

Zerstörungsfreie elektrische Ladungstrennung und elektrische
Effekte während der Gerinnung von Blut zur Detektion von
Blutgerinnseln im Umfeld von metallischen Implantaten

Von der Fakultät für Konstruktions-, Produktions- und Fahrzeugtechnik
der Universität Stuttgart
zur Erlangung der Würde eines Doktors der
Ingenieurwissenschaften (Dr.-Ing.) genehmigte Abhandlung

Vorgelegt von
Dipl.-Phys. Angelika Dorothea Bender M.Sc.
aus Karlsruhe

Hauptberichter: Prof. Dr.-Ing. Peter Eyerer
Mitberichter: Prof. Dr. rer. nat. Thomas Hirth
Tag der mündlichen Prüfung: 20.12.2012

Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie ICT
2013

Vorwort

Die vorliegende Promotionsarbeit ist im Rahmen einer wissenschaftlichen Tätigkeit am Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie ICT in Pfinztal entstanden. Zur Betreuung der Promotionsarbeit hat sich Prof. Dr.-Ing. Peter Eyerer, ehemals Lehrstuhlinhaber an der Universität Stuttgart und Leiter des Fraunhofer ICT, bereit erklärt. Den Mitbericht hat Prof. Dr. rer. nat. Thomas Hirth, Leiter des Instituts für Grenzflächenverfahrenstechnik IGVT der Universität Stuttgart und des Fraunhofer-Instituts für Grenzflächen- und Bioverfahrenstechnik IGB, übernommen.

Parallel zur Tätigkeit am Fraunhofer ICT ist ein Promotionsstudium an der Universität Stuttgart absolviert worden, wobei Vorlesungen gehört und bei Prof. Dr.-Ing. Ralf Takors und Prof. Dr.-Ing. Wolfgang Schinköthe Prüfungen in Bioverfahrenstechnik und Feinwerktechnik abgelegt worden sind. Nach dem erfolgreichen Ablegen der beiden Prüfungen ist die Zulassung zur Promotion an der Fakultät 7 für Konstruktions-, Produktions- und Fahrzeugtechnik der Universität Stuttgart ausgesprochen worden.

Ich danke

- Herrn Prof. Dr.-Ing. Peter Elsner für die Möglichkeit, die Promotionsarbeit am Fraunhofer ICT bearbeiten zu dürfen, für die fachliche Begleitung und die Freigabe von Mitteln für Anschaffungen;
- Herrn Prof. Dr.-Ing. Peter Eyerer für die Betreuung während der Promotionsarbeit und die Übernahme des Hauptberichts;

- Herrn Prof. Dr. rer. nat. Thomas Hirth für die fachliche Begleitung während der Promotionsarbeit und die Übernahme des Mitberichts;
- den Herren Professoren der Fakultät 7 für Konstruktions-, Produktions- und Fahrzeugtechnik und der Fakultät 4 für Energie-, Verfahrens- und Biotechnik der Universität Stuttgart für die Betreuung während des Promotionsstudiums und die Mitwirkung beim Promotionsverfahren;
- Herrn Dr. rer. nat. Thomas Stauch, Medizinisches Versorgungszentrum MVZ Labor Prof. Seelig, Karlsruhe, mit Team für die regelmäßige Abnahme und Bereitstellung von Versuchsmaterialien;
- Herrn Dipl.-Ing. Manfred Gülcher, QualiMed Innovative Medizinprodukte GmbH, Winsen, für die Bereitstellung von Stent-Funktionsmustern;
- Herrn Dr. rer. nat. Bernd Hefer und Frau Dörthe Krause für organisatorische Unterstützung und Begleitung am Fraunhofer ICT;
- allen Kolleginnen und Kollegen am Fraunhofer ICT für die Unterstützung;
- den Mitdoktoranden für den Austausch beim Doktorandenstammtisch;
- meiner Familie und meinen Freunden für die Begleitung, gemeinsame Gespräche, Interessen und Unternehmungen.

Stuttgart, Oktober 2012 Angelika Bender

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	5
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	9
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	9
TABELLENVERZEICHNIS	15
ZUSAMMENFASSUNG	17
ABSTRACT	18
KAPITEL 1: AUFGABENSTELLUNG UND VORGEHENSWEISE.....	20
1.1 Motivation und Aufgabenstellung	20
1.2 Lösungsansätze und Vorgehensweise	21
KAPITEL 2: STAND DER TECHNIK.....	25
2.1 Elektrische Effekte bei Zustandsänderungen	25
2.2 Zerstörungsfreie Prüfmethode basierend auf elektrischen Effekten	29
2.3 Grundlagen der Blutgerinnung.....	31
2.4 Verfahren und Vorrichtungen zur Messung der Blutgerinnung ...	40

2.5 Elektrische Effekte in Zusammenhang mit der Blutgerinnung.....	50
2.6 Fazit aus dem Stand der Technik	57
KAPITEL 3: VERWENDETE MATERIALIEN UND METHODEN.....	58
3.1 Materialien und Probenvorbereitung	58
3.2 Elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blut- plasma mit Elektroden in Zylinderanordnung	62
3.3 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blutplasma und Blut mit Elektroden in Plattenanordnung.....	66
3.4 Optische Messung der Gerinnung von Blutplasma und Blut.....	72
3.5 Rheologische Messung der Gerinnung von Blut.....	77
3.6 Kombinierte optische Gerinnungsmessungen und elektrische Mes- sungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma	81
3.7 Kombinierte rheologische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld.....	83
3.8 Gerinnungsmessungen an Blutplasma und Blut in einem äußeren elektrischen Feld.....	86
KAPITEL 4: MESSERGEBNISSE UND DISKUSSION FÜR BLUTPLASMA ..	88
4.1 Elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blut- plasma mit Elektroden in Zylinderanordnung	88

4.2 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blutplasma mit Elektroden in Plattenanordnung.....	90
4.3 Kombinierte optische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma	94
4.4 Optische Gerinnungsmessungen an Blutplasma in einem äußeren elektrischen Feld.....	104
4.5 Bestimmung der thermodielektrischen Konstante	107
KAPITEL 5: MESSERGEBNISSE UND DISKUSSION FÜR BLUT	110
5.1 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blut mit Elektroden in Plattenanordnung	110
5.2 Optische Gerinnungsmessungen an Blut	114
5.3 Kombinierte rheologische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blut.....	118
5.4 Rheologische Gerinnungsmessungen an Blut in einem äußeren elektrischen Feld.....	130
5.5 Erklärungsmodell für elektrische Effekte bei der Blutgerinnung.	132
KAPITEL 6: FAZIT UND AUSBLICK	135
6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse für Blutplasma	135
6.2 Zusammenfassung der Ergebnisse für Blut.....	137

6.3 Ausblick	139
ANHANG	142
Ergänzende Diagramme zu Kapitel 4.....	142
Ergänzende Diagramme zu Kapitel 5.....	147
LITERATURVERZEICHNIS	155
EIGENE VERÖFFENTLICHUNGEN	167
LEBENS LAUF	168

Abkürzungsverzeichnis

In der vorliegenden Promotionsarbeit werden physikalische Größen und Naturkonstanten gemäß dem internationalen Einheitensystem (SI-System) und chemische Elemente gemäß der Periodentafel der Elemente angegeben, vgl. beispielsweise [1]. Insbesondere werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

G'	Speichermodul in Pa
I_{Ger}	Gerinnungsstrom in A
k	thermodielektrische Konstante in C/g
κ	elektrische Leitfähigkeit in S/m
R	Ohmscher Widerstand in Ω
ρ	Dichte in kg/l
s	Gerinnungsdicke in m
t	Messdauer in h oder min
U_{Ger}	Gerinnungspotential in V
v	Gerinnungspotentialzunahme in V/l
z	Zellkonstante in 1/m
Z	Impedanz in Ω

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Abfolge der Untersuchung von Blutsystemen	23
Abbildung 2: Versuchsanordnung aus [6] für elektrische Messungen während der Aushärtung eines Epoxidharz-Systems	30
Abbildung 3: Schematische Gerinnungskaskade aus [31] mit Erläuterungen.....	34

Abbildung 4: Struktur des Fibrinogenmoleküls aus [31]	37
Abbildung 5: Längspolymerisation der Fibrinmonomere aus [31]	38
Abbildung 6: Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin (Stufen 1 bis 3) aus [33].....	39
Abbildung 7: Messanordnung aus [49] zur koagulometrischen Gerin- nungszeitbestimmung.....	41
Abbildung 8: Messanordnung zur photometrischen Gerinnungszeitbe- stimmung aus [31].....	44
Abbildung 9: Testträger zur Gerinnungszeitbestimmung für Patienten- selbstmanagement aus [31]	48
Abbildung 10: Versuchsanordnung aus [86] zur Strombeaufschlagung einer Blutprobe	53
Abbildung 11: Parallele Messung von Gerinnungsfortschritt und elek- trischem Gerinnungsstrom an gerinnendem Blutplasma (oben) und Vergleichsmessung an Ringer-Lösung (unten) aus [104].....	55
Abbildung 12: (links): Messzelle mit Elektrodenanordnung in Explosi- onsdarstellung	63
Abbildung 13 (rechts oben): Schnitt durch Versuchsaufbau aus Abbil- dung 12.....	63
Abbildung 14 (rechts unten): Bild von Elektroden für Versuchsaufbau aus Abbildung 12 und 13 mit cm-Maßstab	63
Abbildung 15 (links): Messzelle mit Elektrodenanordnung in Explosi- onsdarstellung	68
Abbildung 16 (Mitte): Schnitt durch Versuchsaufbau aus Abbildung 15	68
Abbildung 17 (rechts): Bild einer Elektrode aus Abbildung 15 und 16	68

Abbildung 18: Messeinrichtung zur optischen und elektrischen Messung von Blutplasma.....	73
Abbildung 19: Bildschirmoberfläche zur Bedienung des Programms „RecCam“ zur Aufnahme und Auswertung von Messdaten nebst Erläuterungen	75
Abbildung 20 (links): Bild von dielektrischer Messzelle aus [10].....	84
Abbildung 21 (rechts): Schnitt durch dielektrische Messzelle aus [10]	84
Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma mit Erläuterungen	89
Abbildung 23: Zeitlicher Verlauf des Ohmschen Widerstandes R von drei gerinnenden Blutplasmaproben im Vergleich zum Widerstand von Ringer-Lösung und $CaCl_2$ -Lösung mit Erläuterungen.....	92
Abbildung 24: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts der Gerinnungsdicke s für gerinnendes Blutplasma bei unterschiedlichen Position d_a der oberen Elektrode	96
Abbildung 25: Zeitlicher Verlauf des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma bei unterschiedlichen Positionen $d_a=20mm$ und $d_a=15mm$ der oberen Elektrode im Vergleich zum Spannungspotential von Ringer-Lösung bei $d_a=20mm$	99
Abbildung 26: Zeitlicher Verlauf der Gerinnungsdicke s und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma für die Position $d_a=20mm$ der oberen Elektrode mit zugehöriger Anpassungskurve	101
Abbildung 27: Zeitlicher Verlauf der Gerinnungsdicke s und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma für die Position	

$d_a=15\text{mm}$ der oberen Elektrode mit zugehöriger Anpassungskurve	102
Abbildung 28: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts der Gerinnungsdicke s mit zugehörigen Anpassungskurven für gerinnendes Blutplasma mit (blau, grün) oder ohne (schwarz) ein über die Elektrodenanordnung $d_a=20\text{mm}/d_b=10\text{mm}$ angelegtes äußeres elektrisches Feld	105
Abbildung 29: Zeitlicher Verlauf des Gerinnungsstroms I_{Ger} für gerinnendes Blutplasma, bestimmt nach dem Ohmschen Gesetz und nach dem ersten thermodielektrischen Gesetz, und der daraus berechneten thermodielektrischen Konstante k	108
Abbildung 30: Zeitlicher Verlauf des Ohmschen Widerstandes R von drei gerinnenden Blutproben im Vergleich zum Widerstand von Ringer-Lösung und CaCl_2 -Lösung mit Erläuterungen	112
Abbildung 31: IR-Absorptionsspektren zu Beginn (rot) und nach Abschluss (blau) der Gerinnung von Blut mit Bandenlage	115
Abbildung 32: IR-Absorptionsspektren von geronnenem Blut (rot) mit Bandenlage und von Polyamid-6 + Polyamid-6,6 (blau) ohne Bandenlage	117
Abbildung 33: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Speichermoduls G' für gerinnendes Blut bei unterschiedlichen Plattenabständen d bzw. Blutmengen	120
Abbildung 34: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut bei unterschiedlichen Plattenabständen d und für Ringer-Lösung bei $d=1,0\text{mm}$	123

Abbildung 35: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=0,4\text{mm}$ mit Erläuterungen	125
Abbildung 36: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=0,6\text{mm}$ mit Erläuterungen	126
Abbildung 37: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=0,8\text{mm}$ mit Erläuterungen	127
Abbildung 38: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=1,0\text{mm}$ mit Erläuterungen	128
Abbildung 39: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Speichermoduls G' für gerinnendes Blut mit oder ohne ein äußeres elektrisches Feld	131
Abbildung 40: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit (Zylinder)	142
Abbildung 41: Darstellung der frequenzstatischen Aufnahme in Abhängigkeit der Zeit t und der gemessenen Impedanz Z für drei Blutplasmaproben	143
Abbildung 42: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler für alle d_a	143
Abbildung 43: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit für $d_a=20\text{mm}$	144
Abbildung 44: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit für $d_a=15\text{mm}$	144

Abbildung 45: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d_a=20mm$	145
Abbildung 46: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d_a=15mm$	145
Abbildung 47: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit mit einem äußeren elektrischen Feld (20mm+/10mm-)	146
Abbildung 48: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit mit einem äußeren elektrischen Feld (20mm-/10mm+)	146
Abbildung 49: Impedanzspektren der Blutprobe2 im Verlauf, durch Pfeile angezeigt, der ersten 3,5h mit einer Zeitverzögerung von jeweils 10,3min	147
Abbildung 50: Realteil Z' und Betrag $ Z $ der Impedanz Z als Funktion der Zeit t bei 400kHz für 72h anhand von Blutprobe1	147
Abbildung 51: IR-Absorptionsspektren von geronnenem Blut (oben) und von Polyamid-6 + Polyamid-6,6 (unten) jeweils mit Bandenlage	148
Abbildung 52: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,4mm$	149
Abbildung 53: Ausschnitt aus Abbildung 52	149
Abbildung 54: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=0,4mm$	150
Abbildung 55: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,6mm$	150
Abbildung 56: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=0,6mm$	151

Abbildung 57: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,8\text{mm}$	151
Abbildung 58: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=0,8\text{mm}$	152
Abbildung 59: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=1,0\text{mm}$	152
Abbildung 60: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=1,0\text{mm}$	153
Abbildung 61: Mittelwert des Gerinnungsstroms I_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=1,0\text{mm}$	153
Abbildung 62: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,8\text{mm}$ mit einem äußeren elektrischen Feld	154

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Arbeitspakete zur Untersuchung von Blutsystemen auf elektrische Effekte während der Gerinnung und Struktur der Promotionsarbeit	24
Tabelle 2: Einzelschritte zur Durchführung einer kombinierten optischen Gerinnungsmessung und elektrischen Messung an Blutplasma.....	82
Tabelle 3: Einzelschritte zur Durchführung einer kombinierten rheologischen Gerinnungsmessung und elektrischen Messung an Blut	85
Tabelle 4: Auflistung des Widerstands und der elektrolytischen Leitfähigkeit des jeweils untersuchten Versuchsmaterials einschließlich Blutplasma.....	91

Tabelle 5: Auflistung der thermodielektrischen Konstante k für Blutplasma und für bekannte Materialien nebst Quellenangabe 109

Tabelle 6: Auflistung des Widerstands und der elektrolytischen Leitfähigkeit des jeweils untersuchten Versuchsmaterials einschließlich Blut..... 110

Zusammenfassung

Die Bildung von Blutgerinnseln in Implantaten, wie Stents, die in den Körper eines Patienten implantiert werden, und in Geräten zur Lagerung und zum Transport von Humanblut, die in den Blutkreislauf eines Patienten integriert werden, stellt eine Gefahr für den Patienten dar. Gegenstand der vorliegenden Promotionsarbeit ist eine Methode zur Detektion der Bildung von Blutgerinnseln, welche elektrische Effekte bei der Gerinnung von Blut ausnutzt. Das bei der Aushärtekontrolle von Kunststoffbauteilen bereits angewendete Prinzip wird auf die Gerinnung von Blut erweitert und eine Prüfmethode zur Detektion der Entwicklung von Blutgerinnseln im Umfeld von metallischen Implantaten entwickelt.

Die Gerinnung von Blut als Biopolymer umfasst die Bildung eines Fibringerinnsels. Die Biopolymerisation von Fibrinogen zu Fibrin bewirkt freie Ladungsträger und/oder elektrische Dipolmomente, die von sich aus messbare elektrische Felder erzeugen. Im Ergebnis treten elektrische Effekte während der Gerinnung von Blut auf und können zur Detektion einer Gerinnselbildung und zur Überwachung der Gerinnung von Blut messtechnisch erfasst werden.

Durch Messungen an gerinnendem Blut wird gezeigt, dass bei der Gerinnung von Blut reproduzierbar messbare elektrische Effekte auftreten, und dass sich die Gerinnung von Blut durch ein äußeres elektrisches Feld beeinflussen lässt. Die Gerinnung von Blutplasma und Blut

wird optisch bzw. rheologisch gemessen. Parallel zur Gerinnungsmessung werden dielektrische und elektrische Messungen am jeweiligen Blutsystem durchgeführt.

Parallele Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma und Blut zeigen, dass elektrische Signale auftreten und diese charakteristische Stellen bzw. Abschnitte entsprechend den Gerinnungskurven aufweisen. Die elektrischen Signale zeigen entsprechend der Dicke des geronnenen Bereiches bei optischen Messungen an Blutplasma und dem Speichermodul bei rheologischen Messungen an Blut den Beginn, den Fortschritt und das Ende der Gerinnung der Blutprobe an. Gerinnungsmessungen an Blutplasma und Blut in einem äußeren elektrischen Feld zeigen, dass eine Gleichspannung die Gerinnung des jeweiligen Blutsystems beschleunigt, und dass eine Wechselspannung die Auflösung des jeweiligen Blutgerinnsels beschleunigt.

Abstract

In medical devices, like stents being implanted into human body or apparatus for storage and transport of human blood, it is important to detect, reduce or prevent clot formation being dangerous for patients. Object of this thesis is a method for detecting clot formation and monitoring blood coagulation, said method making use of electric effects during blood coagulation.

(Di)electric effects known for Naphtalin, water and polymers have to be verified for blood. For this purpose, (di)electric measurements are made on coagulating blood. Blood plasma becomes opaque when coagulating, thus coagulation of blood plasma is monitorable by optical measurements. The experimental setup comprises optical components as well as electrodes adapted to parallel optical measurement. Coagulation of blood being a viscoelastic material can be monitored by rheological measurements wherein storage modulus characterises coagulation of a blood sample. Both plates of the rheometer when isolated can be used as electrodes. Oscillatory rheological measurements on coagulating blood are combined with parallel electric measurements by means of an electrometer triggered by rheometer software.

Parallel coagulation and electric measurements on blood plasma and blood demonstrate that electric signals arise and have characteristic parts according to the coagulation curves. The electric signals indicate start, progress and end of coagulation of the blood probe according to thickness of coagulated region for optical measurements on blood plasma and storage modulus for rheological measurements on blood. Coagulation of blood as a biopolymer comprises formation of a clot of fibrin. The biopolymerisation of fibrinogen to fibrin causes free charge carriers and/or electric dipole moments providing electric fields being measurable. As a result, electric effects arise during blood coagulation and can be measured for detecting clot formation and monitoring blood coagulation.

Kapitel 1: Aufgabenstellung und Vorgehensweise

Ausgehend von der Aufgabenstellung sowie von der Motivation zur Aufgabenstellung werden in Kapitel 1 Lösungsansätze herausgearbeitet und die konkrete Vorgehensweise bei der Bearbeitung festgelegt.

1.1 Motivation und Aufgabenstellung

In der Medizintechnik werden metallische Implantate, beispielsweise Stents, in ein Blutgefäß eines Patienten implantiert und Vorrichtungen zur Lagerung, zur Umwälzung und/oder zum Transport von Blut, beispielsweise bei einer Dialyse oder einer Bluttransfusion, in den Blutkreislauf eines Patienten integriert. Die Ausbildung von Blutgerinnseln und eine damit einhergehende Verengung des Implantats bzw. eine Zusetzung der Vorrichtung kann eine Gefahr für einen Patienten darstellen. Von daher ist es von Interesse, die Ausbildung von Blutgerinnseln möglichst frühzeitig zu detektieren, um erforderlichenfalls geeignete Gegenmaßnahmen einleiten zu können [2].

In der Kunststofftechnik haben elektrische und dielektrische Messungen Anwendung als zerstörungsfreie, schnell durchführbare Prüfverfahren zur Aushärtekontrolle bei der Herstellung von Kunststoffteilen gefunden. Bei derartigen Prüfmethoden wird der Aushärtungsverlauf polymerer Systeme, wie Duroplaste oder Elastomere, (di)elektrisch erfasst [3-5]. Die Prüfmethoden nutzen bei der Aushärtung der polymeren Systeme auftretende elektrische Effekte aus, insbesondere eine elektrische Ladungstrennung bei der Aushärtung von Epoxidharz-

Systemen und bei Vernetzungsvorgängen an Duroplasten [6, 7]. Ähnliche elektrische Effekte sind zuvor als Costa-Ribeiro-Effekt für Naphthalin und als Workman-Reynolds-Effekt für Wasser bekannt geworden und werden allgemein als thermodielektrischer Effekt bezeichnet [8, 9].

Sollten bei der Gerinnung von Blut vergleichbare elektrische Effekte auftreten, könnten diese zur Detektion der Gerinnung von Blut ausgenutzt werden und eine Messmethodik entsprechend der Aushärtekontrolle von vernetzenden Polymeren entwickelt werden.

In der vorliegenden Promotionsarbeit soll gezeigt werden, dass bei der Gerinnung von Blut reproduzierbar messbare elektrische Effekte auftreten, und dass sich die Gerinnung von Blut durch ein äußeres elektrisches Feld beeinflussen lässt. Das bei der Aushärtekontrolle von Kunststoffbauteilen bereits angewendete Prinzip soll auf die Gerinnung von Blut erweitert werden und eine Prüfmethode zur Detektion bzw. Lokalisation von Blutgerinnseln im Umfeld von metallischen Implantaten entwickelt werden.

1.2 Lösungsansätze und Vorgehensweise

Zur Untersuchung elektrischer Effekte bei der Gerinnung von Blut wird auf einen zur Untersuchung polymerer Systeme bekannten prinzipiellen Messaufbau zurückgegriffen, vgl. [6], in welchem ein Kunststoff zwischen zwei planparallelen beheizten Platten ausgehärtet wird und

über die Platten elektrische Messungen während der Aushärtung des Kunststoffes vorgenommen werden.

Blut ist aus flüssigen Bestandteilen, dem Blutplasma, und festen Bestandteilen zusammengesetzt. Als Blutsysteme werden Blutplasma, bestehend aus den flüssigen Blutbestandteilen, und Blut, bestehend aus den festen und den flüssigen Blutbestandteilen, untersucht. Im Hinblick auf eine mögliche medizintechnische Anwendung der zu entwickelnden Prüfmethode werden die Untersuchungen ausschließlich an Humanblut und entsprechend an Humanblutplasma als Bestandteil von Humanblut durchgeführt.

Entsprechend der Aushärtung des Kunststoffes ist die Gerinnung des Blutes messtechnisch zu erfassen. Zur Gerinnungsmessung bieten sich insbesondere optische und rheologische Messungen an. Ein Rheometer hat den Vorteil, dass die metallischen Platten des Rheometers ohne bauliche Veränderungen am Rheometer als Elektroden eingesetzt werden können [10]. Neben einer Plattenanordnung von Elektroden werden Stents als Elektroden in einer Zylinderanordnung eingesetzt.

Die Elektroden werden an ein Messgerät zur Erfassung elektrischer und dielektrischer Messwerte oder an eine Spannungsquelle zur Erzeugung eines elektrischen Feldes zwischen den Elektroden angeschlossen. Zur Untersuchung elektrischer Effekte bei der Gerinnung von Blut werden elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld durchgeführt, d.h. kein äußeres elektrisches Feld an die Blutprobe angelegt.

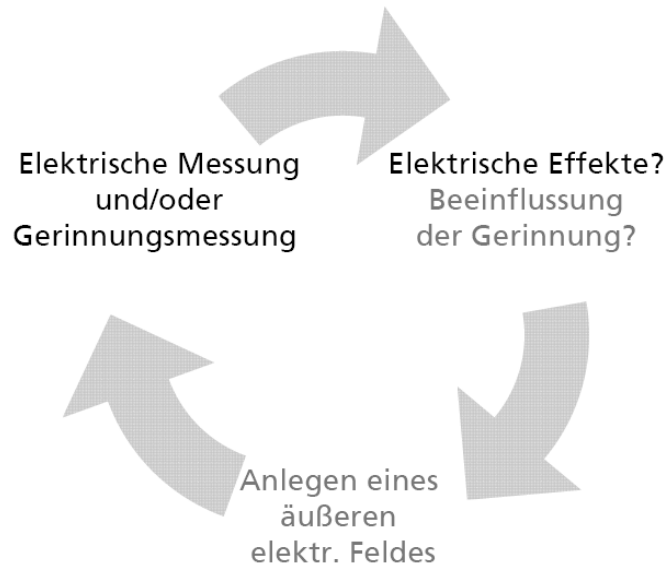


Abbildung 1: Abfolge der Untersuchung von Blutsystemen

Zur Charakterisierung der untersuchten Materialien werden dielektrische Messungen durchgeführt, wobei ein äußeres elektrisches Feld an die Blutprobe angelegt wird. Eine mögliche Beeinflussung der Gerinnung von Blutsystemen durch elektrische Felder wird untersucht, indem Gerinnungsmessungen an der Blutprobe in einem äußeren elektrischen Feld vorgenommen werden. Das äußere elektrische Feld zur Beeinflussung der Blutgerinnung wird, wie in Abbildung 1 veranschaulicht, in Abhängigkeit der die Gerinnung der Blutprobe auftretenden, zuvor elektrisch gemessenen Werte gewählt.

Aus der vorstehend entwickelten Vorgehensweise ergeben sich einzelne Arbeitspakete, die die Struktur der Promotionsarbeit vorgeben und in Tabelle 1 im Überblick dargestellt sind. Die zugehörigen Unterkapitel des Kapitels 3 zu verwendeten Materialien und Methoden sowie der

Kapitel 4 und 5 zu Messergebnissen und Diskussion für Blutplasma und Blut sind jeweils angegeben.

Kapitel 3: Verwendete Materialien und Methoden	Kapitel 4: Messergebnisse und Diskussion für	Kapitel 5: Messergebnisse und Diskussion für
3.1 Materialien und Probenvorbereitung	Blutplasma	Blut
3.2 Elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma mit Elektroden in Zylinderanordnung	Kapitel 4.1	-
3.3 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blutplasma und Blut mit Elektroden in Plattenanordnung	Kapitel 4.2	Kapitel 5.1
3.4 Optische Messung der Gerinnung von Blutplasma und Blut	Kapitel 4.3	Kapitel 5.2
3.5 Rheologische Messung der Gerinnung von Blut	-	Kapitel 5.3
3.6 Kombinierte optische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma	Kapitel 4.3	-
3.7 Kombinierte rheologische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blut	-	Kapitel 5.3
3.8 Gerinnungsmessungen an Blutplasma und Blut in einem äußeren elektrischen Feld	Kapitel 4.4	Kapitel 5.4

Tabelle 1: Arbeitspakete zur Untersuchung von Blutsystemen auf elektrische Effekte während der Gerinnung und Struktur der Promotionsarbeit

Kapitel 2: Stand der Technik

In Kapitel 2 wird der im Hinblick auf die Aufgabenstellung einschlägige Stand der Technik umfassend dargestellt und bewertet. Zunächst werden unabhängig von dem Material elektrische Effekte bei Zustandsänderungen, die dazu aufgestellten Theorien und zerstörungsfreie Prüfungsmethoden basierend auf elektrischen Effekten betrachtet. Anschließend werden die Grundlagen der Blutgerinnung sowie die Verfahren und die Vorrichtungen zur Messung der Blutgerinnung betrachtet. Weiter werden elektrische Effekte in Zusammenhang mit der Blutgerinnung und etwaige zugehörige Theorien betrachtet.

2.1 Elektrische Effekte bei Zustandsänderungen

Beim Erhalt wässriger Lösungen mittels Schmelzen aus der Eisphase ist ein elektrischer Strom trotz Abwesenheit eines äußeren elektrischen Feldes nachgewiesen worden (Workman-Reynolds-Effekt). Hierbei ist ein elektrisches Potential über die wandernde Grenzfläche fest-flüssig zwischen festen, gefrorenen Teilbereichen und flüssigen, aufgetauten Teilbereichen der jeweiligen Probe messbar. Beim Schmelzen von Eis zu Wasser verläuft eine Phasen- bzw. Zustandsfront entsprechend des Temperaturgradienten an der Grenzfläche zwischen Eis und Wasser. Der Wert der gemessenen Spannung hängt von der molekularen Struktur und der Ionenkonzentration der jeweiligen wässrigen Lösung ab. Entsprechend verläuft eine Zustandsfront bei der Sublimation von Eis zu Wasserdampf. Vergleichbare elektrische Effekte treten beim Er-

starren von Wasser zu Eis und entsprechend beim Resublimieren von Wasserdampf zu Eis auf [9, 11-15].

Als Erklärungsmodell für elektrische Effekte bei den Zustandsänderungen fest-flüssig und flüssig-fest zwischen Eis und Wasser bzw. zwischen Eis und wässriger Ionenlösung sowie bei den Zustandsänderungen fest-gasförmig und gasförmig-fest zwischen Eis und Wasserdampf wird ein Einfangen, engl. Trapping, von Ladungen und/oder von Ionen während des Erstarrens bzw. Resublimierens zu Eis und die Freigabe dieser im Eis eingefangenen, immobilisierten Ladungen bzw. Ionen während des Schmelzen bzw. der Sublimation angegeben. Der Strom als Ladungsmenge pro Zeiteinheit entspricht der zeitlichen Änderung der Ladungsverteilung im Eis und ist in einem äußeren Schaltkreis messbar. Zwischen Eis und Wasser sind Ladungsübergänge bis zu 10^{16} Elementarladungen pro Kubikzentimeter gebildeten Eis gemessen worden [9, 11-15].

Weiter ist beim Schmelzen dielektrischer Materialien, wie Carnaubawachs, Paraffin, Kolophonium oder Naphtalin, ein elektrischer Strom trotz Abwesenheit eines äußeren elektrischen Feldes nachgewiesen worden (Costa-Ribeiro-Effekt). Der elektrische Strom geht einher mit dem Übergang der jeweiligen Probe aus dem festen in den flüssigen Zustand. Die Richtung, d.h. das Vorzeichen, und die Größe des gemessenen Stroms hängen von der Richtung und der Geschwindigkeit des Übergangs fest-flüssig entsprechend des jeweiligen Temperaturgradienten ab, was mit der Wanderung einer Phasen- bzw. Zustandsfront

zwischen festen und flüssigen Teilbereichen der Probe veranschaulicht werden kann [8, 16, 17].

Als Erklärungsmodell für elektrische Effekte bei den Zustandsänderungen fest-flüssig und flüssig-fest in dielektrischen Materialien wird ein elektrischer Mechanismus der Ladungstrennung angegeben, welcher auf Ionenwanderungen an der wandernden Phasen- bzw. Zustandsfront zurückzuführen ist. Mit der Ladungstrennung, anders ausgedrückt Ladungsverschiebung, einher geht die Ausbildung einer Potentialdifferenz, was in einem entsprechenden Messaufbau als Strom oder Spannung messbar ist [18, 19]. Experimentell sind elektrische Doppelschichten aufgrund Ladungstrennung bzw. -verschiebung an der wandernden Phasen- bzw. Zustandsfront nachgewiesen worden [20].

Die für Phasen- bzw. Zustandsänderungen sowohl bei wässrigen Lösungen als auch bei dielektrischen Materialien auftretenden elektrischen Effekte werden in der Fachliteratur als thermodielektrischer Effekt bezeichnet. In der Geophysik wird der vorstehend beschriebene thermodielektrische Effekt als Erklärungsmodell für die Entstehung von Elektrizität bei Gewittern herangezogen [9, 21]. Vergleichbare elektrische Effekte sind bei der Kristallisation, genauer beim Wachstum von Kristallen, [22-24] sowie bei der Aushärtung von Kunststoffen, wie Elastomere oder Duroplaste (polymere Harzsysteme), [3, 5-7] beobachtet worden. Eine kompakte Übersicht des thermodielektrischen sowie verwandter Effekte ist in [25] angegeben.

Bei der Zustandsänderung flüssig-fest bzw. teilvernetzt-ausgehärtet finden Vernetzungsvorgänge innerhalb des jeweiligen Kunststoffes statt. Vernetzungsvorgänge sind chemische Reaktionen zwischen Molekülgruppen, die sich in raum- und kettenförmigen Formationen anordnen. Die Ausbildung dieser Formationen wird in der Regel als Polymerisation bezeichnet. Epoxidharz-Systeme als Beispiele für polymere Harzsysteme sind Harz-Härter-Gemische, wobei der Härter die Polymerisation des Harzes auslöst. Entsprechend der Polymerisation bei der Vermischung können Entmischungen Asymetrien und vergleichbare elektrische Effekte erzeugen [3, 5-7].

Elektrisch nicht leitende, isolierende Materialien, die aufgrund von Lage und Verschiebbarkeit der Ladungen von einem elektrischen Feld durchgriffen werden können, werden als Dielektrika bezeichnet [26]. Dielektrika, die ein permanentes oder quasi-permanentes makroskopisches elektrisches Feld erzeugen, werden den Elektreten zugeordnet [27]. Der Großteil der Materialien, wie Carnauba-Wachs und polymere Harzsysteme, die einen thermodielektrischen Effekt beim Übergang fest-flüssig und/oder flüssig-fest zeigen, sind während der entsprechenden Zustandsänderungen Elektrete.

Für einige Biomaterialien, insbesondere Biopolymere, wie Proteine, Polysaccharide, Polynukleotide und Enzyme, konnte ein Elektretverhalten zumindest *in vitro* für einen Temperaturbereich von -150°C bis zu 300°C , also weit ober- bzw. unterhalb der Körpertemperatur gezeigt werden [28, 29]. *In vivo*-Betrachtungen des menschlichen Körpers sind

auf dessen Temperatur von $37^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$ begrenzt. Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung der Messmethodik für in den menschlichen Körper einsetzbare Implantate werden die Betrachtungen im Rahmen dieser Promotionsarbeit auf den relevanten Temperaturbereich von $37^{\circ}\text{C}\pm 10^{\circ}\text{C}$ begrenzt und ein mögliches Elektretverhalten von Blut weit außerhalb dieses Temperaturbereiches nicht näher verfolgt.

2.2 Zerstörungsfreie Prüfmethode basierend auf elektrischen Effekten

Elektrische und dielektrische Messungen haben in der Kunststoffverarbeitung Anwendung als zerstörungsfreie, schnell durchführbare Prüfverfahren gefunden. Hierbei wird der Aushärtungsverlauf polymerer Systeme oder das Schmelzen und Erstarren thermoplastischer Kunststoffe (di)elektrisch erfasst [3, 4]. Eine beispielhafte Versuchsanordnung für elektrische Messungen während der Aushärtung eines Epoxidharz-Systems als Kunststoffprobe ist in Abbildung 2 gezeigt.

Zur messtechnischen Erfassung des während der Aushärtung einer Kunststoffprobe (1) auftretenden thermodielektrischen Effekts werden zwei Elektroden (2) derart angeordnet, dass die Phasen- bzw. Zustandfront zwischen flüssigen, noch nicht ausgehärteten und festen, bereits ausgehärteten Teilbereichen der Kunststoffprobe (1) parallel und eben zu den Elektroden (2) verläuft. Durch die Heizkammern (8) werden die Elektroden (2) mit einem vorgegebenen Temperaturgradienten asymmetrisch beheizt, so dass die Kunststoffprobe (1) mit einer sich in defi-

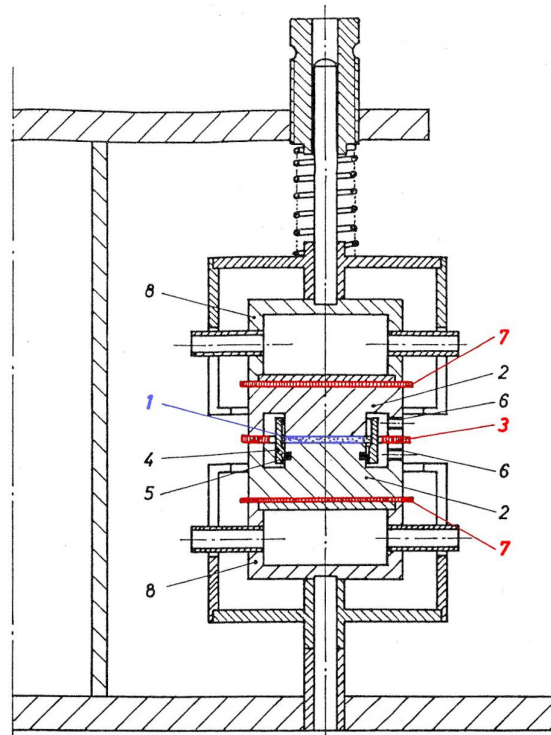


Abbildung 2: Versuchsanordnung aus [6] für elektrische Messungen während der Aushärtung eines Epoxidharz-Systems

nierter Richtung bewegenden Zustandsfront aushärtet. Über den Anschluss der Elektroden an ein Elektrometer wird eine Spannung oder ein Strom gemessen, entsprechend kann beim Anschluss an ein LCR-Meter ein dielektrisches Spektrum aufgezeichnet werden. Als charakteristische Reaktionspunkte für die Aushärtung der Kunststoffprobe (1) werden Vernetzungsbeginn, Gelpunkt und Vernetzungsende erfasst. Zur Überwachung der Fertigung von Kunststoffteilen wird ein zu prüfendes Kunststoffteil zwischen den Elektroden (2) angeordnet und in der beschriebenen Weise (di)elektrisch untersucht. Zur Prüfung ist das jeweilige Kunststoffteil nicht zu zerstören, ebenso wenig wird das Kunststoffteil durch die Prüfung zerstört. Von daher wird eine derartige Prüfmethode als zerstörungsfrei bezeichnet.

2.3 Grundlagen der Blutgerinnung

Über Blut, welches in nahezu allen Geweben des menschlichen Körpers zu finden ist, erhalten die Zellen die zur Erfüllung der jeweiligen Gewebefunktionen notwendigen Stoffe, insbesondere Sauerstoff und Nährstoffe. Anfallende Stoffwechselendprodukte werden mit dem Blut abtransportiert. Beim Menschen beträgt der Blutanteil ungefähr 7 Masse-% der fettfreien Körpermasse, was ca. 5 l Blut entspricht. Das Blut reguliert den Wärmehaushalt des Körpers und dient der Aufrechterhaltung der Körpertemperatur. Wesentlich ist die Gerinnungsfunktion des Blutes, welche nach Verletzungen des Gewebes einen allzu großen Blutverlust aus defekten Blutgefäßen verhindert [30].

Blut besteht zu 45 Vol.-% aus geformten Bestandteilen, den Blutkörperchen und den Blutzellen, sowie zu 55 Vol.-% aus flüssigen Bestandteilen, dem Blutplasma. Die geformten Blutbestandteile sind zu 99 Vol.-% rote Blutkörperchen (Erythrozyten) und zu 1 Vol.-% weiße Blutkörperchen (Leukozyten) und Blutplättchen (Thrombozyten). Blutplasma kann durch Zentrifugieren von inhibiertem Blut gewonnen werden, wobei durch das Zentrifugieren die geformten Bestandteile aus dem Blut entfernt werden. Blutplasma als flüssiger Blutbestandteil besteht zu 90 Vol.-% aus Wasser und zu 10 Vol.-% aus darin gelösten Substanzen, Plasmaproteinen, Elektrolyten, wasserlöslichen Nährstoffen, Vitaminen und Gasen [31].

Die Blutgerinnung stellt einen Teilabschnitt der Hämostase, auch Blutstillung genannt, dar, die eine Drosselung und eine Beendigung von Blutaustritten gewährleistet sowie eine anschließende Wiederherstellung der Gefäßstruktur durch Narbenbildung ermöglicht. Das Gerinnungssystem setzt sich aus den Thrombozyten und den Gerinnungsfaktoren zusammen. Bei einer Verletzung wird zur physiologischen Abdichtung der entsprechenden Blutgefäßwand ein Thrombozytenthrombus gebildet und dieser durch Fibrin mit abschließender Thrombusreaktion (Zusammenziehung des Blutgerinnsels) verfestigt [31, 32].

Im nicht geronnenen Zustand ist Blut, bestehend aus Blutplasma und darin suspendierten geformten Bestandteilen, fließfähig. Bei der Gerinnung wird zunächst der Thrombozytenthrombus (primärer Thrombus) aus irreversibel zusammengelagerten Thrombozyten gebildet. Der Thrombozytenthrombus wird durch ein festes Fibrinnetzwerk verstärkt, in das als weitere Blutbestandteile Erythrozyten und Leukozyten eingeschlossen werden. Das zunächst gelatinöse Fibringerinnsel wird durch die Wirkung kontraktiler Proteine der in das Fibrinnetz eingebauten Thrombozyten verkleinert und verfestigt. Die Bildung des Fibrinthrombus (sekundärer Thrombus) dauert etwa 10-20 Minuten und führt im menschlichen Körper zur endgültigen Blutstillung. Im geronnenen Zustand ist Blut gelartig und nicht mehr fließfähig [31, 33].

Die Aktivierung des Gerinnungssystems erfolgt bei einer Verletzung durch Freisetzung von Gewebsthromboplastinen (exogene Aktivierung)

oder durch Kontakt mit einer Kontaktoberfläche (endogene Aktivierung). Durch die endogene und die exogene Aktivierung wird jeweils die in Abbildung 3 dargestellte Gerinnungskaskade aufeinanderfolgender Einzelreaktionen gestartet. In außerhalb des menschlichen Körpers (in vitro) durchgeführten Untersuchungen wird die Gerinnungskaskade von der endogenen Aktivierung bis zur Bildung des Fibrinthrombus, was auch als endogenes System (intrinsic system) bezeichnet wird, betrachtet. Die endogene Aktivierung setzt eine negativ geladene Kontaktoberfläche voraus [34].

Zur Bezeichnung der einzelnen Gerinnungsfaktoren sind römische Zahlen gewählt worden, wobei durch den Zusatz „a“ die Aktivierung des jeweiligen Faktors angezeigt wird. Beide Aktivierungswege führen zur Aktivierung des Stuart-(Prower)-Faktors Xa, welcher gemeinsam mit Proakzelerin Va, Phospholipiden (PL) und Calciumionen (Ca^{2+}) den sogenannten Prothrombinase-Komplex (Xa, Va, PL, Ca^{2+}) bildet.

Das im nächsten Teilschritt aktivierte Thrombin IIa bewirkt eine Aktivierung von Fibrinogen I sowie des fibrinstabilisierenden Faktors XIII. Fibrinogen I polymerisiert zu Fibrin s und wird durch den Faktor XIIIa in Fibrin i umgesetzt. Die Bezeichnungen „s(oluble)“ und „i(nsoluble)“ beziehen sich auf die Löslichkeit von Fibrin in Harnstofflösung bzw. Monochloressigsäure. Mittels des ausgebildeten Fibrinnetzwerkes sind die geformten Blutbestandteile, d.h. Thrombozyten, Erythrozyten und Leukozyten, fest in den Thrombus eingebunden.

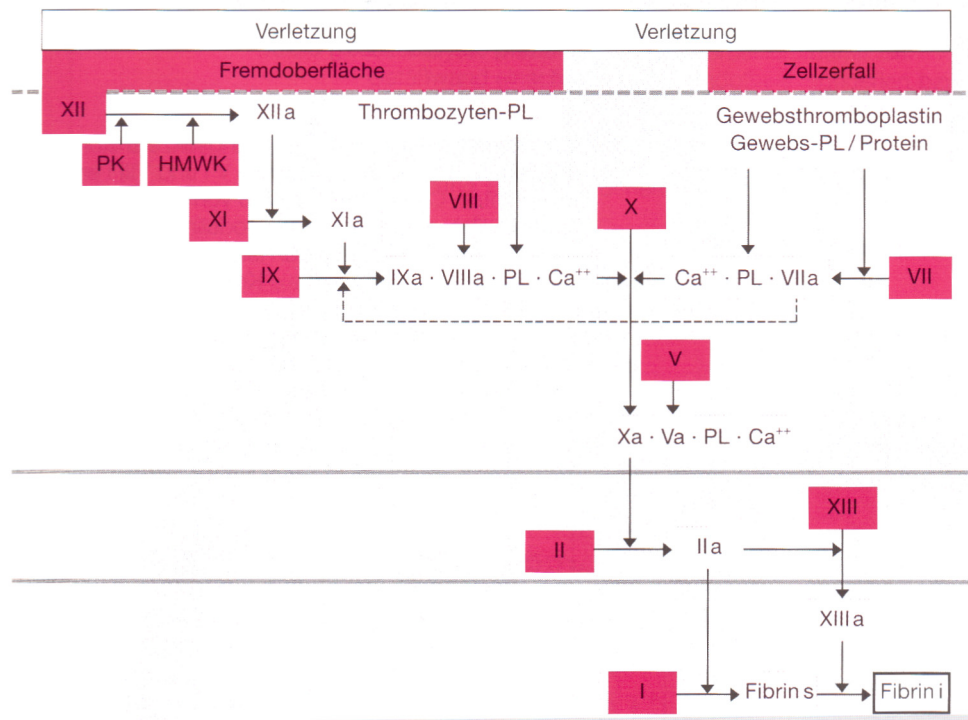


Abbildung 3: Schematische Gerinnungskaskade aus [31] mit Erläuterungen

Parallel zum Gerinnungssystem, dessen aktivierte Gerinnungsfaktoren im Blut frei zirkulieren und/oder weiter aktiv sein können, existieren Inhibitoren zur Hemmung der Blutgerinnung. Die Inhibitoren verhindern eine Vergrößerung des Fibrinthrombus über das erforderliche Maß hinaus und wirken somit einer Generalisierung des Gerinnungsvorgangs im Gesamtorganismus entgegen.

Zur Hemmung der Blutgerinnung gibt es zwei Hauptmechanismen [31]: Erstens gibt es Antithrombin III, welches hauptsächlich eine Hemmung der aktivierten Gerinnungsfaktoren IIa (Thrombin) und Xa (Stuart-Faktor) bewirkt. Hierbei wird eine vergleichsweise langsame, progressive Hemmung derart vorgenommen, dass die Gerinnungsfaktoren vor ihrer Inaktivierung ihre physiologische Aufgabe, die Bildung

des Fibringerinnsels, erfüllen können. Die in der Humanmedizin weitestgehend eingesetzte Substanz Heparin beschleunigt die Hemmwirkung des Antithrombins III um ein Vielfaches, so dass eine umgehende Hemmung der Blutgerinnung vor Ausbildung eines Fibringerinnsels bewirkt wird. Bei Einsatz von Heparin bleibt Blut flüssig, d.h. fließfähig [35]. Zweitens gibt es das Protein C/S - System, wobei ein Abbau der aktivierten Gerinnungsfaktoren Va und XIIIa zu deren inaktiven Formen erfolgt.

Die Wiederauflösung eines Thrombus erfolgt durch die Fibrinolyse des als Endprodukt der Blutgerinnung gebildeten Fibrins. Das Fibrinolyse-system ist, wie das Gerinnungssystem, eine durch Aktivierung zu startende Aufeinanderfolge von Einzelreaktionen, wobei jedoch nicht die in Abbildung 3 dargestellte Gerinnungskaskade in umgekehrter Richtung durchlaufen wird. Das im Blut zirkulierende inaktive Plasmiogen wird - endogen durch Urokinase oder Kontaktfaktoren oder exogen durch Gewebspasminogenaktivatoren – in das proteolytisch wirksame Plasmin umgewandelt. Plasmin ist das für die Fibrinolyse entscheidende Enzym, vergleichbar Thrombin bei der Gerinnung [31, 33]. Durch Plasmin wird sowohl Fibrinogen als auch Fibrin in lösliche Fibrin-Fibrinogen-Spaltprodukte aufgespaltet, wobei spezifische Spaltprodukte und Zusammenlagerungen aus Fibrin, wie das D-Dimer, gebildet werden. Von den Fibrinmonomeren als Vorstufen für die Fibrinpolymerisation unterscheiden sich die Fibrin-Fibrinogen-Spaltprodukte als lösliche Endprodukte für die Eliminierung des Fibrinthrombus [31, 33].

Als Teilschritt beim Ablauf der sogenannten Gerinnungskaskade findet bei der Gerinnung von Blut eine Polymerisation von Fibrinogen zu Fibrin statt. Sollte diese Polymerisation vergleichbar einer Polymerisation bei Kunststoffen und ein gerinnendes Blutsystem insoweit mit einem aushärtenden Kunststoffsystem vergleichbar sein, sind bei der Gerinnung von Blut erzeugte elektrische Felder durchaus vorstellbar und folglich messbar. Blut stellte insoweit ein Biopolymer dar.

Im folgenden Abschnitt wird auf die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin näher eingegangen. Fibrinogen ist ein Molekül bestehend aus sechs Polypeptidketten, von denen jeweils zwei identisch sind. Im menschlichen Blut können mehrere, leicht voneinander abweichende Varianten des Fibrinogen-Moleküls auftreten. Die allgemeine Struktur des Moleküls ist die eines Dimers mit zwei Dimerhälften und lässt sich durch den Ausdruck $(A\alpha, B\beta, \gamma)_2$ beschreiben und ist in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

Der Zusammenhalt der Ketten erfolgt über Disulfidbrücken an den Enden der Dimerhälften [36, 37]. An den Alpha(α)-Ketten sind die durch Thrombin abspaltbaren Fibrinopeptide A lokalisiert, an den Beta(β)-Ketten die ebenfalls durch Thrombin abspaltbaren Fibrinopeptide B.

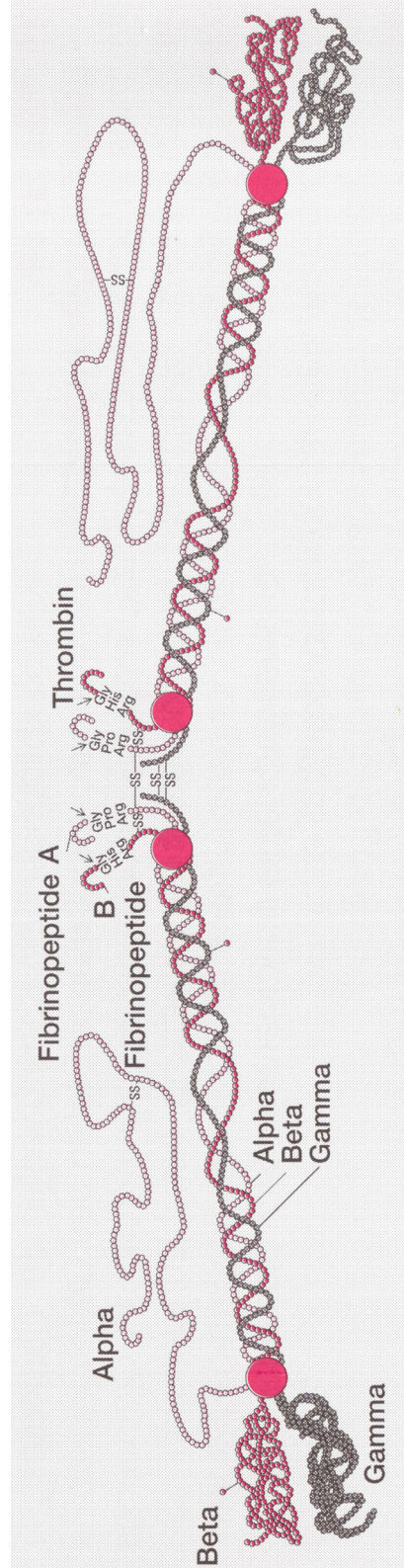


Abbildung 4: Struktur des Fibrinogenmoleküls aus [31]

Die Bildung von Fibrin erfolgt in Stufen, wobei die einzelnen Stufen nicht streng nacheinander, sondern bis zu einem gewissen Grad parallel ablaufen [31, 38-40]:

■ **Stufe 1: Fibrinogen -> Fibrinmonomer + 2 Fibrinpeptide A**

Nach Abspaltung von zwei Fibrinpeptiden A durch das Enzym Thrombin entsteht ein Fibrinmonomer. Die Bildung der löslichen Fibrinmonomere ist die Grundvoraussetzung für die Entstehung der Fibrinstränge bzw. Längspolymere und des Fibrinnetzwerkes.

■ **Stufe 2: Fibrinmonomere -> Längspolymere/Oligomere**

Fibrinmonomere polymerisieren spontan zu Längspolymeren (medizinisches Fachvokabular für Oligomere) bzw. Molekülketten mit einer Dicke von zwei Molekülen, wobei sich die Fibrinmonomere jeweils halb überlappen und die Endregion des einen Fibrinmonomers mit der zentralen Region eines anderen an der Stelle der Abspaltung der Fibrinopeptide A reagiert.

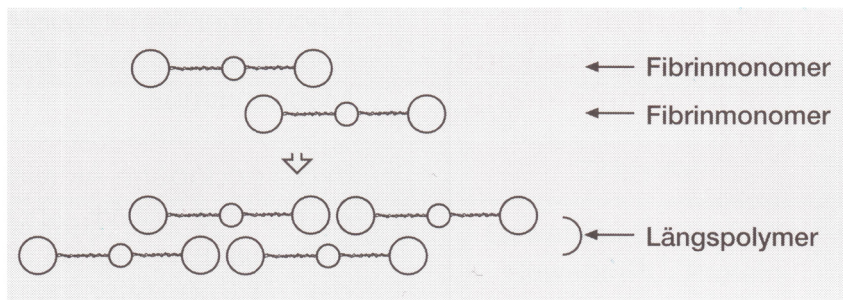


Abbildung 5: Längspolymerisation der Fibrinmonomere aus [31]

■ **Stufe 3: Längspolymere -> Fibrin s + 2 Fibrinopeptide B**

Nach Abspaltung von zwei Fibrinopeptiden B durch Thrombin kommt es zu einer seitlichen Vergrößerung (Lateralwachstum) unter Bildung des Fibrins s. Fibrin s stellt ein äußerlich festes Gerinnsel dar (Fibrinnetzwerk).

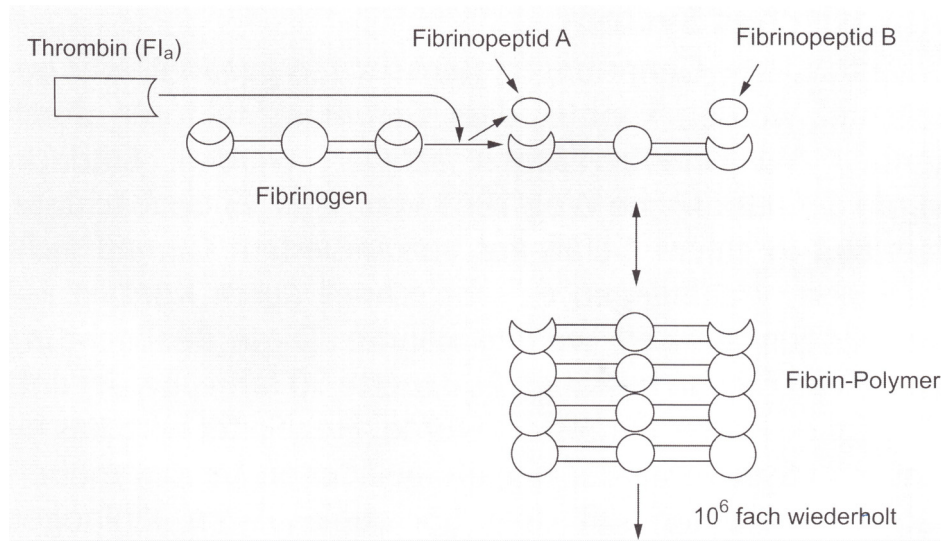


Abbildung 6: Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin (Stufen 1 bis 3) aus [33]

■ Stufe 4: Fibrin s(oluble) -> Fibrin i(nsoluble)

Die endgültige Verfestigung des Gerinnsels erfolgt durch den Faktor XIIIa. Dieser katalysiert eine End-zu-End-Verknüpfung zwischen Gamma(γ)-Ketten zweier benachbarter Fibrinmonomere mit Bildung des unlöslichen Fibrins i.

Die Verteilung negativer und positiver Ladungen sowie hydrophiler und hydrophober Aminosäurereste der einzelnen Ketten sowie der Funktions- bzw. Bindungsstellen des Fibrinogen-Moleküle ist bekannt [41, 42]. Des Weiteren ist das elektrochemische und enzymatische Verhalten von Fibrinogen untersucht worden [43]. Für die Funktionsweise von Fibrinogen sind Calciumionen unerlässlich, welche sich vorzugsweise an drei Bindungsstellen mit hoher Affinität an das Fibrinogen-Molekül binden. Die Vernetzungsdichte und die Struktur des Fibrinnetzwerkes hängen von der Homogenität bzw. Heterogenität des Fibrinogen-Dimers, welches γ -Ketten und/oder γ' -Ketten aufweisen

und entsprechende elektrostatische Abstoßungsreaktionen zeigen kann, ab [44].

Die Fibrinbildung wird durch die Konzentration der Calciumionen bestimmt [36, 45-47]. Bei einer zu geringen Konzentration sind nicht alle Bindungsstellen mit Calciumionen besetzt und eine elektrostatische Abstoßung entsprechend geladener Ketten erschwert eine Vernetzung. Bei einer physiologischen Konzentration von etwa 2mMol/l tritt dies kaum auf. In künstlich hergestellten Fibringelen kann die Gerinnungszeit durch eine Erhöhung der Calciumionenkonzentration verkürzt werden [46]. Die Aktivität von Thrombin, welches die Fibrinbildung steuert, hängt auch von der Konzentration und der Verteilung der Ionen im Blut ab [48].

2.4 Verfahren und Vorrichtungen zur Messung der Blutgerinnung

In der medizinischen Diagnostik ist eine Vielzahl von Labortestverfahren zur Bestimmung verschiedener Parameter der Blutgerinnung bekannt. Den überwiegenden Anteil haben Globaltestverfahren, die nicht einen einzelnen Gerinnungsfaktor, sondern komplex die Aktivität mehrerer Gerinnungsfaktoren bzw. Gerinnungsabläufe erfassen. Als Globaltestverfahren bekannt sind beispielsweise der Quicktest zur Bestimmung der Thromboplastinzeit während der plasmatischen Gerinnung und der Fibrinogendifferenztest während der Fibrinolyse. Gerin-

nungsanalytische Methoden basieren im Wesentlichen auf drei Messprinzipien: koagulometrisch, chromogen oder immunologisch [31].

Koagulometrische Messverfahren benutzen als Nachweisreaktion für eine Messung der Gerinnungszeit die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin. Der Gerinnungseintritt wird in der Regel automatisiert ermittelt, mechanisch mit Hilfe von Häkchen oder Kugeln oder optisch durch eine Zunahme der Lichtstreuung oder Trübung, was photometrisch ausgewertet werden kann [31]. Zur Gerinnungsmessung wird ein Häkchen (9) wiederholt an der Oberfläche in eine gerinnende Blutprobe (11) eingeführt und wieder aus dieser herausgeführt, vgl. Abbildung 7.

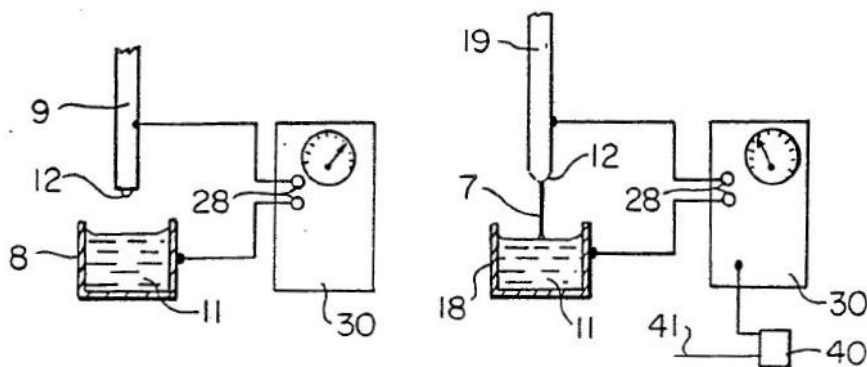


Abbildung 7: Messanordnung aus [49] zur koagulometrischen Gerinnungszeitbestimmung

Sobald ein Faden (7) zwischen der Oberfläche und dem wieder herausgeführten Häkchen (19) verbleibt, ist die Fibrinbildung in der Blutprobe (11) erkennbar. Die Ausbildung des Fadens (7) als Indikator für die Fibrinbildung kann mit dem Auge oder über eine photooptische

Messung erfasst werden. Alternativ können das Häkchen (9; 19) und die Messzelle (8; 18) über Elektroden an ein Messgerät (30), ein Ohmmeter oder ein Impedanzmessgerät, angeschlossen sein, mittels dessen die Ausbildung des Fadens (7) über eine Änderung des Widerstand bzw. der Impedanz erfasst wird [49].

Sollte ein elektrischer Effekt bei der Gerinnung von Blut auftreten und/oder ein zur Gerinnungsmessung eingesetztes elektrisches Feld die Gerinnungseigenschaften der jeweiligen Blutprobe beeinflussen, könnten die entsprechenden Messungen der Blutgerinnung ebenfalls beeinflusst werden. So wird bei der in Abbildung 7 gezeigten Messanordnung aus [49] ein elektrisches Potential zwischen dem Häkchen (9; 19) und der Messzelle (8; 18), also an die Blutprobe (11), zur Detektion des Fibrinfadens (7) angelegt. Die auf die Anlegung und/oder die Erfassung eines elektrischen Messsignals bzw. Potentials basierenden Verfahren und Vorrichtungen zur Gerinnungsmessung wären möglicherweise auf ihre Zuverlässigkeit und ihre Genauigkeit hin zu überprüfen.

Bei der Anordnung einer Kapillare zwischen einem ersten Behälter zur Aufnahme der Blutprobe und einem zweiten Behälter zur Aufnahme eines Gerinnungsaktivators wird der Inhalt beider Behälter über die Kapillare miteinander vermischt und die Gerinnung über die fortschreitende Verstopfung der Kapillare erfasst [50]. Die Funktion der Blutplättchen während der Gerinnung kann mittels elektronenmikroskopischer Aufnahmen der Thrombenbildung in einer Hohlfaser bzw. einer Kapillare untersucht werden. Vergleichbar der Verletzung eines Blutge-

fäßes wird die mit Blut befüllte Hohlfaser an einer gewählten Stelle zur Aktivierung der Ausbildung eines Thrombus angestochen [51].

Die Bildung von Mikrothromben in einem Mikrokanal bzw. in einer Kapillare kann auch über die optische Messung des Blutflusses, genauer der Blutdurchtrittsrate, erfasst und daraus die Gerinnungszeit bestimmt werden [52]. Eine Vorrichtung zur Bestimmung der Aggregation von Blutplättchen, auch als Aggregometer bezeichnet, enthält beispielsweise eine Mikrosiebanordnung. Die Mikrosiebe weisen einen Öffnungsquerschnitt von $30\mu\text{m}^2$ auf und fangen filterartig durch die Aggregation von Blutplättchen ausgebildete Mikrothromben aus einem die Mikrosiebanordnung durchströmendem Blutstrom ab. Die Zusammensetzung der Mikrosiebe ist ein Maß für die Gerinnung des durchströmenden Bluts und kann durch den Druckabfall über die Mikrosiebanordnung gemessen werden [53].

Verfahren zur Bestimmung der Blutgerinnung und der Aggregation von Blutplättchen in Blut messen typischerweise die optische Dichte, anders ausgedrückt die Trübung, einer Blutprobe. Der Blutprobe wird ein zur Aktivierung des jeweiligen Gerinnungsfaktors bzw. Gerinnungsablaufes geeignetes Reagenz zugegeben. Von einer Lichtquelle emittiertes Licht trifft nach Durchtritt der in einer Messzelle aufgenommenen Blutprobe auf ein lichtempfindliches Element. Sobald die Messung am lichtempfindlichen Element einen vorgegebenen, dem Abschluss der Gerinnung zugeordneten Grenzwert erreicht bzw. einen

entsprechenden Verlauf aufzeigt, wird die entsprechende Messzeit als Gerinnungszeit ausgegeben [54-58].

Die Gerinnungszeit einer Blutprobe kann dadurch bestimmt werden, dass neben einem Gerinnungsmittel opake Magnetpartikel der Blutprobe zugemischt werden und diese einem sich verändernden Magnetfeld ausgesetzt wird. Die Gerinnung der Suspension aus Blutprobe und Magnetpartikeln wird durch eine optische Erfassung der Trübung der Suspension bestimmt [59]. Abbildung 8 zeigt eine Messanordnung zur photometrischen Gerinnungszeitbestimmung mit einem Testträger, auf welchem neben Thromboplastin als trockenchemisches Substrat zur Gerinnungsaktivierung Eisenoxidpartikel immobilisiert sind. Der durch die Heizung auf 37°C vorgewärmte Testträger wird mit dem zu untersuchenden Blut benetzt. Unterhalb des Testträgers befinden sich ein Dauermagnet zur horizontalen Ausrichtung der Eisenoxidpartikel und ein Elektromagnet zur vertikalen Ausrichtung der Eisenoxidpartikel

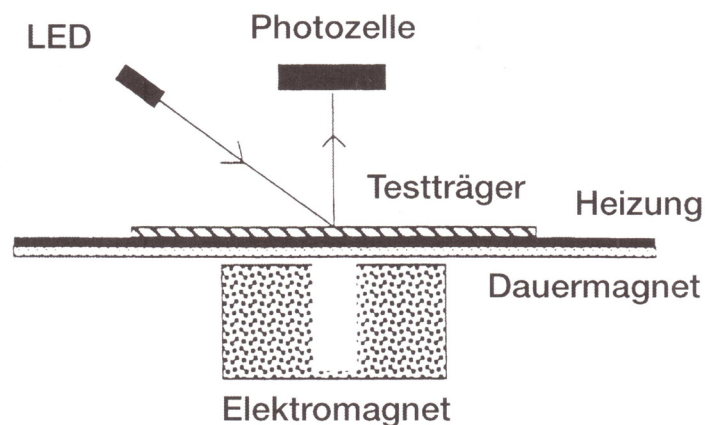


Abbildung 8: Messanordnung zur photometrischen Gerinnungszeitbestimmung aus [31]

mit einer Frequenz von 2Hz. Durch die Fibrinbildung bei der Gerinnung des Blutes wird die Bewegung der Eisenoxidpartikel verlangsamt, was photometrisch als eine Verringerung der Reflexion erfasst wird [31].

Eine aus [60] bekannte Vorrichtung weist zwei oder mehr Reaktionsfelder in einem Behälter, dem Blut zugeführt werden kann, auf. Die Reaktionsfelder weichen durch ihre jeweilige Ausgestaltung, d.h., Form, Größe, Art und Konzentration des Gerinnungsaktivators, voneinander ab. Die auf dem jeweiligen Reaktionsfeld aktivierte Gerinnung wird optisch, insbesondere durch Lichtstreuung, erfasst, was neben einer Erfassung der Gerinnungszeit einen Vergleich der unterschiedlich ausgestalteten Reaktionsfelder ermöglicht. Weiter kann die Geschwindigkeit der Gerinnung als Ausbreitung in einem ein entsprechendes Reaktionsfeld umgebenden Bereich, bevorzugt optisch, gemessen werden.

Bei chromogenen Messverfahren wird die Spaltung chromogener Substrate zur Bestimmung der Aktivität von Gerinnungsfaktoren und Inhibitoren angewendet. Ein chromogenes Substrat, bestehend aus einem kurzkettigen Peptid mit einem angekoppelten Farbstoff, ist farblos und färbt sich bei einer Abspaltung des angekoppelten Farbstoffes durch einen aktivierten Gerinnungsfaktor. Die Intensität der Färbung dient als Maß für die Aktivität der entsprechenden Gerinnungsfaktoren bzw. Inhibitoren und kann beispielsweise als Extinktion bei einer vorgegebenen Wellenlänge ausgewertet werden [31].

Immunologische und molekulargenetische Messmethoden werden hauptsächlich zur Diagnostik krankheitsbedingter und erblicher Gerinnungsstörungen herangezogen. Bei erblichen Störungen werden fehlende oder funktionsgestörte Proteine infolge Mutationen in den jeweiligen Genen bestimmt [31]. Zur Bestimmung hämostatischer oder thrombotischer Anormalitäten bei einem Patienten können geeignete Reagenzien, wie Corn-Trypsin-Inhibitor, zur Verlangsamung und Verzögerung der Gerinnung der Blutprobe zugesetzt werden, wodurch die Genauigkeit der vorzunehmenden Gerinnungsanalyse erhöht wird [61, 62].

Zur Durchführung einer Vielzahl routinemäßiger Gerinnungsanalysen, Globaltestverfahren und/oder Testverfahren einzelner Gerinnungsfaktoren, sind voll automatisierte Gerinnungsanalysegeräte, welche eine photo-optische Einrichtung zur koagulometrischen Gerinnungsmessung sowie Messeinrichtungen zur chromogenen und zur immunologischen Gerinnungsmessung aufweisen, auf dem Markt erhältlich. Mit derartigen Gerinnungsanalysegeräten können zudem mehrere Gerinnungsanalysen, parallel oder nacheinander, an einer Blutprobe durchgeführt werden [63-65]. Im Bereich der Gerinnungsanalysegeräte findet zunehmend eine Miniaturisierung durch den Einsatz von Mikrokanälen zur Aufnahme der zu messenden Blutprobe und Mikrochips zur Aufnahme der Elektroden bzw. Sensoren statt [66].

Weiter werden Widerstands- bzw. Impedanz- Messverfahren zur Bestimmung der Blutgerinnungszeit herangezogen. Mit Veränderungen

molekularer Ladungszustände und effektiver Ladungsmobilität während der Blutgerinnung einher geht die Änderung des Widerstands der Blutprobe, wobei im Unterschied zu Gleichstrom der Scheinwiderstand bei Wechselstrom mit Impedanz bezeichnet wird. Die Elektroden können in einer Messzelle, wie einem Röhrchen oder einer Küvette, mit der darin aufgenommenen Blutprobe angeordnet sein. Über eine elektrisch mit den Elektroden verbundene Spannungsquelle wird eine Spannung in der Messzelle angelegt und der Widerstand über Strom durch die Blutprobe bestimmt [67-69].

In neueren Entwicklungen wird die Impedanz und deren Änderung mittels eines sandwichartig aufgebauten Sensors mit einer in äußeren Lagen ausgebildeten Elektrodenanordnung und einer in einer inneren Lage ausgebildeten Messzelle, wie eines Mikrokanals, zur Aufnahme der zu messenden Blutprobe sowie einem an den Sensor angeschlossenen Impedanzmessgerät erfasst [70-73]. Inwieweit sich durch das angelegte elektrische Feld die molekularen Gerinnungsfaktoren verändern und dementsprechend das Ergebnis der Gerinnungsmessung beeinflussen, ist in diesem Zusammenhang nicht bekannt. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass bei entsprechenden Messungen an dünnen Duplastschichten während der Aushärtung zerstörende Strukturänderungen zu beobachten waren [6, 74].

Zur Kontrolle der Dauermedikation von Patienten mit die Blutgerinnung gezielt beeinflussenden Medikamenten werden Testträger und ein Auswertegerät eingesetzt. Um ein Patientenselbstmanagement zu

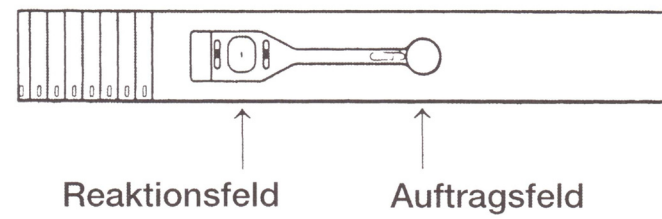


Abbildung 9: Testträger zur Gerinnungszeitbestimmung für Patientenselbstmanagement aus [31]

realisieren, welches dem Patienten eine Überwachung seiner Gerinnungswerte und gegebenenfalls eine Anpassung der Medikamentendosis ermöglicht, ist das Auswertegerät handlich ausgebildet. Auf einem einzelnen Testträger sind ein Reaktionsfeld mit einem trockenchemischen Substrat sowie ein Auftragsfeld zur manuellen Applikation einer Blutprobe aus der Fingerbeere des Patienten angeordnet, vgl. Abbildung 9. Das im Reaktionsfeld angeordnete Substrat umfasst Thromboplastin zur Aktivierung der Gerinnung und einen Peptidrest als Enzym zur elektrochemischen Aktivierung von Phenylendiamin bei der Reaktion mit einem Gerinnungsfaktor, beispielsweise mit Thrombin. Durch eine Leitfähigkeits- bzw. Impedanzmessung am mit Blut benetzten Substrat mittels um das Reaktionsfeld angeordneter Elektroden wird ein elektrisches Signal entsprechend der gemessenen Gerinnungszeit erzeugt [31, 75-79].

Die Gerinnung einer Blutprobe kann zudem über ein Viskositätsmessverfahren erfasst werden. Die mit der Gerinnung einhergehende Viskositätsänderung kann mittelbar durch eine Änderung des Diffusionskoeffizienten oder der elektrischen Leitfähigkeit des Bluts oder eines der

Blutprobe zugesetzten Additivs bestimmt werden. Hierbei wird ein der Viskosität entsprechendes elektrisches Signal generiert, welches mit einem Referenzstandard abgeglichen bzw. gegenüber diesem kalibriert wird [80]. Alternativ kann ein Körper aus einem magnetischen bzw. magnetisierbaren Material in die gerinnende Blutprobe eingebracht werden und die Viskosität der Blutprobe aus der Bewegung bzw. Lage des Körpers in einem Magnetfeld bestimmt werden. Zur Feststellung der Lage des magnetischen bzw. magnetisierbaren Körpers, wie einer in einem Messzylinder oder einer Teströhre aufgenommenen Kugel, wird eine optische Einrichtung oder eine Tasteinrichtung eingesetzt [81]. Es ist bekannt, die Bewegung eines in der Blutprobe angeordneten und einem Magnetfeld ausgesetzten Metallstreifens mittels eines piezoelektrischen Sensors zu bestimmen und daraus Rückschlüsse auf die Gerinnung der Blutprobe zu ziehen [82].

Alternativ kann die Gerinnung von Blut in einer rheologischen Messung der Viskositätsänderung erfasst werden. Im geronnenen Zustand ist Blut gelartig und nicht mehr fließfähig. Die Änderung der Fließigenschaften von Blut während der Gerinnung erlaubt eine rheologische Erfassung der Gerinnung bzw. des Gerinnungsfortschritts. Die rheologischen Kenngrößen Speichermodul G' , welcher das elastische Verhalten der Blutprobe repräsentiert, und Verlustmodul G'' , welcher das viskose Verhalten der Blutprobe repräsentiert, zeigen charakteristische Verläufe während der Gerinnung der Blutprobe [83, 84]. Des Weiteren kann mittels rheologischer Messungen die Aggregation von Blutplättchen näher untersucht werden [85].

2.5 Elektrische Effekte in Zusammenhang mit der Blutgerinnung

Blut ist normalerweise, d.h. bei gesunden Personen, eine leicht alkalische Substanz und weist einen pH-Wert von etwa 7,5 auf. Von der Norm abweichende pH-Werte können auf eine Dysfunktion oder eine Krankheit im Körper der betreffenden Person hinweisen. Entsprechend dem alkalischen pH-Wert spaltet ein Großteil der Blutbestandteile Protonen H^+ ab und weist folglich eine negative Ladung auf. Im elektrischen Feld zeigen die Blutbestandteile je nach Molekülmasse und elektrischer Ladung unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten. Dies wird beispielsweise bei der Elektrophorese zur Auftrennung der Proteinbestandteile des Blutserums in mehrere Fraktionen eingesetzt [30, 86, 87].

Physikalisch betrachtet sind bioelektrische Vorgänge vergleichbar denen in einem Elektrolyten, so zeigen die einzelnen Blutbestandteile untereinander elektrische Wechselwirkungen und in elektrischen Feldern unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten und Bewegungsrichtungen [88, 89]. Die Ladung einzelner Blutbestandteile kann einzelne Teilreaktionen der Gerinnung beeinflussen, beispielsweise kann die Oberflächenladung der Phospholipide die Aktivität von Prothrombin, d.h. die Bildung von Thrombin, beeinflussen [90-92]. In unterschiedlichen Arbeiten ist eine elektrische Beeinflussung der Blutgerinnung untersucht worden, wobei sowohl eine Beschleunigung als auch eine Verzögerung der Blutgerinnung berichtet werden.

Aus [93] ist ein Verfahren zum Verschluss einer Verletzung in einer Blutgefäßwand bekannt, wobei ein Katheter mit einer positiven Elektrode in das verletzte Blutgefäß und ein Mantelteil mit einer negativen Elektrode in das Gewebe zwischen dem Blutgefäß und der Haut eingebracht wird. Zwischen den Elektroden wird ein elektrisches Feld erzeugt, so dass durch Anziehung von Blutkörperchen ein Thrombus an der verletzten Blutgefäßwand gebildet und diese verschlossen wird. Bei in vivo-Experimenten an Mäusen ist eine Spitze minimalinvasiv in den Körper eingeführt und für eine Dauer von 30s mit einer 3V-Spannungsquelle elektrisch verbunden worden. Die anschließende Bildung eines Thrombus, bewirkt durch die Spannungsbeaufschlagung, konnte beobachtet werden [94]. Ähnliche Ergebnisse sind in Experimenten mit Ratten und Hunden erhalten worden, wobei Spannungen bis zu 2,5V zur spannungsinduzierten Thrombenbildung an die Blutgefäße angelegt worden sind [95, 96].

Für minimalinvasive Eingriffe am Patienten werden elektrochirurgische Instrumente verwendet, welche zum Schneiden und Abtrennen von Gewebe sowie zum Erzeugen einer Blutstillung und einer Blutgerinnung eingesetzt werden. In neueren Entwicklungen werden bipolare Instrumente mit einer elektrischen Leistung von 50W eingesetzt. Um beim Schneiden und Abtrennen die Schäden am umliegenden Gewebe möglichst gering zu halten, wird ein an der Spitze des Instruments radial von innen nach außen verlaufendes elektrisches Feldes mit einer Spannung von beispielsweise 1V erzeugt. Um den Verschluss von verletztem Gewebe und die Gerinnung von Blut zu verbessern, wird an

der Spitze des Instruments ein von einer zur anderen Spitzenhälfte verlaufendes elektrisches Feld mit einer Spannung von beispielsweise 5V erzeugt, wobei die Spitze das Gewebe nicht berührt [97, 98].

Zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen wird eine medikamentöse oder eine elektrische Kardioversion, auch Defibrillation genannt, vorgenommen, um den normalen Herzrhythmus (Sinusrhythmus) des Patienten wiederherzustellen. In einer Patientenstudie ist gezeigt worden, dass eine elektrische Kardioversion zu einer erhöhten Aktivität des Fibrinolysesystems führt. Die Konzentration des D-Dimers, welche als Spaltprodukt ein Indikator für die Fibrinolyse ist, nimmt linear mit der in einem Stromschock zugeführten elektrischen Energie von 150J bis 500J zu [99]. In vivo-Experimente, bei denen Ratten über die Füße elektrische Schocks zugeführt worden sind, zeigen eine lokale Beeinflussung der Fibrinolyseaktivitäten an [100, 101].

Mittels einer Plasmabehandlung, beispielsweise mit 900MHz, kann die Gerinnungszeit sowohl in vitro als auch in vivo verkürzt werden. In vitro war die Gerinnung einer Menge von 10 μ l Blut innerhalb von 20s abgeschlossen. In an Mäusen durchgeführten in vivo-Experimenten konnte die Gerinnung derart beschleunigt werden, dass eine auf natürliche Weise innerhalb von 5-6min gestillte Blutung innerhalb von 1min gestoppt war [102]. Eine Auswirkung des Plasmas auf den pH-Wert und die Calciumionenkonzentration der jeweiligen Blutprobe ist nicht festgestellt worden, jedoch eine beschleunigte Zusammenballung von Fibrinogen und folglich eine beschleunigte Fibrinbildung als mögli-

che Erklärung für die Verkürzung der Gerinnungszeit bei der Plasma-behandlung angeführt worden [103].

Im Vergleich zweier Blutproben, von denen eine mit einem elektrischen Strom von $50\mu\text{A}$ - 1mA beaufschlagt worden ist, konnte eine Verlängerung der Blutgerinnungszeit um 400% bei der strombeaufschlagten Blutprobe gegenüber der Vergleichsprobe gemessen werden. Die zur Strombeaufschlagung der Blutprobe verwendete Versuchsanordnung ist in Abbildung 10 gezeigt. In zwei, durch eine semipermeable Membran aus Cellulose, voneinander getrennte Teilräume der Messzelle sind 5ml gerinnungsgehemmtes Blut und 5ml Natriumchlorid (NaCl)-Lösung zur Aufhebung der Gerinnungshemmung mittels Rekalzifizierung des Blutes eingebracht. In jeden Teilraum ist eine Elektrode eingesetzt, so dass an die gesamte Blutprobe ein elektrisches Feld angelegt werden kann. Als mögliche Erklärungen dafür, dass ein zwischen der Anode (+) und der Kathode (-) durch die gerinnende Blutprobe fließender

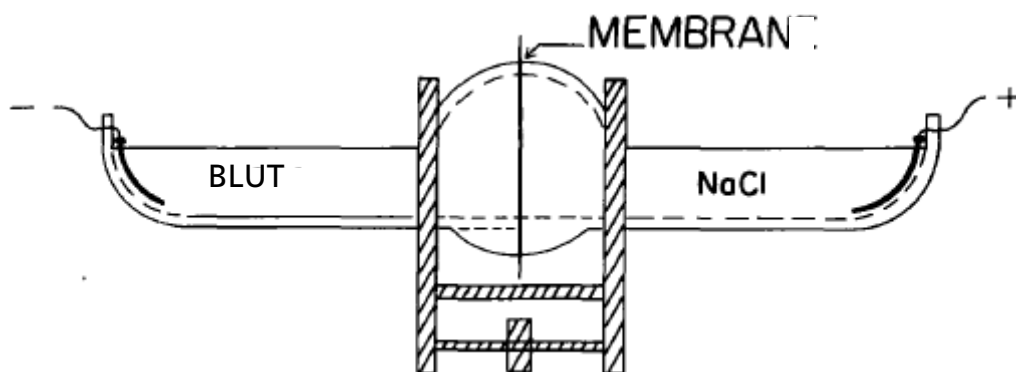


Abbildung 10: Versuchsanordnung aus [86] zur Strombeaufschlagung einer Blutprobe

elektrischer Strom im Bereich von $50\mu\text{A}$ und 1mA deren Gerinnung beeinflusst, wird angeführt, dass der elektrische Strom die Umwandlung von Prothrombin in Thrombin, den Gerinnungsfaktor IIa, stört und die Aneinanderlagerung von geformten Blutbestandteilen innerhalb des Thrombus behindert. In einem in vivo – Experiment ist ein Schaf zunächst heparinisiert worden, was erfolgreich war. Eine alternativ zur Heparinisierung durchgeführte Strombeaufschlagung hatte den Tod des Versuchstieres zur Folge [86].

In dieser und den weiteren vorstehend zitierten Arbeiten wird nicht erkannt, dass bei der Blutgerinnung als solcher elektrische Effekte auftreten, welche ursächlich für die beobachteten Schwankungen sein könnten. Zudem könnte ein Zusammenhang zwischen der Beeinflussung der Gerinnungsaktivität bzw. des Gerinnungsvorgangs durch elektrische Felder und den durch die Blutgerinnung als solche bewirkten elektrischen Effekten die voneinander abweichenden Ergebnisse der zitierten Arbeiten erklären.

Im mathematisch-naturwissenschaftlichen Unterricht wird zur Erarbeitung des Gerinnungssystems in Schülerversuchen gerinnungsgehemmtes Citratblut oder Citratplasma mit Calciumchlorid-Lösung versetzt und das nunmehr gerinnende Blut bzw. Blutplasma untersucht [32]. In [104] wird die Wanderung einer Gerinnungsfront entsprechend dem Eindringen von Calciumchlorid-Lösung in Blutplasma, welches in eine Glasküvette eingebracht ist, mit dem Auge verfolgt und über eine auf die Glasküvette aufgeklebte Millimeter-Skala erfasst.

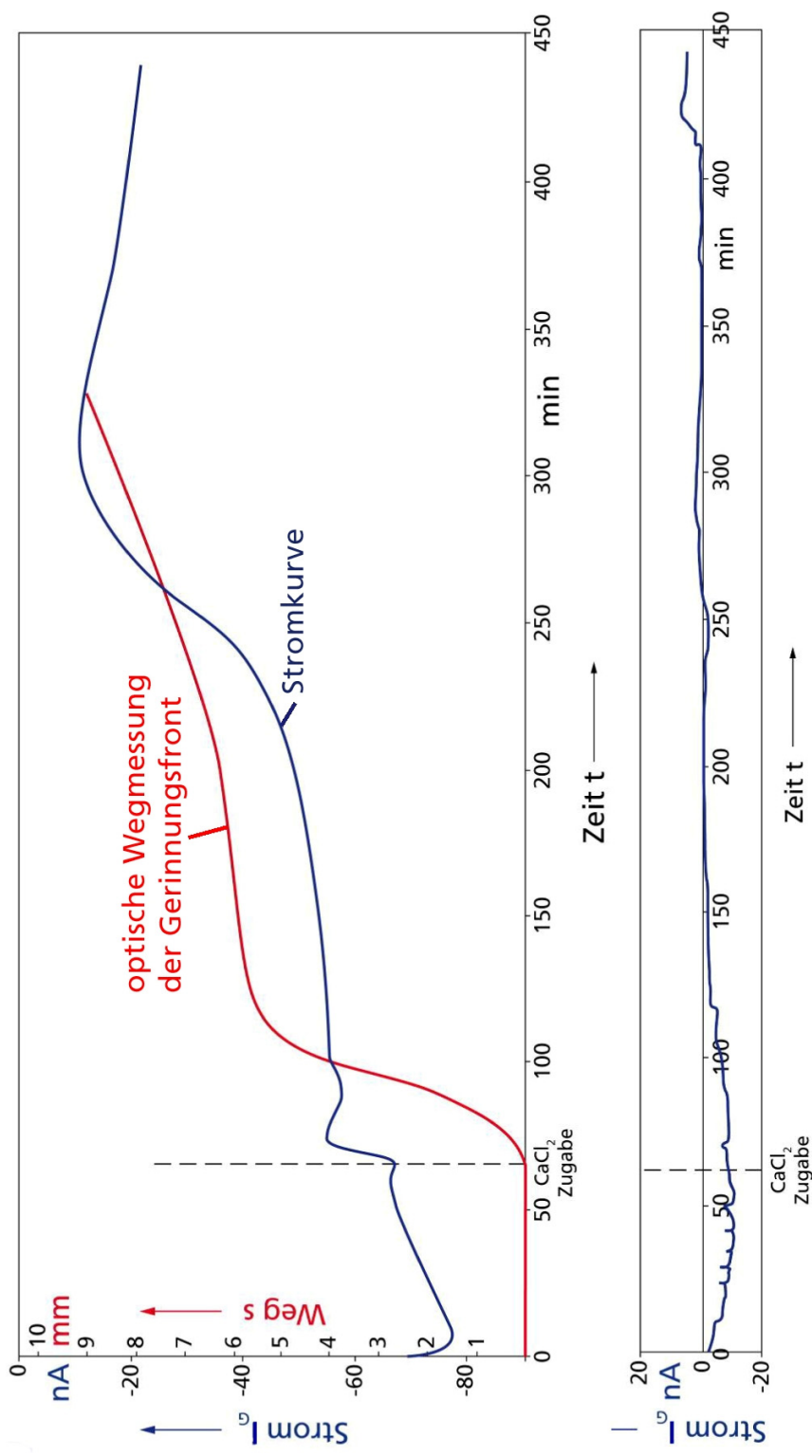


Abbildung 11: Parallele Messung von Gerinnungsfortschritt und elektrischem Gerinnungsstrom an gerinnendem Blutplasma (oben) und Vergleichsmessung an Ringer-Lösung (unten) aus [104]

Über einen mit einem Elektrometer verbundenen Messkopf wird der Grenzbereich zwischen Blutplasma und Calciumchlorid-Lösung untersucht und Gerinnungsströme zwischen -80nA und -10nA gemessen, vgl. Abbildung 11. Eine Änderung der Stromkurve entsprechend des Gerinnungsfortschrittes, der als Wanderung einer Gerinnungsfront sicht- und messbar ist, deutet auf elektrische Effekte bei der Gerinnung von Blutplasma hin, was durch eine Vergleichsmessung an Ringer-Lösung als physiologische Salzlösung bestätigt wird. Die Vergleichsmessung an Ringer-Lösung zeigt, dass das an Blutplasma gemessene Stromsignal nicht auf das Eindringen der Calciumchlorid-Lösung zurückzuführen ist.

Bei der Arbeit an Blutplasma ist der Messkopf mit den Elektroden im Grenzbereich zwischen dem Blutplasma und der Calciumchlorid-Lösung angeordnet, so dass nicht der komplette Bereich des in der Küvette gerinnenden Blutplasmas erfasst wird. Es ist daher von Interesse, die komplette Blutplasmaprobe während der Gerinnung zu untersuchen, d.h. messtechnisch zu erfassen.

Die Arbeit [104] von Eyerer et al. stellt einen aussichtreichen Ausgangspunkt dar, elektrische Effekte bei der Blutgerinnung eingehend zu untersuchen. Da elektrische Effekte bei der Gerinnung von Blutplasma auftreten, sind elektrische Effekte bei der Gerinnung von Blut, bestehend aus Blutplasma und darin suspendierten geformten Blutbestandteilen, zu erwarten.

2.6 Fazit aus dem Stand der Technik

Elektrische Effekte im Zusammenhang mit dem Schmelzen oder Sublimieren von Eis, mit dem Schmelzen dielektrischer Proben, wie Carnaubawachs, Paraffin, Kolophonium, Naphtalin, mit dem Wachstum von Kristallen, sowie mit der Aushärtung von Kunststoffen sowie mit den jeweiligen Umkehrprozessen sind bekannt. Die Arbeit [104] von Eyerer et al. an Blutplasma, welche im relevanten Temperaturbereich des menschlichen Körpers durchgeführt worden ist, weist auf elektrische Effekte bei der Gerinnung von Blutplasma hin. Eine weiterführende Arbeit, innerhalb der elektrische Effekte im Zusammenhang mit der Gerinnung von Blut reproduzierbar nachgewiesen sind, liegt derzeit nicht vor.

Weiter ist es von Interesse, Blut als Biomaterial den wässrigen Lösungen und den dielektrischen Substanzen, die elektrische Effekte bei Zustandsänderungen zeigen, gegenüberzustellen, und zu prüfen, ob und inwieweit die dazu aufgestellten Theorien auf ein gerinnendes Blutsystem übertragbar sind. Elektrische Effekte bei der Aushärtung von Kunststoffsystemen haben zur Entwicklung von zerstörungsfreien Prüfmethoden unter Ausnutzung dieser elektrischen Effekte geführt. Es wäre von überaus großem Wert, elektrische Effekte bei der Gerinnung von Blut zur Detektion bzw. Lokalisation von Blutgerinnseln im Umfeld von metallischen Implantaten, insbesondere bei einer gerinnselbedingten Verengung eines Stents, auszunutzen, und Möglichkeiten einer entsprechenden Weiterentwicklung der Messmethodik aufzuzeigen.

Kapitel 3: Verwendete Materialien und Methoden

In Kapitel 3 werden nach den verwendeten Materialien und deren Vorbereitung die Methoden und Versuchsaufbauten zur optischen und rheologischen Messung der Gerinnung von Blutplasma und Blut und zur elektrischen und dielektrischen Messung am jeweiligen Blutsystem im Detail beschrieben. Weiter wird die Durchführung der Versuche, differenziert für Blutplasma und Blut, für (di)elektrische Messungen alleine und elektrische Messungen in Kombination mit parallelen Gerinnungsmessungen, für Messungen ohne oder mit einem äußeren elektrischen Feld, dargestellt.

3.1 Materialien und Probenvorbereitung

Im Medizinischen Versorgungszentrum MVZ Labor Prof. Seelig, Karlsruhe, ist regelmäßig Blut für die Messungen abgenommen und grundsätzlich auf serologische Unbedenklichkeit untersucht worden. Unmittelbar bei der Blutabnahme wird Blut mit Citrat als Antikoagulant in Kontakt gebracht, welches bereits in der Spritze zur Aufnahme des Blutes enthalten ist. Die gerinnungshemmende Wirkung des Citrates beruht auf seiner hohen Bindungsfähigkeit mit ionisiertem Calcium (Chelatbildung). Durch Citrat inhibiertes, gerinnungsgehemmtes Blutplasma und Blut werden auch Citratplasma bzw. Citratblut genannt.

Wichtige Bestandteile des Blutes, wie Gerinnungsfaktoren und Thrombozyten, werden während einer Vollblutlagerung bereits nach kurzer Zeit, genauer innerhalb von 6 bis 8 Stunden, funktionell unwirksam

[105]. Von daher ist Blut innerhalb dieser kurzen Zeit nach der Blutabnahme zu untersuchen. Für Messungen an Blut ist Citratblut unmittelbar nach der Abnahme ans Fraunhofer ICT transportiert und dort zeitnah untersucht worden.

Durch Zentrifugieren von inhibiertem Blut werden die geformten Bestandteile aus diesem entfernt und Blutplasma, genauer Citratplasma, erhalten. Citratplasma kann im Hinblick auf die Stabilität des Gerinnungsfaktors VIII bis zu drei Monate ab Blutabnahme tiefgefroren gelagert werden und wird für die jeweilige Untersuchung bedarfsgerecht aufgetaut.

Die Gerinnungshemmung von Citratplasma und Citratblut kann durch Zugabe von 0,025-molarer Calciumchlorid-Lösung im Volumenverhältnis 1:4 aufgehoben werden, wobei die physiologische Ionenkonzentration des Blutplasmas bzw. des Blutes wiederhergestellt wird. Mit Fokus auf die relevante physiologische Ionenkonzentration werden keinerlei Calciumchlorid-Lösungen mit einer von 0,025Mol/l abweichenden Konzentration verwendet. Die eingesetzte 0,025-molare Calciumchlorid-Lösung ist von der Firma Dade Behring hergestellt.

Die Bevorratung und Abmessung von Blutplasma und Blut erfolgt in handelsüblichen Röhrchen aus Kunststoff, die Abmessung von Calciumchlorid-Lösung in handelsüblichen Spritzen aus Kunststoff. Kunststoffe sind in medizintechnischen Anwendungen, wie in zur Umwälzung von Blut, beispielsweise bei der Dialyse oder der Bluttransfusion,

eingesetzten Geräten weit verbreitet. Neben den Röhrchen und Spritzen zur Vorbereitung der Blutprobe wird, soweit möglich, eine ebenfalls als Einwegteil aus Kunststoff gefertigte Messzelle eingesetzt. Hieraus ergibt sich der Vorteil, dass eine Kontamination der Messzelle durch verbleibende Blutprobenreste vermieden wird und als mögliche Fehlerquelle bei den Messungen ausscheidet. Die Versuchsmaterialien werden in einem Temperiergerät der Firma Lauda auf die typische Körpertemperatur von 37°C temperiert.

In einer ersten Variante der Versuchsdurchführung wird die Calciumchlorid-Lösung nicht mit dem Blutplasma oder Blut vermischt, sondern als eine Art obere Schicht auf die jeweilige Blutprobe gegeben. Ausgehend von der Grenzfläche dringt die Calciumchlorid-Lösung in das Citratplasma bzw. Citratblut ein und ermöglicht dessen Gerinnung, d.h. hebt dessen Gerinnungshemmung auf. Diese Variante der Versuchsdurchführung findet insbesondere bei einer optischen Messung der Gerinnung von Blutplasma Anwendung.

In einer zweiten Variante der Versuchsdurchführung wird die Calciumchlorid-Lösung mit dem Blutplasma oder Blut vermischt. Zur homogenen Durchmischung von Calciumchlorid-Lösung und Citratplasma bzw. Citratblut wird ein Schüttler der Firma IKA eingesetzt. Der Zerfall von geformten Blutbestandteilen, auch Hämolyse genannt, kann das jeweilige Messergebnis ungünstig beeinflussen. Zur Vermeidung der Hämolyse wird die Durchmischung mit geringstmöglichem mechanischem Einsatz durchgeführt und entsprechend die kleinstmögliche Drehzahl

des Schüttlers eingestellt. Diese Variante der Versuchsdurchführung findet insbesondere bei einer rheologischen Messung der Gerinnung von Blut Anwendung.

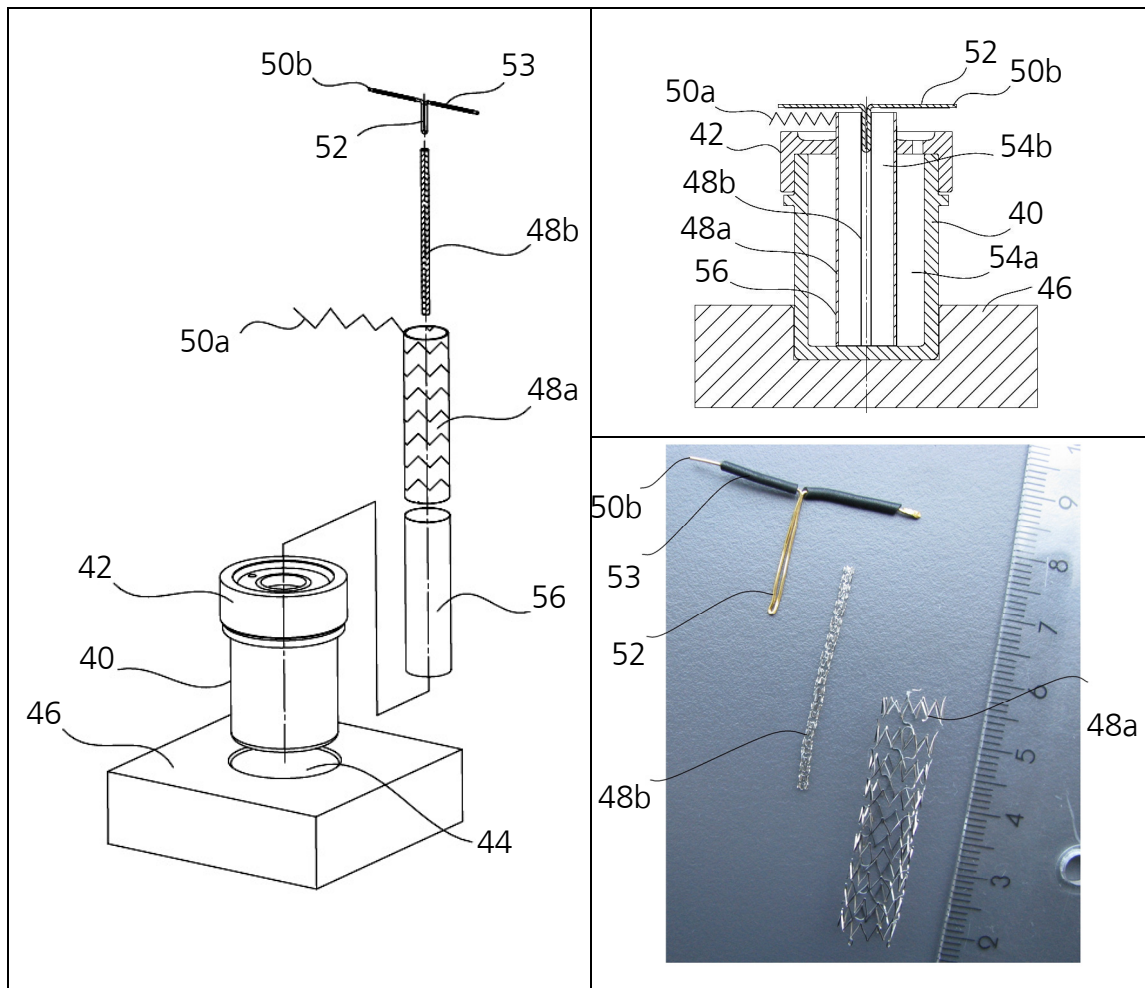
Die Gerinnung des Blutplasmas bzw. Blutes kann nunmehr endogen durch Kontakt mit einer Oberfläche aktiviert werden. Zur gezielten Kontaktaktivierung der Gerinnung an einer vorgegebenen Kontaktfläche, wie an der unteren Platte des Rheometers, wird der Gerinnungstrigger „Actin FS“ eingesetzt. Der Gerinnungstrigger enthält Nanopartikel zur Vergrößerung der effektiven Kontaktfläche, an der die Gerinnung der jeweiligen Blutprobe gezielt aktiviert und folglich bevorzugt gestartet wird. Den eingesetzten Gerinnungstrigger „Actin FS“ stellt die Firma Dade Behring her.

Um sicherzustellen, dass im jeweiligen Versuch auf die Gerinnung des Blutplasmas bzw. des Blutes zurückzuführende Effekte gemessen werden, wird in Vergleichsversuchen die jeweilige Blutprobe durch Ringer-Lösung ersetzt. Ringer-Lösung, auch Locke-Ringer-Lösung genannt, ist eine wässrige Infusionslösung, welche Natriumchlorid, Kaliumchlorid und Calciumchlorid mit den Ionenkonzentrationen von 147 mMol/l Na⁺; 4,0 mMol/l K⁺; 2,2 mMol/l Ca²⁺; 156 mMol/l Cl⁻ enthält. Im medizinischen Bereich wird Ringer-Lösung beispielsweise als Ersatz bei Flüssigkeitsverlust oder Austrocknung (Dehydration) einem Patienten über eine Infusion zugeführt.

3.2 Elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma mit Elektroden in Zylinderanordnung

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung der Messmethodik zur Detektion von Blutgerinnseln im Umfeld von metallischen Implantaten werden Stents [2, 106] als Elektroden eingesetzt und koaxial in einer Zylinderanordnung angeordnet. Die Firma QualiMed Innovative Medizinprodukte GmbH, Winsen, ist Hersteller von Stents und hat Stent-Funktionsmuster für Versuche bereitgestellt. Die zur Verfügung gestellten Stents sind aus den derzeit weitverbreiteten Stentmaterialien Edelstahl, stainless steel gemäß Norm DIN ISO 5832-1 [107], Kobalt-Chrom-Legierung, cobalt chromium gemäß Norm DIN ISO 5832-7 [107], Nickel-Titan-Legierung, NiTi gemäß Norm ASTM F2063-05 [108], gefertigt.

Der mit Stents als Elektroden realisierte und eingesetzte Versuchsaufbau für elektrische Messungen an Blutplasma ist in den Abbildung 12 bis 14 gezeigt. Eine in den Abbildung 12 und 13 gezeigte Messzelle 40 ist als zylinderförmige Dose mit einem Schraubdeckel 42 ausgebildet und weist einen Außendurchmesser von 21mm sowie einen Innendurchmesser von 17mm auf. Die Höhe der gesamten Messzelle 40 beträgt 30mm. Die Schraubdeckeldosen der Firma Carl Roth sind aus hochdichtem Polyethylen gefertigt und weisen ein Füllvolumen von 5ml auf. Zur Lagefixierung wird die Messzelle 40 in ein mittiges Sackloch 44 einer Halteplatte 46 aus Aluminium mit den Abmaßen 50mmx50mmx10mm eingesetzt. Entsprechend des Außendurchmessers der Messzelle 40 weist das Sackloch 44 einen Innendurchmesser



von 21mm sowie eine Tiefe von 7mm auf. In die Messzelle 40 wird die Elektrodenanordnung umfassend eine äußere Elektrode 48a aus einem Stent mit einem Durchmesser von 8,5mm, wie er beispielsweise für Gefäße im Leistenbereich eines Patienten Einsatz findet, und eine innere Elektrode 48b aus einem Stent mit einem Durchmesser von 1,5mm,

wie er beispielsweise für Gefäße im Herzbereich eines Patienten Einsatz findet, eingesetzt.

Die Gitterstruktur der die beiden Elektroden 48a, 48b bildenden Stents ist Abbildung 14 entnehmbar. Entsprechend der Länge von 34mm des die innere Elektrode 48b bildenden Koronarstents wird der Stent für die äußere Elektrode 48a auf eine Länge von 35,5mm zugeschnitten, wobei aus der Gitterstruktur des Stents eine einstückig mit der Elektrode 48a ausgebildete Zuleitung 50a ausgebildet wird. Eine Zuleitung 50b für die innere Elektrode 48b wird über einen Golddraht 52 realisiert. Der Golddraht 52 weist eine Länge von 70mm und einen Durchmesser von 0,5mm auf und dient zudem der Fixierung der inneren Elektrode 48b in der Messzelle 40. Abbildung 13 ist entnehmbar, dass die äußere Elektrode 48b durch Einsetzen in eine radiale Öffnung des Schraubdeckels 42 fixiert ist. Die freien Zuleitungen 50a, 50b zu den Elektroden 48a, 48b sind jeweils durch ein ca. 10mm langes Stück eines Schrumpfschlauches 53, wie in den Abbildungen 12 und 14 für die Zuleitung 50b gezeigt, elektrisch isoliert.

Die zylindrisch angeordneten Elektroden 48a, 48b können von Flüssigkeiten, wie von Calciumchlorid-Lösung, durchtreten werden und bilden eine Zylinderanordnung zur Messung eines elektrischen Feldes zwischen der äußeren Elektrode 48a und der inneren Elektrode 48b. Insoweit entspricht der Versuchsaufbau der in Abbildung 2 gezeigten Versuchsanordnung aus [6] für elektrische Messungen während der Aushärtung eines Epoxidharz-Systems. Der radiale Abstand der zylinde-

risch angeordneten Elektroden 48a, 48b ergibt sich aus der Hälfte der Differenz der Durchmesser der beiden Stents und beträgt 3,5mm.

Zur Vorbereitung einer elektrischen Messung an Blutplasma wird die zylindrische Elektrodenanordnung aus den Elektroden 48a, 48b in die Messzelle 40 eingesetzt und über die Zuleitungen 50a, 50b an ein Elektrometer angeschlossen. Die Messzelle 40 wird mit Hilfe einer Doppelspritze derart befüllt, dass ein zwischen der inneren Elektrode 48b und der äußeren Elektrode 48a angeordneter Innenraum 54b mit Blutplasma und ein zwischen der äußeren Elektrode 48a und der zylinderartigen Messzelle 40 angeordneter, weiterer Innenraum 54a mit Calciumchlorid-Lösung befüllt ist.

Eine mantelartig außen an der äußeren Elektrode 48a anliegende Membran 56 verhindert eine unmittelbare Vermischung von Blutplasma und Calciumchlorid-Lösung bei der Befüllung der Messzelle 40. Auf diese Weise wird eine ungewünschte vorzeitige Gerinnung des Blutplasmas im Innenraum 54b vermieden. Die von der Firma Freudenberg unter der Bezeichnung „L146B/4/3“ vertriebene Membran 56 weist laut Firmenangaben eine geringe ElektrolytabSORption sowie eine Porosität von etwa 38% auf und ist für Calciumionen durchlässig. Zur Ummantelung der äußeren Elektrode 48a wird ein Zuschnitt von 40mmx40mm als Membran 56 eingesetzt.

Vom weiteren Innenraum 54a dringt die Calciumchlorid-Lösung über die Membran 56 in den Innenraum 54b ein und hebt die Gerinnungs-

hemmung des Blutplasmas auf. Ausgehend von der äußeren Elektrode 48a gerinnt die Blutplasmprobe, radial nach innen fortschreitend zur inneren Elektrode 48b. Bei der beschriebenen Geometrie der Messzelle 40 und der Elektrodenanordnung setzt sich das jeweils untersuchte Blutsystem aus ca. 1ml Blutplasma und entsprechend dem Volumen des weiteren Innenraums 54a aus 5ml Calciumchlorid-Lösung zusammen.

Zur Untersuchung des Blutsystems auf elektrische Effekte im Laufe der Gerinnung werden die Elektroden an ein Elektrometer angeschlossen und ohne Anlegen eines äußeres elektrischen Feldes in dem gerinnenden Blutsystem auftretende Spannungen und Ströme erfasst. Die durch das gerinnende Blutsystem als innere Quelle entstehende Spannung wird als Gerinnungspotential U_{Ger} bezeichnet, der zugehörige elektrische Strom als Gerinnungsstrom I_{Ger} .

3.3 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blutplasma und Blut mit Elektroden in Plattenanordnung

Als weitere Messzelle zur Aufnahme von Blutplasma und Blut wird eine Küvette mit Außenmaßen von 10mmx10mmx45mm und einer Wandstärke von 1mm verwendet. Die Küvetten der Firma VWR weisen ein Füllvermögen von 4ml sowie zwei optisch klare Seiten auf und sind als Einwegküvetten aus Polystyrol gefertigt. In der Küvette wird inhibiertes Blutplasma oder Blut bereitgestellt, und durch Zugabe von Calciumchlorid-Lösung, die durch Diffusion und Konvektion gesteuert in das

Blutplasma bzw. Blut eindringt, wird dessen Gerinnungshemmung aufgehoben.

Die Messzelle und die durchzuführenden Messungen geben einige Anforderungen an eine geeignete Elektrodenanordnung vor: eine kompakte Bauweise, um einen Einbau in das Innenvolumen einer Messzelle sowie eine geringstmögliche Störung des optischen Weges bzw. Durchtritts zur optischen Messung des Gerinnungsverlaufes von Blutplasma sicherzustellen; eine planparallele horizontale Anordnung der Elektroden, wobei ein Durchtritt der in vertikaler Richtung von oben nach unten wandernden Gerinnungsfront durch die jeweilige Elektrode gewährleistet sein soll. Das Elektrodenmaterial soll eine gute elektrische Leitfähigkeit zur Messung von Spannungen bis hin zum mV-Bereich aufweisen. Zur Durchführung von weiteren Messungen und von Vergleichsmessungen soll die Elektrodenanordnung wiederverwendbar und leicht zu reinigen sein.

Die realisierte und eingesetzte Elektrodenanordnung für elektrische Messungen an Blutplasma und Blut ist in den Abbildung 15 bis 17 gezeigt. Eine in Abbildung 15 und 16 gezeigte Messzelle 10 ist als Küvette mit den Außenmaßen 10mmx10mmx45mm und einer Wandstärke von 1mm ausgebildet. In die Messzelle 10 wird die Elektrodenanordnung umfassend eine obere Elektrode 12a, einen oberen Rohrabschnitt 14a, eine untere Elektrode 12b und einen unteren Rohrabschnitt 14b eingesetzt. Die Rohrabschnitte 14a, 14b sind jeweils zylindrisch mit einem Außendurchmesser von 8mm und einer Wandstärke

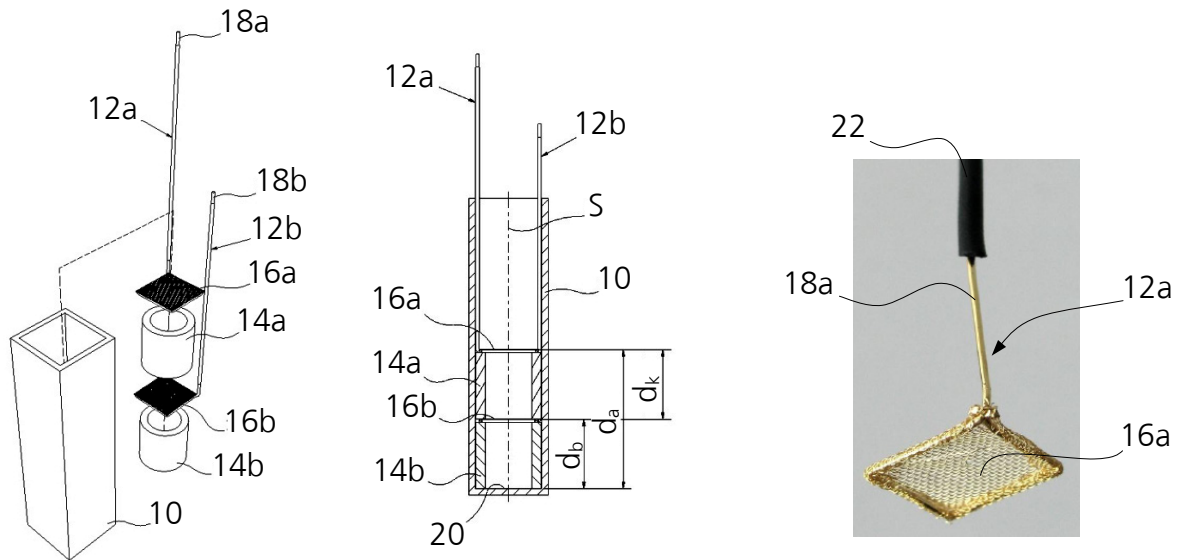


Abbildung 15 (links): Messzelle mit Elektrodenanordnung in Explosionsdarstellung

Abbildung 16 (Mitte): Schnitt durch Versuchsaufbau aus Abbildung 15

Abbildung 17 (rechts): Bild einer Elektrode aus Abbildung 15 und 16

von 1mm ausgebildet. Die Rohrabschnitte 14a, 14b geben durch ihre jeweilige axiale Erstreckung den vertikalen Abstand d_k zwischen den Elektroden 12a, 12b sowie den Abstand d_b zwischen unterer Elektrode 12b und einem Boden 20 der Messzelle 10 vor und stellen insoweit Abstandhalter dar.

Die jeweilige Elektrode 12a, 12b weist eine Elektrodenfläche 16a, 16b auf, deren Abmaße 8mmx8mm durch einen umlaufenden Rahmen festgelegt sind. Der Rahmen ist aus einem Golddraht mit einem Durchmesser von 0,5mm geformt und spannt ein Goldnetz mit einer Feinheit von 1.000 Maschen/cm² flächig auf. Die maschenartige Ausbildung der Elektrodenfläche 16a nebst umlaufendem Rahmen ist im als Abbildung 17 gezeigten Bild der oberen Elektrode 12a gut erkennbar. Aus dem jeweiligen Golddrahtstück wird einstückig mit dem

Rahmen eine elektrische Zuleitung 18a, 18b zum Anschluss der Elektrode 12a, 12b an ein Elektrometer ausgebildet. Abbildung 17 ist weiter entnehmbar, dass die freien Zuleitungen 18a, 18b zu den planparallelen Elektrodenflächen 16a, 16b durch jeweils eine Ummantelung 22 aus einem Polyethylen-Schlauch bzw. einem Schrumpfschlauch elektrisch isoliert sind.

Die horizontal angeordneten Elektrodenflächen 16a, 16b können von Flüssigkeiten, wie von Calciumchlorid-Lösung bzw. von der Gerinnungsfront durchtreten bzw. passiert werden, so dass der optische Weg durch die Messzelle 10 lediglich durch die horizontal ausgerichteten Elektrodenflächen 16a, 16b beeinträchtigt wird, vgl. Abbildung 16. Die Elektroden 12a, 12b bilden eine planparallele Anordnung zur Messung eines elektrischen Feldes zwischen den Elektrodenflächen 16a, 16b der oberen Elektrode 12a und der unteren Elektrode 12b. Insoweit entspricht der Versuchsaufbau der in Abbildung 2 gezeigten Versuchsanordnung aus [6] für elektrische Messungen während der Aushärtung eines Epoxidharz-Systems.

Der Plattenabstand d_k der Elektroden 12a, 12b ergibt sich aus der Differenz des Abstands d_a , d_b der jeweiligen Elektrodenfläche 16a, 16b zum Boden 20, $d_k = d_a - d_b$, und entspricht der axialen Erstreckung des oberen Rohrabschnitts 14a. Als Elektrodenmaterial wird Gold gewählt, das sich insbesondere durch eine hohe Chemikalienbeständigkeit auszeichnet. Um mögliche Einflüsse von Legierungselementen zu vermeiden, wird 24-karätiges Gold mit einer Reinheit von 99,9% verarbeitet.

Die Rohrabschnitte 14a, 14b sind aus einem optisch klaren Plexiglasrohr zugeschnitten und weisen unterschiedliche axiale Erstreckungen von 5mm, 10mm, 15mm, 20mm auf. Für die jeweilige Messung werden die Rohrabschnitte 14a, 14b baukastenartig entsprechend des gewählten Plattenabstandes d_k und des Abstandes d_b der unteren Elektrodenfläche 16b zum Boden 20 in die Messzelle 10 eingesetzt. Im gezeigten Beispiel ist $d_k = d_b = 10\text{mm}$. Bei Wegfall des unteren Rohrabschnitts 14b liegt die untere Elektrodenfläche 16b am Boden 20 an ($d_b = 0\text{mm}$), was der maximalen Endlage der Gerinnungsfront entspricht.

Eine Untersuchung der Leitfähigkeit κ , des Ohmschen Widerstands R und der Impedanz Z der Versuchsmaterialien sowie deren jeweilige Änderung während der Gerinnung einer Blutprobe ist nur mit Anlegen eines äußeren elektrischen Feldes möglich wird. Hierfür wird ein impedanzspektroskopisches Analyseverfahren eingesetzt. Die Impedanzspektroskopie, auch dielektrische Spektroskopie genannt, beruht auf der Beeinflussung geladener Teilchen durch ein von außen angelegtes, zeitlich verändertes, elektrisches Feld.

Verschiedene dielektrische Anregungseffekte, die bei charakteristischen Frequenzen des elektrischen Feldes auftreten, ermöglichen eine Analyse des jeweils untersuchten Systems. Von hohen Frequenzen zu niedrigen Frequenzen können folgende Eigenschaften eines Systems angeregt und ermittelt werden: Induktionsströme durch externe elektrische Felder, Ohmscher Widerstand R des Elektrolyten, Deckschichtbil-

dung auf Elektrodenoberflächen, Ladungsdurchtritt zwischen Elektrode und Elektrolyt sowie durch Grenzschichten, Diffusion geladener Teilchen auf der Elektrodenoberfläche und durch den Elektrolyten [109, 110].

Zur impedanzspektroskopischen Untersuchung von Blut, Blutplasma, Calciumchlorid-Lösung und Ringer-Lösung wird die planparallele Anordnung der beiden Elektroden 12a, 12b mit den Elektrodenflächen 16a, 16b aus Goldnetzen eingesetzt, wobei $d_a=20\text{mm}$, $d_b=10\text{mm}$ und $d=d_k=10\text{mm}$ gewählt sind. Da die Goldnetze als Elektrodenflächen 16a, 16b in Bezug auf die Zellkonstante z undefiniert sind, wird zunächst eine Kalibrierung mit einer Kaliumchlorid-Lösung bekannter Leitfähigkeit durchgeführt. Die Zellkonstante z ist definiert als das Verhältnis des spezifischen Elektrodenabstandes d_k zur spezifischen Elektrodenfläche eines elektrochemischen Zellsystems, hier der gewählten Elektrodenanordnung. Da der Widerstand proportional zum Elektrodenabstand d_k und antiproportional zur Elektrodenoberfläche ist, ermöglicht die Zellkonstante z als geometrische Größe eine vereinheitlichte Darstellung der Leitungseigenschaften.

Die Messzelle 10 mit der darin eingesetzten Elektrodenanordnung und die Versuchsmaterialien werden in einem Klimaschrank „WKL 64“ der Firma Weiss auf eine Temperatur von $37\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ und eine relative Feuchtigkeit von $70\% \pm 2\%$ klimatisiert. Die impedanzspektroskopischen Untersuchungen zur Bestimmung der komplexen Wechselstromwiderstände werden mit einem Potentiostaten „1287 A“ und

einem Frequenzgenerator „1260 A“ der Firma Solartron durchgeführt. Der Frequenzbereich zwischen 10^6 Hz und 10^3 Hz ist aufgezeichnet worden.

In der Impedanzspektroskopie werden frequenzabhängige Widerstände typischerweise in einem sog. Nyquist-Diagramm dargestellt. In einem Nyquist-Diagramm wird der imaginäre Anteil Z'' der Messsignale für den Widerstand auf der Ordinatenachse (y-Achse), typischerweise mit dem negativen Bereich nach oben, und der reale Anteil des Messsignals für den Widerstand auf der Abszissenachse (x-Achse) aufgetragen. Die dem Abszissendurchgang ($Z''=y=0$) des Messsignals entsprechende Frequenz stellt den Ohmschen Widerstand R des Systems dar, da weder imaginären Anteilen entsprechende Blindwiderstände noch eine Phasenverschiebung zwischen Strom und Spannung auftreten.

Zur Bestimmung der Leitfähigkeit κ von Blut und Blutplasma als organische Elektrolytsysteme, Calciumchlorid-Lösung und Ringer-Lösung wird lediglich der Ohmsche Widerstand R berücksichtigt, also der Bereich der Impedanz Z mit Imaginärteil Null ($Z''=0$). Die Leitfähigkeit κ des jeweils untersuchten Systems ergibt sich aus dem Quotienten der Zellkonstante z und des Widerstands R .

3.4 Optische Messung der Gerinnung von Blutplasma und Blut

Zur optischen Messung der Gerinnung von Blutplasma ist eine in Abbildung 18 gezeigte Messeinrichtung konzipiert und realisiert worden.

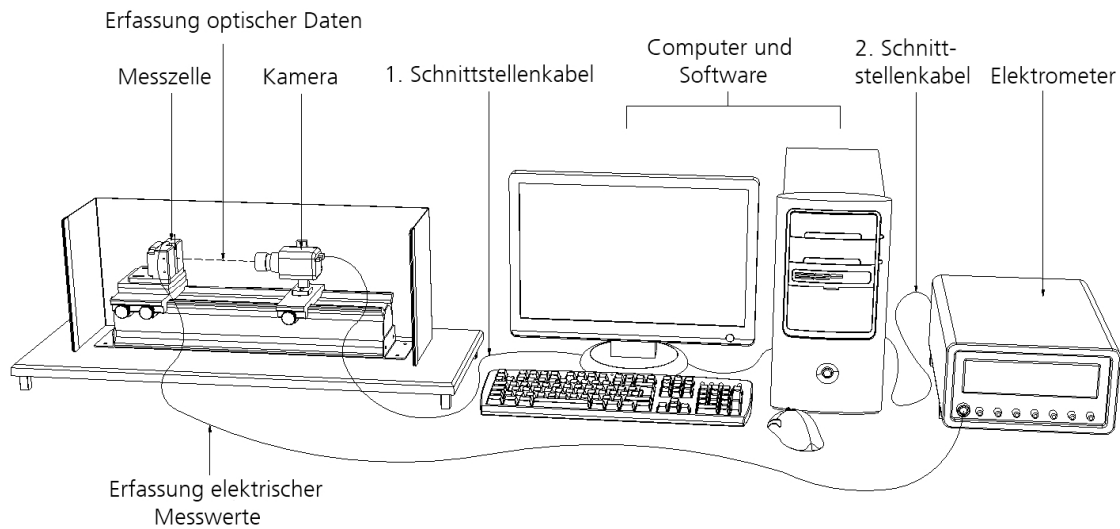


Abbildung 18: Messeinrichtung zur optischen und elektrischen Messung von Blutplasma

Die links gezeigte Vorrichtung zur Erfassung optischer Daten umfasst eine Messzellenhalterung für eine Messzelle, ein in die Messzellenhalterung integriertes Leuchtfeld als Beleuchtung und eine Kamera mit Objektiv. Die Messzellenhalterung und die Kamera sind mittels Reiter auf einer optischen Schiene verschiebbar und arretierbar angeordnet. Die vorstehend genannten Komponenten sind von einem in Abbildung 18 nur teilweise gezeigten Verdunklungsgehäuse gegen äußeres Licht weitestgehend abdunkelbar.

Es sind zwei Versuchsaufbauten realisiert worden mit jeweils einer optischen Schiene der Länge 0,75m bzw. 0,5m, auf der Schiene verschieb- und arretierbaren Reitern, einer Farbkamera TM-6740 GE der

Firma Pulnix bzw. JAI CM-030 GE der Firma JAI, einem Objektiv mit Zwischenring(en) der Firma Pentax, einem blauen LED-Durchlicht mit einer monochromatischen Wellenlänge von 470nm der Firma Stemmer Imaging, einer Messzellenhalterung zur Aufnahme einer Messzelle, einer Verdunklungskiste aus Blech zur Umhausung der vorgenannten Komponenten sowie einem in die Verdunklungskiste integrierten Lüfter. Die optische Schiene ist jeweils auf einer Platte zur horizontalen Ausrichtung der Messzelle bzw. der Messzellenhalterung angeordnet.

Über ein erstes Schnittstellenkabel, ein Gigabit-Ethernet-Kabel, ist die Kamera mit einem Computer der Firma Dell verbunden. Auf dem Computer ist eine am Fraunhofer ICT entwickelte Messsoftware zur Erfassung und Auswertung von Messdaten installiert; die Messsoftware umfasst das in der Programmiersprache „Delphi“ entwickelte Programm „RecCam“, in welches zur Messung von Flammenfronten entwickelte Algorithmen bzw. Softwaremodule zur optischen Auswertung eingebunden sind.

Zur optischen Messung der Lage der Front und der Dicke des geronnenen Bereichs von Blutplasma wird ein Durchlichtverfahren zur Sichtbarmachung innerer Strukturen gewählt. Im ortsfesten Bildfenster zur Beobachtung des Verlaufs der Gerinnungsfront ist die senkrecht gehaltene Messzelle vollständig sichtbar. Die Beleuchtung ist derart gewählt, dass ein Kontrast zwischen einem Bereich mit geronnenem Blutplasma und einem Bereich mit (noch) nicht geronnenem Blutplasma sichtbar gemessen werden kann. In der Messsoftware wird der auszuwertende

Bildbereich als „Region of Interest“ (ROI) eingestellt und aus den von der Kamera erfassten Bilddaten wird die Lage der Gerinnungsfront zwischen dem oberen Bereich geronnenen Blutplasmas und dem unteren Bereich nicht geronnenen Blutplasmas zeit- und orts aufgelöst bestimmt, vgl. Abbildung 19.

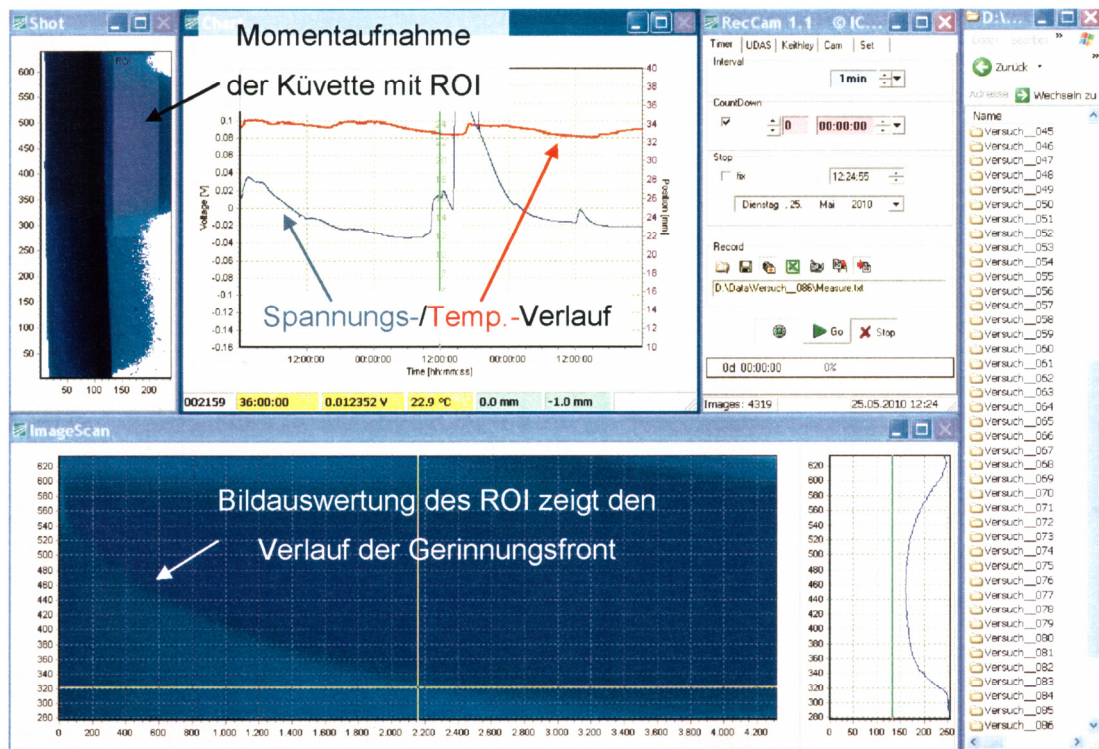


Abbildung 19: Bildschirmoberfläche zur Bedienung des Programms „RecCam“ zur Aufnahme und Auswertung von Messdaten nebst Erläuterungen

Als Messzelle zur Aufnahme von Blutplasma wird eine Küvette mit Außenmaßen von 10mmx10mmx45mm und einer Wandstärke von 1mm verwendet. Die Küvetten der Firma VWR weisen ein Füllvermögen von 4ml sowie zwei optisch klare Seiten auf und sind als Einwegküvetten aus Polystyrol gefertigt. In der Küvette wird inhibiertes Blutplasma be-

reitgestellt, und durch Zugabe von Calciumchlorid-Lösung, die durch Diffusion und Konvektion gesteuert in das Blutplasma eindringt, wird dessen Gerinnungshemmung aufgehoben. An der horizontalen Grenzfläche zwischen Blutplasma und Calciumchlorid-Lösung wird startend an angrenzenden Innenoberflächen der Messzelle eine Gerinnungsschicht ausgebildet; ausgehend von dieser Gerinnungsschicht gerinnt die Blutplasmaprobe und eine Art Gerinnungsfront wandert in vertikaler Richtung von oben nach unten, vgl. Abbildung 19 unten.

Um trotz lagerungszeitbedingter Eintrübung des Blutplasmas eine optische Messung durchführen zu können, sind die Empfindlichkeit der Kamera und die Belichtungszeit optimiert einstellbar. Die in die Messsoftware integrierte Anzeige von übersteuerten Bildbereichen ermöglicht in Abhängigkeit von der Lichtdurchlässigkeit des Blutplasmas eine Einstellung der Beleuchtungsstärke auf den maximal zulässigen Wert. Durch die Messeinrichtung wird erreicht: eine höhere Genauigkeit der optischen Messung gegenüber einer Ablesung mit dem Auge, die Vermeidung von Störungen durch äußere Lichtquellen, wie Tageslichtschwankungen, eine unterbrechungslose Messung des gesamten Gerinnungsverlaufs über mindestens 24 Stunden, die Erfassung von Messdaten mit gleichem Zeitstempel.

Im Gegensatz zu Blutplasma ist Blut sowohl im nicht geronnenen als auch im geronnenen Zustand im sichtbaren Wellenlängenbereich lichtundurchlässig. Zur Überprüfung einer möglichen Erfassung der Gerinnung von Blut mittels Licht im IR-Wellenlängenbereich sind IR-Spektren

von gerinnendem Blut aufgezeichnet worden, wofür ein am Fraunhofer ICT vorhandenes IR-Spektrometer der Firma Bruker verwendet worden ist.

3.5 Rheologische Messung der Gerinnung von Blut

Eine optische Messung der Gerinnung von Blut mittels Licht im IR-Wellenlängenbereich, bevorzugt mit naher IR-Strahlung, ist möglich, vgl. Kapitel 5. Eine parallele elektrische Messung des Bluts ließe sich jedoch nur mit hohem konstruktivem Aufwand und baulichen Veränderungen am IR-Spektrometer realisieren. Im Rahmen einer Recherche nach alternativen Messmethodiken sind Vorversuche an einem am Karlsruher Institut für Technologie (KIT) verfügbaren NMR-Tomographen durchgeführt und als wenig brauchbar bewertet worden. Am Fraunhofer ICT durchgeführte Vorversuche zur rheologischen Messung der Gerinnung von Blut sind dagegen erfolgreich gewesen. Des Weiteren bietet ein Rheometer den Vorteil, dass metallische Teile des Rheometers als Elektroden eingesetzt werden können [10].

Rheologie ist die Lehre von der Deformation und vom Fließen von Substanzen und wird als Teilgebiet der Physik zugeordnet. Rheologische Untersuchungen erfassen neben dem Fließverhalten von Flüssigkeiten das Deformationsverhalten von Festkörpern. Das Fließverhalten einer idealviskosen Flüssigkeit, wie Mineralöl, folgt dem Newton'schen Gesetz. Das Deformationsverhalten eines idealelastischen Festkörpers, wie einer Stahlkugel, folgt dem Hooke'schen Gesetz. Das rheologische

Verhalten einer viskoelastischen Substanz, wie Knetmasse, lässt sich entsprechend dem jeweiligen viskosen und dem jeweiligen elastischen Anteil zwischen den beiden Extremen einer idealviskosen Flüssigkeit und eines idealelastischen Festkörpers einordnen [111]. Die wichtigsten äußeren Einflussbedingungen für das rheologische Verhalten einer Substanz sind die Art, die Höhe und die Dauer der Belastung sowie die Temperatur.

Zur Untersuchung von viskoelastischen Substanzen bieten sich Oszillationsmessungen in einem Platte-Platte-Messsystem an. Die obere Platte oszilliert um ihre Symmetrieachse mit der Kreisfrequenz ω und der Deformationsamplitude γ_A . Die durch die oszillatorische Bewegung $\gamma(t) = \gamma_A \sin(\omega t)$ der oberen Platte auf die Messsubstanz ausgeübte Kraft wird gemessen und die Schubspannung (engl. shear stress) $\tau(t)$ bestimmt. Entsprechend der sinusförmigen Deformationsfunktion $\gamma(t)$ folgt die Schubspannung $\tau(t) = \tau_A \sin(\omega t + \delta)$ einem sinusförmigen Verlauf mit dem Phasenverschiebungswinkel δ . Die resultierenden rheologischen Kenngrößen sind komplexer Schubmodul G^* , Speichermodul G' , Verlustmodul G'' und Verlustfaktor $\tan\delta$ [111].

Der komplexe Schubmodul G^* repräsentiert die Steifigkeit der Messprobe und berechnet sich entsprechend des Hooke'schen Gesetzes in komplexer Form aus dem Verhältnis von Schubspannung zur Deformation: $G^* = \tau(t)/\gamma(t)$. Der Speichermodul G' ist ein Maß für die während des Scherprozesses in der Messprobe gespeicherte Deformationsener-

gie und repräsentiert das elastische Verhalten der Messprobe: $G' = \tau_A/\gamma_A \cos\delta$. Der Verlustmodul G'' ist ein Maß für die während des Scherprozesses in der Messprobe zur Veränderung der inneren Probenstruktur aufgebrauchte und an die Umgebung abgegebene, für die Messprobe verlorene Deformationsenergie und repräsentiert das viskose Verhalten der Messprobe: $G'' = \tau_A/\gamma_A \sin\delta$. Der Verlustfaktor $\tan\delta$, auch Dämpfungsfaktor genannt, ist das Verhältnis zwischen dem viskosen und dem elastischen Anteil des Deformationsverhaltens: $\tan\delta = G''/G'$.

Die Einheit von komplexem Schubmodul G^* , Speichermodul G' und Verlustmodul G'' ist Pascal [Pa] = [N/m²]. Für eine ideale elastische Substanz mit reversiblen Deformationsverhalten gilt $\delta = 0^\circ$ bzw. $\tan\delta = 0$. Für eine idealviskose Substanz mit irreversiblen Deformationsverhalten gilt $\delta = 90^\circ$ bzw. $\tan\delta = \infty$. Viskoelastische Substanzen lassen sich weiter unterteilen in viskoelastische Festkörper mit dominierendem elastischem Verhalten bzw. Speichermodul $G' > G''$ ($\Leftrightarrow \tan\delta < 1$) und in viskoelastische Flüssigkeiten mit dominierendem viskosen Verhalten bzw. Verlustmodul $G'' > G'$ ($\Leftrightarrow \tan\delta > 1$).

Am Fraunhofer ICT steht das Rotations- und Oszillationsrheometer „Physica MCR 501“ der Firma Anton Paar zur Verfügung. Vorversuche an Blut haben gezeigt, dass ein die Gerinnung charakterisierender Verlauf rheologischer Messgrößen bei Einsatz einer Platte-Platte-Anordnung, nicht jedoch mit einer Kegel-Platte-Anordnung messbar

ist. Am Blut wurden Oszillationsmessungen mit konstanter Deformationsamplitude $\gamma_A = 0,02 = 0,8$ mrad und konstanter Kreisfrequenz $\omega = 1$ Hz durchgeführt. Als rheologische Kenngröße zur Charakterisierung der Gerinnung der jeweiligen Blutprobe bietet sich insbesondere der Speichermodul G' an. Unter Berücksichtigung der Abnahme der Gerinnungsaktivität von gelagertem Blut, vgl. Kapitel 3.1, werden für die Untersuchungen ausschließlich Messkurven innerhalb von 6 Stunden nach der Blutabnahme aufgezeichnet und ausgewertet. Zur Untersuchung wird Blut als Messsubstanz in den Messspalt des Platte-Platte-Messsystems eingebracht. Der Messspalt wird von oberer und unterer Platte entsprechend des gewählten Plattenabstandes d vorgegeben.

Als Werte für den Plattenabstand d werden 0,4mm; 0,6mm; 0,8mm und 1mm gewählt. Bei einem größeren oder kleineren Plattenabstand findet keine gleichmäßige Deformation der Messprobe über den jeweiligen Platten- bzw. Spaltabstand statt, was die Messergebnisse ungünstig beeinflusst. Bei einem zu kleinen Plattenabstand ist zudem der Einfluss des im Bezug zur oberen Platte radialen Überstandes von Probenmaterial auf die Messergebnisse nicht unwesentlich. Beim Plattenabstand $d=1,0$ mm und einem Durchmesser $D=50$ mm der oberen Platte wird der Messspalt mit einer Menge von 2,5ml Blut vollständig ausgefüllt, entsprechend mit 1,0ml Blut bei $d=0,4$ mm; 1,5ml Blut bei $d=0,6$ mm und 2,0ml Blut bei $d=0,8$ mm. Die Messdauer beträgt typischerweise 45min und das Messintervall 0,5min. Von einer sehr großen Messdauer wird angesichts möglicher Messfehler durch Verdunstung der Blutprobe über Randbereiche des Messspalts abgesehen.

3.6 Kombinierte optische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma

Ein in Abbildung 18 rechts gezeigtes Elektrometer „6517A“ oder „6514“ der Firma Keithley zur Erfassung elektrischer Daten ist über ein zweites Schnittstellenkabel, ein RS 232-Kabel, mit dem Computer verbunden. Zur Erfassung elektrischer Messwerte sind die Elektroden über ein Triax-Kabel an das jeweilige Elektrometer angeschlossen. Über die Messsoftware können die Kamera und das Elektrometer zur gleichzeitigen Erfassung eines Bildes und zumindest eines Messwertes angesteuert werden.

Zur Vorbereitung einer Messung wird die gewählte Elektrodenanordnung aus den Elektroden 12a, 12b und den Rohrabschnitten 14a, 14b in einer losen Anordnung in die jeweilige Messzelle 10 ein- und zusammengesetzt und über die Zuleitungen 18a, 18b an das Elektrometer angeschlossen. Die Messzelle 10 wird mit Blutplasma derart befüllt, dass die Elektrodenfläche 16b der unteren Elektrode 12b und die Elektrodenfläche 16a der oberen Elektrode 12a vollständig in Blutplasma eingetaucht bzw. mit Blutplasma bedeckt sind. Bei den Messungen ist für Blutplasma jeweils ein Füllstand von $d_i = 20\text{mm}$ zum Boden 20 gewählt worden; die Elektrodenfläche 16a der oberen Elektrode 12a liegt beim Abstand $d_a = d_i = 20\text{mm}$ an der Grenzfläche zwischen dem Blutplasma und der Calciumchlorid-Lösung.

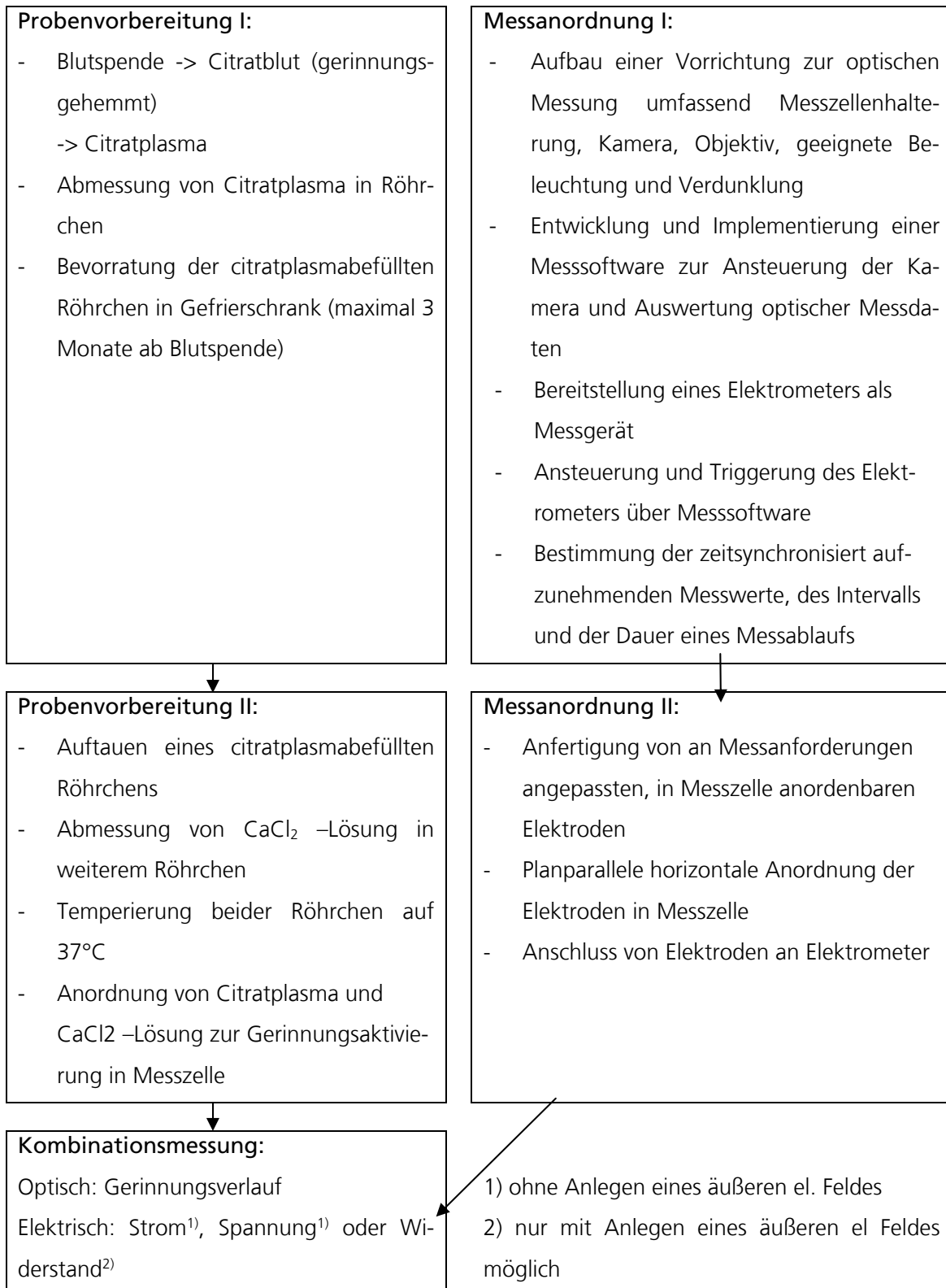


Tabelle 2: Einzelschritte zur Durchführung einer kombinierten optischen Gerinnungsmessung und elektrischen Messung an Blutplasma

Die Aktivierung der Gerinnung erfolgt anschließend mit Zugabe von Calciumchlorid-Lösung im Mengenverhältnis 1:4, so dass das Blutplasma ausgehend von der Grenzfläche zwischen Blutplasma und Calciumchlorid-Lösung vertikal nach unten fortschreitend gerinnt. Bei der beschriebenen Geometrie der Messzelle 10 und der Elektrodenanordnung setzt sich das jeweils untersuchte Blutsystem aus 2,4ml Blutplasma und entsprechend 0,6 ml Calciumchlorid-Lösung zusammen. Die einzelnen Schritte zur Durchführung einer Kombinationsmessung aus optischer und elektrischer Messung an Blutplasma sowie deren Aufeinanderfolge sind in Tabelle 2 aufgeführt und veranschaulicht.

Nach Vorbereitung einer Messung mit der beschriebenen Anordnung von Elektroden und Versuchsmaterialien in einer Messzelle wird über die Messsoftware die gewünschte Messdatenaufzeichnung eingestellt und gestartet. Neben den Bildern als optische Daten werden die an der Elektrodenanordnung gemessenen elektrischen Daten mit gleichem Zeitstempel aufgezeichnet. Die Dauer einer Messung beträgt typischerweise 48 Stunden und das Messintervall 1min.

3.7 Kombinierte rheologische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blut

Die Platten eines Rheometers sind aus einem Metallwerkstoff gefertigt und können von daher bei entsprechender Isolierung als Elektroden eingesetzt werden. Eine von der Firma Anton Paar für das Rheometer „Physica MCR 501“ entwickelte dielektrische Messzelle ist in den Ab-

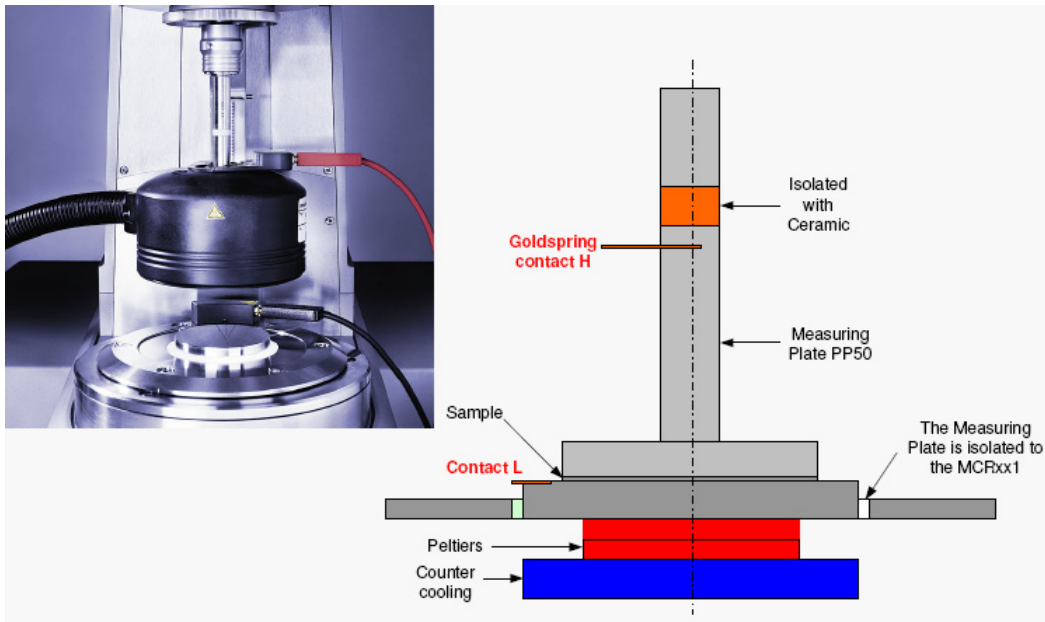


Abbildung 20 (links): Bild von dielektrischer Messzelle aus [10]

Abbildung 21 (rechts): Schnitt durch dielektrische Messzelle aus [10]

Abbildungen 20 und 21 zeigen. Die obere Platte ist durch einen Keramikeinsatz im Schaft gegenüber dem sich anschließenden oberen Rheometerenteil elektrisch isoliert. Die untere Platte ist durch einen entsprechenden ringförmigen Einsatz gegenüber dem sich anschließenden unteren Rheometerenteil elektrisch isoliert. Beide Platten werden an ein Elektrometer „34401 A“ der Firma Agilent angeschlossen, wie in Abbildung 20 angedeutet.

Auf die untere Platte wird ein Gerinnungstrigger aufgebracht, bevor die zu untersuchende Blutprobe auf die untere, ortsfeste Platte aufgebracht und die obere, bewegbare Platte bis zum Spalt- bzw. Plattenabstand d herangeführt wird. Insoweit entspricht der Versuchsaufbau der in Abbildung 2 gezeigten Versuchsanordnung aus [6] für elektrische

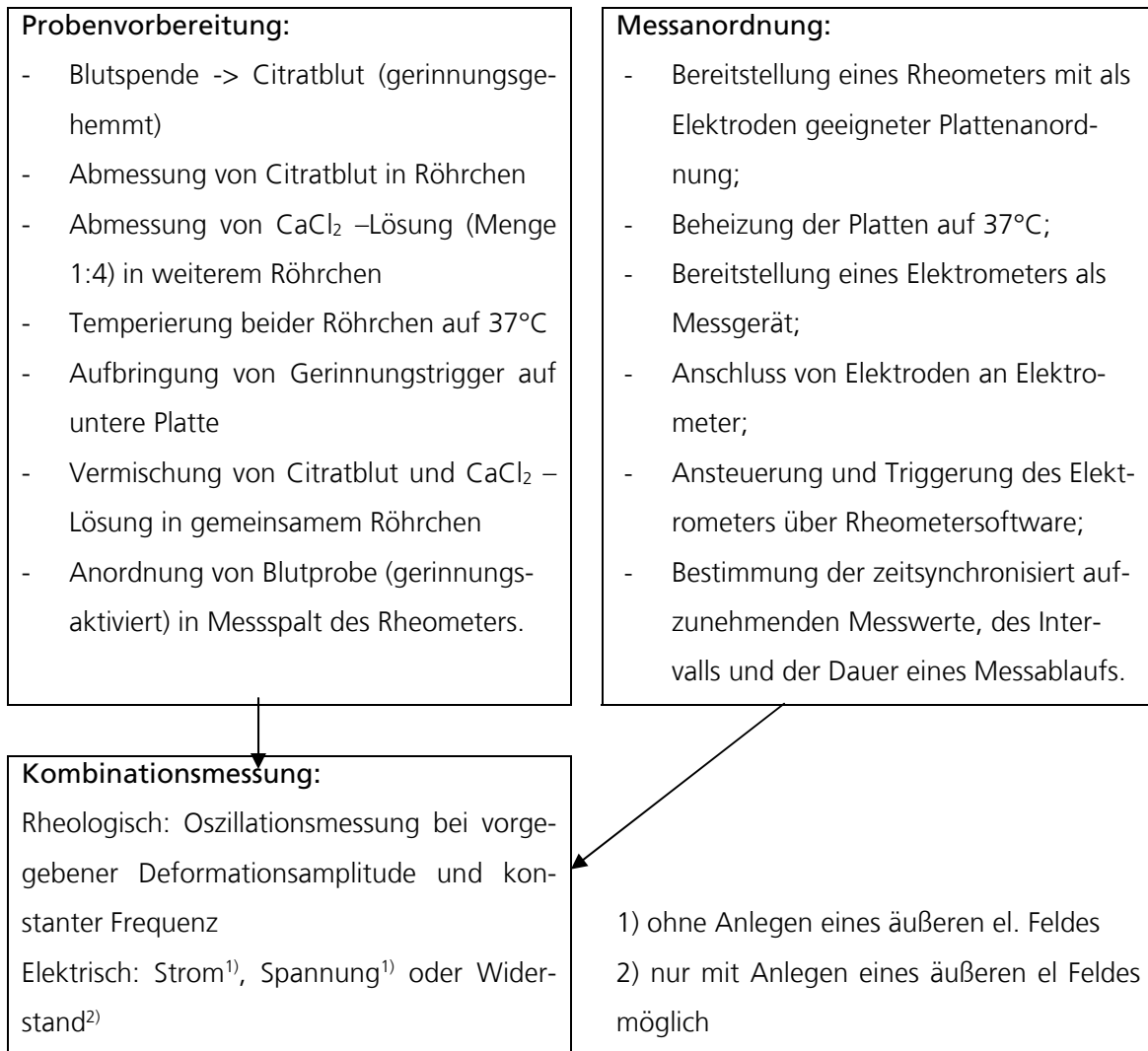


Tabelle 3: Einzelschritte zur Durchführung einer kombinierten rheologischen Gerinnungsmessung und elektrischen Messung an Blut

Messungen während der Aushärtung eines Epoxidharz-Systems. Die Gerinnung der jeweiligen Blutprobe startet, bedingt durch den Gerinnungstrigger, an der unteren Platte als bevorzugte Kontaktfläche und schreitet fort als eine Art Gerinnungsfront von der unteren Platte zur oberen Platte. Mittels des Elektrometers wird die im Messspalt des Rheometers gemessene Blutprobe zusätzlich elektrisch auf auftretenden

de Ströme oder Spannungen gemessen wird. Eine Ansteuerung bzw. Triggerung des Elektrometers über die Rheometersoftware ermöglicht kombinierte rheologische und elektrische Messungen mit gleichem Zeitstempel. Die einzelnen Schritte zur Durchführung einer Kombinationsmessung aus rheologischer und elektrischer Messung sowie deren Aufeinanderfolge sind in Tabelle 3 gezeigt.

3.8 Gerinnungsmessungen an Blutplasma und Blut in einem äußeren elektrischen Feld

Um eine mögliche Beeinflussung der Gerinnung von Blutsystemen durch elektrische Felder zu untersuchen, werden Gerinnungsmessungen an einem Blutsystem in einem äußeren elektrischen Feld durchgeführt, vgl. Abbildung 1. Die eingesetzten Elektroden werden beim Anschluss an eine externe Spannungsquelle dazu eingesetzt, ein elektrisches Feld an die jeweilige Blutprobe anzulegen. Über die externe Spannungsquelle wird entweder eine Gleichspannung oder eine Wechselspannung an die jeweilige Blutprobe angelegt. Parallel wird über eine optische oder rheologische Messung die Gerinnung der jeweiligen Blutprobe erfasst und im Vergleich mit Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld bewertet, ob und, falls ja, wie die äußere Spannung U_{ext} den Gerinnungsverlauf beeinflusst.

Im Hinblick auf eine mögliche Anwendung der Messmethodik zur in-vivo-Detektion von Blutgerinnseln im menschlichen Körper werden dessen Belastungsgrenzen gegenüber einem äußeren elektrischen Feld

berücksichtigt. Als Grenzwerte für kritische Stromflüsse durch den menschlichen Körper bei Kontakt mit spannungsführenden Teilen sind die Spürbarkeitsgrenze bei etwa 0,5mA, die Loslassgrenze bei etwa 10mA und die Grenze für Störungen der Herzfunktion, wie Herzkammerflimmern, bei etwa 30mA zu nennen. Wechselstrom weist ein besonderes Gefahrenpotential bei Durchströmungszeiten oberhalb der Herzperiode von 1s bzw. bei Frequenzen unterhalb von 60 Hz auf [112]. Für technische Geräte ist als berührgefährliche Spannung 25V für Wechselspannung und 60V für Gleichspannung maximal zulässig [113].

Weiter sind in-vivo im menschlichen Körper auftretende, innere elektrische Felder zu berücksichtigen. Jede Zelle im menschlichen Körper weist, bedingt durch ein Konzentrationsgefälle zwischen dem jeweiligen intra- und extrazellulärem Raum, ein Membranpotential von etwa -80mV auf, welches u.a. an der Informationsübertragung im Nervensystem und an der Muskelkontraktion, beispielsweise des Herzmuskels, beteiligt ist. Erregbare Zellen, Nerven- und Muskelzellen, können durch eine kurzfristige Schwankung des Membranpotentials von -80mV auf +30mV ein Aktionspotential ausbilden. Für diese Erregung der Zellen sind Reize oberhalb eines Schwellenpotentials von -50mV erforderlich. Bei Nerven- und Skelettmuskelzellen dauern die Aktionspotentiale jeweils etwa 1-2ms an, bei Herzmuskelzellen etwa 200ms. [30].

Kapitel 4: Messergebnisse und Diskussion für Blutplasma

Die Ergebnisse der einzelnen Messreihen für Blutplasma sind in Kapitel 4 aufgeführt und diskutiert, wobei Fehlerbetrachtungen der einzelnen Messreihen durchgeführt und mathematische Anpassungsfunktionen (Fits) der Messkurven berechnet und ausgewertet werden.

4.1 Elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma mit Elektroden in Zylinderanordnung

Aus Spannungsmessungen mittels einer Zylinderanordnung mit zwei coaxialen Implantaten als Elektroden, wird der in Abbildung 22 gezeigte Mittelwert bestimmt. Die zugehörige Fehlerbetrachtung ist Abbildung 40 des Anhangs zu entnehmen. Das Gerinnungspotential U_{Ger} weist als Besonderheiten die Abnahme von einem Maximum bei $-55,3\text{mV}$ zu einem Minimum bei $-156,0\text{mV}$ in einem ersten Zeitabschnitt von $7,6\text{h}$ und die Beibehaltung eines nahezu konstanten Wertes in einem zweiten Zeitabschnitt von $16,4\text{h}$ auf.

Aus optischen Messungen an Blutplasma, vgl. Kapitel 4.3, ist bekannt, dass in Elektrodenanordnungen mit der oberen Elektrode an der anfänglichen Grenzfläche zwischen Blutplasma und Calciumchlorid-Lösung ($d_a=d_i=20\text{mm}$) nach einer Messzeit von $7,6\text{h}$ eine dem radialen Abstand von $3,5\text{mm}$ zwischen den Elektroden entsprechende Gerinnungsdicke bereits erreicht ist. Somit ist nach $7,6\text{h}$ die Gerinnung der Blutplasmaprobe in dem zwischen den Elektroden vorgegebene Bereich abgeschlossen.

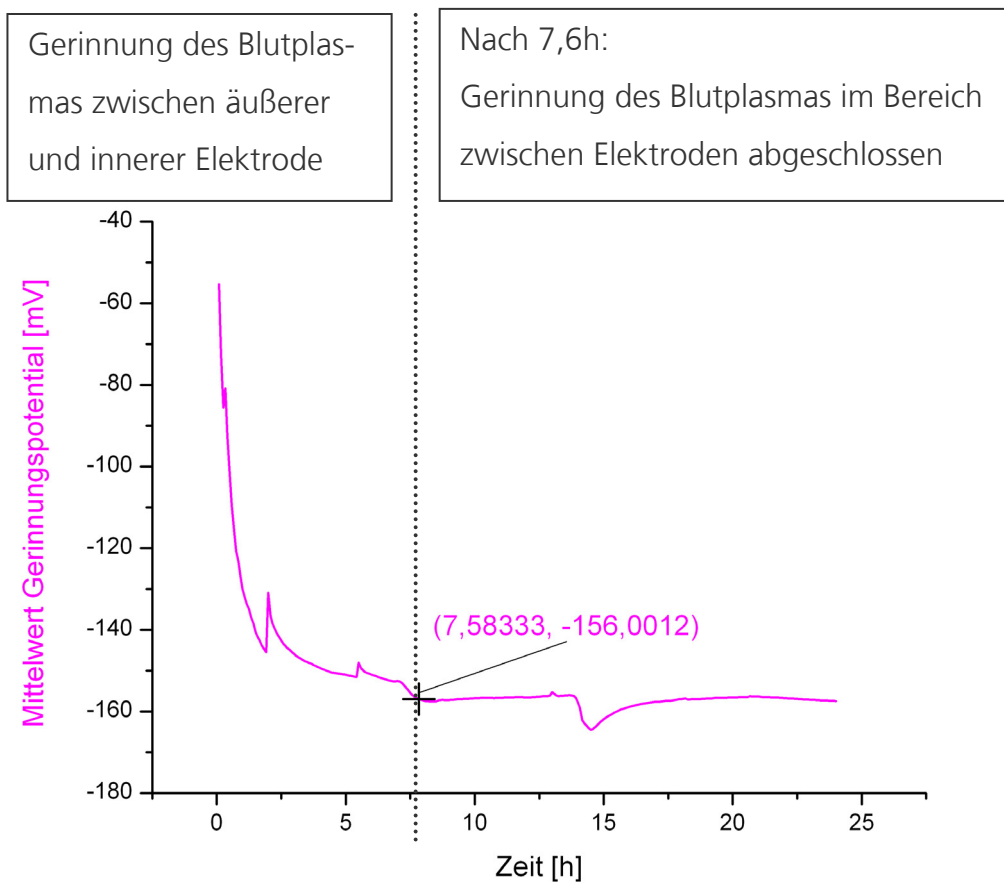


Abbildung 22: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma mit Erläuterungen

Dem Gerinnungspotential U_{Ger} ist die Gerinnung des Blutplasmas als Spannungsänderung ΔU_{Ger} , beim gewählten Spannungsabgriff als Abnahme, zu entnehmen. Bei umgekehrt gewähltem Spannungsabgriff nimmt die Spannungskurve von einem Minimum zu einem Maximum zu. Nach dem Abschluss der Gerinnung in dem zwischen den Elektroden vorgegebenen Bereich endet die Spannungsänderung bzw. die Spannungsabnahme und die Spannungskurve nähert sich einem konstanten Wert bzw. nimmt diesen an; die zugehörige charakteristische Stelle ist in Abbildung 22 als Datenpunkt markiert.

Eine exponentielle Anpassungskurve an die Messdaten ergibt für das mittels der Zylinderanordnung gemessene Gerinnungspotential $U_{\text{Ger}}[\text{mV}]$ als Funktion der Messdauer $t[\text{h}]$, vgl. Abbildung 40:

$$U_{\text{Zylinder}}(t) = -156,2 + 94,5 * 0,3471^t = -156,2 + 94,5 * e^{t * \ln 0,3471} \quad (1)$$

Die Anpassungskurve zeigt, dass sich das Gerinnungspotential asymptotisch einem Grenzwert von $-156,2\text{mV}$ nähert, und dass während der Messungen eine mittlere Spannungsabnahme von $94,5\text{mV}$ vorliegt. In der Zylinderanordnung wird jeweils eine Messprobe mit $1,0\text{ml}$ Citratplasma untersucht, so dass die Änderung des Gerinnungspotentials ΔU_{Ger} in Bezug auf die Menge des gerinnenden Blutplasmas $94,5\text{mV/ml}$ beträgt.

4.2 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blutplasma mit Elektroden in Plattenanordnung

Die Kalibrierung der Messzelle wird mit einer Kaliumchlorid-Lösung bekannter Leitfähigkeit $\kappa(\text{KCl}) = 12,8\text{mS/cm} = 1,28\Omega^{-1}\text{m}^{-1}$ bei einer Temperatur von 25°C durchgeführt. Der mittels der Messzelle ermittelte Widerstand der Kaliumchlorid-Lösung beträgt $R(\text{KCl}) = 118,3\Omega \pm 0,5\Omega$. Die Zellkonstante z berechnet sich aus dem Produkt der Leitfähigkeit $\kappa(\text{KCl})$ und dem Widerstand $R(\text{KCl})$: $z = \kappa * R = 151,42\text{m}^{-1} = 1,51/\text{cm}$; die Abweichung beträgt $0,13\%$. Für die einzelnen Versuchsmaterialien wird der Widerstand R bestimmt und aus dem reziproken Verhältnis zur Zellkonstante z die jeweilige Leitfähigkeit κ ermittelt, $\kappa = z/R$, vgl. Auflistung gemäß Tabelle 4.

Versuchsmaterial	Widerstand R[Ω]	Leitfähigkeit κ [mS/cm]
Citratplasma2	111,4	13,6
Citratplasma3	101,4	14,9
Citratplasma4	126,3	12,0
CaCl ₂ -Lösung	232,3	6,5
Ringer-Lösung	228,8	6,6

Tabelle 4: Auflistung des Widerstands und der elektrolytischen Leitfähigkeit des jeweils untersuchten Versuchsmaterials einschließlich Blutplasma

Zur Untersuchung einer Änderung der Impedanz Z während der Gerinnung von Blutplasma wird das Wechselstromverhalten bei konstanter Frequenz für eine Messdauer von 48h aufgezeichnet. Die Anwendung der frequenzstatischen Analyse erfordert, dass sich über den zeitlichen Verlauf der Messung die Anregungsfrequenz zur Bestimmung des Elektrolytwiderstands bzw. des Ohmschen Widerstandes R nicht verändert. Für die jeweilige Blutplasmaprobe ist zunächst die dem Abszissendurchgang ($Z''=0$) entsprechende Frequenz ermittelt worden.

Der zeitliche Verlauf und der Impedanzverlauf der jeweiligen frequenzstatischen Aufnahme nach Zugabe von Calciumchlorid-Lösung (CaCl₂) sind in Abbildung 41 des Anhangs gezeigt. Die Projektion des Imaginärteils Z'' der Impedanz Z in die Ebene $Z'=0$ zeigt, dass dieser im Laufe der jeweiligen frequenzstatischen Messung vom Anfangswert Null ($Z''=0$) nicht abweicht und folglich die jeweils gewählte Anregungsfrequenz für den als Realteil Z' messbaren Ohmschen Widerstand R kon-

stant ist. Die ermittelte Anregungsfrequenz beträgt für die Probe Blutplasma2 85kHz, für die Probe Blutplasma3 67kHz und für die Probe Blutplasma4 68kHz. Der Verlauf des Ohmschen Widerstands R für die drei gerinnenden Blutplasmaproben während einer Messdauer von 48h ist in Abbildung 23 gezeigt, wobei zum Vergleich die Widerstandswerte für Ringer-Lösung und Calciumchlorid (CaCl_2)-Lösung eingefügt sind.

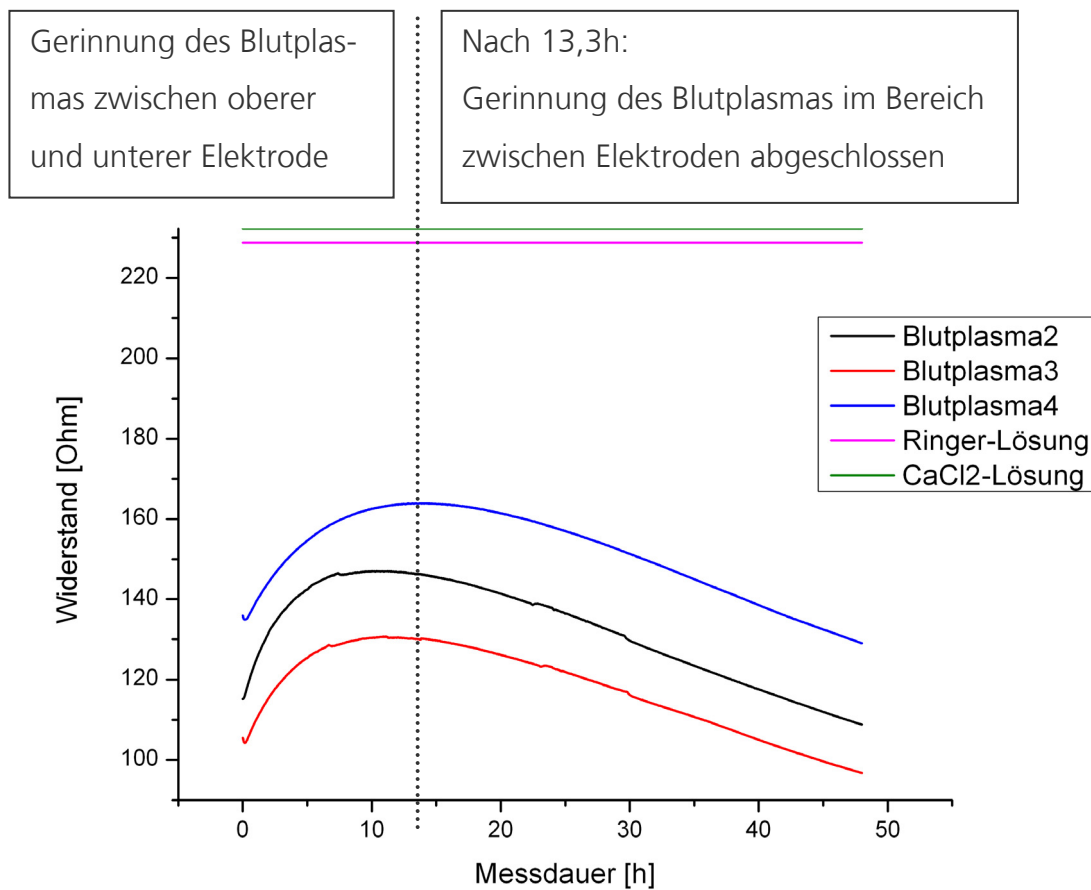


Abbildung 23: Zeitlicher Verlauf des Ohmschen Widerstandes R von drei gerinnenden Blutplasmaproben im Vergleich zum Widerstand von Ringer-Lösung und CaCl_2 -Lösung mit Erläuterungen

Die Widerstandskurven der gerinnenden Blutplasmaproben weisen jeweils den gleichen Verlauf und als Besonderheiten auf:

- die Zunahme um $28,3\Omega \pm 3,3\Omega$ von einem ersten Minimum zu einem Maximum in einem ersten Zeitabschnitt von $11,5h \pm 1,7h$;
- die Abnahme um $-35,7\Omega \pm 2,3\Omega$ vom Maximum zu einem zweiten Minimum in einem zweiten Zeitabschnitt von $36,5h \pm 1,7h$.

Der Leitfähigkeit κ ergibt sich aus dem Quotienten der Zellkonstante z und des Ohmschen Widerstands R ; die Diskussion der Widerstandskurven kann entsprechend auf die zugehörigen Leitfähigkeitskurven übertragen werden. Die Widerstandswerte für Ringer-Lösung ($228,8\Omega$) und Calciumchlorid-Lösung ($232,3\Omega$) als Salz- bzw. Elektrolyt-Lösungen liegen oberhalb sämtlicher für Blutplasma gemessener Werte.

Blutplasma als flüssiger Blutbestandteil besteht aus Wasser und darin gelösten Plasmaproteinen, Elektrolyten, wasserlöslichen Nährstoffen, Vitaminen und Gasen. Aus den im gleichen experimentellen Aufbau durchgeführten optischen Messungen an Blutplasma ist bekannt, dass in der für die Impedanzmessungen eingesetzten Elektrodenanordnung 20mm/10mm die untere Elektrode bei $d_b=10\text{mm}$ nach einer Messzeit von $13,3h \pm 2,5h$ erreicht wird, und somit der zwischen den Elektroden vorgegebene Bereich der Blutplasmaprobe geronnen ist.

Abbildung 23 veranschaulicht, dass mit der Gerinnung von Blutplasma dessen Widerstand zunimmt, und dass das Maximum der jeweiligen Widerstandskurve für geronnenes Blutplasma gemessen wird. Durch

die plasmatische Gerinnung wird die Konzentration der im Wasser gelösten Gerinnungsfaktoren geändert und ein netzartiges Fibringerinnsel ausgebildet. Die geänderte Konzentration und die eingeschränkte Beweglichkeit von Ladungsträgern erklären die Zunahme des Widerstands während der plasmatischen Gerinnung. Entsprechend nimmt der Widerstand mit Auflösung des Fibringerinnsels durch die sich anschließende Fibrinolyse wieder ab.

4.3 Kombinierte optische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blutplasma

An unterschiedlichen Blutplasmachargen ist eine Vielzahl von Kombinationsmessungen aus optischer und elektrischer Messung durchgeführt worden, vgl. Kapitel 3.7. Es wird jeweils 2,4ml Citratplasma unter Zugabe von 0,6ml Calciumchlorid-Lösung untersucht. Ausgehend von der Grenzfläche bei $d_i=20\text{mm}$ zwischen Citratplasma und Calciumchlorid-Lösung dringt diese in das Citratplasma ein und hebt die Gerinnungshemmung des Citratplasmas auf. Für die Position d_a der oberen Elektrode 12a wird 20mm, 15mm oder 10mm gewählt. Entsprechend des gewünschten Plattenabstandes d_k wird die Position d_b der unteren Elektrode 12b zwischen 15mm, 10mm, 5mm und 0mm variiert.

Optische Messung des Gerinnungsfortschritts

Die Gerinnung des Blutplasmas kann den optischen Daten als Trübung des entsprechenden Bereiches der Blutplasmaprobe entnommen werden und wird als Gerinnungsdicke s dieses Bereiches, in vertikaler Rich-

tung, ausgehend von der Grenzfläche bei $d_i=20\text{mm}$, ausgewertet und angegeben, vgl. Abbildung 24. Die Zunahme der Gerinnungsdicke s entspricht dem Gerinnungsfortschritt in vertikaler Richtung und zeigt die jeweilige Position einer horizontalen Kontaktfläche zur endogenen Aktivierung der Gerinnung angrenzender Blutplasmabereiche an. Der Mittelwert mit Fehlerbetrachtung der gemessenen Gerinnungsdicke ist für sämtliche Positionen d_a der oberen Elektrode und zusätzlich für $d_a=20\text{mm}$ und $d_a=15\text{mm}$ jeweils separat ausgewertet worden und der entsprechenden Abbildung 42 bis Abbildung 44 des Anhangs entnehmbar.

Die Abweichungen in den Messwerten sind zurückzuführen auf:

- die Zusammensetzung aus Wasser und darin gelösten Substanzen der jeweils untersuchten Blutplasmacharge,
- die Gerinnungsaktivität, abhängig vom Lagerungsalter, der jeweiligen Blutplasmacharge,
- die grenzflächennahe Durchmischung von Calciumchlorid-Lösung und Citratplasma beim Befüllen der Messzelle,
- die Kontaktaktivierung der Gerinnung der Blutplasmaprobe an Innen- und/oder Außenoberflächen der Messzelle 10 und darin eingesetzter Komponenten,
- die Anzahl und die jeweilige Position der zu durchtretenden Elektrodenfläche(n) 16a, 16b,
- die Bildung von Blasen aus im Blutplasma gelösten Gasen, und
- die Verdunstung der Blutplasmaprobe über die obere Öffnung der Messzelle 10.

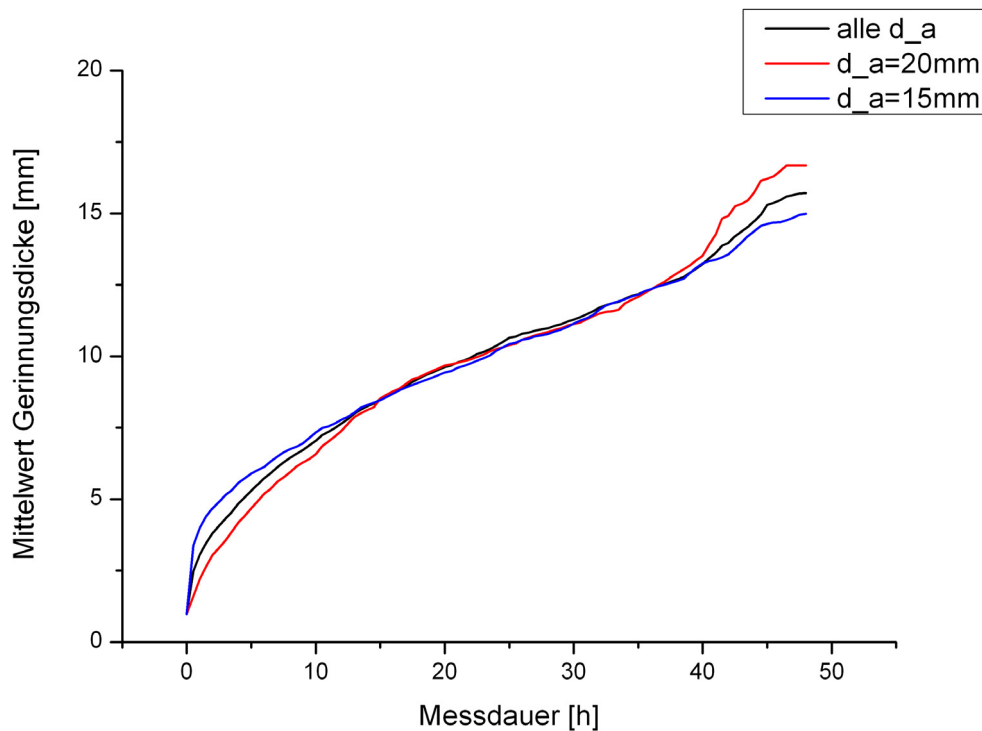


Abbildung 24: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts der Gerinnungsdicke s für gerinnendes Blutplasma bei unterschiedlichen Position d_a der oberen Elektrode

Bei der Zugabe von Calciumchlorid-Lösung in die mit Citratplasma befüllte Messzelle kann eine grenzflächennahe Durchmischung von Citratplasma und Calciumchlorid-Lösung nicht vollständig vermieden werden, weshalb zu Beginn der jeweiligen Messung eine Gerinnungsschicht der Dicke $1,0\text{mm} \pm 1,4\text{mm}$ bereits ausgebildet ist. Der Einsatz einer Membran zwischen dem Citratplasma und der Calciumchlorid-Lösung ist getestet und aufgrund einer zusätzlichen Verlangsamung des diffusionsabhängigen Eintritts von Calciumchlorid-Lösung als nicht geeignet verworfen worden.

Die Gerinnungsfront wandert in vertikaler Richtung von oben nach unten und erreicht eine Endlage, günstigstenfalls den Boden der Messzelle ($s_{\max}=20\text{mm}$). Entsprechend nimmt die Gerinnungsdicke vom Anfangswert $s(t=0\text{h}) = 1,0\text{mm} \pm 1,4\text{mm}$ kontinuierlich bis zum Endwert $s(t=48\text{h}) = 15,7\text{mm} \pm 3,7\text{mm}$ zu. Bei einer Messdauer oberhalb von 48h beginnt die Verdunstung der Blutplasmaprobe im relevanten Messbereich, genauer zwischen den Elektroden 12a, 12b, und beeinträchtigt neben der optischen Messung die elektrische Messung. Daher werden diese Zeiträume nicht berücksichtigt.

Der Gerinnungsfortschritt bzw. die Zunahme der Gerinnungsdicke s wird beim Durchtritt einer Elektrodenfläche, welche ebenfalls eine Kontaktfläche zur Gerinnungsaktivierung darstellt, verlangsamt. Je nach Elektrodenanordnung werden eine oder beide Elektroden von der eindiffundierenden Calciumchlorid-Lösung und/oder der Gerinnungsfront passiert. Aufgrund der oberen Elektrode an der Position $d_a = d_i = 20\text{mm}$ zeigt die entsprechende (rote) Mittelwertskurve im Vergleich zur für $d_a = 15\text{mm}$ bestimmten (blauen) Mittelwertskurve zu Beginn der Messdauer einen verlangsamt Anstieg. Bei $d_a = 15\text{mm}$ sind in der Regel beide Elektroden von der Gerinnungsfront zu passieren und der Gerinnungsfortschritt entsprechend verlangsamt. Folglich wird mit $15,0\text{mm} \pm 2,9\text{mm}$ für $d_a = 15\text{mm}$ ein geringerer Endwert erreicht im Vergleich zum Endwert $16,7\text{mm} \pm 4,9\text{mm}$ für $d_a = 20\text{mm}$.

Polynomiale Anpassungskurven an die Messdaten ergeben für $d_a=20\text{mm}$ und $d_a=15\text{mm}$ jeweils die Gerinnungsdicke $s[\text{mm}]$ als Funktion der Messdauer $t[\text{h}]$, vgl. Abbildung 43 und Abbildung 44:

$$s_{d_a=20\text{mm}}(t) = 1,4 + 0,8 * t - 0,02 * t^2 + 0,0003 * t^3 \quad (2)$$

$$s_{d_a=15\text{mm}}(t) = 3,1 + 0,5 * t - 0,01 * t^2 + 0,0002 * t^3 \quad (3)$$

Die Anpassungskurven bestätigen die im vorangehenden Abschnitt genannten Besonderheiten und Unterschiede des Gerinnungsfortschritt, nämlich einen größeren Anfangswert zu Messbeginn ($t=0$) und einen verlangsamten Anstieg für $d_a=15\text{mm}$.

Elektrische Messung des Gerinnungspotentials U_{Ger}

Parallel zur optischen Gerinnungsmessung wird als elektrischer Messwert die Spannung zwischen den planparallelen Elektroden 12a, 12b der Elektrodenanordnung d_a/d_b aufgezeichnet. Für $d_a=20\text{mm}$ und $d_a=15\text{mm}$ werden die in Abbildung 25 gezeigten Mittelwerte bestimmt; die zugehörigen Fehlerbetrachtungen sind Abbildung 45 und Abbildung 46 des Anhangs entnehmbar. Die für $d_a=10\text{mm}$ aufgezeichneten Spannungskurven weisen keinen vergleichbaren Verlauf auf, was auf die im Laufe der jeweiligen Messung zunehmende, die Spannungsmessung störende Kontaktaktivierung der Gerinnung an zusätzlichen Oberflächen innerhalb der Messzelle zurückzuführen ist.

Das Gerinnungspotential U_{Ger} baut sich bei der Gerinnung der Blutplasmaprobe auf und ist im Bereich zwischen der oberen und der unteren Elektrode messbar. Die zwischen den Elektroden gemessene

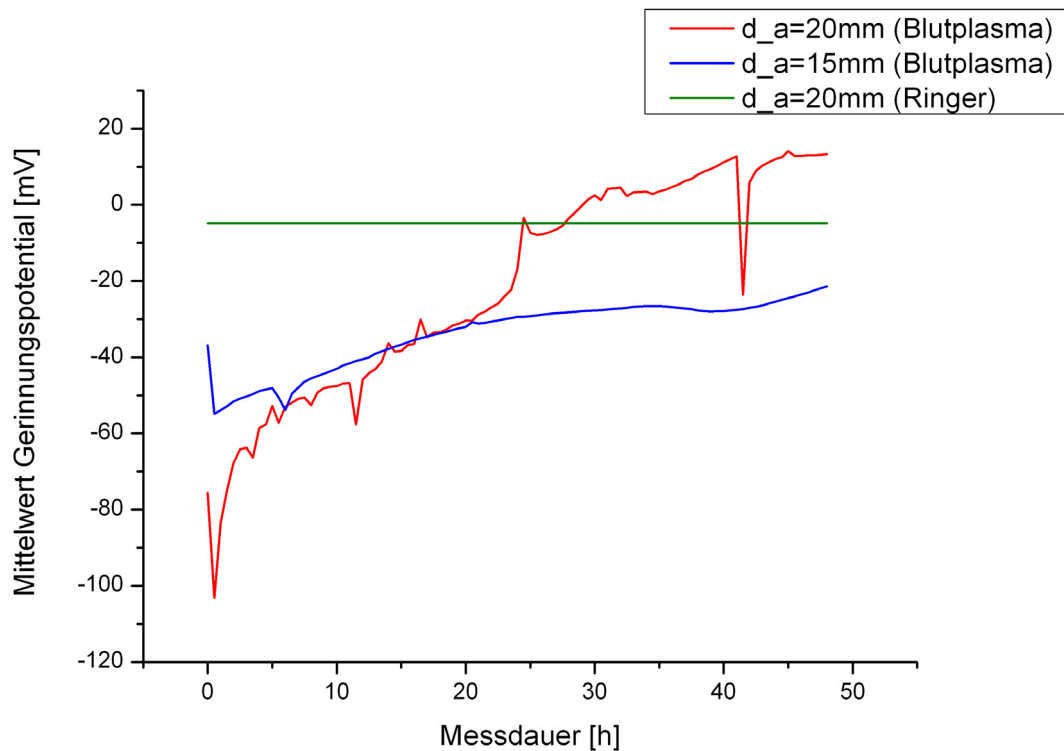


Abbildung 25: Zeitlicher Verlauf des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma bei unterschiedlichen Positionen $d_a=20\text{mm}$ und $d_a=15\text{mm}$ der oberen Elektrode im Vergleich zum Spannungspotential von Ringer-Lösung bei $d_a=20\text{mm}$

Spannung, hier Gerinnungspotential U_{Ger} genannt, steigt mit zunehmender Messdauer an. Die Gerinnungspotentialkurve zeigt für Elektrodenanordnungen mit der oberen Elektrode an der Position $d_a=d_i=20\text{mm}$ (rot) eine größere mittlere Spannungszunahme gegenüber Elektrodenanordnungen mit $d_a=15\text{mm}$ (blau).

Exponentielle Anpassungskurven an die Messdaten ergeben für $d_a=20\text{mm}$ und $d_a=15\text{mm}$ jeweils das Gerinnungspotential U_{Ger} [mV] als Funktion der Messdauer t [h], vgl. Abbildung 45 und Abbildung 46:

$$U_{d_a=20mm}(t) = 66,4 - 143,9 * 0,9760^t = 66,4 - 143,9 * e^{t * \ln 0,9760} \quad (4)$$

$$U_{d_a=15mm}(t) = -20,9 - 34,1 * 0,9508^t = -20,9 - 34,1 * e^{t * \ln 0,9508} \quad (5)$$

Die Anpassungskurven zeigen, dass sich das Gerinnungspotential U_{Ger} jeweils asymptotisch einem Grenzwert von 66,4mV bzw. -20,9mV annähert, und bestätigen die im vorangehenden Abschnitt genannte unterschiedliche Spannungszunahme während der Messung, genauer eine Spannungszunahme von 143,9mV für $d_a=20mm$ gegenüber einer Spannungszunahme von 34,1mV für $d_a=15mm$.

Bei Vergleichsmessungen an Ringer-Lösung, welches eine dem Blutplasma entsprechende Elektrolytzusammensetzung aufweist, wird ein Spannungspotential von $4,8mV \pm 6,2mV$ gemessen, was betragsmäßig deutlich unterhalb sämtlicher für Blutplasma gemessenen Spannungswerte liegen. Die Vergleichsmessungen zeigen, dass die Charakteristik der an Blutplasma gemessenen Spannungskurven und entsprechend das jeweils gemessene Gerinnungspotential U_{Ger} auf die plasmatische Gerinnung zurückzuführen sind.

Kombinierte optische und elektrische Messungen

Eine Zusammenschau der parallel, d.h. mit dem gleichen Zeitstempel, aufgenommenen Messkurven für den Gerinnungsfortschritt bzw. die Gerinnungsdicke s und das Gerinnungspotential U_{Ger} sowie der zugehörigen Anpassungskurven ist in Abbildung 26 und Abbildung 27 für die beiden diskutierten Positionen d_a der oberen Elektroden gezeigt.

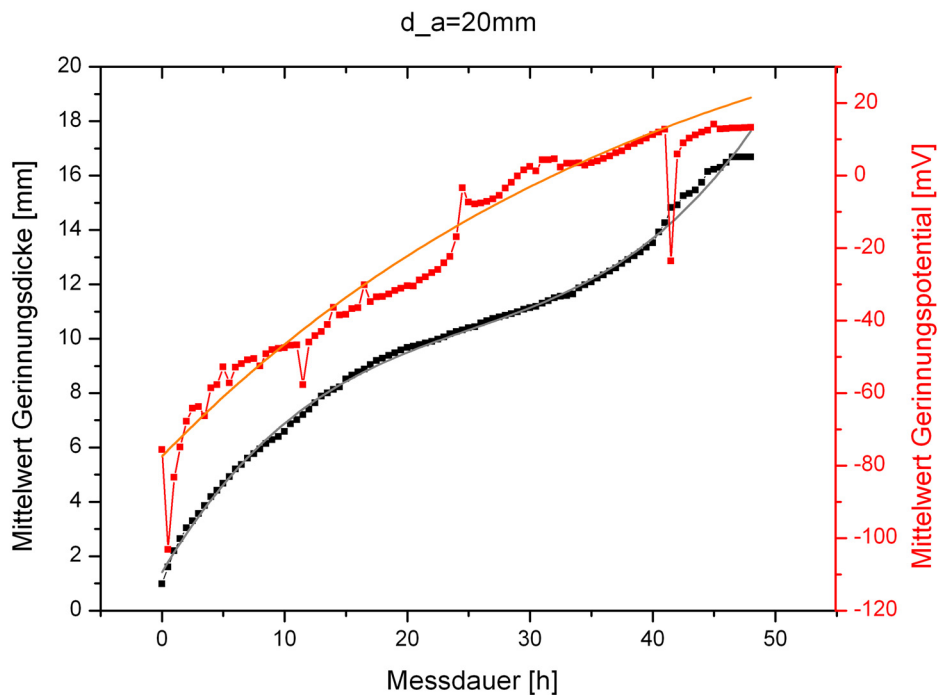


Abbildung 26: Zeitlicher Verlauf der Gerinnungsdicke s und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma für die Position $d_a=20\text{mm}$ der oberen Elektrode mit zugehöriger Anpassungskurve

Die jeweilige Zusammenschau zeigt, dass das Gerinnungspotential U_{Ger} jeweils einen der Gerinnungsdicke s vergleichbaren Verlauf, den Anstieg von einem Anfangswert zu einem Endwert, aufweist, und dass die Gerinnung der jeweiligen Blutplasmaprobe der entsprechenden Spannungskurve als charakteristischer Verlauf entnehmbar ist.

Bei einer Betrachtung der ersten Ordnung in der Messdauer bzw. Zeit t der Anpassungskurven 2 und 3 für die Gerinnungsdicke $s[\text{mm}]$ als Funktion der Messdauer $t[\text{h}]$:

$$s_{d_a=20\text{mm}}(t) \cong 1,4 + 0,8 * t \quad \Rightarrow \quad t(s_{d_a=20\text{mm}}) = \frac{s_{d_a=20\text{mm}} - 1,4}{0,8} \quad (6)$$

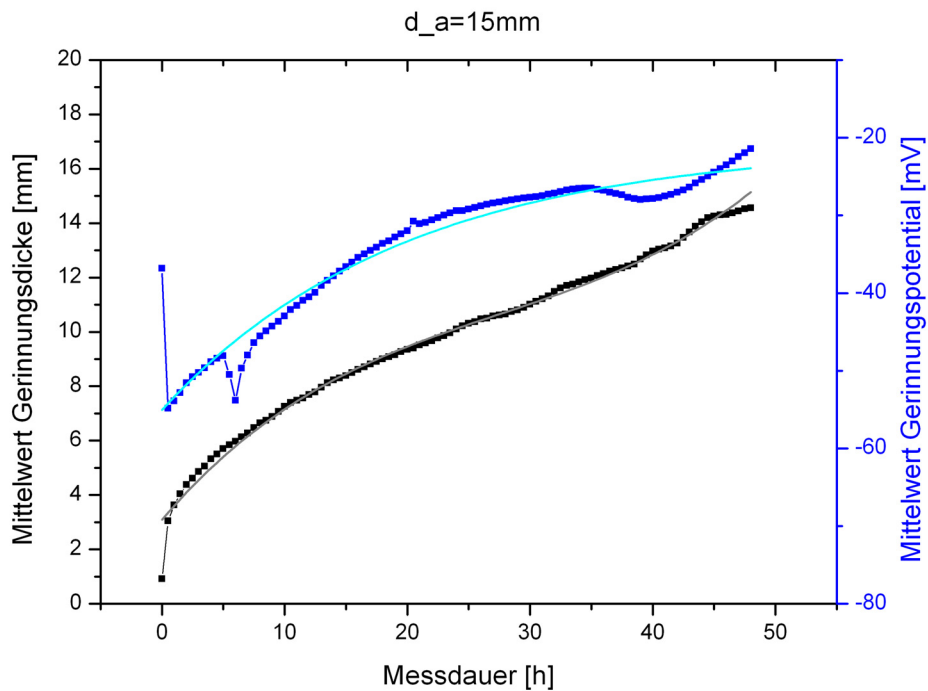


Abbildung 27: Zeitlicher Verlauf der Gerinnungsdicke s und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blutplasma für die Position $d_a=15\text{mm}$ der oberen Elektrode mit zugehöriger Anpassungskurve

$$s_{d_a=15\text{mm}}(t) \cong 3,1 + 0,5 * t \quad \Rightarrow \quad t(s_{d_a=15\text{mm}}) = \frac{s_{d_a=15\text{mm}} - 3,1}{0,5} \quad (7)$$

und entsprechend der ersten Ordnung in der Zeit t der Reihenentwicklung der Anpassungskurven 4 und 5 für das Gerinnungspotential $U_{Ger}[\text{mV}]$ als Funktion der Messdauer $t[\text{h}]$:

$$U_{d_a=20\text{mm}}(t) \cong 66,4 - 143,9 * \left(1 + \frac{t * \ln 0,9760}{1!}\right) = -77,5 + 3,5 * t \quad (8)$$

$$U_{d_a=15\text{mm}}(t) \cong -20,9 - 34,1 * \left(1 + \frac{t * \ln 0,9508}{1!}\right) = -55,1 + 1,7 * t \quad (9)$$

ergibt sich die Abhängigkeit des Gerinnungspotentials $U_{Ger}[\text{mV}]$ vom Gerinnungsfortschritt bzw. von der Gerinnungsdicke $s[\text{mm}]$:

$$U_{d_{a=20mm}}(s) = -77,5 + 3,5 * \frac{s-1,4}{0,8} = -84,1 + 4,7 * s \quad (10)$$

$$U_{d_{a=15mm}}(s) = -55,1 + 1,7 * \frac{s-3,1}{0,5} = -65,1 + 3,3 * s \quad (11)$$

In entsprechender Weise lässt sich die Abhängigkeit der Gerinnungsdicke s [mm] vom Gerinnungspotential U_{Ger} [mV] berechnen. Die auf experimentellen Messdaten basierenden Gleichungen bestätigen, dass die Gerinnung der jeweiligen Blutplasmaprobe im entsprechenden Spannungsverlauf als charakteristische Änderung der Spannungswerte, beim hier gewählten Spannungsabgriff als Anstieg, erkennbar ist.

Den Gleichungen 10 und 11 ist entnehmbar, dass das Gerinnungspotential U_{Ger} mit einer Geschwindigkeit v_U von 4,7mV bzw. 3,3mV pro mm ansteigt. Die als Messzellen eingesetzten Küvetten weisen einen Innenquerschnitt von 8mmx8mm auf, vgl. Kapitel 3.1, so dass ein Gerinnungsfortschritt von 1mm innerhalb der Küvette einem Volumen von $64\text{mm}^3=0,064\text{ml}$ der jeweiligen Blutprobe entspricht. Bezogen auf die Menge bzw. das Volumen geronnenem Blutplasmas ergibt sich für die Gerinnungspotentialzunahme:

$$v_{U,d_{a=20mm}} = 4,7 \frac{\text{mV}}{\text{mm}} \hat{=} 72,7 \frac{\text{mV}}{\text{ml}} \quad (12)$$

$$v_{U,d_{a=15mm}} = 3,3 \frac{\text{mV}}{\text{mm}} \hat{=} 51,1 \frac{\text{mV}}{\text{ml}} \quad (13)$$

Der vorstehend aufgezeigte Zusammenhang zwischen der gerinnenden Blutplasmamenge und der gemessenen Gerinnungsdicke s wird in Kapitel 4.5 zur Bestimmung des Gerinnungsstroms I_{Ger} und der thermoelektrischen Konstante k herangezogen.

4.4 Optische Gerinnungsmessungen an Blutplasma in einem äußeren elektrischen Feld

An weiteren Blutplasmaproben wird untersucht, inwiefern sich die Gerinnung von Blutplasma durch ein äußeres elektrisches Feld beeinflussen lässt. Hierzu werden optische Gerinnungsmessungen unter Beaufschlagung der jeweiligen Blutplasmaprobe mit einem externen elektrischen Feld durchgeführt, vgl. Kapitel 3.8. Es wird jeweils 2,4ml Citratplasma unter Zugabe von 0,6ml Calciumchlorid-Lösung untersucht. Für die Position d_a der oberen Elektrode 12a wird 20mm, für die Position d_b der unteren Elektrode 12b wird 10mm gewählt.

Die beiden Elektroden 12a, 12b werden an eine Gleichspannungsquelle angeschlossen, welche eine Gleichspannung von 150mV zwischen den beiden Elektroden 12a, 12b erzeugt. Die Größe der elektrischen Spannung zur Beaufschlagung der jeweiligen Blutplasmaprobe ist im Wertebereich des bei der Gerinnung von Blutplasma ohne ein äußeres elektrisches Feld gemessenen Gerinnungspotentials U_{Ger} , vgl. Kapitel 4.1 und 4.3, gewählt. Hierbei werden die gesamte Spannungszunahme von 143,9mV für das Gerinnungspotential $U_{d_a=20mm}$ und der Grenzwert von -156,2mV für das Gerinnungspotential $U_{Zylinder}$, berücksichtigt. In einer ersten Messreihe wird das äußere bzw. externe elektrische Feld derart angelegt, dass die obere Elektrode den Pluspol und die untere Elektrode den Minuspol darstellt (20mm+/10mm-). In einer zweiten Messreihe werden der Pluspol und der Minuspol miteinander vertauscht (20mm-/10mm+).

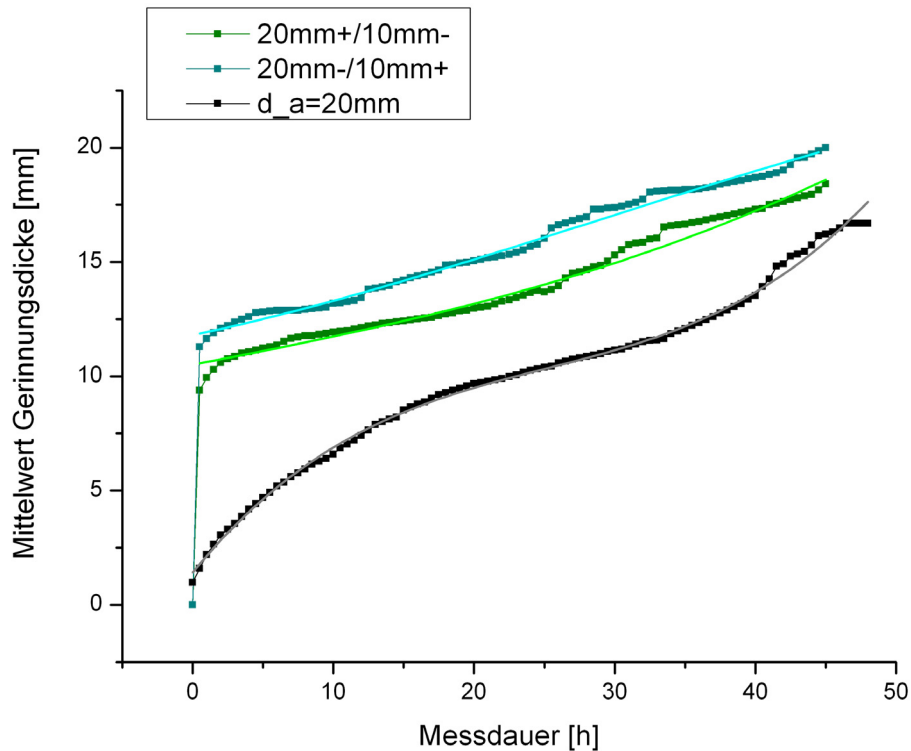


Abbildung 28: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts der Gerinnungsdicke s mit zugehörigen Anpassungskurven für gerinnendes Blutplasma mit (blau, grün) oder ohne (schwarz) ein über die Elektrodenanordnung $d_a=20\text{mm}/d_b=10\text{mm}$ angelegtes äußeres elektrisches Feld

In Abbildung 28 sind die Ergebnisse, genauer die Mittelwerte, der gemessenen Gerinnungsdicke s und der zugehörigen Anpassungskurven, bei der Gerinnung von Blutplasma mit einem äußeren elektrischen Feld im Vergleich zur Gerinnung ohne ein äußeres elektrisches Feld gezeigt. Die gemessene Gerinnungsdicke s ist für die Messreihen 20mm+/10mm- und 20mm-/10mm+ jeweils separat ausgewertet, vgl. Abbildung 47 und Abbildung 48 des Anhangs, und dem Messergebnis aus Abbildung 26 für die Position $d_a=20\text{mm}$ der oberen Elektrode gegenübergestellt.

Die Darstellung der Abbildung 28 zeigt, dass ein äußeres elektrisches Feld den Gerinnungsfortschritt derart beeinflusst, dass zu Beginn der jeweiligen Messung innerhalb kurzer Zeit ($t < 1,5\text{h}$) die untere Elektrode an der Position $d_b = 10\text{mm}$ erreicht wird, und dass anschließend die Gerinnungsdicke kontinuierlich ansteigt. Demgegenüber dauert die Gerinnung des Blutplasmas im Bereich zwischen den Elektroden 12a, 12b ohne ein äußeres elektrisches Feld 20h , also etwa die 13-fache Zeit. Sobald die untere Elektrode erreicht bzw. der entsprechende Bereich geronnen ist, zeigen die Messungen mit externer Spannungsbeaufschlagung gegenüber Messungen ohne externe Spannungsbeaufschlagung einen verlangsamten Gerinnungsfortschritt, also eine längere Verweildauer an der unteren Elektrode.

Polynomiale Anpassungskurven für $t \geq 0,5\text{h}$ an die Messdaten ergeben für die Messreihen $20\text{mm}+/10\text{mm}-$ und $20\text{mm}-/10\text{mm}+$ jeweils die Gerinnungsdicke $s[\text{mm}]$ als Funktion der Messdauer $t[\text{h}]$, vgl. Abbildung 47 und Abbildung 48:

$$s_{20\text{mm}+/10\text{mm}-}(t) = 10,5 + 0,1 * t + 0,0003 * t^2 \quad (14)$$

$$s_{20\text{mm}-/10\text{mm}+}(t) = 11,8 + 0,1 * t + 0,002 * t^2 \quad (15)$$

Ein Vergleich mit der Anpassungskurve 2 für die Gerinnungsdicke $s_{d_a=20\text{mm}}$ ohne ein äußeres elektrisches Feld zeigt, dass für $t \geq 0,5\text{h}$ bereits eine deutlich größere Gerinnungsdicke vorliegt und das Blutplasma im elektrisch beaufschlagten Bereich zwischen den Elektroden bereits geronnen ist. Weiter verdeutlicht der verlangsamte Anstieg der

Gerinnungsdicke $s_{20\text{mm}+/10\text{mm}-}$ für die Messreihe 20mm+/10mm- eine längere Verweildauer an der als Minuspol dienenden unteren Elektrode. Dies zeigt eine verstärkte Gerinnungsbildung an einer negativ geladenen Elektrode.

4.5 Bestimmung der thermodielektrischen Konstante

Im Folgenden wird die thermodielektrische Konstante k bestimmt und auf diese Weise die Gültigkeit des thermodielektrischen Gesetzes für Blutsysteme überprüft und bewertet. Für den bei wässrigen Lösungen und dielektrischen Materialien auftretenden thermodielektrischen Effekt, vgl. Kapitel 2.1, ist der Gerinnungsstrom I_{Ger} proportional zur Massenänderung bzw. zu der bei der Phasen- bzw. Zustandsänderung umgesetzten Masse und berechnet sich gemäß dem ersten thermodielektrischen Gesetz wie folgt [6, 8, 25]:

$$I_{\text{Ger}} = k * \frac{dm}{dt} = k * \rho * \frac{dV}{dt} = k * \rho * (8\text{mm})^2 * \frac{ds}{dt} = -k' * \frac{ds}{dt} \quad (16)$$

In Gleichung 16 werden die Geometrie der eingesetzten Messzelle, vgl. Kapitel 4.3, sowie die Dichte $\rho = 1,028\text{kg/l}$ der untersuchten Blutplasmaprobe berücksichtigt worden. Die zeitliche Änderung der Gerinnungsdicke s lässt sich aus der Gleichung 2 für die zugehörige Anpassungskurve an die Messdaten als zeitliche Ableitung berechnen. Das Ergebnis der Berechnung des Gerinnungsstroms I_{Ger} nach dem ersten thermodielektrischen Gesetz ist in Abbildung 29 eingezeichnet.

Aus dem Ohmschen Widerstand R des Blutplasmas, vgl. Kapitel 4.2, und dem Gerinnungspotential U_{Ger} ergibt sich der Gerinnungsstrom I_{Ger} gemäß dem Ohmschen Gesetz:

$$U_{Ger} = R * I_{Ger} \Rightarrow I_{Ger} = \frac{U_{Ger}}{R} \quad (17)$$

Zur Bestimmung des Gerinnungsstrom I_{Ger} werden in Gleichung 17 die Messwerte für den Ohmschen Widerstand R , vgl. Abbildung 23, und für das Gerinnungspotential U_{Ger} , vgl. Abbildung 26, eingesetzt. Der berechnete Gerinnungsstrom I_{Ger} ist, gemittelt für die einzelnen Widerstandsverläufe, in Abbildung 29 angegeben und nimmt Werte bis zu -1mA an.

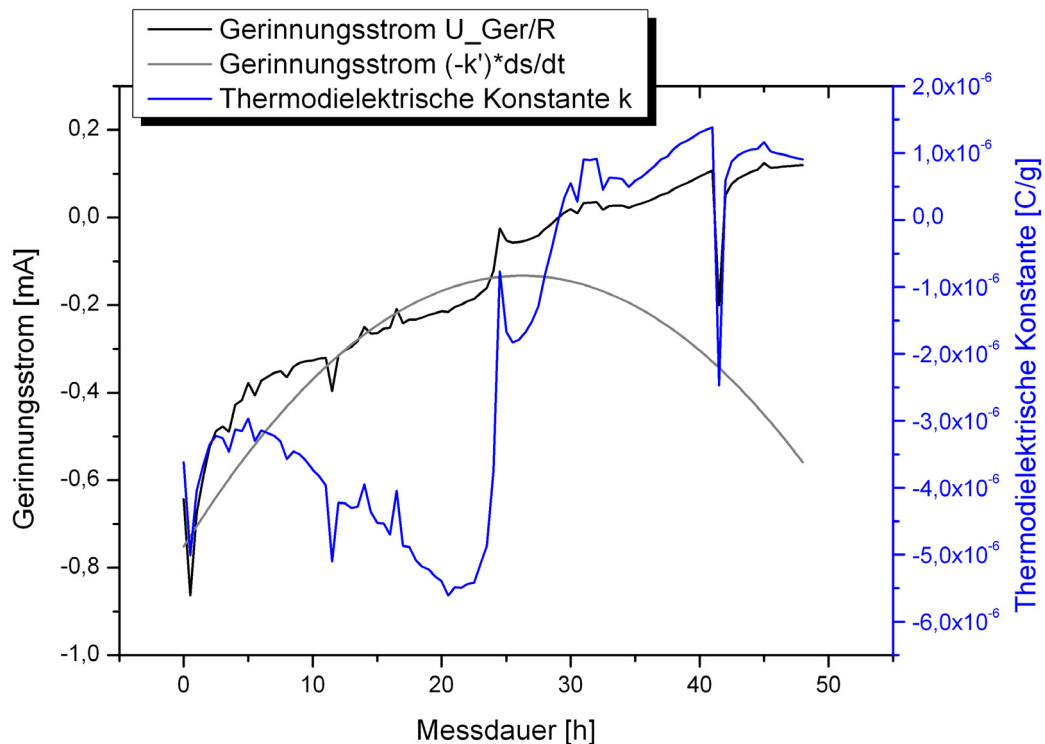


Abbildung 29: Zeitlicher Verlauf des Gerinnungsstroms I_{Ger} für gerinnendes Blutplasma, bestimmt nach dem Ohmschen Gesetz und nach dem ersten thermodielektrischen Gesetz, und der daraus berechneten thermodielektrischen Konstante k

Der nach dem Ohmschen Gesetz und der nach dem ersten thermodielektrischen Gesetz bestimmte Verlauf des Gerinnungsstroms I_{Ger} stimmen insoweit überein, dass beide Verläufe bzw. Kurven für eine Messdauer bis 24h ansteigen. Für eine längere Messdauer fällt die Gerinnungsstromkurve nach dem thermodielektrischen Gesetz ab, wohingegen die nach dem Ohmschen Gesetz bestimmte Gerinnungsstromkurve weiter ansteigt.

Der Proportionalitätsfaktor k' und sind die daraus berechnete thermodielektrische Konstante k sind nicht konstant. Dies zeigt, dass die von einigen Autoren als erstes thermodielektrisches Gesetz und als zweites thermodielektrisches Gesetz bezeichneten Gleichungen für elektrische Größen [6, 8, 25] für Blutsysteme nur eine sehr eingeschränkte Gültigkeit besitzen und nicht ohne Weiteres auf diese übertragen werden können. Die für Blutplasma berechnete thermodielektrische Konstante variiert in einem Wertebereich von $(-4-2) \cdot 10^{-6}$ C/g und liegt drei Größenordnungen über den Werten für bekannte Materialien, vgl. Tabelle 5.

Material	Konstante k [C/g]	Quelle
Blutplasma	$(-1-4) \cdot 10^{-6}$	Eigene Berechnungen
Naphtalin	$2,8 \cdot 10^{-9}$	[8]
Gas-Eis	$-4 \cdot 10^{-9}$	[15]
Carnauba-Wachs	$(-0,3-0,1) \cdot 10^{-9}$	[25]

Tabelle 5: Auflistung der thermodielektrischen Konstante k für Blutplasma und für bekannte Materialien nebst Quellenangabe

Kapitel 5: Messergebnisse und Diskussion für Blut

Die Ergebnisse der einzelnen Messreihen für Blut sind in Kapitel 5 aufgeführt und diskutiert, wobei Fehlerbetrachtungen und mathematische Anpassungsfunktionen berücksichtigt werden. Weiter wird ein theoretisches Erklärungsmodell für die gemessenen Effekte angegeben.

5.1 Dielektrische Messungen mit einem äußeren elektrischen Feld an Blut mit Elektroden in Plattenanordnung

Die Messzelle wird nach der in Kapitel 4.2 beschriebenen Vorgehensweise kalibriert. Für die einzelnen Versuchsmaterialien wird der Widerstand R bestimmt und aus dem reziproken Verhältnis zur Zellkonstante z die jeweilige Leitfähigkeit κ ermittelt, $\kappa = z/R$, vgl. Auflistung gemäß Tabelle 6. Zur Untersuchung einer Änderung der Impedanz Z während der Gerinnung von Blut wird das Wechselstromverhalten bei konstanter Frequenz für eine Messdauer von 48h aufgezeichnet.

Versuchsmaterial	Widerstand $R[\Omega]$	Leitfähigkeit $\kappa[\text{mS/cm}]$
Citratblut1	158,5	9,5
Citratblut3	129,5	11,7
Citratblut4	141,4	10,7
CaCl ₂ -Lösung	232,3	6,5
Ringer-Lösung	228,8	6,6

Tabelle 6: Auflistung des Widerstands und der elektrolytischen Leitfähigkeit des jeweils untersuchten Versuchsmaterials einschließlich Blut

Die Anwendung der frequenzstatistischen Analyse erfordert, dass sich über den zeitlichen Verlauf der Messung die Anregungsfrequenz zur Bestimmung des Elektrolytwiderstands bzw. des Ohmschen Widerstandes R nicht verändert. Die Schar von an einer Blutprobe nacheinander aufgezeichneten Impedanzspektren veranschaulicht, vgl. Abbildung 49 des Anhangs, dass die Anregungsfrequenz des Ohmschen Widerstandes R ($Z''=0$) bei Blut im Unterschied zu Blutplasma variiert. Dies ist auf den Einfluss von Gerinnungs- und Diffusionsprozessen zurückzuführen.

Aus der zeitlichen Verschiebung des Abzissenabschnittes der Schar von Impedanzspektren, die in kleiner Bandbreite mit Aufnahmefrequenzen zwischen 1,5MHz und 1kHz aufgezeichnet worden sind, kann die Verschiebung der Anregungsfrequenz und eine Frequenzkorrektur für den jeweiligen Widerstandswert ermittelt werden. Der in Abbildung 50 des Anhangs gezeigte parallele Auftrag des Realteil Z' sowie des Betrages bzw. der Magnitude $|Z|$ der Impedanz Z für eine Blutprobe zeigt, dass allenfalls bei langen Messzeiten oberhalb von 30 Stunden ($t>30h$) eine Differenz auftritt, dass diese Differenz der Widerstandsbeträge vernachlässigbar klein ist, und dass folglich lediglich der Realteil Z' betrachtet werden kann.

Der zeitliche Verlauf des Ohmschen Widerstands R für drei gerinnende Blutproben ist in Abbildung 30 gezeigt, wobei zum Vergleich die Widerstandswerte für Ringer-Lösung und Calciumchlorid ($CaCl_2$)-Lösung eingefügt sind. Die Widerstandswerte für Ringer-Lösung ($228,8\Omega$) und

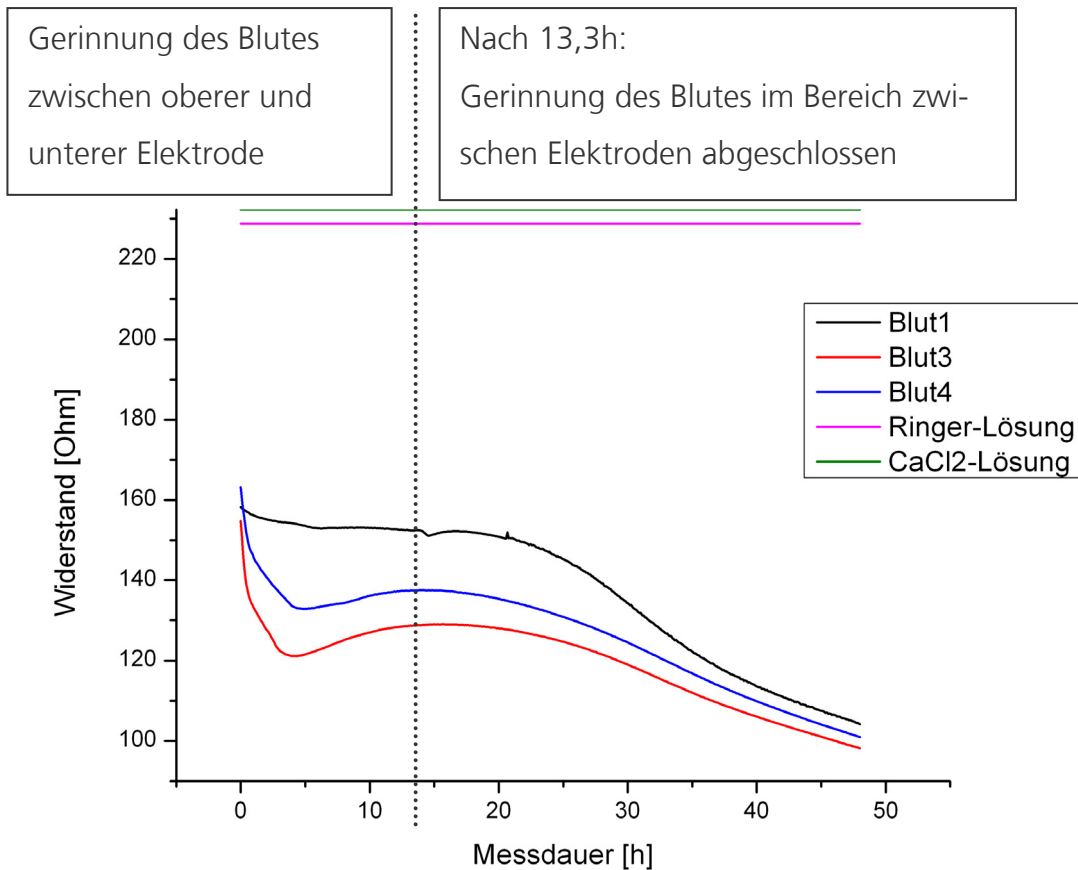


Abbildung 30: Zeitlicher Verlauf des Ohmschen Widerstandes R von drei gerinnenden Blutproben im Vergleich zum Widerstand von Ringer-Lösung und CaCl₂-Lösung mit Erläuterungen

Calciumchlorid-Lösung ($232,3\Omega$) liegen oberhalb sämtlicher für Blut gemessener Werte. Die Widerstandskurven weisen jeweils den gleichen Verlauf und als Besonderheiten auf:

- die Abnahme um $-23,3\Omega \pm 15,5\Omega$ von einem ersten Maximum zu einem ersten Minimum in einem ersten Zeitabschnitt von $4,9h \pm 0,7h$;

- die Zunahme um $4,3\Omega \pm 3,9\Omega$ vom ersten Minimum zu einem zweiten Maximum in einem zweiten Zeitabschnitt von $8,3h \pm 3,0h$; und
- die Abnahme um $-37,2\Omega \pm 6,8\Omega$ vom zweiten Maximum zu einem zweiten Minimum in einem dritten Zeitabschnitt von $34,8h \pm 2,3h$.

Die Widerstandskurven für Blut unterscheiden sich von denen für Blutplasma durch die Abnahme in einem ersten Zeitabschnitt. Dies ist auf die Aneinanderlagerung von Blutplättchen zur Bildung des primären Thrombus und die damit einhergehende geänderte Zusammensetzung der im Blutplasma suspendierten Bestandteile zurückzuführen. Blut ist eine Suspension von geformten Bestandteilen in Blutplasma. Bei der Gerinnung von Blut wird zunächst ein primärer Thrombus aus aneinander gelagerten Blutplättchen (Thrombozyten) gebildet und dieser anschließend durch ein festes Fibrinnetzwerk verstärkt. Die Bildung des sekundären Thrombus aus Fibrin erfolgt durch plasmatische Gerinnungsfaktoren.

Das Maximum der jeweiligen Widerstandskurve wird, wie in Abbildung 30 gezeigt, für geronnenes Blut gemessen. Dieses Maximum lässt sich durch die Bildung des Fibringerinnsels bzw. des sekundären Thrombus während der Blutgerinnung erklären. Die Auflösung des Fibringerinnsels bzw. des sekundären Thrombus durch die sich anschließende Fibrinolyse führt zur Abnahme des Widerstands.

5.2 Optische Gerinnungsmessungen an Blut

Bei IR-spektroskopischen Messungen werden durch Strahlung im Wellenzahlenbereich von $4\text{-}15.000\text{cm}^{-1}$ Molekülschwingungen und Molekülrotationen in der Messprobe angeregt, welche Licht mit einer die jeweilige Molekülanregung charakterisierenden Wellenzahl absorbieren. Jedes Molekül bzw. jede Molekülverbindung hat ein charakteristisches Infrarotspektrum und lässt sich somit identifizieren. Aus dem an einer Messprobe gemessenen Absorptionsspektrum kann die Lage der jeweiligen Wellenzahl der verringerten Transmission, auch Bande genannt, bestimmt und Rückschlüsse auf in der Messprobe enthaltene Moleküle bzw. Molekülverbindungen getroffen werden [114].

Über eine Messzeit von 60min ist mit einem Messintervall von 1min bei einer gerinnenden Blutprobe eine Schar von Absorptionsspektren nacheinander aufgezeichnet worden. In Abbildung 31 sind ein Absorptionsspektrum bei einer Messdauer von 0,2min, d.h. vor Gerinnung der Blutprobe, und ein Absorptionsspektrum bei einer Messdauer von 52,3min, d.h. nach Abschluss der Gerinnung der Blutprobe, gezeigt. Die Absorptionsspektren zeigen die eingezeichneten charakteristischen Banden, welche mit zunehmender Messzeit bzw. zunehmender Gerinnung der Blutprobe in ihrer jeweiligen Größe zunehmen können.

Bei einer erkennbaren Veränderung der jeweiligen Bande im Vergleich eines vor Beginn der Gerinnung aufgezeichneten Absorptionsspektrums mit einem nach Abschluss der Gerinnung aufgezeichneten

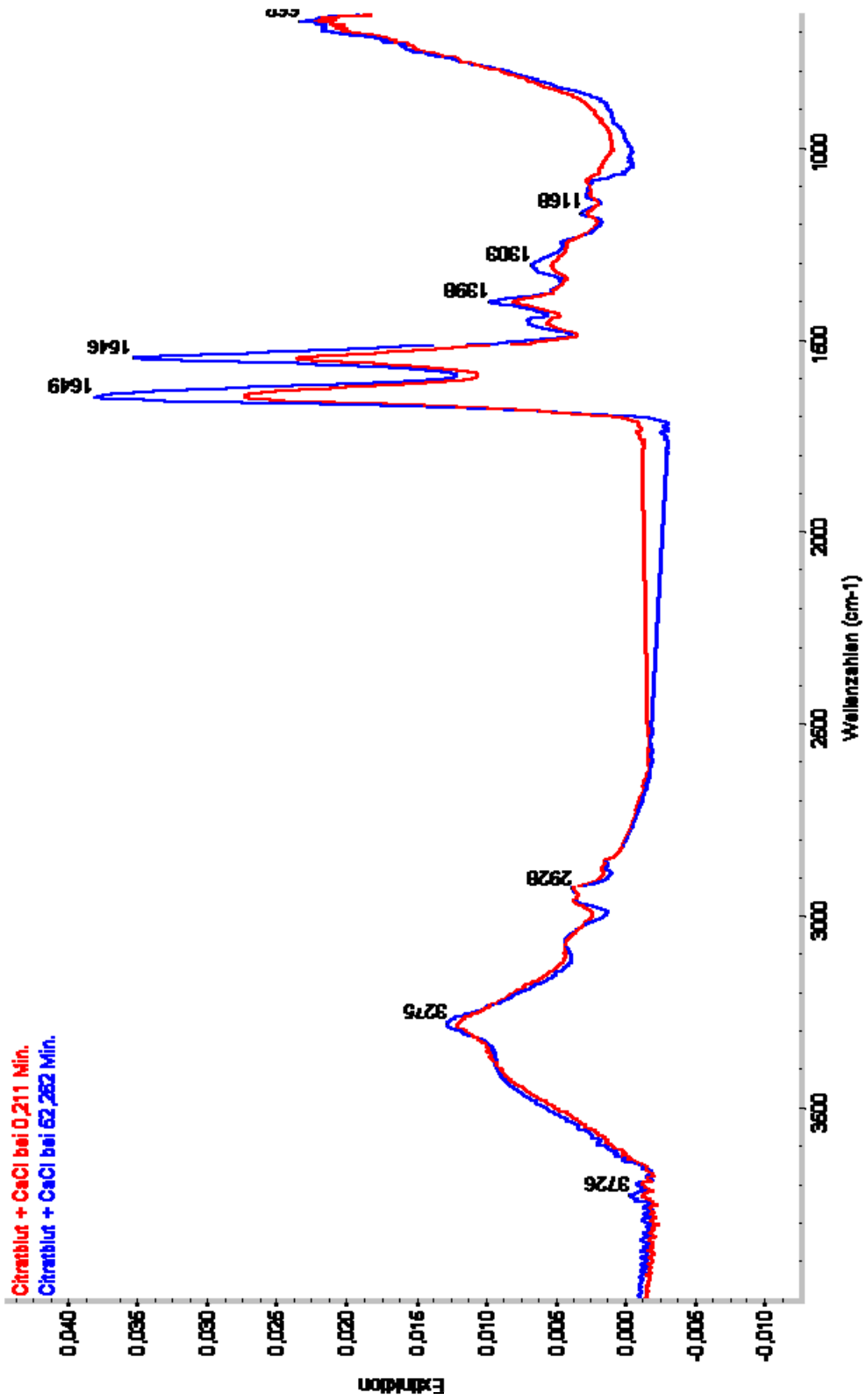


Abbildung 31: IR-Absorptionsspektren zu Beginn (rot) und nach Abschluss (blau) der Gerinnung von Blut mit Bandenlage

Absorptionsspektrum bietet sich der jeweilige Wellenlängenbereich des Lichts für eine optische Messung der Blutgerinnung an. So zeigt Abbildung 31, dass Licht im Bereich der sich im Verlauf der Gerinnung eindeutig ändernden Banden mit Wellenzahlen von 1649cm^{-1} und 1546cm^{-1} geeignet ist. Die entsprechende Wellenlänge des Lichts ergibt als reziproker Wert der Wellenzahl einen Bereich von $(6,1-6,5) \cdot 10^{-4}\text{cm}$, was im Spektralbereich der nahen Infrarotstrahlung, benachbart zur Ultraviolettstrahlung, liegt.

Über die Lage der Banden lässt sich die Verbindungsklasse der gemessenen Substanz, hier Blut, einordnen. Das IR-Absorptionsspektrum von Blut zeigt mit Banden bei 3275cm^{-1} , 1649cm^{-1} und 1546cm^{-1} Amidverbindungen, deren Bande in den Bereichen $3550-3100\text{cm}^{-1}$, $1690-1600\text{cm}^{-1}$, $1570-1510\text{cm}^{-1}$ liegen. Über einen Bibliotheksuchlauf wird das Absorptionsspektrum von Blut mit denen bekannter Moleküle bzw. Molekülverbindungen verglichen und als nächstliegende Molekülverbindungen Polyamid-6 und Polyamid-6,6 ermittelt. In Abbildung 32 sind beide Absorptionsspektren in einem gemeinsamen Diagramm gezeigt, eine separate Darstellung der beiden Absorptionsspektren ist in Abbildung 51 des Anhangs angegeben.

Polyamid-6 und Polyamid-6,6 sind Polymere, deren Wiederholungseinheiten als charakteristisches Merkmal die Amidgruppe $-\text{CO}-\text{NH}-$ besitzen. Deshalb werden derartige Polymere als Polyamide bezeichnet. Polyamid-6 und Polyamid-6,6 unterscheiden sich lediglich durch die gespiegelte Anordnung einer $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{CO}-$ Gruppe und sind sich che-

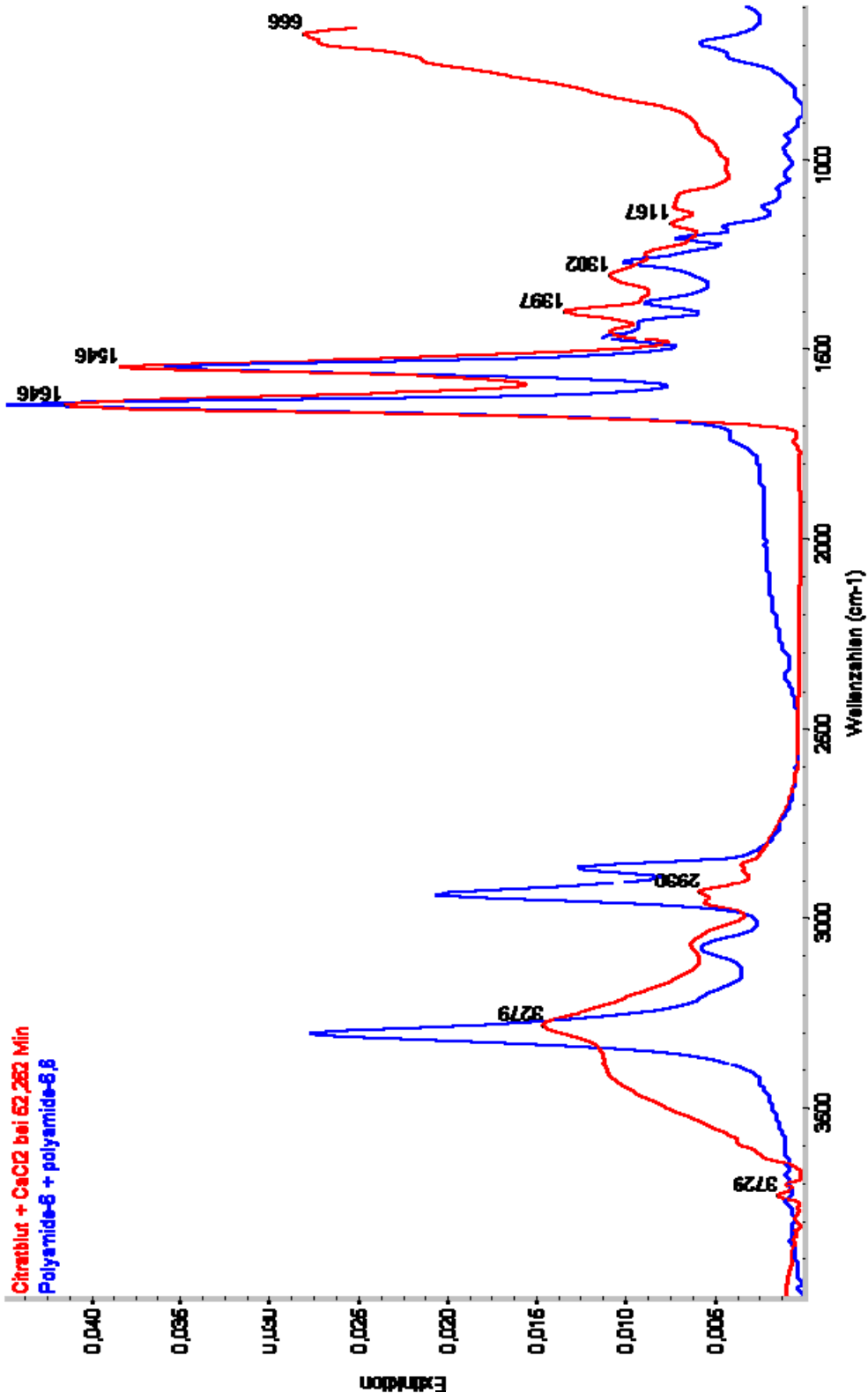


Abbildung 32: IR-Absorptionsspektren von geronnenem Blut (rot) mit Bandenlage und von Polyamid-6 + Polyamid-6,6 (blau) ohne Bandenlage

misch sehr ähnlich. Grundlegende Unterschiede bestehen beim Herstellprozess, Ringöffnungspolymerisation bei Polyamid-6 und Polykondensation unter Wasserabspaltung bei Polyamid-6,6, und beim Schmelzpunkt. Deshalb sind Polyamide als Stoffklasse von den chemisch verwandten Proteinen abgegrenzt.

Im Vergleich der Absorptionsspektren in Abbildung 32 und Abbildung 51 zeigt sich die Ähnlichkeit von Proteine enthaltendem Blut zur Polymergruppe der Polyamide. Proteine sind durch $-\text{CO}-\text{NH}-$ Gruppen verbundene Polypeptide mit mehr als 100 Aminosäuren [87]. Die Bildung von Peptidverbindungen ist Teil der Polymerisation von Fibrinogen zu Fibrin als Abschluss der Blutgerinnung, vgl. Kapitel 2.3. Die optischen Messungen an Blut zeigen die Vergleichbarkeit eines gerinnenden Blutsystems mit einem aushärtenden Kunststoffsystem.

5.3 Kombinierte rheologische Gerinnungsmessungen und elektrische Messungen ohne ein äußeres elektrisches Feld an Blut

An unterschiedlichen Blutchargen ist eine Vielzahl von Kombinationsmessungen aus rheologischer Messung und elektrischer Messung durchgeführt worden, vgl. Kapitel 3.7. Der Plattenabstand d wird zwischen 0,4mm, 0,6mm, 0,8mm und 1,0mm variiert, entsprechend die untersuchte Blutmenge zwischen 1,0ml, 1,5ml, 2,0ml und 2,5ml.

Rheologische Messung des Gerinnungsfortschritts

Der Mittelwert mit Fehlerbetrachtung der beim jeweiligen Plattenab-

stand d gemessenen Speichermodulwerte ist dem entsprechenden Diagramm des Anhangs zu entnehmen. Die Abweichungen in den Messwerten sind zurückzuführen auf:

- die Zusammensetzung aus flüssigen und festen (geformten) Bestandteilen der jeweils untersuchten Blutcharge,
- die Gerinnungsaktivität, abhängig vom Alter, der jeweiligen Blutprobe,
- die Gerinnungsaktivierung der Blutprobe an der mit Gerinnungstrigger versehenen, unteren Platte,
- Inhomogenitäten in der Deformation der Blutprobe über den jeweiligen Platten- bzw. Spaltabstand,
- die Beeinflussung durch den radialen Überstand der Messprobe gegenüber den Platten, und
- die Verdunstung der Blutprobe über Randbereiche des Messspalts.

Die beiden letztgenannten Punkte beeinflussen in großem Maße die beim kleinsten Plattenabstand $d=0,4\text{mm}$ bzw. bei der geringsten Blutmenge von $1,0\text{ml}$ aufgenommenen Speichermodulkurven und führen zu hohen Speichermodulwerten mit einer großen Schwankungsbreite, insbesondere für Messzeiten oberhalb von 25min , vgl. Abbildung 52 des Anhangs.

Die für die unterschiedlichen Plattenabstände d bzw. Blutmengen bestimmten Mittelwerte des Speichermoduls G' sind in Abbildung 33 gezeigt.

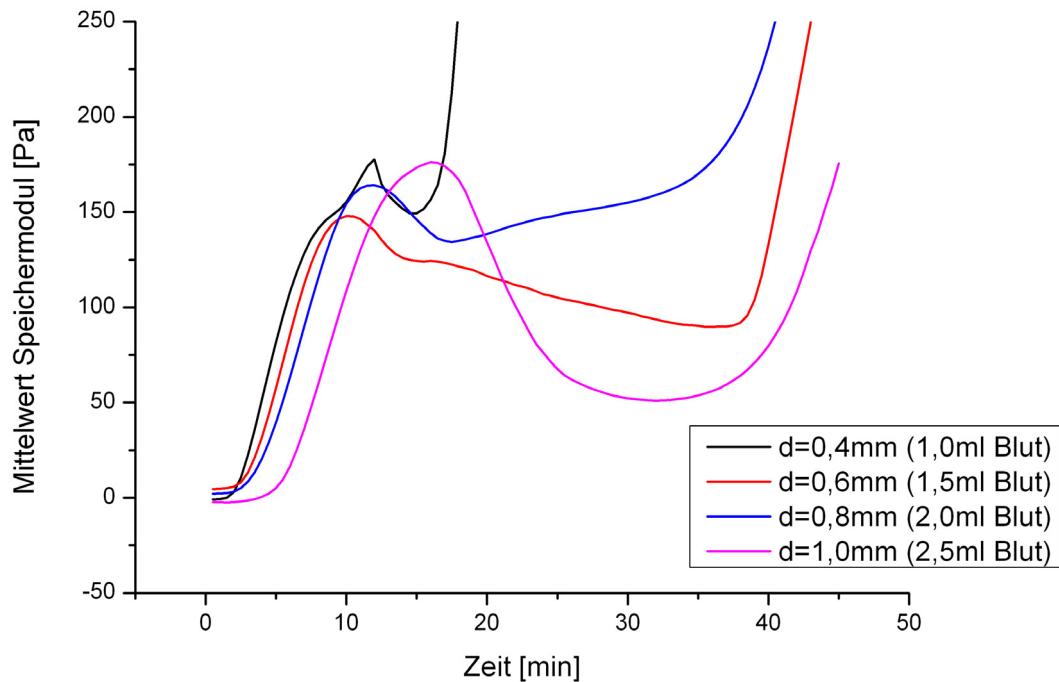


Abbildung 33: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Speichermoduls G' für gerinnendes Blut bei unterschiedlichen Plattenabständen d bzw. Blutmengen

Die Speichermodulkurven weisen jeweils einen ähnlichen Verlauf und als Besonderheiten auf:

- die Zunahme um $165,5\text{Pa} \pm 16,7\text{Pa}$ von einem ersten Minimum zu einem ersten Maximum in einem ersten Zeitabschnitt von $12,0\text{min} \pm 2,5\text{min}$,
- die Abnahme um $-60,4\text{Pa} \pm 45,3\text{Pa}$ vom ersten Maximum zu einem zweiten Minimum mit abnehmender Steigung in einem zweiten Zeitabschnitt von $12,0\text{min} \pm 9,5\text{min}$, und
- die Zunahme vom zweiten Minimum zu einem zweiten Maximum mit stark zunehmender Steigung in einem dritten Zeitabschnitt.

Im ersten Zeitabschnitt gerinnt die jeweilige Blutprobe und entsprechend der Fibringerinnung nimmt der Speichermodul G' zu. Der erste Zeitabschnitt entspricht der Gerinnungszeit der jeweiligen Blutprobe und nimmt für die größte Blutmenge von 2,5ml bei $d=1,0\text{mm}$ den größten Wert an. Im zweiten Zeitabschnitt dominieren Fibrinolyseprozesse und entsprechend des Abbaus des Fibringerinnungsnetzes nimmt der Speichermodul G' ab.

Das zweite Minimum wird erreicht, sobald die fibrinolysebedingte Abnahme des Speichermoduls G' von einer mit der Verdunstung der Blutprobe einhergehende Zunahme des Speichermoduls G' überlagert wird. Die dem Plattenabstand $d=0,6\text{mm}$ zugeordnete Speichermodulkurve weist zwischen dem ersten Maximum und dem zweiten Maximum zwei lokale Minima auf, wobei nach dem beim Messpunkt [33,5; 89,9] liegende Minimum der Speichermodul G' mit starker Steigung ansteigt und dieses Minimum insoweit das Ende des zweiten Zeitabschnitts festlegt.

Im dritten Zeitabschnitt verdunstet die jeweilige Blutprobe und entsprechend des Flüssigkeitsverlustes nimmt der Speichermodul G' zu. Bei der geringsten untersuchten Blutmenge von 1,0ml ($d=0,4\text{mm}$) wirkt sich die Verdunstung bereits 3min nach dem Abschluss der Gerinnung am ersten Maximum aus, wohingegen bei der 2,5-fachen, größten untersuchten Blutmenge von 2,5ml ($d=1,0\text{mm}$) sich die Verdunstung erst 16min nach dem Abschluss der Gerinnung auf die Speichermodulkurve auswirkt und dieser entnehmbar ist.

Als Zwischenergebnis ist festzuhalten, dass in einem ersten Zeitabschnitt von $12,0\text{min} \pm 2,5\text{min}$ der Speichermodulwert um $165,6\text{Pa} \pm 16,7\text{Pa}$ bis zu einem ersten Maximum ansteigt, und dass die Gerinnung der Blutprobe der Speichermodulkurve als charakteristische Stelle, nämlich als (erstes) Maximum, entnehmbar ist.

Elektrische Messung des Gerinnungspotentials U_{Ger}

Parallel zu den rheologischen Kenngrößen wird als elektrischer Messwert die Spannung bzw. das Gerinnungspotential U_{Ger} zwischen den Platten des Rheometers aufgezeichnet. Für die unterschiedlichen Plattenabstände d werden die in Abbildung 34 gezeigten Mittelwerte für das Gerinnungspotential U_{Ger} bestimmt. Die jeweilige Fehlerbetrachtung ist dem entsprechenden Diagramm des Anhangs zu entnehmen. Bei Vergleichsmessungen an Ringer-Lösung, welche eine dem Blut entsprechende Elektrolytzusammensetzung aufweist, werden im Laufe der jeweiligen Messung ein konstanter Spannungswert von $23,5\text{mV} \pm 4,8\text{mV}$ gemessen. Dies zeigt, dass die Charakteristik der an Blut gemessenen Spannungskurven auf die Blutgerinnung zurückzuführen ist.

Das an gerinnendem Blut gemessene Gerinnungspotential U_{Ger} weist jeweils den gleichen Verlauf und als Besonderheiten auf:

- die Zunahme von einem ersten Minimum zu einem Plateauwert $U_p \pm 0,5\text{mV}$ in einem ersten Zeitabschnitt von $9,9\text{min} \pm 1,6\text{min}$,
- die Beibehaltung des Plateauwertes $U_p \pm 0,5\text{mV}$ in einem zweiten Zeitabschnitt, und

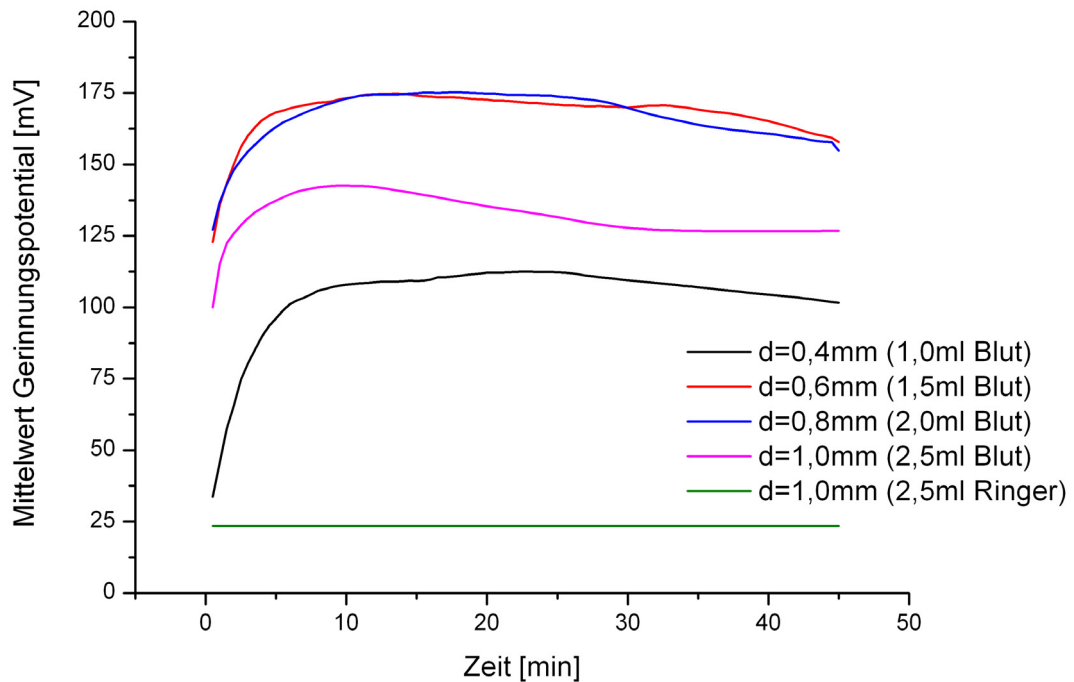


Abbildung 34: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut bei unterschiedlichen Plattenabständen d und für Ringer-Lösung bei $d=1,0\text{mm}$

- die Abweichung vom Plateauwert $U_p \pm 0,5\text{mV}$ und eine vergleichsweise langsame Abnahme zu einem zweiten Minimum in einem dritten Zeitabschnitt.

Exponentielle Anpassungskurven an die Messdaten, eingeschränkt auf den Bereich von 30min ab Messbeginn, ergeben für die unterschiedlichen Plattenabstände d jeweils das Gerinnungspotential $U_{Ger}[\text{mV}]$ als Funktion der Messdauer $t[\text{min}]$, vgl. Anhang:

$$U_{d=0,4\text{mm}}(t) = 111,0 - 93,0 * 0,6947^t = 111,0 - 93,0 * e^{t * \ln 0,6947} \quad (18)$$

$$U_{d=0,6mm}(t) = 172,3 - 64,9 * 0,5751^t = 172,3 - 64,9 * e^{t * \ln 0,5751} \quad (19)$$

$$U_{d=0,8mm}(t) = 173,9 - 53,7 * 0,7107^t = 173,9 - 53,7 * e^{t * \ln 0,7107} \quad (20)$$

$$U_{d=1,0mm}(t) = 135,6 - 58,1 * 0,3746^t = 135,6 - 58,1 * e^{t * \ln 0,3746} \quad (21)$$

Die Anpassungskurven zeigen, dass sich das Gerinnungspotential U_{Ger} im gewählten Messzeitraum jeweils asymptotisch einem Grenzwert im Bereich von 111,0mV bis 173,9mV annähert, und bestätigen die im vorangehenden Abschnitt genannte Spannungszunahme im ersten Zeitabschnitt. Die für $d=1,0mm$ aufgezeichneten Messdaten folgen der asymptotischen Anpassungskurve nur abschnittsweise und zeigen anstelle eines Plateauwertes ein Maximum bei [10min; 142,5969mV].

Kombinierte rheologische und elektrische Messungen

Eine Zusammenschau der parallel, d.h. mit dem gleichen Zeitstempel, gemessenen Speichermodul- und Spannungskurven gibt Antwort auf die Frage, ob die Gerinnung der jeweiligen Blutprobe der Spannungskurve als charakteristische Stelle entnehmbar ist. In den Abbildungen 35 bis 38 ist die Zusammenschau für vier unterschiedliche Plattenabstände d bzw. Blutmengen gezeigt. Die jeweilige Zusammenschau zeigt, dass der Anstieg des Gerinnungspotentials U_{Ger} jeweils in dem Zeitabschnitt erfolgt, in dem der Anstieg des die Gerinnung charakterisierenden Speichermoduls G' erfolgt, und dass das erste Maximum des Speichermoduls G' mit dem Erreichen des Plateauwertes $U_p \pm 0,5mV$ des Gerinnungspotentials U_{Ger} zeitlich zusammenfällt.

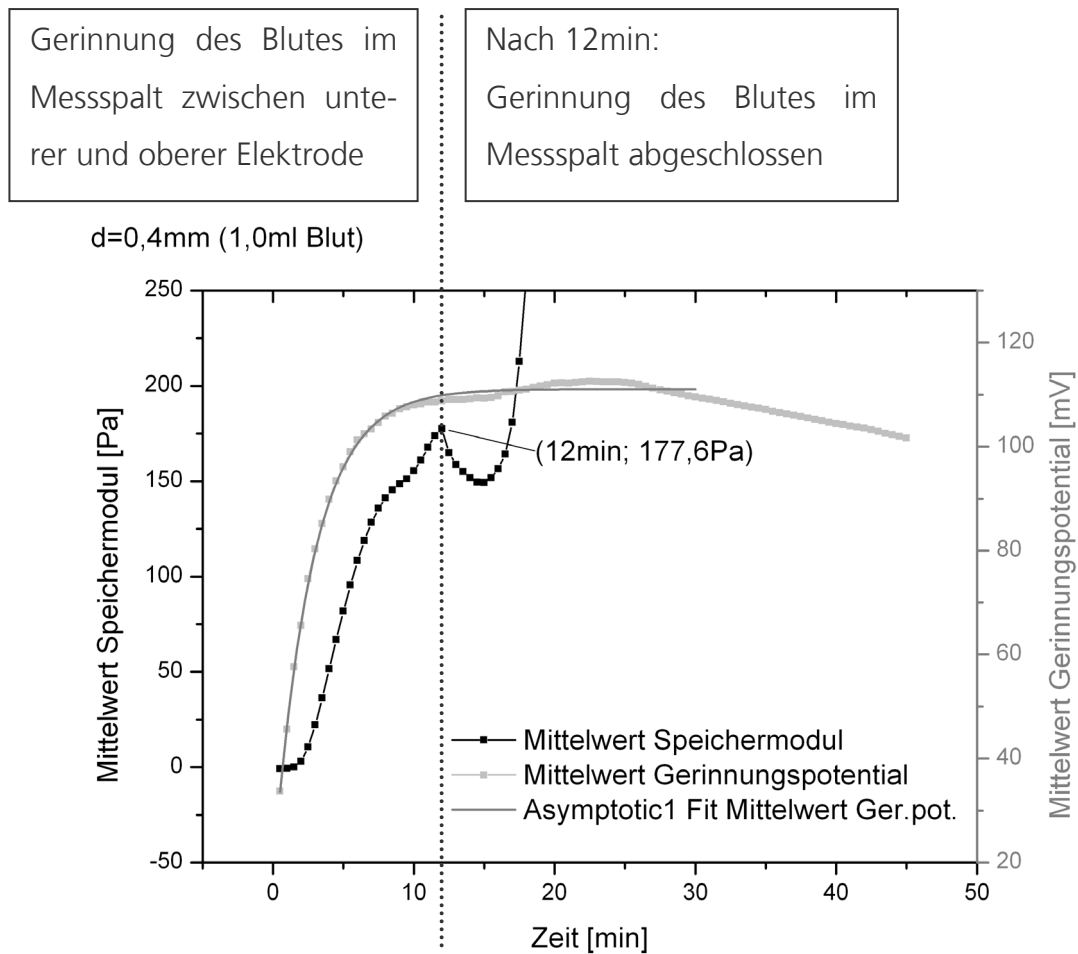


Abbildung 35: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=0,4\text{mm}$ mit Erläuterungen

Genauer betrachtet ergibt sich eine Übereinstimmung des Zeitabschnitts zur Erreichung des ersten Maximums der Speichermodulkurve bei $12,0\text{min} \pm 2,5\text{min}$ und des Zeitabschnittes zur Erreichung des Plateaus des Gerinnungspotentials bei $11,9\text{min} \pm 1,6\text{min}$.

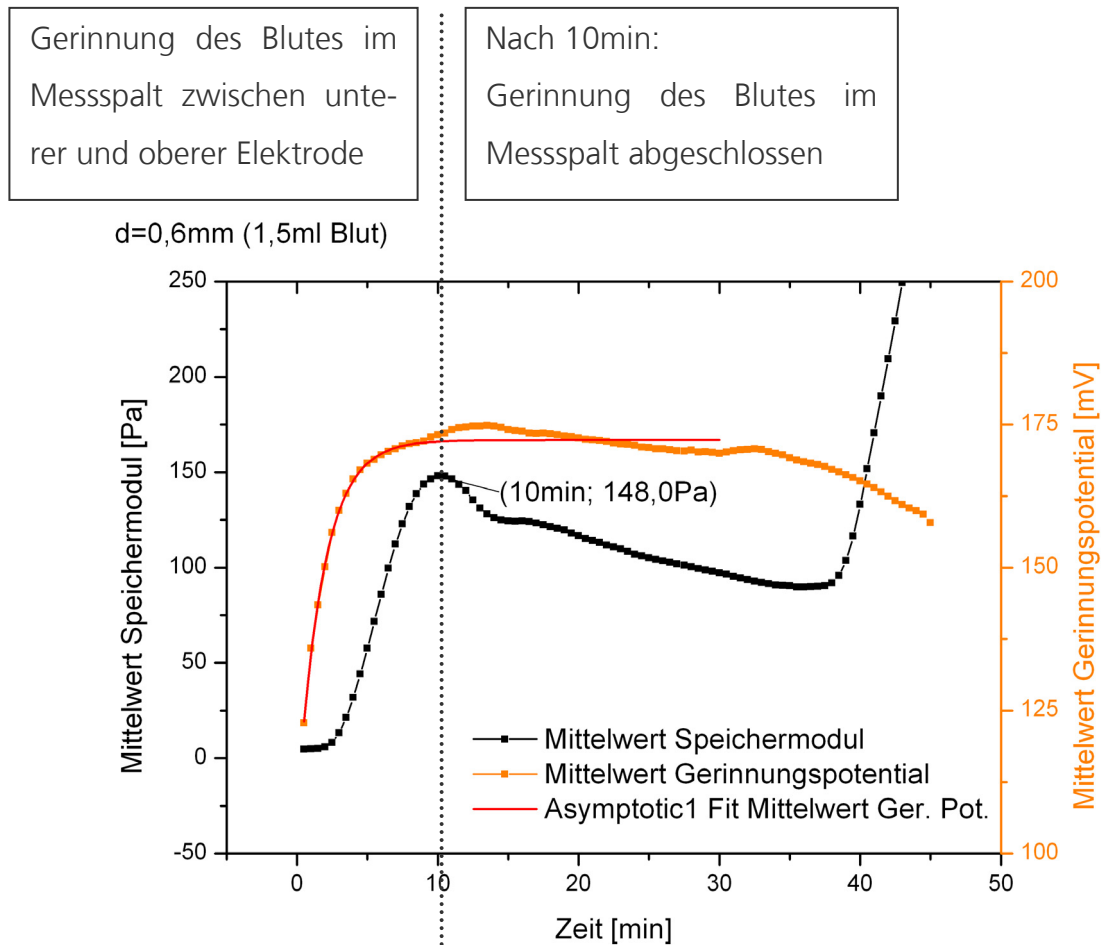


Abbildung 36: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=0,6\text{mm}$ mit Erläuterungen

Den asymptotischen Anpassungskurven 18 bis 20 ist für $d=0,4\text{mm}$, $d=0,6\text{mm}$ und $d=0,8\text{mm}$ jeweils die Änderung des Gerinnungspotentials U_{Ger} während der Gerinnung der Blutprobe, genauer in Abhängigkeit der gerinnenden Blutmenge, entnehmbar:

$$v_{U,d=0,4\text{mm}} = \frac{93,0\text{mV}}{1,0\text{ml}} = 93,0 \frac{\text{mV}}{\text{ml}} \quad (22)$$

$$v_{U,d=0,6\text{mm}} = \frac{64,9\text{mV}}{1,5\text{ml}} = 43,3 \frac{\text{mV}}{\text{ml}} \quad (23)$$

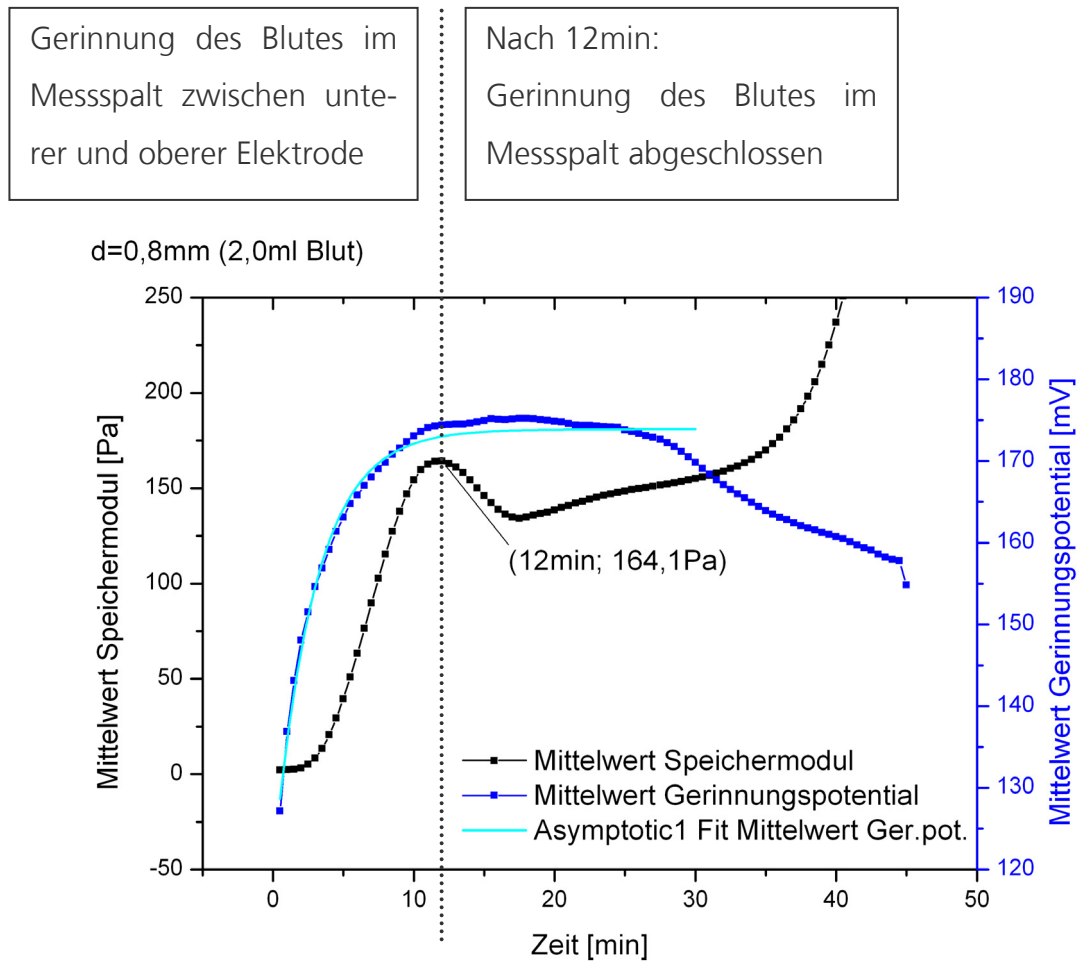


Abbildung 37: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=0,8\text{mm}$ mit Erläuterungen

$$v_{U,d=0,6\text{mm}} = \frac{53,7\text{mV}}{2,0\text{ml}} = 26,9 \frac{\text{mV}}{\text{ml}} \quad (24)$$

Die für den Plattenabstand $d=1,0\text{mm}$ bzw. die Blutmenge von $2,5\text{ml}$ gemessenen Werte zeigen, vgl. Abbildung 38, dass im Vergleich zur Spannungskurve die Speichermodulkurve den Abschluss der Gerinnung mit einer Abweichung, genauer einer Verzögerung, von $4,0\text{min}$

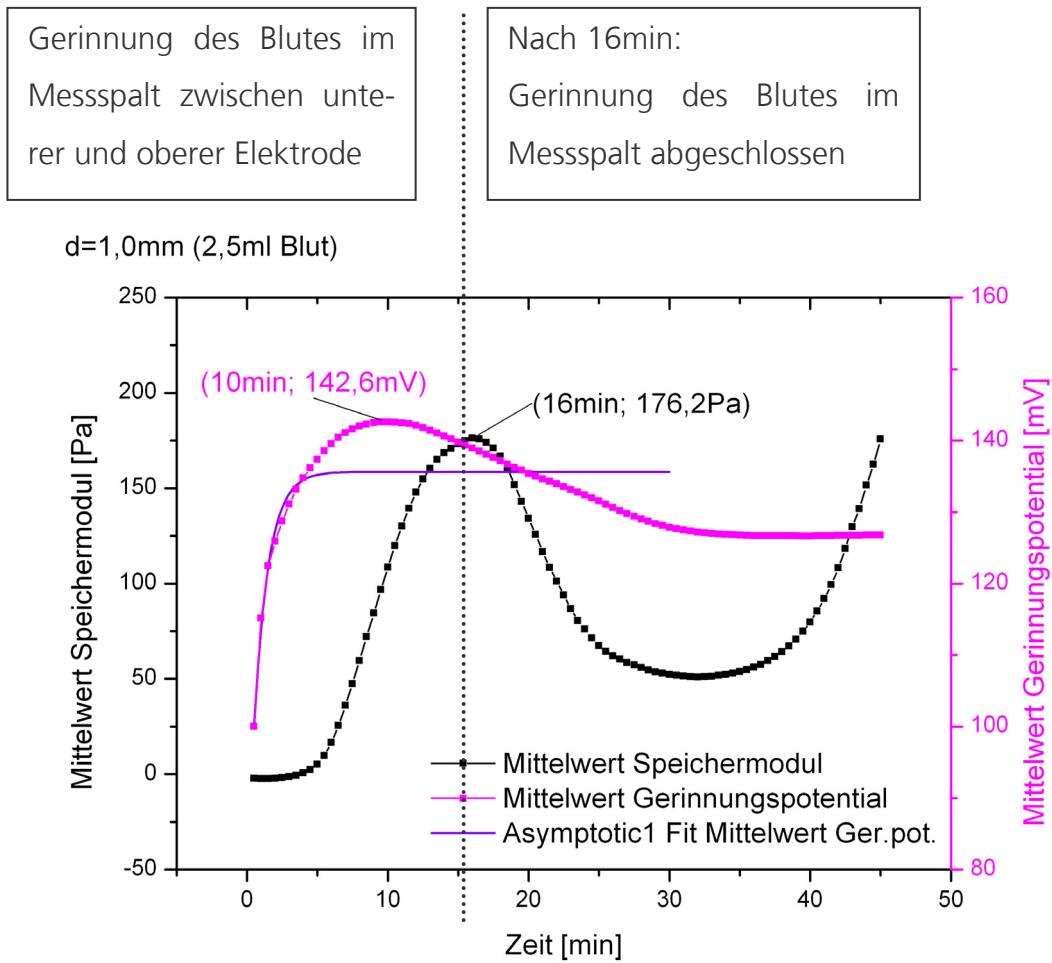


Abbildung 38: Zeitlicher Verlauf der Mittelwerte des Speichermoduls G' und des Gerinnungspotentials U_{Ger} für gerinnendes Blut beim Plattenabstand $d=1,0\text{mm}$ mit Erläuterungen

anzeigt. Dies zeigt, dass eine rheologische Messung der Gerinnung für größere Spaltabstände bzw. Messspalte zu Messungenauigkeiten führt. Auch das für $d=1,0\text{mm}$ gemessene Gerinnungspotential folgt nicht dem für kleinere Spaltabstände gemessenen asymptotischen Verlauf; anstelle eines asymptotischen Grenzwertes wird ein lokales Maximum erreicht.

Für $d=1,0\text{mm}$ lässt sich aus der Spannungszunahme bis zum Maximum die mittlere Änderung des Gerinnungspotentials U_{Ger} in Abhängigkeit der gerinnenden bzw. geronnenen Blutmenge wie folgt berechnen:

$$v_{U,d=1,0\text{mm}} = \frac{42,6\text{mV}}{2,5\text{ml}} = 17,0 \frac{\text{mV}}{\text{ml}} \quad (25)$$

Die Auswertung gemäß den Gleichungen 22 bis 25 zeigt, dass sich die untersuchte Blutmenge als solche dem jeweiligen Gerinnungspotential, dem jeweiligen Grenzwert und/oder der jeweiligen Spannungszunahme im ersten Zeitabschnitt nicht ohne Weiteres entnehmen lässt.

Entscheidend für eine Detektion der Blutgerinnung ist, dass unabhängig vom Alter der jeweiligen Blutprobe und den absolut gemessenen Spannungswerten sowohl der Beginn als auch das Ende der Gerinnung der Blutprobe dem Verlauf des Gerinnungspotentials als charakteristische Stellen zu entnehmen sind. Dies konnte für die untersuchten Plattenabstände $d=0,4\text{mm}$; $d=0,6\text{mm}$; $d=0,8\text{mm}$ und die entsprechenden Blutmengen von $1,0\text{ml}$; $1,5\text{ml}$; $2,0\text{ml}$ uneingeschränkt bestätigt werden.

Elektrische Messung des Gerinnungsstroms I_{Ger}

Eine Messung des zwischen den Platten des Rheometers während der Gerinnung der Blutprobe fließenden elektrischen Stroms I_{Ger} führt zu Messwerten im nA- Bereich, vgl. Abbildung 61 des Anhangs. Im Unterschied zu den Spannungsmessungen bzw. dem Gerinnungspotential U_{Ger} weist die Gerinnungsstromkurve keine Besonderheiten auf und

schwankt um einen konstanten Stromwert von 59nA. Die Anpassungskurve an den Mittelwert des gemessenen Gerinnungsstroms $I_{Ger}[nA]$ unter Berücksichtigung des experimentellen Fehlers,

$$I_{d=0,1mm}(t) = 59,1 - 0,02 * t \quad (26)$$

bestätigt, dass der Gerinnungsstrom I_{Ger} im Laufe der Messung bzw. der Gerinnung von einem konstanten Wert nur geringfügig abfällt und nicht mit rheologischen Kenngrößen zur Gerinnungsmessung korreliert ist. Die im Vergleich zum gerinnenden Blut an Ringer-Lösung gemessenen Stromwerte liegen im Mittel bei 20,1nA.

Die gemessenen Stromwerte legen den Schluss nahe, dass während der Gerinnung der Blutprobe in dieser elektrische Ladungsträger bzw. Ladungen voneinander getrennt werden und lokale Dipolmomente ausbilden. Das dadurch ausgebildete elektrische Feld ist makroskopisch in einer entsprechenden Elektrodenanordnung messbar.

5.4 Rheologische Gerinnungsmessungen an Blut in einem äußeren elektrischen Feld

An weiteren Blutproben wird untersucht, inwiefern sich die Gerinnung von Blut durch ein äußeres elektrisches Feld beeinflussen lässt. Hierzu werden rheologische Gerinnungsmessungen unter Beaufschlagung der Blutprobe mit einem externen elektrischen Feld durchgeführt, vgl. Kapitel 3.8. Entsprechend des Spaltabstandes $d=0,8mm$ wird jeweils 2,0ml Blut, d.h. mit Calciumchlorid-Lösung vermisches Citratblut, untersucht.

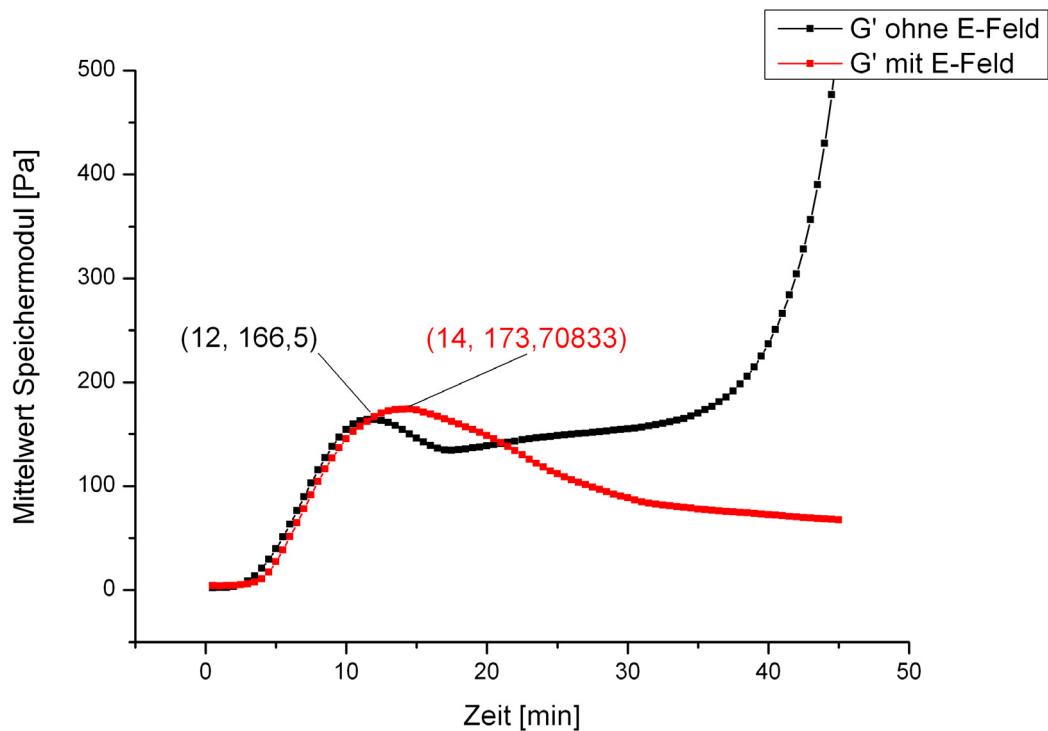


Abbildung 39: Zeitlicher Verlauf des Mittelwerts des Speichermoduls G' für gerinnendes Blut mit oder ohne ein äußeres elektrisches Feld

Die als Elektroden dienenden Platten des Rheometers werden an eine Wechselspannungsquelle angeschlossen, welche eine elektrische Wechselspannung von 200mV und 50Hz zwischen den beiden Elektroden bzw. Platten erzeugt. Die Größe der elektrischen Spannung zur Beaufschlagung der jeweiligen Blutprobe ist im Wertebereich des bei der Gerinnung von Blut ohne ein äußeres elektrisches Wechselfeld gemessenen Gerinnungspotentials U_{Ger} , vgl. Kapitel 5.3, gewählt. Für die Frequenz des Wechselfeldes wird 50Hz gewählt.

In Abbildung 39 ist der Mittelwert des gemessenen Speichermoduls G' während der Gerinnung von Blut mit einem äußeren elektrischen Feld

im Vergleich zur Gerinnung ohne ein äußeres elektrisches Feld gezeigt; die zugehörigen Fehlerbetrachtungen sind Abbildung 55 und Abbildung 62 des Anhangs entnehmbar. Abbildung 39 zeigt, dass ein äußeres elektrisches Feld den Gerinnungsfortschritt derart beeinflusst, dass die Gerinnung des Blutes geringfügig später gestartet und mit einer Verzögerung von 2,0min abgeschlossen wird.

Im weiteren Verlauf zeigen die Messungen mit externer Spannungsaufschlagung gegenüber Messungen ohne externe Spannungsaufschlagung eine schnellere Abnahme des die Gerinnung charakterisierenden Speichermoduls G' , was auf spannungsbedingt beschleunigte Fibrinolyseprozesse zurückzuführen ist.

5.5 Erklärungsmodell für elektrische Effekte bei der Blutgerinnung

Die in Kapitel 2.1 diskutierten elektrischen Effekte, die für Phasen- bzw. Zustandsänderungen bei bestimmten dielektrischen und wässrigen Lösungen auftreten, setzen jeweils einen eine Phasen- bzw. Zustandsänderung bewirkenden Temperaturgradienten voraus. Für die Messungen an Blutplasma und Blut werden die Versuchsmaterialien homogen auf die typische Temperatur des menschlichen Körpers von 37°C temperiert, so dass kein Temperaturgradient vorliegt. Die von einigen Autoren als erstes thermodielektrisches Gesetz und als zweites thermodielektrisches Gesetz bezeichneten [6, 8, 25] Gleichungen für

elektrische Größen sind nicht ohne Weiteres auf Blutsysteme übertragbar, vgl. Kapitel 4.5.

Die Blutgerinnung ist eine Zustandsänderung von nicht geronnenem zu geronnenem Blutplasma bzw. Blut. Die Aktivierung des Gerinnungssystems erfolgt nach Aufhebung der Gerinnungshemmung des Citratplasma bzw. des Citratblutes mittels Calciumionen endogen an einer Kontaktfläche, vgl. Kapitel 2.3. Je nach Versuchsdurchführung dringt Calciumchlorid-Lösung im Laufe der Messung ins Citratplasma bzw. ins Citratblut ein oder wird vor Beginn der Messung mit Citratblut vermischt, vgl. Kapitel 3.1. Die Aufhebung der Gerinnungshemmung des Citratplasmas bzw. des Citratblutes durch das Eindringen von oder das Vermischen mit Calciumchlorid-Lösung ist die Voraussetzung für die Gerinnung, jedoch nicht mit dem Gerinnungsfortschritt gleichzusetzen.

Durch die Aktivierung der Gerinnung an einer negativ geladenen Kontaktfläche wird die in Abbildung 3 dargestellte Gerinnungskaskade aufeinanderfolgender Einzelreaktionen gestartet. Der Gerinnungsfortschritt ist vielmehr ein Reaktionsfortschritt zur Ausbildung des Fibringerinnsels, beginnend an der jeweiligen Kontaktfläche. Bei Messungen an Blutplasma bildet sich das Fibringerinnsel zunächst, ausgehend vom zugehörigen rahmenartigen Innenwandabschnitt der Messzelle, als Schicht an der Grenzfläche von Citratplasma und Calciumchlorid-Lösung aus und vergrößert sich anschließend in vertikaler Richtung von oben nach unten. Bei Messungen an Blut startet die Bil-

dung des Fibringerinnsels an der mit einem Gerinnungstrigger benetzten unteren Platte der Messzelle und verläuft anschließend in vertikaler Richtung von der unteren zur oberen Platte.

Die Gerinnung von Blut als Biopolymer umfasst die Bildung eines Fibringerinnsels. Die bei der Blutgerinnung stattfindende Polymerisation von Fibrinogen zu Fibrin umfasst die Bildung von Peptidverbindungen und ist insoweit vergleichbar einer Polymerisation bei Kunststoffen, vgl. Kapitel 5.2. Dabei werden elektrische Effekte bewirkende Gruppen bzw. Ladungsträger zumindest zeitweise freigesetzt und Dipolmomente im Fibringerinnsel erzeugt. Die freien Ladungsträger und/oder die elektrischen Dipolmomente erzeugen von sich aus messbare elektrische Felder während der Fibringerinnselbildung. Bei der (langsamen) Auflösung des Fibringerinnsels, bedingt durch Fibrinolyseprozesse, werden die gerinnungsbedingten Dipolmomente im Fibringerinnsel wieder aufgehoben und dementsprechend fällt das Gerinnungspotential wieder ab, vgl. Abbildung 34.

Kapitel 6: Fazit und Ausblick

In Kapitel 6 werden die für Blutplasma und Blut erhaltenen Ergebnisse kompakt zusammengefasst und im Ausblick eine mögliche Ausnutzung der elektrischen Effekte in medizintechnischen Anwendungen aufgezeigt.

6.1 Zusammenfassung der Ergebnisse für Blutplasma

Die Ergebnisse der Messungen an gerinnendem Blutplasma und die daraus folgenden Schlussfolgerungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Parallele optische und elektrische Messungen zeigen, dass eine reproduzierbare Korrelation zwischen der Gerinnung der jeweiligen Blutplasmaprobe und dem Verlauf einer parallel gemessenen Spannung besteht und ein Gerinnungspotential vorliegt. Die Änderung des Gerinnungspotentials in Abhängigkeit der gerinnenden Blutplasmamenge liegt je nach Elektrodenanordnung im Bereich von 51-94mV/ml.
2. Nach Abschluss der Gerinnung nähert sich das Gerinnungspotential einem konstanten Spannungswert an. Asymptotische Anpassungskurven an die jeweiligen Messdaten bestätigen den charakteristischen Verlauf des Gerinnungspotentials. Das Gerinnungspotential zeigt unabhängig vom Alter der jeweiligen Blutplasmaprobe und den absolut gemessenen Spannungswerten diesen charakteristischen Verlauf.

3. Die plasmatische Gerinnung von Blutplasma lässt sich dem Verlauf des Gerinnungspotentials entnehmen und ist folglich mittels einer entsprechenden Elektrodenanordnung elektrisch detektierbar. Der Ablauf bzw. die Dauer der Gerinnung wird durch eine Änderung der Spannungswerte und der Abschluss der Gerinnung durch unveränderte, konstante Spannungswerte angezeigt.
4. Eine äußere elektrische Gleichspannung von 150mV zwischen den beiden Elektroden beeinflusst die Gerinnung der Blutplasmaprobe derart, dass das Blutplasma im Bereich zwischen den Elektroden in stark verkürzter Zeit gerinnt, und dass insbesondere eine negativ geladene Elektrode die Gerinnung verstärkt.
5. Das Impedanzspektrum und entsprechend der Ohmsche Widerstand einer Blutplasmaprobe unterliegen gerinnungsbedingten Änderungen. Während der Gerinnung der Blutplasmaprobe steigt deren Ohmscher Widerstand bis zu einem Maximum an und fällt nach Abschluss der Gerinnung, einhergehend mit Fibrinolysevorgängen, wieder ab. Auch eine dielektrische Erfassung des Gerinnungsverlaufs ist denkbar, wobei hier berücksichtigt werden muss, dass die Gerinnung des Blutplasmas durch ein äußeres elektrisches Feld beeinflusst wird.

6.2 Zusammenfassung der Ergebnisse für Blut

Die Ergebnisse der Messungen an gerinnendem Blut und die daraus folgenden Schlussfolgerungen lassen sich wie folgt zusammenfassen:

6. Das IR-Absorptionsspektrum von Blut stimmt mit dem Absorptionsspektrum der Molekülverbindungen Polyamid-6 und Polyamid-6,6 überein. Die IR-spektroskopischen Messungen zeigen, dass die bei der Blutgerinnung stattfindende Polymerisation von Fibrinogen zu Fibrin die Bildung von Peptidverbindungen umfasst und vergleichbar einer Polymerisation bei Kunststoffen ist, und dass dabei elektrische Effekte bewirkende Gruppen bzw. Ladungsträger zeitweise freigesetzt werden.
7. Parallele rheologische und elektrische Messungen zeigen, dass eine reproduzierbare Korrelation zwischen der Gerinnung der jeweiligen Blutprobe und dem Verlauf einer parallel gemessenen Spannung besteht und ein Gerinnungspotential vorliegt. Die Änderung des Gerinnungspotentials in Abhängigkeit der gerinnenden Blutmenge liegt je nach Elektrodenanordnung im Bereich von 17-93mV/ml.
8. Nach Abschluss der Gerinnung nähert sich das Gerinnungspotential einem konstanten Spannungswert an. Asymptotische Anpassungskurven an die jeweiligen Messdaten bestätigen den charakteristischen Verlauf des Gerinnungspotentials. Das Gerinnungspotential zeigt unabhängig vom Alter der jeweiligen

Blutprobe und den absolut gemessenen Spannungswerten diesen charakteristischen Verlauf.

9. Die Gerinnung von Blut lässt sich dem Verlauf des Gerinnungspotentials entnehmen und ist folglich mittels einer entsprechenden Elektrodenanordnung elektrisch detektierbar. Der Ablauf bzw. die Dauer der Blutgerinnung wird durch eine Änderung der Spannungswerte und der Abschluss der Blutgerinnung durch Erreichen eines Plateaus mit unveränderten, konstanten Spannungswerten angezeigt.
10. Eine äußere elektrische Wechselspannung von 200mV und 50Hz zwischen den beiden Elektroden beeinflusst die Gerinnung der Blutprobe im Bereich zwischen den Elektroden derart, dass die Blutgerinnung mit einer Zeitverzögerung von 17% abgeschlossen ist. Weiter sind Fibrinolysevorgänge zur Auflösung des Fibringerinnsels durch das elektrische Wechselfeld beschleunigt.
11. Bei der Gerinnung der Blutprobe fällt deren Ohmscher Widerstand zunächst ab und steigt anschließend bis zu einem Maximum beim Abschluss der Gerinnung an. Danach fällt der Widerstand der Blutprobe, einhergehend mit der Auflösung des Fibringerinnsels, wieder ab. Auch eine dielektrische Erfassung des Gerinnungsverlaufs ist denkbar, wobei hier berücksichtigt werden muss, dass die Blutgerinnung durch ein äußeres elektrisches Feld beeinflusst wird.

6.3 Ausblick

Insgesamt können elektrische, dielektrische, optische und rheologische Messungen sowohl als Kombinationsmessungen als auch jeweils als Einzelmessungen zum Gerinnungsmonitoring eingesetzt werden. Dies kann in Vorrichtungen zur Lagerung, zur Umwälzung und/oder zum Transport von Blut, die beispielsweise bei einer Dialyse oder einer Bluttransfusion in den Blutkreislauf eines Patienten integriert werden, dazu eingesetzt werden, die Ausbildung von Blutgerinnseln möglichst frühzeitig zu detektieren, um erforderlichenfalls geeignete Gegenmaßnahmen einleiten zu können.

Weiter können Untersuchungen von medizintechnischen Produkten in Hinblick auf eine mögliche Gerinnung von Blut, Tests von verschiedenen in der Medizintechnik eingesetzten Materialien, beispielsweise Materialien zum Aufbau eines künstlichen Gefäßsystems, und Hämokompatibilitätstestungen an Polymeren für das Gefäß-Tissue Engineering unter Ausnutzung der elektrischen Effekte bei der Gerinnung von Blut durchgeführt werden.

Neben der Messung und der Beeinflussung der Blutgerinnung in In-vitro-Systemen, wie Dialyse- oder Transfusionssystem, sind medizintechnische Anwendungen in In-vivo-System, d.h. im lebenden Organismus, vorstellbar. Ein besonderes Anwendungsgebiet stellen metallische Implantate, wie Stents, dar, die in ein Blutgefäß eines Patienten implantiert werden. Die Ausbildung von Blutgerinnseln und eine damit

einhergehende Verengung des Implantats bzw. eine Zusetzung der Vorrichtung kann eine Gefahr für einen Patienten darstellen.

Die bei der Gerinnung von Blut auftretenden elektrischen Effekte können zur Detektion der Gerinnung von Blut im Umfeld metallischer Implantate ausgenutzt und eine entsprechende Messmethodik entwickelt werden. Hierfür ist eine Miniaturisierung der Messtechnik erforderlich, um diese in Implantate integrieren zu können. Gefäßeinsätze bieten im Unterschied zu Stents den Vorteil, dass sie zum Implantieren in den Organismus bzw. Körper nicht komprimiert werden, was vorteilhaft für die Integration der Messmethodik in das Bauteil ist. Als Implantat können zudem ein Shunt oder ein Bypass eingesetzt werden.

Um die Gerinnung von Blut in Implantaten zu überwachen und mit einer geringstmöglichen Zugabe von Reagenzien bzw. Medikamenten zu verhindern, sind elektrische Maßnahmen zur Überwachung und Verhinderung der Gerinnung plus materialtechnische Maßnahmen erforderlich. In einem ersten Schritt bietet sich ein künstliches Gefäßsystem als Simulationsumgebung an. In einem zweiten Schritt ist ein Monitoring von Blutparametern, insbesondere der Blutreinheit, vorzunehmen. In einem dritten Schritt ist ein Implantat, wie eine Gefäßprothese, mit einer integrierten Überwachung bzw. Detektion von Gerinnseln bzw. Thrombosen zu realisieren. Anschließende Gegenmaßnahmen können in Form einer Notfallmedikamentation, beispielsweise mit Heparin, und/oder mit einem äußeren elektrischen Feld, insbesondere mit einem Wechselfeld, vorgenommen werden. Weiter ist eine regelmäßige

Spannungsbeaufschlagung zur Prophylaxe einer Thrombenbildung und/oder zur Reinigung der Oberfläche eines künstlichen Gefäßes denkbar.

Das Bauteildesign erfordert die Einbringung von Elektrodenstrukturen auf in einen Körper, genauer in ein Blutgefäßsystem, einzubringende Implantate, wie Stents, und eine Mikrostrukturierung der Messtechnik. Aus der Realisierung der Messtechnik ergibt sich ein erhöhter Funktionsumfang beim Gefäßprothesen- bzw. Implantateinsatz. Eine besondere Herausforderung des Einsatzes der Messtechnik in einem In-vivo-System stellt der zur Erhaltung des Organismus bzw. lebenden Körpers erforderliche Blutfluss durch das Implantat dar, welches insoweit eine Strömungszelle bzw. eine Durchflussstelle bildet.

Elektrische Messungen ermöglichen die Erfassung von sich am oder im Implantat bildender Thromben; eine Volumenstrommessung und/oder ein Torwächter ermöglichen die Erfassung von vorbeifließenden Thromben. Über Elektroden kann ein Strom bzw. eine Spannung zur Auflösung oder Verhinderung von Thromben aufgebracht werden. Auch die Freisetzung von Medikamenten, vergleichbar einem sogenannten „drug diluting stent“, ist vorstellbar.

Allgemein kann aufgrund der Ergebnisse an Blutsystemen die Untersuchung des Gerinnungspotentials als neue zerstörungsfreie Prüfmethode für Gerinnungsvorgänge betrachtet werden, welche insbesondere in medizintechnischen Anwendungen einsetzbar ist.

Anhang

Der Anhang umfasst ergänzende Diagramme zu den Kapiteln 4 und 5, insbesondere mit Fehlerbetrachtungen zu und Anpassungskurven an die Messkurven.

Ergänzende Diagramme zu Kapitel 4

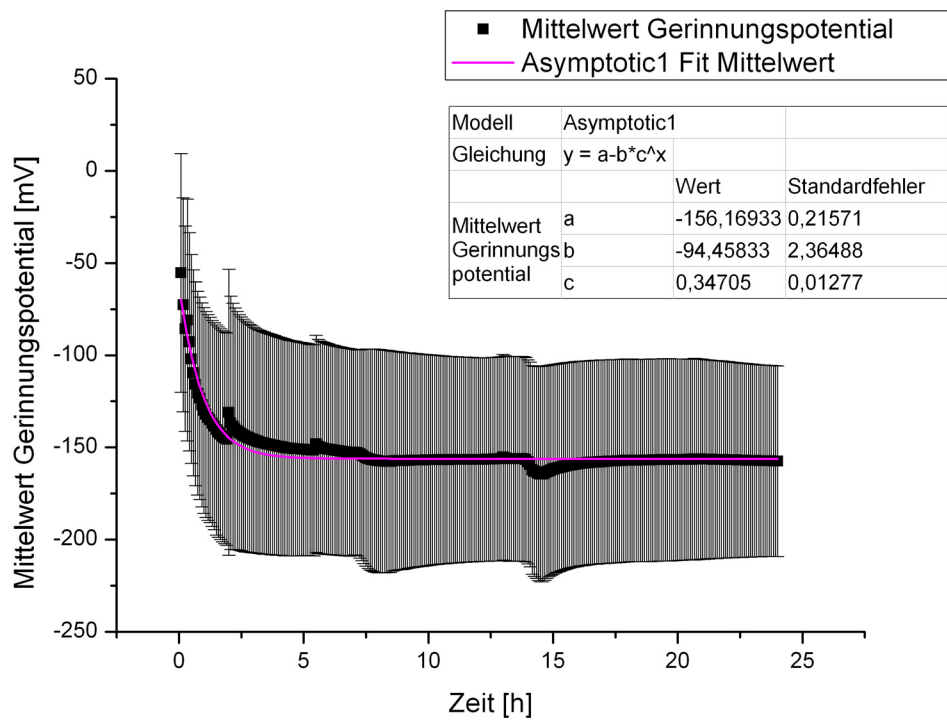


Abbildung 40: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit (Zylinder)

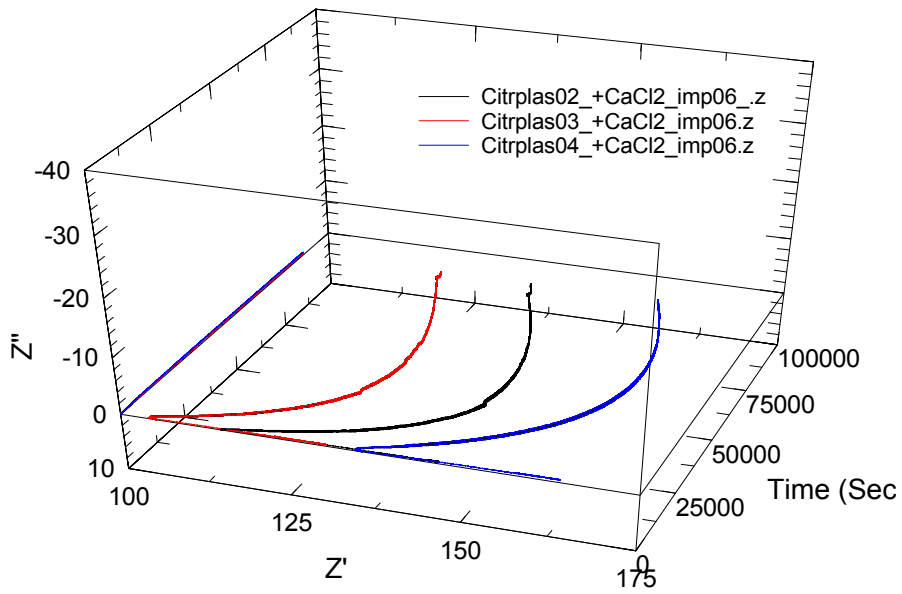


Abbildung 41: Darstellung der frequenzstatistischen Aufnahme in Abhängigkeit der Zeit t und der gemessenen Impedanz Z für drei Blutplasmaproben

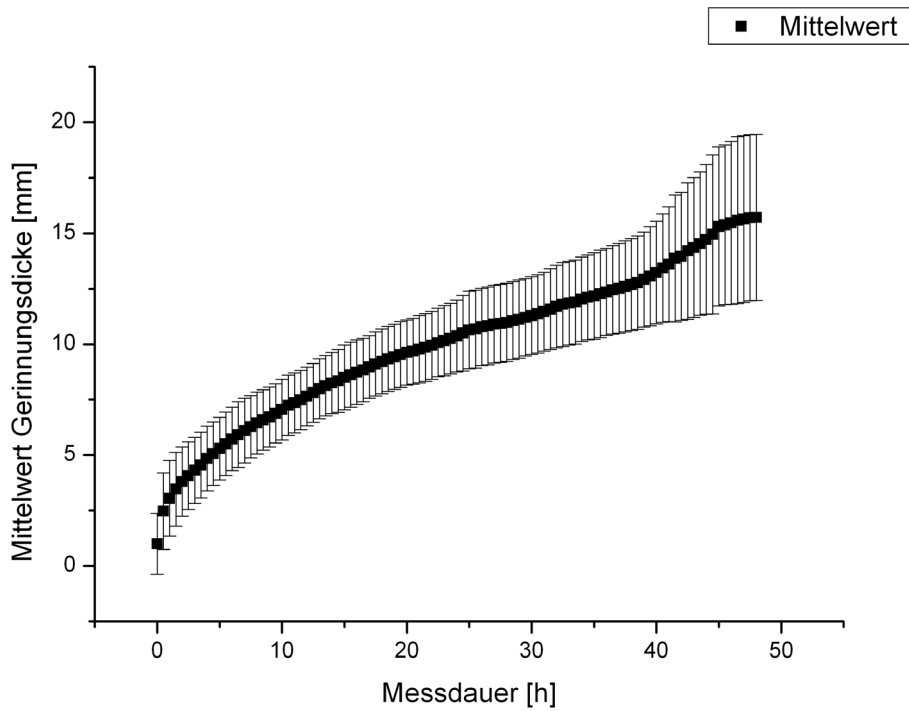


Abbildung 42: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler für alle d_a

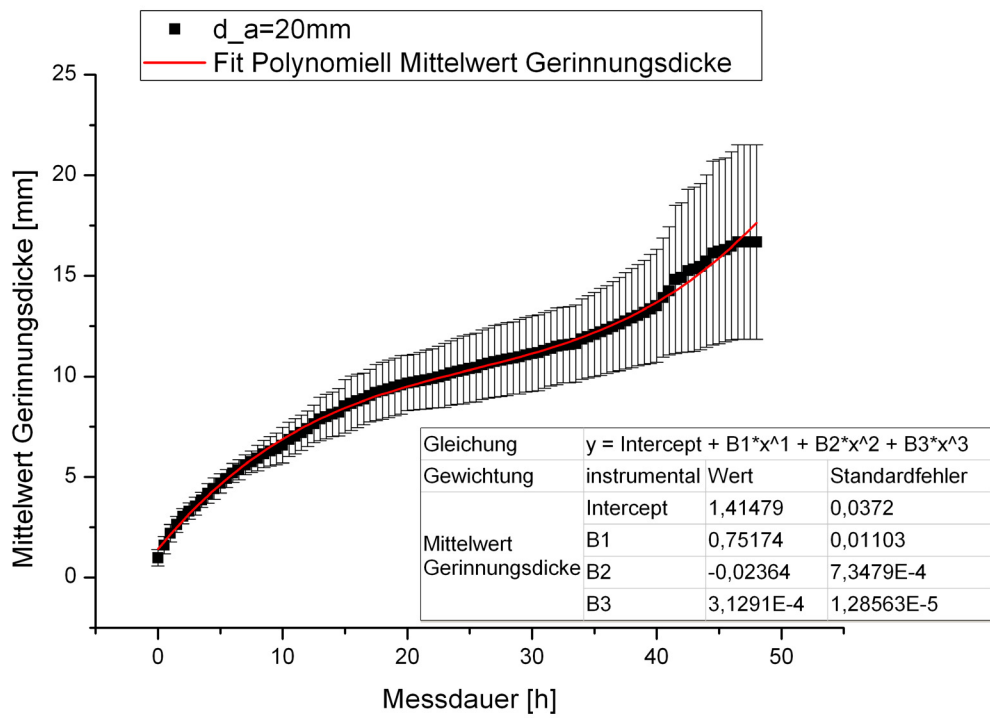


Abbildung 43: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit für $d_a=20\text{mm}$

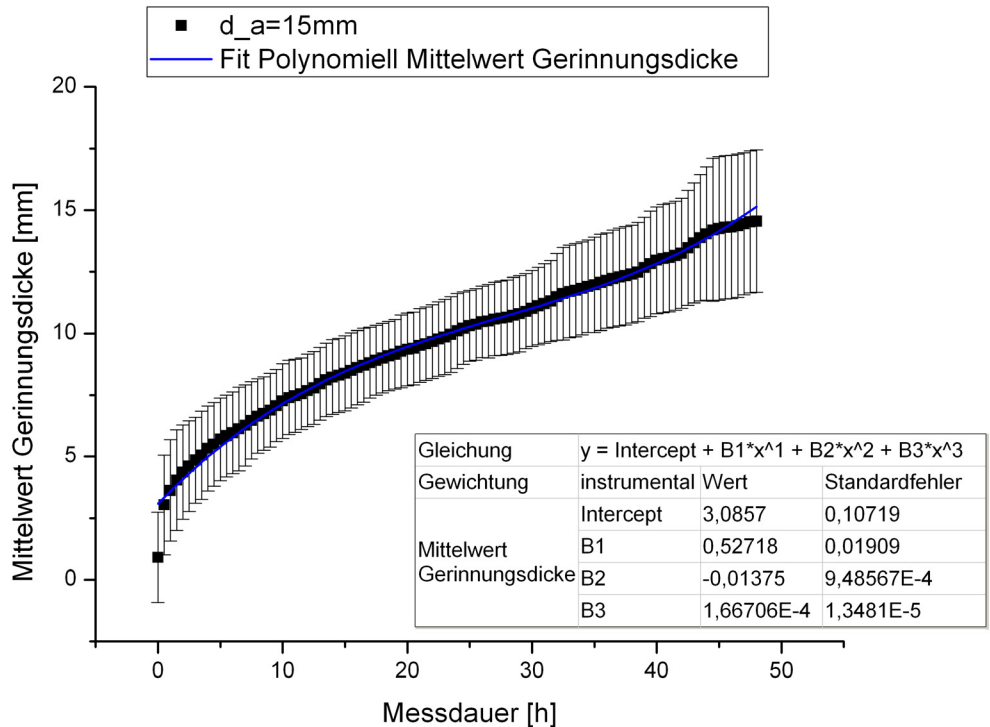


Abbildung 44: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit für $d_a=15\text{mm}$

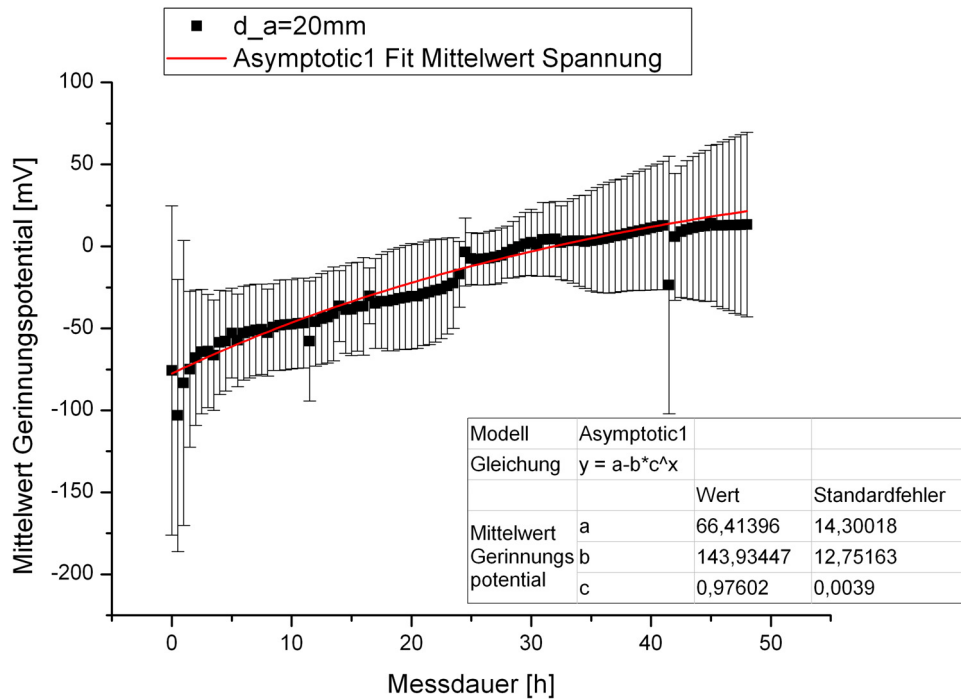


Abbildung 45: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d_a=20\text{mm}$

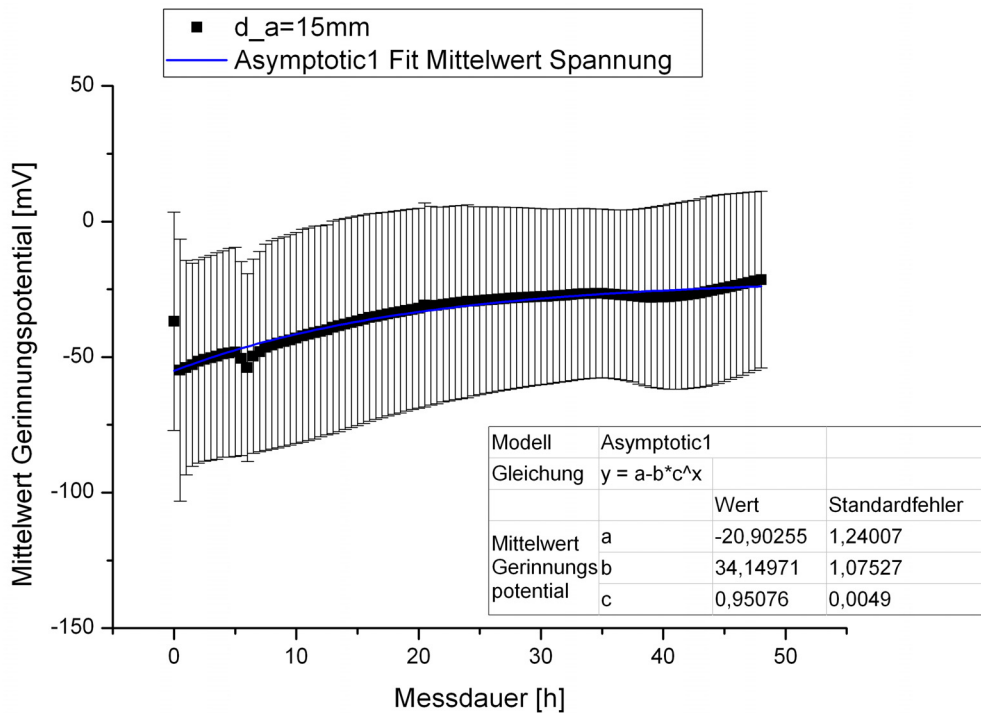


Abbildung 46: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d_a=15\text{mm}$

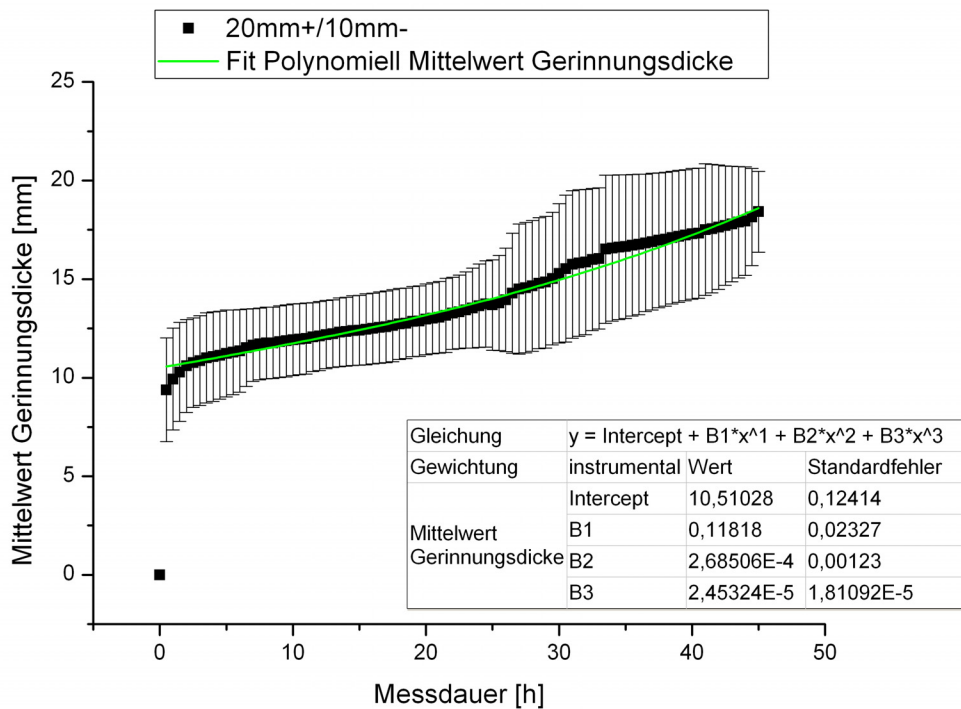


Abbildung 47: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit mit einem äußeren elektrischen Feld (20mm+/10mm-)

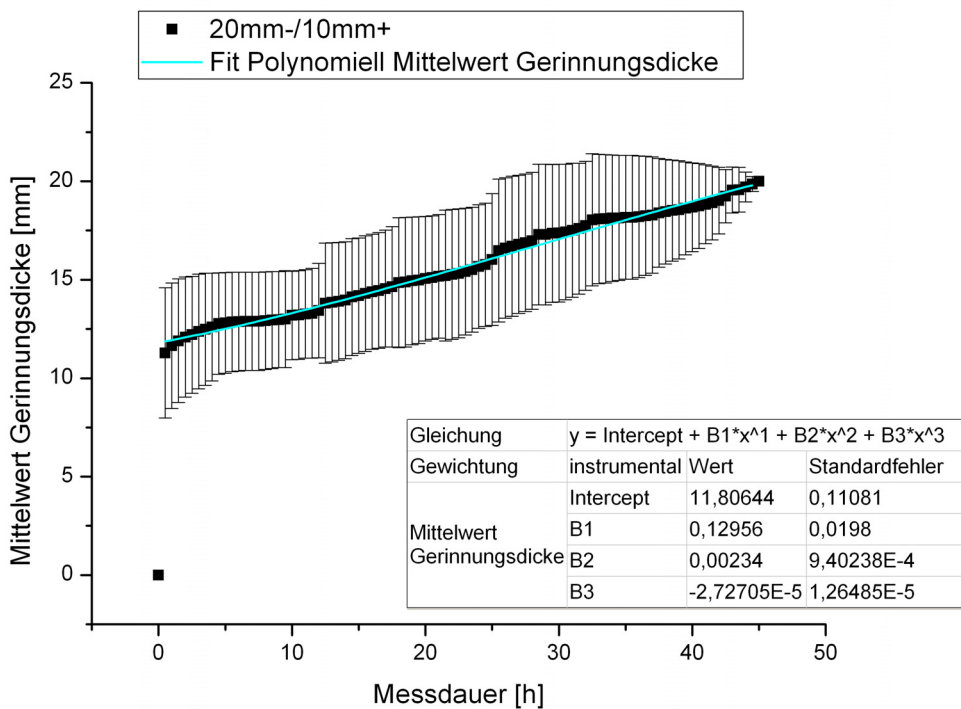


Abbildung 48: Mittelwert der Gerinnungsdicke s mit Fehler und Fit mit einem äußeren elektrischen Feld (20mm-/10mm+)

Ergänzende Diagramme zu Kapitel 5

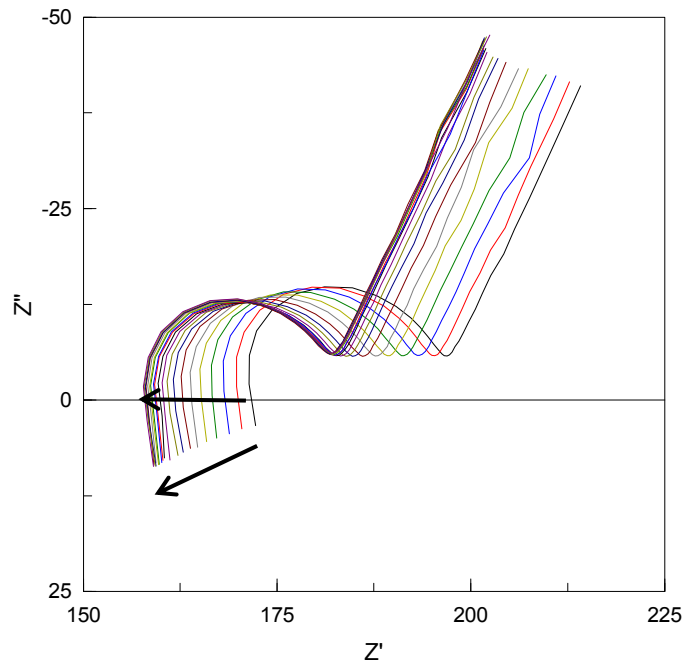


Abbildung 49: Impedanzspektren der Blutprobe2 im Verlauf, durch Pfeile angezeigt, der ersten 3,5h mit einer Zeitverzögerung von jeweils 10,3min

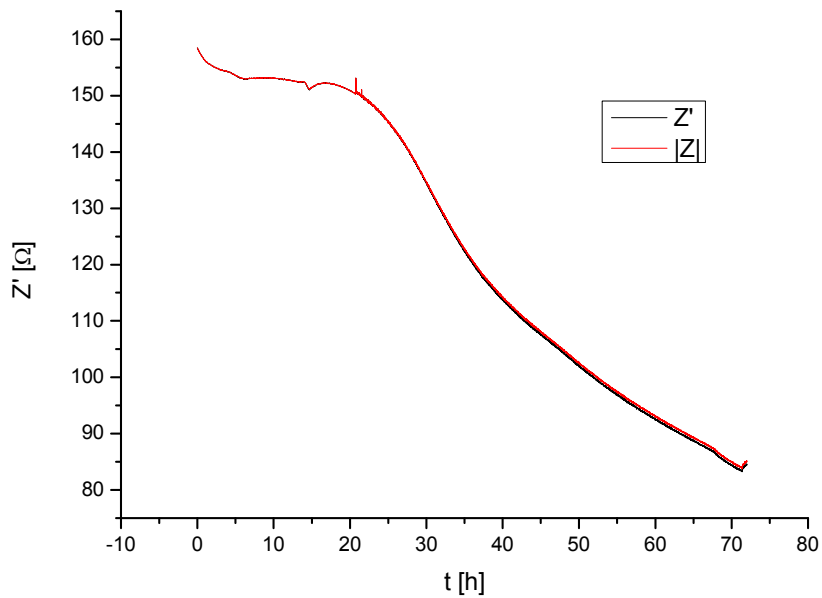


Abbildung 50: Realteil Z' und Betrag $|Z|$ der Impedanz Z als Funktion der Zeit t bei 400kHz für 72h anhand von Blutprobe1

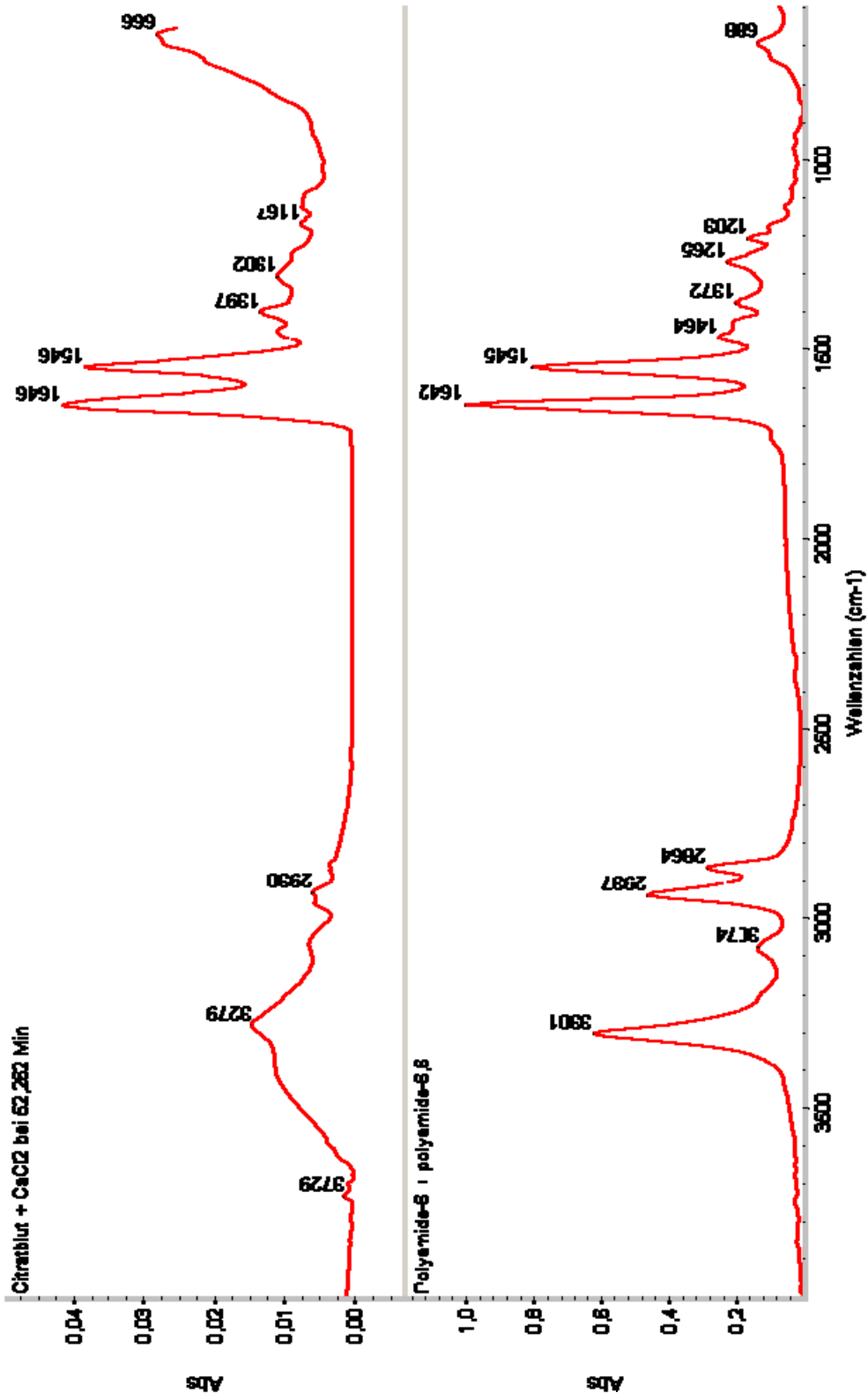


Abbildung 51: IR-Absorptionsspektren von geronnenem Blut (oben) und von Polyamid-6 + Polyamid-6,6 (unten) jeweils mit Bandenlage

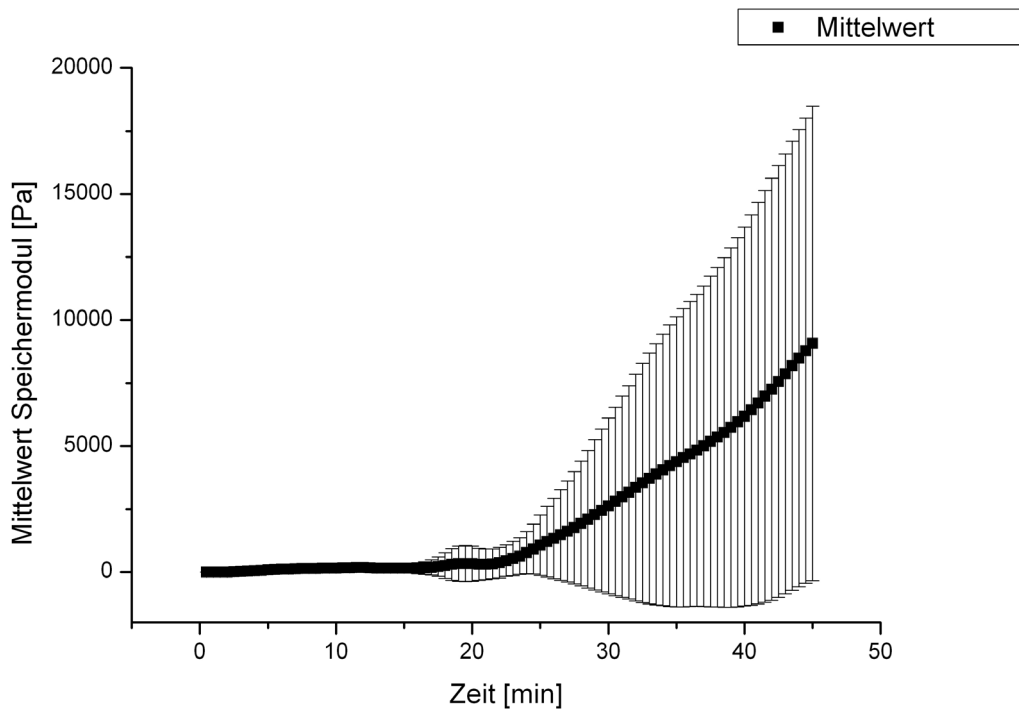


Abbildung 52: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,4\text{mm}$

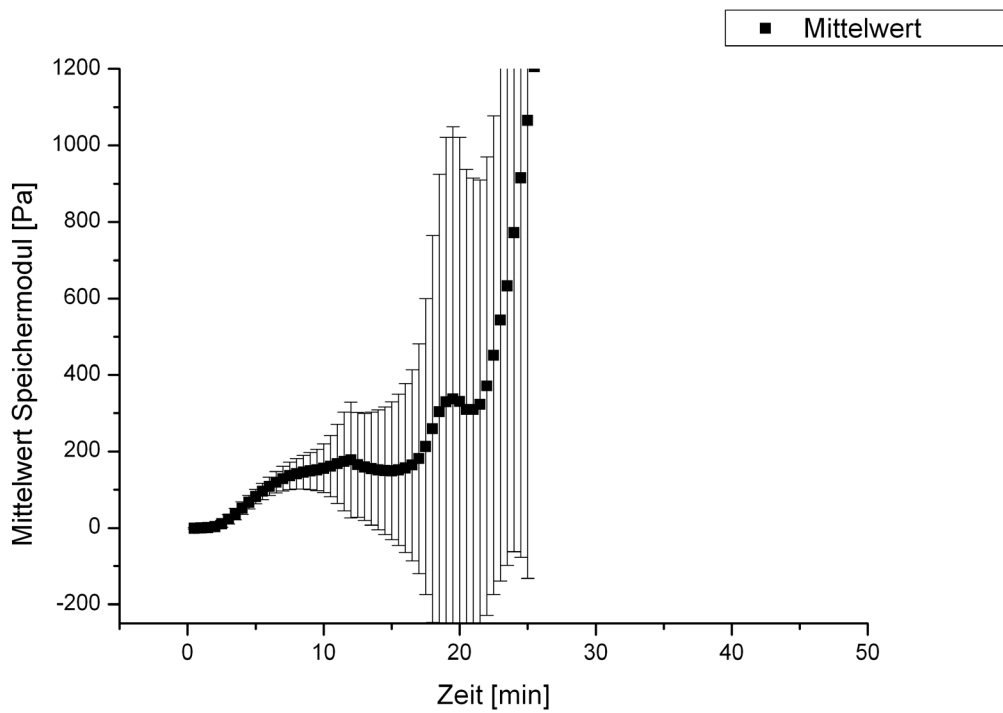


Abbildung 53: Ausschnitt aus Abbildung 52

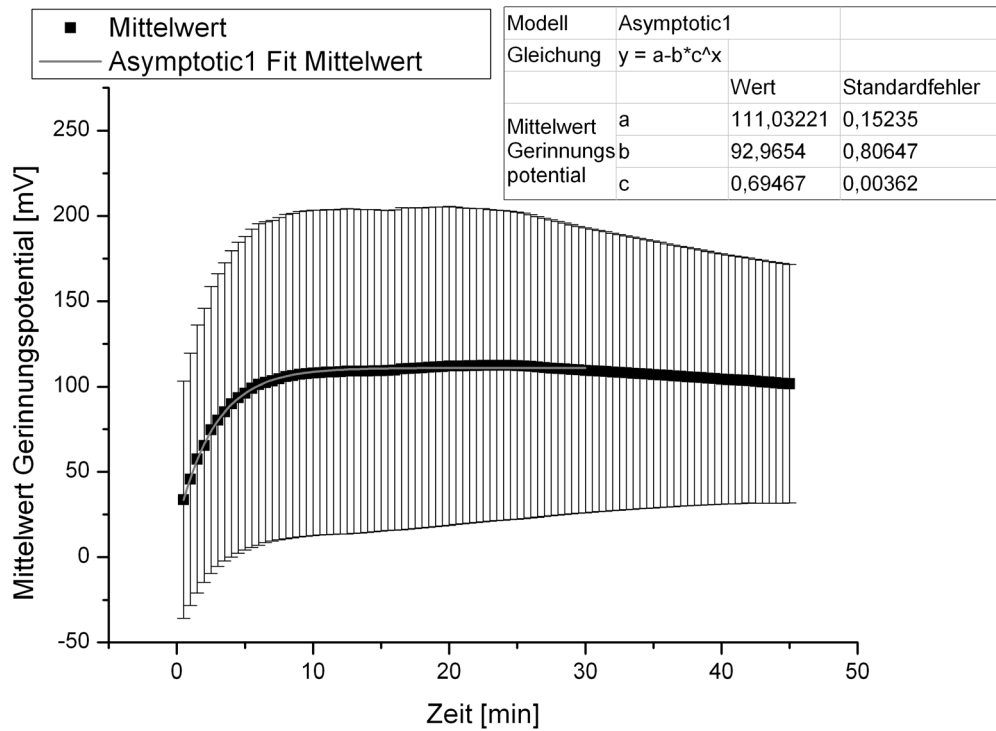


Abbildung 54: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=0,4\text{mm}$

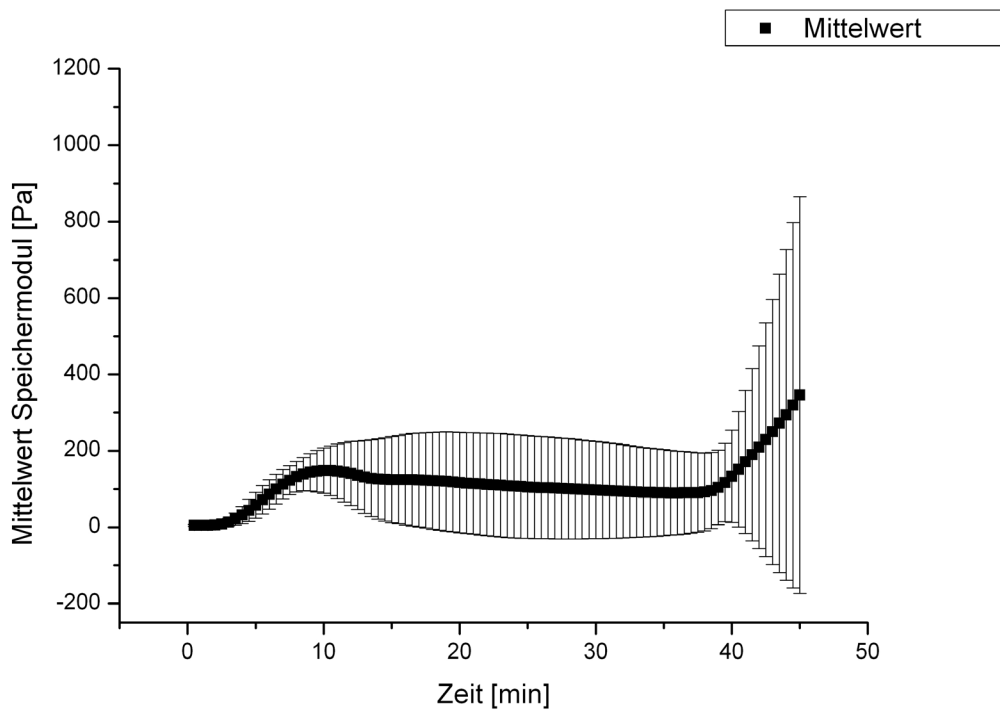


Abbildung 55: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,6\text{mm}$

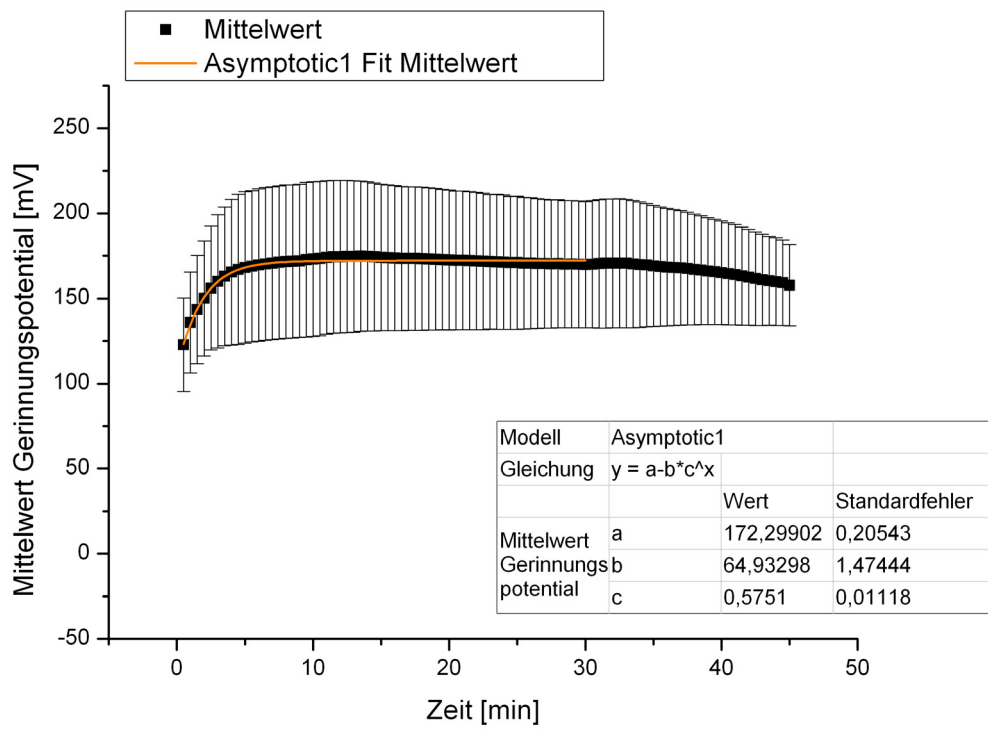


Abbildung 56: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=0,6\text{mm}$

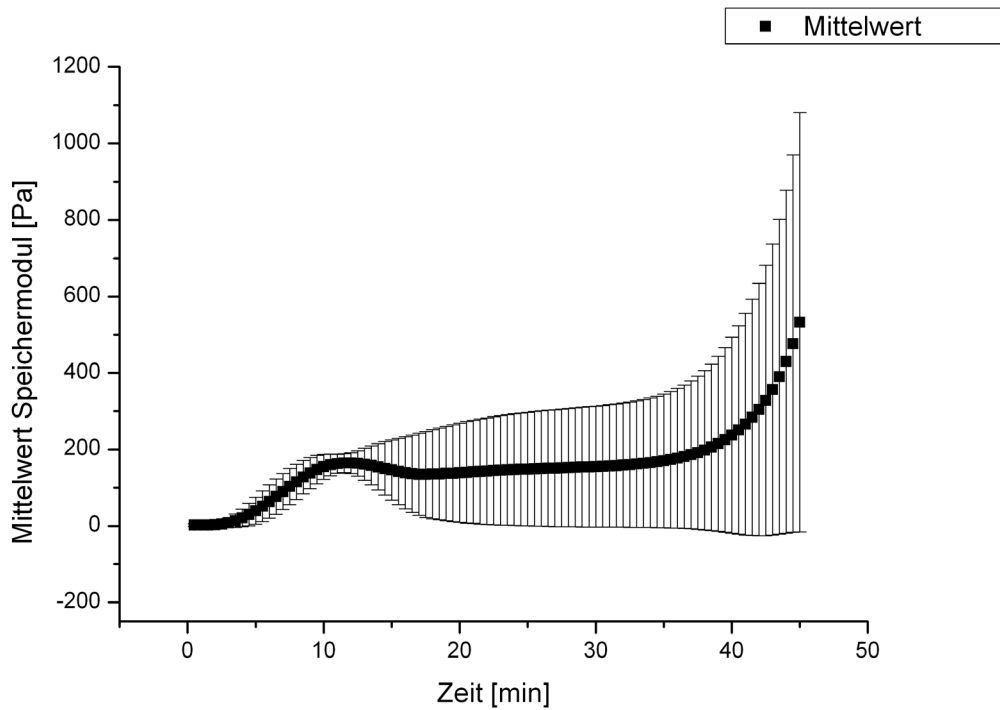


Abbildung 57: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,8\text{mm}$

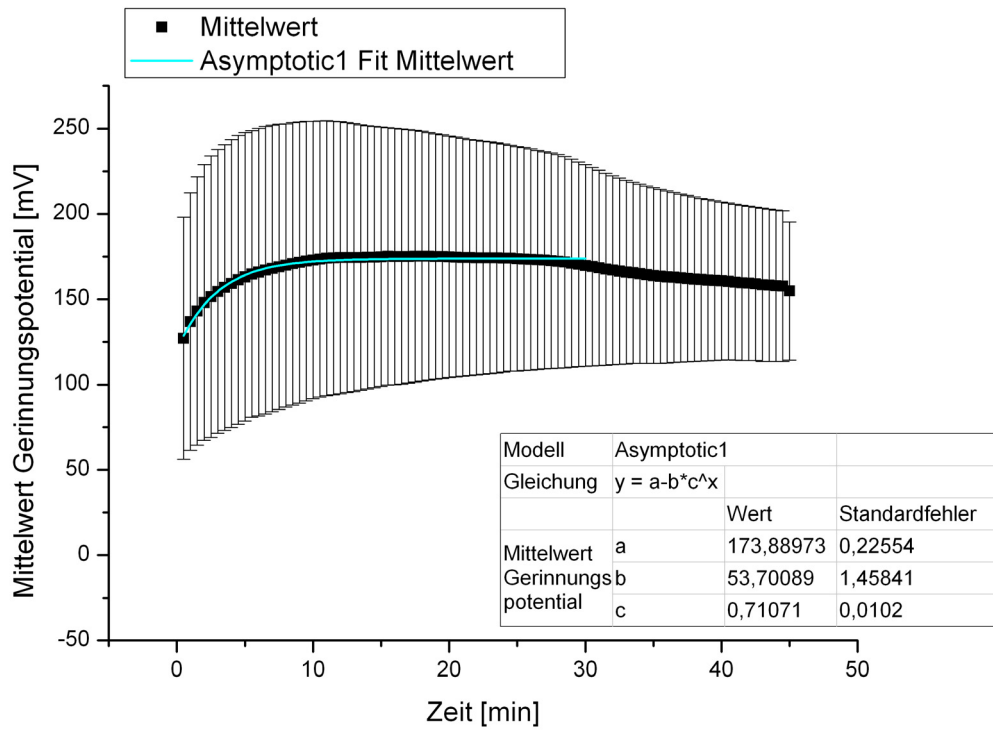


Abbildung 58: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=0,8\text{mm}$

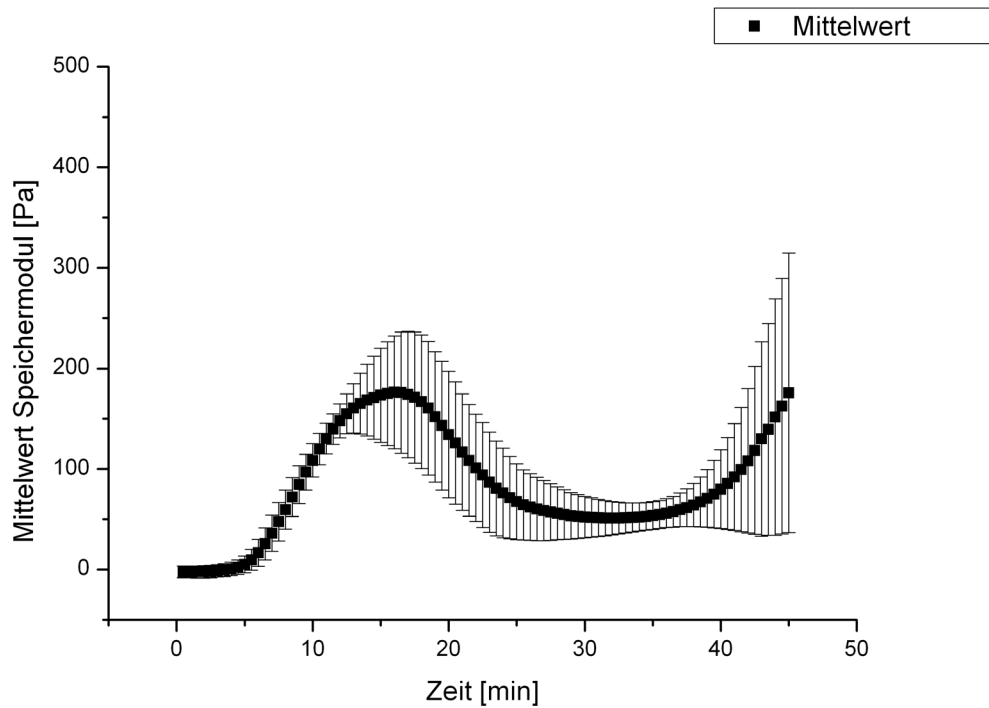


Abbildung 59: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=1,0\text{mm}$

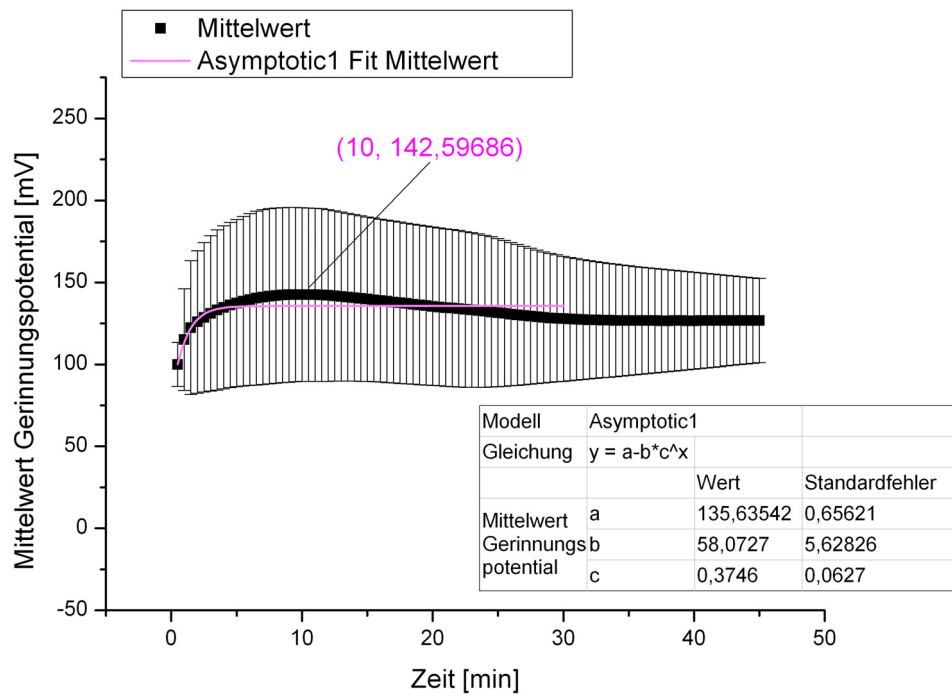


Abbildung 60: Mittelwert des Gerinnungspotentials U_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=1,0\text{mm}$

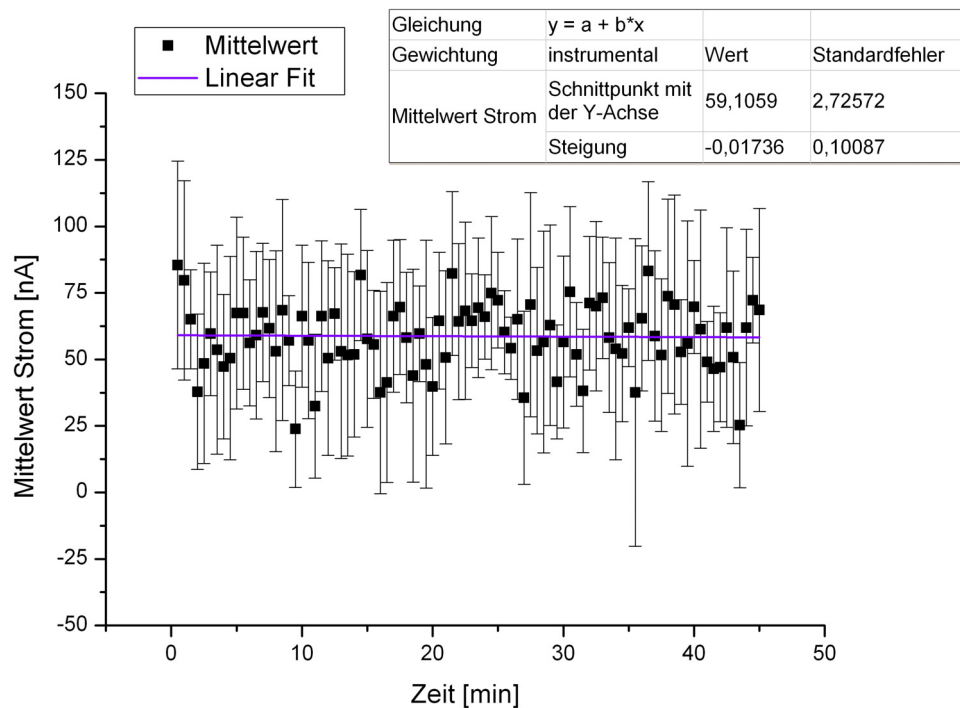


Abbildung 61: Mittelwert des Gerinnungsstroms I_{Ger} mit Fehler und Fit für $d=1,0\text{mm}$

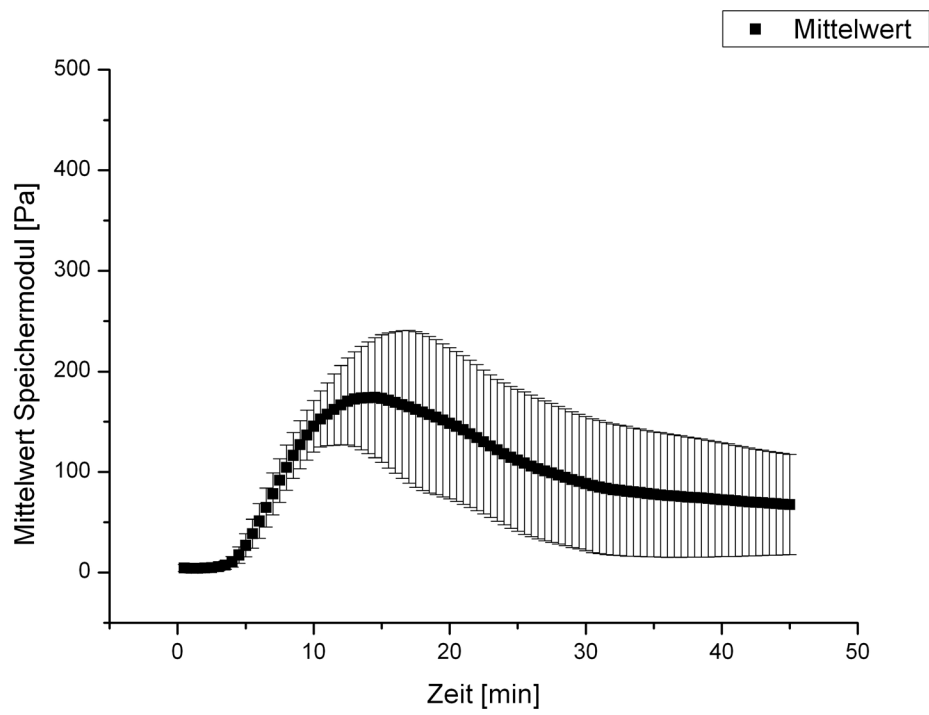


Abbildung 62: Mittelwert des Speichermoduls G' mit Fehler für $d=0,8\text{mm}$ mit einem äußeren elektrischen Feld

Literaturverzeichnis

1. Stöcker, H. (2000), *Taschenbuch der Physik - Formeln, Tabellen, Übersichten*. Verlag Harry Deutsch: Thun, Frankfurt am Main.
2. Gülcher, M. (2010), *Bioaktive Implantate - RNA Eluting Stent*. Workshop "Biologisierung der Medizintechnik", 09.06.2010, Reutlingen, Naturwissenschaftliches und Medizinisches Institut (NMI), Universität Tübingen.
3. Elsner, P. (1992), *Dielektrische Charakterisierung des Aushärtungsverlaufs polymerer Harze*. Universität Stuttgart.
4. Elsner, P. and P. Eyerer (1987), *Elektrische Verfahren zum Erfassen von Permeations- und Diffusionsvorgängen in Polymeren*. *Kunststoffe*, 77(1): p. 69-72.
5. Eyerer, P. (1972), *Elektrische Ladungstrennung während der Vernetzung von Duromeren (Costa Ribeiro-Effekt)*. *J. Applied Polymer Science*, 16(10): p. 2461-2483.
6. Eyerer, P. (1972), *Eine zerstörungsfreie elektrische Prüfmethode zur Überwachung von Aushärtvorgängen an Duromeren*. Universität Stuttgart.
7. Eyerer, P. (1972), *Electric charge separation and charge storage during phase changes in the absence of external electric fields: thermodielectric effect (costa Ribeiro effect) and workman-Reynolds effect*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 3(3): p. 223-273.
8. Costa Ribeiro, J. (1954), *Recent Contributions to the Study of the Thermo-Dielectric Effect*. SYMPOSIUM ON NEW RESEARCH TECHNIQUES IN PHYSICS, Rio de Janeiro,
9. Workman, E.J. and S.E. Reynolds (1950), *Electrical Phenomena Occurring during the Freezing of Dilute Aqueous Solutions and Their Possible Relationship to Thunderstorm Electricity*. *Physical Review*, 78(3): p. 254-259.

10. Heyer, P. (2011), *Dielektrische Spektroskopie in Kombination mit rheologischen Messungen*, A.P.G. GmbH: Ostfildern.
11. Pinatti, D. and S. Mascarenhas (1967), *Electrical Currents Produced during the Solidification of Water (Costa Ribeiro Effect)*. Journal of Applied Physics, 38(6): p. 2648-2652.
12. Hanley, T.O.D. and A.H. Weber (1973), *FREEZING POTENTIALS AND CURRENTS IN POTASSIUM FLUORIDE SOLUTIONS AT CONSTANT GROWTH RATES*. Journal of Glaciology, 12(66): p. 483-499.
13. Gross, G.W. (1965), *The Workman-Reynolds Effect and Ionic Transfer Processes at the Ice-Solution Interface*. J. Geophys. Res., 70(10): p. 2291-2300.
14. Cobb, A.W. and G.W. Gross (1969), *Interfacial Electrical Effects Observed during the Freezing of Dilute Electrolytes in Water*. Journal of The Electrochemical Society, 116(6): p. 796-804.
15. Cassettari, M. and G. Salvetti (1972), *Thermodielectric effect and freezing potential in growing ice*. Il Nuovo Cimento B (1971-1996), 12(1): p. 95-100.
16. Tavares, A.D. (1983), *Self electrization during a phase transition of thin crystalline layers of Naphtalene as a function of thickness*. Physics Letters, 93A(3): p. 145-148.
17. Cassettari, M. and G. Salvetti (1969), *An improvement to the study of the thermodielectric effect*. Il Nuovo Cimento B (1965-1970), 64(1): p. 145-150.
18. Gross, B. (1954), *Theory of Thermodielectric Effect*. Physical Review, 94(6): p. 1545-1551.
19. Latham, J. and B.J. Mason (1961), *Electric Charge Transfer Associated with Temperature Gradients in Ice*. Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences, 260(1303): p. 523-536.

20. Tavares, A.D. (1974), *Experimental proof of the existence of the double space charge developed in dielectrics by the Costa Ribeiro effect*. *physica status solidi (a)*, 21(2): p. 717-724.
21. Jayaratne, E.R. (1991), *Charge separation during the impact of sand on ice and its relevance to theories of thunderstorm electrification*. *Atmospheric Research*, 26(5): p. 407-424.
22. Krause, B. and M. Renninger (1956), *Kristallgittermodelle infolge von elektrischer Aufladung bei Kristallisation*. *Acta Cryst.* , (9): p. 74-81.
23. Evans, G.J. (1984), *A new crystal-growing technique: the reciprocal of the thermodielectric effect*. *Journal of the Chemical Society, Faraday Transactions 1: Physical Chemistry in Condensed Phases*, 80(8): p. 2343-2348.
24. Cuculescu, I., et al. (1983), *Costa Ribeiro Effect in Some Cholesteryl Esters*. *Phase Transitions*, 3: p. 141-148.
25. Tavares, A.D. (1988), *The costa ribeiro effect and allied phenomena*. *Journal of Molecular Liquids*, 39(0): p. 171-194.
26. Vogel, H. (1999), *Gerthsen Physik*. 20. Aufl. ed. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
27. Gerhard-Multhaupt, R. (1999), *Electrets*, in *Wiley Encyclopedia of Electrical and Electronics Engineering*, J. Webster. John Wiley & Sons, Inc. p. 220-229.
28. Mascarenhas, S. (1987), *Bioelectrets : Electrets in biomaterials and biopolymers*, G. Sessler, Editor. Springer Berlin / Heidelberg. p. 321-346.
29. Menefee, E. (1974), *CHARGE SEPARATION ASSOCIATED WITH DIPOLE DISORDERING IN PROTEINS*. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 238(1): p. 53-67.
30. Van den Berg, F.e.a. (2005), *Organsysteme verstehen und beeinflussen*. 2 ed. *Angewandte Physiologie*. Vol. 2. Stuttgart: Thieme.

31. (1985), *Wissenswertes zur Gerinnung*, R.D. GmbH: Mannheim.
32. Brox, C. and W. Ruppert (1998), *Die Blutgerinnung - eine Enzymkaskade (Unterrichtsmodell für die Sekundarstufe I)*. UB 238, 22. Jahrg.(Oktober 1998).
33. Neumann, H. (2008), *Das Gerinnungssystem*. Berlin: ABW Wissenschaftsverlag.
34. Zbinden, G., H. Wunderli-Allenspach, and L. Grimm (1989), *Assessment of thrombogenic potential of liposomes*. Toxicology, 54(3): p. 273-280.
35. Larsson, R., P. Olsson, and U. Lindahl (1980), *Inhibition of thrombin on surfaces coated with immobilized heparin and heparin-like polysaccharides: A crucial non-thrombogenic principle*. Thrombosis Research, 19(1-2): p. 43-54.
36. Blombäck, B. (1996), *FIBRINOGEN AND FIBRIN-PROTEINS WITH COMPLEX ROLES IN HEMOSTASIS AND THROMBOSIS*. Thrombosis Research, 83(1): p. 1-75.
37. Graeff, H., R. von Hugo, and R. Hafter (1973), *In vivo formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma*. Thrombosis Research, 3(5): p. 465-476.
38. Hsieh, K.-h. (1997), *THROMBIN INTERACTION WITH FIBRIN POLYMERIZATION SITES*. Thrombosis Research, 86(4): p. 301-316.
39. Hudry-Clergeon, G., et al. (1975), *Models proposed for the fibrinogen molecule and for the polymerization process*. Thrombosis Research, 6(6): p. 533-541.
40. von Hugo, R. and H. Graeff (1973), *Formation of soluble fibrin monomer complexes in human plasma*. Thrombosis Research, 3(2): p. 183-190.
41. Henschen, A. (1983), *On the structure of functional sites in fibrinogen*. Thrombosis Research, 29, Supplement 2(0): p. 27-39.

42. Michelsen, A.E., et al. (2000), *The charge-heterogeneity of human fibrinogen as investigated by 2D electrophoresis*. Thrombosis Research, 100(6): p. 529-535.
43. Ramasamy, N., et al. (1974), *Electrochemical and enzymatic behavior of fibrinogen*. Bioelectrochemistry and Bioenergetics, 1(1-2): p. 244-258.
44. Gersh, K.C., et al. (2009), *The presence of γ' chain impairs fibrin polymerization*. Thrombosis Research, 124(3): p. 356-363.
45. Britton, D.W., J.S. Lawrie, and G.D. Kemp (1982), *The influence of calcium ions on the conformation of fibrinogen fragment D: The use of chemical cross-linking agents*. Thrombosis Research, 27(2): p. 167-173.
46. Okada, M. and B. Blombäck (1983), *Calcium and fibrin gel structure*. Thrombosis Research, 29(3): p. 269-280.
47. Ly, B. and P. Kierulf (1975), *Radioiodinated human fibrinogen. In vitro effects of increasing iodination*. Thrombosis Research, 6(5): p. 387-398.
48. Rotoli, B., J.P. Miletich, and P.W. Majerus (1978), *The relation of conductivity to the binding of thrombin to human platelets*. Thrombosis Research, 13(6): p. 1103-1109.
49. Mintz, M. (1990), *Apparatus for detecting a blood clot and associated methods*, International Technidyne Corp. EP 0 365 722 A1, E. Patentamt.
50. Greiner, R. and M. Sanz (1969), *Verfahren zur Bestimmung der Blutgerinnung*, Greiner Electronic AG. CH 478 410, E.A.f.g. Eigentum.
51. Gabriel, D.A., L. Melton, and G. Dehmer (1998), *Applications of a hollow fiber device to monitor hemostasis*. Thrombosis Research, 92(6, Supplement 2): p. S59-S65.
52. Kamada, H., et al. (2004), *In vitro evaluation of blood coagulation activation and microthrombus formation by a*

- microchannel array flow analyzer*. Thrombosis Research, 114(3): p. 195-203.
53. Ozeki, Y., et al. (2001), *Characterization of Whole Blood Aggregation with a New Type of Aggregometer by a Screen Filtration Pressure Method*. Thrombosis Research, 101(2): p. 65-72.
 54. Breda, E. and A. Ciotti (1982), *Vorrichtung zum Erkennen der Blutgerinnung, der Anreicherung und Zusammenballung von Blutplättchen und dgl.*, SALUS Ricerca e Sviluppo di Croce Dr. Francesco & C. Snc. AT 0 061 431 E, Ö. Patentamt.
 55. Breda, E. and A. Ciotti (1985), *Method for studying blood coagulation and the aggregation of platelets in the blood, and device employed to carry out said method*, SALUS Ricerca e Sviluppo di Croce Dr. Francesco & C. Snc. EP 0 062 616 A1, E. Patentamt.
 56. Gross, W. and W. Stewart (1971), *Verfahren und Vorrichtung zur Bestimmung der Blutgerinnungszeit*, Medical Laboratory Automation Inc. DE 1 598 788 A, D.P.-u. Markenamt.
 57. Lipscomb, M. (1986), *Methods for coagulation monitoring*, Ortho Diagnostics Systems Inc. EP 0 178 910 A2, E. Patentamt.
 58. Saito, Y., K. Sekiya, and M. Takahashi (1980), *Method of measuring blood clotting time*, Sankyo Company Ltd. US 4,217,107, U.S.P.a.T. Office.
 59. Adler, S. (1973), *Method and apparatus for determining the coagulation time of a fluid*, GB 1 325 730, I.P.O.o.U. Kingdom.
 60. Ismagilov, R., et al. (2007), *Method and apparatus for assaying blood clotting*, University of Chicago. WO 2007/089777 A2, W.I.P. Organization.
 61. Mann, G., D. Rand, and K. Cawthern (2004), *Methods for assaying clotting in plasma*, The University of Vermont and State Agricultural College. EP 1 084 270 B1, E. Patentamt.

62. Mann, G., D. Rand, and K. Cawthern (2005), *Verfahren zur Bestimmung der Blutgerinnung in Plasma*, The University of Vermont and State Agricultural College. DE 699 19 702 T2, D.P.-u. Markenamt.
63. Fischer, F., et al. (2006), *Evaluation of the automated coagulation analyzer Sysmex® CA-7000*. *Thrombosis Research*, 117(6): p. 721-729.
64. Hoak, D.R., et al. (1985), *A fully automated method for clot based coagulation panels using an MCA Multistat Centrifugal Analyzer*. *Thrombosis Research*, 39(4): p. 485-499.
65. Tanimizu, K. and T. Kadota (1994), *Blutgerinnungsanalysator*, Shimadzu Corp. DE 43 31 881 A1, D.P.-u. Markenamt.
66. van Geffen, M. and W.L. van Heerde (2011), *Global haemostasis assays, from bench to bedside*. *Thrombosis Research*, doi: 10.1016/j.thromres.2011.12.006.
67. Ur, A. (1970), *Verfahren und Anordnung zur Ermittlung der Blutgerinnzeit*, DE 1 947 051 A, D.P.-u. Markenamt.
68. Ur, A. (1972), *Blood coagulation detection method and apparatus*, US 3,699,437, U.S.P.a.T. Office.
69. Theiss, W. and A. Ulmer (1978), *Comparative and direct measurement of the electrical impedance in blood coagulation relativ- und absolutmessung der elektrischen impedanz in der gerinnungsdiagnostik*. *Thrombosis Research*, 13(5): p. 751-765.
70. Berney, H. and J. O'Riordan (2008), *Impedance Measurement Monitors Blood Coagulation*. *Analog Dialogue*, 42-08(August).
71. Pamula, V., S. Emani, and A. Eckhardt (2009), *Droplet actuator techniques using coagulatable samples*, Advanced Liquid Logic, Inc. WO 2009/135205 A2, W.I.P. Organization.
72. Richter, T., et al. (2007), *Device for measuring blood coagulation and method thereof*, Inverness Medical Limited. WO 02/50534 A1, W.I.P. Organization.

73. Rosemberg, Y., F. Fish, and R. Levi (2010), *Device for the determination of blood clotting by resistance*, Inverness Medical Switzerland GmbH. EP 1 064 532 B1, E. Patentamt.
74. Eyerer, P. (2012), *Beobachtungen bei Widerstandsmessungen an Duroplasten*. Pers. Mitteilung an A. Bender, 25.06.2012, Fraunhofer-ICT, Pfinztal,
75. (2005), *Coagulation - Evaluation of the CoaguChek XS System*. Roche Diagnostics GmbH: Mannheim.
76. Cosmi, B., et al. (2000), *Accuracy of a Portable Prothrombin Time Monitor (Coagucheck) in Patients on Chronic Oral Anticoagulant Therapy: A Prospective Multicenter Study*. *Thrombosis Research*, 100(4): p. 279-286.
77. Unkrig, V., et al. (2001), *Elektrochemischer Sensor zur Bestimmung der Blutgerinnung, ein entsprechendes Blutgerinnungsmeßsystem sowie ein Verfahren zur Bestimmung der Blutgerinnung*, Roche Diagnostics GmbH. WO 01/63271 A1, W.f.g. Eigentum.
78. Unkrig, V., et al. (2001), *Elektrochemischer Sensor zur Bestimmung der Blutgerinnung, ein entsprechendes Blutgerinnungsmeßsystem sowie ein Verfahren zur Bestimmung der Blutgerinnung*, Roche Diagnostics GmbH. DE 100 16 775 A1, D.P.-u. Markenamt.
79. Hentrich, D.P., et al. (2007), *INR comparison between the CoaguChek® S and a standard laboratory method among patients with self-management of oral anticoagulation*. *Thrombosis Research*, 119(4): p. 489-495.
80. Jina, N. (2005), *Verfahren und Gerät zur Messung der Blutkoagulation oder Lyse mit Hilfe von Viskositätsänderungen*, Hemosense, Inc. DE 698 28 319 T2, D.P.-u. Markenamt.
81. Seitz, L. and J. Bowen (1969), *Verfahren und Vorrichtung zum Feststellen von Viskositätsänderungen, insbesondere für die Untersuchung der Blutgerinnung*, Baxter Laboratories Inc. DE 1 930 270 A, D.P.-u. Markenamt.

82. Wu, J. and M. Moreno (2000), *Devices and methods for performing blood coagulation assays by piezoelectric sensing*, Akzo Nobel N.V. WO 00/31529 A1, W.I.P. Organization.
83. Chien, S.e.a. (1966), *Effects of hematocrit and plasma proteins on human blood rheology at low shear rates*. J. Appl. Physiol., 81(7).
84. Fukada, E. and M. Kaibara (1976), *Rheological measurements of fibrin gels during clotting*. Thrombosis Research, 8, Supplement 2(0): p. 49-58.
85. Klose, H.J., H. Rieger, and H. Schmid-Schönbein (1975), *A rheological method for the quantification of platelet aggregation (PA) in vitro and its kinetics under defined flow conditions*. Thrombosis Research, 7(2): p. 261-272.
86. Delangis, P.A. and T.F. Yen (1986), *Electronic Antihemocoagulation*. Artificial Cells, Blood Substitutes and Biotechnology, 14(3-4): p. 195-225.
87. Linnemann, M. and M. Kühl (2005), ed.^eds. *Biochemie für Mediziner*. 7 ed. Ein Lern- und Arbeitsbuch mit klinischem Bezug, Springer-Verlag: Berlin, Heidelberg.
88. Rienmüller, J. (1959), *Gleichstromeinwirkung auf das menschliche Blut*, in *Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering*. de Gruyter. p. 161–165.
89. Seaman, G. (1976), *Electrochemical features of platelet interactions*. Thrombosis Research, 8, Supplement 2(0): p. 235-246.
90. Janssen, C.L., G. Wijngaards, and W.H. van Leeuwen (1973), *The influence of the surface charge of phospholipids on the activity of the prothrombin converting complex*. Thrombosis Research, 2(6): p. 525-537.
91. Karmochkine, M., et al. (1994), *The effect of sera with antiphospholipid antibodies on endothelial cell procoagulant activity is dependent upon the charge of the phospholipids*

- against which they are directed*. Thrombosis Research, 74(4): p. 435-440.
92. McGee, M.P., H. Teuschler, and J. Liang (1999), *Electrostatic interactions during activation of coagulation factor IX via the tissue factor pathway: effect of univalent salts*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease, 1453(2): p. 239-253.
 93. Drasler, W., et al. (2008), *Vascular sealing device and method using clot enhancing balloon and electric field generation*, Boston Scientific Scimed, Inc. WO 2008/097956 A1, W.I.P. Organization.
 94. Kusada, A., N. Isogai, and B.C. Cooley (2007), *Electric injury model of murine arterial thrombosis*. Thrombosis Research, 121(1): p. 103-106.
 95. Massad, L., et al. (1987), *Electrically induced arterial thrombosis model in the conscious rat*. Thrombosis Research, 48(1): p. 1-10.
 96. Lamb, J.C., et al. (1965), *Electrical thrombosis of blood vessels: A voltage-dependent phenomenon*. American Journal of Physiology -- Legacy Content, 208(5): p. 1006-1008.
 97. Gözen, A.S., D. Teber, and J.J. Rassweiler (2007), *Principles and initial experience of a new device for dissection and hemostasis*. Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies, 16(1): p. 58-65.
 98. Luciano, A.A., R.M. Soderstrom, and D.C. Martin (1994), *Essential principles of electrosurgery in operative laparoscopy*. The Journal of the American Association of Gynecologic Laparoscopists, 1(3): p. 189-195.
 99. Giansante, C., et al. (2000), *Coagulation indicators in patients with paroxysmal atrial fibrillation: Effects of electric and pharmacologic cardioversion*. American Heart Journal, 140(3): p. 423-429.

100. Takada, Y., et al. (1998), *Effects of Electric Footshock and Water Immersion Restraint Stresses on Fibrinolytic Parameters in the Plasma of Rats*. Thrombosis Research, 89(3): p. 107-114.
101. Urano, T., et al. (1994), *Electric-foot-shock induced the supression of fibrinolytic activity in rats*. Thrombosis Research, 74(6): p. 595-603.
102. Choi, J.e.a. (2010), *900-MHz Nonthermal Atmospheric Pressure Plasma Jet for Biomedical Applications*. Plasma Process. Polym., 2010(7): p. 258–263.
103. Kalghatgi, S.e.a. (2007), *Mechanism of Blood Coagulation by Nonthermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge Plasma*. IEEE Transactions on Plasma Science, 35(5): p. 1559-1566.
104. Eyerer, P., et al. (2009), *Forschendes Lernen mit Ernstcharakter - Elektrische Ladungstrennung bei der Gerinnung von Blut*. 100. MNU Kongress, Regensburg, Verein zur Förderung des mathematischen und naturwissenschaftlichen Unterrichts e.V.
105. Sachs, U.J.H. and J. Bux (2011), *Gewinnung, Herstellung und Lagerung von Blut und Blutkomponenten*, in *Transfusionsmedizin und Immunhämatologie*, V. Kiefel and C. Mueller-Eckhardt, Editors. Springer Berlin Heidelberg. p. 223-243.
106. Müller, M. (2010), *Entwicklung polymerer Stents - Theorie und Praxis der Blutsimulation und der Fließmodelle* 39. Jahrestagung, 17.-19.03.2010, Stutensee-Blankenloch, Gesellschaft für Umweltsimulation (GUS).
107. *Chirurgische Implantate - Metallische Werkstoffe*, DIN-ISO 5832 1,7.
108. *Standard Specification for Wrought Nickel-Titanium Shape Memory Alloys for Medical Devices and Surgical Implants*, ASTM F2063 05.

109. Buchberger, W. (1998), *Elektrochemische Analyseverfahren*. Heidelberg Berlin: Spektrum Akademischer Verlag.
110. Orazem, M.E. and B. Tribollet (2008), *Electrochemical Impedance Spectroscopy*. Weinheim: Wiley-VCH Verlag.
111. Mezger, T. (2000), *Das Rheologie-Handbuch – für Anwender von Rotations- und Oszillations-Rheometern*. Hannover: Vincentz-Verlag.
112. Schinköthe, W. (2006), *Grundlagen der Feinwerktechnik*. Skript zur Vorlesung: Universität Stuttgart.
113. *Schutzmaßnahmen; Schutz gegen gefährliche Körperströme*, Normenreihe DIN VDE 0100 410.
114. Günzler, H. and H. Böck (1975), *IR-Spektroskopie – Eine Einführung*. Weinheim/Bergstr.: Verlag Chemie.

Eigene Veröffentlichungen

1. Eyerer, P. and A. Bender (2011), *Elektretverhalten von Kunststoffen und Blut bei Phasenänderungen (Vernetzung, Schmelzen/Erstarren, Gerinnung) - Zerstörungsfreie Prüfung eröffnet neue Möglichkeiten*. 40. Jahrestagung, 30.03.-01.04.2011, Stutensee-Blankenloch, Gesellschaft für Umweltsimulation e.V.
2. Bender, A. (2011), *Elektrische Effekte bei der Aushärtung von Kunststoffteilen - Zerstörungsfreie Prüfung eröffnet neue Möglichkeiten*. 26. H.F. Mark-Symposium, 06.10.2011, Wien (AT), Österreichische Gesellschaft für Umweltsimulation.
3. Bender, A., U. Förter-Barth, and P. Eyerer (2012), *Rheologische und (di)elektrische Messungen an polymeren und an kristallinen Systemen*. 41. Jahrestagung der Gesellschaft für Umweltsimulation e.V., 14.-16.03.2012, Stutensee-Blankenloch, Gesellschaft für Umweltsimulation e.V.
4. Bender, A., U. Förter-Barth, and P. Eyerer (2012), *Rheological and (di)electric measurements on biopolymers, like blood systems*. Jahrestreffen der Deutschen Rheologischen Gesellschaft zusammen mit Focustreffen "Rheologie" der Deutschen Physikalischen Gesellschaft, 29.-30.03.2012, TU Berlin, Deutsche Rheologische Gesellschaft.
5. Bender, A., U. Förter-Barth, and P. Eyerer (2012), *Rheological and (di)electric measurements on biopolymers, like blood systems*. XVIth International Congress on Rheology, August 5-10, 2012, Lisabon (PT), European Society of Rheology.
6. Eyerer, P. and A. Bender (2012), *Verfahren und Vorrichtung zur Detektion, Messung und/oder Beeinflussung der Gerinnung von Blutsystemen*, Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung e.V., DE 10 2011 006 349 A1, offengelegt am 04.10.2012, Deutsches Patent-und Markenamt.
7. Eyerer, P. and A. Bender (2012), *Verfahren und Vorrichtung zur Detektion, Messung und/oder Beeinflussung der Gerinnung von Blutsystemen*, Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der ange-

wandten Forschung e.V., EP 2 505 134 A1, offengelegt am 03.10.2012, Europäisches Patentamt.

Lebenslauf von Angelika Dorothea Bender

1980 Geboren am 27. Mai in Karlsruhe
1999 Abitur am Markgrafen-Gymnasium in Karlsruhe

Naturwissenschaftlich-technische Ausbildung und Tätigkeit

1999 - 2005 Physikstudium an der Universität Karlsruhe (TH) und der Université Joseph Fourier (UJF) in Grenoble (FR)
2001 - 2005 Stipendium der Konrad-Adenauer-Stiftung
2003 - 2004 Stipendium der Deutsch-Französischen Hochschule
2004 Master der UJF Grenoble
2005 Diplom der TH Karlsruhe
2009 - 2012 Promotionsstudium an der Universität Stuttgart

1998 - 2002 Wissenschaftliche Hilfskraft am Fraunhofer-Institut für Chemische Technologie ICT in Pfinztal
2004 - 2005 Master- und Diplomarbeit am LPMCM des CNRS Grenoble und am TFP der Universität Karlsruhe
2009 - 2012 Wissenschaftliche Mitarbeiterin am Fraunhofer ICT

Ausbildung und Tätigkeit auf dem Gebiet des gewerblichen Rechtsschutzes

2005 - 2009 Ausbildung zur Patentanwältin in einer Kanzlei in Stuttgart, am Landgericht Mannheim und bei den Patentbehörden in München
2006 - 2008 Studium „Recht für Patentanwälte“ an der FernUniversität Hagen
2009 Ablegen der Patentassessorprüfung

2010 Zulassung als Patentanwältin
2011 Zulassung als European Patent Attorney
2010-2012 Tätigkeit als Syndikuspatentanwältin