

Entwicklung eines Berstversuches für Gefäßersatz im DFG-Projekt „Viskograff“

S. Schrammel¹, K. Falkner¹, J. Hammer¹, M. Hoenicka²

¹ Hochschule Regensburg, ² Klinikum der Universität Regensburg

Kurzfassung

Eines der aktuellen Forschungsziele der Medizin ist es, einen Gefäßersatz zu entwickeln, der aufgrund seiner biologischen und mechanischen Eigenschaften für den Einsatz als Bypass bei der Behandlung von koronarer Herzkrankheit geeignet ist. Die Schwierigkeiten dieser Entwicklung liegen in den unterschiedlichen viskoelastischen Eigenschaften von Koronararterien und dem Gefäßersatz, den Oberflächeneigenschaften an der Grenzfläche zum Blut, sowie im hohen Druck des koronaren Kreislaufs. Bisherige Versuche mit z.T. endothelbeschichteten Kunststoffen und mittels „Tissue Engineering“ (Gewebezüchtung) auf der Basis von biologischen Polymeren hergestellten Gefäßen sind an diesen Kriterien bislang gescheitert. Aus diesem Grund wurden neue Versuche mit einem Gefäßersatz auf der Basis von humanen Nabelschnurvenen und mikrokristalliner Zellulose (Xellulin) gestartet.

Ein zentraler Aspekt unseres Projektes ist die Analyse und Kontrolle der mechanischen und funktionellen Eigenschaften der Konstrukte. Es wird versucht, technische Voraussetzungen zu schaffen, um die kontraktile Funktion, die „Compliance“ sowie den Berstdruck zu untersuchen. Die Compliance beschreibt die Änderung des Gefäßvolumens bei einer gegebenen Änderung des Innendrucks. Der Berstdruck ist ein Maß für die maximale Druckbelastbarkeit eines Gefäßersatzes. Dieser sollte mindestens das fünffache des in Koronararterien maximal zu erwartenden Drucks von etwa 200 mm Hg betragen.

Zur Bestimmung des Berstdrucks werden Segmente der zu testenden Gefäße oder Konstrukte an einem Ende verschlossen und unter physiologischen Umgebungsbedingungen in einer mechanischen Prüfmaschine mit einem Kolben definiert belastet. Der aktuelle Druck und das Volumen werden über das Prüfsystem erfasst. Die Verformungsmessung des Testobjekts erfolgt optisch mit einem entsprechenden Kamerasystem. Hierdurch sind neben dem Berstdruck auch weitere Daten zur Verformung des Gefäßes unter hohem Druck

erhältlich. Aufgrund dieser Daten können Aussagen über die Eignung der Konstrukte als Gefäßersatz getroffen werden.

Development of a Burst Pressure Setup for Vessel Grafts – DFG Project „Viskograff“

Abstract

One of the major goals in vascular surgery is the development of small caliber vessel grafts with suitable biological and mechanical properties for coronary artery bypass grafting. Inherent problems include compliance mismatches, the surface properties of the graft vs. blood interface, and insufficient mechanical stability at arterial blood pressures. To date, attempts which used raw or endothelialized synthetic polymers or tissue-engineered grafts based on biological polymers have not entered clinical use. Therefore, our project attempted to create small-caliber vessel grafts based either on human umbilical veins or on a new biological polymer, microcrystalline cellulose (Xellulin).

The analysis and manipulation of mechanical and functional properties is one of the core goals of our project. We attempt to facilitate the investigation of contractile function, compliance, and burst pressure. Compliance relates the change of vessel volume to a given change in luminal pressure. Burst pressure is a measure of the mechanical stability towards inflation. To allow for a safety margin, burst pressure is supposed to be at least five times of the maximum expected luminal pressure, which is approx. 200 mm Hg.

Burst pressure is determined by sealing one end of the sample and inflating it under physiological conditions in a controlled manner by means of a piston. Current pressure and volume readings are recorded by the testing rig. The increase in volume is recorded by an appropriate camera system which allows to obtain additional information about local deformation and structural failures under load. The analysis of recorded data allows to draw conclusions about whether or not a graft is suitable for coronary applications.

Implementation

A stepper is actuated via USB and a NI 6009 D/A adapter and drives a piston (syringe) which delivers a defined volume to the sample. The luminal pressure is read out by a pressure probe and sent to the computer from the „Bronkhorst“ system via an RS232 interface. The volume changes are determined by two orthogonally mounted USB cameras using a resolution of 1600 pixel. Electroluminescent sheets provide diffuse background illumination to obtain images free of shadows and other artefacts which otherwise limit automatic shape recognition. All data are recorded in real time by LabView. During the test run the pressure is increased linearly until the sample fails. The recorded data are evaluated and provide the requested information about the mechanical properties of the samples. Thus, LabView allows to set up an affordable and automatically operated testing rig for determining the mechanical properties of vessel grafts.

Einleitung

Im DFG-Projekt „Viskograff“ arbeiten das Universitätsklinikum Regensburg, die Hochschule München und die Hochschule Regensburg zusammen. Weiterhin besteht eine Kooperation mit der Firma Bioregeneration in München, welche die mikrokristalline Zellulose herstellt. In diesem Projekt wird eine neue Anlage zur Herstellung von Gefäßersatz erstellt. Außerdem werden verschiedene Versuchsstände zur Bestimmung der mechanischen Eigenschaften aufgebaut. Eines dieser Testsysteme ist der Berstversuch. Mit diesem Versuchstand soll ein Gefäßersatz in einem Medium aufgrund der Druckerhöhung zum Bersten gebracht werden. Die dadurch gewonnenen Daten wie Druck, Volumenstrom und geometrische Ausdehnung werden aufgezeichnet. Aus diesen Daten lassen sich Einschätzungen über die Eignung der Gefäßprothese machen.

Technische Umsetzung der „Viskograff Berstanlage“

Das Kernstück der Anlage ist die Berstkammer.

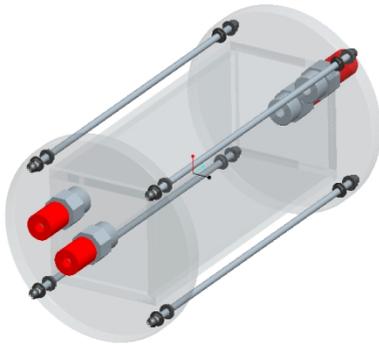


Bild 1 und 2: Techn. Zeichnung und bestückte Berstkammer im Versuch

Mit dem Hintergrund der optischen Vermessung der Geometrie der Vene wurde eine Quaderform gewählt. Um die Berstkammer drehbar zu machen, sind die Enden als Kreis ausgeführt. Bei eingebauten Präparaten durchspült ein Medium die Vene innen in der Perfusion. In der Superfusion, dem äußeren Bereich um die Vene, ist es mittels eines Ausgleichsgefäßes möglich, einen definierten Druck auf die Vene zu bringen. Für die Konstruktion wurden die Berechnungen mittels FEM-Simulation durchgeführt, um die Belastbarkeit des Glases zu bestimmen.

Vergleichsspannung
Typ: Vergleichsspannung (von Mises)
Einheit: MPa
Zeit: 1
01.09.2009 14:36

88,082 Max
78,308
68,534
58,76
48,986
39,212
29,437
19,663
9,8891
0,11492 Min

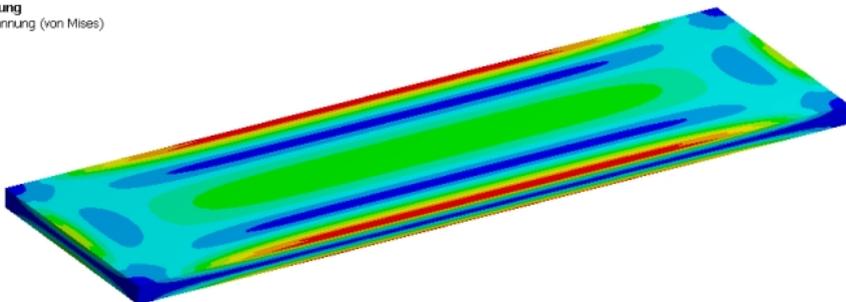


Bild 3: FEM-Simulationsergebnis des Berstkammerglases

Ferner wurde auf eine spätere Autoklavierbarkeit geachtet, um die Kammer steril betreiben zu können. Die Anlage sollte fahrbar, die Oberflächen gut zu reinigen und die Kosten im überschaubaren Maß sein.



Bild 4: Berstanlage

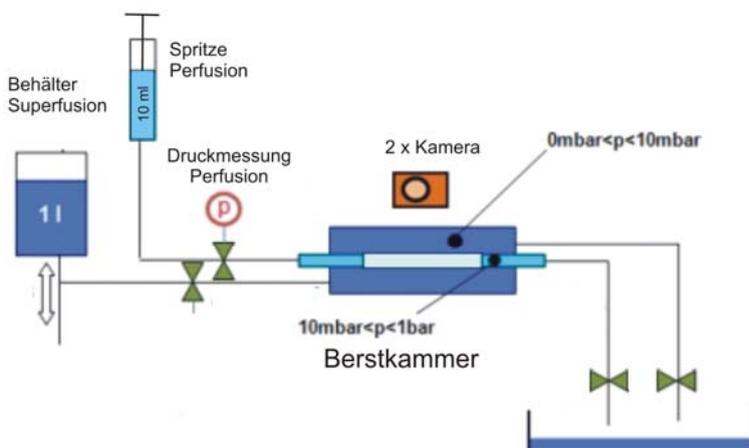


Bild 5: Schematische Darstellung der Berstanlage

Für die Erzeugung des Volumenstrom in der Perfusion wird eine 10 ml Spritze von einem Schrittmotor mit Kugelgewindetrieb verwendet. Dieser wurde über die NI USB 6009 mit LabView digital angesteuert und mittels einer kleinen Verstärkerplatine betrieben. Mit diesem Aufbau kann ein variablen Volumenstrom bis zu 1,5 ml/min mit ausreichender Genauigkeit erreicht werden. Bei der Druckmessung in der Perfusion kommt ein Sensor mit einer Genauigkeit von 0,1% zum Einsatz. Aus wirtschaftlichen Gründen wurde das Bronkhorst Messsystem E 7000, welches die Mess- und Regelaufgaben in der Viskograft-Anlage erledigt, ebenso für die Berstanlage genutzt. Der Perfusionsdruck wird über die RS232-Schnittstelle mit den LabView „VISA-Funktionen“ eingelesen. Hierbei wird eine Messrate von 10 Hz erreicht. Die zuvor verwendeten Drucksensoren, welche im OP-Bereich eingesetzt werden, stellten sich als zu ungenau heraus. Die größte Herausforderung stellt die Ermittlung der Compliance dar. Hierbei muss die Volumenänderung an der Vene gemessen werden. Aufgrund der hohen Kosten für Kameramesssystem wurde eine Lösung mit zwei preisgünstigen USB-Webcameras gewählt. Die verwendeten Logitech WebCam liefern eine Auflösung von 1600 x 1200 Pixel, was zu einer Genauigkeit von 0,1 mm pro Pixel führt.

Die Aufnahmegeschwindigkeit mit Speicherung von zwei Bildern beträgt weniger als eine Sekunde. Das Anbringen einer Hintergrundbeleuchtung mit Elektroluminiszenzfolien erhöht den Kontrast des Testobjekts deutlich und macht die spätere Offlineanalyse der Bilddaten in NI-Vision einfacher. Aus Datensicherheitsgründen wurden die Aufgabe Bilderfassung und automatische Durchführung des Versuches in zwei Programmen realisiert. In den ersten LabView-Programm war es möglich, sowohl im Handbetrieb, als auch automatisch zu fahren. Wegen der komplexen Einstellungen der Lichtverhältnisse und Kameraparameter ist es nicht erforderlich das Programm so zu gestalten, dass ein nichttechnisches Personal damit arbeiten kann. Die Datensynchronisation wird mittels „Melder“ erreicht. Bei Betrieb der Anlage wird bei konstanten Volumenstrom in der Perfusion der Druck mit 10 Hz gemessen und jede Sekunde eine Aufnahme von der Seite (X-Richtung) und von Oben (Y-Richtung) aufgenommen und gespeichert.

Nachdem die Vene geborsten ist, werden die Daten visualisiert.

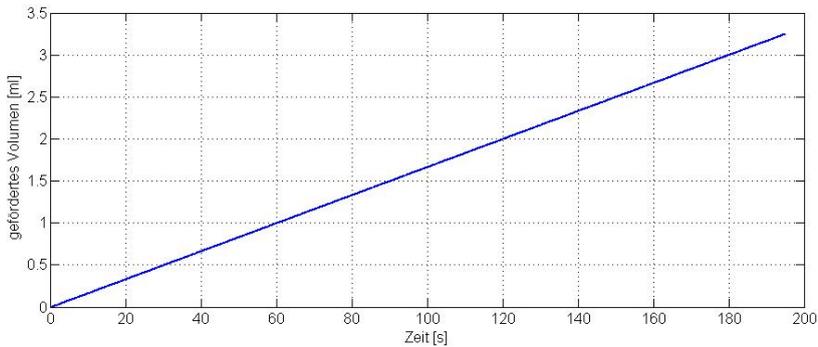


Bild 5: Volumenstrom in der Perfusion

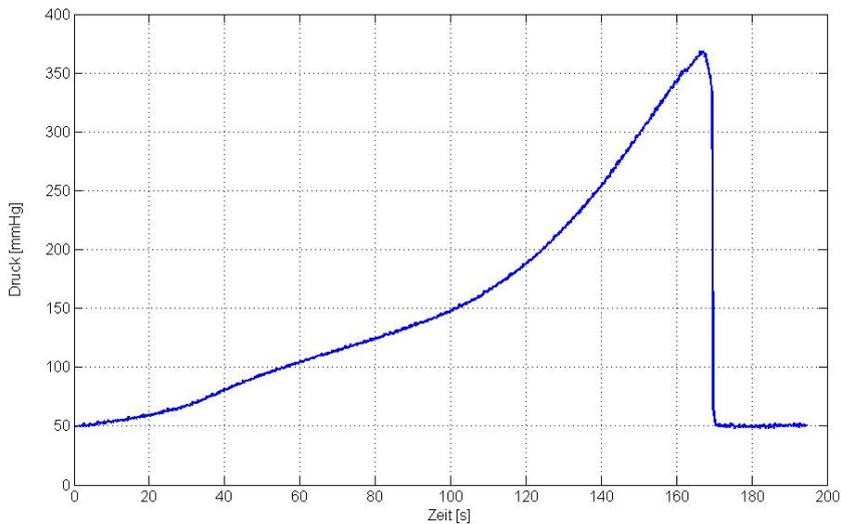


Bild 6: Druckverlauf in der Perfusion

Die gewonnenen Bilder können als Avi-Film zusammengesetzt werden und veranschaulichen so ebenfalls das dynamische Verhalten des Testobjekts. Diese Sequenzen können unter <http://homepages.fh-regensburg.de/~scs39082/> betrachtet werden.

Ferner ist geplant, die Berstanlage von einer Steuerung des Volumenstroms in eine Druckregelung umzurüsten. Hierzu wird die NI

USB 6009 durch das CRio-System ersetzt, welches die Regelung des Druckes mittels des Volumenstroms realisiert. Somit übernimmt der PC nur noch die Steuerung der beiden WebCams mittels USB, was eine schnellere Performance für beide Aufgaben garantiert.

Messergebnisse und erste Erkenntnisse

Im ersten Anlauf wurden Rinderarterien, mikrokristalline Zellulose und Nabelschnurvenen untersucht.

Bei den Rinderarterien mussten die Abzweigungen geklammert bzw. vernäht werden.



Bild 7: Rinderarterie

Es wurde nur eine geringe maximale Druckerhöhung gemessen und die Arterie berstet nicht. Die Rinderarterien haben zwar eine sehr starke und dicke Muskelstruktur, jedoch ist es offenbar nicht möglich, die Seitenäste in vitro ausreichend dicht zu verschließen. In vivo gelingt dies mit Hilfe der Blutgerinnung, die im Testsystem jedoch nicht zur Verfügung steht.

Die mikrokristalline Zellulose (MC) wird in einer Nährlösung durch Bakterien erzeugt. Aufgrund ihrer Mikrostruktur tritt ein ähnlicher Druckverlauf wie bei den Rinderarterien auf. Das zellfreie und poröse Material arbeitet als Sieb, so dass verlässliche Messungen nur mit hochviskosen Flüssigkeiten möglich wären.

Besonderen Vorteil bietet die Nabelschnurvene im Vergleich zur Rinderarterie, da hier lange Stücke ohne Abzweigungen zur Verfügung stehen. Bei den Versuchen mit dezellularisierten Nabelschnurvenen konnte bei den Berstversuchen, ebenso wie bei den Rinderarterien und MC, mehrmals kein Bersten erreicht werden, da beim Prozess die Zellen in der Gefäßwand beseitigt werden und somit die Vene ebenfalls wie ein Sieb wirkt.

Bei nativen Venen können im Berstversuch gute, vergleichbare Ergebnisse erzielt werden, da hier die intakten Zellschichten ein Austreten des Mediums durch die Gefäßwand verhindern.

Zusammenfassung

Der Aufbau des Versuchsstandes zur Bestimmung des Berstdrucks von künstlichem Gefäßersatz konnte mit Hilfe von LabView schnell und einfach realisiert werden. Sowohl die Ansteuerung des Aktors als auch das Einlesen der Messwerte und deren Analyse und Aufbereitung konnten mit den durch LabView bereitgestellten Werkzeugen auf einfachem Wege erfolgen. Der Versuchsstand wurde erfolgreich an unterschiedlichen Gefäßen getestet und wird bei den anstehenden Analysen des Viskograft-Projekts eingesetzt.

Literatur

- [1] He,G.W., Yang,C.Q.
Comparison on arterial grafts and coronary artery. An attempt at functional classification
J.Thorac.Cardiovasc.Surg. 109:707-15 (1995).

- [2] König G., McAllister T., Dusserre N. et al.
Mechanical properties of completely autologous human tissue engineered blood vessels compared to human saphenous vein and mammary artery,
Biomaterials 30:1542-50 (2009).

- [3] Silke Bronold
Projekt: Berstkammer
Hochschule Regensburg (2010).

- [4] Hoenicka M., Lehle K., Jakobs V.R., Schmid F.-X., Birnbaum D.E.
Properties of the human umbilical vein as a living scaffold for a tissueengineered vessel graft.
Tissue Eng. 13:219-29 (2007).