

**Experimentelle Untersuchung zur Inkrustationsneigung von
unbeschichteten und mit amorphen Kohlenstoffen beschichteten
Harnleiterschienen unter Einfluss von Albumin in künstlichem Urin**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Isabella Syring
aus Marburg

2011

Angefertigt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. S.C. Müller
2. Gutachter: Prof. Dr. med. T. Minor

Tag der Mündlichen Prüfung: 29.04.2011

Aus Klinik und Poliklinik für Urologie und Kinderurologie im Universitätsklinikum Bonn
Direktor Prof. Dr. med. Dr. h.c. S.C. Müller

In Dankbarkeit meinen geliebten Eltern

INHALTSVERZEICHNIS

Abkürzungsverzeichnis	7
1 Einleitung	8
2 Literaturübersicht	9
2.1 Grundlagen der künstlichen Harnleiterschienung	10
2.1.1 Allgemeines	10
2.1.2 Geschichte der künstlichen Harnleiterschienung	12
2.1.3 Indikationen zur künstlichen Harnleiterschienung	13
2.1.4 Die Stents	14
2.1.4.1 Anforderungen an das ideale Material.....	14
2.1.4.2 Stentmaterialien	15
2.1.5 Komplikationen der künstlichen Harnleiterschienung.....	17
2.2 Grundlagen der Biofilmbildung	20
2.2.1 Allgemeines	20
2.2.2 Risikofaktoren für die Biofilmbildung	21
2.2.3 Einfluss von Harnproteinen auf die Biofilmbildung	22
2.2.4 Charakteristische Eigenschaften von Biofilmen	23
2.2.5 Die Biofilmbildung in Einzelschritten	23
2.2.6 Einfluss auf die Gesundheit	29
2.2.7 Resistenz gegen Antibiotika durch Biofilmbildung.....	30
2.2.8 Prävention und Management von Inkrustationen	30
2.3 Grundlagen der Proteinurie	31
2.3.1 Allgemeines	31
2.3.2 Ätiologie	33
2.3.2.1 Prärenale Proteinurie	33
2.3.2.2 Renale Proteinurie	33
2.3.2.2.1 Glomeruläre Proteinurie	33
2.3.2.2.2 Tubuläre Proteinurie	34

2.3.2.3 Postrenale Proteinurie.....	34
2.4 Albumin.....	36
2.4.1 Eigenschaften des Albumins.....	36
2.4.2 Vorkommen des Albumins im menschlichen Organismus	37
2.4.3 Funktionen des Albumins.....	37
2.4.4 Störungen des Albumin-Haushalts.....	38
2.4.5 Albuminbestimmung.....	39
2.4.6 Albumin und Harnleiterschienen	40
3 Problemstellung und Ziel der Arbeit	40
4 Eigene Untersuchung	41
4.1 Material und Methoden	41
4.1.1 Allgemein.....	41
4.1.2 Das Encrustatormodell	43
4.1.2.1 Systeme zur Konstanthaltung von T und V	44
4.1.2.2 Aufbau für Zugabe und Abfluss des Urins.....	45
4.1.2.3 Zeitlicher Ablauf einer Messung im Encrustator	45
4.1.3 Die Harnleiterschienen	46
4.1.4 Plasmadeponierte amorphe Kohlenstoffschichten.....	47
4.1.5 Herstellung der Versuchslösungen	51
4.1.5.1 Vorüberlegungen.....	51
4.1.5.2 Synthetischer Urin	52
4.1.6 Auswertungsverfahren und statistische Methoden	54
5 Ergebnisse.....	55
5.1 Allgemeines.....	55
5.2 Katheterversuche ohne Zugabe von Albumin.....	56
5.2.1 Gesamtmineralisatmengen ohne Zugabe von Albumin.....	56
5.2.2 Gesamtmineralisatmengen ohne Zugabe von Albumin in normierter Darstellung	56
5.2.3 Gesamtmineralisatmengen der einzelnen Katheterarten aufgeteilt in Stru, Kap und Bru ohne Zugabe von Albumin	57
5.3 Katheterversuche unter Zugabe von Albumin.....	59

5.3.1 Gesamtmineralisatmengen unter Zugabe von Albumin	59
5.3.2 Normierte Darstellung der Gesamtmineralisatmengen unter Zugabe von Albumin	60
5.3.3 Aufteilung der Gesamtmineralisatmengen in Stru, Kap und Bru unter Zugabe von Albumin	61
5.4 Katheterversuche unter Albuminzugabe mit Berücksichtigung unterschiedlicher Albuminkonzentrationen (5, 20 und 333 mg/l)	62
5.4.1 Vergleich der Gesamtmineralisatmengen unter Beachtung verschiedener Albuminkonzentrationen	62
5.4.2 Normierter Vergleich der Gesamtmineralisatmengen unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen	64
5.4.3 Gesamtmineralisatmengen der BPU-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen	66
5.4.4 Gesamtmineralisatmengen der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen.....	67
5.4.5 Gesamtmineralisatmengen der DLC-2-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru unter Berücksichtigung verschiedener Albumin- konzentrationen.....	68
5.5 Vergleiche der Katheterversuche mit und ohne Albuminzugabe	69
5.5.1 Gesamtmineralisatmengen mit und ohne Zugabe von Albumin. 69	
5.5.2 Normierte Darstellung der Gesamtmineralisatmengen mit und ohne Zugabe von Albumin	70
5.5.3 Gesamtmineralisatmengen der BPU-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru mit und ohne Albuminzugabe	72
5.5.4 Gesamtmineralisatmengen der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru mit und ohne Albuminzugabe	73
5.5.5 Gesamtmineralisatmengen der DLC-2-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru mit und ohne Albuminzugabe	74
5.6 pH-Wert	75
5.6.1 pH-Werte ohne Zugabe von Albumin	75
5.6.2 pH-Werte unter Zugabe von Albumin.....	76
5.6.3 Vergleich der pH-Werte mit und ohne Zugabe von Albumin	77
5.7 Sphärische Präzipitation	77
5.7.1 Beziehung zwischen sphärischer Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge unter Berücksichtigung verschiedener Albumin-konzentrationen	80

5.7.2 Zusammenhang zwischen sphärischer Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge unter Berücksichtigung verschiedener Stentarten	81
6 Diskussion	83
6.1 Einleitung zum Diskussionsteil	83
6.2 Einfluss von Albumin auf die Mineralisatmengen der verschieden beschichteten Harnleiterschienen	84
6.3 Einfluss der a-C:H-Beschichtungen auf die Inkrustationsneigung von Harnleiterschienen	84
6.4 Einfluss der Albuminkonzentrationen auf die Inkrustationsneigung von un- und mit a-C:H-beschichteten Harnleiterschienen	85
6.5 Einfluss des Albumins auf die Mineralisatzusammensetzung auf den un- und mit a-C:H-beschichteten Harnleiterschienen	86
6.6 Einfluss des Albumins auf den pH-Wert der Urinlösung	87
6.7 Sphärische Präzipitation	87
6.7.1 Allgemein	87
6.7.2 Einfluss der verschiedenen Beschichtungen auf die Sphärolithenzahl	88
6.7.3 Theorien der sphärischen Präzipitation	90
6.7.3.1 Theorie 1 der sphärischen Präzipitation	90
6.7.3.2 Theorie 2 der sphärischen Präzipitation	91
6.7.3.3 Theorie 3 der sphärischen Präzipitation	92
6.7.4 Einfluss der verschiedenen Albuminkonzentrationen auf die Präzipitanzahl	93
6.8 Die <i>in-vivo</i> -Heilversuche mit a-C:H-beschichteten Harnleiterschienen	93
6.9 Ausblick	94
7 Zusammenfassung	95
8 Abbildungsverzeichnis	97
9 Tabellenverzeichnis	103
10 Literaturverzeichnis	104
11 Danksagung	111
12 Lebenslauf	112
13 Veröffentlichungen	114

Abkürzungsverzeichnis

a-C:H	amorphe Kohlenstoffschichten
Alb	Albumin
BMBF	Bundesministerium für Bildung und Forschung
Bru	Brushit = $\text{CaHPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$ = Calciumoxalat
BPU	Polyurethan-Stent (= unbeschichteter Standardkliniksstent)
Ca	Calcium
CH_4NH_2	Harnstoff
DLC-2	mit a-C:H beschichtete Harnleiterschiene
DLC-125	mit a-C:H beschichtete Harnleiterschiene
DLC-Uro	mit a-C:H beschichtete Harnleiterschiene
EPS	Extrazelluläre polymere Substanzen
ESWL	Extrakorporale Stoßwellenlithotripsie
H	Wasserstoff
HCO_3^-	Kohlendioxid
HWI	Harnwegsinfektion
IDST	Institut für Dünnschichttechnologie
Kap	Carbonat-Hydroxylapatit = $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5\text{CO}_3(\text{OH})_2$
Mg	Magnesium
MSMPR	Mixed suspension mixed product removal
n	“Klein-n”, Anzahl der untersuchten Gruppe
N	Stickstoff
NH_4^+	Ammoniak
O	Sauerstoff
Run	Versuchsreihe
p	Signifikanz
P	Phosphat
PECVD	Plasma enhanced chemical vapour deposition
PU/PUR	Polyurethan
PVC	Polyvinylchlorid
Stru	Struvit = $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \times 6\text{H}_2\text{O}$
URS	Ureterorenoskopie

1 Einleitung

Harnleiterschienen sind in der Urologie häufig verwendete Implantate. Sie werden heutzutage weltweit rund 100 Mio. Mal pro Jahr eingesetzt (Laube, 2006). Ihr Zweck besteht in der Sicherstellung des ungehinderten Harnabflusses zwischen Niere und Blase (Kinn und Lykkeskov-Andersen, 2002). Es gibt eine Reihe von Ursachen für den erschwerten Abfluss des Urins. Auf die verschiedenen Indikationen der Harnleiterschienung wird in einem späteren Abschnitt eingegangen.

Trotz großer Anstrengungen im Bereich der Krankenhaushygiene treten in Deutschland jedes Jahr ca. 600.000 nosokomiale Infektionen auf (Robert-Koch-Institut, 2002 a und b). Harnwegsinfektionen (HWI), die mit einem Anteil von 30-40% zu den häufigsten nosokomialen Infektionen zählen, sind in bis zu 90% der Fälle ursächlich mit einer Katheterisierung assoziiert (Rüden et al., 1997; Sökeland et.al., 2000). Ein Implantat, welches im Harntrakt platziert wird, bietet als Fremdkörper immer eine Oberfläche für die Ansiedlung von Bakterien, welche zur Ausbildung von Inkrustationen aus kristallinen Bakterienbiofilmen führt (Laube et al., 2006). Die unmittelbaren Folgen sind unter Umständen erheblich: von einem banalen Harnwegsinfekt bis hin zur obstruktiven Pyelonephritis mit Funktionsminderung der Nieren. Die Ausbildung einer Harnstauungsniere beruht im Zusammenhang mit einer Katheterisierung meist auf einer Katheter- bzw. Stentobstruktion durch Inkrustation. Die Inkrustationsneigung der Harnleiterschienen stellt somit ein signifikantes Problem in der endourologischen Therapie dar (Sofer und Denstedt, 2000). Bei 80% der Patienten mit Ureterstents treten einzeln oder gemeinsam massive Bakteriurie, Hämaturie, Fieber, Inkontinenz und anhaltende Tragebeschwerden auf (Bregg und Riehle 1989; Chew et.al., 2004; Joshi et.al., 2002; Richter et al., 2000).

Man kann den Bakterienbiofilm als chronische Infektquelle ansehen, aus der sich unter wechselnden Antibiotikatherapien leicht multiresistente Bakterienstämme entwickeln. Bislang müssen die liegenden Stents bei ersten Anzeichen von Komplikationen gewechselt werden, weshalb im Extremfall die intrakorporale Verweildauer eines Standardimplantates nur wenige Tage oder Wochen betragen kann.

Trotz vielfältiger materialwissenschaftlicher Ansätze konnte die Komplikationsrate der Harnleiterschienung bisher nicht merklich gesenkt werden.

Die dieser Dissertation zugrunde liegenden Experimente sind Teil eines interdisziplinären und translationalen Projektes, welches vom BMBF (Bundesministerium für Bildung und Forschung) gefördert wird. Dabei werden Oberflächen handelsüblicher Polyurethan-Stents aus der momentan laufenden Produktion eines Herstellers mit plasmadeponierten amorphen Kohlenstoffen beschichtet. *In-vitro*-Experimente zeigten bisher exzellente Ergebnisse bezüglich der Verminderung von Biofilmbildungen. Heilversuche mit entsprechend beschichteten Doppel-J-Stents zeigten eine Verstärkung des Effektes *in-vivo*.

Um diesen verstärkten Effekt auch experimentell nachvollziehen zu können, wurden in den Versuchen, auf die sich die vorliegende Promotionsschrift bezieht, die *in-vitro*-Bedingungen noch mehr denen *in-vivo* angepasst. Dafür wurde das bekannte und etablierte Schema für die Herstellung von künstlichem Urin nach Griffith (1976) durch die Hinzugabe des Harnproteins Albumin in verschiedenen Konzentrationen erweitert. Wie schon Choong et al. (2000) zu bedenken geben, berücksichtigen *in-vitro*-Versuche zwar bereits eine Vielzahl verschiedenster Einflussgrößen, jedoch mangelt es ihnen an Urinproteinen, die aber eine entscheidende Rolle im Inkrustationsprozess spielen. Albumin, als eines der wichtigsten Harnproteine, gilt als Marker für verschiedene Nierenschäden (Diabetische Nephropathie, Tumore, etc.) und tritt dabei häufig im Patientenurin erhöht auf. Albumin wurde bereits ein Einfluss bei der Steinbildung nachgewiesen und deshalb sollte es auch bei der Frage der Inkrustationsneigung von Harnleiterschienen Beachtung finden. Somit wurden für diese Dissertationsarbeit die bisherigen etablierten *in-vitro*-Experimente der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn um den Faktor des Albumins erweitert.

Durch die Zugabe von Albumin lässt sich die Biokompatibilität der verschiedenen amorphen Kohlenstoffbeschichtungen noch exakter untersuchen. In unseren speziellen Experimenten wählten wir Albuminkonzentrationen, die einer Normo- (5 mg/l Alb) bis zu einer Makroalbuminurie (300 mg/l Alb) entsprechen.

2 Literaturübersicht

In der folgenden Übersicht soll zunächst auf die Grundlagen der künstlichen Harnleiterschienung eingegangen werden. Es folgt der Prozess der Biofilmbildung allgemein sowie speziell auf urologischen Implantaten. Nach einem Überblick zur

Proteinurie schließt die Beschreibung der Eigenschaften und Besonderheiten von Albumin die Übersicht ab.

2.1 Grundlagen der künstlichen Harnleiterschienung

2.1.1 Allgemeines

Die künstliche Harnableitung ist eine in der Medizin generell häufig angewandte Methode. In den USA zum Beispiel werden im Jahr über 100 Millionen Dauerkatheter und Stents eingesetzt (Reid, 1999; Schierholz et al., 2002). Allgemein bezeichnet man sie als „Biomaterial“.

Definiert wird Biomaterial als jede Substanz, synthetisch oder natürlich, die in der Medizin für therapeutische bzw. diagnostische Zwecke verwendet wird und mit dem umliegenden Gewebe in Kontakt tritt (Sofer und Denstedt, 2000). Dabei entstehen Wechselwirkungen zwischen Biomaterial und dem umgebenden biologischem System. Im engeren Sinne bezeichnet der Begriff „Biomaterial“ Substanzen, die als Implantate längerfristig im Körperinneren verbleiben können.

Es existieren generell zwei Arten der künstlichen Harnableitung: einerseits die Schienung der Harnleiter, andererseits die Ableitung des Urins aus der Blase (suprapubisch bzw. transurethral; siehe **Abb. 1**). Die dieser Arbeit zugrundeliegenden Versuche beschäftigen sich ausschließlich mit den Eigenschaften verschieden beschichteter Harnleiterschienen.

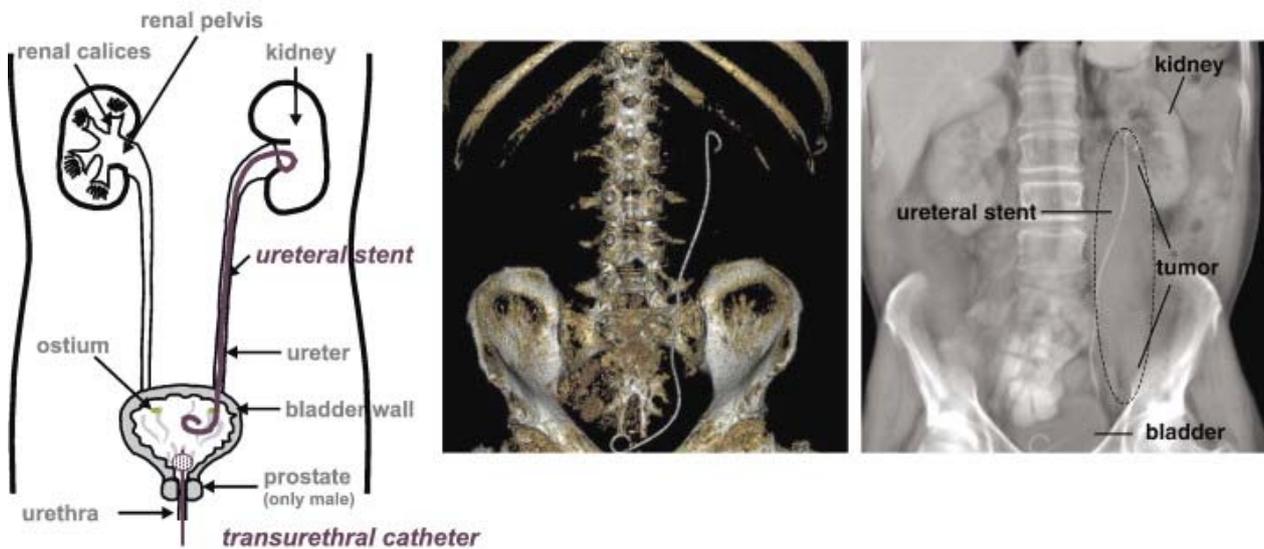


Abb. 1 Katheter werden routinemäßig in den Harntrakt eingesetzt – entweder als Harnleiterschiene zwischen Nierenbecken und Harnblase oder als direkte Drainage aus der Harnblase (transurethraler Katheter, siehe Abbildung links). Die Abbildungen in der Mitte und rechts zeigen computertomographische Darstellungen eines Abdomens mit liegender Harnleiterschiene. Die 3D-Animation in der Mitte zeigt deutlich die Lage des Stents. Rechts werden zusätzlich die viszerale Organe veranschaulicht. Der Patient leidet an einer tumorösen Erkrankung im Endstadium, die eine künstliche Harnableitung nötig macht. Der Tumor verlegt den Harnleiter fast auf seiner gesamten Länge und komprimiert das Lumen des Harnleiters, welches zu einer Obstruktion des Urinabflusses führt (Kleinen et al., 2008).

Eine Harnleiterschiene, auch Uretersplint/-schiene, Stent oder Pigtail-Katheter genannt, ist ein dünnes, meist 7 Charr. (1 Charrière = 1/3 mm) durchmessendes vorgeformtes Plastikröhrchen individueller Länge [ca. 10-30 cm, meist 24 cm (Lam und Gupta, 2004)], das zur Unterstützung der Harnableitung in den Harnleiter eingelegt wird. Mit dem kranialen Ende liegt es im Nierenbecken, mit dem kaudalen Ende in der Harnblase. Der Katheter wird bei einer bestehenden Harnabflussstörung zur inneren Schienung des Harnleiters verwendet. Die heutzutage verwendeten Schienen besitzen meist alle die Möglichkeit, dass sich die beiden Enden um einige Zentimeter aufrollen können. Dies wird durch einen so genannten Memoryeffekt ermöglicht. Aufgrund dessen werden die Stents auch Doppel-J- bzw. „Pigtail“-Katheter genannt (siehe **Abb. 2**). Diese Fähigkeit verhindert die Dislokation und fixiert sie nach gelungener Platzierung jeweils in der Niere und der Harnblase.

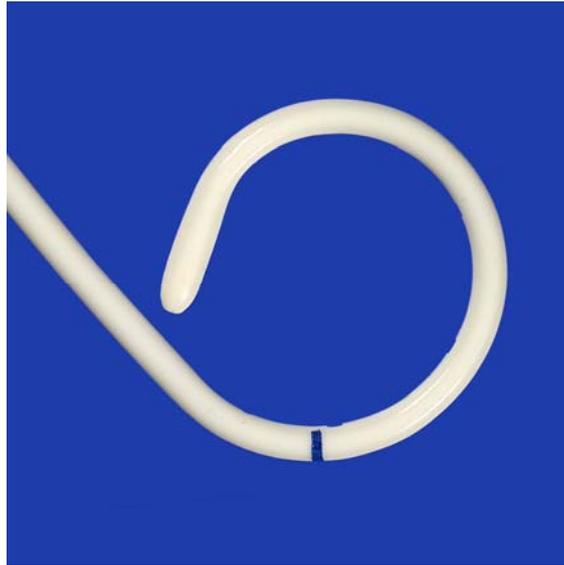


Abb. 2 Die Fotografie zeigt das Ende einer Harnleiterschiene. Hier wird der sogenannte Memoryeffekt deutlich, der bewirkt, dass sich das Katheterende nach Entfernen des Führungsdrahtes aufrollt („Pigtail“-Katheter). Dies verhindert die Dislokation des Stents.

Die Schiene kann antegrad während einer offenen Operation oder perkutanen Punktion des Nierenbeckens sowie retrograd transurethral durch ein Zystoskop in den Körper eingebracht werden. Bei der letztgenannten Methode wird zunächst eine retrograde Pyelographie durchgeführt und dann der Katheter über einen Führungsdraht in den Harnleiter geschoben. Der Führungsdraht wird nach der Platzierung der Schiene wieder entfernt.

Die Liegedauer einer Harnleiterschiene kann je nach Indikation, Material und Verträglichkeit durch den Patienten variieren und zwischen ein paar Tagen, mehreren Wochen (Regelzeit) bis hin zu einigen Monaten betragen. Die Entfernung der Schiene erfolgt dann endoskopisch.

2.1.2 Geschichte der künstlichen Harnleiterschienung

Die Methode der Harnleiterschienung ist eine schon lange angewandte Therapieform. Bei offenen Eingriffen werden Harnleiterschienen seit dem 19. Jahrhundert eingesetzt (Lam und Gupta, 2004). Endoskopisch ist dies erstmalig 1967 beschrieben (Liedl, 2007).

Die Geschichte der Anwendung von Implantaten im Harntrakt reicht zurück bis zu den antiken Ägyptern, welche Blei- und Papyruskatheter für die Harndrainage verwendeten

(Bitschai, 1952). Andere Materialien wie Bronze, Kupfer, Silber, Zinn, Tierhaut, Leinen und Schilf wurden später für die Blasenkateterisierung genutzt (Seiter et al., 2000). Im 18. Jahrhundert ermöglichte der neu entwickelte Werkstoff Gummi die Herstellung von haltbaren und flexiblen Kathetern (Sofer und Denstedt, 2000). Der Gebrauch von Glasröhrchen im Harnleiter ist bereits aus der Zeit vor dem Zweiten Weltkrieg bekannt. Diese konnten sich allerdings wegen ihrer Neigung zu Dislokationen und Obstruktionen nicht durchsetzen (Sofer und Denstedt, 2000). 1967 berichteten Zimskind et al. erstmalig über eine erfolgreiche endoskopische Einsetzung eines Silikon-Röhrchens, um Obstruktionen des Harnleiters zu behandeln. Dies läutete die moderne Ära der Dauerkatheter ein. 1970 veränderte Marmor den Zimskind-Stent, indem er ihn mit zahlreichen seitlichen Löchern versah. Diese ermöglichten das Zurückfließen des Urins in das Stentlumen und minimierten die durch die Schienung auftretenden Drücke im Harnleiter und Nierenbecken. Durch die Nutzung von Silikon wurde die Harnableitung verbessert und die Inkrustationsneigung der Stents verringert.

Gibbons et al. (1974) experimentierten in den folgenden Jahren mit verschiedenen Möglichkeiten, um die Dislokation der Stents zu verhindern. Ein entscheidender Fortschritt in dieser Hinsicht wurde 1978 gemacht. Die Migrationsneigung der Stents konnte durch die Erfindung des Doppel-J-Stents mit einem proximalen und einem distalen J-förmigen Ende (Finney, 1978) verringert werden. Der Einrolleffekt an den Enden dieses Stents, auch Double-pigtail-Stent genannt (siehe **Abb. 2**), wurde von Mardis et al. (1979) sogar noch einmal verbessert. Diese Stentart hat sich für die länger dauernde innere Harnleiterschienung durchgesetzt und stellt heutzutage den Goldstandard dar.

Seit 1980 ist der Gebrauch von Stents in der Erwachsenen- und Kinder-Urologie weitverbreitet (Bloom et al., 1999; Yachia, 1997).

2.1.3 Indikationen zur künstlichen Harnleiterschienung

Innere Harnleiterschienen werden generell eingesetzt, um bei möglichen oder manifesten Harnabflussstörungen den Urinfluss von der Niere zur Blase aufrechtzuerhalten oder wiederherzustellen. Die Anzahl verschiedener Indikationen zur Schienung hat sich in den vergangenen Jahrzehnten aufgrund der Weiterentwicklung von Materialien und Designs stark vergrößert.

Bei vielen Operationen im Rahmen der Stein- und Tumorchirurgie aber auch bei angeborenen Fehlbildungen im Bereich des Nierenbeckens und des Harnleiters ist die vorübergehende Einlage eines Ureter-Stents erforderlich, um die intraoperativ entstandene Anastomose zu schienen (Lam und Gupta, 2002; Singh et al., 2001).

Häufig werden Ureter-Stents zur Förderung des spontanen Abgangs kleiner Harnsteine (bis zu einer Größe von 10 mm) bei bestehender Kolik, nach einer transurethralen Bergung von Harnsteinen oder prophylaktisch vor oder nach einer ESWL eingesetzt (Auge und Preminger, 2002; Chew et al., 2004). Die Schienung erleichtert dabei den Abgang von Steinfragmenten und sichert den Harnfluss auch im Falle eines Anschwellens des Harnleitergewebes.

Einsatz finden sie auch bei malignen tumorösen Geschehen (siehe **Abb. 1**), die entweder von innen (z. B. durch ein Urothelkarzinom) oder von außen (z. B. durch ein Kolon- oder Ovarialkarzinom oder durch Lymphknotenmetastasen) das Lumen des Ureters komprimieren (Auge und Preminger, 2002; Robert et al., 1997). Benigne Geschehen können auch zu einer Verlegung des Harnleiters führen. Zu beachten sind dabei narbige Strikturen aufgrund einer vorhergehenden Traumatisierung, einer Bestrahlung im Bereich der Ureteren (Ringel et al., 2000) oder einer retroperitonealen Fibrose (M. Ormond) (Auge und Preminger, 2002; Keane et al. 1994; Lam und Gupta, 2002).

Akute Verletzungen des Harnleiters durch einen Unfall oder während einer abdominalen Operation können ebenfalls Indikationen zur Schienung geben (Monga et al., 1995), genauso wie die Kompression des Uterus auf den Ureter bedingt durch eine Schwangerschaft (Auge und Preminger, 2002).

2.1.4 Die Stents

2.1.4.1 Anforderungen an das ideale Material

Obwohl das ideale Biomaterial für den endourologischen Einsatz noch nicht gefunden wurde (Singh et al., 2001), kennt man mittlerweile die Bedingungen, die das Material erfüllen sollte (Choong et al., 2000; Choong und Whitfield, 2000 a und b; Liedl, 2007; Seiter et al., 2000):

- Sicherstellung des ungehinderten Urinflusses
- geringe Inkrustations- und Biofilmbildungsneigung

- geringe Bakterienadhärenz
- gute Biokompatibilität (siehe unten)
- Migrations- und Dislokationsvermeidung
- problemlose retrograde, antegrade oder offene Platzierung
- hohe Röntgendichte
- einfaches Einsetzen und Entfernen
- biologische Trägheit und damit chemische Stabilität im Urin
- Widerstandsfähigkeit und Haltbarkeit
- partielle Flexibilität und auch Rigidität
- Sterilisierbarkeit
- keine Toxizität, Allergenität oder Kanzerogenität
- optimale Flusseigenschaften
- geringe Kosten in der Anschaffung

Biokompatibilität wird definiert als das utopische Stadium, in dem ein Biomaterial eine Berührungsfläche mit dem umgebenden Milieu hat, ohne dass es zu einer gegenseitigen Beeinflussung kommt. Momentan erfüllt trotz vielversprechender Entwicklungen in Material und Design noch kein verwendetes Material diese Bedingung (Sofer und Denstedt, 2000).

2.1.4.2 Stentmaterialien

Nicht nur das Design der Harnleiterschienen hat sich im Laufe der Jahre geändert (siehe **Kapitel 2.1.2**), sondern auch die Material-Grundstoffe und Beschichtungen haben sich weiterentwickelt.

Polyvinylchlorid (PVC)

PVC stellt in der Regel ein relativ starres, hydrophobes und säureresistentes Material dar. Katheter aus diesem Grundstoff zeichnen sich durch ein günstiges Verhältnis zwischen Innen- und Außendurchmesser aus und sichern damit hohe Durchflussraten. Die Steifheit der PVC-Stents lässt sie selten knicken oder dislozieren (Liedl, 2007). Der Nachteil dieses Materials liegt in seiner hohen Inkrustationsneigung. Diese führt dazu, dass der Stent bei längerer Liegezeit starr und zerbrechlich wird (Liedl, 2007). Somit sind PVC-Stents nur für eine kurzfristige Harnableitung geeignet (ebd.).

Silikon

Dieses Material ist auch für eine längere Harnableitung geeignet, da die Oberflächen auch bei fortgeschrittener Liegedauer wenig inkrustieren (hohe Inkrustationsresistenz; siehe Liedl, 2007). Ein weiterer Vorteil von Silikon ist das Nicht-Vorhandensein von Toxizität (Denstedt et al., 1998). Die extreme Flexibilität und Elastizität dieser Harnleiterschienen erschweren allerdings massiv das Einführen durch den engen und gewundenen Ureter entlang eines Führungsdrahtes (Sofer und Denstedt, 2000). Außerdem bestehen eine hohe Dislokationstendenz, starke Reibungseffekte am umgebenden Urothel und geringe Widerstandskräfte gegen mechanische Einwirkungen.

Polyurethan (PU bzw. PUR)

Dieses Material wird heutzutage am häufigsten für die Herstellung von Doppel-J- und Double-pigtail-Kathetern eingesetzt (Dyer et al., 2002; Jones et al., 1997). Es kombiniert die Elastizität von Silikon mit der Steifheit von PVC (Sofer und Denstedt, 2000). Dies erleichtert das Einbringen in und Entfernen aus dem Ureter (Liedl, 2007). Ein weiterer Vorteil dieser Harnleiterschienen ist ihr im Vergleich zu anderen Materialien günstiger Preis (Arshad, 2006). Polyurethan-Stents besitzen allerdings eine rauere Oberfläche und führen somit zu signifikant mehr urothelialen Ulzerationen und Erosionen (Marx et al., 1988).

In den Versuchen, die dieser Pomotionsschrift zugrunde liegen, wurden ebenfalls Polyurethan-Stents verwendet: einerseits unbeschichtete PU-Stents, die die Referenz-Stents bildeten (entspricht BPU) und andererseits beschichtete PU-Stents (entspricht u. a. DLC-Uro, DLC-2, etc.).

Hydrogel-Beschichtung

Dieses Material unterscheidet sich von den bisher aufgelisteten Stoffen insofern, als dass es hydrophil ist. So kann es zwar Wasser aufnehmen, löst sich aber nicht darin auf (Beiko et al., 2003). Damit sorgt es für eine niedrigere Reibung beim Gleiten entlang des umgebenden Urothels (reduzierter Reibungskoeffizient). Diese Eigenschaft wird u. a. bei der Beschichtung von Führungsdrähten genutzt, wodurch das Einführen erleichtert wird und der Patient weniger Beschwerden hat (Sofer und Denstedt, 2000).

Weitere Vorteile von Hydrogel sind die niedrige Inkrustationsneigung und die nahezu fehlende bakterielle Adhärenz (Beiko et al., 2003; Sofer und Denstedt, 2000), weshalb es aktuell die am häufigsten benutzte Beschichtung für Implantate im Harntrakt ist (Beiko et al., 2003).

Bei der Therapie von malignen Obstruktionen oder Harnleiterstrikturen werden Materialien mit höherer Stabilität eingesetzt. Diese bestehen aus Metall oder Legierungen wie Titan oder Nickel/Titan (Sofer und Denstedt, 2000).

Ein ganz neuer Aspekt der Katheterentwicklung ist die Nutzung von bioabsorbablem Material, welches im Harntrakt nach einer gewissen Zeit – je nach Bedarf ca. 6-12 Wochen – abgebaut wird (Sofer und Denstedt, 2000). Dies hat den Vorteil, dass ein normalerweise notwendiger zweiter Eingriff zum Entfernen oder Wechseln der Schiene entfällt.

Neben den hier beschriebenen Materialien gibt es noch eine Vielzahl weiterer Grundstoffe und Beschichtungen, die aber für die vorliegende Arbeit keine Relevanz besitzen, weshalb an dieser Stelle nicht weiter auf sie eingegangen wird.

2.1.5 Komplikationen der künstlichen Harnleiterschienung

unbeschichtet



a-C:H beschichtet



Abb. 3 Endoskopische Aufnahmen liegender Harnleiterschienen. Die linke Aufnahme zeigt einen stark inkrustierten unbeschichteten Stent nach 1,5 Monaten Liegedauer. In der rechten Aufnahme sieht man einen mit amorphem Kohlenstoff (a-C:H)-beschichteten Stent, der im gleichen Patienten und unveränderter Gesundheitssituation doppelt solange platziert war. Dieser zeigt bei dieser Vergrößerung keinerlei Anhaftungen (Kleinen und Laube, 2007).

Die Schienung des Harnleiters stellt bei den in **Kapitel 2.1.3** beschriebenen Indikationen eine äußerst hilfreiche und notwendige Therapie dar. Trotz aller Weiterentwicklungen in Sachen Material- und Designforschung, kann jede Schienung eine Reihe von Komplikationen und Einschränkungen der Lebensqualität des Patienten verursachen. Joshi et al. (2002) berichten, dass bis zu 80% der Patienten, die mit einer Harnleiterschiene behandelt wurden, an Symptomen ausgehend vom Harntrakt leiden. Inkrustationen und damit häufig verbundene Infektionen sind die Hauptkomplikationen der urologischen Stenteinlage (Chew et al., 2004; Keane et al., 1994), deren Resultat eine vollständige Obstruktion des Katheters sein kann (Dyer et al., 2002). Die Untersuchungsergebnisse von Keane et al. (1994) zeigten, dass nach längerer Liegedauer Inkrustationsraten von bis zu 48% auftraten. Das Ausmaß der Infektionen kann von einem einfachen HWI über eine Pyelonephritis oder Septikämie bis hin zum Schock führen (Stickler et al., 1998).

Harnleiterschienen, die nur begrenzte Zeit im Ureter liegen, können bis zu 69% mit Bakterien besiedelt sein (Riedl et al., 1999). Eine solche Besiedelung des Stents ist zwar nicht direkt mit einer Infektion verbunden, führt allerdings zu klinischen Beschwerden für den Patienten (Choong und Whitfield, 2000a). Momentan neigen alle verwendeten alloplastischen Materialien zur Biofilmbildung – ein Problem, auf das im folgendem **Kapitel 2.2** näher eingegangen werden soll.

Trotz verbesserter Biokompatibilität bleibt jede Harnleiterschiene – egal aus welchem Material (siehe **Kapitel 2.1.4.2**) – ein Fremdkörper und kann zu Ödemen, Hyperplasien und Entzündungen des Gewebes führen (Haleblian, 2008; Keane et al., 1994).

Weitere Komplikationen sind verschiedene Arten von Schmerzen (u. a. Flankenschmerz). In der Studie, die von Joshi et al. (2003) vorgestellt wurde, benötigten mehr als 70% der Patienten mit einer Harnleiterschiene Analgetika. Auch Hämaturien treten bei Reizung des Urothels auf. (Adams, 1994; Candela und Bellman 1997). Keane et al. (1994) stellten bei ihren Untersuchungen eine Hämaturierate von 30% fest.

Das distale Ende der Schiene ragt in die Blase hinein und kann dort durch eine Reizung zu Harndranggefühl bis hin zur Urge-Inkontinenz führen (Liedl, 2007). Candela und Bellman (1997) geben dafür eine Inzidenz von 67% an.

Auch Dislokationen und Rupturen der Schienen sind möglich (Candela und Bellman, 1997). Letzteres betrifft vor allem die weniger flexiblen Materialien wie etwa PVC, wenn

sie über einen längeren Zeitraum im Harntrakt verbleiben. Ein Bruch der heute verwendeten Stents ist aber in der Literatur nur noch selten beschrieben (Gorman et al., 1997).

Es gilt zu beachten, dass die Schienung einen vesiko-ureteralen Reflux auslösen kann (Cummings et al., 2004). Die Ursache dafür liegt in der ständig bestehenden Verbindung zwischen Blase und Nieren durch die Aufhebung der Uretersphinkterfunktion. Dadurch wird eine Drucksteigerung innerhalb der Blase von dieser auf das Nierenbecken übertragen (Thomas, 1993). Dies kann langfristig zu einer Schädigung der Niere aufgrund einer Hydronephrose (Singh et al., 2001) sowie einer erleichterten bakteriellen Aszendierung führen.

Durch die Schienung des Ureters bedingte Irritationen und Ulzerationen des Urothels haben bisweilen narbige Veränderungen und Strikturen zur Folge (Ramsay et al., 1987). Außerdem besitzen alle inneren Harnleiterschienen den Nachteil, dass sie zwangsläufig einen zweiten Eingriff notwendig machen, um die Schiene zystoskopisch zu entfernen. Hier besteht, wie bei jedem Eingriff, das Risiko von Verletzungen und Infektionen.

Weitere Fortschritte in der Biomaterialzusammensetzung und Biokompatibilität werden nötig sein, um die Inzidenz von katheterassoziierten Komplikationen zu reduzieren und gleichzeitig die Haltbarkeit der Stents zu verbessern. Ihre Beschichtung mit amorphen Kohlenstoffen (a-C:H) stellt hier eine vielversprechende Neuerung dar, die in den dieser Promotionsschrift zugrunde liegenden Experimenten untersucht wird. Eine Beschreibung dieser Beschichtung findet sich in **Kapitel 4.1.4**.

2.2 Grundlagen der Biofilmbildung

2.2.1 Allgemeines



Abb. 4 Inkrustation von Harnleiterschienen: Im linken Bild sieht man das Ende einer unbeschichteten Harnleiterschiene (sogenannter Pigtail), die noch unbenutzt und ohne Inkrustation ist. Das rechte Bild zeigt ein vergleichbares Modell, welches nach einer Liegezeit von nur wenigen Wochen aus dem Harntrakt eines Patienten entfernt wurde. Deutlich wird hierbei die massive Inkrustation (Kleinen und Laube, 2007).

Der Prozess, im Laufe dessen sich Kristalloide und Kolloide an Biomaterialoberflächen anhaften, wird als „Inkrustation“ bezeichnet (Choong und Whitfield, 2000). Der Begriff „Inkrustation“ ist gleichzusetzen mit dem Begriff des „Biofilms“. Die aktuelle Definition zu Biofilmen geht auf Donlan und Costerton (2002) zurück. Sie besagt, dass ein Biofilm eine mikrobielle festsitzende Gemeinschaft ist. Diese ist charakterisiert durch Zellen und Substanzen, die irreversibel an einen Feststoff oder untereinander verbunden sind. Eingebaut sind die Zellen in eine Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS), die von den Bakterien selber gebildet werden. Die Zellen innerhalb des Biofilmes zeigen einen veränderten Phänotyp mit einer anderen Wachstumsrate und Gentranskription gegenüber den in der umgebenden Flüssigkeit frei schwebenden Bakterien.

Biofilme sind allgemein in der Natur ein sehr häufig auftretendes Phänomen (Choong und Whitfield, 2000 b). Mehr als 99% der auf der Erde existierenden Bakterien leben in Biofilmen und bilden dort Kolonien, in denen sie entweder aneinander oder an Ober-

flächen haften (Costerton et al., 1999). Es gibt nahezu keine Grenzfläche in der Natur, die nicht von Biofilmen überzogen werden kann (Flemming und Wingender, 2001).

Für viele Fachgebiete sind Biofilme von großem Interesse: u. a für die Human- und Zahnmedizin, Immunologie, Biotechnologie, Biokorrosion oder Verfahrenstechnik (Choong und Whitfield, 2000 b).

In der Medizin spielen Biofilme eine entscheidende Rolle bei Infektionen, die mit der Implantation von medizinischen Hilfsmitteln verbunden sind (Choong und Whitfield, 2000 b). Die Inzidenz solcher Infektionen hat in den letzten 30 Jahren zugenommen. Es gibt Annahmen, die besagen, dass 60% der behandelten Erkrankungen in den 1990er Jahren im Zusammenhang mit Infektionen standen, die durch Biofilme verursacht worden waren (Verran und Whitehead, 2005).

Infektionen und Inkrustationen sind die Hauptkomplikationen, die mit dem Einsatz urologischer Implantate verbunden sind (Keane et al., 1994; Kohler-Ockmore und Feneley, 1996). Die Behandlung dieser Komplikationen verursacht in Westeuropa und Nordamerika jeweils Kosten in Höhe von ungefähr einer Milliarde Euro pro Jahr (Choong et al., 2001). Reid et al. (1992) beschreiben, dass 90% der länger liegenden Silikon-Harnleiterschienen mit verschiedenen Bakterien infiziert sind. Ein entscheidendes Problem ist, dass trotz vieler Fortschritte in Design und Material von urologischen Implantaten bis heute kein Biomaterial gefunden wurde, welches die Bildung von Biofilmen vermeiden kann (Choong und Whitfield, 2000 a und b; Flemming und Wingender, 2001; Habash und Reid, 1999; Sofer und Denstedt, 2000).

2.2.2 Risikofaktoren für die Biofilmbildung

Die Voraussetzungen für die Entstehung eines Biofilms sind einfach erfüllt: Es müssen Grenzflächen (z. B. Wasser/Feststoff, Wasser/Luft, Feststoff/Atmosphäre), ausreichend Feuchtigkeit, verwertbare Nährstoffe und Mikroorganismen vorhanden sein (Flemming und Wingender, 2001). Abgesehen davon entscheiden mehrere Faktoren über die Bildung eines Biofilms: die Hydrophobizität (und damit die Benetzbarkeit und die Rauheit) der Oberfläche, die Beschichtung, die Kontaktzeit zum Urin, metabolische Störungen sowie die Zusammensetzung des umgebenden Milieus (Flemming und Wingender, 2001; Sofer und Denstedt, 2000). Choong und Whitfield (2000) betonen, dass das Phänomen der Inkrustation ein ganz individuelles Problem sei. Selbst wenn

man Patienten die gleichen Materialien einsetze, inkrustierten manche Implantate und manche nicht. Dies zeige, dass die individuelle Zusammensetzung des Urins einen ganz entscheidenden Faktor bei der Biofilmbildung darstelle.

Metabolische Störungen des Patienten können die individuelle Zusammensetzung des Urins beeinflussen. Besondere Beachtung erhalten dabei die Hypercalciurie, Hyperuricosurie und Hyperoxalurie (Sofer und Denstedt, 2000), die die Inkrustation von urologischen Implantaten sogar in steriler Umgebung beschleunigen können.

Auch physiologische Zustände, wie z. B. eine Schwangerschaft, können Einfluss auf die Urinzusammensetzung und damit die Inkrustation von Harnleiterschienen nehmen (Schwangerschafts-Hyperuricosurie oder -Hypercalziurie; siehe Denstedt und Razvi, 1992). Ein ansteigender pH-Wert und eine hohe Konzentration von Calcium im Urin lässt die Inzidenz von Inkrustationen ebenfalls ansteigen (Choong et al., 1999).

Als weitere Risikofaktoren sind zu nennen: geringe Compliance des Patienten, lange Liegedauer des Implantats, Pyelonephritis, chronisches Nierenversagen, rezidivierende oder verbliebene Steine, angeborene Anomalitäten, maligne Harnwegsverlegung oder Chemotherapie mit Hyperuricosurie (Singh et al., 2001).

2.2.3 Einfluss von Harnproteinen auf die Biofilmbildung

Harnproteine sind entscheidend in der Initialphase des Biofilmbildungsprozesses (Choong und Whitfield, 2000 a und b). Die Anlagerung von Proteinen an das Biomaterial ist ein Zusammenspiel der Eigenschaften des Proteins, der Materialoberfläche, der Bindungskräfte sowie der Temperatur bzw. Zusammensetzung der umgebenden Lösung (Choong und Whitfield, 2000 a und b). Die Proteinbindung an die Oberfläche stellt den ersten Schritt der Biofilmbildung dar. Die Oberflächenenergie des Feststoffes entspricht der chemischen Zusammensetzung und beeinflusst die Anlagerung von Proteinen (ebd.). In weiteren Schritten sorgen die angelagerten Proteine für eine Bindung von Ionen, Kristallen und Bakterien (Choong und Whitfield, 2000 a und b; Santin et al., 1999). In ihrem Paper bemängeln Choong und Whitfield (2000 a und b), dass in früheren *in-vitro*-Inkrustationsmodellen synthetischer Urin verwendet wurde, dem es an Harnproteinen mangelt. Diese spielen aber eine entscheidende Rolle im Inkrustationsprozess, weswegen sie in den Versuchen, die dieser Schrift zugrunde liegen, berücksichtigt und untersucht wurden.

2.2.4 Charakteristische Eigenschaften von Biofilmen

Es existiert kein generell gültiges Modell für den Aufbau von Biofilmen, denn dazu ist dieser zu unterschiedlich (Flemming und Wingender, 2001). Die Art des Biofilms ist abhängig von der Zusammensetzung der umgebenden Flüssigkeit und den Eigenschaften des Untergrundes (Verran und Whitehead, 2005; siehe auch **Kapitel 2.2.3**).

Gemeinsames Phänomen der Biofilmbildung jeglicher Art ist, dass die Mikroorganismen dabei in einer Matrix aus extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) liegen. Diese verbindet einerseits die einzelnen Substanzen untereinander und bindet diese andererseits an die Oberfläche eines Materials, was wiederum zu einer Immobilisation der Substanzen selber führt (Flemming und Wingender, 2001).

Für die Mikroorganismen stellt das Leben innerhalb der Matrix einen großen Vorteil dar: Sie sind geschützt vor Austrocknung, pH-Schwankungen, mechanischer Belastung und toxischen Einflüssen durch Biozide und Antibiotika (ebd.). Die hohe Zelldichte ermöglicht den Informationsaustausch zwischen den einzelnen Mikroorganismen durch Gentransfer, aufgrund dessen Anpassungen an extreme Bedingungen schnell weitergegeben werden können (ebd.). Der Oberbegriff dafür ist *Quorum sensing* und bedeutet, dass die Mikroorganismen auf Veränderungen der Umgebung mit Veränderungen ihrer physiologischen Eigenschaften reagieren können. Dabei handelt es sich um ein koordiniertes Gruppenverhalten, das Ähnlichkeiten zu vielzelligen Organismen aufweist und quasi eine Kontrolle der Genexpression darstellt.

2.2.5 Die Biofilmbildung in Einzelschritten

Biofilme stellen sehr heterogene Systeme dar. Flemming und Wingender (2001) beschrieben drei Strukturen, die generell an ihrer Entstehung beteiligt sind:

1) Das Medium (flüssige Phase):

In diesem spielen Temperatur, pH-Wert, gelöste und anorganische Stoffe, Oberflächenspannung, Viskosität und hydrodynamische Parameter (Scherkräfte, Turbulenz und Druck) eine entscheidende Rolle.

- 2) Der Feststoff (z. B. Biomaterialien wie Harnleiterschienen):
Dieser nimmt Einfluss aufgrund seiner chemischen Zusammensetzung, Hydrophobizität, Oberflächenspannung, Oberflächenladung, „biologischen Affinität“, d. h. Besiedelbarkeit, Rauigkeit und Porosität.
- 3) Die Mikroorganismen:
Diese entwickeln sich in Abhängigkeit von Spezies, Zellzahl, Ernährungszustand, Hydrophobizität und Ladung der Zelloberfläche, EPS und Wachstumsphase.

Da dies eine Vielzahl möglicher Einflussfaktoren darstellt, ist es verständlich, dass man keinen einheitlichen Adhäsionsmechanismus für alle Mikroorganismen an allen Oberflächen erwarten kann. Grundsätzlich kommt es zuerst zu einer Anlagerung der Bakterien an eine Oberfläche und dann zu einer Zell-zu-Zell-Interaktion mit einer Vermehrung der Bakterien (Costerton et al., 2005).

Acht Schritte der Inkrustationsbildung (aus Choong und Whitfield, 2000 a und b; Morris und Stickler, 1998). Die entscheidenden Hauptschritte sind in dieser Auflistung **fett** markiert. Die Einzelschritte der Biofilmbildung werden in den **Abb. 5** bis **Abb. 7** weiter verdeutlicht.

- 1) Proteinablagerung auf dem Biomaterial
- 2) **Bildung eines organischen Films auf der Oberfläche (sog. *conditioning film*)**
- 3) **Anlagerung von (Urease-produzierenden) Bakterien auf dem Biofilm (siehe Abb. 9)**
- 4) **Entwicklung einer Matrix aus bakteriellen extrazellulären polymeren Substanzen (EPS)**
- 5) Steigerung des pH-Wertes von Urin und Biofilmmatrix durch die Aktivität der Urease durch den Abbau von Harnstoff zu Ammonium (siehe **Abb. 8**)
- 6) Einlagerung von Calcium- und Magnesiumionen in das Kolloid der Matrix
- 7) Stabilisierung der Calcium- und Magnesium-Ammonium-Phosphat-Kristalle durch die Biofilmmatrix
- 8) **Bildung von Kristallen im alkalischen Urin und Anlagerung weiterer Bakterien an die Oberflächen des Biofilms.** Dadurch werden die Aggregation der Organismen und das Wachstum des Biofilms gefördert.

Bildung des Conditioning films auf Oberflächen beginnend durch Anlagerung von Makromolekülen/Ionen

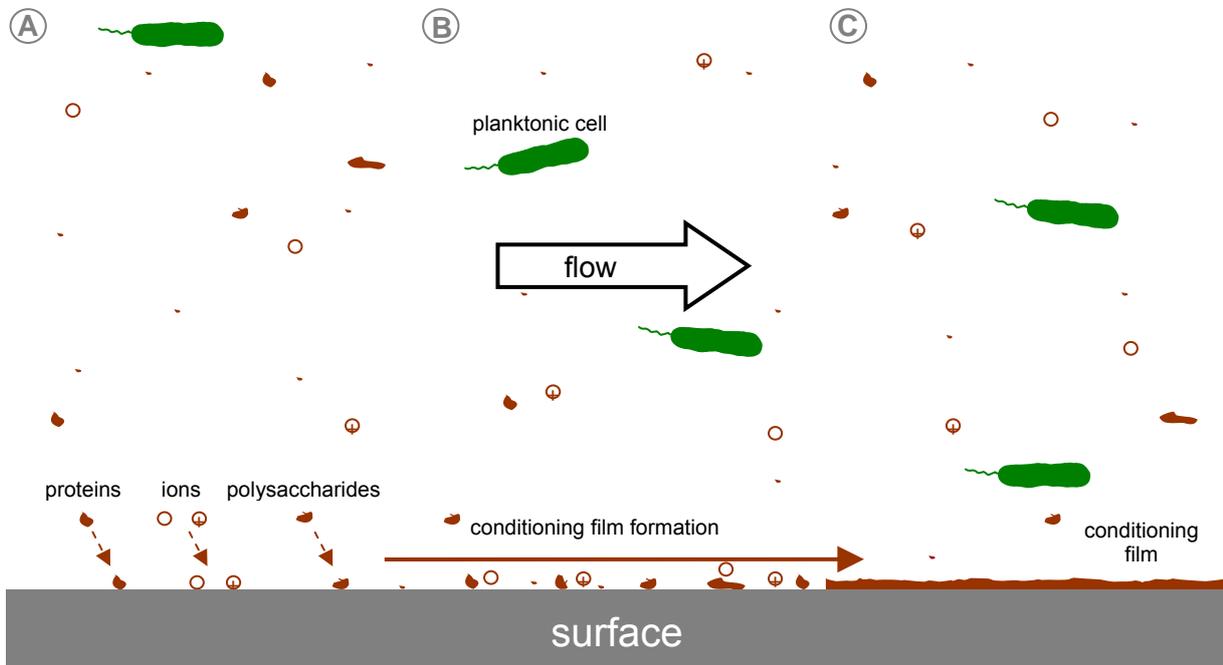


Abb. 5 Diese Abbildung zeigt den ersten Abschnitt der Biofilmbildung. **A)** Auf der Oberfläche lagern sich u. a. Ionen und Proteine an. **B)** und **C)** Aus diesen entsteht der sogenannte *conditioning film*, der die Grundlage für die Anlagerung weiterer Substanzen bildet.

Die Entstehung von Biofilmen basiert generell auf der Adhäsion von Mikroorganismen an einen Feststoff, die Bildung von Mikrokolonien und deren Zusammenwachsen zu einem Biofilm (Flemming und Wingender, 2001). Die Entstehung eines Biofilms ist komplex und beginnt mit der Anlagerung von Proteinen an die Stentoberfläche, gefolgt von der Bildung eines *conditioning films* (siehe **Abb. 5**) und eines endgültigen Biofilms (Sofer und Denstedt, 2000) (siehe **Abb. 7**).

Entscheidend dabei ist aber, dass die Mikroorganismen nicht direkt mit dem Feststoff in Kontakt treten. Die Verbindung besteht über einen *conditioning film* (siehe **Abb. 5** und **Abb. 6**), der sich innerhalb von Sekunden nach der Implantation an der Oberfläche des Biomaterials zeigt (Reid, 1999). Der *conditioning film* besteht aus organischen Makromolekülen wie z. B. Proteinen und Polysacchariden (Habash und Reid, 1999; Reid, 1999, Tieszer et al., 1998). Anfangs ist der Kontakt noch reversibel zwischen

Makromolekül und Oberfläche; er wird aber schon nach wenigen Minuten irreversibel (Flemming und Wingender, 2001).

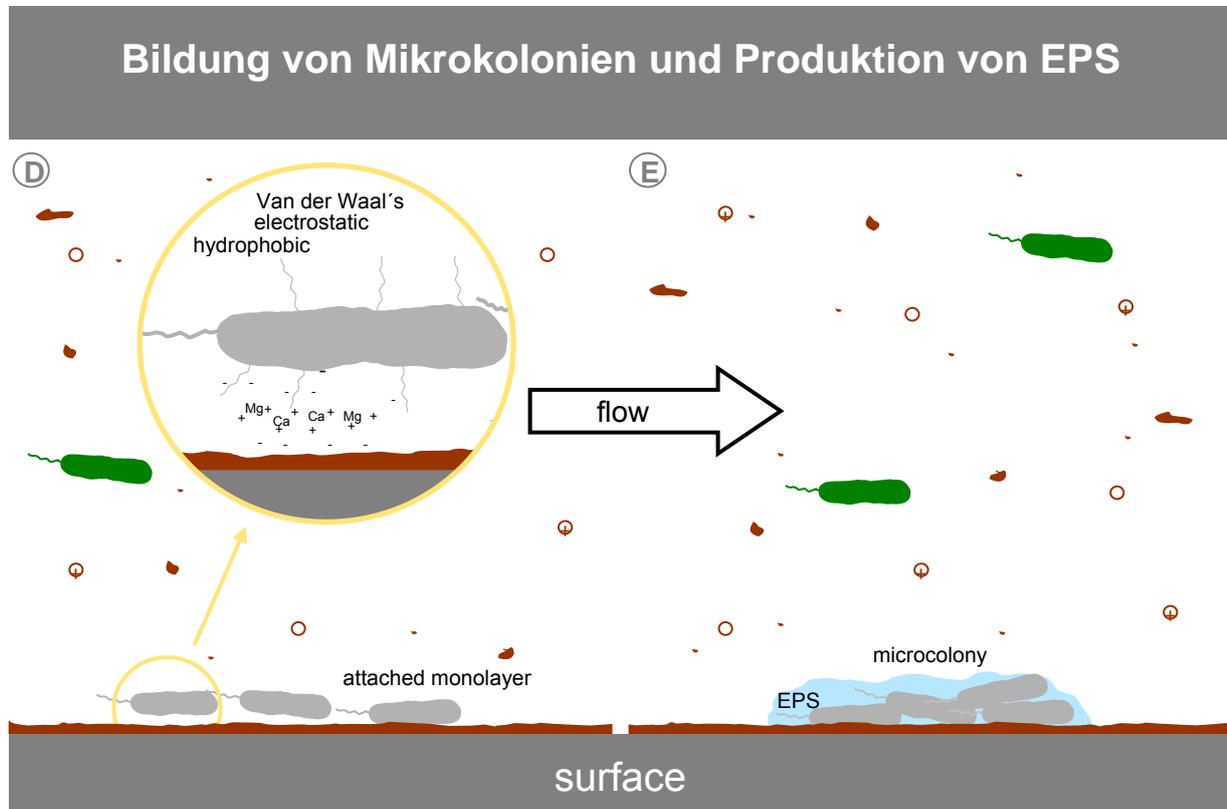


Abb. 6 Diese Darstellung zeigt die weiteren Schritte der Biofilmbildung. **D)** An den *conditioning film* lagern sich Bakterien an. Der vergrößerte Ausschnitt stellt die Bindungen, die für diese Anlagerung nötig sind, genauer dar. Es handelt sich einerseits um Bindungen durch die Kationen Ca^{2+} und Mg^{2+} und andererseits um Van-der-Waals-Kräfte. **E)** Die Bakterien lagern sich zu Mikrokolonien zusammen und die Bildung von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) wird gefördert.

Die Bildung des *conditioning films* ermöglicht die Anlagerung von Mikroorganismen, welche den nächsten Schritt der Biofilmbildung darstellt (Habash und Reid, 1999) (siehe **Abb. 6**). Diese Adhäsion ist ein komplexer Prozess, welcher von den unterschiedlichen Eigenschaften der Zelloberfläche und des umgebenden Milieus bestimmt wird (Habash und Reid, 1999). Die Bindung erfolgt u. a. über Van-der-Waals-Kräfte oder über Brücken durch Kationen, wie Mg^{2+} oder Ca^{2+} , die durch eine negative Ladung des *conditioning films* und der Oberfläche gehalten werden (Habash und Reid, 1999; siehe auch **Abb. 6**).

Bakterielle Strukturen, wie Flagellen, Pili und andere Zelloberflächenproteine, wirken in der anfänglichen Phase der Biofilmbildung unterstützend; sie sind aber keine unbedingte Voraussetzung dafür (Flemming und Wingender, 2001).

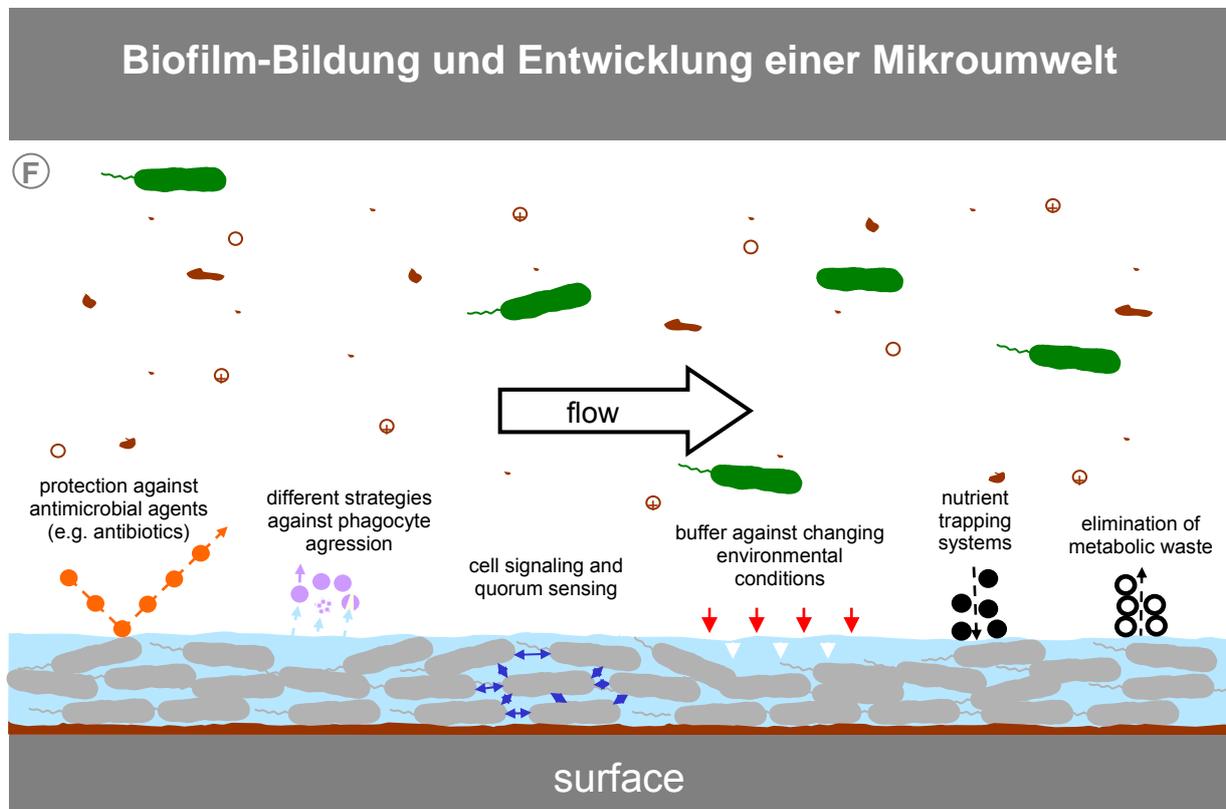


Abb. 7 Diese Abbildung zeigt nun die endgültige Bildung des Biofilms und seine charakteristischen Eigenschaften. Der Biofilm besitzt u. a. eine stärkere Resistenz gegenüber antimikrobiellen Substanzen und Veränderungen des umgebenden Milieus. Zusätzlich ist die Kommunikation der Mikroorganismen durch Signalmoleküle und *quorum sensing* erleichtert (siehe **Kapitel 3.2.4**).

Nach der Adhäsion erfolgen als nächste Schritte die Vermehrung der Bakterien und die zusätzliche Anlage weiterer Substanzen aus der flüssigen Umgebung an die Oberfläche des Feststoffes bzw. an den *conditioning film*. Dadurch entstehen Mikrokolonien und es kommt zur gesteigerten Bildung von EPS (Flemming und Wingender, 2001, Habash und Reid, 1999) (siehe **Abb. 6**). Wichtig für diesen Ablauf ist die Veränderung der Genaktivität nach der Anlagerung, wodurch sich eine andere Zellstruktur und andere Stoffwechselaktivitäten ergeben (sogenanntes *quorum sensing*).

Die EPS stellen einen entscheidenden Faktor im Aufbau des Biofilms dar. Sie sorgen für die Zusammensetzung, Struktur, Funktion, Stabilität und den Schutz des Biofilms, indem

sie u. a. die Bakterien fest in die Mikrokolonien einbinden (Flemming und Wingender, 2001; Habash und Reid, 1999). Durch die EPS erhält der Biofilm seine Form und physikalischen Eigenschaften und sorgt für die Anheftung des Biofilms an die Feststoffoberfläche (Choong und Whitfield, 2000 a und b).

Im Weiteren weist die Oberfläche des Biofilms eine gewisse Klebrigkeit auf. Diese ist die Ursache für die zusätzliche Anlagerung von di- und trivalenten Kationen (z. B. Ca^{2+} , Fe^{3+}) aus der wässrigen Umgebung (Flemming und Wingender, 2001).

Ein entscheidender Mechanismus der Biofilmbildung ist die Infektion mit Urease-produzierenden Bakterien (v. a. *Proteus mirabilis*) (Choong und Whitfield, 2000 a und b) (siehe **Abb. 8**). Aufgrund der durch Urease ausgelösten Hydrolyse des Harnstoffs entsteht Ammonium und der Urin-pH-Wert steigt an (Stickler et al., 2002). Durch die alkalische Umgebung fallen vermehrt Magnesiumammoniumphosphat (Struvit, $\text{MgNH}_4\text{PO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) und Calcium-Hydroxylapatit (Carbonat-Hydroxylapatit, $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_5\text{CO}_3(\text{OH})_2$) aus (Stickler, 2002).

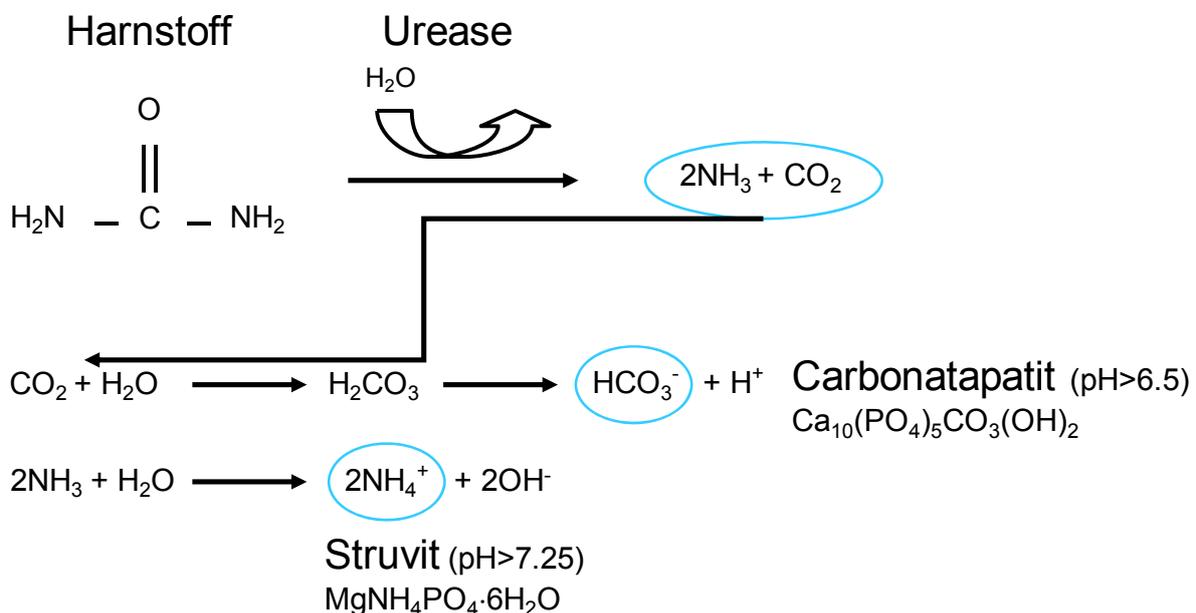


Abb. 8 Schema der Ureasereaktion und des Kristallisationsmechanismus in Anwesenheit von Urease-produzierenden Mikroorganismen: Harnstoff wird durch das Enzym Urease in Ammoniak und CO_2 zersetzt. In weiteren Reaktionen entsteht Carbonat(hydroxyl)apatit und Struvit (Choong und Whitfield, 2000; Jones et al., 2005). Es ist allgemein bekannt, dass es durch den Anstieg des Urin-pHs zu einer vermehrten Präzipitation von Calcium- und Magnesiumphosphat kommt, als dies bei einem niedrigeren pH-Wert auftreten würde (Suller et al., 2005).

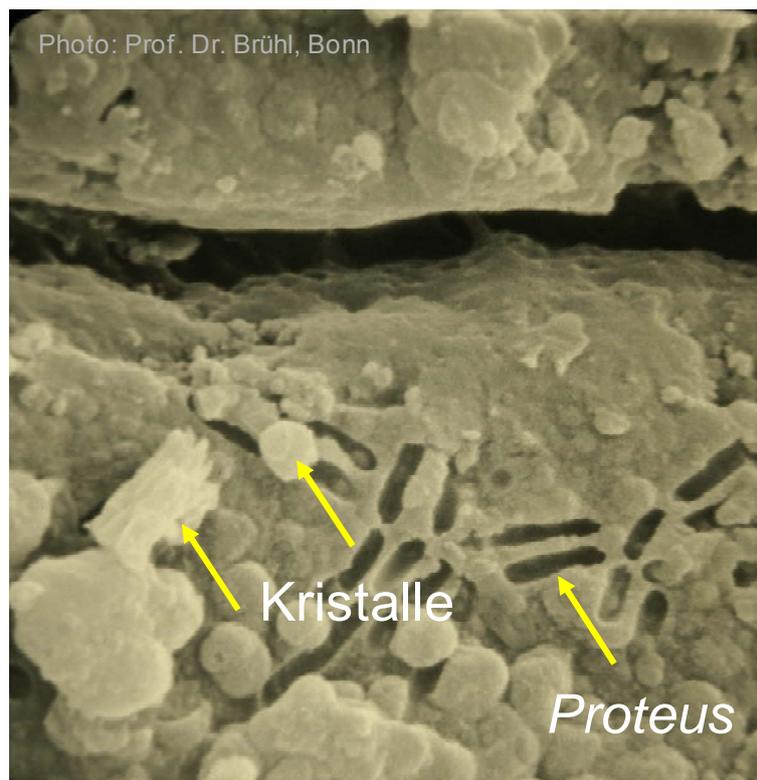


Abb. 9 Elektronenmikroskopische Untersuchung eines kristallinen Bakterienbiofilms: Diese Aufnahme bestätigt, dass Kristalle und Urease-produzierende Bakterien (hier *Proteus mirabilis*) an der Bildung des Biofilmes beteiligt sind (Kleinen und Laube, 2007).

2.2.6 Einfluss auf die Gesundheit

Biofilme sind im menschlichen Körper natürlich auftretende und für ihn nützliche Phänomene, z. B. im Darm, auf Schleimhäuten und auf der Haut. Störungen dieser Systeme können deshalb zu massiven gesundheitlichen Problemen führen (Flemming und Wingender, 2001; Habash und Reid, 1999).

Gerätetechnisch bedingte Harnwegsinfektionen und Inkrustationen sind häufige Komplikationen, verursachen erhebliche Morbidität und stellen den begrenzenden Faktor beim langfristigen Gebrauch von Biomaterialien im Harntrakt dar. Ein weiteres Problem, das durch Biofilme auf urologischen Implantaten auftritt, ist die mechanische Verletzung des Urothels, welche zu einer höheren Morbidität des Patienten führt (Sofer und Denstedt 2000; Stickler et al., 2002). Schwere Inkrustationen urologischer Implantate können ernste Krankheitszustände (z. B. Pyelonephritiden) und lebensbedrohliche Urosepsen verursachen, wenn sie nicht verfolgt und adäquat behandelt werden (Habash und Reid, 1999; Singh et al., 2001). Häufig bleibt als einzige

Lösung der Komplikationen nur das Entfernen der Implantate. Dies ist für den Patienten unangenehm und für das Gesundheitssystem kostspielig (Verran und Whitehead, 2005).

2.2.7 Resistenz gegen Antibiotika durch Biofilmbildung

Antibiotika werden häufig verwendet, um die Biofilmbildung an medizinischen Implantaten zu verhindern bzw. zu behandeln (Habash und Reid, 1999). Hier besteht allerdings das Problem, dass Biofilme anders reagieren als ungebundene Teilchen und sich auch phänotypisch von frei schwebenden Organismen unterscheiden (Choong und Whitfield, 2000 b; Stickler, 1999). Biofilme sind resistenter gegen Antibiotika, Desinfektionsmittel oder die Immunabwehr des Wirtes selber als die in der Flüssigkeit frei schwebenden Teilchen (siehe **Abb. 7**). Die Resistenz beruht u. a. auf einem verlangsamten Wachstum der Bakterien innerhalb des Biofilms (Choong und Whitfield, 2000; Sofer und Denstedt, 2000). Dieses stellt ein großes Problem bei der Therapie von Biofilmen dar (Verran und Whitehead, 2005), da Antibiotika meist zu ihrer Wirkungsentfaltung auf ein schnelles Wachstum angewiesen sind. Eine weitere Ursache für die Resistenz von Biofilmen ist der Schutz der Bakterien durch die sie umgebenden EPS, da sie das Eindringen der Antibiotika in den Biofilm erschweren (Habash und Reid, 1999).

Noch nicht vollständig geklärt ist, warum die Bakterien kurz nach der Anheftung an die Oberfläche eine Veränderung der Genaktivität durchführen. Dieser Mechanismus führt u. a. zu einer Veränderung der Stoffwechselaktivität oder der Signalmoleküle, die wiederum der Kommunikation der Bakterien innerhalb des Biofilms dienen (Flemming und Wingender, 2001; siehe **Abb. 7**, *Quorum sensing*). Ebenfalls werden die Gene der Zellhülle und des molekularen Zielbereichs verändert, so dass antimikrobielle Wirkstoffe an diesen Punkten nicht mehr angreifen können (Choong und Whitfield, 2000 b).

2.2.8 Prävention und Management von Inkrustationen

Eine Vielzahl von Methoden wird derzeit angewendet, um Inkrustationen zu behandeln. Dazu gehören u. a. die Wahl einer anderen Katheterart oder -größe, vermehrte Flüssigkeitsaufnahme, diätetische Veränderungen des Urins durch z. B. Cranberry-Saft oder Ansäuerung durch Vitamin C, Blasenspülungen oder eine antibiotische Therapie (Choong et al., 2001). Eine andere prophylaktische Maßnahme stellt das frühzeitige

Entfernen der Implantate dar (Sofer und Denstedt, 2000). Dies bedeutet, bei längeren Liegezeiten den Katheter periodisch alle acht bis zwölf Wochen zu wechseln (Singh et al., 2001).

Eine weitere Strategie zur Prävention von Biofilmbildung besteht darin, neue Materialien zu entwickeln, die die anfängliche Anheftung von Bakterien verhindern (Sofer und Denstedt, 2000; Verran und Whitehead, 2005). Costerton et al. (2005) bezeichnen die Materialentwicklung als die zurzeit vielversprechendste Methode von allen.

Schon Verran und Whitehead (2005) geben zu bedenken, dass die Veränderung von Oberflächeneigenschaften (v. a. das Erreichen von Hydrophobizität) ein entscheidender Faktor bei der Reduzierung der Bakterianheftung ist. Neue Biomaterialien müssen daher vor allem die Inkrustationsneigung verringern, indem ihre Beschichtung die Oberflächenbeschaffenheit derart verändert, dass Protein- und Bakterienablagerungen nicht mehr möglich sind. Beschichtungen sollen neben der Neigung zu Inkrustationen gleichzeitig auch Oberflächen-Rauheit verhindern und damit das Einsetzen erleichtern bzw. das Wohlfühl der Patienten verbessern.

Bisherige Materialveränderungen beziehen sich u. a. auf das Einbringen antibakterieller Wirkstoffe in die Polymere der Oberfläche, die Veränderung physikalischer Eigenschaften der Oberfläche zur Abweisung von Bakterien, die Entwicklung extrem weicher Oberflächen oder die Anwendung von Ultraschall oder von *tissue engineering*. Bisher war aber keiner dieser Versuche erfolgreich (Reid, 1999; Sofer und Denstedt, 2000; Stickler, 1999; Verran und Whitehead, 2005).

Die in dieser Promotionsschrift untersuchte Methode zur Verringerung der Inkrustation und Biofilmbildung ist die Beschichtung der Harnleiterschienen mit amorphen Kohlenstoffen (a-C:H). Nähere Beschreibungen dazu finden sich in **Kapitel 4.1.4**.

2.3 Grundlagen der Proteinurie

2.3.1 Allgemeines

Unter einer Proteinurie versteht man das Vorhandensein von mehr als 150 mg Eiweiß in einem Liter Harn (Barratt und Topham, 2007). Geringere Konzentrationen gelten als normal. Ein Mann scheidet etwa 176 bis 221 $\mu\text{mol/kg/d}$, eine Frau ungefähr zwischen 132 und bis 176 $\mu\text{mol/kg/d}$ aus (Bourquin und Giovannini, 2007). Diese Eiweiße

bestehen aus Albumin, in der Niere gebildetem IgA, Tamm-Horsfall-Protein oder Antikörperleichtketten.

Das Filtersystem der Niere setzt sich zusammen aus Millionen Glomerula. Hier sind besonders die Eigenschaften ihrer Basalmembranen entscheidend für die Harnbildung. Denn die Basalmembran eines jeden Glomerulums wirkt gleichzeitig als mechanisches Sieb und als Anionenfilter. Die glomerulären Kapillare sind besonders durchlässig für Wasser. Diese Permeabilität ist bedingt durch die spezielle dreilagige Struktur der glomerulären Filtrationsbarriere: das Endothelium mit Glykokalix, die Basalmembran und die Podozyten (glomeruläre Epithelzellen) (Deen et al., 2001). Unter physiologischen Bedingungen werden 95% der Plasmaproteine (low-molecular-weight-Proteine und Albumin), die die Glomerula passieren und filtriert werden können, in den proximalen Tubuli resorbiert (Barratt und Topham, 2007).

Generell unterscheidet man eine pathologische von einer nicht-pathologischen Proteinurie. Die Unterteilung der pathologischen Proteinurie erfolgt nach verschiedenen Gesichtspunkten. Man unterscheidet die **prärenale**, die **renale** und die **postrenale** Proteinurie, auf die im Folgenden näher eingegangen wird. Die genaue Einteilung der Albuminurie als Unterform der Proteinurie wird im nächsten Kapitel verdeutlicht.

Das vermehrte Vorkommen von Proteinen im Urin kann ein Frühzeichen einer Nierenerkrankung sein und auf ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung einer Niereninsuffizienz, einer arteriellen Hypertonie oder einer kardiovaskulären Erkrankung hinweisen (Bourquin und Giovannini, 2007). Aus diesem Grund sollte jede auftretende Proteinurie quantifiziert und differenziert werden (Liedl, 2007). Die Analyse der verschiedenen Proteine (sogenannte Markerproteine) kann Hinweise auf die zugrunde liegende Ursache geben und für die Erstellung therapeutischer Leitlinien hilfreich sein bzw. prognostische Informationen liefern (Barratt und Topham, 2007).

Bei der Bewertung der Ergebnisse ist zu berücksichtigen, dass die physiologische Proteinausscheidung von vielen Faktoren (Alter, Blutdruck, körperliche Aktivität, Ernährung, Alkoholkonsum) abhängt und somit eine große intra- und interindividuelle Variabilität aufweist – zusätzlich zu den methodenbedingten Abweichungen (Liedl, 2007).

2.3.2 Ätiologie

Für die Klärung der Ursachen einer Proteinurie muss man zwischen den verschiedenen Arten der Proteinurie unterscheiden.

2.3.2.1 Prärenale Proteinurie

Zu einer prärenalen Proteinurie kommt es, wenn ein Überangebot an frei filtrierbaren niedermolekularen Proteinen besteht: z. B. Hämoglobinmonomere bei intravasaler Hämolyse, Myoglobin bei Rhabdomyolyse oder Bence-Jones-Proteine bei monoklonaler Gammopathie. Die Reabsorptionskapazität des Tubulusapparates wird dadurch überlastet und es entsteht eine „Overflow-Proteinurie“ (Liedl, 2007). Eine prärenale Proteinurie kann verschiedene Ursachen haben (Bourquin und Giovannini, 2007):

- Hämolyse: Hämoglobinurie
- Muskelschaden, Myokardinfarkt: Myoglobinurie
- Entzündliche Prozesse: „Fieberprotein“
- Kardiale Insuffizienz: Wegen einer durch die Insuffizienz bedingten renalen Ischämie wird die Permeabilität der Glomerula erhöht.
- Orthostatische Proteinurie
- Nierenvenenthrombose: Diese führt zu einer Erhöhung des Filtrationsdrucks.
- Myeloische Leukämie: Bei der seltenen Monocytenleukämie wird vermehrt Lysozym ausgeschieden.

2.3.2.2 Renale Proteinurie

Die renale Proteinurie muss ebenfalls unterteilt werden. Man unterscheidet zwischen glomerulärer und tubulärer Proteinurie.

2.3.2.2.1 Glomeruläre Proteinurie

Die glomeruläre Proteinurie stellt die häufigste Form der pathologischen Proteinurie dar (Bourquin und Giovannini, 2007). Die glomeruläre Filtrationsbarriere ist im physiologischen Zustand einerseits für Wasser und niedermolekulare Substanzen hochpermeabel und verhindert andererseits selektiv den Durchtritt hochmolekularer Substanzen sowie von Blutpartikeln (Tryggvason et al., 2006). Die glomeruläre

Proteinurie ist auf eine Funktionsstörung dieser Filterbarriere und somit auf eine erhöhte Durchlässigkeit der Glomerula-Basalmembran zurückzuführen (Barratt und Topham, 2007). Bei dieser Form der Proteinurie kommt es meist zu erheblichen Proteinverlusten von über 2 g/d (Bourquin und Giovannini, 2007).

Bezogen auf die Molekülgröße kann eine weitere Unterteilung dieser Proteinurieform vorgenommen werden.

a) selektiv-glomeruläre Proteinurie

Hier ist die Größenselektion der Basalmembran noch intakt und lediglich mittelgroße Proteine wie Albumin gelangen in den Urin. Diese Form der Proteinurie findet sich vor allem in den Frühstadien der diabetischen und hypertensiven Nephropathie.

b) unselektiv-glomeruläre Proteinurie

Bei dieser Unterform der glomerulären Proteinurie gelangen zusätzlich hochmolekulare Proteine in den Urin, denn mit zunehmender Schädigung der Basalmembran nimmt auch die Größenselektion ab. Dadurch können Proteine mit einem Molekulargewicht von mehr als 100'000 Dalton (wie z. B. Immunglobuline) im Urin auftreten. Diese Schädigung ist meist irreversibel (Liedl, 2007).

2.3.2.2 Tubuläre Proteinurie

Bei der tubulären Proteinurie führt eine verminderte Rückresorption der kleinemolekularen Proteine (z. B. α_1 -, α_2 - und β_2 - Mikroglobulin) zu deren vermehrter Ausscheidung (Barratt und Topham, 2007). Die Ultrafiltration und Größenselektion der Proteine an der Basalmembran bleiben dabei unverändert (Liedl, 2007). Diese Form der Proteinurie stellt ein Leitsymptom interstitieller Nierenerkrankungen dar [z. B. Fanconi-Syndrom, monoklonale Gammopathien (multiples Myelom), Vergiftung mit Schwermetallen]. Der Proteinverlust liegt hier meist bei unter 1 g/d (Bourquin und Giovannini, 2007) und die Albuminausscheidung ist nicht oder nur geringgradig erhöht.

2.3.2.3 Postrenale Proteinurie

Liegt eine postrenale Proteinurie vor, gelangen die Proteine erst in den ableitenden Harnwegen in den Urin. Diese Form der Proteinurie tritt im Zusammenhang mit Entzündungen, Tumoren des Urogenitaltraktes, Steinleiden, Verletzungen oder

Blutungen auf (Liedl, 2007). Anhand großmolekularer Serumproteine wie z. B. α_2 -Makroglobulin und Apolipoprotein A1 lässt sich eine postrenale Proteinurie bestimmen.

2.4 Albumin

2.4.1 Eigenschaften des Albumins

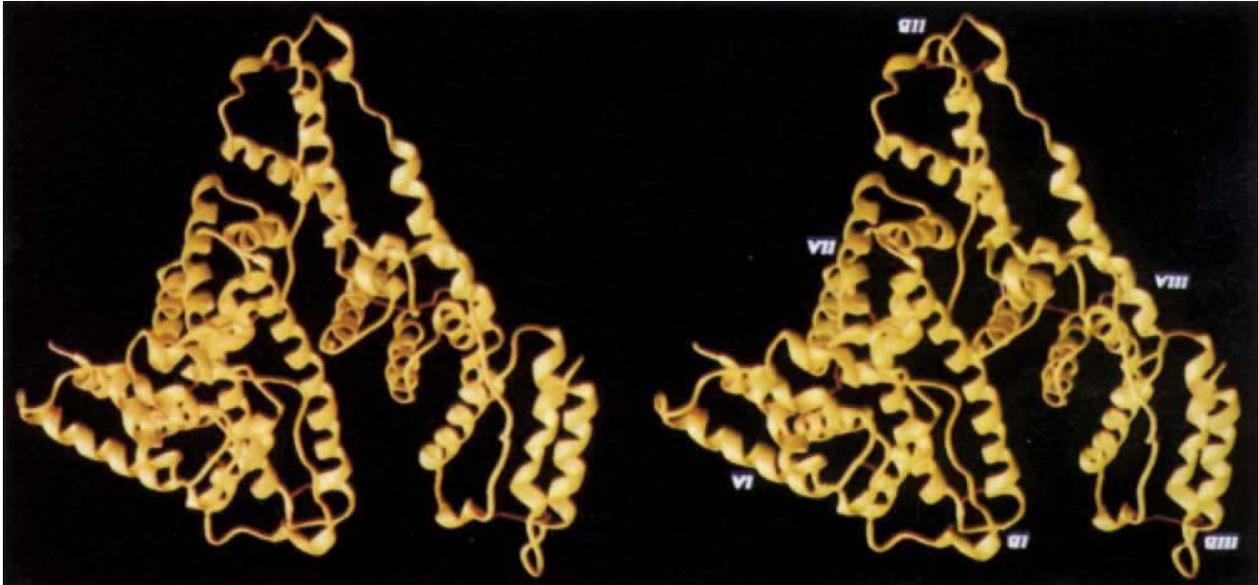


Abb. 10 Molekulares Modell von humanem Serumalbumin (HSA) (He und Carter, 1992).

Albumin ist eines der am meisten untersuchten Proteine der letzten 40 Jahre. Es stellt das im Plasma am häufigsten vorkommende Protein dar (Ding et al., 2004); es wird aber auch in interstitiellen Gewebsflüssigkeiten und im Urin gefunden (Gao et al., 2008). Dieses Protein hat eine molare Masse von 66.5 kDa, ist von elliptischer Form und macht 60% der Gesamtproteinmenge im Blut aus (Shaklai et al., 1984). Es gehört zur Gruppe der globulären Proteine und besteht aus einer einzigen Polypeptidkette mit 585 Aminosäuren, welche drei homologe α -helikale Bereiche einbindet, die wiederum durch 17 Disulfidbindungen stabilisiert werden. Albumin besitzt zwei Hauptbindungsregionen für Liganden (Ding et al., 2004). Das Besondere an Albumin ist, dass es ein Ampholyt ist und im Gegensatz zu anderen Kolloiden oder Kristalloiden sowohl Anionen als auch Kationen reversibel binden kann. Aufgrund dieser Eigenschaft besitzt Albumin sowohl einen hydrophilen als auch einen hydrophoben Anteil und ist somit zum Teil wasserlöslich.

2.4.2 Vorkommen des Albumins im menschlichen Organismus

Durchschnittlich besitzt ein Mensch (KG 70 kg) im gesunden Zustand 250 - 300 g Albumin. 40% davon befinden sich innerhalb der Blutgefäße im Blutplasma gelöst, 60% außerhalb der Gefäße im Gewebe (He und Carter, 1992). Neben Albumin enthält Blut noch weitere Proteine, die sogenannten Globuline. Albumin stellt zwar die kleinere Proteinsorte dieser beiden Plasmaproteine dar, ist aber mit 60% (35-50 g/l) mengenmäßig in der Überzahl (Rondeau et al., 2008), Globuline machen nur 40% der Plasmaproteine aus.

Die Synthese von Albumin erfolgt in der Leber mit einer durchschnittlichen Syntheserate von 0,2 g Albumin/kg Körpergewicht und Tag (Carter et al., 1994). Es besitzt eine Halbwertszeit von 19 Tagen (ebd.). Der Abbau erfolgt über die Niere, über den Gastrointestinaltrakt und in den Gewebezellen der Leber.

Körperflüssigkeit	Normalwert	Einheit
Serum	35-50	g/l
Urin	< 20 < 30	mg/g Kreatinin mg/24 h
Liquor	< 350	mg/l
Albumin-Quotient = Liquor/Serum	0,002 – 0,008	

Tab. 1 Referenzwerte von Albumin in den verschiedenen Körperflüssigkeiten (Eardley et al., 2004; Rondeau et al., 2008).

2.4.3 Funktionen des Albumins

Albumin hat im menschlichen Organismus verschiedene Aufgaben. Seine bedeutendste Aufgabe ist die Bindung und der Transport vieler endo- und exogener Stoffe wie etwa Bilirubin, Fettsäuren, Steroide, Spurenelemente, Vitamine, Hormone (z. B. Thyroxin), Kationen (Mg^{2+} , Ca^{2+}) und Medikamente (z. B. Penicillin). Ein einzelnes Albumin-Molekül kann bis zu 25 Bilirubin-Moleküle, 9 Stearinsäure-Moleküle oder 5 Salizylsäure-Moleküle reversibel an sich binden. Die vielen Bindungsstellen ermöglichen es dem Albumin, mit einer großen Anzahl verschiedener Liganden zu interagieren (Gao et al., 2008). Es regelt die Gewebsverteilung und Eliminierung der gebundenen Stoffe und beeinflusst damit deren therapeutische oder toxische Wirkung (Ding et al., 2004).

Eine weitere Aufgabe des Albumins ist die Aufrechterhaltung des kolloidosmotischen Drucks (Shaklai und Garlickunn, 1984). Durch seinen unter **Kapitel 2.4.1** beschriebenen strukturellen Aufbau ist Albumin in der Lage, Wasser an sich zu binden und verhindert somit das Austreten von Wasser aus den Blutgefäßen in das Interstitium. Der kolloidosmotische Druck wird zu 80% durch das Albumin erzielt (Carter et al., 1994), weswegen ein Albuminmangel zum Auftreten von Ödemen führt.

Eine Nebenrolle spielt Albumin bei der Aufrechterhaltung des Blut-pH-Werts (Carter und Ho, 1994) und somit für die Pufferkapazität des Blutes. Aufgrund der ampholytischen Eigenschaft des Albumins vermag es H^+ -Ionen sowohl aufzunehmen als auch abzugeben. Damit kann es stabilisierend auf den pH-Wert des Blutes wirken.

2.4.4 Störungen des Albumin-Haushalts

Störungen des Albuminhaushalts äußern sich vor allem im Auftreten vermehrter Mengen von Albumin im Urin oder an einem Albuminmangel im Serum. Albumin im Urin unterteilt man in eine Normo-, Mikro- und Makroalbuminurie (siehe **Tab. 2**).

Pathologie	Wert	Einheit
Normoalbuminurie	< 20	mg/l beim ersten Morgenurin
	< 30	mg/24 h
Mikroalbuminurie	20 – 200	mg/l beim ersten Morgenurin
	30 – 299	mg/24 h
Makroalbuminurie	> 200	mg/l beim ersten Morgenurin
	> 300	mg/24 h

Tab. 2 Definitionen von Normo-, Mikro- und Makroalbuminurie nach der National Kidney Foundation. Die Werte müssen in zwei von drei aufeinanderfolgenden Messungen von nichtketonischem sterilem Urin erfüllt sein (Barratt und Topham, 2007; Eardley et al., 2004; Jones und Viberti, 1993; Tsioufis et al., 2004; Yilmaz et al., 2010).

Mikroalbuminurie ist der früheste Indikator für eine chronische Nierenerkrankung bei Patienten mit Diabetes mellitus und Hypertension (Hitha et al., 2008; Mogensen, 2003). Sie ist aber auch assoziiert mit einer hohen Inzidenz für kardiovaskuläre Erkrankungen (Barratt und Topham, 2007; Mogensen, 2003). Patienten mit Mikroalbuminurie besitzen

ein hohes Risiko, Schäden eines Zielorgans zu erfahren. Diese äußern sich z. B. durch das Erleiden eines Apoplexs, einer Retinopathie oder pathologischer kardiovaskulärer Ereignisse (Hitha et al., 2008). Hitha et al. (2008) und Tsioufis et al. (2005) geben zu bedenken, dass Mikroalbuminurie möglicherweise mit einer erhöhten renalen endothelialen Durchlässigkeit einhergeht und als früher Marker für diese betrachtet werden kann.

Aufgrund der Tatsache, dass die Albuminsynthese in der Leber stattfindet, bedingen vor allem Leberschäden einen Albuminmangel (sogenannte Hypoalbuminämie). Dadurch sinkt der kolloidosmotische Druck und Ödeme und Aszites treten auf.

Gleiche Symptome treten bei der chronischen Mangelernährung auf. Hier kommt es durch die fehlende Zufuhr von Proteinen und Aminosäuren zu einer verminderten Synthese von Albumin.

2.4.5 Albuminbestimmung

Die Ausscheidung von Albumin im Urin ist eine sensitive Methode zur Erkennung glomerulärer Erkrankungen (Eardley et al., 2004). Die frühe Bestimmung einer Mikroalbuminurie ermöglicht die Intervention, noch bevor es zu einer Abnahme der glomerulären Filtrationsrate und somit zu massiveren Schädigungen kommt (Datta et al., 2009; Mogensen, 1999 und 2003). Bisher konnte kein Marker gefunden werden, der vergleichbar sensitive Ergebnisse liefert (Mogensen, 2003).

Durch die Filterfunktion der Niere (siehe **Kapitel 2.3.1**) wird eine Ausscheidung von Albumin im Normalfall verhindert, so dass Albumin in der Regel nur in geringen Mengen im Urin vorkommt. Wenn diese Filterfunktion jedoch geschädigt ist, steigen die Albuminkonzentrationen im Urin an. Somit lässt eine nachgewiesene Mikroalbuminurie Rückschlüsse auf eine vermehrte Passage des Albumins durch die glomeruläre Filtrationsbarriere zu (Satchell und Tooke, 2008).

Bei Ladungsveränderungen der Basalmembran werden negativ geladene Moleküle wie beispielsweise Albumin zunehmend filtriert (selektive Proteinurie) (siehe **Kapitel 2.3.2.2**). Bei weitergehender Schädigung der Basalmembran kann es zu einem Selektivitätsverlust kommen, so dass auch höhermolekulare Proteine wie Ig G im Urin ausgeschieden werden (unselektive Proteinurie) (siehe **Kapitel 2.3.2.2**).

Je nach Krankheit wird Albumin in unterschiedlichen Körperflüssigkeiten bestimmt. Im Serum wird es bei akuten und chronischen Entzündungen, Leber- und Nierenerkrankungen sowie bei verschiedenen Tumoren bestimmt. Im Urin dient der Albumingehalt der Erkennung des Frühstadiums einer Nierenschädigung bei Diabetes (diabetische Nephropathie) oder Hypertonie (hypertensive Nephropathie) (Mogensen, 2003). Aber auch Nierenentzündungen (Glomerulonephritis), Nierenbeckenentzündungen (Pyelonephritis), progressive Nephropathien (Eardley et al., 2004) und Zigarettenkonsum (Pedrinelli et al., 2002) lassen die Albuminwerte im Urin ansteigen.

2.4.6 Albumin und Harnleiterschienen

Diese Einführung zum Plasma- und Harnprotein Albumin verdeutlicht seine Wichtigkeit. Häufig benötigen Patienten mit Erkrankungen der Niere, und somit erhöhten Albuminwerten im Urin, zusätzlich eine Schienung des Harnleiters. In bisherigen Untersuchungen zur Inkrustationsneigung von verschiedenen beschichteten Harnleiterschienen wurde der Einfluss von Albumin nicht berücksichtigt. In den Untersuchungen, die dieser Promotionsschrift zugrunde liegen, wurde genau dieser Einfluss ermittelt.

3 Problemstellung und Ziel der Arbeit

Ein wichtiges Ziel bei der Behandlung von Patienten mit Harnleiterschienen ist die Erzielung einer möglichst langen Verweildauer im Patientenkörper.

Erkrankungen, die die Implantation von Harnleiterschienen erforderlich machen, gehen meist mit Nierenschäden einher, wobei häufig Albumin in erhöhten Mengen mit dem Urin ausgeschieden wird.

In der vorliegenden Arbeit soll daher folgende Fragestellung untersucht werden:

Welchen Einfluss hat Albumin auf die *in-vitro*-Inkrustationsneigung von verschieden beschichteten Harnleiterschienen?

4 Eigene Untersuchung

4.1 Material und Methoden

4.1.1 Allgemein

Die *in-vitro*-Kristallisationsversuche der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn werden unter definierten Bedingungen durchgeführt, um die unterschiedlichen Inkrustationsneigungen der Testoberflächen von Harnleiterschienen untersuchen zu können. **Abb. 11** gibt einen allgemeinen Überblick über die standardisierten Versuchsbedingungen.

Mit Urease versetzter synthetischer Urin dient als übersättigte Lösung, aus der sich inkrustationsbildende Phosphatsalze abscheiden. Ein evaluiertes Analyseverfahren ermöglicht die sowohl qualitative als auch quantitative Bestimmung des Mineralisats. Zusätze, in dieser besprochenen Versuchsreihe das Harnprotein Albumin, ermöglichen die systematische Erarbeitung kritischer Kontrollparameter und die Erforschung der Inkrustationsmechanismen.

Die Versuchsbedingungen im Probenraum des Encrustators sind hinreichend genau definiert und wiederholbar gestaltet. Für alle Testkatheter herrschen im Probenraum nahezu gleiche Prozessbedingungen; dies erlaubt einen gegenseitigen Vergleich der Testergebnisse.

Es wurde ein verbindliches Versuchsdurchführungsprotokoll angefertigt (siehe **Abb. 11**).

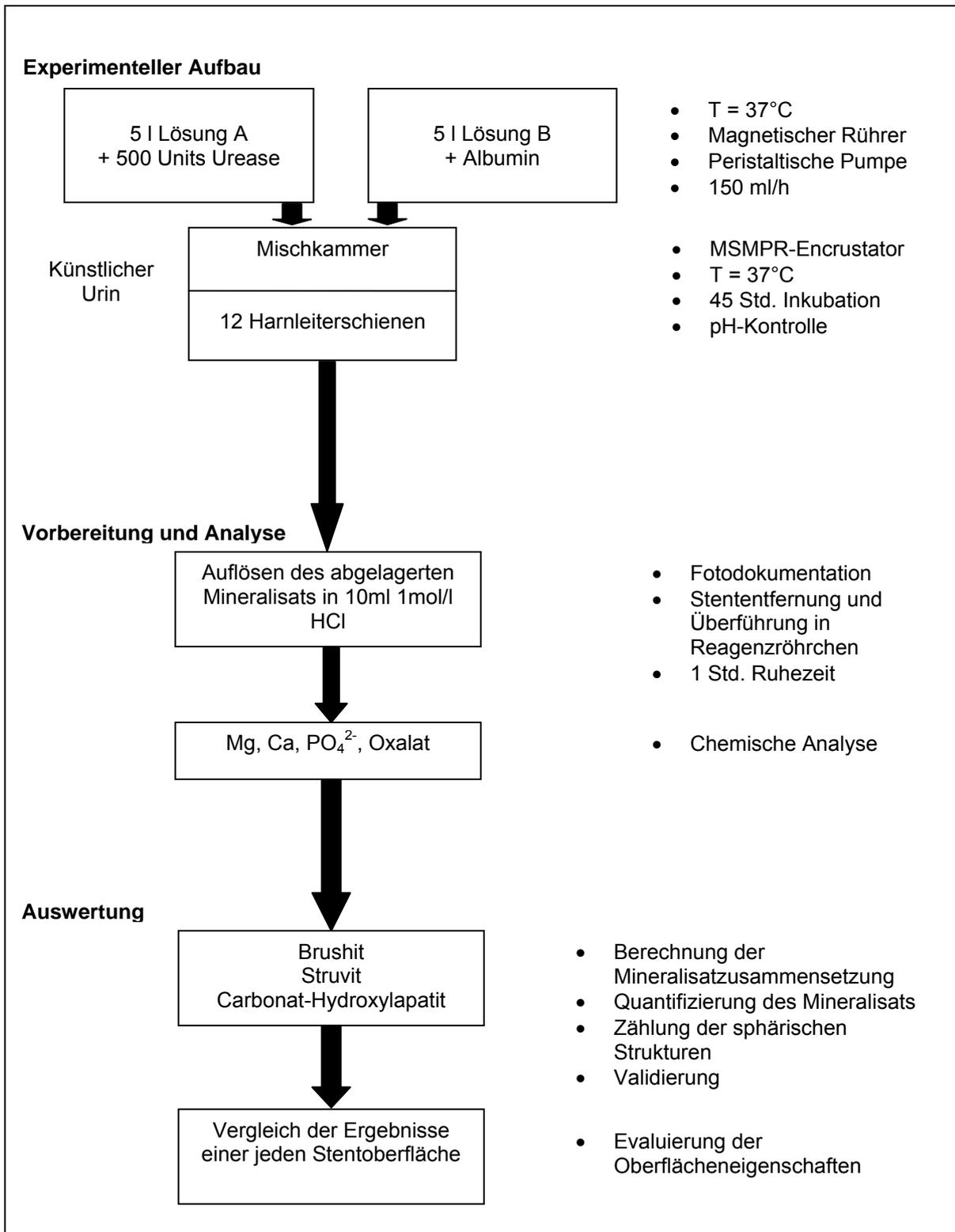


Abb. 11 Schematischer Versuchsaufbau der *in-vitro*-Inkrustationsversuche. Die Zugabe von Urease erfolgt in Lösung A; Albumin (5 mg/l, 20 mg/l, 333 mg/l) und Harnstoff werden in Lösung B. zugegeben. Mit der Mischung der beiden Lösungen im Probenraum des Encrustatormodells beginnt die Ureasereaktion.

4.1.2 Das Encrustatormodell

In den vorliegenden Versuchsreihen wird ein „MSMPR-Encrurator“ (mixed suspension mixed product removal) verwendet, um unter in-vitro Bedingungen die Inkrustationsneigung von Harnleiterschienen zu untersuchen. Dieses Gerät wurde von der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn entwickelt und besteht aus einem Kasten mit den Maßen 50 × 35 × 10 cm. Es ist auf zwei höhenverstellbaren Standflächen gelagert.

Abb. 12 zeigt schematische Zeichnungen des Encrustatormodells.

Auf die verschiedenen Systeme zur Konstanthaltung des Volumens (V) und der Temperatur (T) sowie der pH-Messung wird im Folgenden näher eingegangen.

Der Encrurator ermöglicht die gleichzeitige Untersuchung von zwölf Harnleiterschienen. Für alle Testkatheter herrschen im Probenraum nahezu gleiche Prozessbedingungen, welche den gegenseitigen Vergleich der Testergebnisse ermöglichen.

Weitere allgemeine Eigenschaften des Encrurators sind:

- Eignung für native und synthetische Urine
- pH-Stabilität; Eignung für wässrige Lösungen (Urine) mit $2 \leq \text{pH} \leq 10$
- Ein Halterahmen, der die Untersuchung von bis zu 12 Harnleiterschienen (Stents) ermöglicht, z. B. mit verschiedenen Oberflächeneigenschaften; sie können gleichzeitig unter identischen Bedingungen getestet und die Ergebnisse miteinander verglichen werden
- Ein integrierter Wasserkreislauf, durch den sich die Versuchstemperatur regulieren lässt
- Die computergestützte Aufzeichnung, Darstellung und Auswertung der pH- und Temperaturwerte in beliebigen Intervallen

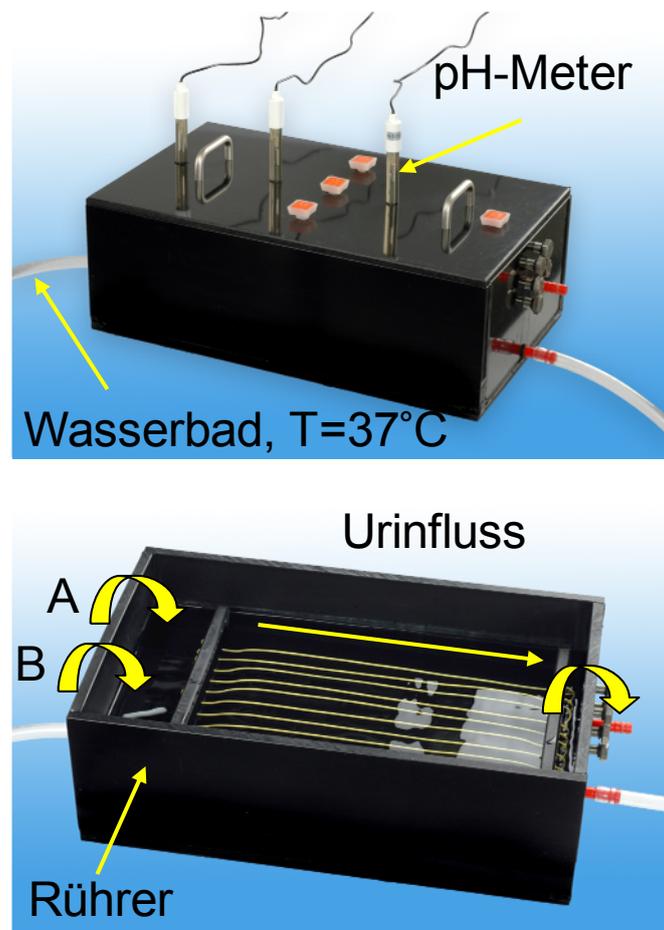


Abb. 12 Das *in-vitro*-Kristallisationsmodell wurde speziell entwickelt und erlaubt die Untersuchung der jeweiligen Inkrustationsneigung verschiedener Testoberflächen unter definierten Bedingungen. Dieser sogenannte „Encrustator“ ist ein durch ein Wasserbad temperierter Durchflusskristallisator. Er ermöglicht die gleichzeitige Untersuchung von 12 Testkathetern im künstlichen oder nativen Urin. Zwei Teillösungen, A und B, werden jeweils mit einer konstanten Flussrate in die Reaktionskammer des Encrustators gepumpt und vermischt. Dadurch entsteht eine übersättigte Lösung, die Inkrustationen fördern kann. Ein Abfluss sorgt für ein konstantes Urinvolumen in der Reaktionskammer (Kleinen et al., 2009).

4.1.2.1 Systeme zur Konstanthaltung von T und V

Die Temperatur des Urins wird mithilfe eines Wasserbades aufrechterhalten. Unterhalb des Bodens des Probenraumes befindet sich ein zweiter Raum, der als wärmendes Wasserbad dient. Durch ihn fließt Wasser mit ca. 45 °C, wodurch die Temperatur des Urins konstant bei 37 °C gehalten wird und die physiologischen Verhältnisse im menschlichen Organismus nachgestellt werden (siehe **Abb. 12**). Das Wasser wird mithilfe einer Heizspirale in einem separaten Wasserbecken erhitzt und in den zweiten Raum des Kastens gepumpt. Mithilfe einer Sonde wird die Temperatur des Urins

während der Inkubationszeit von 45 h gemessen und bei Schwankungen automatisch angepasst. Um diese Temperatur über die gesamte Versuchsdauer (von 45 h) gewährleisten zu können, wird der künstliche Urin sowohl im Encrustator als auch in den Vorratsbehältern möglichst rasch auf 37 °C erwärmt. Da beim Transport des Wassers vom Wärmebad zum Encrustator über die Schläuche und bei der Wärmeenergieabgabe vom zweiten Raum unter dem Encrustator in den Probenraum des Encrustators durch den Boden hindurch stets ein Wärmeenergieverlust auftritt, muss die Temperatur am Thermostat des Wärmebades höher eingestellt werden (auf 45 °C) als im Encrustator (37 °C) erwünscht.

Verglichen mit der ihn umgebenden Raumtemperatur (ca. 21 °C) ist die Temperatur im Encrustator mit 37 °C relativ hoch. Um dem Problem des Volumenverlustes durch Verdunstung Abhilfe zu schaffen, wurde ein Kunststoff-Deckel entwickelt, der Aussparungen für Temperatursonde, pH-Sonden und Zugabeschläuche des synthetischen Urins aufweist. Zusätzlich wird durch den Verdunstungsschutz der Urin vor Kontamination (z. B. Fremdpartikeleintrag) geschützt (siehe **Abb. 12**).

4.1.2.2 Aufbau für Zugabe und Abfluss des Urins

Im Deckel des Encrustators befinden sich zwei Öffnungen, durch die der frische künstliche Urin über zwei Zugabeschläuche einfließt. Der Kasten selber hat einen Ablauf, durch den der Urin ausfließen kann, so dass ein gleichmäßig hoher Flüssigkeitsstand gegeben ist (siehe **Abb. 12**).

Mithilfe einer doppelläufigen peristaltischen Pumpe wird der künstliche Urin mit einer konstanten Geschwindigkeit von $2 \times 75 \text{ ml/h}$ (=150 ml/h) über die gesamte Inkubationszeit von 45 h in den Probenraum des Encrustators gepumpt.

4.1.2.3 Zeitlicher Ablauf einer Messung im Encrustator

Das Monitoring der Versuchsbedingungen (aktueller pH-Wert, Temperatur) erfolgt automatisch über die gesamte Versuchsdauer in 2-Minutenintervallen. Drei in Fließrichtung angeordnete Elektroden für den pH-Wert (siehe **Abb. 12**) messen gleichzeitig die Werte und übertragen diese mit dem XLS 200 Messsystem zur späteren Auswertung in eine MS-Exceldatei eines angeschlossenen Computers. Die gesamte Inkubationsdauer beträgt 45 h.

4.1.3 Die Harnleiterschienen

Die verwendeten Harnleiterschienen wurden aus laufenden Produktionen des Herstellers (Uro Tech GmbH. Produktbezeichnung TECOFL07125, Tecoflex, Länge 31 cm) entnommen. Es handelt sich dabei jeweils um Standardpolyurethanstents, die auch im Klinikalltag zum Einsatz kommen. Unterschiede zwischen den einzelnen Harnleiterschienen ergeben sich durch die Beschichtung mit amorphen Kohlenstoffschichten, auf die an anderer Stelle genauer eingegangen wird.

Die zu testenden Harnleiterschienen werden nach vorgegebenem Verteilungsschema in einen Halterahmen gespannt. Dieser Rahmen fasst 12 Harnleiterschienen und wird auf den Boden des Encrustators gelegt (siehe **Abb. 13**). In jeder Versuchsreihe werden vier Referenz-Polyurethanstents und acht mit amorphen Kohlenstoffen beschichtete Stents (jeweils vier von zwei verschieden zusammengesetzten Beschichtungen) untersucht.

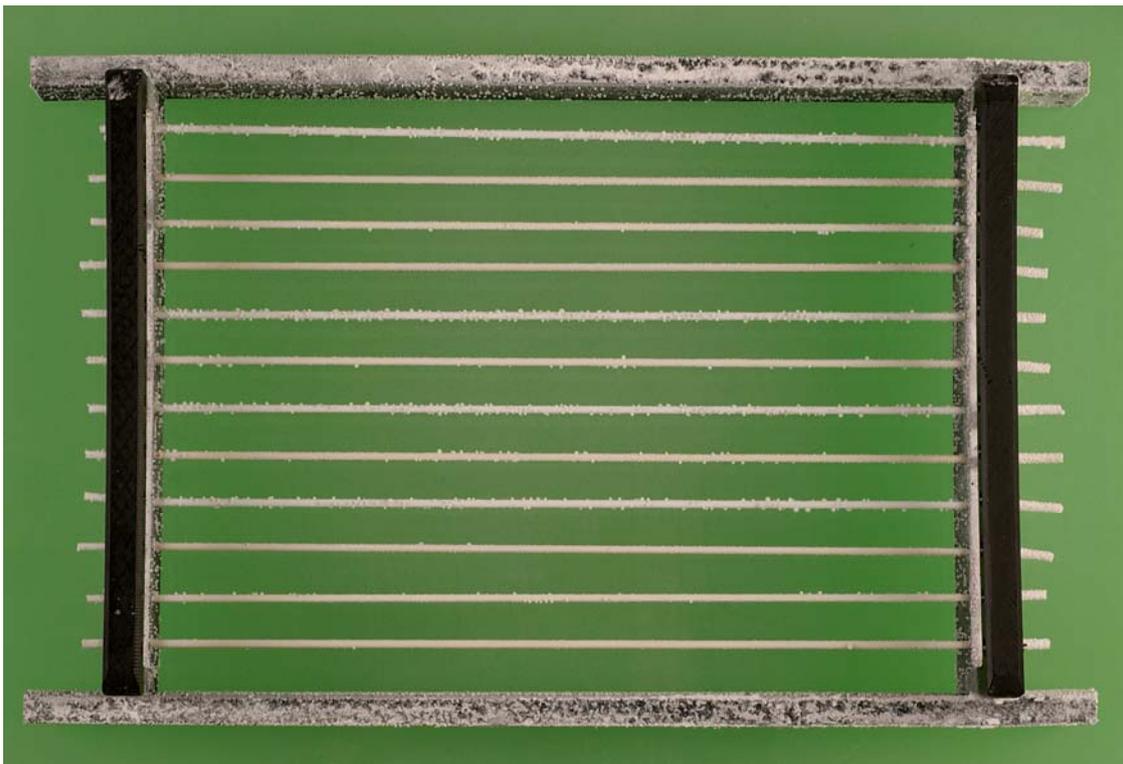


Abb. 13 Exemplarische Übersicht der zwölf in den Halterahmen des Encrustators eingespannten Harnleiterschienen.

Tab. 3 gibt einen Überblick über die Anzahl der verwendeten Harnleiterschienen. Es wurden insgesamt 101 unbeschichtete Stents aus Polyurethan (BPU) verwendet. Von

den mit a-C:H-beschichteten Stents (DLC-2, DLC-Uro, etc.) wurden 151 Stück getestet. In den Versuchen ohne Albuminzugabe wurden insgesamt 120 Stents untersucht, in denen mit Albuminzugabe 132 Stent

	0 mg/l	5 mg/l	20 mg/l	333 mg/l	Summe
BPU	59	19	8	15	101
DLC-2	22	12	8	12	54
DLC-Uro	39	8	8	12	67
DLC-125	0	8	0	3	11
ACOX:H	0	3	0	3	6
DLC-F2	0	3	0	3	6
DLC-NH3-3	0	3	0	4	7
Summe	120	56	24	52	252

Tab. 3 Übersicht über die jeweilige Anzahl der verwendeten Harnleiterschienen in den Versuchsreihen (Run) 1-44. Run 1-21 waren Versuche, die ohne Zugabe von Albumin abliefen (deswegen keine Unterteilung in unterschiedliche Albuminkonzentrationen). Bei Run 25-31 wurde Albumin hinzugegeben. Es wurden aber nur Katheter vom Typ BPU (unbeschichtet), DLC-2 und DLC-Uro verwendet. Ab Run 31-44 wurden zusätzlich noch andere amorphe Kohlenstoffschichten verwendet. Es wurden 120 Stents ohne und 132 Stents mit Albumin untersucht.

4.1.4 Plasmadeponierte amorphe Kohlenstoffschichten (a-C:H)

Plasmadeponierte amorphe Kohlenstoffschichten (a-C:H) in variabler Zusammensetzung werden bereits in vielen anderen medizinischen Fachbereichen verwendet. Ein Beispiel dafür ist die Beschichtung von Gelenkprothesen, um sie vor Verschleißung zu schützen. Im Falle hämatologischer Verweilkanülen sollen plasmadeponierte amorphe Kohlenstoffschichten die Anheftung von Mikroorganismen und Proteinen vermeiden (Laube et al., 2007).

Diese Dissertationsschrift befasst sich speziell mit dem Einfluss von a-C:H-Schichten auf die Inkrustationsneigung urologischer Harnleiterschienen (Stents).

Ein Problem urologischer Katheter und Stents besteht darin, dass sie aus temperaturempfindlichen Polymeren hergestellt werden. Ein Niedertemperatur-Plasmaverfahren ($T < 70^{\circ}\text{C}$), entwickelt vom Institut für Dünnschichttechnologie der TU Kaiserslautern, IDST, ermöglicht es erstmalig, a-C:H-Schichten auf diesen temperaturempfindlichen Materialien abzuscheiden (Laube et al., 2007).

Um die für den urologischen Einsatz am besten geeignete Beschichtung zu ermitteln, werden auf den Polyurethan-Stents unterschiedlich zusammengesetzte a-C:H-Schichten verwendet.

Das Ziel ist dabei, diejenige Beschichtungszusammensetzung herauszufinden, die die niedrigste Inkrustationsneigung besitzt (Laube et al., 2007).

Kleinen et al. (2009) geben einen Überblick über die Abläufe der Herstellung von amorphen Kohlenstoffbeschichtungen. Diese bestehen aus einer Vielzahl von amorphen Kohlenstoffverbindungen, die in einem Plasmadepositionsverfahren abgeschieden werden. Ausschlaggebend für den diamantähnlichen Charakter der Beschichtung ist dabei der Anteil an sp^3 -Bindungen im metastabilen amorphen Netzwerk aus sp^2 - und sp^3 -gebundenen Kohlenstoffatomen (Diamant = 100% sp^3 , Graphit = 100% sp^2).

Die Beschichtungen aus Acetylgas werden auf Harnleiterschienen abgeschieden, welche aus unbehandeltem Polyurethan (PU) bestehen. Das Verfahren ist ein speziell für die Beschichtung temperaturempfindlicher Implantate entwickeltes PECVD- (plasma enhanced chemical vapour deposition) Verfahren (siehe **Abb. 14**).

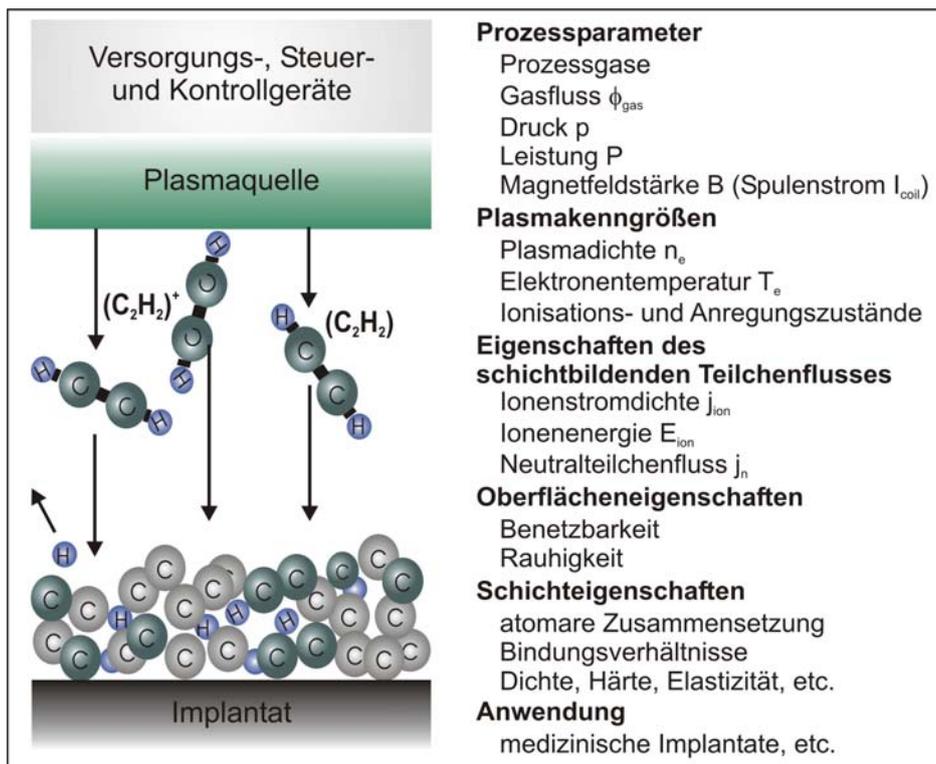


Abb. 14 Prinzipskizze des zur Beschichtung der Harnleiterschienen eingesetzten PECVD-Prozesses sowie eine Auswahl wichtiger Prozessparameter und physikalischer Größen; bei geeigneter Wahl der Prozessparameter lassen sich über die Eigenschaften des erzeugten Plasmas und des aus ihm hervorgehenden schichtbildenden Teilchenflusses die für die jeweilige Anwendung vorteilhaftesten Oberflächen und Schichteigenschaften herstellen (Kleinen und Laube, 2007).

Trotz der zusätzlichen Beschichtung behalten die Harnleiterschienen ihre Flexibilität. Dichte und Aufbau der Schichten können sich je nach ihren Herstellungsbedingungen unterscheiden. Speziellere Veränderungen der Oberflächen können zusätzlich durch den Einbau von Fremdatomen erzielt werden.

Es stehen also verschiedenste Möglichkeiten zur Verfügung, Veränderungen an den Oberflächen von Harnleiterschienen vorzunehmen und damit die Inkrustationsneigung zu verringern.

Abb. 15 zeigt einen Blick in eine Plasmabeschichtungsanlage, in der die Harnleiterschienen mit den amorphen Kohlenstoffen beschichtet werden.



Abb. 15 Aufbau zur Plasmabeschichtung von Harnleiterschienen mit amorphen Kohlenstoffen: Die Implantate werden auf einem rotierenden Halter montiert (links im Bild) und in dem von einer Plasmastrahlquelle (rechts im Bild) erzeugten Teilchenfluss gedreht. Nach vorbereitenden, die Oberfläche reinigenden und aktivierenden Prozessschritten werden die ca. 50 bis 70 nm dicken a-C:H-Schichten aus Acetylgas auf den Implantaten abgeschieden (Kleinen und Laube, 2007).

Eine Möglichkeit, um die verschiedenen Oberflächeneigenschaften der amorphen Kohlenstoffschichten zu beurteilen, ist die Messung von Kontaktwinkeln, auch Benetzungswinkel genannt (siehe **Abb. 16**). Sie stellt ein etabliertes Verfahren dar und gibt Auskunft über die Benetzbarkeit von Oberflächen bzw. über die Wechselwirkung zwischen Stoffen an Berührungsflächen. Dafür werden Wassertropfen in einem standardisierten Verfahren auf die Oberflächen aufgetragen und der Winkel gemessen, den der Tropfen zu der Oberfläche bildet. Je niedriger der Kontaktwinkel desto höher die Benetzbarkeit und desto höher die Wechselwirkungen auf der Oberfläche. Aus der Messung des Winkels können u. a. Aussagen über die Oberflächenenergie gemacht werden. Geringe Winkel werden bei hydrophilen, große Winkel bei hydrophoben Oberflächen gemessen.

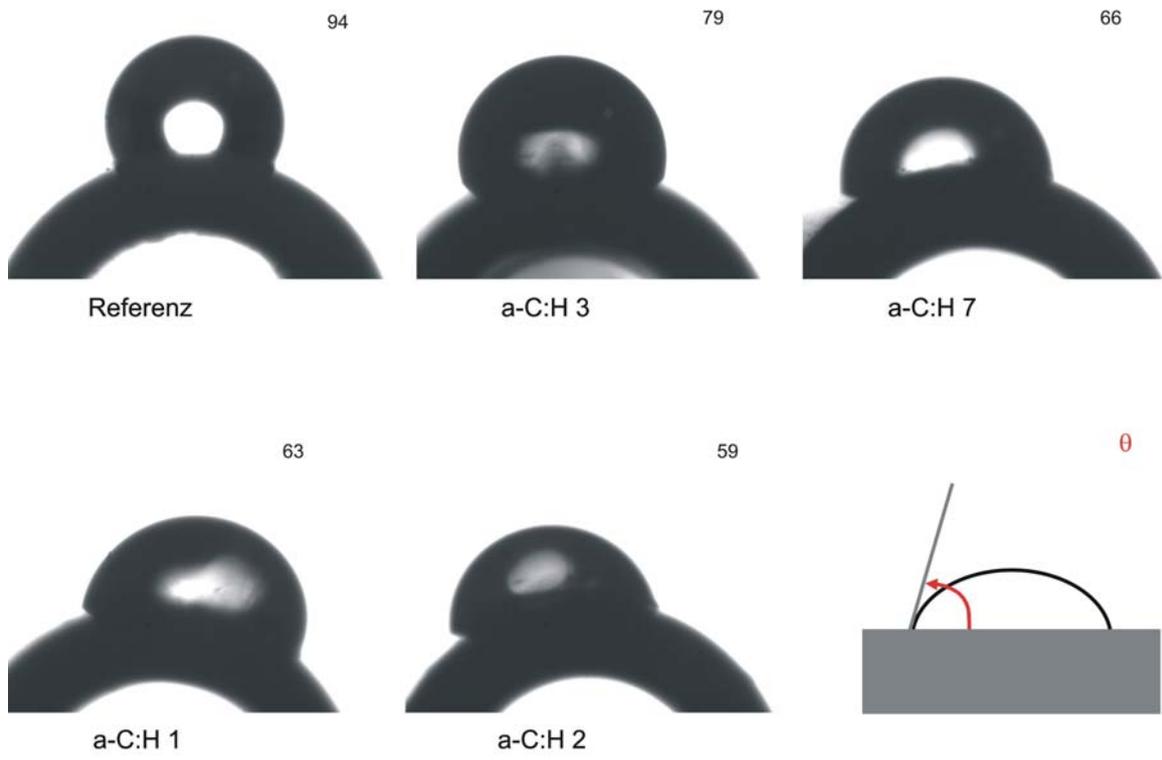


Abb. 16 Kontaktwinkelmessung: Wassertropfen auf der Oberfläche unterschiedlich beschichteter Harnleiterschienen; über die Messung des Kontaktwinkels θ H_2O lassen sich Rückschlüsse auf die an der Grenzfläche ablaufenden Wechselwirkungen ziehen. Das eingesetzte PECVD-Verfahren ermöglicht durch Zugabe geeigneter weiterer Prozessgase (z. B. stickstoff- oder fluorhaltiger Gase) den Erhalt der gewünschten Oberflächeneigenschaften. Die Benetzbarkeit der Oberfläche kann stark variiert werden. Die Tropfen sind nach zunehmender Benetzbarkeit angeordnet. Die Mittelwerte der gemessenen Winkel θ H_2O [°] ($n = 6$) sind rechts oberhalb des Tropfens angegeben (Kleinen und Laube, 2007).

4.1.5 Herstellung der Versuchslösungen

4.1.5.1 Vorüberlegungen

Für die Inkrustationsversuche wird der synthetische Urin generell nach dem bekannten und etablierten Schema nach Griffith et al. (1976) hergestellt (siehe **Tab. 4**). Durch die Hinzugabe des Harnproteins Albumin in verschiedenen Konzentrationen wird die *in-vitro*-Situation den *in-vivo*-Bedingungen angenähert. Die jeweiligen Konzentrationen des Albumins (5 mg/l, 20 mg/l und 333 mg/l) werden nach den allgemeingültigen Definitionen der Mikro- und Makroalbuminurie (siehe **Tab. 2**) ausgewählt und der Einfluss der Albuminkonzentrationen auf die Inkrustationsneigung der Harnleiterschienen näher untersucht. Eine Konzentration von 5 mg/l stellt eine Normo-, eine

Konzentration von 20 mg/l eine Mikro- und eine Konzentration von 333 mg/l eine Makroalbuminurie dar.

Die Herstellung des Urins erfolgt in zwei verschiedenen Lösungen – A und B (siehe **Tab. 4**). Es werden jeweils 5 Liter (mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$) hergestellt. Beide zusammen ergeben im Encrustator den künstlichen Urin, welcher durch die Zugabe von Urease mit fortschreitender Versuchsdauer den pH-Wert auf bis zu 9 ansteigen lässt. Denn Urease reagiert mit Harnstoff zu Ammoniak, das den pH-Wert steigen lässt (Jones et al., 2005) und damit die Situation einer Harnwegsinfektion simuliert (siehe **Abb. 17**).

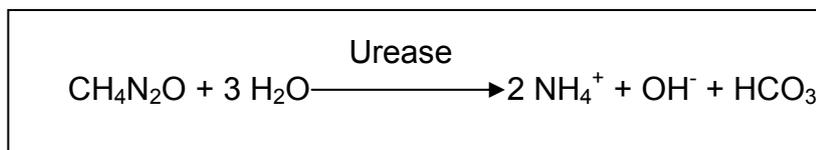


Abb. 17 Ureasereaktion: Harnstoff (CH_4NH_2) wird durch das Enzym Urease in Ammoniak (NH_4^+) und Kohlendioxid (HCO_3^-) gespalten. Durch die Bildung des Ammoniaks steigt der pH-Wert an.

4.1.5.2 Synthetischer Urin

Für jeden Versuch wird der künstliche Urin frisch hergestellt. Bei diesem Versuchskonzept werden zwei verschiedene, untersättigte Lösungen angefertigt und in dem Reaktionsraum des Encrustators zusammengeführt. Erst die Mischung der Lösungen führt zu der Übersättigung, die für eine Kristallbildung notwendig ist.

Die einzelnen Bestandteile werden exakt nach Schema (siehe **Tab. 4**) abgewogen und mit insgesamt 10 Litern sterilem und pyrogenfreiem H_2O (Ampuwa, Fresenius Kabi) gemischt. Zur Herstellung der Lösungen werden ausschließlich Reinst-Chemikalien (Merck, Sigma) und steriles deionisiertes Wasser (Ampuwa) verwendet.

Hierbei wird eine Trennung nach Lösung A und B (jeweils 5 Liter) vorgenommen. Lösung A wird das Enzym Urease; Lösung B der Harnstoff und die für den Versuch jeweils gewählte Albuminmenge hinzugegeben. Es ist darauf zu achten, dass vor Versuchsbeginn das Enzym Urease keinen Kontakt zum Harnstoff hat, da es sonst zu einem verfrühten Reaktionsbeginn kommt (siehe **Abb. 17**).

Nachdem sich die Lösungen im Reaktionsraum vermischt haben, beginnt die Ureasereaktion (siehe **Abb. 17**). Der Anstieg des pH-Werts bildet eine *in-vivo*-Infektsituation realitätsnah nach.

Lösung A	Einwaage [g/5Liter]	Lösung B	Einwaage [g/5Liter]
CaCl ₂ ×2H ₂ O	6,5	Harnstoff	250
MgCl ₂ ×6H ₂ O	6,5	KH ₂ PO ₄	28
NaCl	46	Kreatinin	11
Na ₂ SO ₄	23	Na ₂ Oxalat	0,2
Na ₃ Citrat	6,5	NH ₄ Cl	10
KCl	16		
Urease 500 Units	0,02941	Albumin	5 mg/l, 20 mg/l 333 mg/l

Tab. 4 Herstellung des künstlichen Urins; von Lösung A und B werden jeweils 5 Liter (mit H₂O_{dest}) hergestellt. Beide zusammen ergeben im Encrustator einen künstlichen Urin, welcher durch die Zugabe von Urease mit fortschreitender Versuchsdauer den pH-Wert auf bis maximal 9 ansteigen lässt, wodurch ein Harnwegsinfekt simuliert wird. Die Albuminkonzentration von Lösung B ist variabel. Je nach Versuchs-Run werden Albuminmengen von 5 mg/l, 20 mg/l oder 333 mg/l hinzugefügt.

Der Reaktionsraum des Encrustators selber hat ein Füllungsvolumen von ca. 3 Litern. Zum Zeitpunkt 0 jeder Versuchsreihe werden 3 Liter des künstlichen Urins, jeweils 1,5 Liter jeder Lösung (A und B), als Vorfüllung in den Encrustator gegeben. Die restlichen 7 Liter (3,5 Liter in A und 3,5 Liter in B) werden in ein Umwälzthermostat-Wasserbad gestellt und unter ständigem Rühren durch eine magnetische Rührhilfe bei einer Temperatur von 37°C gehalten. Mithilfe einer doppelläufigen peristaltischen Pumpe wird der künstliche Urin mit einer konstanten Geschwindigkeit von 2×75 ml/h (= 150 ml/h) über die gesamte Inkubationszeit von 45 h in den Probenraum des Encrustators gepumpt.

Durch den Überlauf fließt der Urin aus dem Kasten und wird in einem Behälter aufgefangen. Somit bleibt das Urinvolumen innerhalb des Kastens konstant bei 3 Litern. Die Fließbewegung zwischen Ein- und Ausfluss wird durch die Bewegung eines Magnetrührers unter den Einflussöffnungen unterstützt.

4.1.6 Auswertungsverfahren und statistische Methoden

Die Inkubationsdauer beträgt 45 h. Nach Ende jedes Inkrustationsversuchs wird die Stenthalterung dem Encrustator entnommen und anschließend zum Trocknen 24 Stunden staub- und erschütterungsgeschützt bei Zimmertemperatur gelagert.

Die getrockneten Proben werden der Halterung unter Berücksichtigung möglichst steriler Bedingungen entnommen, zerschnitten und mit 10 ml 1-molarer HCL-Lösung in verschließbare Rollrandglasröhrchen verbracht. Die Inkrustationen, die sich auf der Katheteroberfläche gebildet haben, lösen sich unter gelegentlichem Schütteln und nach einer Reaktionszeit von einer Stunde in der Salzsäure vollständig auf.

Danach folgt die chemische Analyse der Lösung. Aus fünf Millilitern der entstandenen Lösung werden im Labor für Klinische Biochemie des Universitätsklinikums Bonn die Ca-, Mg- und PO₄-Konzentrationen bestimmt. Die verbleibende Lösung wird für gegebenenfalls nötige Wiederholungsanalysen im eigenen Labor bei Zimmertemperatur dunkel gelagert.

Die Analyse erfolgt in einem, u. a. durch infrarotspektrometrische Untersuchungen begleiteten, evaluierten Analyseverfahren der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn. Hier wird eine qualitative und quantitative Bestimmung des Mineralisats vorgenommen. Mit Hilfe einer Massenbilanzberechnung wird ein normativer Mineralbestand der gelösten Salze ermittelt. Der errechnete Mineralbestand besteht aus den Kalziumphosphaten Carbonat-Hydroxylapatit und Brushit sowie dem Magnesiumphosphat Struvit. Diese Mineralisatzusammensetzungen in Biofilmen auf Harnleiterschienen gelten als die am häufigsten auftretenden (Kleinen und Laube, 2007). Ihre jeweiligen Idealzusammensetzungen werden wie folgt angenommen: Ca₁₀(PO₄)₅CO₃(OH)₂ (Carbonat-Hydroxylapatit), CaHPO₄ × 2H₂O (Brushit) und MgNH₄PO₄ × 6H₂O (Struvit). Anhand der Magnesium-, Calcium- und Phosphatkonzentrationen wird also die Evaluation durchgeführt. Es werden somit einerseits die Qualität (Zusammensetzung aus Struvit, Brushit und Carbonat-Hydroxylapatit) und andererseits die Quantität (Mengen in [mg] und [mmol]) des Mineralisats untersucht.

Nach der für jeden einzelnen Katheter durchgeführten Analyse erfolgt der Vergleich mit Kathetern, deren Oberflächen mit anderen Beschichtungen versehen sind. Auch die verschiedenen Albuminkonzentrationen stellen ein Vergleichskriterium für die verschiedenen Versuchsläufe dar.

Als statistischer Test wurde der etablierte Zweistichproben t-Test unter der Annahme gleicher Varianzen gewählt. Der dabei erhaltene Signifikanzwert (p) gibt an, ob die erzielten Ergebnisse u.a. bezüglich der Datenlage als signifikant bezeichnet werden können bzw. wie extrem das Ergebnis ist. Ein p -Wert $<0,05$ gibt an, dass die erreichten Ergebnisse als signifikant angesehen werden können.

5 Ergebnisse

5.1 Allgemeines

Aus den Ergebnissen der Inkrustationsversuche wurden für jede Katheterart und jede Albuminkonzentration (5, 20 und 333 mg/l) der Mittelwert, die Standardabweichung und die Signifikanz (p) errechnet und graphisch dargestellt. Bezüglich der Signifikanz bzw. der verwendeten statistischen Tests erfolgt der Verweis auf das **Kapitel 4.1.6**. Als Streuungsmaß in den Diagrammen wird die Standardabweichung als Maß für die Streuung der Mittelwerte verwendet.

Die Zahlen innerhalb der Diagrammbalken geben jeweils die Anzahl der verwendeten Katheter an (entspricht „n“). Einen Überblick zur Gesamtzahl der in allen Versuchsreihen verwendeten Katheter kann man **Tab. 3** im Material und Methodenteil (S. 46) entnehmen. Im Rahmen der einzelnen Auswertungen werden die Ergebnisse jeweils unter Berücksichtigung eines speziellen Schwerpunktes dargelegt. Zuerst werden die jeweiligen Mineralisatmengen auf den verschiedenen beschichteten Katheterarten ohne Albuminzugabe betrachtet; danach folgt die Untersuchung der Mineralisatmengen unter Zugabe von Albumin in die Urinlösung. Anschließend wird untersucht, ob die verschiedenen Albuminkonzentrationen (5, 20 und 333 mg/l) Einfluss auf die Quantität bzw. Qualität des Mineralisats haben und, wenn ja, inwiefern sie die Mineralisatzusammensetzung beeinflussen. Es folgt daher ein Überblick zu den Veränderungen des Mineralisats ohne und mit Albuminzugabe. Den Abschluss dieses Kapitels bilden die Betrachtungen des pH-Verlaufs während der Inkrustationsversuche ohne und mit Albuminzugabe sowie die Untersuchungen bezüglich der auftretenden sphärischen Präzipitation unter Albuminzugabe.

5.2 Katheterversuche ohne Zugabe von Albumin

Die folgenden Diagramme stellen die durchschnittlichen Gesamtmineralisatmengen auf den verschiedenen Stenttypen, und zwar in den Versuchen ohne Zugabe von Albumin im künstlichen Urin dar und vergleichen diese.

5.2.1 Gesamtmineralisatmenge ohne Zugabe von Albumin

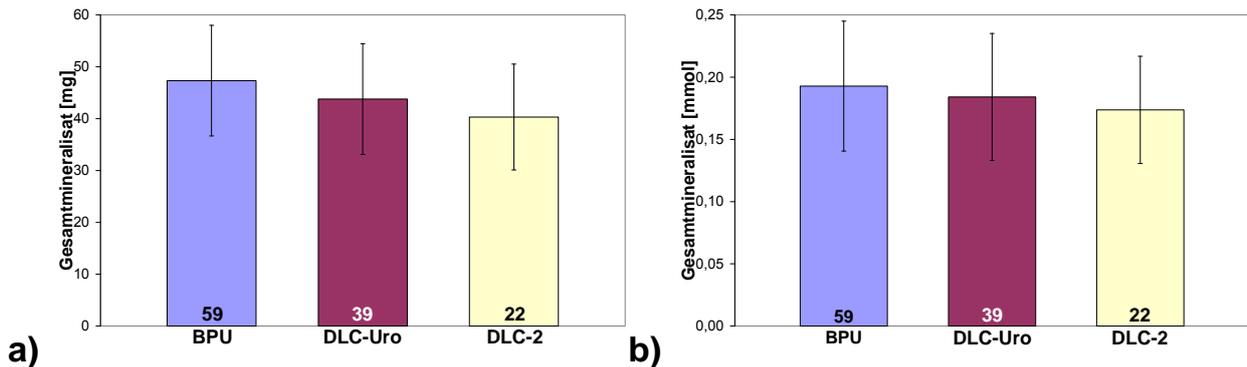


Abb. 18 Durchschnittliche Gesamtmineralisatmengen in **a)** [mg] und **b)** [mmol] auf den verschiedenen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) mit den jeweiligen Standardabweichungen ohne Zugabe von Albumin in die Urinlösung. Die Zahlen in den Balken geben die Anzahl der jeweils verwendeten Katheterart an (BPU n = 59, DLC-Uro n = 39, DLC-2 n = 22).

In **Abb. 18 a)** werden die Gesamtmineralisate in [mg] ausgewertet. Es ist festzustellen, dass sich an den BPU-Stents die höchsten Gesamtmineralisatmengen von durchschnittlich $47,33 \pm 10,67$ mg abgelagert haben; danach folgen die DLC-Uro-Stents mit im Durchschnitt $43,77 \pm 10,66$ mg ($p = 0,109$). Die geringsten Mengen kommen bei DLC-2-Stents mit $40,31 \pm 10,21$ mg ($p = 0,009$) vor.

Abb. 18 b) stellt die Ergebnisse in [mmol] dar. Auch hier zeigt sich, dass die größten Mineralisatmengen auf den BPU-Stents vorkommen ($0,19 \pm 0,05$ mmol). Es folgen die DLC-Uro-Stents mit $0,18 \pm 0,05$ mmol ($p = 0,416$) und die geringsten Mengen treten auf den DLC-2-Stents [$0,17 \pm 0,04$ mmol ($p = 0,129$)] auf.

5.2.2 Gesamtmineralisatmengen ohne Zugabe von Albumin in normierter Darstellung

Für die Normierung der Ergebnisse werden die Mineralisatmengen auf den BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in

Beziehung gesetzt. Eine Zahl kleiner eins bedeutet somit, dass die gemessene Mineralisatmenge geringer ist als die, die auf den unbeschichteten BPU-Referenzstents auftritt, und anders herum.

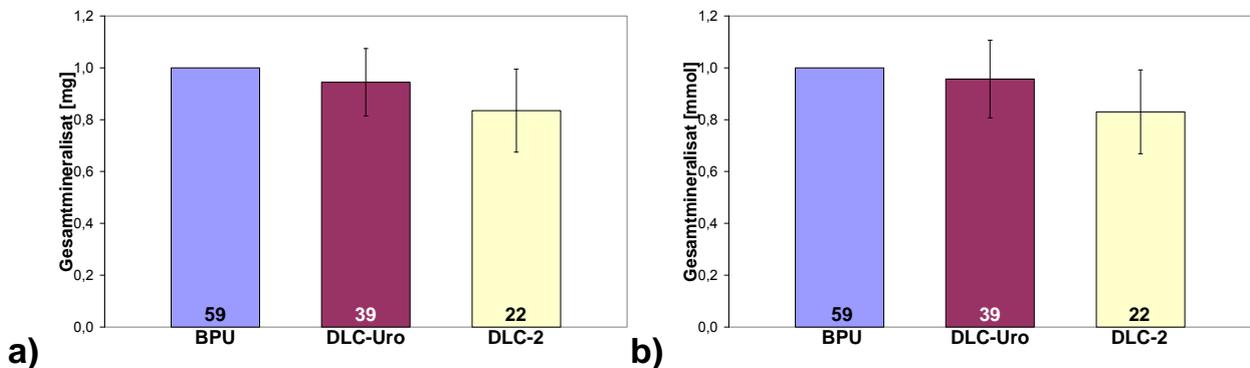


Abb. 19 Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 18** in **a)** [mg] und **b)** [mmol]. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mineralisatmengen der anderen Stenttypen (DLC-Uro, DLC-2) werden damit in Beziehung gesetzt.

Abb. 19 a) zeigt die normierte Gesamtmineralisatmenge in [mg]. Es wird deutlich, dass sich an den unbeschichteten BPU-Stents mit $1 \pm 0,0$ die größte normierte Mineralisatmenge abscheiden. Geringere Mengen lagern sich an den DLC-Uro-Stents ab [$0,95 \pm 0,13$ ($p = 0,057$)]. Die geringsten Mineralisatmengen bilden sich auf den DLC-2-Stents mit $0,84 \pm 0,16$ ($p = 0,00004$).

Auch in der normierten Darstellung der Ergebnisse in [mmol] [siehe **Abb. 19 b)**] ist die Gesamtmineralisatmenge auf den BPU-Stents am größten ($1 \pm 0,0$), etwas geringer auf den DLC-Uro-Stents [$0,96 \pm 0,15$ ($p = 0,193$)] und auf den DLC-2-Stents mit $0,83 \pm 0,16$ ($p = 0,00003$) am niedrigsten.

5.2.3 Gesamtmineralisatmengen der einzelnen Katheterarten aufgeteilt in Stru, Kap und Bru ohne Zugabe von Albumin

In den Diagrammen dieses Kapitels werden die Gesamtmineralisate der verschiedenen Katheterarten genauer betrachtet. Sie werden jeweils in die drei Hauptbestandteile Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) aufgeteilt und anteilmäßig bestimmt.

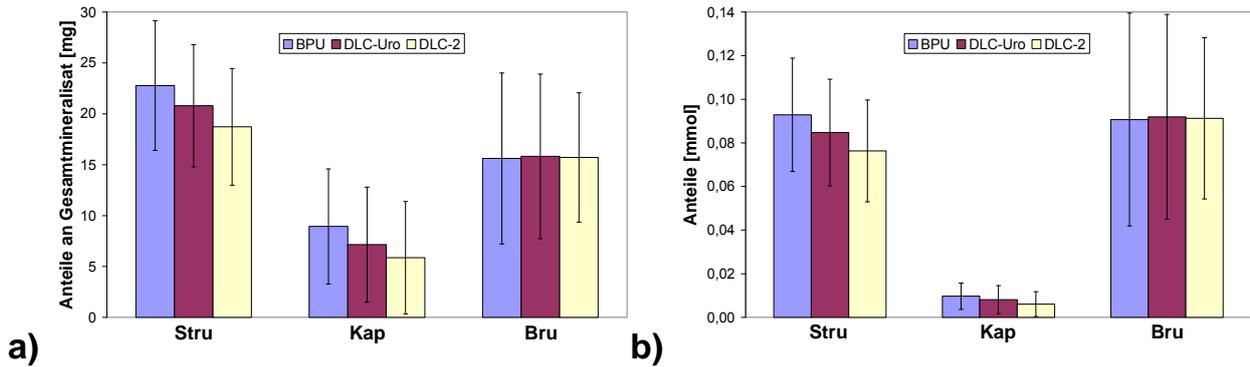


Abb. 20 Durchschnittliche Mineralisatmenge der einzelnen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) ohne Zugabe von Albumin **a)** [mg] und **b)** [mmol]].

Abb. 20 a) [mg] zeigt, dass bei allen drei Katheterarten Struvit den größten Anteil am Mineralisat ausmacht, danach folgt Brushit, und den geringsten Anteil hat Kap.

Wenn man die Verteilung auf die einzelnen Katheterarten genauer betrachtet, sieht man, dass Struvit und Kap auf den BPU-Stents am häufigsten vorkommen ($22,78 \pm 6,38$ mg bzw. $8,93 \text{ mg} \pm 5,66$). Danach folgen die DLC-Uro-Stents [$20,8 \pm 6,0$ mg bzw. $7,15 \pm 5,65$ mg ($p = 0,126$ bzw. $0,129$)] und am wenigsten kommen diese beiden Arten auf den DLC-2-Stents vor [$18,73 \pm 5,73$ mg bzw. $5,87 \pm 5,52$ mg ($p = 0,01$ bzw. $0,032$)]. Brushit dagegen ist anteilmäßig auf fast allen Katheterarten gleich vertreten, nur geringfügig mehr auf den DLC-Uro-Stents [BPU $15,61 \pm 8,4$ mg; DLC-Uro $15,82 \pm 8,08$ mg ($p = 0,903$); DLC-2 $15,71 \pm 6,36$ mg ($p = 0,961$)]. Es stellt somit auf allen drei Katheterarten den zweithäufigsten Mineralisatanteil.

Auch in **Abb. 20 b)** [mmol] hat Kap auf allen drei Katheterarten den geringsten Anteil am Gesamtmineralisat [BPU $0,01 \pm 0,01$ mmol; DLC-Uro $0,008 \pm 0,01$ mmol ($p = 0,221$); DLC-2 $0,006 \pm 0,01$ mmol ($p = 0,016$)].

Auf den BPU-Stents besteht das Gesamtmineralisat zum größten Teil aus Struvit ($0,093 \pm 0,03$ mmol). Struvit tritt bei den DLC-Uro- bzw. DLC-2-Stents mit Mengen von jeweils $0,085 \pm 0,02$ ($p = 0,126$) bzw. $0,077 \pm 0,02$ ($p = 0,011$) auf. Bei den DLC-Uro- bzw. DLC-2-Stents nimmt Brushit den größten Anteil ein [$0,092 \pm 0,05$ mmol ($p = 0,903$) bzw. $0,091 \pm 0,04$ mmol ($p = 0,961$)], und auf den BPU-Stents tritt Brushit mit einer Menge von $0,091 \pm 0,05$ mmol auf.

5.3 Katheterversuche unter Zugabe von Albumin

In den Diagrammen dieses Unterkapitels werden die durchschnittlichen Gesamtmineralisatmengen der verschiedenen Stenttypen (BPU, DLC-Uro, DLC-2) dargestellt, wie sie in den Versuchen unter Zugabe von Albumin in die Urinlösung entstanden sind.

5.3.1 Gesamtmineralisatmenge der einzelnen Stentarten unter Zugabe von Albumin

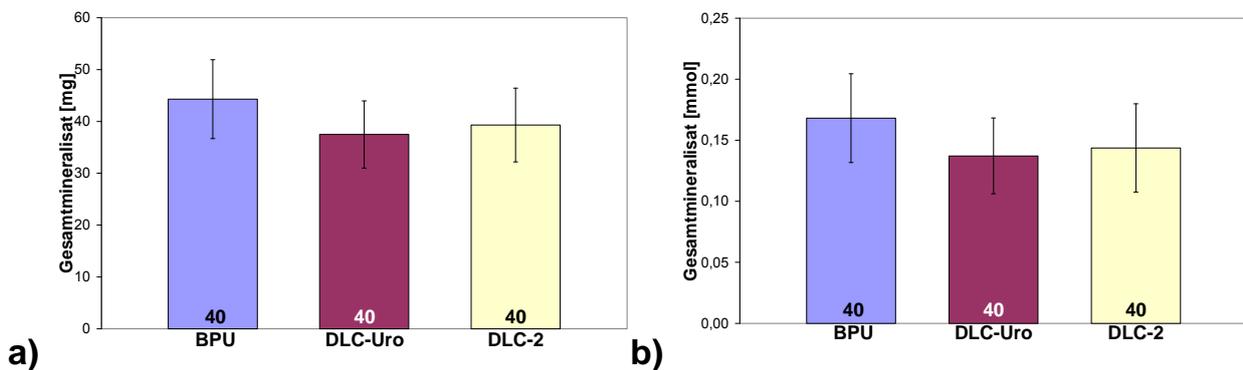


Abb. 21 Durchschnittliche Gesamtmineralisatmengen in **a)** [mg] und **b)** [mmol] der verschiedenen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) mit den jeweiligen Standardabweichungen unter Zugabe von Albumin in der Urinlösung. Die Zahlen in den Balken geben die Anzahl der jeweils verwendeten Katheterart an. Es wurden jeweils 40 Katheter untersucht.

Am meisten Gesamtmineralisat in [mg] bildet sich [siehe **Abb. 21 a)**] an den BPU-Stents mit $44,29 \pm 7,59$ mg, etwas weniger auf den DLC-2-Stents [$39,31 \pm 7,12$ mg ($p = 0,003$)] und am wenigsten auf den DLC-Uro-Stents mit $37,48 \pm 6,48$ mg ($p = 0,00005$).

In **Abb. 21 b)** werden die Gesamtmineralisate in [mmol] betrachtet. Die anteilmäßige Verteilung ist mit den [mg]-Ergebnissen aus **Abb. 21 a)** vergleichbar, am meisten auf den BPU-Stents, geringer auf den DLC-2- und am wenigsten auf den DLC-Uro-Stents [BPU $0,168 \pm 0,04$ mmol; DLC-2 $0,144 \pm 0,04$ mmol ($p = 0,003$); DLC-Uro $0,137 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,0001$)].

5.3.2 Normierte Darstellung der Gesamtmineralisatmengen unter Zugabe von Albumin

Für diese Diagramme wurden die Gesamtmineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt, gleich eins gesetzt und somit normiert. Die Gesamtmineralisatmengen der anderen Stentarten wurden damit in Beziehung gesetzt.

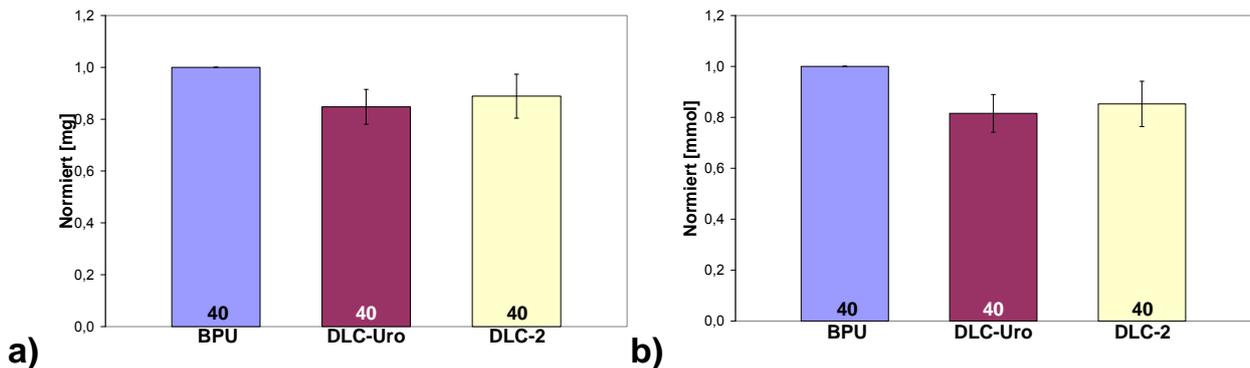


Abb. 22 Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 21** in **a)** [mg] und **b)** [mmol]. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in Beziehung gesetzt. Die Stentanzahl jeder Katheterart ist $n = 40$.

In **Abb. 22 a)** [mg] zeigt sich, dass die Gesamtmineralisatmenge auf den BPU-Stents am größten ($1 \pm 0,0$) ist; etwas geringer ist sie auf den DLC-2-Stents [$0,889 \pm 0,08$ ($p = 0,0006$)]. Auf den DLC-Uro-Stents liegt die Gesamtmineralisatmenge bei $0,848 \pm 0,07$ ($p = 0,000001$) und ist somit am niedrigsten.

Die in Diagramm **Abb. 22 b)** dargestellten Werte sind mit denen von **Abb. 22 a)** vergleichbar. Hier werden die [mmol]-Mengen betrachtet. Die Gesamtmineralisatmenge ist auf den BPU-Stents am größten ($1 \pm 0,0$), etwas geringer ist sie mit $0,853 \pm 0,09$ ($p = 0,00006$) auf den DLC-2-Stents. Die geringste Menge, nämlich $0,816 \pm 0,07$ ($p = 0,0000003$), tritt auf den DLC-Uro-Stents auf.

5.3.3 Aufteilung der Gesamtmineralisatmengen in Stru, Kap und Bru unter Zugabe von Albumin

In dieser Auswertung wird die Zusammensetzung des Mineralisats untersucht. Entscheidend sind hierbei die drei Hauptbestandteile Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru). Diese werden anteilmäßig bestimmt.

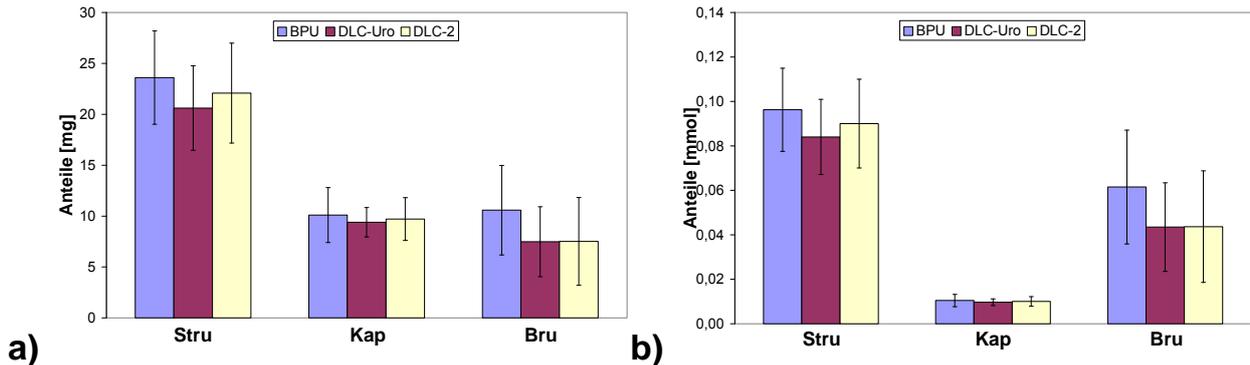


Abb. 23 Durchschnittliche Mineralisatmenge der einzelnen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Zugabe von Albumin in die Urinlösung (a) [mg] und b) [mmol].

Abb. 23 a) zeigt die Ergebnisse in [mg]. Es wird deutlich, dass der Struvit-Anteil bei allen drei Katheterarten am höchsten ist [BPU 23,61 ± 4,59 mg; DLC-2 22,09 ± 4,9 mg ($p = 0,155$); DLC-Uro 20,61 ± 4,15 mg ($p = 0,003$)]. Bei den BPU-Stents folgt danach Brushit mit 10,58 ± 4,4 mg. Bei den anderen Stentarten steht dagegen Kap an zweiter Stelle [DLC-2 9,71 ± 2,1 mg ($p = 0,47$); DLC-Uro 9,39 ± 1,44 mg ($p = 0,145$)]. Der Kap-Anteil bei den BPU-Stents liegt bei 10,1 ± 2,69. Im Falle der DLC-2- und DLC-Uro-Stents hat Brushit mit [DLC-2 7,52 ± 4,32 mg ($p = 0,002$); DLC-Uro 7,48 ± 3,43 mg ($p = 0,0007$)] den geringsten Anteil.

Abb. 23 b) zeigt die Aufteilung der Gesamtmineralisate in [mmol]. Auch hier stellt Struvit bei allen drei Katheterarten den größten Anteil [BPU 0,1 ± 0,02 mmol; DLC-2 0,09 ± 0,02 mmol ($p = 0,155$); DLC-Uro 0,08 ± 0,02 mmol ($p = 0,003$)]. Danach folgt, im Gegensatz zu **Abb. 23 a)** bei allen Katheterarten Brushit [BPU 0,061 ± 0,03 mmol; DLC-2 0,044 ± 0,03 mmol ($p = 0,002$); DLC-Uro 0,043 ± 0,02 mmol ($p = 0,0007$)]. Kap besitzt bei allen drei Kathetertypen den geringsten Anteil am Gesamtmineralisat [BPU

$0,0104 \pm 0,003$ mmol; DLC-2 $0,0100 \pm 0,002$ mmol ($p = 0,47$); DLC-Uro $0,0097 \pm 0,001$ mmol ($p = 0,145$).

5.4 Katheterversuche unter Albuminzugabe mit Berücksichtigung unterschiedlicher Albuminkonzentrationen (5, 20 und 333 mg/l)

Die folgenden Diagramme sind Darstellungen der durchschnittlichen Gesamtmineralisate auf den verschiedenen Stenttypen (BPU, DLC-Uro, DLC-2) entstanden unter Zugabe von Albumin. Anders als bei den vorherigen Diagrammen aus **Kapitel 5.3** werden hier die unterschiedlichen Albuminkonzentrationen 5, 20 und 333 mg pro Liter synthetischen Urins berücksichtigt.

5.4.1 Vergleich der Gesamtmineralisatmengen unter Beachtung verschiedener Albuminkonzentrationen

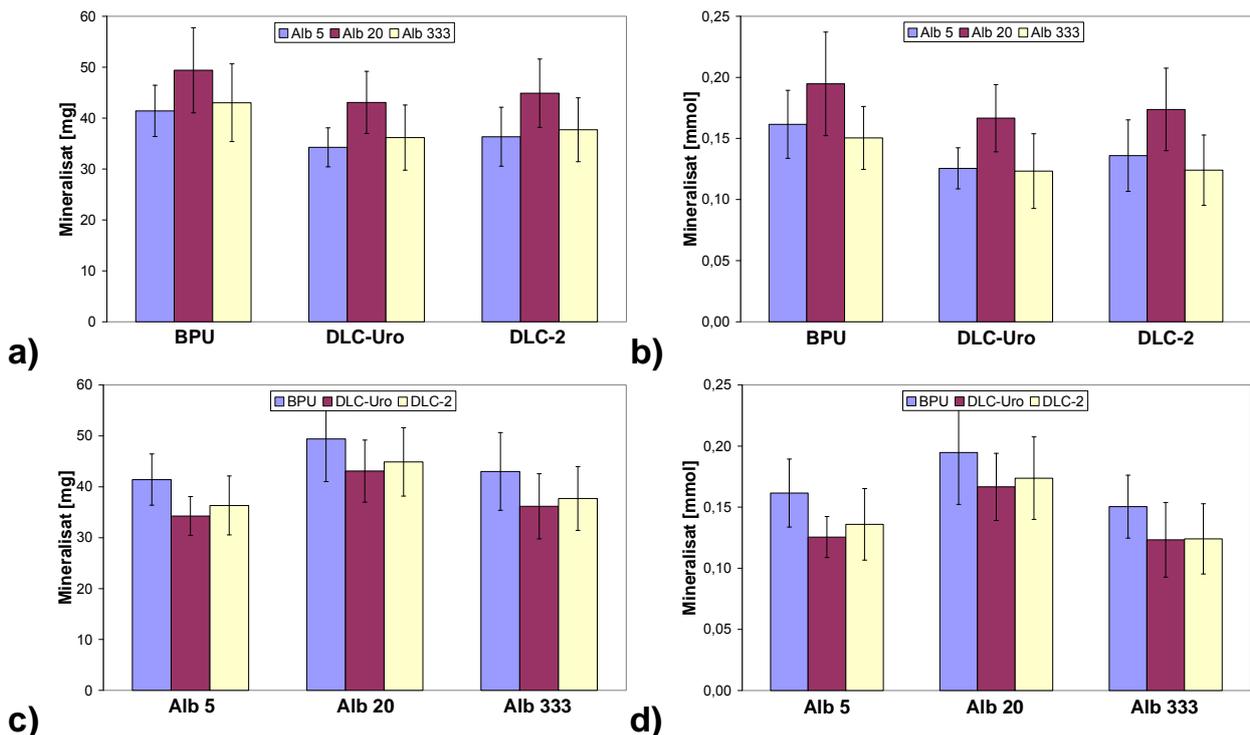


Abb. 24 Durchschnittliche Mineralisatmengen auf den verschiedenen Katheterarten (BPU; DLC-Uro, DLC-2) unter Berücksichtigung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (5, 20 und 333 mg/l) (a) und c) [mg], b) und d) [mmol]).

Im Diagramm **Abb. 24 a)** zeigt sich, dass die höchsten Gesamtmineralisatmengen bei allen drei Katheterarten bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l auftreten [BPU

49,39 ± 8,35 mg; DLC-2 44,88 ± 6,72mg (p = 0,159); DLC-Uro 43,09 ± 6,08 mg (p = 0,046)]. Danach folgen die Gesamtmineralisatmengen, die bei Albuminkonzentrationen von 333 mg/l vorkommen [BPU 43,01 ± 7,63 mg; DLC-2 37,7 ± 6,28 mg (p = 0,76); DLC-Uro 36,17 ± 6,4 mg (p = 0,026)]. Die geringsten Mengen zeigen sich bei einer Albuminkonzentration von 5 mg/l [BPU 41,42 ± 5,02 mg; DLC-2 36,34 ± 5,77 mg (p = 0,012); DLC-Uro 34,26 ± 3,81 mg (p = 0,00008)]. Auffällig ist, dass die Differenz der Gesamtmineralisatmenge zwischen Albuminkonzentrationen von 5 und 333 mg/l nur sehr gering ist. Die jeweilige Differenz zur Gesamtmineralisatmenge bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l ist dagegen jeweils bedeutend größer.

Es zeigt sich, dass sich an den unbeschichteten BPU-Stents bei allen Albuminmengen die größten Gesamtmineralisatmengen bilden. An den DLC-2-Stents entstehen geringere Mineralisatmengen, die geringsten bei allen drei Albuminmengen auf den DLC-Uro-Stents.

In Diagramm **Abb. 24 b)**, bei dem die Gesamtmineralisatmengen in [mmol] untersucht wurden, zeigt sich, dass die Mengen bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l [vergleichbar mit **Abb. 24 a)**] am höchsten sind [BPU 0,195 ± 0,04 mmol; DLC-2 0,174 ± 0,03 mmol (p = 0,194); DLC-Uro 0,167 ± 0,03 mmol (p = 0,068)]. Danach folgen aber, im Gegensatz zu **Abb. 24 a)** die Mengen die sich bei 5 mg Albumin pro Liter Urinlösung bilden [BPU 0,161 ± 0,03 mmol; DLC-2 0,136 ± 0,03 mmol (p = 0,017); DLC-Uro 0,126 ± 0,02 mmol (p = 0,0001)]. Die geringsten Mineralisatmengen treten bei Albuminkonzentrationen von 333 mg/l auf [BPU 0,15 ± 0,03 mmol; DLC-2 0,124 ± 0,03 mmol (p = 0,027); DLC-Uro 0,123 ± 0,03 mmol (p = 0,028)].

In **Abb. 24 c)** werden die Ergebnisse mit umgekehrter Beschriftung dargestellt [im Gegensatz zu **Abb. 24 a)**], d.h. auf der x-Achse wird die Albuminkonzentration abgebildet.

Das Diagramm zeigt deutlich, dass bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l die Gesamtmineralisatmengen auf allen Stentarten am höchsten sind [BPU 49,39 ± 8,35 mg; DLC-2 44,88 ± 6,72 mg (p = 0,159); DLC-Uro 43,09 ± 6,08 mg (p = 0,046)]. Ebenfalls zeigt es, dass auf den BPU-Stents bei allen Albuminkonzentrationen die höchsten Gesamtmineralisatmengen auftreten (Albumin

5 mg/l $41,42 \pm 5,02$ mg; Albumin 333 mg/l $43,01 \pm 7,63$ mg); geringere auf den DLC-2- [Albumin 5 mg/l $36,34 \pm 5,77$ mg ($p = 0,012$); Albumin 333 mg/l $37,7 \pm 6,28$ mg ($p = 0,76$)] und die geringsten auf den DLC-Uro-Stents [Albumin 5 mg/l $34,26 \pm 3,81$ mg ($p = 0,00008$); Albumin 333 mg/l $36,17 \pm 6,4$ mg ($p = 0,026$)].

Auch in **Abb. 24 d)** wurde ein Achsentausch zu **Abb. 24 b)** durchgeführt. Die verschiedenen Albuminkonzentrationen sind auf der x-Achse dargestellt. Die Aussagen, die zu **Abb. 24 b)** getroffen wurden, sind aber auch hier gültig.

Es wird deutlich, dass die höchsten Mineralisatmengen auf den BPU-Stents auftreten (Albumin 5 mg/l $0,161 \pm 0,03$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,195 \pm 0,04$ mmol; Albumin 333 mg/l $0,150 \pm 0,03$ mmol).

Die Verwendung von DLC-2-Stents führt zu geringeren Mineralisatablagerungen [Albumin 5 mg/l $0,136 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,017$); Albumin 20 mg/l $0,174 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,194$); Albumin 333 mg/l $0,124 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,027$)].

Die geringsten Mineralisatmengen treten auf den DLC-Uro-Stents auf [Albumin 5 mg/l $0,126 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,0001$); Albumin 20 mg/l $0,167 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,068$); Albumin 333 mg/l $0,123 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,028$)].

In der durchgeführten Varianzanalyse für [mg] und [mmol] unter Beachtung der verschiedenen Stenttypen (BPU, DLC-Uro, DLC-2) und Albuminkonzentrationen (5, 20, 333 mg/l) zeigt sich ein F-Wert von 5,1433. Somit unterscheiden sich die einzelnen Gruppenmittelwerte signifikant voneinander.

5.4.2 Normierter Vergleich der Gesamtmineralisatmengen unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen

Bei dieser Diagrammdarstellung dient der Mittelwert der Gesamtmineralisatmengen auf den BPU-Stents als Leitwert und wird gleich eins gesetzt. Die Gesamtmineralisatmengen der anderen Stents werden damit verglichen; d. h. Werte kleiner als eins bedeuten, dass weniger Mineralisat auf den Stents vorhanden ist als auf den BPU-Referenzstents.

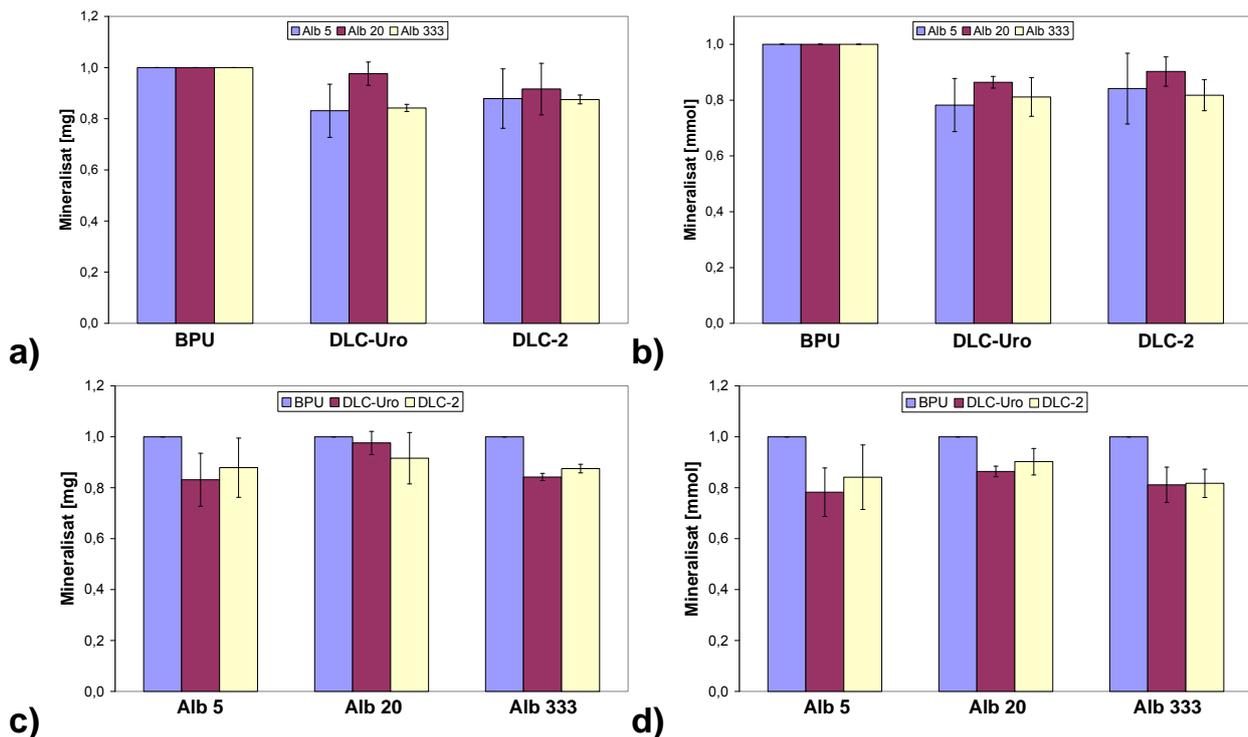


Abb. 25 Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 5.7**. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisationsmengen der BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in Beziehung gesetzt. (a) und c) [mg], b) und d) [mmol]).

In **Abb. 25 a)** und **c)** werden die normierten [mg]-Mengen des Gesamtmineralisats betrachtet.

Es zeigt sich, dass sich auf den BPU-Stents bei allen Albuminkonzentrationen die höchsten Gesamtmineralisationsmengen ablagern (jeweils $1 \pm 0,0$). Außer bei einer Albuminkonzentration von 20 mg bilden sich immer auf den DLC-Uro-Stents die geringsten Mineralisationsmengen [DLC-Uro Alb 5 mg/l $0,831 \pm 0,1$ ($p = 0,018$); Alb 20 mg/l $0,976 \pm 0,05$ ($p = 0,009$); Alb 333 mg/l $0,842 \pm 0,01$ ($p = 0,004$)] [DLC-2 Alb 5 mg/l $0,879 \pm 0,12$ ($p = 0,082$); Alb 20 mg/l $0,916 \pm 0,1$ ($p = 0,223$); Alb 333 mg/l $0,875 \pm 0,02$ ($p = 0,0002$)].

Ebenso wird deutlich, dass bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l jeweils das meiste Mineralisat auftritt [BPU $1 \pm 0,0$; DLC-Uro $0,976 \pm 0,05$ ($p = 0,009$); DLC-2 $0,916 \pm 0,1$ ($p = 0,223$)].

Abb. 25 b) und **d)** zeigen, vergleichbar zu den **Abb. 25 a)** und **c)**, dass sich auf den unbeschichteten BPU-Stents bei allen Albuminkonzentrationen die größten

Gesamtmineralisatmengen bilden (jeweils $1 \pm 0,0$). Die Mineralisatmengen der DLC-2-Stents sind geringer [Alb 5 mg/l $0,84 \pm 0,13$ ($p = 0,046$); Alb 20 mg/l $0,90 \pm 0,05$ ($p = 0,032$); Alb 333 mg/l $0,82 \pm 0,06$ ($p = 0,005$)].

Auf den DLC-Uro-Stents lagern sich bei allen Albuminkonzentrationen die geringsten Mineralisatmengen ab [Alb 5 mg/l $0,78 \pm 0,1$ ($p = 0,004$); Alb 20 mg/l $0,86 \pm 0,02$ ($p = 0,0004$); Alb 333 mg/l $0,81 \pm 0,07$ ($p = 0,009$)].

Bei genauer Betrachtung der Albuminkonzentrationen wird deutlich, dass die DLC-2-Stents die geringste Mineralisatmenge bei einer Albuminkonzentration von 333 mg/l [$0,82 \pm 0,06$ ($p = 0,005$)] zeigen. Die DLC-Uro-Stents bilden dagegen die geringste Mineralisatmenge bei einer Albuminkonzentration von 5 mg/l [$0,782 \pm 0,1$ ($p = 0,004$)].

5.4.3 Gesamtmineralisatmengen der BPU-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen

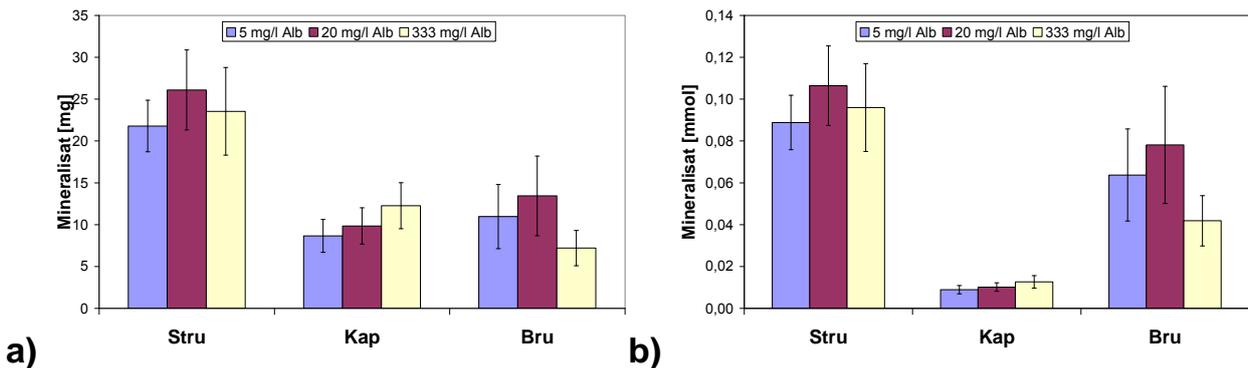


Abb. 26 Durchschnittliche Mineralisatmenge der BPU-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Beachtung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (a) [mg] und b) [mmol].

Zusammenfassend ist zum Diagramm **Abb. 26 a)** zu sagen, dass Struvit auf den BPU-Stents bei allen Albuminkonzentrationen anteilmäßig in den größten Mengen auftritt [Albumin 5 mg/l $21,79 \pm 3,07$ mg; Albumin 20 mg/l $26,1 \pm 4,78$ mg ($p = 0,007$); Albumin 333 mg/l $23,54 \pm 5,24$ mg ($p = 0,277$)]. Die größte Struvitmenge lagert sich bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l ab.

Mengenmäßig folgt außer bei einer Konzentration von 333 mg/l der Brushit-Anteil [Albumin 5 mg/l $10,97 \pm 3,84$ mg; Albumin 20 mg/l $13,44 \pm 4,76$ mg ($p = 0,14$); Albumin 333 mg/l $7,2 \pm 2,11$ mg ($p = 0,005$)].

Carbonat-Hydroxylapatit stellt außer bei einer Konzentration von 333 mg/l den geringsten Anteil [Albumin 5 mg/l $8,66 \pm 1,96$ mg; Albumin 20 mg/l $9,85 \pm 2,16$ mg ($p = 0,141$); Albumin 333 mg/l $12,27 \pm 2,75$ mg ($p = 0,0004$)].

Abb. 26 b) gibt die Ergebnisse in [mmol] wieder. Auch hier bildet Struvit bei allen Albuminkonzentrationen den größten Anteil [Albumin 5 mg/l $0,09 \pm 0,01$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,11 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,007$); Albumin 333 mg/l $0,1 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,277$)].

Einen geringeren Anteil besitzt Brushit [Albumin 5 mg/l $0,06 \pm 0,02$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,08 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,14$); Albumin 333 mg/l $0,04 \pm 0,01$ mmol ($p = 0,005$)].

Am wenigsten trägt Kap bei allen Albuminkonzentrationen zum Gesamtmineralisat bei [Albumin 5 mg/l $0,009 \pm 0,02$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,01 \pm 0,002$ mmol ($p = 0,141$); Albumin 333 mg/l $0,013 \pm 0,003$ mmol ($p = 0,0004$)].

5.4.4 Gesamtmineralisatmengen der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen

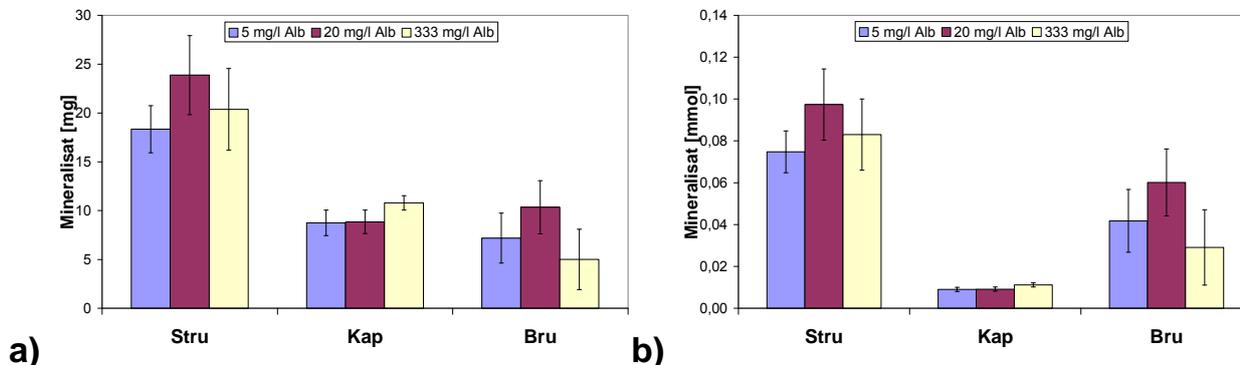


Abb. 27 Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Berücksichtigung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).

In **Abb. 27 a)** zeigt sich, dass Struvit bei allen Albuminkonzentrationen auf den DLC-Uro-Stents den größten Anteil bildet [Albumin 5 mg/l $18,34 \pm 2,41$ mg; Albumin 20 mg/l $23,89 \pm 4,05$ mg ($p = 0,0001$); Albumin 333 mg/l $20,37 \pm 4,19$ mg ($p = 0,116$)].

Kap tritt bei allen Albuminkonzentrationen, außer 20 mg/l, in geringeren Mengen auf [Albumin 5 mg/l $8,74 \pm 1,3$ mg; Albumin 20 mg/l $8,85 \pm 1,2$ mg ($p = 0,816$); Albumin 333 mg/l $10,79 \pm 0,73$ mg ($p = 0,00004$)].

Brushit allerdings bildet bei allen Albuminkonzentrationen, außer 20 mg/l, die geringsten Mengen [Albumin 5 mg/l $7,19 \pm 2,56$ mg; Albumin 20 mg/l $10,35 \pm 2,72$ mg ($p = 0,004$); Albumin 333 mg/l $5,01 \pm 3,09$ mg ($p = 0,052$)].

Abb. 27 b) stellt die Gesamtmineralisat-Anteile in [mmol] dar. Struvit besitzt dabei bei allen Albuminkonzentrationen den größten Anteil auf den DLC-Uro-Stents [Albumin 5 mg/l $0,07 \pm 0,01$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,1 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,0001$); Albumin 333 mg/l $0,08 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,116$)].

Im Unterschied zu **Abb. 27 a)** folgt darauf bei allen Albuminkonzentrationen Brushit [Albumin 5 mg/l $0,04 \pm 0,02$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,06 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,004$); Albumin 333 mg/l $0,03 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,052$)].

Die niedrigsten Anteile am Gesamtmineralisat besitzt Kap [Albumin 5 mg/l $0,01 \pm 0,001$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,01 \pm 0,001$ mmol ($p = 0,816$); Albumin 333 mg/l $0,01 \pm 0,001$ mmol ($p = 0,00004$)].

5.4.5 Gesamtmineralisatmengen der DLC-2-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen

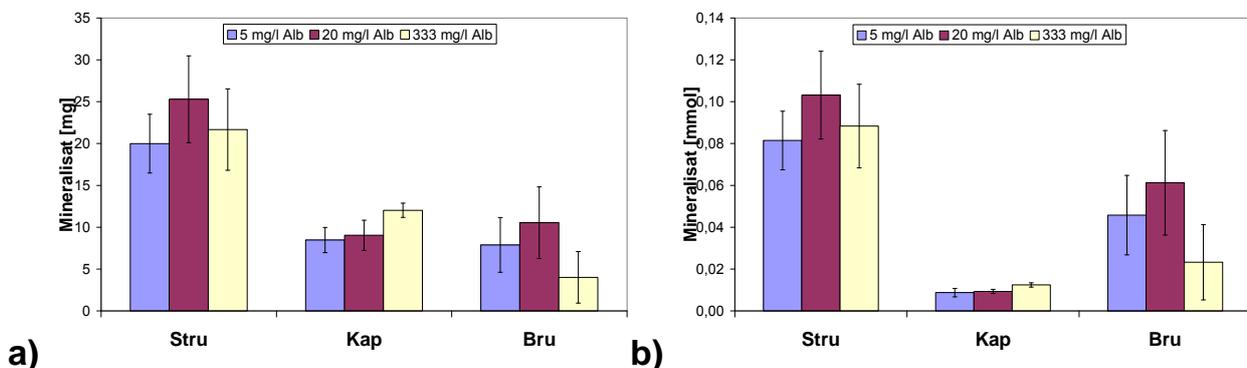


Abb. 28 Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-2-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Berücksichtigung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (**a**) [mg] und (**b**) [mmol]).

Abb. 28 a) gibt die Anteile am Gesamtmineralisat in [mg] wieder. Es zeigt sich, dass Struvit bei allen Albuminkonzentrationen den höchsten Anteil auf den DLC-2-Stents besitzt [Albumin 5 mg/l $19,99 \pm 3,5$ mg; Albumin 20 mg/l $25,3 \pm 5,19$ mg ($p = 0,003$); Albumin 333 mg/l $21,67 \pm 4,86$ mg ($p = 0,296$)].

Geringere Anteile am Gesamtmineralisat bei allen Albuminkonzentrationen, außer bei 20 mg/l, hat Kap [Albumin 5 mg/l $8,47 \pm 1,51$ mg; Albumin 20 mg/l $9,04 \pm 1,8$ mg ($p = 0,372$); Albumin 333 mg/l $12,02 \pm 0,85$ mg ($p = 0,00000009$)].

Brushit kommt bei allen untersuchten Albuminkonzentrationen, außer 20 mg/l, am wenigsten vor [Albumin 5 mg/l $7,88 \pm 3,27$ mg; Albumin 20 mg/l $10,54 \pm 4,29$ mg ($p = 0,073$); Albumin 333 mg/l $4,01 \pm 3,08$ mg ($p = 0,004$)].

In **Abb. 28 b)** werden die Ergebnisse in [mmol] dargestellt. Auch hier zeigt sich, dass Struvit den größten Anteil bildet [Albumin 5 mg/l $0,08 \pm 0,01$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,1 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,003$); Albumin 333 mg/l $0,09 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,296$)].

Einen geringeren Anteil am Gesamtmineralisat besitzt Brushit [Albumin 5 mg/l $0,05 \pm 0,02$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,06 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,073$); Albumin 333 mg/l $0,02 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,004$)].

Kap macht am Gesamtmineralisat den geringsten Anteil aus [Albumin 5 mg/l $0,01 \pm 0,002$ mmol; Albumin 20 mg/l $0,01 \pm 0,001$ mmol ($p = 0,372$); Albumin 333 mg/l $0,01 \pm 0,001$ mmol ($p = 0,00000009$)].

5.5 Vergleiche der Katheterversuche mit und ohne Albuminzugabe

5.5.1 Gesamtmineralisatmengen mit und ohne die Zugabe von Albumin

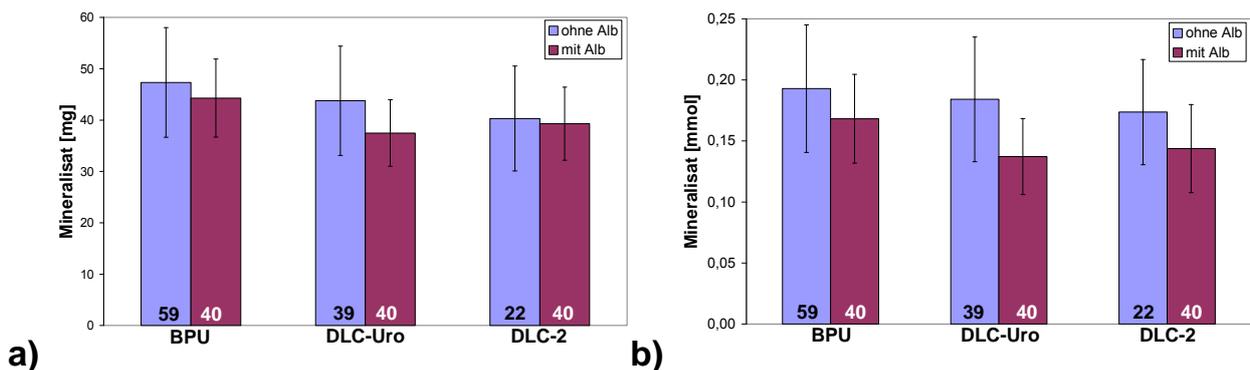


Abb. 29 Vergleich der durchschnittlichen Gesamtmineralisatmengen in **a)** [mg] und **b)** [mmol] der verschiedenen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) mit und ohne die Zugabe von Albumin. Die jeweils verwendete Anzahl von Stents pro Katheterart ist durch die Zahlen in den Balken angegeben (BPU ohne Alb $n = 59$, mit Alb $n = 40$; DLC-Uro ohne Alb $n = 39$, mit Alb $n = 40$; DLC-2 ohne Alb $n = 22$, mit Alb $n = 40$).

Das Diagramm **Abb. 29 a)** zeigt, dass bei allen Stenttypen die Mineralisatmengen unter Albumin geringer sind als ohne die Zugabe von Albumin. Bei den BPU-Stents treten die größten Mengen auf, jeweils ohne ($47,33 \pm 10,67$ mg) und mit Albumin ($44,29 \pm 7,59$ mg) ($p = 0,124$). Die DLC-Uro-Stents zeigen ohne Albuminzugabe eine Mineralisatmenge von $43,77 \pm 10,66$ mg und mit Albuminzugabe eine von $37,48 \pm 6,48$ mg ($p = 0,002$). Auf den DLC-2-Stents bilden sich ohne Albumin Mineralisatmengen von $40,31 \pm 10,21$ mg und mit Albumin $39,31 \pm 7,12$ mg ($p = 0,654$). Somit zeigt sich, dass die DLC-2-Stents ohne Albumin und die DLC-Uro-Stents mit Albumin die geringsten Mineralisatmengen haben.

In **Abb. 29 b)** sind die Ergebnisse in [mmol] dargestellt und von der anteilmäßigen Verteilung mit **Abb. 29 a)** vergleichbar. Auffällig ist allerdings, dass die Differenzen zwischen den Ergebnissen der Versuche mit und ohne Albumin innerhalb eines Stenttyps größer sind und somit die Ergebnisse signifikanter sind.

Die BPU-Stents weisen ohne Albumin eine Mineralisatmenge von $0,193 \pm 0,05$ mmol auf, unter Zugabe von Albumin $0,168 \pm 0,04$ mmol ($p = 0,011$). Auf den DLC-Uro Stents bilden sich ohne Albumin Mineralisatmengen von $0,184 \pm 0,05$ mmol, mit Albumin $0,137 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,000004$). Bei den DLC-2-Stents zeigt sich eine Mineralisatmenge ohne Albumin von $0,174 \pm 0,04$ mmol, mit Albumin von $0,144 \pm 0,04$ mmol ($p = 0,005$).

Somit ist die Mineralisatmenge bei den DLC-2-Stents ohne Albumin am geringsten, bei den DLC-Uro-Stents mit Albumin. Damit sind diese Ergebnisse vergleichbar mit denen in [mg] [siehe **Abb. 29 a)**].

5.5.2 Normierte Darstellung der Gesamtmineralisatmengen mit und ohne die Zugabe von Albumin

Bei diesem Diagramm wird der Mittelwert der Gesamtmineralisatmengen in [mmol] der BPU-Stents gleich eins gesetzt. Anhand dieses Wertes werden die anderen Mineralisatwerte der Stents normiert. Somit bedeutet ein Wert kleiner als eins, dass die Gesamtmineralisatmenge geringer ist als auf den BPU-Stents.

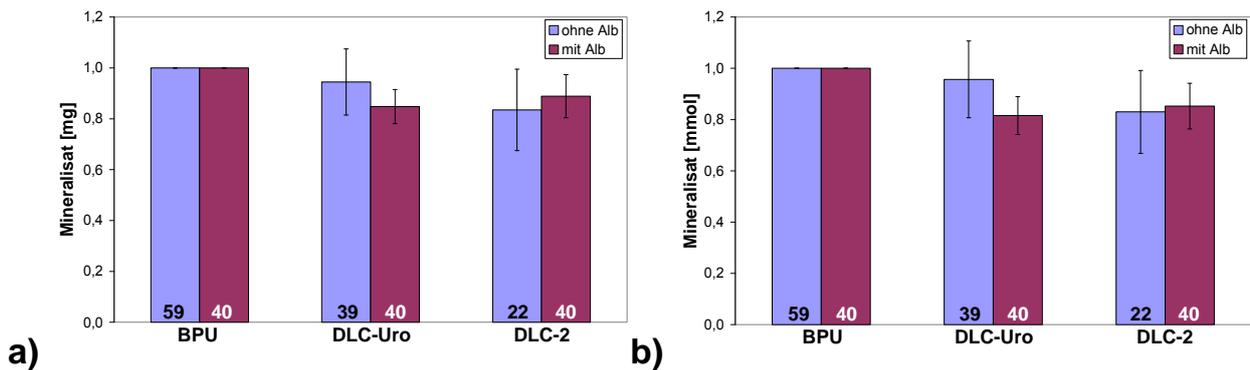


Abb. 30 Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 29** in **a)** [mg] und **b)** [mmol]. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und diese gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in Bezug gesetzt.

Abb. 30 a) zeigt, die normierten [mg]-Ergebnisse. Dabei haben die unbeschichteten BPU-Referenzstents ohne ($1 \pm 0,0$) und mit Albumin ($1 \pm 0,0$) jeweils das meiste Mineralisat. Bei den DLC-Uro-Stents liegt die Mineralisatmenge ohne Albumin bei $0,945 \pm 0,13$, mit Albumin bei $0,848 \pm 0,07$ ($p = 0,042$). Die DLC-2-Stents zeigen ohne Albumin eine Mineralisatmenge von $0,835 \pm 0,16$, mit Albumin eine von $0,889 \pm 0,08$ ($p = 0,37$).

Das Diagramm **Abb. 30 b)** in [mmol] ist mit der Darstellung des Gesamtmineralisats in [mg] [siehe **Abb. 30 a)**] vergleichbar.

Bei den Versuchen ohne Albumin haben die BPU-Stents die größte Gesamtmineralisatmenge ($1 \pm 0,0$), gefolgt von den DLC-Uro- ($0,957 \pm 0,15$) und dann den DLC-2-Stents ($0,83 \pm 0,16$).

Bei den Experimenten mit Albumin haben ebenfalls die BPU-Stents das größte Gesamtmineralisat ($1 \pm 0,0$), dann aber folgen die DLC-2-Stents ($0,853 \pm 0,09$) und danach die DLC-Uro-Stents ($0,816 \pm 0,07$). Somit besteht zwischen den DLC-Uro-Stents und den BPU-Referenzstents ein signifikanter Unterschied ($p = 0,011$). Nicht so zwischen Referenz- und DLC-2-Stents ($p = 0,712$).

5.5.3 Gesamtmineralisatmengen der BPU-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru mit und ohne Albuminzugabe

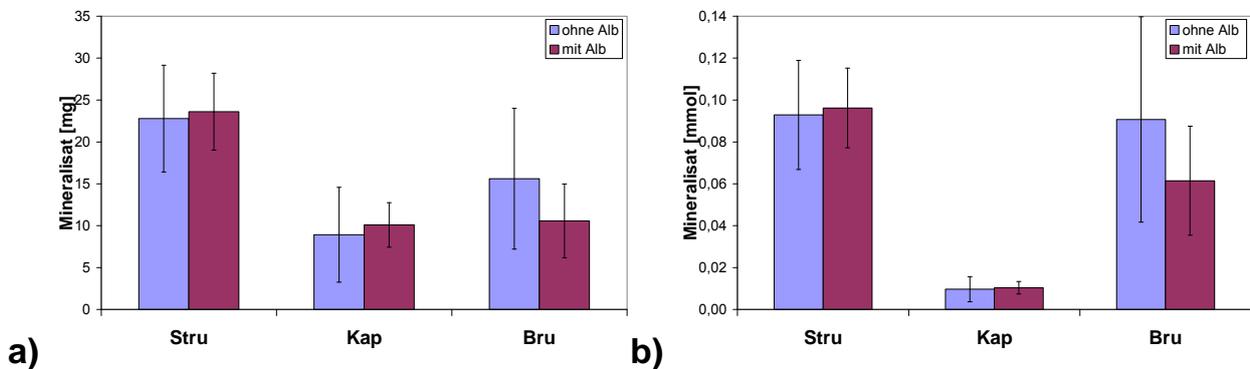


Abb. 31 Durchschnittliche Mineralisatmenge der BPU-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) mit und ohne Albuminzugabe (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).

In **Abb. 31 a**) sind die Ergebnisse in [mg] dargestellt. Struvit besitzt auf den BPU-Stents den größten Anteil [ohne Albumin $22,78 \pm 6,38$ mg; mit Albumin $23,61 \pm 4,59$ mg ($p = 0,482$)].

Danach folgt Brushit [ohne Albumin $15,61 \pm 8,4$ mg; mit Albumin $10,58 \pm 4,4$ mg ($p = 0,0008$)].

Den geringsten Anteil am Gesamtmineralisat hat Kap [ohne Albumin $8,93 \pm 5,66$ mg; mit Albumin $10,1 \pm 2,66$ mg ($p = 0,229$)].

Abb. 31 b) zeigt die Ergebnisse in [mmol]. Auch hier stellt Struvit den größten Anteil [ohne Albumin $0,0929 \pm 0,03$ mmol; mit Albumin $0,1 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,482$)].

Den zweitgrößten Anteil besitzt Brushit [ohne Alb $0,0907 \pm 0,05$ mmol; mit Albumin $0,06 \pm 0,03$ mmol ($p = 0,0008$)].

Am Gesamtmineralisat hat Kap den geringsten Anteil [ohne Albumin $0,0097 \pm 0,01$ mmol; mit Albumin $0,01 \pm 0,003$ mmol ($p = 0,486$)].

Zusammenfassend ist zu diesen beiden Diagrammen zu sagen, dass sich die Struvit- und Kap-Anteile unter Albumingabe vermehren, die Brushit-Anteile vermindern sich dagegen unter Albumin.

5.5.4 Gesamtmineralisatmengen der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru mit und ohne Albuminzugabe

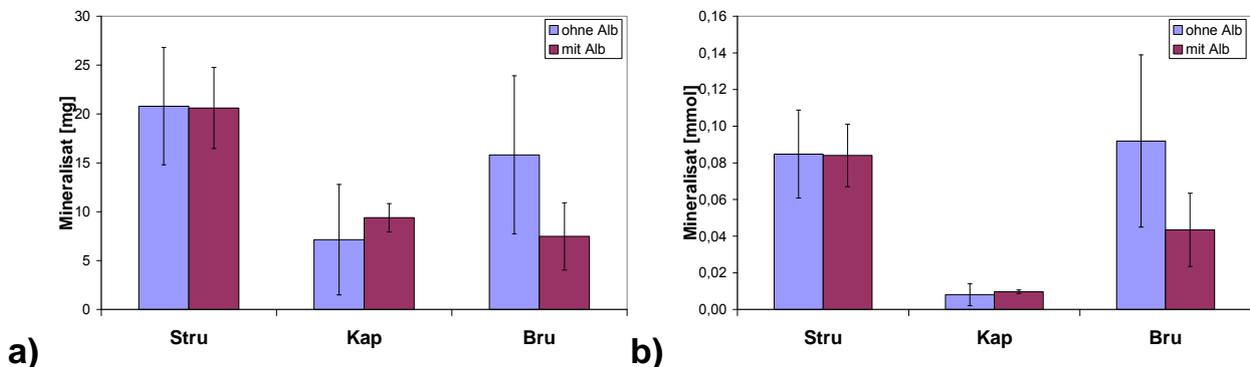


Abb. 32 Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) mit und ohne Albuminzugabe (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).

In **Abb. 32 a**) ist der Struvit-Anteil auf den DLC-Uro-Stents ohne und mit Albuminzugabe am größten [ohne Albumin $20,8 \pm 6,0$ mg; mit Albumin $20,61 \pm 4,15$ mg ($p = 0,874$)].

Ohne Albuminzugabe folgt mengenmäßig Brushit ($15,82 \pm 8,08$ mg). Kap zeigt mit $7,15 \pm 5,65$ mg die geringsten Mengen.

Unter Albuminzugabe ändert sich die Mineralisatverteilung: zuerst folgt Kap ($9,39 \pm 1,44$ mg), danach Brushit ($7,48 \pm 3,43$ mg).

Die Brushit-Anteile vermindern sich unter Albumin mit einer Signifikanz von $p = 0,00000006$. Die Kap-Anteile vermehren sich dagegen bei Albumingabe mit einer Signifikanz von $p = 0,174$.

In **Abb. 32 b**) sind die Ergebnisse in [mmol] wiedergegeben.

Struvit stellt hier, im Gegensatz zu den vorherigen Ergebnissen, nicht den größten Anteil [ohne Albumin $0,0848 \pm 0,02$ mmol; mit Albumin $0,084 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,874$)], denn bei der Gabe von Albumin tritt mehr Brushit als Struvit auf [ohne Albumin $0,09 \pm 0,05$ mmol; mit Albumin $0,04 \pm 0,02$ mmol ($p = 0,00000006$)]. Kap tritt mit und ohne Albuminzugabe in den geringsten Mengen auf [ohne Albumin $0,01 \pm 0,006$ mmol; mit Albumin $0,01 \pm 0,001$ mmol ($p = 0,139$)].

5.5.5 Gesamtmineralisatmengen der DLC-2-Stents aufgeteilt in Stru, Kap und Bru mit und ohne Albuminzugabe

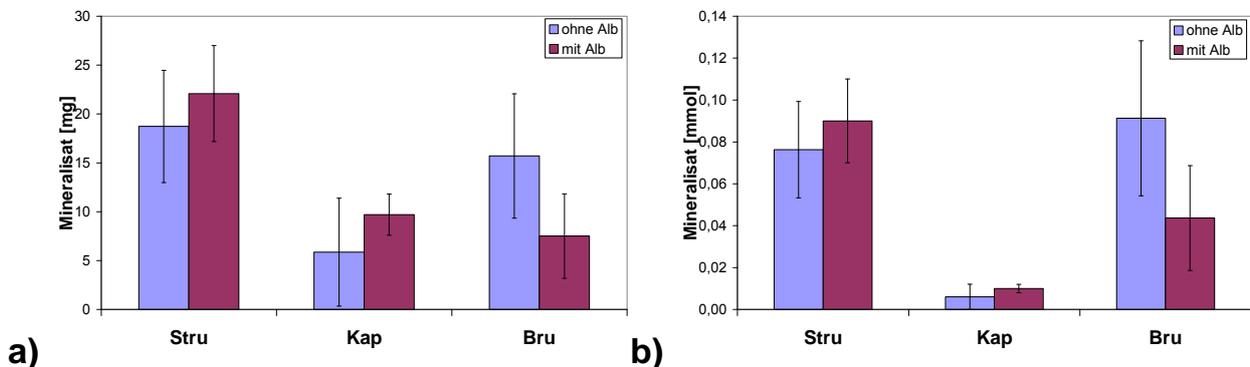


Abb. 33 Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-2-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) mit und ohne Albuminzugabe (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).

Die **Abb. 33 a)** gibt die Ergebnisse für die DLC-2-Stents in [mg] wieder. Auch hier ist Struvit das am meisten auftretende Mineral [ohne Alb 18,73 ± 5,73 mg; mit Alb 22,09 ± 4,9 mg ($p = 0,018$)].

Darauf folgt ohne Albumingabe Brushit (ohne Alb 15,71 ± 6,36 mg), dann Kap (ohne Alb 5,87 ± 5,52 mg). Unter Albuminzugabe tritt mengenmäßig mehr Kap (9,71 ± 2,1 mg) als Brushit (7,52 ± 4,32 mg) auf.

Die Brushit-Anteile vermindern sich unter Albumin mit einer Signifikanz von $p = 0,0000001$. Die Kap-Anteile vermehren sich dagegen bei Albumingabe mit einer Signifikanz von $p = 0,0002$.

Wenn man die Ergebnisse von **Abb. 33 a)** in [mmol] betrachtet [siehe **Abb. 33 b)**] zeigt sich, dass Struvit hier nicht immer das häufigste Mineralisat ist [Struvit ohne Albumin 0,076 ± 0,02 mmol; mit Albumin 0,09 ± 0,02 mmol ($p = 0,018$)]. Ohne die Zugabe von Albumin tritt nämlich mehr Brushit als Struvit auf [Brushit ohne Albumin 0,09 ± 0,04 mmol; mit Albumin 0,04 ± 0,03 mmol ($p = 0,0000001$)]. Kap stellt bei allen den geringsten Anteil am Gesamtmineralisat [ohne Albumin 0,006 ± 0,01 mmol; mit Albumin 0,01 ± 0,002 mmol ($p = 0,0002$)].

5.6 pH-Wert

Dieses Kapitel befasst sich mit dem Einfluss der Albuminzugabe auf den Verlauf des pH-Wertes während der 45 stündigen Inkubationszeit. Alle pH-Wert-Verläufe haben den stetigen Anstieg der Werte während der Untersuchungszeit gemeinsam.

Die dargestellten Verläufe sind Mittelwerte, die sich aus den Werten der drei pH-Messsonden pro Versuchsreihe (Run) ergeben.

5.6.1 pH-Werte ohne Zugabe von Albumin

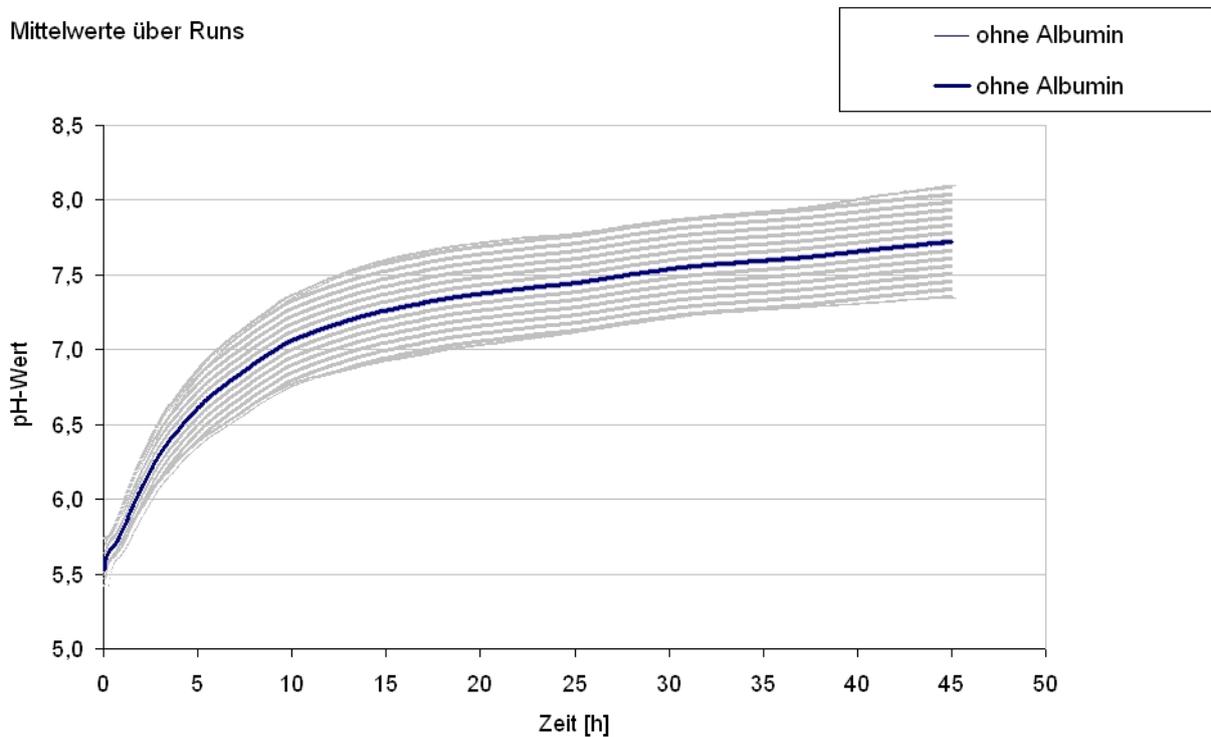


Abb. 34 Übersicht der pH-Werte während der 45 stündigen Inkubationszeit ohne die Zugabe von Albumin mit Hervorhebung des Durchschnitts der Mittelwerte.

Abb. 34 stellt die pH-Werte ohne Albuminzugabe in die künstliche Urinlösung während der 45 stündigen Inkubationszeit dar. Die Mittelwerte schwanken im Durchschnitt zwischen einem Minimum von 5,5 und einem Maximum von 7,7. Auffällig ist, dass der Verlauf ab einem pH-Wert von ca. 7,0 weniger stark ansteigt als zuvor.

5.6.2 pH-Werte unter Zugabe von Albumin

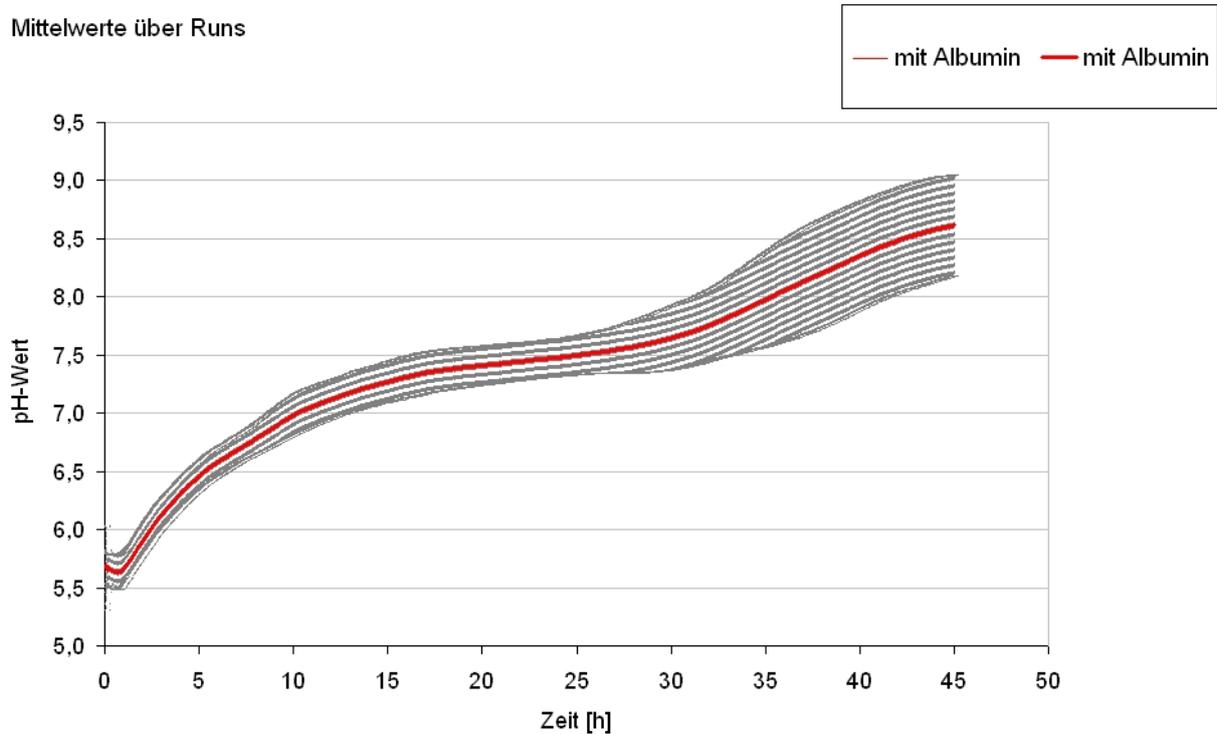


Abb. 35 Übersicht der pH-Werte während der 45 stündigen Inkubationszeit unter Zugabe von Albumin mit Hervorhebung des Durchschnitts der Mittelwerte.

In **Abb. 35** wird der pH-Wert-Verlauf unter Albuminzugabe während der 45 stündigen Inkubationszeit gezeigt. Die pH-Mittelwerte während der Experimentdauer steigen im Durchschnitt von einem pH-Wert von 5,6 auf 8,6. Im Unterschied zu dem Verlauf der pH-Werte ohne Albuminzugabe (**Abb. 34**) zeigt sich zum stetigen Anstieg allerdings das Erreichen eines kurzzeitigen Niveaus. Dieses bildet sich ca. über 5 Stunden bei einem pH-Wert von 7,5. Danach steigen die Werte weiter bis auf ca. 8,6 im Durchschnitt.

5.6.3 Vergleich der pH-Werte mit und ohne Zugabe von Albumin

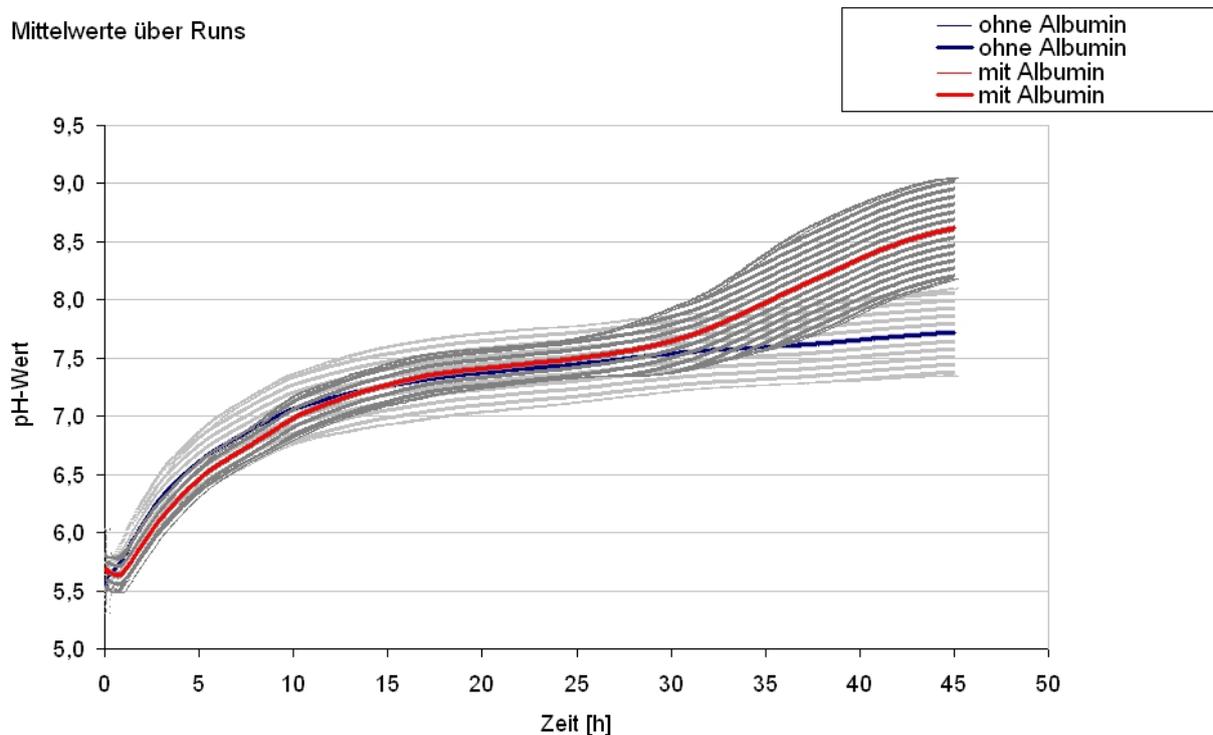


Abb. 36 Vergleich der pH-Werte mit und ohne die Zugabe von Albumin mit Hervorhebung des Durchschnitts der jeweiligen Mittelwerte.

Abb. 36 vergleicht die pH-Wert-Verläufe mit und ohne die Zugabe von Albumin in die Urinlösung. Deutlich wird hierbei der anfangs noch ähnliche Anstieg der pH-Werte bis zur ca. 27ten Stunde auf 7,5 (im Durchschnitt). Im Verlauf der weiteren Inkubationszeit steigen die Durchschnittswerte unter Albuminzugabe deutlich höher (8,6) an als ohne Albumin (7,6).

5.7 Sphärische Präzipitation

Ein Phänomen trat bei den vorherigen Katheterversuchen (K 1 bis K 21), die von der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonns ohne Albuminzugabe durchgeführt wurden, nicht auf: die sphärische Bildung von Präzipitaten auf den Harnleiterschienen. Diese wird nur bei den Versuchen mit Albuminzugabe beobachtet und ist auf den **Abb. 37** und **38** exemplarisch dargestellt. Seit dieser Entdeckung wurde jeder Versuchs-Run fotodokumentiert, d.h. nach einer eintägigen Trocknung der

12 Harnleiterschienen im Halterahmen wurden eine Übersichtsaufnahme und zum Teil Nahaufnahmen der einzelnen Stents von der Fotoabteilung des Universitätsklinikums Bonn angefertigt. Die Übersichtsaufnahmen dienen zur Feststellung der Präzipitanzahl auf jedem einzelnen Stent (siehe **Abb. 39** und **40**).

Nach unserer Definition ist ein „sphärisches Präzipitat“ eine mindestens 1 mm große, relativ runde Erhabenheit, die sich vom flachen Mineralisationsrasen auf den Stents abhebt und selbst von Kristallen überzogen ist (siehe **Abb. 37** und **38**).

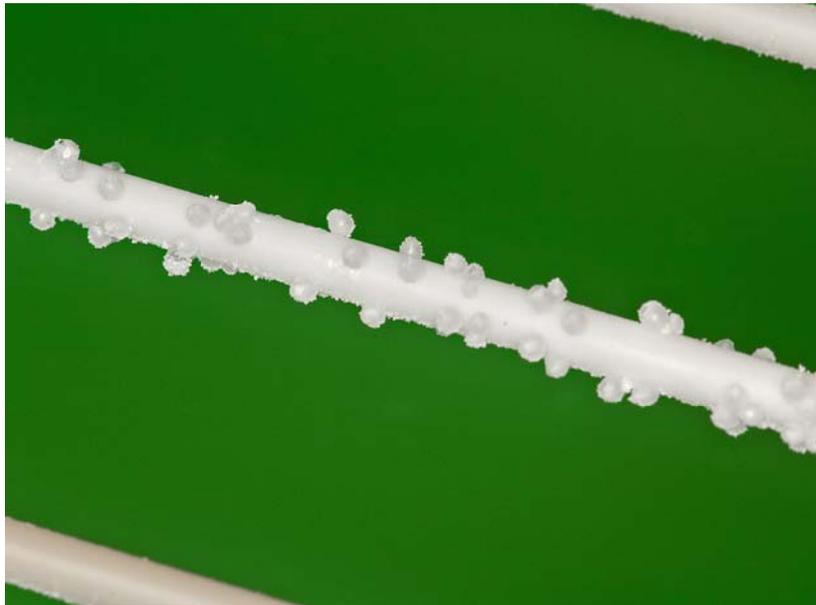


Abb. 37 Übersichtsaufnahme eines unbeschichteten BPU-Polyurethan-Referenzstents nach 45 stündiger Inkubationszeit im Albumin-haltigen (333 mg/l) synthetischen Urin. Sichtbar wird hier die sphärische Präzipitation. Es besteht ein großer Unterschied in der Hohlkörperanzahl zu den mit a-C:H-beschichteten Stents (hier in den Bildecken angeschnitten), an denen sich deutlich weniger Hohlstrukturen bilden. Die Größe dieser beträgt ca. 1mm im Durchmesser.

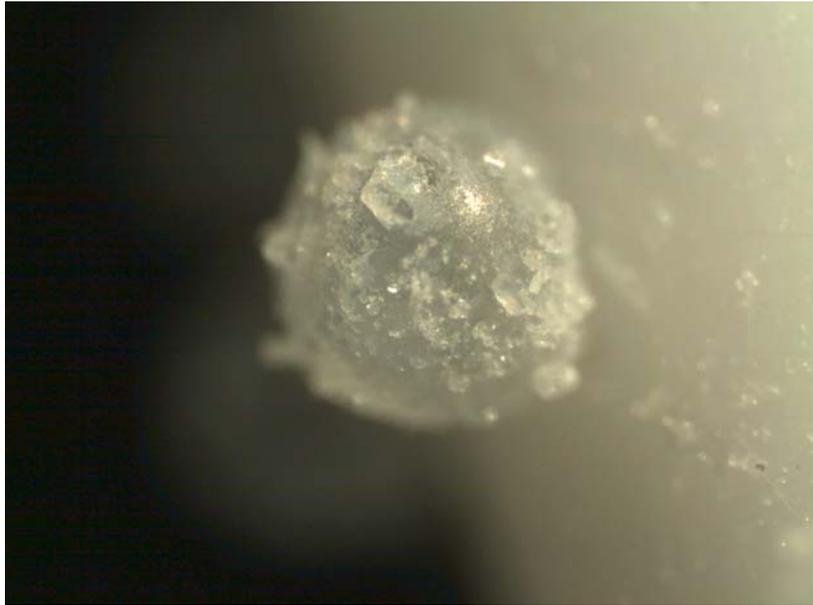


Abb. 38 Lichtmikroskopische Untersuchungen machen deutlich, dass die Präzipitate, die sich an den Stents bilden, hohle Kugeln sind, an denen sich wiederum Kristalle anlagern.

Die jeweilige Präzipitanzahl eines jeden Stents (BPU, DLC-2, DLC-Uro, etc.) wird in einer normierten Zählweise mithilfe der Photographien bestimmt. Diese Ergebnisse werden, wie in den **Abb. 39** und **40** verdeutlicht, gegen die Gesamtmineralisatmenge des jeweiligen Stents gesetzt und auf bestimmte Aspekte hin untersucht.

5.7.1 Beziehung zwischen sphärischer Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge unter Berücksichtigung verschiedener Albuminkonzentrationen

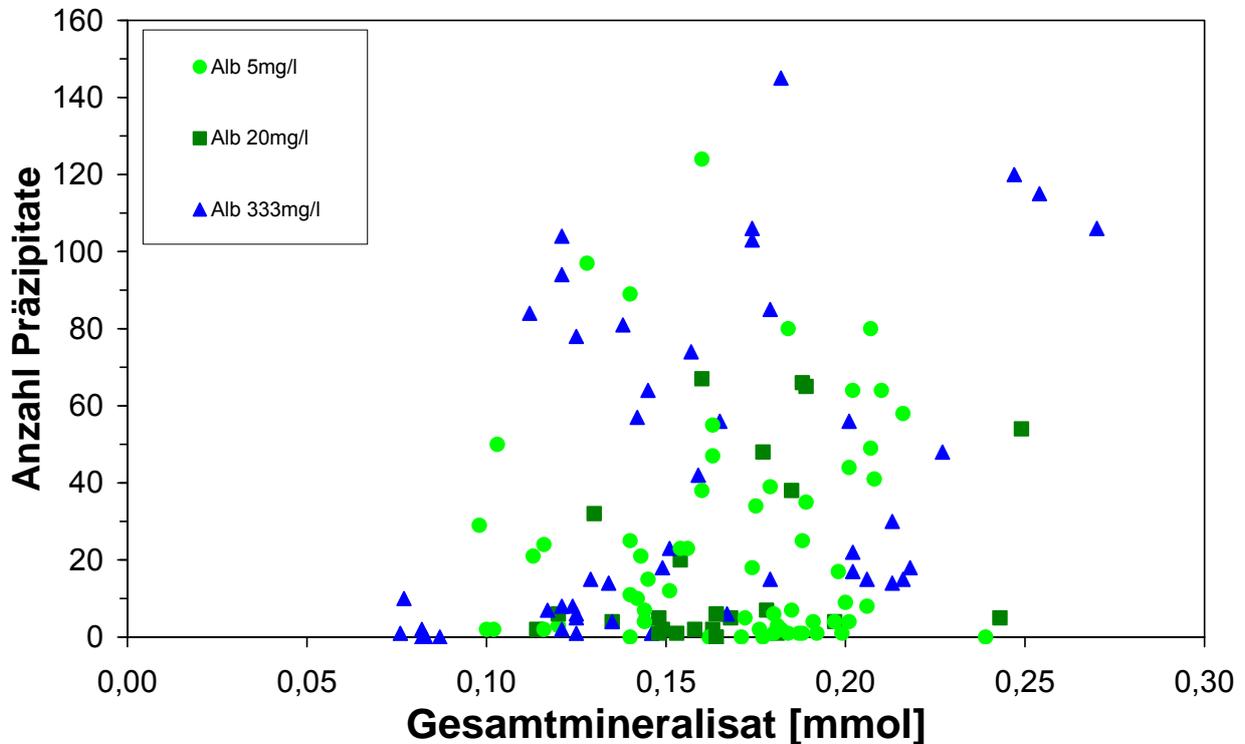


Abb. 39 Zusammenhang zwischen sphärischer Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge [mmol] in Bezug auf die verschiedenen Albuminkonzentrationen (5 mg/l, 20 mg/l, 333 mg/l). Es wird deutlich, dass die Albuminkonzentration keinen Einfluss auf die Präzipitanzahl hat.

In **Abb. 39** wird die Gesamtmineralisatmenge [mmol] in Bezug zur Präzipitanzahl und der jeweils zugeführten Albuminmenge (5 mg/l, 20 mg/l, 333 mg/l) gesetzt.

Es wird durch diese Darstellung deutlich, dass es keinen Zusammenhang zwischen der jeweiligen Albuminmenge und der Hohlkörperanzahl gibt. Bei jeder Albuminmenge gibt es hohe wie auch niedrige Präzipitanzahlen.

Bei 5 mg/l liegt das Maximum der Hohlkörperanzahl bei 124, das Minimum bei 0 (Mittelwert $24,03 \pm 28,44$). Bei einer Albuminzugabe von 20 mg/l tritt ein Maximum von 67 und ein Minimum von 0 auf [Mittelwert $18,46 \pm 23,98$] ($p = 0,4$). Die Zugabe von 333 mg/l Albumin führte zu einem Maximum von 145 Präzipitaten und einem Minimum von 0 [Mittelwert $39,6 \pm 41,45$] ($p = 0,023$).

Ebenfalls gibt es keinen Zusammenhang zwischen der Menge des Gesamtmineralisats und der Präzipitanzahl. Bei ähnlichen Mengen des Gesamtmineralisats kann es ganz unterschiedliche Anzahlen geben, z. B. bei einer Gesamtmineralisatmenge von ca. 0,17 mmol treten Präzipitanzahlen von 85, 48, 34, 15, 7 bis 0 auf.

Andererseits treten auch bei ähnlichen Präzipitanzahlen unterschiedliche Gesamtmineralisatmengen auf, z. B. bei einer Anzahl von ca. 60 treten Gesamtmineralisatmengen von 0,103 mmol, 0,142 mmol, 0,16 mmol, 0,189 mmol bis 0,249 mmol auf.

5.7.2 Zusammenhang zwischen sphärischer Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge unter Berücksichtigung verschiedener Stentarten

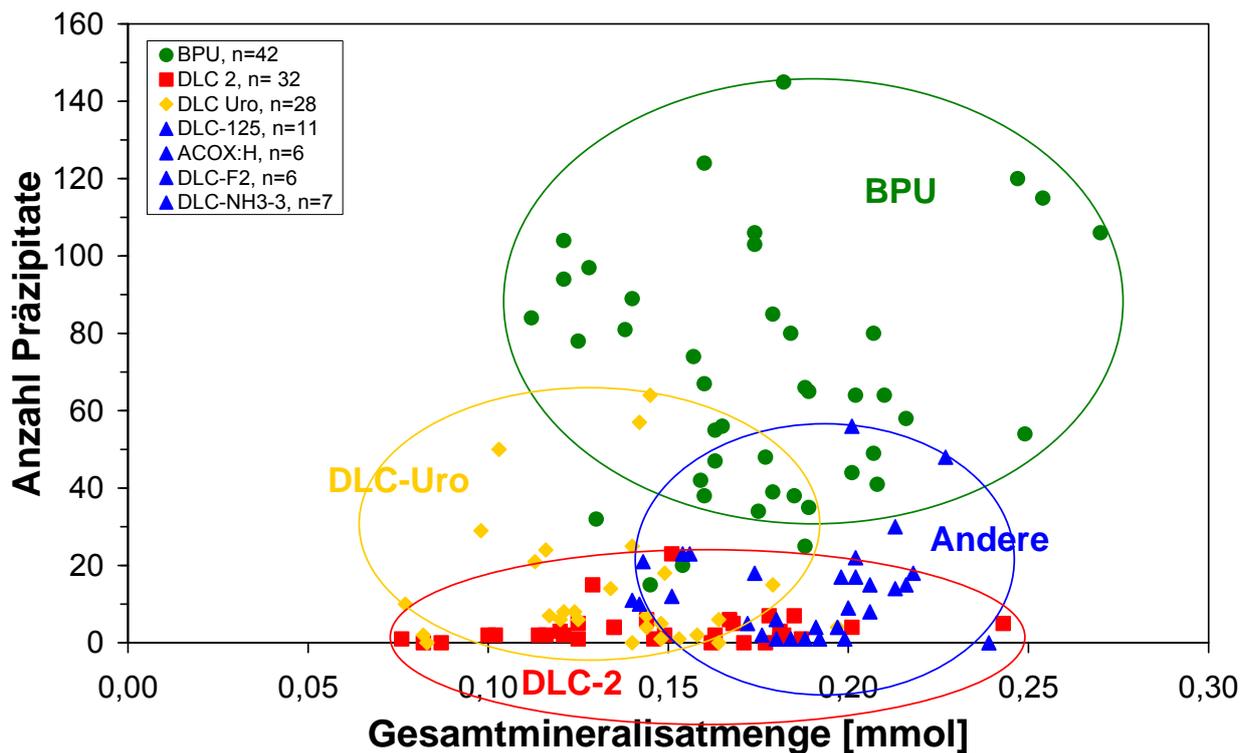


Abb. 40 Zusammenhang zwischen Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge in [mmol] in Bezug auf verschieden beschichtete Stentarten [BPU, DLC-Uro, DLC-2 und weitere a-C:H-Beschichtungen (zusammengefasst als „Andere“)]. Deutlich wird, dass auf den unbeschichteten BPU-Stents die Präzipitanzahl bedeutend höher ist, als auf den mit amorphen Kohlenstoffen beschichteten Stents (DLC-Uro, DLC-2, „Andere“).

In **Abb. 40** wird, wie in **Abb. 39**, die Gesamtmineralisatmenge [mmol] in Bezug zur Präzipitatanzahl gesetzt. Hier wird der Analyseschwerpunkt auf die verschiedenen Stentarten (BPU, DLC-2, DLC-Uro, „Andere“) gelegt.

Im Gegensatz zur Unterscheidung nach den verschiedenen Albuminmengen (siehe **Abb. 39**) zeigt sich hier ein signifikanter Zusammenhang zwischen der jeweiligen Stentart und der Präzipitatanzahl. Im Diagramm wird dies deutlich durch die hervorgehobene Gruppierung. Es zeigt sich, dass bei den unbeschichteten BPU-Stents die Anzahl der Hohlkörper am höchsten ist. Der Durchschnitt liegt hier bei $68,12 \pm 31,02$ Präzipitate pro Stent. Geringere Mengen treten auf den DLC-Uro-Stents auf mit im Durchschnitt $14,07 \pm 17,24$ Stück ($p = 4 \times 10^{-12}$). Eine noch geringere Anzahl zeigt sich auf den „Anderen“-Stents mit im Durchschnitt $13,77 \pm 13,29$ Stück ($p = 3 \times 10^{-13}$). Diese Stent-Art zeichnet sich durch das Einbringen verschiedener Atome in die amorphen Kohlenstoffbeschichtungen (z. B. Stickstoff) aus. Die wenigsten Präzipitatzahlen pro Stent treten bei DLC-2 auf. Hier liegt der Durchschnitt bei $3,69$ Stück ($p = 3 \times 10^{-18}$).

6 Diskussion

6.1 Einleitung zum Diskussionsteil

In der Urologie stellt die Verwendung von Implantaten eine wichtige Therapie verschiedenster Krankheitsbilder dar und ist aus dem Alltag eines Urologen nicht mehr wegzudenken. Leider sind auch Komplikationen durch die Schienung des Harnleiters allgegenwärtig (siehe **Kapitel 3.1.5**) und beeinflussen die Genesung und die Lebensqualität der betroffenen Patienten (Chew et al., 2006).

Infektionen aufgrund von Inkrustationen stellen immer noch das größte Problem bei der Verwendung von urologischen Implantaten dar. Aktuell gibt es noch keine Möglichkeit, die Anlagerung von Bakterien an die Implantatoberfläche zu verhindern (Habash und Reid, 1999). In Anbetracht der Häufigkeit von Inkrustationen (siehe **Kapitel 3.2**) wurde erkannt, dass die Entwicklung von inkrustationsresistenten, biokompatiblen Biomaterialien erste Priorität für die Entwicklung urologischer Implantate haben sollte (Sofer und Denstedt, 2000). Für die Testung geeigneter Materialien benötigt man ein reproduzierbares *in-vitro*-Inkrustationsmodell. Den Einfluss eines jeden Bestandteiles der Inkrustation gezielt zu analysieren, ist aufgrund zweier Aspekte wichtig: erstens, um die Einzelschritte der Biofilmbildung besser zu verstehen, und zweitens, um Möglichkeiten zu entwickeln, die Inkrustation auf Biomaterialien zu verringern.

Die Ergebnisse der bisherigen Grundlagenarbeiten zu a-C:H-beschichteten Stents, die von der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn erzielt wurden, zeigen bereits vielversprechende Optionen zur Hemmung von Bakterienbiofilmen und Inkrustationen auf (Laube et al., 2007). In weiteren Untersuchungsschritten, welche die Grundlage für diese Dissertation bilden, wurde versucht, die *in-vitro*-Bedingungen der *in-vivo*-Situation und urologischen Bedürfnissen besser anzugleichen.

In früheren Versuchen wurde die etablierte Rezeptur von Griffith (1976) verwendet, um künstlichen Urin für *in-vitro*-Versuche herzustellen. Diese Zusammensetzung enthält alle nötigen Bestandteile, welche an der Biofilmbildung beteiligt sind. Es fehlt ihr aber, wie schon Choong und Whitfield (2000 a und b) bemängeln, an Harnproteinen, welche in der Zusammensetzung des natürlichen Urins eine entscheidende Rolle spielen. So gilt das Harnprotein Albumin, welches unter physiologischen Bedingungen im Urin vorkommt, in erhöhten Konzentrationen u. a. als Marker für Nierenschäden (siehe **Kapitel 3.4**). Aus diesem Grund wurde in der vorliegenden Arbeit erstmals untersucht,

welchen Einfluss verschiedene Albuminkonzentrationen im künstlichen Urin (5, 20 und 333 mg pro Liter Urinlösung) auf die Inkrustationsneigung von mit a-C:H beschichteten Harnleiterschienen haben. Die Untersuchung wurde in einem etablierten *in-vitro*-Inkrustationsmodell durchgeführt.

6.2 Einfluss von Albumin auf die Mineralisatmengen der verschieden beschichteten Harnleiterschienen

In unserer Studie konnte ein Einfluss von Albumin auf die Inkrustationsneigung von Harnleiterschienen gezeigt werden. Die Ergebnisse machen deutlich, dass die Zugabe von Albumin die Inkrustationsneigung sowohl von be- als auch von unbeschichteten Harnleiterschienen generell mindert (siehe **Abb. 29**). Auf den BPU-Stents kommt es durch die Zugabe von Albumin zu einer Verminderung der Inkrustation um 6,4% [ohne Albumin $47,33 \pm 10,67$ mg, mit Albumin $44,29 \pm 7,59$ mg ($p = 0,124$)], bei den DLC-2-Stents ist die Inkrustation um 2,5% gemindert [ohne Albumin $40,31 \pm 10,21$ mg, mit Albumin $39,31 \pm 7,12$ mg ($p = 0,654$)]. Die massivste Minderung der Inkrustation tritt bei DLC-Uro-Stents auf: Durch Hinzugabe von Albumin vermindert sich die Mineralisatmenge auf den DLC-Uro-Stents um 14,4% [ohne Albumin $43,77 \pm 10,66$ mg, mit Albumin $37,48 \pm 6,48$ mg ($p = 0,002$)].

Somit zeigt sich, dass allein die Zugabe von Albumin und die dadurch erreichte Annäherung an die natürliche Urin-Zusammensetzung zu einer signifikanten Verringerung der Mineralisatmengen führt.

6.3 Einfluss der a-C:H-Beschichtungen auf die Inkrustationsneigung von Harnleiterschienen

Es konnte gezeigt werden, dass sich an die unbeschichteten Polyurethan-Stents (BPU), die dem heutigen Klinikstandard entsprechen, mit und ohne Zugabe von Albumin in allen Versuchen die größten Mengen an Gesamtmineralisat anlagern. Dank amorpher Kohlenstoffbeschichtungen kommt es zu einer signifikanten Senkung der Mineralisatmengen auf den Harnleiterschienen. Die DLC-2-Stents senken mit einer Signifikanz von $p = 0,009$ die Inkrustation der Stents (um 14,8%) ohne Albuminzugabe, mit Albuminzugabe um 11,2%. Die Anwendung von DLC-Uro-Stents mindert die Inkrustation von HLS um 7,6% ohne Albuminzugabe; gibt man Albumin in den Urin

hinzu vermindern sich die Mineralisatmengen auf diesen Stents mit einer Signifikanz von 0,00005 um 15,4% (siehe **Abb. 18** und **21**, zusammenfassende Darstellung **Abb. 29**). Das beweist, dass durch die Anwendung von amorphen Kohlenstoffbeschichtungen die Inkrustationsneigung von Harnleiterschienen signifikant verringert werden kann.

6.4 Einfluss der Albuminkonzentrationen auf die Inkrustationsneigung von un- und mit a-C:H-beschichteten Harnleiter-schienen

Wie bereits erwähnt (siehe **Kapitel 6.2**), hat das Zufügen von Albumin Einfluss auf die Inkrustationsneigung der Harnleiterschienen, weil es die Mineralisatmengen vermindert. Dabei ist nicht nur das generelle Vorhandensein, sondern auch die Konzentration des Albumins entscheidend. Hier wird deutlich, dass die Konzentration von 20 mg/l, die einer Mikroalbuminurie entspricht (siehe **Kapitel 3.4.4**), die größte Mineralisatmenge auf den Stents verursacht. Im Falle der BPU-Stents ist die Inkrustation bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l um 16,1% höher als bei einer Konzentration von 5 mg/l und um 12,9% höher als bei einer Albuminkonzentration von 333 mg/l. Bei den DLC-2-Stents ist ebenfalls die Mineralisatmenge bei 20 mg Albumin pro Liter am höchsten; im Gegensatz zu 5 mg/l um 19% höher und im Gegensatz zu 333 mg/l um 16% höher. Auch bei den DLC-Uro-Stents treten die höchsten Gesamtmineralisatmengen bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l auf. Sie ist um 20,5% höher als bei der Hinzugabe von 5 mg/l Albumin und um 16,1% höher als bei einer Konzentration von 333 mg/l Albumin [20 mg/l: BPU $49,39 \pm 8,35$ mg, DLC-2 $44,88 \pm 6,72$ mg ($p = 0,159$), DLC-Uro $43,09 \pm 6,08$ mg ($p = 0,046$); 333 mg/l: BPU $43,01 \pm 7,63$ mg, DLC-2 $37,7 \pm 6,28$ mg ($p = 0,76$), DLC-Uro $36,17 \pm 6,4$ mg ($p = 0,026$); 5 mg/l: BPU $41,42 \pm 5,02$ mg, DLC-2 $36,34 \pm 5,77$ mg ($p = 0,012$), DLC-Uro $34,26 \pm 3,81$ mg ($p = 0,00008$)].

Bei der Auswertung der Untersuchung ist es wichtig, zwischen der Gesamtmineralisatmenge gemessen in Milligramm und Millimol zu unterscheiden. So tritt bei der geringsten Albuminmenge (5 mg/l) gemessen in [mg] auch am wenigsten Gesamtmineralisat auf. Misst man dagegen das Ergebnis in [mmol], ist die geringste Mineralisatmenge bei einer Konzentration von 333 mg Albumin pro Liter zu verzeichnen. In beiden Fällen entsteht die größte Mineralisatmenge bei einer Albuminkonzentration von 20 mg/l. DLC-Uro-Stents zeigen in den Untersuchungen geringere

Mineralisatmengen als die DLC-2-Stents. Denn sowohl bei einer Normierung in [mg] als auch bei der in [mmol] lagert sich nach Hinzugabe von Albumin am DLC-Uro-Stent weniger Mineralisat ab als an DLC-2-Stent – die geringsten Mineralisatmengen weist DLC-Uro bei 5 mg Albumin pro Liter auf; DLC-2 bei 333 mg/l.

6.5 Einfluss des Albumins auf die Mineralisatzusammensetzung auf den un- und mit a-C:H-beschichteten Harnleiterschienen

Das Mineralisat der Harnleiterschienen setzt sich generell aus Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) zusammen. Es konnte jedoch gezeigt werden, dass sich durch Albumin die Zusammensetzung des Mineralisats bezüglich der anteilmäßigen Verteilung der drei Mineralisat-Arten verändert. Betrachtet man also die Zusammensetzung des Mineralisats genauer, zeigt sich, dass in den [mg]-Versuchsreihen ohne Albuminzugabe Struvit den größten Anteil ausmacht (unabhängig davon, ob be- oder unbeschichtete Stents); einen geringeren Anteil bildet Brushit und die wenigsten Mengen treten von Kap auf. In den [mmol]-Versuchsreihen muss man zwischen be- und unbeschichteten Stents unterscheiden: Auf den unbeschichteten tritt Struvit am meisten auf, auf den beschichteten ist es Brushit (siehe **Abb. 20**). Gemessen in [mmol] ist der Kap-Anteil im Gegensatz zu den Ergebnissen in [mg] stark vermindert.

Auch bei den Versuchsreihen mit Albumin tritt Struvit gemessen in [mg] am meisten auf (unabhängig davon, ob be- oder unbeschichtete Stents). Durch Albuminzugabe ändert sich jedoch, abhängig davon, ob es sich um beschichtete oder unbeschichtete Stents handelt, die anteilmäßige Verteilung der Mineralisate Kap und Brushit. Bei den beschichteten Stents steigt der Anteil von Kap über den von Brushit. Bei den BPU-Stents ist die Reihenfolge andersherum. Die Ergebnisse in [mmol] bestätigen letztere Reihenfolge. Hier entstehen unabhängig davon, ob die Stents beschichtet sind oder nicht, am meisten Struvit und mehr Brushit als Kap.

Generell ist also zu sagen, dass durch die Albuminzugabe der Struvit- und der Kap-Anteil im Gesamtmineralisat steigen und dass sich demgegenüber der Brushit-Anteil massiv verringert. Zusätzlich zeigte sich in den Untersuchungen, dass auch die verschiedenen Konzentrationen des Albumins Einfluss auf die Zusammensetzung des

Gesamtmineralisats haben: Bei einer Konzentration von 20 mg/l treten vor allem Struvit und Brushit vermehrt auf (siehe **Abb. 26 bis 28**).

6.6 Einfluss des Albumins auf den pH-Wert der Urinlösung

Die Versuche haben gezeigt, dass es bei der Zugabe von Albumin zu einem stärkeren Anstieg der pH-Werte kommt. Vor dem Hintergrund der gleichzeitig sinkenden Inkrustationsneigung ist dies ein erstaunliches Ergebnis. Es wird nämlich allgemein angenommen, dass ein Anstieg des pH-Wertes zu einer vermehrten Biofilm- und damit Inkrustationsbildung führt (siehe **Kapitel 3.2.2**). Unter Zugabe von Albumin steigt der pH-Wert aber nicht nur stärker an, dieser Anstieg verhält sich auch durch das Erreichen eines kurzzeitigen Niveaus anders als der pH-Anstieg ohne Albuminzugabe (siehe dazu **Abb. 34 bis 36** bzw. **Kapitel 5.5**).

6.7 Sphärische Präzipitation

6.7.1 Allgemein

Der Zusatz von Albumin im *in-vitro*-Kristallisationsmodell verändert die Morphologie des Mineralisats auf der Implantatoberfläche. Die entscheidende Frage, die im Zusammenhang mit den dieser Arbeit zugrunde liegenden Encrustatorversuchen aufkommt, ist somit:

Warum bilden sich die beobachteten sphärischen Präzipitate auf der Oberfläche der Stents?

Für die Beantwortung dieser Frage kommen mehrere Theorie-Ansätze in Betracht, auf die im Folgenden näher eingegangen werden soll. Ein potentieller Einflussfaktor auf die Bildung von sphärischen Präzipitaten sind Gasbläschen-Ablagerungen auf der Implantatoberfläche. Die hydrophoben Gasbläschen beeinflussen die Proteinab- und Bakterienanlagerungen und fördern die Einlagerung von Kristallen durch einen Heterokoagulationsprozess.

Als weitere mögliche Ursache wird der spezielle Aufbau von Albumin angenommen (siehe auch **Kapitel 2.4**), welcher die gebildeten Gasblasen stabilisiert und somit die Sphärolithenbildung auf den Harnleiterschienen begünstigt. Aufgrund dieser stabilisierenden Wirkung gilt Albumin auch allgemein als Schaumbildner.

Albumin zeichnet sich dadurch aus, dass es einen hydrophilen und einen hydrophoben Anteil besitzt (siehe **Kapitel 3.4**). Das Protein kann mit seinem hydrophoben Anteil in die Gasblase, die sich auf der Stentoberfläche ablagert, eindringen. Im Gegensatz dazu ragt der hydrophile Anteil aus der Gasblase heraus. Der hydrophile Anteil kann dadurch mit Ionen, die sich in der umgebenden Flüssigkeit befinden, Bindungen eingehen und mit ihnen reagieren. Durch diese Verbindungen kommt es zu Mineralisatablagerungen auf der Oberfläche der Gasblase. Es ist anzunehmen, dass die Gasblasen auch bei Versuchen ohne Albumin auftreten, diese werden aber durch das Fehlen von Albumin nicht stabilisiert.

6.7.2 Einfluss der verschiedenen Beschichtungen auf die Sphärolithenanzahl

Die Versuche bestätigten den Einfluss der verschiedenen Stentoberflächen auf die Sphärolithenbildung, da auf den Harnleiterschienen mit a-C:H-Beschichtung (DLC-2, DLC-Uro) signifikant weniger sphärische Präzipitate auftraten als auf den unbeschichteten Schienen (BPU) (siehe **Abb. 40**).

An den unbeschichteten Schienen bildet sich die größte Anzahl Sphärolithen. Der Durchschnitt liegt hier bei $68,12 \pm 31,02$ Stück pro Stent. Bei den DLC-Uro-Stents kommt es zu einer Minderung der Präzipitatanzahl um 79,46% [$14,07 \pm 17,24$ Stück ($p = 4 \times 10^{-12}$)]. Eine noch signifikantere Senkung der Präzipitatanzahl zeigt sich bei den DLC-2-Stents: Hier lagern sich gegenüber den unbeschichteten Schienen 94,6% weniger Sphärolithen an [$3,69 \pm 4,64$ ($p = 3 \times 10^{-18}$)].

Die Ergebnisse zeigen, dass die amorphen Kohlenstoffschichten die Sphärolithenbildung vermindern. Wenn man ergänzend dazu die verminderte Gesamtmineralisatmenge berücksichtigt, ist dies ein enormer Fortschritt in der Beeinflussung und Verhinderung der Inkrustation von Harnleiterschienen.

Um die Untersuchungsergebnisse noch besser zu verdeutlichen, wurde eine Photodokumentation durchgeführt, d. h. die Stents wurden während des Versuchablaufes über 45 Stunden alle 2 min fotografiert (siehe **Abb. 41**).

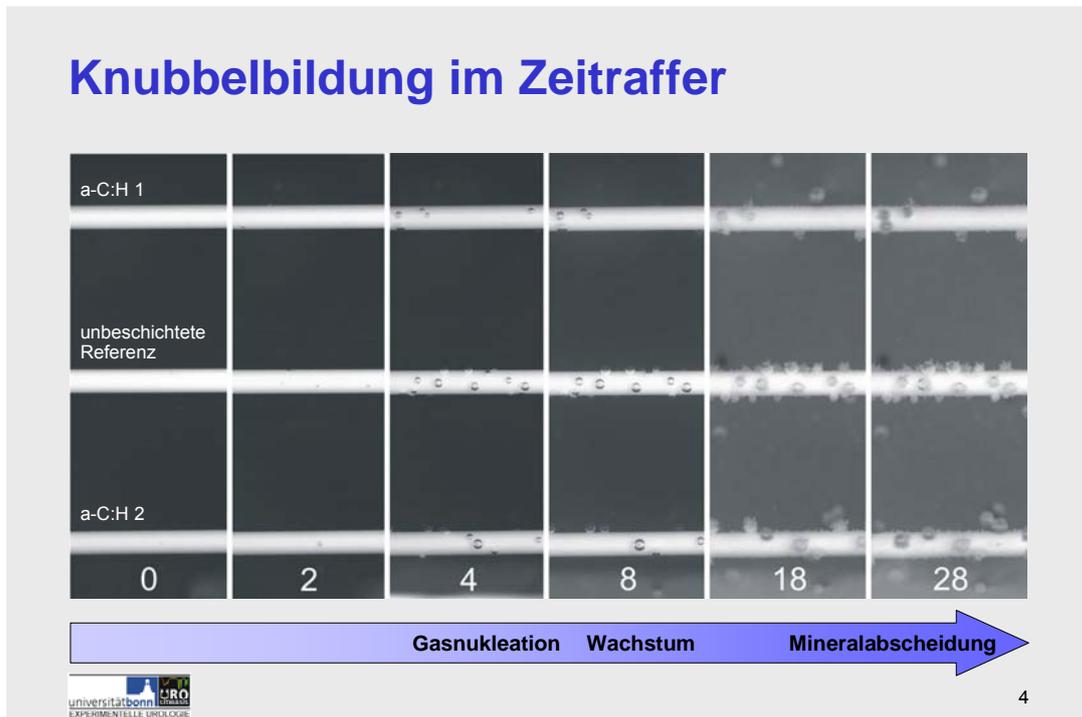


Abb. 41 Überblick von Aufnahmen, die während der Überwachung des Inkrustationsprozesses entstanden. Anhand von drei Beschichtungsbeispielen (a-C:H 1, unbeschichteter Polyurethan-Stent, a-C:H 2) wird die Inkrustationsbildung zu Beginn und nach 2, 4, 8, 18 und 28 Stunden dokumentiert. Nach 4 Stunden bilden sich erste Gasblasen an der Stentoberfläche; deutlich wird, dass sich auf den unbeschichteten Polyurethan-Stents deutlich mehr Gasblasen ablagern als auf den a-C:H-beschichteten Stents. Nach 18 Stunden setzt bei ansteigender Trübung der Lösung eine massive Kristallisation an der Grenzfläche zwischen Gasblase und Flüssigkeit ein. Die Gasblasen sind nun irreversibel in den kristallinen Biofilm integriert, klar erkennbar an den Sphärolithen auf der Stentoberfläche nach der Inkubation.

Nach 4 Stunden wurde zunächst eine Gasnukleation beobachtet; auf den unbeschichteten mehr als auf den beschichteten Stents. Während der Inkubation stieg der pH-Wert (siehe **Abb. 34** bis **Abb. 36**) und es kam zu einer Mineralabscheidung. Diese bewirkte auch die Trübung des synthetischen Urins ab einer Inkubationszeit von 8 Stunden (siehe **Abb. 41**). Die Gasblasen auf den unbeschichteten Stents zeigten sich als ortsfest und stabil; auf den beschichteten Stents lösten sie sich dagegen nach einer gewissen Versuchsdauer ab.

Die durchgeführte Photodokumentation belegt somit, dass die a-C:H-Beschichtungen ein Ablösen von Gasblasen bewirken. Kontaktwinkelmessungen belegen zusätzlich die veränderte Benetzbarkeit der beschichteten Stents (siehe **Kapitel 4.1.4**). Die verstärkte

Hydrophobizität der Beschichtung bzw. das dadurch bedingte Ablösen der Gasblasen verhindert die Bildung von Sphärolithen und vermindert die Gesamtmenge des Mineralisats auf den Stents.

6.7.3 Theorien der sphärischen Präzipitation

Zurzeit wird die kristalline Biofilmbildung als ein Prozess diskutiert, der nur zwischen zwei Phasen (Oberfläche/Flüssigkeit) stattfindet (Tieszer et al., 1998). Diese Auffassung stellen wir in Frage, denn wir beweisen, dass eine dritte, gasförmige Phase Einfluss auf den Kristallationsprozess nimmt.

Die **Abbildungen 42 bis 44** stellen die verschiedenen Theorien zu den während der Inkubation ablaufenden Prozessen der sphärischen Präzipitation schematisch dar. Die Grundlagen zu diesen Theorien sind dem Kapitel der Biofilmbildung zu entnehmen (siehe **Kapitel 2.2**).

6.7.3.1 Theorie 1 zur sphärischen Präzipitation

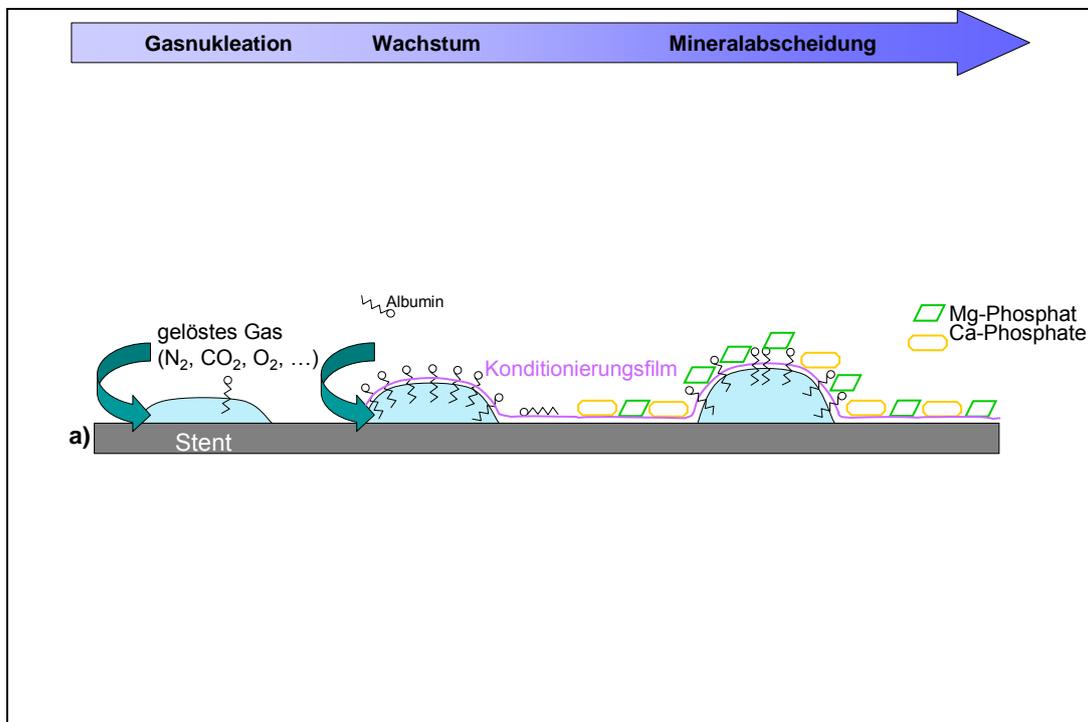


Abb. 42 Schematische Darstellung der ablaufenden Prozesse laut Theorie 1 zur Sphärolithenbildung auf unbeschichteten Polyurethan-Stents (BPU) ohne den Einfluss von Bakterien.

Abb. 42 zeigt den Prozess der sphärischen Präzipitation auf den unbeschichteten Stents. Ein Einfluss durch Bakterien wird bei dieser Theorie nicht angenommen. Es kommt zur Gasnukleation. In der Gasblase kann sich dann das Albumin geordnet ausrichten. Ein Konditionierungsfilm bildet sich auf der Stent- und Sphärolithenoberfläche und fördert die Anlagerung von Mineralen. Dabei ist die Zusammensetzung des Mineralisats auf den Sphärolith (mehr Magnesiumphosphat) eine andere als direkt auf dem Stent (mehr Calciumphosphat).

6.7.3.2 Theorie 2 zur sphärischen Präzipitation

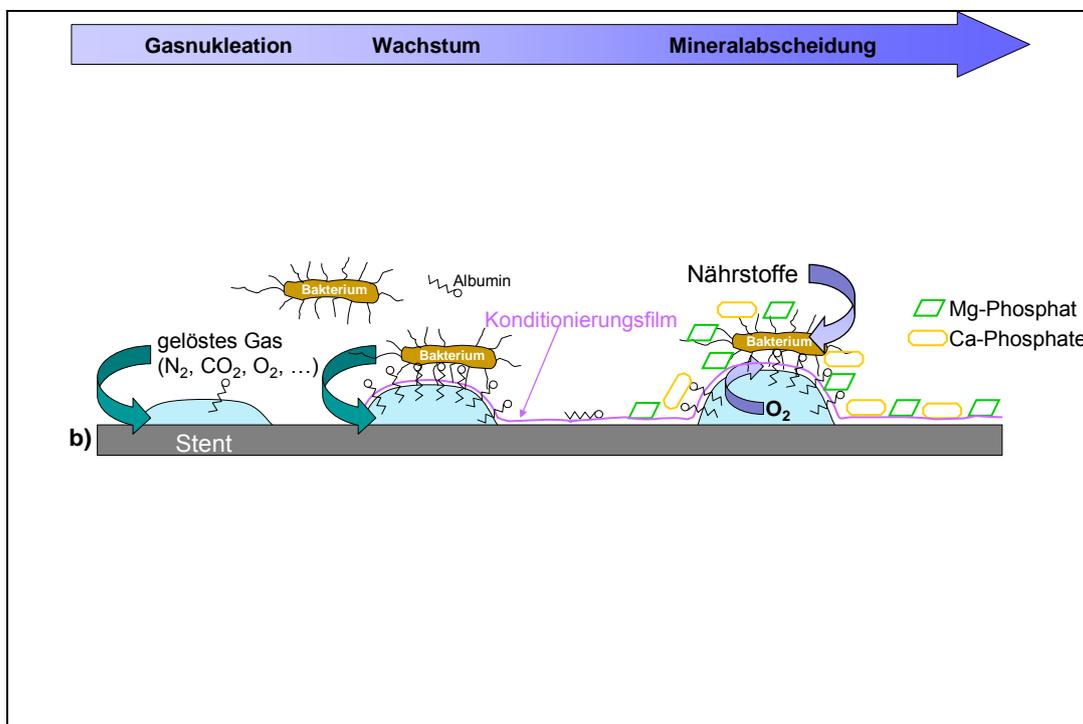


Abb. 43 Schematische Darstellung der Prozesse gemäß Theorie 2 zur Sphärolithenbildung auf unbeschichteten Polyurethan-Stents (BPU) unter dem Einfluss von Bakterien.

In **Abb. 43** sind die ablaufenden Prozesse der sphärischen Präzipitation auf den unbeschichteten Stents wahrscheinlich der *in-vivo*-Situation etwas näher dargestellt. Denn in diesem Fall wird der Einfluss von Bakterien berücksichtigt. Wie schon in **Kapitel 2.2** beschrieben spielen Bakterien eine große Rolle bei der Biofilmbildung allgemein. Da auch die Sphärolithenbildung zur Biofilmbildung zu zählen ist, ist auch

hier ein Einfluss von Bakterien anzunehmen. Die Bakterien treten in Interaktion mit dem Albumin, dem Konditionierungsfilm und den Mineralen.

6.7.3.3 Theorie 3 zur sphärischen Präzipitation

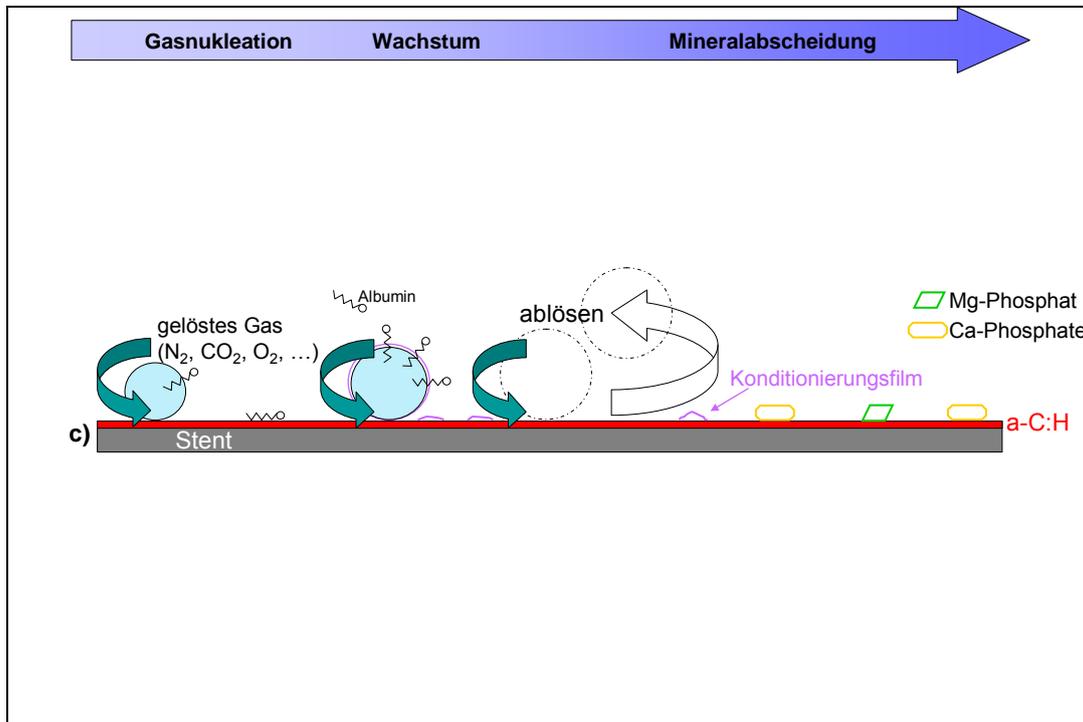


Abb. 44 Schematische Darstellung der Prozesse nach Theorie 3 der Sphärolithenbildung auf mit a-C:H-beschichteten Polyurethan-Stent

Abb. 44 beschreibt nun die Prozesse auf den mit a-C:H beschichteten Stents. Anders als bei den unbeschichteten Stents lagern sich hier erstens weniger Gasblasen an und lösen sich zweitens die Gasblasen ab einer bestimmten Größe ab. Der Grund dafür liegt in der veränderten Benetzbarkeit der Stents durch die Beschichtung mit amorphen Kohlenstoffen (siehe **Kapitel 4.1.4**), welche zu einer vermehrten Hydrophobizität der Harnleiterschienen führen. Dadurch verändert sich das Verhältnis zwischen Gasblasengröße und Kontaktfläche so, dass es zur Ablösung der Gasblase kommt.

6.7.4 Einfluss der verschiedenen Albuminkonzentrationen auf die Präzipitanzahl

Deutlich wird bei den durchgeführten Versuchen unter Albuminzugabe, dass kein Zusammenhang zwischen der jeweils zugegebenen Albuminmenge (d.h. 5, 20 oder 333 mg/l) und der Anzahl der Sphärolithen besteht (siehe **Abb. 39**). Entscheidend für das Auftreten der sphärischen Präzipitate ist somit nur das generelle Vorhandensein von Albumin im künstlichen Urin.

6.8 Die *in-vivo*-Heilverversuche mit a-C:H-beschichteten Harnleiterschienen

Die *in-vitro* erreichten, hier vorgestellten Ergebnisse stellen ein exzellentes Resultat bezüglich der Minderung von Inkrustationen auf Harnleiterschienen dar. Von Laube et al. (2006) wurden *in-vivo*-Heilverversuche in Folgestudien der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn durchgeführt. Dafür wurden mit a-C:H-beschichtete Harnleiterschienen bei einem bestimmten Patientenkollektiv eingesetzt. Dieses bestand aus Patienten mit z. T. mehrjähriger dauerhafter Harnleiterschienung aus unterschiedlichen Indikationen (Narbe/Fibrose, Stein, verschiedene Karzinome). Bisher mussten bei den ausgewählten Patienten in einem Intervall von im Mittel 77 ± 55 Tagen die Harnleiterschienen gewechselt werden. Die häufigste Ursache für einen vorzeitigen Wechsel waren massive Inkrustationen in Verbindung mit symptomatischen Harnwegsinfektionen.

Das Ergebnis der *in-vivo*-Untersuchung bestätigte die hervorragenden Ergebnisse der *in-vitro*-Inkrustationsversuche: Stent-bedingte Komplikationen traten nicht auf. In allen Fällen wurden eine außergewöhnlich leichte Handhabung, eine deutlich geringere Schmerzbelastung während des Wechsels, sowie ein deutlich höherer Tragekomfort festgestellt. Regelmäßig durchgeführte mikrobiologische Untersuchungen zeigten, dass symptomatische Harnwegsinfektionen um mehr als 50% reduziert wurden. Die Stents blieben praktisch ohne Inkrustationen. Der Wechsel der Schienen erfolgte aufgrund selbstgesetzter Sicherheitsvorgaben in der Regel nach dreimonatiger Liegezeit; auf Wunsch des Patienten wurden die Liegezeiten der Schienen verlängert. Die mittlere Liegezeit konnte trotz der vorzeitigen indikationsfreien Sicherheitswechsel mit 189 ± 93 Tage mehr als verdoppelt werden.

Aus Patientensicht trugen die a-C:H-beschichteten Schienen zu einer subjektiven „Quality-of-life-Verbesserung“ bei. Alle Patienten berichteten über einen schmerzfreieren Wechsel der Schienen und lobten die durch die a-C:H-Beschichtung möglich gewordenen längeren Liegezeiten.

Ursachen für die verminderten Schmerzen bei der Verwendung von a-C:H-beschichteten Stents sind einerseits die verminderte Inkrustationsneigung und andererseits die extrem niedrige Haft- und Gleitreibung am Harnleiterurothel.

6.9 Ausblick

Es konnte gezeigt werden, dass a-C:H-Schichten auf urologischen Verweilkathetern effektiv die Ausbildung eines Biofilms und somit eine begleitende Inkrustation verhindern. Somit bieten sie exzellente klinische Vorteile gegenüber den, bei urologischen Problempatienten bisher verwendeten, herkömmlichen Beschichtungen. Die hervorragenden Ergebnisse der *in-vitro*-Versuche bestätigten sich auch *in-vivo*. Daher stellen in Zusammenschau aller erreichten Ergebnisse (*in-vitro* und *in-vivo*) die a-C:H-Schichten eine neue Möglichkeit dar, um einerseits die Liegezeiten der Stents zu verlängern und andererseits die Trageeigenschaften zu verbessern.

In nachfolgenden Studien sollen die physikalisch-chemischen Eigenschaften und die Abscheidebedingungen der a-C:H-Beschichtungen für den urologischen Einsatz weiter optimiert werden. Zum gleichen Zweck soll in weiteren *in-vivo*-Versuchen das Patientenkollektiv vergrößert und bezüglich der Indikationen ausgeweitet werden.

Aber nicht nur für die Urologie, sondern auch für andere Fachbereiche der Medizin können die Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit von großem Nutzen sein. Denn die Entwicklung von an die individuellen Anforderungen angepassten a-C:H-Beschichtungen zur Unterdrückung der Biofilmbildung auf Implantaten kann vielen Patienten zu mehr Lebensqualität verhelfen und das Gesundheitssystem generell entlasten.

7 Zusammenfassung

Harnleiterschienen dienen zur Sicherstellung des ungehinderten Harnabflusses zwischen Niere und Blase und sind im urologischen Klinikalltag häufig verwendete Implantate. Gründe für eine Schienung des Harnleiters sind vielfältig. In der Regel sind sie assoziiert mit einem Steinleiden [z.B. nach einer ESWL-Behandlung (Extrakorporalen Stoßwellen-Lithotripsie) oder einer Ureterorenoskopie (URS) zur Sicherung des Abflusses der Steintrümmer] oder einem tumorösen Geschehen im Abdominalraum. Auch Strikturen durch Vernarbung aufgrund verschiedener Ursachen machen den Einsatz von Harnleiterschienen notwendig.

Stentpatienten, die aufgrund einer chronischen Erkrankung Harnleiterschienen benötigen, weisen meist eine schon lange bestehende Leidensgeschichte auf. Diese Patienten stellen sich häufig mit hartnäckigen Harnwegsinfekten vor, wodurch sich der (Urin-)Stoffwechsel verändert und entgleist. Dies bildet dann wiederum die Grundlage für Harnwegsinfekt-Rezidive und lässt die Inkrustationsneigung der Harnleiterschienen ansteigen. Die daraus resultierende kristalline Biofilmbildung stellt ein massives Problem dieser Harnleiterschienen dar. Dadurch werden häufige Wechsel der Stents nötig. Bei manchen Patienten beträgt die Katheter-Liegezeit nur wenige Tage. Da die Harnleiterschienung für viele Patienten lebensnotwendig ist, bleibt nur die Oberflächenmodifikation als letzte Wahl übrig. Um die Inkrustationsneigung und somit die Wechselfrequenz der Stents und damit den Leidensdruck der Patienten zu verringern, hat die Experimentelle Urologie des Uniklinikums Bonn in Zusammenarbeit mit dem Institut für Dünnschichttechnologie der Technischen Universität (TU) Kaiserslautern Beschichtungen entwickelt, die die Inkrustationsneigung verringern. Die Beschichtungen bestehen aus plasmadeponierten amorphen Kohlenstoffen, wobei sich die verschiedenen Beschichtungsarten in ihren physikochemischen Eigenschaften (z.B. Kontaktwinkel, Hydrophilie bzw. Hydrophobie) unterscheiden. Getestet werden sie in einem Encrustatormodell, in dem 12 Harnleiterschienen (beschichtet und unbeschichtet) gleichzeitig über 45 h in künstlichem Urin inkubiert werden können. In den neuartigen Versuchen, die dieser Arbeit zugrunde liegen, wird der Einfluss von Albumin auf die Inkrustationsneigung der verschiedenen Stents untersucht. Albumin ist ein Harnprotein, das als Marker für Nierenschäden dient. Nierenschäden treten u.a. bei dem nephrotischen Syndrom, chronischer Niereninsuffizienz oder Glomerulonephritis auf, bei

denen u. a. die Werte des Albumins im Urin ansteigen. Für die Versuche werden verschiedene Albuminkonzentrationen gewählt, die entweder einer Normo-, Mikro- oder Makroalbuminurie entsprechen (5 mg/l, 20 mg/l, 333 mg/l).

Es zeigt sich, dass an die unbeschichteten Polyurethan-Stents (BPU) sich mit und ohne Zugabe von Albumin die größten Mengen an Gesamtmineralisat anlagern. Die amorphen Kohlenstoffbeschichtungen führen zu einer signifikanten Senkung der Mineralisatmengen auf den Harnleiterschienen. Die DLC-2-Stents senken mit einer Signifikanz von $p = 0,009$ die Inkrustation der Stents (um 14,8%) ohne Albuminzugabe, mit Albuminzugabe um 11,2%. Die Anwendung von DLC-Uro-Stents mindert die Inkrustation von HLS um 7,6% ohne Albuminzugabe; gibt man Albumin in den Urin hinzu vermindern sich die Mineralisatmengen auf diesen Stents mit einer Signifikanz von 0,00005 um 15,4%. Somit kommt es also zu einer signifikanten Verringerung der Inkrustationsneigung durch die Verwendung von amorphen Kohlenstoffbeschichtungen.

In den Versuchen unter Albuminzugabe tritt ein Phänomen auf, welches im Vergleich zu den vorherigen 20 Versuchsreihen ohne Albuminzugabe nicht auftrat. Auf der Oberfläche der Stents lagern sich sphärische Präzipitate ab. Zu beobachten ist dabei, dass diese deutlich vermehrt auf den unbeschichteten Stents, die dem momentanen Klinikstandard entsprechen, auftreten ($68,12 \pm 31,02$ Sphärolithen pro Stent). Auf den mit plasmadeponierten amorphen Kohlenstoffen kommt es zu einer Minderung der Sphärolithenanzahl um 79,46% [DLC-Uro-Stents $14,07 \pm 17,24$ Stück ($p = 4 \times 10^{-12}$)] bzw. um 94,6% [DLC-2-Stents $3,69 \pm 4,64$ Stück ($p = 3 \times 10^{-18}$)].

Eine Abhängigkeit zwischen Häufigkeit der Sphärolithen und der jeweiligen Albuminkonzentration konnte jedoch nicht gezeigt werden, d.h. die Hohlkörper treten bei Albuminkonzentrationen auf, die sowohl einer Mikro- wie auch einer Makroalbuminurie entsprechen. Als Erklärung für dieses Phänomen kommen mehrere Theorien in Frage.

Ob diese Sphärolithenbildung auch in-vivo auftritt, konnte bisher noch nicht hinreichend untersucht bzw. beobachtet werden.

Inwieweit die sphärische Präzipitation Einfluss auf die Inkrustation von in-vivo liegenden Harnleiterschienen hat, muss daher noch untersucht werden.

8 Abbildungsverzeichnis

- Abb. 1** Katheter werden routinemäßig in den Harntrakt eingesetzt – entweder als Harnleiterschiene zwischen Nierenbecken und Harnblase oder als direkte Drainage aus der Harnblase (transurethraler Katheter, siehe Abbildung links). Die Abbildungen in der Mitte und rechts zeigen computertomographische Darstellungen eines Abdomens mit liegender Harnleiterschiene. Die 3D-Animation in der Mitte zeigt deutlich die Lage des Stents. Rechts werden zusätzlich die viszerale Organe veranschaulicht. Der Patient leidet an einer tumorösen Erkrankung im Endstadium, die eine künstliche Harnableitung nötig macht. Der Tumor verlegt den Harnleiter fast auf seiner gesamten Länge und komprimiert das Lumen des Harnleiters, welches zu einer Obstruktion des Urinabflusses führt (Kleinen et al., 2008).
- Abb. 2** Die Fotografie zeigt das Ende einer Harnleiterschiene. Hier wird der sogenannte Memoryeffekt deutlich, der bewirkt, dass sich das Katheterende nach Entfernen des Führungsdrahtes aufrollt („Pigtail“-Katheter). Dies verhindert die Dislokation des Stents.
- Abb. 3** Endoskopische Aufnahmen liegender Harnleiterschienen. Die linke Aufnahme zeigt einen stark inkrustierten unbeschichteten Stent nach 1,5 Monaten Liegedauer. In der rechten Aufnahme sieht man einen mit amorphen Kohlenstoff (a-C:H)-beschichteten Stent, der im gleichen Patienten und unveränderter Gesundheitssituation doppelt solange platziert war. Dieser zeigt bei dieser Vergrößerung keinerlei Anhaftungen (Kleinen und Laube, 2007).
- Abb. 4** Inkrustation von Harnleiterschienen: Im linken Bild sieht man das Ende einer unbeschichteten Harnleiterschiene (sogenannter Pigtail), die noch unbenutzt und ohne Inkrustation ist. Das rechte Bild zeigt ein vergleichbares Modell, welches nach einer Liegezeit von nur wenigen Wochen aus dem Harntrakt eines Patienten entfernt wurde. Deutlich wird hierbei die massive Inkrustation (Kleinen und Laube, 2007).
- Abb. 5** Diese Abbildung zeigt den ersten Abschnitt der Biofilmbildung. **A)** Auf der Oberfläche lagern sich u. a. Ionen und Proteine an. **B)** und **C)** Aus diesen entsteht der sogenannte *conditioning film*, der die Grundlage für die Anlagerung weiterer Substanzen bildet.
- Abb. 6** Diese Darstellung zeigt die weiteren Schritte der Biofilmbildung. **D)** An den *conditioning film* lagern sich Bakterien an. Der vergrößerte Ausschnitt stellt die Bindungen, die für diese Anlagerung nötig sind, genauer dar. Es handelt sich einerseits um Bindungen durch die Kationen Ca^{2+} und Mg^{2+} und andererseits um Van-der-Waals-Kräfte. **E)** Die Bakterien lagern sich zu Mikrokolonien zusammen und die Bildung von extrazellulären polymeren Substanzen (EPS) wird gefördert.

- Abb. 7** Diese Abbildung zeigt nun die endgültige Bildung des Biofilms und seine charakteristischen Eigenschaften. Der Biofilm besitzt u. a. eine stärkere Resistenz gegenüber antimikrobiellen Substanzen und Veränderungen des umgebenden Milieus. Zusätzlich ist die Kommunikation der Mikroorganismen durch Signalmoleküle und *quorum sensing* erleichtert (siehe **Kapitel 3.2.4**).
- Abb. 8** Schema der Ureasereaktion und des Kristallisationsmechanismus in Anwesenheit von Urease-produzierenden Mikroorganismen: Harnstoff wird durch das Enzym Urease in Ammoniak und CO₂ zersetzt. In weiteren Reaktionen entsteht Carbonat(hydroxyl)apatit und Struvit (Choong und Whitfield, 2000; Jones et al., 2005). Es ist allgemein bekannt, dass es durch den Anstieg des Urin-pHs zu einer vermehrten Präzipitation von Calcium- und Magnesiumphosphat kommt, als dies bei einem niedrigeren pH-Wert auftreten würde (Suller et al., 2005).
- Abb. 9** Elektronenmikroskopische Untersuchung eines kristallinen Bakterienbiofilms: Diese Aufnahme bestätigt, dass Kristalle und Urease-produzierende Bakterien (hier *Proteus mirabilis*) an der Bildung des Biofilmes beteiligt sind (Kleinen und Laube, 2007).
- Abb. 10** Molekulares Modell von humanem Serumalbumin (HSA) (He und Carter, 1992).
- Abb. 11** Schematischer Versuchsaufbau der *in-vitro*-Inkrustationsversuche. Die Zugabe von Urease erfolgt in Lösung A; Albumin (5 mg/l, 20 mg/l, 333 mg/l) und Harnstoff werden in Lösung B. zugegeben. Mit der Mischung der beiden Lösungen im Probenraum des Encrustatormodells beginnt die Ureasereaktion.
- Abb. 12** Das *in-vitro*-Kristallisationsmodell wurde speziell entwickelt und erlaubt die Untersuchung der jeweiligen Inkrustationsneigung verschiedener Testoberflächen unter definierten Bedingungen. Dieser sogenannte „Encrustator“ ist ein durch ein Wasserbad temperierter Durchflusskristallisator. Er ermöglicht die gleichzeitige Untersuchung von 12 Testkathetern im künstlichen oder nativen Urin. Zwei Teillösungen, A und B, werden jeweils mit einer konstanten Flussrate in die Reaktionskammer des Encrustators gepumpt und vermischt. Dadurch entsteht eine übersättigte Lösung, die Inkrustationen fördern kann. Ein Abfluss sorgt für ein konstantes Urinvolumen in der Reaktionskammer (Kleinen et al., 2009).
- Abb. 13** Exemplarische Übersicht der zwölf in den Halterahmen des Encrustators eingespannten Harnleiterschienen.
- Abb. 14** Prinzipskizze des zur Beschichtung der Harnleiterschienen eingesetzten PECVD-Prozesses sowie eine Auswahl wichtiger Prozessparameter und physikalischer Größen; bei geeigneter Wahl der Prozessparameter lassen sich über die Eigenschaften des erzeugten Plasmas und des aus ihm hervorgehenden schichtbildenden Teilchenflusses die für die jeweilige Anwendung vorteilhaftesten Oberflächen und Schichteigenschaften herstellen (Kleinen und Laube, 2007).

- Abb. 15** Aufbau zur Plasmabeschichtung von Harnleiterschienen mit amorphen Kohlenstoffen: Die Implantate werden auf einem rotierenden Halter montiert (links im Bild) und in dem von einer Plasmastrahlquelle (rechts im Bild) erzeugten Teilchenfluss gedreht. Nach vorbereitenden, die Oberfläche reinigenden und aktivierenden Prozessschritten werden die ca. 50 bis 70 nm dicken a-C:H-Schichten aus Acetylgas auf den Implantaten abgeschieden (Kleinen und Laube, 2007).
- Abb. 16** Kontaktwinkelmessung: Wassertropfen auf der Oberfläche unterschiedlich beschichteter Harnleiterschienen; über die Messung des Kontaktwinkels θ H₂O lassen sich Rückschlüsse auf die an der Grenzfläche ablaufenden Wechselwirkungen ziehen. Das eingesetzte PECVD-Verfahren ermöglicht durch Zugabe geeigneter weiterer Prozessgase (z. B. stickstoff- oder fluorhaltiger Gase) den Erhalt der gewünschten Oberflächeneigenschaften. Die Benetzbarkeit der Oberfläche kann stark variiert werden. Die Tropfen sind nach zunehmender Benetzbarkeit angeordnet. Die Mittelwerte der gemessenen Winkel θ H₂O [°] (n = 6) sind rechts oberhalb des Tropfens angegeben (Kleinen und Laube, 2007).
- Abb. 17** Ureasereaktion: Harnstoff (CH₄NH₂) wird durch das Enzym Urease in Ammoniak (NH₄⁺) und Kohlendioxid (HCO₃⁻) gespalten. Durch die Bildung des Ammoniaks steigt der pH-Wert an.
- Abb. 18** Durchschnittliche Gesamtmineralisatmengen in **a**) [mg] und **b**) [mmol] auf den verschiedenen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) mit den jeweiligen Standardabweichungen ohne Zugabe von Albumin in die Urinlösung. Die Zahlen in den Balken geben die Anzahl der jeweils verwendeten Katheterart an (BPU n = 59, DLC-Uro n = 39, DLC-2 n = 22).
- Abb. 19** Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 18** in **a**) [mg] und **b**) [mmol]. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mineralisatmengen der anderen Stenttypen (DLC-Uro, DLC-2) werden damit in Beziehung gesetzt.
- Abb. 20** Durchschnittliche Mineralisatmenge der einzelnen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) ohne Zugabe von Albumin **a**) [mg] und **b**) [mmol]].
- Abb. 21** Durchschnittliche Gesamtmineralisatmengen in **a**) [mg] und **b**) [mmol] der verschiedenen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) mit den jeweiligen Standardabweichungen unter Zugabe von Albumin in der Urinlösung. Die Zahlen in den Balken geben die Anzahl der jeweils verwendeten Katheterart an. Es wurden jeweils 40 Katheter untersucht.
- Abb. 22** Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 21** in **a**) [mg] und **b**) [mmol]. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in Beziehung gesetzt. Die Stentanzahl jeder Katheterart ist n = 40.

- Abb. 23** Durchschnittliche Mineralisatmenge der einzelnen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Zugabe von Albumin in die Urinlösung (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).
- Abb. 24** Durchschnittliche Mineralisatmengen auf den verschiedenen Katheterarten (BPU; DLC-Uro, DLC-2) unter Berücksichtigung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (5, 20 und 333 mg/l) (**a**) und **c**) [mg], **b**) und **d**) [mmol]).
- Abb. 25** Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 24**. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in Beziehung gesetzt. (**a**) und **c**) [mg], **b**) und **d**) [mmol]).
- Abb. 26** Durchschnittliche Mineralisatmenge der BPU-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Beachtung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).
- Abb. 27** Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Berücksichtigung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).
- Abb. 28** Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-2-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) unter Berücksichtigung der verschiedenen Albuminkonzentrationen (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).
- Abb. 29** Vergleich der durchschnittlichen Gesamtmineralisatmengen in **a**) [mg] und **b**) [mmol] der verschiedenen Katheterarten (BPU, DLC-Uro, DLC-2) mit und ohne die Zugabe von Albumin. Die jeweils verwendete Anzahl von Stents pro Katheterart ist durch die Zahlen in den Balken angegeben (BPU ohne Alb n = 59, mit Alb n = 40; DLC-Uro ohne Alb n = 39, mit Alb n = 40; DLC-2 ohne Alb n = 22, mit Alb n = 40).
- Abb. 30** Normierte Darstellung der Ergebnisse aus **Abb. 29** in **a**) [mg] und **b**) [mmol]. Bei dieser Form der Darstellung werden die Mineralisatmengen der BPU-Stents gemittelt und diese gleich eins gesetzt. Die Mengen der anderen Stenttypen werden damit in Bezug gesetzt.
- Abb. 31** Durchschnittliche Mineralisatmenge der BPU-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) mit und ohne Albuminzugabe (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).
- Abb. 32** Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-Uro-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) mit und ohne Albuminzugabe (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).
- Abb. 33** Durchschnittliche Mineralisatmenge der DLC-2-Stents aufgeteilt in Struvit (Stru), Carbonat-Hydroxylapatit (Kap) und Brushit (Bru) mit und ohne Albuminzugabe (**a**) [mg] und **b**) [mmol]).

- Abb. 34** Übersicht der pH-Werte während der 45 stündigen Inkubationszeit ohne die Zugabe von Albumin mit Hervorhebung des Durchschnitts der Mittelwerte.
- Abb. 35** Übersicht der pH-Werte während der 45 stündigen Inkubationszeit unter Zugabe von Albumin mit Hervorhebung des Durchschnitts der Mittelwerte.
- Abb. 36** Vergleich der pH-Werte mit und ohne die Zugabe von Albumin mit Hervorhebung des Durchschnitts der jeweiligen Mittelwerte.
- Abb. 37** Übersichtsaufnahme eines unbeschichteten BPU-Polyurethan-Referenzstents nach 45 stündiger Inkubationszeit im Albumin-haltigen (333 mg/l) synthetischen Urin. Sichtbar wird hier die sphärische Präzipitation. Es besteht ein großer Unterschied in der Hohlkörperanzahl zu den mit a-C:H-beschichteten Stents (hier in den Bildecken angeschnitten), an denen sich deutlich weniger Hohlstrukturen bilden. Die Größe dieser beträgt ca. 1mm im Durchmesser.
- Abb. 38** Lichtmikroskopische Untersuchungen machen deutlich, dass die Präzipitate, die sich an den Stents bilden, hohle Kugeln sind, an denen sich wiederum Kristalle anlagern.
- Abb. 39** Zusammenhang zwischen sphärischer Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge [mmol] in Bezug auf die verschiedenen Albuminkonzentrationen (5 mg/l, 20 mg/l, 333 mg/l). Es wird deutlich, dass die Albuminkonzentration keinen Einfluss auf die Präzipitanzahl hat.
- Abb. 40** Zusammenhang zwischen Präzipitanzahl und Gesamtmineralisatmenge in [mmol] in Bezug auf verschieden beschichtete Stentarten [BPU, DLC-Uro, DLC-2 und weitere a-C:H-Beschichtungen (zusammengefasst als „Andere“)]. Deutlich wird, dass auf den unbeschichteten BPU-Stents die Präzipitanzahl bedeutend höher ist, als auf den mit amorphen Kohlenstoffen beschichteten Stents (DLC-Uro, DLC-2, „Andere“).
- Abb. 41** Überblick von Aufnahmen, die während der Überwachung des Inkrustationsprozesses entstanden. Anhand von drei Beschichtungsbeispielen (a-C:H 1, unbeschichteter Polyurethan-Stent, a-C:H 2) wird die Inkrustationsbildung zu Beginn und nach 2, 4, 8, 18 und 28 Stunden dokumentiert. Nach 4 Stunden bilden sich erste Gasblasen an der Stentoberfläche; deutlich wird, dass sich auf den unbeschichteten Polyurethan-Stents deutlich mehr Gasblasen ablagern als auf den a-C:H-beschichteten Stents. Nach 18 Stunden setzt bei ansteigender Trübung der Lösung eine massive Kristallisation an der Grenzfläche zwischen Gasblase und Flüssigkeit ein. Die Gasblasen sind nun irreversibel in den kristallinen Biofilm integriert, klar erkennbar an den Sphärolithen auf der Stentoberfläche nach der Inkubation (Kleinen et al., 2009).
- Abb. 42** Schematische Darstellung der ablaufenden Prozesse laut Theorie 1 zur Sphärolithenbildung auf unbeschichteten Polyurethan-Stents (BPU) ohne den Einfluss von Bakterien.

Abb. 43 Schematische Darstellung der Prozesse gemäß Theorie 2 zur Sphärolithenbildung auf unbeschichteten Polyurethan-Stents (BPU) unter dem Einfluss von Bakterien.

Abb. 44 Schematische Darstellung der Prozesse nach Theorie 3 der Sphärolithenbildung auf mit a-C:H-beschichteten Polyurethan-Stent

9 Tabellenverzeichnis

- Tab. 1** Referenzwerte von Albumin in den verschiedenen Körperflüssigkeiten (Eardley et al., 2004; Rondeau et al., 2008).
- Tab. 2** Definitionen von Normo-, Mikro- und Makroalbuminurie nach der National Kidney Foundation. Die Werte müssen in zwei von drei aufeinanderfolgenden Messungen von nichtketonischem sterilem Urin erfüllt sein (Barrat und Topham, 2007; Eardley et al., 2004; Jones und Viberti, 1993; Tsioufis et al., 2004; Yilmaz et al., 2010).
- Tab. 3** Übersicht über die jeweilige Anzahl der verwendeten Harnleiterschienen in den Versuchsreihen (Run) 1-44. Run 1-21 waren Versuche, die ohne Zugabe von Albumin abliefen (deswegen keine Unterteilung in unterschiedliche Albuminkonzentrationen). Bei Run 25-31 wurde Albumin hinzugegeben. Es wurden aber nur Katheter vom Typ BPU (unbeschichtet), DLC-2 und DLC-Uro verwendet. Ab Run 31-44 wurden zusätzlich noch andere amorphe Kohlenstoffschichten verwendet. Es wurden 120 Stents ohne und 132 Stents mit Albumin untersucht.
- Tab. 4** Herstellung des künstlichen Urins; von Lösung A und B werden jeweils 5 Liter (mit $\text{H}_2\text{O}_{\text{dest}}$) hergestellt. Beide zusammen ergeben im Encrustator einen künstlichen Urin, welcher durch die Zugabe von Urease mit fortschreitender Versuchsdauer den pH-Wert auf bis maximal 9 ansteigen lässt, wodurch ein Harnwegsinfekt simuliert wird. Die Albuminkonzentration von Lösung B ist variabel. Je nach Versuchs-Run werden Albuminmengen von 5 mg/l, 20 mg/l oder 333 mg/l hinzugefügt.

10 Literaturverzeichnis

- Adams J. Renal stents. *Emerg Med Clin North Am.* 1994 Aug; 12: 749-758.
- Arshad M, Shah SS, Abbasi MH. Applications and complications of polyurethane stenting in urology. *J Ayub Med Coll Abbottabad.* 2006 Apr-Jun; 18: 69-72.
- Auge BK, Preminger GM. Ureteral stents and their use in endourology. *Curr Opin Urol.* 2002 May; 12: 217-222.
- Barratt J, Topham P. Urine proteomics: the present and future of measuring urinary protein components in disease. *CMAJ* 2007; 177: 361-368.
- Beiko DT, Knudsen BE, Denstedt JD. Advances in ureteral stent design. *J Endourol.* 2003 May; 17: 195-199.
- Bitschai J. The history of urology in Egypt. *Am J Surg.* 1952 Feb; 83: 215-224.
- Bloom DA, Clayman RV, McDougal E. Stents and related terms: a brief history. *Urology.* 1999 Oct; 54: 767-771.
- Bourquin V, Giovannini M. Proteinurie Teil 1. Pathophysiologie, Nachweis, Quantifizierung. *Schweiz Med Forum* 2007; 7: 708-712.
- Bregg K, Riehle RA (1989). Morbidity associated with indwelling internal ureteral stents after shock wave lithotripsy. *J Urol* 141: 510-512.
- Candela JV, Bellman GC. Ureteral stents: impact of diameter and composition on patient symptoms. *J Endourol.* 1997 Feb; 11: 45-47.
- Carter DC, Chang B, Ho JX, Keeling K, Krishnasami Z. Preliminary crystallographic studies of four crystal forms of serum albumin. *Eur. J. Biochem.* 1994; 226: 1049-1052.
- Carter DC, und Ho JX, Structure of serum albumin. *Adv. Protein Chem.* 1994; 45: 153-203.
- Chew BH, Duvdevani M, Denstedt JD. New developments in ureteral stent design, materials and coatings. *Expert Rev Med Devices.* 2006 May; 3: 395-403.
- Chew BH, Knudsen BE, Denstedt JD. The use of stents in contemporary urology. *Curr Opin Urol.* 2004 Mar; 14: 111-115.
- Choong SK, Hallson P, Whitfield HN, Fry CH. The physicochemical basis of urinary catheter encrustation. *BJU Int.* 1999 May; 83: 770-775.
- Choong S, Wood S, Fry C, Whitfield H. Catheter associated urinary tract infection and encrustation. *Int J Antimicrob Agents.* 2001 Apr; 17: 305-310.
- Choong SKS, Whitfield H a. Urinary Encrustation of Alloplastic Materials. *Journal of Endourology*, Volume 14, Number 1, February 2000: 19-23.

Choong S, Whitfield H b. Biofilms and their role in infections in urology. *BJU Int.* 2000 Nov; 86: 935-941.

Choong SKS, Wood S, Whitfield HN. A model to quantify encrustation on ureteric stents, urethral catheters and polymers intended for urological use. *BJU International* 2000, 86: 414-421.

Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science.* 1999 May 21; 284: 1318-1322.

Costerton JW, Montanaro L, Arciola CR. Biofilm in implant infections: its production and regulation. *Int J Artif Organs.* 2005 Nov; 28: 1062-1068.

Cummings LJ, Waters SL, Wattis JA, Graham SJ. The effect of ureteric stents on urine flow: reflux. *J Math Biol.* 2004 Jul; 49: 56-82.

Datta P, Dasgupta A. An improved microalbumin method (μ ALB₂) with extended analytical measurement range evaluated on the ADVIA[®] chemistry systems. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 2009; Volume 23 Issue 5: 314-318.

Deen WM, Lazzara MJ, Myers BD. Structural determinants of glomerular permeability. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2001; 281: 579-596,.

Denstedt JD, Razvi H. Management of urinary calculi during pregnancy. *J Urol.* 1992 Sep;148: 1072-1075.

Denstedt JD, Wollin TA, Reid G. Biomaterials used in urology: current issues of biocompatibility, infection, and encrustation. *J Endourol.* 1998 Dec; 12: 493-500.

Ding F, Liu W, Zhang X, Zhang L, Sun X. Fluorescence and circular dichroism studies of conjugates between metsulfuron-methyl and human serum albumin. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.* 2004; 76: 441-448.

Donlan RM, Costerton JW. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clin Microbiol Rev.* 2002 Apr; 15: 167-193.

Dyer RB, Chen MY, Zagoria RJ, Regan JD, Hood CG, Kavanagh PV. Complications of ureteral stent placement. *Radiographics.* 2002 Sep-Oct; 22: 1005-1022.

Eardley KS, Ferreira MAS, Howie AJ, Gosling P, Lipkin. Urinary albumin excretion: a predictor of glomerular findings in adults with microscopic haematuria. *Q J Med* 2004; 97: 297-301.

Finney RP. Experience with new double J ureteral catheter stent. 1978. *J Urol.* 2002 Feb; 167: 1135-1138; discussion 1139.

Flemming HC, Wingender J. Biofilme - die bevorzugte Lebensform der Bakterien. *Biologie in unserer Zeit.* Nr.3. 31. Jahrgang 2001: 169-180.

Gao HW, Xu Q, Chen L, Wang SL, Wang Y, Wu LL, Yuan Y. Potential Protein Toxicity of synthetic Pigments: Binding of Poncean S to Human Serum Albumin. *Biophys J* 2008 Feb1; 94: 906-991.

Gibbons RP, Mason JT, Correa RJ Jr. Experience with indwelling silicone rubber ureteral catheters. *J Urol.* 1974 May; 111: 594-599.

Gorman SP, Jones DS, Bonner MC, Akay M, Keane PF. Mechanical performance of polyurethane ureteral stents in vitro and ex vivo. *Biomaterials.* 1997 Oct; 18: 1379-1383.

Griffith DP, Musher DM, Itin C. Urease. The primary cause of infection-induced urinary stones. *Invest Urol* 1976 Mar, 13: 346-350.

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

Haleblian G, Kijvikai K, de la Rosette J, Preminger G. Ureteral stenting and urinary stone management: a systematic review. *J Urol.* 2008 Feb; 179: 424-430.

He XM und Carter DC. Atomic structure and chemistry of human serum albumin. *Nature* 1992; 358: 209-215.

Hitha B, Pappachan JM, Balachandran Pillai H, Sujathan P, Ramakrishna CD, Jayaprakash K, Raihanathul Misiriya KJ. Microalbuminuria in Patients with Essential Hypertension and its Relationship to Target Organ Damage: An Indian Experience. *Saudi J Kidney Dis Transpl* 2008; 19: 411-419.

Jones DS, Bonner MC, Gorman SP, Akay M, Keane PF. Sequential polyurethane-poly(methylmethacrylate) interpenetrating polymer networks as ureteral biomaterials: mechanical properties and comparative resistance to urinary encrustation. *J Mater Sci Mater Med.* 1997 Nov; 8: 713-717.

Jones S, Viberti G, Microalbuminuria: concepts, definition and monitoring, in: Mogensen CE (Ed.), *Microalbuminuria. A Marker for Organ Damage*, Science Press, London, 1993: 3-9.

Jones G, Russel AD, Caliskan Z, Stickler DJ. A strategy for the control of catheter blockage by crystalline *Proteus mirabilis* biofilm using the antibacterial agent Triclosan. *European Urology* 2005; 48: 838-845.

Joshi HB, Okeke A, Newns N, Keeley FX Jr, Timoney AG. Characterization of urinary symptoms in patients with ureteral stents. *Urology* 2002; 59: 511-516.

Joshi HB, Stainthorpe A, MacDonagh RP, Keeley FX Jr, Timoney AG, Barry MJ. Indwelling ureteral stents: evaluation of symptoms, quality of life and utility. *J Urol.* 2003 Mar; 169: 1065-1069; discussion 1069.

Keane PF, Bonner MC, Johnston SR, Zafar A, Gorman SP. Characterization of biofilm and encrustation on ureteric stents in vivo. *Br J Urol.* 1994; Jun; 73: 687-691.

Kinn A-C, Lykkeskov-Andersen H. Impact on ureteral peristalsis in a stented ureter. An experimental study in the pig. *Urol Res* 2002; 30: 213-218.

Kleinen L, Böde U, Laube N. Ex-vivo investigations on the friction behavior of amorphous carbon coated ureteral stents *Diamond & Related Materials* 2008, 17: 1746-1750.

Kleinen L und Laube N. Kein One-Night-Stent - multifunktionale Nanoschichten reduzieren die Biofilmbildung und verlängern die Liegezeiten. *Lebendige Wissenschaft - Spitzenforschung in der Urologie - Innovationen und Auszeichnungen* 2007: 26-32.

Kleinen L, Syring I, Laube N. Reduction of biofilm formation on a-C:H coated implants: investigation of biofilm-surface-interactions by variation of thin film properties. *Plasma Process Polym.* 2009, 6: 41–45.

Kohler-Ockmore J, Feneley RC. Long-term catheterization of the bladder: prevalence and morbidity. *Br J Urol* 1996; 77: 347-351.

Lam JS, Gupta M. Tips and tricks for the management of retained ureteral stents. *J Endourol.* 2002 Dec; 16: 733-741.

Lam JS, Gupta M. Update on ureteral stents. *Urology.* 2004 Jul; 64: 9-15.

Laube N, Bradenahl J, Meissner A, v Rappard J, Kleinen L, Müller SC. Plasmadeponierte Kohlenstoffbeschichtung auf urologischen Verweilkathetern. *Urologe* 2006; 45: 1163-1169.

Laube N, Kleinen L, Böde U, Fisang C, Meißner A, Bradenahl J, Syring I, Busch H, Pinkowski W, Müller SC. Plasmadeponierte funktionalisierte Kohlenstoffschichten zur Minderung von Inkrustationen auf urologischen Implantaten. *Urologe A.* 2007 Sep; 46: 1249-1251.

Liedl B. Drainage des Harntraktes. „In“: Jocham D, Miller K (Hrsg). *Praxis der Urologie*, In zwei Bänden, 3., überarbeitete und erweiterte Auflage, Stuttgart – New York: Georg Thieme Verlag, 2007: 300-321.

Mardis HK, Hepperlen TW, Kammandel H. Double pigtail ureteral stent. *Urology.* 1979 Jul; 14: 23-26.

Marx M, Bettmann MA, Bridge S, Brodsky G, Boxt LM, Richie JP. The effects of various indwelling ureteral catheter materials on the normal canine ureter. *J Urol.* 1988 Jan; 139: 180-185.

Mogensen CE. Microalbuminuria, blood pressure and diabetic renal disease: origin and development of ideas. *Diabetologia* 1999; 42: 263-285.

Mogensen CE. Microalbuminuria and hypertension with focus on type 1 and type 2 diabetes. *J Intern Med* 2003; 254: 45-66.

Monga M, Klein E, Castañeda-Zúñiga WR, Thomas R. The forgotten indwelling ureteral stent: a urological dilemma. *J Urol*. 1995 Jun; 153: 1817-1819.

Morris NS, Stickler DJ. The effect of urease inhibitors on the encrustation of urethral catheters. *Urol Res* 1998; 26: 275-279.

Pedrinelli R, Dell'Omo G, Di Bello V, Pontremoli, Mariani M. Microalbuminuria, an integrated marker of cardiovascular risk in essential hypertension. *Journal of Human Hypertension* 2002; 16: 79-89.

Ramsay JW, Crocker RP, Ball AJ, Jones S, Payne SR, Levison DA, Whitfield HN. Urothelial reaction to ureteric intubation. A clinical study. *Br J Urol*. 1987 Dec; 60: 504-505.

Reid G, Denstedt JD, Kang YS, Lam D, Nause C. Microbial adhesion and biofilm formation on ureteral stents in vitro and in vivo. *J Urol*. 1992 Nov; 148: 1592-1594.

Reid G. Biofilms in infectious disease and on medical devices. *Int J Antimicrob Agents*. 1999 May; 11: 223-226; discussion 237-239.

Richter S, Ringel M, Shalev M, Nissenkorn I. The indwelling ureteric stents: a „friendly“ procedure with unfriendly high morbidity. *BJU Intern* 2000 Mar, 85: 408-411.

Riedl CR, Plas E, Hübner WA, Zimmerl H, Ulrich W, Pflüger H. Bacterial colonization of ureteral stents. *Eur Urol*. 1999; 36: 53-59.

Ringel A, Richter S, Shalev M, Nissenkorn I. Late complications of ureteral stents. *Eur Urol*. 2000 Jul; 38: 41-44.

Robert M, Boularan AM, El Sandid M, Grasset D. Double-J ureteric stent encrustations: clinical study on crystal formation on polyurethane stents. *Urol Int*. 1997; 58: 100-104.

Robert-Koch-Institut (2002) a, Aktuelle Daten des Krankenhaus-Infektions-Surveillance-System (KISS), Stand 2002 Juni. *Epidemiologisches Bulletin* Nr. 9, Robert-Koch-Institut, Berlin.

Robert-Koch-Institut (Hrsg) (2002) b, Nosokomiale Infektionen. *Gesundheitsberichtserstattung des Bundes*, Heft 8, Robert-Koch-Institut, Berlin.

Rondeau P, Singh NR, Caillens H, Tallet F, Bourdon E. Oxidative stresses induced by glycoxidized human or bovine serum albumin on human monocytes. *Free Radical Biology & Medicine* 2008; 45: 799–812.

Rüden H, Gastmeier P, Daschner F, Schumacher M. Nosocomial and community-acquired infections in Germany. Summary of the results of the first national prevalence study (NIDEP). *Infection* 1997 Jul-Aug, 25: 199-202.

Santin M, Motta A, Denyer SP, Cannas M. Effect of the urine conditioning film on ureteral stent encrustation and characterization of its protein composition. *Biomaterials*. 1999; 20: 1245-1251.

Satchell SC und Tooke JE. What is the mechanism of microalbuminuria in diabetes: a role for the glomerular endothelium? *Diabetologia* 2008; 51: 714–725.

Schierholz JM, Yücel N, Rump AF, Beuth J, Pulverer G. Antiinfective and encrustation-inhibiting materials--myth and facts. *Int J Antimicrob Agents*. 2002 Jun; 19: 511-516.

Seiter H, Schmitz KP, Behrend D. Biomaterials in Urology. *Urologe A*. 2000 Sep; 39: 463-468.

Shaklai N, Garlickunn HF. Nonenzymatic glycosylation of human serum albumin alters its conformation and function. *J. Biol. Chem.* 1984; 259: 3812-3817.

Singh I, Gupta NP, Hemal AK, Aron M, Seth A, Dogra PN. Severely encrusted polyurethane ureteral stents: management and analysis of potential risk factors. *Urology*. 2001; 58: 526-531.

Sofer M, Denstedt JD. Encrustation of biomaterials in the urinary tract. *Curr Opin Urol*. 2000, Volume 10: 563-569.

Sökeland J, Brühl P, Hertle L. Katheterdrainage der Harnblase heute. *Dtsch Ärztebl A* 2000; 97: 168-174.

Stickler D. Biofilms. *Curr Opin Microbiol*. 1999 Jun; 2: 270-275.

Stickler DJ. Susceptibility of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria to biocides: a perspective from the study of catheter biofilms. *J Appl Microbiol*. 2002; 92 Suppl: 163-170.

Stickler DJ, Evans A, Morris N, Hughes G. Strategies for the control of catheter encrustation. *Int J Antimicrob Agents*. 2002 Jun; 19: 499-506.

Stickler D, Morris N, Moreno MC, Sabbuba N. Studies on the formation of crystalline bacterial biofilms on urethral catheters. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 1998 Sep; 17: 649-652.

Suller MT, Anthony VJ, Mathur S, Feneley RC, Greenman J, Stickler DJ. Factors modulating the pH at which calcium and magnesium phosphates precipitate from human urine. *Urol Res*. 2005; 33: 254-260.

Thomas R. Indwelling ureteral stents: impact of material and shape on patient comfort. *J Endourol*. 1993 Apr; 7: 137-140.

Tieszer C, Reid G, Denstedt J. Conditioning film deposition on ureteral stents after implantation. *J Urol*. 1998; 160: 876-881.

Tryggvason K, Patrakka J, Wartiovaara J. Hereditary Proteinuria Syndromes and Mechanisms of Proteinuria. *N Engl J Med* 2006; 354: 1387-1401.

Tsioufis C, Dimitriadis K, Antoniadis D, Stefanadis C, Kallikazaros I. Inter-Relationships of Microalbuminuria With the Other Surrogates of the Atherosclerotic Cardiovascular Disease in Hypertensive Subjects. *Am J Hypertens* 2004; 17: 470-476.

Tsioufis C, Dimitriadis K, Chatzis D, Vasiliadou C, Tousoulis D, Papademetriou V, Toutouzas P, Stefanadis C, Kallikazaros I. Relation of Microalbuminuria to Adiponectin and Augmented C-Reactive Protein Levels in Men With Essential Hypertension. *Am J Cardiol* 2005; 96: 946-951.

Verran J, Whitehead K. Factors affecting microbial adhesion to stainless steel and other materials used in medical devices. *Int J Artif Organs*. 2005 Nov; 28: 1138-1145.

Yachia D. Overview: role of stents in urology. *J Endourol*. 1997 Dec; 11: 379-382.

Yilmaz Y, Alahdaba YO, Yonala O, Kurta R, Kedraha AE, Celikelb CA, Ozdogana O, Dumana D, Imeryuza N, Avsara E, Kalaycia C. Microalbuminuria in nondiabetic patients with nonalcoholic fatty liver disease: association with liver fibrosis. *Metabolism Clinical and Experimental*. 2010 Sept; Volume 59, Issue 9: 1327-1330.

Zimskind PD, Fetter TR, Wilkerson JL: Clinical use of long-term indwelling silicone rubber ureteral splints inserted cystoscopically. *J Urol*. 1967 May; 97: 840-844.

11 Danksagung

Bedanken möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. hc. S.C. Müller für die Wegfindung in der Urologie über Famulatur, Promotion und Anstellung.

Mein großer Dank gilt Herrn PD Dr. rer. nat. Norbert Laube für die stetige Betreuung während der Erstellung dieser Promotion. Nicht nur die anregenden Diskussionen, sondern auch die Ermögichungen von Veröffentlichungen, Kongressvorträgen und Auszeichnungen motivierten mich ungemein bei der Fertigstellung.

Den weiteren Mitarbeitern der Experimentellen Urologie des Universitätsklinikums Bonn, vor allem Jörg Bradenahl, Maren Klöckner und Dr. oec. troph. Esther Thomas danke ich für die Unterstützung im Labor und die auswärtigen Teamtreffen.

Ganz besonderer Dank gilt meiner Familie, die mich stets unterstützt hat und mir in allen Stunden eine enorme Kraftquelle ist.

Julian Haase danke ich für den beständigen Glauben an mich.

13 Veröffentlichungen

a) Originalarbeiten, Case-Reports, Review-Artikel

[1] Laube N, Kleinen L, Böde U, Fisang C, Meißner A, Bradenahl J, Syring I, Busch H, Pinkowski W, Müller SC. Plasmadeponierte funktionalisierte Kohlenstoffschichten zur Minderung von Inkrustationen auf urologischen Implantaten. Sonderband „Urologische Forschung Deutschland, Österreich und der Schweiz“. *Der Urologe* 2007; 46: 1249-1251.

[2] Kleinen L, Syring I, Laube N. Reduction of biofilm formation on a-C:H coated implants: investigation of biofilm-surface-interactions by variation of thin film properties. *Plasma Processes and Polymers* 2009; 6: 41-45.

b) Liste der gedruckten Vorträge und Posterpräsentationen sowie publizierten Abstracts von Vorträgen und Postern auf wissenschaftlichen Tagungen

Vorträge:

[1] Kleinen L, Böde U, Syring I, Bradenahl J, Laube N (2008) Investigations on the biofilm reducing properties of amorphous carbon on urological implants in an extended in-vitro crystallization model. 8th World Biomaterials Congress (WBC) 2008 – Crossing Frontiers in Biomaterials and Regenerative Medicine 28. May – 01. June 2008, Amsterdam, Netherlands

[2] Laube N, Kleien L, Syring I (2008) Heterocoagulation processes on hydro-phobic surfaces – key processes of crystalline bacterial biofilm formation on ureteral stents? 18. Symposium Experimentelle Urologie, Marburg, 10. – 12. April 2008.

[3] Laube N, Syring I, Bradenahl J, Kleinen L (2007) The influence of albumin on the formation of crystal deposits on differently coated ureteral stents – amorphous carbon vs. polyurethane. 5th eULIS Symposium, 12th European Symposium on Urolithiasis, July 4 - 7, Lisbon/Cascais, Portugal. *European Urology Meetings* 2007; (1):44.

Posterpräsentationen:

[1] Laube N, Kleinen L, Syring I (2008) Sind Heterokoagulationsprozesse auf hydrophoben Oberflächen ein Schlüsselfaktor der Inkrustationsbildung auf urologischen Implantaten? 60. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie, Stuttgart, 24 – 27. September 2008, *Der Urologe*, 47 Suppl. 1, 2008, P1.4, S8

[2] Laube N, Kleinen L, Syring I, Bradenahl J (2007) The influence of albumin on the formation of crystal deposits on differently coated ureteral stents – amorphous carbon vs. polyurethane. 59. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Urologie, 26 – 29. September 2007, Berlin, *Urologe [A]*, Suppl. 1, 2007, PKLIN 8.1, S66. **Bestes Poster der Sitzung.**

[3] Laube N, Syring I, Bradenahl J, Kleinen L, Müller SC (2007) Die Kristallbildung auf verschieden beschichteten Harnleiterschienen in Abhängigkeit der Harn-

Albuminkonzentration. 53. Kongress der Nordrhein-Westfälischen Gesellschaft für Urologie, 19 – 21. April 2007, Köln.