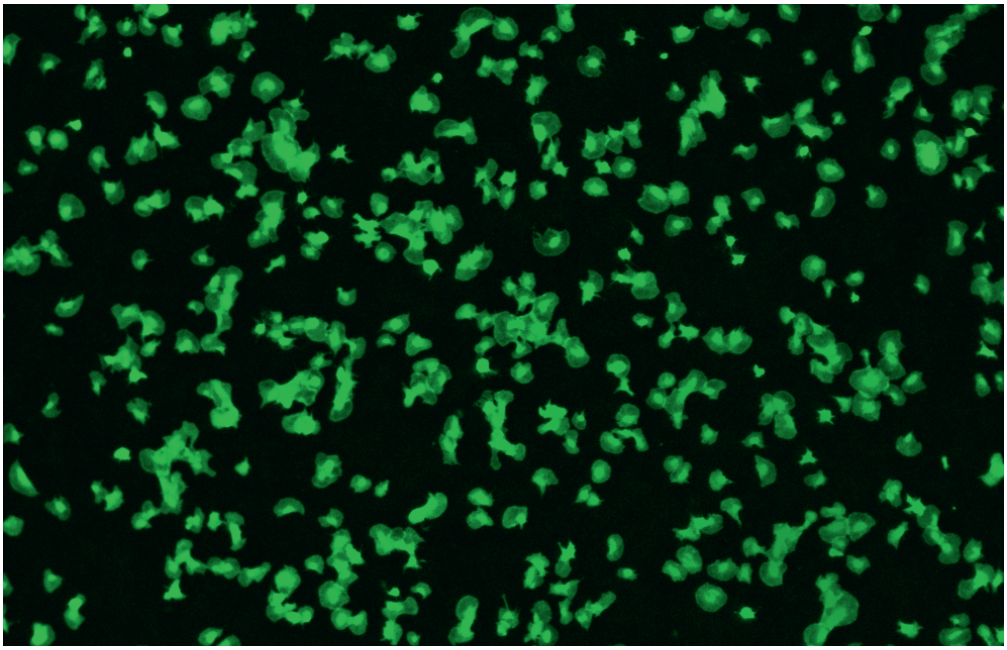
RWTH AACHEN UNIVERSITY

Band 55

Johanna C. Clauser

A New Analysis Method for Optical In-vitro Hemocompatibility Assessment



Aachener Beiträge zur Medizintechnik

Herausgeber:

Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dr. med. Dr. h. c. Steffen Leonhardt
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Klaus Radermacher
Univ.-Prof. Dr. med. Dipl.-Ing. Thomas Schmitz-Rode

A New Analysis Method for Optical In-vitro Hemocompatibility Assessment

Eine neue Methode zur optischen Auswertung von In-vitro-Hämokompatibilitätsuntersuchungen

Von der Fakultät für Maschinenwesen der
Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades einer
Doktorin der Naturwissenschaften genehmigte Dissertation

vorgelegt von
Johanna Charlotte Clauser

Berichter: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Ulrich Steinseifer
Prof. Dr. rer. nat. Benjamin Berkels
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Christian Hopmann

Tag der mündlichen Prüfung: 13. September 2019

Aachener Beiträge zur Medizintechnik 55
Herausgeber:
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Dr. med. Dr. h. c. Steffen Leonhardt
Univ.-Prof. Dr.-Ing. Klaus Radermacher
Univ.-Prof. Dr. med. Dipl.-Ing. Thomas Schmitz-Rode

Johanna C. Clauser

A New Analysis Method for Optical In-vitro Hemocompatibility Assessment

Ein Beitrag aus dem Institut für Angewandte Medizintechnik der RWTH Aachen, Lehr- und Forschungsgebiet Kardiovaskuläre Technik (Leitung: Univ.-Prof. Dr.-Ing. Ulrich Steinseifer).

RWTH AACHEN UNIVERSITY

Shaker Verlag
Düren 2019

Bibliographic information published by the Deutsche Nationalbibliothek
The Deutsche Nationalbibliothek lists this publication in the Deutsche Nationalbibliografie; detailed bibliographic data are available in the Internet at http://dnb.d-nb.de.

Zugl.: D 82 (Diss. RWTH Aachen University, 2019)

Printed in Germany.

ISBN 978-3-8440-6983-9
ISSN 1866-5349

Shaker Verlag GmbH • Am Langen Graben 15a • 52353 Düren
Phone: 0049/2421/99011-0 • Telefax: 0049/2421/99011-9
Internet: www.shaker.de • e-mail: info@shaker.de

Acknowledgements

I would like to thank Univ.-Prof. Dr.-Ing. Ulrich Steinseifer for the opportunity to do my PhD at the Department of Cardiovascular Engineering, RWTH Aachen University. I am very thankful for his support and encouragement and appreciate his trust into my work and me. Prof. Dr. rer. nat. Benjamin Berkels supported me especially during the last 2 years of this thesis with great engagement and guidance into a completely new topic. I would also like to thank Univ.-Prof. Dr.-Ing. Christian Hopmann for co-reviewing this thesis.

I am very grateful to Jutta Arens and Fotios Risvanis, who both gave me lots of advice and support as colleagues and good friends. During my early times at CVE, Sebastian Jansen took care of me and turned into a close friend later. He continued fruitful discussion with me and never lost his interest into my work. I want to give special thanks to Ilona Mager and Judith Maas, who supported me with numerous blood trials and never hesitated to do even more if needed. The same applies to all my students, who spent many hours in the blood lab and at the microscope, especially Sabrina Stechling who supported me over many years. In general, I would like to thank all former and current colleagues at CVE who all contributed to our nice working atmosphere. Several of them turned into friends, just like Indra Mueller, Jan Roggenkamp, Stephanie Ziegler, Kathrin Gester and Eva Woelke.

I am very grateful for all my other friends outside the CVE, who always listened to my thoughts and problems and were very indulgently during difficult times. Special thanks go to Jessica Ritter, who accompanied me during all times since the beginnings at university.

Without the endless support of my family and particularly my parents, my life would have been much harder. I am so grateful that they are always behind me, supporting me with love, advice and discussion, if needed. I am incredibly thankful to my husband David Clauser, who always gave me his unlimited support and his love, which made me smile by the end of each single day.

Abstract

The major challenge in the field of blood contacting medical devices such as artificial heart valves or stents is still the biocompatibility and especially the hemocompatibility of the artificial materials. When a foreign material gets in contact to the human blood, a cascade of events is initiated resulting in platelet adhesion on the material as well as thrombus formation. Such thrombi can lead to failure of the medical device or thromboembolic events like stroke or heart attack. Anticoagulation therapies can prevent thrombus formation; however, they bear a high risk of life threatening bleeding events for the patients. Thus, research in the field of new and modified materials with improved hemocompatibility is essential to overcome the current limitations. However, in-vitro hemocompatibility assessment of materials is still lacking standardization and comparability, which makes research in this field even more complicated. Microscopy is widely used to analyze adherent platelets on materials following in-vitro testing. Nevertheless, studies are hardly comparable due to different manual or semi-manual platelet analyses and a strong variability with regard to the analyzed sample area.

This thesis provides a new analysis method for the optical in-vitro hemocompatibility assessment of materials as an approach towards standardization. By means of a segmentation and a random forest machine learning algorithm, platelet count and activation state analysis are completely automated, allowing for a user-independent and comparable analysis. Additionally, the impact of analyzed sample area on the result is evaluated, proving a correlation to the result variability. The necessary threshold of analyzed sample area fraction for statistically valid results is determined and included into the new analysis method. As a proof-of-concept, two in-vitro hemocompatibility test series, one with different materials and one with microstructured surfaces, are analyzed by means of the new analysis method. In the future, the new method might overcome the limits of standardized hemocompatibility assessment, thus allowing for successful research in the field of blood contacting artificial materials.

Kurzfassung

Die Hämokompatibilität von blutkontaktierenden Medizinprodukten, wie z.B. künstlichen Herzklappen oder Stents, ist nach wie vor die größte Limitation von künstlichen Materialien. Kommen die Materialien mit Blut in Kontakt wird eine Reihe von körpereigenen Mechanismen ausgelöst, die zur Ablagerung von Thrombozyten und zur Thrombenbildung führen. Dies kann die Funktion des Medizinprodukts erheblich beeinträchtigen und zu Thromboembolien und in Folge dessen zum Herzinfarkt oder Schlaganfall führen. Eine Behandlung mit Antikoagulanzien kann dem zwar entgegenwirken, birgt allerdings das hohe Risiko lebensbedrohlicher Blutungskomplikationen. Daher ist die Forschung auf dem Gebiet blutkontaktierender Materialien essentiell. Allerdings gibt es vor allem im Bereich der Analyse von In-vitro-Versuchen aktuell noch Defizite im Hinblick auf Standardisierung und Vergleichbarkeit der Ergebnisse. Oftmals wird die Mikroskopie verwendet, um anhaftende Thrombozyten zu analysieren. Hierbei werden verschiedene manuelle oder semi-manuelle Auswerteverfahren genutzt, die sich zusätzlich in Bezug auf den Anteil der ausgewerteten Probenfläche so deutlich unterscheiden, dass eine Vergleichbarkeit nahezu unmöglich ist.

In dieser Arbeit wird eine neue Methode zur optischen Analyse von In-vitro-Hämokompatibilitätsversuchen erarbeitet, die ein erstes Konzept für die Standardisierung von optischen Analysen darstellt. Mithilfe eines Segmentierungs-Algorithmus und eines maschinell angelernten Programms wird das Auszählen von anhaftenden Thrombozyten sowie die Analyse ihres Aktivierungsgrades vollständig automatisiert und dadurch nutzerunabhängig gestaltet. Zusätzlich wird ein Zusammenhang zwischen dem ausgewerteten Flächenanteil und der Streuung der Ergebnisse gezeigt. Der für statistisch valide Ergebnisse notwendige Flächenanteil wird bestimmt und in die neue Methode integriert. Diese wird anhand von unterschiedlichen Materialien und mikrostrukturierten Oberflächen auf ihre Anwendbarkeit hin überprüft. Mithilfe dieser neuen Analysemethode könnten zukünftig die Standardisierungsprobleme im Bereich von Hämokompatibilitätsuntersuchungen überwunden und so die Forschung auf dem Gebiet der blutkontaktierenden Materialien weiter vorangetrieben werden.

Content