei Biomaterialien sehr gut untersucht, wodurch bestimmte Erkenntnisse auch für extrakorporale Einsätze genutzt werden können. Die Biokompatibilität gibt Aufschluss über materialspezifische Einflüsse auf das Blut wie

- Gerinnungsneigung
- Proteinadsorption und
- Degradation.

3.2.2 Charakterisierung der Biokompatibilität

Es wurden zahlreiche „in vitro“ und „in vivo“ Tests zur Untersuchung der Biokompatibilität entwickelt. Abhängig von der beabsichtigten Anwendung muß das Testmaterial unterschiedliche Anforderungen erfüllen. So sind die Anforderungen an ein blutverträgliches Material anders, als Anforderungen an ein Material welches in ein Gewebe implantiert wird. Hier wird nur eine kleine Auswahl dieser Vielzahl an Untersuchungen geliefert, da bestimmte Tests zur Untersuchung der Körperverträglichkeit für medizinische Messgeräte von untergeordneter Rolle sind.

3.2.2.1 Bestimmung von Blutparametern

Bei allen Polymeren, die einen längeren Zeitraum flüssigen Medien ausgesetzt sind, werden niedermolekulare Stoffe aus dem Material freigesetzt, wie etwa Additive, Lösungsmittelrückstände, Rückstände von Sterilisationsmitteln, bakterielle Toxine oder Degradationsprodukte. Diese können nicht nur toxisch auf den Organismus wirken, sondern auch das Blut und dessen Zusammensetzung verändern. Daher ist die Bestimmung gewisser Blutparameter gut geeignet toxische Veränderungen im

Blut zu erkennen. Folgende Blutparameter geben einen Hinweis auf eine toxische Einwirkung [1]:

- Eine verringerte Anzahl an Erythrozyten.
- Eine verringerte Überlebenszeit von Erythrozyten.
- Größere Zahl abnorm geformter Erythrozyten.
- Erhöhte Anzahl an Reticulozyten (junge Erythrozyten), durch eine Steigerung der Erythropoese (Erythrozytenbildung).
- Abnahme des Hämatokritwertes durch Zerstörung der zellularen Bestandteile.
- Veränderung der Aktivität verschiedener Serumenzyme wie Lactatdehydrogenase, Serum-, Glutamat-, Oxalat-Transaminase sowie Serum-, Glutamat-, Pyruvat-, Transaminase, Hydroxybutyratdehydrogenase.
- Zunahme des freien Hämoglobins infolge der Freisetzung des Hämoglobins zerstörter Erythrozyten.
- Abnahme des Gesamthämoglobins durch eine Bindung eines Teils des freigesetzten Hämoglobins an das Protein Haptoglobin mit einer gleichzeitigen Abnahme des Haptoglobinspiegels.
- Eine Zunahme des Bilirubinspiegels, ein Abbauprodukt des Hämoglobins, infolge des Abbaus von freiem Hämoglobin.
- Eine Veränderung des Lipoproteingehalts.
- Ein Anstieg des Serumeisenspiegels durch Freisetzen von Eisen aus zerstörten Erythrozyten.
- Eine verringerte Eisenbindungskapazität des Proteins Transferin durch eine starke Zunahme an freiem Eisen.
- Ein starker Anstieg des K^+ -Wertes (Kaliumserumspiegels) durch Zerstörung der Erythrozyten.

Diese Effekte treten natürlich erst bei längerer Kontaktzeit in ausgeprägter Form auf. Die Möglichkeit der Blutveränderung ist, durch die große Zahl verschiedener Additive bei Kunststoffen, bei der Materialauswahl dennoch immer gegeben. Auch zeigen diese Reaktionen sehr gut, welche möglichen Wechselwirkungen es zwischen Material und Blut geben kann.

3.2.2.2 Hämolyseuntersuchung

Neben toxischen Einwirkungen kann auch eine mechanisch verursachte Zerstörung von Erythrozyten erfolgen. Etwa durch ungünstige Scher- oder Fließbedingungen, zu hohe Drücke oder Materialfehler, an denen Erythrozyten zerstört werden. Die Wirkung äußert sich gleich wie in den unter Abschnitt 3.2.2.1 beschriebenen Auswirkungen.

3.2.3 Hämokompatibilität

Bis heute ist es noch nicht gelungen alle Faktoren der Biokompatibilität völlig zu entschlüsseln oder die Biokompatibilität eines Materials vollständig zu quantifizieren. Das Verstehen der Wechselwirkungen ist dennoch von großer Bedeutung, um Biomaterialien gezielt einzusetzen und ungewollte Effekte zu vermeiden. Ein spezieller Aspekt der Biokompatibilität soll hier noch näher erläutert werden, die sogenannte Hämokompatibilität. Diese beschreibt speziell die Wechselwirkung zwischen Blut und Oberfläche des Materials.

Aus medizinischer Sicht kann ein Biomaterial als blutverträglich bezeichnet werden, wenn die Wechselwirkungen zwischen Material und Blut keine Schädigung der Zellen verursachen oder eine Veränderung der Struktur von Proteinen zur Folge haben. Nur in diesem Fall erfüllt das Material auch die Hauptanforderung der Biokompatibilität. Die verschiedenen Möglichkeiten an Reaktionen, welche an der Oberfläche eines Biomaterials stattfinden sind in folgendem Diagramm aufgezeigt (Abbildung 3.4)

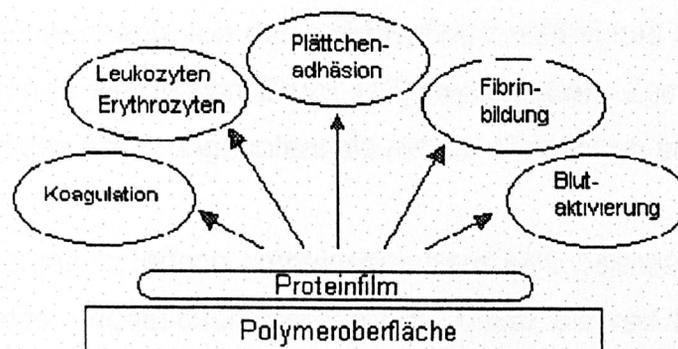


Abb. 3.4: Wechselwirkungen an der Oberfläche eines Biomaterials [3]

Die unterschiedlichen Adsorptionsmechanismen der einzelnen Proteine beim Kontakt der biologischen Flüssigkeit mit dem Material konkurrieren miteinander. Dies entscheidet dann über die Art und Intensität der Adsorption. Um diesen Mechanismus voraussagen zu können, ist eine exakte Bestimmung der Struktur der Oberfläche und der Konformation des Proteins nötig. Die Wechselwirkungen sind abhängig von der Hydrophilie bzw. Hydrophobie der Oberfläche, ob sie geladen oder ungeladen ist, ob an der Oberfläche polare oder unpolare Gruppen sitzen und wie diese Eigenschaften beim Protein ausgeprägt sind.

Die Oberflächenspannung eines Materials wird als der Haupteinflussfaktor in der Bestimmung der Adsorption von Proteinen betrachtet. Jedoch ist noch keine Entscheidung über bestimmte Grenzen der Oberflächenenergie getroffen worden. Während Andrade [12] findet, dass die Oberflächenenergie des Materials sich nicht zu sehr von der des Blutes unterscheiden soll, postuliert Baier [13] eine hämokompatible Oberfläche, wenn die Oberflächenenergie zwischen 20 und 25 mN/m liegt. Im Gegensatz dazu stellt Ratner [14] fest, dass eine gute Blutverträglichkeit einer Oberfläche aus der Ausgewogenheit ihrer hydrophilen und hydrophoben Eigenschaften besteht.

Andere zeigen eher auf die Bedeutung der ionischen Eigenschaften eines Materials. Biomaterialien mit Carboxyl-, Sulfat-, oder Sulfonat- Gruppen weisen einen antithrombogenen Charakter auf. Dies wird erklärt durch die negative Ladung der Oberfläche, die abstoßend auf die negativ geladenen Proteine wirkt [15]. Norde konnte zeigen, dass eine Reduktion der Konzentration von Ladungen in den Proteinen sowie in der Oberfläche des Materials zu einer Reduktion der Proteinadsorption führt [16]. Der Zusammenhang von der elektrischen Leitfähigkeit mit der Blutverträglichkeit von Werkstoffen wurde von Bruck [17] beschrieben. Zusätzlich wurde noch der Zusammenhang des Strömungspotentials mit der Gerinnung studiert [18].

All diesen Betrachtungen ist jedoch gemeinsam, dass eine geringe Proteinablagerung an der Oberfläche des eingesetzten Materials die beste Blutverträglichkeit bietet, da die Wechselwirkung zwischen Blut und Materialoberfläche auf ein Minimum reduziert wird. Jede Proteinablagerung führt wiederum zu Reaktionen mit dem Blut und damit

zu ungewollten Folgeerscheinungen. Diese Veränderungen des Blutes können sowohl im Körper negative Folgen nach sich ziehen, als auch bei der Messung von Blutparametern ungewünschte Auswirkungen haben.

3.2.3.1 Proteinadsorption

Die Adhäsion von Proteinen an einer Oberflächen ist ein sehr komplexer Vorgang. Innerhalb der ersten Sekunden, in denen das Material mit der Flüssigkeit in Berührung kommt, bildet sich ein Proteinfilm der sich auf die Oberfläche legt [19]. Es konnte beobachtet werden, dass verschiedene Materialien eine selektive Adsorption fördern. Hydrophile Oberflächen bevorzugen die Adsorption von Albumin. Albumin selbst wird als antithrombogen beschrieben. Dies bedeutet, dass hydrophile Oberflächen antithrombogen oder zumindest weniger thrombogen sind als hydrophobe Oberflächen. Amorphe Kunststoffe lösen eher die Anlagerung von Fibrinogen und Globulin aus [20].

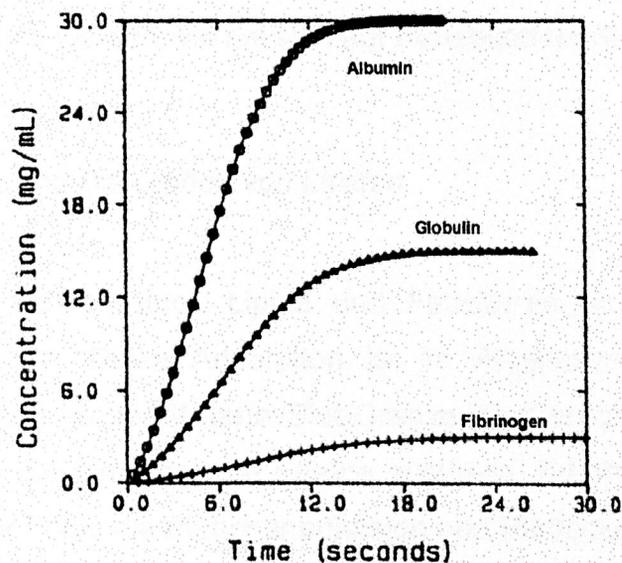


Abb. 3.5: Konzentration von Proteinen nahe der Oberfläche [42]

Abbildung 3.5 zeigt den Konzentrationsverlauf in Abhängigkeit der Zeit nahe an einer Oberfläche. Albumin erreicht dabei 30 mg/ml, Globulin 15 mg/ml und Fibrinogen 3 mg/ml. Die Adhäsion von Fibrinogen soll weitestgehend vermieden werden, da dies der Beginn der Blutgerinnung ist. Die Proteine Fibrinogen, Faktor VII sowie verschie-

dene Kontaktfaktoren sind dabei der Auslöser für die Thrombenbildung [27]. Bereits angelagertes Fibrin an der Oberfläche eines Materials, fördert somit die Gerinnung des Blutes.

Die Proteinschicht zeigt in Abhängigkeit von der Zeit eine veränderbare Konformation, die durch Desorption und Austausch der Proteine erfolgt. Adsorptionsprozesse sind gut beschrieben durch die typische *Langmuir-Isotherme*. Nach langer Kontaktzeit stellt sich ein stationärer Zustand ein, der mit einer irreversiblen Proteinschicht in Wechselwirkung steht [21, 22]. Dieser komplizierte zeitabhängige Effekt wird als Vromann-Effekt bezeichnet. Dieser Effekt wird überall beobachtet, ausgenommen bei stark hydrophilen Oberflächen [23, 24]. Die quantitative Erfassung der Proteinadsorption ist im Zusammenhang mit Gerinnungstests sehr wichtig für die Entwicklung neuer nicht thrombogener Oberflächen.

Um die Kinetik der Adsorption von Proteinen an einer Oberfläche zu zeigen wird die Fouriertransformations-Infrarot Spektroskopie mit dem Prinzip der abgeschwächten inneren Reflexion verwendet. Es kann die Adsorption von Albumin, Globulin und Fibrinogen untersucht werden wie sie sich auf Kunststoffoberflächen ablagern.

3.2.3.2 Adsorption und Desorption von Lipiden

Neben Proteinen können auch Lipide und Fettsäuren an die Oberfläche eines Materials adsorbieren. Diese Adsorption ist im Allgemeinen reversibel. Bei der Desorption entstehen an der Material/Blut-Grenze lokal erhöhte Lipid- bzw. Fettsäurekonzentrationen, die thrombogene Effekte auslösen. Erhöhte Lipidkonzentrationen initiieren in weiterer Folge die Plättchenadhäsion und Plättchenaggregation. Fettsäure beschleunigt die Blutgerinnung durch Aktivierung eines Faktors des endogenen Gerinnungssystems, den Hagemannfaktor. Die Detektion von Fettsäuren und Lipiden an der Oberfläche erfolgt über eine C¹⁴-Markierung [31].

3.2.4 Degradation und Resorption

Auf die Stabilität von Kunststoffprodukten muss besonders Rücksicht genommen werden. Hier soll zwischen Degradation und Resorption unterschieden werden. Unter Degradation wird die Spaltung von Molekülketten und damit verbundene Abnahme der Molmasse verstanden. Dies erfolgt unter Umständen unter Beibehaltung der äußeren Form. Bei der Resorption ist eine Degradation vorhanden, verbunden mit dem Transport bzw. Abbau der Partikel unter Verlust der äußerlichen Form. Die Biostabilität eines Werkstoffes, insbesondere der Kunststoffe, hängt von sehr vielen Faktoren ab. So wird die Degradation einerseits vom Grundpolymer und dessen chemischer Struktur bestimmt, andererseits kommen die Parameter der Verarbeitung hinzu. Eine Rolle spielen hier die Vortrocknungsbedingungen, der Restfeuchtegehalt im Polymer, die Luftfeuchtigkeit im Verarbeitungsraum, die Lagerbedingungen des Ausgangsmaterials wie auch des fertiggestellten Produkts, die Reinheit der Verarbeitung, die Art der Nachbehandlung sowie der Grad der Kristallisation.

Degradationsmechanismen können in zwei Gruppen eingeteilt werden. Einerseits können kovalente Bindungen durch Energiezufuhr und Bildung von freien Radikalen zerstört werden. Diese Radikale führen dann in einem zweiten Schritt zur Moleküldegradation. Andererseits gibt es hydrolytische Mechanismen, wobei die Depolymerisation als Umkehrung der Polykondensation verstanden werden kann. Die Polykondensation ist eine Polymerisation unter Abspaltung niedermolekularer Produkte wie etwa Wasser. Bei der Depolymerisation werden daher wieder Reaktionen mit dem Spaltprodukt ermöglicht. Dies führt wieder zur Verringerung der Molmasse und gleichzeitig zur Verbreiterung der Molmassenverteilung.

Hydrolyse kann in Anwesenheit von Körperflüssigkeit auftreten. Hierzu sind jedoch gewisse Bedingungen erforderlich. Einerseits muss das Material hydrolytisch instabile Bindungen aufweisen, andererseits muß der Kunststoff hydrophil sein, damit das Medium mit den hydrolyseinstabilen Bindungen in Kontakt kommen kann. Außerdem muss die Hydrolyse bei den vorhandenen Bedingungen wie pH-Wert und Temperatur auftreten können.

In vitro wird ebenfalls ein enzymatischer Abbau von Kunststoffen beobachtet. Smith [30] untersuchte die enzymatische Degradation an C^{14} -markierten Polymeren. Bei Polyethylterphthalat (PET) konnte ein Einfluss der Degradation von Esterase und Papain erkannt werden, während Trypsin und Chymotrypsin keinen Einfluss zeigten. Bei Polyamid (PA66) zeigten Papain, Trypsin und Chymotrypsin einen Abbau des Polymers während Esterase keine Reaktion bewirkte.

4 Grundlagen

4.1 Adhäsion

Aus energetischer Sicht ist Adhäsion die Arbeit, die zum Trennen zweier unterschiedlicher Oberflächen aufgebracht wird. Kohäsion ist analog jene Arbeit, die zum Erzeugen zweier Oberflächen des selben Stoffes notwendig ist. In Verbindung mit biologischen Systemen wird von Bioadhäsion gesprochen, die ein grundlegendes Problem beim Einsatz von Werkstoffen in biologischen Systemen darstellt. Bioadhäsion kann auch als biologische Verschmutzung einer Oberfläche bezeichnet werden. Die physikalischen Interpretationen, sowie die Messmethoden ähneln sich in vielen Fällen, unabhängig ob es sich um Blutbestandteile, Knochen oder Gefäße handelt.

4.1.1 Spezifische und nichtspezifische Adhäsion

Thermodynamisch werden grundsätzlich drei Arten von Wechselwirkungskräften bei der Adhäsion unterschieden [36]:

- Die elektrostatische Wechselwirkung zwischen Ionen oder Dipolen.
- Polarisationskräfte zwischen Atomen, Atomgruppierungen und einem elektrischen Feld, die zur Ausbildung temporärer Dipole führen.
- Kovalente, chemische Bindungen als kurzreichweitige Kraft, die zur Delokalisierung von Atomen führt.

Die wirkenden Energieteile der Adhäsion unterscheiden sich prinzipiell für einen selektiven und einen zufälligen Prozess, sodass die Unterscheidung in eine spezifische und eine unspezifische Adhäsion getroffen wird. Eine spezifische Adhäsion liegt vor, wenn mehr als eine Gruppe von benachbarten, miteinander wechselwirkenden Paaren existiert. Es tritt eine selektive, nicht zufällige Anlagerung von Zellen an Oberflächen auf. Ein Beispiel wäre der Loch/Schlüssel-Mechanismus der unter anderem im Falle einer Protein/Polymer-Wechselwirkung auftritt. Hier gibt es nur

spezifische Gruppen, mit denen eine Bindung eingegangen werden kann. Infolge der möglichen Partner, die miteinander interagieren können, treten für andere Gruppen Blockierungseffekte auf. Die jeweiligen spezifischen Mechanismen sind durch typische Merkmale gekennzeichnet, wodurch eine Identifizierung einzelner Adhäsionsmechanismen einfacher erscheint.

Bei einer unspezifischen Adhäsion sind bevorzugte Schemata nicht zu bemerken. Hier wirken verschiedene zeitlich veränderliche Phänomene. Eine Selektion der Einzelmechanismen ist aus diesem Grund ungleich schwieriger. Mögliche Wechselwirkungen können ionisch, dipolar, hydrophob/hydrophil oder Kombinationen daraus sein. Die Blutbestandteile Fibrin und die extrazellulären Polymere (EPS) lagern sich unspezifisch an der Oberfläche an. Aber auch Schwankungen in der Oberflächenladung, hervorgerufen durch molekulare Beschichtung führen zu unspezifischer Adhäsion. Eine eindeutige Zuordnung zu einem Reaktionstyp ist hier nicht möglich [36].

4.1.2 Hydrophilie und Hydrophobie

Die Summe aller abstoßenden bzw. benetzenden Wechselwirkungen zwischen Wasser und einer Oberfläche werden als Hydrophobie oder Hydrophilie bezeichnet. In Verbindung mit Wassermolekülen treten beide Effekte auf, die in einer geschlossenen Theorie nicht dargestellt werden können [37]. Es handelt sich um äußerst komplexe Prozesse, in welche die Wasserstruktur mit einbezogen wird. Die Wechselwirkung wird von elektrostatischen und Dispersions- Kräften hervorgerufen, die voneinander unabhängig und langreichweitig sind. Die einzelnen Energieanteile dürfen daher nicht addiert werden. Es gilt nicht das Superpositionsprinzip. Gleichpolige Zustände wirken vorrangig abstoßend. Zwischen hydrophoben und hydrophilen Substanzen überwiegen aber die ungleichpoligen Energieanteile, sodass eine größere Adhäsionswahrscheinlichkeit vorliegt. Diese wird verursacht durch dispersive Kräfte, welche Dipolschwingungen an hydrophoben Oberflächen induzieren. Dadurch entsteht die Wechselwirkung mit hydrophilen Substanzen.

Hydrophile Substanzen sind unter anderem die DNA, Li^+ , Mg^{++} , Ca^{++} , Zucker, Alkohol und Sulfate. Auch Mikroorganismen sind häufig hydrophil. Hieraus erklärt sich ihre Adsorption an hydrophoben Oberflächen. Umgekehrt lässt sich eine Adhäsion von hydrophilen Proteinen durch hydrophile Oberflächen gezielt reduzieren. Beispielsweise ist die Ablagerung an PTFE (hydrophob) weitaus größer als an sauberem Glas (hydrophil). Hydrophile Substanzen sind wasserlöslich, damit können sie schneller in Kontakt mit Wasser treten, als andere Substanzen. Sie wirken desorientierend auf Wassermoleküle. Daraus resultiert dieser hygroscopische Effekt.

Die hydrophobe Wechselwirkung ist ungewöhnlich stark und mit den Kontinuumstheoretischen Überlegungen zur Adhäsion nicht mehr erklärbar. Es ist keine Bindung sondern eine Wechselwirkung, die zur Umordnung der Wassermoleküle führt. Die Flüssigkeit versucht durch Optimierung des Energiezustandes eine minimale Oberfläche zu schaffen indem hydrophobe Moleküle an die Phasengrenze gedrängt werden. Dies führt zur typischen Wölbwirkung eines Flüssigkeitstropfens. Die Hydrophobie spielt eine zentrale Rolle bei Oberflächenphänomenen, wie der Micellenbildung, beim Transport über biologische Membranen und für die Eigenschaften von Proteinen [37].

4.1.3 Oberflächenenergie

Flüssigkeit tendiert zur Form des Tropfens, wenn sie nicht im Kontakt mit einem anderen Medium ist. Sehr kleine Tropfen nehmen dabei bereits eine perfekte Kugelform ein. Die Kugel ist jene geometrische Form mit der kleinsten Oberfläche bezogen auf ihr Volumen. Wenn es für eine Flüssigkeit energetisch am Günstigsten ist ihre Oberfläche zu minimieren, dann hat ihre Oberfläche eine höhere Energie als ihr Inneres. Diese Energie wird als die freie Oberflächenenergie γ mit der Einheit N/m bezeichnet [38].

Molekular lässt sich diese Energie erklären, wenn ein Molekül der Oberfläche mit einem Molekül im Inneren der Flüssigkeit verglichen wird (Abbildung 4.1). Auf das Molekül im Inneren wirken Kohäsionskräfte deren Resultierende null ist, da diese in alle Raumrichtungen gleich groß sind. An der Oberfläche wirken diese Kräfte nur nach Innen, sodass sich eine resultierende Kraft normal zur Oberfläche ausbildet.

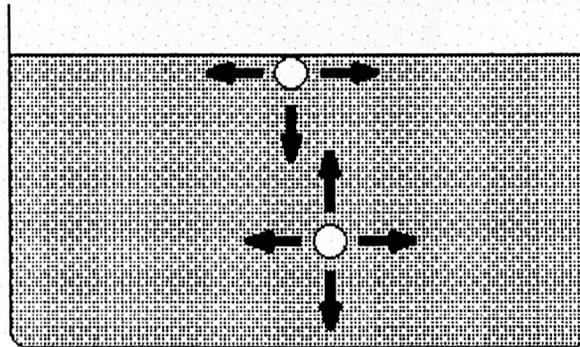


Abb. 4.1: Kohäsionskräfte an Molekülen in einer Flüssigkeit und an der Oberfläche [38].

Die freie Oberflächenenergie ist äquivalent zur Spannung einer Linie die in alle Richtungen parallel zur Oberfläche wirkt. Wird die Oberfläche eines dünnen Flüssigkeitsfilm mit der Breite L und der Länge X vergrößert indem die Strecke AB um die Länge x verschoben wird, ist die Arbeit zur Vergrößerung der Oberfläche gleich dem Produkt aus Kraft und Weg (Abbildung 4.2) [38].

$$F_x = Lx\gamma$$

Glg. 4.1

Daraus ergibt sich die Oberflächenspannung als ein Verhältnis von Kraft zu Länge.

$$\gamma = F/L$$

Glg. 4.2

Dies erklärt die Einheit N/m für die Oberflächenspannung.

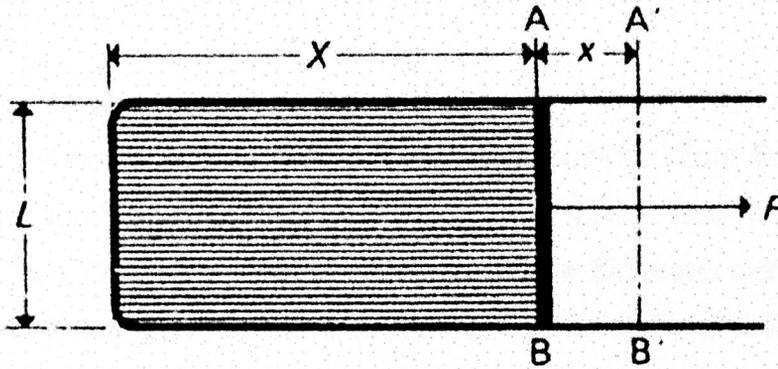


Abb. 4.2: Gleichgewicht aus Oberflächenenergie und Linienkraft

4.1.3.1 Benetzung fester Oberflächen

Für einen Tropfen, der auf einer Oberfläche liegt, gilt im Kräftegleichgewicht die Young Gleichung [38]:

$$\gamma_S - \gamma_{SL} = \gamma_L \cdot \cos \Theta \quad \text{Glg. 4.3}$$

γ_S beschreibt die Oberflächenspannung des Feststoffes, γ_{SL} die Oberflächenspannung zwischen Feststoff und Flüssigkeit und γ_L die Oberflächenspannung der Flüssigkeit. Der Kontaktwinkel Θ beschreibt den Tangentialwinkel zwischen Oberfläche und Flüssigkeit.

Die Young-Gleichung ist gültig, wenn die feste Oberfläche durch den Tropfen nicht deformiert wird. Der Kontaktwinkel Θ beschreibt den Grad der Benetzung auf der Oberfläche (Abb. 4.3). Beträgt der Winkel weniger als 90° so beschreibt dies eine gute Benetzung. Die Flüssigkeit gewinnt Arbeit durch die Oberflächenenergie des Festkörpers und versucht die eigene Oberfläche zu verringern. Bei einem Kontaktwinkel der wesentlich größer ist als 90° wird der Tropfen vorwiegend durch sein Gewicht auf die Oberfläche gedrückt. Er gewinnt weniger Arbeit durch eine gemeinsame Kontaktfläche mit dem Festkörper und versucht daher seine Oberfläche so groß wie möglich zu halten. Je größer die Differenz zwischen den Oberflächenspan-

nungen Flüssigkeit/Luft sowie Festkörper/Luft ist, desto größer ist dieser Effekt der Abstoßung [38].

Bei Wasser wird dieser Effekt als Hydrophobie bezeichnet. Zum Beispiel hat PTFE eine Oberflächenspannung von 20 mN/m gegenüber Luft. Wasser hat eine Oberflächenspannung von 72 mN/m. Daraus ergibt sich eine Differenz von 52 mN/m. Dies erklärt die Hydrophobie dieses Materials. Bei dem Material Barex® wird eine Oberflächenspannung von 55 mN/m gemessen, daher ist die Differenz zu Wasser nur 17 mN/m. Dieses Material erweist sich in der Praxis als wesentlich hydrophiler und leichter zu benetzen.

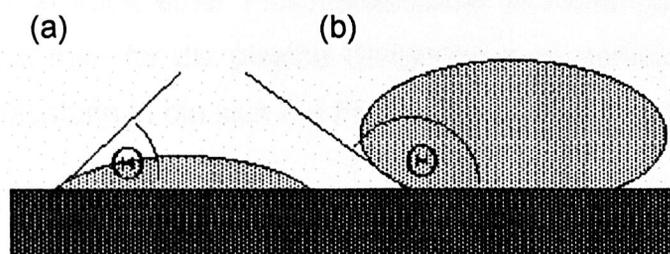


Abb. 4.3: Kontaktwinkel eines Flüssigkeitstropfens. (a) Hydrophil und (b) hydrophob.

Die Oberflächenspannung eines Feststoffes kann als jener Grenzwert betrachtet werden, den eine Flüssigkeit unterschreitet, um ihn völlig zu benetzen. Dies entspricht einem Kontaktwinkel von 0° . Das heißt eine Flüssigkeit mit einer Oberflächenspannung von weniger als 20 mN/m würde das Material PTFE völlig benetzen. Durch den Einsatz von Tensiden kann dies erreicht werden. Diese reduzieren durch ihre hydrophilen bzw. hydrophoben Molekülteile die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit.

Der gemessene Kontaktwinkel einer Flüssigkeit auf einer festen Oberfläche stellt die Summe aller Oberflächeneffekte dar. Dazu zählen die Polarität, Hydrophilie, Oberflächenrauheit und die chemische Heterogenität eines Werkstoffes. Mithilfe der Glg. 4.4 und der bekannten Oberflächenspannung der Flüssigkeit, lässt sich die Adhäsionsarbeit W_{SL} bestimmen. Dies ist die Arbeit, die eine Flüssigkeit gewinnt, wenn sie eine gemeinsame Phasengrenze mit der festen Oberfläche bildet [38]:

$$W_{SL} = \gamma_L (\cos\Theta + 1)$$

Glg. 4.4

4.1.3.2 Hysterese der Oberflächenspannung

Bei der Steighöhe der Flüssigkeit in einer Kapillare gibt es einen Unterschied, ob die Flüssigkeit in einer trockenen Kapillare aufsteigt, oder ob sie bis zum Erreichen des Gleichgewichts an der benetzten Innenoberfläche absinken kann. Die Höhe im Gleichgewichtszustand ist bei einer ansteigenden Flüssigkeitssäule geringer, als bei einer Flüssigkeit, die sich absenken kann. Dieser Effekt wird als Hysterese bezeichnet. Wird der Kapillardruck einer Flüssigkeitssäule in Abhängigkeit der Steighöhe dargestellt, so erhält man für die gleiche Steighöhe zwei verschiedene Druckwerte, abhängig von der Richtung in die sich die Flüssigkeit bewegt (Abb. 4.4).

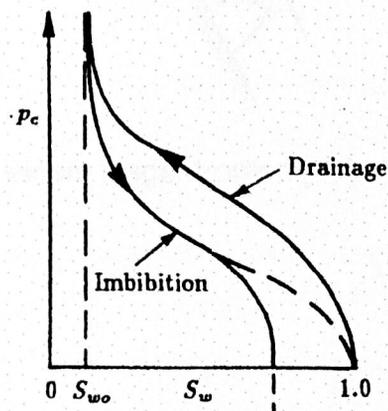


Abb. 4.4 : Hysterese des Kapillardrucks p_c in Abhängigkeit der Steighöhe S_w [47].

Dies kann durch den sogenannten Regentropfeneffekt erklärt werden. Fließt ein Regentropfen auf einer schiefen Ebene, so hat er zwei unterschiedlich große Kontaktwinkel. Die fortschreitende Front zeigt einen größeren Winkel als die nachgezogene (Abb. 4.5). Dies lässt sich durch Unreinheiten, nicht heterogene Struktur und Unterschiede in der Rauigkeit der Oberfläche erklären.

Die Hysterese ist in der Messtechnik von Interesse, da sie den Maximalwert des Druckes liefert der an einer Seite eines Flüssigkeitspaketes aufgebracht werden kann, ohne dass sich die Flüssigkeit vorwärts bewegt. Es kommt daher in einer Kapillare zu Druckschwankungen abhängig vom Material dieser Kapillare. Dies spielt in der Messtechnik eine entscheidende Rolle, wenn der Druck selbst gemessen wird oder wenn der Druck Einfluss auf die Konzentration eines gelösten Stoffes in der Flüssigkeit hat [47].

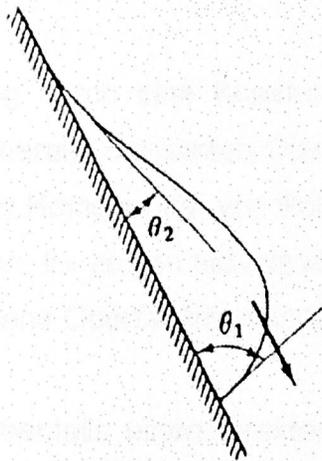


Abb. 4.5 : Hysterese an einem Regentropfen [47].

4.2 Oberflächen

4.2.1 Charakterisierung der Oberfläche von Biomaterialien

Für den richtigen Einsatz von Materialien in der Medizintechnik ist es entscheidend, den Mechanismus zu kennen, der zwischen der Oberfläche des Materials und der biologischen Flüssigkeit herrscht. Die oberste Atomschicht des Materials bestimmt seine chemischen sowie physikalischen Eigenschaften. Daher sind oberflächenanalytische Methoden am besten geeignet ein Material für den medizinisch-technischen Einsatz zu charakterisieren. Die Überprüfung von spezifischen Materialverbesserungen zur Erhöhung der Blutverträglichkeit kann durch diese Methoden erfolgen [25].

Oberflächeneigenschaften die sich besonders auf die Blutverträglichkeit eines Materials auswirken sind [32]:

- Oberflächenrauigkeit
- Oberflächenenergie
- Polarität
- Wasseraufnahmefähigkeit und Wassergehalt
- Elektrische Ladungen
- Benetzbarkeit

Die Aktivierung der Gerinnung durch eine Kunststoffoberfläche ist messtechnisch sehr schwer zu erfassen. Die bereits erwähnten Oberflächeneigenschaften sowie die energetische und geometrische Homogenität von Polymeren wurde mit der Thrombogenität eines Materials korreliert. Es zeigen sich dabei deutliche Tendenzen, dass die Thrombogenität durch heterogene Oberflächen verstärkt wird [28, 29].

Die Oberflächenrauheit hat ebenfalls einen direkten Einfluss auf die Thrombenbildung. Rauhe Oberflächen sind wegen ihrer größeren Oberfläche thrombogener als glatte Oberflächen des gleichen Materials. Rillen, die eine laminare Strömung des Blutes verhindern, als auch nachfolgende Turbulenzen können die Blutgerinnung fördern [11]. Durch eine Rissbildung in der Oberfläche, kann es aufgrund der erhöhten Rauheit des Materials zur Schädigung der Blutzellen und somit zur Thrombenbildung kommen.

4.2.1.1 Charakterisierung der chemischen Eigenschaften

Um die Struktur und Zusammensetzung eines Materials analysieren zu können, gibt es verschiedene Methoden, die eine unterschiedliche Genauigkeit der Charakterisierung ermöglichen [1]:

- Die oberflächenempfindliche Infrarotspektroskopie zeigt die Charakteristik des Absorptionsbandes von funktionalen Gruppen mit einer Tiefe von 0,1 bis 10 μm bei gedämpfter Totalreflexion (IR-ATR).
- Die Photoelektronen-Spektroskopie eignet sich bei rauen Oberflächen und lässt eine Beobachtungstiefe von 20 μm zu [26].
- Röntgenstrahlen-Photoelektron-Spektroskopie (XPS) ist eine sehr oberflächenspezifische Analysemethode. Diese liefert nicht nur Informationen über den Typ und die Menge der Elemente, sondern auch über deren Zustand wie Oxidationszahl oder Bindungszustände. Hier kann eine Informationstiefe von bis zu 10 nm erreicht werden, was einer Dicke von etwa 50 Atomlagen entspricht.
- In der Sekundärionen-Massenspektroskopie (SIMS) interagiert ein primäres Ion mit der Oberfläche des Kunststoffes und die Massenspektren des sekundären Ions werden aufgezeichnet. Dies liefert Informationen über die chemische Zusammensetzung der äußersten Lagen, die eine Informationstiefe von etwa 1 nm erreicht.
- Die Elektronenspin-Resonanz-Spektroskopie ist eigentlich keine oberflächenspezifische Analysemethode. Wegen ihrer Empfindlichkeit ist sie gut geeignet kovalente Bindungen von Polymeroberflächen zu detektieren, wenn diese etwa durch eine Aminogruppe markiert sind.
- Die Rasterelektronen-Mikroskopie (REM) und die Atomic Force Microscopy (AFM) liefert Informationen über die Oberflächeneigenschaften im μm -Bereich.

Die vollständige Analyse einer Oberfläche ist nur durch Kombination mehrerer Methoden möglich. Diese Methoden erweisen sich als sinnvoll, wenn eine gezielte Änderung der Oberfläche vorgenommen wird, um eine erhöhte Hämokompatibilität zu erreichen [1].

4.2.1.2 Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften

Hier gibt es vor allem zwei mögliche Methoden, um eine Charakterisierung der physikalischen Eigenschaften eines Materials zu untersuchen. Es ist bekannt, dass die Oberflächenenergie an der Kontaktfläche Material und Wasser die treibende Kraft ist für den Reorientierungsprozess polarer Gruppen an der obersten Schicht eines Kunststoffes hin zur flüssigen Phase [2]. Die chemische Zusammensetzung einer Oberfläche ist jedoch abhängig davon, ob ein Kontakt zu einem wässrigen Medium besteht, oder ob Luft die Oberfläche umgibt. Hydrophile Gruppen, wie sie bei Blockcopolymeren zu finden sind, siedeln sich vor allem an der Kontaktstelle zur wässrigen Phase an. Hydrophobe Gruppen tendieren eher zur Kontaktfläche mit Luft. Zur Charakterisierung der Benetzbarkeit einer Oberfläche ist die *Oberflächenspannung* und die Messung des *Strömungspotentials* (ζ - Potential) von großer Bedeutung [2].

Die Methoden zur Messung der Oberflächenspannung beruhen entweder auf der Untersuchung des Kräftegleichgewichts zwischen der Oberflächenkraft und anderen mechanischen Kräften oder auf der Beobachtung dynamischer Erscheinungen an der Oberfläche [38]. Von den vielen Messverfahren werden hier nur einige aufgezählt:

- Kontaktwinkelmethode
- Blasendruckmethode
- Kapillarmethode
- Drahtbügelmethode
- Wilhelmy-Plattenmethode
- Tropfengewichtsmethode
- Oberflächenlaserlichtstreuung

4.2.2 Verbesserung der Hämokompatibilität

Welche Parameter für die Hämokompatibilität eines Werkstoffes verantwortlich sind wurde im Kapitel Hintergrund dargestellt. Stark hydrophile sowie äußerst hydrophobe Kunststoffe zeigen, wegen ihrer geringen Proteinadsorption die besten Ergebnisse. Es gibt seit langem das Bestreben diese Oberflächeneigenschaften von Biomaterialien noch zusätzlich zu erhöhen.

Im Messgerät werden äußerst kleine Durchmesser verwendet. Dies ist notwendig, um sowohl geringere Probevolumen, als auch ein leichteres Temperieren der Probe zu ermöglichen. Stark hydrophobe Materialien scheiden daher aus physikalischen Gründen aus, denn ein kontrollierter Probentransport durch Saugen ist in diesem Fall schwer möglich. Der Kapillardruck der hydrophoben Oberfläche ist einfach zu groß. Ein weiteres Problem stark hydrophober Kunststoffe ist das Auftreten und Einschließen von Luftblasen, die eine Messung im Gerät unmöglich machen. Diese Luftblasen sind durch zu starke hydrophobe Oberflächeneffekte nur sehr schwer wieder zu entfernen.

Aus diesen Gründen empfiehlt es sich die Hydrophilie des eingesetzten Werkstoffes zu erhöhen. Vor allem ist das Prinzip der superhydrophilen Oberflächen derzeit das dominierende Konzept zur Verbesserung der Hämokompatibilität [2]. Die meisten Materialien die in der Medizintechnik im Einsatz sind, haben hydrophobe Eigenschaften. Es gibt einige Untersuchungen, die erfolgreich Hydrogele permanent an der Oberfläche von Polymeren durch Kopplung copolymerisieren. Hydrogele sind Polymere die eine Oberflächenspannung in der Nähe von Wasser aufweisen. Aus diesem Grund werden sie sehr stark von Wasser gequollen. Dieser Effekt wird durch die Bezeichnung Hydrogele beschrieben. Hydrogele können selbst nicht zu festen Materialien geformt werden, eignen sich aber hervorragend zur gezielten Oberflächenveränderung durch Copolymerisation.

Die Methoden, um eine Copolymerisation von Monomeren der Hydrogele an der Oberfläche durchzuführen sind [44]:

- Katalytische Polymerisation
- Energiereiche Strahlung
- Plasmainduzierte Polymerisation

Die wichtigste Methode, die Blutverträglichkeit zu verbessern ist die Plasmabehandlung der Oberfläche (Abb. 4.6). Dabei wird die Niedertemperaturmethode angewandt. Dieses Verfahren beeinflusst die Oberfläche, ohne tiefere Schichten des Kunststoffes zu verändern. Der große Vorteil dieser Methode ist, dass keine löslichen Reagenzien verwendet werden, die später wieder in das Blut gelangen könnten [45]. Die Plasmabehandlung mit nicht polymerisierbaren Gasen wie Argon, Stickstoff oder Schwefeldioxid führt zur Hydrophilisierung und Funktionalisierung der Oberfläche [46].

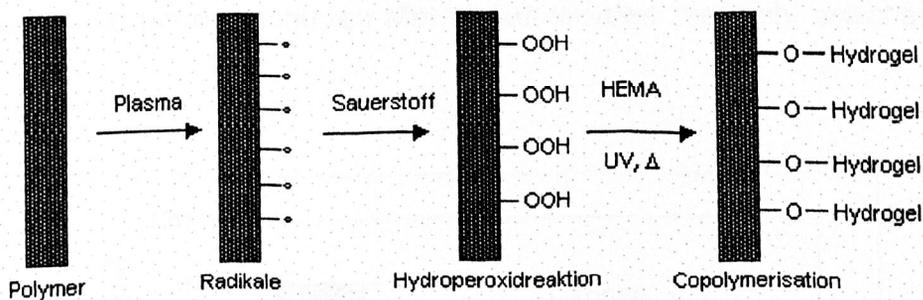


Abb. 4.6: Schema der plasmainduzierten Kopplung zur Hydrophilisierung polymerer Oberflächen.

Durch die Bildung von kovalenten Bindungen mit dem Grundpolymer kommt es zu einer permanenten Veränderung der Oberflächenspannung. Das neue Produkt wird zu einem Copolymer. Durch die Plasmabehandlung werden Radikale an der Oberfläche erzeugt, die mit Luftsauerstoff zu Hydroperoxidgruppen reagieren. Diese Gruppen können thermisch oder durch energiereiche Strahlung induziert mit geeigneten Monomeren reagieren

Abbildung 4.7 zeigt die Änderung der Proteinablagerung durch Beschichtung mit HEMA. Gemessen wurde die relative Dichte der Beschichtung. Bei 100 % ist ein Material völlig mit einer Proteinschicht bedeckt. 20% beschreibt die Flächenabdeckung der Proteine bezogen auf die Gesamtfläche.

Als erfolgreiche Methode wird die plasmainduzierte Polymerisation bereits in der Verbesserung der Oberflächeneigenschaften von Kathetern, konkret bei Tecoflex™ eingesetzt. Tecoflex™ ist ein Polyurethan, dessen stark hydrophobe Eigenschaften auf diese Weise in eine hydrophile umgekehrt werden kann. Auch in der Produktion von Kontaktlinsen wird dieses Verfahren bereits angewandt.

Als geeignete Monomere werden Hydrogele verwendet wie 2- Hydroxyethylmethacrylat (HEMA), Hydroxybutylacrylat (HBA) oder Acrylsäure. Die Veränderung in der Blutverträglichkeit zeigt sehr deutlich Abb. 4.7. Die Materialien Polyethersulfon und Polyurethan wurden mit Blut benetzt. Die Differenz in der Proteinablagerung von beschichteten und unbeschichteten Materialien werden hier sehr anschaulich dargestellt.

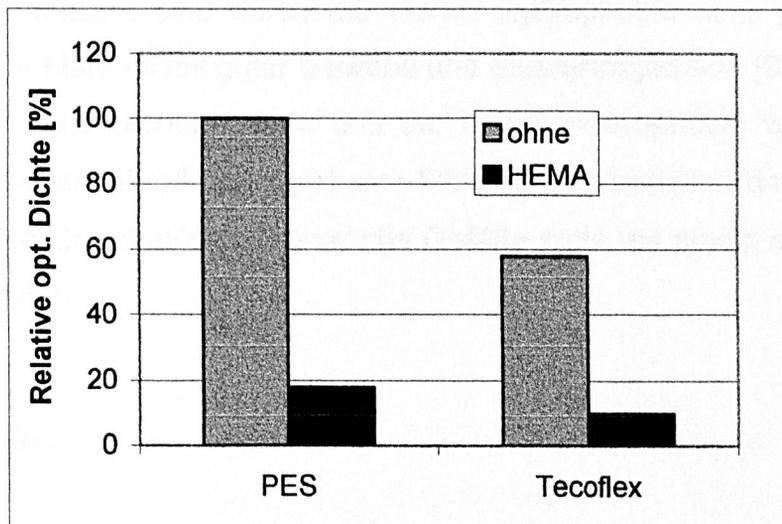


Abb. 4.7: Vergleich der irreversiblen Proteinschicht auf Polyethersulfon und Tecoflex™ nach Hydrophilisierung mit HEMA.

4.3 Kunststoffe in der Medizintechnik

Die untersuchten Kunststoffe werden hier unter dem Aspekt der medizinisch-technischen Anwendung betrachtet werden. Bei der Auswahl von Kunststoffen für medizinische Anwendungen muss sehr sorgfältig abgewogen werden, zwischen den unterschiedlichen Möglichkeiten, die einzelne Polymertypen bieten, den Verarbeitungsbedingungen, und den Anforderungen an das Produkt.

4.3.1 Polytetrafluorethylen

Polytetrafluorethylen (PTFE) hat wegen seines symmetrischen Aufbaus der Molekülkette einen hohen Kristallisationsgrad. Es ist hornartig zäh, hat eine geringe Härte und Festigkeit, neigt zum Kriechen, ist extrem hydrophob und zeigt keine Neigung zur Spannungsrissbildung und Wasseraufnahme. PTFE wird in der Medizintechnik hauptsächlich als Gefäßersatz, Gehörknöchelchen und Harnleiterprothesen eingesetzt. Hohlgefäße werden ab einem Innendurchmesser von 7 mm eingesetzt. Für kleinere Durchmesser hat sich PTFE nicht bewährt. Die Kapillardrücke die aufgebracht werden müssen sind durch die starke Hydrophobie sehr groß. Es ist ein chemisch inertes Material mit guter Gewebe und Blutverträglichkeit [33]. Aufgrund der relativ geringen Oberflächenenergie und der hohen Hydrophobie weist PTFE eine geringe Thrombogenität auf. Wolf gibt eine Fibrinogenadsorption von $10\% \pm 7,5\%$ an [34]. Aus diesem Grund müssen künstliche Gefäße nicht mit einem anderen Material beschichtet werden.

4.3.2 Polyethylen

Polyethylen (PE) ist der am häufigsten eingesetzte Thermoplast. PE findet für tribologisch beanspruchte Prothesenbauteile Verwendung. Weitere Anwendungen sind als Osteosyntheseschienen zur Fixation von Knochenbrüchen, für Spritzen, Schläuche, Infusionsbeutel, als Katheder für den Harnleiter, Gallengang oder die Trachea sowie als exzellenter Knochenfüllstoff. Mit zunehmender Molmasse steigen der Kristallisationsgrad und die Festigkeitswerte. PE wird als bioinert eingestuft,

obwohl die Fibrosebildung im Vergleich zu Titan höher ist [36]. Es ist gut gewebeverträglich und zeigt nur eine geringe Abnahme der Reißfestigkeit in Abhängigkeit der Implantierzeit.

4.3.3 Acrylnitril/Butadien Copolymer

Der Acrylnitril/Butadien-Copolymer (AN/BR) wird derzeit nicht im medizinisch technischen Bereich verwendet. Daher gibt es keine spezifische Untersuchung auf die Eignung als Biomaterial. AN/BR wird aber aufgrund seiner hervorragenden Barriereigenschaften gegenüber Sauerstoff und Kohlendioxid in Analysegeräten zur Messung von Blutgasparametern eingesetzt. Es wurde zum Vergleich mit den besser bekannten Materialien in die Untersuchungsreihe mit aufgenommen. PVC und AN/BR sind ähnlich aufgebaut, da sie die Vinylgruppen $-\text{[CH}_2\text{—CHR]}_n\text{-}$ enthalten. Die polare Gruppe R ist im Fall von PVC Cl, bei AN/BR die Gruppe $\text{C}\equiv\text{N}$. Zu seinen besonderen physikalischen Eigenschaften zählt vor allem die hohe Festigkeit, der hohe E-Modul und die hohe Schlagzähigkeit. Die maximale Gebrauchstemperatur liegt zwischen 65°C und 75°C . Kurzzeitig dürfen Belastungen bis 85°C auftreten. Dies sollte bei der Formgebung unter Hitze beachtet werden [48]. Die Oberflächenspannung dieses Materials beträgt 55 mN/m . Dies ist die höchste Oberflächenspannung aller Materialien die in dieser Versuchsreihe untersucht wurden. Durch die beste Hydrophilie kann daher eine gute Blutverträglichkeit erwartet werden.

4.3.4 Silikonkautschuk

Silikonelastomere sind vernetzte anorganische Makromoleküle deren Ketten aus Silizium-Sauerstoff-Segmenten bestehen. Die mechanischen Eigenschaften hängen vom Grad der Vernetzung ab und von der Art und dem Anteil des Füllstoffes. Meist wird hier SiO_2 verwendet. Polysiloxane sind wegen der Beweglichkeit der SiO-Bindung sehr elastisch. Dies lässt sich durch Füllstoffe beeinflussen. Silikonoberflächen sind hydrophob und haben eine hohe chemische Resistenz, daher zeigen sie gegenüber Proteinen eine geringe Adsorptionsneigung was auf eine gute Blutverträglichkeit hinweist. Die Hämokompatibilität nimmt jedoch mit dem Einsatz von Füllstoff-

fen ab [35]. Silikone sind dauerwarmbeständig bis 250 °C, kurzzeitig bis 400 °C. Sie können daher gut im Autoklaven verwendet werden.

4.3.5 Polyvinylchlorid

Weichmacherhaltiges Polyvinylchlorid (PVC-P) ist ein amorpher Kunststoff mit sehr geringem kristallinen Anteil (ca. 5%). Durch die vielfältigen Wahlmöglichkeiten an Additiven und bei der Polymerisation ist ein breites Spektrum an Produkten mit spezifischen Eigenschaften herstellbar. Der am häufigsten verwendete Weichmacher ist Di-(2 ethyl-hexyl-) phtalat (DOP). Infolge der guten chemischen Beständigkeit ist PVC unempfindlich gegenüber Spannungsrissbildung. Es ist ein preiswertes Massenprodukt, welches jedoch für Langzeitimplantate ungeeignet ist. Das Anwendungsgebiet reicht von Blutbeuteln, Infektionsbehältern, Schläuchen für die künstliche Ernährung und Katheter bis zu Tracheatuben und OP-Handschuhen.

Das größte Problem beim Einsatz von PVC stellt das Extrahieren von Weichmachern dar. DOP kann von fett- und lipidhaltigen Lösungen extrahiert werden. Lipide befinden sich auch im Blut, unter anderem als Cholesterine, Phospholipide und freie Fettsäuren. Beim Blutkontakt ist eine direkte intravenöse Zufuhr von Phtalsäureestern möglich. Durch Hydrolyse kann daraus Monoester entstehen, der toxischer als DOP sein soll. Als Beispiel findet sich nach einer fünfstündigen Dialyse ca. 150 mg DOP im Blut [1].

Spezifikation einer Blutbeutelfolie aus PVC- weich entsprechend der Europ. Pharmacopoe sowie der DIN 58 361:

- 60% PVC mit einem Monomergehalt < 1 ppm
- bis 40% Di- (2 ethyl-hexyl-) phtalat (DOP)
- bis 10% Epoxidierte Öle (z. B. Epoxy-Sojaöl mit einer Jodzahl bis höchstens 6 und einem Oxirangehalt von 6- 8%)
- bis 1% Zink- und/oder Calciumstearat
- bis 1% Gleitmittel (z. B. Dipalmityl-Ethylen-Diamin)
- Antioxidantien sowie Farbstoffe sind nicht zugelassen.

Durch den Gehalt an lipophilen Substanzen im Blut werden signifikante Mengen an DOP aus dem Material extrahiert. Der Hauptanteil der Weichmacher befindet sich im Plasma. Trotz eines Hämatokritwertes von rund 0,44 liegt die Weichmacherkonzentration in Erythrozyten bei nur 20%.

Es gibt verschiedene Ansätze den Weichmacher DOP durch andere zu ersetzen, die eine geringere Migration aufweisen. Hier wurde insbesondere das Tri- (2-ethyl-hexyl) trimellitat (TOTM) verwendet. Für das Erreichen der gleichen Flexibilität ist ein 4% höherer Weichmachergehalt nötig. TOTM weist für Blut, Plasma und Thrombozytenkonzentrate Extraktionswerte von nur 1 bis 10% im Vergleich zu DOP auf [1].

5 Methodik und Experimentelles

Aus der Vielzahl an Untersuchungsmöglichkeiten wurde nun eine Auswahl getroffen, die einerseits der Zielsetzung entspricht eine gute Charakterisierung der Oberfläche zu ermöglichen, andererseits die technischen Möglichkeiten, die zur Verfügung stehen berücksichtigt. Eine Charakterisierung soll mit Methoden durchgeführt werden, die im Labor leicht nachzuvollziehen sind. Um den Einsatz von Werkstoffen speziell im Kontakt mit biologischen Flüssigkeiten charakterisieren zu können, muss vor allem Wert auf die Schnittstelle zwischen Kunststoff und Blut gelegt werden. Im Kapitel Hintergrund wurde bereits auf die vielfältigen Mechanismen an dieser Kontaktstelle hingewiesen.

Unter diesem Aspekt bietet sich ein sehr aussagekräftiger Materialparameter für die Klassifizierung von Materialien im medizinisch-technischen Einsatz an. Die Oberflächenspannung wurde übereinstimmend in jeder Literatur als der Haupteinflussfaktor erkannt, der die Wechselwirkung zwischen Oberfläche und Blut dominiert [1]. Dieser Parameter des Materials bestimmt den ersten Blutkontakt. Er entscheidet über die Art des Proteins, welches sich auf der Oberfläche ablagern kann. Diese selektive Proteinschicht bestimmt in weiterer Folge die Mechanismen, die sich zwischen Blut und Material ereignen.

Gute Blutverträglichkeit eines Werkstoffes ist gleichzusetzen mit möglichst geringer Proteinbeschichtung der Materialoberfläche. Je geringer die Ablagerung, desto kleiner die Wechselwirkung mit Blut. Eine Ablagerung stellt eine Veränderung des Blutes dar und ist bereits die Vorstufe der Blutgerinnung, die nur durch Gerinnungshemmer unterbunden werden kann. Diese Schicht ist keine passive Ablagerung die nach der Benetzung mit der biologischen Flüssigkeit zurückbleibt. Proteine werden gezielt angelagert, um den Kontakt der Blutkörperchen mit der Oberfläche zu verhindern. Das ist eine Schutzfunktion des Körpers, die im extrakorporalen Einsatz umgangen werden muss.

Wie in Abb. 5.1 gut zu erkennen ist, erweisen sich sowohl stark hydrophobe Materialien (z.B. PTFE), als auch stark hydrophile Oberflächen (z.B. Cellulose) als hämocompatibel. Als Grundlage dieser Beurteilung wird die irreversible Ablagerung adsorbierter Proteine herangezogen. Die Mechanismen dafür sind gut bekannt und im Kapitel 4 (Grundlagen) erläutert. Eine niedrige Konzentration abgelagerter Proteine kann mit einer geringen Wechselwirkung und damit schwacher gegenseitiger Beeinflussung gleichgesetzt werden.

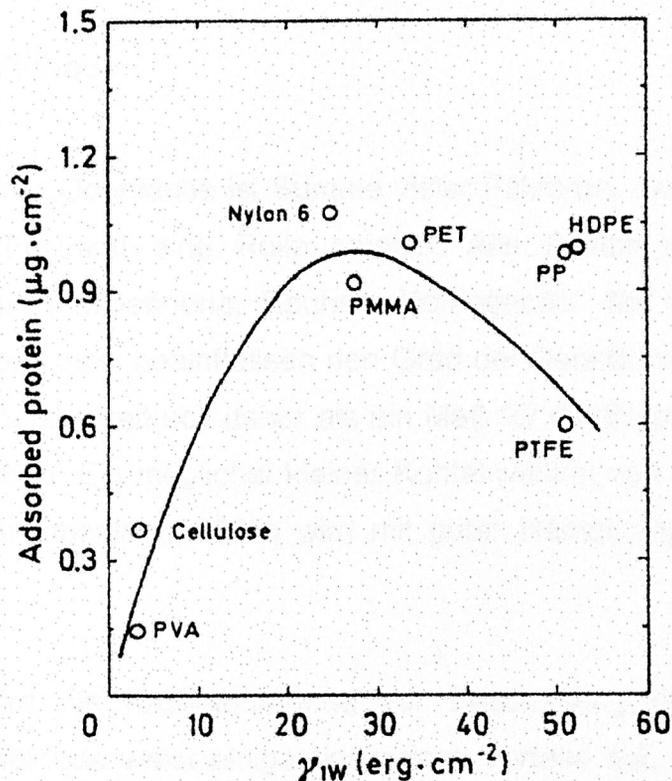


Abb. 5.1: Proteinadsorption an Polymeroberflächen in Abhängigkeit von der Oberflächenspannung [44].

Die Diffusionsspannung, ein weiterer Faktor zur Beurteilung von Biomaterialien, wird ebenfalls in der Literatur angeführt, jedoch unter der Einschränkung stark verdünnter Flüssigkeiten. Dies ist bei Blut nicht der Fall. Blut ist im Grunde eine hochkonzentrierte kolloidale Suspension. Das Phänomen der vollständigen Proteinbeschichtung bei Kontakt mit einer biologischen Flüssigkeit kann daher von dieser Eigenschaft nicht mehr hinreichend beschrieben werden.

Der Einfluss der elektrostatischen Effekte bei der Wechselwirkung mit Blut ist unbestritten. Plasmaproteine sind leicht negativ geladen, was einen stärkeren Einfluss auf polare Kunststoffe vermuten lässt als auf unpolare. Dieser Aspekt ist noch Teil heftiger Diskussionen. Widersprüchliche Ansätze, die sowohl positiv als auch negativ geladene Oberflächen als vorteilhaft beschreiben, haben diesen Parameter als zu wenig aussagekräftig dargestellt. Erst weitere Untersuchungen können zukünftig den Einfluss elektrostatischer Kräfte auf die Hämokompatibilität eines Werkstoffes verdeutlichen.

5.1 Auswahl der Methode

Die Benetzbarkeit einer Oberfläche ist Summe vieler Faktoren, die bei der Wechselwirkung Flüssigkeit/Feststoff eine Rolle spielen. Alle Faktoren wie Hydrophilie/Hydrophobie, Oberflächenspannung, Rauheit, Homogenität der Oberfläche, polare bzw. unpolare Gruppen usw. beeinflussen den Grad der Benetzung. Der Kontaktwinkel als Grad der Benetzbarkeit soll daher als ein Maß für die Eignung als hämokompatibles Material dienen. Ein möglichst kleiner Kontaktwinkel von Wasser zeigt eine hohe Hydrophilie der Oberfläche. Dies wird mit guter Hämokompatibilität gleichgesetzt [44].

In dieser Arbeit wird die Kapillarmethode zur Bestimmung des Kontaktwinkels verwendet. Diese Methode weist einige besondere Vorteile auf, die sie gegenüber anderen Messmethoden als besonders geeignet auszeichnet. Einerseits entspricht die geometrische Form einer Kapillare der Anwendung im Analysegerät zur Messung von Blutparametern. Der Blutkontakt an Werkstoffen erfolgt fasst ausschließlich in Schläuchen, oder geometrisch ähnlichen Rohrkammern, wie etwa in den Sensoren der Analysegeräte. Dort wird das Blut durch zylinderförmige Bohrungen geführt. Die Kapillarmethode hat daher den Vorteil, die Messergebnisse bereits anwendungsspezifisch deuten zu können.

Die Oberflächenspannung einer Flüssigkeit ist andererseits abhängig vom Sättigungsgrad der Luft. Ein Gleichgewicht an der Phasengrenze stellt sich erst ein, wenn das Gas über der Grenzschicht gesättigt ist. Die Luftfeuchtigkeit muss daher 100% erreichen. In einer Kapillare wird an der Phasengrenze leichter ein Gleichgewichtszustand erreicht. Durch das große Verhältnis von Länge zu Durchmesser über der Phasengrenze Wasser/Luft ist ein Gasaustausch mit der Luft, welche die Kapillare umgibt, erschwert. Auf der Innenseite der Kapillare bildet sich ein dünner Film von Recondensat, der Verluste von Wasserdampf aus der Kapillare verhindert. Dieser Effekt ist in der Gaschromatographie als *Lösungsmittelfeffekt* bekannt [43], ein Vorteil, der gegenüber der Kontaktwinkelmessung zu einer besseren Reproduzierbarkeit der Messergebnisse führt. Untersuchungen an Oberflächen, die mit biologischen Kulturen beschichtet waren, haben eine große Streuung der herkömmlichen Kontaktwinkelmethode gezeigt. Diese Streuungen wurden auf das Austrocknen von Schicht und Messtropfen zurückgeführt [36], ein Problem, das mit der Kapillarmethode vermieden werden kann.

Die Aufgabe war nun die Kapillarmethode so anzupassen, dass sie für die Messung des Kontaktwinkels geeignet war. Diese Methode wird bis jetzt ausschließlich dazu verwendet die Oberflächenspannung von Flüssigkeiten zu bestimmen. Das Material der Kapillare ist Glas und es wird eine vollständige Benetzung vorausgesetzt. Dadurch wird der Kontaktwinkel Θ gleich Null angenommen. Der Kontaktwinkel ist jedoch eine Funktion aller drei Phasengrenzen Flüssig-Fest, Flüssig-Gas und Fest-Gas und darf bei schlecht benetzenden Oberflächen nicht vernachlässigt werden. In Abb. 5.2 ist das Kräftegleichgewicht aller drei Phasengrenzen dargestellt.

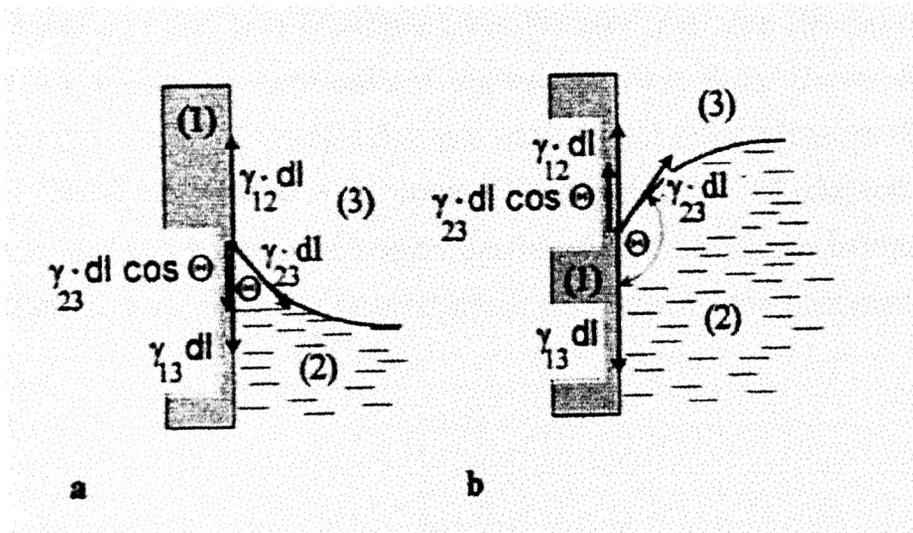


Abb. 5.2: Kräftegleichgewicht an der Phasengrenze der drei Phasen Feststoff, Flüssigkeit und Gas. Hydrophil a, hydrophob b [38].

1 beschreibt die feste Oberfläche, 2 die Flüssigkeit und 3 die umgebende Luft. Alle Oberflächenspannungen wirken parallel zur Oberfläche, daher ist an der festen Oberfläche nur das Produkt aus $\cos \Theta$ und der Oberflächenspannung der Phasengrenze 23 wirksam.

5.2 Modifizierte Kapillarmethode

In dieser Arbeit wird die Kapillarmethode zur Quantifizierung der Benetzung unterschiedlicher Materialien verwendet. Es wird die Oberflächenspannung des Materials variiert, nicht die Flüssigkeit. Es ist möglich mit einer Flüssigkeit bekannter Oberflächenspannung die Benetzung unbekannter biologischer Beschichtungen zu quantifizieren. Untersuchungen an unterschiedlichen Kapillardurchmessern haben dabei eine sehr gute Reproduzierbarkeit des Kontaktwinkels ergeben

In engen Kapillaren kann eine Flüssigkeit wie Wasser über das Niveau der Flüssigkeitsoberfläche außerhalb der Kapillare aufsteigen (Abb. 5.3). Dieser Effekt heißt Kapillaraszension. Andere Flüssigkeiten wie etwa Quecksilber bilden in der Kapillare eine Säule, deren Oberfläche sich unter der umgebenden Flüssigkeitsoberfläche befindet. Hier wird von Kapillardepression gesprochen. Welcher der beiden Vorgänge zu beobachten ist, wird durch die Benetzbarkeit der Kapillarwand bestimmt.

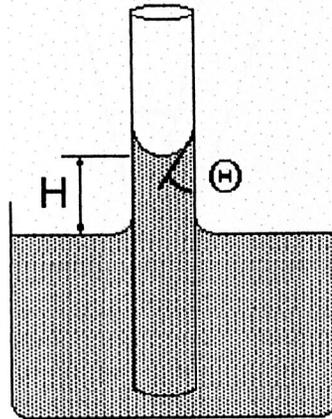


Abb. 5.3: Kontaktwinkel der Flüssigkeit in einer Kapillare.

Die kapillare Hebung oder Senkung wird um so stärker, je enger das Kapillarrohr ist. Bei einer Benetzung der Kapillarwand breitet sich die Flüssigkeit auf der Oberfläche der Kapillare aus. Es kommt nun zu einer Vergrößerung der Flüssigkeitsoberfläche. Dieser Vergrößerung wirkt die Oberflächenspannung entgegen, indem sie ein Aufsteigen der Flüssigkeit in der Kapillare hervorruft. Die Flüssigkeit kann so lange in der Kapillare steigen, bis sich ein Gleichgewicht zur Gewichtskraft der Flüssigkeitssäule einstellt [38].

Durch die Krümmung der Oberfläche ändert sich die Bedingung für das thermodynamische Gleichgewicht zwischen der gasförmigen und der flüssigen Phase. Infolge der Oberflächenspannung kann das Gleichgewicht nur dann gewährleistet sein, wenn beide Phasen unter unterschiedlichen Drücken stehen. Durch die Krümmung der Oberfläche der Flüssigkeit und der Oberflächenspannung tangential zur Oberfläche ergibt sich eine resultierende Kraft die senkrecht zur Oberfläche wirkt. Diese Kraft bezogen auf ein Flächenstück wird als Krümmungsdruck p_K bezeichnet. Zur Ermitt-

lung des Krümmungsdrucks wird die Arbeit zur Verschiebung eines Oberflächenstückes bestimmt (Abb. 5.4) [37].

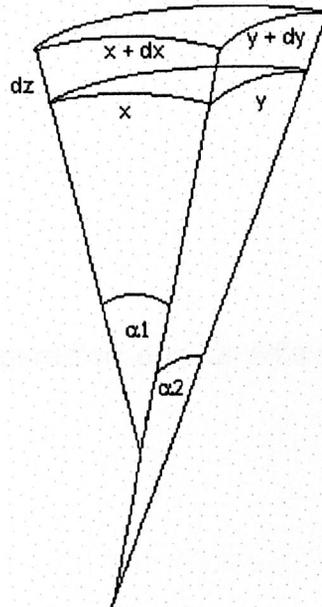


Abb. 5.4: Schema der Oberflächenvergrößerung [37].

Die Arbeit besteht aus einer Volumsarbeit

$$dw_v = -p \cdot dv \quad \text{Glg.5. 1}$$

als auch einer Oberflächenarbeit

$$dw_A = \gamma \cdot dA \quad \text{Glg.5. 2}$$

Die Oberflächenvergrößerung ist die Differenz aus der Fläche $x \cdot y$ und der Vergrößerten Fläche $(x + dx) \cdot (y + dy)$.

$$dA = (x + dx) \cdot (y + dy) - x \cdot y \approx y \cdot dx + x \cdot dy \quad \text{Glg.5. 3}$$

Aus der Geometrie folgt

$$\frac{x}{R_1} = \frac{x + dx}{R_1 + dz} \quad \text{Glg.5. 4}$$

und für die zweite Krümmung

$$\frac{y}{R_2} = \frac{y + dy}{R_2 + dz} \quad \text{Glg.5. 5}$$

R_1 und R_2 sind die Krümmungsradien des Oberflächenelements. Aus Glg.5. 4 und Glg.5. 5 folgt

$$dx = \frac{x}{R_1} dz \quad \text{Glg.5. 6}$$

$$dy = \frac{y}{R_2} dz \quad \text{Glg.5. 7}$$

Daraus errechnet sich die Flächenänderung zu

$$dA = x \cdot y \cdot dz \cdot \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad \text{Glg.5. 8}$$

Die Volumsänderung wird angenähert durch die Gleichung

$$dv = x \cdot y \cdot dz \quad \text{Glg.5. 9}$$

Die Gleichgewichtsbedingung von Glg.5. 1 und Glg.5. 2 ergibt somit

$$p_K \cdot x \cdot y \cdot dz = \gamma \cdot x \cdot y \cdot dz \cdot \left(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \right) \quad \text{Glg.5. 10}$$

Die Flüssigkeit bildet mit der Kapillare einen Randwinkel Θ . Der Krümmungsradius der Flüssigkeitssäule R_K ergibt sich aus der Geometrie Abb. 5. 5:

$$R_K = \frac{r_K}{\cos \Theta}$$

Glg.5. 11

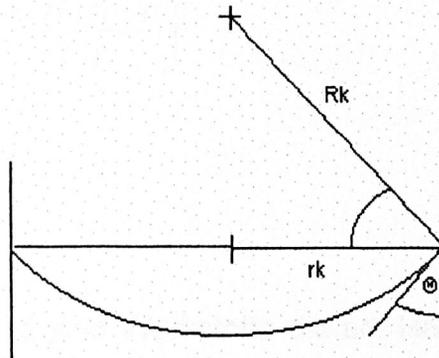


Abb. 5. 5: Zusammenhang von Krümmungsradius und Kapillarradius.

In einer Kapillare sind $R_1 = R_2$, damit beträgt der wirksame Kapillardruck

$$p_K = \frac{2 \cdot \gamma \cdot \cos \Theta}{r_K}$$

Glg.5. 12

Die Gewichtskraft F_G hat den Betrag

$$F_G = \pi \cdot r_K^2 \cdot g \cdot H \cdot \rho$$

Glg.5. 13

H ist die Höhe der Flüssigkeitssäule, ρ die Dichte der Flüssigkeit. Der Betrag der Zugkraft F_z , bedingt durch die Oberflächenspannung beträgt

$$F_z = 2 \cdot \pi \cdot r_K \cdot \gamma \cdot \cos \Theta$$

Glg.5. 14

Aus dem Gleichgewicht von F_G und F_z errechnet sich γ zu:

$$\gamma = \frac{g \cdot H \cdot r_K \cdot \rho}{2 \cdot \cos \Theta} \quad \text{Glg. 5. 15}$$

Damit kann bei bekannter Oberflächenspannung γ und Dichte ρ der Flüssigkeit aus der Steighöhe in einer Kapillare der Kontaktwinkel Θ berechnet werden.

$$\Theta = \arccos\left(\frac{g \cdot H \cdot r_K \cdot \rho}{2 \cdot \gamma}\right) \quad \text{Glg. 5. 16}$$

5.3 Werkstoffe

Die Schlauchmaterialien sind jene Werkstoffe die am Häufigsten mit Blut in Kontakt treten. Da in den Analysegeräten zur Messung von Blutparametern eine Vielzahl unterschiedlicher Materialien als Schläuche verwendet werden, bieten sich diese sehr gut an, einen Vergleich der Blutverträglichkeit anzustellen. Derzeit werden die unterschiedlichsten Materialien wie Elastomere, amorphe sowie teilkristalline Kunststoffe eingesetzt. Durch die große Vielfalt lässt sich aus den Untersuchungen leichter eine allgemein gültige Charakterisierung von Polymeren im Einsatz mit biologischen Flüssigkeiten ableiten. Folgende Werkstoffe wurden in die Versuchsreihe aufgenommen:

- Polytetrafluorethylen (PTFE)
PTFE-Chemieschlauch, Reichelt Chemietechnik (Heidelberg, D)
Innendurchmesser 1 mm.
- High Density Polyethylen (PE-HD)
HDPE-Schlauch, Kunststofftechnik Holzinger GmbH
Innendurchmesser 1 mm.
- Acrylnitril/ Butadien Copolymer (AN/BR)
Barex® 218 Resin, BP Chemicals
Innendurchmesser 0,8 mm
- Silikonkautschuk (SI)
Silikon-Kautschuk Natur, Shore A 50 ± 5 , Detakte Ges.m.b.H & Co.

Innendurchmesser 1,1 mm.

- Polyvinylchlorid – weich (PVC-P)
Tygon® 3603 transparent, Fa. Merck
Innendurchmesser 0,8 mm.

Die Oberflächenspannung dieser Materialien ist der Haupteinflussfaktor der Verträglichkeit mit Blut. Die Untersuchungen sollen einen Zusammenhang dieses Parameters mit den resultierenden Effekten der Proteinbeschichtung liefern. In Tab.5. 1 sind Literaturdaten für die Oberflächenspannungen der einzelnen Werkstoffe aufgelistet.

Tab.5. 1: Oberflächenspannung von Polymeren [43].

Material	Oberflächenspannung
PTFE	23,9 mN/m
PE-HD	36,8 mN/m
AN/BR	51,6 mN/m
Silikonelastomer	25,7 mN/m
PVC	41,9 mN/m

5.4 Verwendete Flüssigkeiten

Für die Kapillarmessungen, die Benetzung der Proben und das nachfolgende Auswaschen wurden folgende Flüssigkeiten verwendet.

- Neodisher: 0,35 % basisches Detergens
- Neohypo: : 0,5 % aktives Chlor
0,35 % basisches Detergens
- Sol A : Lösung nichtionischer Tenside (weniger als 250 ppm)
- Sol D : isotonische Lösung mit organischem Amin- Puffer
- Destilliertes Wasser
- Rinderblut mit Heparin

5.5 Versuchsdurchführung

Der Blutkontakt an einer Oberfläche erzeugt eine Proteinschicht, die bereits nach geringer Zeit irreversibel ist. Auch durch das Abwaschen mit Wasser kann dieser Film nicht wieder entfernt werden. Es hat sich in der Vergangenheit gezeigt, dass zwar das Oberflächenphänomen der Benetzbarkeit durch Blutkontakt wesentlich verändert wurde, bekannte Färbemethoden jedoch keine Proteinbeschichtung nachweisen konnten. Durch die Kapillarmethode kann nun eine Quantifizierung der vorliegenden Benetzbarkeit vorgenommen werden.

5.5.1 Probenkonditionierung

Der Zustand der Schläuche ohne vorherige Reinigung wäre nicht definiert gewesen, daher wurden die Innenflächen der Schläuche vor dem Einsatz gewaschen. Hierzu wurde die gleiche Reinigungsroutine verwendet, wie sie in Analysegeräten zur Messung von Blutparametern selbst üblich ist. In der Praxis erweisen sich Waschpakete für die Reinigung von Innenflächen effektiver als eine durchgehende Spülung mit dem gleichen Volumen. Als Waschpakete werden konstante Flüssigkeitsvolumen bezeichnet, die durch Luftblasen getrennt im Schlauch vorwärts gepumpt werden. In dieser Arbeit wurden jeweils 20 cm lange Waschpakete von 5 cm langen Luftblasen getrennt. Als Pumpe wurde eine Schlauchpumpe verwendet, wie sie auch in Analysegeräten zum Einsatz kommt.

Der Silikonschlauch wurde mit reinem Ethanol gewaschen. Dabei wurden 10 Waschpakete Ethanol verwendet und danach mit 10 Paketen destilliertem Wasser ausgespült. Auch im Analysegerät zur Messung von Blutparametern wird Ethanol nur für die Silikonschläuche verwendet. Die restlichen vier Materialien (PTFE, HDPE, Barex® und Tygon®) wurden mit der speziellen Reinigungslösung Neodisher® gereinigt. Die Vorgehensweise war gleich wie bei Si. Jeweils 10 Waschpakete der Reinigungslösung, danach 10 Pakete destilliertes Wasser zum Ausspülen. Auf das Trocknen der Innenflächen wurde bewusst verzichtet, da auch im Gerät die Innenflächen ständig feucht sind.

5.5.2 Benetzung mit Blut

Für die Benetzung der Schlauchmaterialien wurde Rinderblut verwendet. Das Rinderblut war mit Heparin versetzt, um die Gerinnung zu unterbinden. Unter ständigem Rühren mittels Magnetrührer wurde verhindert, dass es zu einer Trennung der unterschiedlichen Blutbestandteile des Blutes kam. Ohne Bewegung des Blutes wäre nach einiger Zeit eine Trennung von Leukozyten und Erythrozyten zu bemerken. Das Blut wurde mit konstanter Pumpengeschwindigkeit durch die Schlauchmaterialien gepumpt. Die gleichen Strömungsbedingungen wurden erreicht, indem die Schläuche miteinander in Serie gekoppelt wurden. Dadurch konnte die gleiche Strömungsgeschwindigkeit, sowie die gleiche Durchflussmenge in allen Schläuchen verwirklicht werden.

Die Zeiten für die Benetzung mit Rinderblut betragen:

- 1 Minute
- 3 Minuten
- 24 Stunden

Nach diesen Benetzungsroutinen wurde der zurückbleibende Blutfilm mit 10 Waschpaketen destilliertem Wasser ausgewaschen. Von Interesse für die Proteinbeschichtung war vor allem der irreversible Anteil der Beschichtung, der auf der Oberfläche haften blieb.

5.5.3 Kapillarmessung

Die Schlauchmaterialien wurden in fünf je 7 cm lange Kapillaren geschnitten und jeweils auf einem Feinmaß aufgeklebt. Diese Kapillaren wurden in destilliertes Wasser getaucht, da von dieser Flüssigkeit die Oberflächenspannung und Dichte gut bekannt sind. Die Kapillaraszension bzw. -depression wurde nach bestimmten Zeiten gemessen. Diese zeitabhängigen Verläufe waren für die Auswertung und Charakterisierung ebenfalls von Bedeutung. Eine höhere Genauigkeit der optischen Messung wurde durch ein Lichtmikroskop ermöglicht, mit dem die Steighöhe in der Kapillare verfolgt wurde.

Der Ablauf der Kapillarmessung war durch das bekannte Phänomen der Hysterese genau zu definieren. Es war für die Messung von großer Bedeutung, ob sich das Gleichgewicht durch Fallen oder Heben der Flüssigkeitssäule einstellte. Stieg die Flüssigkeit in der Kapillare auf, erreichte sie im Gleichgewicht eine deutlich geringere Höhe, als wenn sich die Flüssigkeit in einer vollständig gefüllten Kapillare absenken konnte. In den Analysegeräten wird die Positionierung einer Flüssigkeit mit ihrer vorderen Front durchgeführt. Durch Saugen wird Flüssigkeit durch die vorerst leeren Schläuche bewegt. Dies entspricht bei der Kapillarmethode dem Eintauchen einer luftgefüllten Kapillare in das Messmedium Wasser. Die steigende Flüssigkeit in der Kapillare entspricht der vorderen Front in den Schläuchen. Diese vordere Front wurde in der Messung dargestellt.

Durch Absenken der Flüssigkeit wird die nacheilende Phasengrenze eines Flüssigkeitspakets beschrieben. Dies wird in der Kapillarmethode erreicht indem die Kapillare durch Eintauchen in der Messflüssigkeit völlig gefüllt wird. Danach wird die Kapillare so weit aus der Flüssigkeit gehoben, dass diese in der Kapillare wieder zu sinken beginnt. Die Kapillare darf dabei nie ganz aus der Flüssigkeit gehoben werden.

Es wurde darauf geachtet, dass sich die Flüssigkeit nur steigend in der Kapillare bewegt, um die Effekte der Hysterese als Messfehler zu vermeiden. Damit konnte immer die gleiche Bedingung im Messablauf garantiert werden. Aus diesem Grund wurden die Kapillaren mit dem Feinmaß fix auf einem Stativ befestigt. Die Flüssigkeit

wurde mit einer Hebebühne mittels Verstellerschraube von unten an die Kapillaren geführt. Als Entscheidungshilfe für die Wahl des Messablaufs wurde die Praxis der Messung herangezogen. Hier ist es von größerem Interesse, welcher Grad der Benetzung an der Front der voranschreitenden Flüssigkeit auftritt, als an der nacheilenden.

Die Messung der Steighöhe wurde in Abhängigkeit von der Zeit an den 5 Kapillaren vorgenommen. Über die Steighöhe wurde dann mit Glg. 5. 16 der Kontaktwinkel errechnet. Die Steighöhe wurde in den Intervallen 1 min, 5 min, 15 min, 30 min und 45 min gemessen.

Die Messung der Kapillardepression erwies sich als etwas schwieriger. Die Erfassung der Eintauchtiefe war durch das Aufkleben der Kapillaren auf dem Feinmaß nicht mehr durch den Effekt der Beugung beeinflusst. Denn der Meniskus der Kapillarflüssigkeit und die Skalierung unterlagen den selben Beugungseffekten und konnten auf diese Weise ausgeglichen werden.

5.5.4 Reinigungslösungen

Die Waschpakete mit destilliertem Wasser konnten den abgelagerten Proteinfilm nicht mehr völlig entfernen, daher war es von Interesse zu beobachten, ob mit Reinigungslösungen, welche im Gerät eingesetzt werden, eine völlige Säuberung der Oberfläche möglich ist. Hierfür wurden drei unterschiedliche Lösungen verwendet. Diese Messungen wurden mit Schläuchen durchgeführt die 3 Minuten mit Blut benetzt wurden. Damit konnten sie mit den vorhergehenden Messungen leicht verglichen werden. Um eine völlige Reinigung zu garantieren, wurden bei den Waschlösungen 100 Waschpakete durch die Schläuche geschickt. Dies dauerte pro Waschzyklus etwa 15 Minuten.

Der Einfluss der aggressivsten Reinigungslösung auf die Oberflächeneigenschaften der Materialien wurde auf diese Weise ebenfalls untersucht. Die Lösung Neohypo wird bei Analysegeräten als so genannter Deproteinizer eingesetzt. Es kann davon ausgegangen werden, dass die Entfernung der Ablagerungen durch diese Lösung

vollständig ist. Die Veränderungen an den Materialien selbst sollen durch den Kontaktwinkel ermittelt werden. Mögliche mechanische Veränderungen der Oberfläche konnten aufgrund ihrer phänomenologischen Auswirkungen gemessen werden.

5.6 Rasterelektronenmikroskopie

Das Rasterelektronenmikroskop (REM) liefert im Unterschied zum Lichtmikroskop und zum Transmissionselektronenmikroskop (TEM) keine Bilder von Strahlen, die eine Probe durchdringen oder von dieser reflektiert werden. Die Bilder entstehen indirekt, da kein Strahlengang zwischen der Probe und der REM-Aufnahme existiert. Die Elektronenkanone erzeugt einen Elektronenstrahl, der durch die Spannung zwischen einer Anode und einer Kathode erzeugt wird. Dieser Strahl wird durch eine elektromagnetische Kondensorlinse gebündelt und durch die Objektivlinse als sehr kleiner Punkt auf die Probenoberfläche fokussiert. Durch Ablenkspulen wird der Elektronenstrahl in einem kontrollierten Muster über die Probe bewegt. Dieses Rastern gibt der Methode ihren Namen.

Treffen die beschleunigten Elektronen (Primärelektronen) auf die Probenoberfläche auf, dringen sie in die Probe ein und werden dort unterschiedlich gestreut. Bei einer elastischen Streuung werden die Primärelektronen an den Atomkernen der Probe abgelenkt und verlassen die Probe unter geringem Energieverlust nach Einfach- oder Mehrfachstreuung wieder. Diese Elektronen werden Rückstreuelektronen genannt und können aufgrund ihrer hohen Energie nur mit einem speziellen Detektor (Backscatter) nachgewiesen werden. Die große Austrittstiefe der Rückstreuelektronen erzeugt ein Bild mit mehr Informationstiefe und weniger Oberflächentopographie. Eine unelastische Streuung liegt vor, wenn die Primärelektronen in Wechselwirkung mit den Hüllenelektronen der Probenmaterie treten und Sekundärelektronen freisetzen. Diese niederenergetischen Sekundärelektronen werden stark absorbiert und es können nur die nahe der Probenoberfläche erzeugten Sekundärelektronen detektiert werden. Im Gegensatz zu Rückstreuelektronen liefern Sekundärelektronen Oberflächeninformationen mit hoher Auflösung. Die Größe des Wechselwirkungsvolumens der Primärelektronen mit den Atomen der Probenmaterie nimmt mit der Beschleunigungsspannung zu [48].

Für die Untersuchungen der Proteinbeschichtung unter dem REM wurde zuerst sichergestellt, dass diese Beschichtung nach einer bestimmten Kontaktzeit mit Blut tatsächlich irreversibel auf der Oberfläche haften geblieben ist. Zu diesem Zweck eignet sich die modifizierte Kapillarmethode besonders gut, da die Änderung der Benetzbarkeit auf hervorragende Weise angezeigt wird. Somit konnte für die REM-Untersuchungen von einer irreversiblen Schicht auf den Materialien ausgegangen werden. Die Besonderheiten und Unterschiede der Beschichtung sollte die mikroskopische Methode klären. Die Untersuchungen der Proteinschichten auf Polymeroberflächen wurden am digitalen REM des Institutes für Werkstoffkunde und -prüfung der Kunststoffe (Montanuniversität Leoben) mit der Typenbezeichnung DSM 962 von Zeiss durchgeführt. Als Materialien wurden jene fünf Proben gewählt, die am Längsten mit Blut in Berührung kamen. Es wurden die Kapillaren, die 24 Stunden mit Rinderblut benetzt wurden für die REM-Untersuchung herangezogen.

5.6.1 Probenpräparation

Die blutbenetzten Probekörper lagen als Schlauchmaterialien vor. Daher wurden sie zuerst in Längsrichtung aufgeschnitten, damit der Elektronenstrahl des REM auf die beschichtete Oberfläche gerichtet werden konnte. Es wurden 1 cm lange Kapillarstücke, die vorher mit der modifizierten Kapillarmethode vermessen wurden, verwendet. Diese wurden halbiert und mit der Innenseite nach oben auf den vorgesehenen Probenhalterungen aufgeklebt. Durch Handschuhe wurde darauf geachtet keine Abdrücke auf den Präparaten zu hinterlassen. Die Enden der Proben wurden mit einer Silberpaste derart bestrichen, dass eine durchgehende elektrische Leitung zwischen Probe und Probenhalterung gewährleistet war. Nach dem Anlegen eines Vakuums wurden die Proben mit einer Goldschicht bedampft (sputtered). Diese elektrisch leitende Schicht ist notwendig, um die emittierten Elektronen abbilden zu können.

Der Zustand der Beschichtung wird durch das Aufbringen des Vakuums verändert. Die Proteinschicht enthält einen großen Anteil an Wasser, welches durch den hohen Unterdruck aus der Schicht verdampft. Dies führt zu einer Verringerung des Volumens der Schicht. Auf diese Probleme der REM wird in der Literatur immer wieder hingewiesen. Da diese Bedingungen aber für alle unterschiedlichen Proben gleich waren, ist ein Vergleich der Beschichtungen durchaus zulässig.

6 Ergebnisse

6.1 Unbenetzte Materialien

Die Kontaktwinkel in Abb. 6.1 zeigen den zeitlichen Verlauf und die Dauer, bis sich ein Gleichgewicht zwischen Kapillardruck und hydrostatischem Druck einstellt. Als Referenz für die Auswirkung der Proteinbeschichtung wurden zuerst gereinigte Probekörper vermessen.

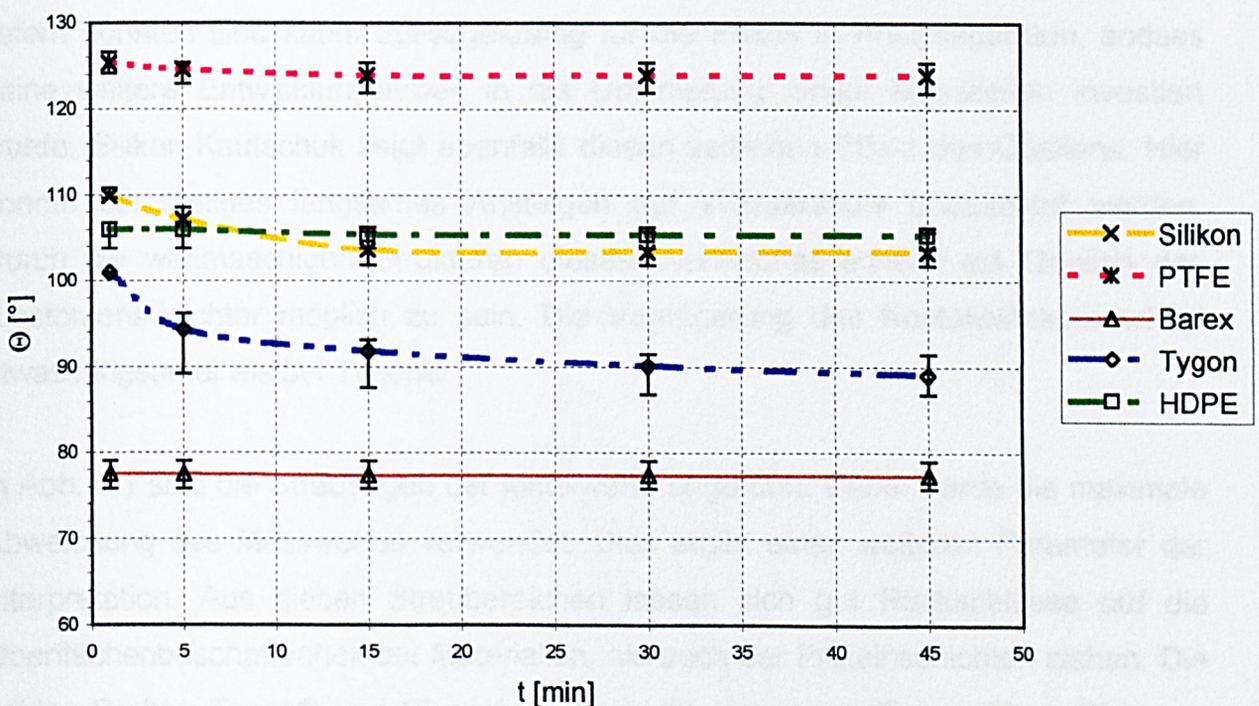


Abb. 6.1: Kontaktwinkel neuer Materialien in Abhängigkeit von der Messzeit.

Die drei Materialien PTFE, PE-HD und Barex® erreichen sehr schnell ihren endgültigen Wert. Es stellte sich innerhalb der ersten 15 Minuten ein Gleichgewicht ein. Dies lässt Rückschlüsse auf die Homogenität der Oberfläche des Polymers zu. Gänzlich andere Einstellverhalten des Gleichgewichts weisen die beiden Materialien Tygon® und SI auf. Während der Messzeit von 45 Minuten ändert sich die Benetzungseigen-

schaft in einem relativ großen Bereich. Die Flüssigkeit steigt in der Kapillare auch nach 45 Minuten noch an. Dies ist mit einer stetigen Verbesserung der Benetzbarkeit zu erklären. Wasser, das durch Quellen in den Kunststoff dringen kann, hat selbst eine höhere Oberflächenspannung als der Kunststoff. Quellen bewirkt daher anscheinend eine Erhöhung der Oberflächenspannung des Materials.

Tygon® ist ein amorphes Polymer. Die Änderung des Kontaktwinkels wurde bei dieser Probe über mehrere Stunden verfolgt. Es konnte in der gesamten Zeit kein Plateauwert der Kurve erreicht werden. Da die Benetzung vorwiegend im ersten Kontakt mit der Oberfläche interessant ist, wurden alle Materialien im Zeitraum von 45 Minuten vermessen. Lange Messungen über mehrere Stunden zeigten vermehrt Probleme der Reproduzierbarkeit, verursacht durch äußere Einflüsse wie etwa Verdunstung oder Temperaturschwankungen. Die Aussagen, die lange Messzeiten liefern konnten sind kaum aussagekräftig für die Praxis in Analysegeräten, sodass keine weitere Entwicklungsarbeit in die Optimierung langer Messzeiten investiert wurde. Silikon-Kautschuk zeigt ebenfalls diesen zeitlichen Effekt des Quellens. Hier konnte ein stetiges langsames Ansteigen der Wassersäule beobachtet werden. Durch die weitmaschigen Strukturen dieses Werkstoffes scheint ein Quellen des Elastomers leichter möglich zu sein. Die Verringerung des Kontaktwinkels erfolgt etwas langsamer als bei Tygon®.

In Abb. 6.1 sind die Streuungen der Mittelwerte angeführt. Dabei wurde die maximale Abweichung des Messwertes verwendet. Dies ergibt einen weiteren Parameter der Interpretation. Aus diesen Streubereichen lassen sich gut Rückschlüsse auf die Oberflächenbeschaffenheit der Materialien, als auch der Proteinschichten ziehen. Die beiden Proben Tygon® und SI weisen allgemein eine wesentlich größere Streuung der Messwerte auf. Ein deutliches Zeichen für die Inhomogenität der Oberfläche, die unterschiedlich starkes Quellen ermöglicht. Eine Bestätigung für die Vermutung des Quellens liefert die Streuung der Messergebnisse in Abhängigkeit von der Zeit. Die Abb. 6.1 zeigt deutlich, dass eine Verbreiterung der Messergebnisse erst nach einigen Minuten stattfindet. Die Kontaktwinkel nach der ersten Minute sind hingegen sehr eng verteilt. Durch die Betrachtung des Zeitverhaltens kann die modifizierte Kapillarmethode zusätzliche Aussagen liefern, die über die Eigenschaft der Benetzbarkeit hinaus gehen.

6.2 Benetzung

Der Kontaktwinkel von 90° bedeutet, dass die Flüssigkeit innerhalb der Kapillare in gleicher Höhe zum Flüssigkeitsniveau außerhalb vorliegt. Ist der Kontaktwinkel größer, wurde die Flüssigkeit unter das äußere Niveau gedrückt. Nur Barex® zeigte im gereinigten Zustand bereits hydrophile Eigenschaften. Alle anderen Materialien reagierten hydrophob. Bei dem bekannt hydrophoben Material PTFE wirkte dieser Effekt so stark, dass sich eine Kapillare mit dem Innendurchmesser von 0,5 mm erst 25 cm unter Wasser befüllen lies. Eine Wassersäule von 25 cm entspricht einem Druck von 2500 Pa. Dieses Beispiel zeigt, warum PTFE als Gefäßersatz erst ab einem Innendurchmesser von 7 mm Verwendung findet.

Zwischen der Oberflächenspannung eines Werkstoffes und der Benetzbarkeit mit Wasser kann ein direkter Zusammenhang festgestellt werden (Abb. 6.2). Je größer die Oberflächenspannung eines Polymers, desto hydrophiler ist die Oberfläche. Die Benetzung wird noch durch andere Faktoren wie die Oberflächenrauigkeit, die Homogenität der Oberfläche, die Polarität und die Wasseraufnahmefähigkeit beeinflusst. Daher ist der Zusammenhang der Oberflächenspannung mit der Benetzung nicht linear. Abb. 6.2 zeigt dennoch einen stark dominanten Einfluss der Oberflächenspannung auf die Benetzbarkeit. Diese Erkenntnis ist für eine weitere Materialauswahl sehr hilfreich.

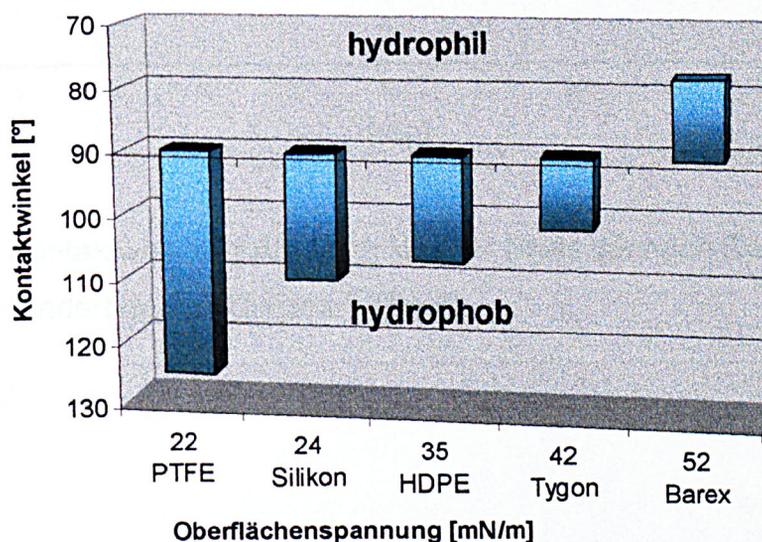


Abb. 6.2: Benetzbarkeit unterschiedlicher Polymere in Abhängigkeit ihrer Oberflächenspannung. Messzeit 1 Minute.

6.2 Benetzte Materialien

In der Abb. 6.3 werden neuerlich die Kontaktwinkel der verschiedenen Materialien in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt. Dieses Mal wurde Rinderblut für eine Minute durch die Materialien gepumpt. Nach der Benetzung wurde das Blut mit destilliertem Wasser aus den Probekörpern ausgewaschen. Die genaue Vorgehensweise wurde bereits in Abschnitt 5.5 beschrieben.

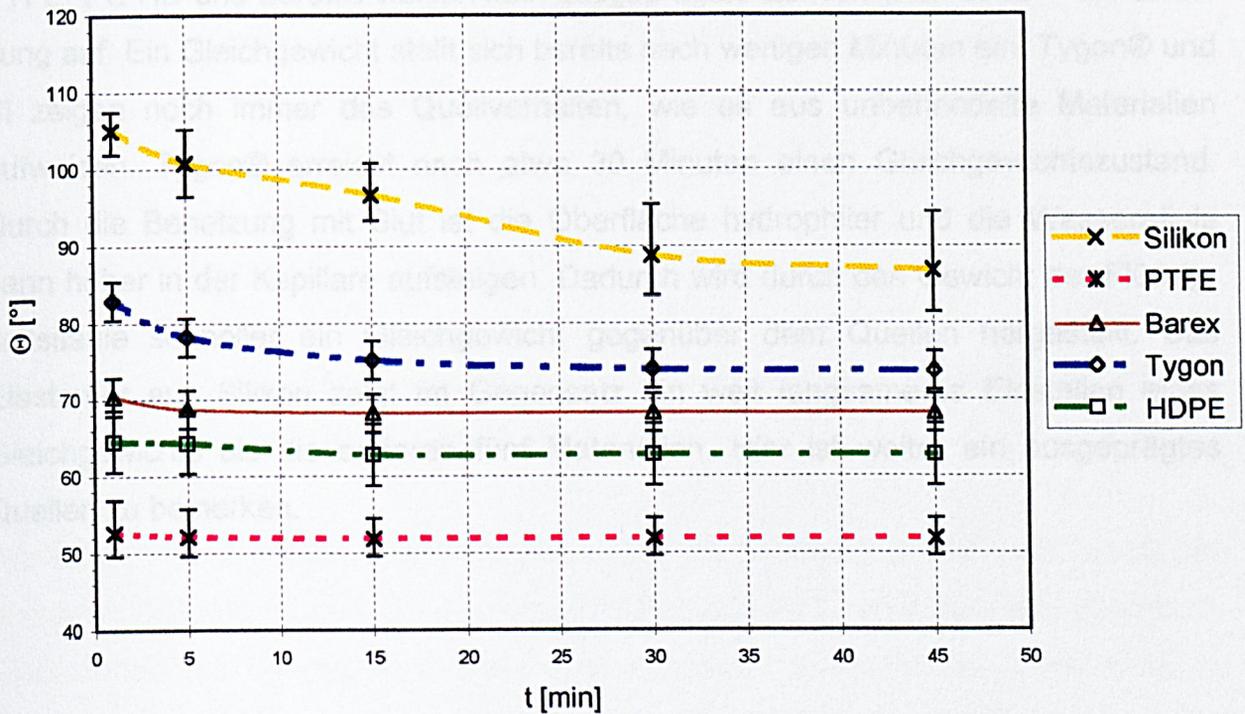


Abb. 6.3: Kontaktwinkel in Abhängigkeit der Messzeit nach Benetzung mit Rinderblut. Kontaktzeit 1 Minute.

Auffallend bei diesem Ergebnis ist das Verhalten von PTFE. Unbenetzt ist es das am meisten hydrophobe Material mit einem Kontaktwinkel von 124° (vgl. Abb. 6.1). Nach der Benetzung zeigten sich die stärksten hydrophilen Eigenschaften aller Materialien mit einem Kontaktwinkel von nur mehr 52° . Das ist ein deutliches Indiz für eine vollkommene Proteinbeschichtung der Oberfläche. Die irreversible Proteinschicht überdeckt die gesamte Oberfläche des Kunststoffes und bewirkt somit die Hydrophilisierung. Eine nur teilweise Beschichtung der Innenflächen der Schläuche könnte diesen Effekt nicht erklären. Die Verteilung der Messergebnisse ist eng genug, dass von einer homogenen Beschichtung ausgegangen werden kann.

PTFE, PE-HD und Barex® weisen kein ausgeprägtes Zeitverhalten in der Kapillarwirkung auf. Ein Gleichgewicht stellt sich bereits nach wenigen Minuten ein. Tygon® und SI zeigen noch immer das Quellverhalten, wie es aus unbehandelte Materialien aufweisen. Tygon® erreicht nach etwa 30 Minuten einen Gleichgewichtszustand. Durch die Benetzung mit Blut ist die Oberfläche hydrophiler und die Wassersäule kann höher in der Kapillare aufsteigen. Dadurch wird durch das Gewicht der Flüssigkeitssäule schneller ein Gleichgewicht gegenüber dem Quellen hergestellt. Das Elastomer aus Silikon zeigt im Gegensatz ein weit langsames Einstellen eines Gleichgewichts als die anderen fünf Materialien. Hier ist weiter ein ausgeprägtes Quellen zu bemerken.

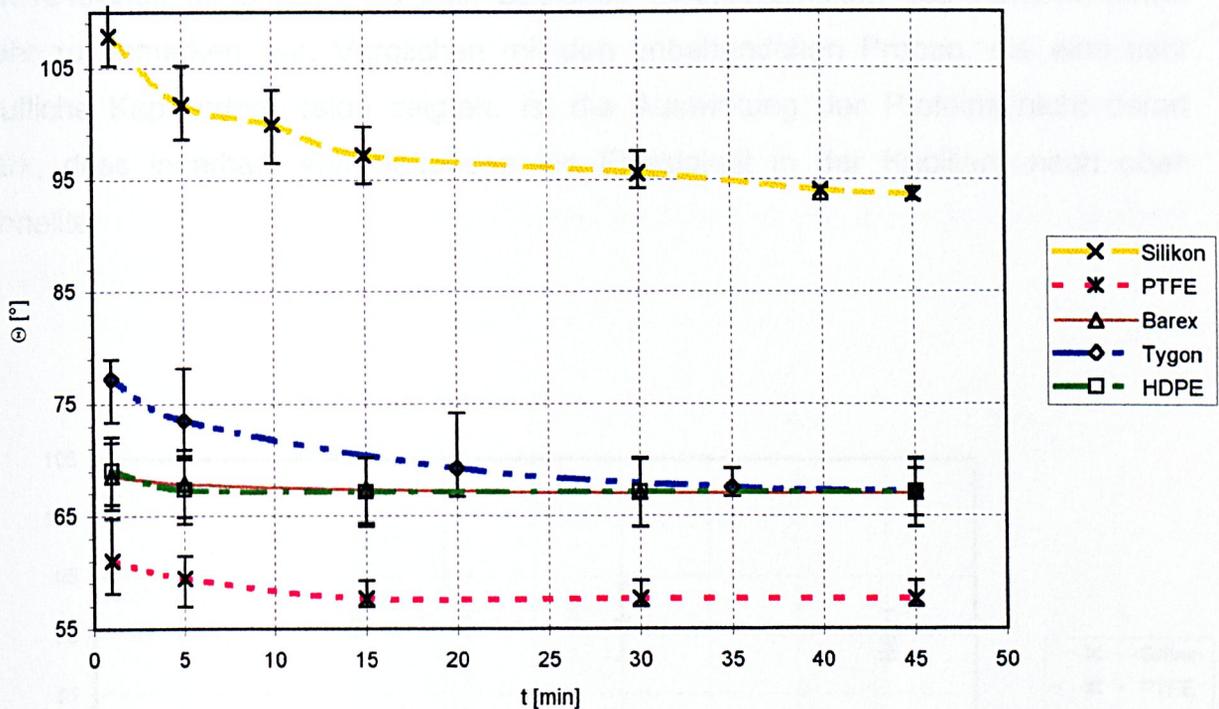


Abb. 6.4: Kontaktwinkel nach Benetzung mit Rinderblut in Abhängigkeit von der Messzeit. Kontaktzeit 3 Minute.

Die breitere Streuung der Messergebnisse zeigt die unterschiedliche Homogenität der einzelnen Beschichtungen. Die Proteinschichten auf den Oberflächen sind organisch. Eine einheitliche Benetzung wie auf synthetischen Oberflächen ist daher nicht zu erwarten. Dennoch lässt das Ausmaß der Streuung erkennen, dass die Beschichtung mit Proteinen abhängig vom Material variiert.

Nach der Benetzung mit Rinderblut wiesen alle Materialien Kontaktwinkel unter 90° auf. Das bedeutet in der Kapillarmethode, dass jedes Material zu einer Kapillaraszension der Flüssigkeit führte. Dies entspricht der langjährigen praktischen Erfahrung, dass sich das Benetzungsverhalten verbessert, wenn die Innenseiten der Schläuche mit Blut in Berührung kommen. Bisher wurde nur empirisch das geeignetste Verfahren der Blutbenetzung ermittelt. Mit der Kapillarmethode wird nun eine Quantifizierung des Benetzungsverhaltens möglich.

In Abb. 6.5 zeigen vier Materialien außer Silikon eine sehr deutliche Hydrophilisierung durch die Proteinschicht. Die Art der Beschichtung von PTFE unterscheidet sich von den restlichen Materialien, da kein zeitliches Einstellverhalten des Kontaktwinkels mehr zu bemerken war. Verglichen mit den unbehandelten Proben, die eine sehr deutliche Kapillardepression zeigten, ist die Auswirkung der Proteinschicht derart stark, dass innerhalb von Sekunden die Flüssigkeit in der Kapillare nach oben schnellte.

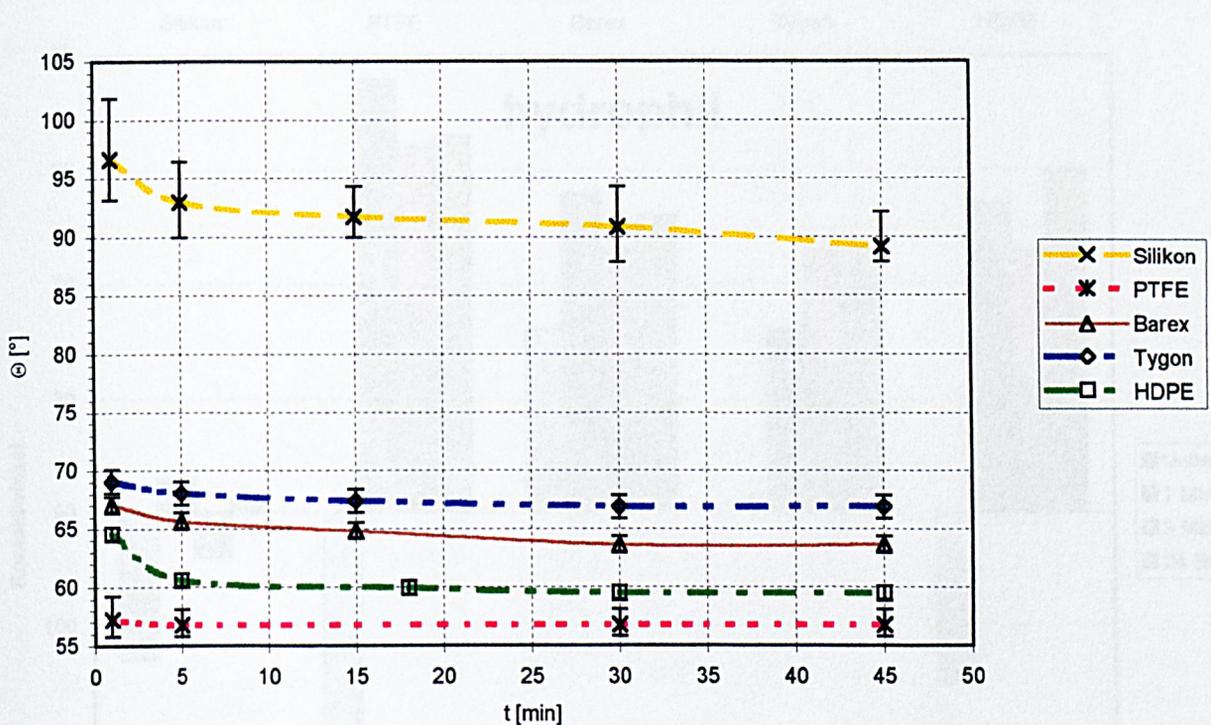


Abb. 6.5: Kontaktwinkel nach Benetzung mit Rinderblut in Abhängigkeit von der Zeit. Kontaktzeit 24 Stunden

Eine weitere Beobachtung ist die stärkere Homogenisierung der irreversiblen Schicht. Der Kontaktwinkel der einzelnen Materialien wurde aus dem Mittelwert von fünf Messungen gebildet. Bei der Kontaktzeit von 24 Stunden wurde die Streuung der Einzelmessungen sehr stark reduziert, was auf die Art der Beschichtung Rückschlüsse zulässt. Daher wird eine wesentlich homogenere Schicht vorliegen. Der Absolutbetrag des Kontaktwinkels nahm bei PE-HD und Barex® noch zu, die anderen drei Materialien zeigten schon nach 3 Minuten im Mittel die selben Benetzungseigenschaften.

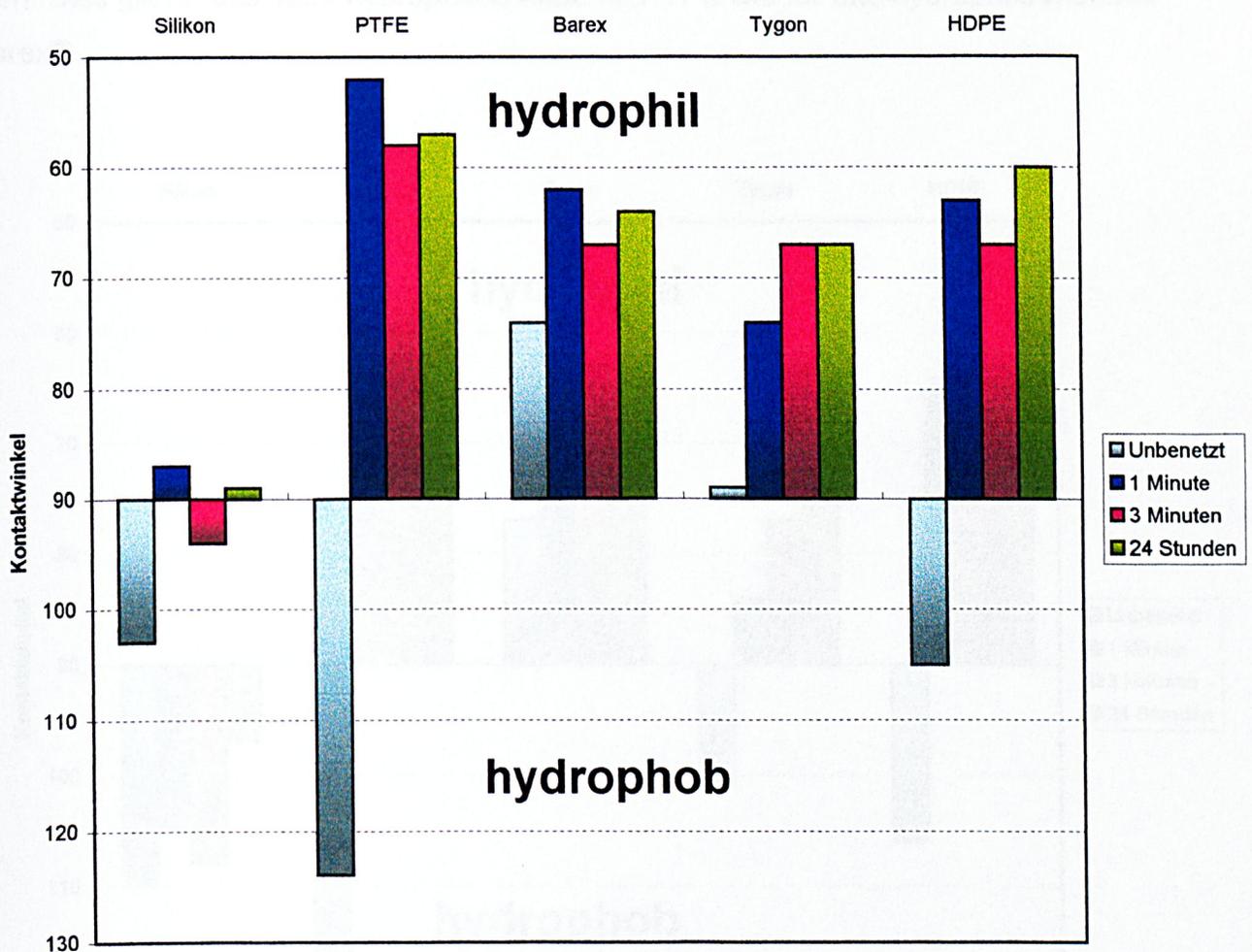


Abb. 6.6: Änderung des Kontaktwinkels durch Benetzung. Werte nach 45 Minuten Messzeit.

Der Vergleich der Benetzungseigenschaften zeigt ein Phänomen sehr deutlich, welches in der Praxis bisher zwar gut bekannt, aber noch nie quantifiziert wurde: Der

Kontakt mit Blut führt zu einer Verbesserung der Benetzungseigenschaften beliebiger Materialien. Dabei macht es keinen Unterschied, ob ein Material ursprünglich hydrophob, oder hydrophil ist.

Abb. 6.6 zeigt die Änderung der Benetzungseigenschaften in Abhängigkeit von der Kontaktzeit mit Blut. Für jedes Material stellt die linke Säule den ursprünglichen Zustand als neues Material dar. Die nächsten Säulen zeigen jeweils den Kontaktwinkel nach einer Minute, drei Minuten sowie 24 Stunden Kontaktzeit mit Blut. Bis auf das Elastomer Silikon lässt sich die Benetzbarkeit der Materialien ähnlich gut verbessern. Dies gilt für das stark hydrophobe Material PTFE wie für das hydrophile Material Barex®.

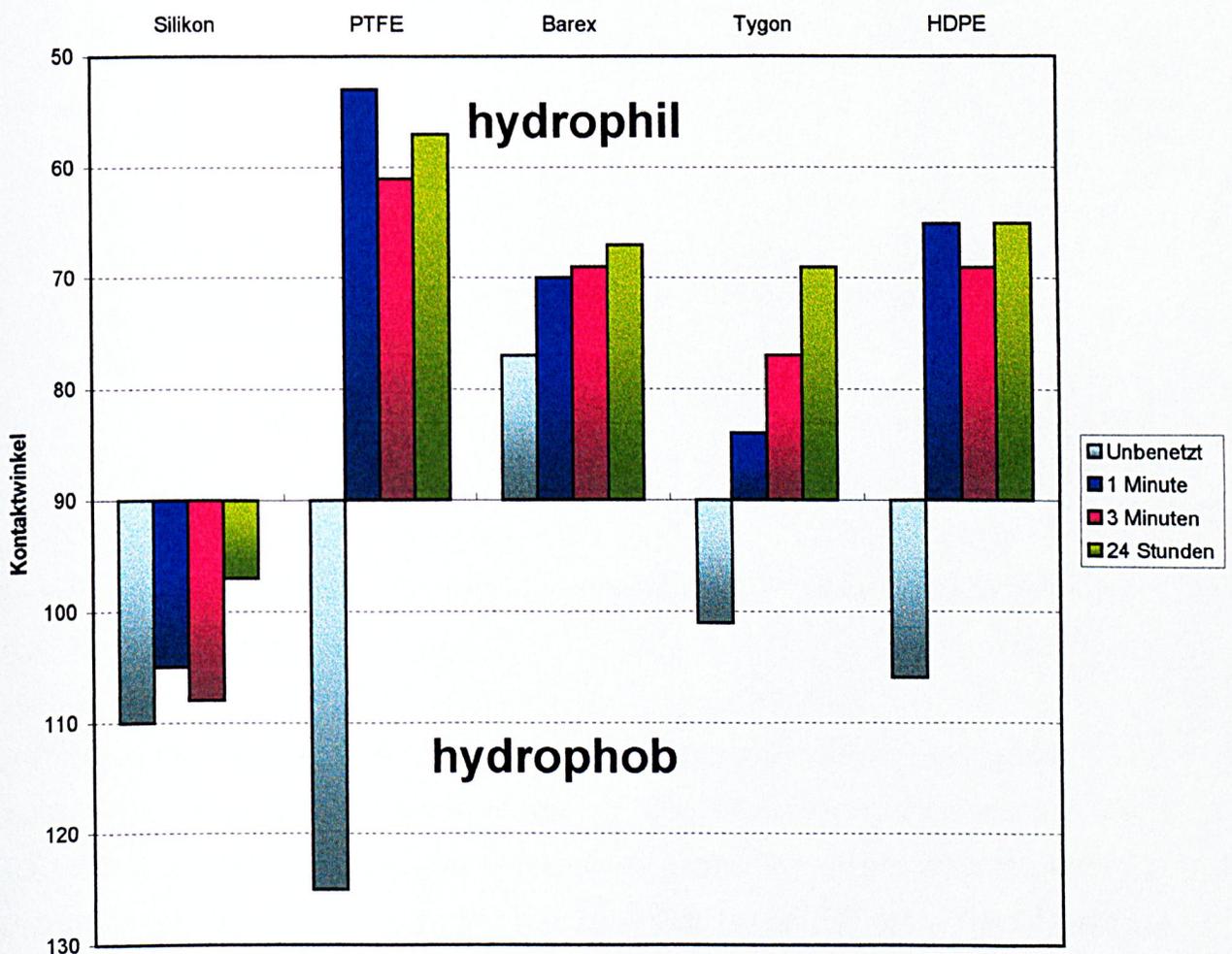


Abb. 6.7: Änderung des Kontaktwinkels durch Benetzung. Werte nach einer Minute Messzeit.

Aus den zeitlichen Verläufen der Kontaktwinkel ist bekannt, dass teilkristalline, amorphe sowie weitmaschig vernetzte Polymere unterschiedlich starke Änderungen des Kontaktwinkels über die Messzeit aufweisen, daher sind in Abb. 6.7 die Kontaktwinkel für eine Minute Messzeit dargestellt. Auffallend ist die starke Änderung des Kontaktwinkels bei Silikon. Bei Barex® stellt sich bei einer Benetzung von einer Minute erst nach längerer Messzeit die selbe Charakteristik ein wie sie bei PE-HD und PTFE bereits nach einer Minute zu erkennen ist. Die Kontaktzeit von einer Minute Rinderblut verursacht bei HDPE, PTFE und Barex® eine bessere Benetzung, als nach drei Minuten Kontaktzeit. Silikon und Tygon® weisen diesen Effekt nicht auf.

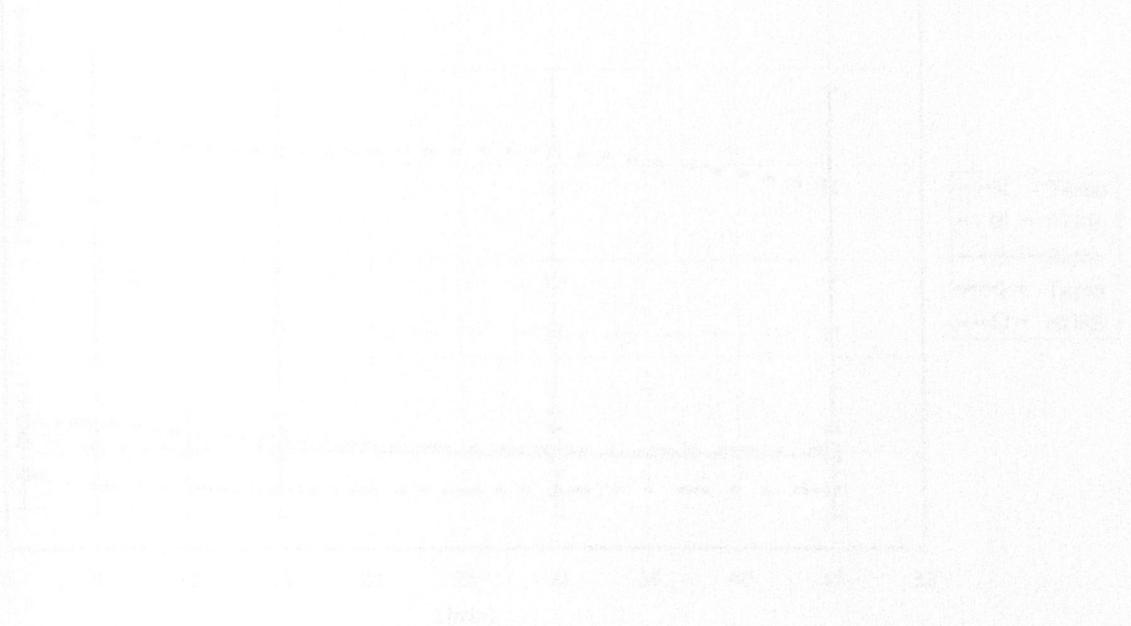


Abb. 6.7 Kontaktwinkel nach 180 Wärmegraden bei 0,1 in Abhängigkeit von der Benetzung

Bei 0,1 als Benetzungslösung wurde gezeigt, dass sich die Kontaktwinkel von PTFE bereits durch einen Kontaktzeit von 10 Minuten stabilisiert werden. Eine Benetzung der Benetzungslösung war ebenfalls zu beobachten. Dies ist eine Folge auf die stark hydrophoben Eigenschaften der Materialien zurückzuführen. Die Materialien Barex®, Tygon® und HDPE lassen sich auch durch 180 Wärmegraden nicht benetzen. Dies ist ein Indikator Hinweis auf die hydrophoben Eigenschaften der Polymere.

6.3 Benetzte Materialien nach der Reinigung mit Waschlösungen

Durch die Waschpakete mit Wasser wurde die irreversible Benetzung nachweislich nicht entfernt. Diese folgenden Messungen sollten zeigen, wie erfolgreich die Entfernung der Proteinschicht mit unterschiedlichen Reinigungslösungen ist (Abb. 6.8).

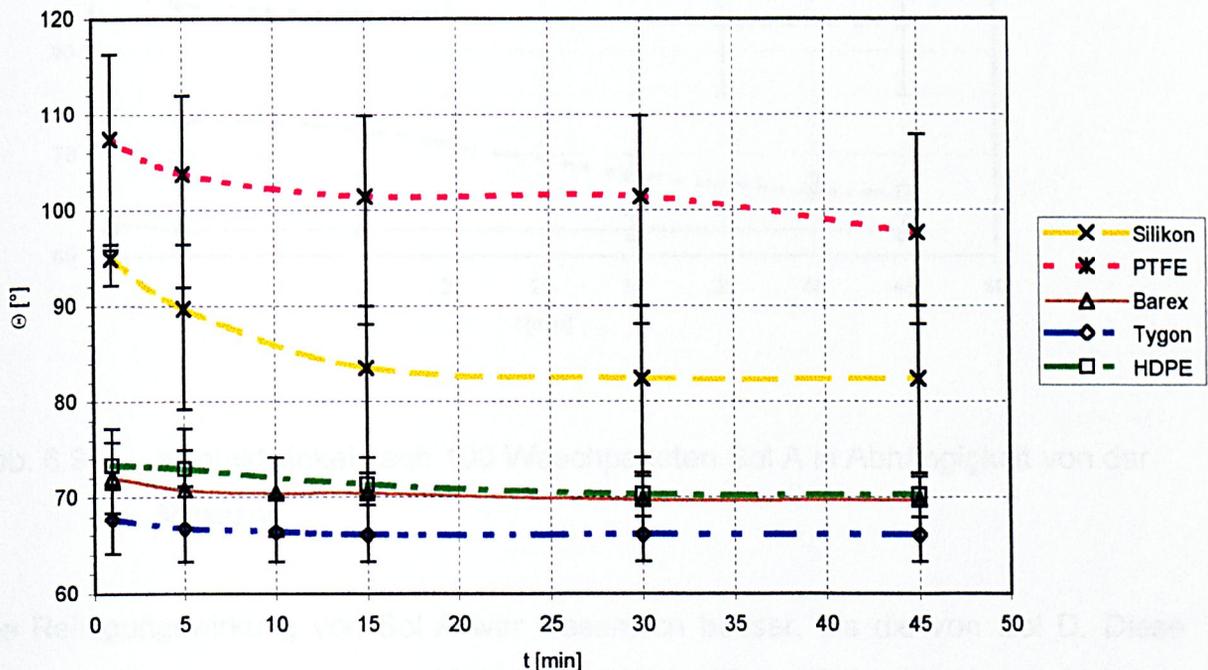


Abb. 6.8: Kontaktwinkel nach 100 Waschpaketen Sol D in Abhängigkeit von der Messzeit.

Sol D ist als Reinigungslösung wenig geeignet. Sogar das leicht zu reinigende PTFE konnte durch diese Lösung nicht vollständig von Proteinen befreit werden. Eine Reduzierung der Beschichtung war dennoch zu beobachten. Dies ist aber mehr auf die stark hydrophoben Eigenschaften des Materials zurückzuführen. Die Materialien Barex®, Tygon®, Silikon und PE-HD ließen sich auch durch 100 Waschpakete nicht säubern. Dies ist ein deutlicher Hinweis auf die irreversiblen Eigenschaften der Proteinschicht.

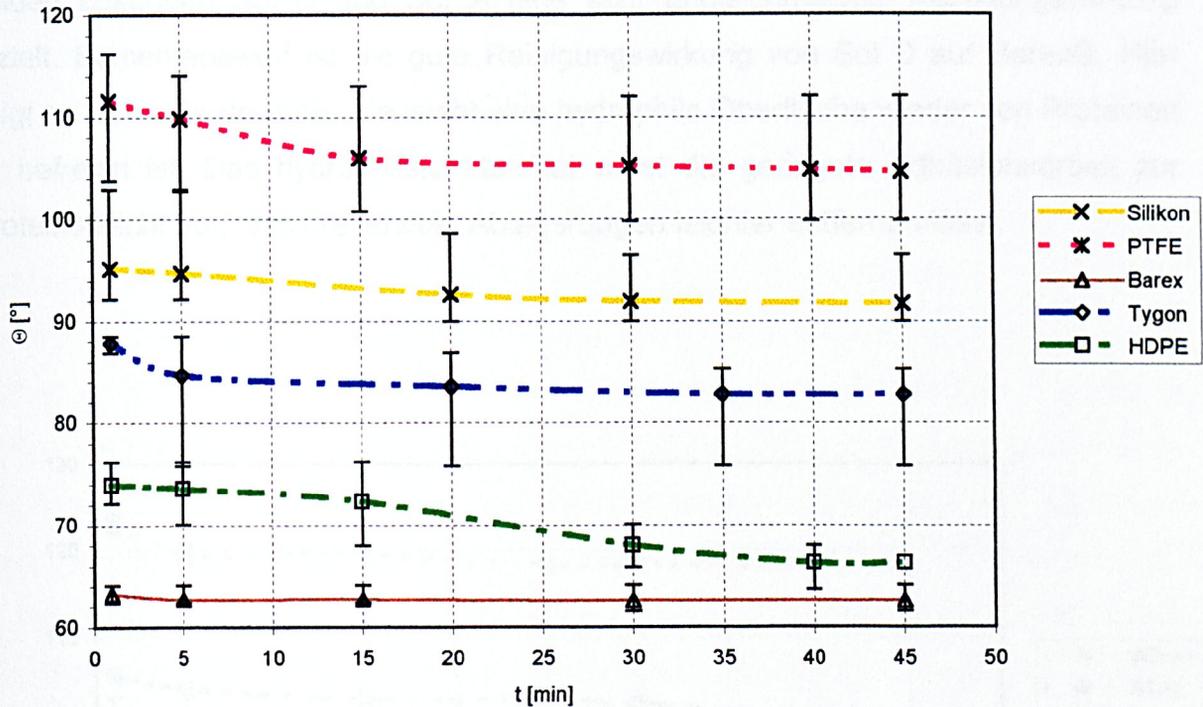


Abb. 6.9: Kontaktwinkel nach 100 Waschpaketen Sol A in Abhängigkeit von der Messzeit.

Die Reinigungswirkung von Sol A war wesentlich besser, als die von Sol D. Diese Aussage gilt aber nicht für alle Materialien gleich. Ein auffallender Unterschied der Reinigungswirkung zwischen Sol A und Sol D ist bei Tygon® zu bemerken. Hier konnte eine deutliche Reduzierung der Proteinschicht erreicht werden. PTFE lies sich wie erwartet noch leichter reinigen. Die Proteinschichten der beiden teilkristallinen Kunststoffe PE-HD und PTFE zeigen über die Zeit ein ähnliches Quellverhalten. Der Kontaktwinkel verringert sich noch nach 15 Minuten, was bei neuen Materialien nicht zu beobachten war. Hier dürften noch restliche nicht zusammenhängende Proteinschichten des Blutes auf der Oberfläche vorhanden sein, die durch Quellen in Wasser die Benetzbarkeit der Oberfläche mit der Zeit merklich verbessern. Dieses Quellverhalten weisen die Proteinschichten auf Tygon® und Barex® nicht auf. Die restliche verbleibende Proteinschicht scheint auf jeden Fall homogener zu sein, als durch Reinigung mit Sol D.

Die breite Verteilung der Kontaktwinkel bestätigt diese Inhomogenität. Nach 100 Waschzyklen und einer Reinigungsdauer von insgesamt 15 Minuten wurde mit den beiden Lösungen Sol D und Sol A eine sehr ungleichmäßige Reinigungswirkung erzielt. Bemerkenswert ist die gute Reinigungswirkung von Sol D auf Barex®. Hier zeigt es sich sehr deutlich, wie leicht eine hydrophile Oberfläche wieder von Proteinen zu befreien ist. Das hydrophilste Material weist die geringste Adhäsionsarbeit zur Proteinschicht auf, was irreversible Ablagerungen leichter entfernen lässt.

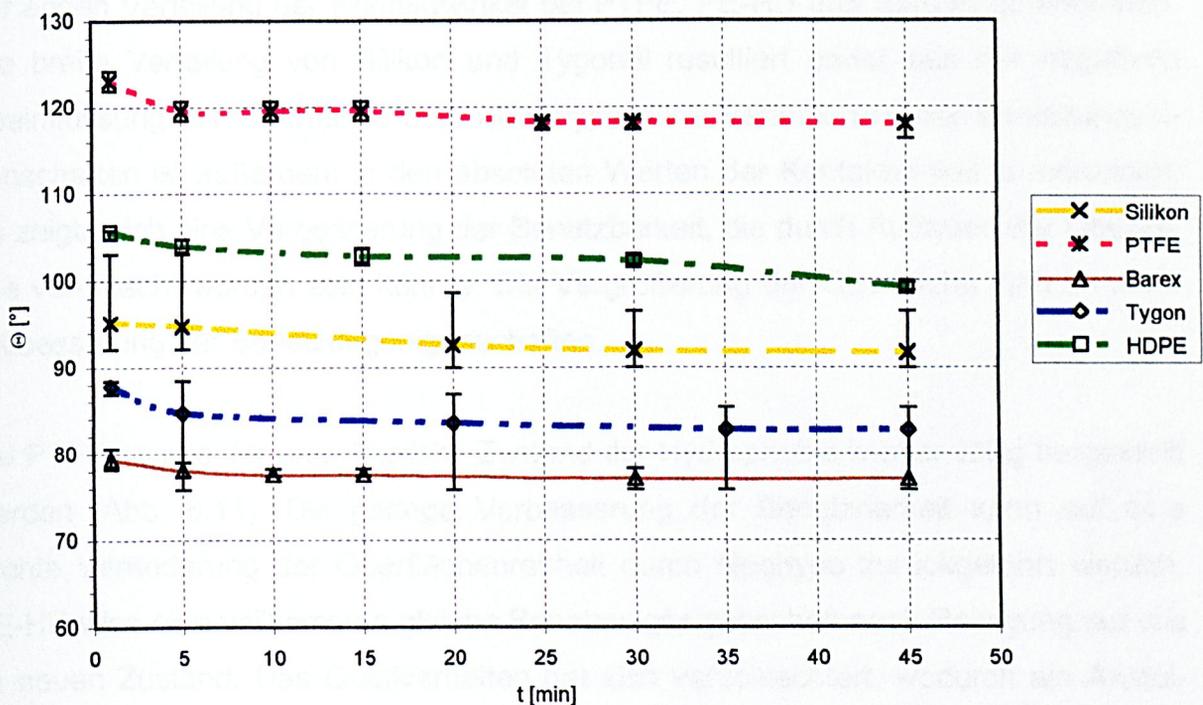


Abb. 6.10: Kontaktwinkel nach Reinigung mit Neohypo in Abhängigkeit von der Zeit.

Letztendlich wurden die fünf Materialien mit einer chemisch sehr aggressiven Flüssigkeit gereinigt (Abbildung 6.10). Diese Reinigungslösung wird eingesetzt, um alle verbleibenden Ablagerungen des Blutes durch Lösen mithilfe der chemischen Aktivität dieser Flüssigkeit zu erreichen. Es war zu erwarten, dass nach dem verwendeten Reinigungsvorgang keine Proteinschichten mehr an der Oberfläche zurückbleiben. Für die Kunststoffe HDPE, PTFE und Barex® lässt sich dies in der Eigenschaft

der Benetzung erkennen, die annähernd wieder der neuerer Materialien gleicht. Hier muss aber auf die bedingte Veränderung der Oberfläche durch die Reinigungslösung hingewiesen werden, wodurch sich nicht mehr die völlig gleichen Benetzungseigenschaften einstellen können.

Die Aggressivität der Lösung ist in der Verteilung der Messergebnisse zu erkennen. Das weitmaschige Elastomer Silikon und Tygon®, welches durch den hohen Weichmacheranteil ebenfalls weniger dicht gepackt vorliegt, zeigen deutliche Oberflächenreaktionen nach der Reinigung mit Neohypo. Nach der Reinigung mit Neohypo kann von einer vollkommenen Entfernung der Proteine ausgegangen werden. Dies ist in der engen Verteilung der Kontaktwinkel bei PTFE, PE-HD und Barex® zu erkennen. Die breite Verteilung von Silikon und Tygon® resultiert daher aus der negativen Beeinflussung der Oberfläche durch Neohypo. Eine Veränderung der Benetzungseigenschaften ist außerdem in den absoluten Werten der Kontaktwinkel zu erkennen. Es zeigte sich eine Verbesserung der Benetzbarkeit, die durch Aufrauen der Oberfläche verursacht worden sein könnte. Die Vergrößerung der Oberfläche führt zu einer Verbesserung der Benetzungseigenschaften.

Bei PTFE konnte der ursprüngliche Zustand der Hydrophobie wieder völlig hergestellt werden (Abb. 6.11). Die geringe Verbesserung der Benetzbarkeit kann auf eine leichte Veränderung der Oberflächenrauheit durch Neohypo zurückgeführt werden. PE-HD wies eine vollkommen gleiche Benetzungseigenschaft nach Reinigung auf wie im neuen Zustand. Das Quellverhalten hat sich verschlechtert, wodurch ein Ansteigen der Kapillarflüssigkeit beobachtet wurde.

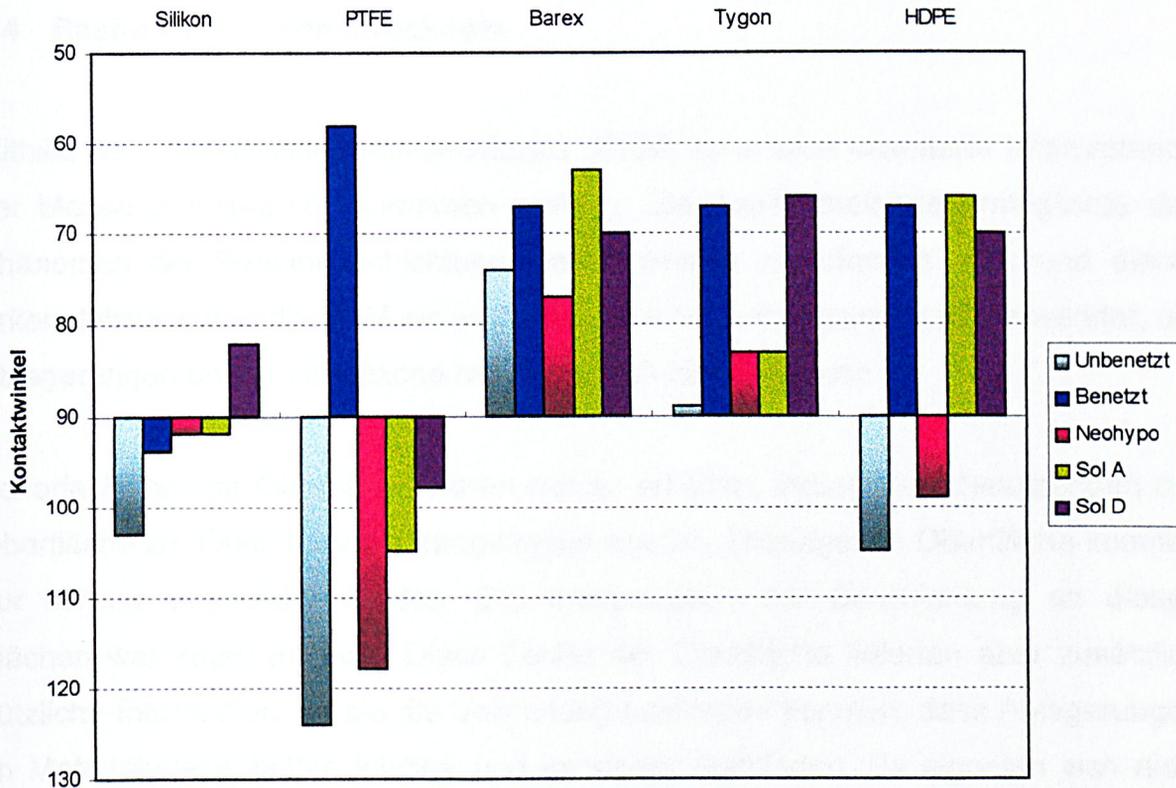


Abb. 6.11: Reinigungswirkung verschiedener Lösungen mit vorhergehender Benetzung von Rinderblut, Kontaktzeit 3 Minuten.

Barex® wies nach dem Waschen sogar eine leicht verschlechterte Benetzbarkeit auf, die auf die starke Wechselwirkung der Reinigungslösung mit der Oberfläche hindeutet. Verglichen mit Sol A bzw. Sol D lies sich Barex® am besten von den Ablagerungen befreien. Durch die hydrophilen Oberflächeneigenschaften des Werkstoffes wurden jedenfalls die geringsten Unterschiede der Benetzung zwischen neuen und proteinbeschichteten Materialien festgestellt. Dies bestätigt die ebenfalls geringe Wechselwirkung von Blut mit einer hydrophilen Oberfläche.

6.4 Rasterelektronenmikroskopie

Mithilfe der Rasterelektronenmikroskopie (REM) kann eine erweiterte Interpretation der Messergebnisse vorgenommen werden. Die Kapillarmethode ermöglichte das Phänomen der Proteinbeschichtung messtechnisch zu erfassen. Aufgrund dieser Erkenntnisse wurde die REM als ergänzende Untersuchungsmethode verwendet, um Ablagerungen an der Oberfläche mikroskopisch zu detektieren.

Scharfe Bilder der Oberfläche waren nur zu erhalten, indem Verschmutzungen der Oberfläche zur Orientierung herangezogen wurden. Homogenen Oberfläche konnten nur schwer abgebildet werden. Die Interpretation der Beschichtung an diesen Flächen war kaum möglich. Diese Fehler der Oberfläche lieferten aber zusätzlich nützliche Information, da sie die Vermutung bestätigen konnten, dass Ablagerungen an Materialunebenheiten leichter und intensiver stattfinden. Es eigneten sich nicht alle Materialien gleich gut für REM-Untersuchungen. Weiche Werkstoffe wie Silikon und Tygon® ließen keine scharfen Bilder der Oberfläche zu, da bereits ein Eindringen des Elektronenstrahls in die Oberfläche beobachtet werden konnte. Die Bilder zeigten nicht nur die Oberfläche sondern bereits einen bestimmten Teil des tiefer liegenden Werkstoffes. Dies ist für eine sinnvolle Interpretation der Beschichtung ungeeignet. Die restlichen Proben lieferten aber sehr klare Bilder, die sich gut mit den Ergebnissen der Kapillarmethode vergleichen ließen.

In Abb. 6.12 wird die Aufnahme der Oberfläche von PTFE gezeigt, die vorher 24 Stunden mit Rinderblut benetzt wurde. Es wurden die selben Schläuche verwendet, die auch zur Kapillarmessung herangezogen wurden.

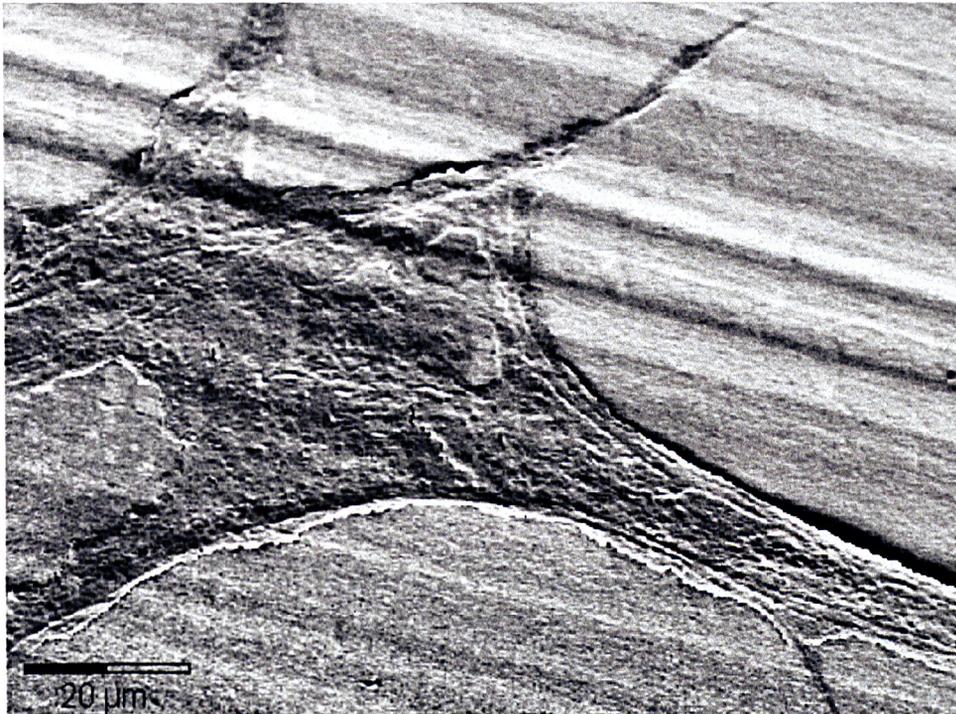


Abb. 6.12 : Proteinschicht auf einer PTFE – Oberfläche. Durch Dehydration keine völlige Benetzung, 1000-fache Vergrößerung.

Die Rillen der Oberfläche liegen in Längsrichtung des Schlauches und sind eine Folge der Verarbeitung durch Extrusion. Es zeigt sich eine Proteinschicht die auf der PTFE-Oberfläche haften geblieben ist. Nach der Kapillarmessung war eine vollständige Proteinschicht über die gesamte Oberfläche zu erwarten vgl. Abbildung 6.5. Die Benetzungseigenschaften von PTFE hatten sich nach der Blutbenetzung vollkommen umgekehrt. Aus einem stark hydrophoben Effekt wurde ein äußerst hydrophiles Oberflächenverhalten. Dies ist nur durch eine Proteinschicht über dem Material zu erklären, welche die Oberfläche vollständig bedeckt. Die Streuung der Einzelmessungen ist ebenfalls sehr gering, was auf gleiche Oberflächenzustände über die gesamte Oberfläche schließen lässt. In dieser Aufnahme ist aber nur ein hautartiger Rest einer Proteinschicht zu erkennen. Die Vorbehandlung der Oberfläche und das

dafür notwendige Vakuum führten zu einer Dehydrierung der Proteinschicht. Diese schrumpfte durch ihre geringe Dicke nunmehr zu unzusammenhängenden getrockneten Proteinresten. Der Belag ist äußerst dünn, sodass bei einer 20.000-fachen Vergrößerung keine Dickenabmessung möglich war.

Bei 5000-facher Vergrößerung (Abbildung 6.13) werden runde Abdrücke auf der Oberfläche der Beschichtung beobachtet. Diese Abdrücke weisen auf eine reversible Plättchenadhäsion hin. Blutplättchen wurden durch die Waschkpakete von der Proteinschicht gerissen. Die Proteinschicht selbst konnte aber nicht von der Oberfläche entfernt werden. Auffallend sind die Risse in der Proteinschicht, welche vermutlich durch die Vorbehandlung unter Vakuum entstanden sind. Für Artefakte der REM selbst sind diese Risse zu groß. Diese Risse lassen eine gute Unterscheidung zwischen Proteinschicht und Oberfläche des Materials zu, da Risse nur in der Proteinschicht, nicht aber am Material zu entdecken waren.

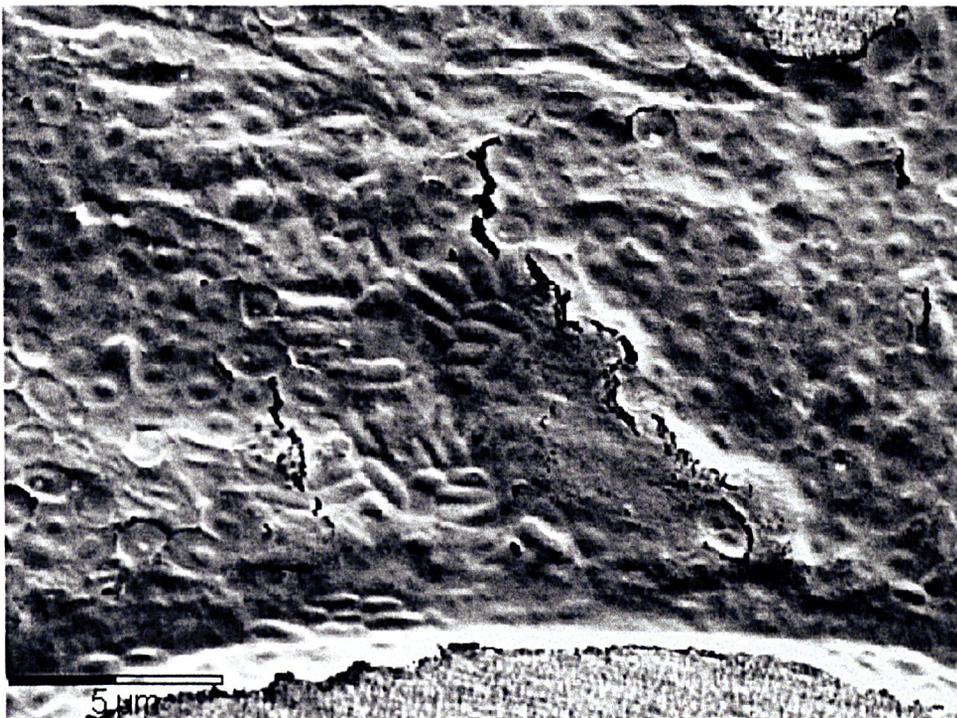


Abb. 6.13: Proteinablagerung auf PTFE. Sehr dünne Schicht mit Abdrücken der Blutplättchen. Risse durch Dehydrierung der Proteinschicht bei der Probenpräparation, 5000-fache Vergrößerung.

Auf PTFE zeigte sich die dünnste Ausbildung einer Beschichtung. Dies ist auf die stark hydrophoben Eigenschaften des Materials zurückzuführen. Es bestätigt sich die selektive Anlagerung von Proteinen durch die homogene Form der Beschichtung. Die dünne Proteinschicht lässt sich mit der geringen Oberflächenspannung des Werkstoffes erklären, da die Adhäsionsarbeit bei diesem Material sehr gering ist.

Nach der Reinigung mit der Lösung Neohypo konnten auf der Oberfläche von PTFE Risse ausgemacht werden (Abb. 6.14). Diese Risse waren erst nach der Behandlung mit Neohypo zu erkennen. Die freien Stellen des blutbenetzten Materials zeigen diese Risse nicht (vgl. Abb. 6.12). Die chemische Aggressivität der Lösung bewirkt also eine eindeutige Reaktion an der Oberfläche von PTFE. Dies kann der Grund für die leicht höhere Benetzbarkeit gereinigter PTFE-Schläuche sein. Ein leichtes Aufrauhern der Oberfläche vergrößert die Oberflächenspannung eines festen Werkstoffes.

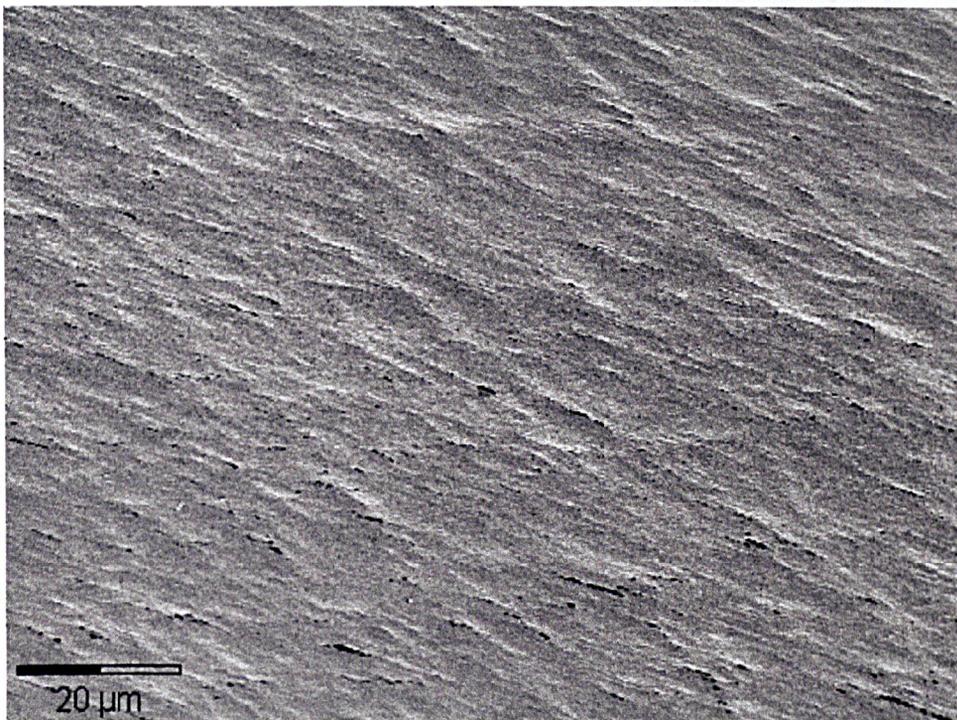


Abb. 6.14: Spannungsrisse auf PTFE durch Reinigung mit Neohypo. Die Probe war vor der Reinigung blutbenetzt, 1000-fache Vergrößerung.

Bei HDPE wurden an der Innenseite der Schläuche Oberflächenfehler des Materials beobachtet (Abb. 6.15). Dieser Umstand hilft eine weitere Übereinstimmung aus der Literatur zu bestätigen. Adhäsion von Blut geschieht bevorzugt an Oberflächenfehlern und Kanten.

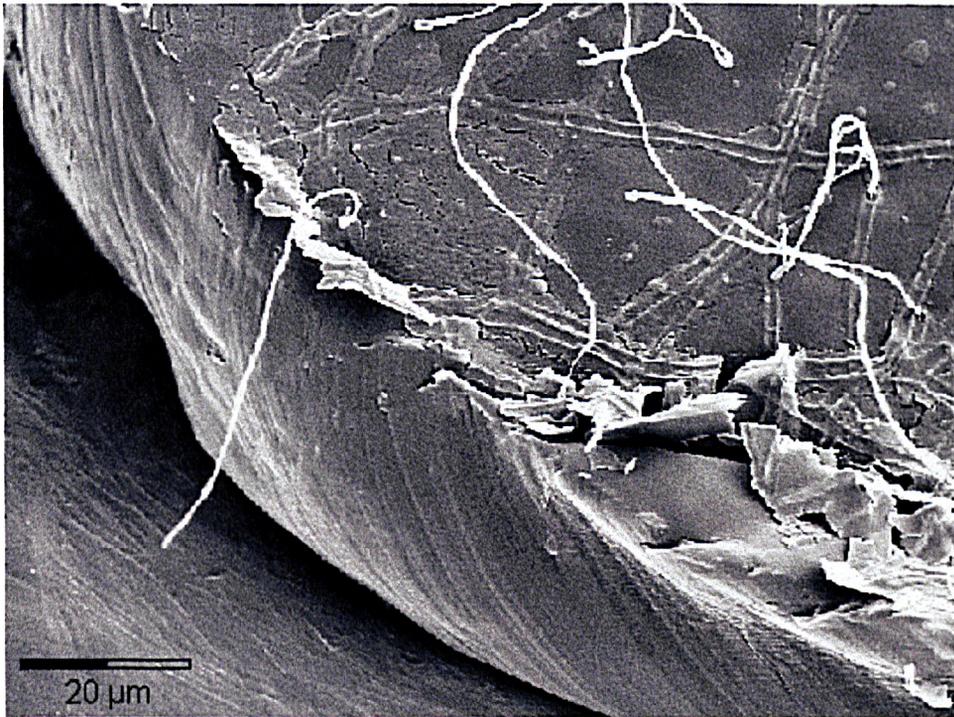


Abb. 6.15: Fibrin- Fäden und Proteinschicht an der Kante eines Materialfehlers auf HDPE, 1000-fache Vergrößerung.

Durch die turbulente Strömung, der das Blut in diesem Bereich ausgesetzt war, konnte es leichter zur Gerinnung kommen. Die hellen Fäden in Abb. 6.15 zeigen das bereits zu Fibrin polymerisierte Fibrinogen, dass im Körper in Fädenstruktur die Gerinnung fördert und stützt. Diese Fäden sind in der Proteinschicht eingebettet. Durch die turbulente Strömung an der Oberflächenunebenheit wurden sie aber teilweise aus der Proteinschicht gerissen und können so gut erkannt werden. Es ist in der Proteinschicht noch der Abdruck der Fäden zu erkennen, der dann verschwindet, wenn diese Fibrinfäden wieder in die Proteinschicht eintauchen. Durch die Unebenheit der Oberfläche, verursacht durch einen Verarbeitungsfehler, konnte die Existenz von Fibrin gezeigt werden, die sonst eingebettet in der Proteinschicht nur schwer zu entdecken gewesen wäre.

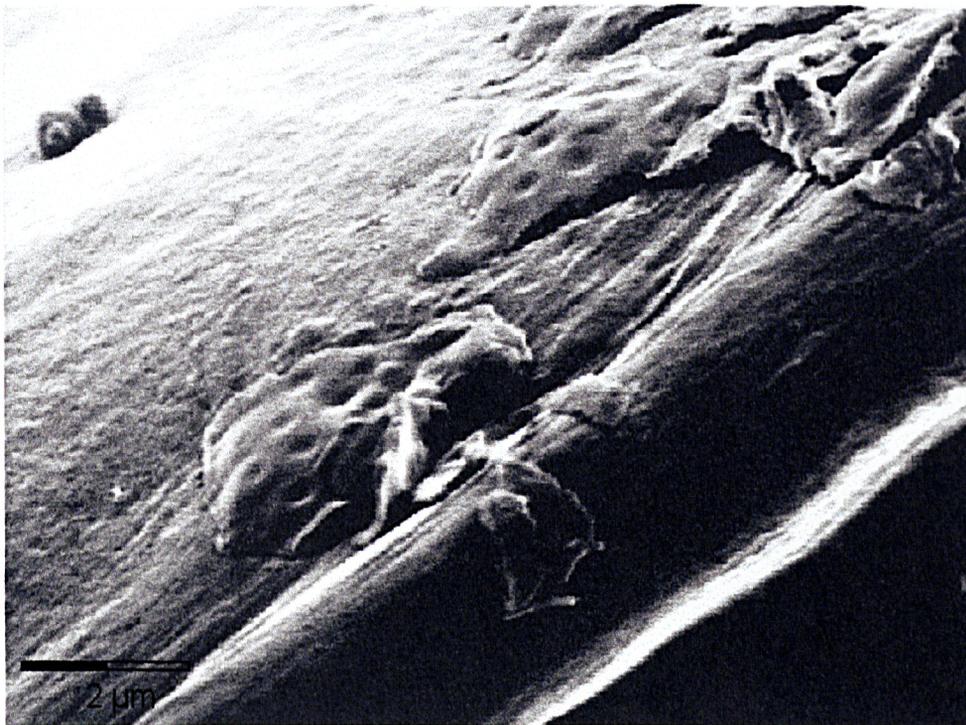


Abb. 6.16: Proteinablagerung auf einer HDPE Oberfläche. Abdrücke von Blutplättchen erkennbar, 10 000-fache Vergrößerung.

Barex® ist ein hydrophiler Werkstoff, der durch diese Eigenschaft eine relativ geringe Beschichtung erwarten lässt. Abb. 6.17 zeigt vereinzelt kleine Proteinreste, die nach 24 Stunden Benetzung mit Rinderblut haften blieben. Das Ausmaß der Verschmutzung ist jedoch sehr gering. Die Proteinreste an der Oberfläche haben Durchmesser zwischen 5 und 10 μm. Es konnte sich auch nach 24 Stunden Kontakt mit Rinderblut nur eine sehr geringe irreversible Proteinschicht an der Oberfläche anlagern. Dies bestätigt ebenfalls die Angaben der Literatur. Die Art der Proteinschicht unterscheidet sich in Dicke und Ausbreitung von der des PTFE. Es war zu erwarten, dass ein amorpher Kunststoff wie Barex® eine andere Beschichtung ermöglicht, als dies das teilkristalline PTFE bewirkt. Barex® scheint durch seine hydrophilen Eigenschaften nur eine geringe irreversible Proteinschicht zu ermöglichen. Zusätzlich hat es bereits unbeschichtet hervorragende Benetzungseigenschaften.

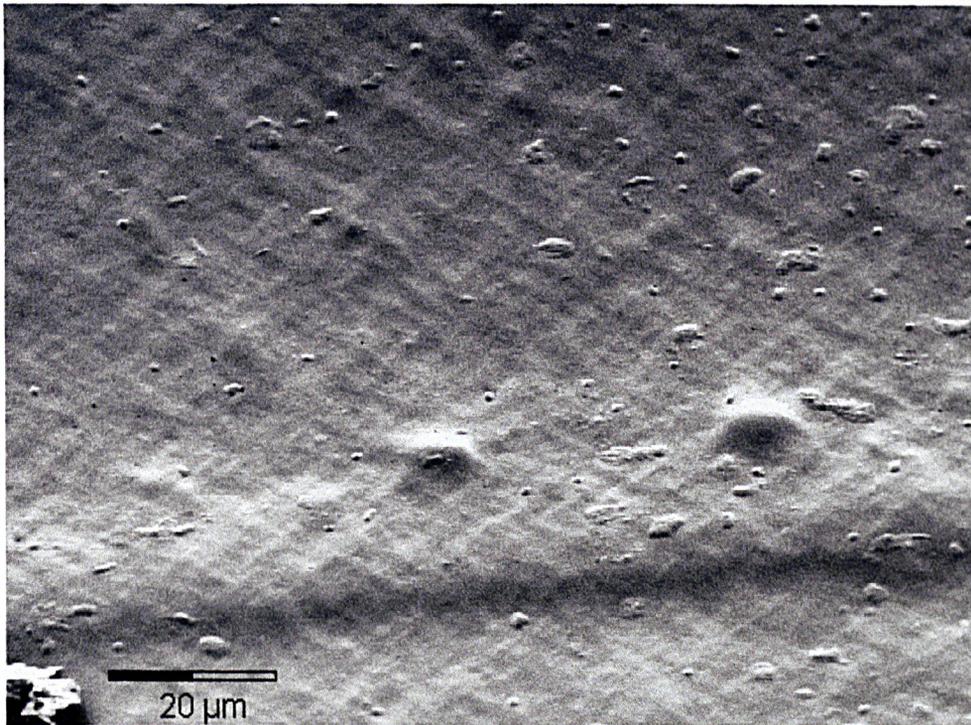


Abb. 6.17: Irreversible Proteinschicht auf Barex®. Kontaktzeit mit Blut 24 Stunden, 1000-fache Vergrößerung.

Silikon-Kautschuk war von einer homogenen Proteinschicht überzogen, die derart dick war, dass das Vakuum kein Aufplatzen der homogenen Proteinschicht bewirkte. Von oben betrachtet war es schwer eine Unterscheidung zwischen Beschichtung und eigentlichem Material zu treffen. Bei 1000-facher Vergrößerung können die Fibrinfäden eingebettet in der Proteinschicht erkannt werden, wie sie auch bei HDPE in Erscheinung getreten sind (Abbildung 6.15).

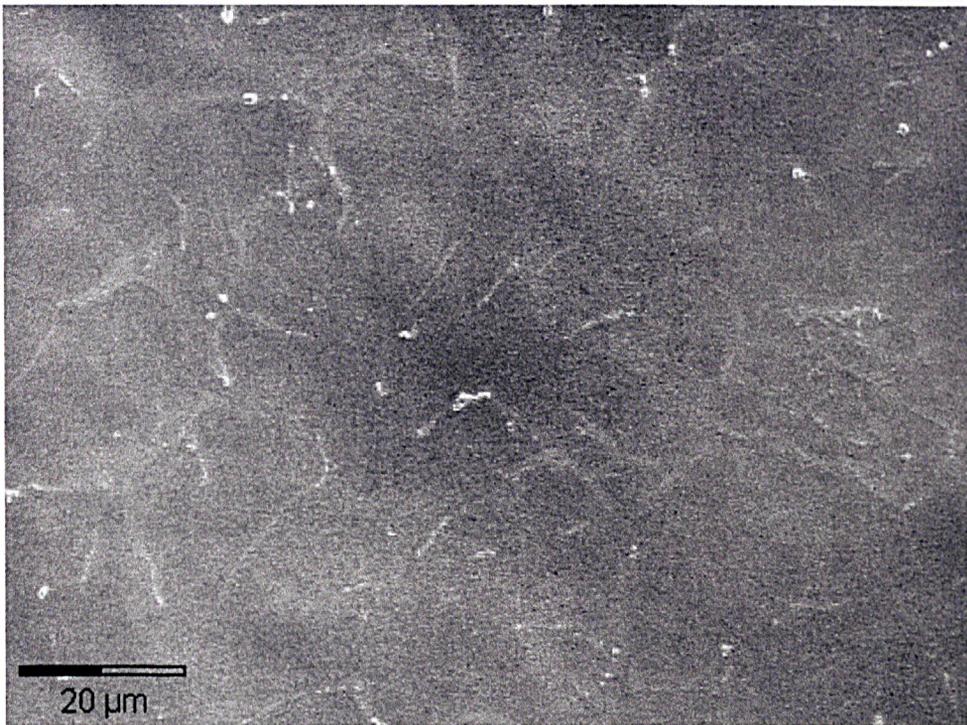


Abb. 6.18: Proteinschicht auf Silikon mit eingebetteten Fibrinfäden, 1000-fache Vergrößerung.

Von der Seite betrachtet ist bei Silikon deutlich die durchgehende Proteinschicht zu erkennen, die auch Blutplättchen enthält (Abb. 6.19). Durch das weiche Material ist bei der Vorbehandlung an der Schnittfläche die Proteinschicht zerstört worden, was eine leichtere Beobachtung ermöglichte. Die Unterschiede zwischen Material und Beschichtung waren in dieser Aufnahme leicht auszumachen.

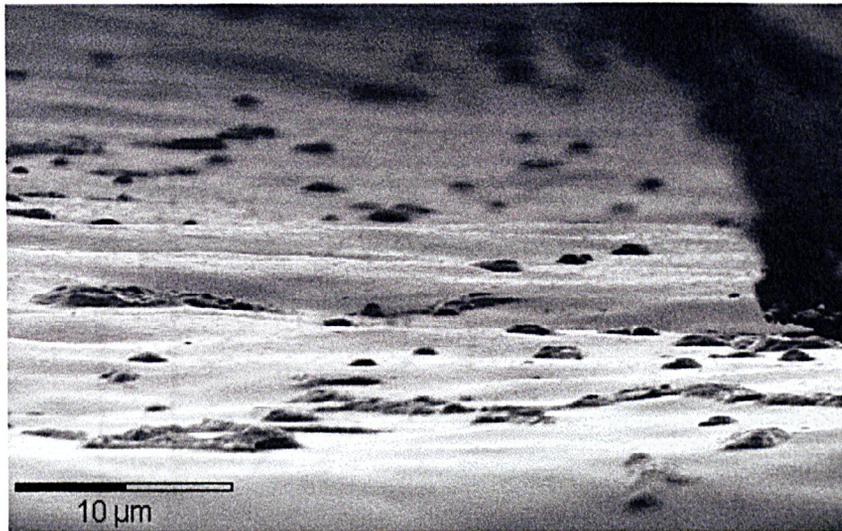


Abb. 6.19: Seitliche Ansicht einer blutbeschichteten Silikonoberfläche, 3000-fache Vergrößerung.

Das gereinigte Silikon wies starke Risse auf, was auf eine Wechselwirkung mit der Reinigungslösung schließen lässt. Diese Risse zeigen eine Breite von ca. 0,5 µm. Daher muß eine Einschränkung der Lebensdauer von Silikon in Kauf genommen werden, wenn diese Materialien öfter in Kontakt mit Neohypo treten.

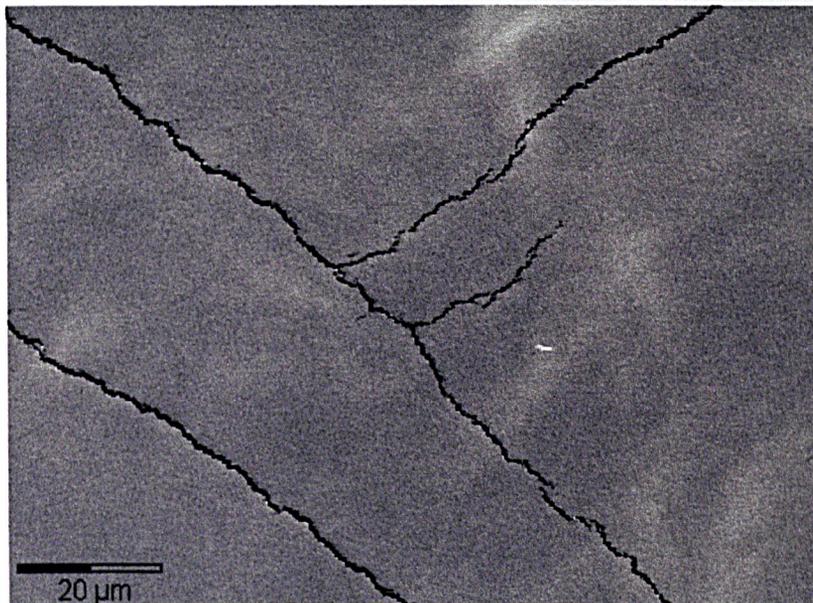


Abb. 6.20: Risse in Silikon nach Reinigung mit Neohypo, Oberfläche vorher mit Blut benetzt, 1000-fache Vergrößerung.

Tygon® war mit dem REM sehr schwer zu erfassen, da eine zu hohe Spannung des REM's keine scharfen Bilder ermöglichte. Es war kein kontrastiertes Bild der vermuteten Beschichtung zu erhalten. Schon bei 100-facher Vergrößerung war eine Veränderung der Oberfläche zu bemerken, die aus der Degradation von Weichmacher zu erklären ist (Abb. 6.21). Für einen längeren Einsatz in einem Messgerät ist dieses Material daher nur bedingt geeignet.



Abb. 6.21: Innenfläche eines Tygon®-Schlauches. Raue Innenfläche durch Extraktion von Weichmacher, 100-fache Vergrößerung.

7 Diskussion

Für die fünf untersuchten Materialien PTFE, PE, Barex®, Silikon und Teflon® erweisen sich die zwei ausgewählten Untersuchungsmethoden als sehr aussagekräftig. Sowohl die modifizierte Kapillarmethode, als auch die REM-Untersuchungen liefern Ergebnisse die gut in Übereinstimmung mit der praktischen Erfahrung gebracht werden können. Darüber hinaus können diese Methoden dazu verwendet werden Erfahrung und Empirie zu quantifizieren bzw. sichtbar zu machen.

In Kapitel Grundlagen wurde ausführlich auf die besonders günstige Eigenschaft hydrophiler Werkstoffe im Kontakt mit Blut hingewiesen. Die Vorteile gegenüber hydrophoben Materialien liegen hierbei mehr in der speziellen Anwendung der Analysegeräte. Die sehr kleinen Geometrien in Schläuchen, Messsensoren und Verbindungsstücken verstärken den Einfluss von Oberflächeneffekten derart stark, dass ein kontrollierter Flüssigkeitstransport nur mit hydrophilen Oberflächen zu erreichen ist. Alle polymeren Materialien - bis auf Barex® - weisen jedoch hydrophobe Eigenschaften auf. Daher werden bis jetzt in der Praxis alle Schläuche mit Blut benetzt, um die Oberflächen zu hydrophilisieren. Die Kapillarmethode zeigt, dass dies unabhängig vom Material sehr gut wirksam ist. Jedes Material zeigt nach Blutkontakt hydrophile Eigenschaften, unabhängig wie stark hydrophob die Oberfläche vorher war. Diese hydrophile Proteinschicht ist jedoch eine Verschmutzung der Oberfläche und muss von Reinigungslösungen wie Neohypo wieder entfernt werden.

Ein weiteres Problem ergibt sich durch diese Art der reversiblen Hydrophilisierung von hydrophoben Materialien. Die Benetzungseigenschaft wechselt sehr stark zwischen gereinigtem und verschmutztem Zustand. Während eine blutbenetzte Oberfläche hervorragende Benetzungseigenschaften aufweist, ist das gereinigte Material stark hydrophob. Dies macht einen reproduzierbaren Proben transport sehr schwierig. Die Differenz dieser beiden Zustände kann für die Eignung eines Materials in Analysegeräten genommen werden.

Das Problem unterschiedlicher Benetzungsverhalten lässt sich mit einer permanenten hydrophilen Beschichtung verringern. Sowohl im neuen Zustand, als auch nach Blutkontakt würde dieses Material ähnliche Benetzungseigenschaften aufweisen. Wie sich in der REM zeigt, ist die Ablagerung von Proteinen an hydrophilen Oberflächen sehr stark reduziert. Daher kann durch eine Hydrophilisierung der Oberfläche das Problem der Verschmutzung verringert werden. Mit dieser Reduzierung ist auch die Wechselwirkung von Material und Blut stark eingeschränkt, was eine Hauptanforderung an ein Analysegerät ist. Die Probe soll unbeeinflusst und unverändert bis zum Sensor gebracht werden. Mit einer gezielten Veränderung der Oberflächeneigenschaften lässt sich dies verbessert durchführen.

7.1 Polytetrafluorethylen (PTFE)

PTFE ist aufgrund seiner stark hydrophoben Eigenschaften ein ähnlich gut blutverträgliches Material wie Barex®. Hydrophobie ist aber ein großes praktisches Problem im Einsatz als Schlauchmaterial. PTFE zeigt von allen untersuchten Materialien im Einsatz mit Blut einen Effekt am deutlichsten: die starke Hydrophobie des neuen Materials wechselt zur stärksten Hydrophilie aller Kunststoffmaterialien, nachdem Blut das Material benetzen konnte. Die Forderung nach möglichst unveränderten Benetzungsbedingungen, unabhängig vom Zustand des Materials, ist durch PTFE nicht erfüllt. In Analysegeräten zur Messung von Blutparametern muss der Proteinfilm einer Blutprobe nach der Messung wieder entfernt werden, um die nachfolgende Probe nicht zu verfälschen. Dieser Wechsel der Benetzungseffekte wirkt in engen Durchmessern wie sie in der Praxis in den Analysegeräten verwendet werden äußerst hinderlich. Als Implantat wird dieses Material erst ab einem Innendurchmesser von 7 mm verwendet, was ebenfalls auf Probleme zu enger Durchmesser schließen lässt.

7.2 High Density Polyethylen (PE-HD)

HDPE ist ein gut blutverträglicher Werkstoff, der ähnlich wie PTFE durch seine hydrophoben Eigenschaften die Wechselwirkung mit Blut reduziert. HDPE ist auch aufgrund seiner ähnlichen Morphologie mit PTFE zu vergleichen. Beide Kunststoffe sind teilkristallin mit einem sehr hohen Kristallisationsgrad von über 90%. Die Parallelen beider Materialien zeigten sich in den Messungen der Kontaktwinkel. Die Benetzbarkeit von HDPE ist etwas besser als die von PTFE, was durch die höhere Oberflächenspannung des Materials erklärt werden kann. Die Charakteristik in der Benetzung zeigt aber starke Übereinstimmung der beiden teilkristallinen Materialien. Das Gleichgewicht in der Kapillare zwischen hydrostatischem Druck der Flüssigkeitssäule und Krümmungsdruck verursacht durch die Oberflächenspannung der Phasengrenze, stellt sich bei beiden Materialien übereinstimmend schnell ein. Die Änderung der Benetzung über den Messzeitraum von 45 Minuten zeigt ebenfalls parallele Verhaltensmuster.

Durch dieses bekannte Zeitverhalten, das sich eindeutig vom Verhalten amorpher Oberflächen unterscheidet, ist durch die modifizierte Kapillarmethode eine Klassifizierung der Morphologie möglich. Es kann gezeigt werden, dass das Quellverhalten teilkristalliner Oberflächen wesentlich geringer ist, als jenes amorpher Materialien.

7.3 Barex®

Barex® wird als Schlauchmaterial in der Vermessung von Kontrolllösungen eingesetzt. Seine herausragendste Eigenschaft ist die gute Barrierewirkung gegenüber O₂ und CO₂ Gas. Eine Diffusion dieser Gase durch die Schlauchwand liegt um den Faktor Hundert niedriger als bei herkömmlich eingesetzten Materialien. Diese Eigenschaft erreicht Barex® durch seinen Acrylnitrilgehalt. Acrylnitril ist gleichzeitig verantwortlich für die hohe Oberflächenspannung des Materials. Es bewirkt die hydrophilen Eigenschaften dieses Polymers und damit seine ausgezeichnete Eignung, im Einsatz mit Blut. Der Anteil von Acrylnitril verursacht hohe mechanische Festigkeit. Die Flexibilität eines Schlauches ist daher nur durch die Copolymerisation mit Butadienkautschuk zu erreichen. Diese Art des inneren Weichmachers hat den Vorteil

gegenüber einem äußeren Weichmacher wie DOP in Tygon®, dass kein Herauslösen über die Dauer des Einsatzes gegeben ist. Mit einem höheren Anteil dieser Komponente nehmen jedoch Gasdichtheit und Oberflächenspannung ab.

Barex® erwies sich in den Untersuchungen als das am Besten geeignete Material im Einsatz in Analysegeräten. Durch seine hydrophilen Eigenschaften verhindert dieses Material eine stark anhaftende Proteinablagerung. Es lässt sich von allen untersuchten Materialien am leichtesten reinigen. Seine hydrophile Oberfläche macht eine vorherige Benetzung durch Blut, wie sie bisher bei Schlauchmaterialien üblich war, nicht mehr notwendig. Der geringe Unterschied in den Benetzungseigenschaften dieses Materials ist ein zusätzlicher Vorteil. Sowohl gereinigt, als auch mit Proteinbeschichtung ist die Differenz der Kontaktwinkel am geringsten. Dies deutet auf ein gut einsetzbares Verhalten in der praktischen Anwendung hin. Die geringe Ablagerung an den Oberflächen von Barex® minimiert die Wechselwirkungen zwischen Blut und Material. Diese Hauptanforderung an einen blutverträglichen Werkstoff erfüllt Barex® von den untersuchten Materialien am besten. Dieses Material wurde nur aufgrund seiner hohen Oberflächenspannung in die Messreihen mit aufgenommen. Derzeit ist dieses Material nur in Kontakt mit QC-Lösungen im Einsatz. QC-Lösungen sind wässrige Lösungen deren zu messende Konzentrationen bekannt sind. Diese werden zur Qualitätskontrolle des Analysegeräts aus Ampullen in das Messgerät gesaugt. Es empfiehlt sich dieses Material auch in anderen Bereichen die mit Blut in Kontakt kommen einzusetzen. Die ausgezeichneten Barriereigenschaften gegenüber Gasen sollte dabei als weiteres überzeugendes Argument dienen.

Barex® ist nicht geeignet als flexibles Schlauchmaterial eingesetzt zu werden. Durch die Kenntnis des E-Moduls und der Querkontraktion dieses Werkstoffes, ist es jedoch leicht möglich, dieses Material innerhalb seiner Grenzen konstruktiv in Analysegeräte zu integrieren.

7.4 Silikonkautschuk

Silikonkautschuk schließlich ist ein Schlauchmaterial, das vor allem wegen seiner hohen Flexibilität im Analysegerät eingesetzt wird. Dieses Material wird eigentlich erst nach den Messsensoren verwendet. Die Transparenz des Materials ist erforderlich, um die Positionen der Flüssigkeiten verfolgen zu können. Die hohe Elastizität ermöglicht den Einsatz dieses Materials unter Quetschventilen, was eine lange Lebensdauer des Materials garantiert. Unter dem Aspekt der Blutverträglichkeit weist dieses Material keine bedenklichen Eigenschaften auf. Die Wechselwirkung Blut/Material ist aber dennoch vorhanden. Ablagerungen können sich leicht auf der Oberfläche bilden. Auffallend ist die Eigenschaft der geringen Änderung der Benetzungseigenschaften durch die Benetzung mit Blut. Sowohl im neuen Zustand, als auch mit Proteinen beschichtet weist dieses Material ähnliche Benetzungseigenschaften auf. Zwar sind beide Eigenschaften hydrophob, dennoch lässt sich dadurch ein kontrollierter Probentransport durch Analysegeräte verwirklichen. Diese Eigenschaft bewirkte in der Vergangenheit die Annahme, dass dieser Werkstoff sei hydrophil.

7.5 Tygon®

Tygon® ist als flexibles Schlauchmaterial im Einsatz, das etwas bessere Barriereigenschaften gegenüber Gasen als Silikon aufweist. Es ist ein unproblematisches Material in der Anwendung, sehr flexibel und leicht zu verlegen. Die Flexibilität erhält dieser Werkstoff durch seinen hohen Anteil an niedermolekularem Weichmacher. Aus diesem Grund wird PVC-P in der Medizintechnik nur als Einwegprodukt verwendet und ist als Implantat ungeeignet. Der Grund ist die große Menge an Weichmachern, die durch lipidhaltige Lösungen - wie eben Blut - aus dem Material extrahiert werden können. Durch die lange Einsatzdauer eines Schlauches in einem Analysegerät kommt es zu einer starken Veränderung der mechanischen Eigenschaften des Schlauches. Dies kann bei älteren Materialien beobachtet werden, die völlig ihre Flexibilität verlieren: ein eindeutiges Indiz für die Extraktion von Weichmachern. Alte Tygonschläuche, die von ihrer Befestigung gezogen werden, bleiben in der aufgeprägten Form und können keine Dichtwirkung mehr erreichen, wenn sie wieder auf die Befestigung geschoben werden.

Die Extraktion des Weichmachers führt nicht nur zu einer Veränderung der Eigenschaften des Materials. Das Extrakt lagert sich an anderen Stellen des Analysegerätes wieder ab und verschmutzt somit zusätzlich die Innenflächen der blutführenden Materialien. Extrahierte Weichmacher können zu Spannungsrissen in anderen Kunststoffen führen. So wurden Spannungsrisse in Polycarbonatteilen durch extrahierte Weichmacher beobachtet. Niedermolekulare Weichmacher wie DOP sind daher in dieser Art der Anwendung weitestgehend zu vermeiden. Der Einsatz von DOP als Weichmacher in PVC wurde für medizinisch technische Anwendungen vor kurzem in der USA verboten, daher wäre es empfehlenswert diesen Weichmacher durch ein System innerer Weichmacher zu ersetzen.

Barex® ist ein Beispiel für eine andere Art Weichmacher. Hier ist eine Kautschukkomponente chemisch mit dem eigentlichen Kunststoff verbunden, was eine Extraktion vollkommen ausschließt. Der Nachteil dieses Systems liegt hauptsächlich darin, dass keine derart große Bandbreite in der Flexibilität erreicht werden kann wie bei PVC. Gasdichte Blutverträglichkeit und Benetzbarkeit sprechen für Barex®. Diese gegensätzlichen Eigenschaften sind natürlich gegeneinander abzuwiegen.

8 Zusammenfassung

Die Untersuchung von Kunststoffen in Geräten zur Messung biologischer Flüssigkeiten wurde an 5 häufig in Analysegeräten eingesetzten Materialien durchgeführt. Es wurde auf eine breite Streuung des Materialtyps geachtet, um allgemeine Aussagen über deren Einsatz treffen zu können. Die Materialien waren PTFE, PE, AN/BR, Silikonkautschuk und PVC-P. PTFE und PE sind teilkristalline Polymere. Barex® ist ein Copolymer aus Acrylnitril und Butadien. Silikon ist ein Elastomer. Tygon® ist ein PVC mit einem hohen Weichmacheranteil, ein amorphes Polymer. Alle Materialien werden als Schläuche in den Analysegeräten verwendet. Sie sind am häufigsten in Kontakt mit biologischen Flüssigkeiten und wurden aus diesem Grund für die Untersuchungen herangezogen.

Als Untersuchungsmethoden wurden zwei Verfahren gewählt, die auch in der Erforschung von Biomaterialien eingesetzt werden. Das erste Verfahren war die Messung des Kontaktwinkels zur Bestimmung der Benetzbarkeit dieser Materialien. Die Benetzung der Materialien ist für die Untersuchung der Blutverträglichkeit von zentraler Bedeutung. Ein stark hydrophiles Material garantiert eine geringe Wechselwirkung der biologischen Flüssigkeit mit dem Material, eine dringende Voraussetzung in Analysegeräten zur Messung biologischer Flüssigkeiten. Eine Vielzahl an Wechselwirkungen tritt an der Schnittstelle Material - Flüssigkeit auf, daher ist das Minimieren dieser Wechselwirkungen eine wichtige Forderung für die Biokompatibilität eines Materials. Die Adhäsionsarbeit der Proteinschicht an der Oberfläche ist bei hydrophilen Materialien am geringsten. Eine Reinigung der Materialien ist durch diese Oberflächeneigenschaften wesentlich erleichtert. Ablagerungen sind die Vorstufe der Blutgerinnung, sie sind Anzeichen der ersten Wechselwirkungen des Materials mit Blut. Hydrophile Materialien mit geringer Neigung Ablagerungen zuzulassen verändern daher das Blut am geringsten.

Der Kontaktwinkel in den Schläuchen konnte am besten durch eine modifizierte Kapillarmethode ermittelt werden. Dazu wurden die verschiedenen Schlauchmaterialien mit Innendurchmessern von ca. 1mm zu Kapillaren geschnitten. Mit destilliertem Wasser konnte nun bei bekannter Oberflächenspannung und Dichte der Flüssigkeit der Kontaktwinkel mit dem jeweiligen Material bestimmt werden (Abb. 8.1). Diese Methode birgt viele Vorteile gegenüber der herkömmlichen Methode zur Bestimmung des Kontaktwinkels, da durch die Geometrie der Kapillare ein Austrocknen der Proteinschicht vermieden werden kann. Weiters ist die Forderung nach mit Wasserdampf gesättigter Luft über der Phasengrenze Wasser- Luft in einer Kapillare leichter zu erfüllen als über einem Wassertropfen auf einer planen Oberfläche. Die Messungen von Proteinschichten ergaben eine wesentlich bessere Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, als sie bisher nach der herkömmlichen Kontaktwinkelmethode aus der Literatur bekannt sind.

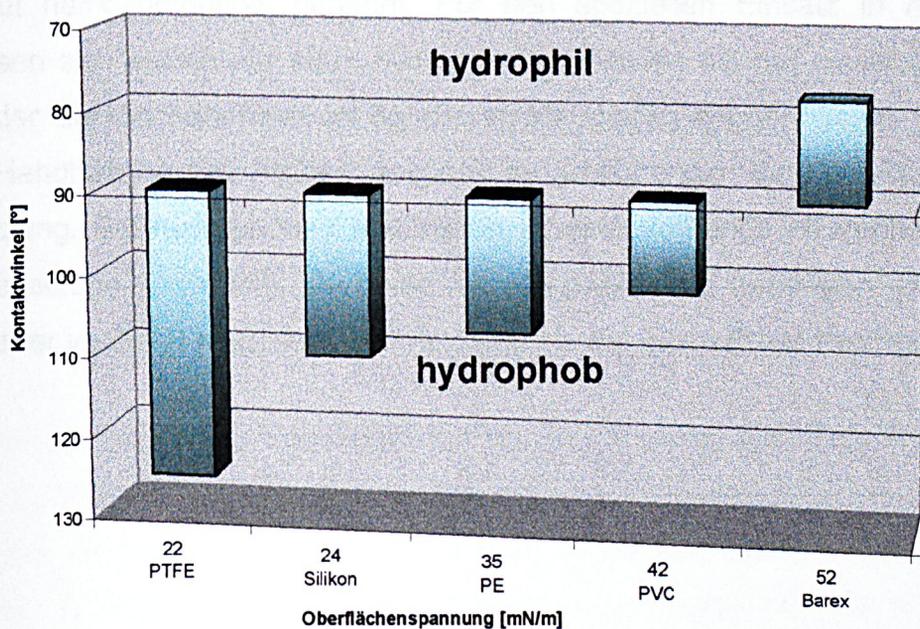


Abb. 8.1: Benetzungseigenschaft neuer Materialien in Abhängigkeit ihrer Oberflächenspannung.

Zur Bestimmung der Kontaktwinkel wurden neuwertige Materialien vermessen. Danach Proben die eine Minute, drei Minuten und 24 Stunden mit Rinderblut kontaminiert wurden. Nach dem Auswaschen aller Proben mit destilliertem Wasser konnte die irreversible Proteinschicht vermessen werden. Die Änderung der Benetzungsei-

igenschaften wurde in Abhängigkeit von der Zeit in Diagrammen dargestellt. Diese Art der Darstellung ließ einen guten Zusammenhang mit den Quelleigenschaften eines Materials herstellen. Eine zusätzliche Information, die leicht aus der modifizierten Kapillarmethode abzuleiten ist. Es zeigte sich ein Effekt der Hydrophilisierung aller vermessenen Oberflächen nach der Benetzung mit Blut, unabhängig von der Kontaktzeit sowie der vorhergehenden Benetzungseigenschaft des Materials. Hydrophobe sowie hydrophile Materialien ließen sich gleichermaßen benetzen. Eine Ausnahme stellt dabei Silikonkautschuk dar. Bei diesem Material war der Effekt der Hydrophilisierung am wenigsten ausgeprägt (Abb. 8. 2). Silikonkautschuk unterscheidet sich in seiner Morphologie sehr stark von den anderen Polymeren. Es ist ein anorganisches Elastomer, das weitmaschig vernetzt ist, im Gegensatz zu den organischen Thermoplasten.

Bei Biomaterialien werden stark hydrophile sowie ausgeprägt hydrophobe Materialien als gut hämokompatibel genannt. Für den speziellen Einsatz in Analysegeräten erweisen sich jedoch nur stark hydrophile Materialien als gut einsetzbar. Die Änderung der Oberflächeneffekte ist bei diesen Materialien am geringsten. Dies lässt eine gute Handhabung des Probenverkehrs zu, unabhängig von der Vorgeschichte der Benetzung. Bei hydrophoben Materialien ist eine vorherige Hydrophilisierung durch Blutbenetzung notwendig, um diese Schwierigkeiten zu beseitigen. Die Kunststoffe, die bisher im Gerät eingesetzt wurden, sind bis auf Barex® alle hydrophob.

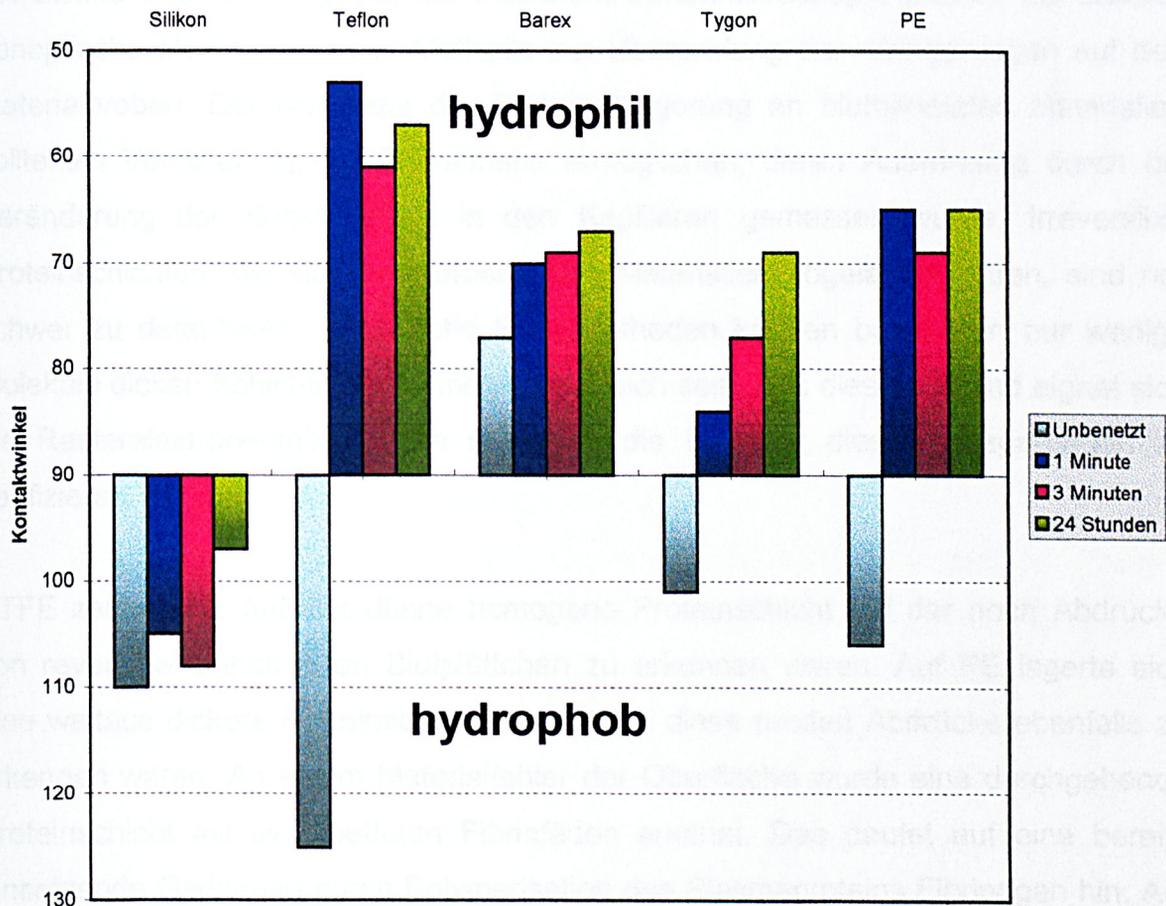


Abb. 8. 2: Benetzungseigenschaften aller Materialien neuwertig und nach bestimmter Kontaktzeit mit Blut.

Die Reinigungswirkung verschiedener Lösungen wurde ebenfalls durch die modifizierte Kapillarmethode ermittelt. Dabei konnten die unterschiedlich starken Adhäsionskräfte der irreversiblen Proteinschichten beobachtet werden. Es wurde bestätigt, dass ein Anhaften der Schicht an dem stark hydrophoben Material PTFE wesentlich schwächer war, als an den weniger hydrophoben Proben. An dem sehr hydrophilen Material Barex® war die Ablagerung noch wesentlich geringer als an PTFE.

Die zweite Untersuchung war die Rasterelektronenmikroskopie (REM), als elektro-nenoptische Methode zur Überprüfung der Ablagerungen auf den Materialproben. Der Nachweis der Proteinablagerung an blutbenetzten Materialien sollte eine Verifizierung der Phänomene ermöglichen, deren Auswirkung durch die Veränderung der Benetzbarkeit in den Kapillaren gemessen wurde. Irreversible Proteinschichten, die sich an blutbenetzten Materialien abgelagert hatten, sind nur schwer zu detektieren. Chemische Färbemethoden können bei diesen nur wenige Moleküle dicken Schichten nicht mehr erfolgreich sein. Aus diesem Grund eignet sich die Rasterelektronenmikroskopie sehr gut, die Existenz dieser Ablagerungen zu verifizieren.

PTFE zeigte eine äußerst dünne homogene Proteinschicht auf der noch Abdrücke von reversibel anhaftenden Blutplättchen zu erkennen waren. Auf PE lagerte sich eine weitaus dickere Proteinschicht an, auf der diese runden Abdrücke ebenfalls zu erkennen waren. An einem Materialfehler der Oberfläche wurde eine durchgehende Proteinschicht mit eingebetteten Fibrinfäden erkannt. Das deutet auf eine bereits einsetzende Gerinnung durch Polymerisation des Plasmaproteins Fibrinogen hin. Auf Silikon waren diese eingebetteten Fäden ebenfalls zu bemerken. Tygon® lies durch elastische Streuung von Rückstreuelektronen keine klaren Bilder der Oberfläche zu. Bilder mit geringerer Vergrößerung ließen dennoch eine Interpretation der Oberflächeneigenschaften zu. Das hydrophile Material Barex® bestätigte die Annahme der reduzierten Ablagerung durch die Kapillarmethode. Auf diesem Material wurde auch nach 24 Stunden Benetzung mit Blut die geringste Flächenausdehnung der irreversiblen Proteinschicht festgestellt.

Abschließend kann eindeutig gesagt werden, dass besonders stark hydrophile Kunststoffe in Zukunft im Kontakt mit Blut eingesetzt werden sollten.

Vorteil stark hydrophiler Oberflächen:

- Hervorragende Blutverträglichkeit. Die Veränderung des Blutes ist mit diesen Oberflächen am geringsten. Das ist zweifellos ein großer Vorteil in der Messung von Blutparametern.
- Geringste Ablagerung von Proteinen. Die Verschmutzung durch Proteine kann auf ein Minimum reduziert werden.
- Schwach anhaftende Verschmutzungen. Die Adhäsionsarbeit der Proteinschicht ist auf hydrophilen Materialien am geringsten. Hydrophile Materialien lassen sich wesentlich leichter von Proteinschichten befreien.
- Benetzungsbedingungen sind annähernd unverändert. Bei neu eingesetzten Materialien, sowie bei Materialien nach Blutkontakt ändern sich die Benetzungseigenschaften am wenigsten. Es ist keine Vorbehandlung der Materialien mit Rinderblut mehr nötig. Dies verringert einerseits die Infektionsgefahr von Mitarbeitern, andererseits können Vorkehrungen, die für die Hygiene von Blutarbeitsplätzen notwendig sind eingespart werden.

Eine andere Möglichkeit, die Oberfläche bereits eingesetzter Materialien permanent zu hydrophilisieren, ist die gezielte Veränderung der Oberflächenspannung. Beispielsweise gibt es Möglichkeiten der Hydrophilisierung einer Oberfläche durch Pfcopolymerisation. Dies findet bereits Anwendung in der Medizintechnik und wird zum Beispiel bei Kontaktlinsen oder Kathedern angewandt. Hydrogele, die durch ihre starke Wasserlöslichkeit eine Oberflächenspannung in der Nähe von Wasser besitzen, sind polymere Werkstoffe mit den besten hydrophilen Eigenschaften. Diese können durch verschiedene Verfahren an der Oberfläche anderer Polymere aufgefropft werden. Damit wird die Oberflächeneigenschaft eines Kunststoffe verändert, ohne andere Vorteile des Basispolymers zu verlieren. Welche Methoden sich in der Praxis bewähren und wie die spezielle Anwendung der Hydrophilisierung in Analysegeräten modifiziert werden muß, können erst zukünftige Untersuchungen klären.

Literatur

- [1] H. Planck: Kunststoffe und Elastomere in der Medizintechnik, Kohlhamer Verlag Stuttgart Berlin Köln, 1993
- [2] C. H. Weiss, W. Jelkmann: Physiologie des Menschen, Funktionen des Blutes, 27. Auflage, Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York, 1997
- [3] D. Klee, H. Höger: Polymers for Biomedical Applikations Improvement of the Interface Compatibility, Advances in Polymer Science, Vol. 149. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2000
- [4] D. F. Williams: Concise encyclopedia of medical and dental materials. Pergamon Press, 1990
- [5] H. Klinkmann, D. Falkenhagen, J. M. Courtney, H. J. Gurland: Uremia Therapie, Springer Verlag Heidelberg, New York, 1987
- [6] D. F. Williams: Material Science, 1987
- [7] Y. Ikada , W. Shalaby: ACS Symp Series No. 540, 1994
- [8] D. G. Castner, B. D. Ratner, A. S. Hoffman: Biomaterial Sci Polymer Edn, 1990
- [9] D. W. Grainger, T. Okano, S. W. Kim, D. G. Castner, B. D. Ratner, D. Briggs, Y. K. Sung: Biomed Mat Res, 1990
- [10] B. D. Tyler , B. D. Ratner, D. G. Castner, D Briggs D: Biomed Mat Res, 1992
- [11] B.D. Ratner, K. L. Mittal: Treatise on clean surface technology. Surface contamination and biomaterials, Plenum Press, New York, 1987

- [12] J. D. Andrade: Medical Instruments, 1973
- [13] R. E. Baier, V. L. Gott, A. Feruse: Trans Amer Soc Artif Intern Organs, 1970
- [14] B. D. Ratner, S. R. Hoffmann, L. A. Harker, J. D. Whiffen: Polym Sci Polym Symp, 1979
- [15] A. Bantjes: Brit Polym 10:267, 1978
- [16] W. Norde, J. Lyklema: Proton titration and elektrokinetic at posthetic interfaces
In: Andrade JD (ed) Surface and interfacial aspects of biommedical polymers.
Plenum Press, New York, 1985
- [17] S. D. Bruck: Polym Sci, Polym Symp, 1979
- [18] P. N. Sawyer, S. Srinivasan: Am J Surg, 1967
- [19] M. Szycher: Thrombosis hemostasis and thrombolysis at prosthetic interfaces.
In: M. Szycher(ed) Biokompatible polymers, metals and composites. Technomic, Lancaster, 1983
- [20] J. Yu, S. Sundaram, D. Wenig, J. M. Courtney, C. R. Mmoran, N. B. Graham: Biomaterials 12:119, 1991
- [21] R. L. Beissinger, E. F. Leonard: Trans Amer Soc Artif Intern Organs 27:225, 1981
- [22] M. E. Sonderquist, A. G. Walton: Colloid Interface Sci 136:68, 1980
- [23] L. Vroman: Semin Thromb Hemostatis, 1987
- [24] N. Y. Ann: Acad Sci 516:300

- [25] B. D. Ratner: The surface charakterisation of biomedical materials. In: B. D. Ratner (ed) Progress in biomaterial engineering, vol 6. Elsevier, Amsterdam, p 13, 1988
- [26] D. V. Vidrin: Photoacoustik Fourier transform infrared spectroscopy of solids and liquids. In: Fourier transform infrared spectroscopy, 1982
- [27] S. Frobos: Br Med Bull 34, 1978
- [28] G. W. Hastings, P. Ducheyne: Macromolecular Biomaterials CRC- Press, Boca Raton FL, USA, 1983
- [29] V. I. Sevastinov, A. N. Asanov: Protein Adsorption: The Model of Continuous Energetical Heterogeneity of Protein/ Surface Interaction, Trans 3rd World Biomat Congr Kyoto, 1988
- [30] R. Smith: The enzymatic Degradation of Polymers in Vitro, Journal of Biomedical Materials Research 21:8 991ff. , 1987
- [31] S. W. Kim SW: Role of protein and fatty acid adsorption on platelet adhäsion and aggregation at the blood– polymer interface, J Biomed Mater Res Symp 8, 23- 31, 1977
- [33] R. Lord: The search for an ideal Arterial Substittute, 1974
- [34] P. Wolf: In Vitro Thrombogenicity Test of Materials Used in Arterial Prothesis Haemostasis 13, 113 ff., 1983
- [35] A. S. Chawla: Biomed Mater Res, 1982
- [36] R. Schmidt: Werkstoffverhalten in biologischen Flüssigkeiten. Springer Verlag Berlin Heidelberg New York, 1999

- [37] J. Israelachvili: Intermolecular and Surface Forces. Academic Press, London San Diego, 1992
- [38] G. Brezesinski, H. J Mögel: Grenzflächen und Kolloide, Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg Berlin Oxford, 1993
- [39] L. H. Lee: Fundamentals of Adhesion. Plenum Press, New York London, 1991
- [41] P. Karlson: Biochemie, Georg Thieme Verlag Stuttgart, New York, 1980
- [42] U. Berger, M. Schröder, C. Kettler: Labor Praxis Nr. 4, Vogel Verlag 1998
- [43] J. Brandrup, E.H. Immergut: Polymer Handbook 3rd Edition, Wiley Interscience Publikation, New York Chichester Brisbane Toronto Singapore, 2000
- [44] Y. Ikada: Blood compatible polymers, 1983
- [45] D. Klee, H. Höcker: Spektrum der Wissenschaft, 1995
- [46] D. Klee, H. Höcker: Macromol Symb, 1996
- [47] D. Tabor: Gases, liquids and solids 3rd ed. Cambridge University Press, 1991
- [48] S. L. Flegler, J. W. Heckmann, K. L. Klomparens: Elektronenmikroskopie, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg 1995