

Aus der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Direktor: Prof. Dr. med. Jochen Cremer

Evaluierung von Oberflächeneigenschaften und Funktion einer mechanischen trikuspiden Aortenklappe in vitro und in vivo

Inauguraldissertation
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

Vorgelegt von
Elena Hensler
Geboren in Krasnoturjinsk, Russland

2009

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Lutter

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Frey

Tag der mündlichen Prüfung: 04.03.2010

Zum Druck genehmigt, Kiel, den 04.03.2010
Gez. Prof. Dr. Cremer

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung	
1.1. Historischer Überblick	1
1.2. Eigenschaften der Doppelflügelklappen	2
1.3. Verbesserung der mechanischen Klappenprothesen	2
1.4. Zielsetzung der Arbeit	4
2. Material und Methoden	
<i>2.1. Oberflächenanalyse</i>	
2.1.1. Materialtestung	5
2.1.2. Implantationsvorgang	8
2.1.3. Präparation der Testoberflächen für die Auswertung	10
2.1.4. Auswertungsverfahren	10
<i>2.2. Klappenverhalten im Flussmodell</i>	
2.2.1. Materialanalyse	11
2.2.2. Flußmodell	13
2.2.3. Versuchsdurchführung	14
2.2.4. Untersuchung der Klappendynamik mittels Röntgen	14
<i>2.3. Klappenimplantation in vivo</i>	
2.3.1. Tierwahl und operativer Ablauf	15
2.3.2. Beobachtungszeit	17
<i>2.4. Optimierung des bestehenden Klappenmodells</i>	
2.4.1. Materialtestung	18
2.4.2. Versuchsdurchführung	19
3. Ergebnisse	
<i>3.1. Oberflächenanalyse</i>	
3.1.1. Thrombusformation	
- Makroskopisch	22
- Quantitative Darstellung	24
3.1.2. Rasterelektronenmikroskopische Auswertung der Oberflächen	28
<i>3.2. Klappenverhalten im Flussmodell</i>	

3.2.1. Hämkompatibilität unterschiedlicher Oberflächen	33
3.2.2. Untersuchung der Klappenfunktion mittels Röntgen	35
3.3. <i>Klappenimplantation in vivo</i>	36
3.4. <i>Optimierung des bestehenden Klappenmodells</i>	38
4. Diskussion	40
5. Limitationen	50
6. Zukunftsaussichten	52
7. Zusammenfassung	53
8. Anhang	
8.1. Abkürzungsverzeichnis	54
8.2. Literaturverzeichnis	55
9. Danksagung	58
10. Lebenslauf	59

1. Einleitung

Das Klappenersatzverfahren stellt heute neben den rekonstruktiven Eingriffen (Kommissurotomie, Anuloplastie, Valvulotomie) eine wichtige Therapiemöglichkeit sowohl bei erworbenen als auch kongenitalen Herzklappenerkrankungen dar. Die Herzklappen des linken Herzens sind am stärksten betroffen. Besonders bei den Aortenklappenervitien wird der Klappenersatz durchgeführt, während Mitralklappenfehler zunächst mit rekonstruktiven Techniken therapiert werden (Berchtold 2006). Man unterscheidet zwischen einem mechanischen und einem biologischen Klappenersatzverfahren. Bei den biologischen Klappenprothesen handelt es sich um tierisches oder menschliches Gewebe, das in einem Metall-/Plastikgerüst befestigt wird. Die mechanischen Herzklappen werden nach ihrem Design in drei Gruppen unterschieden: Kugelprothesen, Kippdeckelprothesen und Doppelflügelklappen.

1.1. Historischer Überblick

Die Historie der mechanischen Herzklappenprothesen begann im Jahr 1953, als Charles Hufnagel eine Kugelklappen- Prothese in die Aorta descendens eines Patienten mit Aorteninsuffizienz implantierte. Im Jahr 1960 wurde die erste Käfig-Ball-Prothese (erweitertes Modell der Kugelprothesen) von Dwight Harken in Aortenposition, von Albert Starr in Mitralsposition eingesetzt. Die Käfig-Ball-Prothese von Starr/Edwards gehört zu den meist verwendeten Kugelprothesen, die einen Metallkäfig aufweisen, in dem sich ein Silikon-Kautschuk-Ball auf und ab bewegt und als Verschlussmechanismus dient. 1966 wurde die erste Kippscheibenprothese von Jun Wada entwickelt, im Jahr 1969 folgten die Klappenprothese von Viking Björk und Donald Shiley und andere Variationen (Medtronic Hall, Omnicarbon- Prothese). Die Björk-Shiley-Prothese bestand aus einer freibeweglichen Scheibe aus pyrolytischem Carbon, die am Metallring durch zwei Bügel befestigt wurde. Während des Blutstromes befand sich die Scheibe in gekippter Position. Eine Veränderung im Klappenersatzverfahren brachte die Entwicklung der Doppelflügelklappen im Jahr 1979. Die erste zweiflügelige und meist implantierte mechanische Herzklappe stammte von dem Unternehmen St. Jude Medical (St. Paul, Minnesota). Die St. Jude- Prothese weist einen Ring und zwei halbkreisförmige Klappenflügel auf, die durch den Blutstrom in eine geöffnete Position gebracht werden. Die gesamte Klappe

besteht aus pyrolytischem Carbon. In den weiteren Jahren erschienen die Nachfolgemodelle wie Carbomedics und Sorin Bicarbon.

1.2. Eigenschaften der Doppelflügelklappen

Die pyrolytischen Zweiflügelprothesen gehören heute zum Standard des mechanischen Klappenersatzes. Die Verbesserung der Hämodynamik und die geringere Thrombogenität sind die Vorteile dieser Prothesen. Die Konstruktion der Klappenflügel (St. Jude: maximaler Öffnungswinkel 85 Grad) ermöglicht einen relativ turbulenzfreien, homogenen Blutfluss über die Klappe und führt dadurch zu einem geringen transvalvulären Druck. Durch das Klappendesign der Zweiflügelprothese ist die Klappenöffnungsfläche am größten, bei den Kugelprothesen am kleinsten (Gott et al. 2003). Diese Aspekte zeigen, dass die Doppelflügelklappen der Hämodynamik der nativen Klappe am ehesten entsprechen. Ein weiterer Vorteil dieser Klappen ist ihre Größe. Dadurch wurde ein Klappenersatz mit kleinerem Durchmesser ermöglicht. Die Thrombogenität hat sich im Laufe der Klappengenerationen verbessert. Bei den Käfig-Ball-Prothesen wurde neben der Obstruktion des linksventrikulären Ausflusstraktes (Barner et al. 1994) eine erhöhte Thrombogenität und eine ausgeprägte Hämolyse beobachtet, bedingt durch die Pendelbewegungen des Silikon-Balls. Die Kippscheibenprothesen weisen dagegen vergleichbare thrombogene Eigenschaften wie Doppelflügelklappen auf (Vogt et al. 1990). Das Design der Zweiflügelklappen zeigte ebenfalls einige Schwachpunkte auf: Designbedingte Regurgitation (Bondar 1995) und aufgrund der vier Scharniere eine erhöhte Thrombengefahr.

1.3. Verbesserung der mechanischen Klappenprothesen

Trotz der fortschreitenden Entwicklung der mechanischen Herzklappen in den letzten Jahrzehnten konnte das Hauptproblem, die Thrombusformation und ihre Folgen, nicht gelöst werden. Die Patienten mit einem mechanischen Klappenersatz sind heute zu einer lebenslangen systemischen Antikoagulation verpflichtet. Um die Thrombusbildung eliminieren zu können, muss nicht nur das Design, sondern ebenfalls die Hämokompatibilität optimiert werden. Der Begriff Hämokompatibilität beschreibt die Blutverträglichkeit eines Materials, die für die Beurteilung der Thrombogenität relevant ist. Frühere Studien haben gezeigt, dass pyrolytischer Kohlenstoff nicht hämokompatibler als andere Beschichtungen wie Titan (Yang et al.

1996 b), DLC (Diamond like Carbon) (Yang et al. 1996 c), methyliertes Titan (Yang et al. 1996 a) ist. Das Titannitrid erwies sich als eine hämokompatiblere Oberfläche; sowohl im arteriellen als auch im venösen System (Yang et al. 1996 b, c) im Vergleich zum pyrolytischen Kohlenstoff. Dieser Aspekt wurde in der vorliegenden Arbeit aufgegriffen und thematisiert.

Ein Abschnitt der Arbeit beschäftigt sich mit der Designoptimierung. Der Aortenklappenersatz ist die häufigste Indikation für eine mechanische Prothese. Da die native Aortenklappe drei Klappenflügel besitzt, wurde 1986 eine dreiflügelige mechanische Klappenprothese entwickelt, um eine naturgetreue Hämodynamik zu erreichen. Die ersten Prototypen wurden 1992 in Tierversuchen untersucht (Gregoric et al. 2004). Man verspricht sich folgende Vorteile von der dreiflügeligen Klappe: bessere Strömungsdynamik durch den zentralen Blutfluss (mittig), leisere Schließungsgeräusche und weniger Kavitation (Hohlraumbildung in rasch strömenden Flüssigkeiten).

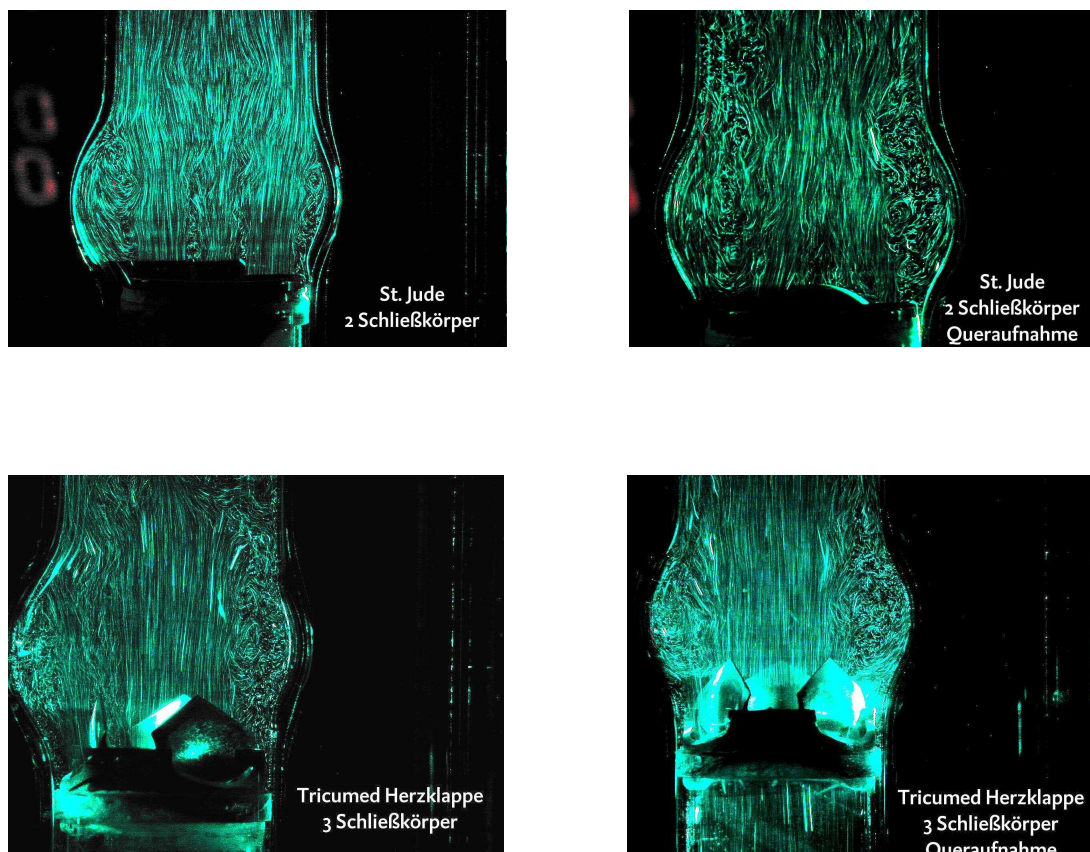


Abb.1: Darstellung der Strömungsprofile einer St. Jude- Prothese und einer trikuspiden Klappe (Quelle: Firma Tricumed).

1.4. Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel der folgenden Studie ist die Evaluierung der Hämokompatibilität der Titanitrid- Oberflächen im Vergleich zum pyrolytischen Kohlenstoff. Unter unterschiedlich hergestellten, behandelten Titanitrid- Beschichtungen soll die am besten hämokompatible Oberfläche ermittelt werden. Im Weiteren wird eine mechanische trikuspidale Aortenklappe in vitro und in vivo untersucht. Dabei soll die Funktion und die Dynamik der Prothese analysiert werden.

2. Material und Methoden

In dieser Studie wurden primär unterschiedliche Oberflächen auf die Hämokompatibilität untersucht, die für die Implantation einer mechanischen trikuspiden Klappe in Frage kommen. Außerdem wurde das Klappenverhalten/-funktion sowohl in vivo als auch in vitro beobachtet.

2.1. Oberflächenanalyse

2.1.1. Materialtestung

Im Rahmen dieser Studie wurden vier unterschiedliche Oberflächen auf die Hämokompatibilität geprüft und gegeneinander verglichen. Bei drei von vier Testflächen handelt es sich um einen metallischen Hartstoff namens Titannitrid. Dieser ist eine chemische Verbindung aus Titan und Stickstoff, die eine goldgelbe Farbe hervorruft. Titannitrid (TiN) wird häufig in Form von einer dünnen Beschichtung für medizinische und chirurgische Instrumente verwendet und findet auch bei der Implantation von Herzschrittmacherelektroden Gebrauch. Die Titannitrid-Beschichtungen können auf unterschiedliche Art und Weise hergestellt werden. Hier wurden die gelaserten, handpolierten und Hydroxylapatit- gestrahlten TiN-Oberflächen analysiert. Die Anfertigung dieser Beschichtungen erfolgte in mehreren Schritten. Zunächst wurde eine Titanlegierung als Grundlage für die weiteren Prozessvorgänge hergestellt. Dies erfolgte mittels MIM- Technik (Metal Injection Molding). Dieses Herstellungsverfahren ist eine Methode des Pulverspritzgießens. Dabei wird Metallpulver feinsten Körnung mit einem Binder aus verschiedenen Wachsen und Kunststoffen versetzt, anschließend wird die Pulverspritzgießmasse geformt, entbindert und gesintert. Der Nachteil des MIM- Verfahrens besteht in der Herbeiführung einer relativ großen Oberflächenrauigkeit. Im nächsten Abschnitt wurde Titannitrid mittels PVD (physical vapour deposition) aufgetragen. Um dieses Verfahren anwenden zu können, muss die Oberfläche möglichst glatt sein. Aus diesem Grund wurden die MIM- Produkte vor dem PVD- Verfahren nachbearbeitet:

- Die Testkörper wurden zum Teil mit einem Nassstrahlverfahren behandelt. Dabei wurden sie mit Hydroxylapatit im Strahlverfahren (flüssiges Strahlgut) beschossen, um die Testfläche einzuebnen. Der Vorteil dieses Verfahrens ist die mögliche Anwendung bei komplexen Oberflächen. Der Nachteil besteht darin, dass die Oberflächenrauigkeit nicht genügend ausgeglichen wird.
- Weitere Testoberflächen wurden manuell poliert. Dadurch konnte eine geringe Oberflächenrauigkeit erreicht werden. Leider ist dieses Verfahren sehr teuer und kann nur bei einfachen Flächen angewendet werden.
- Die zuletzt untersuchten Testflächen wurden mittels Laserpolitur behandelt. Bei der Laserpolitur wurde die Oberfläche mit einem Laserstrahl bis zum Schmelzen erhitzt und kurz darauf wieder abgekühlt. Beim Abkühlen zieht sich die Oberfläche der Schmelze durch die Oberflächenspannung zusammen, woraus eine Oberflächenglättung resultiert. Der Laserstrahl wird durch eine Maschine, die durch ein entsprechendes Programm gesteuert wird, über die Oberfläche geführt. Dies hat den Vorteil, gegenüber den anderen Verfahren, dass alle Oberflächenbereiche erreicht werden können. Außerdem sprechen hohe Reproduzierbarkeit und niedrigere Kosten für dieses Verfahren.

Die TiN- Oberfläche, die manuell poliert wurde, steht in dieser Studie im Vordergrund und wurde mit der Beschaffenheit der anderen TiN- Oberflächen verglichen. Als Referenzoberfläche wurde pyrolytischer Kohlenstoff verwendet. Pyrolytischer Kohlenstoff ist ein graphitartiges Material, das durch die Pyrolyse (= thermische Spaltung chemischer Verbindungen unter Sauerstoffausschluss, durch die ein Bindungsbruch innerhalb großer Moleküle erzwungen wird) eines gasförmigen/flüssigen Kohlenwasserstoffs hergestellt werden kann. Dieser pyrolytische Graphit findet eine Anwendung in der Herstellung mechanischer Herzklappen wie z. B. der St. Jude- Klappe (Gott et al. 2003). In dieser Studie wurden die Testflächen des pyrolytischen Kohlenstoffs aus einer St. Jude Klappe verwendet.

Um die oben genannten Oberflächen experimentell verwenden zu können, wurden sie in Form von Knöpfen dargestellt (Abb.2). Die so genannten Knöpfe bestehen aus einem Kopf-, Hals- und Endteil. Der Kopfteil beinhaltet die jeweilige Beschichtung, die getestet werden soll. Der Hals- und Endteil dienen zur Befestigung der Knöpfe in

der Aorta. Der Durchmesser der Knöpfe beträgt 10,75 mm und weist eine Fläche von 90,76 mm² auf.

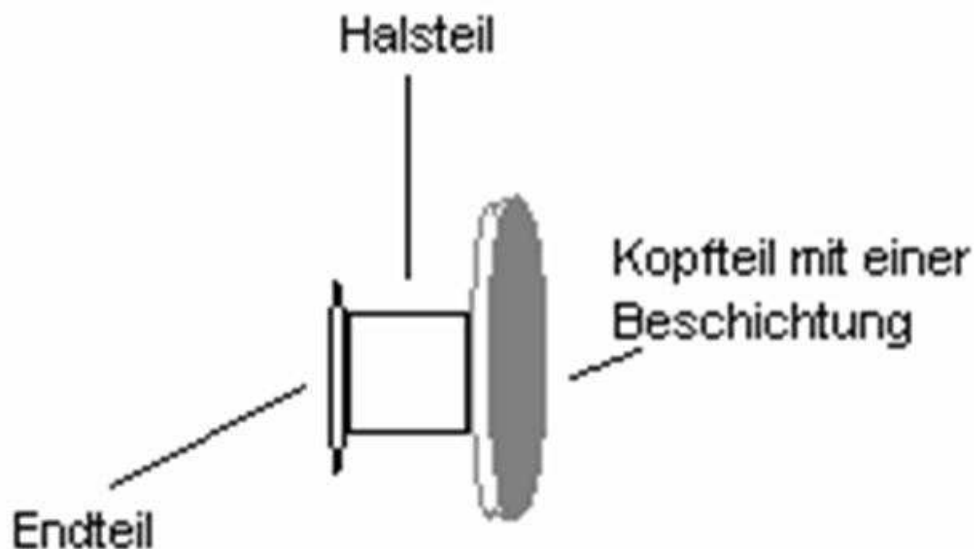


Abb.2: Knopfform mit Kopf-, Hals- und Endteil. Der Durchmesser beträgt 10,75mm.

Die Beschichtungen wurden in unterschiedlicher Reihenfolge in vivo implantiert (Tab.1). Für die Festlegung der Reihenfolge war zunächst der Vergleich der handpolierten Oberfläche mit gestrahlter und mittels Laser polierter Beschichtung aufgrund der Oberflächenglättung wichtig. Die PyC- Fläche diente als Referenzbeschichtung. Der mögliche Einfluss auf die Positionierung der handpolierten Beschichtung wurde ebenfalls berücksichtigt.

Im ersten Versuch wurden handpoliertes Titannitrid (hTiN), pyrolytischer Kohlenstoff (PyC) und das Hydroxylapatit gestrahlte Titannitrid (gTiN) untersucht. Aufgrund der verfälschten Ergebnisse bei der ersten Implantation musste dieser Testversuch wiederholt werden. Die Knöpfe wurden nach dem ersten Experiment vom Thrombusmaterial befreit und sorgfältig gereinigt. Bei der erneuten Implantation der Testoberflächen wies der gTiN- Knopf eine Unebenheit in der Oberflächenstruktur auf, die vermutlich infolge der Reinigung entstanden ist.

Beim zweiten Versuch wurden gTiN, PyC und hTiN implantiert. Im Vergleich zum ersten Experiment wurden hier das hTiN und gTiN in der Reihenfolge vertauscht, um den Einfluss der Blutströmung in Bezug auf die Oberflächen beobachten zu können.

Der dritte Testversuch beinhaltete folgende Beschichtungen: mittels Laser aufgetragenes TiN (ITiN), hTiN und PyC. Hier sollte die Beschaffenheit der handpolierten Fläche mit der gelaserten Oberfläche verglichen werden. Der ITiN-Knopf wies nach der Herstellung eine geringe rundförmige Vertiefung in der Oberfläche auf.

Beim vierten Versuch wurden PyC, hTiN und ITiN eingesetzt. Der ITiN- Knopf wies ebenfalls eine geringe Unebenheit der Oberfläche auf. Hier sollte wieder die Auswirkung des Blutstromes untersucht werden.

Versuche	Blutfluss →		
1	10 hTiN	5 PyC	23 gTiN
2	24 gTiN	6 PyC	11 hTiN
3	31 ITiN	9 hTiN	17 PyC
4	18 PyC	8 hTiN	34 ITiN

Tab.1: Reihenfolge der implantierten Knöpfe (Knöpfe sind nummeriert). hTiN= handpoliertes TiN; PyC= pyrolytischer Kohlenstoff; gTiN= Hydroxylapatit- gestrahltes TiN; ITiN= mit Laser aufgetragenes TiN.

2.1.2. Implantationsvorgang

Die Experimente wurden an fünf Schweinen mit einem Gewicht von 60- 80 kg durchgeführt. Die Tiere wurden gemäß den EU-Richtlinien für Tierversuche versorgt und behandelt. Der entsprechende Ethikantrag (Tierschutznummer:V312-72241.121-

6(79-7/06)) wurde vom Ministerium für Landwirtschaft/Umwelt und ländliche Räume genehmigt.

Die Testoberflächen wurden in dieser Studie in die Aorta descendens eingesetzt (Abb.3 A). Dazu wurde zunächst auf der linken Seite in Höhe des 4-5 ICR thorakotomiert. Anschließend wurde die Aorta descendens freipräpariert. Drei doppelte Tabaksbeutelnähte mit jeweils 20-30 mm Mittelpunktabstand (jeweils 4.0 und 5.0 Prolene) wurden in der Aorta descendens platziert und mittels Tourniquets (= Gummischläuche, die aufgrund ihrer Rigidität die innenliegenden Fäden auf Spannung halten) gespannt. In Klemmung der Aorta wurden die Testknöpfe mit der Testoberfläche im Gefäß platziert. An erster Stelle wurde derjenige Testknopf implantiert, der am wenigsten mit der Blutverwirbelung Kontakt hat. Es folgte die mittlere Testoberfläche und letztlich der Knopf, der am meisten den Turbulenzen des Blutes ausgesetzt wurde. Die Fixierung erfolgte durch das Anziehen der Tourniquets. Anschließend wurde die Position der Testoberflächen überprüft und die Beobachtungszeit begonnen (Abb.3 B).

Die Reihenfolge ist in jedem Versuch unterschiedlich und der Tabelle 1 zu entnehmen.

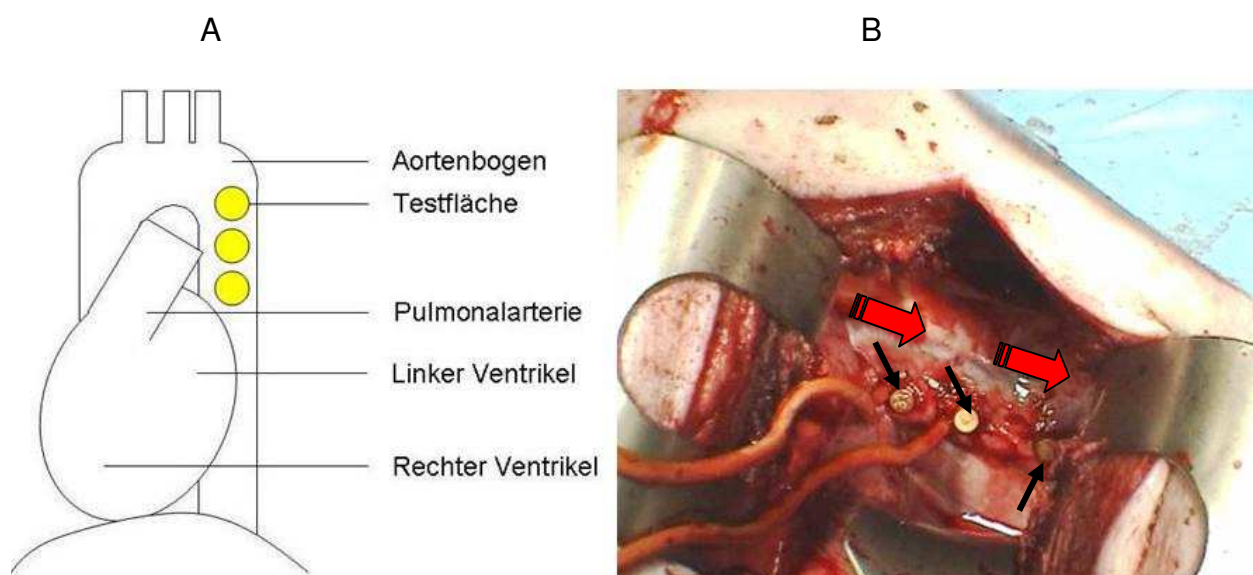


Abb.3: **A:** Schematische Darstellung des Herzens und der Aorta. Die gelben Kreise zeigen die Positionierung der Testoberflächen in der Aorta descendens. **B:** Sicht auf einen offenen, porcinen Thorax. Die schwarzen Pfeile stellen drei implantierte Oberflächen in der Aorta dar. Die roten Pfeile zeigen die Blutflussrichtung.

Die Beobachtungszeit betrug 120 Minuten. In dieser Zeit sollte das Verhalten der Testoberflächen im Blutkreislauf und die Gerinnungsvorgänge untersucht werden.

Nach der Beobachtungszeit wurden dem Tier 12500 IE Heparin injiziert, um eine Hyperkoagulierung postmortem vermeiden zu können. Die Testknöpfe wurden zusammen mit dem Aortenanteil explantiert, um eventuell am Knopftrand abgelagerte Thrombusbestandteile erhalten zu können.

2.1.3. Präparation der Testoberflächen für die Auswertung

Nach der Entfernung der Testknöpfe aus der Aorta wurden diese vorsichtig mit einer 0,9% Kochsalzlösung gespült und zunächst in einer Alkohollösung aufbewahrt. Um die Oberflächen analysieren zu können, wurden sie in 2,5 % Glutaraldehyd- Puffer mit 0,1 M Na Cacodylate (= Salz kakodylischer Säure) und 0,1 M Saccharose (pH Wert 7,2-7,4; osmotischer Druck 520 mosmol) fixiert. Nach einer Stunde der Fixierung wurden die Testknöpfe in einer 100% Acetonlösung zur Dehydratation gelagert. Anschließend konnten die präparierten Oberflächen zur Auswertung herangezogen werden.

2.1.4. Auswertungsverfahren

Durch die Präparation der Testoberflächen konnte der Unterschied zwischen den thrombusfreien und thrombusbedeckten Arealen dargestellt werden. Die exakte Differenzierung des Thrombusgewebes, der Koagulierungsprozesse und der Blutgerinnselbildung erfolgte im Rasterelektronenmikroskop. Die Darstellung der Areale wurde mittels folgender Verfahren durchgeführt:

- Digitalkamera (Olympus digital E 330; Makroobjektiv 50 mm 1:2)

Zunächst erfolgte eine Nahaufnahme von jeder Knopfoberfläche, die einen Überblick über die gesamte Fläche verschaffte. Dadurch konnten erhebliche Koagulierungsprozesse dargestellt werden. Anknüpfend wurde ein Netzmikrometer (Firma Zeiss; 12,5×12,5 mm; Durchmesser 26 mm) auf der Testoberfläche positioniert. In Folge dessen war eine visuelle Auszählung der Areale möglich, die

von Thrombusgewebe bedeckt waren. Das Ergebnis wurde prozentual und in mm² angegeben.

- Die Knopfoberflächen wurden des Weiteren mittels eines REM (Phillips XL20, Baujahr 1992, Standard- Elektronendetektor, max. Beschleunigungsspannung 30 kV) gründlich analysiert. Dieses Verfahren gibt detaillierte Informationen über die Zusammensetzung der Auflagerungen und Beschaffenheit der unterschiedlichen Beschichtungen. Es wurde die Zellart (Erythrozyten, Thrombozyten und Leukozyten), die Konstellation des Fibringewebes (Kollagenetz, Fibrinfäden, einzelne Zellen) und die Dichte der Fibrinschicht beurteilt. Die Interaktion der Blutbestandteile wurde mit einer 40 bis 2500 fachen Vergrößerung und unter einer Spannung von 20 kV beobachtet.

Areale, die in der Nahaufnahme keine Gerinnungsreaktionen gezeigt haben, wurden durch das Rasterelektronenmikroskop kontrolliert. Neu entdeckte, feine Koagulationsstrukturen konnten dadurch erfasst werden.

2.2. Klappenverhalten im Flussmodell

Der Implantation in vivo gingen in vitro Untersuchungen voraus, die zum einen eine Aussage zur Klappenfunktion und zum anderen zur Hämokompatibilität liefern sollten.

2.2.1. Materialanalyse

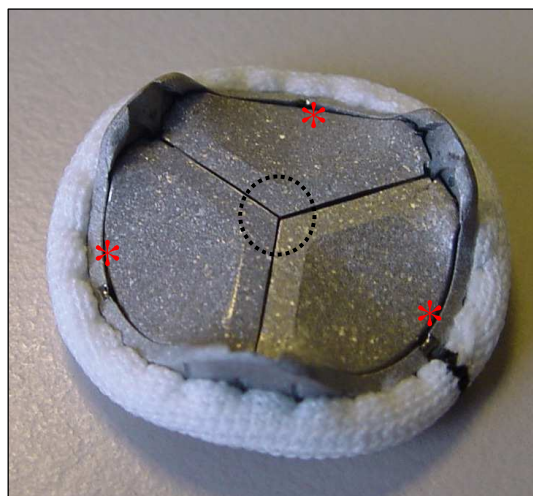
Die vorausgegangenen Studien haben gezeigt, dass die Titannitrid- beschichtete Oberfläche eine bessere Hämokompatibilität im Vergleich zum pyrolytischen Kohlenstoff und diamond-like carbon aufweist (Yang et al. 1996 c). Diese Beschichtungen wurden in vergangenen Untersuchungen in Form von Knöpfen in vivo geprüft (Yang et al. 1996 a).

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden insgesamt drei unterschiedliche Beschichtungen in Form von Herzklappen auf die Interaktion zwischen Blutbestandteilen und Material in vitro getestet. Folgende Beschichtungen wurden untersucht: Titanlegierung (unbehandelt und manuell poliert), Titannitrid (TiN) und

eine Oxidschicht. Titanlegierung und Titannitridherstellung wurden in 2.1.1. ausführlich beschrieben. Eine Oxidschicht ist das Produkt eines oxidierten Elementes (Aluminium oder Kupfer), das an der Oberfläche des jeweiligen Elementes entsteht. Die untersuchten Oberflächen zeigen unterschiedliche Beschaffenheit. Die unbehandelte Titanlegierung (Ti) weist eine sehr raue Fläche auf. Dagegen sind die TiN-/ Oxidbeschichtungen ebener. Durch die manuelle Polierung verliert die Titanlegierung ihre ursprüngliche raue Oberfläche.

Bei den Herzklappen, die in dieser Studie verwendet wurden, handelt es sich um trikuspidale (dreiflügelige) mechanische Herzklappen (Abb.4). Diese bestehen aus einem Klappenring (Anulus) und drei Flügeln. Die heute verwendeten zweiflügeligen Herzklappen (z. B. St. Jude- Klappen) gewährleisten den Blutstrom überwiegend peripher. Bei den trikuspidalen Klappen ist der Blutstrom peripher und zentral vorhanden (Abb.4), so dass ein verbessertes Strömungsprofil erzeugt wird. Die Prototypen der Herzklappen weisen einen Durchmesser von 23 mm auf und wurden von der Firma Tricumed (Röntgenstr. 7A, 24143 Kiel, Deutschland) hergestellt.

Abb.4: Eine trikuspidale Herzklappe aus Titanlegierung mit Nahtsaum. Die periphere Blutströmung befindet sich bei der Öffnung der Klappe am Anulus (rote Sterne), während der zentrale Blutstrom in der Mitte fließt (Kreis).



Insgesamt wurden zwei Versuchsreihen durchgeführt.

Im ersten Experiment wurden vier Beschichtungen nacheinander in einem Flußmodell eingesetzt: Ti unbehandelt, Ti manuell poliert, Oxidschicht, Ti unbehandelt.

Die zweite Versuchsreihe verglich TiN mit Ti unbehandelt.

2.2.2. Flußmodell

Die zu untersuchenden Herzklappen wurden zur ersten Beobachtung in ein Flußmodell eingesetzt (Abb.5). Das Flußmodell stellt den künstlichen Blutkreislauf dar und ist ein Konstrukt aus einem Schlauchsystem, einer Kreiselpumpe und einem Oszillator. Das Schlauchsystem wurde aus zwei metallischen starren Rohren, einem Silikonschlauch und einem mittleren Anteil aus Plexiglas aufgebaut. Der Silikonschlauch wurde an den Enden mit den Metallrohren verbunden. Die Herzklappen wurden in einem Silikonring positioniert und anschließend im Plexiglaszylinder fixiert. Der Plexiglaszylinder wurde in der Mitte platziert und mittels vier Schrauben befestigt. Anschließend wurde der Silikonschlauch in die Pumpe eingespannt. Durch diese Verbindung konnte die Kreiselpumpe den künstlichen Kreislauf in Bewegung bringen. Die Pumpleistung betrug ca. 3,8 l/min. Der Oszillator erzeugte elektrische Schwingungen und gab somit die Frequenz für die Beförderung des Schlauchinhaltes an. Dadurch entstand ein pulsatile Fluss, der einem natürlichen Puls entsprach. Diese Frequenz lag bei 0,6 Hz.

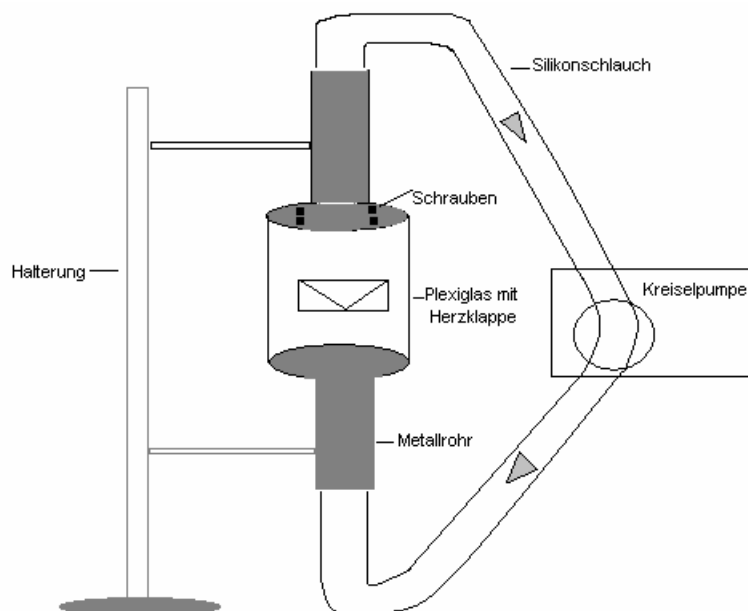


Abb.5: Aufbau des Flußmodells. Dreiecke zeigen die Blutflussrichtung an.

2.2.3. Versuchsdurchführung

Nachdem die zu untersuchende Herzklappe in das Flußmodell eingesetzt wurde, konnte das Schlauchsystem mit 440 ml Schweineblut über einen Dreiwegehahn gefüllt werden. Das Schweineblut wurde zuvor heparinisiert (2 Liter mit 20000 IE), um eine sofortige Koagulation im Flußmodell vermeiden zu können. Im Anschluss wurden die Geräte (Oszillator, Pumpe) angeschlossen und der Versuch gestartet. Im Laufe des Experimentes wurden Kontrollproben (ca. 3 ml) über den Dreiwegehahn entnommen, die in ein Glasgefäß gegeben wurden. Diese Blutentnahmen dienten der Beobachtung der Koagulation. Bei einer nicht koagulierten Kontrolle wurde Protaminsulfat zugefügt, um das Schweineblut zu entheparinisieren. Protaminsulfat ist ein stark basisches Protein, das mit Heparinmolekülen zu einer salzartigen Verbindung reagiert und infolgedessen als Heparinantidot versiert. Es entstehen inaktive Protamin- Heparin-Salze. 1 ml Protaminsulfat antagonisiert 1000 I.E. Heparin. In diesem Versuch wurden ca. 2500 I.E. (2,5 ml) Protaminsulfat verabreicht. Das Experiment erstreckte sich über 2 Stunden. In dieser Zeit wurden die ins Flußmodell integrierten Herzklappen anhand von folgendem Parameter beobachtet: Verwirbelungen oberhalb der trikuspiden Herzklappe. Die Blutverwirbelungen ermöglichten eine Aussage über die Öffnung/Schließung der Klappensegel und gaben Hinweise über möglicherweise entstandene koagulierende Prozesse an der Klappe. Anschließend wurde der Versuch beendet. Bei der Herausnahme des Plexiglasses wurde die getestete Herzklappe auf makroskopische Blutablagerungen überprüft.

2.2.4. Untersuchung der Klappendynamik mittels Röntgen

Um die Dynamik der trikuspiden mechanischen Herzklappen noch effektiver untersuchen zu können, wurde in dieser Studie ein C-Bogen-System (Philips BV 25, Identifikationsnr.: 295683-005) zur Durchleuchtung des Flußmodells verwendet. Der C-Bogen ist ein röntgenologisches Verfahren, das vorwiegend in der Kardiologie für diagnostische und interventionelle Prozesse eingesetzt wird. Der Vorteil des C-Bogen-Systems besteht darin, dass die Röntgenaufnahmen durch die Rotation des Gerätes aus mehreren Ebenen durchgeführt werden können. Dadurch kann die Herzklappe in ihrer Funktion vollständig dargestellt werden.

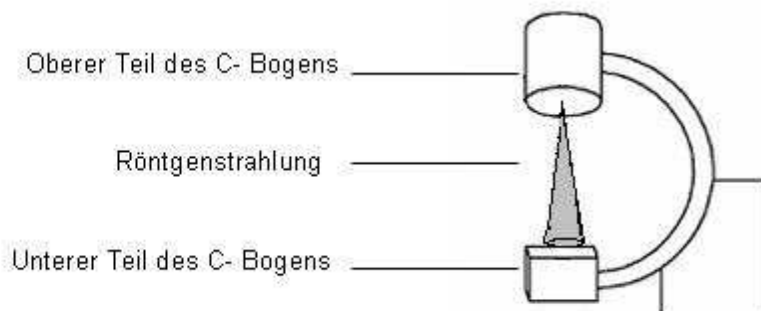


Abb.6: Skizzierung des C-Bogens

Es wurden in diesem Experiment zwei Herzklappen geprüft: eine Titanlegierung (unbehandelt) und eine Oxidschicht. Die Testklappen wurden in das oben beschriebene Flußmodell integriert. Die Vorbereitung und der Aufbau ist analog zu Punkt 2.2.3. Mittels C-Bogen wurden Aufnahmen von Öffnung und Schließung der Klappen festgehalten. Während der Durchführung wurden keine Kontrollproben entnommen und kein Protaminsulfat gegeben, da vordergründig die Dynamik der Klappe analysiert werden sollte. Die Hämokompatibilität der beiden Beschichtungen wurde nicht untersucht.

2.3. Klappenimplantation in vivo

Das Ziel dieser Untersuchung bestand in einer detaillierten Beobachtung der Funktion der mechanischen Klappe in einem lebenden Organismus. Die Klappenimplantation in vivo setzte bestimmte Vortestungen voraus. Im Rahmen der Voruntersuchungen (s. oben) wurde das Verhalten der trikuspiden mechanischen Herzklappen im Flußmodell genau untersucht. Nach der Analyse der mechanischen Herzklappen in vitro wurde die Klappe in vivo geprüft. Die Hämokompatibilität wurde ebenfalls analysiert.

2.3.1. Tierwahl und operativer Ablauf

Im Rahmen der In vivo- Implantation wurden insgesamt drei trikuspide mechanische Herzklappen getestet ($n = 3$). Davon wiesen zwei eine Titanlegierung als Oberfläche auf, die dritte und zuletzt geprüfte Klappe verfügte über eine Titannitrid- beschichtete Fläche. Das Titannitrid wurde im Bereich des Klappenringes durch ein

Nassstrahlverfahren angefertigt und innerhalb der Klappenflügel mittels manueller Polierung behandelt. Alle implantierten Klappen besaßen einen äußeren Durchmesser von 23 mm und eine innere Durchflussöffnung von 21 mm. Durch einen Polydacron- Nahtsaum, der für den Implantationsvorgang essentiell ist, um die Klappe ins Gewebe integrieren zu können, nahm der äußere Diameter um einen Millimeter ($23 + 1 = 24$) zu.

Diese Arbeit beschreibt die ersten drei Implantationen an Schweinen. Die Tiere erhielten in Anlehnung an die EU-Richtlinien „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ (überarbeitete Auflage 1996) eine ausführliche Versorgung. Der entsprechende Ethikantrag wurde von der Ethikkommission an der Universität Kiel genehmigt (Tierschutzantragsnummer: V312-72241.121-6(79-7/06)).

Für die Implantation wurden die Tiere (Gewicht: 60 kg; 90 kg; 120 kg) prämediziert, intubiert und anästhesiert. Es wurde eine mediane Thorakotomie durchgeführt. Nach Entfernen des Thymus wurde das Perikard eröffnet, und die Herz-Lungenmaschine über eine aortale Kanüle und einen venösen Zwei-Stufenkatheter angeschlossen (Abb.7 A). Das Prinzip einer Herz-Lungen-Maschine ist folgendermaßen: Es wird ein Spezialkatheter über das rechte Vorhofrohr in den rechten Vorhof und in die untere Hohlvene eingeführt. Dieser Katheter befördert das venöse Blut in ein Reservoir der Herz-Lungen-Maschine. Von dort wird es in den Oxygenator (übernimmt die Lungenfunktion, in dem er das Blut mit Sauerstoff anreichert) gepumpt. Im Oxygenator ist ein Wärmeaustauscher integriert, wo die Bluttemperatur auf ca. 32 Grad Celsius abgekühlt werden kann und anschließend über eine Kanüle in die Aorta ascendens gelangt. Dadurch kann die Versorgung aller Organe mit sauerstoffreichem Blut bei nichtschlagendem Herzen gewährleistet werden. Die Abkühlung der Bluttemperatur senkt den Stoffwechsel und ermöglicht damit eine höhere Ischämietoleranz der Organe (Müller et al. 2007). Um am Herzen operieren zu können, wurde es in einen kardioplegischen Herzstillstand versetzt. Die 4 Grad Celsius kalte kardioplegische Lösung wurde nach dem Klemmen der Aorta und Standardaortotomie über spezielle Applikationskatheter direkt in die Koronarostien infundiert. Anschließend wurde die native Herzklappe reseziert und die neue trikuspidale mechanische Herzklappe mittels zwölf Einzelknopfnähten (patcharmierte Vicrylnähte, 3.0) implantiert (Abb.7 B).

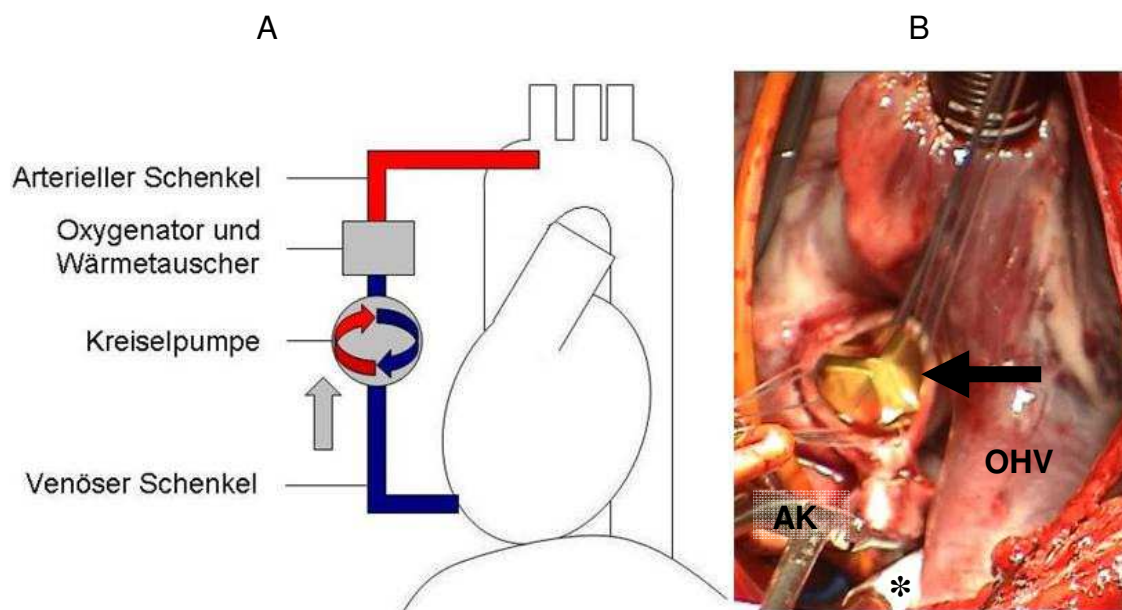


Abb.7: **A:** Skizze einer Herz- Lungen Maschine. **B:** Implantierte Klappe in der Aorta. Neben der mechanischen Aortenklappe (Pfeil) befindet sich die obere Hohlvene (OHV); eine Aortenklemme (AK), die die Aorta ascendens abklemmt und der Saugkatheter (*).

2.3.2. Beobachtungszeit

Um die Implantation analysieren zu können, wurden in der Observierungszeit, die unmittelbar nach der Fixierung der Klappe begann, folgende Parameter zur Beurteilung herangezogen:

- Zunächst wurde versucht, das Herzkreislaufsystem von der Herz-Lungen-Maschine zu entwöhnen. Das erfolgreiche Weaning von der Maschine wies auf eine ausreichende selbstständige Pumpleistung des Herzens hin.
- Bei der Reperfusion des Herzens wurde überprüft, ob sich ein Sinusrhythmus eingestellt hat. Andere Herzrhythmusstörungen wurden erfasst.
- Ein weiteres Kriterium für eine erfolgreiche Implantation ist die Platzierung der Klappe. Verengungen, und damit Flussbeschleunigungen im Bereich des Anulus, der Aorta im Areal des Aortenbulbus und im Bereich der Klappe selbst konnten mit Hilfe der transösophagealen Echokardiographie begutachtet werden.

- Der Druckgradient, der über der Herzklappe gemessen wurde, ist ein Maß für die Funktionsfähigkeit der Klappenprothese und liegt beim Menschen um 4 mm Hg. Er korreliert aufgrund hämodynamischer Gesetze streng mit dem transaortalen Durchstromvolumen (Schlagvolumen des Herzens) (Classen et al 2004 c) und mit der Klappenöffnungsfläche (Spiliopoulos 2004). Die Messung dieses transvalvulären Drucks erfolgte invasiv oder mittels Echokardiographie.

Nach der Beendigung des Experimentes wurde das untersuchte Herz zusammen mit der mechanischen Klappe explantiert. Die Hämokompatibilität wurde makroskopisch untersucht.

2.4. Optimierung des bestehenden Klappenmodells

Die mechanische TiN- Klappe wurde neben der Testung in vivo ergänzend in vitro untersucht. Das Ziel dieses Versuches bestand darin, das Verhalten einer mechanischen Herzklappe in einem elastischen Gewebe (in diesem Fall: Schweineherz) zu analysieren und dabei möglicherweise die Fehlerquellen der Implantation zu entdecken. Dabei wurde der Schwerpunkt auf die Beobachtung des Blutflusses gelegt. Es sollte gründlich observiert werden, in wie weit der periphere und der zentrale Blutfluss der Klappe gewährleistet werden konnte.

2.4.1. Materialtestung

Im Rahmen dieses Experimentes wurde der mechanische TiN- Klappenersatz (Abb.9 C) evaluiert. Die unterschiedliche Herstellung der einzelnen TiN- Klappenanteile und die Präparation für die Gewebsintegration wurden im Punkt 2.3.1. beschrieben.

2.4.2. Versuchsdurchführung

Es wurde ein Schweineherz mit einer ca. 15 cm langen Aorta verwendet. Die Aorta wurde frei präpariert und die Aortenklappe entfernt. Anschließend wurde die TiN-Klappe mittels zwölf Einzelknopfnähten (patcharmierte Vicrylnähte 3.0) in die Aorta implantiert. Folgender Parameter wurde analysiert:

- Positionierung der Herzklappe. An dieser Stelle wurde besonders die supra-avalvuläre Position analysiert. Eine Verengung würde die periphere Blutströmung behindern und folglich den Blutfluss reduzieren.

Um eine Aussage über den Blutfluss treffen zu können, wurden zwei Plastikschläuche (Durchmesser: ca. 1,5 cm), in die Aorta und in die linke Herzkammer, eingeführt. Die Schläuche wurden ins Gewebe eingenäht. Um das Gewebe in der aufsteigenden Aorta nicht zusätzlich einzuengen, wurden dreieckige Patches integriert. Der Patch wurde mittig eingesetzt und mit beiden Enden des Gewebes adaptiert. Dadurch konnte eine Verengung vermieden werden.

Zwei folgende Versuche wurden durchgeführt und anschließend miteinander verglichen (Abb.8 A, B).

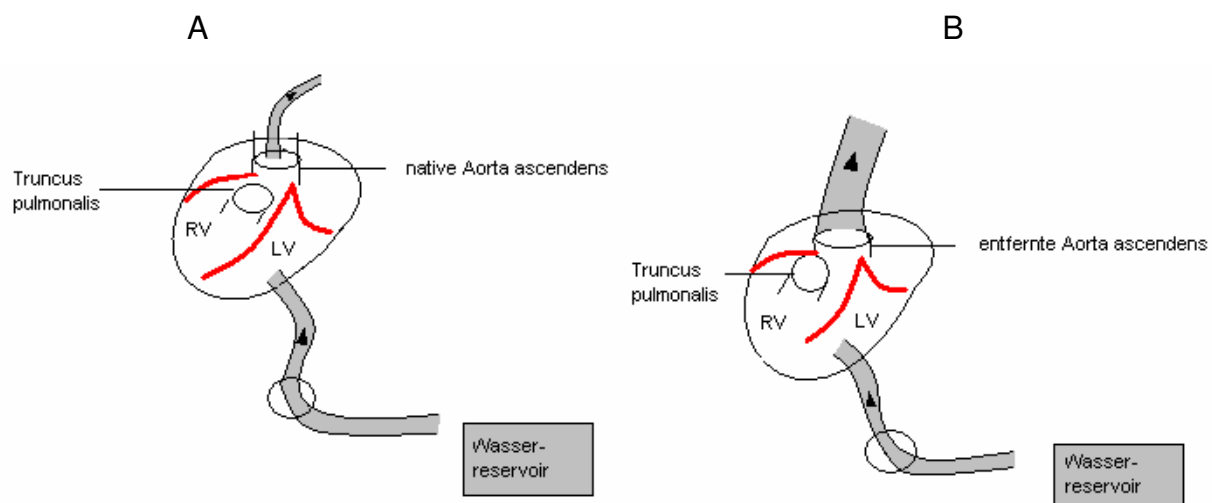


Abb.8: **A:** Versuch mit der nativen Aorta ascendens. **B:** Versuch mit einem stabilen Silikonschlauch. RV= rechter Ventrikel, LV= linker Ventrikel, die Koronarien sind durch rote Linien markiert. Die Dreieckspfeile zeigen Fließrichtung an. Kreise stellen die Kreiselpumpe dar.

- Der erste Plastikschauch verband die linke Herzkammer über eine Kreiselpumpe mit einem Behälter Wasser. Der Silikonschlauch aus der nativen Aorta ascendens endete blind. Anschließend wurde die Kreiselpumpe eingeschaltet. Das Wasser floss über die linke Herzkammer in die Aorta. Das Verhalten der TiN- Klappe und der periphere Fluss konnten mittels eines Endoskops exakt eruiert werden (Abb.9 A, C).
- Im weiteren Versuch wurde der ursprüngliche aortale Plastikschauch und der größte Teil der Aorta ascendens entfernt. Die Aorta wurde durch einen 15 cm stabilen großen Silikonschlauch mit einem Durchmesser von ca. 2,5- 3 cm ersetzt (Abb.9 D). Nach der Eingliederung des stabilen Silikonschlauches wurde die Kreiselpumpe wieder aktiviert. Erneut wurde die Öffnung und Schließung der TiN- Klappe beobachtet und der periphere Fluss beurteilt.

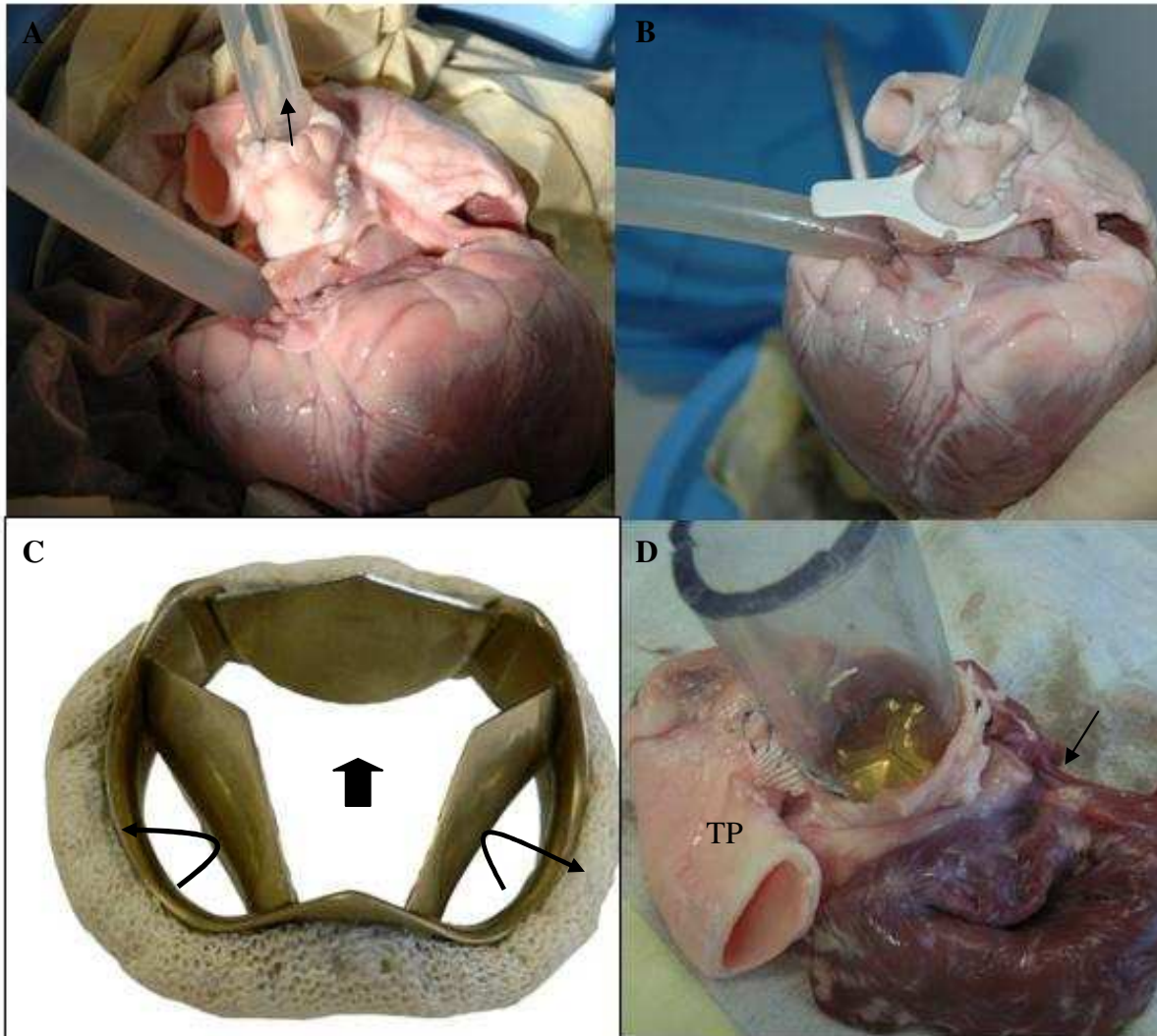


Abb.9: **A:** Versuch mit einem Plastikschauch bei nativer Aorta ascendens. Die Endoskopsonde ist zu sehen (Pfeil). **B:** Schweineherz mit implantierter TiN- Klappe (äußerer Durchmesser 24 mm) in vitro. **C:** Eine mechanische trikuspidale Herzklappe aus Titanitrid mit Nahtsaum; dünne Pfeile stellen den peripheren, Blockpfeil den zentralen Blutfluss dar. **D:** Versuch mit dem stabilen Silikonschauch nach der Entfernung der Aorta ascendens. Der linke Ventrikel ist aufgeschnitten (Pfeil), der Truncus pulmonalis (TP) legt sich um die implantierte Aortenklappe.

3. Ergebnisse

3.1. Oberflächenanalyse

Realisierung der Implantation

Insgesamt wurden im Rahmen der Oberflächenuntersuchung fünf Versuche durchgeführt. Ein Experiment wurde von der Auswertung aufgrund Implantationsschwierigkeit und daraus resultierend verfälschten Ergebnissen ausgeschlossen. Daraufhin wurde diese Konstellation der Beschichtungen wiederholt. Im 3. Versuch wurde die PyC- Oberfläche nicht vollständig implantiert und konnte aus diesem Grund nur eingeschränkt beurteilt werden.

Die Implantationszeit betrug für jede Knopfoberfläche im Durchschnitt $5,0 \pm 1,5$ Minuten.

3.1.1. Thrombusformation

Makroskopisch (Tab.2)

Im Rahmen der Oberflächenanalyse wurden makroskopisch folgende Resultate festgestellt (Diagramm 1):

In den ersten zwei Untersuchungen wurde die handpolierte Oberfläche (hTiN) gegen die gestrahlte TiN- Beschichtung (gTiN) verglichen.

Beim 1. Versuch wiesen alle drei Oberflächen kaum thrombotische Ablagerungen auf. Lediglich auf den hTiN und gTiN- Beschichtungen waren minimale Koagel zu sehen (Abb.10 A). Im 2. Versuch zeigte PyC massive thrombotische Rückstände im Vergleich zu hTiN und gTiN (Abb.10 B).

In den letzten beiden Experimenten wurde die mittels Laser aufgetragene TiN- Oberfläche (ITiN) dem hTiN gegenübergestellt. Im 3. Versuch war ITiN mehr mit thrombotischem Material belegt als hTiN und PyC (Abb.10 C). Und im letzten 4. Versuch wiesen PyC und ITiN mehr Ablagerungen als hTiN auf (Abb.10 D).

Experiment	hTiN	gTiN	ITiN	PyC
Nr. 1	+	+		∅
Nr. 2	++++	++++		+++++
Nr. 3	∅		++	∅
Nr. 4	++		+++	++++

Tab.2: Darstellung der makroskopischen Ablagerungen (∅ symbolisiert keine Ablagerung, die Plusanzahl (+) steht für die Quantität der Ablagerungen).

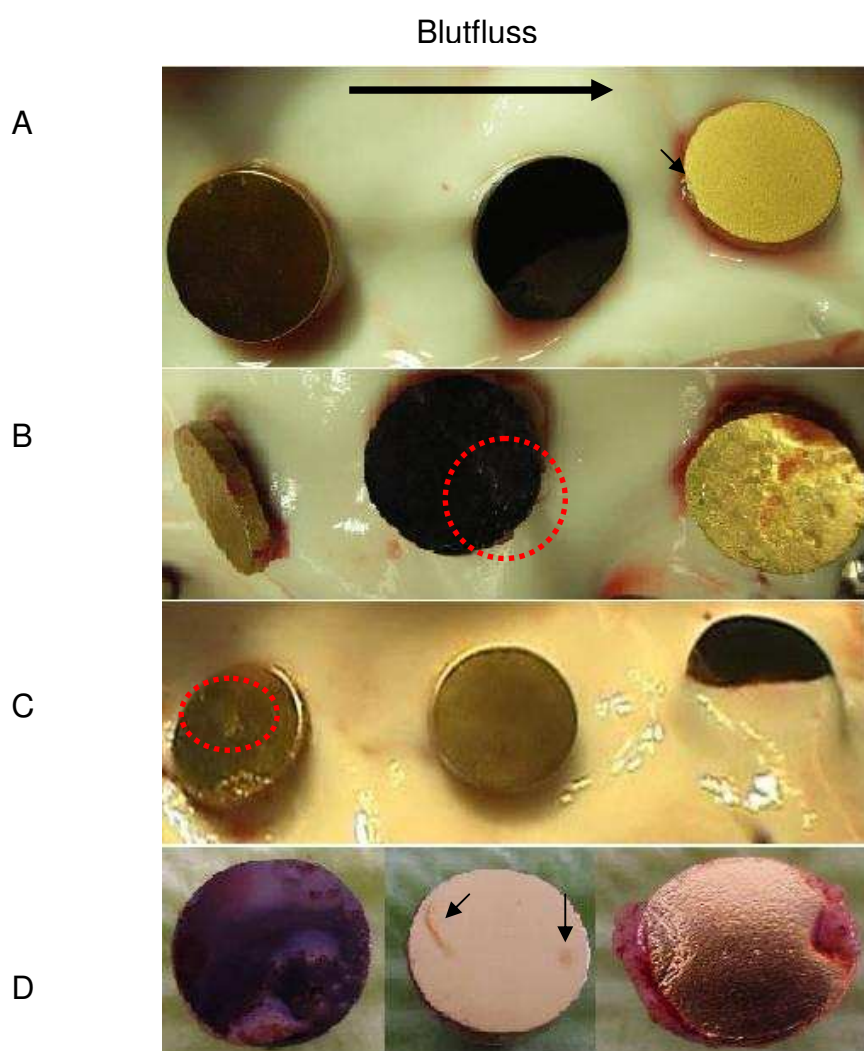


Abb.10: Darstellung der Oberflächen nach zweistündiger Beobachtung. **A:** Reihenfolge: hTiN, PyC, gTiN. Der schwarze Pfeil zeigt eine minimale Ablagerung. **B:** Reihenfolge: gTiN, PyC, hTiN. Der Kreis deutet eine starke Ablagerung an. **C:** Reihenfolge: ITiN, hTiN, PyC. **D:** Reihenfolge: PyC, hTiN, ITiN. Die Pfeile zeigen die Ablagerungen auf hTiN.

makroskopische Auswertung

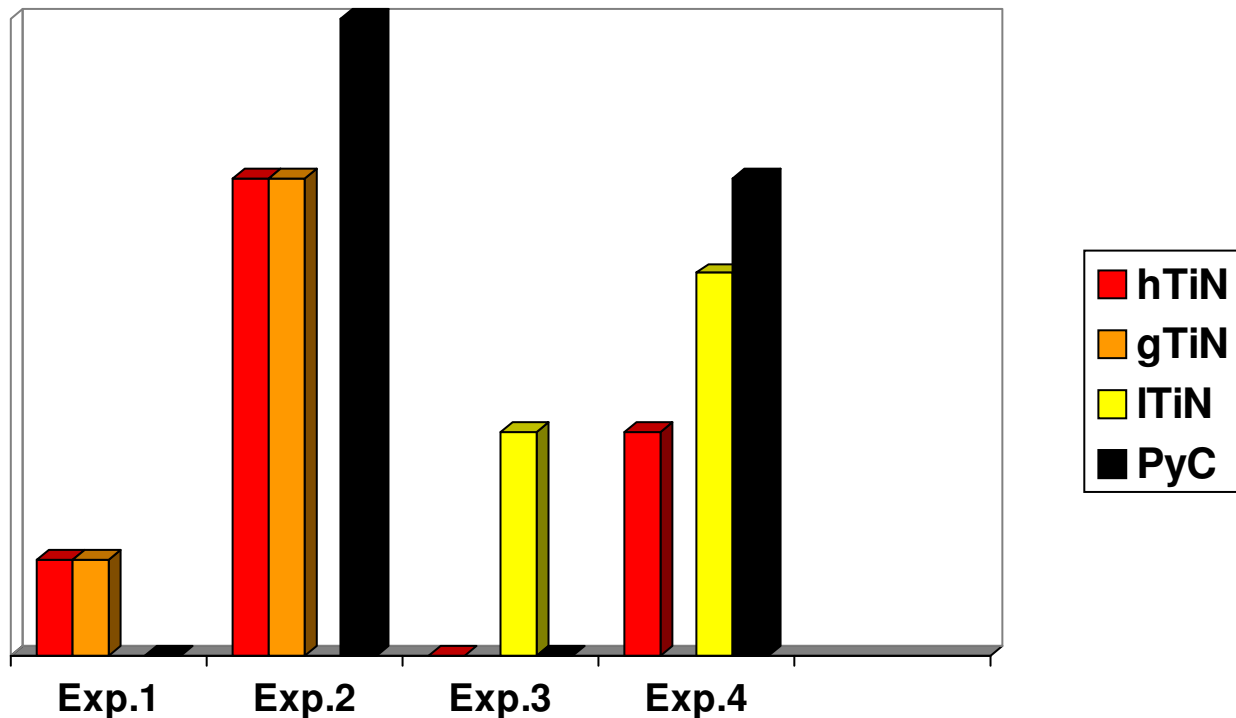


Diagramm 1: Darstellung der makroskopischen Ergebnisse: hTiN = handpoliertes TiN; PyC = pyrolytischer Kohlenstoff; gTiN = Hydroxylapatit- gestrahltes TiN; ITiN = mit Laser aufgetragenes TiN.

Quantitative Darstellung

Nach der Präparation der Testoberflächen wurden die Ablagerungen, die im Vergleich zur Makroskopie durch eine schwarz-graue Farbe deutlicher zu sehen sind, mittels Netzmikrometer manuell ausgezählt (Abb.11). Ein Quadrat im Netzmikrometer entsprach einer Fläche von 1,56 mm². Auf jeder Beschichtung, die ausgewertet wurde, waren 57 ± 1 Quadrate zu finden. Daraus ergab sich die Gesamtfläche eines Testknopfes: 89,06 mm² (aufgrund manueller Auszählung ist die Gesamtfläche etwas kleiner als die reelle Testknopfoberfläche).

Aus dem ersten Versuch (Diagramm 2 A) resultierte, dass die PyC- Beschichtung außer der starken Beschädigung der Testfläche keine thrombotische Areale aufwies. Im Gegensatz dazu zeigte die gTiN- Oberfläche zu 10,5% periphere Ablagerungen.

Das ergab eine belegte Fläche von 9,38 mm². Bei der hTiN untersuchten Beschichtung wurden 5,0% (4,68 mm²) thrombotisches Material gefunden, die sich ebenfalls peripher befanden.

Der zweite Versuch (Diagramm 2 B) hat gezeigt, dass 97,0% der Quadrate auf der PyC- Oberfläche belegt waren. Das entsprach einer Fläche von 86,72 mm². Die gTiN- Beschichtung wurde während der zweistündigen Beobachtungszeit zu 95,0% (84,38 mm²) vom thrombotischen Material bedeckt. Der hTiN- Testknopf wies eine zu 98,0% (87,5 mm²) überdeckte Fläche, wobei sich diese Beschichtung von den anderen beiden unterschied. Der größte Anteil (77,0%; 67,34 mm²) der hTiN- Oberfläche verfügte über einen einschichtigen thrombotischen Belag, während PyC und gTiN eine mehrschichtige Fibrinschicht besaßen.

Der dritte Versuch (Diagramm 2 C) präsentierte folgende Ergebnisse: die ITiN- Beschichtung wies eine zu 12,3% belegte Oberfläche. Das entsprach einer Fläche von 10,94 mm². Die belegten Areale waren eher zentral zu finden. Die beiden PyC/ hTiN- Testknöpfe verfügten jedoch über keine Ablagerungen.

Aus dem vierten Versuch (Diagramm 2 D) ging hervor, dass die PyC- Beschichtung zu 74,0% (65,63 mm²) mit starkem thrombotischem Material belegt war. Die hTiN- Oberfläche wies zu 35,0% feinere Ablagerungen auf, die sich überwiegend in der Peripherie fanden. Daraus wurde eine Fläche von 31,21 mm² berechnet. Der ITiN- Testknopf zeigte 19,3% (17,18 mm²) stärker bedeckte Oberfläche. Die restlichen 80,0% (71,88 mm²) verfügten über eine einschichtige thrombotische Schicht, die zwischendurch minimale freie Areale besaß. Diese konnten jedoch nicht ausgezählt werden.

Lichtmikroskopische Auswertung der Oberflächen

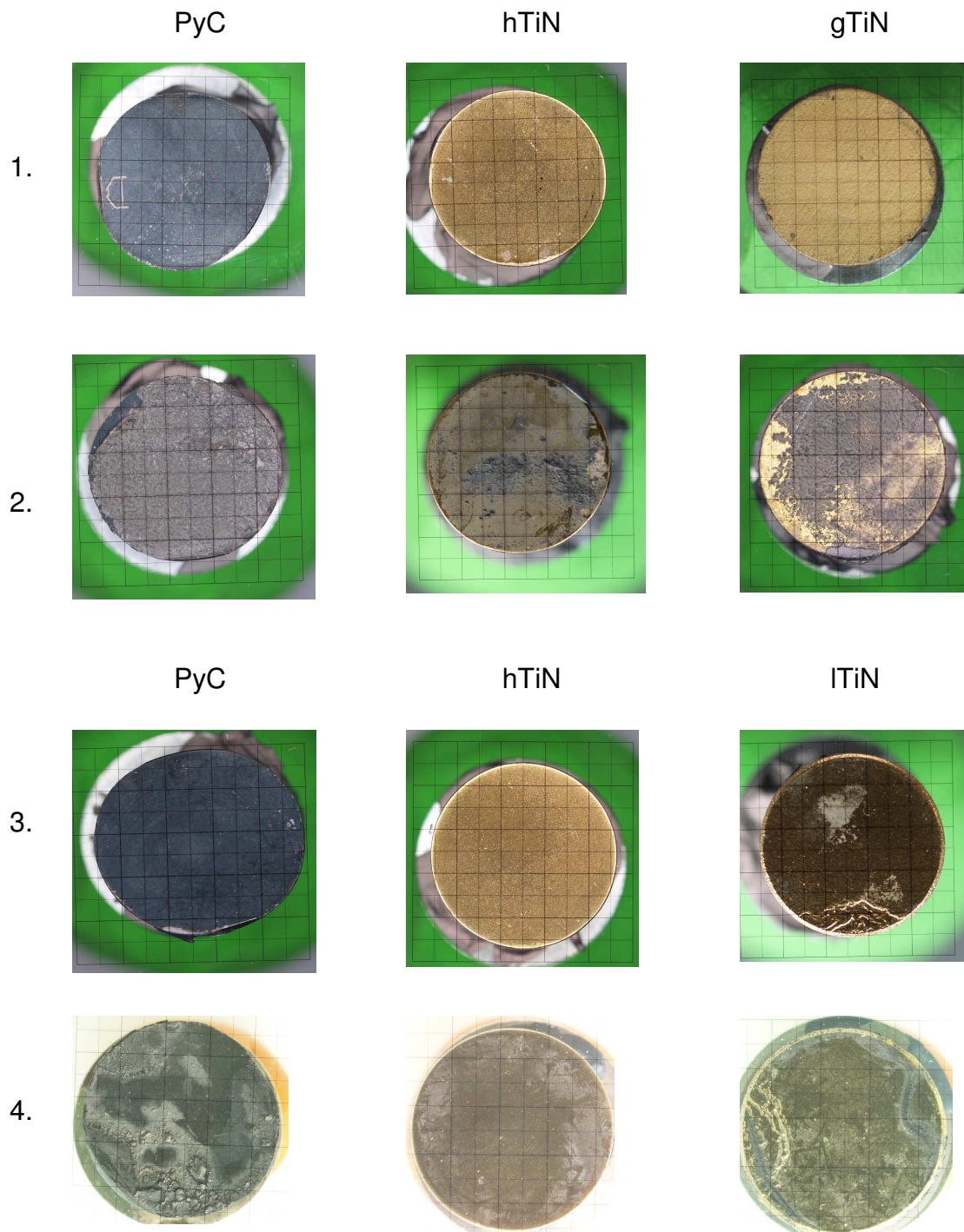


Abb.11: Darstellung der quantitativen Oberflächenuntersuchungen. Jede Fläche weist ein Netz aus 57 ± 1 Quadraten auf. Die Auszählung der Quadrate repräsentiert sich in Diagramm 2. Im Versuch 2 und 4 sind deutliche Ablagerungen zu sehen, im Vergleich dazu zeigen die Knopfoberflächen im 1. und 3. Experiment geringere Thrombusablagerung.

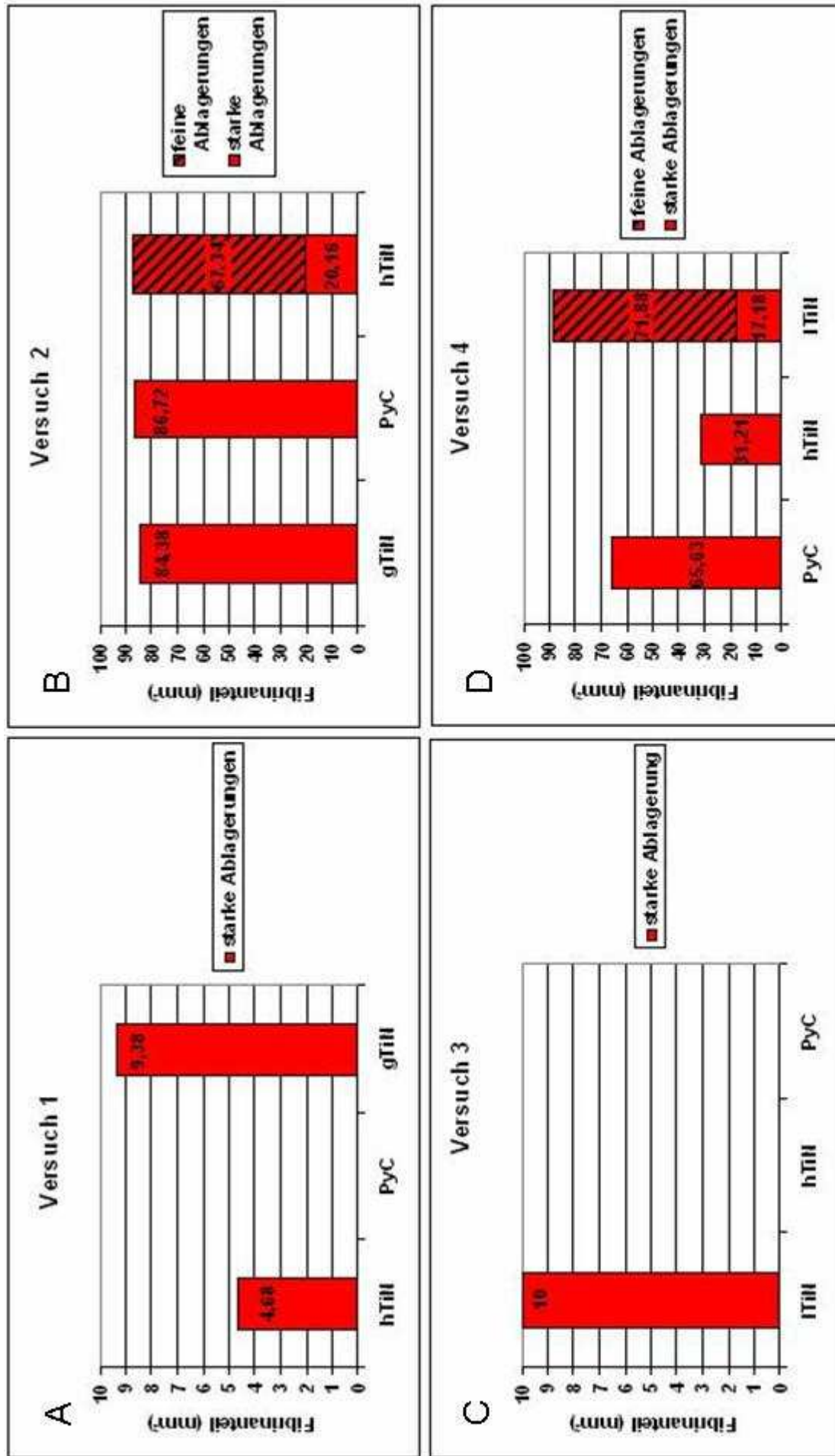


Diagramm 2: zeigt die Ergebnisse der quantitativen Oberflächenuntersuchung mittels Netzmikrometer. Im Vergleich zum Diagramm 1 ermöglicht die quantitative Auszählung eine exaktere Darstellung der Thrombusbildung der Beschichtungen.

3.1.2. Rasterelektronenmikroskopische Auswertung der Oberflächen

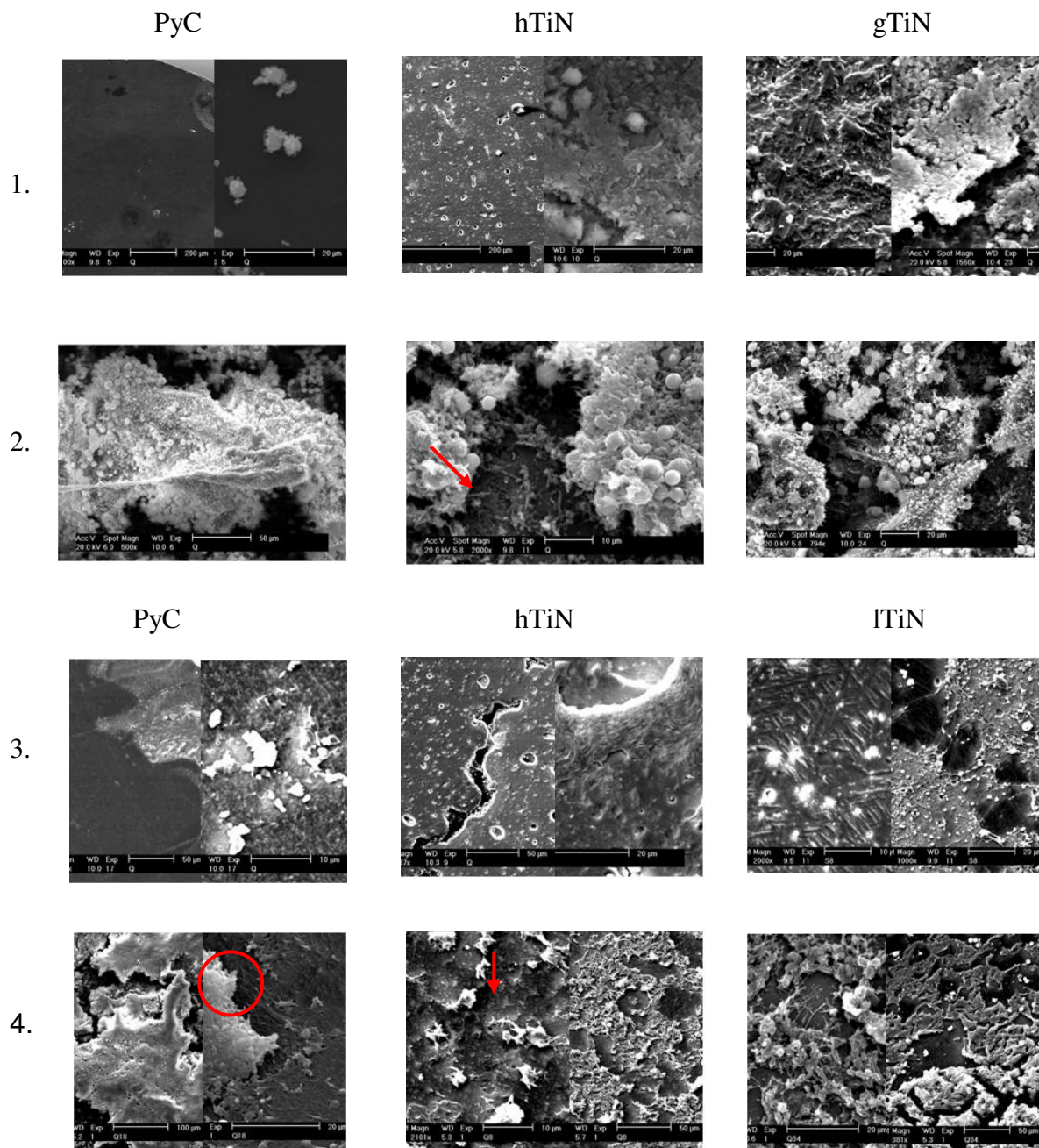


Abb.12: Übersicht der getesteten Oberflächen im Rasterelektronenmikroskop. Die Zahlen kennzeichnen die Nummerierung der Experimente. Im 1. und 3. Versuch waren auf allen Testflächen thrombusfreie Areale zu sehen (linke Bildhälfte). Im Gegensatz dazu zeigten der 2. und 4. Versuch mit thrombotischem Material überdeckte Oberflächen. Die hTiN- Beschichtung wies auch fibrinarme Areale auf, so dass die Beschaffenheit der Fläche gesehen werden konnte (rote Pfeile). Auf der PyC-Oberfläche im 4. Versuch konnten sowohl massive als auch dünne Ablagerungen (rot umkreist) dargestellt werden. Auf dem ITiN- Testknopf konnten zwischen Ablagerungen minimale thrombusfreie Areale nachgewiesen werden.

Die rasterelektronenmikroskopische Auswertung stellte unter Beweis, inwieweit die Beschaffenheiten der unterschiedlichen Oberflächen mit thrombotischem Material bedeckt waren. Außerdem klärte diese Untersuchung, welche Zellen sich auf den Beschichtungen befanden.

Es wurde insgesamt ein uneinheitliches Muster der Oberflächen festgestellt (Abb.12).

PyC

Die PyC- Beschichtung zeigte bei zwei Experimenten keine definierbaren Rückstände. Dennoch besaß die Fläche „gefrante“ Partikel auf, die durchaus die Grundlage für thrombotische Prozesse darstellen können. In den anderen zwei Fällen wurden zahlreiche Leukozyten auf der Oberfläche gefunden. Die weißen Blutkörperchen kamen sowohl vereinzelt vor, als auch gruppenweise im Fibrinnetz mit Thrombozyten integriert. Außerdem konnten Thrombozyten zum Teil in aktiver Form beobachtet werden.

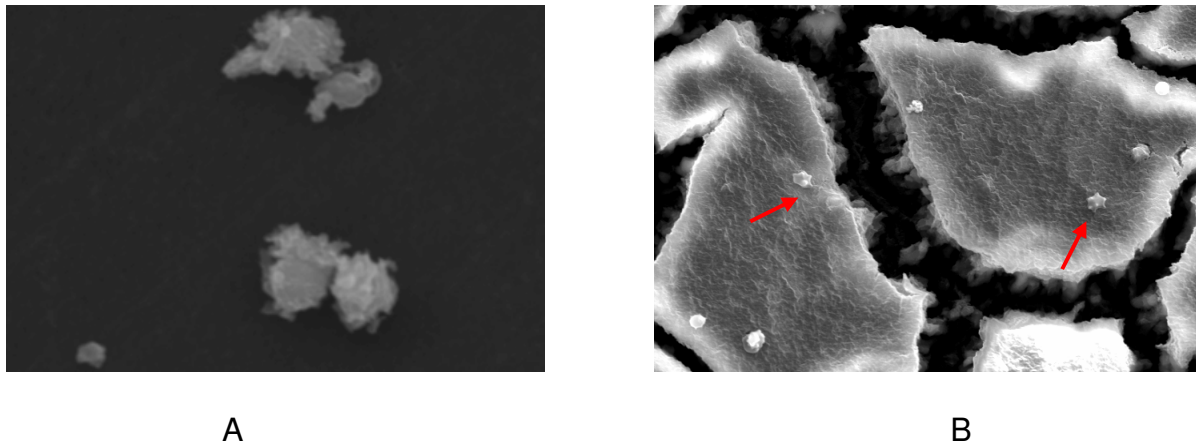


Abb.13: PyC- Oberfläche: **A:** Zeigt Verunreinigungen auf der PyC- Oberfläche. **B:** Stellt thrombotische Plaques mit aktivierten Thrombozyten dar (rote Pfeile).

hTiN

Auf der hTiN- Oberfläche wurden alle drei Zellarten vorgefunden: Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten (Abb.14 A). Die Leukozyten waren teilweise in sternförmiger Form anzutreffen, die auf eine Aktivierung der Zellen hinweist. Außerdem wurden die weißen Blutkörperchen in ständiger Begleitung mit einem dichten Fibrinnetz beobachtet. Bei dem vierten Versuch wurden Thrombozyten in organisierten Verbänden ohne viel Fibrinmaterial entdeckt (Abb.14 B). Ansonsten waren die Thrombozyten in dichte Fibrinbeläge integriert. Erythrozyten konnten nur in einem Versuch nachgewiesen werden. Außerdem waren auf der hTiN- Fläche feine Kollagenfasern zu sehen.

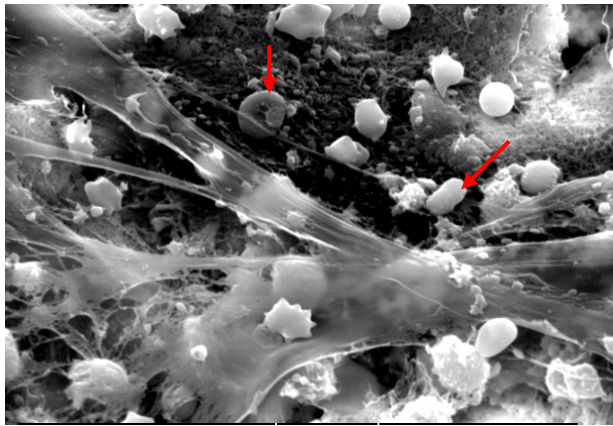
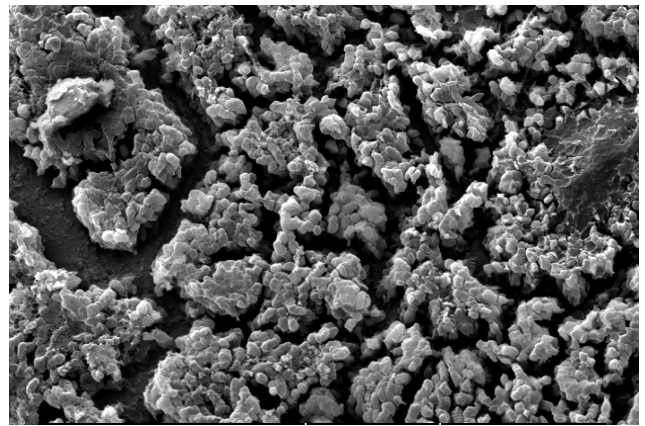
**A****B**

Abb.14: Darstellung der hTiN- Oberfläche. **A:** Unterschiedliche Zellen mit Fibrinfaser, die Pfeile zeigen auf Erythrozyten; **B:** Organisierte Verbände von Thrombozyten.

gTiN

Bei der gTiN- Beschichtung konnten Leukozyten, Thrombozyten und Fibrinmaterial identifiziert werden. In dem ersten Experiment wurden Thrombozyten in gruppierten Plaques vorgefunden, die durch feine Fibrinfäden untereinander verbunden waren (Abb.15 A). Die Plaques sind durch die Dehydrierung bei der Präparation der Testflächen entstanden. Hierbei gab es wenig Leukozyten. Im zweiten Versuch waren die Thrombozyten in dichte Fibrinbeläge integriert. Dabei kamen Leukozyten vermehrt vor, die sich in diese Netze eingeklemmt haben (Abb.15 B).

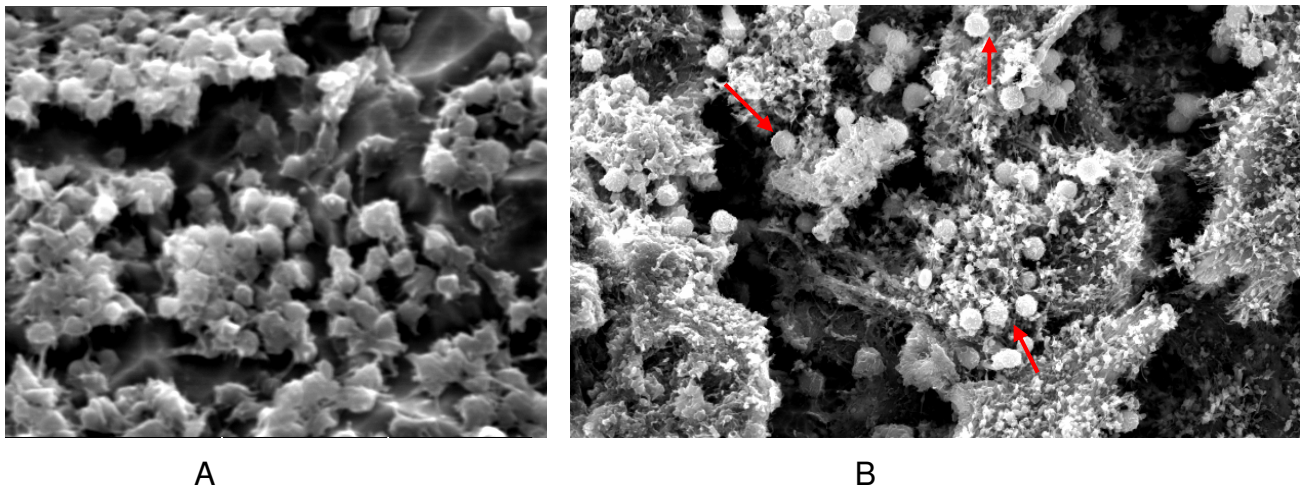


Abb.15: REM- Bilder von gTiN. **A:** Zeigt gruppierte Thrombozyten, die durch feine Fibrinfäden verbunden sind. Dazwischen ist die Beschaffenheit der gTiN- Oberfläche zu erkennen. **B:** Stellt dichte Fibringebilde mit Leukozyten dar (mit Pfeilen markiert).

ITiN

Die ITiN- Fläche zeigte ebenfalls Leukozyten und Thrombozyten (Abb.16). Jedoch kamen die Zellen nicht so zahlreich wie bei anderen Beschichtungen vor. Es überwog der Anteil der Fibrinschicht. Auffällig war, dass die nahe zu komplette Fläche mit feinen Fibrinfäden überzogen war.

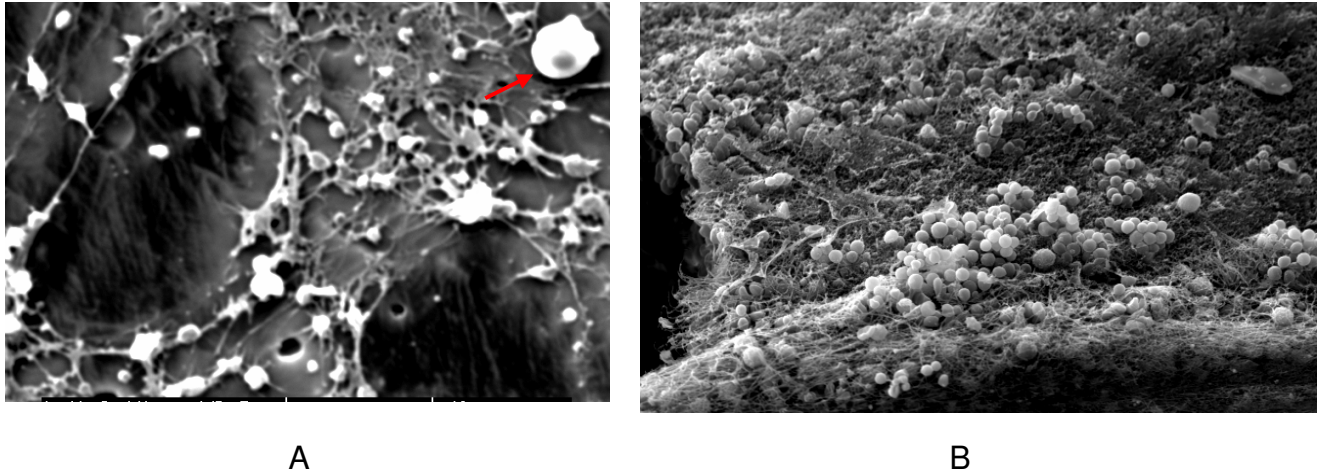


Abb.16: REM- Bilder von ITiN; **A:** Neben der freien Oberfläche sind Fibrinfäden zu sehen, die einen Thrombus bilden. Ein einziger Leukozyt ist markiert. Andere punktförmige Zellen sind Thrombozyten. **B:** Leukozyten auf einem Fibrinrasen.

Die Quantität der belegten Oberflächen konnte durch rasterelektronenmikroskopische Untersuchung korrigiert werden (Tab.3).

Experiment	hTiN	gTiN	ITiN	PyC
Nr. 1	+	++		∅
Nr. 2	+++++	++++		+++++
Nr. 3	∅		++	∅
Nr. 4	++		+++	++++

Tab.3: Im 1. Versuch wies gTiN mehr Fibrin als hTiN auf. Die ITiN- Beschichtung zeigte im 4. Versuch weniger Ablagerungen als PyC, aber mehr als hTiN, wobei der meiste Anteil sich auf feine Ablagerungen (+) bezog. Im 2. Versuch stellte die hTiN- Fläche ebenfalls feine Ablagerungen im Vergleich zu gTiN dar.

(∅ = keine Ablagerung, + = Quantität der Ablagerungen. + = dünne Ablagerungen)

3.2. Klappenverhalten im Flussmodell

3.2.1. Hämkompatibilität unterschiedlicher Oberflächen

Folgende Beschichtungen in Form von trikuspiden mechanischen Klappen wurden im Flußmodell untersucht:

1. Versuchsreihe: Ti unbehandelt, Oxidschicht, Ti manuell poliert, Ti unbehandelt
2. Versuchsreihe: TiN *, Ti unbehandelt

*(Klappenring gestrahlt, Klappenflügel manuell poliert)

Die Versuchsreihen (Abb.17/18) haben gezeigt, dass alle Oberflächen, die im Rahmen dieser Untersuchung getestet wurden, Koagulationsprozesse aufgewiesen haben. Speziell im Scharnierbereich zeigte sich thrombotisches Material, das möglicherweise die Grundlage für weitere Gerinnselbildung darstellte und auf die Klappensegel übergriff. In jedem Versuch wurden die Verwirbelungen, die durch den Blutstrom hervorgerufen wurden, beobachtet. Diese veränderten sich während der Versuchszeit und wiesen auf entstandene Gerinnsel hin, die teilweise gesehen werden konnten. Die thrombotischen Ablagerungen führten zu einer Störung der Klappenfunktion (Bewegungseinschränkung der Segel).

Ablagerungen	T11	T10 dotize	T8	T9	T13	T17
Scharnierbereich	+	+++	+++++	++++	+	++
Klappenring	+	++	+++++	++	+	++
Klappensegel	+	++	++++	+++	∅	++
Klappenfunktion- Beeinträchtigung	+	+++	++++	+++	∅	+

Tab.4: Differenzierung der thrombotischen Ablagerungen auf unterschiedlichen trikuspiden Klappen. T11, T9 und T17 sind unbehandelte Titanklappen. T8 ist eine manuell polierte Ti-Beschichtung. T10 dotize weist eine Oxidbeschichtung auf. T13 besteht aus TiN.



Abb.17: Darstellung der Ergebnisse der 1. Versuchsreihe. In der ersten Versuchsreihe verfügte die Ti-Beschichtung (T 8), die durch manuelle Polierung behandelt wurde, über massive thrombotische Ablagerungen. Im Vergleich dazu besaß die Ti- Klappe, die unbehandelt ins Flußmodell eingesetzt wurde, deutlich geringere Gerinnsel. Von den unbehandelten Ti- Oberflächen wurden die Klappen T 11 und T 9 getestet, wobei die T 11 weniger thrombosiert war. Die Oxidbeschichtung bei T 10 dotize zeigte trotz einer glätteren Beschaffenheit ebenfalls Ablagerungen sowohl im Scharnierbereich als auch im Bereich der Klappensegel.

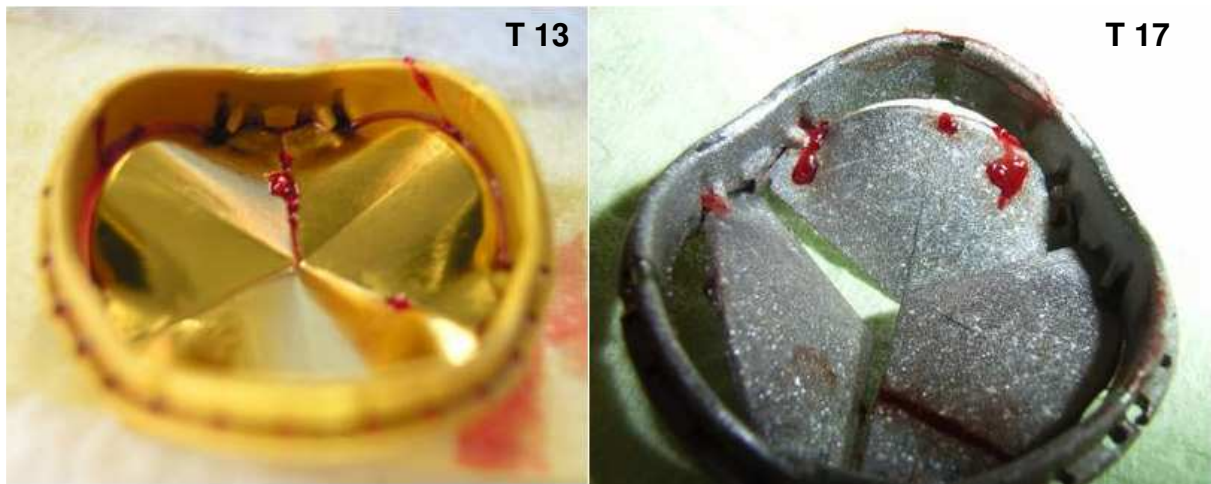


Abb.18: Darstellung der Ergebnisse der 2. Versuchsreihe. Die zweite Versuchsreihe zeigte, dass geringe Koagulationsprozesse auf der TiN- Oberfläche bei T 13 im Scharnierbereich, am Klappenring und zwischen den Klappensegel vorhanden waren. Bei der unbehandelten Ti-Beschichtung bei T 17, die hier mit TiN verglichen wurde, wurden thrombotische Ablagerungen sowohl in den oben genannten Bereichen als auch auf den Klappensegeln vorgefunden.

3.2.2. Untersuchung der Klappenfunktion mittels Röntgen

Aufgrund der thrombotischen Ablagerungen im Scharnierbereich, die zuvor in den Untersuchungen festgestellt wurden, wurde die Scharniermechanik geringfügig verändert. Die Modifikation der Scharniere sollte hier untersucht und mit der ursprünglichen Scharnierkonstruktion verglichen werden.

Es hat sich gezeigt, dass die Ti- Klappe mit den ursprünglichen Scharnieren eine bessere Dynamik besitzt als die Oxid- Klappe mit der veränderten Scharnierkonstruktion. Im C- Bogen konnte die Öffnung und Schließung der Ti- Klappe gut dargestellt werden (Abb.19) Bei der Oxidklappe dagegen war eine zum Teil uneinheitliche Öffnung/Schließung der Klappensegel zu sehen.

	Ti- Klappe	Oxid- Klappe
Scharniere	ursprüngliche Form	veränderte Form
Öffnung/Schließung	vollkommen möglich	nur partiell möglich
Segelbewegungen	einheitlich	uneinheitlich

Tab.5: zeigt den Vergleich zwischen den untersuchten Klappen.

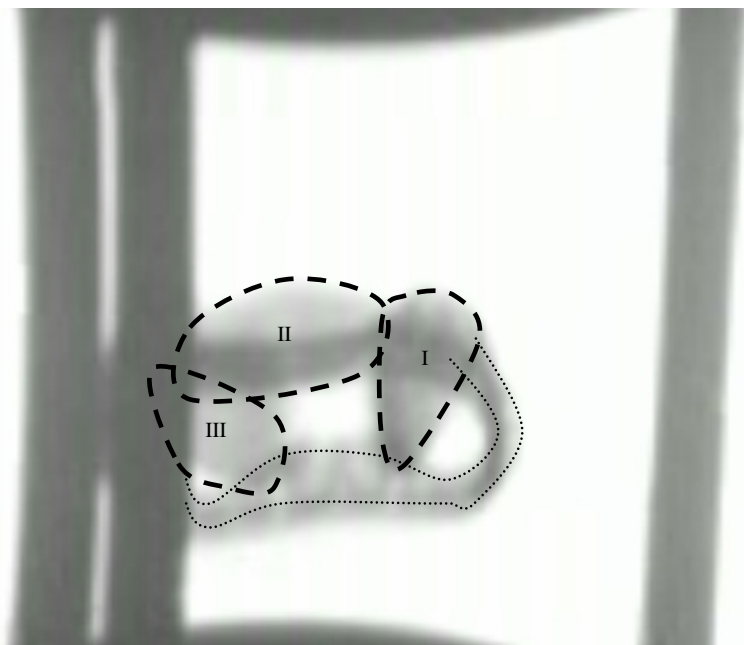


Abb.19: Darstellung der Ti- Klappe (eingesetzt im Flußmodell) unter Durchleuchtung in geöffneter Position. Die gepunktete Linie stellt den Klappenring dar. Die Klappensegel sind durch gestrichelte Linien markiert und nummeriert.

3.3. Klappenimplantation in vivo

Die Implantation der mechanischen Herzklappe in vivo führte zur einer detaillierten Beobachtung der Klappenfunktion und ergab folgende Resultate (Tab.6). Die Beobachtungszeit, die unmittelbar nach der Implantation begann, hatte eine inkonstante Dauer und war von folgenden Parametern abhängig:

- Die Klappenimplantation erfolgte weitgehend ohne Probleme. Es wurde jedoch festgestellt, dass bei den ersten beiden Versuchen (60/90 kg Schwein) der Annulus der Aortenklappe zu klein war. Eine Patcherweiterungsplastik wurde in beiden Fällen mit bovinem Perikard durchgeführt.
- Das Entwöhnen von der Herz- Lungen- Maschine konnte im 2. Versuch erfolgreich durchgeführt werden. In diesem Fall hat sich ebenfalls ein eigenständiger Sinusrhythmus eingestellt. Das Tier konnte nach ca. 3 Stunden extubiert werden und weitere 10 Stunden überleben. In den anderen beiden Versuchen war das Weaning nicht möglich gewesen.

- Der mittlere transvalvuläre Druckgradient lag bei allen Versuchen bei 50 mmHg. Der mögliche Grund für diesen hohen Gradienten war die Verengung der Aorta ascendens durch die Implantation der zu großen Klappe, die eine komplette Öffnung der Klappe verhinderte und damit der zentrale und vor allem periphere Blutfluss nicht mehr gewährleistet werden konnte. Dieser Aspekt wurde bei der Herausnahme der Klappe dargestellt.
- Bei der Explantation der mechanischen Herzklappen konnte die Hämokompatibilität untersucht werden. Bei der 2. Implantation wurde das thrombotische Material im Bereich der Scharniere gefunden, das die normale Funktionsfähigkeit der Klappe einschränkte. Im 3. Versuch wurden Koagulationsprozesse ebenfalls in den Scharnieren und auf der Oberfläche gefunden.

	1. Implantation	2. Implantation	3. Implantation
<i>Klappentyp</i>	Ti, Ø 23mm	Ti, Ø 23mm	TiN, Ø 23mm
<i>Gewicht des Tieres</i>	60 kg	90 kg	120 kg
<i>Implantationszeit</i>	4:35 h	5:15 h	4:20 h
<i>Klappenposition</i>	Annulus zu klein	Annulus zu klein, Anuloplastie	Gute Klappenposition
<i>Sinusrhythmus bei Reperfusion</i>	nein	ja	nein
<i>Weaning</i>	nein	ja, weiteres Überleben: 10 h	nein
<i>Transvalvulärer Gradient</i>	Δp 50 mm Hg	Δp 50 mm Hg	Δp 60 mm Hg
<i>Todesursache</i>	Kein Weaning, kein Sinusrhythmus	Massives Lungenödem	Kammerflimmern
<i>Thrombotische Ablagerungen</i>	ja	ja, in den Scharnieren der Klappe	ja

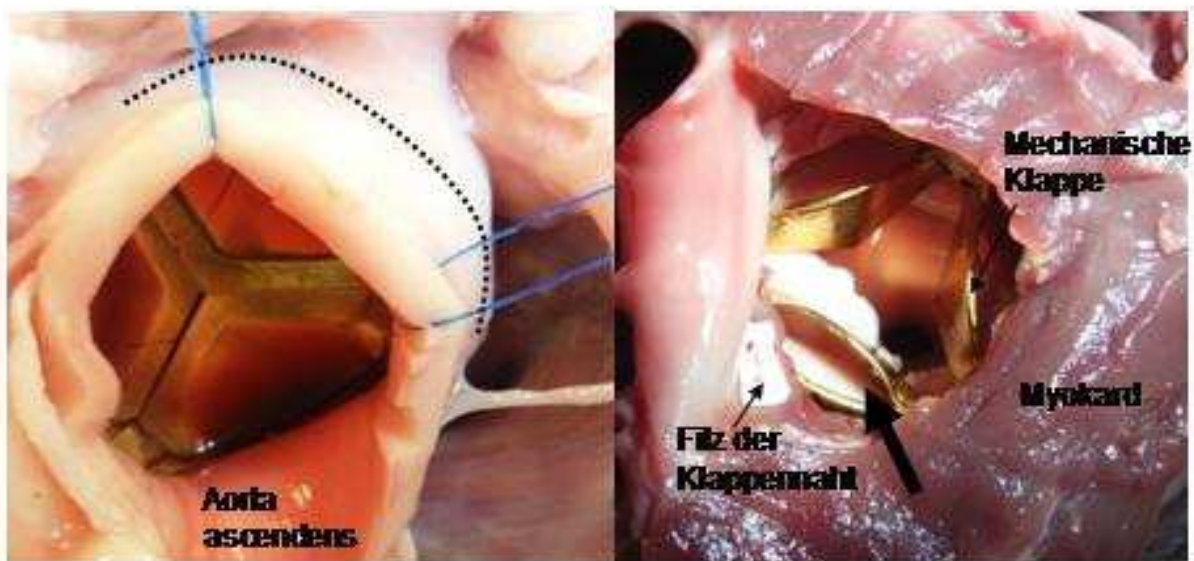
Tab.6: Darstellung der Ergebnisse der Klappenimplantation in vivo.

3.4. Optimierung des bestehenden Klappenmodells

Bei dieser In- vitro- Untersuchung wurde die TiN- Klappe in ein isoliertes Schweineherz implantiert, um den hohen transvalvulären Druck, der bei der In- vivo- Implantation entstanden ist, besser analysieren zu können.

Nach dem die TiN- Klappe eingesetzt wurde, konnte eine deutliche Einengung der supralvalvulären Aorta festgestellt werden (Abb.20).

Die Oberfläche der TiN- Klappe beträgt 280 mm². Die zentrale Blutströmung beschränkt sich auf eine Fläche von 161 mm². Daraus folgend fließen mehr als 50% des Blutes primär zentral. Der restliche, ebenfalls wichtige Anteil des Blutstromes passiert die Klappe über die Peripherie. Durch die aortale Einengung konnte der periphere Blutfluss nicht gewährleistet werden, so dass nur 57,5% des Blutstromes durchfließen konnten.

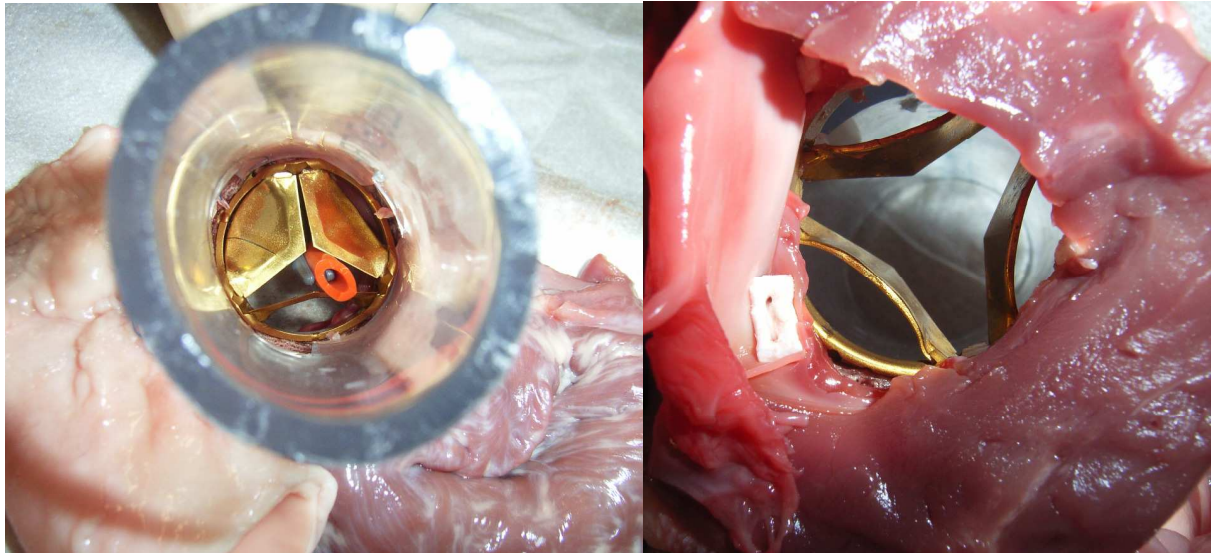


A

B

Abb.20: **A:** Zeigt die Verengung der Aorta ascendens nach der Implantation. Die gestrichelte Linie stellt den Klappenring der TiN- Klappe dar. **B:** Sicht aus dem linken Ventrikel in die Aorta. Die geöffnete Klappe zeigt die Einschränkung des peripheren Blutflusses durch die sich vor die Klappe legende supralvalvuläre Aortenwand.

Im zweiten Versuch, in dem die Aorta ascendens durch die Patchtechnik und das Einführen eines Platzhalters (Durchmesser 2,5-3 cm) erweitert wurde, konnte eine ungehinderte Öffnung und Schließung der Klappe beobachtet werden. Sowohl der periphere als auch der zentrale Blutfluss wurden dadurch gewährleistet.



A

B

Abb.21: **A:** Durch die Unterstützung des Platzhalters kann die Klappe ungehindert öffnen/schließen. **B:** Der linke Ventrikel ist aufgeschnitten. Sicht aus dem linken Ventrikel in die Aorta. Der periphere Blutfluss ist gewährleistet.

4. Diskussion

4.1. Oberflächenanalyse

Hämokompatibilität der Testoberflächen

Um festzustellen, ob die zu untersuchende Beschichtung sich für den Einsatz im Blut und damit für den mechanischen Klappenersatz eignet, müssen die Entstehung der Thrombose und deren Einflussfaktoren berücksichtigt werden. Virchow hat 1856 zum ersten Mal die Pathogenese der Thrombose beschrieben, in dem er drei Faktoren nannte, die die Thrombose begünstigen: verlangsamte/gestörte Blutflussgeschwindigkeit, Veränderungen der Gefäßwand und Gerinnungsstörungen (Virchow 1856). Folglich ist die Thrombusentstehung auf einer künstlichen Oberfläche abhängig von der Thrombogenität der Oberfläche, den hämodynamischen Bedingungen und Blutkomponenten des Wirtes.

Der pyrolytische Kohlenstoff (PyC) ist das Material, das heute als Beschichtung bei den mechanischen zweiflügeligen Herzklappen verwendet wird. Dabei ist es nicht bewiesen, dass PyC die am besten hämokompatible Beschaffenheit besitzt. Vorherige Studien haben gezeigt, dass Titan und TiN (Titannitrid) deutlich weniger Thrombusformation im Vergleich zu PyC aufweisen (Yang et al. 1996 a, b, c, d).

In der vorliegenden Arbeit wurde primär die Hämokompatibilität der behandelten TiN-Beschichtungen in vivo untersucht. Die PyC-Oberfläche stellte eine Referenzfläche dar. Die Ergebnisse dieser Studie lassen jedoch keine signifikante Aussage über die Unterschiede der Hämokompatibilität der Beschichtungen zu. Alle getesteten Oberflächen wiesen Ablagerungen auf, die zum Teil nicht thrombogenetischer Herkunft waren. Tendenziell demonstrierte die hTiN-Oberfläche (handpoliertes TiN) die wenigsten Thrombusablagerungen, während die PyC-Fläche (im direkten Vergleich) teilweise über massive Koagulationsprozesse verfügte.

Die in vitro Versuche haben in der Vergangenheit gezeigt, dass TiN eine gute Hämokompatibilität besitzt (Dion et al. 1992/1993 a, b, c). Die in vivo Versuche, die

im arteriellen und venösen System durchgeführt wurden, deuteten ebenfalls auf eine geringere Thrombogenität des TiN und zeigten außerdem eine bessere Blutverträglichkeit gegenüber dem PyC (Yang et al. 1996 b, c). In dieser Studie sollte TiN weiterhin analysiert und die beste Beschaffenheit unter den unterschiedlich behandelten TiN- Oberflächen herausgefunden werden.

Thrombogenität der TiN- Flächen

Alle TiN- Testflächen hatten ihre Vor- und Nachteile. Die hTiN- Fläche besaß von allen TiN- Testflächen (hTiN, gTiN, ITiN) die geringste Oberflächenrauigkeit. Jedoch ist die Herstellung der manuell polierten Fläche sehr kostenintensiv und das Verfahren kann nur bei einfachen Flächen angewandt werden. Die mittels Laserstrahl bearbeitete TiN- Fläche (ITiN) war rauer, hat aber den Vorteil, dass alle Oberflächenbereiche durch dieses Herstellungsverfahren erreicht werden können. Durch das Nassstrahlverfahren (gTiN) können ebenfalls komplexe Oberflächen bearbeitet werden.

Die Ergebnisse dieser Studie haben gezeigt, dass hTiN die beste Hämokompatibilität von allen drei TiN- Flächen aufweist. Aus makroskopischer Sicht war hTiN dem ITiN deutlich überlegen, im Vergleich zu gTiN verfügte hTiN über vergleichbare Thrombusablagerungen. Nach der REM- Untersuchung erwies sich die hTiN- Fläche als Favorit unter den behandelten TiN- Flächen. Trotz der besseren Resultate des hTiN darf nicht übersehen werden, dass die Oberfläche bei drei von vier Versuchen nach zwei Stunden thrombotische Rückstände besaß. Beim dritten Versuch wurden Ablagerungen beobachtet, die keinem thrombotischen Material zugeordnet werden konnten. Diese Ablagerungen können jedoch als Grundlage für die Entstehung eines Thrombus dienen. Die minimalen thrombotischen Ablagerungen waren jedoch zu erwarten, da keine Antikoagulantien während der Beobachtungszeit in der vorliegenden Arbeit verabreicht wurden.

Thrombogenität des PyC im Vergleich zu TiN

Die Studie zeigte differierende Ergebnisse. Einerseits wies PyC bei zwei Versuchen kein thrombotisches Material auf, aber Ablagerungen, die zur Entstehung eines Gerinnsels führen könnten. In einem Versuch war die PyC- Testfläche allerdings

nicht vollständig dem Blutstrom ausgesetzt. Das hTiN besaß in den gleichen Versuchen sehr wenig bzw. keine Ablagerungen. Andererseits verfügte PyC in den anderen beiden Experimenten über massive Gerinnselbildung, während hTiN (ebenfalls gTiN und ITiN) weniger thrombotisches Material aufwies. Dieser Unterschied wurde anhand der quantitativen Auszählung und der REM- Auswertung dargestellt. Diese Darlegungen führen zur Schlussfolgerung, dass PyC gegenüber TiN (besonders zu hTiN) keine bessere Hämokompatibilität aufweist.

Thrombuszusammensetzung

Vorherige Studien haben gezeigt, dass die Blutzellen zu verschiedenen Oberflächen zugeordnet werden konnten. Der Thrombus der PyC- Fläche bestand hauptsächlich aus vielen Leukozyten und Thrombozyten (Yang et al. 1996 a, b, c). Auf der Ti und TiN- Fläche konnten Erythrozyten identifiziert werden, die sich in einem Fibrinnetz verfangen haben (Yang et al. 1996 a, b, c).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit präsentierten auf der PyC- Oberfläche ebenfalls zahlreiche Leukozyten und Thrombozyten, die teilweise aktiviert waren. Die vorgefundenen aktivierten Thrombozyten sind ein Indiz für aktive Koagulationsprozesse. Die Aktivierung der Blutzellen wurde nicht gemessen, jedoch konnte die Pseudopodien- Ausbildung der jeweiligen Zellen darauf hinweisen. Auf den TiN- Oberflächen waren unterschiedliche Zellmuster zu finden. Auf der hTiN- Fläche waren alle Zellarten, unter anderem Erythrozyten und aktivierte Leukozyten, vertreten. Die gTiN und ITiN- Flächen verfügten über Leukozyten und Thrombozyten, die zusammen mit Fibrinfäden, tlw. mit dichten Fibrinnetzen, beobachtet wurden. Das Vorkommen der Leukozyten ist als prokoagulatorische Komponente der Thrombusbildung bekannt (Niemetz et al. 1977).

Letztendlich wurden Unterschiede bei den TiN- Oberflächen nicht nur bezüglich der Thrombogenität, sondern ebenfalls in der Zusammensetzung des Thrombus festgestellt. Die Differenzen unter den TiN- Beschichtungen können durch unterschiedliche Behandlung zustande gekommen sein. Die Oberflächenrauigkeit, die durch die Herstellung geprägt ist, könnte aber ebenfalls eine Rolle spielen.

Beobachtungszeit

Die Testflächen wurden für zwei Stunden in die Aorta descendens implantiert und dem Blutstrom ausgesetzt. Nach der Explantation wurden mittels makroskopischer und besonders rasterelektronenmikroskopischer Untersuchung Koagulierungsprozesse festgestellt. Es hat sich gezeigt, dass 75% der Oberflächen nach dieser kurzen Zeit Ablagerungen (teilweise massive) aufwiesen. Es wäre auch möglich gewesen, die Testflächen für eine längere Zeitdauer dem Blutstrom auszusetzen. Jedoch sind die Ergebnisse der Kurzzeitexperimente genauso wichtig wie die der Langzeitexperimente. Die Kurzzeitexperimente erscheinen sogar relevanter zu sein, da die Ergebnisse Hinweise geben, wie gut hämokompatibel die Oberfläche ist. Beim Auftreten der geringsten Thrombusbildung innerhalb dieser kurzen Zeit würde man weitere thrombotische Prozesse erwarten.

Auswertungsmethoden

Es gibt unterschiedliche Methoden, die zur Beurteilung der quantitativen Thrombusentstehung auf künstlichen Oberflächen angewendet wurden wie z. B. die Messung der Thrombusdicke und des Thrombusgewichts (Schultz et al. 1977). Der Thrombus kann ebenfalls durch radiomarkierte Blutplättchen gekennzeichnet werden (Dewanjee 1987).

In dieser Arbeit wurde die Thrombogenität mithilfe von Makroskopie, REM und quantitativer Auszählung beurteilt. Alle drei Verfahren haben ihre Vor- und Nachteile, sind aber für die Bewertung der Hämokompatibilität der Oberflächen erforderlich gewesen und haben sich gegenseitig ergänzt.

Die Makroskopie ermöglichte den ersten Eindruck, der die Stärke und das Ausmaß der Thrombusformation vermittelte. Der erste Vergleich konnte zwischen den unterschiedlichen Testflächen gezogen werden. Außerdem konnte der Einfluss des Blutstromes beurteilt werden. Die makroskopische Auswertung ist allerdings nur für die erste Einschätzung geeignet.

Die Quantität der Thrombusfläche wurde anhand eines Netzmikrometers gemessen. Die Quadrate, die etwas dunkler (durch die Vorbereitung) erschienen, wurden als Thrombusgewebe identifiziert und gezählt. Die quantitative Darstellung der

Oberflächen erlaubte den präzisen Vergleich. Der Nachteil dieser Messung ist, dass die Auszählung manuell erfolgte. Jedoch müsste die Fehlerquelle bei allen Testflächen gleich sein. Außerdem kann die Dicke der Koagulierungsprozesse nicht beurteilt werden und die Gerinnsel, die sich am Knopfrand befanden, konnten nicht mit eingeschlossen werden. Folglich konnten Thrombusformationen am Knopfrand nicht erfasst werden und führten zu verfälschten Ergebnissen.

Die REM- Auswertung zeigte die detaillierten Bestandteile des Thrombusgewebes. Die Testfläche wurde vollständig analysiert, so dass die kontroversen Areale überprüft und verdeutlicht werden konnten. Die Beschaffenheit konnte dargestellt werden, so dass diverse Materialunebenheiten festgestellt wurden. Die Materialunebenheiten können die Ursache der Gerinnselbildung sein.

Durchführbarkeit

In vorangegangenen Studien wurde ein signifikanter Unterschied zwischen der Thrombogenität der PyC und TiN- Oberfläche festgestellt (Yang et al. 1996 d). Es ist aber zu berücksichtigen, dass die TiN- Testfläche unbehandelt gewesen ist. Die Auswertungen dieser Studie haben gezeigt, dass die behandelten TiN- Beschichtungen keinen signifikanten Unterschied im Vergleich zur PyC- Hämokompatibilität zeigen. Die Tendenz besteht, dass hTiN etwas bessere Hämokompatibilität aufweist. Die Ergebnisse sind jedoch nicht aussagekräftig genug.

Die Anzahl der Tierversuche hätte erhöht werden können, um weitere Erkenntnisse zu gewinnen. Aufgrund der unklaren Ergebnisse, die sich im Verlauf der Versuchsreihe ergaben, wurden keine zusätzlichen Tiere den Versuchen unterzogen. Zunächst stehen in vitro Versuche wieder im Vordergrund.

Die Experimente haben unterschiedliche Resultate ergeben, obwohl die Versuche identisch durchgeführt wurden. Der erste Versuch wurde wiederholt, da die Beschichtungen bei der Explantation nahezu keine Ablagerungen aufwiesen. Im Vergleich dazu wurden im zweiten Versuch fast vollständig thrombosierte Testflächen vorgefunden. Diese Differenz wurde potentiell durch das tierindividuelle Gerinnungssystem hervorgerufen. Schweine verfügen über ein sehr aktives Gerinnungssystem, so dass unterschiedliche Ausprägungen möglich sind. Dagegen

besitzen Schafe ein Koagulationssystem, das dem menschlichen ähnelt. Aus diesem Grund wurden Schafe als experimentelle Tiere von der FDA (Food and Drug Administration) für die Erprobung mechanischer Herzklappenprothesen empfohlen (Bodnar 1996). In dieser Studie konnten die Versuche an Schafen aus folgendem Grund nicht durchgeführt werden: Die Oberflächenanalyse diente als Basisuntersuchung für die Implantation einer mechanischen TiN- Klappe (Innendurchmesser 21 mm). Aufgrund der Klappengröße waren Schafe ungeeignet für die Realisierung der Experimente.

Vom interindividuellen Unterschied der Tiere sind alle Oberflächen betroffen, die in einem Experiment implantiert wurden. Das hat zur Folge, dass intraindividuelle Unterschiede auf die Beschaffenheit und Hämokompatibilität der eingesetzten Testflächen zurückzuführen sind. Aus diesem Grund eignet sich diese in vivo Methode gut für den Vergleich mehrerer Beschichtungen, da in einem Experiment für alle drei Oberflächen gleiche Konditionen herrschen. Diese Feststellung lässt an den in vivo Methoden zweifeln, die lediglich eine Testfläche in einem Tier analysiert haben (Gott und Furuse 1972, Kusserow 1972).

Die Reinigung der Beschichtungen im ersten Versuch, die mittels Alkohollösung erfolgte, könnte ebenfalls als Grund für die thrombusfreien Oberflächen in Frage kommen.

Es konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Implantationsseiten festgestellt werden. Die Ergebnisse haben gezeigt, dass die hämodynamischen Bedingungen auf unterschiedlichen Implantationsseiten in jedem Experiment äquivalent waren. Es wurde kein „Abwärts“- Phänomen beobachtet (Turitto und Baumgartner 1982, Baumgartner et al. 1976, Butchart 1992), nach dem die erste Oberfläche am meisten thrombosiert sein müsste.

4.2. Evaluierung der Funktion einer trikuspiden Klappe

Der zweite Abschnitt der vorliegenden Arbeit befasste sich mit der Analyse der trikuspiden mechanischen Herzklappen. In dem heutigen Klappenersatzverfahren sind die Doppelflügelprothesen aufgrund ihrer besseren Hämodynamik und geringeren Thrombogenität im Vergleich zu anderen auf dem Markt befindlichen mechanischen Herzklappenprothesen führend und stellen die am häufigsten implantierten Exemplare dar.

Um die Klappenprothesen zukünftig optimieren zu können, muss nicht nur das Design, sondern ebenfalls die Oberflächeneigenschaften einer in Frage kommenden Beschichtung berücksichtigt werden. Folglich beinhaltet die Analyse des trikuspiden Modells die Evaluierung der Funktion sowie der Hämokompatibilität *in vitro* und *in vivo*.

In vitro: Hämokompatibilität

In zwei Versuchsreihen wurden trikuspide Herzklappen mit unterschiedlichen Oberflächen analysiert. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit haben gezeigt, dass unter den untersuchten Testoberflächen insgesamt die TiN- Klappe das wenigste thrombogene Material aufwies.

TiN wurde in dieser Studie mit Ti- und Oxidschicht- Klappen verglichen. Beide Beschaffenheiten wiesen teilweise auf der kompletten Oberfläche massive Koagulationsprozesse auf, obwohl Titan in anderen Studien bessere Resultate als ein pyrolytischer Kohlenstoff präsentierte (Yang et al. 1996 a, b). Bei dieser Analyse ergaben sich unter mehreren verifizierten Titanflächen uneinheitliche Ergebnisse. Dieser Aspekt kann partiell auf die uneinheitliche Vorbehandlung der Klappen und unterschiedliche Bluteigenschaften zurückgeführt werden.

Alle trikuspiden Herzklappen wiesen bei der Auswertung dieser Untersuchung ein gemeinsames Kriterium auf. Sie verfügten über thrombogene Ablagerungen an den Scharnieren und am Klappenring, die zum Teil die Klappenfunktion bis zur Funktionsunfähigkeit beeinträchtigten. Diese Problematik basiert möglicherweise weniger auf den Oberflächeneigenschaften, sondern auf der Scharnierkonstruktion.

Die Scharniere stellen eine unebene Oberfläche dar, sodass diese Konstruktion eine zunehmende Angriffsfläche im Vergleich zu planen Klappensegel bietet. Außerdem fehlt es an einem passiven Durchspülen der Scharniere wie z.B. bei einer Doppelflügelklappe, während die Klappensegel geschlossen sind (Höfling 2006). Dadurch können thrombotische Ablagerungen schneller entstehen. Der Winkel der Öffnungsfläche der Scharniere könnte gleichermaßen entscheidend sein. Bei der TiN- Klappe könnte die Thrombusbildung aber ebenfalls an der unterschiedlichen Behandlung des TiN beruhen. Die Klappenflügel wurden manuell poliert, während der Klappenring durch das Nassstrahlverfahren behandelt wurde. Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit hat die Analyse der TiN- Beschichtungen ergeben, dass hTiN bessere Resultate im Vergleich zu gTiN aufweist. Um eine signifikante Aussage treffen zu können, ist die Anzahl der geprüften Klappen zu gering.

Neben der Thrombogenität der Herzklappen wurde ebenfalls die Klappenfunktion beurteilt. Eine Klappenfunktionsbeeinträchtigung konnte erst durch eine Thrombenentstehung wahrgenommen werden, die den Blutfluss behinderte und Verwirbelungen im Blut veränderte. Die Klappenfunktion konnte aus diesem Grund nur eingeschränkt analysiert werden. Die TiN- Klappe verfügte als einzige trikuspidale Klappe über keine Funktionsbeeinträchtigung.

In vitro: Klappendynamik

In den vorangegangenen in vitro Versuchen konnte die Klappendynamik nur begrenzt analysiert werden. Diese Untersuchung stellte einen Vergleich zwischen der ursprünglichen und modifizierten Scharnierkonstruktion dar. Aufgrund der vermehrten Thrombusbildung im Bereich der Scharniere wurde die ursprüngliche Scharniermechanik geringfügig modifiziert. Die Ergebnisse dieser Studie zeigten eine Dominanz der ursprünglichen Konstruktion, die sich in einheitlicher und vollkommener Öffnung/ Schließung der Segel widerspiegelte. Funktionseinschränkungen der Klappensegel konnten nicht nachgewiesen werden. Schlussfolgernd ermöglicht die Gestaltung der Scharniere eine funktionsfähige trikuspidale mechanische Klappe.

In vivo: Klappenimplantation

Das Design der Doppelflügelprothesen (z.B. St. Jude) weist einige Vorteile gegenüber den anderen Herzklappenmodellen auf (Gott et al. 2003, Vogt et al. 1990). Die Doppelflügelprothesen verfügen über einen zentralen und peripheren Blutfluss. Besonders die zentrale Blutströmung ermöglicht eine naturgetreue Hämodynamik. Die trikuspidale Herzklappe besitzt einen höheren zentralen Blutfluss (ca. 60% des Pendelvolumens) im Vergleich zu anderen Modellen.

Die in vivo Versuche der trikuspiden Klappen ergaben in allen drei Experimenten einen hohen transvalvulären Gradienten, der zum Linksherzversagen führte. Der Druckanstieg kann nur durch einen zu engen Aortenannulus erklärt werden, obwohl partiell eine Anuloplastie durchgeführt wurde. Spätere in vitro Untersuchungen zeigten, dass die supra-avalvuläre Aortenwand sich über die mechanische Herzklappe legte, so dass die periphere Blutströmung gestört wurde. Das Schlagvolumen betrug folglich statt 100% lediglich 57,5% (statt 80 ml ca. 48 ml). Eine Reduktion des Schlagvolumens und eine dadurch gleichzeitige höhere linksventrikuläre Belastung begleitend durch die Tachykardie begründen die Erhöhung des transvalvulären Druckes (Classen et al. 2004 a).

Die Dauer der Beobachtung wurde nicht festgesetzt. Sie begann unmittelbar nach der Implantation und konnte in einem Fall bis zu 10 Stunden fortgeführt werden. Je länger die Beobachtung andauerte, desto gründlicher konnten die Veränderungen der Hämodynamik beobachtet werden.

In Bezug auf die Hämokompatibilität wiesen alle drei Klappen bei der Explantation thrombotische Ablagerungen auf, so dass eine signifikante Aussage über die Thrombogenität möglich ist.

Optimierung des Klappenmodells

Um die Ursache des hohen transvalvulären Gradienten genau untersuchen zu können, wurde die TiN Klappe in vitro in ein Schweineherz implantiert. Anschließend wurde ein künstlicher Blutfluss angelegt. Die Untersuchung ergab eine Einengung des Aortenannulus, sodass die Implantation der TiN- Klappe kaum möglich war. Nach einer erschwerten Implantation zeigte sich die Verengung des supra-avalvulären

Bereichs mit Einschränkung der Beweglichkeit der Klappensegel, sodass die Ursache konkretisiert werden konnte.

Der hohe transvalvuläre Gradient entstand durch eine supralvalvuläre Verengung der Aorta, so dass lediglich die zentrale Blutströmung (57,5% des Blutvolumens) gewährleistet werden konnte.

Eine Verringerung des Auswurfvolumens um 40% bedeutet eine deutlich zunehmende Volumenbelastung für den linken Ventrikel. Eine akute Volumenbelastung des Ventrikels führt zum Versagen der funktionalen Adaptationsmechanismen (Frank-Starling-Mechanismus, Treppenphänomen, Tachykardie) (Classen et al. 2004 b) und zu einem massiven Lungenödem, zum Linksherzversagen und letztendlich zum Tod. Diese Phänomene spiegelten sich in den durchgeführten in vivo Versuchen (siehe oben) wider.

Der zweite Aspekt der supralvalvulären Verengung ist die suboptimale Versorgung der Koronarien. Die zentrale Blutströmung und die supralvalvuläre Verengung ergeben zwei Komponenten, die zu einer Minderperfusion der Koronarien und damit zur Reduktion der Herzleistung führten.

Wie zu Beginn erwähnt, formulierte Virchow drei Faktoren, die zu einer Begünstigung der Thromboseentstehung führen. Diese Faktoren lassen sich auf die beschriebenen Klappenveränderungen übertragen:

1. Eine verlangsamte bzw. gestörte Blutflussgeschwindigkeit ist durch die gegebene Scharnierkonstruktion und damit durch den fehlenden Fluss während der Schließung der Klappensegel bedingt.
2. Veränderungen der Gefäßwand sind durch die Verengung des supralvalvulären Segmentes hervorgerufen.
3. Die Gerinnungsstörungen wurden durch das dynamische Gerinnungssystem der Schweine bedingt.

5. Limitationen

Die vorliegende Arbeit umfasste zwei Themenbereiche, die aufeinander aufbauen. Die Hämokompatibilität der unterschiedlich behandelten TiN- Beschichtungen stellte den Hauptaspekt dieser Arbeit dar. Die daraus resultierenden Ergebnisse sind ein wichtiger Bestandteil der weiteren Überlegung zur Optimierung der mechanischen Klappenersatzmodelle. Das Klappendesign, womit sich der zweite Teil der Arbeit beschäftigte, spielt ebenfalls eine entscheidende Rolle.

Die Aussagekraft der gesamten Arbeit ist durch die kleine Anzahl der Versuche limitiert. Es handelt sich jedoch um eine tierexperimentelle Arbeit, was im Fall der in vivo Versuche beachtet werden muss.

Bei der Auswertung der Hämokompatibilität ergaben sich einige Schwierigkeiten, die zu fehlerhaften Ergebnissen geführt haben könnten. Der erste Versuch wurde aufgrund von einigen Implantationskomplikaationen wiederholt. Vor der repetitiven Implantation wurden die Testflächen in Alkohol gereinigt, so dass dadurch möglicherweise die Thrombusbildung beeinflusst wurde. Im dritten Versuch konnte lediglich die Hälfte der PyC- Testknopfoberfläche eingesetzt werden, so dass eine vollständige Auswertung dieser Fläche nicht möglich war.

Die Beurteilung der Hämokompatibilität der Testflächen könnte durch folgende Faktoren beeinträchtigt worden sein:

- Die Thrombusbildung könnte
 1. vom Knopfrand beginnen, wo das Testmaterial mit der Aortenwand Kontakt aufweist und dort ein Thrombus sich schneller bildet als auf der Oberfläche.
 2. auf den Unebenheiten entstehen, die durch die Herstellung der Knöpfe hervorgerufen wurden.
- Zudem ist die Überlegung möglich, dass einige kleine Thromben durch den hohen Druck der hämodynamischen Verhältnisse von der Testoberfläche fortgespült worden sind und in die Auswertung nicht einbezogen wurden.

- Die Testoberflächen wurden nach der Beobachtungszeit explantiert und anschließend in einer Alkohollösung aufbewahrt. Dabei könnten sich einige Bestandteile der Thromben gelöst haben, sodass sie nicht erfasst wurden.
- Der prozentuale Anteil der mit Thrombus behafteten Oberfläche wurde manuell ausgezählt. Trotz mehrmaliger Überprüfung können Fehler nicht ausgeschlossen werden.
- Die Aktivität der Zellen wurde nicht gemessen, sodass keine klare Aussage über den weiteren Progress der Thrombusentstehung getroffen werden kann.

Die Analyse der Hämokompatibilität der Klappen in vitro könnte durch das Flussmodell zu fehlerhaften Ergebnissen geführt haben. Das Flussmodell wurde nach jedem Versuch präzise gesäubert. Jedoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass die restlichen Bestandteile der gebildeten Thromben im System des Flussmodells haftend geblieben sind und dadurch zu einer schnelleren Thrombusbildung im nächsten Versuch geführt haben.

6. Zukunftsaussichten

Das Ziel des Herzklappenersatzverfahrens ist eine hämokompatible Beschichtung zu ermitteln, die eine lebenslange Antikoagulierung vermeidet. Um die TiN-Beschichtungen und andere hämokompatible Oberflächen diesbezüglich im Weiteren validieren zu können, müssen noch zahlreiche Analysen durchgeführt werden.

Nach der vorliegenden Arbeit wird voraussichtlich eine zweite Serie der Oberflächenanalyse folgen. Gleichzeitig werden weitere Implantationen nach Optimierung der Klappe, die zusätzliche in vitro Versuche beinhaltet, geplant.

7. Zusammenfassung

Die Beschaffenheit der heutigen mechanischen Herzklappenersatzprothesen erfordert eine lebenslange Antikoagulationstherapie. Der zur Zeit häufigste implantierte Klappenersatz ist die pyrolytische Zweiflügelprothese. Einige Studien belegen, dass es andere hämokompatiblere Beschichtungen existieren.

Das Ziel dieser Studie bestand in erster Linie darin, eine hämokompatiblere Beschichtung aus unterschiedlich hergestellten TiN- Flächen zu verifizieren. Zudem wurden im Rahmen dieser Studie dreiflügelige Prothesen untersucht. Zur Analyse der Hämokompatibilität wurden insgesamt vier Oberflächen (hTiN, gTiN, ITiN, PyC) in vier Versuchen in vivo geprüft. In jedem Versuch wurden drei Flächen in Form von Knöpfen jeweils in unterschiedlicher Reihenfolge implantiert. Nach zwei Stunden Beobachtungszeit erfolgte Explantation und Auswertung der Testknöpfe. Die Auswertung beinhaltete die quantitative Auszählung der Koagulationsfelder und die REM- Untersuchung. Das Verhalten der Dreiflügelprothesen wurde zunächst in zwei Versuchsreihen in vitro in einem Flußmodell und anschließend in vivo untersucht. Dabei wurden insgesamt neun Herzklappen auf ihre Funktion und Hämokompatibilität analysiert. Eine exaktere Funktionsanalyse im Blut erfolgte mittels einer Röntgenuntersuchung.

Die Ergebnisse dieser Arbeit haben gezeigt, dass hTiN die beste Hämokompatibilität unter den drei unterschiedlich hergestellten TiN- Oberflächen aufweist. Im direkten Vergleich zu PyC konnte keine Überlegenheit der pyrolytischen Beschichtung gegenüber hTiN festgestellt werden. Es wurde kein Unterschied zwischen den Implantationsseiten und kein „Abwärtsphänomen“ in Blutflussrichtung beobachtet. Die In-vitro- Analyse der Dreiflügelprothesen ergab in allen Versuchen Koagulationsprozesse im Scharnierbereich, am wenigsten auf einer TiN- Klappe. In allen drei in vivo Experimenten resultierte ein hoher transvalvulärer Druck von ca. 50 mmHg, der aufgrund der supralvalvulären Verengung entstand.

Schlussfolgernd hat die Studie ergeben, dass hTiN die best geeignete Beschichtung unter anderen TiN- Flächen ist und keine schlechtere Hämokompatibilität gegenüber dem PyC aufweist. Die Dreiflügelprothesen zeigten positive Ergebnisse in ihrer Funktion, benötigen jedoch eine weitere Optimierung der Scharnierkonstruktion und der Implantation zur Verhinderung des hohen transvalvulären Druckes.

8. Anhang

8.1. Abkürzungsverzeichnis

DLC	Diamond like Carbon
gTiN	mittels Nassstrahlverfahren (Hydroxylapatit) behandeltes Titannitrid
HLM	Herz- Lungen- Maschine
hTiN	manuell poliertes Titannitrid
LA	left atrium (linker Vorhof)
LV	left ventricle (linker Ventrikel)
ITiN	mittels Laser poliertes Titannitrid
MIM	Metal Injection Molding
PA	Pulmonalarterie
PVD	Physical Vapour Deposition
PyC	pyrolytischer Kohlenstoff
REM	Rasterelektronenmikroskopie
Ti	Titan
TiN	Titannitrid

8.2. Literaturverzeichnis

Barner, H. B., Labovitz, A. J., Fiore, A. C. (1994): Prosthetic valves for the small aortic root. *J. Card Surg*, 9 (2 Suppl), 154-157

Baumgartner, H. R., Muggli, R., Tschopp, T. B., Turitto, V. T. (1976): Platelet adhesion, release, and aggregation in flowing blood: Effects of surface properties and platelet function. *Thrombos Heamostas*, 35, 124-138

Berchtold (2006): Erworbene Herzklappenfehler, Chirurgie. Urban & Fischer, München, 5, 672-676

Bodnar, E. (1996): Editorial: The Medtronic parallel valve and the lessons learned. *J Heart Valve Disease*, 5, 572-573

Bondar, E. (1995): Mechanical valves. In: Bondar, E., Acar, J. (eds). *Textbook of acquired heart valve disease*. ICR Publishers, London

Butchart, E. G. (1992): Thrombogenicity, thrombosis and embolism. In: Butchart, E. G., Bodnar, E. (eds.) *Thrombosis, embolism and bleeding*. 172-205, ICR Publishers, London

Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. (2004) a: Innere Medizin. Urban & Fischer, München, 5, 286

Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. (2004) b: Innere Medizin. Kapitel Herzinsuffizienz. Urban & Fischer, München, 5, 210-220

Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. (2004) c: Innere Medizin. Kapitel Aortenstenose. Urban & Fischer, München, 5, 296-299

Dewanjee, M. K. (1987): Methods of assessment of thrombosis in vivo. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 516, 541-572

Dion, I., Baquey, C., Candelon, B., Monties, J. R. (1992) a: Hemocompatibility of titanium nitride. *Int J Artif Organs*, 15, 617-621

Dion, I., Rouais, F., Trut, L., Baquey, C., Monties, J. R., Havlik, P. (1993) b: TiN coating: surface characterization and haemocompatibility. *Biomaterials*, 14, 169-176

Dion, I., Roques, X., More, N. et al. (1993) c: Ex vivo leucocyte adhesion and protein adsorption on TiN. *Biomaterials*, 14, 712-719

Gregoric, I. D., Frazier, O. H., Tamez, D., Tuzun, E., Shah, N. L., Clubb, F. J., Chee, H. K., Eya, K., Byler, D., Conger, J. Cervera, R., Kadipasaoglu, K. A. (2004): Thrombogenicity of mechanical aortic valves in an animal model: Site specific testing is crucial. *ASAIO*, 50, 376-380

Gott, V. L., Furuse, A. (1972): Standardized methods for the in vivo evaluation of artificial surfaces. *Bulletin of the New York Academy of Medicine*, 48, 482-490

Gott, V. L., Alejo, D. E., Cameron, D. E. (2003): Mechanical heart valves: 50 years of evolution. *Ann Thorac Surg*, 76, 2230-9

Höfling, K. (2006): Thrombembolische Komplikationen und deren Determinanten nach Aortenklappen- Ersatz mit einer Sorin Bicarbon Doppelflügelprothese. *Med. Diss., München*

Kusserow, B. K. (1972): The use of pathologic techniques in the evaluation of emboli from prosthetic devices. *Bulletin of New York Academy of Medicine*, 48, 468-477

Müller, M. und Mitarbeiter (2007): Chirurgie. Kapitel Herzchirurgie. *Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach*, 9, 114-116

Niemetz, J., Muhlfelder, T., Chierago, M. E., Troy, B. (1977): Procoagulant activity of leukocytes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 283, 208-217

Schultz, J. S., Goddard, J. D., Ciarkowaki, A., Penner, J. A., Lindenauer, S. M. (1977): An ex vivo method for the evaluation of biomaterials in contact with blood. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 283, 494-523

Spiliopoulos, K. (2004): Postoperative Ergebnisse nach Aorten- und Mitralklappenersatz mittels Sorin Bicarbon Prothese. Med. Diss., München

Turitto, V.T., Baumgartner, H. R. (1982): Platelet-surface interactions. In: Colman, R.W., Hirsch, J., Marder, V. J., Salzman, E. W., (eds.) *Hemostasis and Thrombosis: basic principals and clinical practice*.364-379, J.B. Lippincott Company, Philadelphia

Virchow, R. (1856): *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin*. IV Thrombose und Embolie. Meidinger, Frankfurt.

Vogt, S., Hoffmann, A., Roth, J., Dubach, P., Bertschmann, W., Hasse, J., Grädel, E., Stulz, P., Burckhardt, D. (1990): Heart valve replacement with the Björk-Shiley and St. Jude Medical prostheses: a randomized comparison in 178 patients. *Eur Heart J*, 11(7), 583-591

Yang, Y., Franzén, S. F., Olin C. L. (1996) **a**: In vivo comparison of hemocompatibility of materials used in mechanical heart valves. *J of Heart Valve Disease*, 5, 532-537 (II)

Yang, Y., Franzén, S. F., Olin, C. L. (1996) **b**: Hemocompatibility of prosthetic heart valve materials. An in vivo comparison of pyrolytic carbon with titanium, titanium nitride and bovine pericardium. University Hospital Linköping, Sweden (III)

Yang, Y., Franzén, S. F., Olin C. L. (1996) **c**: Hemocompatibility of pyrolytic carbon, titanium nitride and Diamond-like Carbon in the arterial circulation: An vivo study in sheep. University Hospital Linköping, Sweden. (IV)

Yang, Y., Franzén, S. F., Olin C. L. (1996) **d**: In vivo interaction of blood with materials for use in prosthetic heart valves. *Cells and Materials*, 6, 339-3

9. Danksagung

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Professor Dr. med. Jochen Cremer für die Überlassung des Themas und die Arbeitsmöglichkeit in seiner Abteilung bedanken.

Meinem Doktorvater, PD Dr. med. Georg Lutter, danke ich für die großartigen Arbeitsmöglichkeiten in seiner Forschungsgruppe und für die umfassende Unterstützung in Anfertigung und Korrektur der Arbeit.

Mein größter Dank gilt Dr. med. René Bombien für die außergewöhnliche und herzliche Betreuung. Von Anfang an stand er mir mit seinen Ratschlägen, Verbesserungsvorschlägen und ermutigenden Worten stets zur Seite. Sein Optimismus und seine unermüdliche tatkräftige Energie, die ich sehr bewundere, haben mich zur Anfertigung dieser Dissertation stets vorangetrieben.

Bei Herrn Frank Lichte und Günter-Rudolf Klaws, Mitarbeiter des Anatomischen Institutes in Kiel, möchte ich mich für die geduldige Zusammenarbeit und die Bereitstellung der Auswertungsgeräte bedanken.

Bei den Doktoranden der Forschungsgruppe „Perkutaner Klappenersatz“ möchte ich mich für ihre Hilfsbereitschaft bedanken.

Für den liebevollen Rückhalt danke ich meiner Schwester, meinem Partner und meinen Eltern.

10. Lebenslauf

Persönliche Daten

Name, Vorname	Hensler, Elena
Geburtsdatum/-ort	10.02.1984, Krasnoturjinsk (Russland)
Staatsangehörigkeit	deutsch
Familienstand	ledig
Eltern	Alexander/Olga Hensler

Schulbildung

1991-1994	Grundschule, Krasnoturjinsk (Russland)
1994-1996	Mittelschule, Krasnoturjinsk (Russland)
1996-2000	Realschule, Tellingstedt
2000-2003	Abitur am Fachgymnasium für Ernährungswissenschaften, Heide

Studium

2003- 2005	Vorklinischer Abschnitt des Humanmedizin-Studiums an der Universität Kiel
07- 08/2005	Erster Abschnitt der ärztlichen Prüfung
2005- 2009	Klinischer Abschnitt des Humanmedizin-Studiums an der Universität Kiel
10- 11/ 2009	Zweiter Abschnitt der ärztlichen Prüfung

Praktisches Jahr

08/2008- 12/2008	1.Tertial im Kreiskrankenhaus Rendsburg, Abteilung Innere Medizin
12/2008- 04/2009	2. Tertial in der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
04/2009- 07/2009	3. Tertial in der Klinik für Allgemeine Chirurgie und Unfallchirurgie, Städtisches Krankenhaus, Kiel