

Aus der Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
(Direktor Prof. Dr. med. J. Cremer)
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Perkutaner Pulmonalklappenersatz mit Polycarbonat-Urethan Klappen zur
Behandlung von Pathologien des rechtsventrikulären Ausflusstraktes am
Schafmodell**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von
Ayça Topal
aus
Augsburg (Bayern)

Kiel 2020

1. Berichterstatter: Prof. Dr. Georg Lutter, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie

2. Berichterstatter: Prof. Dr. Andreas Seekamp, Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie

Tag der mündlichen Prüfung: 1. April 2021

zum Druck genehmigt, Kiel, den 26.11.2020

gez.: Priv.-Doz. Dr. Christina Grothusen, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie
(Vorsitzende der Prüfungskommission)

Priv.-Doz. Dr. Tim Attmann, Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie (Beisitzer)

Prof. Dr. Franziska Theilig, Vorsitzende des Ausschusses für Promotion

Inhaltsverzeichnis

Glossar

1.	Einleitung	1
1.1	Allgemeine Anatomie	1
1.2	Angeborene Herzklappenfehler	5
1.3	Die Pulmonalstenose	8
1.3.1	Therapieoptionen der Pulmonalstenose	10
1.3.2	Bisherige perkutane Methoden zum Pulmonalklappenersatz	13
1.4	Herzklappenprothesen	15
1.4.1	Überblick klinisch angewandeter Klappenprothesen in Pulmonalposition	16
1.4.2	Polyurethan als medizinischer Werkstoff	20
1.5	Fragestellung und Ziel der Studie	22
2.	Material und Methoden	24
2.1	Die Versuchstiere	24
2.2	Der selbstexpandierende Nitinol-Stent	25
2.3	Die Polycarbonat-Urethan-Herzklappe	27
2.4	Das Applikationssystem	28
2.5	Der Versuchsaufbau	29
2.5.1	Der Operationssaal	29
2.5.2	Die Versuchsdurchführung	30
2.5.3	Erhebung hämodynamischer Untersuchungsdaten	33
2.6	Echokardiographische Untersuchungen	34
2.7	Primäres Versuchsende	34
2.8	Post mortem Analyse	35
2.9	Histologie	36
2.9.1	Hämatoxylin-Eosin-Färbung	37
2.9.2	Elastika-van-Gieson-Färbung	39
2.9.3	Movat-Pentachrom-Färbung	40
2.9.4	Versilberung nach Kossa	41
2.10	Immunhistochemie	42

2.10.1	CD3-Färbung	43
2.10.2	CD20-Färbung	45
2.10.3	CD45-Färbung	45
2.10.4	CD68-Färbung	46
2.10.5	Prokollagen III-Färbung	46
2.11	Vorbereitungen zur Rasterelektronenmikroskopie	47
2.12	Statistik	49
3	Ergebnisse	50
3.1	Angiographische Messungen	52
3.2	Echokardiographische Resultate	70
3.3	Makroskopische post mortem Analyse	74
3.4	Mikroskopische Auswertungen	78
3.5	REM-Ergebnisse	83
4.	Diskussion	86
4.1	Erörterung der Versuchsdaten	86
4.2	Limitationen der Studie	111
4.3	Aktuelle Datenlage und Ausblick	112
4.4	Schlussfolgerung	118
5.	Zusammenfassung	120
6.	Literaturverzeichnis	121
7.	Abbildungsverzeichnis	148
8.	Tabellen- und Grafikenverzeichnis	153
9.	Anhang	155
10.	Danksagung	170
11.	Lebenslauf	171
12.	Veröffentlichungen	173

Glossar

A.	Arteria
Abb.	Abbildung
a.e.	am ehesten
Ao.	Aorta
ASD	atrialer Septumdefekt/ Vorhofseptumdefekt
ATP	Adenosintriphosphat
Bsp.	Beispiel
BX	ballonexpandierend
bzw.	beziehungsweise
CAU	Christian-Albrechts-Universität
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
dias	diastolisch/ diastolic
DPH	dezellularisierter pulmonaler Homograft
Dr.	Doktor
EF	Ejektionsfraktion
E.v.G.	Elastika-van-Gieson
F	French
FBGC	foreign body giant cell/ Fremdkörper-Riesenzelle
FDA	Food and Drug Administration, amerikanische Lebensmittelüberwachungs- und Arzneimittelbehörde
fem.	femoralis
GB	Großbritannien
H.E.	Hämatoxylin-Eosin
HSP	Hitzeschockprotein
IE	infektiöse Endokarditis
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KI	Konfidenzintervall
LAD	left anterior descending/ Ramus interventricularis anterior
LPO	lipid peroxidation
m	Meter
MAP	mean arterial pressure/ mittlerer arterieller Druck
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule bzw. Torr
M.P.	Movat-Pentachrom
MRT	Magnetresonanztomographie
PA	pulmonal artery/ Pulmonalarterie
PAP	pulmonal artery pressure/ pulmonalarterieller Druck
PBS	phosphate buffered saline = phosphatgepufferte Kochsalzlösung
PCU	Polycarbonat-Urethan
PCU-S	Silikon modifiziertes Polycarbonat-Urethan
PEU	Polyether-Urethan
PEUU/ PEUE	Polyether-Urethan-Urea/ polyetherurethaneurea
POSS	polyhedral oligomeric silsesquioxanes

Prof.	Professor
ptpp	peak-to-peak pressure gradient/ Spitzengradient
PPVI	percutaneous pulmonary valve implantation
PU	Polyurethan
REM	Rasterelektronen-Mikroskop
RIVA	Ramus interventricularis anterior
ROS	reactive oxygen species/ reaktive Sauerstoffverbindung
RNS	reactive nitrogen species/ reaktive Nitrogenverbindung
RV	right ventricle/ rechter Ventrikel
RVOT	right ventricular outflow tract/ rechtsventrikulärer Ausflusstrakt
RVP	right ventricular pressure/ rechtsventrikulärer Druck
s	Sekunde
SE	standard error/ Standardfehler
SEM	scanning electron microscope/ Rasterelektronen-Mikroskop
SD	standard deviation/ Standardabweichung
sog.	sogenannter
spp.	species pluralis, Abkürzung für Spezies (Mehrzahl)
sys	systolisch/ systolic
Tab.	Tabelle
TE	Tissue Engineering
tlw.	teilweise
TOF	Tetralogy of Fallot/ Fallot'sche Tetralogie
TP	Truncus pulmonalis
USA	United States of America/ Vereinigte Staaten von Amerika
V.	Vena
Vv.	Venae
VCI	Vena cava inferior
VCS	Vena cava superior
VSD	Ventrikelseptumdefekt

1. Einleitung

Die Einleitung soll einen Überblick der Thematik und eine Einführung in die in dieser Schrift behandelte Materie bieten. Angefangen bei den Grundlagen über das Herz als zentrales Organ und seine Funktionsweise wird in den folgenden Abschnitten Schritt für Schritt erläutert, welchen Ansatz diese experimentelle Studie durch den Einsatz von Polycarbonat-Urethan-Klappenstents zur interventionellen Behandlung von Pulmonalklappenerkrankungen verfolgt, inwieweit sich dieser bereits in der Klinik wiederfindet und worum es sich in der Fragestellung genau handelt. Die hierfür relevanten Krankheitsmechanismen des rechten Herzens und der Pulmonalklappe, diagnostische Kriterien und bisherige Therapiemöglichkeiten sollen dargestellt werden, so dass für die weiteren Kapitel das nötige Verständnis geschaffen wird.

1.1 Allgemeine Anatomie, Besonderheiten des rechten Herzens

Das menschliche Herz (Cor) ist ein Hohlmuskel. Es gleicht einer dreiseitigen Pyramide, die sich zu einem Drittel rechts und zu zwei Drittel links im Brustkorb befindet, wobei die Herzbasis (Basis cordis) rechts hinten oben durch die großen Gefäße und die Herzspitze (Apex cordis) links vorne unten durch die linke Herzkammer (Ventriculus sinister) gebildet wird. Somit ergibt sich eine schräge Herzachse von ca. 45° zu allen drei Ebenen des Körpers (Abb. 1a).

Die Funktionsweise entspricht der einer Saugdruckpumpe aus vier Binnenräumen, von denen jeweils zwei einer Seite zugeordnet werden. Das Herz hat die Aufgabe sauerstoffreiches Blut, welches aus der Lungenstrombahn (Venae pulmonales) zur linken Seite transportiert wird, über die Hauptschlagader (Aorta) im Körper zu verteilen und wiederum das sauerstoffarme Blut, das über die obere und untere Hohlvene (Vena cava superior bzw. Vena cava inferior) aus der Peripherie zurück zur rechten Seite drainiert wird, über die Lungenarterie (Truncus pulmonalis) in die Lunge zur Oxygenierung zu befördern (Abb. 1b).

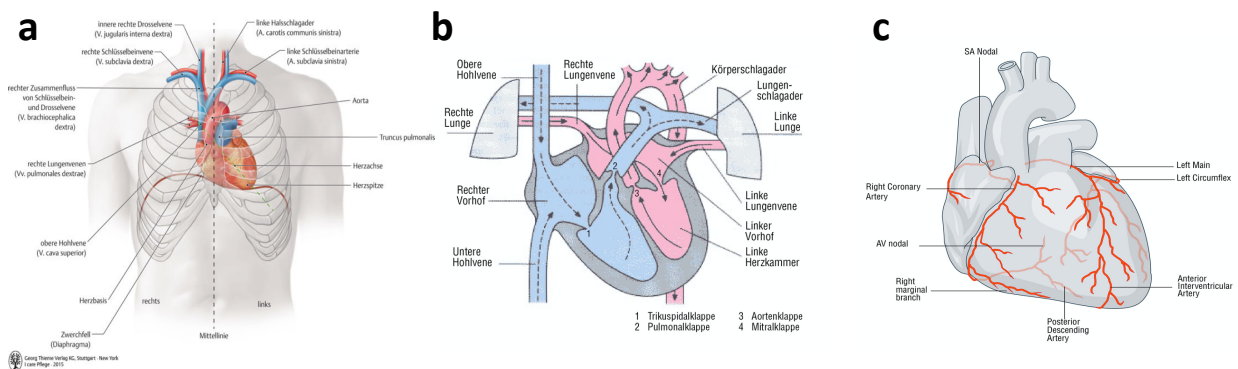


Abb. 1: Das menschliche Herz (a) Herzlage im Körper; (b) Mechanismus der Saugdruckpumpe; (c) Herzkranzgefäße, Ansicht von vorne (Originalabbildungen aus s. Abbildungsverzeichnis S. 146)

Das Herz wird selbst über zwei Herzkranzgefäße, eine linke und eine rechte (A. coronaria sinistra bzw. A. coronaria dextra) versorgt, welche direkt über dem Herzen aus der Aorta entspringen und sich im Verlauf in weitere Äste teilen (Abb. 1c) (Zilles and Tillmann, 2010).

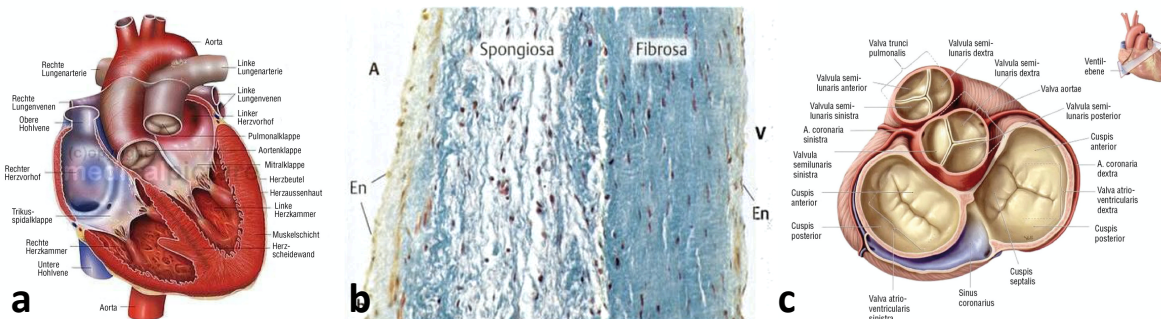


Abb. 2: (a) Eröffnetes Herz, Ansicht von vorne: Segel- und Taschenklappen, Herzhöhlen und große Gefäße; (b) Histologische Goldner-Färbung Mitralsegel, 150x Vergrößerung: Endothel (En) auf beiden Seiten des Segels, Spongiosa der dem Vorhof (A) zugewandten Seite, Fibrosa ventrikelseitig (V); (c) Alle vier Klappen auf einen Blick, Ansicht von der Herzbasis aus (Originalabbildungen aus s. Abbildungsverzeichnis S. 146)

Die vier Herzhöhlen setzen sich aus linkem Vorhof (Atrium sinistrum), linker Kammer (Ventriculus sinister), rechtem Vorhof (Atrium dextrum) und rechter Kammer (Ventriculus dextrum) zusammen. Zwischen dem linken Vorhof und der linken Kammer befindet sich eine der Segelklappen, die Mitralklappe (Valva mitralis). Sie besteht aus einem vorderen und einem hinteren Segel, die über Sehnenfäden (Chordae tendinae) an Papillarmuskeln (Musculi papillares) im Ventrikel verankert sind. Das Pendant dazu auf der rechten Seite ist die Trikuspidalklappe (Valva tricuspidalis), welche drei Segel hat, die nach dem gleichen Prinzip wie auf der linken Seite befestigt sind (Abb. 2a). Die Segel „spannen“ sich in der Auswurfphase des Herzens (Systole) auf, in der das Blut aus dem Herzen in den Körper bzw. in die Lunge gepumpt wird und verhindern damit einen Rückstrom in die Vorhöfe. Sie sind aus gefäßfreiem, zartem Bindegewebe, welches der Herzinnenhaut (Endokard) entspricht. Sie werden auch als Endokardduplikaturen bezeichnet und können vereinzelt glatte Muskelzellen enthalten (Abb. 2b).

Auch die Taschenklappen zwischen den Kammern und den abgehenden Gefäßen, sind Endokardduplikaturen. Sie sind gänzlich von Endothel überzogen und beinhalten grundsätzlich zwei Komponenten: Eine derbe Bindegewebsplatte aus straffem Kollagen (Fibrosa) und einer locker strukturierten Schicht aus Hyaluron, Proteoglykanen, Makrophagen und Fibroblasten (Spongiosa) (Lüllmann-Rauch, 2009).

Bei den Taschenklappen handelt es sich um drei ungefähr gleich große, halbmondförmige Taschen, die sich auf der linken Seite am Ursprung der Aorta (Valva aorta) und rechts am Anfang des Truncus pulmonalis (Valva trunci pulmonalis) befinden und dort in der Füllungsphase des Herzens (Diastole) die zurückströmende Blutsäule davor bewahren wieder in die Kammern zu fließen (Abb. 2).

Auf der Abbildung 2c kann man sehen, dass alle vier Klappen auf einer Ebene, der sogenannten Ventilebene, liegen. Dieser Begriff repräsentiert auch deren Funktion als eine Art mechanisches Rückschlagventil: Während die Segelklappen in der Diastole geöffnet sind, bleiben die Taschenklappen geschlossen. Dies gilt umgekehrt in der Systole. So wird die Flussrichtung des Blutes zwischen den Vorhöfen und den Kammern und aus den Kammern in die großen Gefäße durch das Wechselspiel dieses Zyklus bestimmt. Dieser Vorgang läuft durch die vorherrschenden Druckunterschiede in den jeweiligen Strukturen ausschließlich passiv ab. Je nach Phase des Herzzyklus variieren auch die Drücke in den verschiedenen Binnenräumen und Gefäßen. Die Tabelle 1 soll Aufschluss über die physiologischen Referenzwerte und deren Schwankungsbereich geben (Baer, 2011).

Ort	MW [mmHg]	Schwankungsbereich [mmHg]
Rechte Kammer (sys/ dias/ ED)	25/ 4/ 4	15-30/ 1-7/ 1-7
Pulmonalarterie (sys/ dias/ mean)	25/ 9/ 15	15-30/ 4-12/ 9-19
Linke Kammer (sys/ dias/ ED)	130/ 8/ 8	90-140/ 5-12/ 5-12
Aorta (sys/ dias/ mean)	130/ 70/ 85	90-140/ 60-90/ 70-105

Tab. 1: Blutdruck Normalwerte im Herzen und in den abgehenden Gefäßen; MW: Mittelwert; sys: systolisch; dias: diastolisch; mean: Mitteldruck; ED: enddiastolisch (Baer, 2011, S. 213);

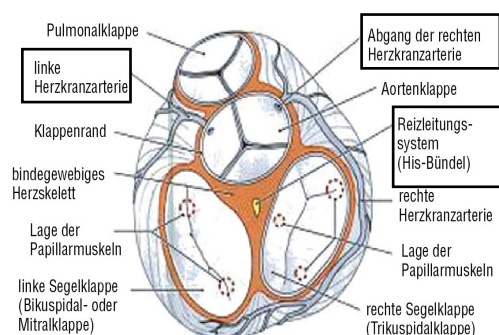


Abb. 3: Herzskelett und Ventilebene mit allen vier Herzklappen, dem His-Bündel und den Herzkranzgefäßen (schwarz umrandet), Ansicht von oben (Schünke et al., 2018, S. 107)

Jede Herzklappe ist über einen ihr zugehörigen Bindegewebs-Faserring teilweise mit den anderen Herzklappen und vor allem mit dem Herzskelett verbunden. Dieses ist auf der Höhe der Ventilebene und trennt die Herzmuskulatur der Kammern (Myokard) von derjenigen der Vorhöfe. Es übernimmt die Aufgabe, das Herz zum einen mechanisch zu stabilisieren und zum anderen durch den hohen Fettgehalt als elektrische

Isolationsschicht für das Reizleitungssystem zu wirken, welches die Klappenebene als His-Bündel passiert und dafür sorgt, dass die elektrische Erregung von den Vorhöfen auf die Kammern übertragen wird (Abb. 3).

Weiterhin ist darauf hinzuweisen, wie nah die entsprechenden Strukturen zueinander verlaufen. Dies birgt vor allem bei chirurgischen Eingriffen bzw. perkutanen Interventionen die unmittelbare Gefahr, das umliegende Gewebe in irgendeiner Weise zu kompromittieren. Die Herausforderung, dies zu vermeiden führt nun zur genaueren Betrachtung des rechten Herzens, das in der experimentellen Studie den Ort des Geschehens ausmacht.

Im durchgeführten Versuchsaufbau muss sich der mit der Herzklappenprothese beladene Katheter seinen Weg durch die rechte Leistenvene über die Vena cava inferior zum rechten Vorhof bahnen, um von dort über die Trikuspidalklappe den rechten Ventrikel und dann über eine Drehung den rechtsventrikulären Ausflusstrakt (RVOT) zu erreichen und auf Höhe der Pulmonalklappe ans Ziel zu gelangen. Einerseits gibt es an der Mündungsstelle der unteren Hohlvene in den rechten Vorhof eine Venenklappe, die eine erste Schwierigkeit beim Passieren darstellen könnte. Andererseits existiert eine weitere kleine Venenklappe an der Einmündungsstelle der Herzkranzvenen (Vv. coronariae). Sind diese beiden Hürden überwunden, erwartet den Operateur das ausgeprägte Binnenrelief des vorderen Atriums mit den zarten, verzweigten Muskelbälkchen (Mm. pectinati). Ferner ist die Wand des rechten Atriums als Teil des Niederdrucksystems dünn und damit eher für Fremdkörperperforationen anfällig. Über die Trikuspidalklappe in der hinten unten gelegenen Einflussbahn des rechten Ventrikels angekommen, müssen die Sehnenfäden der Papillarmuskeln und die Muskelbalken des Myokards (Trabeculae carnae) überquert werden, um die kegelförmige Ausflussbahn vorne oben mit ihrem glattwandigen Conus arteriosus zu erreichen (Schünke et al., 2018). Dies stellt den anspruchsvollsten Teil des Kathetervorschubs dar. Bei der Pulmonalklappe angekommen ist das Ziel erreicht (Abb. 4). Dort sollte idealerweise der Pulmonalklappenstent abgeworfen werden.

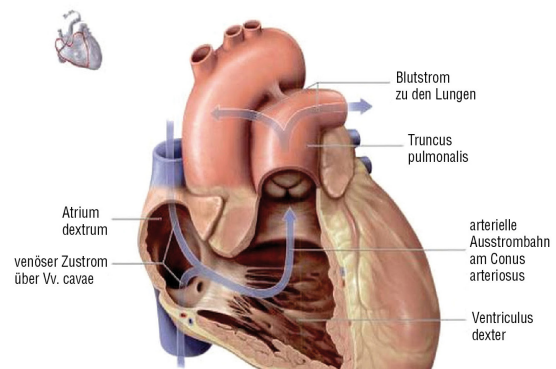


Abb. 4: Blutstrom im rechten Herzen (Pfeil) entspricht dem Weg, der mit dem Katheter absolviert werden muss (Schünke et al., 2018, S.119)

1.2 Angeborene Herzfehler

Verschiedene Erkrankungen, denen eine pathologische Entwicklung des Herzens in der Embryonalzeit zugrunde liegt, fallen unter den Begriff der angeborenen Herzfehler (kongenitale Vitien). Sie entstehen vor allem zwischen der fünften und achten Schwangerschaftswoche, in der die frühe Phase der Organbildung im Vordergrund steht. Als Ursache kommen unter anderem Infektionen, Genetik, Strahlenexposition, Umwelteinflüsse, Drogen- und Alkoholkonsum oder Medikamente in Frage. In den häufigsten Fällen bleibt die Ursache jedoch unbekannt. Chromosomale Störungen wie zum Beispiel das Down-, Marfan- oder Turner-Syndrom gehen ebenso oftmals mit angeborenen Herzfehlern einher. Einige davon können bis ins Erwachsenenalter unbemerkt bleiben. Die meisten jedoch fallen bereits pränatal oder je nach Schweregrad kurz nach der Geburt auf und bedürfen einer Behandlung. Etwa 1 % der Neugeborenen kommen mit einer Fehlbildung des Herzens oder der großen Gefäße auf die Welt. Die Letalität konnte aufgrund der medizinischen Fortschritte der letzten Jahrzehnte auf unter 15 % gebracht werden (Herold and Mitarbeiter, 2017).

Fehlbildungen an Herzklappen und komplexe Herzvitien treten jeweils bei unter 15 % auf. In über 60 % der Fälle gelten die Anomalitäten als einfach, wie zum Beispiel der Vorhof- oder der Ventrikelseptumdefekt (Blum et al., 2016).

Aufgrund von Rest- bzw. Folgezuständen müssen nahezu alle Patienten mit angeborenen Herzfehlern ihr Leben lang speziell kardiologisch betreut werden. Weiterhin unterscheidet man in der Chirurgie zwischen der operativen Korrektur/ Reparatur und der Palliativoperation. Ist nach dem Eingriff die Fehlbildung behoben und der Normalzustand und die Funktion wiederhergestellt, spricht man von einer „Korrektur“. Diese benötigt zunächst keine weiteren medizinischen Maßnahmen. Da dies selten vorkommt, handelt es sich weitgehend um Reparaturen, denn fast immer sind Residuen und damit verbundene weitere Behandlungsschritte indiziert. Eine Palliativoperation hingegen verspricht im Allgemeinen eine kurz- bis längerfristige Besserung des vorhandenen Zustands, die ebenso im Laufe der Zeit nochmals angegangen werden muss. Dazu gehören die Implantation von Conduits (Gefäßprothesen), Anlage aortopulmonaler Shunts, Operationen bei Pulmonalatresie mit Ventrikelseptumdefekt oder Herz-, Lungen- oder kombinierte Herz-Lungentransplantationen (Herold and Mitarbeiter, 2017).

Die Einteilung angeborener Herzfehler erfolgt anhand verschiedener Aspekte. Einer davon beinhaltet die Tatsache, ob der vorhandene Defekt zu einem Sauerstoffmangel im Blut und zu

einer damit einhergehenden blauvioletten Verfärbung der Haut und der Schleimhäute (Zyanose) führt. Dies hängt auch damit zusammen, ob das Vitium eine Links-Rechts- oder eine Rechts-Links-Ableitung (Shunt) des Blutes im Herzen erzeugt. Aus der Tabelle 2 kann die Klassifizierung der angeborenen Herzfehler entnommen werden (Herold and Mitarbeiter, 2017).

Nachdem in dieser Forschungsarbeit ein neuer Therapieansatz bei der Behandlung von Pulmonalklappenerkrankungen dargelegt wird, geht es im Folgenden vor allem um die Anomalitäten, die den rechtsventrikulären Ausflusstrakt und die Pulmonalklappe betreffen.

AZYANOTISCHE VITIEN		ZYANOTISCHE VITIEN
Obstruktion an Klappen/ Gefäßen	Primärer Links-Rechts-Shunt	Rechts-Links-Shunt
Pulmonalstenose (PS)	Vorhofseptumdefekt (ASD)	Fallot Tetralogie (TOF)
Aortenklappenstenose (AS)	Partielle Lungenvenenfehleimündung	Pulmonalatresie
Aortenisthmusstenose	Ventrikelseptumdefekt	Double outlet ventricle
	Atrioventrikulärer Septumdefekt, Aortopulmonales Fenster	Trikuspidalatresie
	Persistierender Ductus Arteriosus Botalli (PDA)	Komplette Transposition
		Truncus Arteriosus Communis u.a.

Tab.2: Einteilung der angeborenen Herzfehler (Herold, 2017, S. 180)

Zu diesen zählt man in erster Linie die angeborene Pulmonalklappenstenose, deren Wahrscheinlichkeit ungefähr 13 % aller angeborenen Herzfehler beträgt. Sie tritt häufig bei chromosomalen Aberrationen und Syndromen auf. Einige davon sind in der Tabelle 3 aufgeführt. Ferner kommt es mit 10 % zu einem Defekt-Komplex, der sogenannten Fallot'schen Tetralogie, die mit 65 % das häufigste der zyanotischen Vitien ausmacht. Ein großer Ventrikelseptumdefekt (VSD), eine über dem VSD reitende Aorta, eine Obstruktion des rechtsventrikulären Ausflusstraktes und eine daraus resultierende konsekutive Rechtsherzhypertrophie bilden die Komponenten dieser Erkrankung. Existiert zusätzlich noch ein Vorhofseptumdefekt, ist von einer Pentalogie die Rede (Herold and Mitarbeiter, 2017). Ergänzend ist noch die Pulmonalatresie zu erwähnen, die einen kompletten Verschluss der Pulmonalklappe beschreibt. All diesen Fehlbildungen ist ein Merkmal gemeinsam: Die

Einengung des rechtsventrikulären Ausflusstraktes bzw. der Pulmonalklappe und damit eine Minderdurchblutung der Lunge, welche auf Dauer zur Zyanose, zu Funktionseinbußen am Herzen und an anderen Organen, verminderter Belastbarkeit und letztendlich unbehandelt zu einer herabgesetzten Lebensdauer führen können. Aufgrund dessen wird nun in den nachkommenden Abschnitten die Pulmonalstenose genauer dargestellt, weil diese als häufigste Ursache der rechtsventrikulären Vitien angesehen werden kann.

PULMONALSTENOSE	FALLOT TETRALOGIE
Trisomie 13, Trisomie 18, Apert-Syndrom, Noonan- Syndrom, Meckel-Gruber-Syndrom, Carpenter-Syndrom, Williams-Beuren-Syndrom, Leopard-Syndrom, Alagille-Syndrom, Lissenzephalie-Syndrom, Neurofibromatose I, Pallister-Hall-Syndrom	Trisomie 13, Trisomie 21, DiGeorge-Syndrom, Cat-eye-Syndrom, Klinefelter-Syndrom, Alagille-Syndrom, Thrombozytopenie-Radius-Aplasie-Syndrom, VACTERL-Assoziation, Apert-Syndrom, Carpenter-Syndrom, Coffin-Siris-Syndrom, CHARGE-Assoziation, Goldenhar-Syndrom, Beckwith-Wiedemann-Syndrom, Nager-Syndrom

Tab.3: Syndrom-assoziierte Pulmonalstenose bzw. Fallot'sche Tetralogie (Blum, 2016, S. 16)

Weiterhin nicht zu vernachlässigen ist die Tatsache, dass es in Europa Schätzungen zufolge 1,9 bis 3,9 Millionen Menschen mit angeborenen Herzfehlern gibt, von denen 1,2-2,7 Millionen über 15 Jahre alt sind (Moons et al., 2006). Die Zahl in den USA beläuft sich ebenfalls auf über 1 Millionen Betroffene (Hoffman et al., 2004, Sanders, 2004). Zwanzig Prozent der Neugeborenen mit kongenitalen Herzerkrankungen haben Defekte, die den rechtsventrikulären Ausflusstrakt betreffen, wie z.B. die Fallot Tetralogie, Pulmonalatresie, Truncus Arteriosus, Transposition der großen Gefäße, die eine chirurgische Rekonstruktion mit Patchplastik, Pulmonalklappenersatz oder klappentragendem Conduit bedürfen. Die Verwendung von Homografts in pulmonaler Position im Rahmen der Ross-Prozedur bei angeborener Aortenklappenerkrankung spielt ebenfalls eine Rolle (Biernacka et al., 2017, Verheugt et al., 2010, Warnes et al., 2008). Die verwendeten Materialien und Prothesen unterliegen degenerativen Prozessen, die im Verlauf zu Stenosen, Insuffizienzen und RVOT-Dysfunktion führen und wiederholt chirurgische oder kardiologische Interventionen erfordern (Bauner and Kozlik-Feldmann, 2013).

1.3 Die Pulmonalstenose

Man unterscheidet bei der Pulmonalstenose vier Formen. Die subvalvuläre, supravalvuläre, periphere und valvuläre Pulmonalstenose, wobei letztere mit 10 % am häufigsten vorkommt und die Klappensegel betrifft. Diese sind oft myxomatös verdickt, eingeschränkt mobil, bikuspid, akommissural bzw. unikommissural. Bei der subvalvulären Stenose befindet sich die Verengung im Bereich des Infundibulums oder subinfundibulär, also unterhalb der Pulmonalklappe, hervorgerufen durch hypertrophierte Muskelbündel. Diese Septen führen manchmal zu einem doppelten rechtsventrikulären Ausflusstrakt (double-outlet-right-ventricle). Supravalvulär bedeutet, dass die Engstellen entweder im pulmonalarteriellen (PA) Stamm kurz über der Pulmonalklappe, an der Pulmonalisbifurkation oder den PA-Seitenästen sein können. Oft weist die Klappe selbst drei separate, jedoch myxomatös verdickte, minder bewegliche Taschen und einen hypoplastischen Ring auf. Diese Kombination bezeichnet man auch als dysplastische Pulmonalklappenstenose. Sie kommt häufig im Rahmen des Noonan-Syndroms vor (Koretzky et al., 1969, Musewe et al., 1987). Peripher beschreibt schließlich den Zustand, dass eine oder mehrere obstruierte Stellen in den untergeordneten Lungenarterien lokalisiert sind (Herold and Mitarbeiter, 2017).

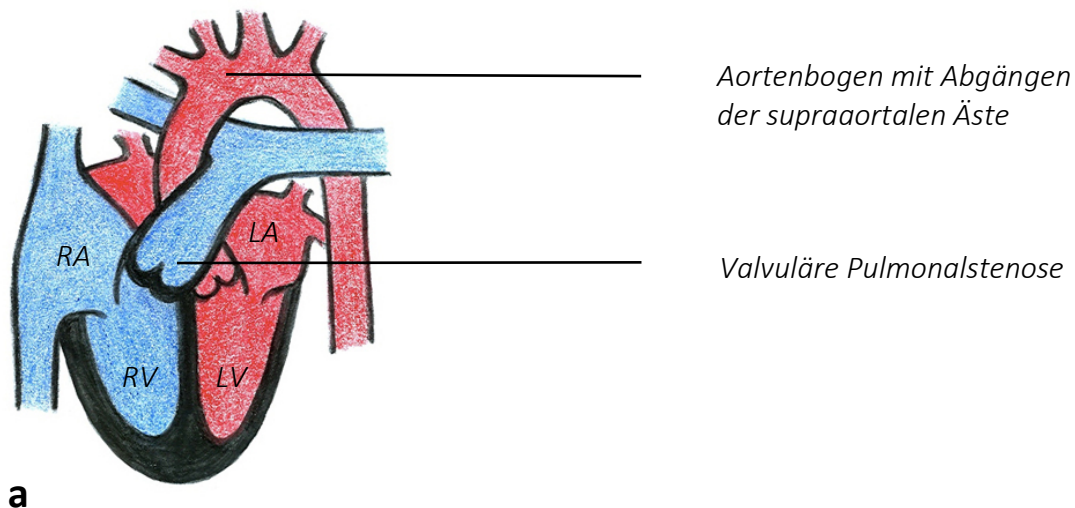


Abbildung 5: Formen der Pulmonalstenose (a) Valvulär

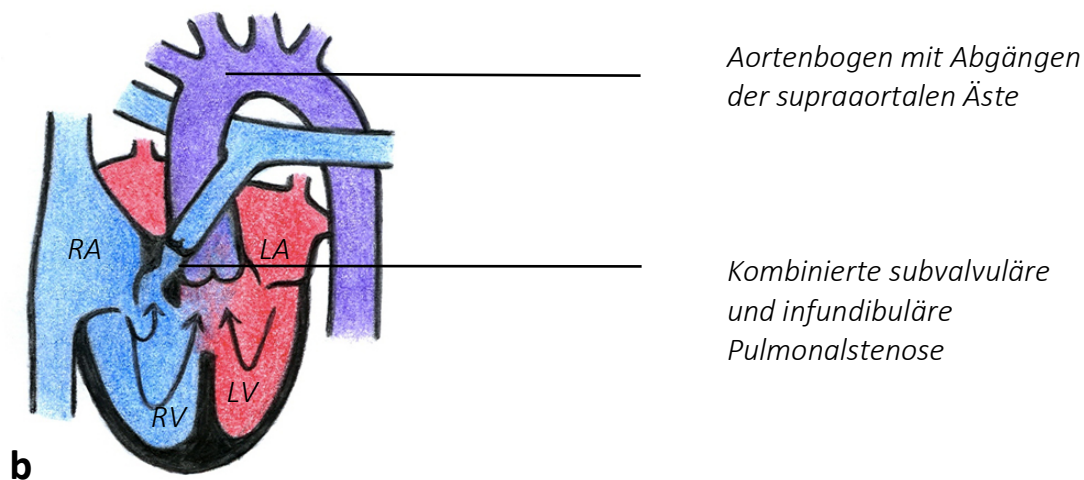


Abb. 5: Formen der Pulmonalstenose (b) Kombiniert subvalvulär und infundibulär im Rahmen einer Fallot'schen Tetralogie; Farben stellen Sauerstoffgehalt des Blutes dar; rot: sauerstoffreich; blau: sauerstoffarm; violett: mittlerer Sauerstoffgehalt aufgrund des vorhandenen VSD; VSD: Ventrikelseptumdefekt

Pathophysiologisch liegt allen Formen der gleiche Mechanismus zugrunde. Durch die Obstruktion kommt es im rechten Ventrikel, also prästenotisch, zu einem Druckanstieg, da durch eine kleinere Öffnung ein bestimmtes Blutvolumen durchgepresst werden muss. Dies führt längerfristig zu einer Druckbelastung der rechten Kammer, die eine konzentrische Volumenzunahme der Herzmuskelzellen (Hypertrophie) bedingt und eine Rechtsherzdekompensation durch Funktionsverlust nach sich zieht. Poststenotisch kommt es zu einem Druckabfall und turbulenten Blutströmungen, die auf Dauer eine Erweiterung des betroffenen Gewebes bewirken (poststenotische Dilatation).

In der Regel gleichen sich die Drücke in der rechten Kammer und der Pulmonalarterie während der Auswurfphase an und es sollten keine größeren Unterschiede messbar sein. Ist jedoch eine Druckdifferenz zu ermitteln, deutet das auf eine beginnende Stenose hin. Fällt zusätzlich bei der echokardiographischen Untersuchung eine Flussbeschleunigung des Blutes auf, kann man ab spezifischen Werten von einer leicht-, mittel- oder hochgradigen Stenose ausgehen (Herold and Mitarbeiter, 2017). Die Schweregradeinteilung ist in Tabelle 4 dargestellt.

Definition	Peak velocity (v_{\max})	Peak-Gradient (p_{\max})
Leichtgradig	< 3,0 m/s	$\Delta p < 36$ mmHg
Mittelgradig	3,0-4,0 m/s	$\Delta p 36-64$ mmHg
Hochgradig	> 4,0 m/s	$\Delta p > 64$ mmHg

Tab. 4: Schweregradeinteilung gemäß echokardiographischen Messungen (Herold, 2017, S 181)

Ausgenommen von der hochgradig kritischen Stenose, die sich bereits im Säuglingsalter durch eine Dekompensation äußert, bleiben die beiden anderen Formen lange beschwerdefrei. Eine Stenose III. Grades macht sich durch Belastungsdyspnoe, körperliche Ermüdbarkeit und eine periphere Zyanose bemerkbar. Die Kinder fallen durch eine typische rote bis blaurote Wangenfärbung auf. Erst bei kombiniertem Auftreten einer Pulmonalstenose mit ASD oder VSD kommt es zur zentralen Zyanose mit Verfärbung der Schleimhäute (Schumacher and Vogt, 2011).

Die Behandlungsmaßnahmen hängen von den erhobenen Befunden, wie z.B. der Echokardiographie und der Anamnese ab. Dennoch gibt es bis heute außer in den schweren Fällen, keine klaren Handlungsvorgaben anhand derer man den richtigen Zeitpunkt für einen Eingriff oder eine Intervention abpassen könnte, da die Forschung bisher die Langzeiteffekte der chronischen Volumen- und Drucküberlastung des rechten Ventrikels noch nicht ganz verstanden hat (McElhinney et al., 2010, Therrien et al., 2000).

Die wichtigste Rolle für die Therapieindikation spielen Symptome wie Belastungsdyspnoe, Angina pectoris, Präsynkope oder Synkope, ein maximaler invasiv gemessener Gradient über 50 mmHg, relevante Herzrhythmusstörungen, assoziierte Herzfehler, die einen Rechts-Links-Shunt erzeugen und ein mehr als halbsystemischer Druck im rechten Ventrikel (Herold and Mitarbeiter, 2017).

1.3.1 Therapieoptionen der Pulmonalstenose

Je nachdem, ob die valvuläre Pulmonalstenose isoliert oder kombiniert mit anderen Herzfehlern vorliegt, sind auch die Therapieindikationen und –Optionen unterschiedlich.

Die Deutsche Gesellschaft für pädiatrische Kardiologie empfiehlt, bei Neugeborenen mit kritischer valvulärer Stenose unabhängig vom Druckgradienten über der Klappe zügig eine Ballonvalvuloplastie durchzuführen. Sobald bei älteren Kindern Symptome auftreten, ist ebenso die Therapie nicht unnötig hinauszuzögern. Liegen keine Krankheitszeichen und eine gute rechtsventrikuläre Funktion vor, ist bei Säuglingen und Kleinkinder ab einem Gradienten von über 50 mmHg und bei Schulkinder über 40 mmHg zu intervenieren (Jux et al., 2010).

Symptomatischen Erwachsenen wird bereits bei einer Pulmonalstenose mit einem mittleren Gradienten von 25 mmHg, bei Fehlen der klinischen Hinweise ab einem peak-to-peak Gradienten um die 50 mmHg eine Ballonvalvuloplastie nahegelegt (Ertl et al., 2007).

Die kathetergestützte perkutane transluminale Angioplastie wurde von dem Schweizer Andreas Grüntzig im Laufe der 70er Jahre zunächst an peripheren Arterien begonnen (Grüntzig and Hopff, 1974). Primär sind spezielle Dilatationskatheter eingesetzt worden, die man zunehmend modifizierte bis schließlich der Ballonkatheter etwas später auf die Koronarien angewandt wurde (Grüntzig and Schneider, 1977).

Rubio und Limon berichteten zwar erstmals 1956 von einem Fall in dem sie über den PA-Stamm retrograd einen insufflierten Ballon über die Pulmonalklappe zum rechten Ventrikel vorschoben. Doch aufgrund der Gefahr eines traumatischen Ab- bzw. Ausrisses der Klappe und des Gewebes fand dieses Verfahren zunächst keine weitere Beachtung (Rubio and Limon, 1956). Semb und Kollegen beschrieben im November 1979 den erfolgreichen Versuch einer Pulmonalklappensprengung mittels Ballonkatheter bei einem Neugeborenen mit einer kritischen Pulmonalstenose und massiven Trikuspidalklappeninsuffizienz. Das Prinzip folgte einer venösen Punktion, um dann den Ballon auf Höhe der Pulmonalklappe aufzupumpen und damit die verklebten Klappensegel so voneinander zu trennen (Semb et al., 1979). Letztlich gelang es der Arbeitsgruppe von Kan und Kollegen bei einem 8-jährigen Jungen mit angeborener Pulmonalstenose durch eine transvenöse Ballonvalvuloplastie eine rapide Verbesserung der hämodynamischen Situation und der Symptome zu erreichen (Kan et al., 1982). So war eine neue minimal-invasive Methode zur Behandlung der isolierten Pulmonalstenose etabliert, die bis heute als erstes Mittel der Wahl gilt, sofern keine Aspekte dagegensprechen (Rao, 2007a). Über die Jahre hat sich gezeigt, dass dieses Verfahren als sicher und relativ risikoarm gilt, vor allem wegen der niedrigen Letalität von 0,24 % und der geringen Komplikationsrate von 0,35 % (Stanger et al., 1990).

Bevor die Ballonvalvuloplastie regelhaft durchgeführt wurde, war der operative Eingriff die einzig mögliche Therapieoption. Unabhängig voneinander veröffentlichten Brock und Sellors im Jahre 1948 erste Berichte über gelungene operative Valvulotomien über den transventrikulären Zugang (Brock, 1948, Sellors, 1948). Im Laufe der Zeit, vor allem nach der Entwicklung der Herz-Lungen-Maschine (HLM) 1953 durch Gibbon (Hill, 1982), erbrachte die chirurgische Korrektur der Pulmonalstenose zufriedenstellende Ergebnisse (Mirowski et al., 1963, Tandon et al., 1965) bis die Ballonvalvuloplastie aufgrund des Zugangswegs, des kürzeren Krankenhausaufenthaltes und der finanziellen Vorteile bevorzugt wurde (Peterson et al., 2003) bzw. dadurch der Zeitpunkt der Operation noch etwas verzögert werden konnte (Gudauskys and Beekman, 2006).

In vielen Fällen gilt der operative Klappenersatz immer noch als sogenannter „Goldstandard“, wenn das primäre Ziel die komplette Wiederherstellung der Funktion einer verkalkten und stenosierten Klappe verfolgt (Shipton and Wahba, 2001). Die Indikation zur Operation kommt ferner bei Versagen der interventionellen Therapie zum Einsatz. Dies betrifft zum Beispiel die schwere supra- und subaortale oder dysplastische Pulmonalstenose, die signifikante Klappenringhypoplasie und die hochgradige infundibuläre Stenose (Rao, 2007b), da diese Formen infolge der komplexen Pathologie unter anderem schlechter oder gar nicht auf die interventionelle Therapie ansprechen (Buheitel et al., 2001).

Den größten Teil der Klappenersatz-Bedürftigen bildet die Gruppe der Patienten, die nach der Ballonvalvuloplastie im Langzeitverlauf oder nach vorangegangener Korrektur von Herzfehlern, wie der Fallot'schen Tetralogie, infolge von Wachstum und Degeneration eine pulmonale Insuffizienz mit Rechtsherzdilatation und konsekutiver Rechtsherzinsuffizienz entwickeln (Rao, 2007a, Hazekamp et al., 2001).

Auch bei der Valvuloplastie der Aortenklappe konnten ähnliche Effekte gesehen werden. Robicsek und Block zeigten, dass sich nach der Intervention eine bestehende Regurgitation weiter verstärken könnte (Robicsek et al., 1988, Block and Palacios, 1988). Die hohe Mortalität und Restenoserate in der betagten Patientenpopulation mit kalzifizierter Aortenklappenstenose, die sich einer interventionellen Aortenklappensprengung unterzogen, begrenzte diese Anwendung als palliative Therapie oder Überbrückungsstrategie bis zur Operation (Klein et al., 2006, Feldman, 2006, Agarwal et al., 2005). Innerhalb relativ kurzer Zeit löste eine innovative Alternative namens TAVI (transcatheter aortic valve implantation) in der Mitte der 2000er Jahre die Ballonvalvuloplastie ab, die mittlerweile in immer kürzer werdenden Abständen technische Schwierigkeiten und Komplikationen durch verbesserte Verbesserungen zu überwinden scheint (Kim and Hamm, 2017). Häufige Probleme waren unter anderem paravalvuläre Leckagen, Stentmigration, Koronararterienkompression und -ruptur, Herzrhythmusstörungen und Gefäßkomplikationen (Attmann et al., 2005). Die Arbeitsgruppen um Andersen und Pavcnik waren 1992 die Pioniere, die katheterbasiert eine Aortenklappe im Schwein und im Hund applizierten (Andersen et al., 1992, Pavcnik et al., 1992). Alain Cribier und Kollegen vollzogen 2002 die erste TAVI bei einem 57-jährigen Menschen und revolutionierten damit, wie sich später herausstellen sollte, die Therapie der degenerativen Aortenklappenerkrankung (Cribier et al., 2002).

Wieder den Pulmonalklappenersatz betrachtend, müssen den bestehenden operationsspezifischen Risiken wie beispielsweise der Infektion und den Auswirkungen der extrakorporalen Zirkulation trotz niedriger Morbidität und Letalität die nötige Aufmerksamkeit entgegengebracht werden (Jain et al., 2012, Kogon et al., 2013). Vor allem Patienten, die im Kindesalter komplexe Operationen mit oder ohne klappentragende Conduits und Patcherweiterungsplastiken bei angeborenen Anomalien des RVOTs erhalten haben, müssen sich im Verlauf mehrmals weiteren operativen Maßnahmen unterziehen (Bauner and Kozlik-Feldmann, 2013). Da auch hier perkutane minimal-invasive Methoden zunehmend gefragt sind, werden nun im folgenden Abschnitt die perkutanen Behandlungsarten genauer dargestellt.

1.3.2 Bisherige perkutane Methoden zum Pulmonalklappenersatz

Bevor der perkutane Pulmonalklappenersatz im klinischen Alltag seinen Platz fand, hat man sich anderer Möglichkeiten bedient, um die Conduit-Stenose als häufigste Ursache der rechtsventrikulären Obstruktion zu beheben. Seit dem Ende der 80er Jahre wurden hierfür ballonexpandierende Edelstahl-Stents verwendet, die man transvenös über die Engstelle des klappentragenden bzw. klappenlosen Conduits gesetzt hat (O'Laughlin et al., 1993). In Studien konnte eine signifikante Gradientenreduktion über der Klappe erreicht werden (O'Laughlin et al., 1991) (Saliba et al., 1999). Ebenso hat man gesehen, dass die Funktion des Stents durch das Wachstum der Kinder in keiner Weise beeinträchtigt wurde und der Zeitpunkt bis zum folgenden operativen Eingriff effizient verschoben werden konnte (Ovaert et al., 1999). Nachteil dieser Prozedur ist je nach Stentposition die freie pulmonale Insuffizienz, die durch die damit verbundene Volumenbelastung zu einer Dilatation der Kammermuskulatur und systolischer sowie diastolischer Funktionseinschränkung führt. Typische Komplikationen, die mit dieser Situation einhergehen sind Herzinsuffizienz, Herzrhythmusstörungen und das erhöhte Risiko des plötzlichen Herztods (Bauner and Kozlik-Feldmann, 2013).

Als Alternative dazu und zum operativen Conduitaustausch erprobten Bonhoeffer und Kollegen im Jahre 2000 zunächst an einer Studie mit fünf Schafen den transvenösen, katheterbasierten Pulmonalklappenersatz mit bovinen Jugularvenenklappen (Bonhoeffer et al., 2000a). Kurz darauf folgte der Meilenstein, als ein 12-jähriger Junge mit kombiniertem Pulmonalklappenvitium nach multiplen Voroperationen bei Pulmonalatresie und VSD mit eben dieser Technik versorgt wurde, wohlgemerkt zwei Jahre bevor Cribier diese Methode auf

die Aortenklappe angewendet hat (Bonhoeffer et al., 2000b) (Abschnitt 1.3.1). Ein in einen Platin-Stent eingenähtes bovines Jugularvenensegment mit Venenklappe wurde über die Femoralvene mittels Ballonkatheter in der entsprechenden Position platziert. Der Junge konnte fünf Tage nach dem Eingriff mit normaler rechtsventrikulärer Funktion aus der Klinik entlassen werden.

Es folgten weitere Studien mit zunehmender Patientenzahl. Im Jahre 2002 waren es sieben Kinder zwischen 10 und 17 Jahren und ein Erwachsener mit 38 Jahren. Alle acht Patienten waren mehrfach mit klappentragenden Conduits bei komplexen angeborenen Herzfehlern voroperiert (Bonhoeffer et al., 2002).

Khambadkone et al. berichteten 2005 von einer Studie mit 59 Patienten, die mittels perkutanem Pulmonalklappenersatz (PPVI = percutaneous pulmonary valve implantation) behandelt wurden, in der es perioperativ keine Mortalitätsfälle zu beklagen gab. Druckgradienten und Regurgitationsfraktionen wiesen einen signifikanten Abfall auf, linksventrikuläre enddiastolische Volumina und Ejektionsfraktionen einen signifikanten Anstieg, ebenso wie die subjektive und objektive Belastbarkeit (Khambadkone et al., 2005).

So wurde mit der Zeit die mittlerweile regelhaft eingesetzte Medtronic Melody® Transkatheter-Pulmonalklappe (Medtronic, Minneapolis, MN) entwickelt. Im Abschnitt 1.4 wird auf Einzelheiten dieser Herzklappenprothese eingegangen.

Als Limitationen dieser Vorgehensweise sind anzumerken, dass lediglich Kinder ab fünf Jahren bzw. über 20 kg dafür geeignet sind (Ghanbari et al., 2008). Auch Patienten, die eine transannuläre Patcherweiterungsplastik bei Fallot'scher Tetralogie erhalten haben, überschreiten oftmals Pulmonalklappenring-Durchmesser von über 30 mm und kommen für eine perkutane Behandlung ebenfalls nicht in Frage (Boudjemline et al., 2005).

Feinstein et al. haben 2006 über den erfolgreichen Versuch berichtet, in dem ein 10 Monate alter Säugling mit „off-the-shelf“-Komponenten kathetergestützt mit einer Pulmonalklappenprothese versorgt worden ist. „Off-the-shelf“ bedeutet, dass alle benutzten Medizinprodukte serienmäßig bereits auf dem Markt existieren, jedoch nicht vornehmlich für den entsprechenden Eingriff entwickelt und hergestellt wurden. Eine 12 mm-Hancock (Medtronic, Minneapolis, MN) Klappenprothese vom Schwein wurde in einen Edelstahl-Stent eingenäht und manuell auf einen herkömmlichen Ballon-Katheter montiert. Die Nachsorgeuntersuchung nach elf Monaten demonstrierte zufriedenstellende Ergebnisse (Feinstein et al., 2006).

Die bis dahin eingesetzte Technik belief sich auf Herzklappenstents, die durch Ballonkatheter freigesetzt wurden. Herr Prof. Dr. Lutter, der auch die Studie aus dieser Forschungsarbeit betreut, war mit seiner Arbeitsgruppe Vorreiter bei der Verwendung von selbstexpandierenden Klappenstents (Lutter et al., 2002). Attman und Kollegen aus derselben Forschungsgruppe zeigten im Schafmodell über einen Zeitraum von drei Monaten, dass die Durchführbarkeit von perkutanem Pulmonalklappenersatz mit Nitinol-Stents sehr gute Resultate erbrachte. Die hohe Flexibilität dieser Form-Gedächtnis-Legierung (shape-memory-alloy) und die Fähigkeit der geometrischen Adaption an das umliegende Gewebe ist vor allem bei Patienten mit veränderter Anatomie des RVOTs aufgrund angeborener Verhältnisse oder nach operativer Korrektur von Vorteil (Attmann et al., 2006a).

Es folgten andere Gruppen, die sich mit selbstexpandierenden Stents beschäftigten. Im Jahre 2010 veröffentlichten Schievano et al. einen Artikel, in dem die PPVI mittels eines solchen Stents (The Native Outflow Tract Device, Medtronic Inc., Minneapolis, MN, USA) an einem 42-jährigen Patienten mit nicht voroperierter, hochgradiger Pulmonalklappeninsuffizienz beschrieben wurde (Schievano et al., 2010).

Die bisherige rasante Entwicklung und medizinische Geschichte zeigt, dass experimentelle und klinische Studien, neue Techniken und innovative Medizinprodukte auf diesem Gebiet auch zukünftig dazu führen werden, dass sich die Indikation zur Anwendung des perkutanen Pulmonalklappenersatzes höchstwahrscheinlich zunehmend ausweiten wird.

1.4 Herzklappenprothesen

Grundlegend gibt es zwei verschiedene Arten von Herzklappenprothesen, bioprothetische und mechanische. Unter die erstere Gruppe fallen Prothesen, die aus biologischen Materialien hergestellt werden. Das können zum einen Xenografts aus tierischem, zum anderen Homografts aus menschlichem Gewebe stammende Klappen sein. Geschichtlich war D. N. Ross der erste, der 1962 die fehlende Pulmonalklappe eines 8-jährigen Jungen mit einer menschlichen Aortenklappe erfolgreich rekonstruierte (Ross and Somerville, 1966). Xenografts werden vornehmlich aus Schweine- oder Rinderperikard gewonnen und sind derzeit die vorzugsweise eingesetzten Herzklappenprothesen (Nishimura et al., 2017). Manche sind in ein Gerüst eingenäht (stented). Menschliche und tierische Spenderklappen müssen nach der Entnahme entsprechend gelagert werden. Die Kältekonservierung

(Kryokonservierung) in flüssigem Stickstoff ist hier Mittel der Wahl. Mechanische Klappen gibt es in unterschiedlichen Bauformen: Kugel-, Scheiben- und Doppelflügelklappen. Dr. Charles Hufnagel implantierte 1951 die erste künstliche Prothese in die Aorta descendens zur Behandlung einer Aorteninsuffizienz (Hufnagel, 1951). Als kommerziell verfügbare Kugelprothese für die klinische Routine führten Starr und Edwards die Starr-Edwards-Klappe ein, die sich zügig als Goldstandard für den Klappenersatz etablierte (Starr and Edwards, 1961). Alle mechanischen Klappentypen erfordern eine lebenslange orale Antikoagulation, da es sonst durch den Fremdkörperkontakt des Blutes mit der Klappe zu thrombembolischen Ereignissen kommen kann. Die Abbildung 6 zeigt Beispiele bestehender Herzklappenprothesen.

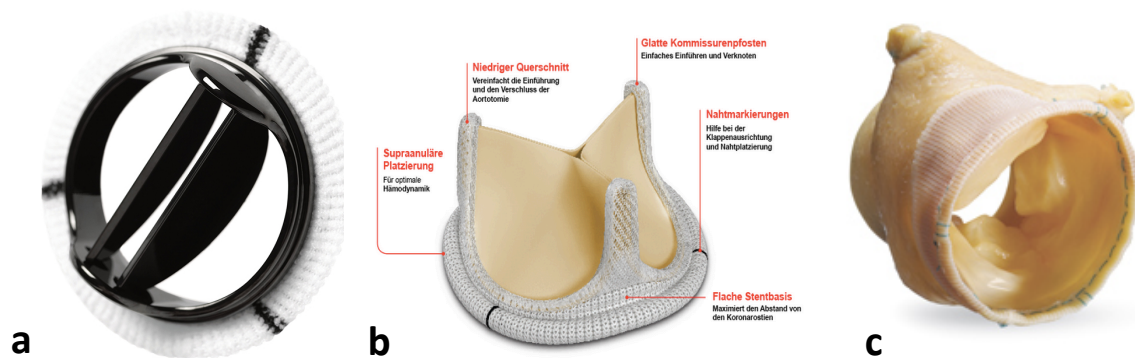


Abb. 6: Herzklappenprothesen (a) St. Jude Medical Regent™ Doppelflügelklappe; (b) Edwards Magna Ease aus bovinem Perikard (stented); (c) Medtronic Freestyle® Schweineherzklappe (stentless)

1.4.1 Überblick klinisch angewendeter Klappenprothesen in Pulmonalposition

Die Verwendung von Homografts gilt als Goldstandard beim chirurgischen Pulmonalklappenersatz (Hörner et al., 2009). Auch im Zuge der Ross-Operation oder in klappentragenden Conduits werden häufig Homografts eingesetzt, da diese eine gute Biokompatibilität, Verfügbarkeit in vielen Größen und exzellente Handhabungseigenschaften bieten (Forbess et al., 2001). Doch der Mangel an Wachstumspotenzial, die Verkalkungsneigung und Degeneration machen den wiederholten Klappen- bzw. Conduitwechsel von Homo- und auch Xenografts unvermeidbar (Hörner et al., 2009). Oosterhof und Kollegen zeigten in einer Studie, dass bei ca. 47 % der Patienten keinerlei Prothesendysfunktion nach zehn Jahren festzustellen war. Ein geringer Homograft-Durchmesser, jüngeres Patientenalter, eine nicht anatomische Implantationsposition, eine

aortale Spenderklappe und präoperativ eine hochgradige Pulmonalklappeninsuffizienz haben zu einer früheren Funktionsstörung nach der Operation geführt (Oosterhof et al., 2006, Meyns et al., 2005).

Boething et al. beschrieben 2005 in einer Studie, in der sie porcine Xenografts, Homografts und die Medtronic Contegra-Prothese (Conduit mit eingearbeiteter, boviner Jugularvenenklappe) miteinander verglichen haben, dass die Prothesen vom Schwein den anderen beiden Optionen unterlegen war. Vor allem ein porciner Xenograft und das Patientenalter unter einem Jahr schienen unabhängig voneinander ein erhöhtes Risiko für eine erneute Operation zu beherbergen. Die Forscher sprachen eine Empfehlung für die Contegra-Prothesen aus, da diese über den Beobachtungszeitraum von zwölf Jahren bei der Reinterventionsrate bzw. Reoperationsfreiheit genauso gut wie die Homografts abschnitten, jedoch eine bessere Verfügbarkeit jeglicher Größen und ein leichteres Handling aufwiesen (Boethig et al., 2005).

Seit einigen Jahren sind dezellularisierte Homografts in Erprobung. Menschliche Spenderklappen werden hier mit Tensiden gereinigt, so dass die extrazelluläre Matrix unbeschädigt bleibt, jedoch die Spenderzellen nahezu komplett ausgewaschen werden. Man nimmt an, dass dadurch eine längere Haltbarkeit erzeugt werden kann. Erste mittelfristige Ergebnisse bestärken diese Annahme und zeigen eine verminderte Reoperationsrate im Vergleich zu kryokonservierten Homografts oder bovinen Jugularvenen-Conduits (Sarikouch et al., 2016).

Die Frage, ob der mechanische Klappenersatz bei rechtsventrikulären Pathologien in Anbetracht der wiederholten Eingriffe trotz lebenslange Antikoagulation nicht ernsthaft in Erwägung gezogen werden sollte, wird in der Literatur immer wieder diskutiert (Abbas and Hoschtitzky, 2014). Hörer et al. zeigten in einer Studie, in der sie 19 Patienten mit mechanischen Pulmonalklappen mit 19 Patienten, die Xenografts erhalten haben, verglichen, dass die hämodynamischen Eigenschaften der künstlichen Klappen, denen der tierischen Pendants überlegen waren. Die relativ hohe Wahrscheinlichkeit einer Klappenthrombose trotz blutverdünnender Medikamente und die Gefahr der strukturellen Dysfunktion wurde jedoch auch diskutiert. In der Reoperationsrate gab es in beiden Gruppen keinen signifikanten Unterschied (Hörer et al., 2009). Auch andere Gruppen propagieren den mechanischen Klappenersatz als mögliche Alternative. Mit einer gut eingestellten Gerinnung ggf. in Kombination mit einer doppelten Thrombozytenaggregationshemmung waren relativ geringe

Klappenthrombosen sowie Blutungskomplikationen zu sehen (Dos et al., 2011). Stulak und Kollegen haben über einen Zeitraum von 40 Jahren 54 Patienten mit mechanischer Pulmonalklappe beobachtet und eine Reoperationsrate von 0 % in den ersten 20 Jahren beobachten können (Stulak et al., 2010). Die Arbeitsgruppe von Waterbolk hat zwischen 1986 und 2005 achtundzwanzig Patienten analysiert und keinen einzigen Fall thrombembolischer Komplikationen feststellen können (Waterbolk et al., 2006). All diese Studien zeigen auf, dass in einigen Fällen ein mechanischer Klappenersatz durchaus in Frage kommt, wenn ältere Patienten bereits sehr oft voroperiert wurden oder aufgrund von Herzrhythmusstörungen oder einer bereits in anderer Position vorhandenen künstlichen Herzklappe oral antikoaguliert sind. Das erhöhte Blutungsrisiko durch die Einnahme blutverdünnender Medikamente, das weiterhin existierende Thrombembolie-Risiko, ebenso die Gefahr einer Endokarditis und Pannusbildung in der Klappe und damit die technisch erschwerte Reoperation muss genau abgewogen werden. Ein bestehender Schwangerschaftswunsch, der gerinnungshemmenden Medikation gegenüber nicht verständige Patienten und Betroffene, die im Verlauf einen interventionellen Eingriff an den peripheren Lungenarterien benötigen könnten, sind nicht für den mechanischen Klappenersatz geeignet (Freling et al., 2015, Casselman et al., 2001).

Weiterhin bedeutend ist, dass die bestehenden interventionellen Methoden sowie die neuen perkutanen Therapieansätze, die die Zeit bis zu einer Reoperation bei bioprothetischen Klappen durchaus verlängern können, für die künstlichen Klappen technisch nicht anzuwenden sind (Jeong et al., 2017).

Seit der ersten perkutanen Pulmonalklappenimplantation im Jahre 2000 sind über 10 000 dieser Prozeduren in über 200 Zentren weltweit durchgeführt worden, 154 davon in Europa. Die derzeit zugelassenen Prothesen für dieses Verfahren sind zum einen die Medtronic Melody™ Valve und zum anderen die Edwards SAPIEN XT Transcatheter Heart Valve (Biernacka et al., 2017).

Die Melody™ ist eine bovine Jugularvenenklappe in zwei Größen, 16 und 18 mm, die in einen Platin-Iridium-Stent (CP stent, NuMED, Inc., Hopkinton, New York) eingenäht ist und auf einen Doppelballonkatheter und spezielles 18, 20 oder 22 mm Applikationssystem geladen wird (Ensemble, Medtronic, Minneapolis, USA). Um die Klappe zu entfalten, zieht man die Hülse zurück und pumpt den inneren und äußeren Ballon auf die gewünschte Größe auf (Abb. 7a).

Die Edwards SAPIEN XT (Edwards Lifesciences, Irvine, California) besteht aus einem Kobalt-Chrom-Stent, mit einer Klappe aus bovinem Perikard in den Größen 23, 26 und 29 mm. Außen

am Stent existiert noch ein perikardialer Saum, der das Auftreten eines paravalvulären Lecks minimieren soll. Das Ganze wird mit einem speziellen Gerät in das Retroflex-3 oder Novaflex Einführsystem (Edwards Lifesciences) gefaltet, das einen Führungskatheter und einen Single-Ballonkatheter beinhaltet (Abb. 7b). Sie ist unter den beiden Prothesen auch für die Versorgung von gestenteten, transanulär gepatchten RVOTs anwendbar.

Mehrheitlich wird noch die Melody™ eingesetzt. Limitierend ist, dass sie lediglich in zwei Größen zur Verfügung steht (Biernacka et al., 2017).

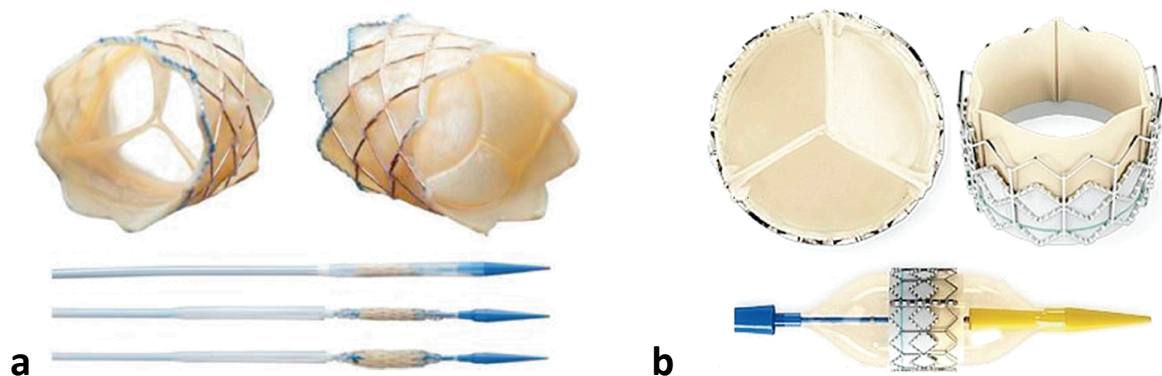


Abb. 7: Perkutane Pulmonalklappenprothesen (a) Melody™ mit Applikationssystem; (b) Edwards SAPIEN XT mit Einführsystem

Außerdem wird derzeit eine weitere Klappe in einer klinischer Prüfstudie getestet. Die sogenannte Medtronic Harmony Transcatheter Pulmonary Valve, die erstmals von Schievano als The Native Outflow Tract Device implantiert wurde (Schievano et al., 2010). Der Nitinol-Stent hat die Form einer Sanduhr, in deren Mitte eine aus porcinem Perikard gefertigte Klappe sitzt. Damit wäre dies die erste selbstexpandierende perkutane Pulmonalklappe. Erste Ergebnisse scheinen vielversprechend zu sein (Ansari et al., 2015, Schoonbeek et al., 2016). Seit den Anfängen der Herzchirurgie ist man bis heute auf der Suche nach der perfekten Herzklappe. Lebenslange Haltbarkeit, Antithrombogenität und Infektionsresistenz sind die Eigenschaften, die man vereinen möchte. Weder biologische noch mechanische Prothesen erfüllen diese Anforderungen. Daher sondieren Forschungsgruppen stetig neue, geeignete Materialien und die richtigen Herstellungsmethoden, um diesen Ansprüchen gerecht werden zu können (Neumann et al., 2014). Die Idee ist eine biomechanische Klappe zu entwerfen, in der man die lebenslange Haltbarkeit der mechanischen Klappe mit den Vorteilen der flexiblen Bioprothese, welche ohne blutverdünnende Medikamente auskommt, vereint (Daebritz et al.,

2004). Polyurethan ist hierbei eines der verheißungsvollsten Materialien, das seit einigen Jahren in den Fokus gerückt ist.

1.4.2 Polyurethan als medizinischer Werkstoff

Polyurethan ist ein Kunststoff, welcher aufgrund seiner guten Biokompatibilität und der herausragenden mechanischen Eigenschaften bei der Herstellung medizinischer Implantate eine wichtige Rolle spielt (Gunatillake et al., 2006, Hiltunen et al., 1998, Tang et al., 2001, Gorna and Gogolewski, 2002). Es ist derzeit vor allem als modifiziertes Polyether-Urethan (PEU), z.B. in Form von Biomer®, oder Polycarbonat-Urethan (PCU), u.a. als Carbothane® für verschiedene medizinische Zwecke im Gebrauch (Szelest-Lewandowska et al., 2007). In der Kardiologie und Herzchirurgie werden unter anderem Herzkatheter, Sonden für Herzschrittmacher, Perikardpatches und Herzunterstützungssysteme aus Polyurethanen gefertigt (Nayak et al., 2001, Guan et al., 2005, Santerre et al., 2005, Gorna and Gogolewski, 2002).

Es konnte gezeigt werden, dass sich hierbei das PCU als biostabiler im Vergleich zu PEU verhält, was zu selteneren Ermüdungsrissen auf der Oberfläche führt (Pinchuk, 1994). In den übrigen Merkmalen wie den mechanischen Eigenschaften, der oxidativen Stabilität oder der in vivo ausgelösten Fremdkörper-/ Immunreaktion verhielten sich beide Polymere annähernd gleich (Mathur et al., 1997).

Desai und Kollegen haben in einem in vitro-Experiment beschrieben, welches eine Zeitspanne von über zehn Jahren simuliert, dass ein mit modifiziertem PCU ausgekleideter Aortenstent aus Nitinol keine signifikante Degeneration und gute Federungseigenschaften gezeigt hat (Desai et al., 2012). Ebenso wurde nachgewiesen, dass in einem Vergleich zwischen einem PU-Nitinol-Gefäßstent und einem Polyester(PET)-Nitinol-Stent das Polycarbonat dem PET in der Compliance 17-fach überlegen war (Guan et al., 2016).

Roe und Kollegen beschäftigten sich als einer der ersten Arbeitsgruppen mit der Herstellung von Elastomer-/ Polymer-Kunstklappen und entwickelten Ende der 50er Jahre eine Aortenklappenprothese aus Silikonkautschuk. Aufgrund exzessiver Thrombembolien die mit einem hohen Maß an Morbidität und Mortalität einhergingen, kam es zum Abbruch der Studie (Roe and Moore, 1958). Braunwald et al. versuchten es mit einer Polytetrafluorethylen-Version. Auch hier wurde das Experiment vorzeitig beendet, da bei 13 von 33 Patienten Risse in den Taschensegeln zu schwerwiegenden Aorteninsuffizienzen führten (Braunwald and

Morrow, 1965). Weitere Versuche mit Silikonkautschuk, PTFE (Teflon®), PET (Dacron®), Polyvinylchlorid und Polyurethan wurden in vitro und in vivo erprobt (Roe et al., 1966, Braunwald and Morrow, 1965, Nistal et al., 1990, Imamura and Kaye, 1977, Hufnagel, 1977, Hyde et al., 1999). Die Tatsache, dass alle diese Klappen weder hämo- noch biokompatibel waren und zu Verkalkungen, Hydrolyse, Oxidation und Lipidabsorption neigten, machte es nicht möglich, sie im Menschen regelhaft zu implantieren (Schoen et al., 1988, Hyde et al., 1999).

Im Laufe der Jahrzehnte stellte man fest, dass nicht nur die Materialbeschaffenheit, sondern auch der Fertigungsprozess eine Auswirkung auf die Eigenschaften der Prothese hat. So konnte man in den 90er Jahren erste positive Ergebnisse verzeichnen, obwohl immer noch das große Problem der Thrombogenität nicht beseitigt werden konnte (Lo et al., 1988, Jansen et al., 1991a).

Polyurethan stach durch seine Beständigkeit, Elastizität, Ermüdungsresistenz, Compliance und geringe Fremdkörperreaktion hervor (Zdrahala and Zdrahala, 1999) und so implantierten Wheatley et al. offen chirurgisch bei acht Schafen PU-Prothesen in Mitralposition und verglichen sie mit jeweils zehn in gleicher Lage eingesetzten mechanischen und biologischen Klappen. Zuvor ist die PU-Klappe in vitro über 400 Millionen Zyklen, was ca. 10 Jahren normaler Herztätigkeit entspricht, auf Ermüdung getestet worden. Im Ergebnis waren die PU-Prothesen in hämodynamischer und degenerativer Hinsicht den Bioprothesen und in der Hämkompatibilität ganz ohne den Einsatz von Antikoagulanzen den mechanischen Pendants überlegen. Es konnte gezeigt werden, dass es möglich ist, ein Polymer zu generieren, dass sowohl Flexibilität als auch mechanische Widerstandsfähigkeit bieten kann (Wheatley et al., 2000).

Daebritz et al veröffentlichten 2003 eine Studie, in der sie eine biomechanische ADIAM (ADIAM Life Science AG, Köln) PCU-Prothese für den Mitralklappenersatz an sieben Jersey-Kälbern testeten, die eine bemerkenswerte Performance erbrachte (Daebritz et al., 2003). Kurze Zeit später wurde von der gleichen Arbeitsgruppe eine der Aortenklappe angepasste PCU-Prothese entworfen und ausprobiert, die das Profil der nativen Klappe nachahmte und so weitgehend physiologische Strömungsverhältnisse erzeugte. Auch hier zeichnete sich eine Überlegenheit in der Haltbarkeit und verminderter Verkalkungsneigung gegenüber der biologischen Klappe ab, ohne dabei ein erhöhtes thrombembolisches Risiko in Abwesenheit blutverdünnender Therapeutika mit sich zu bringen (Daebritz et al., 2004).

Ferner wurde über die Jahre entdeckt, dass Polymere, so auch Polyurethan und Polycarbonat-Urethan, chemisch derart veränderbar sind, dass körpereigene Proteine daran binden und die Kunststoffe sich selbst mit der Zeit abbauen können (Phaneuf et al., 1997, Zdrahala and Zdrahala, 1999). Somit werden sie nunmehr auch im Bereich des Tissue-Engineerings als vielseitiges Gerüstmaterial erprobt (Howard, 2002). Unter anderem wurde ein Polyether-Urethan-Urea(PEUU) entwickelt, welches sich in Erde, im Wasser und in Schlick biologisch zersetzt (Rafiemanzelat et al., 2013).

Nach den unbefriedigenden Erfahrungen der ersten Studie haben neuere Studien das Gegenteil bewiesen. Die Fortschritte in der Herstellung, dem Design und der Modifizierung der Polymere führten zu einer verbesserten Biokompatibilität und –Stabilität dieser Materialien. So steigt die Wahrscheinlichkeit, dass die aufkommende Generation von PU-Prothesen zukünftig eine passende Langzeit-Alternative zu den derzeit existierenden Herzklappenprothesen darstellen könnte (Ghanbari et al., 2009).

1.5 Fragestellung und Ziel der Studie

Die in den vorangegangenen Abschnitten vorgestellten Aspekte ins Auge fassend wurden für dieses Forschungsprojekt Pulmonalklappen aus Polycarbonat-Urethan angefertigt und im Schafmodell über unterschiedliche Zeiträume untersucht, um letztlich eine Herzklappe zu entwickeln, die die bisherigen im klinischen Umfeld gebräuchlichen Prothesen übertrifft und so die Möglichkeit bietet, den Anforderungen einer möglichst langen Lebensdauer ohne orale Antikoagulation gerecht zu werden. Da minimal-invasive Methoden zunehmend in den Vordergrund treten, wurde das Prothesendesign so ausgelegt, dass eine perkutane Applikation möglich ist.

Attmann et al. entwickelten hierzu 2006 das erste Modell eines solchen Prothesenstents (Attmann et al., 2006b). In einer vorangegangenen Studie dieser Arbeitsgruppe, in der neun Schafe nach perkutaner PCU-Klappen Implantation über einen Zeitraum von einem Monat evaluiert wurden, konnte bereits gezeigt werden, dass die hämodynamischen, histologischen und statistischen Ergebnisse mehr als zufriedenstellend gewesen sind (Metzner et al., 2010a). Diese ermutigenden Resultate führten dazu, in einem erweiterten Versuchsmodell nun die Ergebnisse eben dieser PCU-Klappe über unterschiedliche Zeitspannen von einem, drei und sechs Monaten zu vergleichen.

Hämodynamische Messungen während der Interventionen und echokardiographische Nachsorgeuntersuchungen wurden zu Lebzeiten der Tiere erhoben, um pathologische Zustände und Entwicklungen zu detektieren. Diese wurden nach Studienabschluss soweit möglich, miteinander verglichen und die Frage nach den hämodynamischen Eigenschaften gestellt.

Makroskopische Examination der Herzen und neun verschiedene mikroskopische Färbungen wurden postmortal durchgeführt, um das Gewebe auf krankhafte Geschehen, Umbauprozesse und immunologische Reaktionen zu untersuchen und festzustellen, ob das Polycarbonat-Urethan dem Pulmonalklappenersatz durch seine Biokompatibilität dienlich ist. Letztlich wurden noch zwei PCU-Prothesen im Rahmen des Tissue-Engineerings dynamisch und statisch mit Knochenmarkszellen besiedelt und es wurde unter dem Raster-Elektronen-Mikroskop im Vergleich zu einer dritten nativ belassenen PCU-Klappe validiert, inwiefern eine erfolgreiche Zellanheftung an die Substanz stattgefunden hat und was das im Folgeschritt für den erweiterten Einsatz als Gerüstmaterial bedeutet.

2. Material und Methoden

Die Anträge zu dieser tierexperimentellen Studie wurden sowohl vom Ministerium für Landwirtschaft, Umwelt und Naturschutz Schleswig-Holstein, als auch vom Tierschutzbeauftragten, Herrn Prof. Dr. G. Schultheiß und zuvor von Herrn Prof. Dr. I. Reetz der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel, genehmigt und entsprechen den Richtlinien des deutschen Tierschutzgesetzes. Die Durchführung der Versuche und Nachsorge der Tiere erfolgte in Zusammenarbeit mit der Veterinärmedizinerin Frau Dr. Telse Bähr und nach den internationalen Vorgaben des „Guide for the Care and Use of Laboratory Animals“ (Council, 2011) und dem „Core Principles of Laboratory Animal Care“ (Pankevich et al., 2012).

2.1 Die Versuchstiere

Die hier untersuchten Tiere gehörten der Shropshire-, Suffolk-, und Norweger-Mix-Rasse an. Es wurden weibliche wie männliche Schafe verwendet, ihr durchschnittliches Gewicht betrug 39,4 kg (32,0-50,6 kg) und sie waren zwischen sechs und neun Monate alt.

PU-Schaf	Implantationsdatum	Follow-Up TTE	Explantationsdatum
PU 1	03.11.2008		01.12.2008
PU 2	12.11.2008		08.12.2008
PU 3	27.01.2009		02.03.2009
PU 4	04.02.2009	05.03.2009 (4W)	29.04.2009
PU 5	11.02.2009		09.03.2009
PU 7	13.06.2009	17.08.2009 (8W)	25.08.2009
PU 12	06.09.2010	29.11.2010 (12W)	14.03.2011
PU 14	22.11.2010	14.02.2011 (12W)	17.06.2011
PU 15	24.01.2011	20.04.2011 (12W)	27.06.2011

Tab. 5: Versuchstierübersicht: Übersicht der Versuchstiere, die im Zeitraum zwischen November 2008 und Oktober 2011 für den primären Endpunkt genauer untersucht wurden; bei fünf Tieren wurde als Nachsorgeuntersuchung (Follow-Up) eine transthorakale Echokardiographie (TTE) durchgeführt.

Im Rahmen der Untersuchung traten bei einigen Tieren Komplikationen auf, welche zum vorzeitigen Versuchsabbruch geführt haben. Diese Schafe wurden aus der Studie ausgeschlossen (Tab. 6).

PU-Schaf	Versuchsende	Überlebensdauer	Todesursache
PU 6	23.05.2009	30 Tage	Intraop. Reanimation, über 4 Wochen Fieber, antibiot. Therapie ohne Erfolg, Dexamethasongabe, Perikarderguss, Klappe komplett zugewachsen
PU 8	14.07.2009	8 Tage	RVOT-Obstruktion durch endokarditische Überwucherung
PU 9	04.08.2009	19 Tage	RVOT-Obstruktion durch blumenkohlartige Überwucherung (a.e. endokarditisch bedingt)
PU 10	13.10.2009	22 Tage	tot im Stall aufgefunden, bereits während Implantation Entladungsprobleme des Katheters, native Klappe tlw. frei
PU 11	28.01.2010	0 Tage	Euthanasie am OP-Tag, nachdem sich die PU-Klappe nach Implantation steif und funktionslos erwies, Gradient über der Klappe massiv hoch
PU 13	03.11.2010	15 Tage	Stentmigration in RV, mit Obstruktion des RVOT
PU 16	10.10.2011	182 Tage	Stentmigration oberhalb der nativen Klappe, nur noch teilweise bedeckt, daher ohne Funktion

Tab. 6: Frühzeitiges Versuchsende;

RVOT: right ventricular outflow tract → rechtsventrikulärer Ausflusstrakt; a.e.: am ehesten; tlw.: teilweise, PU: Polyurethan; RV: rechter Ventrikel

2.2 Der selbstexpandierende Nitinol-Stent

Nitinol ist eine äquiatomare bzw. eine annähernd äquiatomare Metalllegierung, die aus mindestens 50 % Nickel und Titan besteht. Dieser Werkstoff wurde in den 60er Jahren des 20. Jahrhunderts von William J. Buehler und seinem Team entwickelt, wobei „NiTi“ für Nickel-Titan und „-nol“ für Naval Ordnance Laboratory steht (Kauffman and Mayo, 1997). Seither ist Nitinol aufgrund seiner außergewöhnlichen Eigenschaften ein vielseitig eingesetztes Material in der Medizin.

Als Formgedächtnislegierung (sog. Shape Memory Alloy, SMA) besitzt es die einzigartige Fähigkeit, sowohl temperaturabhängig als auch mechanisch bedingt in zwei unterschiedlichen

Kristallstrukturen existieren zu können, ohne dabei Wärme mit seiner Umgebung auszutauschen.

Konkret bedeutet dies, dass es möglich ist, bei vergleichsweise niedrigen Temperaturen, z.B. bei Raumtemperatur (martensitische Phase), den Stoff in die gewünschte Form zu bringen, ohne dass er sich zurück in seinen Ursprungszustand ausdehnt. Erst nach Implantation in den menschlichen Körper, wo eine Temperatur von ca. 37 Grad Celsius (austenitische Phase) vorherrscht, „erinnert“ er sich an die anfängliche Struktur und nimmt diese wieder ein (Abb. 8). Die mit diesem „shape memory effect“ einhergehende Super- bzw. Pseudoelastizität beschreibt ferner die Eigenschaft, dass das Material nach dem Entlasten durch seine innere Spannung wieder in seine Ursprungsform zurückkehrt, also vom Martensit wieder in das

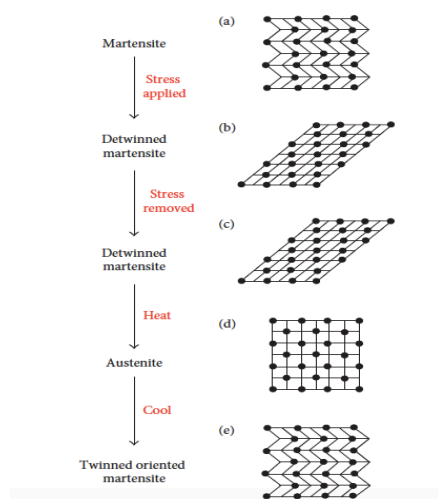


Abb. 8: Prinzip des shape memory effects: (a) Martensit b. RT; (b) Martensit n. mech. Verformung; (c) Martensit n. Stressentlastung bei KT → (d) Austenit und Übergang in die Ursprungsform (e); RT: Raumtemperatur; KT: Körpertemperatur (Wadood, 2016)

Austenit. Dadurch kann es bis auf einen 3 bis 8-fach geringeren Durchmesser komprimiert werden (Duerig et al., 1999). Diese Verformbarkeit ist eminent wichtig für den endovaskulären Einsatz von Nitinol (El Feninat et al., 2002). Da er aufgrund der erläuterten Besonderheiten selbstexpandierend ist, kann er ohne die Anwendung eines Ballon-Katheters allein durch das Zurückziehen des Katheters in gewünschter Position platziert werden.

Im Vergleich zu 316 L rostfreiem Stahl, aus dem heutzutage viele Stents gefertigt sind, besitzt Nitinol eine 10 bis 20-mal höhere Flexibilität. Zudem ist es in Bezug auf Abknickresistenz, bio- und biomechanischer Kompatibilität, MRT-Fähigkeit, Hysterese, dynamischer

Beeinflussung und Ermüdungserscheinungen vielen anderen medizinischen Werkstoffen überlegen (Duerig et al., 1999).

Der in der Studie verwendete Nitinol-Stent, besteht aus 55 % Nickel und 45 % Titan und wird von der Firma OptiMed (Medizinische Instrumente GmbH, Ettlingen, Deutschland) hergestellt. Die für die Tiere der Gruppe 1 und 2 verwendeten Stents waren tubulär, 30 mm lang und bestanden aus drei Reihen à 13 Rauten. Um jedoch den anatomischen Ansprüchen des rechtsventrikulären Ausflusstraktes besser genügen zu können, wurde im Laufe der Zeit ein konisches Stentgerüst entwickelt, das aus jeweils zwei Reihen mit 14 Rauten aufgebaut ist und eine Länge von 38 mm hat. Der Diameter des distalen Endes beträgt 22 (28) mm, 24 (30) mm

misst der Durchmesser in der Mitte und 26 (32) mm am proximalen Ende (Abb. 9). Sein konisches Design sorgt für eine bessere Verankerung im subvalvulären Teil des rechten Ventrikels und vermindert das Risiko einer Stentmigration.

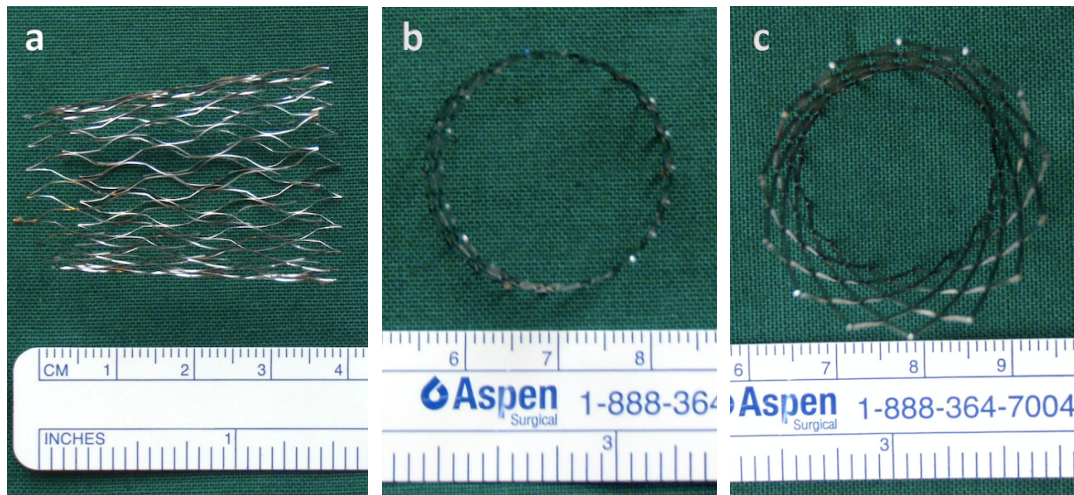


Abb. 9: Konisches Nitinol-Stentgerüst, ab Tier PU12 eingesetzt (a) Längsansicht; (b) Queransicht von oben; (c) Queransicht von unten

2.3 Die Polycarbonat-Urethan-Herzklappe

Die in unseren Versuchen verwendeten Pulmonalklappen aus Polycarbonat-Urethan (PCU-

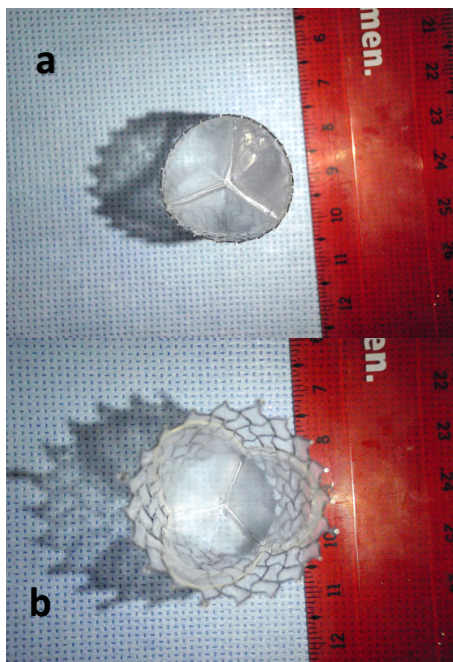


Abb. 10: PCU-Klappe in Nitinol-Stent;
(a) Tubulärer Stent, Ansicht von oben;
(b) konischer Stent, Ansicht von unten

Klappen) wurden mit Hilfe der Tauchtechnik (sog. Dip-Coating-Verfahren) von der Firma Mecora GmbH, Aachen in Zusammenarbeit mit dem Helmholtz-Institut für angewandte Medizintechnik, RWTH Aachen hergestellt (Abb. 10). Durch das Dip-Coating-Verfahren ist es möglich eine Segeldicke von 100-150 μm zu erzeugen. Bioprothetisch hergestellte Pulmonalklappen hingegen (z.B. aus bovinen Jugularvenen) besitzen eine Membrandicke von $230 \pm 50 \mu\text{m}$ (Li et al., 2007).

Es wurden Klappengrößen mit einem Durchmesser von 20 mm, 22 mm (tubulärer Stent) sowie 22-26 mm und 28-32 mm als konisches Design gefertigt.

Durch die Gesamtheit der Materialbeschaffenheit und der Dip-Coating-Methode wird somit eine zarte Klappe geschaffen, die in einen 14 F-Katheter

gefaltet werden kann (Abb. 11). Dies sollte vor allem bei der Behandlung jüngerer Patienten mit geringeren Gefäßdurchmessern in Erwägung gezogen werden.

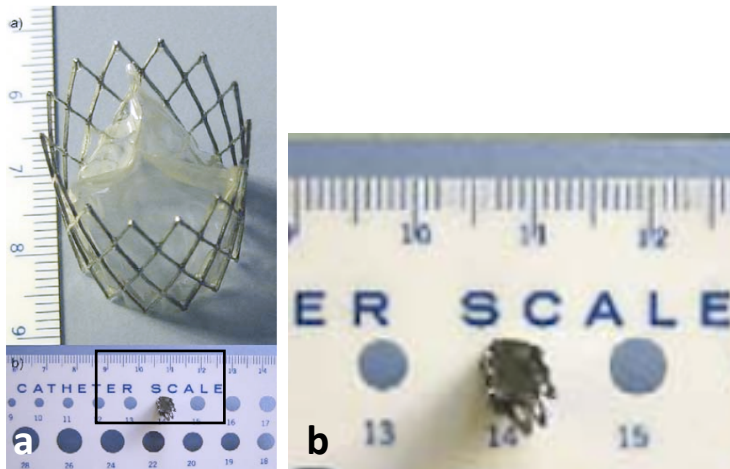


Abb. 11: (a) PCU-Klappe in Nitinol-Stent, Rechteck: Klappe komprimiert in 14 F-Messlehre; (b): Vergrößerter Bildausschnitt

2.4 Das Applikationssystem

Als Applikationssystem dienten Katheter der Firma OptiMed (Medizinische Instrumente GmbH, Ettlingen, Deutschland), die von Herrn Klaus Mück und seinem Team an die hiesigen Anforderungen angepasst wurden.

Die vollständige Länge eines Katheters beträgt hierbei 120 cm, 103 cm davon als tatsächlicher Anteil, der intravasal vorgeschoben werden kann. Der Außendurchmesser zählt 22 French (F), was 6,7 mm entsprechen, der Innendurchmesser bzw. Laderaumdurchmesser hingegen 18 F

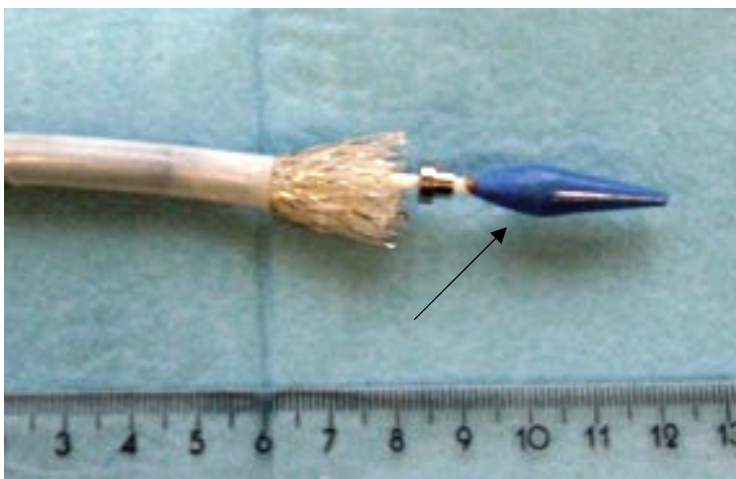


Abb. 12: Applikationskatheter mit teilweise inserierter PCU-Klappe, der Klappenstent wird auf 18 F (Innendurchmesser d. Katheters) zusammengefaltet, Pfeil: „Olive“ als Vorschiebehilfe im Gefäß

(= 6 mm) und die Laderaumlänge, in welche der Klappenstent eingebracht wird, 4,5 cm.

An der Katheterspitze befindet sich eine ca. 2 cm lange dilatator- bzw. olivenähnliche Struktur aus Silikon (Abb. 12, Pfeil), die das atraumatische Vorschieben des Applikationssystems im Gefäß und die Freisetzung des PCU-

Klappenstents aus dem Katheter unterstützen soll, ohne dabei die Prothese oder den Stent zu beschädigen. Auch andere Forschungsgruppen bedienen sich beim perkutanen

Pulmonalklappenersatz ähnlicher Vorrichtungen, da dadurch das Verletzungsrisiko deutlich gemindert ist (Boudjemline et al., 2005).

Um letztlich den Stent aus dem Katheter freizusetzen ist am proximalen Ende eine Vorrichtung angebracht, die als „Pusher“ bezeichnet wird (Abb. 13).

Durch das Zusammenspiel der PCU-Klappe im Nitinol-Stent und des dazu entwickelten Applikationssystems ist es möglich, auf die bisherige auf diesem Gebiet angewendete „ballon-in-ballon“ (BIB)-Technik zu verzichten (Wilson et al., 2014). Bei dieser wird die Pulmonalklappe auf einen Doppelballon-Katheter geladen, zu deren Freisetzung zunächst der innere und dann der äußere Ballon aufgepumpt werden (Lurz et al., 2009). Je nach Beschaffenheit und Verkalkungsgrad des umliegenden Gewebes kann dies die Gefahr einer Gefäß- bzw. Klappenringverletzung bergen (Khambadkone, 2012)

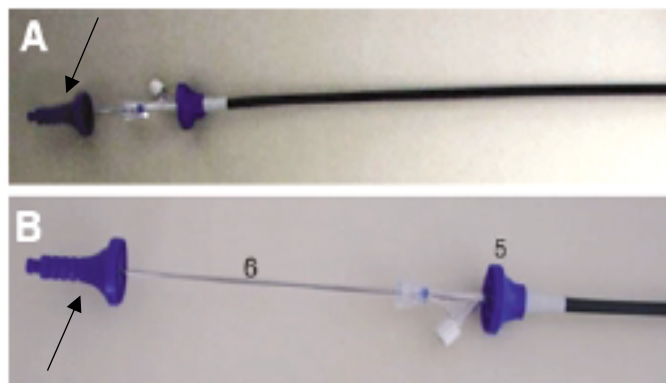


Abb. 13 (A) und (B): Applikationskatheter mit sog. "Pusher" am proximalen Ende (Pfeil)

2.5 Der Versuchsaufbau

Die Stallungen der Versuchstiere befinden sich im Viktor-Hensen-Haus auf dem Hauptcampus der Christian-Albrechts-Universität, Hermann-Rodewald-Straße 12 in 24118 Kiel. Von dort aus wurden die Schafe jeweils am Tag der Implantation in das ehemalige Herzkatheterlabor der Kinderklinik transportiert und nach dem Eingriff wieder zurückgebracht. Es erfolgte zu jederzeit eine artgerechte, professionelle Tierpflege unter der Aufsicht von Herrn Prof. Dr. Schultheiß.

2.5.1 Der Operationssaal

Der Operationssaal, in denen die perkutanen Implantationen der experimentellen Herzchirurgie durchgeführt werden, befindet sich wie bereits erwähnt im früheren Herzkatheterlabor der universitären Kinderheilkunde, Schwanenweg 20, 24105 Kiel. Er ist ausgestattet mit einer Angiographie-Anlage des Typen Optimus M200 (Philips Healthcare, Medical Systems, Hamburg).

In Abbildung 14 ist der Versuchsaufbau vereinfacht dargestellt.

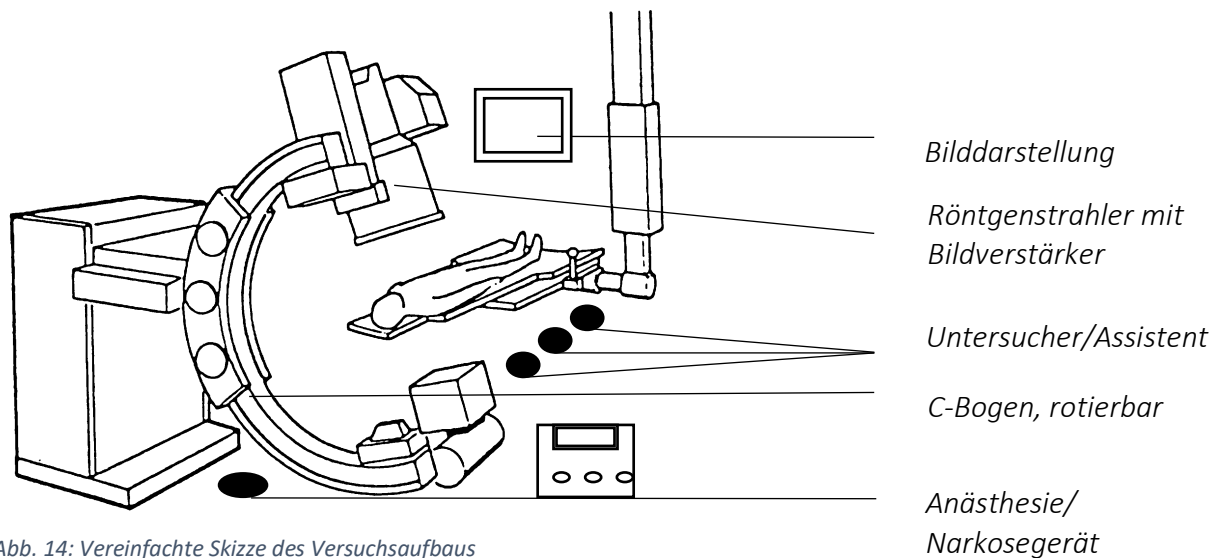


Abb. 14: Vereinfachte Skizze des Versuchsaufbaus

2.5.2 Die Versuchsdurchführung

Vor dem Transport in die Kinderklinik wurden die Tiere zunächst mit 10 mg/ kg KG Ketamin i.m. (Ketamin 10 %, Bremer Pharma GmbH, Warburg, Deutschland) und 0,1 mg/ kg KG Xylazin i.m. (Rompun, Bayer AG, Leverkusen, Deutschland) prämediziert. Es wurde präoperativ eine Nahrungskarenz von 12 Stunden eingehalten, Wasser durfte bei Bedarf getrunken werden. In den Versuchsräumen angekommen, wurde nach vorangegangener Desinfektion unverzüglich ein venöser Zugang am Ohr gelegt.

Nach pernasaler Präoxygenierung mit Sauerstoff für ca. drei Minuten wurde mit 6 mg/ kg KG Propofol i.v. (Propofol®-Lipuro 2 %, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) die Narkose eingeleitet und das Schaf auf die Behandlungsliege der Angiographieeinheit umgelagert. Unter laryngoskopischer Sicht fand daraufhin die Intubation statt (oro-trachealer Tubus mit Niederdruckcuff, Größe zwischen 6-7,5 I.D. = interner Diameter), der Tubus wurde entsprechend fixiert und die volumenkontrollierte maschinelle Beatmung gestartet. Man achtete hierbei auf möglichst physiologische Verhältnisse, dementsprechend wurden die Parameter je nach Tier individuell angepasst (\cong 6 L Atemminutenvolumen, 12-16 Atemfrequenzen pro Minute). Regelmäßige Blutgasanalysen dienten zur Beatmungskontrolle. Weiterhin wurde jedes Schaf mit einer Magensonde versorgt.

Die Aufrechterhaltung der Anästhesie erfolgte mittels kontinuierlicher Gabe von 7 mg/ kg/ h Propofol 2 % i.v. und 0,015 mg/ kg/ h Fentanyl i.v. (Fentanyl®-Janssen, Janssen-Cilag Pharma GmbH, Wien, Österreich), zusätzlich wurde auf eine ausreichende Volumensubstitution

mittels Ringerlösung geachtet. In Situationen der Kreislaufinstabilität griff man auf Hydroxy-Ethyl-Stärke (HAES, HAES-steril®, Fresenius Kabi AG, Bad Homburg vor der Höhe, Deutschland) zurück.

Als perioperative Antibiotikaphylaxe verabreichte man vor Implantationsbeginn 1500 mg Cefuroxim i.v. (Cefuroxim Fresenius 1500 mg Pulver, Fresenius Kabi G, Bad Homburg vor der Höhe, Deutschland).

Nach der Intubation wurden die Versuchstiere standardgemäß an das Monitoring angeschlossen, welches ein EKG zur Überwachung der Herzfrequenz und des Herzrhythmus und die Pulsoxymetrie zur Sauerstoffsättigungsableitung im Blut und Pulsfrequenzmessung umfassten.

Im Anschluss kam es zur korrekten Lagerung der Tiere auf der Behandlungsliege, so dass die Extremitäten so physiologisch wie möglich fixiert wurden und das Operationsgebiet vorbereitet werden konnte. Zunächst wurden beide Leistengegenden und der Brustkorb im Falle einer notfallmäßigen Thorakotomie geschoren, mit Propanol-Wasserstoffperoxid-Tinktur (Kodan® Tinktur forte farblos, Schülke & Mayer GmbH, Norderstedt, Deutschland) entfettet (Abb. 15), daraufhin chirurgisch desinfiziert und mit sterilen Operationstüchern abgedeckt.

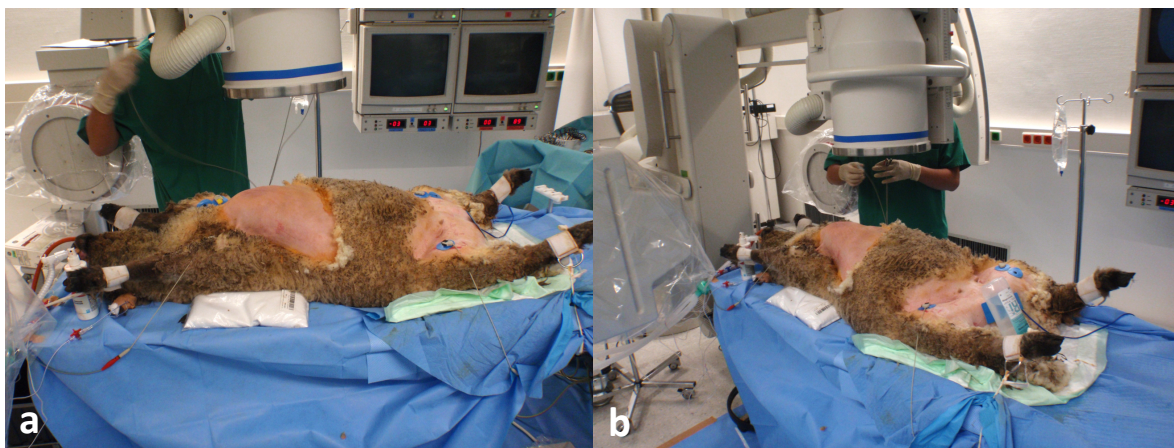


Abb. 15: (a) und (b): OP-Vorbereitungen

Nach entweder per Dopplergerät aufgesuchter oder manueller Lokalisation der linken Arteria femoralis punktierte der Operateur das Gefäß und führte eine 5 F-Schleuse (Terumo Medical Corporation, Somerset, NJ, USA) ein, über die eine kontinuierliche Blutdruckmessung abgeleitet wurde. Als Nächstes wurde in die linke Vena femoralis ein 7 F-Ballonkatheter (Arrow-Berman Angiography Catheter, Teleflex Medical, Limerick, PA, USA) und in gegebenen Fällen ein 5 F-Pigtail-Katheter (Expo® Angiographic Catheter, Boston Scientific, Natick, MA,

USA) eingeführt und unter fluoroskopischer Kontrolle in die entsprechenden Positionen vorgeschoben. Um vorgesehene Untersuchungen durchführen zu können, wurde eine Hochdruck-Injektionsspritzenpumpe zur Kontrastmittelgabe (IMERON®, Bracco Imaging Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland) verwendet.

Zur Stentimplantation wurde in die rechte Vena femoralis über eine 9 F-Schleuse ein supersteifer 0.035 Inch-Katheter (300 cm, Back-up Meier, Boston Scientific, Miami, FL, USA) eingeführt. Zeitgleich wurden 5000 I.E. Heparin (Heparin-Natrium-ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) intravenös appliziert, um einer Gerinnungsreaktion und Thrombenbildung bei Fremdkörperkontakt entgegenzuwirken. Anschließend wurden die 9F-Schleuse gegen eine 22 F-Schleuse (22-F Introducer Sheath, W. L. Gore & Associates Inc., Flagstaff, AZ, USA) ausgetauscht.

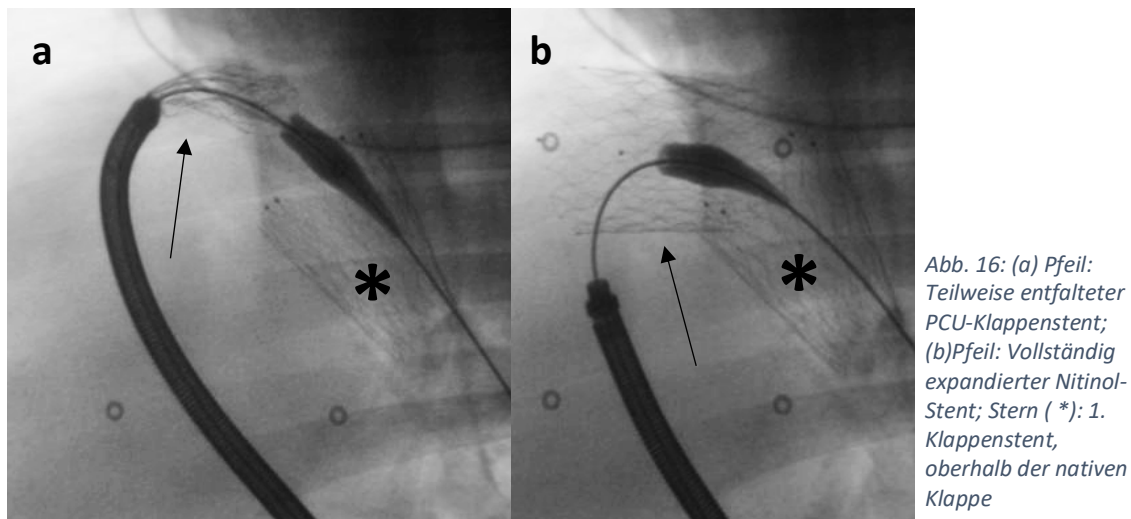
Um eine möglichst optimale Beladung der Applikationsvorrichtung mit der PCU-Klappe zu ermöglichen, wurde der Applikationskatheter reichlich mit steriler Kochsalzlösung gespült und die Herzklappenprothese einige Minuten in kaltem destilliertem Wasser gelagert. Danach wurde der Klappenstent manuell gleichmäßig längs eingefaltet bzw. komprimiert und in die Ladekammer des Applikationssystems platziert.

Dann wurde der mit der PCU-Klappe beladene Katheter über die 22 F-Schleuse und den zuvor gelegten Führungsdraht in die Vena femoralis eingebracht. Von dort aus wurde das System unter fluoroskopischer Sicht antegrad über die Vena iliofemoralis, Vena cava inferior bis zum rechten Vorhof vorgeschoben und vorsichtig die Trikuspidalklappe passiert. Dabei musste eine relativ steile Drehung erfolgen, um über den rechtsventrikulären Ausflusstrakt auf Höhe der nativen Pulmonalklappe zu gelangen.

Über Kontrastmittelgaben konnte die Lage des Applikationssystems in Bezug auf die native Klappe korrigiert bzw. optimiert werden. War die korrekte Position eingestellt, erfolgte unter Zurückziehen des Katheters und vorsichtiger Betätigung des Pushers der Abwurf des Stents. Nach röntgenologischer Kontrolle der Funktion der PCU-Klappe und Sicherstellung der vollständigen Entfaltung wurden der Implantationskatheter und der Führungsdraht langsam zurückgezogen.

Bei zweien der Versuchstiere (PU 14 + PU 15) verrutschte der erste Stent distal der nativen Pulmonalklappe in den Hauptstamm der Pulmonalarterie. Daraufhin wurde eine weitere Klappe implantiert, deren Sitz erstklassig war und die Versuche wurden nach sechs Monaten erfolgreich beendet (Abb. 16). Da die migrierten Stents keinerlei Auswirkung auf die

Hämodynamik und die Klappenfunktion des zweiten Implantierten Stents hatten, wurde sowohl PU 14 als auch PU 15 in der Studie behalten.



Die Heparinisierung wurde mittels der intravenösen Gabe von 5000 I.E. Protamin (Protamin VALEANT®, Meda Pharma GmbH & Co. KG, Bad Homburg vor der Höhe, Deutschland) aufgehoben und alle weiteren Katheter und Gefäßschleusen entfernt. Die Hautinzisionen in den Leisten sind mit Einzelknopfnähten verschlossen worden, deren Entfernung am zehnten postoperativen Tag erfolgte. Um eine Einblutung in die Leisten zu verhindern, wurde auf beide für 20-30 Minuten dauerhaft manuelle Kompression ausgeübt und anschließend sterile Verbände angebracht.

Sofern das Tier nach all jenen Maßnahmen kreislaufstabil war, beendete man die Narkose und vollzog unter gesicherter Spontanatmung und ausreichender Absaugung die Extubation. Noch in Sedierung transportierte man das Schaf sodann zurück in die Stallungen, wo es vorerst bis zum Erwachen in einer Einzelbox gehalten wurde.

2.5.3 Erhebung hämodynamischer Untersuchungsdaten

Während jedes Eingriffs erhob man vor und nach der Implantation und vor dem jeweiligen Versuchsende folgende angiographische Messwerte:

- Systolischer rechtsventrikulärer Druck (RV sys)
- Diastolischer rechtsventrikulärer Druck (RV dias)
- Enddiastolischer rechtsventrikulärer Druck (RV ED)

- Systolischer pulmonalarterieller Druck (PAP sys)
- Diastolischer pulmonalarterieller Druck (PAP dias)
- Mittlerer pulmonalarterieller Druck (PAP mean)
- Druckgradient über der Pulmonalklappe (ptpp gradient)
- Mittlerer arterieller Druck (MAP)

2.6 Echokardiographische Untersuchungen

Nach Einleiten der Narkose wurde eine erste transthorakale Echokardiographie (GE Vivid I, GE



Abb. 17: GE Vivid I, Echokardiographiegerät mit TTE-Sonde

Healthcare, General Electric Company, Chalfont St Giles, Buckinghamshire, GB) durchgeführt, bei welcher man den nativen Pulmonalklappen-Durchmesser ausgemessen hat. Weiterhin wurde die rechts- und die linksventrikuläre Herzfunktion visuell beurteilt.

Zu Nachsorgeuntersuchungen an definierten Zeitpunkten evaluierte man die orthotope Position des Nitinol-Stents, und prüfte die Prothesenfunktion auf

Insuffizienz, Stenose sowie paravalvuläre Leckagen. Ferner wurden die Dimensionen der linken Herzkammer gemessen, darüber die Ejektionsfraktion ermittelt und mit dem continuous-wave-Doppler (CW) Flussgeschwindigkeiten (v_{\max}/v_{mean}) und Druckgradienten (p_{\max}/p_{mean}) bestimmt. In der zweiten Gruppe erfolgten die Follow-Up-TTEs nach vier Wochen (PU 4) und acht Wochen (PU 7), in der dritten Gruppe nach zwölf Wochen.

2.7 Primäres Versuchsende

Nach Vollendung der jeweiligen Versuchszeiträume wurde die Tiere wie in Abschnitt 2.5.2 bereits beschrieben in die OP-Räumlichkeiten gebracht und in Narkose versetzt. Sobald die letzten angiographischen Messungen vollzogen wurden (Abschnitt 2.5.3), ist mittels intravenöser Gabe von 60 mmol Kaliumchlorid (KCL 7,45 % MPC Infusionslösung-Konzentrat, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) ein Herzstillstand induziert worden.

Anschließend wurde der Brustkorb eröffnet und das Herz zu makro- und mikroskopischen Untersuchungszwecken in toto nach anatomischer Vorgabe entnommen (Maier and Winkelmann, 2009).

Hierbei wurde zunächst der Herzbeutel (Perikard) T-förmig eröffnet und das Herz weitgehend stumpf freipräpariert. Dann erfolgte die Durchtrennung der herznahen Gefäße innerhalb des Perikards. Angefangen mit der Aorta und dem Truncus pulmonalis im Sinus transversus pericardii. Dabei wurde sichergestellt, die Pulmonalarterie oberhalb der implantierten PCU-Klappe abzutrennen (Abb. 18).

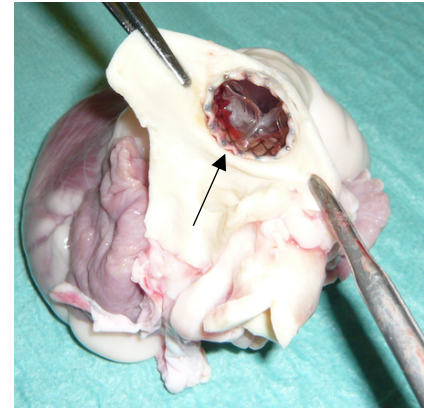


Abb. 18: Ansicht auf den Truncus pulmonalis von oben mit implantiertem PCU-Klappenstent (Pfeil)

Es folgte die Vena cava inferior und superior kurz vor der Einmündungsstelle in den rechten Vorhof und zuletzt die Venae pulmonales nach sachtem Anheben des Herzens, wobei darauf geachtet wurde, den linken Vorhof nicht zu verletzen (Abb. 19).

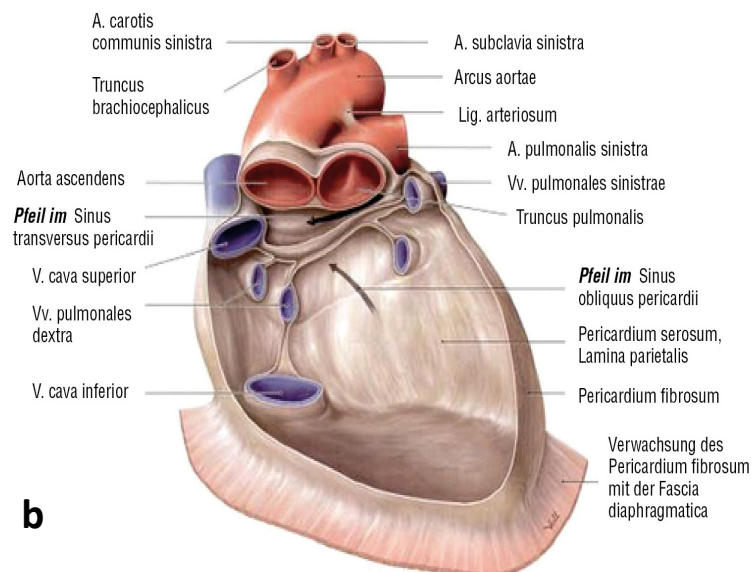
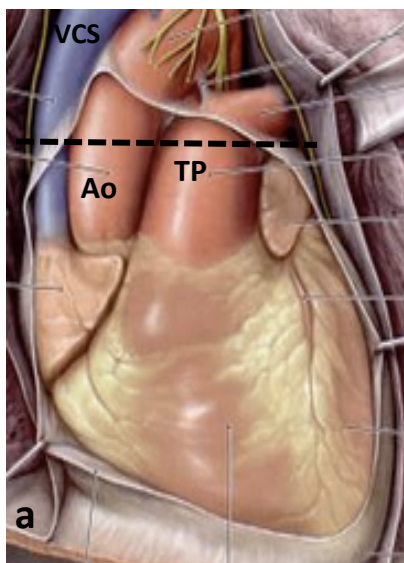


Abb. 19: (a) Ansicht des Herzens von ventral bei Eröffnung des Situs, schwarze, gestrichelte Linie markiert Sectionslinie bei Durchtrennung der Gefäße innerhalb des Herzbeutels, Pulmonalvenen und V. cava inf. nicht zu sehen; (b) Ansicht in die Perikardhöhle ohne Herz (Schünke et al., 2018)

VCS: Vena cava superior; Ao: Aorta; TP: Truncus pulmonalis

2.8 Post mortem Analyse

Die entnommenen Herzen der jeweiligen Versuchstiere wurden im Anschluss an die Explantation eingehend makroskopisch untersucht und fotografiert. Hierbei betrachtete man

zunächst das Herz als Ganzes. Primäres Augenmerk lag auf dem Truncus pulmonalis und des implantierten PCU-Klappenstents (Abb. 20a). Es wurde geprüft, ob sie orthotop positioniert, komplett entfaltet und die Klappensegel beschädigt waren. Hierfür eröffnete der Untersucher zunächst den Truncus von distal und später die rechte Kammer, um die Prothese vom rechten Ventrikel aus zu begutachten (Abb. 20b). Die übrigen kardialen Strukturen wurden auf Katheter-induzierten Schaden inspiziert und der Stent vom umliegenden Gewebe befreit (Abb. 20c), welches ebenso genauer unter die Lupe genommen wurde, um durch den Nitinol-Stent ausgelösten Verletzungen zu detektieren.

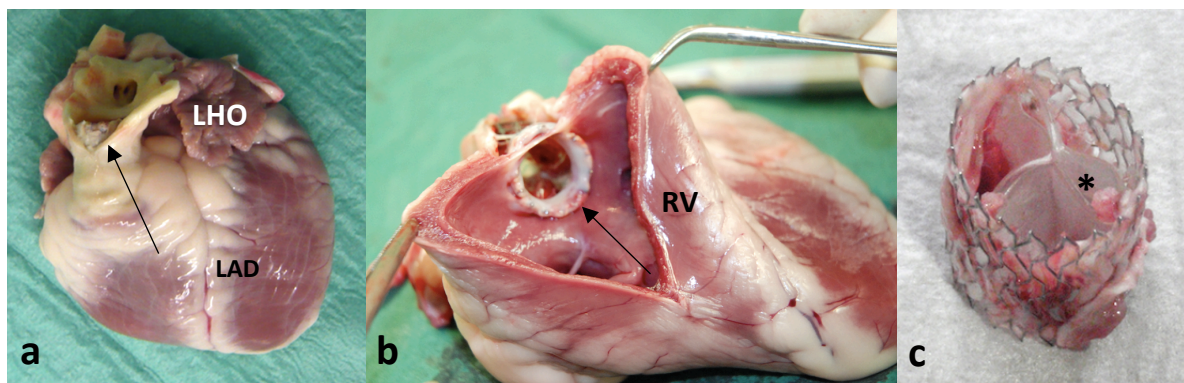


Abb. 20: (a) Herz, Ansicht von der Seite, Pfeil: Nitinol-Stent; (b) Ansicht vom RV aus auf die Prothese (Pfeil); (c) explantierter PCU-Klappenstent; Stern (*): eines der Taschensegel

LAD: left anterior descending (linke vordere Koronararterie); LHO: linkes Herzohr; RV: rechter Ventrikel

2.9 Histologie

Zur mikroskopischen Evaluierung wurden während der post mortem Analyse aus dem Stentbett der PCU-Klappe Gewebeproben entnommen und diese im Verlauf durch verschiedene Färbemethoden auf Verkalkung, Bindegewebsverhalten und Immunreaktionen wie nachfolgend beschrieben, untersucht. Die Proben der neun Versuchsschafe wurden mit einer sogenannten Positivkontrolle eines Tiers ohne Stentimplantation verglichen.

Das Stentbett beschreibt hierbei das umliegende Gewebe, in welchem sich die PCU-Prothese nach Selbstentfaltung verankert (Abb. 21).

Die jeweiligen Exzisionsproben bewahrte man bis zur Einbettung mit Paraffin in 4 %-Formalinlösung (Formaldehyde solution, J. T. Baker, Avantor Performance Materials B.V., Deventer, Niederlande) auf. Nach dem Einbettungsverfahren wurden aus den zuvor auf einer Kühlplatte (Tissue Cool Plate COP 20, Firm medite, Burgdorf) gelagerten Paraffinblöcken

mittels Mikrotom (RM 2155, Leica Microsystems, Nussloch GmbH, Nussloch) 5 µm dünne Schnitte hergestellt.

Nach Anbringen dieser Schnitte auf gebräuchlichen Objektträgern (Objektträger SuperFrost®, Ultra Plus, 75 x 25 mm, Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland) lagerte man das Ganze für mindestens zwölf Stunden in einem Wärmeschrank (Memmert GmbH & Co. KG, Schwabach, Deutschland) bei 37°C. Nach diesem Verfahren konnten die histologischen Färbungen durchgeführt werden.

Alle durchgeführten histologischen und immunhistochemischen Gewebefärbungen erfolgten gemäß den vorgeschriebenen

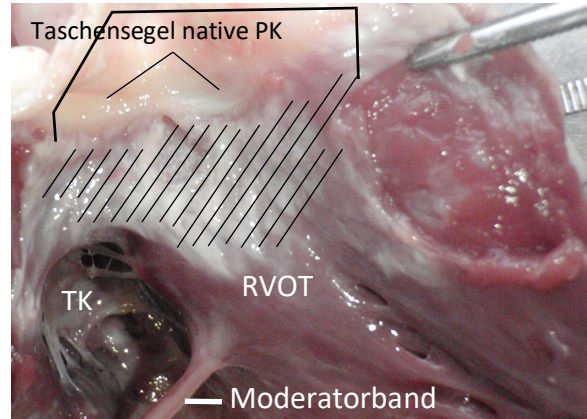


Abb. 21: eröffneter rechter Ventrikel, schraffierte Fläche und Bereich unter der schwarzen Linie: Stentbett; TK: Trikuspidalklappe; RVOT: rechtsventr. Ausflusstrakt

Sicherheitsstandards im Labor der experimentellen Herzchirurgie in der Arnold-Heller-Straße 3, Haus 17 in 24105 Kiel.

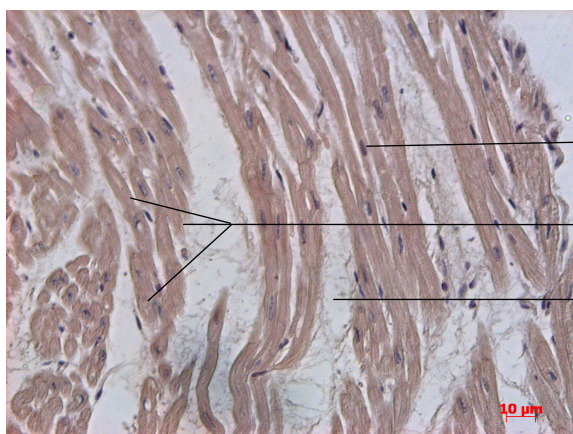
2.9.1 Hämatoxylin-Eosin Färbung

Die Hämatoxylin-Eosin-Färbung ist weltweit die Standardmethode, die als Übersichtsfärbung verwendet wird. Das Hämatoxylin selbst ist ein Naturfarbstoff, der aus dem roten Kernholz des in Mittelamerika und Westindien vorkommenden Campechebaumes (*Haematoxylon campechianum*) gewonnen wird. Durch seine Oxidation (Reifung) entsteht hierbei der eigentlich wirksame Farbstoff, das Hämatein. Das Hämatein selbst jedoch ist praktisch gesehen für die Histologie nicht von Bedeutung, da es schwach positiv geladen ist und der isoelektrische Punkt bei einem pH von 6,5 liegt. Erst durch den Zusatz von Alaunsalzen bilden sich Hämatoxylin- bzw. Hämateinlacke, die wiederum stark positive Ladung tragen und sich so hervorragend zur progressiven Färbung von sauren Strukturen anbieten.

Bei diesem Färbeverfahren ist das Ziel eine Übersicht über das gesamte Gewebe, die Kern-Plasma-Relation und die Zellverteilung zu erreichen. Es werden im Wesentlichen die Zellkerne und weiterhin Gefüge, in denen ein saurer pH vorherrscht, typisch blau angefärbt. Dazu gehören Kalkeinschlüsse, Muzin, Bakterien, Ergastoplasma und saure Grundsubstanzen sowie einige Sekretkörner (Riedelsheimer and Büchl-Zimmermann, 2015).

Eosin ist chemisch Tetrabrom-Fluorescein und gehört zu den Xanthenfarbstoffen. Er färbt Kollagenfasern, Cytoplasma, Erythrozyten und Bindegewebe kräftig rot. Zellkernstrukturen werden ebenfalls eingefärbt. Durch die vorherige Reaktion des Gewebes mit Hämätein entsteht so die typische rot-violette Färbung (Abb. 22).

Die aus dem Brutschrank kommenden formalinfixierten Paraffin-gebetteten Gewebeschnitte (FFPE), müssen zunächst vor der Färbung entparaffiniert und in ein wässriges Medium gebracht werden (Rehydratation), da der Großteil der Farbstoffe nur in wässriger oder alkoholischer Lösung ihren Zweck erfüllen. Zum Entparaffinieren wird in der Routinehistologie in der Regel Xylol (Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland) verwendet, in welchem die Objektträger jeweils für 3 x 5-10 Minuten verweilen müssen. Die Rehydratation kommt durch die absteigende Alkoholreihe zustande. Angefangen von 100 % Alkohol (Ethanol, 100 % vergällt 642, BÜFA Chemikalien GmbH & Co. KG, Hude-Altmoorhausen, Deutschland), über 96 %, 80 %, 70 % Ethanol bis hin zum destillierten Wasser (Aquadest) für jeweils zwei bis fünf Minuten. Hiernach erfolgt die Kernfärbung in Mayers Hämalaunlösung (Hämalaunlösung sauer nach Meyer für die Mikroskopie, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) für zehn Minuten, Spülen in Aquadest und Bläuen unter fließendem Leitungswasser für weitere fünf Minuten. Damit ändert sich nicht nur die Farbe, sondern auch mit dem pH-Wert die Löslichkeit des Hämalauns, das im neutralen und alkalischen Bereich schlecht wasserlöslich ist. Das führt dazu, dass durch das Bläuen auch die Fixierung der Schnitte resultiert. Die Plasmafärbung wird mittels 1%igen Eosin (Eosin G-Lösung 1 % wässrig für die Mikroskopie, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) für zwei Minuten durchgeführt. Abschließend wird die aufsteigende Alkoholreihe (Dehydratation, 70 %-, 80 %-, 90 %-, 2x100 % Alkohol für je 2-5 Minuten) und das Klären in Xylol vollzogen und die Präparate mit



*angeschnittener Zellkern einer
glatten Muskelzelle*

glatte Muskelzelle

lockeres Bindegewebe

Abb. 22: H.E.-Färbung Stentbett, Vergrößerung: 32x

Deckgläschen (Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland/ Eukitt® quick-kardening mounting medium for microscopy, Fluka® Analytics, Sigma-Aldrich® Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland) eingedeckt (Lang, 2006a).

2.9.2 Elastika-van-Gieson Färbung

Diese Färbemethode gehört zu der Gruppe der Trichromfärbungen und wird zur Darstellung von Bindegewebe, Kollagenfibrillen und zur Differenzierung von Muskel- und Epithelgewebe verwendet. Der Name ergibt sich dadurch, dass drei verschiedene Farbstoffe gebraucht werden. Im Vergleich zur H.-E.-Färbung sind alle Farbstoffe negativ geladen.

Um die Komponenten des elastischen Fasersystems im Stentbett darzustellen, empfiehlt es sich, das Elastika-van-Gieson (E.v.G.) Verfahren anzuwenden. Hierbei werden zum Anfärben Resorcin-Fuchsin-Lösung, Eisenhämatoxylin nach Weigert zur Kernfärbung und Pikrinsäure-Thiazinrot benutzt. Im Ergebnis sind die Zellkerne schwarzblau bis schwarzbraun, die elastischen Fasern schwarzviolett, Muskulatur und Cytoplasma gelb, sowie Kollagen rot koloriert (Abb. 23) (Riedelsheimer and Büchl-Zimmermann, 2015).

Zunächst erfolgt das Entparaffinieren in Xylol und die absteigende Ethanolreihe wie in Abschnitt 2.9.1 beschrieben. Nachdem die Schnitte für 20-30 Minuten mit Resorcin-Fuchsin-Lösung (Resorcin-Fuchsin-Lösung für die Mikroskopie, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) gefärbt wurden, muss das Reagenz danach gründlich im fließenden Leitungswasser abgespült werden. Als nächster Schritt taucht man die Objektträger kurz in destilliertes Wasser und unterzieht sie nachfolgend einer mikroskopischen Kontrolle, um sicherzugehen, dass sich die elastischen Fasern dunkelrot auf violetterem Hintergrund darstellen.

Die Eisenhämatoxylinfärbung nach Weigert (Eisen-Haematoxylin B nach Weigert, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland) wird für 2-3 Minuten angeschlossen, gefolgt von

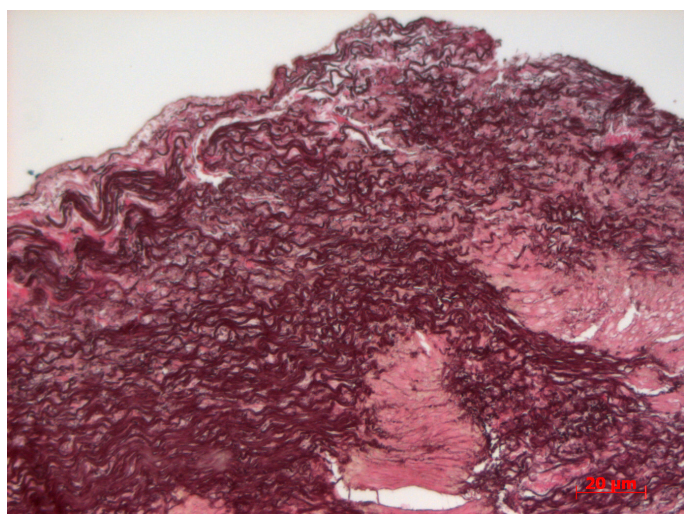


Abb. 23: E.v.G-Färbung des Stentbetts, Vergrößerung: 10x, schwarzviolette elastische Fasern deutlich zu erkennen

Abspülen in Aquadest und fließendem Leitungswasser für weitere 10 Minuten. Zuletzt wird Pikrinsäure-Thiazinrot (Pikrinsäure-Lösung, Fluka Chemie AG, Neu-Ulm, Deutschland/

Thiazinrot R, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland) für minimal zwei und maximal fünf Minuten angewendet, welches durch ein kurzes Bad in destilliertem Wasser, 70%igem Alkohol und zwei Portionen 96%igem Ethanol gereinigt wird. Zum Abschluss werden die Dehydratation und das Klären in Xylol durchgeführt und die Objektträger eingedeckt.

2.9.3 Movat-Pentachrom-Färbung

Henry Zoltan Movat entwickelte im Jahre 1955 diese histochemisch polychromatische Färbung (Movat, 1955). Durch dieses Verfahren sind eine Darstellung und Differenzierung vieler zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten möglich. Sie dient zur Übersicht der Verteilung des Bindegewebes. Die Zellkerne präsentieren sich blauschwarz, das Zytoplasma rötlich, die elastischen Fasern und muskuläres Gewebe rot, Kollagen hellgelb und Bindegewebe in unterschiedlichen Blau- und Grüntönen (Abb. 24) (Torzewski, 2015).

Wie in 2.9.1 beschrieben beginnt man, die Schnitte standardgemäß zu entparaffinieren und rehydrieren. Mit der Verwendung von Alcainblau (Alcainblau 8 GS für die Mikroskopie, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) für zehn Minuten, werden saure Glykoproteine im Gewebe gefärbt. Vor und nach der fünfminütigen Stabilisation der Färbung in alkalischem Alkohol (10 ml Ammoniak auf 90 ml 96%iges Ethanol) werden die Objektträger unter fließendem Leitungswasser für jeweils fünf Minuten abgespült. Nach einem kurzen Eintauchen in Aquadest beizt man als nächstes die Zellkerne in Weigerts Eisenhämatoxylin (Abschnitt 2.9.2). Es folgt der Brillant-Crocein-Säurefuchsin-Farbstoff (Brilliantcroceine R, Waldeck GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland) für zehn Minuten, kurzes Stippen in 0,5%iger Essigsäure (Essigsäure 99-100 %, glacial, J. T. Baker, Avantor Performance Materials B.V.,

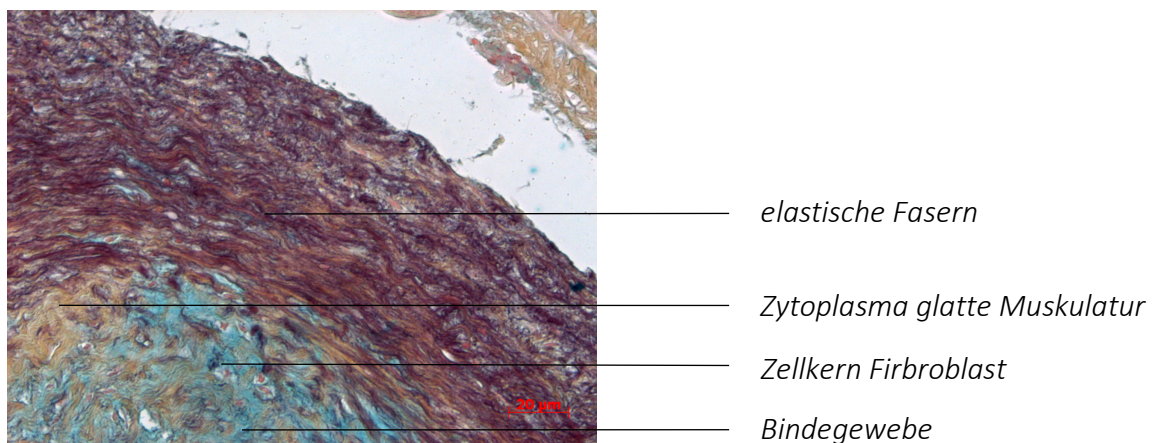


Abb. 24: M.P.-Färbung des Stentbetts, Vergrößerung: 32x; farbenprächtige Darstellung unterschiedlicher Gewebetypen

Deventer, Niederlanden) und 20-minütiges Differenzieren in Phosphormolybdänsäure (Phosphomolybdic Acid, SIGMA®, Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland). Hiernach werden die Schnitte 3 x 5 Minuten in 100%igem Ethanol eingebracht und es schließt sich die vierte Färbung für eine Stunde mit Safran du Gatinais (Safran Du Gatinais, Diagonal GmbH & Co. KG, Münster, Deutschland) an. Vor dem Eindecken spült und entwässert man die Objektträger noch 3x3 Minuten in 100%igen Alkohol und klärt sie 2x5 Minuten in Xylol.

2.9.4 Versilberung nach Kossa

Die Degeneration und Verkalkung von insbesondere biologisch eingesetzten Herzklappen und die damit verbundene begrenzte Lebensdauer der Bioprothesen spielen auf dem Gebiet des Herzklappenersatzes eine wichtige Rolle. Vor allem bei Kindern kommt es aufgrund verschiedener mechanischer und metabolischer Ursachen, wie zum Beispiel eines wachstumsbedingten erhöhten Calciumstoffwechsels, zu frühen Klappenverkalkung (de Vive, 1983).

Um in unserer Studie der frühen Verkalkung auf den Grund zu gehen, wurde die Versilberungsmethode nach Kossa angewendet. Mit dieser ist es möglich, pathologische Ablagerungen von Kalziumkarbonat bzw. -phosphat nachzuweisen. Hierbei wird das Calcium gegen Silberionen ausgetauscht und zu metallischem Silber reduziert. Verkalktes Gewebe erscheint schwarzbraun bis tiefschwarz (Abb. 25). Für die Kernfärbung wird Kernechtrot als Gegenfärbung eingesetzt (Lang, 2006a).

Es ist darauf zu achten bei dieser Methode keine Metallinstrumente zu verwenden, da diese die Färbereaktion beeinflussen können. Zunächst entplastet man die Schnitte in Xylol

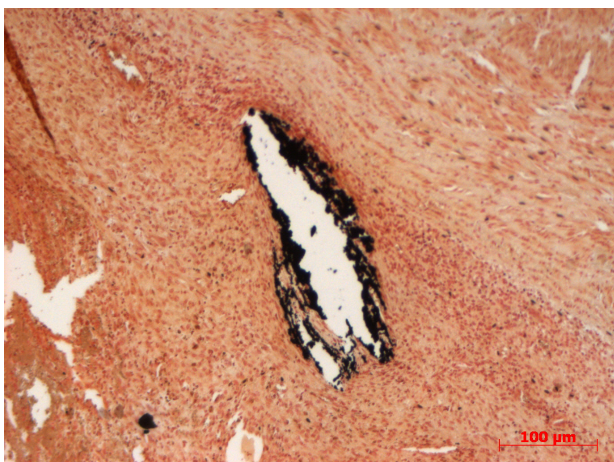


Abb. 25: Versilberung des Stentbetts nach Kossa, Vergrößerung: 10x; verkalktes Areal in der Mitte des Bildes (tiefschwarz gefärbt)

(Abschnitt 2.9.1) und führt sie einer 5%igen Silbernitratlösung (Ensure® Silbernitrat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) für 30-60 Minuten zu. Am besten man wählt einen hellen, fensternahen Ort für diesen Vorgang, da durch starke Lichteinwirkung die Reduktion der Silberionen zu metallischem Silber verstärkt wird. Nach dem Spülen in drei Portionen Aquadest, werden die Schnitte mit 5%igem

Natriumthiosulfat (Natriumthiosulfat wasserfrei, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) innerhalb von fünf Minuten fixiert, das bedeutet, dass nicht reduziertes Silber entfernt wird. Bevor man die 10-15-minütige Gegenfärbung mit Kernechtrot (Kernechtrot-Aluminiumsulfatlösung für die Mikroskopie, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) durchführt, bewässert man die Objektträger noch gründlich für 5-15 Minuten in Leitungswasser und spült sie hinterher mit destilliertem Wasser. Abschließend erfolgen die aufsteigende Ethanolreihe, Xylol und das Eindecken.

2.10 Immunhistochemie

Das Prinzip der Immunhistologie beruht auf der Antikörper-Markierung bestimmter Eiweiße, die in speziellen Zellen vorkommen bzw. von diesen exprimiert werden und dient vor allem der morphologischen Diagnostik. Jede Zellart lässt sich durch spezifische Proteine charakterisieren. Unterscheidungsmerkmale gewisser Immunzellen (Lymphozyten) sind zum Beispiel je nach Aktivierungsgrad die sogenannten CD-Marker (Cluster of Differentiation) an der Zellmembran. Durch die Bindung dieser Proteine an Antikörper und das Anfärben dieser Antigen-Antikörperkomplexe werden sie sichtbar gemacht.

Die verwendeten Antikörper werden spezifisch gewonnen und stammen von gesunden Tieren (z.B. Mäuse, Kaninchen, Ziegen), in die vorher das später nachzuweisende Substrat injiziert worden ist.

Man unterscheidet die direkte und indirekte Immunmarkierung. Welche dieser beiden Techniken ausgewählt wird, hängt unter anderem vom Gewebe, der Fragestellung und der Präparationshandhabung ab.

Die in diesem Fall angewandte Methode beruht auf dem indirekten Verfahren. Bei diesem werden zwei Antikörper genutzt und es wird der Sekundärantikörper, der an den Primärantikörper bindet, angefärbt. Dabei stellt man den Sekundärantikörper in einem anderen als das für den Primärantikörper verwendete Tier her, um diese Reaktion erzeugen zu können (Mulisch, 2015a).

Da Antikörper nichts anderes als Proteine sind, die ebenso durch den pH-Wert in der vorliegenden Lösung beeinflussbar sind wie alle anderen Eiweiße im Körper, bedient man sich zur Optimierung des Reaktionsmilieus an Pufferlösungen. PBS (phosphate-buffered-saline) und Citratpuffer sind in den weiter unten aufgeführten Färbungen die Flüssigkeiten der Wahl.

Um die indirekte Immunmarkierung sichtbar zu machen, braucht man einerseits weitere Moleküle, die chemisch binden. Am Häufigsten werden daher zum Kennzeichnen von Antikörpern Enzyme eingesetzt, die üblicherweise zu mehreren an ein Antikörpermolekül binden. Andererseits setzt man ferner ein sogenanntes Chromogen ein, welches das Enzym zu einem farbigen, stabilen Endprodukt umsetzen kann. Die Meerrettichperoxidase (horseradish peroxidase, HRP) ist mit dem gebräuchlichsten Chromogen DAB (Diaminobenzidin-tetrahydrochlorid) die hierfür zumeist verwendete Kombination. Die HRP kann ihrerseits große Mengen an DAB zu einem stabilen Farbstoff umsetzen, bis letztlich ein Reaktionsgleichgewicht eingetroffen ist (Lang, 2006b).

Die Gegenfärbung zur Kontrastierung der übrigen Strukturen und vor allem der Zellkerne erfolgt mit Meyers Hämalan.

Als Ergebnis erhält man ein unlösliches, braunes Endprodukt am Ort des vorhandenen Antigens. Die übrigen Strukturen erscheinen violett- bis dunkelblau (Abb. 19).

Im Folgenden werden die immunhistochemischen Färbungen gegen CD3, CD20, CD45, CD68 und Prokollagen III näher beschrieben. Zu jeder spezifischen Färbung wurde ein Schnitt einer speziellen Gewebeart als Positivkontrolle, auf der die entsprechenden Zellen in jedem Fall vorhanden sind (z.B. Lymphknoten, Thymus, Haut) mitgefärbt. Da sich all die Protokolle dieser Verfahren nur durch die eingesetzten Antikörper unterscheiden, ist die Methode der CD3 Färbung ausführlich erläutert. Bei den übrigen Vorgehensweisen wird lediglich ein kurzer Überblick über die Funktion und den eingesetzten Antikörper gegeben.

2.10.1 CD3-Färbung

Das CD3-Antigen ist eines von vielen Proteinkomplexen der Cluster of Differentiation-Oberflächenantigene, das auf allen T-Zellen des Immunsystems exprimiert wird. Bindet der T-Zell-Rezeptor (TCR) und eine weitere Komponente, die zeta-Kette, an dieses Antigen, führt es zur T-Lymphozytenaktivierung. Dieses Protein kann sowohl bei der einfachen Entzündungsreaktion als auch bei der Erkennung unreifer T-Zell-Lymphome als diagnostischer Marker dienen (van Dongen et al., 1988).

Zunächst ist es wichtig für die entsprechenden immunologischen Färbungen, die Schnitte sorgfältig zu entparaffinieren und die absteigende Alkoholreihe inklusive Spülen in Aquadest durchzuführen (Abschnitt 2.9.1). Dann kommen die Objektträger in eine mit Citratpuffer (Citronensäure-Monohydrat, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland/ Natriumhydroxid $\geq 99\%$,

Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland; pH 6,0; 2,1 g/l) versehene Küvette, welche für 3x5 Minuten in der Mikrowelle erhitzt wird. Bei Überkochen muss die Pufferlösung aufgefüllt werden. Nach Eintauchen in destilliertes Wasser folgt für zehn Minuten die Hinzugabe von 3%iger Peroxidase (10 ml Wasserstoffperoxid 30 %, Otto Fischar® GmbH & Co. KG, Saarbrücken, Deutschland in 90 ml Methanol, Methanol techn. (mind. 99,5 %), Th. Geyer GmbH & Co. KG, Renningen, Deutschland) bei Raumtemperatur. Im nächsten Schritt klärt man kurz jeden Objektträger in Aquadest, zieht dann mit einem Fettstift (Dako Pen Markierstift, Dako Deutschland GmbH, Hamburg) eine doppelte Umrandung um den jeweiligen Schnitt und saugt vorsichtig die Restflüssigkeit mit Cellulosepapier auf, ohne die Gewebsschnitte zu beschädigen. Es wird eine feuchte Kammer vorbereitet, die Präparate hineingelegt und mit 10%igen Ziegenserum (Goat serum, sterile filtered, PAN™-Biotech GmbH, Aidenbach, Deutschland) in PBS (Kaliumhydrogenphosphat z.A., ISO, Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland/ Di-Natriumhydrogenphosphat Dihydrat, ≥ 98 %, Carl Roth GmbH & Co. KG, Karlsruhe, Deutschland) für eine Stunde inkubiert. Das Serum wird abgekippt und der erste monoklonale Antikörper (Hase, 1:100 in PBS, pro Schnitt ca. 100 μ l; Rb Anti-CD3 (SP7) MAb, Spring Bioscience, Pleasanton, CA, USA) angesetzt und über Nacht bei 4°C in der feuchten Kammer gelagert.

Am nächsten Tag wäscht man die Objektträger 3 x 5 Minuten in PBS, legt sie zurück in die Feuchtkammer und trägt unverdünnt den zweiten Antikörper (N-Histofine®, Simple Stain MAX PO (MULTI), Universal Immuno-preoxidase Polymer, Anti-Mouse and Anti-Rabbit, Nichirei Biosciences INC. Tokyo, Japan) nach Absaugen der überschüssigen PBS-Lösung auf. Die Einwirkdauer beträgt dieses Mal 45 Minuten und man wiederholt hiernach das 3 x 5-minütige

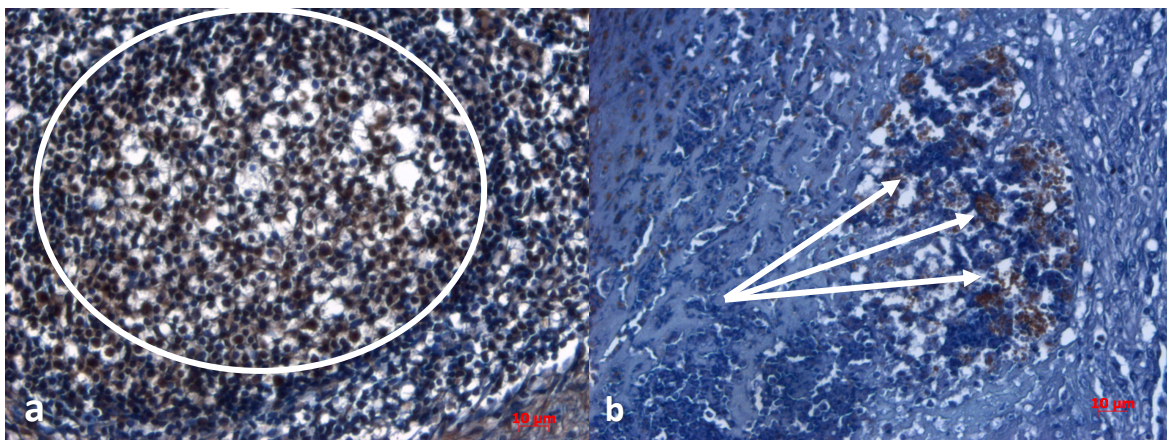


Abb. 26: CD3-Färbung (a) Positivkontrolle Tonsille, braun gefärbte T-Zellen innerhalb des weißen Kreises; Vergrößerung: 32x; (b) Stentbett: einige braun angefärbte T-Zellen (Pfeile), restliches Gewebe imponiert blau; Vergrößerung: 32x

Spülen in PBS. Das Chromogen-Substrat Reagenz DAB (N-Histofine® DAB-3S kit, Peroxidase Chromogen/ Substrate solution, Nichirei Biosciences INC., Tokyo, Japan) kann nun pipettiert werden und sollte 10-20 Minuten im Feuchtbiotop wirken. Erneute dreimalige PBS-Waschung für je fünf Minuten und die Gegenfärbung mit Meyers Hämalaun für 2-5 Minuten, anschließendes zehnminütiges Bläuen unter fließendem Leitungswasser. Den Abschluss der Färbung bildet die aufsteigende Alkoholreihe, das Klären mit Xylol und das Bestücken mit Deckgläschen (Abschnitt 2.9.1).

2.10.2 CD20-Färbung

B-Lymphozyten des Immunsystems tragen allesamt das CD20 Antigen auf ihrer Oberfläche. Bereits auf den Vorläuferzellen findet sich dieses Markerprotein, dessen Anteil mit zunehmender Reifung zur Plasmazelle ansteigt. CD20 besitzt keinen natürlichen Liganden und spielt eine Rolle bei der T-Zell unabhängigen Immunantwort und der B-Zell-Interaktion untereinander (Tedder et al., 1988). Insbesondere bei B-Zell-Lymphomen und Leukämien wird es unter anderem als höchst sensitives Charakteristikum für die Diagnostik genutzt und monoklonale CD20 Antikörper zur Therapie eingesetzt (Adams et al., 2009). Jedoch auch bei chronisch entzündlichem Geschehen und Autoimmunerkrankungen wie der rheumatoiden Arthritis haben CD20 positive B-Lymphozyten eine wichtige Bedeutung (Korhonen and Moilanen, 2010). Diesen Aspekt bedenkend, haben wir das Gewebe auf CD20 untersucht, um herauszufinden, ob sich nach der Implantation der Stents möglicherweise eine chronische Entzündungsreaktion entwickelt.

Das Färbeprotokoll ist unter Abschnitt 2.10.1 detailliert beschrieben. Die für diesen Zweck herangezogenen Antikörper waren zum einen der CD20-Anti-Maus Antikörper (BioPrime CD20 (L26), BioLogo, Kronshagen) und das N-Histofine® (N-Histofine®, Simple Stain MAX PO (MULTI), Universal Immuno-preoxidase Polymer, Anti-Mouse and Anti-Rabbit, Nichirei Biosciences INC. Tokyo, Japan).

2.10.3 CD45-Färbung

Die Rezeptor-Typ Tyrosin-Proteinphosphatase C (PTPRC), auch als CD45 oder Leucocyte Common Antigen (LCA) bezeichnet, ist auf sämtlichen kernhaltigen Zellen des hämatopoetischen Systems ausgebildet. Es ist an der Differenzierung, Aktivierung, Alterung und Apoptose eben dieser Zellen, z. B. T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, Monozyten,

Plasmazellen, beteiligt (Earl and Baum, 2008) und steht oftmals mit dem Multiplen Myelom enger in Verbindung (Kumar et al., 2005). Die CD45 Färbung gibt Aufschluss darüber, ob eine Einwanderung von Immunzellen in das untersuchte Gebiet stattgefunden hat.

Als erster Antikörper kam hierbei der Anti-CD45 aus der Maus (BioPrime CD45, Leucocyte Common Antigen, BioLogo, Kronshagen) zum Einsatz, gefolgt von dem Universal-Sekundärreagenz, N-Histofine® (N-Histofine®, Simple Stain MAX PO (MULTI), Universal Immuno-preoxidase Polymer, Anti-Mouse and Anti-Rabbit, Nichirei Biosciences INC. Tokyo, Japan).

2.10.4 CD68-Färbung

Macrosialin, ein Synonym für das Oberflächenprotein CD68, ist ein Zellanheftungsmolekül, welches von Makrophagen und monozytären Phagozyten ausgebildet wird. Klassischerweise wird es als zytochemischer Marker verwendet, um in der Immunhistologie entzündliche Vorgänge, Tumorgeschehen oder andere pathologische Abläufe zu detektieren und zu verstehen. In geringen Maßen kommt CD68 auch auf nicht hämatopoetischen Zellen (z.B. Epithelzellen, Fibroblasten) vor und kann in manchen Fällen nur in Kombination mit anderen Oberflächenproteinen eindeutig zugeordnet werden (Chistiakov et al., 2017)

In erster Linie war in diesem Fall von Interesse, ein Bild über das Vorhandensein CD68 positiver Zellen in unseren Gewebeschnitten zu gewinnen und anhand der übrigen Färbungen weiteren Einblick über den Charakter dieser Vorkommnisse zu erhalten.

Appliziert wurde zunächst ein Anti-CD68-Makrophagen-Maus-Antikörper (Bioprime CD68, Macrophages, Mouse IgG3, k, BioLogo, Kronshagen), gefolgt von dem Universal-Sekundärreagenz, welches bereits in den vorherigen Immunfärbungen verwendet wurde.

2.10.5 Prokollagen III-Färbung

Die extrazelluläre kardiale Matrix besteht aus einem Netzwerk, das aus Elastin, Fibroblasten, Glykosaminoglykanen, Glykoproteinen, Plasmazellen, Kollagensubtyp I und III aufgebaut ist (Weber et al., 1989). Das Kollagen III setzt sich vornehmlich aus mittleren und dünnen Fasern zusammen, die für die Elastizität jener Strukturen von Bedeutung sind (Lapiere et al., 1977, Parry, 1988). Prokollagen ist hierbei die Vorstufe, die zur selben Menge Kollagen umgewandelt wird. Kollagen wird von Fibroblasten produziert, die als Regulatoren von Umbauprozessen und Remodeling extrazellulärer Matrix gelten, wobei eine vermehrte Kollagenproduktion in einer

Fibrose und einem daraus resultierenden verminderten Anpassungsvermögen an die vorherrschenden physiologischen Umstände münden kann (Eghbali et al., 1991). Im Rahmen von Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen kann zudem im Rahmen der Wundheilung vermehrt Kollagen exprimiert werden (Anderson, 2001).

Das Ziel dieser Färbung war es, die Existenz von Kollagen III im untersuchten Material zu überblicken und diese in den richtigen Kontext zu setzen.

Anti-Collagene III vom Hasen (Anti-Collagen III antibody, ab7778, Abcam pic., Cambridge, Großbritannien) wurde als Primärantikörper eingesetzt, passend dazu kam N-Histofine® zum Einsatz.

2.11 Vorbereitung zur Rasterelektronenmikroskopie

Die Rasterelektronenmikroskopie (REM) oder auch SEM (scanning electron microscopy) genannt, besitzt im Vergleich zur Lichtmikroskopie eine hohe Tiefenschärfe und eine Auflösung von 0,1 µm bis einige Millimeter. So können natürliche oder künstliche Oberflächen sehr genau dargestellt werden (Mulisch, 2015b). Mittels Immunogoldmarkierung ist es ebenso möglich, Moleküle auf den untersuchten Flächen zu orten und analysieren (Goldstein et al., 2003).

In Zusammenarbeit mit der Abteilung für funktionelle Morphologie und Biomechanik des Zoologischen Instituts der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Stanislav N. Gorb (Am Botanischen Garten 9, 24118 Kiel), wurden im Rahmen dieser Betrachtung exemplarisch drei PCU-Klappen rasterelektronenmikroskopisch begutachtet. Gegenstand dieser Testungen war die Oberflächenstruktur einer nativen PCU-Klappe im Vergleich zur Zelladhäsion nach statischer und dynamischer Besiedlung der Prothesen in Zusammenhang mit der Erprobung von PCU als Gerüstmaterial hinsichtlich des Tissue-Engineerings.

Da Ziel und Fragestellung dieser Arbeit jedoch wie im Abschnitt 1.5 beschrieben auf anderen Schwerpunkten liegen, sind hier ausschließlich die zur Vervollständigung des Themas dienenden Gesichtspunkte ausgeführt und lediglich ein grober Umriss der Methoden beschrieben.

Für die Besiedlung wurden die PCU-klappentragenden Stents mehrfach mit einer PBS-Lösung (PAA Laboratoris GmbH, Pasching, Österreich) gespült und 15 Minuten lang in Povidon-Iod

Lösung (Mundipharma GmbH, Limburg/ Lahn, Deutschland) gelegt. Anschließend folgte die Inkubation mit einer Standard-Antibiotikamischung (1,2 mg Amikacin, 3 mg Fluxytosin, 1,2 mg Vancomycin, 0,3 mg Ciprofloxacin, 1,2 mg Metronidazol und 1 ml aqua ad injectionem) für weitere 48 Stunden bei 4°C.

Aus mittels Beckenkammponktion gewonnenem Knochenmark wurden CD133+ Zellen über spezielle Verfahren, Reagenzien und abschließend einer Dichtegradientenzentrifugation gewonnen, welche sodann in ein Loch einer 96 Lochplatte mit dem M199 Nährmedium (Biochrom GmbH, Berlin, Deutschland) und weiteren Substraten aufgetragen wurden.

Die dynamische Zellkultivierung der Prothese fand über einen eigens entworfenen und von Herrn Mück modifizierten Bioreaktor (Fa. JEN.meditec GmbH, Jena, Deutschland) (Abb. 20) statt, der über die Erzeugung einer unidirektionalen, pulsatilen Strömung (80 mmHg, 1 Hz) physiologische Kreislaufverhältnisse simuliert und in welchem die PCU-Klappe nach dreitägiger Zell-Kultivierung für 16 Tage bei konstanten Umgebungsbedingungen (37°C, 5 % CO₂) bebrütet wurde. Hiernach wurde sie nochmals für weitere drei Tage erneut besiedelt.

Für die statische Zell-Kolonisation wurde die Pulmonalklappenprothese für sechs Tage in unterschiedlichen Trypsin-Suspensionen, über unterschiedliche Arbeitsweisen bei 37°C, zuweilen auf einem Rüttler, ausgesetzt und so mit den CD133+ Zellen kultiviert.

Um die drei Proben für die rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen herzustellen,



Abb. 27: Bioreaktor für dynamische Zellkultivierung (a) Bedienfeld und Steuerelement (Pfeile); (b) Bioreaktor mit Einspannvorrichtung (Stern)

wurden die PCU-Klappen zunächst über eine aufsteigende Alkoholreihe dehydriert und anschließend der Kritischen-Punkt-Trocknung zugeführt, um somit die Oberflächenspannung so gering wie möglich zu halten bzw. gänzlich zu vermeiden. In einem Sputter-Coater wurden die Proben mit einer elektrischen leitenden Gold-

Palladium-Beschichtung (ca. 10 nm) versehen, um die Zellen auf diese Weise besser erkennbar zu machen.

Zur Begutachtung diene ein Hitachi S-4800 Rasterelektronenmikroskop (Hitachi Ltd. Corporation, Chiyoda, Tokio, Japan). Die Aufnahmen wurden zusammen mit Herrn Achim Oesert aus der Abteilung für funktionelle Morphologie und Biomechanik angefertigt.

2.12 Statistik

Die in dieser Arbeit angewendeten statistischen Auswertungen beinhalten Mittelwerte, Standardabweichungen, Standardfehler, den Median, die Spannweite im Sinne von Maximum und Minimum und den t-Test, um Mittelwertunterschiede auf Signifikanz zu prüfen. Die Berechnungen, Tabellen und Grafiken wurden mit Hilfe von MS Excel (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA) erstellt.

3 Ergebnisse

In diesem Abschnitt werden nun die Ergebnisse der erhobenen Untersuchungen der Reihe nach präsentiert. Es wurden insgesamt neun Versuchstiere je nach Überlebensdauer in drei Gruppen geteilt und diese miteinander verglichen. Es sind vor allem Tiere mit sehr gutem Implantationsergebnis einbezogen worden. Die aus Tabelle 6 (S. 25) hervorgehenden Tiere wurden in diesem Fall nicht weiter berücksichtigt, wobei der Grund für den verfrühten Todeseintritt durch eine Obduktion zu analysieren war.

Zudem wurde jedes Tier einzeln untersucht. Tabelle 3 bietet eine Übersicht der Schafe, die genauer begutachtet wurden. Ursprünglich war geplant, dass die zweite Gruppe über einen Zeitraum von zwölf Wochen beobachtet werden soll, ein Schaf verstarb jedoch nach 64 Tagen (PU 7) und ein weiteres wurde am 26. Tag (PU 5) aufgrund von nicht in Griff zu kriechenden, klinisch desolatem Zustand euthanasiert. Da die Herzen und die Klappen postmortal bedingt beeinträchtigt erschienen, sind die Tiere PU 5 und PU 7 nicht aus dem Versuch ausgeschlossen worden. So ergab sich eine mittlere Überlebensdauer von $58 \pm 29,5$ Tagen (Tab. 5.2, Anhang). Nachdem bei PU 14 und PU 15 der erste implantierte Klappenstent kurz nach der Entfaltung in die distale Pulmonalarterie gewandert ist, wurde eine zweite Klappe in orthotoper Position eingesetzt. Die Versuche hierzu wurden nach 202 und 153 Tagen beendet.

	Schaf	Gewicht	Überlebensdauer	Stentgröße
Gruppe 1	PU 1	40,0 kg	28 Tage	22 mm
	PU 2	36,0 kg	26 Tage	22 mm
	PU 3	32,0 kg	34 Tage	22 mm
Gruppe 2	PU 4	35,0 kg	84 Tage	20 mm
	PU 5	34,9 kg	26 Tage	20 mm
	PU 7	38,5 kg	64 Tage	20 mm
Gruppe 3	PU 12	38,5 kg	189 Tage	22-26 mm
	PU 14	50,6 kg	202 Tage	22-26 mm (2x)
	PU 15	48,6 kg	153 Tage	22-26 mm (2x)

Tab. 7: Versuchstiereinteilung in drei Gruppen

Insgesamt verliefen die Implantationen überwiegend unproblematisch. Während der Entfaltung der Stents traten häufiger kurzfristig Herzrhythmusstörungen auf, welche mit Beendigung der Katheter-Manipulation wieder verschwanden. In allen Versuchstieren wurde spätestens nach dem zweiten Anlauf (PU 14, PU 15) eine gute PCU-Klappenposition erreicht. Die Resultate nach einem und sechs Monaten unterschieden sich erheblich von den Drei-Monatstieren. Auffallend waren die Schwierigkeiten, die bei den Tieren der zweiten Gruppe auftraten. PU 7 verstarb vorzeitig, PU 5 wurde verfrüht nach 26 Tagen aus dem Versuch genommen und bereits bei der Explantationsangiographie war sichtbar, dass das Bild fast starrer, nicht öffnender Segel mit den Symptomen (Fieber, reduzierter Allgemeinzustand) des Tieres im Sinne einer Endokarditis übereinstimmte (Abb. 28b). Ähnliches bot auch die Abschlussangiographie des regulär nach 84 Tagen aus dem Versuch genommenem PU 4, wobei es klinisch keinerlei Symptome aufzeigte.

Repräsentativ ist auf der Abbildung 28 je eine Aufnahme eines der Tiere aus der ersten, zweiten und dritten Gruppe zu sehen. Innerhalb des Kreises kann man bei genauer Betrachtung die korrekte Lage des Nitinol-Stents erkennen. Die Angiographie zeigt auf Abb. 28a eine einwandfreie Klappenfunktion, was man daran erkennt, dass das Kontrastmittel (schwarz) die kardialen Strukturen alle ausfüllt. Wie schon erwähnt, ist auf Abb. 28b nur ein kleiner Jet zu erfassen, die Klappensegel sind nicht scharf abgrenzbar und wirken weitgehend unbeweglich. In der Abb. 28c imponiert, dass die Klappenöffnung mühelos abläuft und sich keinerlei Unregelmäßigkeiten zeigen.

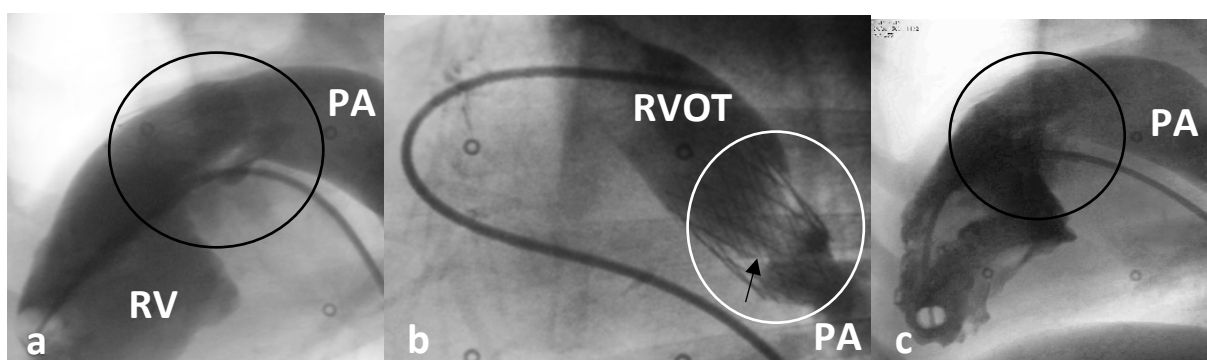


Abb.28: Angiographie-Aufnahmen während der Explantation (a) PU 2: Nitinol-Stent innerhalb des Kreises zu erkennen, native Pulmonalklappe überdeckt; (b) PU 5: PCU-Prothese orthotop (Kreis), jedoch kaum Auswurf (Pfeil) in der Systole sichtbar, starre Klappensegel; (c) PU 12: erhaltene Funktion der PCU-Klappe (Kreis); RVOT: rechtsventrikulärer Ausflusstrakt; PA: Pulmonalarterie; RV: rechter Ventrikel

3.1 Angiographische Messungen

Wie unter Abschnitt 2.5.3 beschrieben, wurden während der angiographischen Eingriffe hämodynamische Daten erhoben. Im Folgenden werden zunächst gruppenspezifisch diese Werte dargestellt, miteinander verglichen sowie in ihrer Gesamtheit erörtert. Es wurde der Mittelwert kalkuliert, der Median, das Maximum und Minimum bestimmt und die Standardabweichung (SD) bzw. in einigen Fällen der Standardfehler (SE) des Mittelwertes kalkuliert.

Bei einigen wenigen Messungen kam es aufgrund technischer Probleme zu einzelnen unwiderruflichen Datenverlusten.

3.1.1 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 1, Präimplantation

In der ersten Gruppe ergab die Berechnung des Mittelwertes des rechtsventrikulären Drucks vor der Klappenimplantation 23,2/ 5,3/ 11,5 mmHg (systolisch/ diastolisch/ enddiastolisch) mit einem errechneten Standardfehler (SE) von $\pm 4,5/ 2,4/ 1,4$ mmHg (sys/ dias/ ED). Die Spannweite des systolischen RV-Drucks belief sich von 14,7 mmHg minimal bis 30mmHg maximal, der Median betrug 25 mmHg.

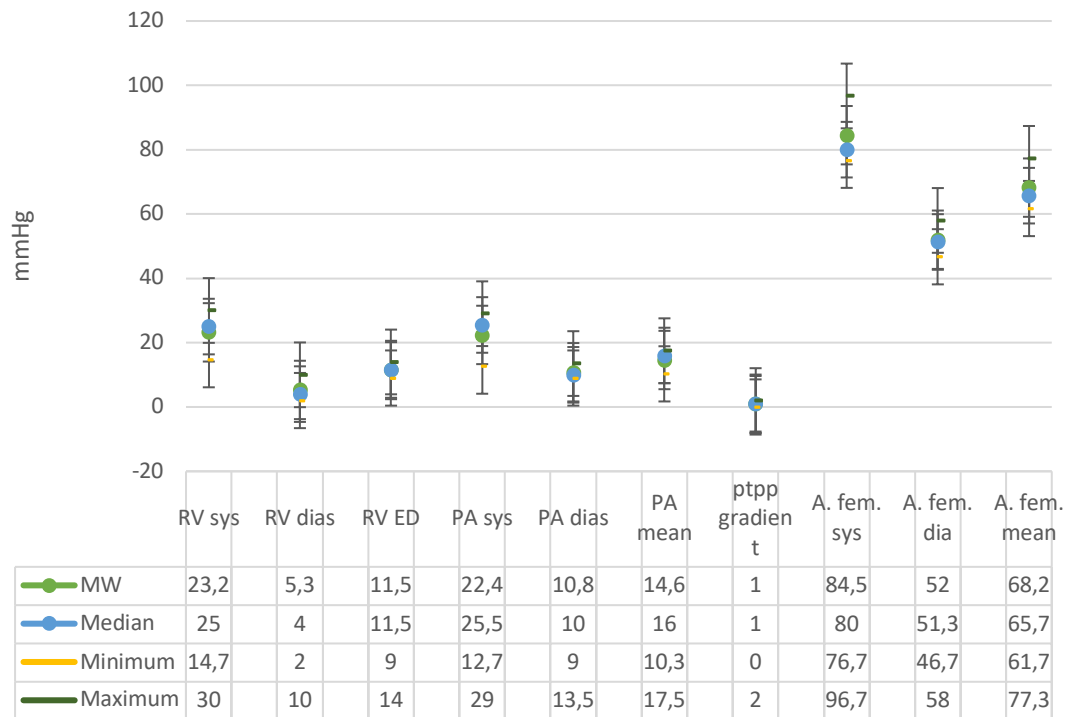
Der pulmonalarterielle Druck betrug 22,4/ 10,8/ 14,6 mmHg $\pm 5,9/ 1,4/ 2,2$ mmHg (sys/ dias/ mean), die Maxima 29/ 13,5/ 17,5 mmHg (sys/ dias/ mean) und die Minima 12,7/ 9,0/ 10,3 mmHg (sys/ dias/ mean).

Einer der Werte, auf dem mitunter das größte Augenmerk lag, da dieser ab einem gewissen Grenzwert auf eine Obstruktion hindeutet, war der Spitzendruck (peak-to-peak pressure gradient, ptpg gradient) über der Pulmonalklappe. Bei den Versuchstieren PU 1 bis PU 3 wurden im Mittel $1,0 \pm 0,6$ mmHg gemessen. Der maximale Wert hierbei war 2 mmHg bei PU 3, der minimale Wert 0 mmHg bei PU 1 und der Median 1,0 mmHg bei PU 1.

Den systemischen arteriellen Blutdruck betrachtend lag dieser bei 84,5/ 52,0/ 68,2 mmHg $\pm 6,2/ 3,3/ 4,7$ mmHg (sys/ dias/ mean), wobei die systolische Spitze 96,7 mmHg, das diastolische Minimum 46,7 mmHg und der mittlere arterielle Druck im Median 65,7 mmHg ausmachten.

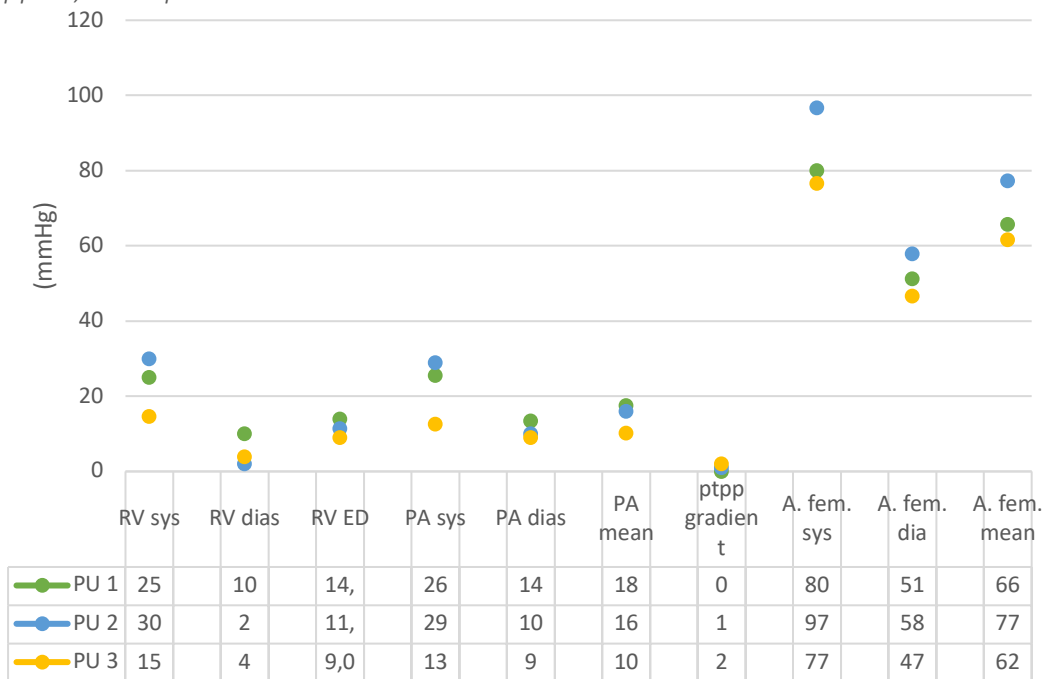
Die vollständigen Messungen der Versuchstiere im Einzelnen und deren Mittelwerte sind bildlich wie numerisch aus den Grafiken 1 und 2 zu entnehmen, bzw. im Anhang ab Tabelle 17.1a auf Seite 157.

Gruppe 1, Präimplantation, gemittelt



Grafik 1: Mittelwerte/SF/Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 1, Präimplantation

Gruppe 1, Präimplantation



Grafik 2: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 1, Präimplantation

3.1.2 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 2, Präimplantation

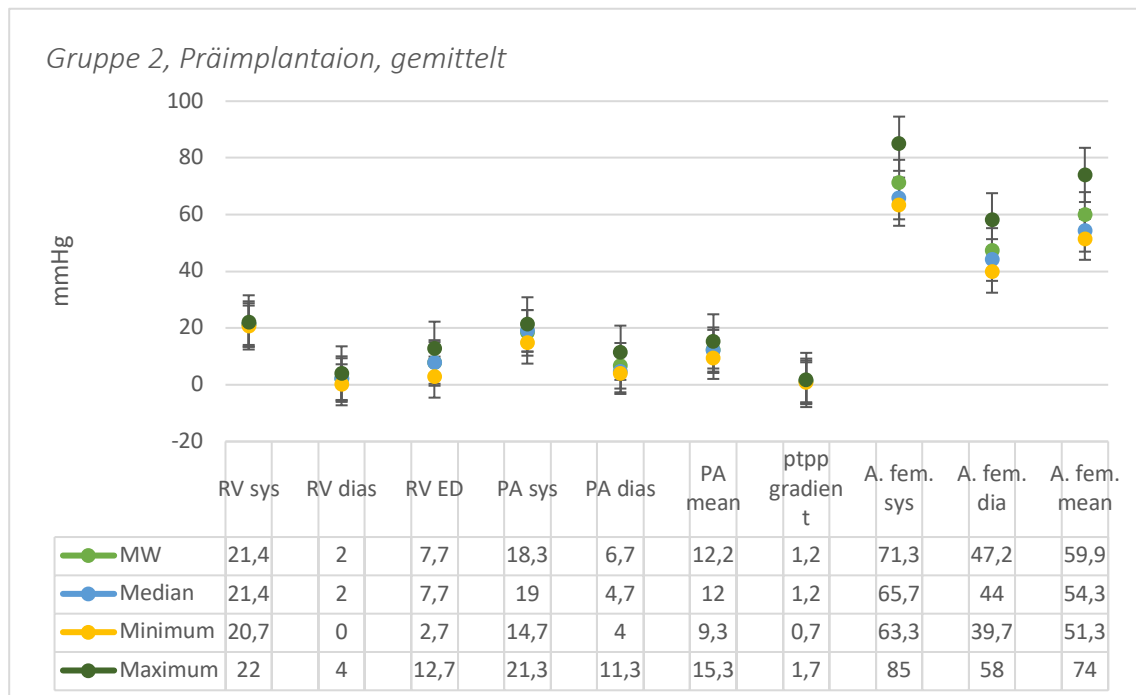
Die Graphik 3 zeigt unter anderem die Mittelwerte aller Tiere der zweiten Gruppe und die dazugehörigen Parameter, die die Spannweite definieren direkt vor dem Einsetzen der Prothese. Der rechtsventrikuläre Druck betrug 21,4/ 2,0/ 7,7 mmHg \pm 0,7/ 2,0/ 5,0 mmHg (sys/ dias/ ED). Da es bei PU 5, wie zuvor bereits erwähnt, zu unerwarteten Datenverlusten kam, setzen sich diese Werte aus PU 4 und PU 7 zusammen. Das systolische Maximum wurde mit 22 mmHg, das Minimum mit 20,7 mmHg und der Median mit 21,4 mmHg eingeordnet.

Pulmonalarteriell wurden Druckwerte von 18,3/ 6,7/ 12,2 \pm 1,9/ 2,3/ 1,7 mmHg (sys/ dias/ mean) ermittelt. Die Maxima stellen 21,3/ 11,3/ 15,3 mmHg (sys/ dias/ mean), die Minima 14,7/ 4,0/ 9,3 mmHg (sys/dias/ mean) dar.

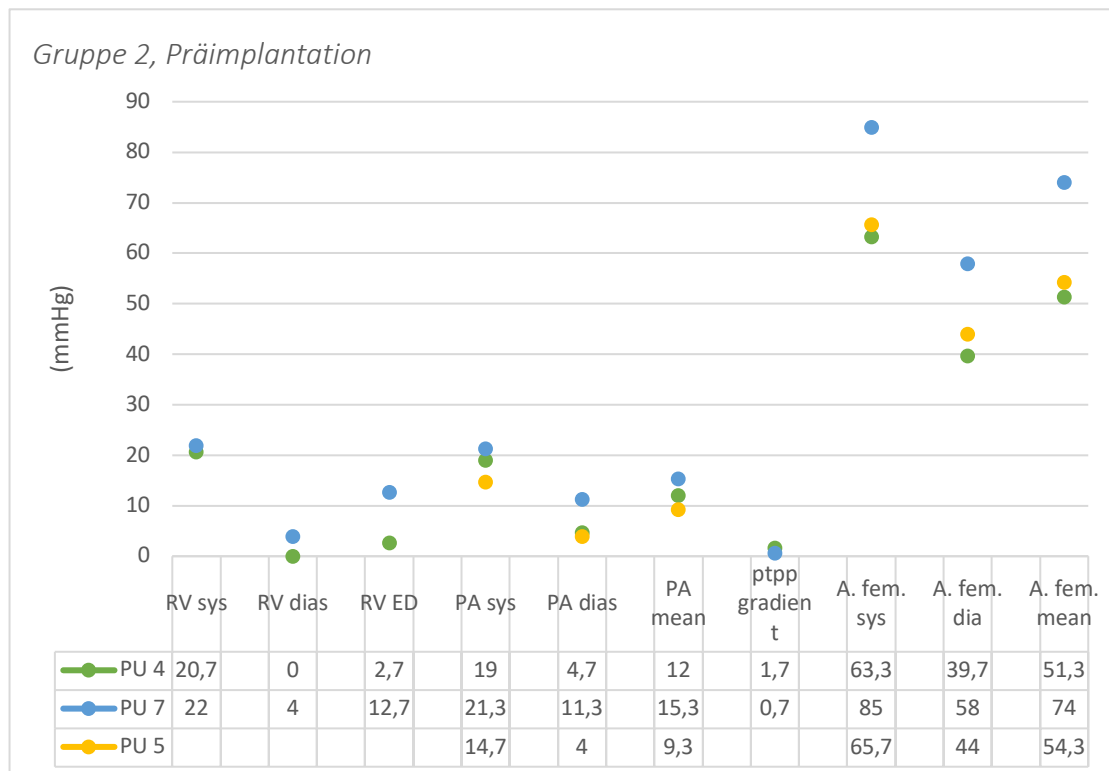
Der peak-to-peak Druckgradient setzte sich ebenso wie der RV-Druck aus den Werten der Tiere PU 4 und PU 7 zusammen und belief sich auf 1,2 \pm 0,5 mmHg (MW \pm SE), indes lag das Maximum bei PU 4 mit 1,7 mmHg und bei PU 7 das Minimum mit 0,7mmHg.

Aus der arteriellen Blutdruckmessung sind 71,3/ 47,2/ 59,9 \pm 6,9/ 5,5/ 7,1 mmHg (sys/ dias/ mean) hervorgegangen. Systolischen Höchstwert bot PU 7 mit 85,0 mmHg, diastolischen Mindestwert PU 4 mit 39,7 mmHg und den MAP im Median PU 5 mit 58,0 mmHg.

Weitere Einzeltier-Mittel- bzw. Messwerte sind auf Grafik 4 und im Anhang ab Tabelle 17.4a abgebildet (S. 161).



Grafik 3: Mittelwerte/ SE/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 2, Präimplantation



Grafik 4: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 2, Präimplantation

3.1.2 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 3, Präimplantation

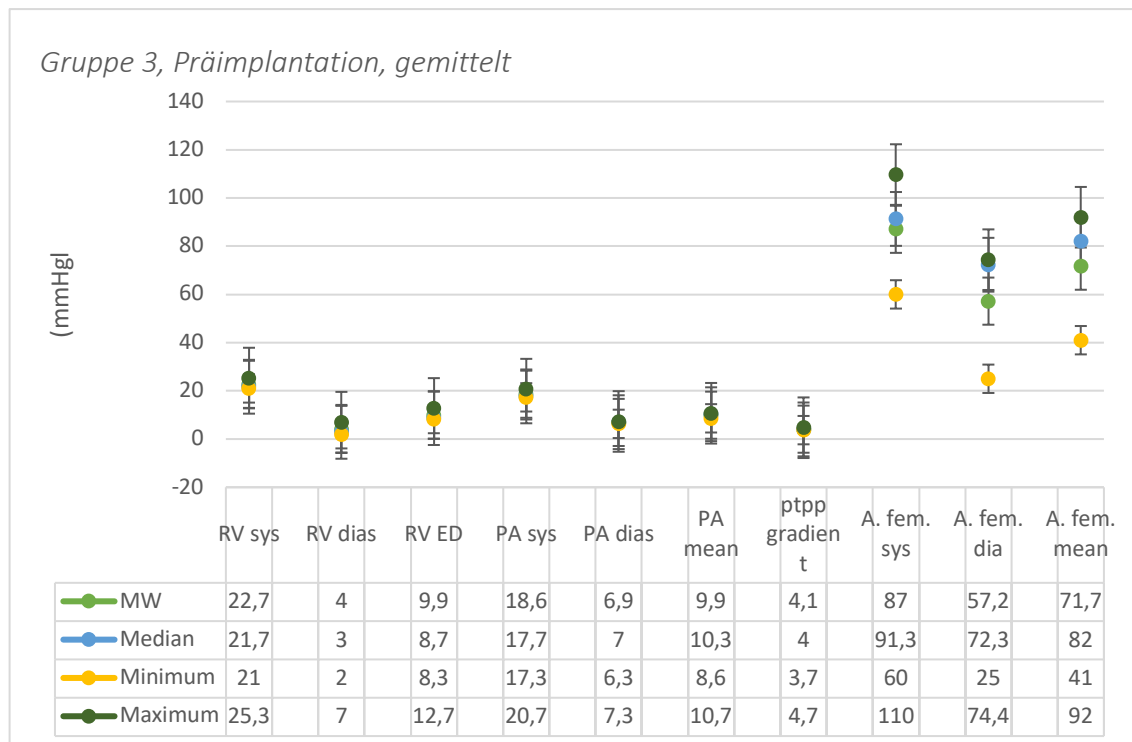
Der rechtsventrikuläre Druck in der dritten Gruppe entsprach präimplantatorisch 22,7/ 4,0/ 9,9 ± 1,3/ 1,5/ 1,4 mmHg (sys/ dias/ ED). Die systolische Spanne wurde nach oben hin von 25,3 mmHg, nach unten hin von 21,0 mmHg begrenzt, der Median zählte 21,7 mmHg.

Bei den pulmonalarteriell gemessenen Drücken traten Minima von 17,3/ 6,3/ 8,6 mmHg (sys/ dias/ mean) und Maxima von 20,7/ 7,3/ 10,7 mmHg (sys/ dias/ mean) hervor. Mittelwerte ± Standardfehler betrugen 18,9/ 6,9/ 9,9 ± 1,1/ 0,3/ 0,6 mmHg (sys/ dias/ mean).

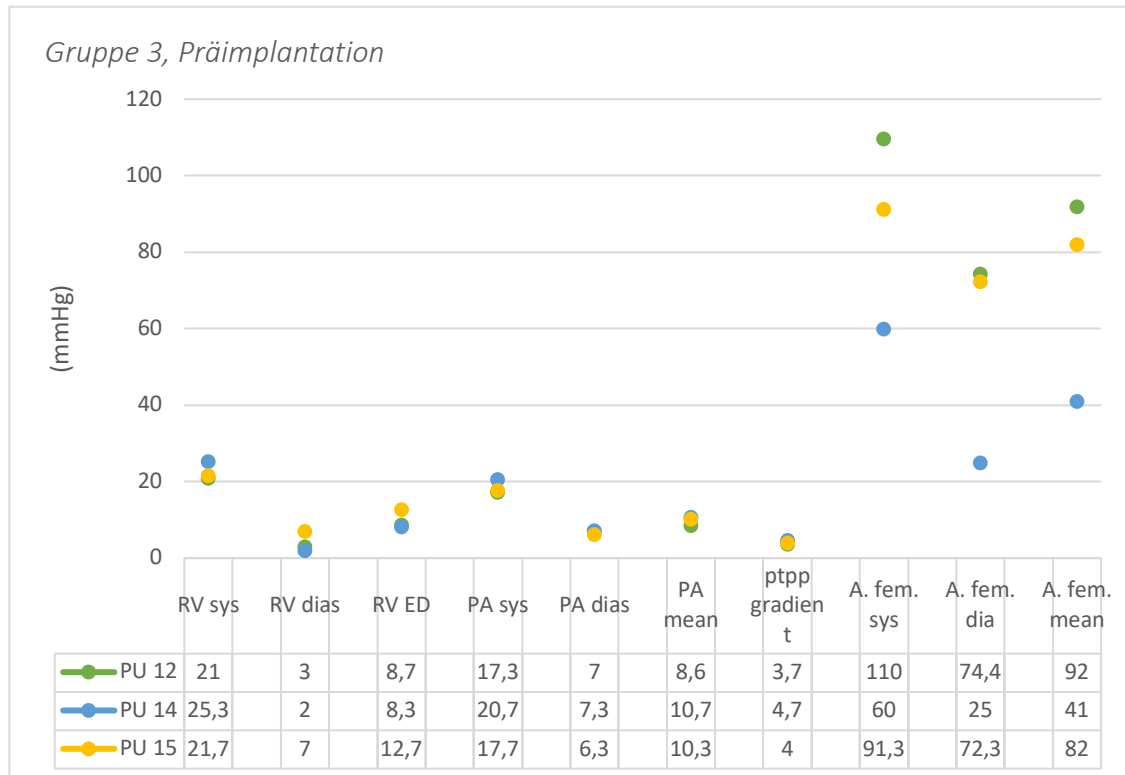
Als Gradient über der Klappe wurde 4,1 ± 0,3 mmHg erhoben. Der niedrigste Wert lag hier bei 3,7 mmHg, der höchste bei 4,7 mmHg und der Median bei 4 mmHg.

Systemische Blutdrücke ergaben 87,0/ 57,2/ 71,7 ± 14,5/ 16,1/ 15,6 mmHg (sys/ dias/ mean), mit einem absoluten diastolischen Minimum von 25 mmHg, einem systolischen Maximum von 109,7 mmHg und dem medianen mittleren arteriellen Druck von 82 mmHg.

Genauere Messparameter sind den Grafiken 5 und 6 sowie im Anhang ab Seite 165 (Tabelle 17.7a) zu entnehmen.



Grafik 5: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 3, Präimplantation



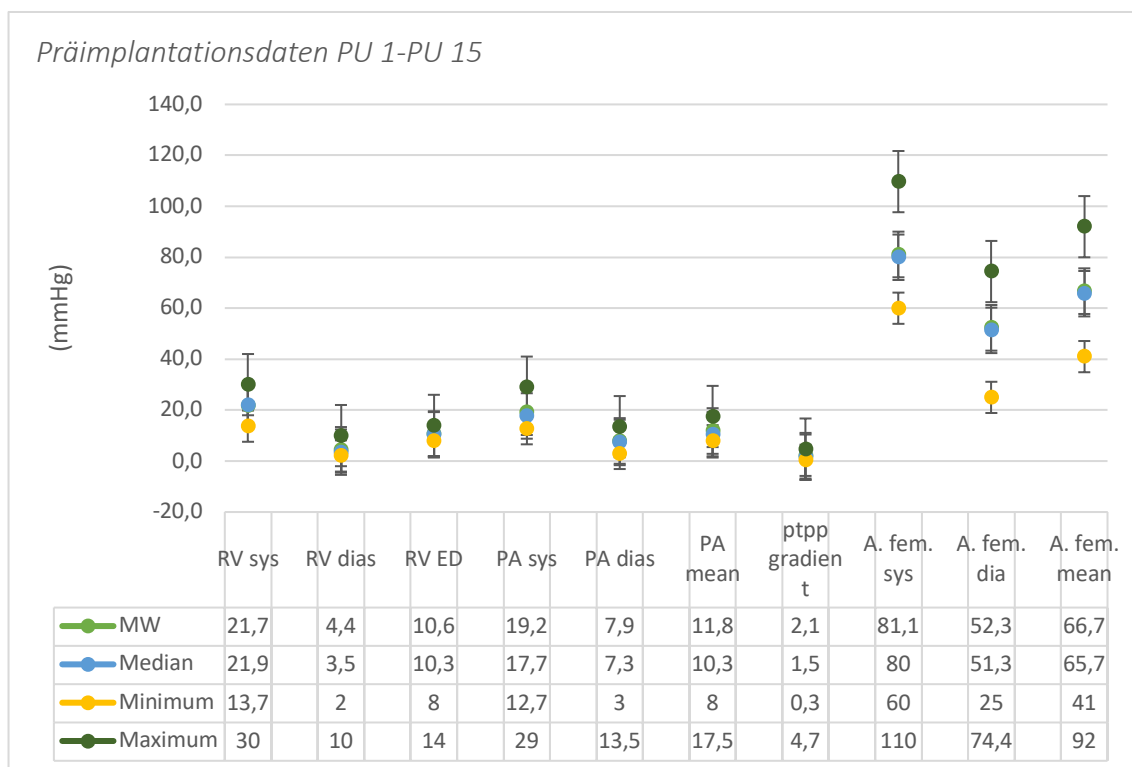
Grafik 6: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 3, Präimplantation

3.1.4 Präimplantationsmessungen aller Versuchstiere

Betrachtet man nun die Messwerte aller Versuchstiere als Ganzes, ergeben sich folgende Werte. Im Durchschnitt betrug der rechtsventrikuläre Druck 21,7/ 4,4/ 10,6 ± 1,9/ 1,0/ 0,8 mmHg (sys/ dias/ ED), systolische Spitzenwerte waren 30,0/ 10,0/ 14,0 mmHg (sys/ dias/ ED). Die Mittelwerte des pulmonalarteriellen Drucks bildeten 19,2/ 7,9/ 11,8 ± 1,8/ 1,1/ 1,2 mmHg (sys/ dias/ mean).

Der höchste peak-to-peak Druckgradient belief sich auf 4,7 mmHg, das arithmetische Mittel war 2,1 mmHg ± 0,6 mmHg.

Systemische Blutdruckwerte lagen bei 81,1/ 52,3/ 66,7 ± 5,5/ 5,2/ 5,4 mmHg (sys/ dias/ mean). Die systolische Spitze bildete 110,0 mmHg, das diastolische Tal 25,0 mmHg, der mittlere MAP war 65,7 mmHg.



Grafik 7: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum/ Maximum der hämodynamischen Daten, Präimplantation

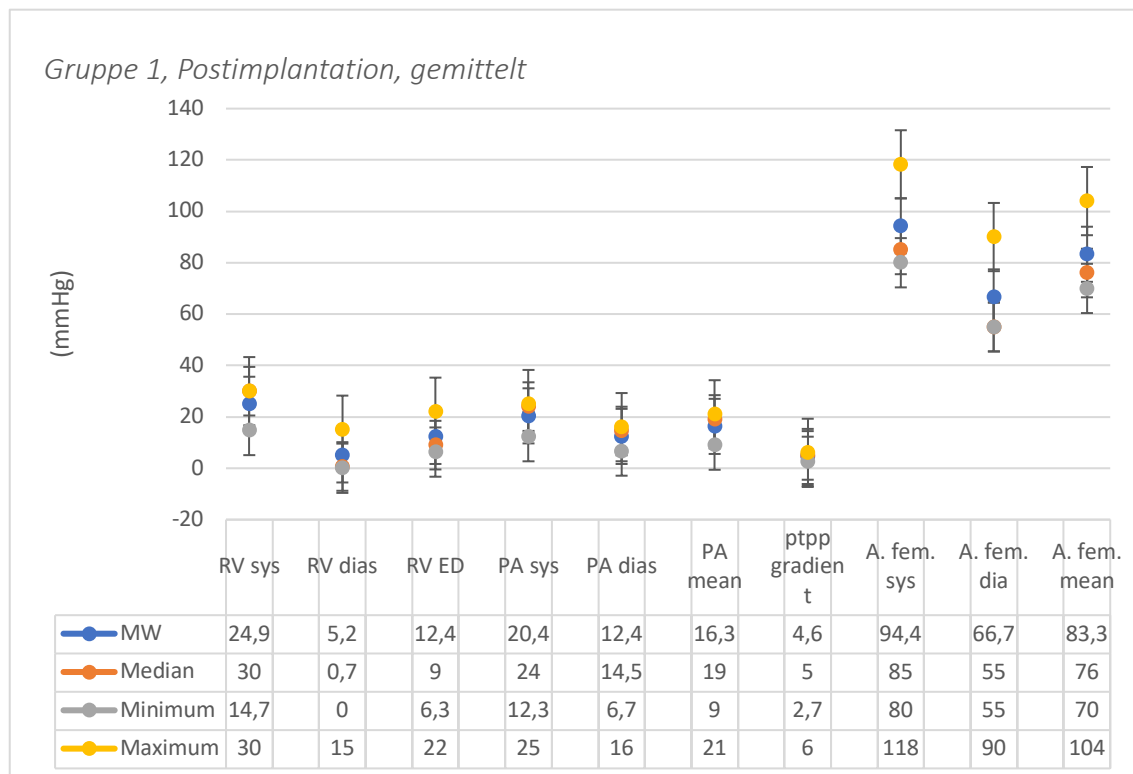
3.1.5 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 1, Postimplantation

Nach erfolgreicher PCU-Klappenimplantation wurden wiederholt hämodynamische Parameter erhoben. In der Gruppe 1 ergab der rechtsventrikuläre Druck $24,9/ 5,2/ 12,4 \pm 5,1/ 4,9/ 4,8$ mmHg (sys/ dias/ ED), die systolischen Maxima $30,0/ 15,0/ 22,0$ mmHg (sys/ dias/ ED) und die Minima $14,7/ 0/ 6,3$ mmHg (sys/ dias/ ED).

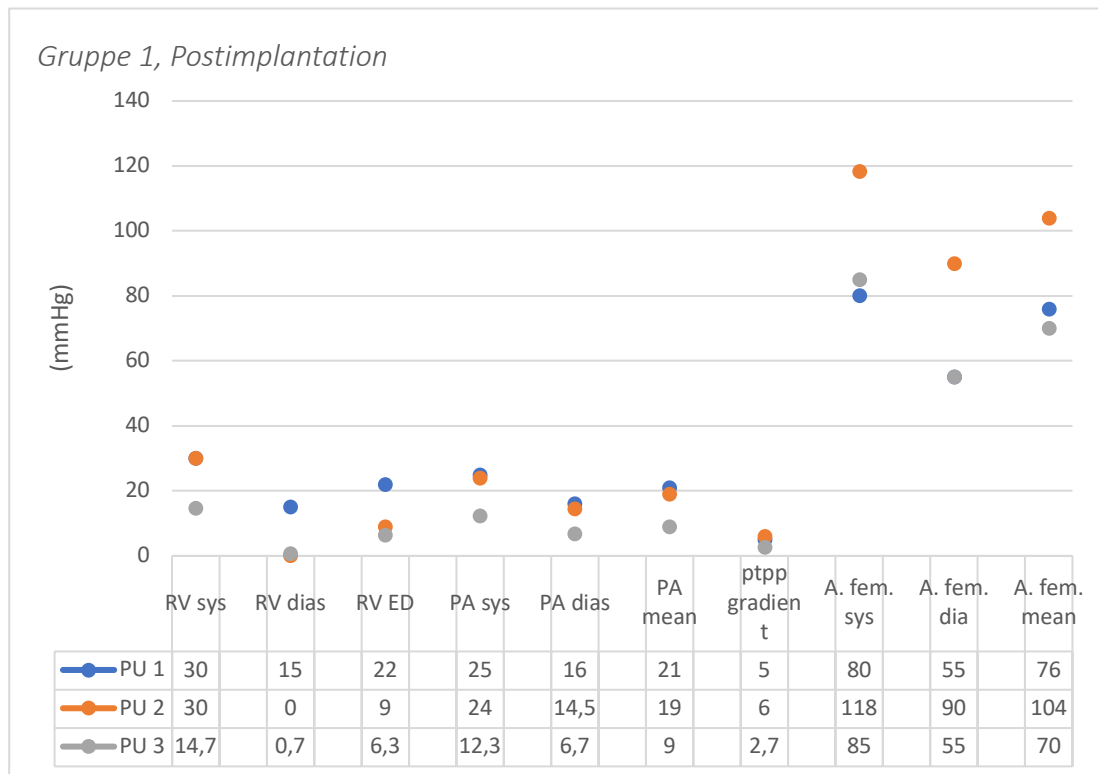
Der pulmonalarterielle Druck war im Mittel $20,4/ 12,4/ 16,3 \pm 4,1/ 2,9/ 3,7$ mmHg (sys/ dias/ mean). Den Höchstwert bildete PU 1 mit $25/ 16/ 21$ mmHg (sys/ dias/ mean), den Mindestwert PU 3 mit $12,3/ 6,7/ 9,0$ mmHg (sys/ dias/ mean).

Als Spitzendruck über der implantierten Klappe wurde direkt nach Entfaltung $4,6 \pm 1,0$ mmHg gemessen, wobei hier 6 mmHg bei PU 2 als maximaler Wert und 2,7 mmHg bei PU 3 als niedrigster Wert erhoben wurde.

Beim systemischen arteriellen Blutdruck war im Vergleich zur Präimplantation mit $94,4/ 66,7/ 83,3 \pm 12,0/ 11,7/ 10,5$ mmHg (sys/ dias/ mean) ein milder Anstieg zu vermerken. Das systolische Maximum bot PU 2 mit 118,3 mmHg, das diastolische Minimum PU 1 und PU 2 mit 55,0 mmHg und den medianen MAP PU 1 mit 76,0 mmHg. Einzelaufstellung und vollständige Daten sind aus den Grafiken 8 und 9, sowie im Anhang ab Tabelle 17.1b (S. 157) zu entnehmen.



Grafik 8: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 1, Postimplantation



Grafik 9: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 1, Postimplantation

3.1.6 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 2, Postimplantation

In der zweiten Gruppe fiel nach dem Einsetzen der Klappe auf, dass der mittlere rechtsventrikuläre Druck von 17,9/ 3,5/ 10,4 mmHg \pm 4,1/ 0,5/ 2,4 mmHg (sys/ dias/ ED) (Grafik 3) auf 29,0/ 3,7/ 7,4 \pm 8,3/ 3,7/ 4,7 mmHg (sys/ dias/ ED) angestiegen war. Das Versuchstier PU 7 imponierte mit den maximalen RV-Werten von 37,3/ 7,3/ 12,0 mmHg (sys/dias/ ED). Wie unter 3.1.2 erwähnt, sind die RV-Messdaten von PU 5 leider unwiederbringlich verloren gegangen.

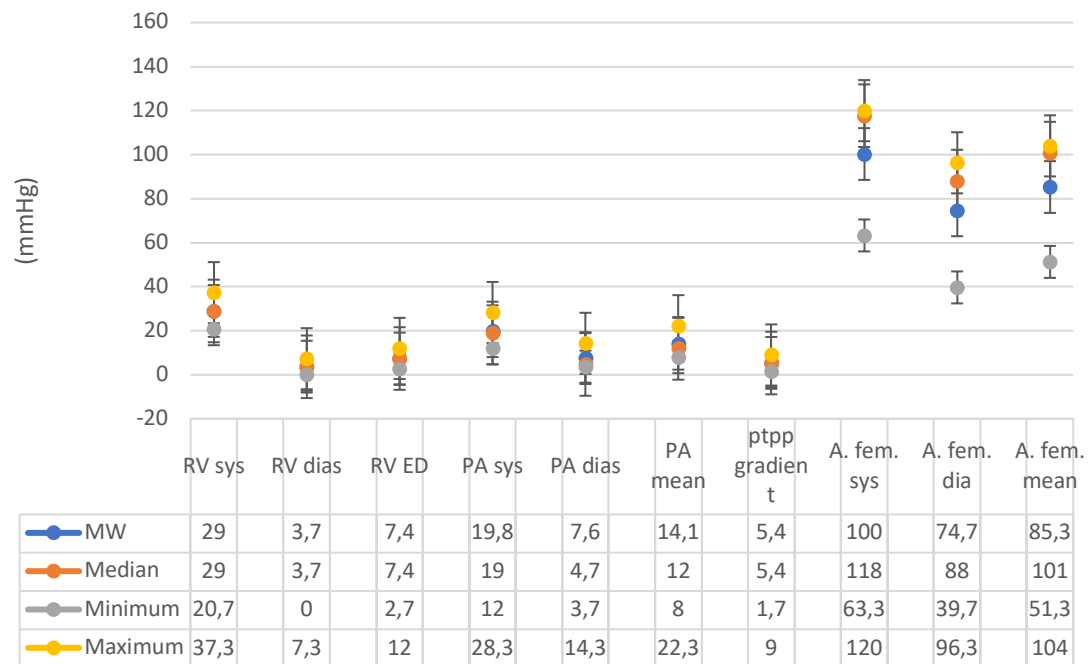
Pulmonalarteriell waren Druckwerte von 19,8/ 7,6/ 14,1 \pm 4,7/ 3,4/ 4,3 mmHg (sys/ dias/ mean) zu verzeichnen. Spitzenwerte betrugen 28,3/ 14,3/ 22,3 mmHg (sys/ dias/ mean), denen 12,0/ 3,7/ 8,0 mmHg (sys/ dias/ mean) gegenüberstanden.

Der peak-to-peak Druckgradient ergab 5,4 mmHg \pm 3,7 mmHg, wobei wie zu erwarten PU 7 mit 9,0 mmHg das Maximum bot.

Die Mittelwerte des arteriellen Blutdrucks in der A. femoralis zählten 100,3/ 74,7/ 85,3 \pm 18,5/ 17,6/ 17,0 mmHg (sys/ dias/ mean). Der größte systolische Wert war 120,0 mmHg, der kleinste diastolische 39,7 mmHg und der mittlere Blutdruck im Median war 100,7 mmHg.

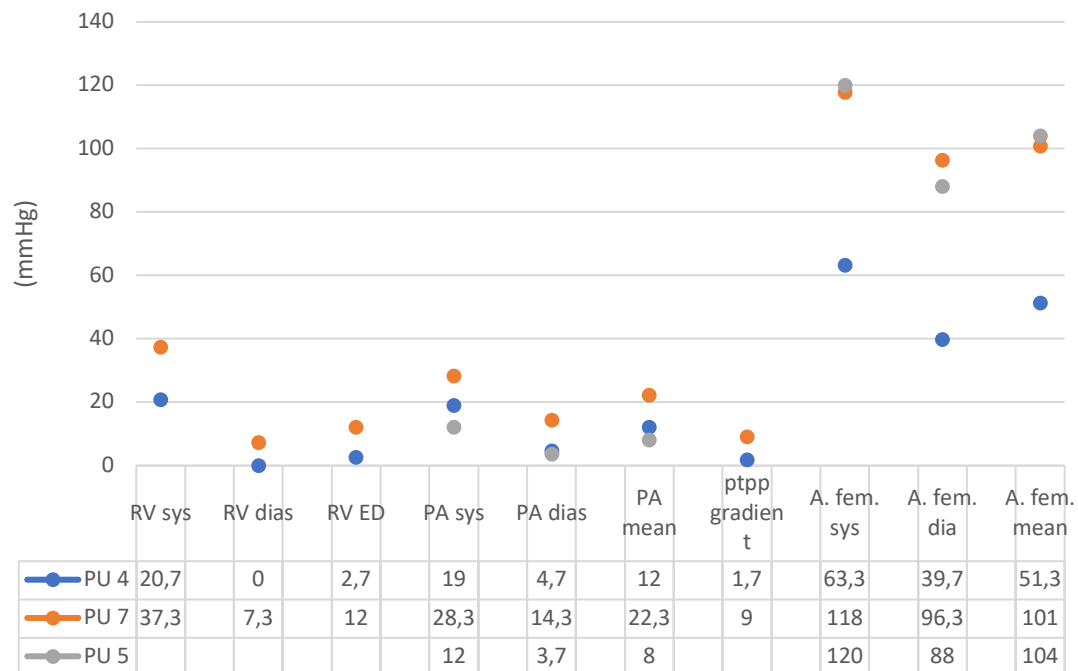
Die restlichen Daten sind in Grafik 10 und 11, sowie im Anhang ab Tabelle 17.4b (S. 162), dargestellt.

Gruppe 2, Postimplantation, gemittelt



Grafik 10: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 2, Postimplantation

Gruppe 2, Postimplantation



Grafik 11: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 2, Postimplantation

3.1.7 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 3, Postimplantation

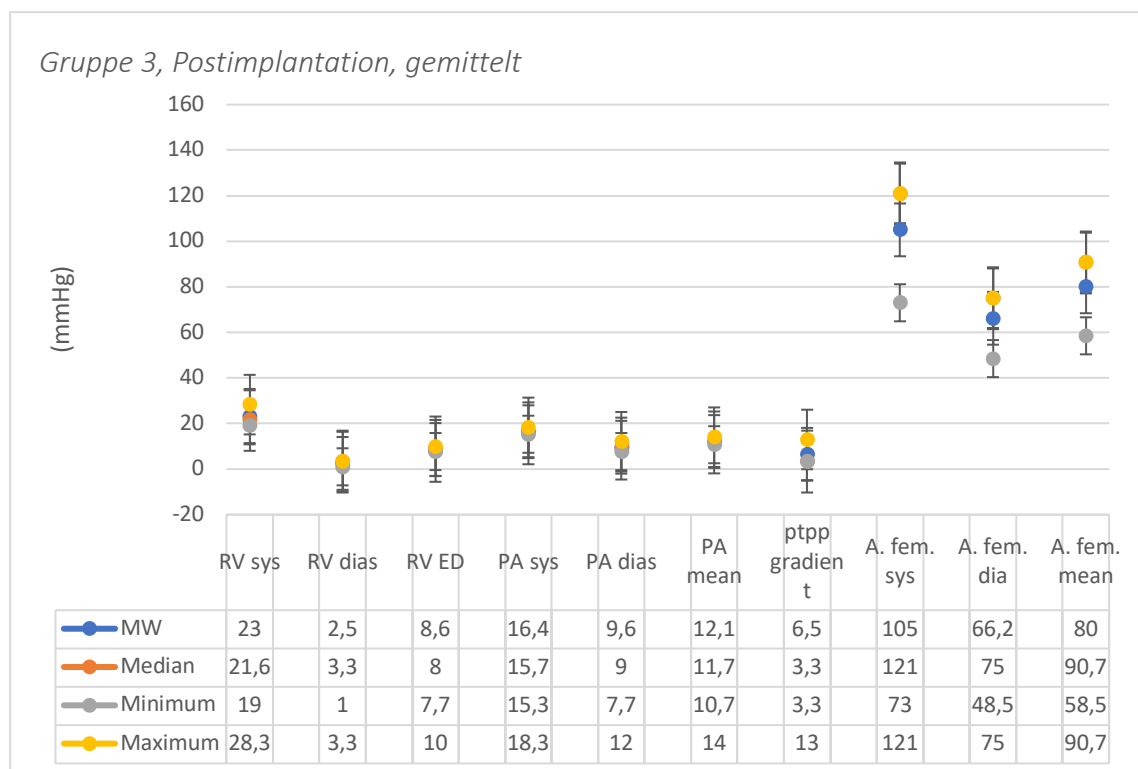
Die Grafik 12 zeigt die Mittelwerte, den Standardfehler, die Maxima und die Minima der hämodynamischen Werte der Gruppe 3 nach Entfaltung der Pulmonalklappenprothese.

Die rechtsventrikulären Messungen verhielten sich ähnlich zu denjenigen vor der Implantation, nämlich im Mittel 23,0 / 2,5/ 8,6 ± 2,8/ 0,8/ 0,7 mmHg (sys/ dias/ ED) und 19,0/ 1,0/ 7,7 mmHg, sowie 28,3/ 3,3/ 10,0 mmHg (sys/dias/ ED) als untere und obere Extreme.

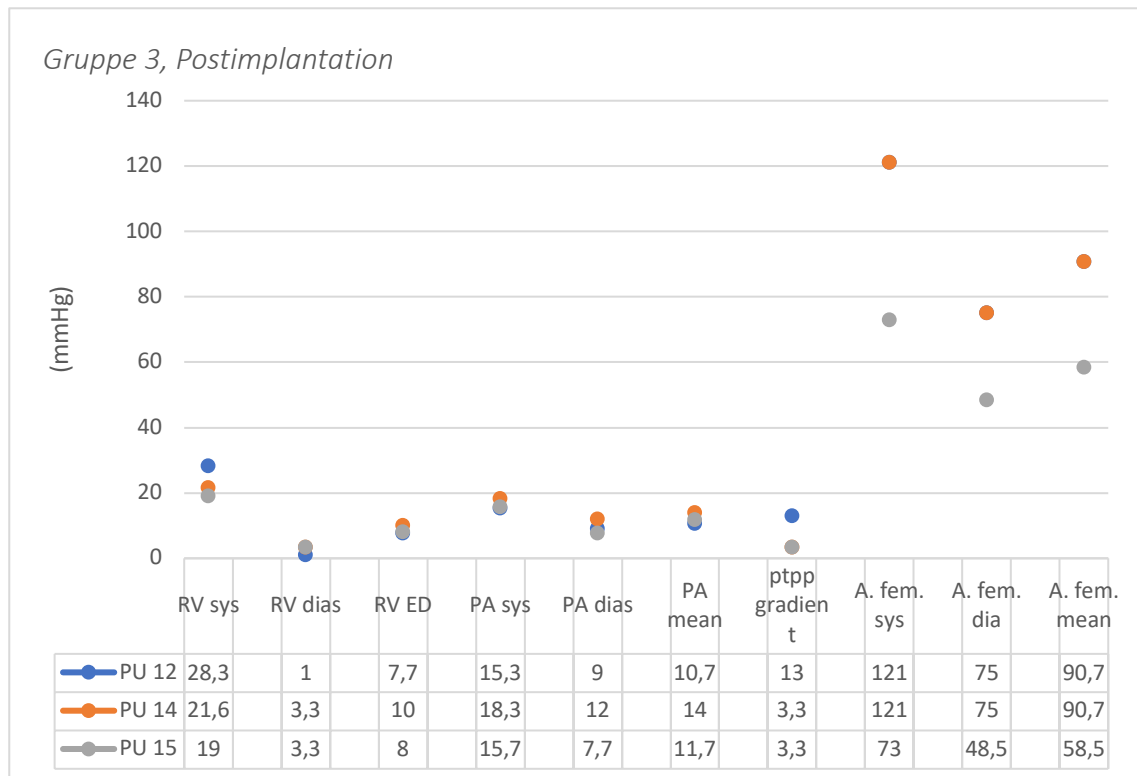
Der pulmonalarterielle Druck ergab 16,4/ 9,6/ 12,1 ± 0,9/ 1,3/ 1,0 mmHg (sys/ dias/ mean). Das Maximum betrug 18,3/ 12,0/ 14,0 mmHg (sys/ dias/ mean), das Minimum 15,3/ 7,7/ 10,7 mmHg.

Der Gradient über der PCU-Klappe wurde mit 6,5 ± 3,2 mmHg ermittelt, bei PU 12 wurde der höchste Wert von 13 mmHg gemessen.

Neben des Anstiegs des peak-to-peak Gradienten im Vergleich zu vor der Implantation, ist ebenso der systemische Blutdruck hochgegangen. Im Mittel handelte es sich um 105,0/ 66,2/ 80,0 ± 16/ 8,8/ 10,7 mmHg (sys/ dias/ mean). Systolischer Spitzenreiter waren PU 12 und PU 14 mit 121,0 mmHg, das diastolische Tief lag bei 48,5 mmHg, der Median des MAP bei 90,7 mmHg. Diese und die übrigen Werte können in der Grafik 12 und 13 und im Anhang ab Tabelle 17.7b (S. 166) begutachtet werden.



Grafik 12: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 3, Postimplantation



Grafik 13: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 3, Postimplantation

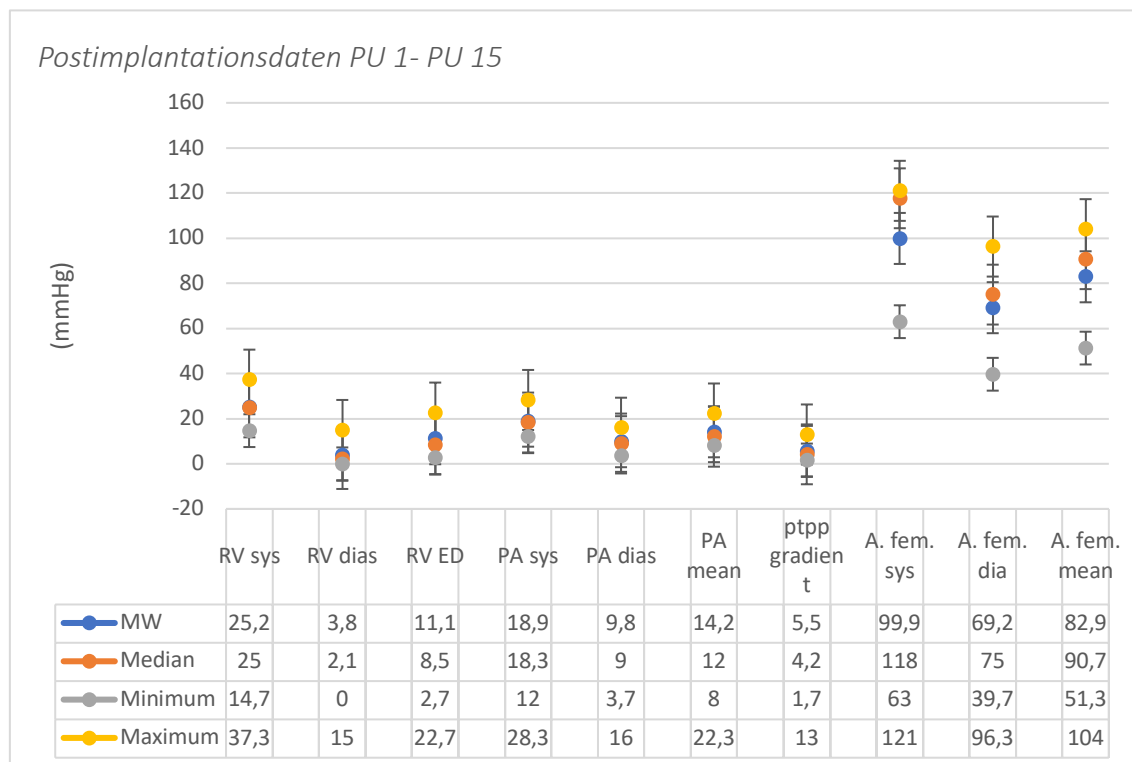
3.1.8 Postimplantationsmessungen aller Versuchstiere

Wirft man nun einen Blick auf die Parameter aller neun Versuchstiere, die nach der Implantation gemessen worden sind, ergibt der rechtsventrikuläre Druck $25,2/3,8/11,1 \pm 2,6/1,8/2,6$ mmHg (sys/ dias/ ED), Höchstwerte lagen bei $37,3/15,0/22,7$ mmHg (sys/ dias/ ED). Die Werte, die im Hauptstamm der Lungenarterie erhoben wurden, beliefen sich durchschnittlich auf $18,9/9,8/14,2 \pm 1,9/1,5/1,8$ mmHg (sys/ dias/ mean).

Im Mittel ergab der Gradient über der Pulmonalklappe $5,5 \pm 1,3$ mmHg, das Maximum betrug $13,0$ mmHg.

Systemisch wurden durchschnittliche Blutdruckwerte von $99,9/69,2/82,9 \pm 8,0/6,8/6,6$ mmHg (sys/ dias/ mean), mit systolischem Maximum bei $121,0$ mmHg, diastolischem Minimum bei $39,7$ mmHg und medianem MAP bei $90,7$ mmHg ermittelt.

Die Grafik 14 zeigt die bildliche und numerische Darstellung der Messwerte aller Versuchstiere zum Zeitpunkt „Postimplantation“.



Grafik 14: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aller Versuchstiere, Postimplantation

3.1.8 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 1, Explantation

Am Tag der Explantation wurden vor der Beendigung des Versuchs noch ein letztes Mal hämodynamische Messungen vollzogen. In der ersten Gruppe kam es sowohl bei PU 1 als auch PU 2 zum Verlust der systemischen Blutdruckwerte aus der A. femoralis.

Davon abgesehen erbrachte der Mittelwert des RV-Drucks 22,2/ 7,2/ 12,4 ± 4,6/ 5,6/ 5,3 mmHg (sys/ dias/ ED), Spitzenwerte waren 27,0/ 18,3/ 22,3 mmHg (sys/ dias/ ED), Tiefstwerte 13,0/ 0,7/ 4,0 mmHg (sys/ dias/ ED).

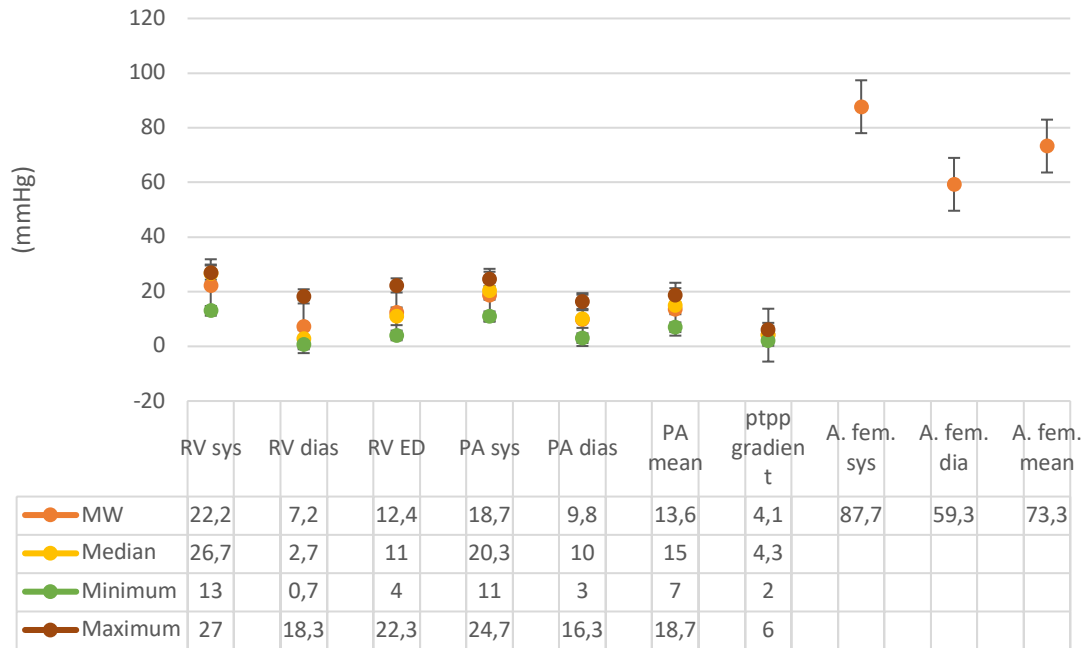
Pulmonalarterielle Parameter zählten durchschnittlich 18,7/ 9,8/ 13,6 ± 4,0/ 3,8/ 3,5 mmHg, PU 1 bot das systolische Maximum mit 24,7 mmHg.

Als höchster angezeigter Gradient wurden 6 mmHg ausgemacht (PU 2), im Mittel lag dieser bei 4,1 ± 1,2 mmHg.

Der einzige systemisch erhaltene Blutdruckwert ist der von Schaf PU 3 mit 87/ 59,3/ 73,3 mmHg (sys/ dias/ mean) gewesen.

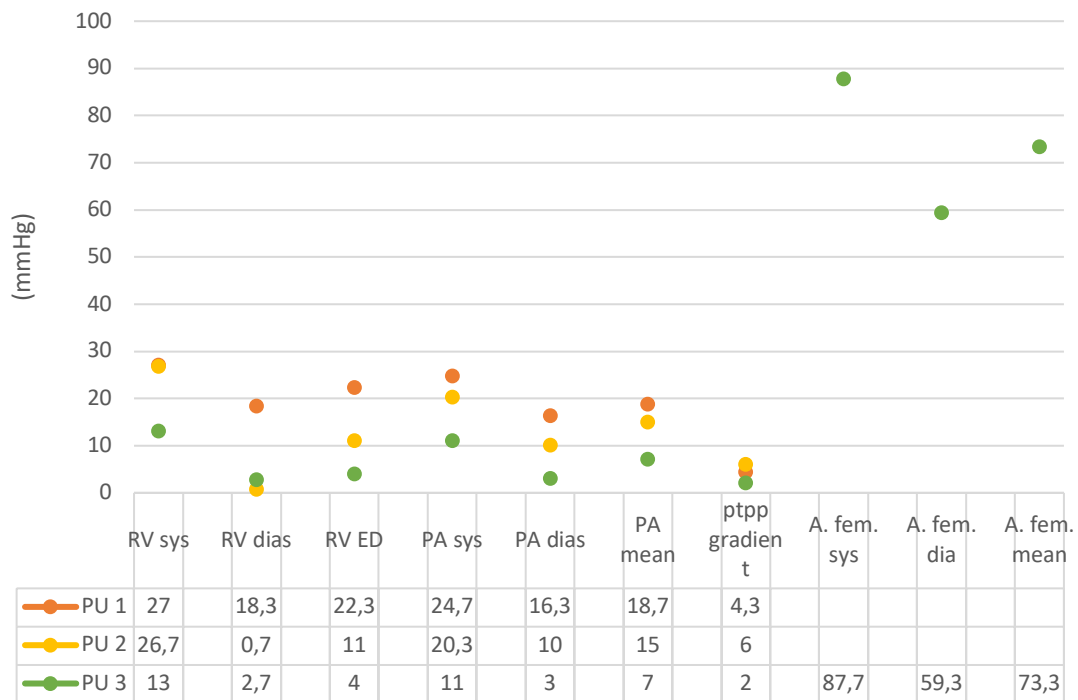
Die Grafiken 15, 16 und Tabellen ab 17.1c (Anhang, S. 158) geben einen Überblick über die vollständigen Daten aus der Gruppe 1 am Tag der Explantation.

Gruppe 1, Explantation, gemittelt



Grafik 15: Mittelwerte/SF/Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 1, Explantation

Gruppe 1, Explantation



Grafik 16: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 1, Explantation

3.1.9 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 2, Explantation

In der zweiten Gruppe wurde PU 7 am 64. Tag tot im Stall aufgefunden worden. Daher existieren die hämodynamischen Explantationsdaten lediglich von PU 4 und PU 5.

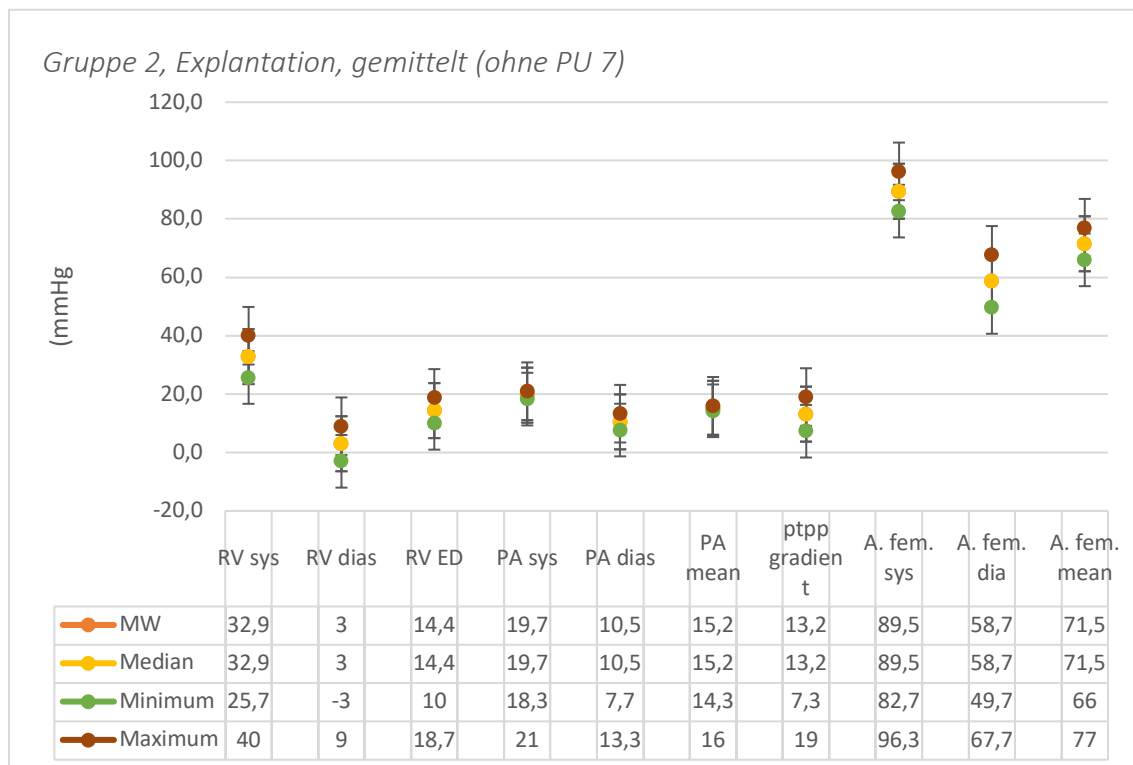
Rechtsventrikulär wurden 32,9/ 3,0/ 14,4 ± 7,1/ 6,0/ 4,4 mmHg (sys/ dias/ ED) im Schnitt, maximal 40,0/ 9,0/ 18,7 mmHg und minimal 25,7/ - 3,0/ 10,0 mmHg gemessen.

In der Pulmonalarterie waren es 19,7/ 10,5/ 15,2 ± 1,4/ 2,8/ 0,9 mmHg (sys/ dias/ mean). PU 5 bot den systolischen Spitzenwert von 21 mmHg.

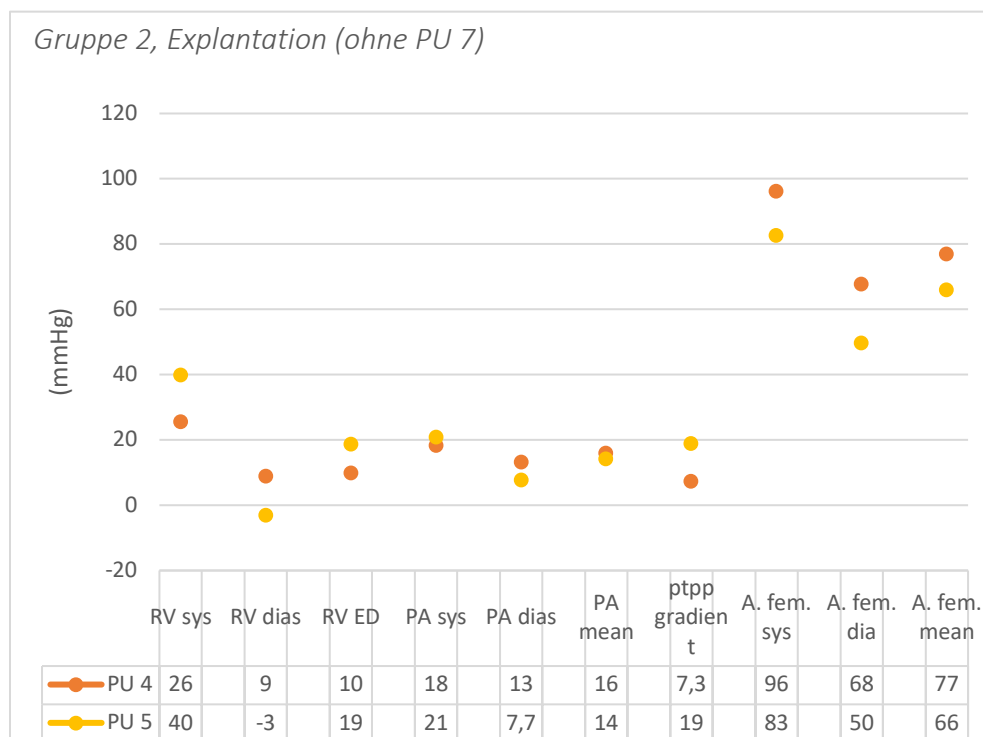
Der peak-to-peak Gradient belief sich auf 13,2 ± 5,9 mmHg und äußerte sich bei PU 5 durch das Maximum von 19 mmHg.

Den systemischen Blutdruck betreffend sah man im Mittel Werte von 89,5/ 58,7/ 71,5 ± 6,8/ 9,0/ 5,5 mmHg.

Alle Parameter können in ihrer Gesamtheit den Schaubildern 17, 18 und ab den Tabellen 17.4c (Anhang, S. 162) entnommen werden.



Grafik 17: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 2, Explantation



Grafik 18: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 2, Explantation

3.1.9 Untersuchungsergebnisse der Gruppe 3, Explantation

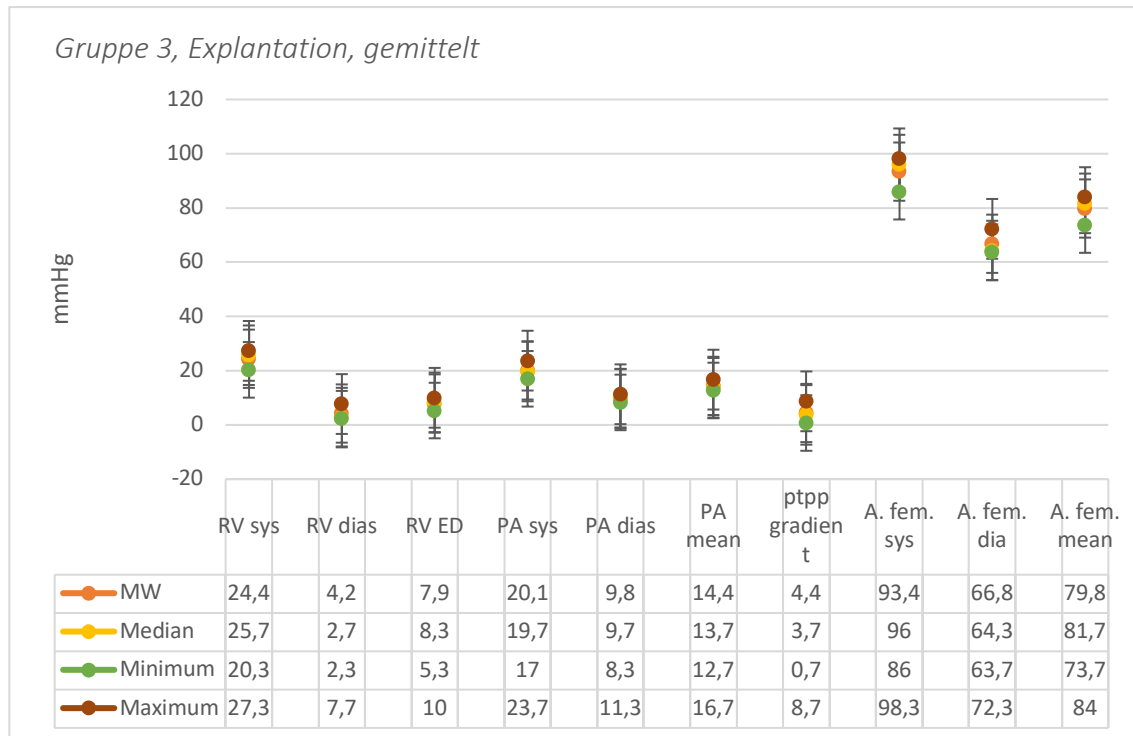
Bei der dritten Gruppe verhielten sich die hämodynamischen Parameter ähnlich zu den vorangegangenen Messungen der selbigen Gruppe. Die maximalen rechtsventrikulären Druckwerte betrugen 27,3/ 7,7/ 10,0 mmHg (sys/ dias/ ED), die minimalen 20,3/ 2,3/ 5,3 mmHg (sys/ dias/ ED). Als Mittelwert ergab sich 24,4/ 4,2/ 7,9 ± 2,1/ 1,7/ 1,4 mmHg (sys/ dias/ ED).

Pulmonalarteriell gingen im Durchschnitt 20,1/ 9,8/ 14,4 ± 1,9/ 0,9/ 1,2 mmHg (sys/ dias/ mean) hervor, maximal 23,7/ 7,7/ 16,7 mmHg (sys/ dias/ mean) und minimal 17,0/ 8,3/ 12,7 mmHg (sys/ dias/ mean).

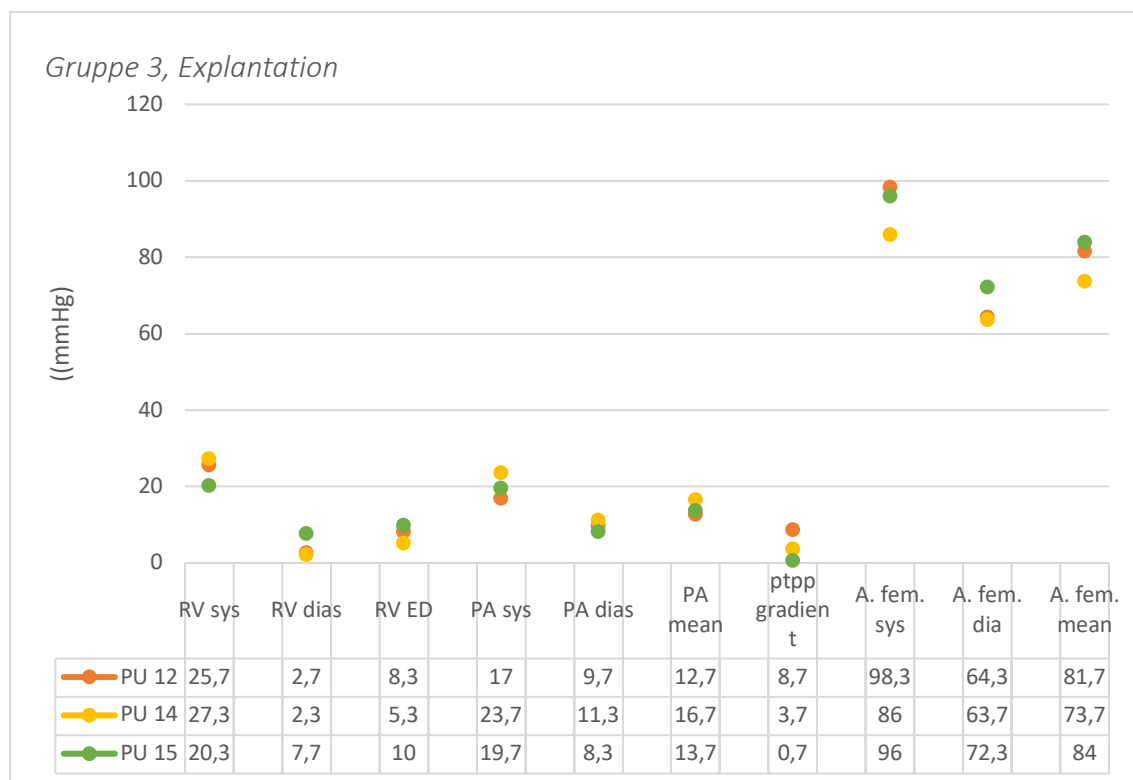
Dementsprechend verhielt sich auch der Gradient über der Pulmonalklappe mit 4,4 ± 2,3 mmHg, wobei PU 12 mit 8,7 mmHg den höchsten Wert bot und PU 15 mit 0,7 mmHg annähernd keinen Gradienten zeigte.

Auch die systemischen Drücke waren mit 93,4/ 66,8/ 79,8 ± 3,8/ 2,8/ 3,1 mmHg (sys/ dias/ mean) völlig unauffällig. PU 12 war auch hier Spitzenreiter mit einer Systole von 98,3 mmHg, PU 14 zeigte die niedrigste Diastole mit 63,7 mmHg und PU 15 den MAP im Median mit 81,7 mmHg.

Um alle Werte im Genauen zu betrachten, wird auf die Grafiken 19, 20 und ab Tabellen 17.7c (S. 166, Anhang) verwiesen.



Grafik 19: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 3, Explantation



Grafik 20: Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 3, Explantation

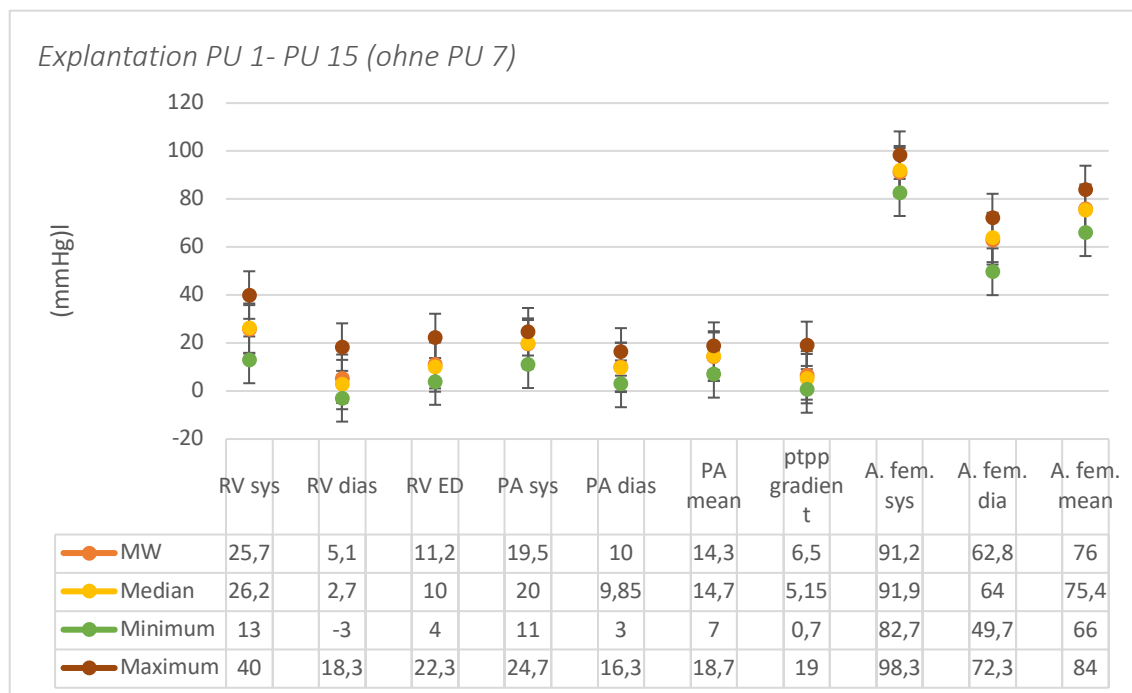
3.1.10 Explantationsmessungen aller Versuchstiere

Zum Abschluss einen Blick auf die hämodynamischen Explantationsdaten aller Tiere außer PU 7 werfend ist zu sagen, dass diese sich den Postimplantationsmessungen aller Schafe annähern.

So betrug der Mittelwert des RV-Drucks 25,7/ 5,1/ 11,2 ± 2,7/ 2,3/ 2,2 mmHg (sys/ dias/ ED). Auffallend war das bei PU 5 ermittelte Maximum von 40,0 mmHg. Im Hauptstamm gemessene Mittelwerte der Pulmonaldrücke betrugen 19,5/ 10,0/ 14,3 ± 1,5/ 1,4/ 1,2 mmHg (sys/ dias/ mean), Maxima beliefen sich auf 24,7/ 16,3/ 18,7 mmHg (sys/ dias/ mean) und Minima auf 11/ 3,0/ 7,0 mmHg (sys/ dias/ mean).

Als Gradient über der Klappe sei der Mittelwert von 6,5 ± 2,0 mmHg mit dem Median von 5,15 mmHg erwähnt.

Systemische Blutdrücke verhielten sich mit 91,2/ 62,8/ 76,0 ± 2,7/ 3,2/ 2,6 mmHg (sys/ dias/ mean) im Mittel in der Norm.



Grafik 21: Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aller Versuchstiere, Explantation

3.1.11 Zusammenfassung der hämodynamischen Datenauswertung

Betrachtet man zunächst die hämodynamischen Daten innerhalb einer Gruppe zu den verschiedenen Zeitpunkten, kann man über die erste Gruppe sagen, dass sich die Mittelwerte zueinander ähnlich verhalten. Um dies statistisch zu analysieren, wurde der Zweistichproben-

t-Test für abhängige Stichproben auf den Druckgradienten über der Pulmonalklappe angewendet, da dieser im zeitlichen Verlauf einen relevanten Parameter widerspiegelt. Hier ergibt sich, dass zur Explantation (MW = 4,1 mmHg, SE = 1,2 mmHg, n = 3) bei einem kritischen Wert von 2,91 für $df = 2$ (Freiheitsgrade) und $\alpha = 0,05$ (Signifikanzniveau), der ptp-Gradient höher ist im Vergleich zur Implantation (MW = 1,0 mmHg, SE = 0,6 mmHg, n = 3). Dennoch kann nicht davon ausgegangen werden, dass sich die Mittelwerte signifikant unterscheiden ($t = -1,98$, $p < 0,05$, $n = 3$). Die Teststärke wird über den Korrelationskoeffizienten nach Pearson angegeben und beträgt in diesem Fall 0,57. Dies spricht für eine mittlere Aussagekraft.

In der dritten Gruppe kommt es zu ähnlichen Bedingungen bei der Gegenüberstellung der Messungen. Tendenziell sind keine großen Differenzen auszumachen. Der Zweistichproben-t-Test erbringt auf den transvalvulären Gradienten übertragen, dass bei geringfügig höheren Werten bei Explantation (MW = 4,37 mmHg, SE = 2,33 mmHg, n = 3) zur ursprünglichen Situation (MW = 4,13 mmHg, SE = 0,30 mmHg, n = 3) die Mittelwerte nicht signifikant voneinander abweichen ($t = -0,09$, $p < 0,05$, $n = 3$). Der Korrelationskoeffizient nach Pearson beläuft sich in diesem Beispiel auf 0,42, was für eine schwache Teststärke spricht.

Da innerhalb der zweiten Gruppe Datenverluste und der vorzeitigen Exitus letalis von PU 7 auftraten, kann im klassischen Sinne kein statistischer Test genutzt werden, um die Gegebenheiten zu analysieren. Was man jedoch anmerken kann, ist die Tatsache, dass nicht nur die ermittelten Drücke an spezifischen Stellen, sondern auch der Druckgradient über der Pulmonalklappe verhältnismäßig am meisten divergieren, wenn man Präimplantations- (MW = 1,2 mmHg, SE = 0,5 mmHg, n = 2) und Explantationsmessungen (MW = 13,2 mmHg, SE = 5,9, n = 2) vergleicht.

Grundsätzlich befinden sich die meisten Daten, egal zu welchen Zeitpunkten sie erhoben wurden, im Normbereich der entsprechenden Parameter. Der pulmonale Druckgradient in der dritten Gruppe (MW = 4,37 mmHg, SE = 2,33 mmHg, n = 3) ist nahezu identisch mit demjenigen der ersten Stichprobe (MW = 4,1 mmHg, SE = 1,2 mmHg, n = 3) und hat keinen Krankheitswert. Die Neigung zu pathologischen Werten hingegen zeigt PU 5 mit rechtsventrikulären Drücken von 40,0/ - 3,0/ 18,7 \pm 1,0/1,0/1,2 mmHg (sys/ dias/ ED \pm SD), pulmonalarteriell von 21,0/ 7,7/ 14,3 \pm 1,0/ 0,6/ 1,5 mmHg (sys/ dias/ mean \pm SD) und einem Spitzendruck über der Pulmonalklappe von 19 \pm 1,7 mmHg (MW \pm SD). Der primäre Grund, dieses Versuchstier bereits nach 26 Tagen bei Verdacht auf Endokarditis aus dem Versuch zu nehmen, erhärtete sich somit auch mittels der hämodynamischen Messungen.

3.2 Echokardiographische Resultate

Die transthorakale Echokardiographie (TTE) wurde vor und nach jedem angiographischen Eingriff durchgeführt. Am Tag der Implantation richtete sich das Augenmerk vor allem auf die Durchmesser der Pulmonalklappe. So wurde von allen Schafen im Durchschnitt ein interner diastolischer Diameter von $18,6 \pm 1,3$ mm (MW \pm SD) und systolischer Durchmesser von $21,9 \pm 1,9$ mm (MW \pm SD) mit einem Maximum von 21,0 mm (dias) und 25,0 mm (sys) ermittelt. Weiterhin waren weder an den Herzklappen oder -höhlen noch an der Funktion Auffälligkeiten zu erkennen.

Das Abschluss-TTE vor der Euthanasie des Tieres diente letztlich dazu, sich nochmals einen Überblick über die Gesamtsituation zu verschaffen. In der 1- und 6-Monats-Gruppe war bei allen Tieren ein laminarer Blutfluss über der Klappe sichtbar und eine orthotope Position wurde gesichtet. In einem Fall trat ein paravalvuläres Leck (PVL) auf (PU 15), ein Tier hatte eine leichtgradige zentrale Pulmonalklappeninsuffizienz (PU 3), ein weiteres wiederum eine

	Zeitpunkt	Gesamtüberlebensdauer	milde Undichtigkeit der Trikuspidalklappe (PU 12). Rechts- und Linksherzdimensionen sowie -funktion erschienen durchweg normwertig.
PU 4	4W FU	12W (84T)	
PU 7	8W FU	9,1W (64T)	
PU 12	12W FU	27W (189T)	
PU 14	12W FU	29,6W (207T)	
PU 15	12W FU	21,9W (153T)	

Tab. 8: Zeitpunkte der Nachsorgeuntersuchungen; W: Wochen; FU: Follow-UP; T: Tage

Aus der Tabelle 8 gehen die Nachsorgeuntersuchungen zu definierten Zeitpunkten hervor. Zu diesen Terminen wurden in den

Stallungen Ultraschallexaminationen durchgeführt, die im Folgenden detaillierter beschrieben werden.

Im 4-Wochen-Follow-Up des Versuchstieres PU 4 wurden zunächst keine Pathologien detektiert. Die mit dem continuous-wave-Doppler gemessenen Flussgeschwindigkeiten (v_{\max}/v_{mean}) und Druckgradienten (p_{\max}/p_{mean}) verhielten sich physiologisch (Abb. 29a). So betrug die maximale Flussgeschwindigkeit $0,46 \pm 0,03$ m/s, die mittlere $0,29 \pm 0,03$ m/s, der p_{\max} $0,83 \pm 0,11$ mmHg und p_{mean} $0,40 \pm 0,06$ mmHg. Auch die Größenverhältnisse und Kammerfunktion waren ebenso erhalten (Abb. 29b).

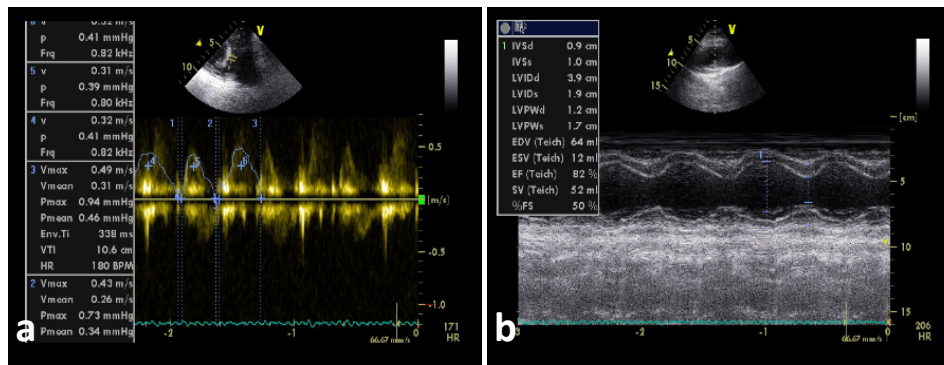


Abb. 29: TTE-Bilder PU 4, 4W-FU (a) CW-Doppler ü. Pulmonalklappe; (b) M-Mode li. Ventrikel; TTE: transthorakale Echokardiographie; W: Wochen; CW: continuous wave; FU: Follow-Up

Im Explantationsechokardiogramm konnten ebenfalls keine Unregelmäßigkeiten dargestellt werden. Die nachstehenden Untersuchungsmethoden untermauerten jedoch zunehmend den Verdacht einer Endokarditis, der letztlich durch die Immunhistochemie bestätigt wurde (Abschnitt 3.4.3).

Die 8-Wochen-Nachsorgeanalyse bei PU 7 ergab den Hinweis auf eine Endokarditis. Zum einen war im Farbdoppler-Modus (CFM: colour flow mapping) ein turbulentes Strömungsprofil an der Klappe zu erkennen, zum anderen eine echoreiche Struktur vor und im Klappenstent (Abb. 30c). Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten waren erhöht und beliefen sich auf $1,55 \pm 0,02$ m/s (v_{\max}), $1,01 \pm 0,06$ m/s (v_{mean}), $9,54 \pm 0,18$ mmHg (p_{\max}) und $4,89 \pm 0,38$ mmHg (p_{mean}), was auf eine beginnende Stenose bzw. Obstruktion schließen ließ. Dieser Befund führte dazu, dass eine antibiotische Therapie eingeleitet wurde. Nichtsdestotrotz wurde das Versuchstier PU 7 eine Woche später tot im Stall aufgefunden.

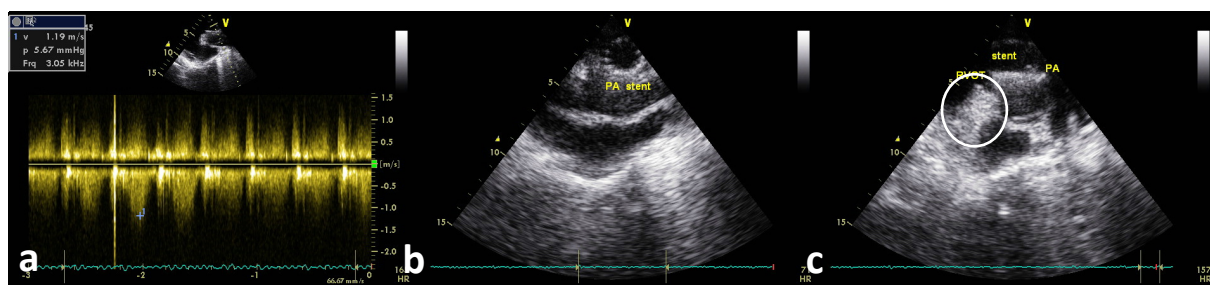


Abb. 30: TTE-Bilder PU 7, 8W-FU (a) CW-Doppler ü. Pulmonalklappe; (b) 2D-Mode, parasternal kurze Achse: Stent am oberen Bildrand in der Mitte zu sehen; (c) 2D-Mode, parasternal lange Achse: Vegetation im RVOT innerhalb des weißen Kreises

	MW	SD
Vmax (m/s)	0,47	0,02
Vmean (m/s)	0,27	0,02
pmax (mmHg)	0,89	0,08
pmean (mmHg)	0,37	0,04

Tab. 9: CW-Dopplermessungen PU 12, 12W-FU: Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten über der Pulmonalklappe

Das Studien-Schaf PU 12 erhielt nach zwölf Wochen ein Kontroll-TTE auf dem ein gut positionierter Stent, weder eine Stenose noch eine Insuffizienz und keinerlei Vegetationen zu finden waren.

Wie bereits weiter oben beschrieben, evaluierte man eine leichtgradige Undichtigkeit an der Trikuspidalklappe, die jedoch keinen Krankheitswert besaß. Sowohl die CW-Doppler- als auch die M-Mode-Messungen ergaben keine Unregelmäßigkeiten (Tabelle 9 + 10).

linksventrikulärer interner Diameter, diastolisch	LVIDd	(cm)	3,6
linksventrikulärer interner Diameter, systolischer	LVIDs	(cm)	2,1
enddiastolisches Volumen	EDV	(ml)	54
endsystolisches Volumen	ESV	(ml)	14
Schlagvolumen	SV	(ml)	39
Ejektionsfraktion	EF	(%)	73
interventrikuläres Septum, diastolisch	IVSd	(cm)	0,9
interventrikuläres Septum, systolisch	IVSs	(cm)	1,5

Tab. 10: M-Mode-Messungen PU 12, 12W-FU

Über die 12-Wochen-Echokardiographie von Versuchstier PU 14 ist wenig zu berichten. Der zweite Klappenstent saß optimal, die globale Herzfunktion erschien sehr gut, es waren keine Stenosen oder Insuffizienzen zu erkennen. Aus Tabelle 11 und 12 gehen die erhobenen Messungen hervor, die sich alle im Referenzbereich befinden.

Bei PU 15 fiel im Kontroll-Ultraschall neben einem weitgehend unauffälligen Befund folgende Aspekte ins Gewicht. Einerseits befand sich der zweite Stent etwas zu weit proximal im rechtsventrikulären Ausflusstrakt, zum anderen konnte man ein kleines paravalvuläres Leck ausfindig machen (Abb. 31). Dieses bestätigte sich in der post mortem Analyse (Abschnitt 3.3.3). Da es aufgrund seiner geringen Größe wenig Auswirkung auf die Hämodynamik hatte, verzichtete man darauf, interventionell einzugreifen. Die CW-Doppler und M-Modemessungen waren unauffällig, ferner war keine Obstruktion im Sinne einer Vegetation auszumachen (Tab. 13 + 14).

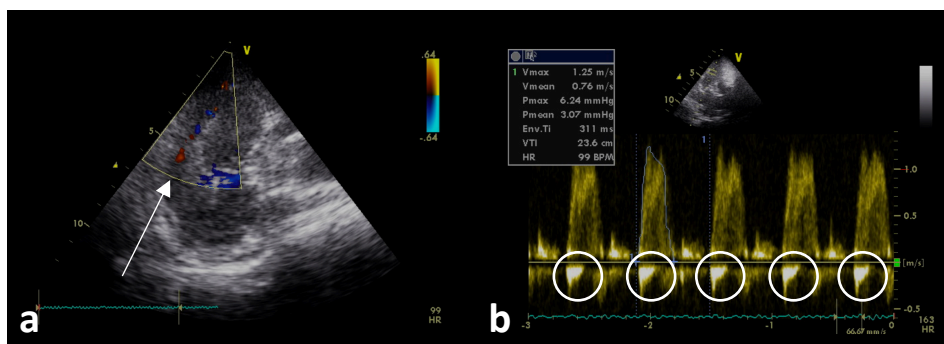


Abb.31: 12W-FU TTE PU 15: (a) 2D-Mode: parasternal lange Achse: Pfeil zeigt auf PVL; (b) CW-Doppler: Kreise zeigen Rückfluss über der Klappe, Hinweis auf PVL; PVL: paravalvuläre Leckage

	MW	SD
Vmax (m/s)	0,91	0,07
Vmean (m/s)	0,62	0,03
pmax (mmHg)	3,35	0,48
pmean (mmHg)	1,75	0,19

Tab. 11: CW-Dopplermessungen PU 14, 12W-FU:
Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten über der
Pulmonalklappe

	MW	SD
Vmax (m/s)	1,00	0,06
Vmean (m/s)	0,59	0,03
pmax (mmHg)	4,00	0,45
pmean (mmHg)	1,73	0,17

Tab. 13: CW-Dopplermessungen PU 15, 12W-FU:
Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten über der
Pulmonalklappe

LVIDd (cm)	3,6
LVIDs (cm)	2,3
EDV (ml)	55
ESV (ml)	19
SV (ml)	36
EF (%)	66
IVSd (cm)	0,7
IVSs (cm)	1

Tab. 12: M-Mode-Messungen
PU 14, 12W-FU

LVIDD (cm)	3,5
LVIDS (cm)	2,3
EDV (ml)	53
ESV (ml)	19
SV (ml)	34
EF (%)	65
IVSDd (cm)	0,9
IVSDs (cm)	1

Tab.14: M-Mode-Messungen
PU 15, 12W-FU

Vergleicht man nun die erhobenen TTE-Daten aus den Nachsorgeuntersuchungen der dritten Gruppe, belaufen sich die Mittelwerte der Flussgeschwindigkeiten (v_{\max}/v_{mean}) auf $0,79 \pm 0,16$ m/s (MW \pm SE) und $0,49 \pm 0,11$ m/s. Die höchste v_{\max} bot hierbei PU 15 mit 1,00 m/s, die niedrigste PU 12 mit 0,47 m/s. Der Durchschnitt der über der Pulmonalklappe gemessenen Druckgradienten (p_{\max}/p_{mean}) ergab $2,75 \pm 0,95$ mmHg (MW \pm SE) und $1,28 \pm 0,46$ mmHg. Auch hier fiel auf, dass PU 15 den maximalen Spitzendruck mit 4,00 mmHg lieferte und PU 12 den tiefsten p_{\max} -Wert mit 0,89 mmHg. Zusammenfassend ist zu nennen, dass alle ermittelten Werte verhältnismäßig unter den kritischen Cut-Off-Werten lagen und sich daraus kein pathologischer Umstand ergab. Die vollständigen Werte sind der Tabelle 15 zu entnehmen.

	PU 15	PU 14	PU 12	MW	SE	Maximum	Minimum	Median
Vmax (m/s)	1,00	0,91	0,47	0,79	0,16	1,00	0,47	0,91
Vmean (m/s)	0,59	0,62	0,27	0,49	0,11	0,62	0,27	0,59
pmax (mmHg)	4,00	3,35	0,89	2,75	0,95	4,00	0,89	3,35
pmean (mmHg)	1,73	1,75	0,37	1,28	0,46	1,75	0,37	1,73

Tab. 15: Mittelwerte/ Maxima/ Minima/ Median der CW-Dopplermessungen der Gruppe 3

3.3 Makroskopische post mortem Analyse

Wie im Abschnitt 2.8 beschrieben, wurden die jeweiligen Herzen nach demselben Muster untersucht und der Stent, die Position und Verankerung, die Segelbeschaffenheit und pathologische Veränderungen der kardialen Strukturen geprüft.

3.3.1 Makroskopische Ergebnisse Gruppe 1

Bei allen Tieren aus der ersten Gruppe waren die Herzen makroskopisch unauffällig. Die Größe der Herzhöhlen und Herzmuskeldicke war physiologisch, keinerlei Veränderung an der Trikuspidal- oder den übrigen Klappen war festzustellen. Alle drei Stents hatten eine korrekte Lage, verdeckten die native Pulmonalklappe vollständig, waren gut im umliegenden Gewebe integriert und nicht beschädigt. Das Stentbett wies einen normalen Befund auf. Sämtliche PCU-Klappensegel waren intakt und gut zu separieren. Lediglich bei den Versuchstieren PU 2 und PU 3 konnte man diskrete fibrinöse Auflagerungen sehen (Abb. 33c + 34c).

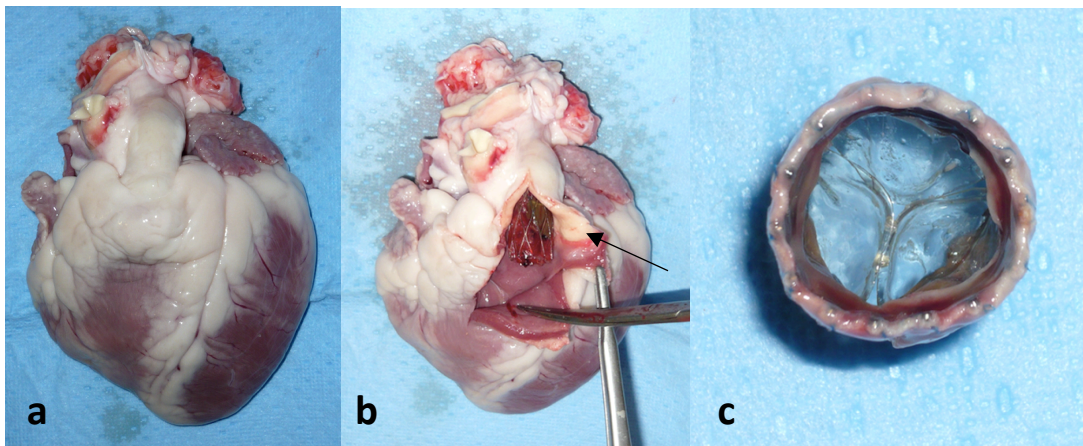


Abb. 32: Post mortem Analyse PU 1: (a) Herz, Ansicht von dorsolateral; (b) nach Eröffnung des RV, Stent gut sichtbar, Stentbett (Pfeil) unauffällig; (c) nach Stentextraktion, Ansicht von oben, Segel zart und intakt; RV: rechter Ventrikel

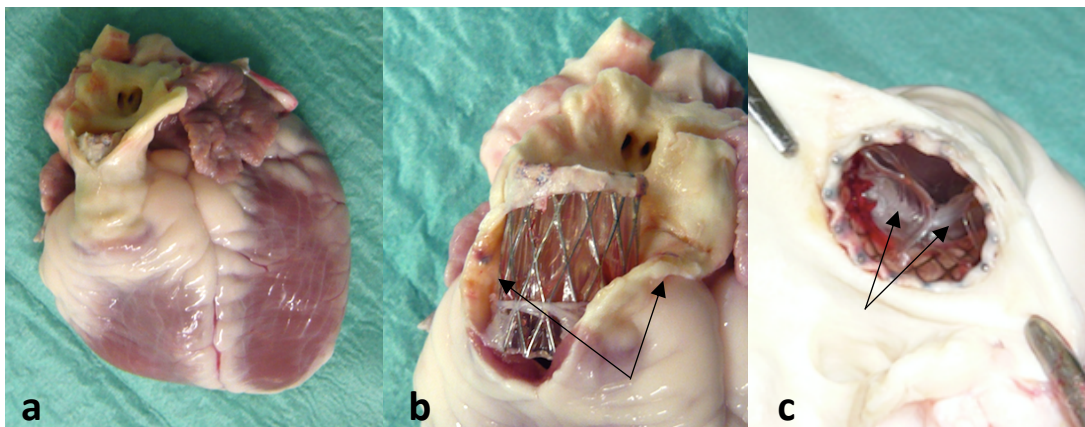


Abb. 33: Post mortem Analyse PU 2: (a) Herz, seitr. Ansicht; (b) nach Eröffnung der PA, Stent gut positioniert, Stentbett (Pfeile) o.B.; (c) in situ Einsicht in den Stent von oben, leichte fibrinöse Auflagerungen auf den Segeln (Pfeile); PA: Pulmonalarterie; o.B.: ohne Befund

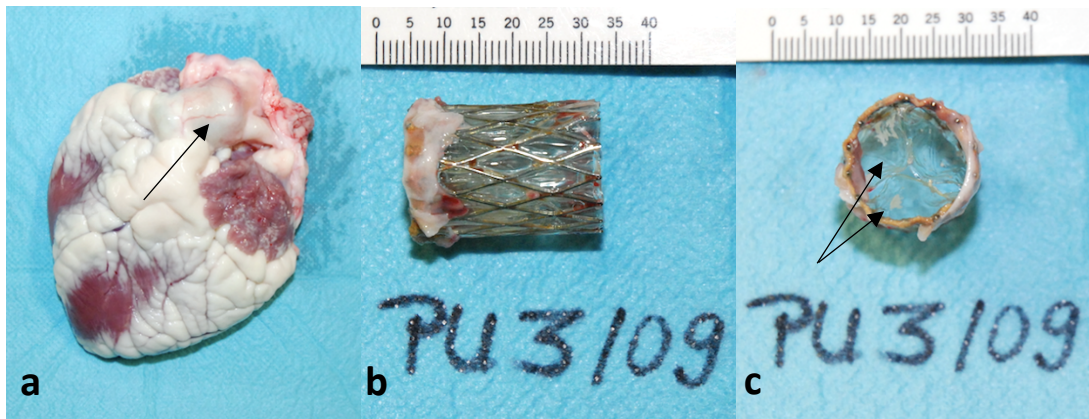


Abb. 34: Post mortem Analyse PU 3; (a) Herz, seidl. Ansicht, Pfeil: Lage d. Stents; (b) nach Extraktion, Nitinolgerüst intakt, Gewebe unauffällig; (c) Ansicht von oben, Klappensegel zart, diskrete fibrinöse Auflagerungen (Pfeile)

3.3.2 Makroskopische Ergebnisse Gruppe 2

Über die zweite Gruppe ist zu berichten, dass bei allen drei Tieren eine Vergrößerung der rechten Kammer zu beobachten war. Die Klappenstents waren jeweils gut positioniert, das Nitinolgerüst unbeschädigt und endothelialisiert. Jedoch konnten bei den verfrüht verstorbenen Tieren PU 5 und PU 7 entzündliche Veränderungen am Stentbett lokalisiert werden, die zum Teil sehr ausgeprägt waren (PU 7). Auch beim verbleibenden zwölf Wochen Schaf PU 4 sind ähnlich inflammatorische Prozesse aufgetreten (Abb. 35). Weiterhin sind an der Klappenebene und teilweise auch am Stentbett (PU 7) massive, vegetationsähnliche Strukturen ausgemacht worden. Der Verdacht, dass PU 7 an einer Endokarditis verendet ist, hat sich sinngemäß dadurch erhärtet. Ferner ist davon auszugehen, dass die beiden anderen Versuchstiere ebenso an einer fulminanten Herzinnenhautentzündung gelitten haben.

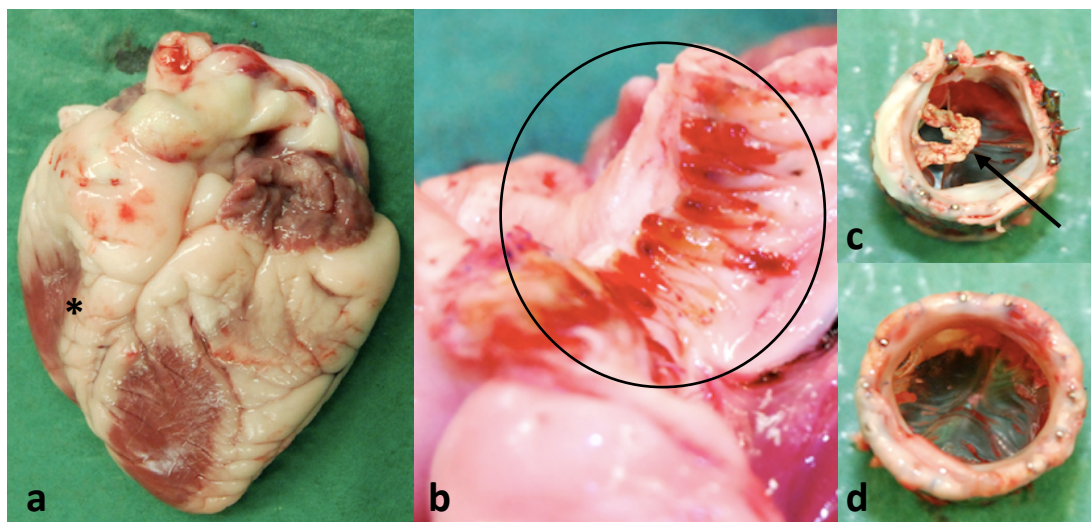


Abb. 35: Post mortem Analyse PU 4; (a) dorsolat. Ansicht, vergrößerter RV (Stern); (b) Stentbett entzündlich verbacken (Kreis); (c) Stentansicht von unten: Vegetation (Pfeil) unterhalb der Klappenebene; (d) nach Entfernung d. Vegetation, PCU-Segel zart und intakt; RV: rechter Ventrikel

Die Bilder zeigen, in welchem Maße die einzelnen Herzen betroffen sind. Auf der Abbildung 36b imponieren eine starke Gewebsschwellung und hämorrhagisch-nekrotisierende Areale an der Stelle, an der sich der Stent befand.

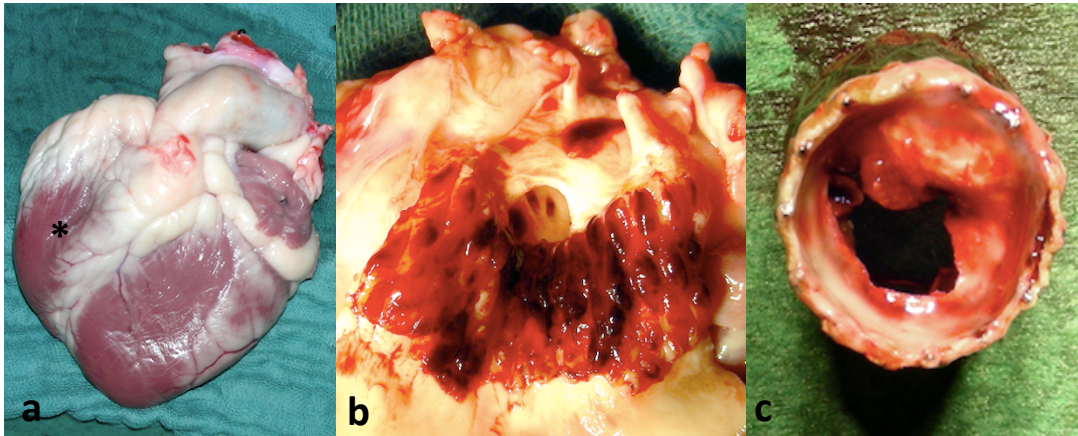


Abb. 36: Post mortem Analyse PU 5 (a) seitr. Ansicht Herz, vergrößerter RV (Stern); (b) Stentbett ödematös aufgequollen, fibrinoid entzündet; (c) Stentansicht von unten: massive Vegetation; RV: rechter Ventrikel

Die bei PU 7 durch die zahlreichen Vegetationen entstandene Obstruktion im rechtsventrikulären Ausflusstrakt hat zur enormen Vergrößerung des betroffenen Ventrikels beigetragen (Abb. 37a). Die verheerende Kombination aus Endokarditis und die daraus resultierende Rechtsherzbelastung hat letztlich am 64. Tag zum Tod des Tieres geführt.

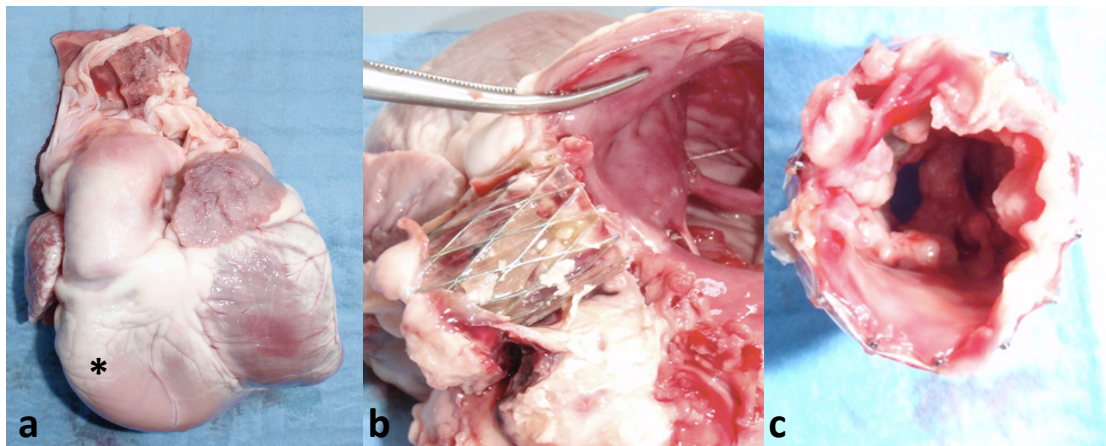


Abb. 37: Post mortem Analyse PU 7 (a) dorsolat. Ansicht, RV (Stern) durch Druckbelastung größer als LV; (b) Stent und Stentbett blumenkohlartig befallen, Nitinolgerüst intakt; (c) Stenteinsicht von oben, PCU-Segel aufgrund von Vegetationen nicht mehr zu unterscheiden; LV: linke Kammer

3.3.3 Makroskopische Ergebnisse der Gruppe 3

Die makroskopische Untersuchung der Herzen aus der dritten Gruppe ergab überwiegend keine pathologischen Befunde. Die Herzhöhlen verhielten sich anatomisch normal, die restlichen kardialen Strukturen, wie z.B. das Trabekelwerk und die anderen Klappen präsentierten sich anstandslos. Das Endokard war ebenso intakt wie die Polycarbonat-Klappe

und der dazugehörige Nitinol-Stent. Es waren keine Verwachsungen erkennbar. Die zuerst implantierten Prothesen der Versuchstiere PU 14 und PU 15, bei denen eine Stentmigration nach der Freisetzung in Richtung Pulmonalarterienbifurkation stattgefunden hatte, waren entfaltet und beide funktionslos, so dass sie nach einer kurzen Inspektion auf grobe Pathologien nicht weiter berücksichtigt wurden.

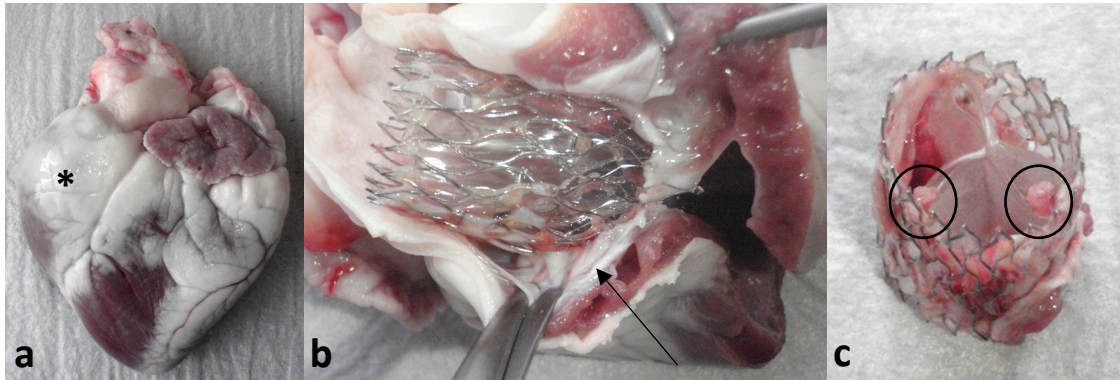


Abb. 38: Post mortem Analyse PU 12 (a) seitl. Ansicht, normal großes Herz und RV; (b) Eröffnung des Stentbetts, Nitinolgerüst unversehrt, lediglich diskrete Fibrinauflagerung (Pfeil); (c) extrahierter Stent, Ansicht von oben, PCU-Segel erhalten, mit Kreis markierte Stellen keine Vegetationen, sondern umliegendes Gewebe; RV: rechter Ventrikel

Sowohl bei PU 12 (Abb. 38) als auch bei PU 14 (Abb. 39) erwies sich die Lage der Stents als optimal. Die native Pulmonalklappe war bedeckt, jedoch ragte der basale Anteil des Nitinolgerüsts nicht zu tief in die rechte Kammer, so dass der physiologische Blutfluss nicht behindert wurde. Derartiges Ergebnis ist bei der Positionierung der zweiten PCU-Klappe im zuletzt implantierten Tier (PU 15) nicht ganz gelungen (Abb. 40). Hier hätte ein einige Millimeter weiter distal abgeworfener Stent die Strömungsverhältnisse weniger bis gar nicht beeinträchtigt.

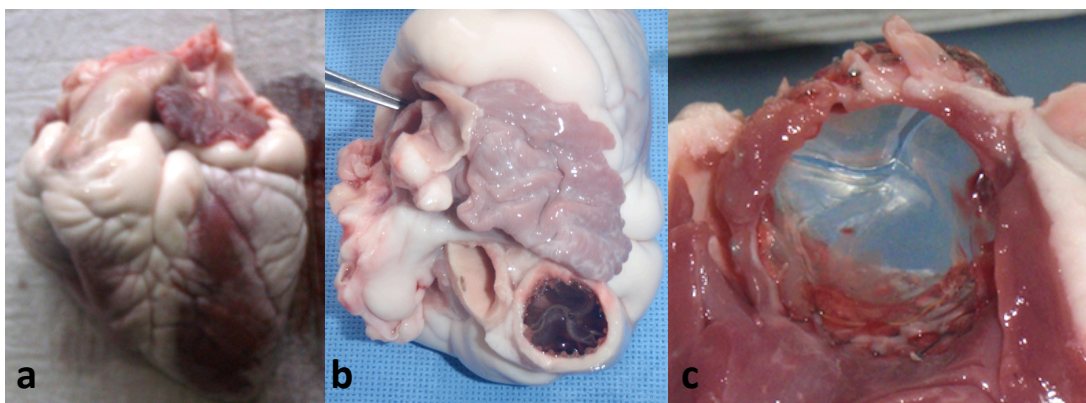


Abb. 39: Post mortem Analyse PU 14 (a) seitl. Ansicht, normal konfiguriertes Herz; (b) Einsicht von oben, Klappe völlig unversehrt; (c) Klappenansicht von unten, Stent gut eingewachsen, zarte PCU-Segel

Neben der Prothesenposition hat sich zudem beim PU 15-Schaf der Nitinol-Stent nicht vollständig entfaltet. Zwar ist die Funktion erhalten geblieben, jedoch ergab sich ein

paravalvuläres Leck (PVL) (Abb. 40b). Das bedeutet, dass das Blut unabhängig vom Klappenschluss an der Prothese vorbeifließen und somit auch in der Füllungsphase des Herzens (Diastole) Blut aus der Pulmonalarterie wieder zurück in die rechte Kammer gelangen konnte. Eine derartige Leckage würde auf Dauer zu einer Volumenbelastung des rechten Ventrikels, einer damit einhergehenden Erweiterung der Herzhöhle und langfristig zu Funktionseinbußen führen.

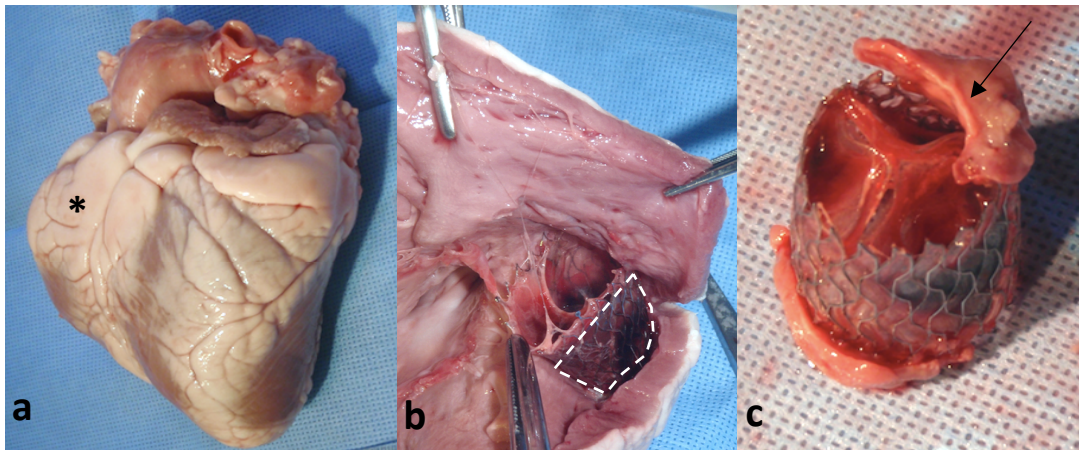


Abb. 40: Post mortem Analyse PU 15 (a) seitl. Ansicht Herz, noch normaler RV (Stern); (b) Ansicht auf Stent von RV aus, gestrichelte Umrandung kennzeichnet PVL, Stent relativ weit in rechter Kammer; (c) Stent von oben, Pfeil kennzeichnet normales Gewebe, welches im Rahmen der Explantation mitentfernt wurde, keine Vegetation; RV: rechter Ventrikel

3.4 Mikroskopische Auswertungen

Die in 2.9 beschriebenen histologischen Färbungen wurden bei jedem Tier durchgeführt. Die Betrachtung geschah mittels Zeiss Axiovert 135-Mikroskop (Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) in 10-, 20- und 32-facher Vergrößerung, die Bildaufnahmen anhand einer integrierten AxioCam, ICc 1-Kamera. Je nach Färbemethode wurden unterschiedliche Aspekte analysiert und verglichen. Die Auswertung der Schnitte erfolgte unter der Aufsicht und in Zusammenarbeit mit der Biologin Frau Dr. Anja Metzner aus dem Team der experimentellen Herzchirurgie.

Da es sich im Falle des Stentbetts um den Bereich zwischen rechten Ventrikel und vorwiegend der Pulmonalarterie handelt, sind die entsprechenden Bestandteile abgebildet. Die Arteria pulmonalis ist eine Arterie vom elastischen Typ, die aus glatter Muskulatur, Kollagen und elastischen Fasern besteht. Ziel der Untersuchung war es, die Struktur der genannten Bereiche zu beurteilen und Störungen der Mikroarchitektur festzustellen.

3.4.1 Ergebnisse der H.E.-, Movat-Pentachrom- und Elastika-von-Gieson Färbung

Nachdem die genannten Färbeverfahren dem Zweck der Übersicht dienen, werden die Resultate in diesem Abschnitt zusammenfassend präsentiert.

In der ersten Gruppe konnte man bei allen drei Tieren reguläre Gewebeformationen sehen. Die Textur der Arterienwand war nicht gestört, die elastischen Fasern intakt und keinerlei Zeichen einer Entzündung waren nachweisbar.

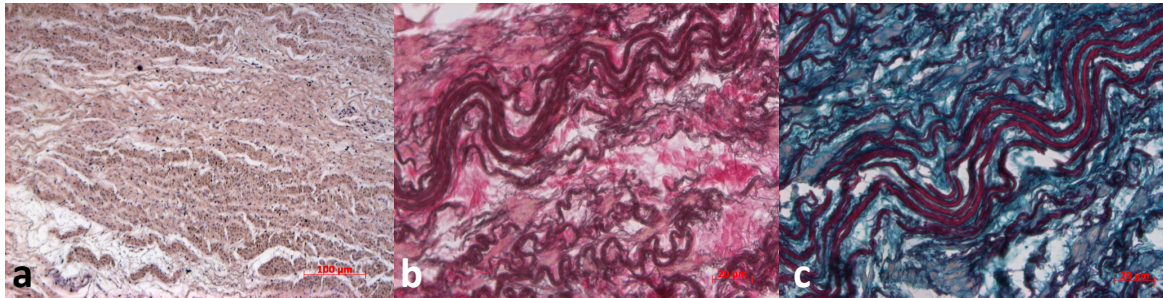


Abb. 41: Übersichtsfärbungen PU 3 (a) H.E., 10x; (b) E.v.G., 32x und (c) M.P., 32x: Darstellung intakter elastischer Fasern

Die im Querschnitt konzentrisch angeordneten Lamellen der glatten Muskulatur sind überall gut zu erkennen. Weiterhin kann man bei einigen Schnitten den dreischichtigen Wandaufbau des Gefäßes mit Intima innen, Media in der Mitte und der äußeren Adventitia differenzieren (Abb. 42b).

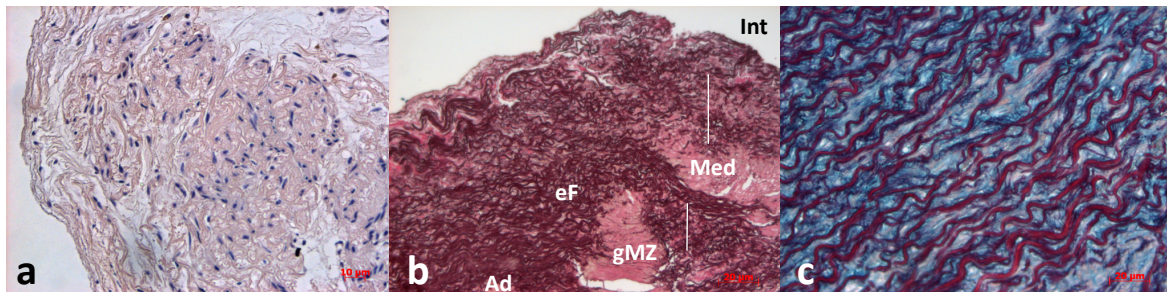


Abb. 42: Übersichtsfärbungen PU 2 (a) H.E., 10x: reguläre Struktur, glatte MZ mit ZK; (b) E.v.G., 10x: dreischichtiger Wandaufbau mit eingewebten glatten MZ im elastischen Fasernetz; (c) M.P., 32x: Verlauf der elastischen Fasern im BG; gMZ: glatte Muskelzellen; ZK: Zellkerne; BG: Bindegewebe; Int: Intima; Med: Media; Ad: Adventitia; eF: elast. Fasern

Eine sogenannte Membrana elastica interna und Membrana elastica externa aus weiteren elastischen Fasern begrenzen die Media zur Innen- und Außenschicht. Dieses Merkmal weisen vor allem herznahe Arterien auf, da sie sich gesondert an die herrschenden Druckverhältnisse anpassen müssen. Man bezeichnet diese Art von Gefäß unter anderem auch als Arteria elastotypica.

Die Befunde der makroskopischen Betrachtung der zweiten Gruppe haben sich ebenso mikroskopisch in den Übersichtsfärbungen weiter bestätigt. Zellherde von Leukozyten ließen sich nachweisen, teilweise war eine fibrinoide Nekrose mit Gewebsödem und Fragmentierung

der elastischen Fasern zu sehen (Abb. 43a). Da diese Bruchstücke in Zelldetritus, Fibrin und Serumbestandteile eingebettet sind, wirken die Strukturen im Bild unscharf und insgesamt aufgequollen (Abb. 43b). Durch die Eosinophilie dieses Milieus entsteht bei der Elastika-von-Gieson Färbung der kräftig violette Ton. Zudem kam es im Zuge der Endokarditis in einigen Fällen zur Einblutung ins Gewebe. Die Darstellung der Erythrozyten trat besonders in der Movat-Pentachrom Färbung zum Vorschein (Abb. 43c).

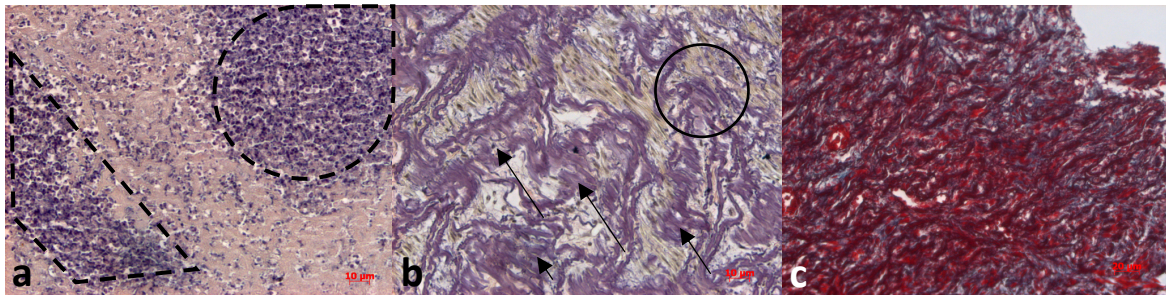


Abb. 43: Übersichtsfärbungen PU 7 (a): H.E., 20x: Leukozytenansammlungen (gestrichelte Bereiche), auch dazwischen Infiltrierungen zu sehen; (b) E.v.G., 32x: fibrinoide Nekrose mit fragmentierten elastischen Fasern (Kreis), Ödem und sich zersetzenden Anteilen (Pfeile); (c) M.P., 20x: ubiquitäre Erythrozyteneinwanderung (rot)

Bei den Tieren aus der dritten Gruppe zeigten die Übersichtsfärbungen keinerlei Unregelmäßigkeiten in der Beschaffenheit des Gewebes. Die Zellen präsentierten sich normal, Entzündungszeichen waren nicht zu detektieren. Das extrazelluläre Gewebe war ebenso anatomisch unauffällig (Abb. 44).

Zusammenfassend kann man sagen, dass sich wie schon bei der post mortem Analyse angedeutet die erste und dritte Gruppe blande offenbart hat. Die Ergebnisse der zweiten Gruppe hingegen ließen sich durch die histologische Übersichtsfärbung weiter untermauern.

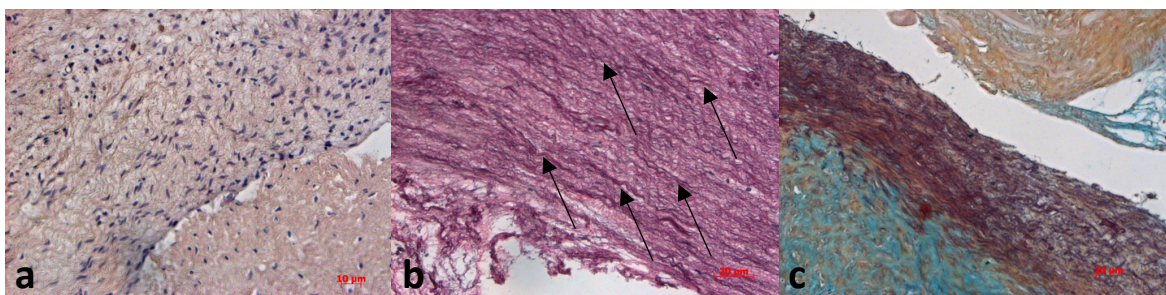


Abb. 44: Übersichtsfärbungen PU 12 (a) H.E., 32x: glatte Muskulatur mit Zellkernen; (b) E.v.G. 32x: elastische Fasern sind intakt (Pfeile) und durchziehen das Gewebe; (c) M.P., 20x: unauffälliger Befund

3.4.2 Ergebnisse der Versilberung nach Kossa

Um verkalktes Gewebe darzustellen, wurde die Versilberung nach Kossa durchgeführt. Dabei war auffallend, dass weder in Gruppe 1 noch in Gruppe 3 Kalkablagerungen im Stentbett belegbar gewesen sind. Die drei Tiere aus der zweiten Gruppe waren bedingt betroffen. Bei PU 4 und PU 7 waren in einigen Bereichen beginnende Verkalkungen in Form von Mikrospots beziehungsweise entlang der Intima zu erkennen. Eine ausgeprägte Stelle wurde bei PU5 gesehen (Abb. 45).

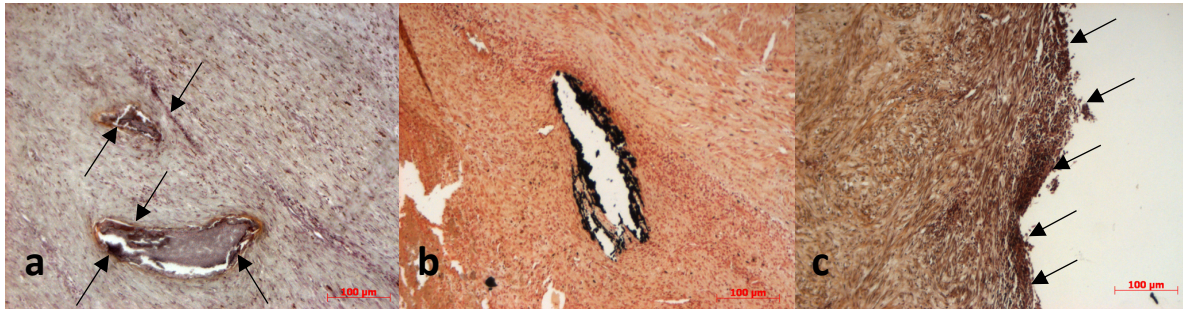


Abb. 45: Versilberung nach Kossa Gruppe 2 (a) PU 4, 10x und (c) PU 7, 10x: Pfeile markieren beginnende Verkalkung; (b) PU 5, 10x: deutliche Verkalkung (schwarz angefärbt) in der Bildmitte

3.4.3 Immunhistologische Färbungen

Bei den immunhistochemischen Präparaten wurden die positiv angefärbten Zellen mit Hilfe eines aufgelegten Rasters ausgezählt. Das Vorhandensein von 20 bis 40 Zellen galt als Entzündungsreaktion zweiten Grades, 40 bis 60 als eine dritten Grades und ein Vorkommnis jenseits der 60 Zellen ist als schwere Immunantwort vierten Grades gedeutet worden. Unter den ersten Grad fielen 10-20 Zellen, alles darunter sprach gegen eine Inflammation.

Als Fazit ist zu nennen, dass bei zwei Schafen, PU 1 und PU 14, keinerlei Immunzellen aufzufinden waren. Bei allen anderen Versuchstieren traten unterschiedliche Entzündungsgrade auf. Genauer ist Tabelle 16 und 16.1 (Anhang, S. 155) zu entnehmen. Markant sind hierbei die Resultate der zweiten Gruppe. Annähernd alle Färbungen beherbergen die Anwesenheit von über 60 Zellen, was als eine außerordentlich starke Immunantwort gewertet wurde. Die Interpretation dieser Ergebnisse wird im Abschnitt 4.1 (S. 100) genauer dargestellt. Auf den Abbildungen 46 und 47 kann man beispielhaft das Fehlen einer Immunantwort (PU 14) mit einer schweren Entzündungsreaktion (PU 7) vergleichen. Während auf den Präparaten des einen Versuchstieres keine braunen Zellen nachzuweisen sind, durchziehen bei PU 7 zahlreiche positiv angefärbten Zellnester die Gewebeschnitte.

		CD3	CD20	CD45	CD68
Gruppe 1	PU 1	0	0	0	0
	PU 2	0	0	II	III
	PU 3	I	II	I	II
Gruppe 2	PU 4	IV	IV	IV	III
	PU 5	IV	IV	IV	IV
	PU 7	IV	IV	IV	IV
Gruppe 3	PU 12	I	0	II	II
	PU 14	0	0	0	0
	PU 15	0	I	I	I

Tab. 16: Entzündungsgrade nach Auszählung CD3-, CD20-, CD45- und CD68-positiver Zellen: Entzündungsgrade nach Zellzahl: 0-10: 0 (fehlend); 10-20: I. Grades (mikro); 20-40: II. Grades (mild); 40-60: III. Grades (mittel); >60: IV. Grades (schwer)

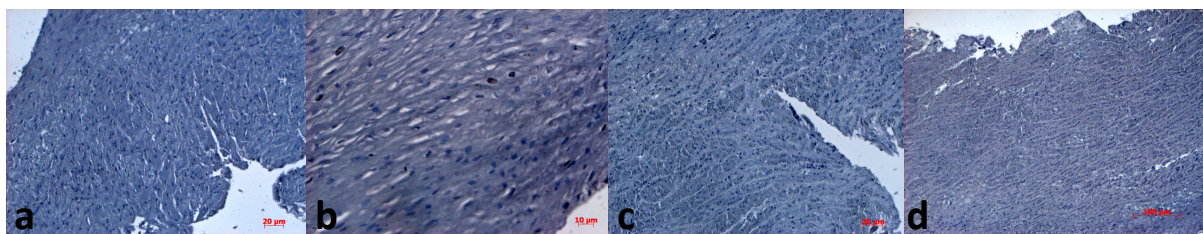


Abb. 46: Immunhistochemie PU 14 (a) CD3, 20x; (b) CD20, 32x, (c) CD45, 20x; (d) CD68, 10x

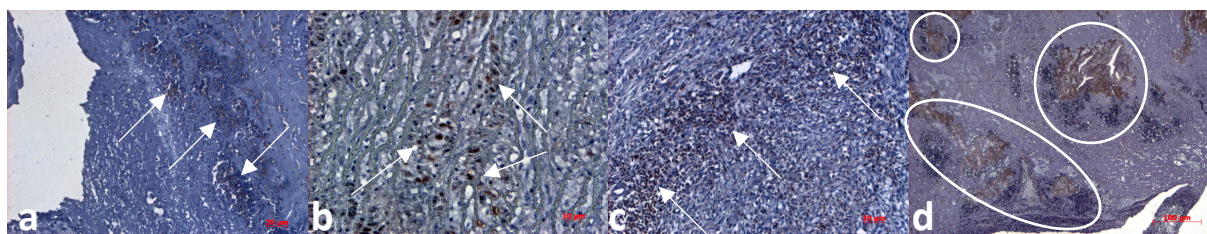


Abb. 47: Immunhistochemie PU 7 (a) CD3, 10x, (b) CD20, 32x, (c) CD45 20x und (d) CD68, 10x: Pfeile bzw. Kreise markieren positiv angefärbte Zellen/ Zellnester

3.4.4 Prokollagen III-Färbung

Kollagen III ist fester Bestandteil der extrazellulären Matrix des Herzens. Aufgrund dessen ist es in allen untersuchten Schnitten nachweisbar. Aus visueller Sicht entsteht der Eindruck, dass in der Gegenüberstellung der drei Gruppen verhältnismäßig der niedrigste Anteil in der ersten Gruppe und der höchste Gehalt an Prokollagen III in der zweiten Gruppe wahrzunehmen ist (Abb. 48). Da jedoch keine quantitative Messung mittels Radioimmunoassay stattgefunden hat, beruhen diese Erkenntnisse auf der subjektiven Ansicht des Untersuchers, welche durch einen zweiten, erfahrenen Betrachter konfirmiert wurden. In welchen Zusammenhang diese Beobachtungen gebracht werden können, wird in der Diskussion unter 4.1 tiefergehender behandelt.

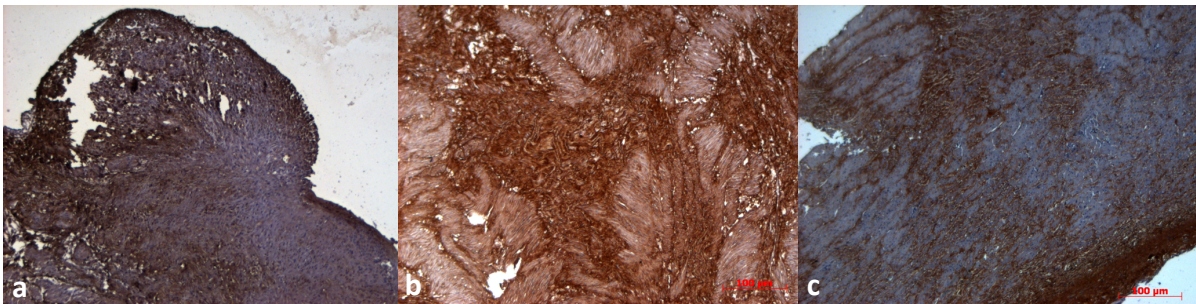


Abb. 48: Prokollagen III-Färbung (a) PU 3, 10x: braun gefärbtes Areal v.a. in der linken Bildhälfte; (b) PU 4, 10x: gesamtes Bild tief braun gefärbt, spricht für einen hohen Anteil Prokollagen III; (c) PU 14, 10x: relativ gleichmäßig durchgezogene braune Prokollagen III-Struktur

3.5 REM-Ergebnisse

Ziel dieser Betrachtung war es, die Erprobung von Polycarbonat-Urethan als Gerüstmaterial zu testen und zu untersuchen, ob eine Zellbesiedelung grundsätzlich möglich ist.

Die über das Dip-Coating-Verfahren (Abschnitt 2.3) hergestellte Polycarbonat-Urethan-Klappe weist rasterelektronenmikroskopisch eine unregelmäßige Oberflächenstruktur auf (Abb. 49).

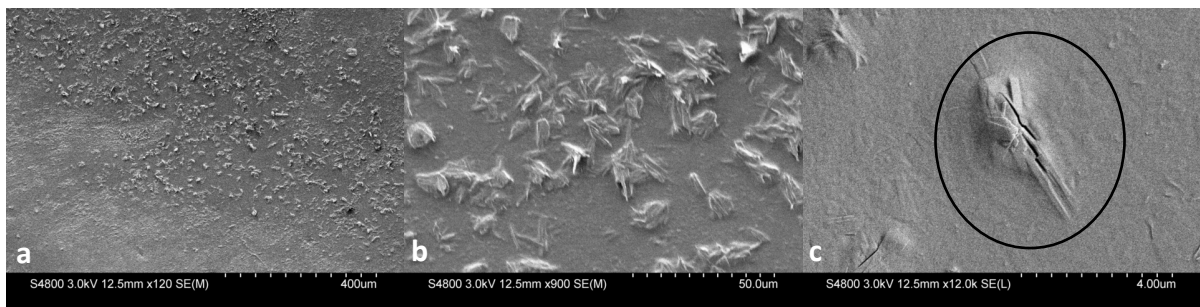


Abb. 49: REM-Bilder native PCU-Klappe (a) 120x: großflächig raue Oberflächenstruktur; (b) 900x: unterschiedliche Morphologie der Oberflächenstruktur; (c) 12,0k: einzelne Darstellung einer Aufrauhung (Kreis)

In den Bildern sind eindeutig großflächige Bereiche mit Aufrauhungen unterschiedlicher Ausprägung zu sehen. Mustert man eine davon genauer, kann man Auffaltungen, Erhebungen und Furchen erkennen (Abb. 49c).

Nimmt man sich nun die Proben der dynamischen Besiedelung vor, lässt sich fast über die ganze Fläche verteilt eine Zellschicht mit kleinflächigen Unterbrechungen erfassen (Abb. 39a), wobei an einigen Stellen eine vermehrte Ansammlung von Zellen im Vergleich zu anderen Arealen festzustellen ist. Je nach Detektor am Rasterelektronenmikroskop, kann man eine andere Ansicht und damit auch Plastizität erzielen. In den Abbildungen 39a und 39b ist zum Beispiel der sogenannte „upper“ Detektor verwendet worden, in der die Organismen eher hell erscheinen und das PCU dunkel (Abb. 50a). Vergleicht man das mit der Abbildung 39c, geht aus dieser eine verstärkte Dreidimensionalität hervor. Dieser Effekt entsteht dadurch, dass man über den „lower“ Detektor eine seitliche Perspektive einnimmt und somit Schattierungen resultieren. Insgesamt erinnert diese Optik an ein Negativ. Man kann in der 8,00k-fachen Vergrößerung deutlich eine Zelle und deren Bestandteile erkennen. Die kugeligen Strukturen sind Proteine, das Material und die „Stränge“ dazwischen die zellulären Organellen, wie z. B. Mitochondrien oder das Endoplasmatische Retikulum. Es handelt sich in jedem Fall um hochorganisierte Systeme. Die dynamische Besiedelung kann somit als erfolgreich gewertet werden.

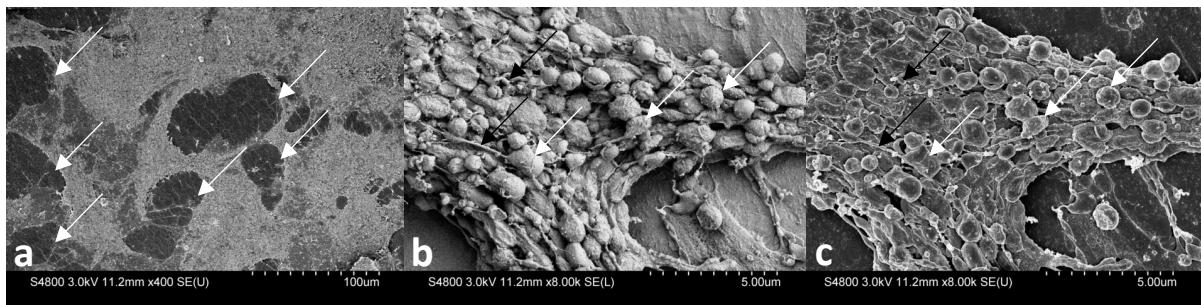


Abb. 50: REM Aufnahmen dynamisch besiedelter PCU-Klappe (a) 400x: dunkle Areale (Pfeile) zeigen auf das Polymer, helle Bereiche bilden die Zellschicht; (b) 8,00k-fach, Zelle: Proteine (weiße Pfeile) und weitere Organellen (dunkle Pfeile); (c) 8,00k-fach, gleiche Aufnahme wie (b) mit „lower“ Detektor

Bei der Analyse der statischen Kultivierungs-Präparate fällt ebenso auf, dass eine Zell-Anheftung gelang. In weiten Teilen entsteht der Eindruck, dass diese weniger gleichmäßig und dicht als bei der dynamischen Methode ist, jedoch trotzdem aussichtsreich. Singuläre Zellen sowie Zellverbände mit zwischenliegender extrazellulärer Matrix können unter anderem gesichtet werden (Abb. 51). Insgesamt erscheint die Besiedelung eher fleckenförmig und unregelmäßig. Während an einigen Stellen eine höhere Zelldichte herrscht, befinden sich

anderweitig eher nur vereinzelt Zellen. Auf Abbildung 51b ist ferner ein Riss zu sehen, der vermutlich bei der Vorbereitung der Proben während der Gold-Palladium-Beschichtung entstanden ist.

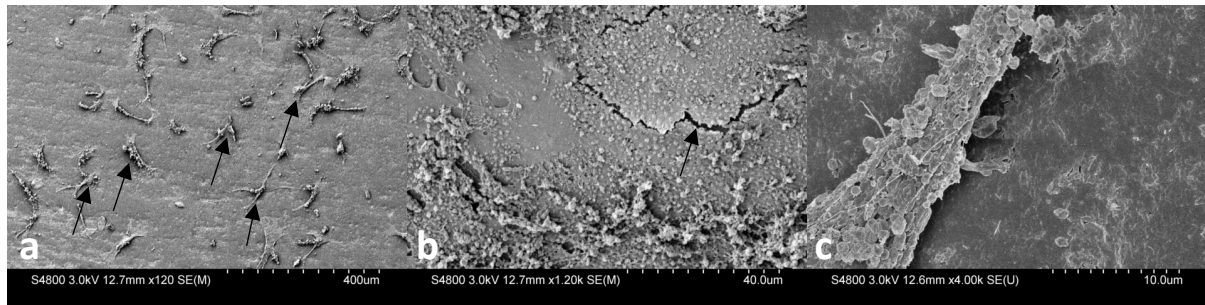


Abb. 51: REM-Aufnahmen statisch besiedeltes PCU (a) 120x: einzelne Zellen zu sehen (Pfeile); (b) 1,20k-fach: Zellverband am unteren Bildrand mit extrazellulärer Matrix dazwischen, Riss (Pfeil); (c) 4,00k-fach: Ausläufer eine Zelle stark vergrößert, Proteine und Zellbestandteile genauer zu erkennen

Zusammenfassend ist bei beiden Verfahren des Tissue-Engineerings ein positives Ergebnis zu beobachten. Die Tatsache, dass das native Polymer durch die hiesige Herstellungstechnik ein nicht vollkommen glattes Oberflächenrelief aufweist, trägt sicherlich dazu bei, dass sich Zellen an dieses Material heften können. Detaillierte Auseinandersetzungen mit dieser Thematik können im Abschnitt 4.1 (S. 108) nachgelesen werden.

4. Diskussion

Die tierexperimentelle Studie „Perkutaner Pulmonalklappenersatz mit Polycarbonat-Urethanklappen zur Behandlung von Pathologien des rechtsventrikulären Ausflusstraktes im Schafmodell“ der experimentellen Herzchirurgie des Universitätsklinikums Schleswig-Holstein, Campus Kiel, dient dieser Dissertationsschrift zur Erörterung der erhobenen Daten. Es wurde ganzheitlich evaluiert, welche Auswirkungen die Implantation einer innovativen Polycarbonat-Urethan Prothese in einem selbstexpandierenden Nitinol-Stent auf den Organismus der Tiere ausübt. Dabei wurde besonderes Augenmerk auf die technische Durchführbarkeit, das hämodynamische Strömungsprofil, die Thrombogenität, strukturelle Veränderungen am Herzen nach der Implantation, das Verkalkungsverhalten, die körpereigene Immunreaktion der Schafe auf die Klappe und die Eignung des Materials als Anheftungsmatrix im Rahmen des Tissue-Engineerings gelegt. Diese Beobachtungen über unterschiedliche Zeiträume wurden in einem zweiten Schritt miteinander verglichen.

Als Fortführung der Arbeiten von Herrn PD Dr. Tim Attmann, Herrn Dr. Christian König und Frau Dr. Anja Metzner gehen diese Analysen nun aufgrund des ausgebauten Studiendesigns eine Stufe weiter in der Erforschung von Polycarbonat-Urethan Prothesen als mögliche Alternative bei der Behandlung von Pulmonalklappenerkrankungen.

4.1 Erörterung der Versuchsdaten

Stentfraktur und technische Probleme

Die technische Versuchsdurchführung lief in fast allen Fällen reibungslos ab und die Komplikationsrate war ebenso gering. Die meisten der bisher von anderen Forschungsgruppen beschriebenen Probleme beim perkutanen Pulmonalklappenersatz, zum Beispiel die Stentfraktur, wurde in keinem der Versuchstiere gesehen. Die Inzidenz einer Stentfraktur bei der Implantation der in einem Platin-Iridium-Stent angebrachten, klinisch eingesetzten Melody™-Prothese beträgt etwa 20 % bis 31 %, von denen sich bei ca. einem Drittel der Patienten erhöhte rechtsventrikuläre Drücke und transvalvuläre Gradienten durch Stentfragmente entwickeln. Ein besonderes Risiko besteht vor allem für Patienten, die nicht voroperiert sind, Conduits ohne Verkalkung haben oder eine ausgeprägte Retraktion des RVOTs mit sich bringen (Nordmeyer et al., 2007) (Lurz et al., 2009, Nordmeyer et al., 2011). Die Stentbrüche bedingen oftmals eine Schädigung der künstlichen Klappe mit der möglichen

Folge einer Obstruktion und dem Bedarf einer wiederholten Nachdilatation, einer weiteren Stent- bzw. Klappenimplantation oder gar einer Operation (Bauner and Kozlik-Feldmann, 2013). Die Stentfraktur ist ein relativ häufiges Phänomen, das bei unbeschichteten Metallstents nach der Implantation auftritt. Im Falle von RVOT-Conduit-Stents beträgt die Prävalenz etwa 43 % (Peng et al., 2006). Die Tatsache, dass der Stent direkt hinter der vorderen Brustwand und damit sehr oberflächlich sitzt und dadurch von Herz und Brustbein komprimiert wird, wird als möglicher Grund diskutiert (Murugan et al., 2005). Zwar besitzen Metallstents eine hohe Radialstärke, doch sind sie weniger darauf ausgelegt, asymmetrisch zyklische Druckspannung im kardialen Kontext auszuhalten. Auch in anderen Positionen, zum Beispiel in der femoropoplitealen Region, in der die Stents einer Druckbelastung ausgesetzt sind, kommt es mit 37,2 % relativ häufig zu Frakturen (Scheinert et al., 2005). Zur Reduzierung von Stentbrüchen beim Pulmonalklappenersatz ist daher in indizierten Fällen die Insertion eines oder mehrerer Prä-Stents empfohlen (Demkow et al., 2011) (Nordmeyer et al., 2011). Die herausragenden Eigenschaften wie der shape-memory-Effekt, die damit verbundene Superelastizität und die Deformationseigenschaften statten die Metalllegierung aus Nickel und Titan hingegen mit einer einzigartigen Ermüdungsresistenz aus (Mahtabi et al., 2015). Der selbstexpandierende Nitinol-Stent überwindet die äußeren Kräfte, die auf ihn wirken mit einer signifikant höheren Radialkraft. Trotz des relativ hohen Nickelanteils, weist er die gleiche Korrosionsbeständigkeit und Biokompatibilität wie andere Stentmaterialien auf (Stoeckel et al., 2004). Obwohl Nickel als toxisch gilt und etwa 10-20 % der Frauen in Europa eine Allergie aufweisen, scheint es aufgrund seiner chemisch-mechanischen Modifizierung durch Entgraten, Elektropolierung und Passivierung keine schädliche Auswirkung auf den Organismus zu haben und kann auch bei den Betroffenen eingesetzt werden (Hensten-Pettersen, 1998, Wadood, 2016) (Duerig and Wholey, 2002). Daher wird Nitinol aufgrund seiner ungewöhnlichen Beschaffenheit in vielen Bereichen der Medizin, wie unter anderem der Kieferorthopädie eingesetzt. Wie bereits in Abschnitt 2.2 erläutert, besitzt es eine 10 bis 20-fach höhere Elastizität als Edelstahl, womit die deutlich geringere Gefahr einer Stentfraktur verbunden ist. Zusätzlich ist es nicht ferromagnetisch und daher MRT-tauglich, in welchem es im Vergleich zu übrigen Metallen kaum Artefakte erzeugt (Duerig et al., 1999).

Im Abschnitt 2.2 wurden ferner die Vorzüge der Methode der selbstexpandierenden Stents (SX) im Vergleich zu den ballonexpandierenden (BX) erwähnt. Das ballonexpandierende Verfahren, das bei der Melody™- und Edwards SAPIEN-Prothese angewendet wird, birgt

durch die Ballon-in-Ballon Technik eher die Wahrscheinlichkeit einer Gefäßverletzung und beschriebener Plaque- oder Conduitrupturen (Duerig and Wholey, 2002) (Khambadkone, 2012) (Lurz et al., 2008). Das Auftreten einer Conduitruptur wurde jüngst prospektiv mit 9 % berechnet, eine starke Verkalkung des Pulmonalklappenrings und der Conduit-Typ stellten Risikofaktoren dar (Boudjemline et al., 2016).

Besteht der Verdacht, dass sich ein Nitinol-Stent nicht vollständig entfaltet hat, so kann man nach der Freisetzung noch eine Ballondilatation anschließen. Die zuvor dargelegten Eigenschaften des Nitinols erlauben die Verwendung von dünneren Ballonkathetern, die mit niedrigeren Drücken bedient werden und weniger traumatisch sind (Duerig and Wholey, 2002). Während des Implantationsvorgangs bei PU 15 ist weder angiographisch noch echokardiographisch ein paravalvuläres Leck gesehen worden. Erst später in der Nachsorgeuntersuchung wurde ein PVL auf den TTE-Bildern detektiert. Da man aufgrund der geringen Größe zunächst zuwarten wollte, hat man davon abgesehen interventionell einzuschreiten. Die makroskopische post mortem Analyse zeigte, dass bei einer längeren Überlebensdauer eine Ballondilatation durchaus indiziert gewesen wäre, um das PVL zu minimieren (Abschnitt 3.2, Abschnitt 3.3).

Weitere Vorteile der SX-Stents sind, dass durch die seitlichen Kräfte, denen das Nitinol stetig aufgrund seiner Materialbeschaffenheit ausgesetzt ist, das umliegende Gewebe bzw. Gefäß von außen, also von der Adventitia her unterstützt wird, die Stents schneller in die glatte Muskulatur einwachsen, sich endothelialisieren und eine Hyperplasie des Gewebes nicht zu einer Lumeneinengung führt. Eine langfristige Offenheit ist damit gewissermaßen gegeben. Wählt man den Nitinol-Stent ordnungsgemäß größer als den Diameter des Zielgefäßes, kann das Nitinol sich bei Remodelingprozessen oder Wachstum weiter ausbreiten und sich den veränderten anatomischen Verhältnissen genau anpassen und den Strukturen anlegen. BX-Stents halten sich eher an der Intima, die bei Hyperplasie in das Gefäßlumen hineinwächst, dadurch eine Stentkonstriktion bedingt und oftmals eine Verengung zufolge hat (Duerig and Wholey, 2002) (Duerig et al., 2000).

Kardiovaskuläre und arrhythmogene Ereignisse

Mehrere Wissenschaftler berichteten vor allem in der frühen Phase der PPVI häufiger über die potenziell letale Koronararterienkompression oder –dissektion, welche umgehend mit einer perkutanen transluminalen Angioplastie (PTCA) bzw. einem Stent versorgt werden

musste und in einigen Fällen vorübergehend eine mechanische Kreislaufunterstützung mit anschließender operativen Revision erforderte (McElhinney et al., 2010, Wittwer et al., 2014, Lurz et al., 2008, Perret et al., 2008). Fraisse et al. beschrieben in einer von ihnen durchgeführten Studie ein Risiko von 6 %, Morray et al. sprechen von 5 %, von denen 21 % Abnormitäten in der Koronaranatomie boten (Fraisse et al., 2014, Morray et al., 2013). Da angeborene Herzfehler öfter mit ungewöhnlicher Koronaranatomie einhergehen, sollte vor jedem Eingriff eine Koronarangiographie unter gleichzeitiger Ballondilatation des rechtsventrikulären Ausflusstraktes durchgeführt werden, um den Verlauf der Herzkranzgefäße bildlich darzulegen und damit verbundene Auswirkungen der perkutanen Implantation frühzeitig zu erkennen und entsprechend abzuwägen (Biermann et al., 2012, Sridharan et al., 2006).

Akutes bis hyperakutes Linksherzversagen wurde als weitere Komplikation in einigen Fällen gesehen. Durch die Wiederherstellung einer normalen Klappenfunktion und damit eines erhöhten venösen Vorwärtsflusses, steigt auch der kardiale Auswurf der linken Kammer. Dieser kann kurzzeitig eine Überforderung der linken Seite bedingen, die an geringere Blutvolumina adaptiert ist und dadurch sekundär zum kardialen Lungenödem durch den pulmonalvenösen Rückstau führen (Taggart et al., 2013). Dies kann durch den bei der Pulmonalklappenstenose vorkommenden umgekehrten Bernheim-Effekt in einigen Fällen noch weiter verstärkt werden. Während der Kontraktion des hypertrophen Myokards des rechten Ventrikels, verlagert sich die Kammerscheidewand so stark nach links, dass die Funktion und das Schlagvolumen des linken Ventrikels langfristig beeinträchtigt werden. Behebt man die Stenose und schafft physiologische Bedingungen, führt das zu einer Dekompensation der ohnehin schon funktionsverminderten linken Seite (Alsulami et al., 2014). In diesen Fällen sollte auf die Anwendung klassischer Herzinsuffizienzmedikamente zurückgegriffen werden. Zumeist ist dies ein vorübergehendes Geschehen, da sich in der Regel die linke Kammer nach kurzer Zeit an die neuen Verhältnisse anpasst (McElhinney et al., 2010). Nachdem die zwei zuletzt beschriebenen Komplikationen mit höherer Wahrscheinlichkeit bei pathologischen Zuständen vorkommen, wäre ein Auftreten im hiesigen Versuchsmodell an gesunden Schafen eher außergewöhnlich, aber dennoch möglich. Eine während der Implantation durch den Führungsdraht hervorgerufene Perforation eines peripheren Pulmonalarterienastes, die Verletzung der Trikuspidalklappe beim Vorschieben bzw. Zurückziehen des Insertionskatheters oder eine Femoralvenenthrombose hingegen sind

Probleme, die in größeren multizentrischen Studien auftraten, jedoch hier in allen Fällen durch entsprechende Technik und das speziell entwickelte Applikationssystem vermieden werden konnten (McElhinney et al., 2010, Lurz et al., 2008).

Herzrhythmusstörungen wie Bretkomplex-Tachykardien sind bei der interventionellen Pulmonalklappenimplantation perioperativ vertreten und zumeist vorübergehend. Loar et al. sprechen retrospektive analysiert von 7,5 %, ein niedriger BMI wurde als begünstigender Faktor erwähnt (Loar et al., 2016). Die während dieser Eingriffe aufgezeichneten Arrhythmien waren bei den untersuchten Schafen ebenfalls von temporärer Natur, die sich zügig nach Entfaltung des Klappenstents wieder normalisierten. Unter den sieben Tieren, die aus dem Versuch genommen wurden, bestand bei einem Schaf der Verdacht (PU 10), dass Rhythmusunregelmäßigkeiten zum plötzlichen Herztod geführt haben. Hier gab es jedoch während der Implantation technische Entladungsprobleme des Katheters, die möglicherweise das Reizleitungssystem des Herzens dauerhaft beeinträchtigt haben.

Stentmigration

Die Tiere PU 10 und PU 11 waren die Ersten, die mit konischen Stents versorgt wurden. Auch die darauffolgenden Schafe, einschließlich PU 16 erhielten das gleiche Design. Technisch gesehen, gab es bei fast all diesen Tieren außer bei PU 12 Probleme bei der Platzierung mit Stentmigration als Folge, zumeist nach distal in Richtung der Pulmonalisbifurkation. Der zweite Anlauf bei PU 14 und PU 15 erbrachte gute Ergebnisse. Auch in anderen Arbeiten stellte die akkurate Positionierung der Klappenstents eine Herausforderung dar, unabhängig davon, ob selbst- oder ballonexpandierende Stents verwendet wurden (Duerig and Wholey, 2002). Cubeddu et al. berichteten von dem Fall einer 44-jährigen Patientin, bei der es während der perkutanen Edwards SAPIEN-Implantation zu einer Stentmigration in den rechten Ventrikel kam, die in einer Notfall-Thorakotomie mit Bergung der Prothese und Conduitsersatz mündete (Cubeddu and Hijazi, 2011). Bereits die ersten Versuche der Forschungsgruppe um Bonhoeffer et al. hatten mit ähnlicher Problematik zu kämpfen, die die Anatomie des Schafherzens als mögliche Ursache in Erwägung zogen (Bonhoeffer et al., 2000a). Lurz et al. gaben ebenso in einer Studie mit 155 Patienten bekannt, dass sich bei zweien davon eine Dislokation der Melody™-Klappe ereignete (Lurz et al., 2008). Als Risikofaktoren gelten unter anderem ein Größenmismatch zwischen der Prothese und Gefäß bzw. Conduit, eine suboptimale Landungszone und ein hypermobiler RVOT (Bauner and Kozlik-Feldmann, 2013). Weitere

Gründe, die Materialwissenschaftler mit einer Wanderung des Stents in Verbindung bringen, könnten mit folgenden Effekten erklärt werden: Die Entfaltungsgeometrie des Nitinols führt zu einer zeitweiligen Verkürzung des Materials, die das Verankern des Stents verzögert und die Gefahr einer Stentmigration erhöht, vor allem wenn nicht abzusehen ist, in welche Richtung diese Verkürzung stattfindet. Über das Stentdesign kann jedoch dieses physikalische Phänomen beeinflusst und reduziert werden. Ein Ausdehnen der Stege im Gerüstaufbau, kann die Strebenverkürzung kompensieren. Einige Muster, zum Beispiel wellenförmige Rauten, wie im vorliegenden Fall, im Gegenteil sogar zu einer Verlängerung während der Expansion führen. Das Problem liegt also nicht am Material, sondern am gewählten Stentmodell (Duerig et al., 2000). Der tubuläre Stent, der zunächst verwendet wurde, ist im Laufe der Versuchsreihe modifiziert worden. Zwar bieten diese Art von geflochtenen Stents eine große Deckkraft, die substantielle Verkürzung bei der Entfaltung jedoch gab Anlass, das Stentdesign zu überarbeiten. Eine konische Form wurde entwickelt, um auch dem Conus arteriosus des RVOT anatomisch gerechter zu werden. Zugleich sind die Zellen im Gerüst S-förmig verändert worden, um der Verkürzung entgegenzuwirken und eine höhere Anpassungsfähigkeit und Flexibilität zu erreichen. Diese geschlossene Gerüstform wird von vielen Herstellern als Stentmodell gewählt, da es im Vergleich zu offenen Zellen, die nur punktuell durch Streben verbunden sind, optimal als Gerüstkonstellation geeignet ist (Stoeckel et al., 2002).

Zum selbstexpandierenden Stent muss angeführt werden, dass der Teil, der zuerst aus dem Applikationskatheter geschoben und so von den komprimierenden Kräften befreit wird, aufgrund seiner Elastizität Tendenzen hat, wegzuspringen, ähnlich einer Metallfeder, die nicht mehr zusammengepresst wird. Im Extremfall kann das dazu führen, dass der komplette Stent unkontrolliert aus dem Katheter entgleitet. Bei PU 14, PU 15 und PU 16 war das der Fall. Die Optimierung der Quetsch- und Längssteifigkeit und des Reibungsverhaltens können diese Neigung auf ein Minimum herabsetzen (Duerig et al., 2000).

Das Applikationssystem, das häufig eine äußere und innere Hülse beinhaltet und dadurch einer Axialspannung unterliegt, kann ferner dazu beitragen, dass die Positionierung des Stents erschwert wird. Da jedoch die benutzten Materialien zunehmend elastischer werden, verringert sich auch hier diese Disposition. Zusätzlich wird empfohlen, dem System eine Vorspannung zuzuführen. Weiterhin spielt die Erfahrung des Operators bei der Handhabung des Applikationskatheters und der entsprechenden Technik ebenso eine Rolle, die durch die natürliche Lernkurve ausgeglichen werden kann (Duerig et al., 2000). Da die genannten

Faktoren durchweg beeinflussbar sind und kontinuierlich verbessert werden, wird das Positionierungsproblem zukünftig in den Hintergrund rücken (Duerig and Wholey, 2002).

Endokarditis

Ein weiteres Problem, welches vor allem in der zweiten Gruppe und bei drei aus der Studie geschiedenen Tieren zum Vorschein trat, war die Endokarditis. Eine infektiöse Endokarditis (IE) der nativen Pulmonalklappe ereignet sich mit 1,5 % bis 2 % relativ selten (Altrichter et al., 1989). Spezifische Faktoren wie männliches Geschlecht, i.v.-Drogenabusus, Zentralvenenkatheter, Alkoholismus und angeborene Herzfehler stellen ein erhöhtes Risiko dar (Ramadan et al., 2000). Miranda et al. berichten von einer Inzidenz von 0,8 % in einer retrospektiven Studie über 14 Jahre, in der 56 % der betroffenen Patienten eine immunsuppressive Dauermedikation erhielten. Enterococcus faecalis und Streptokokken aus der Viridansgruppe machten den größten Anteil unter den Erregern aus (Miranda et al., 2015). Cremieux et. al. beschrieben in einem Zeitraum von 1972 bis 1984 zwölf Patienten mit Pulmonalklappenendokarditis, von denen nur vier kongenitale Vitien aufzeigten. Mehr als die Hälfte dieser Patienten hatten septische Embolien als Folgeerscheinung der Endokarditis (Cremieux et al., 1985). Vaideeswar et al. sprechen von einer Prävalenz von 5,8 % in ihrer untersuchten Kohorte, die Komplikationsrate betrug 55,6 % (Vaideeswar et al., 2009). Die entzündete Pulmonalklappe bildet eine seltene, aber ernst zu nehmende Erkrankung ab, die schwerwiegende Folgen mit sich bringen kann und daher eine besondere Herausforderung in der Behandlung darstellt (Hamza et al., 2004).

Nachdem Korrekturen des rechtsventrikulären Ausflusstraktes durch den chirurgischen wie interventionellen Pulmonalklappenersatz eine immer größer werdende Rolle spielen, steigt auch das Risiko einer Prothesenendokarditis. Van Dijck et al. haben in einer retrospektiven Studie die Inzidenzen verglichen, mit denen eine Pulmonalklappenentzündung bei Homografts, Contegra-Prothesen und Melody™-Klappen einhergeht und welche Faktoren dabei von Bedeutung sind. Das Auftreten in der Gruppe der perkutanen Pulmonalklappenimplantation betrug 7,5 %, der Contegra-Prothesen 20,4 % und den kryokonservierten Homografts 2,4 %. Konfirmierte Erreger unter den Patienten mit Melody™-Prothese waren Bakterien aus der HACEK-Gruppe, Corynebacterium pseudodiphtheriticum, Staphylococcus aureus, Streptococcus viridans und Streptococcus sanguinis. Prädisponierende Einflüsse waren männliches Geschlecht, Haut- und

Mundschleimhautläsionen, desolater Körperhygiene und Irregularitäten in der RVOT-Anatomie (Van Dijck et al., 2015). Eine Bakteriämie im Blut im Zeitraum von 1 bis 56 Monaten nach PPVI kam bei Buber et al. mit einer Inzidenz von 9,5 % vor, von denen die Melody™-Klappe in 2,7 % direkt involviert war (Buber et al., 2013). McElhinney et al. erhoben retrospektiv ein Endokarditis-Risiko von 2,4 % pro Patientenjahr nach Melody™-PPVI (McElhinney et al., 2013). Eine aktuelle Studie deutet darauf hin, dass die Edwards SAPIEN seltener betroffen ist. Unter der Melody™-Klappe hingegen belief sich die Inzidenz einer IE auf 5,7 % pro Patientenjahr (Hascoet et al., 2017). Malekzadeh-Milani et al. schreiben von einem kumulativen Auftreten von 11,8 % (95 % Konfidenzintervall [KI]: 8,5-15,9) (Malekzadeh-Milani et al., 2018). Villafane et al. sprechen in ihrer untersuchten Kohorte von einer Gesamtmortalität von 13 % (Villafane et al., 2014). Auch andere Autoren berichteten über zuvor genannte Mikroorganismen und räumten mögliche Risikogrößen wie vorhergehende Episoden einer Endokarditis, Taschenbildung zwischen der Prothese und dem Stentbett, Tattoos, vorhergehende Stents im betroffenen Gebiet, zahnärztliche Eingriffe, traumatische Wundinfektionen und eine fehlende Endokarditisprophylaxe nach empfohlenen Leitlinien ein (McElhinney et al., 2013, Villafane et al., 2014, Cheung et al., 2013, Buber et al., 2013, Bhat et al., 2013, Johnson et al., 2014). Patel et al. diskutierten als mögliche Prädisposition einen residualen Gradienten nach Prothesenimplantation, der zu laminaren Blutflüssen, exzentrischen Turbulenzen und Thrombogenese führt (Patel et al., 2012). Neben den häufigsten oben erwähnten Keimen wurden noch Fälle von Bartonella henselae, Moraxella catarrhalis, ebenso Pilzinfektionen mit Candida albicans und Aspergillus fumigatus beschrieben (Atamanyuk et al., 2012, McElhinney et al., 2013, Lurz et al., 2008, Alsoufi et al., 2012). Betrachtet man die Epidemiologie der pädiatrischen Endokarditis und damit assoziierte Erreger über die Jahrzehnte, so ist eine Verschiebung zu jüngeren Patienten hin und ein Spektrumshift von Bakterien aus der Gruppe der Viridans-Streptokokken hin zu den Staphylokokken und krankenhausspezifischen Erregern zu erkennen (Johnson et al., 1975, Rosenthal et al., 2010, Tseng et al., 2014, Elder and Baltimore, 2015).

Aufgefallen ist, dass bei einigen Patienten das Auftreten einer Endokarditis nach Pulmonalklappenersatz mit dem Absetzen der Thrombozytenaggregationshemmung zusammenhing (Patel et al., 2014). Kupferwasser et al. zeigten bereits 1999 in einem Kaninchenexperiment, dass Acetylsalicylsäure (ASS) im Rahmen einer Endokarditis sowohl die Anzahl renaler Embolien reduzierte als auch die Bakterienlast und –Dichte sowie das

Vegetationswachstum und die Bakterienproliferation. Weiterhin wurde eine Verbesserung der Antibiotikawirkung verzeichnet (Kupferwasser et al., 1999). Chan et al. fanden in einer randomisierten, doppel-blinden Studie heraus, dass eine hohe Dosierung von ASS (325 mg/Tag) im Vergleich zum Placebo bei Patienten, die bereits eine antibiotische Therapie erhielten, keine Verminderung embolischer Ereignisse bewirkte, stattdessen eher ein erhöhtes Blutungsrisiko mit sich brachte. Daher wurde eine Behandlung mit einem Thrombozytenaggregationshemmer als frühe Maßnahme bei infektiöser Endokarditis als nicht indiziert angesehen (Chan et al., 2003). Eine kontinuierliche ASS-Einnahme in einer Dosierung von ≤ 81 mg/Tag vor dem Ausbruch einer Herzklappenentzündung war bei einer retrospektiven Untersuchung von Anavekar et al. mit einem signifikant geringeren Embolierisiko und einer damit verbundenen niedrigeren Morbidität vereint. Ebenso wurde in einer anderen Analyse eine geringere Mortalität unter betroffenen Patienten festgestellt (Pepin et al., 2009).

Die Diagnose einer Endokarditis wird anhand der modifizierten Duke-Kriterien gestellt (Li et al., 2000). Diese umfassen zwei Hauptkriterien, zum einen positive Blutkulturen aus zwei separaten Proben mit typischen Mikroorganismen für eine infektiöse Endokarditis und zum anderen Befunde aus der bildgebenden Diagnostik wie der Echokardiographie, dem Herz-CT oder PET-CT, die auf eine Herzklappenentzündung hindeuten. Diese können Vegetationen, Abszesse, neu aufgetretene Klappeninsuffizienzen, eine teilweise Dehiszenz der Prothese, paravalvuläre Läsionen oder Nachweis pathologischer Aktivität am Rande von Klappenprothesen umfassen. Zu den Nebenkriterien zählen i.v.-Drogengebrauch oder prädisponierende Herzerkrankungen, Fieber über 38,0°C, vaskuläre Befunde wie septische Embolien, immunlogische Symptome wie eine Glomerulonephritis und mikrobiologisch positive Blutkulturen, die nicht die Hauptkriterien treffen. Eine gesicherte Diagnose wird durch Vorliegen von zwei Hauptkriterien, einem Hauptkriterium und drei Nebenkriterien oder fünf Nebenkriterien gebildet (Herold and Mitarbeiter, 2017).

Das klinische Bild erscheint nicht nur im Tiermodell selten eindeutig. Bei atypischen Erregern fehlen häufig die Symptome und Vegetationen (Tasher et al., 2012). Nicht zu unterschätzen sind bei Patienten mit angeborenen Vitien die ungewöhnliche Anatomie und die von einer Prothese erzeugten Schallschatten, die das echokardiographische Bild verändern. Die transösophageale Echokardiographie ist bekannt für eine detailliertere Darstellung der kardialen Strukturen, doch die anteriore Position des RVOTs erschwert eine Visualisierung und

bringt nicht immer das erhoffte Ergebnis. Daher sollte beim Verdacht auf eine infektiöse Endokarditis zudem an erweiterte bildgebende Verfahren wie das Kardio-CT und das 18F-FDP-PET bzw. PET-CT gedacht werden (Patel et al., 2014, Habib et al., 2015). Cheung et al. schlugen ferner vor, in Fällen eines Nicht-Ansprechens auf die antibiotische Therapie auch die intrakardiale Echokardiographie in Erwägung zu ziehen, die Aufschluss über bestehende Vegetationen geben kann (Cheung et al., 2013).

Die Schallbarkeit von Schafen birgt zusätzlich gewisse Herausforderungen in Studien. Durch die anatomische Kielbrust und die Lage des Herzens im Thorax ist die Darstellung des RVOTs und der Pulmonalklappe mit Schwierigkeiten verbunden und selten zu reproduzieren. Auch ein TEE schafft bedauerlicherweise nicht die gewünschte Abhilfe. Daher sind zukünftig zuvor genannte diagnostische Mittel auch im experimentellen Rahmen durchaus als Alternative zur bildlichen Erkennung einer Endokarditis in Erwägung zu ziehen.

Die Versuchstiere aus der Gruppe 2 waren alle von Endokarditis betroffen. PU 4 überlebte zwölf Wochen ohne Symptome und präsentierte sich die ganze Zeit über klinisch unauffällig. Die durchgeführten transthorakalen Echokardiographien erbrachten keinen Hinweis auf das Geschehen. Das Schaf PU 5 fiel mit reduziertem Allgemeinzustand, Fieber und Appetitlosigkeit auf. Im Abschluss-TTE konnten keine Vegetationen gesehen werden. Die Abschluss-Angiographie zeigte erhöhte peak-to-peak Gradienten von $13,2 \pm 5,9$ mmHg und das Bild einer starken Obstruktion mit kaum vorhandener Klappenöffnung (Tab. 17.5c, S. 164). PU 7 wies keine körperlichen Symptome auf, die Nachsorgeuntersuchung nach acht Wochen deutete auf Unregelmäßigkeiten durch einen erhöhten maximalen und mittleren Gradienten und einer Flussbeschleunigung über der Klappe hin (Abschnitt 3.2). Die Vegetation bei PU 4 befand sich direkt unterhalb der Klappensegel, im RVOT, die PU-Segel offenbarten sich als komplett intakt und nicht verändert (Abb. 35, S. 75). Die Auflagerungen bei den anderen beiden Tieren waren ausgeprägt, fleischig, ungestielt und ließen sich leicht mit der Pinzette von der Klappe lösen. Sie wirkten rosa-glänzend und führten zu einer massiven Einengung des rechtsventrikulären Ausflusstraktes (Abschnitt 3.3.2). Histologisch waren im Stentbett eine Leukozyteninfiltration, fibrinoide Veränderungen mit Gewebsödem und Einblutungen, jedoch keine Mikroorganismen zu sehen. Immunhistochemisch zeigte sich auf allen Schnitten der zweiten Gruppe eine Entzündungsreaktion vierten Grades (s. Einteilung S. 82). Ähnliche Beschreibungen sind von anderen Autoren über Vegetationen der Melody™-Endokarditis getätigt worden (Patel et al., 2014, Alsoufi et al., 2012, Atamanyuk et al., 2012). Da keine

Blutkulturen oder Abstriche vorgenommen wurden, fand kein Erregernachweis statt. Auffallend ist, dass lediglich die Tiere der zweiten Gruppe und die Tiere, die vor und nach diesen Schafen implantiert und aus der Studie ausgeschlossen wurden (Tab. 6, S. 25), nahezu den gleichen Umständen erlagen. Es wurde bei den betroffenen Versuchstieren der tubuläre Stent verwendet, der sich jedoch nicht von dem Modell der ersten Gruppe unterschied. Eine Kontamination während der Eingriffe ist unwahrscheinlich, da die Eingriffe und Klappenhandhabung alle standardisiert unter höchst strengen hygienischen Vorkehrungen durchgeführt wurden.

Ein vorangegangener Klappenthrombus kann Ausgangspunkt für das Anheften der Bakterien und die Bildung einer Vegetation sein (Patel et al., 2012, Patel et al., 2014). Im vorliegenden Fall ließ sich weder makroskopisch noch mikroskopisch eine Thrombusformation bestätigen. Nachdem die Schafe außer in Ausnahmefällen in den Stallungen zusammen gehalten wurden, stellt sich die Frage, ob sich über den Zeitraum zwischen Februar und August 2009 die Tiere untereinander an einem Erreger infizierten. Auch andere Aspekte müssen in Erwägung gezogen werden. Da es beim Menschen für gewöhnlich Situationen im Alltag gibt, in denen es zu einer Bakteriämie kommen kann, wie z.B. beim Zähneputzen, ist zu bedenken, in wie weit eine Bakteriämie bei Schafen auftritt und welche Auswirkungen diese mit sich bringen könnte. In der Literatur wurde gezeigt, dass Schafe, Labortiere im Besonderen, relativ häufig unter Parodontitis leiden (Colyer, 1947, Cutress, 1976). Insbesondere Keime der *Bacteroides*- und *Fusobacterium*-Gattung wurden in den entsprechenden Fällen extrahiert (McCourtie et al., 1990). Möglicherweise besitzen Schafe als Wiederkäuer mit spezieller oraler Flora und der Neigung zu Zahnfleischentzündung ein erhöhtes Risiko für das Eintreten von Erregern in die Blutbahn und sind damit potentiell stärker gefährdet, an einer Endokarditis zu erkranken, vor allem nach experimentellen Eingriffen. Weiterhin wurde nachgewiesen, dass domestizierte Tiere als Wirt für vielfältige *Bartonella*-Spezies gelten ohne selbst dabei Symptome auszubilden (Chomel et al., 2006). Bemis et al. konnten in einer Studie den Nachweis von *Bartonella* spp. in frischen Schafsblut nachweisen, obgleich es der Forschungsgruppe nicht gelang, diese zu kultivieren und genauer zu typisieren (Bemis and Kania, 2007). Der komplexe Magen-Darm-Trakt könnte ebenso eine Prädispositionsstelle sein, der eine Bakteriämie begünstigt. Diesbezüglich existieren bisher jedoch keine ausreichenden Daten, infolgedessen man es bei diesen Mutmaßungen belassen muss.

Polymere Materialien, die im kardialen Kontext in Benutzung sind, z.B. permanente Defibrillatoren (AICD), Schrittmacherelektroden (PPM) oder linksventrikuläre Unterstützungssysteme (LVAD) können sich ebenso mit Bakterien kontaminieren wie bioprothetische oder mechanische Klappen (Chamis et al., 2001). In einer prospektiven Studie untersuchten Maskarinec et al. über einen Zeitraum von zwölf Jahren diesen Sachverhalt. Patienten mit Herzklappenprothesen und Anuloplastie-Ringen fielen ebenso unter den Oberbegriff der „kardial eingesetzten Geräte“. Ein erhöhtes Risiko einer Infektion hatten Patienten, die eine Bakteriämie mit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Serratia marcescens* aufzeigten (Maskarinec et al., 2017). Endovaskuläre Gefäßprothesen, z.B. aus Polytetrafluorethylen (PTFE), Polyurethan (PU) oder Polyester (PE) können außerdem betroffen sein. Hier waren in einer Analyse von über 44 veröffentlichten Fällen vor allem Streptokokken- und Staphylokokken-Spezies, *Candida albicans*, *Pseudomonas aeruginosa* und *Enterobacter cloacae* festzustellen. In neueren Studien, in denen PU-Klappen im Tiermodell eingesetzt wurden, sind keine Fälle von Endokarditis beschrieben (Wheatley et al., 2000, Daebritz et al., 2004, Daebritz et al., 2003, Hashimoto et al., 2008). So auch bei den Schafen der ersten und dritten Gruppe. PCU-Klappensegel und –Stents waren makroskopisch völlig intakt (Abschnitt 3.3.1, Abschnitt 3.3.3).

Faber et al. zeigten, dass nicht-steroidale Antiphlogistika (NSAID) einen Effekt auf das Haftvermögen von *Staphylococcus epidermidis* an medizinischen Polymeren wie PU oder PTFE haben. Zwar konnte das Wachstum durch ASS oder Ibuprofen nicht signifikant behindert, jedoch die Adhärenz der Erreger deutlich gemindert werden (Farber and Wolff, 1992). *Staphylococcus epidermidis* gilt als einer der Erreger, der am häufigsten zu prothesen- und katheterassoziierten Infektionen im Krankenhaus führt. Einige Stämme produzieren einen Biofilm, der die Anheftung an Polymere begünstigt (Otto, 2009). Diese und die zuvor genannten wissenschaftlichen Erkenntnisse über den Einsatz von ASS im Zusammenhang mit einem möglichen Entstehen einer Endokarditis, regen die Überlegung an, in einer nächsten, weiterführenden Studie die peri- und postoperative Anwendung von ASS in Betracht zu ziehen, um einen positiven Effekt zur Vermeidung der frühen PU-Protheseninfektion zu verzeichnen. Weiterhin ist über die Verlängerung der perioperativen Einmalgabe der Antibiose nachzudenken.

Kalzifizierung

Das Verkalkungsverhalten von implantierten Bioprothesen, vor allem in jungen Patienten, ist einer der Hauptgründe für die begrenzte Lebensdauer dieser Herzklappen (Schoen et al., 1987, Bernacca et al., 1992, Giddens et al., 1993). Eine Vorbehandlung mit Agenzien wie Ethanol/ Aluminiumchlorid oder Zitronensäure konnte zwar die Kalzifizierungstendenz effektiv vermindern, dennoch ist damit das Problem nicht behoben, da verschiedenen Faktoren wie Alter, Geschlecht, Implantationsposition, die Prothesenfixation und -art Einfluss auf diesen Vorgang haben (Everaerts et al., 2006, Sucu et al., 2004, Clark et al., 2005, Flameng et al., 2006).

Synthetische Polymere unterliegen bisher ebenso Verkalkungs- und Degenerationsprozessen, weshalb sie sich noch nicht langfristig unter den Herzklappenprothesen etablieren konnten (Bernacca et al., 1995). Man unterscheidet die extrinsische und intrinsische Entstehung. Erstere umfasst die Anheftung von verkalktem Material an die Oberfläche, was durch Degradation des Kunststoffes zum Eindringen der kalzifizierten Anteile in die Klappensegel führen kann. Das intrinsische Kalzifizieren entsteht durch Scherkräfte ausgelöste Riss- und Spaltbildung, in welchen sich Zelltrümmer, Proteine und Mikrothromben verfangen und im Verlauf verkalken (Wheatley et al., 2000, Alferiev et al., 2001, Bernacca et al., 1995).

Die Klasse der Polycarbonat-Urethane ist vergleichsweise dem Polyester-Urethanen (PEU) in der mechanischen Beständigkeit durch die höhere oxidative Stabilität überlegen, die in einer geringeren Biodegradation resultiert (Christenson et al., 2004). Dennoch ist auch Polycarbonat-Urethan anfällig für Verkalkungen (Tang et al., 2001).

Versuche, über die Modifizierung der chemischen Struktur des Polyurethans eine Verbesserung der Biostabilität und Verringerung der Verkalkungsneigung zu erzielen, sind bisher durchaus gelungen. Die Verlinkung des weichen Segments des PEUs mit 2-Hydroxyethan-Bisphosphonsäure (HEBP) bewirkte niedrigere Ca^{2+} -Konzentrationen (Joshi et al., 1994). Bisphosphonat bzw. Diethylamino-Bisphosphonat derivatisierte Polyurethane zeigten ebenfalls im subdermalen Rattenmodell und als Pulmonalklappensegel im Schafmodell über 90 Tage eine verminderte Verkalkungstendenz im Vergleich zur Kontrollgruppe der nicht modifizierten PU-Segel (Alferiev et al., 2001, Alferiev et al., 2003).

Die Einarbeitung von POSS-Nanopartikeln (polyhedral oligomeric silsesquioxane) in das Grundgerüst von Polycarbonat-Urea-Urethan brachte nicht nur eine Optimierung der mechanischen Eigenschaften in der Zug- und Reißfestigkeit mit sich, sondern führte ebenso

zu einem Fortschritt in der Oberflächenintegrität, bezogen auf die Wasseraufnahme, die Antithrombogenität und Anheftung von Proteinen. Das wiederum bedingt eine Reduzierung des Verkalkungspotentials (Kannan et al., 2006a, Kidane et al., 2009). Verschiedene in-vitro Versuche zeigten, dass das POSS-PCU eine gute Endothelialisierung aufweist, sich auf geringe Diameter zusammenfallen lässt, in Kontrast zu biologischen und herkömmlichen PU-Prothesen diesen in den biomechanischen Gegebenheiten überlegen ist und daher als Alternative zur Herstellung chirurgischer wie perkutaner Herklappenprothesen in Frage kommt (Kannan et al., 2006c, Kannan et al., 2006b, Kannan et al., 2005, Ghanbari et al., 2010, Seifalian et al., 2005).

In der histologischen Versilberung nach Kossa des Stentbetts wurden in der zweiten Gruppe beginnende Verkalkungen ausgemacht. Bei PU 5 war eine ausgeprägte Stelle zu sehen (Abschnitt 3.4.2). Die Endokarditis könnte mit den kalzifizierten Arealen in Zusammenhang stehen.

Der am längsten untersuchte Zeitraum von sechs Monaten ist möglicherweise nicht ausreichend, um eine dauerhafte Aussage über das Verkalkungsverhalten der eingesetzten PCU-Klappe zu machen. Makroskopisch und mikroskopisch konnten in der ersten und dritten Gruppe dahingehend keine Unregelmäßigkeiten festgestellt werden, obgleich sich Schafe als Versuchstiere aufgrund des Verkalkungspotentials durchaus als valides Modell auf Erwachsene übertragen lassen (Flameng et al., 2006). Attman et al. führten 2006 erstmals eine mikropathologische Evaluation im Rahmen des perkutanen Pulmonalklappenersatzes mit bovinen Jugularvenen in Nitinol-Stents durch, wobei eine milde Verkalkung im Stentbett ohne ein Übergreifen auf die Klappensegel erfasst wurde (Attmann et al., 2007).

Daebritz et al. berichten vornehmlich von extrinsischen Verkalkungen beim Einsatz chirurgischer PCU-Klappen über 20 Wochen im Tiermodell. Die in-vitro Testungen ergaben eine Beständigkeit von 300 über 600 Millionen bis zu einer Milliarde Zyklen, was ca. 7,9, 15,8 und 26 Jahren normaler Herzfunktion beim Menschen entsprechen (Daebritz et al., 2003, Daebritz et al., 2004).

Bei Beobachtungsperioden die sechs Monate überschreiten, sollten neben der histologischen Untersuchung des Stentbetts röntgenologische und elektronenmikroskopische Untersuchungen der Klappenstents und insbesondere der Segel erhoben werden, um das Verkalkungsmuster der PCU-Klappe, die biomechanische Stabilität und eine eventuelle

Degradation detaillierter zu studieren und Spannungsrisse, intrinsische bzw. extrinsische Kalzifizierungsmechanismen an den Klappensegeln detektieren zu können.

Immun- und Fremdkörperreaktion

Alle Materialien, die in lebende Gewebe implantiert werden, führen zu einer Entzündungsreaktion beim Empfänger. Dies stellt den ersten Schritt der Wundheilung dar. Der Nitinol-Stent zum Beispiel löst im Moment der Entfaltung ein Mikrotrauma im umliegenden Gewebe aus und damit Nanosekunden später eine erste Immunantwort mit Bildung einer provisorischen Matrix (Franz et al., 2011). Diese Verletzung initiiert im Folgenden eine Kettenreaktion aus Blut-Material Interaktion, provisorischer Matrix, akuter Immunantwort, chronischer Inflammation, Granulationsgewebeformierung und Fremdkörperreaktion, die letztlich in einem Gewebeumbau mit möglicher Fibrose bzw. fibröser Kapselentstehung endet. Unterschiedliche Signalwege, die Materialeigenschaften und das betroffene Gewebe bestimmen die Stärke und Ausbildung dieser Vorgänge (Anderson, 2001). Über eine erste Thrombusformation kommt es zur Aktivierung der Blutgerinnung, des Komplementsystems, der Kinin-Produktion, der Fibrinolyse und der Thrombozyten. Diese Protein-Kaskaden sind unter anderem Teil des Vroman-Effektes, der je nach Mobilität und Affinität von Proteinen eine Adsorption und Desorption an der Fremdoberfläche bedingt (Anderson et al., 2008, Bamford et al., 1992).

Durch die Gerinnung bildet sich Fibrinogen zu Fibrin, welches sich an das Biomaterial legt und so wiederum als Substrat für die Anheftung von Blutplättchen und weiteren Zellen dient. Fibrin kann durch seine Affinität auch spontan binden. Kommt es zur Adsorption an der Oberfläche, verändert sich seine Konformation, wodurch Phagozyten aktiviert werden können (Tang, 1998).

Findet ein Gewebsschaden statt, kommt es auch zum nicht-programmierten Zelltod (Nekrose), woraufhin verschiedene Botenstoffen ausgeschüttet werden, zum Beispiel proteolytische Enzyme und sogenannte „Alarmine“, unter die das Hitzeschockprotein (HSP), Adenosintriphosphat (ATP) und Harnsäure fallen. Darüber werden Zellen des angeborenen Immunsystems, wie Makrophagen und dendritische Zellen angelockt, welche die spezifische Immunabwehr mobilisieren. Weiterhin induzieren die Alarmsignale die Bildung von Fibrinogen und anderen Vorstufen extrazellulärer Komponenten, so auch Kollagen, Laminin

und Fibronectin, die sich ebenfalls an das Biomaterial anheften (Keselowsky et al., 2007, McFarland et al., 2000).

Neutrophile Granulozyten, die zu den polymorphonukleären Zellen gehören, wandern ein und charakterisieren die akute Entzündungsreaktion (Anderson et al., 2008). Die in diesem Rahmen von Mastzellen ausgeschütteten Proteine Interleukin-4 (IL-4), Interleukin-13 (IL-13) und Histamine bestimmen Schwere und Verlauf dieses Prozesses (Tang et al., 1998, Zdolsek et al., 2007). Die akute Inflammation geht in die chronische Entzündung über, die vor allem von Monozyten sowie von der T- und B-Lymphozyten vermittelten Abwehr bestimmt wird. Weiterhin beschreibt sie den Zustand der Fremdkörperreaktion, bei dem Monozyten, Makrophagen und Fremdkörper-Riesenzellen (foreign body giant cells, FBGC) auf der entsprechenden Oberfläche zu finden sind. Danach folgt die Phase des Gewebeumbaus (Anderson et al., 2008). Je nach Biokompatibilität des Stoffes, Vorschädigung des Gewebes und Ausprägung der Reaktion dauert dieses gesamte Geschehen ungefähr drei bis vier Wochen (Franz et al., 2011, Ratner et al., 2012). Die Immunantwort stellt einen elementaren Baustein der erfolgreichen Wundheilung dar. Diese beginnt einige Tage nach der Implantation häufig mit einer Proliferationsphase und beinhaltet Fibroblasteneinwanderung, Gefäßneubildung und Entstehung von Granulationsgewebe. Es schließen sich innerhalb weniger Wochen Zellreifungs- und Remodeling-Vorgänge an, die in der Regel Monate bis Jahre andauern können (Mouthuy et al., 2016, Ratner et al., 2012, Bonnans et al., 2014).

Oxidativer Stress im Gewebe, der durch den Einsatz von Fremdsubstanzen freigesetzt wird, hat ebenso Einfluss auf die zelluläre Aktivität und damit auf den Grad der Entzündungsreaktion und die Wundheilung. Nicht zu unterschätzen ist dabei das Ausmaß, in wie weit der oxidative Stress bei Degradationsmechanismen des implantierten Biomaterials eine Rolle spielt (Mouthuy et al., 2016).

Lipidperoxidation (lipid peroxidation, LPO), reaktive Sauerstoff- und Stickstoffverbindungen (reactive oxygen species, ROS und reactive nitrogen species, RNS) entstehen während der Stoffwechselvorgänge im Körper. Sie werden hauptsächlich im Zuge der mitochondrialen Elektronentransportkette und durch Cytochrom-P₄₅₀-Oxidasen gebildet. Enzymatische und nicht-enzymatische Radikalfänger und Antioxidantien, DNA-Reparaturabläufe und programmierter Protein- und Zellenabbau sorgen für ein Gleichgewicht (Mouthuy et al., 2016). Verlagert sich dieses auf die Seite der Oxidationsprodukte, können auf Dauer pathologische Zustände wie kardiovaskuläre und neurodegenerative Erkrankungen oder

Krebs auftreten (Bonomini et al., 2008, Uttara et al., 2009, Tas et al., 2005). Reaktive Sauerstoffverbindungen haben auch auf Inflammations-, Fibrose- und Regenerationsabläufe einen Effekt und induzieren unter anderem eine Makrophagen- und Leukozyteneinwanderung. Dadurch kann es zu vermehrter ROS-Bildung kommen, die die Immunantwort noch weiter verstärkt (Lugrin et al., 2014). Entzündung führt zur ROS, ROS führen zur Entzündung (Chatterjee, 2016). Diese Spirale hat Auswirkungen auf die Degradation von Biomaterialien. Die Erzeugnisse, die bei Degradation anfallen bedingen wiederum eine weitere Erzeugung oxidativer Produkte (van Lith and Ameer, 2016).

Vielseitige Begebenheiten führen zur ROS-Ausschüttung. Hypoxie, Komplementaktivierung, Nekrose, Proteinadsorption und Gewebsverletzungen sind einige davon. Auch Mastzellen, polymorphonukleäre Zellen (Neutrophile), Makrophagen, Fremdkörper-Riesenzellen und Lymphozyten sind in der Lage Oxidantien zu sezernieren (Mouthuy et al., 2016).

Richtet man das Augenmerk auf die Makrophagen, ist zu nennen, dass drei Populationen zu unterscheiden sind. Zum einen sind die klassisch aktivierten Makrophagen im Sinne der chronischen Entzündungsreaktion mit mikrobenehmender Wirkung zu nennen. Zum anderen gibt es diejenigen, die für die Wundheilung verantwortlich sind und durch IL-4 stimuliert werden sowie die antiinflammatorisch arbeitenden Makrophagen, die entzündliche Ereignisse regulieren (Mosser and Edwards, 2008). Makrophagen sind in der Lage Partikelgrößen von mindestens 0,5 μm zu phagozytieren. Bei großen Teilchen (10-100 μm) können mehrere Makrophagen zu Fremdkörper-Riesenzellen (FBGC) fusionieren und somit die Nanopartikel aufnehmen. Von T-Zellen ausgeschüttetes IL-4 und IL-13 induziert diese Verschmelzung in Anwesenheit von Biomaterialien (McNally and Anderson, 1995, Kao et al., 1995). Ferner können sie sowohl Fibroblasten stimulieren als auch Matrix-Metalloproteasen (MMPs) sezernieren, die die extrazelluläre Matrix abbauen. Somit haben sie eine bedeutende Rolle in der Modulation der Wundheilung, Kapselbildung und Fibrose (Anderson et al., 2008, Miller and Anderson, 1989).

Freie Radikale und konstanter oxidativer Stress sind einer der Hauptgründe für die in vivo Degradation von Polymeren (Williams and Zhong, 1991). Doch auch Makrophagenfusion und FBGC führen lokale Oberflächenrisse herbei und bedrohen damit die Biostabilität von Polyurethanen und anderen Polymeren (Zhao et al., 1991, Zhao et al., 1990). Die so entstandenen Kettenabspaltungen und Oxidationsvorgänge am Polymer produzieren im Organismus weiter radikale Sauerstoffverbindungen, die unter anderem den programmierten

Zelltod (Apoptose), Zytotoxizität und Mutagenität vermitteln können (Ulbricht et al., 2014, Bakopoulou et al., 2009).

Auch Metalle unterliegen den beschriebenen Mechanismen. Die Tatsache, dass sie mit der Zeit korrodieren, entfacht sogar eine potentere Reaktion im Körper (Gilbert and Kubacki, 2016, Tsaryk et al., 2013). Durch die Korrosion von Nitinol werden die Antioxidantien in der Umgebung abgebaut, wodurch ROS und RNS ungehemmt wirken können (Valko et al., 2005). Vor allem die Anwesenheit von H_2O_2 kann den protektiven Schutzfilm um Metalle angreifen und das Oxidationspotential und die Korrosion weiter antreiben (Bearinger et al., 2003). Da die Zersetzung von Metallen und Legierungen kontinuierlich stattfindet, sind die Zellen, die davon betroffen sind, konstant oxidativem Stress ausgesetzt (Tsaryk et al., 2013).

In den vorliegenden immunhistochemischen Färbungen des Stentbetts waren bei sieben Tieren verschiedene Ausprägungen einer Entzündungsreaktion zu sehen (Tabelle 16, S. 82). Die Schafe der zweiten Gruppe litten wie zuvor beschrieben an einer Prothesenendokarditis, womit sich auch die Schwere der Inflammation in den Antikörperfärbungen erklären lässt. Das hohe Aufkommen von Prokollagen III im Rahmen der chronischen Entzündung und damit verbundenen Umbauprozessen passt ebenfalls zu den Befunden. Bei den übrigen vier Tieren hingegen waren makroskopisch keine Auffälligkeiten zu sehen. Die strukturellen Übersichtsfärbungen zeigten ebenso keine Unregelmäßigkeiten. Daher kann man davon ausgehen, dass die nachgewiesenen Immunzellen ein Remodeling nach Fremdkörperreaktion widerspiegeln. Vor allem CD68 spricht für das Vorhandensein von Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen, was für die erläuterten zellulären Abläufe steht (Abschnitt 1.10.4). CD45 tragen alle kernhaltigen Zellen der Immunabwehr und induzieren Apoptose und Zelldifferenzierung (Abschnitt 2.10.3). Lymphozyten, die CD20 auf ihrer Oberfläche exprimieren, vermitteln häufig chronische Entzündungen (Abschnitt 2.10.2) und CD3 positive Zellen kennzeichnen T-Lymphozyten (Abschnitt 2.10.1). Fremdkörper-Riesenzellen wurden in keinem der Präparate gesehen. Die Tatsache, dass in der ersten und dritten Gruppe jeweils ein Tier keinen relevanten immunhistochemischen Nachweis erbrachte, macht deutlich, dass je nach Individuum, die Immunantworten unterschiedlich stark ausfallen und die Dauer der Entzündungsreaktion ebenso variieren kann. Die verhältnismäßig geringe Expression von Prokollagen III in der ersten Gruppe kann damit zusammenhängen, dass der Zeitraum von vier Wochen im Vergleich zur dritten Gruppe auch

eine niedrigere Kollagenproduktion bedingt. Eine Fibrosierung mit Kapselbildung um den Nitinol-Stent fand in keinem der Fälle statt, indes war eine gute Endothelialisierung zu erkennen. Nachdem jedoch keine quantitativen Messungen vollzogen wurden, können diesbezüglich keine eindeutigen Aussagen gemacht werden.

Bioingenieure sind aufgrund der inflammatorischen Auswirkungen von Fremdmaterialien auf den Körper, deren Ausmaß schwierig abzuschätzen sind, auf der Suche nach der Entwicklung eines modifizierten Materialdesigns. Es sollte von der ausgelösten Immunreaktion profitieren, um eine gute Integration ins Gewebe zu erreichen, eine chronische Entzündung mit Fremdkörperreaktion und Degradation des Implantats jedoch möglichst umgehen (Williams, 2003, Williams, 2008). Die hiesigen Untersuchungsergebnisse zeigen, dass die PCU-Prothese im Nitinol-Stent eine moderate Fremdkörperreaktion in Abwesenheit von Fremdkörper-Riesenzellen auslöst, die mit der Zeit abklingen, sowie eine Adaptation an die Umgebung gewährleistet. Damit besitzt das gewählte Stentmodell die Eigenschaft, sich den Bedingungen im Körper anzupassen, sich zu integrieren und seiner Funktion nachzukommen, ohne dabei ein ungewünschtes Maß an lokalem und systemischem Schaden anzurichten (Williams, 2008, Williams, 2014). Man kann somit also von einem biokompatiblen System sprechen.

Hämodynamische Eigenschaften

Über die Jahre sind verschiedene PU-Klappenprothesen entwickelt worden. Bisher hat sich noch keine als valide Alternative zu Bioprothesen und mechanischen Klappen ergeben, da es aufgrund des Designs und der fehlenden Langlebigkeit des Polymers zum vorzeitigen Versagen kam (Rahmani et al., 2012, Ghanbari et al., 2009). Dabei spielen Thrombogenität, Verkalkung und Materialdegradation durch Oxidation und Hydrolyse bis heute bei dieser Problematik eine bedeutende Rolle (Yin et al., 2005, Daebritz et al., 2003, Christenson et al., 2004). Entwürfe nach dem nativen Vorbild der Taschenklappen setzten sich letztlich durch. Diese bestehen aus drei zumeist symmetrische Segel, die bei Klappenschluss in der Mitte zusammenkommen (Jansen et al., 1991b, Butterfield et al., 2001, Daebritz et al., 2004). Die Anforderungen, denen die Klappe entsprechen sollte, beinhalten folgende Aspekte: Eine dem Empfänger entsprechende anatomische Passform, eine physiologische Funktionsweise der Segel, die bei geringen systolischen transvalvulären Druckdifferenzen öffnen, ein sicherer Klappenschluss ohne Leckagen, möglichst keine negative Auswirkung auf Blutzellen und ihr Gerinnungsverhalten sowie niedrige Spannungsspitzen an den Klappenkomponenten

während des Herzzyklus, um eine Veränderung der geometrischen Eigenschaften zu minimieren (Ghanbari et al., 2009). Eine synthetische Herzklappe dem natürlichen Muster nachzuempfinden, erweist sich als äußerst schwierig, da der histologische Aufbau der Klappensegel (Abschnitt 1.1., Abb. 2b) aus unterschiedlichen Schichten zusammengesetzt ist, die eine verschiedenartige Anisotropie und mechanischer Reaktionsfähigkeit aufweisen (Ayoub et al., 2016).

Das Herstellungsverfahren trägt ebenso zur Klappenleistung bei und hat einen Effekt auf die hämodynamischen Eigenschaften. Dip-Casting bzw. Dip-Coating, Film-Fabrikation, Hohlraum-Verguss- und Spritzgießtechnik sind die vier existierenden Methoden (Ghanbari et al., 2009). Erstere scheint hierbei den anderen Techniken in der hämodynamischen Funktion und Beständigkeit überlegen zu sein (Corden et al., 1996, Leat and Fisher, 1995). Die hierbei erzeugte Dicke der Segel ist für die Performance der Prothese eines der wichtigsten Kriterien. Bernacca et al. zeigten bereits 1997, dass eine PEUE-Segeldicke um die 150 μm in vitro die besten hämodynamischen Ergebnisse und die längste Lebensdauer über 800 Millionen Zyklen (ca. 10 Jahre) im Vergleich zu anderen Modellen zwischen 60-200 μm erzielte (Bernacca et al., 1997). Rahmani et al. untersuchten eine 100-, 150- und 200 μm -POSS-PCU-Klappe und eine Bioprothese im in vitro Model. Die Polymer-Prothesen präsentierten alle vergleichsweise zur Schweineklappe niedrigere transvalvuläre Druckabfälle, größere effektive Öffnungsflächen und geringere systolischen Energieverluste, vor allem bei hohen kardialen Auswürfen. In puncto Flusseigenschaften war das 100 μm -POSS-PCU gegenüber dem biologischen Gegenstück signifikant besser (Rahmani et al., 2012).

Es hat sich gezeigt, dass es durchaus sinnvoll ist, im präklinischen Einsatz neben den in vivo Tierversuchen, die Herzklappenprothesen in vitro-Testungen im Pulsduplikator zu unterziehen (Rashid et al., 2004, Mackay et al., 1996a, Wheatley et al., 2000, Sachweh and Daebritz, 2006). So können unter der Stimulation physiologischer Bedingungen gewisse Defizite in der Hämodynamik und Dauerhaftigkeit des Materials analysiert und optimiert werden (Chandran et al., 1989, Bernacca et al., 1995, Mackay et al., 1996b, Mackay et al., 1996a, Butterfield et al., 2001).

Abgesehen von der zweiten Gruppe, in der die hämodynamisch und echokardiographisch ermittelten Daten pathologische Werte aufgrund der Endokarditis zeigten, jedoch noch weit unter den pathologischen Grenzwerten lagen, präsentierte die PCU-Klappe in den übrigen Fällen sehr gute in vivo Flussmerkmale. Laminare Strömungsprofil, geringe Gradienten über

der Klappe, keine Thrombenbildung und gute Öffnungs- und Schließcharakteristika zeichneten sich ab, die der niedrigen Bauart, dem Klappendesign und der durch Dip-Coating erzeugten Segeldicke von 100-150 μm zuzuschreiben sind. Um diese vielversprechenden Resultate, die über sechs Monate in vivo gesehen wurden weiter zu untermauern, steht in einer nächsten Stufe die in vitro Evaluation in einem speziell von dieser Arbeitsgruppe in Zusammenarbeit mit dem Institut für experimentelle und angewandte Physik der CAU Kiel entwickelten Pulsduplikator-System an (Haaf et al., 2009). Dieser wurde nach den Vorgaben der Europäischen Norm (ISO 5840) und den Richtlinien der Food and Drug Administration (FDA) angefertigt (Nolan, 1994). Die Klappenfunktion und -beständigkeit, der paravalvuläre Druck, das Regurgitationsvolumen und die effektive Öffnungsfläche (effective orifice area, EOA) sind die Parameter, die unter Imitation bestimmter körperähnlicher Bedingungen geprüft werden. Da sich hämodynamischen Eigenschaften mit dem Klappendurchmesser ändern können, vor allem je kleiner der Diameter wird, sind die in vitro Testungen von essentieller Bedeutung (Wheatley et al., 2000). Zur Erlangung einer Zertifizierung für den klinischen Gebrauch müssen gewisse Voraussetzungen, wie die in vitro Durabilität über bestimmte Zeiträume erfüllt sein. Daher ist dieser Schritt im weiteren Verlauf unabdingbar (Johnson et al., 1994, Johnson and Sapirstein, 1994).

Bildgebung der Pulmonalklappe

Die American Heart Association (AHA) empfiehlt den perkutanen Pulmonalklappenersatz mit bisher zugelassenen Prothesen nach umfangreicher echokardiographischer Untersuchung und zusätzlicher Erwägung einer Schnittbildgebung mittels CT (Computertomographie) oder MRT (Magnetresonanztomographie), um eine erfolgreiche Prozedur zu erzielen und die Komplikationsrate möglichst gering zu halten (Klasse IIa, Evidenzlevel B) (Feltz et al., 2011). Die Nachsorgeuntersuchungen stellen einen weiteren wichtigen Aspekt bei der Wahl des passenden bildgebenden Verfahrens dar. Die transthorakale Echokardiographie ist bei Rechtsherzproblematiken das Erstlinien-Medium, welches zum Einsatz kommt. Hämodynamische Informationen über die rechtsventrikuläre Druckbelastung, Druckgradienten im RVOT und das Ausmaß der Pulmonalklappenpathologie können dadurch gewonnen werden (Bauner and Kozlik-Feldmann, 2013). Als Goldstandard bei der quantitativen Beurteilung der Pulmonalinsuffizienz und der rechtsventrikulären Funktion bei

Erwachsenen, vor allem nach Korrektur einer Fallot'schen Tetralogie, gilt die kardiale MRT als Goldstandard (Jauhiainen et al., 1998, Heusch et al., 1999, Li et al., 2004). Leonardi et al. schlagen weiterhin vor, genau diese Patienten vor perkutaner Pulmonalkappenimplantation zusätzlich einer end-systolischen 3D-steady state free precession (3D-SSFP) Sequenz im MRT zu unterziehen, da nur so die Komplexität der anatomischen Verhältnisse des RVOTs ohne Strahlenbelastung bestmöglich erfasst und damit ein höherer Implantationserfolg erreicht werden kann (Leonardi et al., 2019). Eine kardiale Magnetresonanztomographie ist vor allem in den Fällen indiziert, in denen man strukturelle und funktionelle Aspekte am Herzen darstellen und begutachten möchte, wie zum Beispiel bei komplexen Herzfehlern oder nach Klappenimplantation. Mittels MR-Angiographie können genauere Angaben über Volumina, Kontrastmittelanreicherung und über die Herzhöhlen gemacht werden (Hendel et al., 2006). Der Nachteil, dass Metalle die Bildgüte beeinträchtigen, ist heutzutage bei den benutzten Legierungen und den hochauflösenden Geräten zumeist deutlich reduziert. Secchi et al. zeigten, dass die Artefaktbildung des Platin-Iridium-Stent im MRT keinen Einfluss auf die qualitative oder quantitative Evaluation nach Melody™-Implantation hatte. Im in vitro Versuch erbrachte die SSFP-Sequenz (steady state free precession) die akkuratesten Aufnahmen (Secchi et al., 2013). Wie bereits zuvor erwähnt, trifft dies für Nitinol ebenso zu (Nordmeyer et al., 2010). Zwar stellt die transthorakale Echokardiographie das Mittel der Wahl dar, doch sowohl CT als auch MRT bieten häufig die wertvolleren Informationen im Zuge angeborener Anomalien und nach operativen Korrekturen, was anatomische Verhältnisse, funktionelle Messungen und diagnostische Kriterien des rechten Herzens und der Pulmonalklappe betrifft (Saremi et al., 2014). Insbesondere den Grad einer Pulmonalinsuffizienz richtig einzuordnen und anhand der Funktions- und Größenverhältnisse des rechten Ventrikels den optimalen Interventionszeitpunkt abzapassen ist eine der größten Herausforderungen (Therrien et al., 2005). Versäumt man ihn, bedingt dies unwiederbringliche Leistungseinbußen des rechten Herzens (Therrien et al., 2000). Die retrosternale Lage der rechten Kammer, die variierende Schallbarkeit eines jeden Patienten und diffizile Reproduzierbarkeit erschwert häufig die echokardiographische Bestimmung dieser wichtigen Messungen. Weiterhin ist die Beurteilung der Regurgitation an der Pulmonalklappe im TTE weniger aussagekräftig als bei der Aortenklappe (Saremi et al., 2014). Therrien et al. konnten zeigen, dass ein via MRT ermittelter enddiastolischer Volumenindex $> 170 \text{ ml/m}^2$ und ein endsystolischer Volumenindex $> 85 \text{ ml/m}^2$ bei keinem der untersuchten

Patienten zu einer Normalisierung des erweiterten rechten Ventrikels führte. Diejenigen die darunter lagen, zeigten eine Verringerung des enddiastolischen Volumens um 30-40 %, sowie einen Rückgang der Trikuspidalinsuffizienz (Therrien et al., 2005). Oosterhof et al. nannten Grenzwerte von 160 ml/ m² enddiastolisch und 82 ml/ m² endsystolisch, Büchel in einer Kohorte mit mittlerem Alter von 13,9 ± 3,9 Jahren 150 ml/ m² enddiastolisch, um irreversible Komplikationen der Pulmonalinsuffizienz zu vermeiden (Oosterhof et al., 2007, Buechel et al., 2005). Frigola et al. und Dave et al. beriefen sich ebenso auf den letzteren Wert aufgrund ähnlicher Erfahrungswerte (Frigiola et al., 2008, Dave et al., 2005).

Remodelingvorgänge und struktureller Gewebeumbau lassen sich im zeitlichen Verlauf sehr gut in der MRT darstellen und könnten möglicherweise zu einem besseren Verständnis dieser Prozesse führen. Insgesamt ist eine multimodale Bildgebung aus TTE, MRT und ggf. CT zur Initial- und Follow-Up-Überwachung der erkrankten bzw. ersetzten Pulmonalklappe und des RVOTs zu wählen, auch um technische und hämodynamische Durchführbarkeit gewisser Eingriffe im Vorfeld zu klären (Rajiah et al., 2014, Pignatelli et al., 2017).

PCU und Tissue Engineering

Als mögliche Definition von „Tissue Engineering“ (TE) wurde 2003 vom World Technology Division of International Technology Research Institute (WTEC) folgendes festgehalten: „(...) die Anwendung von Prinzipien und Methoden des Ingenieurwesens und der Biowissenschaften, um ein grundlegendes Verständnis von Struktur-Funktions-Beziehungen in neuartigem und pathologischem Säugetiergewebe zu erlangen und einen biologischen Ersatz zur Wiederherstellung, Erhaltung oder Verbesserung der Gewebefunktion zu entwickeln.“ (McIntire, 2003).

Nachdem im Bereich des Herzklappen-Tissue Engineerings seit ca. 30 Jahren noch keine befriedigenden klinischen Langzeitergebnisse erzielt werden konnten, bieten Kinder mit angeborenen Herzfehlern und Erwachsene mit erworbenen Herzklappenerkrankungen weiterhin den Ansporn intensive Forschungen auf diesem Gebiet zu betreiben (Vesely, 2005). Die ideale Prothese sollte eine lebenslange Haltbarkeit, die Fähigkeit mitzuwachsen, keine Immunogenität, physiologische hämodynamische Eigenschaften, keine Thrombogenität und ausschließlich autologe, metabolisch kompetente Zellen aufzeigen (Cebotari et al., 2010). Als Gerüstmaterial werden derzeit drei unterschiedliche Komponenten erprobt. Zum einen dezellularisierte tierische oder menschliche Klappen, bioresorbierbare Gerüstmaterialien,

darunter auch synthetische Polymere, und auf Kollagenbasis erzeugte Gele mit ausgewählten Zellen (Vesely, 2005). Als Wachstumsleitschiene für die körpereigenen Zellen muss das Gerüst den Anforderungen einer Herzklappe genügen und dem nativen Vorbild bestmöglich nachempfunden werden. Gleichzeitig muss es so konzipiert sein, dass eine Anheftung, Vermehrung und Expression der darauf besiedelten Zellen gewährleistet ist (Cebotari et al., 2010). Als mögliche Quellen körpereigene Zellen zu gewinnen dienen Stammzellen des Knochenmarks, die Nabelschnur und Vorläuferzellen arteriellen oder venösen Ursprungs (Kim et al., 2006, Sodian et al., 2010, Lutter et al., 2010, Schaefermeier et al., 2009).

Simon et al. berichteten 2003 über eine Studie, in der dezellularisierte, kryokonservierte anstelle von Glutaraldehyd-fixierte SYNERGRAFT™-Schweineklappen in vier Kinder in Pulmonalposition (2,5-11 Jahre) implantiert wurden. Man ging davon aus, dass dieses Verfahren dazu führt, dass die Prothesen in situ von körpereigenen Zellen besiedelt werden und so in der Lage sind mitzuwachsen. Drei Kinder verstarben sieben Tage, sechs Wochen und ein Jahr nach der Prozedur, das vierte wurde am zweiten postoperativen Tag aufgrund der sich ankündigenden Probleme prophylaktisch reoperiert und die Klappe wurde ausgetauscht. Alle Grafts zeigten makroskopisch wie mikroskopisch schwerste Degradationserscheinungen, Entzündungs- und Fremdkörperreaktionen sowie Verkalkungen und keinerlei Zellbesiedelung. Diese verheerenden Resultate führten zu einem sofortigen Abbruch der Studie (Simon et al., 2003). Der Versuch, in dem dezellularisierte, pulmonale Homografts mit endothelialen Vorläuferzellen aus dem Blut für 21 Tage besiedelt und je einem Mädchen und Jungen (13 und 11 Jahre) eingesetzt wurden, lieferte über einen Follow-Up-Zeitraum von 3,5 Jahren positivere Ergebnisse. Eine Verbesserung der Herzfunktion, ein Rückgang der Insuffizienz, eine Verkleinerung der rechten Kammer, keine Anzeichen für eine Klappendegeneration und eine Größenzunahme des Pulmonalklappenannulus waren zu verzeichnen (Cebotari et al., 2006). Auch Dohmen et al. veröffentlichten ähnliche kurz- und mittelfristige Ergebnisse in Zusammenhang mit dem klinischen Einsatz eines dezellularisierten, pulmonalen Allografts, der zuvor mit körpereigenen Zellen aus einer Unterarmvene inkubiert wurde. Die Nachsorgeuntersuchungen nach zehn Jahren erbrachten eine gute Klappenfunktion, einen mittleren Gradienten über der Klappe von $5,4 \pm 2,0$ mmHg, keine Verkalkungen oder Veränderungen in der rechtsventrikulären Muskelmasse (Dohmen et al., 2002, Dohmen et al., 2011).

In unserer Forschungsgruppe wurden ebenso Erfolge bei der Besiedelung dezellularisierter Schweineklappen in experimentellen Tierversuchen gesehen. Das besondere hierbei war, dass die gezüchteten Klappen über das perkutane Verfahren implantiert wurden. Im Vergleich zwischen Zellen, die aus der Halsschlagader (A. carotis) und denjenigen, die aus dem Knochenmark extrahiert wurden, waren die Stammzellen im Verkalkungs- und Entzündungsverhalten und den hämodynamischen Eigenschaften den vaskulär gewonnen Endothel- und glatten Muskelzellen überlegen. Als Gerüstmaterial dienten porcine Pulmonalklappen und die intestinale Submucosa, um den Nitinol-Stent von innen auszukleiden (Metzner et al., 2010b, Lutter et al., 2010, Boldt et al., 2013).

Einer der ersten, die ein synthetisches Polymer als herzchirurgisches Gerüstmaterial im Tiermodell einsetzten, waren Shinoka et al., die mit einem resorbierbaren Polyglykolid mit poröser Oberfläche arbeiteten, dass sich innerhalb sechs bis acht Wochen durch Hydrolyse abbauen sollte. Die Besiedelung fand mit Zellen aus der A. carotis derselben Schafe statt (Shinoka et al., 1995). Seither wurden vielfach Kunststoffe, so auch PU-Derivate, auf ihre Eignung im Bereich des Tissue Engineerings in vitro und in vivo getestet (Hoerstrup et al., 2000, Courtney et al., 2006, Kalfa et al., 2010, Aleksieva et al., 2012, Thierfelder et al., 2013).

In den vorliegenden rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass sich auch das verwendete Polycarbonat-Urethan sowohl zur statischen als auch zur dynamischen Besiedelung eignet. Die Zelldichte schien bei der dynamischen Variante visuell höher zu sein, jedoch wurden keine quantitativen Messungen diesbezüglich durchgeführt. Das Dip-Coating-Verfahren trägt dazu bei, dass die Oberfläche des PCUs eine poröse Struktur aufweist. Nur so besteht die Möglichkeit, dass die Zellen einwachsen, mit Nährstoffen versorgt und anfallende Stoffwechselprodukte abtransportiert werden können (Cebotari et al., 2010). In einem ersten in vitro Versuch konnte gezeigt werden, dass sich PCU durchaus als Gerüstmaterial im Rahmen des Tissue Engineerings eignet. Weitere histologische, immunhistochemische und mikrostrukturelle Analysen, vor allem unter mechanischer Belastung, müssen erfolgen, um die klinische Zweckmäßigkeit ausreichend sicherzustellen bzw. gegebenenfalls zu modifizieren.

4.2 Limitationen der Studie

Als einschränkende Faktoren dieser Studie können unter anderem genannt werden, dass die Anzahl der untersuchten Tiere mit insgesamt neun Schafen, jeweils drei pro Gruppe, sehr gering war. Um eindeutigere und statistisch signifikante Aussagen über die erhobenen Daten zu machen, ist es ratsam, eine weitere Studie mit einer größeren Kohorte und über einen längeren Zeitraum zu führen. Nicht zu vernachlässigen ist zudem der Aspekt, dass es sich bei den Tieren um gesunde Schafe handelte, die weder voroperiert waren noch angeborene Herzfehler mit einer komplexen Anatomie aufzeigten. Es gibt Fälle, in denen Forschungsgruppen im Tiermodell die Schafe im Sinne einer Pulmonalinsuffizienz einer chirurgischen Valvektomie und einer transannulären Patchplastik einen Monat vor perkutanem Pulmonalklappenersatz unterzogen, doch in der Regel wird im experimentellen Versuchsaufbau auf derartige Maßnahmen verzichtet (Schoonbeek et al., 2016).

Was ferner in dieser Studie nicht erfolgt ist und in einem nächsten Schritt wie bereits diskutiert (S. 106) vollzogen werden sollte, sind in vitro Testungen des PCU-Klappenstents in einem dafür vorgesehenen Pulsduplikator, um die Durabilität und die hämodynamischen Eigenschaften des Materials unter physiologischen Bedingungen über längere Zyklen gemäß der FDA-Vorgaben zu prüfen.

Die Schafe der zweiten Gruppe und diejenigen, die zeitlich vor und danach aus der Studie ausgeschlossen wurden, hatten alle eine Endokarditis. Da bei keinem dieser Tiere Blutkulturen abgenommen wurden, konnte keine Erregerbestimmung erfolgen und so nicht gezielt antibiotisch behandelt bzw. die Ursache der massiven Entzündungsreaktion aufgeklärt werden.

Weiter ist zu bemerken, dass die explantierten PCU-Klappenstents weder rasterelektronenmikroskopischen noch röntgenologischen Betrachtungen zugeführt wurden. Dies wäre zukünftig zu empfehlen, da so morphologische Gegebenheiten wie Degradationsvorgänge, Zellanheftung und –Differenzierung und Verkalkungsmuster an den Klappensegeln besser detektiert und verstanden werden können. Histologische und immunhistochemische Färbungen der Klappensegel zur Erkennung von Immun- und Fremdkörperreaktionen sind längerfristig ebenfalls indiziert.

Die verwendeten Applikationssysteme hatten alle eine Größe von 22 F (= 6,7cm) und sind somit für den Einsatz bei jüngeren Patienten mit geringeren Gefäßdurchmessern nicht geeignet. Diese stellen in der Klinik einen wichtigen Patientenanteil dar. Sowohl das Nitinol,

also auch das PCU sind von ihrer Beschaffenheit darauf ausgelegt, auf geringe Diameter gefaltet werden zu können. So ist zu erwägen, dies nachfolgend anhand kleinerer Katheter, zum Beispiel mit 14 F, zu erproben. Möglicherweise ist hierbei die Handhabung durch die filigraneren Durchmesser insgesamt leichter und weniger traumatisch. Ruiz et al. berichteten von Versuchen mit Schweinen, in denen über 8 F-Applikationskatheter PPVIs vorgenommen wurden, nachdem man zuvor eine Insuffizienz durch Überstenten der Pulmonalklappe erzeugte (Ruiz et al., 2005).

Abschließend kann erwogen werden, in einer nachfolgenden Studie erweiterte bildgebende Verfahren prä- und postprozedural als Follow-Up einzusetzen, da die Schallbedingungen der transthorakalen Echokardiographie bei Schafen sehr unterschiedlich und eher ungünstig sind und so ein standardisiertes Vorgehen und eine Reproduzierbarkeit sich als Herausforderung darstellen.

4.3 Aktuelle Datenlage und Ausblick

Die veröffentlichten Daten über kurz-, mittel- und neuerdings langfristige Ergebnisse der bisher angewandten perkutanen Pulmonalklappenprothesen ergaben durchaus solide Ergebnisse. Die Regeneration der links- und rechtsventrikulären Ejektionsfraktion, ein Rückgang der Pulmonalinsuffizienz, Reduzierung der transvalvulären Gradienten sowie eine Verbesserung der körperlichen Belastbarkeit und des Sauerstoffverbrauchs konnte gezeigt werden (Haas et al., 2013, Borik et al., 2015, Lurz et al., 2011, Biernacka et al., 2015, Cheatham et al., 2015, Markham et al., 2017). Auch eine Verminderung vorhandener milder bis hochgradiger Trikuspidalinsuffizienzen wurden bei 65 % der betroffenen Patienten durch die Prozedur verzeichnet (Jones et al., 2016) und eine komplikationsfreie 10-Jahres-Überlebensrate bis zu 88 % bei RVOT-Gradienten < 15 mmHg erzielt (Georgiev et al., 2019). Eine Metaanalyse von 20 Studien aus Europa, Nordamerika, Kanada und Asien mit insgesamt 1246 Patienten aus dem Jahr 2019 ergab eine 99%ige Erfolgsrate beim Implantationsvorgang (95 % KI: 98-99), ein 2%iges Auftreten einer infektiösen Endokarditis (95 % KI: 1-4), ein Stentfrakturvorkommen von 5 % (95 % CI: 4-6) und eine Inzidenz von ebenfalls 5 % für notwendige Zweitinterventionen nach primärem Eingriff (95 % KI: 4-6) (Ran et al., 2019). Doch sind die bestehenden Limitationen nicht zu vernachlässigen. Neben den unter 4.1 diskutierten zahlreichen Komplikationen muss ebenso berücksichtigt werden, dass sowohl die Melody™-

als auch die Edwards SAPIEN-Prothesen nur in bestimmten Größen erhältlich sind. Pulmonalringdurchmesser < 16 mm stellen eine Kontraindikation zur PPVI dar (Feldes et al., 2011). Die größte Prothese ist derzeit aus der Edwards SAPIEN XT-Reihe mit 29 mm, dennoch gibt es viele Patienten, die nach RVOT-Rekonstruktionen und Patchplastiken dieses Maß überschreiten und so für dieses Verfahren nicht in Frage kommen (Ansari et al., 2015). Die SAPIEN S3-Klappe, die derzeit die neueste Generation der perkutanen Edwards Lifesciences-Prothesen darstellt, ist sehr ähnlich zu ihrem Vorgängermodell (s. Abschnitt 1.4.1, S. 18) mit dem Unterschied eines zusätzlichen Saums am unteren Teil des Kobalt-Chrom-Stents aus Polyethylene-Terephthalate (PET), das zur Minimierung paravalvulärer Leckagen nach Prothesenentfaltung dienen soll. Sie ist in den Größen 23 mm, 26 mm und 29 mm verfügbar und über 14 F bzw. 16 F Hülsen und dem dazugehörigen, weniger starren Commander-Applikationskatheter (anstelle des rigideren Novaflex Systems) einsetzbar (Balzer, 2019). Da bisher ihre FDA-Zulassung für die Aortenposition gilt, wird sie aktuell neben off-label Versuchen auch in einer klinischen Studie für den perkutanen Pulmonalklappenersatz getestet (ClinicalTrials.gov (Internet). Bethesda, 2016a). Darüber hinaus existieren in vivo und ex vivo Daten, dass unter bestimmten Bedingungen eine Überdehnung der 29 mm-Klappe bis auf 31 mm möglich ist, ohne eine Einschränkung der Prothesenfunktion oder Hydrodynamik der Klappensegel zu generieren, so dass die SAPIEN 3-Klappe zukünftig auch bei RVOT-Durchmessern > 29 mm eingesetzt werden könnte (Sathananthan et al., 2018, Shivaraju et al., 2015). Weiterhin wurde jüngst zu der 29 mm-SAPIEN 3-Prothese ein Pre-Stent entwickelt, um bei größeren gepatchten bzw. nativen RVOTs eine der Klappengröße entsprechende Landungs- und Andockzone zu schaffen. Der Alterra Adaptive PreStent™ ist ein sanduhrförmiger Nitinol-Stent, dessen ausgestellten Enden des Einfluss- und Ausflussbereichs 40 mm messen und der außer im Bereich des Ausflussbereichs mit PET ausgekleidet ist. Der erste Implantationsversuch bei einer 48-jährigen Frau mit einem angiographisch bestimmten RVOT-Durchmesser von 30.2 mm (proximal) und 38.5 mm (distal) wurde als erfolgreich verbucht. Der maximale bzw. mittlere Gradient über der Klappe war in der Kontrolluntersuchung nach vier Monaten bei 7,62 und 5 mmHg im TTE und somit völlig in der Norm, lediglich ein als trivial eingestuftes paravalvuläres Leck zwischen der Klappe und dem Pre-Stent wurde detektiert (Zahn et al., 2018). Auch hierzu gibt es nun eine laufende klinische Studie, um weitere Erfahrungswerte über die Praktikabilität dieser Methode zu gewinnen (ClinicalTrials.gov (Internet). Bethesda, 2017).

Neue Techniken, sowie die Kombination aus chirurgischem und interventionellen Eingriff sind zur Behandlung großer RVOT-Durchmesser in Erprobung, ohne, dass sich bisher eine davon klinisch manifestieren konnte (Boudjemline et al., 2005, Boudjemline et al., 2004, Basquin et al., 2010, Amahzoune et al., 2010, Boudjemline et al., 2012, Porras et al., 2015, Abu Saleh et al., 2016, Thalmann et al., 2019). In den Fällen, in denen keine klaren Indikationen gegeben sind, so unter anderem auch bei kleinen, sehr großen oder nativen rechtsventrikulären Ausflusstrakten, wird häufig im Sinne eines individuellen Heilversuchs die entsprechende Methode dennoch durchgeführt, was zumeist eine erhöhte Komplikationsrate mit sich bringt (Boshoff et al., 2013, Ansari et al., 2015, Price and Teirstein, 2008), allerdings auch zufriedenstellende mittelfristige Ergebnisse hinsichtlich der rechtsventrikulären Volumenbelastung ergab (Georgiev et al., 2018).

Um eben diesen Situationen gerecht werden zu können, werden derzeit innovative Prothesenmodelle präklinisch und klinisch getestet. Wie unter 1.4.1 bereits erwähnt, zum Beispiel die Medtronic Harmony transcatheter pulmonary valve (hTPV) (Medtronic, Minneapolis, Minnesota, USA)(ClinicalTrials.gov (Internet). Bethesda, 2016b). Dies ist ein mit Polyester ausgekleideter, selbstexpandierender Nitinol-Stent in Sanduhrform mit eingenähter porciner perikardialer Klappe. Nachdem in einer ersten präklinischen Studie die Tiere zuvor einer Valvektomie und einer Patchplastik unterzogen wurden, wurden sie einen Monat später interventionell mittels hTPV versorgt. Von dreizehn Schafen konnten letztlich fünf auf die finalen Endpunkte untersucht werden. Diese erbrachten eine Reduktion der Pulmonalinsuffizienz, einen Erhalt der beidseitigen Herzfunktion und eine Volumenverringerung in der rechten Kammer. Die Größe des Applikationskatheters betrug 25 F und die Klappe, die sich in der Mitte des Stents befand, hatte einen Durchmesser von 22 mm. Ernstzunehmende Probleme waren Herzrhythmusstörungen bei zwei Tieren, die zum Tod führten, eine hochgradige Trikuspidalinsuffizienz aufgrund von Verletzung der Klappe durch das Applikationssystem, eine Stentdislokation, ein Pseudoaneurysma im punktierten Gefäß und zwei Prothesenobstruktionen mit Aneurysma im Hauptstamm der Pulmonalarterie. Die untersuchten Tiere überlebten insgesamt acht Monate (Schoonbeek et al., 2016). Eine in vivo Studie, die zwischen Mai 2013 und 2015 durchgeführt wurde, mit zunächst 66 Patienten, von denen letztlich 20 die genannte perkutane Prothese erhielten, zeigte neben achtbaren Ergebnissen einige Restriktionen. Diese umfassten unter anderem eine proximale Stentmigration, die eine operative Entfernung der Klappe am ersten postoperativen Tag

bedingte, eine Typ II-Stentfraktur mit Kollaps des Nitinol-Stents, die ebenso zur Klappenexplantation nach einem Monat führte, paravalvuläre Leckagen bei zwei Individuen und eine Typ I-Stentfraktur, welche die Integrität des Stents zunächst nicht zu beeinträchtigen schien. In den übrigen Fällen beliefen sich die mittleren RVOT Gradienten auf 15 ± 6 mmHg nach sechs Monaten und nur einer der Patienten zeigte eine milde pulmonale Insuffizienz im TTE (Bergersen et al., 2017). Die Patienten, die in die Studie eingeschlossen waren, hatten vor der Implantation einen angiographisch bestimmten Durchmesser des Pulmonalklappenrings von 25 ± 4 mm. Die führende Limitation, dass die derzeit interventionell verfügbaren Prothesen für Patienten, die einen Ringdurchmesser > 29 mm haben nicht in Frage kommen, ist also zunächst auch mit der hTPV nicht gelöst.

Eine weitere wegweisende Prothese, die Venus P Valve (Venus Medtech, Shanghai, China) wurde bisher in über 80 Patienten in Asien, den Niederlanden und Großbritannien implantiert und scheint bislang eine weitgehend sichere und effektive Methode zu sein, die auch für den nativen oder gepatchten rechtsventrikulären Ausflusstrakt eine Option darstellt. Dennoch traten auch hier Todesfälle aufgrund infektiöser Endokarditis, Stentmigration in den rechten Ventrikel, ein Fall einer pulmonalarteriellen Embolie, Stentfrakturen in bis zu 27 % der Fälle, Herzrhythmusstörungen, paravalvuläre Leckagen und Trikuspidalinsuffizienz als Folge der Implantation auf (Zhou et al., 2019, Promphan et al., 2016, Wang et al., 2019, Morgan et al., 2019). Probleme bei der Entfaltung des Klappenstents mit nötiger Nachdilatation wurden bisher ebenso beschrieben (Riahi et al., 2018). Langzeitergebnisse stehen weiterhin noch aus. Die Venus P Valve-Prothese besteht aus einem selbstexpandierenden Nitinol-Stent, dessen Enden sanduhrförmig ausgestellt sind, um eine bessere Verankerung in gewünschter Position zu erzielen. In der Mitte befindet sich eine porcine Perikardklappe aus drei Segeln. Der Stent ist in den Größen 18-34 mm erhältlich, das Applikationssystem setzt sich aus einem 16 F-Katheter mit einer 20-22 F Hülse zusammen (Cao et al., 2014, Promphan et al., 2016, Husain et al., 2016, Garay et al., 2017).

Auch eine weitere Forschungsgruppe aus Südkorea konnte in einer Versuchsreihe mit 10 Patienten mit nativen RVOTs bei vorhandener Pathologie den Erfolg einer α -Gal-freien porcinen Perikardklappe in einem selbstexpandierendem Nitinol-Stent mit ähnlich ausgestellten Enden wie die Venus P Valve (Pulsta Valve) verzeichnen, die signifikante Verbesserungen der Hämodynamik am rechten Herzen und der NYHA-Klassifikation in neun von zehn Fällen bedingte. Gleichwohl auch hierbei geringe paravalvuläre Leckagen und ein

schwerer Fall einer oberen gastrointestinalen Blutung durch ein duodenales Ulcus beschrieben wurden. Weitere multizentrische Studien hierzu mit größeren Fallzahlen und Prothesendurchmessern von 32 mm werden derzeit in Südkorea durchgeführt (Kim et al., 2017, Kim et al., 2018).

Nachdem letztlich ca. zwei Drittel der betroffenen Patienten durch ihre native oder mittels transanulären Patch versorgten Größe des rechtsventrikulären Ausflusstraktes für die bisher offiziell zugelassenen perkutan implantierbaren Prothesen nicht geeignet sind, muss daher zukünftig durch eine präzise, kontinuierliche und multimodale Vor- und Nachbereitung und entsprechend neu erprobter Herzklappenmodelle langfristig eine Lösung gefunden werden (Lurz and Kister, 2019, Ruiz and Pasala, 2018). Bis dahin bleibt für diese Patienten mit komplexen anatomischen Verhältnissen und zumeist geringem Körpergewicht die operative Versorgung der absolute Goldstandard, um das hohe Risiko für periinterventionelle Komplikationen wie Stentmigration, Kompression der Herzkranzgefäße oder Stentfrakturen zu vermeiden (Haas et al., 2019, Kheiwaa et al., 2018).

Auch auf dem Gebiet Polymere zu optimieren, um sie für medizinische Zwecke einsetzen zu können, sind Wissenschaftler auf der Suche nach passenden Modifikationsmöglichkeiten. Thomas et al. stellten ein Polyurethan-Urea her, das durch seine in vitro und in vivo geprüften biomechanischen Eigenschaften durchaus für die Herstellung einer Herzklappenprothese in Frage käme (Thomas and Jayabalan, 2009). POSS-PCU wurde ebenso eine Zeit lang als nächste Generation von Polymeren gehandelt, die mit ihren überlegenen biomechanischen Eigenschaften für die Produktion einer synthetischen Herzklappe vielversprechend zu sein schien (Kidane et al., 2009). Andere Kunststoffe wurden generiert, die in vivo sogar antioxidative Eigenschaften zeigten und fähig waren freie Radikale zu fangen, die Lipidoxidation zu hemmen und Eisenionen zu binden (van Lith et al., 2014, Yang et al., 2014). Polymere und auch Metallstents, die mit dem rekombinanten Oberflächenantigen CD47 ausgestattet wurden, zeigten in den in vitro und ex vivo Analysen eine verminderte Anheftung von Entzündungszellen und Neutrophilenaktivierung, sowie geringeres Monozyten-/Makrophagenvorkommen. Die Stents führten zu einer reduzierten Plättchenadhäsion und Fibrinbildung und bedingten damit eine um 30 % niedrigere In-Stent-Restenoserate im Vergleich zu den herkömmlichen Pendants. CD47 ist ein transmembraner Oberflächenmarker auf Proteinen, welches von Leukozyten und Makrophagen als körpereigen erkannt wird (Stachelek et al., 2011, Slee et al., 2016).

Ebenso nicht zu vernachlässigen ist die Tatsache, dass bereits seit über 20 Jahren zur Behandlung von RVOT-Abnormitäten eine operative Rekonstruktion mittels monocuspider Polytetrafluorethylen-Klappen (PTFE) durchgeführt wird, welche beeindruckende Ergebnisse hinsichtlich der Kalzifizierungsresistenz und Funktionstüchtigkeit bei sich noch im Wachstum befindenden Patienten erbrachte (Kumar et al., 2016, Turrentine et al., 2002).

Im Bereich des Tissue Engineerings führen die unter 4.1 ausführlich beschriebenen Entzündungs- und Degradationsprozesse des eingesetzten Gerüsts ebenso zum limitierten Einsatz. Daher wird auch hier durch entsprechende Veränderungen versucht, höchst biokompatible Systeme zu erzeugen, die möglichst positive Effekte auf den implantierten Organismus ausüben (Filova et al., 2009). Die Herausforderungen, die sich bei der kardiovaskulären Gewebezüchtung ergeben, stehen vor allem mit dem Aufbau des Implantats, dem chirurgischen Trauma und der bestehenden Pathologie des Gewebes in engem Zusammenhang. Daher sollten die Materialien sorgfältig gewählt, ausreichend lange in vitro besiedelt und kultiviert werden bis Differenzierungs- und Regenerationsprozesse einsetzen und schließlich die Implantation selbst so atraumatisch wie möglich erfolgen (Simionescu et al., 2011). Reimer et al. stellten 2015 tubuläre Pulmonalklappen-Conduits für den pädiatrischen Gebrauch vor, die aus Rinder- und Schaf-Fibringelen hergestellt und anschließend mit 1%igem Natriumdodecylsulfat und 1%igem Triton X-100 dezellularisiert wurden. Die Testungen in einem Pulsduplikator über zwei Wochen bei 100 Zyklen/ min deuteten auf eine gute Beständigkeit, akzeptable hämodynamische Eigenschaften und eine größere geometrische Öffnungsfläche im Vergleich zur Contegra-Prothese hin (Reimer et al., 2015).

Obwohl derzeit kryokonservierte Homografts als der Goldstandard für den operativen Pulmonalklappenersatz bei angeborenen Herzfehlern gelten, machen die Erfahrungen und Resultate mit dezellularisierten frischen pulmonalen Homografts (DPH) in den letzten Jahren diese Alternative zunehmend populärer (Neumann et al., 2013). Cebotari et al. und Sarikouch et al. beschreiben eine 0%ige Reoperationsrate nach fünf und zehn Jahren (Cebotari et al., 2011, Sarikouch et al., 2016). Im Rahmen des Tissue Engineerings kommen die DPH ebenso als Gerüstmaterial in Frage. Die autologe Besiedelung mit Stammzellen wird hier forciert, wobei ebenso vermutet wird, dass eine Matrix-Beschichtung mit bestimmten Wachstumsfaktoren die spontane Zellbesiedelung in situ beschleunigt (Neumann et al., 2013).

Nachdem die 3D-Drucktechnik auch in der Medizin zunehmende Bedeutung gewinnt, muss bedacht werden, dass sich Polyurethan durch die einzigartigen chemischen und physikalischen Eigenschaften als Substrat hierfür eignet und sich auch im Einsatz befindet. Auch biologisch abbaubare Polyurethane finden bereits biomedizinische Anwendung (Hung et al., 2016). So wurden in einer internationalen multizentrischen Studie individualisierte 3D-Modelle von anatomischen Verhältnissen angeborener Herzfehler in einem ausgewählten Patientenkollektiv aus Polyurethan gedruckt, um präoperativ die bestehende Komplexität in situ besser zu verstehen und dementsprechend das chirurgische Vorgehen anzupassen. In 19 von 40 Fällen ist dadurch eine Neubestimmung des operativen Vorgehens eruiert worden (Valverde et al., 2017). Im Bereich der Orthopädie wurde in einem Versuch ein modifiziertes Hybrid-Polyurethan auf Wasserbasis als Gerüst zur Gewebezüchtung von Knorpel mittels 3D-Drucker erstellt und erfolgreich in vitro besiedelt (Shie et al., 2017).

Diese enormen biotechnischen Fortschritte eröffnen die Vision, dass es in den folgenden Jahren und Jahrzehnten zu einer Entwicklung eines biologisch resorbierbaren PCU-Pulmonalklappenconduits kommen wird, welche durch die 3D-Drucktechnik den anatomischen Bedürfnissen individuell angepasst werden kann. Diese Prothesen könnten nach autologer Stammzellenbesiedelung perkutan implantiert werden und letztlich würde nach einer bestimmten Zeit nur noch die gezüchtete Klappe nach Abbau des PCUs im Körper bestehen bleiben.

4.4 Schlussfolgerung

Die vorliegende Schrift soll einen Überblick über den derzeitigen Forschungsstand der Arbeitsgruppe bezüglich des perkutanen Pulmonalklappenersatzes mit PCU-Nitinol-Stents im Schafmodell über einen maximalen Zeitraum von sechs Monaten bieten. Die Resultate in der ersten und dritten Gruppe bezüglich der histologischen, immunhistochemischen und hämodynamischen Eigenschaften der PCU-Prothese präsentierten sich aussichtsreich. Das Endokarditisvorkommen in der zweiten Gruppe konnte aufgrund des fehlenden Erregernachweises nicht aufgeklärt werden. Die technische Durchführbarkeit der Implantation der selbstexpandierenden Nitinol-Stents erwies sich als komplikationsarm, lediglich nach Einführung des konischen Stentdesigns ist es zu Fällen der Stentmigration gekommen, die durch die natürliche Lernkurve des Operateurs sicherlich in Zukunft

vermeidbar sein werden. Dennoch sind dem Stententwurf, kleineren Applikationssystemen und der Modifizierung des PCUs vermehrte Aufmerksamkeit zu widmen, um die erzielten Ergebnisse im Sinne der aktuellen Datenlage noch weiter zu optimieren.

Es konnte gezeigt werden, dass sich PCU einerseits als perkutane Pulmonalklappenprothese, andererseits als Gerüstmaterial im Sinne des Tissue Engineerings heranziehen lässt und die an den implantierten Klappenprothesen gesehene Immunreaktion zeigt, dass das Material äußerst gewebeverträgliche Eigenschaften mit sich bringt.

Um die PCU-Nitinol-Stents im klinischen Gebrauch einsetzen zu können, müssen in weiteren Schritten in vitro und in vivo Versuche mit größeren Fallzahlen und über längere Zeiträume die bislang vielversprechenden Resultate der ersten und dritten Gruppe noch weiter unter Beweis gestellt werden.

5. Zusammenfassung

Einleitung Der perkutane Pulmonalklappenersatz zur Behandlung der Pathologien des rechtsventrikulären Ausflusstraktes ist mittlerweile als ernstzunehmende Behandlungsoption neben der operativen Versorgung in den klinischen Fokus gerückt. In dieser Abhandlung wird ein neuartiges Stentdesign aus einem selbstexpandierenden Nitinol-Stent und einer darin enthaltenen Polycarbonat-Urethan Klappenprothese vorgestellt.

Methoden Eine mittels Tauchtechnik hergestellte Polycarbonat-Urethan Klappenprothese im Nitinol-Stent wurde perkutan unter fluoroskopischer Kontrolle in Pulmonalposition an neun Schafen für 4, 12 und 24 Wochen getestet. Während dieser Zeit wurden angiographisch Messungen und echokardiographische Nachsorgeuntersuchungen an definierten Zeitpunkten vorgenommen. Nach Versuchsende hat man die Klappen und das Stentbett makroskopisch, histologisch und immunhistochemisch analysiert und anschließend die erhobenen Daten miteinander verglichen. Weiterhin fand je eine statische und eine dynamische Besiedelung zweier Klappenstents mit Knochenmarkszellen eines Schafes statt, welche in einem weiteren Schritt rasterelektronenmikroskopisch untersucht wurden.

Ergebnisse Alle untersuchten Klappen zeigten in der Abschlussangiographie eine korrekte Positionierung. Der mittlere transvalvuläre Gradient aller Versuchstiere betrug $6,5 \pm 2,0$ mmHg, in der dritten Gruppe gesondert $4,4 \pm 2,3$ mmHg bei Explantation. Die Schafe der zweiten Gruppe litten alle an einer Endokarditis, deren Ursache nicht aufgeklärt werden konnte. Hier waren auch Verkalkungen am Stentbett zu erkennen. Die Tiere der ersten und dritten Gruppe zeigten in allen durchgeführten Analysen gute hämodynamische, morphologische und strukturelle Ergebnisse. Lediglich ein Tier bot ein paravalvuläres Leck, welches als gering eingestuft wurde. Die in vitro erprobte Zellbesiedelung des Polycarbonat-Urethans wurde durch die rasterelektronische Betrachtung als gelungen eingestuft.

Fazit Es konnte erfolgreich gezeigt werden, dass die verwendeten Polycarbonat-Urethan-Klappenstents gute hämodynamische, antithrombogene, biostabile und -kompatible Eigenschaften über einen Zeitraum von sechs Monaten bieten. Ebenso ist das polymere Material als Gerüst für Gewebezüchtungs-Zwecke geeignet. Weiterführende Studien sollten erfolgen, um aufgetretene Probleme zu beheben und Langzeitergebnisse zu erlangen.

6. Literaturverzeichnis

- ABBAS, J. R. & HOSCHTITZKY, J. A. 2014. Is there a role for mechanical valve prostheses in pulmonary valve replacement late after tetralogy of Fallot repair? *Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery*, 18, 661-666.
- ABU SALEH, W. K., LIN, C. H., BREINHOLT, J. P. & RAMLAWI, B. 2016. Hybrid Approach to Pulmonary Valve Replacement with Melody Prosthesis Following Pulmonary Banding. *Journal of Cardiac Surgery*, 31, 174-176.
- ADAMS, H., LIEBISCH, P., SCHMID, P., DIRNHOFER, S. & TZANKOV, A. 2009. Diagnostic Utility of the B-cell Lineage Markers CD20, CD79a, PAX5, and CD19 in Paraffin-embedded Tissues from Lymphoid Neoplasms. *Applied Immunohistochemistry Molecular Morphology*, 17, 96-101.
- AGARWAL, A., KINI, A. S., ATTANTI, S., LEE, P. C., ASHTIANI, R., STEINHEIMER, A. M., MORENO, P. R. & SHARMA, S. K. 2005. Results of Repeat Balloon Valvuloplasty for Treatment of Aortic Stenosis in Patients Aged 59 to 104 Years. *The American Journal of Cardiology*, 95, 43-47.
- ALEKSIEVA, G., HOLLWECK, T., THIERFELDER, N., HAAS, U., KOENIG, F., FANO, C., DAUNER, M., WINTERMANTEL, E., REICHART, B., SCHMITZ, C. & AKRA, B. 2012. Use of a special bioreactor for the cultivation of a new flexible polyurethane scaffold for aortic valve tissue engineering. *BioMedical Engineering OnLine*, 11, 92.
- ALFERIEV, I., STACHELEK, S. J., LU, Z., FU, A. L., SELLARO, T. L., CONNOLLY, J. M., BIANCO, R. W., SACKS, M. S. & LEVY, R. J. 2003. Prevention of polyurethane valve cusp calcification with covalently attached bisphosphonate diethylamino moieties. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 66A, 385-395.
- ALFERIEV, I., VYAVAHARE, N., SONG, C., CONNOLLY, J., HINSON, J. T., LU, Z., TALLAPRAGADA, S., BIANCO, R. & LEVY, R. 2001. Bisphosphonate derivatized polyurethanes resist calcification. *Biomaterials*, 22, 2683-2693.
- ALSOUFI, B., AL-JOUFAN, M., AL-OMRANI, A. & BULBUL, Z. 2012. Obstruction of a Percutaneous Pulmonary Valve by an Aspergillus Mycotic Thrombus Mimicking Massive Pulmonary Embolus. *The Annals of Thoracic Surgery*, 94, e5-e6.
- ALSULAMI, G., PATEL, M., MALEKZADEH-MILANI, S., BONNET, D. & BOUDJEMLINE, Y. 2014. Hyperacute flash pulmonary oedema after transcatheter pulmonary valve implantation: The melody of an overwhelmed left ventricle. *Archives of Cardiovascular Disease*, 107, 219-224.
- ALTRICHTER, P. M., OLSON, L. J., EDWARDS, W. D., PUGA, F. J. & DANIELSON, G. K. 1989. Surgical Pathology of the Pulmonary Valve: A Study of 116 Cases Spanning 15 Years. *Mayo Clinic Proceedings*, 64, 1352-1360.
- AMAHZOUNE, B., SZYMANSKY, C., FABIANI, J.-N. & ZEGDI, R. 2010. A new endovascular size reducer for large pulmonary outflow tract☆. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 37, 730-732.
- ANDERSEN, H. R., KNUDSEN, L. L. & HASENKAM, J. M. 1992. Transluminal Implantation of Artificial Heart Valves. Description of A New Expandable Aortic Valve and Initial Results with Implantation by Catheter Technique in Closed Chest Pigs. *European Heart Journal*, 13, 704-708.
- ANDERSON, J. M. 2001. Biological Responses to Materials. *Annual Review of Materials Research*, 31, 81-110.
- ANDERSON, J. M., RODRIGUEZ, A. & CHANG, D. T. 2008. Foreign body reaction to biomaterials. *Seminars in Immunology*, 20, 86-100.

- ANSARI, M. M., CARDOSO, R., GARCIA, D., SANDHU, S., HORLICK, E., BRINSTER, D., MARTUCCI, G. & PIAZZA, N. 2015. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation: Present Status and Evolving Future. *Journal of the American College of Cardiology*, 66, 2246-2255.
- ATAMANYUK, I., RAJA, S. G. & KOSTOLNY, M. 2012. Bartonella henselae endocarditis of percutaneously implanted pulmonary valve: A case report. *The Journal of Heart and Valve Disease*, 21, 682-685.
- ATTMANN, T., CREMER, J. & LUTTER, G. 2005. Percutaneous Aortic Valve Replacement: Far From Ideal. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon*, 53, 131-132.
- ATTMANN, T., QUADEN, R., FREISTEDT, A., KÖNIG, C., CREMER, J. & LUTTER, G. 2007. Percutaneous heart valve replacement: histology and calcification characteristics of biological valved stents in juvenile sheep. *Cardiovascular Pathology*, 16, 165-170.
- ATTMANN, T., QUADEN, R., JAHNKE, T., MULLER-HULSBECK, S., BOENING, A., CREMER, J. & LUTTER, G. 2006a. Percutaneous Pulmonary Valve Replacement: 3-Month Evaluation of Self-Expanding Valved Stents. *The Annals of Thoracic Surgery*, 82, 708-713.
- ATTMANN, T., STEINSEIFER, U., CREMER, J. & LUTTER, G. 2006b. Percutaneous valve replacement: a novel low-profile polyurethane valved stent. *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, 30, 379.
- AYOUB, S., FERRARI, G., GORMAN, R. C., GORMAN, J. H., SCHOEN, F. J. & SACKS, M. S. 2016. Heart Valve Biomechanics and Underlying Mechanobiology. *Comprehensive Physiology*, 6, 1743-1780.
- BAER, F. M. 2011. Angiographie und Sondierung des Herzens und der herznahen Gefäße. In: ERDMANN, E. (ed.) *Klinische Kardiologie*. 8 ed. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.
- BAKOPOULOU, A., PAPADOPOULOS, T. & GAREFIS, P. 2009. Molecular Toxicology of Substances Released from Resin-Based Dental Restorative Materials. *International Journal of Molecular Sciences*, 10, 3861-3899.
- BALZER, D. 2019. Pulmonary Valve Replacement for Tetralogy of Fallot. *Methodist Debaquey Cardiovascular Journal*, 15, 122-132.
- BAMFORD, C. H., COOPER, S. L. & TSURUTTA, T. 1992. *The Vroman Effect*, Utrecht, The Netherlands, Taylor & Francis.
- BASQUIN, A., PINEAU, E., GALMICHE, L., BONNET, D., SIDI, D. & BOUDJEMLINE, Y. 2010. Transcatheter valve insertion in a model of enlarged right ventricular outflow tracts. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 139, 198-208.
- BAUNER, K. & KOZLIK-FELDMANN, R. 2013. Minimally invasive pulmonary valve replacement in pediatric patients: Importance of imaging. *Der Radiologe*, 53, 880-885.
- BEARINGER, J. P., ORME, C. A. & GILBERT, J. L. 2003. Effect of hydrogen peroxide on titanium surfaces: In situ imaging and step-polarization impedance spectroscopy of commercially pure titanium and titanium, 6-aluminum, 4-vanadium. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 67A, 702-712.
- BEMIS, D. A. & KANIA, S. A. 2007. Isolation of Bartonella sp. from Sheep Blood. *Emerging Infectious Diseases*, 13, 1565-1567.
- BERGERSEN, L., BENSON, L. N., GILLESPIE, M. J., CHEATHAM, S. L., CREAN, A. M., HOR, K. N., HORLICK, E. M., LUNG, T. H., MCHENRY, B. T., OSTEN, M. D., POWELL, A. J. & CHEATHAM, J. P. 2017. Harmony Feasibility Trial: Acute and Short-Term Outcomes With a Self-Expanding Transcatheter Pulmonary Valve. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 10, 1763-1773.

- BERNACCA, G. M., MACKAY, T. G., GULBRANSEN, M. J., DONN, A. W. & WHEATLEY, D. J. 1997. Polyurethane Heart Valve Durability: Effects of Leaflet Thickness and Material. *The International Journal of Artificial Organs*, 20, 327-331.
- BERNACCA, G. M., MACKAY, T. G. & WHEATLEY, D. J. 1992. In vitro calcification of bioprosthetic heart valves: report of a novel method and review of the biochemical factors involved. *The Journal of Heart Valve Disease*, 1, 115-130.
- BERNACCA, G. M., MACKAY, T. G., WILKINSON, R. & WHEATLEY, D. J. 1995. Calcification and fatigue failure in a polyurethane heart valve. *Biomaterials*, 16, 279-285.
- BHAT, D. P., FORBES, T. J. & AGGARWAL, S. 2013. A Case of Life-Threatening Staphylococcus Aureus Endocarditis involving Percutaneous Transcatheter Prosthetic Pulmonary Valve. *Congenital Heart Disease*, 8, E161-164.
- BIERMANN, D., SCHONEBECK, J., REBEL, M., WEIL, J. & DODGE-KHATAMI, A. 2012. Left Coronary Artery Occlusion After Percutaneous Pulmonary Valve Implantation. *Annals of Thoracic Surgery*, 94, e7-9.
- BIERNACKA, E. K., RUZYLLO, W. & DEMKOW, M. 2017. Percutaneous pulmonary valve implantation - state of the art and Polish experience. *Advances in Interventional Cardiology*, 13, 3-9.
- BIERNACKA, E. K., RUZYLLO, W., DEMKOW, M., KOWALSKI, M., SPIEWAK, M., PIOTROWSKI, W., KUSMIERCZYK, M., BANAS, S., ROZANSKI, J. & HOFFMAN, P. 2015. Transcatheter Pulmonary Valve Implantation in Patients with Right Ventricular Outflow Tract Dysfunction: Early and Mid-Term Results. *The Journal of Invasive Cardiology*, 27, E82-89.
- BLOCK, P. C. & PALACIOS, I. F. 1988. Clinical and hemodynamic follow-up after percutaneous aortic valvuloplasty in the elderly. *The American Journal of Cardiology*, 62, 760-763.
- BLUM, U., MEYER, H. & BEERBAUM, P. 2016. Sektion III: Rechtsherzvitien. *Kompandium angeborene Herzfehler bei Kindern*. Heidelberg: Springer-Verlag.
- BOETHIG, D., THIES, W. R., HECKER, H. & BREYMAN, T. 2005. Mid term course after pediatric right ventricular outflow tract reconstruction: a comparison of homografts, porcine xenografts and Contegras. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 27, 58-66.
- BOLDT, J., LUTTER, G., POHANKE, J., FISCHER, G., SCHOETTLER, J., CREMER, J. & METZNER, A. 2013. Percutaneous Tissue-Engineered Pulmonary Valved Stent Implantation: Comparison of Bone Marrow-Derived CD133+ Cells and Cells Obtained from Carotid Artery. *Tissue Engineering Part C: Methods*, 19, 363-374.
- BONHOEFFER, P., BOUDJEMLINE, Y., QURESHI, S. A., LE BIDOIS, J., ISERIN, L., ACAR, P., MERCKX, J., KACHANER, J. & SIDI, D. 2002. Percutaneous Insertion of the Pulmonary Valve. *Journal of the American College of Cardiology*, 39, 1664-1669.
- BONHOEFFER, P., BOUDJEMLINE, Y., SALIBA, Z., HAUSSE, A. O., AGGOUN, Y., BONNET, D., SIDI, D. & KACHANER, J. 2000a. Transcatheter implantation of a bovine valve in pulmonary position: a lamb study. *Circulation*, 102, 813-6.
- BONHOEFFER, P., BOUDJEMLINE, Y., SALIBA, Z., MERCKX, J., AGGOUN, Y., BONNET, D., ACAR, P., LE BIDOIS, J., SIDI, D. & KACHANER, J. 2000b. Percutaneous replacement of pulmonary valve in a right-ventricle to pulmonary-artery prosthetic conduit with valve dysfunction. *The Lancet*, 356, 1403-1405.
- BONNANS, C., CHOU, J. & WERB, Z. 2014. Remodelling the extracellular matrix in development and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15, 786-801.

- BONOMINI, F., TENGATTINI, S., FABIANO, A., BIANCHI, R. & REZZANI, R. 2008. Atherosclerosis and oxidative stress. *Histology and Histopathology*, 23, 381-390.
- BORIK, S., CREAN, A., HORLICK, E., OSTEN, M., LEE, K. J., CHATURVEDI, R., FRIEDBERG, M. K., MCCRINDLE, B. W., MANLHIOT, C. & BENSON, L. 2015. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation: 5 Years of Follow-Up: Does Age influence Outcomes? *Circ Cardiovasc Interv*, 8, e001745.
- BOSHOF, D. E., COOLS, B. L. M., HEYING, R., TROOST, E., KEFER, J., BUDTS, W. & GEWILLIG, M. 2013. Off-label use of percutaneous pulmonary valved stents in the right ventricular outflow tract: Time to rewrite the label? *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 81, 987-995.
- BOUDJEMLINE, Y., AGNOLETTI, G., BONNET, D., SIDI, D. & BONHOEFFER, P. 2004. Percutaneous Pulmonary Valve Replacement in a Large Right Ventricular Outflow Tract: An Experimental Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 43, 1082-1087.
- BOUDJEMLINE, Y., LEGENDRE, A., LADOUCEUR, M., BOUGHENOU, M.-F., PATEL, M., BONNET, D. & ISERIN, L. 2012. Branch Pulmonary Artery Jailing With a Bare Metal Stent to Anchor a Transcatheter Pulmonary Valve in Patients With Patched Large Right Ventricular Outflow Tract. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 5, e22-e25.
- BOUDJEMLINE, Y., MALEKZADEH-MILANI, S., PATEL, M. B., THAMBO, J.-B., BONNET, D., ISERIN, L. & FRAISSE, A. 2016. Predictors and outcomes of right ventricular outflow tract conduit rupture during percutaneous pulmonary valve implantation: a multicentre study. *EuroIntervention*, 11, 1053-1062.
- BOUDJEMLINE, Y., SCHIEVANO, S., BONNET, C., COATS, L., AGNOLETTI, G., KHAMBADKONE, S., BONNET, D., DEANFIELD, J., SIDI, D. & BONHOEFFER, P. 2005. Off-pump replacement of the pulmonary valve in large right ventricular outflow tracts: A hybrid approach. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 129, 831-837.
- BRAUNWALD, N. S. & MORROW, A. G. 1965. A Late Evaluation of Flexible Teflon Prostheses Utilized for Total Aortic Valve Replacement. Postoperative Clinical, Hemodynamic, and Pathological Assessments. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 49, 485-496.
- BROCK, R. C. 1948. Pulmonary Valvulotomy for the Relief of Congenital Pulmonary Stenosis; Report of Three Cases. *British Medical Journal*, 1, 1121-1126.
- BUBER, J., BERGERSEN, L., LOCK, J. E., GAUVREAU, K., ESCH, J. J., LANDZBERG, M. J., VALENTE, A. M., SANDORA, T. J. & MARSHALL, A. C. 2013. Bloodstream Infections Occurring in Patients With Percutaneously Implanted Bioprosthetic Pulmonary Valve: A Single-center Experience. *Circulation Cardiovascular Interventions*, 6, 301-310.
- BUECHEL, E. R. V., DAVE, H. H., KELLENBERGER, C. J., DODGE-KHATAMI, A., PRETRE, R., BERGER, F. & BAUERSFELD, U. 2005. Remodelling of the right ventricle after early pulmonary valve replacement in children with repaired tetralogy of Fallot: assessment by cardiovascular magnetic resonance. *European Heart Journal*, 26, 2721-2727.
- BUHEITEL, G., BÖHM, B., KOCH, A., TRUSEN, B., HOFNER, G. & SINGER, H. 2001. Balloon dilatation of the pulmonary valve: Short-, middle- and long-term results. *Zeitschrift für Kardiologie*, 90, 503-509.
- BUTTERFIELD, M., WHEATLEY, D. J., WILLIAMS, D. F. & FISHER, J. 2001. A New Design for Polyurethane Heart Valves. *The Journal of Heart Valve Disease*, 10, 105-110.

- CAO, Q.-L., KENNY, D., ZHOU, D., PAN, W., GUAN, L., GE, J. & HIJAZI, Z. M. 2014. Early clinical experience with a novel self-expanding percutaneous stent-valve in the native right ventricular outflow tract. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 84, 1131-1137.
- CASSELMAN, F. P., BOTS, M. L., VAN LOMMEL, W., KNAEPEN, P. J., LENSEN, R. & VERMEULEN, F. E. E. 2001. Repeated thromboembolic and bleeding events after mechanical aortic valve replacement. *The Annals of Thoracic Surgery*, 71, 1172-1180.
- CEBOTARI, S., LICHTENBERG, A., TUDORACHE, I., HILFIKER, A., MERTSCHING, H., LEYH, R., BREYMAN, T., KALLENBACH, K., MANIUC, L., BATRINAC, A., REPIN, O., MALIGA, O., CIUBOTARU, A. & HAVERICH, A. 2006. Clinical Application of Tissue Engineered Human Heart Valves Using Autologous Progenitor Cells. *Circulation*, 114, I-132-I-137.
- CEBOTARI, S., TUDORACHE, I., CIUBOTARU, A., BOETHIG, D., SARIKOUCH, S., GOERLER, A., LICHTENBERG, A., CHEPTANARU, E., BARNACIUC, S., CAZACU, A., MALIGA, O., REPIN, O., MANIUC, L., BREYMAN, T. & HAVERICH, A. 2011. Use of Fresh Decellularized Allografts for Pulmonary Valve Replacement May Reduce the Reoperation Rate in Children and Young Adults. *Early Report*, 124, S115-S123.
- CEBOTARI, S., TUDORACHE, I., SCHILLING, T. & HAVERICH, A. 2010. Heart valve and myocardial tissue engineering. *Herz*, 35, 334-341.
- CHAMIS, A. L., PETERSON, G. E., CABELL, C. H., COREY, G. R., SORRENTINO, R. A., GREENFIELD, R. A., RYAN, T., RELLER, L. B. & FOWLER, V. G. 2001. Staphylococcus aureus Bacteremia in Patients With Permanent Pacemakers or Implantable Cardioverter-Defibrillators. *Circulation*, 104, 1029-1033.
- CHAN, K. L., DUMESNIL, J. G., CUJEC, B., SANFILIPPO, A. J., JUE, J., TUREK, M. A., ROBINSON, T. I. & MOHER, D. 2003. A Randomized Trial of Aspirin on the Risk of Embolic Events in Patients with Infective Endocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*, 42, 775-780.
- CHANDRAN, K. B., FATEMI, R., SCHOEPHOERSTER, R., WURZEL, D., HANSEN, G., PANTALOS, G., YU, L. S. & KOLFF, W. J. 1989. In Vitro Comparison of Velocity Profiles and Turbulent Shear Distal to Polyurethane Trileaflet and Pericardial Prosthetic Valves. *Artificial Organs*, 13, 148-154.
- CHATTERJEE, S. 2016. Chapter Two - Oxidative Stress, Inflammation, and Disease A2 - In: DZIUBLA, T. & BUTTERFIELD, D. A. (eds.) *Oxidative Stress and Biomaterials*. Academic Press.
- CHEATHAM, J. P., HELLENBRAND, W. E., ZAHN, E. M., JONES, T. K., BERMAN, D. P., VINCENT, J. A. & MCELHINNEY, D. B. 2015. Clinical and Hemodynamic Outcomes up to 7 Years After Transcatheter Pulmonary Valve Replacement in the US Melody Valve Investigational Device Exemption Trial. *Circulation*, 131, 1960-1970.
- CHEUNG, G., VEJLSTRUP, N., IHLEMANN, N., ARNOUS, S., FRANZEN, O., BUNDGAARD, H. & SONDERGAARD, L. 2013. Infective endocarditis following percutaneous pulmonary valve replacement: Diagnostic challenges and application of intra-cardiac echocardiography. *International Journal of Cardiology*, 169, 425-429.
- CHISTIAKOV, D. A., KILLINGSWORTH, M. C., MYASOEDOVA, V. A., OREKHOV, A. N. & BOBRYSHV, Y. V. 2017. CD68/macrosialin: not just a histochemical marker. *Laboratory Investigation*, 97, 4-13.
- CHOMEL, B. B., BOULOUIS, H. J., MARUYAMA, S. & BREITSCHWERDT, E. B. 2006. Bartonella Spp. in Pets and Effect on Human Health. *Emerging Infectious Disease*, 12, 389-394.

- CHRISTENSON, E. M., ANDERSON, J. M. & HILTNER, A. 2004. Oxidative mechanisms of poly(carbonate urethane) and poly(ether urethane) biodegradation: In vivo and in vitro correlations. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 70A, 245-255.
- CLARK, J. N., OGLE, M. F., ASHWORTH, P., BIANCO, R. W. & LEVY, R. J. 2005. Prevention of Calcification of Bioprosthetic Heart Valve Cusp and Aortic Wall With Ethanol and Aluminum Chloride. *The Annals of Thoracic Surgery*, 79, 897-904.
- CLINICALTRIALS.GOV (INTERNET). BETHESDA, M. U. N. L. O. M. C. 2016a. COMPASSION S3- Evaluation of the SAPIEN 3 Transcatheter Heart Valve in Patients With Pulmonary Valve Dysfunction. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02744677>.
- CLINICALTRIALS.GOV (INTERNET). BETHESDA, M. U. N. L. O. M. C. 2016b. The Medtronic Harmony™ Transcatheter Pulmonary Valve Clinical Study Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02979587>.
- CLINICALTRIALS.GOV (INTERNET). BETHESDA, M. U. N. L. O. M. C. 2017. Multicenter Trial of Congenital Pulmonic Valve Dysfunction Studying the SAPIEN 3 THV With the Alterra Adaptive Presept (ALTERRA). Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03130777>.
- COLYER, F. 1947. Dental disease in animals. *British Dental Journal*, 82, 31-35.
- CORDEN, J., DAVID, T. & FISHER, J. 1996. The Influence of Open Leaflet Geometry on the Haemodynamic Flow Characteristics of Polyurethane Trileaflet Artificial Heart Valves. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 210, 273-287.
- COUNCIL, N. R. 2011. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition*, Washington, DC, The National Academies Press.
- COURTNEY, T., SACKS, M. S., STANKUS, J., GUAN, J. & WAGNER, W. R. 2006. Design and analysis of tissue engineering scaffolds that mimic soft tissue mechanical anisotropy. *Biomaterials*, 27, 3631-3638.
- CREMIEUX, A. C., WITCHITZ, S., MALERGUE, M. C., WOLFF, M., VITTECOCQ, D., VILDE, J. L., FROTTIER, J., VALERE, P. E., GIBERT, C. & SAIMOT, A. G. 1985. Clinical and Echocardiographic Observations in Pulmonary Valve Endocarditis. *The American Journal of Cardiology*, 56, 610-613.
- CRIBIER, A., ELTCHANINOFF, H., BASH, A., BORENSTEIN, N., TRON, C., BAUER, F., DERUMEUX, G., ANSELME, F., LABORDE, F. & LEON, M. B. 2002. Percutaneous Transcatheter Implantation of an Aortic Valve Prosthesis for Calcific Aortic Stenosis: First Human Case Description. *Circulation*, 106, 3006-3008.
- CUBEDDU, R. J. & HIJAZI, Z. M. 2011. Bailout Pericardial Pulmonary Valve Implantation Following Failed Percutaneous Attempt Using the Edwards Sapien Transcatheter Heart Valve. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 77, 276-280.
- CUTRESS, T. W. 1976. Histopathology of Periodontal Disease in Sheep. *Journal of Periodontology*, 47, 643-650.
- DAEBRITZ, S. H., FAUSTEN, B., HERMANN, B., SCHROEDER, J., GROETZNER, J., AUTSCHBACH, R., MESSMER, B. J. & SACHWEH, J. S. 2004. Introduction of a flexible polymeric heart valve prosthesis with special design for aortic position. *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, 25, 946-952.
- DAEBRITZ, S. H., SACHWEH, J. S., HERMANN, B., FAUSTEN, B., FRANKE, A., GROETZNER, J., KLOSTERHALFEN, B. & MESSMER, B. J. 2003. Introduction of a Flexible Polymeric Heart Valve Prosthesis with Special Design for Mitral Position. *Circulation*, 108 Suppl 1, Ii134-139.

- DAVE, H. H., BUECHEL, E. R. V., DODGE-KHATAMI, A., KADNER, A., ROUSSON, V., BAUERSFELD, U. & PRÊTRE, R. 2005. Early Insertion of a Pulmonary Valve for Chronic Regurgitation Helps Restoration of Ventricular Dimensions. *The Annals of Thoracic Surgery*, 80, 1615-1621.
- DE VIVE, E. R. 1983. 87. Klappenersatz im Kindesalter. *Langenbecks Archiv für Chirurgie*, 361, 467-472.
- DEMKOW, M., BIERNACKA, E. K., SPIEWAK, M., KOWALSKI, M., SIUDALSKA, H., WOLSKI, P., SONDERGAARD, L., MISKO, J., HOFFMAN, P. & RUZYLLLO, W. 2011. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation Preceded by Routine Prestenting with a Bare Metal Stent. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 77, 381-389.
- DESAI, M., BAKHSHI, R., ZHOU, X., ODLYHA, M., YOU, Z., SEIFALIAN, A. M. & HAMILTON, G. 2012. A sutureless aortic stent-graft based on a nitinol scaffold bonded to a compliant nanocomposite polymer is durable for 10 years in a simulated in vitro model. *J Endovasc Ther*, 19, 415-27.
- DOHMEN, P. M., LEMBCKE, A., HOLINSKI, S., PRUSS, A. & KONERTZ, W. 2011. Ten Years of Clinical Results With a Tissue-Engineered Pulmonary Valve. *The Annals of Thoracic Surgery*, 92, 1308-1314.
- DOHMEN, P. M., LEMBCKE, A., HOTZ, H., KIVELITZ, D. & KONERTZ, W. F. 2002. Ross Operation with a Tissue-Engineered Heart Valve. *The Annals of Thoracic Surgery*, 74, 1438-1442.
- DOS, L., MUÑOZ-GUIJOSA, C., MENDEZ, A. B., GINEL, A., MONTIEL, J., PADRO, J. M. & SUBIRANA, M. T. 2011. Long term outcome of mechanical valve prosthesis in the pulmonary position. *International Journal of Cardiology*, 150, 173-176.
- DUERIG, T., PELTON, A. & STÖCKEL, D. 1999. An overview of nitinol medical applications. *Materials Science and Engineering: A*, 273, 149-160.
- DUERIG, T. W., TOLOMEO, D. E. & WHOLEY, M. 2000. An overview of superelastic stent design. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies*, 9, 235-246.
- DUERIG, T. W. & WHOLEY, M. 2002. A comparison of balloon- and self-expanding stents. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies*, 11, 173-178.
- EARL, L. A. & BAUM, L. G. 2008. CD45 Glycosylation controls T-cell life and death. *Immunology and Cell Biology*, 86, 608-615.
- EGHBALI, M., TOMEK, R., SUKHATME, V. P., WOODS, C. & BHAMBI, B. 1991. Differential Effects of Transforming Growth Factor-beta 1 and Phorbol Myristate Acetate on Cardiac Fibroblasts. Regulation of Fibrillar Collagen mRNAs and Expression of Early Transcription Factors. *Circulation Research*, 69, 483-490.
- EL FENINAT, F., LAROCHE, G., Fiset, M. & MANTOVANI, D. 2002. Shape Memory Materials for Biomedical Applications. *Advanced Engineering Materials*, 4, 91-104.
- ELDER, R. W. & BALTIMORE, R. S. 2015. The Changing Epidemiology of Pediatric Endocarditis. *Infectious Disease Clinics North America*, 29, 513-524.
- ERTL, G., ANDRESEN, D., BÖHM, M., BORGGREFE, M., BRACHMANN, J., DE HAAN, F., OSTERSEY, A., SILBER, S., TRAPPE, H. J., ARNOLD, G., HOFFMEISER, H. M. & FLECK, E. 2007. Pocket-Leitlinien: Klappenvitien im Erwachsenenalter. In: E.V., D. G. F. K.-H.-U. K. (ed.). Düsseldorf: Vorstand der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie - Herz- und Kreislaufforschung e. V.
- EVERAERTS, F., GILLISSEN, M., TORRIANNI, M., ZILLA, P., HUMAN, P., HENDRIKS, M. & FEIJEN, J. 2006. Reduction of calcification of carbodiimide-processed heart valve tissue by

- prior blocking of amine groups with monoaldehydes. *The Journal of Heart Valve Disease*, 15, 269-277.
- FARBER, B. F. & WOLFF, A. G. 1992. The Use of Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs to Prevent Adherence of Staphylococcus epidermidis to Medical Polymers. *The Journal of Infectious Diseases*, 166, 861-865.
- FEINSTEIN, J. A., KIM, N., REDDY, V. M. & PERRY, S. B. 2006. Percutaneous pulmonary valve placement in a 10-month-old patient using a hand crafted stent-mounted porcine valve. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 67, 644-649.
- FELDMAN, T. 2006. Proceedings of the TCT: Balloon Aortic Valvuloplasty Appropriate for Elderly Valve Patients. *Journal of Interventional Cardiology*, 19, 276-279.
- FELTES, T. F., BACHA, E., BEEKMAN, R. H., CHEATHAM, J. P., FEINSTEIN, J. A., GOMES, A. S., HIJAZI, Z. M., ING, F. F., DE MOOR, M., MORROW, W. R., MULLINS, C. E., TAUBERT, K. A. & ZAHN, E. M. 2011. Indications for Cardiac Catheterization and Intervention in Pediatric Cardiac Disease. *A Scientific Statement From the American Heart Association*, 123, 2607-2652.
- FILOVA, E., STRAKA, F., MIREJOVSKY, T., MASIN, J. & BACAKOVA, L. 2009. Tissue-Engineered Heart Valves. *Physiological Research*, 58 Suppl 2, S141-158.
- FLAMENG, W., MEURIS, B., YPERMAN, J., DE VISSCHER, G., HERIJGERS, P. & VERBEKEN, E. 2006. Factors influencing calcification of cardiac bioprotheses in adolescent sheep. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 132, 89-98.
- FORBESS, J. M., SHAH, A. S., ST. LOUIS, J. D., JAGGERS, J. J. & UNGERLEIDER, R. M. 2001. Cryopreserved homografts in the pulmonary position: determinants of durability. *The Annals of Thoracic Surgery*, 71, 54-59.
- FRAISSE, A., ASSAIDI, A., MAURI, L., MALEKZADEH-MILANI, S., THAMBO, J. B., BONNET, D., ISERIN, L., MANCINI, J. & BOUDJEMLINE, Y. 2014. Coronary artery compression during intention to treat right ventricle outflow with percutaneous pulmonary valve implantation: Incidence, diagnosis, and outcome. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 83, E260-268.
- FRANZ, S., RAMMELT, S., SCHARNWEBER, D. & SIMON, J. C. 2011. Immune responses to implants – A review of the implications for the design of immunomodulatory biomaterials. *Biomaterials*, 32, 6692-6709.
- FRELING, H. G., VAN SLOOTEN, Y. J., VAN MELLE, J. P., EBELS, T., HOENDERMIS, E. S., BERGER, R. M. F., HILLEGE, H. L., WATERBOLK, T. W., VAN VELDHUISEN, D. J., WILLEMS, T. P. & PIEPER, P. G. 2015. Pulmonary Valve Replacement: Twenty-Six Years of Experience With Mechanical Valvar Prostheses. *The Annals of Thoracic Surgery*, 99, 905-910.
- FRIGIOLA, A., TSANG, V., BULL, C., COATS, L., KHAMBADKONE, S., DERRICK, G., MIST, B., WALKER, F., VAN DOORN, C., BONHOEFFER, P. & TAYLOR, A. M. 2008. Biventricular Response After Pulmonary Valve Replacement for Right Ventricular Outflow Tract Dysfunction. *Is Age a Predictor of Outcome?*, 118, S182-S190.
- GARAY, F., PAN, X., ZHANG, Y., WANG, C. & SPRINGMULLER, D. 2017. Early experience with the Venus p-valve for percutaneous pulmonary valve implantation in native outflow tract. *Netherlands Heart Journal*, 25, 76-81.
- GEORGIEV, S., EWERT, P., TANASE, D., HESS, J., HAGER, A., CLEUZIQU, J., MEIERHOFER, C. & EICKEN, A. 2019. A Low Residual Pressure Gradient Yields Excellent Long-Term Outcome After Percutaneous Pulmonary Valve Implantation. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 12, 1594-1603.

- GEORGIEV, S., TANASE, D., EWERT, P., MEIERHOFER, C., HAGER, A., VON OHAIN, J. P. & EICKEN, A. 2018. Percutaneous pulmonary valve implantation in patients with dysfunction of a "native" right ventricular outflow tract - Mid-term results. *International Journal of Cardiology*, 258, 31-35.
- GHANBARI, H., KIDANE, A. G., BURRIESCI, G., BONHOEFFER, P. & SEIFALIAN, A. M. 2008. Percutaneous Heart Valve Replacement: An Update. *Trends in Cardiovascular Medicine*, 18, 117-125.
- GHANBARI, H., KIDANE, A. G., BURRIESCI, G., RAMESH, B., DARBYSHIRE, A. & SEIFALIAN, A. M. 2010. The anti-calcification potential of a silsesquioxane nanocomposite polymer under in vitro conditions: Potential material for synthetic leaflet heart valve. *Acta Biomaterialia*, 6, 4249-4260.
- GHANBARI, H., VIATGE, H., KIDANE, A. G., BURRIESCI, G., TAVAKOLI, M. & SEIFALIAN, A. M. 2009. Polymeric heart valves: new materials, emerging hopes. *Trends in Biotechnology*, 27, 359-367.
- GIDDENS, D. P., YOGANATHAN, A. P. & SCHOEN, F. J. 1993. Chapter 16: Prosthetic Cardiac Valves. *Cardiovascular Pathology*, 2, 167-177.
- GILBERT, J. L. & KUBACKI, G. W. 2016. Chapter Three - Oxidative Stress, Inflammation, and the Corrosion of Metallic Biomaterials: Corrosion Causes Biology and Biology Causes Corrosion In: DZIUBLA, T. & BUTTERFIELD, D. A. (eds.) *Oxidative Stress and Biomaterials*. Academic Press.
- GOLDSTEIN, J., NEWBURY, D. E., JOY, D. C., LYMAN, C. E., P., E., LIFSHIN, E., SAWYER, L. & MICHAEL, J. R. 2003. *Scanning Electron Microscopy and X-ray Microanalysis*, Springer US.
- GORNA, K. & GOGOLEWSKI, S. 2002. Biodegradable polyurethanes for implants. II. In vitro degradation and calcification of materials from poly(epsilon-caprolactone)-poly(ethylene oxide) diols and various chain extenders. *Journal of Biomedical Materials Research*, 60, 592-606.
- GRÜNTZIG, A. & HOPFF, H. 1974. Percutaneous recanalization after chronic arterial occlusion with a new dilator-catheter (modification of the Dotter technique). *Deutsches Medizinisches Wochenscheiben*, 99, 2502-2510, 2511.
- GRÜNTZIG, A. & SCHNEIDER, H. J. 1977. The percutaneous dilatation of chronic coronary stenoses--experiments and morphology. *Schweizer Medizinisches Wochenscheiben*, 107, 1588.
- GUAN, J., FUJIMOTO, K. L., SACKS, M. S. & WAGNER, W. R. 2005. Preparation and characterization of highly porous, biodegradable polyurethane scaffolds for soft tissue applications. *Biomaterials*, 26, 3961-71.
- GUAN, Y., WANG, L., LIN, J. & KING, M. W. 2016. Compliance Study of Endovascular Stent Grafts Incorporated with Polyester and Polyurethane Graft Materials in both Stented and Unstented Zones. *Materials*, 9, 1-15.
- GUDAUSKY, T. M. & BEEKMAN, R. H., 3RD 2006. Current options, and long-term results for interventional treatment of pulmonary valvar stenosis. *Cardiology in the Young*, 16, 418-427.
- GUNATILLAKE, P., MAYADUNNE, R. & ADHIKARI, R. 2006. Recent developments in biodegradable synthetic polymers. *Biotechnology Annual Review*, 12, 301-347.
- HAAF, P., STEINER, M., ATTMANN, T., PFISTER, G., CREMER, J. & LUTTER, G. 2009. A Novel Pulse Duplicator System: Evaluation of Different Valve Prostheses. *The Thoracic and Cardiovasc Surgeon*, 57, 10-17.

- HAAS, N. A., MOYSICH, A., NEUDORF, U., MORTEZAEIAN, H., ABDEL-WAHAB, M., SCHNEIDER, H., DE WOLF, D., PETIT, J., NARAYANSWAMI, S., LASER, K. T. & SANDICA, E. 2013. Percutaneous implantation of the Edwards SAPIEN pulmonic valve: initial results in the first 22 patients. *Clinical Research in Cardiology* 102, 119-128.
- HAAS, N. A., VCASNA, R., LASER, K. T., BLANZ, U., HERRMANN, F. E., JAKOB, A., FISCHER, M., KANAAN, M. & LEHNER, A. 2019. The standing of percutaneous pulmonary valve implantation compared to surgery in a non-preselected cohort with dysfunctional right ventricular outflow tract - Reasons for failure and contraindications. *Journal of Cardiology*, 74, 217-222.
- HABIB, G., LANCELLOTTI, P., ANTUNES, M. J., BONGIORNI, M. G., CASALTA, J.-P., DEL ZOTTI, F., DULGHERU, R., EL KHOURY, G., ERBA, P. A., IUNG, B., MIRO, J. M., MULDER, B. J., PLONSKA-GOSCINIAK, E., PRICE, S., ROOS-HESELINK, J., SNYGG-MARTIN, U., THUNY, F., TORNOS MAS, P., VILACOSTA, I., ZAMORANO, J. L., EROL, Ç., NIHOYANNOPOULOS, P., ABOYANS, V., AGEWALL, S., ATHANASSOPOULOS, G., AYTEKIN, S., BENZER, W., BUENO, H., BROEKHUIZEN, L., CARERJ, S., COSYNS, B., DE BACKER, J., DE BONIS, M., DIMOPOULOS, K., DONAL, E., DREXEL, H., FLACHSKAMPF, F. A., HALL, R., HALVORSEN, S., HOEN, B., KIRCHHOF, P., LAINSCAK, M., LEITE-MOREIRA, A. F., LIP, G. Y. H., MESTRES, C. A., PIEPOLI, M. F., PUNJABI, P. P., RAPEZZI, C., ROSENHEK, R., SIEBENS, K., TAMARGO, J. & WALKER, D. M. 2015. 2015 ESC Guidelines for the management of infective endocarditisThe Task Force for the Management of Infective Endocarditis of the European Society of Cardiology (ESC)Endorsed by: European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS), the European Association of Nuclear Medicine (EANM). *European Heart Journal*, 36, 3075-3128.
- HAMZA, N., ORTIZ, J. & BONOMO, R. A. 2004. Isolated Pulmonic Valve Infective Endocarditis: A Persistent Challenge. *Infection*, 32, 170-175.
- HASCOET, S., MAURI, L., CLAUDE, C., FOURNIER, E., LOURTET, J., RIOU, J.-Y., BRENOT, P. & PETIT, J. 2017. Infective Endocarditis Risk After Percutaneous Pulmonary Valve Implantation With the Melody and Sapien Valves. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 10, 510-517.
- HASHIMOTO, M., KAMINOU, T., OHUCHI, Y., NAKAMURA, K., SUGIURA, K., ADACHI, A., KAWAI, T., IHAYA, T. & OGAWA, T. 2008. Development of a re-positionable aortic stent-valve: a preliminary study in swine. *Journal of Interventional Cardiology*, 21, 432-440.
- HAZEKAMP, M. G., KURVERS, M. M., SCHOOF, P. H., VliegEN, H. W., MULDER, B. M., ROEST, A. A., OTTENKAMP, J. & DION, R. A. 2001. Pulmonary valve insertion late after repair of Fallot's tetralogy. *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, 19, 667-670.
- HENDEL, R. C., PATEL, M. R., KRAMER, C. M., POON, M., HENDEL, R. C., CARR, J. C., GERSTAD, N. A., GILLAM, L. D., HODGSON, J. M., KIM, R. J., KRAMER, C. M., LESSER, J. R., MARTIN, E. T., MESSER, J. V., REDBERG, R. F., RUBIN, G. D., RUMSFELD, J. S., TAYLOR, A. J., WEIGOLD, W. G., WOODARD, P. K., BRINDIS, R. G., HENDEL, R. C., DOUGLAS, P. S., PETERSON, E. D., WOLK, M. J., ALLEN, J. M. & PATEL, M. R. 2006. ACCF/ACR/SCCT/SCMR/ASNC/NASCI/SCAI/SIR 2006 Appropriateness Criteria for Cardiac Computed Tomography and Cardiac Magnetic Resonance Imaging**Developed in accordance with the principles and methodology outlined by ACCF: Patel MR, Spertus JA, Brindis RG, Hendel RC, Douglas PS, Peterson ED, Wolk MJ, Allen JM, Raskin IE. ACCF proposed method for evaluating the appropriateness of cardiovascular imaging. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1606–13.: A Report of the

- American College of Cardiology Foundation Quality Strategic Directions Committee Appropriateness Criteria Working Group, American College of Radiology, Society of Cardiovascular Computed Tomography, Society for Cardiovascular Magnetic Resonance, American Society of Nuclear Cardiology, North American Society for Cardiac Imaging, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Interventional Radiology. *Journal of the American College of Cardiology*, 48, 1475-1497.
- HENSTEN-PETTERSEN, A. 1998. Skin and mucosal reactions associated with dental materials. *European Journal of Oral Sciences*, 106, 707-712.
- HEROLD, G. & MITARBEITER 2017. Kardiologie. In: HEROLD, G. (ed.) *Innere Medizin*. Köln.
- HEUSCH, A., KOCH, J. A., KROGMANN, O. N., KORBMACHER, B. & BOURGEOIS, M. 1999. Volumetric analysis of the right and left ventricle in a porcine heart model: comparison of three-dimensional echocardiography, magnetic resonance imaging and angiocardiology. *European Journal of Ultrasound*, 9, 245-255.
- HILL, J. D. 1982. John H. Gibbon, Jr. Part I. The Development of the First Successful Heart-Lung Machine. *The Annals of Thoracic Surgery*, 34, 337-341.
- HILTUNEN, K., TUOMINEN, J. & SEPPÄLÄ, J. V. 1998. Hydrolysis of lactic acid based poly(ester-urethane)s. *Polymer International*, 47, 186-192.
- HOERSTRUP, S. P., SODIAN, R., DAEBRITZ, S., WANG, J., BACHA, E. A., MARTIN, D. P., MORAN, A. M., GULESERIAN, K. J., SPERLING, J. S., KAUSHAL, S., VACANTI, J. P., SCHOEN, F. J. & MAYER, J. E. 2000. Functional Living Trileaflet Heart Valves Grown In Vitro. *Circulation*, 102, lli44-lil49.
- HOFFMAN, J. I., KAPLAN, S. & LIBERTHSON, R. R. 2004. Prevalence of congenital heart disease. *American Heart Journal*, 147, 425-439.
- HÖRER, J., VOGT, M., STIERLE, U., CLEUZIOU, J., PRODAN, Z., SCHREIBER, C. & LANGE, R. 2009. A Comparative Study of Mechanical and Homograft Prostheses in the Pulmonary Position. *The Annals of Thoracic Surgery*, 88, 1534-1539.
- HOWARD, G. T. 2002. Biodegradation of polyurethane: a review. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 49, 245-252.
- HUFNAGEL, C. A. 1951. Aortic plastic valvular prosthesis. *Bulletin. Georgetown University Medical Center*, 4, 128-130.
- HUFNAGEL, C. A. 1977. Reflections on the development of valvular prostheses. *Medical Instrumentation*, 11, 74-76.
- HUNG, K. C., TSENG, C. S. & HSU, S. H. 2016. 3D printing of polyurethane biomaterials. In: COOPER, S. L. & GUAN, J. (eds.) *Advances in Polyurethane Biomaterials*. 1 ed.: Woodhead Publishing.
- HUSAIN, J., PRAICHASILCHAI, P., GILBERT, Y., QURESHI, S. A. & MORGAN, G. J. 2016. Early European experience with the Venus P-valve®: filling the gap in percutaneous pulmonary valve implantation. *EuroIntervention*, 12, e643-e651.
- HYDE, J. A., CHINN, J. A. & PHILLIPS, R. E., JR. 1999. Polymer Heart Valves. *The Journal of Heart Valve Disease*, 8, 331-339.
- IMAMURA, E. & KAYE, M. P. 1977. Function of expanded-polytetrafluoroethylene laminated trileaflet valves in animals. *Mayo Clinic Proceedings*, 52, 770-5.
- JAIN, A., OSTER, M., KILGO, P., GRUDZIAK, J., JOKHADAR, M., BOOK, W. & KOGON, B. E. 2012. Risk Factors Associated With Morbidity and Mortality After Pulmonary Valve Replacement in Adult Patients With Previously Corrected Tetralogy of Fallot. *Pediatric Cardiology*, 33, 601-606.

- JANSEN, J., WILLEKE, S., REINERS, B., HARBOTT, P., REUL, H., LO, H. B., DABRITZ, S., ROSENBAUM, C., BITTER, A., ZIEHE, K. & ET AL. 1991a. Advances in design principle and fluid dynamics of a flexible polymeric heart valve. *ASAIO Transactions*, 37, M451-453.
- JANSEN, J., WILLEKE, S., REINERS, B., HARBOTT, P., REUL, H. & RAU, G. 1991b. New J-3 flexible-leaflet polyurethane heart valve prosthesis with improved hydrodynamic performance. *The International Journal of Artificial Organs/Int J Artif Organs*, 14, 655-660.
- JAUHIAINEN, T., JÄRVINEN, V. M., HEKALI, P. E., POUTANEN, V.-P., PENTTILÄ, A. & KUPARI, M. 1998. MR Gradient Echo Volumetric Analysis of Human Cardiac Casts: Focus on the Right Ventricle. *Journal of Computer Assisted Tomography*, 22, 899-903.
- JEONG, H.-I., SONG, J., CHOI, E. Y., KIM, S. H., HUH, J., KANG, I. S., YANG, J. H. & JUN, T. G. 2017. How Long Can the Next Intervention Be Delayed after Balloon Dilatation of Homograft in the Pulmonary Position? *Korean Circulation Journal*, 47, 786-793.
- JOHNSON, D. H., ROSENTHAL, A. & NADAS, A. S. 1975. A Forty-year Review of Bacterial Endocarditis in Infancy and Childhood. *Circulation*, 51, 581-588.
- JOHNSON, D. M., CHWIRUT, D. J. & REGNAULT, W. F. 1994. FDA's requirements for in-vitro performance data for prosthetic heart valves. *The Journal of Heart Valve Disease*, 3, 228-324.
- JOHNSON, D. M. & SAPIRSTEIN, W. 1994. FDA's requirements for in-vivo performance data for prosthetic heart valves. *The Journal of Heart Valve Disease*, 3, 350-355.
- JOHNSON, J. N., MILLER, S. G. & LODGE, A. J. 2014. *Corynebacterium* endocarditis of a percutaneously placed transcatheter pulmonary valve. *Cardiology in the Young*, 24, 932-934.
- JONES, T. K., ROME, J. J., ARMSTRONG, A. K., BERGER, F., HELLENBRAND, W. E., CABALKA, A. K., BENSON, L. N., BALZER, D. T., CHEATHAM, J. P., EICKEN, A. & MCELHINNEY, D. B. 2016. Transcatheter Pulmonary Valve Replacement Reduces Tricuspid Regurgitation in Patients With Right Ventricular Volume/Pressure Overload. *Journal of the American College of Cardiology*, 68, 1525-1535.
- JOSHI, R. R., FRAUTSCHI, J. R., PHILLIPS, R. E., JR. & LEVY, R. J. 1994. Phosphonated polyurethanes that resist calcification. *Journal of Applied Biomaterials*, 5, 65-77.
- JUX, C., WEIL, J., DALLA POZZA, R., BENNINK, G. & HORKE, A. 2010. S2k Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Valvuläre Pulmonalstenose im Kindes- und Jugendalter. In: KARDIOLOGIE, D. G. F. P. (ed.) 023/007. AWMF online.
- KALFA, D., BEL, A., CHEN-TOURNOUX, A., DELLA MARTINA, A., ROCHEREAU, P., COZ, C., BELLAMY, V., BENSALAH, M., VANNEAUX, V., LECOURT, S., MOUSSEAU, E., BRUNEVAL, P., LARGHERO, J. & MENASCHÉ, P. 2010. A polydioxanone electrospun valved patch to replace the right ventricular outflow tract in a growing lamb model. *Biomaterials*, 31, 4056-4063.
- KAN, J. S., WHITE, R. I., JR., MITCHELL, S. E. & GARDNER, T. J. 1982. Percutaneous Balloon Valvuloplasty: A New Method for Treating Congenital Pulmonary-Valve Stenosis. *The New England Journal of Medicine*, 307, 540-542.
- KANNAN, R. Y., SALACINSKI, H. J., BUTLER, P. E. & SEIFALIAN, A. M. 2005. Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane Nanocomposites: The Next Generation Material for Biomedical Applications. *Accounts of Chemical Research*, 38, 879-884.
- KANNAN, R. Y., SALACINSKI, H. J., DE GROOT, J., CLATWORTHY, I., BOZEC, L., HORTON, M., BUTLER, P. E. & SEIFALIAN, A. M. 2006a. The Antithrombogenic Potential of a

- Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane (POSS) Nanocomposite. *Biomacromolecules*, 7, 215-223.
- KANNAN, R. Y., SALACINSKI, H. J., ODLYHA, M., BUTLER, P. E. & SEIFALIAN, A. M. 2006b. The degradative resistance of polyhedral oligomeric silsesquioxane nanocore integrated polyurethanes: An in vitro study. *Biomaterials*, 27, 1971-1979.
- KANNAN, R. Y., SALACINSKI, H. J., SALES, K. M., BUTLER, P. E. & SEIFALIAN, A. M. 2006c. The endothelialization of polyhedral oligomeric silsesquioxane nanocomposites: An in vitro study. *Cell Biochemistry and Biophysics*, 45, 129-136.
- KAO, W. J., MCNALLY, A. K., HILTNER, A. & ANDERSON, J. M. 1995. Role for interleukin-4 in foreign-body giant cell formation on a poly(etherurethane urea) in vivo. *Journal of Biomedical Materials Research*, 29, 1267-1275.
- KAUFFMAN, G. B. & MAYO, I. 1997. The Story of Nitinol: The Serendipitous Discovery of the Memory Metal and Its Applications. *The Chemical Educator*, 2, 1-21.
- KESELOWSKY, B. G., BRIDGES, A. W., BURNS, K. L., TATE, C. C., BABENSEE, J. E., LAPLACA, M. C. & GARCÍA, A. J. 2007. Role of plasma fibronectin in the foreign body response to biomaterials. *Biomaterials*, 28, 3626-3631.
- KHAMBADKONE, S. 2012. Percutaneous pulmonary valve implantation. *Annals of Pediatric Cardiology*, 5, 53-60.
- KHAMBADKONE, S., COATS, L., TAYLOR, A., BOUDJEMLINE, Y., DERRICK, G., TSANG, V., COOPER, J., MUTHURANGU, V., HEGDE, S. R., RAZAVI, R. S., PELLERIN, D., DEANFIELD, J. & BONHOEFFER, P. 2005. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation in Humans: Results in 59 Consecutive Patients. *Circulation*, 112, 1189-1197.
- KHEIWA, A., DIVANJI, P. & MAHADEVAN, V. S. 2018. Transcatheter pulmonary valve implantation: will it replace surgical pulmonary valve replacement? *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 16, 197-207.
- KIDANE, A. G., BURRIESCI, G., EDIRISINGHE, M., GHANBARI, H., BONHOEFFER, P. & SEIFALIAN, A. M. 2009. A novel nanocomposite polymer for development of synthetic heart valve leaflets. *Acta Biomaterialia*, 5, 2409-2417.
- KIM, G. B., KWON, B. S. & LIM, H. G. 2017. First in human experience of a new self-expandable percutaneous pulmonary valve implantation using knitted nitinol-wire and tri-leaflet porcine pericardial valve in the native right ventricular outflow tract. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 89, 906-909.
- KIM, G. B., SONG, M. K., BAE, E. J., PARK, E. A., LEE, W., LIM, H. G. & KIM, Y. J. 2018. Successful Feasibility Human Trial of a New Self-Expandable Percutaneous Pulmonary Valve (Pulsta Valve) Implantation Using Knitted Nitinol Wire Backbone and Trileaflet alpha-Gal-Free Porcine Pericardial Valve in the Native Right Ventricular Outflow Tract. *Circulation. Cardiovascular Interventions*, 11, e006494.
- KIM, S.-S., LIM, S.-H., HONG, Y.-S., CHO, S.-W., RYU, J. H., CHANG, B.-C., CHOI, C. Y. & KIM, B.-S. 2006. Tissue Engineering of Heart Valves In Vivo Using Bone Marrow-derived Cells. *Artificial Organs*, 30, 554-557.
- KIM, W. K. & HAMM, C. W. 2017. The Future of TAVI. *European Heart Journal*, 38, 2704-2707.
- KLEIN, A., LEE, K., GERA, A., PORTS, T. A. & MICHAELS, A. D. 2006. Long-Term Mortality, Cause of Death, and Temporal Trends in Complications after Percutaneous Aortic Balloon Valvuloplasty for Calcific Aortic Stenosis. *Journal of Interventional Cardiology*, 19, 269-275.

- KOGON, B., GRUDZIAK, J., SAHU, A., JOKHADAR, M., MCCONNELL, M., BOOK, W. & OSTER, M. 2013. Surgery in Adults With Congenital Heart Disease: Risk Factors for Morbidity and Mortality. *The Annals of Thoracic Surgery*, 95, 1377-1382; discussion 1382.
- KORETZKY, E. D., MOLLER, J. H., KORNS, M. E., SCHWARTZ, C. J. & EDWARDS, J. E. 1969. Congenital Pulmonary Stenosis Resulting from Dysplasia of Valve. *Circulation*, 40, 43-53.
- KORHONEN, R. & MOILANEN, E. 2010. Anti-CD20 Antibody Rituximab in the Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Basic and Clinical Pharmacology and Toxicology*, 106, 13-21.
- KUMAR, M., TURRENTINE, M. W., RODEFELD, M. D., BELL, T. & BROWN, J. W. 2016. Right Ventricular Outflow Tract Reconstruction With a Polytetrafluoroethylene Monocusp Valve: A 20-Year Experience. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 28, 463-470.
- KUMAR, S., RAJKUMAR, S. V., KIMLINGER, T., GREIPP, P. R. & WITZIG, T. E. 2005. CD45 expression by bone marrow plasma cells in multiple myeloma: clinical and biological correlations. *Leukemia*, 19, 1466-1470.
- KUPFERWASSER, L. I., YEAMAN, M. R., SHAPIRO, S. M., NAST, C. C., SULLAM, P. M., FILLER, S. G. & BAYER, A. S. 1999. Acetylsalicylic Acid Reduces Vegetation Bacterial Density, Hematogenous Bacterial Dissemination, and Frequency of Embolic Events in Experimental Staphylococcus aureus Endocarditis Through Antiplatelet and Antibacterial Effects. *Circulation*, 99, 2791-2797.
- LANG, G. 2006a. Histologische Färbungen. *Histotechnik Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik*. 1 ed.: Springer Wien New York.
- LANG, G. 2006b. Immunhistochemie. *Histotechnik Praxislehrbuch für die biomedizinische Analytik*. 1 ed.: Springer Wien New York.
- LAPIERE, C. M., NUSGENS, B. & PIERARD, G. E. 1977. Interaction between collagen type I and type III in conditioning bundles organization. *Connective Tissue Research*, 5, 21-29.
- LEAT, M. E. & FISHER, J. 1995. The Influence of Manufacturing Methods on the Function and Performance of a Synthetic Leaflet Heart Valve. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, 209, 65-69.
- LEONARDI, B., SECINARO, A., PERRONE, M. A., CURIONE, D., NAPOLITANO, C. & GAGLIARDI, M. G. 2019. Role of cardiovascular magnetic resonance end-systolic 3D-SSFP sequence in repaired tetralogy of Fallot patients eligible for transcatheter pulmonary valve implantation. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 35, 1525-1533.
- LI, J. S., SEXTON, D. J., MICK, N., NETTLES, R., FOWLER, J. V. G., RYAN, T., BASHORE, T. & COREY, G. R. 2000. Proposed Modifications to the Duke Criteria for the Diagnosis of Infective Endocarditis. *Clinical Infectious Diseases*, 30, 633-638.
- LI, W., DAVLOUROS, P. A., KILNER, P. J., PENNELL, D. J., GIBSON, D., HENEIN, M. Y. & GATZOULIS, M. A. 2004. Doppler-echocardiographic assessment of pulmonary regurgitation in adults with repaired tetralogy of Fallot: comparison with cardiovascular magnetic resonance imaging. *American Heart Journal*, 147, 165-172.
- LI, W., LIU, W. Y., YI, D. H., YU, S. Q. & JIN, Z. X. 2007. Histological/ Biological Characterization of Decellularized Bovine Jugular Vein. *Asian Cardiovascular and Thoracic Annals*, 15, 91-96.
- LO, H. B., HEROLD, M., REUL, H., MUCKTER, H., TAGUCHI, K., SURMANN, M., HILDINGER, K. H., LAMBERTZ, H., DE HAAN, H., HANDT, S. & ET AL. 1988. A tricuspid polyurethane

- heart valve as an alternative to mechanical prostheses or bioprostheses. *ASAIO Transactions*, 34, 839-844.
- LOAR, R. W., QURESHI, A. M., MIYAKE, C. Y., VALDES, S. O., KIM, J. J. & DE LA UZ, C. M. 2016. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation-Associated Ventricular Tachycardia in Congenital Heart Disease. *Journal of Interventional Cardiology*, 29, 639-645.
- LUGRIN, J., ROSENBLATT-VELIN, N., PARAPANOV, R. & LIAUDET, L. 2014. The role of oxidative stress during inflammatory processes. *Biological Chemistry*, 395, 203-230.
- LÜLLMANN-RAUCH, R. 2009. Herz. In: LÜLLMANN-RAUCH, R. (ed.) *Taschenlehrbuch Histologie*. 3 ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag KG.
- LURZ, P., COATS, L., KHAMBADKONE, S., NORDMEYER, J., BOUDJEMLINE, Y., SCHIEVANO, S., MUTHURANGU, V., LEE, T. Y., PARENZAN, G., DERRICK, G., CULLEN, S., WALKER, F., TSANG, V., DEANFIELD, J., TAYLOR, A. M. & BONHOEFFER, P. 2008. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation: Impact of Evolving Technology and Learning Curve on Clinical Outcome. *Circulation*, 117, 1964-1972.
- LURZ, P., GAUDIN, R., TAYLOR, A. M. & BONHOEFFER, P. 2009. Percutaneous Pulmonary Valve Implantation. *Seminars in Thoracic and Cardiovascular Surgery: Pediatric Cardiac Surgery Annual*, 12, 112-117.
- LURZ, P. & KISTER, T. 2019. Why we need another percutaneous pulmonary valve: if size matters. *EuroIntervention*, 14, 1347-1349.
- LURZ, P., NORDMEYER, J., GIARDINI, A., KHAMBADKONE, S., MUTHURANGU, V., SCHIEVANO, S., THAMBO, J.-B., WALKER, F., CULLEN, S., DERRICK, G., TAYLOR, A. M. & BONHOEFFER, P. 2011. Early Versus Late Functional Outcome After Successful Percutaneous Pulmonary Valve Implantation: Are the Acute Effects of Altered Right Ventricular Loading All We Can Expect? *Journal of the American College of Cardiology*, 57, 724-731.
- LUTTER, G., KUKLINSKI, D., BERG, G., VON SAMSON, P., MARTIN, J., HANDKE, M., UHRMEISTER, P. & BEYERSDORF, F. 2002. Percutaneous aortic valve replacement: An experimental study. I. Studies on implantation. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 123, 768-776.
- LUTTER, G., METZNER, A., JAHNKE, T., BOMBIEN, R., BOLDT, J., IINO, K., CREMER, J. & STOCK, U. A. 2010. Percutaneous Tissue-Engineered Pulmonary Valved Stent Implantation. *The Annals of Thoracic Surgery*, 89, 259-263.
- MACKAY, T. G., BERNACCA, G. M., FISHER, A. C., HINDLE, C. S. & WHEATLEY, D. J. 1996a. In Vitro Function and Durability Assessment of a Novel Polyurethane Heart Valve Prosthesis. *Artificial Organs*, 20, 1017-1025.
- MACKAY, T. G., WHEATLEY, D. J., BERNACCA, G. M., FISHER, A. C. & HINDLE, C. S. 1996b. New polyurethane heart valve prosthesis: design, manufacture and evaluation. *Biomaterials*, 17, 1857-1863.
- MAHTABI, M. J., SHAMSAEI, N. & MITCHELL, M. R. 2015. Fatigue of Nitinol: The state-of-the-art and ongoing challenges. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 50, 228-254.
- MAIER, H. & WINKELMANN, A. 2009. Präparation der Körperhöhlen. *Präparierkurs Präparieranweisungen und Theorie*. Lehmanns Media.
- MALEKZADEH-MILANI, S., HOUEIJEH, A., JALAL, Z., HASCOET, S., BAKLOUL, M., ALDEBERT, P., PIÉCHAUD, J.-F., HEITZ, F., BOUVAIST, H., DAUPHIN, C., GUÉRIN, P., VILLEMAIN, O., PETIT, J., GODART, F., THAMBO, J.-B. & BOUDJEMLINE, Y. 2018. French national

- survey on infective endocarditis and the Melody™ valve in percutaneous pulmonary valve implantation. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 111, 497-506.
- MARKHAM, R., CHALLA, A., KYRANIS, S., NICOLAE, M., MURDOCH, D., SAVAGE, M., MALPAS, T., RADFORD, D. J., HAMILTON-CRAIG, C. & WALTERS, D. L. 2017. Outcomes Following Melody Transcatheter Pulmonary Valve Implantation for Right Ventricular Outflow Tract Dysfunction in Repaired Congenital Heart Disease: First Reported Australian Single Centre Experience. *Heart, Lung and Circulation*, 26, 1085-1093.
- MASKARINEC, S. A., THADEN, J. T., CYR, D. D., RUFFIN, F., SOULI, M. & FOWLER, V. G. 2017. The Risk of Cardiac Device-Related Infection in Bacteremic Patients Is Species Specific: Results of a 12-Year Prospective Cohort. *Open Forum Infectious Diseases*, 4, ofx132.
- MATHUR, A. B., COLLIER, T. O., KAO, W. J., WIGGINS, M., SCHUBERT, M. A., HILTNER, A. & ANDERSON, J. M. 1997. In vivo biocompatibility and biostability of modified polyurethanes. *Journal of Biomedical Materials Research*, 36, 246-257.
- MCCOURTIE, J., POXTON, I. R., BROWN, R., WHITTAKER, C. R., SPENCE, J. A. & AITCHISON, G. U. 1990. A longitudinal study of the cultivable subgingival anaerobic bacteria isolated from sheep during the development of broken mouth periodontitis. *Journal of Medical Microbiology*, 31, 275-283.
- MCELHINNEY, D. B., BENSON, L. N., EICKEN, A., KREUTZER, J., PADERA, R. F. & ZAHN, E. M. 2013. Infective Endocarditis After Transcatheter Pulmonary Valve Replacement Using the Melody Valve: Combined Results of 3 Prospective North American and European Studies. *Circulation. Cardiovascular Interventions*, 6, 292-300.
- MCELHINNEY, D. B., HELLENBRAND, W. E., ZAHN, E. M., JONES, T. K., CHEATHAM, J. P., LOCK, J. E. & VINCENT, J. A. 2010. Short- and Medium-Term Outcomes After Transcatheter Pulmonary Valve Placement in the Expanded Multicenter US Melody Valve Trial. *Circulation*, 122, 507-516.
- MCFARLAND, C. D., THOMAS, C. H., DEFILIPPIS, C., STEELE, J. G. & HEALY, K. E. 2000. Protein adsorption and cell attachment to patterned surfaces. *Journal of Biomedical Materials Research*, 49, 200-210.
- MCINTIRE, L. V. 2003. WTEC panel report on tissue engineering. *Tissue Engineering*, 9, 3-7.
- MCNALLY, A. K. & ANDERSON, J. M. 1995. Interleukin-4 induces foreign body giant cells from human monocytes/macrophages. Differential lymphokine regulation of macrophage fusion leads to morphological variants of multinucleated giant cells. *The American Journal of Pathology*, 147, 1487-1499.
- METZNER, A., IINO, K., STEINSEIFER, U., UEBING, A., DE BUHR, W., CREMER, J. & LUTTER, G. 2010a. Percutaneous pulmonary polyurethane valved stent implantation. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 139, 748-752.
- METZNER, A., STOCK, U. A., IINO, K., FISCHER, G., HUEMME, T., BOLDT, J., BRAESEN, J. H., BEIN, B., RENNER, J., CREMER, J. & LUTTER, G. 2010b. Percutaneous pulmonary valve replacement: autologous tissue-engineered valved stents. *Cardiovascular Research*, 88, 453-461.
- MEYNS, B., JASHARI, R., GEWILLIG, M., MERTENS, L., KOMAREK, A., LESAFFRE, E., BUDTS, W. & DAENEN, W. 2005. Factors influencing the survival of cryopreserved homografts. The second homograft performs as well as the first. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 28, 211-216; discussion 216.

- MILLER, K. M. & ANDERSON, J. M. 1989. In vitro stimulation of fibroblast activity by factors generated from human monocytes activated by biomedical polymers. *Journal of Biomedical Materials Research*, 23, 911-930.
- MIRANDA, W. R., CONNOLLY, H. M., DESIMONE, D. C., PHILLIPS, S. D., WILSON, W. R., SOHAIL, M. R., STECKELBERG, J. M. & BADDOUR, L. M. 2015. Infective Endocarditis Involving the Pulmonary Valve. *The American Journal of Cardiology*, 116, 1928-1931.
- MIROWSKI, M., SHAH, K. D., NEILL, C. A. & TAUSSIG, H. B. 1963. Long-Term (10 to 13 years) Follow-Up Study after Transventricular Valvectomy for Pulmonary Stenosis with Intact Ventricular Septum. *Circulation*, 28.
- MOONS, P., ENGELFRIET, P., KAEMMERER, H., MEIJBOOM, F. J., OECHSLIN, E. & MULDER, B. J. 2006. Delivery of care for adult patients with congenital heart disease in Europe: results from the Euro Heart Survey. *European Heart Journal*, 27, 1324-1330.
- MORGAN, G., PRACHASILCHAI, P., PROMPHAN, W., ROSENTHAL, E., SIVAKUMAR, K., KAPPANAYIL, M., SAKIDJAN, I., WALSH, K. P., KENNY, D., THOMSON, J., KONETI, N. R., AWASTHY, N., THANOPOULOS, B., ROYMANEE, S. & QURESHI, S. 2019. Medium-term results of percutaneous pulmonary valve implantation using the Venus P-valve: international experience. *EuroIntervention*, 14, 1363-1370.
- MORRAY, B. H., MCELHINNEY, D. B., CHEATHAM, J. P., ZAHN, E. M., BERMAN, D. P., SULLIVAN, P. M., LOCK, J. E. & JONES, T. K. 2013. Risk of Coronary Artery Compression Among Patients Referred for Transcatheter Pulmonary Valve Implantation A Multicenter Experience. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 6, 535-542.
- MOSSER, D. M. & EDWARDS, J. P. 2008. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nature Reviews Immunology*, 8, 958-969.
- MOUTHUY, P.-A., SNELLING, S. J. B., DAKIN, S. G., MILKOVIĆ, L., GAŠPAROVIĆ, A. Č., CARR, A. J. & ŽARKOVIĆ, N. 2016. Biocompatibility of implantable materials: An oxidative stress viewpoint. *Biomaterials*, 109, 55-68.
- MOVAT, H. Z. 1955. Demonstration of all connective tissue elements in a single section; pentachrome stains. *The American Medical Association: The Archives of Pathology*, 60, 289-295.
- MULISCH, M. 2015a. Immunlokalisation. In: MULISCH, M. & WELSCH, U. (eds.) *Romeis Mikroskopische Technik*. 19 ed.: Springer Spektrum.
- MULISCH, M. 2015b. Präparation für die konventionelle Rasterelektronenmikroskopie (REM). In: MULISCH, M. & WELSCH, U. (eds.) *Romeis Mikroskopische Technik*. 19 ed.: Springer Spektrum.
- MURUGAN, S. J., DICKINSON, D. F. & GIBBS, J. L. 2005. Images in Cardiology. Complete Fracture of a Right Ventricle to Pulmonary Artery Shunt. *Heart*, 91, 1441.
- MUSEWE, N. N., ROBERTSON, M. A., BENSON, L. N., SMALLHORN, J. F., BURROWS, P. E., FREEDOM, R. M., MOES, C. A. & ROWE, R. D. 1987. The dysplastic pulmonary valve: echocardiographic features and results of balloon dilatation. *British Heart Journal*, 57, 364-370.
- NAYAK, P., MISHRA, D. K., SAHOO, K. C., PATI, N. C., JENA, P. K., LENKA, S. & NAYAK, P. L. 2001. Polymers from renewable resources. XIII. Interpenetrating polymer networks derived from castor oil-hexamethylene diisocyanate and polymethacrylamide. *Journal of Applied Polymer Science*, 80, 1349-1353.

- NEUMANN, A., CEBOTARI, S., TUDORACHE, I., HAVERICH, A. & SARIKOUCH, S. 2013. Heart valve engineering: decellularized allograft matrices in clinical practice. *Biomedizinische Technik/Biomedical Engineering*.
- NEUMANN, A., SARIKOUCH, S., BREYMAN, T., CEBOTARI, S., BOETHIG, D., HORKE, A., BEERBAUM, P., WESTHOFF-BLECK, M., BERTRAM, H., ONO, M., TUDORACHE, I., HAVERICH, A. & BEUTEL, G. 2014. Early Systemic Cellular Immune Response in Children and Young Adults Receiving Decellularized Fresh Allografts for Pulmonary Valve Replacement. *Tissue Engineering: Part A*, 20, 1003-1011.
- NISHIMURA, R. A., OTTO, C. M., BONOW, R. O., CARABELLO, B. A., ERWIN, J. P., FLEISHER, L. A., JNEID, H., MACK, M. J., MCLEOD, C. J., O'GARA, P. T., RIGOLIN, V. H., SUNDT, T. M. & THOMPSON, A. 2017. 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, 1-123.
- NISTAL, F., GARCIA-MARTINEZ, V., ARBE, E., FERNANDEZ, D., ARTINANO, E., MAZORRA, F. & GALLO, I. 1990. In Vivo Experimental Assessment of Polytetrafluoroethylene Trileaflet Heart Valve Prosthesis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 99, 1074-1081.
- NOLAN, S. P. 1994. The International Standard Cardiovascular implants--Cardiac Valve Prostheses (ISO 5840:1989) and the FDA Draft Replacement Heart Valve Guidance (Version 4.0). *The Journal of Heart Valve Disease*, 3, 347-349.
- NORDMEYER, J., GAUDIN, R., TANN, O. R., LURZ, P. C., BONHOEFFER, P., TAYLOR, A. M. & MUTHURANGU, V. 2010. MRI May Be Sufficient for Noninvasive Assessment of Great Vessel Stents: An In Vitro Comparison of MRI, CT, and Conventional Angiography. *AJR. American Journal of Roentgenology*, 195, 865-871.
- NORDMEYER, J., KHAMBADKONE, S., COATS, L., SCHIEVANO, S., LURZ, P., PARENZAN, G., TAYLOR, A. M., LOCK, J. E. & BONHOEFFER, P. 2007. Risk Stratification, Systematic Classification, and Anticipatory Management Strategies for Stent Fracture After Percutaneous Pulmonary Valve Implantation. *Circulation*, 115, 1392-1397.
- NORDMEYER, J., LURZ, P., KHAMBADKONE, S., SCHIEVANO, S., JONES, A., MCELHINNEY, D. B., TAYLOR, A. M. & BONHOEFFER, P. 2011. Pre-stenting with a bare metal stent before percutaneous pulmonary valve implantation: acute and 1-year outcomes. *Heart*, 97, 118-123.
- O'LAUGHLIN, M. P., PERRY, S. B., LOCK, J. E. & MULLINS, C. E. 1991. Use of endovascular stents in congenital heart disease. *Circulation*, 83, 1923-1939.
- O'LAUGHLIN, M. P., SLACK, M. C., GRIFKA, R. G., PERRY, S. B., LOCK, J. E. & MULLINS, C. E. 1993. Implantation and intermediate-term follow-up of stents in congenital heart disease. *Circulation*, 88, 605-614.
- OOSTERHOF, T., MEIJBOOM, F. J., VliegEN, H. W., HAZEKAMP, M. G., ZWINDERMAN, A. H., BOUMA, B. J., VAN DIJK, A. P. & MULDER, B. J. 2006. Long-term follow-up of homograft function after pulmonary valve replacement in patients with tetralogy of Fallot. *Eur Heart J*, 27, 1478-84.
- OOSTERHOF, T., VAN STRATEN, A., VliegEN, H. W., MEIJBOOM, F. J., VAN DIJK, A. P. J., SPIJKERBOER, A. M., BOUMA, B. J., ZWINDERMAN, A. H., HAZEKAMP, M. G., DE ROOS, A. & MULDER, B. J. M. 2007. Preoperative Thresholds for Pulmonary Valve Replacement in Patients With Corrected Tetralogy of Fallot Using Cardiovascular Magnetic Resonance. *Circulation*, 116, 545-551.

- OTTO, M. 2009. Staphylococcus epidermidis – the “accidental” pathogen. *Nature Reviews. Microbiology*, 7, 555-567.
- OVAERT, C., CALDARONE, C. A., MCCRINDLE, B. W., NYKANEN, D., FREEDOM, R. M., COLES, J. G., WILLIAMS, W. G. & BENSON, L. N. 1999. Endovascular stent implantation for the management of postoperative right ventricular outflow tract obstruction: Clinical efficacy. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 118, 886-893.
- PANKEVICH, D. E., WIZEMANN, T. M., MAZZA, A.-M. & ALTEVOGT, B. M. 2012. Core Principles of Laboratory Animals. *International Animal Research Regulations*. Washington, D.C.
- PARRY, D. A. 1988. The molecular and fibrillar structure of collagen and its relationship to the mechanical properties of connective tissue. *Biophysical Chemistry*, 29, 195-209.
- PATEL, M., ISERIN, L., BONNET, D. & BOUDJEMLINE, Y. 2012. Atypical malignant late infective endocarditis of Melody valve. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 143, e32-35.
- PATEL, M., MALEKZADEH-MILANI, S., LADOUCEUR, M., ISERIN, L. & BOUDJEMLINE, Y. 2014. Percutaneous pulmonary valve endocarditis: incidence, prevention and management. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 107, 615-624.
- PAVCNIK, D., WRIGHT, K. C. & WALLACE, S. 1992. Development and initial experimental evaluation of a prosthetic aortic valve for transcatheter placement. Work in progress. *Radiology*, 183, 151-154.
- PENG, L. F., MCELHINNEY, D. B., NUGENT, A. W., POWELL, A. J., MARSHALL, A. C., BACHA, E. A. & LOCK, J. E. 2006. Endovascular Stenting of Obstructed Right Ventricle-to-Pulmonary Artery Conduits: A 15-year Experience. *Circulation*, 113, 2598-2605.
- PEPIN, J., TREMBLAY, V., BECHARD, D., RODIER, F., WALKER, C., DUFRESNE, D., LAFONTAINE, A., LI, N., LACROIX, C. & LANTHIER, L. 2009. Chronic antiplatelet therapy and mortality among patients with infective endocarditis. *Clinical Microbiology and Infection*, 15, 193-199.
- PERRET, X., BONVINI, R. F., AGGOUN, Y. & VERIN, V. 2008. Aberrant right coronary artery occlusion during the percutaneous pulmonary trunk stenting in a patient with tetralogy of Fallot. *Heart and Vessels*, 23, 140-143.
- PETERSON, C., SCHILTHUIS, J. J., DODGE-KHATAMI, A., HITCHCOCK, J. F., MEIJBOOM, E. J. & BENNINK, G. B. 2003. Comparative Long-Term Results of Surgery Versus Balloon Valvuloplasty for Pulmonary Valve Stenosis in Infants and Children. *The Annals of Thoracic Surgery*, 76, 1078-1082; discussion 1082-1083.
- PHANEUF, M. D., QUIST, W. C., LOGERFO, F. W., SZYCHER, M., DEMPSEY, D. J. & BIDE, M. J. 1997. Chemical and Physical Characterization of a Novel Poly(Carbonate Urea) Urethane Surface with Protein Crosslinker Sites. *Journal of Biomaterial Applications*, 12, 100-120.
- PIGNATELLI, R. H., NOEL, C. & REDDY, S. C. B. 2017. Imaging of the pulmonary valve in the adults. *Current Opinion in Cardiology*, 32, 529-540.
- PINCHUK, L. 1994. A review of the biostability and carcinogenicity of polyurethanes in medicine and the new generation of 'biostable' polyurethanes. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, 6, 225-267.
- PORRAS, D., GURVITZ, M., MARSHALL, A. C. & EMANI, S. M. 2015. Hybrid Approach for Off-Pump Pulmonary Valve Replacement in Patients With a Dilated Right Ventricular Outflow Tract. *The Annals of Thoracic Surgery*, 100, e99-e101.

- PRICE, M. J. & TEIRSTEIN, P. S. 2008. The off- versus on-label use of medical devices in interventional cardiovascular medicine: Clarifying the ambiguity between regulatory labeling and clinical decision-making, Part 1: PCI. *Catheterization and Cardiovascular Interventions*, 72, 500-504.
- PROMPHAN, W., PRACHASILCHAI, P., SIRIPORNPIKAK, S., QURESHI, S. A. & LAYANGOOL, T. 2016. Percutaneous pulmonary valve implantation with the Venus P-valve: clinical experience and early results. *Cardiology in the Young*, 26, 698-710.
- RAFIEMANZELAT, F., FATHOLLAHI ZONOUZ, A. & EMTIAZI, G. 2013. Synthesis of new poly(ether-urethane-urea)s based on amino acid cyclopeptide and PEG: study of their environmental degradation. *Amino Acids*, 44, 449-459.
- RAHMANI, B., TZAMTZIS, S., GHANBARI, H., BURRIESCI, G. & SEIFALIAN, A. M. 2012. Manufacturing and hydrodynamic assessment of a novel aortic valve made of a new nanocomposite polymer. *Journal of Biomechanics*, 45, 1205-1211.
- RAJIAH, P., NAZARIAN, J., VOGELIUS, E. & GILKESON, R. C. 2014. CT and MRI of pulmonary valvular abnormalities. *Clinical Radiology*, 69, 630-638.
- RAMADAN, F. B., BEANLANDS, D. S. & BURWASH, I. G. 2000. Isolated Pulmonic Valve Endocarditis in Healthy Hearts: A Case Report and Review of the Literature. *The Canadian Journal of Cardiology*, 16, 1282-1288.
- RAN, L., WANG, W., SECCHI, F., XIANG, Y., SHI, W. & HUANG, W. 2019. Percutaneous pulmonary valve implantation in patients with right ventricular outflow tract dysfunction: a systematic review and meta-analysis. *Therapeutic Advances in Chronic Disease*, 10, 1-13.
- RAO, P. S. 2007a. Percutaneous balloon pulmonary valvuloplasty: State of the art. *Catheterization and Cardiovascular Intervention*, 69, 747-763.
- RAO, P. S. 2007b. Pulmonary valve stenosis. In: SIEVERT, H., QURESHI, S. A., WILSON, N. & HIJAZI, Z. M. (eds.) *Percutaneous Intervention for Congenital Heart Disease*. 1 ed. Oxon, UK: informa healthcare.
- RASHID, S. T., SALACINSKI, H. J., HAMILTON, G. & SEIFALIAN, A. M. 2004. The use of animal models in developing the discipline of cardiovascular tissue engineering: a review. *Biomaterials*, 25, 1627-1637.
- RATNER, B. D., HOFFMAN, A. S., SCHOEN, F. J. & LEMONS, J. E. 2012. *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*, Elsevier Science.
- REIMER, J. M., SYEDAIN, Z. H., HAYNIE, B. H. T. & TRANQUILLO, R. T. 2015. Pediatric tubular pulmonary heart valve from decellularized engineered tissue tubes. *Biomaterials*, 62, 88-94.
- RIAAHI, M., ANG, H. L., JONES, M., PRACHASILCHAI, P., BARUTEAU, A. E., PROMPHAN, W., ROSENTHAL, E. & QURESHI, S. A. 2018. Infolding of the Venus P-Valve After Transcatheter Pulmonary Valve Implantation. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 11, e005923.
- RIEDELSEIMER, B. & BÜCHL-ZIMMERMANN, S. 2015. Färbungen. In: MULISCH, M. & WELSCH, U. (eds.) *Romeis Mikroskopische Technik*. 19 ed.: Springer Spektrum.
- ROBICSEK, F., HARBOLD, N. B., JR., DAUGHERTY, H. K., COOK, J. W., SELLE, J. G., HESS, P. J. & GALLAGHER, J. J. 1988. Balloon Valvuloplasty in Calcified Aortic Stenosis: A Cause for Caution and Alarm. *The Annals of Thoracic Surgery*, 45, 515-525.
- ROE, B. B., KELLY, P. B., JR., MYERS, J. L. & MOORE, D. W. 1966. Tricuspid Leaflet Aortic Valve Prosthesis. *Circulation*, 33, 1124-1130.

- ROE, B. B. & MOORE, D. 1958. Design and Fabrication of Prosthetic Valves. *Experimental Medicine and Surgery*, 16, 177-182.
- ROSENTHAL, L. B., FEJA, K. N., LEVASSEUR, S. M., ALBA, L. R., GERSONY, W. & SAIMAN, L. 2010. The Changing Epidemiology of Pediatric Endocarditis at a Children's Hospital over Seven Decades. *Pediatric Cardiology*, 31, 813-820.
- ROSS, D. N. & SOMERVILLE, J. 1966. Correction of Pulmonary Atresia with a Homograft Aortic Valve. *Lancet*, 2, 1446-1447.
- RUBIO, V. & LIMON, L. R. 1956. Treatment of pulmonary valvular stenosis and tricuspid stenosis using a modified catheter. *Second World Congress on Cardiology*. Washington DC.
- RUIZ, C. E., IEMURA, M., MEDIE, S., VARGA, P., VAN ALSTINE, W. G., MACK, S., DELIGIO, A., FEARNOT, N., BEIER, U. H., PAVCNIK, D., HIJAZI, Z. M. & KIUPEL, M. 2005. Transcatheter placement of a low-profile biodegradable pulmonary valve made of small intestinal submucosa: A long-term study in a swine model. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 130, 477-484.
- RUIZ, C. E. & PASALA, T. K. R. 2018. Are We Ready for Transcatheter Pulmonary Valve Replacement in Native Right Ventricular Outflow Tract? *JACC: Cardiovascular Interventions*, 11, 1651-1653.
- SACHWEH, J. S. & DAEBRITZ, S. H. 2006. Novel "Biomechanical" Polymeric Valve Prostheses with Special Design for Aortic and Mitral Position: A Future Option for Pediatric Patients? *ASAIO Journal*, 52, 575-580.
- SALIBA, Z., BONHOEFFER, P., AGGOUN, Y., ISERIN, L., BUTERA, G., BONNET, D., SIDI, D. & KACHANER, J. 1999. Treatment of obstruction of prosthetic conduct by percutaneous implantation of stents. *Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux*, 92, 591-596.
- SANDERS, S. P. 2004. We know how many--but how? *American Heart Journal*, 147, 398-400.
- SANTERRE, J. P., WOODHOUSE, K., LAROCHE, G. & LABOW, R. S. 2005. Understanding the biodegradation of polyurethanes: from classical implants to tissue engineering materials. *Biomaterials*, 26, 7457-7470.
- SAREMI, F., GERA, A., HO, S. Y., HIJAZI, Z. M. & SANCHEZ-QUINTANA, D. 2014. CT and MR Imaging of the Pulmonary Valve. *Radiographics*, 34, 51-71.
- SARIKOUCH, S., HORKE, A., TUDORACHE, I., BEERBAUM, P., WESTHOFF-BLECK, M., BOETHIG, D., REPIN, O., MANIUC, L., CIUBOTARU, A., HAVERICH, A. & CEBOTARI, S. 2016. Decellularized fresh homografts for pulmonary valve replacement: a decade of clinical experience. *European Journal of Cardiothoracic Surgery*, 50, 281-290.
- SATHANANTHAN, J., SELLERS, S., BARLOW, A., FRASER, R., STANOVÁ, V., CHEUNG, A., YE, J., ALENEZI, A., MURDOCH, D. J., HENSEY, M., DVIR, D., BLANKE, P., RIEU, R., WOOD, D., PIBAROT, P., LEIPSIC, J. & WEBB, J. 2018. Overexpansion of the SAPIEN 3 Transcatheter Heart Valve: An Ex Vivo Bench Study. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 11, 1696-1705.
- SCHAEFERMEIER, P. K., CABEZA, N., BESSER, J. C., LOHSE, P., DAEBRITZ, S. H., SCHMITZ, C., REICHART, B. & SODIAN, R. 2009. Potential Cell Sources for Tissue Engineering of Heart Valves in Comparison with Human Pulmonary Valve Cells. *ASAIO Journal*, 55, 86-92.
- SCHEINERT, D., SCHEINERT, S., SAX, J., PIORKOWSKI, C., BRAUNLICH, S., ULRICH, M., BIAMINO, G. & SCHMIDT, A. 2005. Prevalence and Clinical Impact of Stent Fractures

- After Femoropopliteal Stenting. *Journal of the American College of Cardiology*, 45, 312-315.
- SCHIEVANO, S., TAYLOR, A. M., CAPELLI, C., COATS, L., WALKER, F., LURZ, P., NORDMEYER, J., WRIGHT, S., KHAMBADKONE, S., TSANG, V., CARMINATI, M. & BONHOEFFER, P. 2010. First-in-man implantation of a novel percutaneous valve: A new approach to medical device development. *EuroIntervention*, 5, 745-750.
- SCHOEN, F. J., FERNANDEZ, J., GONZALEZ-LAVIN, L. & CERNAIANU, A. 1987. Causes of failure and pathologic findings in surgically removed Ionescu-Shiley standard bovine pericardial heart valve bioprostheses: emphasis on progressive structural deterioration. *Circulation*, 76, 618-627.
- SCHOEN, F. J., HARASAKI, H., KIM, K. M., ANDERSON, H. C. & LEVY, R. J. 1988. Biomaterial-associated calcification: Pathology, mechanisms, and strategies for prevention. *Journal of Biomedical Materials Research*, 22, 11-36.
- SCHOONBEEK, R. C., TAKEBAYASHI, S., AOKI, C., SHIMAOKA, T., HARRIS, M. A., FU, G. L., KIM, T. S., DORI, Y., MCGARVEY, J., LITT, H., BOUMA, W., ZSIDO, G., 2ND, GLATZ, A. C., ROME, J. J., GORMAN, R. C., GORMAN, J. H., 3RD & GILLESPIE, M. J. 2016. Implantation of the Medtronic Harmony Transcatheter Pulmonary Valve Improves Right Ventricular Size and Function in an Ovine Model of Postoperative Chronic Pulmonary Insufficiency. *Circulation: Cardiovascular Interventions*, 9.
- SCHUMACHER, G. & VOGT, M. 2011. Angeborene Herzfehler. In: ERDMANN, E. (ed.) *Klinische Kardiologie*. 11 ed. Berlin-Heidelberg: Springer-Verlag.
- SCHÜNKE, M., SCHULTE, E., SCHUMACHER, U., VOLL, M. & WESKER, M. 2018. Thorax. *Prometheus LernAtlas der Anatomie*. 5 ed. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag.
- SECCHI, F., RESTA, E. C., PIAZZA, L., BUTERA, G., DI LEO, G., CARMINATI, M. & SARDANELLI, F. 2013. Cardiac magnetic resonance before and after percutaneous pulmonary valve implantation. *La Radiologia Medica*, 119, 400-407.
- SEIFALIAN, A., SALACINSKI, H. & HANCOCK, S. 2005. *Polymer for use in conduits and medical devices*. PCT/GB2005/000204.
- SELLORS, T. H. 1948. Surgery of Pulmonary Stenosis; A Case in which the Pulmonary Valve was Successfully Divided. *Lancet*, 1, 988-989.
- SEMB, B. K., TJONNELAND, S., STAKE, G. & AABYHOLM, G. 1979. "Balloon valvulotomy" of congenital pulmonary valve stenosis with tricuspid valve insufficiency. *Cardiovascular Radiology*, 2, 239-241.
- SHIE, M.-Y., CHANG, W.-C., WEI, L.-J., HUANG, Y.-H., CHEN, C.-H., SHIH, C.-T., CHEN, Y.-W. & SHEN, Y.-F. 2017. 3D Printing of Cytocompatible Water-Based Light-Cured Polyurethane with Hyaluronic Acid for Cartilage Tissue Engineering Applications. *Materials*, 10, 136.
- SHINOKA, T., BREUER, C. K., TANEL, R. E., ZUND, G., MIURA, T., MA, P. X., LANGER, R., VACANTI, J. P. & MAYER, J. E., JR. 1995. Tissue Engineering Heart Valves: Valve Leaflet Replacement Study in a Lamb Model. *The Annals of Thoracic Surgery*, 60, S513-516.
- SHIPTON, B. & WAHBA, H. 2001. Valvular Heart Disease: Review and Update. *American Family Physician*, 63, 2201-2208.
- SHIVARAJU, A., KODALI, S., THILO, C., OTT, I., SCHUNKERT, H., VON SCHEIDT, W., LEON, M. B., KASTRATI, A. & KASEL, A. M. 2015. Overexpansion of the SAPIEN 3 Transcatheter Heart Valve: A Feasibility Study. *JACC: Cardiovascular Interventions*, 8, 2041-2043.

- SIMIONESCU, A., SCHULTE, J. B., FERCANA, G. & SIMIONESCU, D. T. 2011. Inflammation in Cardiovascular Tissue Engineering: The Challenge to a Promise: A Minireview. *International Journal of Inflammation*, 2011, 958247.
- SIMON, P., KASIMIR, M. T., SEEBACHER, G., WEIGEL, G., ULLRICH, R., SALZER-MUHAR, U., RIEDER, E. & WOLNER, E. 2003. Early failure of the tissue engineered porcine heart valve SYNERGRAFT® in pediatric patients. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 23, 1002-1006.
- SLEE, J. B., ALFERIEV, I. S., NAGASWAMI, C., WEISEL, J. W., LEVY, R. J., FISHBEIN, I. & STACHELEK, S. J. 2016. Enhanced biocompatibility of CD47-functionalized vascular stents. *Biomaterials*, 87, 82-92.
- SODIAN, R., SCHAEFERMEIER, P., ABEGG-ZIPS, S., KUEBLER, W. M., SHAKIBAEI, M., DAEBRITZ, S., ZIEGELMUELLER, J., SCHMITZ, C. & REICHART, B. 2010. Use of Human Umbilical Cord Blood-Derived Progenitor Cells for Tissue-Engineered Heart Valves. *The Annals of Thoracic Surgery*, 89, 819-828.
- SRIDHARAN, S., COATS, L., KHAMBADKONE, S., TAYLOR, A. M. & BONHOEFFER, P. 2006. Images in Cardiovascular Medicine. Transcatheter Right Ventricular Outflow Tract Intervention: The Risk to the Coronary Circulation. *Circulation*, 113, e934-935.
- STACHELEK, S. J., FINLEY, M. J., ALFERIEV, I. S., WANG, F., TSAI, R. K., ECKELLS, E. C., TOMCZYK, N., CONNOLLY, J. M., DISCHER, D. E., ECKMANN, D. M. & LEVY, R. J. 2011. The effect of CD47 modified polymer surfaces on inflammatory cell attachment and activation. *Biomaterials*, 32, 4317-4326.
- STANGER, P., CASSIDY, S. C., GIROD, D. A., KAN, J. S., LABABIDI, Z. & SHAPIRO, S. R. 1990. Balloon pulmonary valvuloplasty: Results of the Valvuloplasty and Angioplasty of Congenital Anomalies Registry. *The American Journal of Cardiology*, 65, 775-783.
- STARR, A. & EDWARDS, M. L. 1961. Mitral Replacement: Clinical Experience with a Ball-Valve Prosthesis. *Annals of Surgery*, 154, 726-740.
- STOECKEL, D., BONSIGNORE, C. & DUDA, S. 2002. A survey of stent designs. *Minimally Invasive Therapy & Allied Technologies*, 11, 137-147.
- STOECKEL, D., PELTON, A. & DUERIG, T. 2004. Self-expanding nitinol stents: material and design considerations. *European Radiology*, 14, 292-301.
- STULAK, J. M., DEARANI, J. A., BURKHART, H. M., CONNOLLY, H. M., WARNES, C. A., SURI, R. M. & SCHAFF, H. V. 2010. The Increasing Use of Mechanical Pulmonary Valve Replacement Over a 40-Year Period. *The Annals of Thoracic Surgery*, 90, 2009-2015.
- SUCU, N., TAMER, L., AYTACOGLU, B., POLAT, A., DONDAS, H. A., GUL, A., DIKMENGIL, M. & ATIK, U. 2004. Inhibition of calcification with citric acid in pericardial bioprosthetic heart valve material: a preliminary report. *The Journal of Heart Valve Disease*, 13, 697-700.
- SZELEST-LEWANDOWSKA, A., MASIULANIS, B., SZYMONOWICZ, M., PIELKA, S. & PALUCH, D. 2007. Modified polycarbonate urethane: Synthesis, properties and biological investigation in vitro. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 82A, 509-520.
- TAGGART, N. W., CONNOLLY, H. M. & HAGLER, D. J. 2013. Acute Heart Failure After Percutaneous Pulmonary Valve (Melody Valve) Implantation. *Congenit Heart Disease*, 8, E61-63.
- TANDON, R., NADAS, A. S. & GROSS, R. E. 1965. Results of Open-Heart Surgery in Patients with Pulmonic Stenosis and Intact Ventricular Septum: A Report of 108 Cases. *Circulation*, 31, 190-201.

- TANG, L. 1998. Mechanisms of fibrinogen domains: biomaterial interactions. *Journal of Biomaterials Science. Polymer Edition*, 9, 1257-1266.
- TANG, L., JENNINGS, T. A. & EATON, J. W. 1998. Mast cells mediate acute inflammatory responses to implanted biomaterials. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95, 8841-8846.
- TANG, Y. W., LABOW, R. S. & SANTERRE, J. P. 2001. Enzyme-induced biodegradation of polycarbonate polyurethanes: Dependence on hard-segment concentration. *Journal of Biomedical Materials Research*, 56, 516-528.
- TAS, F., HANSEL, H., BELCE, A., ILVAN, S., ARGON, A., CAMLICA, H. & TOPUZ, E. 2005. Oxidative stress in breast cancer. *Medical Oncology*, 22, 11-15.
- TASHER, D., STEIN, M., RAUCHER-STERNFELD, A. & SOMEKH, E. 2012. Coxiella burnetii Infection of a Bovine Jugular Vein Conduit in a Child. *Pediatric Cardiology*, 33, 831-833.
- TEDDER, T. F., STREULI, M., SCHLOSSMAN, S. F. & SAITO, H. 1988. Isolation and structure of a cDNA encoding the B1 (CD20) cell-surface antigen of human B lymphocytes. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 85, 208-212.
- THALMANN, R., MERKEL, E. M., AKRA, B., BOMBIEN, R., KOZLIK-FELDMANN, R. G. & SCHMITZ, C. 2019. Evaluation of Hybrid Surgical Access Approaches for Pulmonary Valve Implantation in an Acute Swine Model. *Comparative Medicine*.
- THERRIEN, J., PROVOST, Y., MERCHANT, N., WILLIAMS, W., COLMAN, J. & WEBB, G. 2005. Optimal timing for pulmonary valve replacement in adults after tetralogy of Fallot repair. *The American Journal of Cardiology*, 95, 779-782.
- THERRIEN, J., SIU, S. C., MCLAUGHLIN, P. R., LIU, P. P., WILLIAMS, W. G. & WEBB, G. D. 2000. Pulmonary Valve Replacement in Adults Late After Repair of Tetralogy of Fallot: Are We Operating Too Late? *Journal of the American College of Cardiology*, 36, 1670-1675.
- THIERFELDER, N., KOENIG, F., BOMBIEN, R., FANO, C., REICHART, B., WINTERMANTEL, E., SCHMITZ, C. & AKRA, B. 2013. In Vitro Comparison of Novel Polyurethane Aortic Valves and Homografts After Seeding and Conditioning. *ASAIO Journal*, 59, 309-316.
- THOMAS, V. & JAYABALAN, M. 2009. A new generation of high flex life polyurethane urea for polymer heart valve—Studies on in vivo biocompatibility and biodurability. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 89A, 192-205.
- TORZEWSKI, M. 2015. Die Movat-Pentachromfärbung – eine farbenprächtige Darstellung verschiedener zellulärer und extrazellulärer Gewebekomponenten. *Mikroskopie*, 2, 204-208.
- TSARYK, R., PETERS, K., UNGER, R. E., SCHARNWEBER, D. & KIRKPATRICK, C. J. 2013. The Role of Oxidative Stress in the Response of Endothelial Cells to Metals. In: ANTONIAC, I. (ed.) *Biologically Responsive Biomaterials for Tissue Engineering*. New York, NY: Springer New York.
- TSENG, W. C., CHIU, S. N., SHAO, P. L., WANG, J. K., CHEN, C. A., LIN, M. T., LU, C. W. & WU, M. H. 2014. Changing Spectrum of Infective Endocarditis in Children: A 30 Years Experiences from a Tertiary Care Center in Taiwan. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 33, 467-471.
- TURRENTINE, M. W., MCCARTHY, R. P., VIJAY, P., MCCONNELL, K. W. & BROWN, J. W. 2002. PTFE Monocusp Valve Reconstruction of the Right Ventricular Outflow Tract. *The Annals of Thoracic Surgery*, 73, 871-879; discussion 879-80.

- ULBRICHT, J., JORDAN, R. & LUXENHOFER, R. 2014. On the biodegradability of polyethylene glycol, polypeptoids and poly(2-oxazoline)s. *Biomaterials*, 35, 4848-4861.
- UTTARA, B., SINGH, A. V., ZAMBONI, P. & MAHAJAN, R. T. 2009. Oxidative Stress and Neurodegenerative Diseases: A Review of Upstream and Downstream Antioxidant Therapeutic Options. *Current Neuropharmacology*, 7, 65-74.
- VAIDEESWAR, P., JAWALE, R. M. & TULLU, M. 2009. Isolated infective endocarditis of the pulmonary valve: an autopsy analysis of nine cases. *Cardiovascular Pathology*, 18, 231-235.
- VALKO, M., MORRIS, H. & CRONIN, M. T. D. 2005. Metals, Toxicity and Oxidative Stress. *Current Medicinal Chemistry*, 12, 1161-1208.
- VALVERDE, I., GOMEZ-CIRIZA, G., HUSSAIN, T., SUAREZ-MEJIAS, C., VELASCO-FORTE, M. N., BYRNE, N., ORDOÑEZ, A., GONZALEZ-CALLE, A., ANDERSON, D., HAZEKAMP, M. G., ROEST, A. A. W., RIVAS-GONZALEZ, J., URIBE, S., EL-RASSI, I., SIMPSON, J., MILLER, O., RUIZ, E., ZABALA, I., MENDEZ, A., MANSO, B., GALLEGU, P., PRADA, F., CANTINOTTI, M., AIT-ALI, L., MERINO, C., PARRY, A., POIRIER, N., GREIL, G., RAZAVI, R., GOMEZ-CIA, T. & HOSSEINPOUR, A.-R. 2017. Three-dimensional printed models for surgical planning of complex congenital heart defects: an international multicentre study. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, 52, 1139-1148.
- VAN DIJCK, I., BUDTS, W., COOLS, B., EYSKENS, B., BOSHOFF, D. E., HEYING, R., FRERICH, S., VANAGT, W. Y., TROOST, E. & GEWILLIG, M. 2015. Infective endocarditis of a transcatheter pulmonary valve in comparison with surgical implants. *Heart*, 101, 788-793.
- VAN DONGEN, J. J., KRISSANSEN, G. W., WOLVERS-TETTERO, I. L., COMANS-BITTER, W. M., ADRIAANSEN, H. J., HOOIJKAAS, H., VAN WERING, E. R. & TERHORST, C. 1988. Cytoplasmic Expression of the CD3 Antigen as a Diagnostic Marker for Immature T-cell Malignancies. *Blood*, 71, 603-612.
- VAN LITH, R. & AMEER, G. A. 2016. Chapter Ten - Antioxidant Polymers as Biomaterial *In*: DZIUBLA, T. & BUTTERFIELD, D. A. (eds.) *Oxidative Stress and Biomaterials*. Academic Press.
- VAN LITH, R., GREGORY, E. K., YANG, J., KIBBE, M. R. & AMEER, G. A. 2014. Engineering biodegradable polyester elastomers with antioxidant properties to attenuate oxidative stress in tissues. *Biomaterials*, 35, 8113-8122.
- VERHEUGT, C. L., UITERWAAL, C. S., VAN DER VELDE, E. T., MEIJBOOM, F. J., PIEPER, P. G., VAN DIJK, A. P., VLIEN, H. W., GROBBEE, D. E. & MULDER, B. J. 2010. Mortality in adult congenital heart disease. *European Heart Journal*, 31, 1220-1229.
- VESELY, I. 2005. Heart Valve Tissue Engineering. *Circulation Research*, 97, 743-755.
- VILLAFANE, J., BAKER, G. H., AUSTIN, E. H., 3RD, MILLER, S., PENG, L. & BEEKMAN, R., 3RD 2014. Melody pulmonary valve bacterial endocarditis: Experience in four pediatric patients and a review of the literature. *Catheterization & Cardiovascular Interventions*, 84, 212-218.
- WADOOD, A. 2016. Brief Overview on Nitinol as Biomaterial. *Advances in Materials Science and Engineering*, 2016, 1-9.
- WANG, C., LI, Y. J., MA, L. & PAN, X. 2019. Infective Endocarditis in a Patient with Transcatheter Pulmonary Valve Implantation. *International Heart Journal*, 60, 983-985.
- WARNES, C. A., WILLIAMS, R. G., BASHORE, T. M., CHILD, J. S., CONNOLLY, H. M., DEARANI, J. A., DEL NIDO, P., FASULES, J. W., GRAHAM, T. P., JR., HIJAZI, Z. M., HUNT, S. A., KING,

- M. E., LANDZBERG, M. J., MINER, P. D., RADFORD, M. J., WALSH, E. P. & WEBB, G. D. 2008. ACC/AHA 2008 Guidelines for the Management of Adults with Congenital Heart Disease: Executive Summary: A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to Develop Guidelines for the Management of Adults With Congenital Heart Disease). *Circulation*, 118, 2395-2451.
- WATERBOLK, T. W., HOENDERMIS, E. S., DEN HAMER, I. J. & EBELS, T. 2006. Pulmonary valve replacement with a mechanical prosthesis. Promising results of 28 procedures in patients with congenital heart disease. *Eur J Cardiothorac Surg*, 30, 28-32.
- WEBER, K. T., PICK, R., JALIL, J. E., JANICKI, J. S. & CARROLL, E. P. 1989. Patterns of myocardial fibrosis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 21 Suppl 5, 121-131.
- WHEATLEY, D. J., RACO, L., BERNACCA, G. M., SIM, I., BELCHER, P. R. & BOYD, J. S. 2000. Polyurethane: material for the next generation of heart valve prostheses? *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*, 17, 440-448.
- WILLIAMS, D. 2003. Revisiting the definition of biocompatibility. *Medical device technology*, 14, 10-13.
- WILLIAMS, D. F. 2008. On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29, 2941-2953.
- WILLIAMS, D. F. 2014. There is no such thing as a biocompatible material. *Biomaterials*, 35, 10009-10014.
- WILLIAMS, D. F. & ZHONG, S. P. 1991. Talking point. Are free radicals involved in biodegradation of implanted polymers? *Advanced Materials*, 3, 623-626.
- WILSON, W., OSTEN, M., BENSON, L. & HORLICK, E. 2014. Evolving Trends in Interventional Cardiology: Endovascular Options for Congenital Disease in Adults. *Canadian Journal of Cardiology*, 30, 75-86.
- WITTWER, E. D., PULIDO, J. N., GILLESPIE, S. M., CETTA, F., JR. & DEARANI, J. A. 2014. Left Main Coronary Artery Compression following Melody Pulmonary Valve Implantation: Use of Impella Support as Rescue Therapy and Perioperative Challenges with ECMO. *Case Report in Critical Care*, 2014, 1-3.
- YANG, J., VAN LITH, R., BALER, K., HOSHI, R. A. & AMEER, G. A. 2014. A Thermoresponsive Biodegradable Polymer with Intrinsic Antioxidant Properties. *Biomacromolecules*, 15, 3942-3952.
- YIN, W., GALLOCHER, S., PINCHUK, L., SCHOEPHOERSTER, R. T., JESTY, J. & BLUESTEIN, D. 2005. Flow-induced Platelet Activation in a St. Jude Mechanical Heart Valve, a Trileaflet Polymeric Heart Valve, and a St. Jude Tissue Valve. *Artificial Organs*, 29, 826-831.
- ZAHN, E. M., CHANG, J. C., ARMER, D. & GARG, R. 2018. First human implant of the Alterra Adaptive PreStent(TM) : A new self-expanding device designed to remodel the right ventricular outflow tract. *Catheterization and cardiovascular interventions : official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*, 91, 1125-1129.
- ZDOLSEK, J., EATON, J. W. & TANG, L. 2007. Histamine release and fibrinogen adsorption mediate acute inflammatory responses to biomaterial implants in humans. *Journal of Translational Medicine*, 5, 31-36.
- ZDRAHALA, R. J. & ZDRAHALA, I. J. 1999. Biomedical Applications of Polyurethanes: A Review of Past Promises, Present Realities, and a Vibrant Future. *Journal of Biomaterials Applications*, 14, 67-90.
- ZHAO, Q., AGGER, M. P., FITZPATRICK, M., ANDERSON, J. M., HILTNER, A., STOKES, K. & URBANSKI, P. 1990. Cellular interactions with biomaterials: In vivo cracking of pre-

- stressed Pellethane 2363-80A. *Journal of Biomedical Materials Research*, 24, 621-637.
- ZHAO, Q., TOPHAM, N., ANDERSON, J. M., HILTNER, A., LODOEN, G. & PAYET, C. R. 1991. Foreign-body giant cells and polyurethane biostability: In vivo correlation of cell adhesion and surface cracking. *Journal of Biomedical Materials Research*, 25, 177-183.
- ZHOU, D., PAN, W., JILAIHAWI, H., ZHANG, G., FENG, Y., PAN, X., LIU, J., YU, S., CAO, Q. & GE, J. 2019. A self-expanding percutaneous valve for patients with pulmonary regurgitation and an enlarged native right ventricular outflow tract: one-year results. *EuroIntervention*, 14, 1371-1377.
- ZILLES, K. & TILLMANN, B. N. 2010. Organe des Blutkreislaufs. *Anatomie*. Heidelberg: Springer Medizin Verlag.

7. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1:	(a) Lage des Herzens im Körper (Schünke et al., 2018, S. 86)	1
	(b) Prinzip der Saugdruckpumpe https://www.herzstiftung.de/images/herz_schema.gif	
	(c) Herzkranzgefäße http://www.partone.lifeinthefastlane.com/coronary_circulation.html	
Abb. 2:	(a) Herzklappen und Binnenräume https://i.pinimg.com/736x/67/0b/bb/670bbb53c3a5f9b81d20dda86768a392-mudra-tcm.jpg	2
	(b) Gieson-Färbung Mitralsegel (Lüllmann-Rauch, 2009, S. 260)	
	(c) Ventilebene (Schünke et al., 2018, S. 106)	
Abb. 3:	Herzskelett und Ventilebene (Schünke et al., 2018, S. 107)	3
Abb. 4:	Blutfluss des rechten Herzens (Schünke et al., 2018, S. 119)	4
Abb. 5:	Pathologien des rechten Herzens	8
	(a) Pulmonalklappenstenose http://www.kinderherzzentrum-kiel.de/herzfibel1/html/pulmonalstenose.html	
	(b) Fallot' Tetralogie http://www.kinderherzzentrum-kiel.de/herzfibel1/html/fallot_sche_tetralogie.html	9

Abb. 6:	Herzklappenprothesen	16
	(a) St. Jude Medical Regent™ Doppelflügelklappe https://www.sjmglobal.com/en-int/patients/heart-valve-disease/our-solutions/mechanical-heart-valves/st-jude-medical-regent-valve	
	(b) Edwards Magna Ease http://www.edwards.com/de/devices/heart-valves/aortic-pericardial	
	(c) Medtronic Freestyle® Schweineherzklappe (stentless) http://www.medtronic.com/de-de/patienten/produkte-therapien/heart-valve-repair-replacement/cg-future-ring-band.html	
Abb. 7:	Perkutane Pulmonalklappenprothesen	19
	(a) Melody™ mit Applikationssystem (Ansari et al., 2015)	
	(b) Edwards SAPIEN XT mit Einführsystem (Ansari et al., 2015)	
Abb. 8:	Prinzip des shape-memory-effects; (a) Martensit; (b) Austenit (Wadood et al., 2016, 1-9)	26
Abb. 9:	Nitinol-Stentgerüst, (a) Längsansicht; (b) Queransicht von oben; (c) Queransicht von unten	27
Abb. 10:	PCU-Klappe in Nitinol-Stent; (a) Tubulärer Stent, Ansicht von oben; (b) konischer Stent, Ansicht von unten	27
Abb. 11:	(a) PCU-Klappe in Nitinol-Stent, Rechteck: Klappe komprimiert in 14F-Messlehre; (b): vergrößerter Bildausschnitt (Attmann et al., 2006b, S. 379);	28
Abb. 12:	Applikationskatheter mit teilweise inserierter PCU-Klappe	28
Abb. 13:	(A) und (B): Applikationskatheter mit sog. "Pusher" am proximalen Ende(Pfeil) (Attman et al., 2006a, S. 406-412)	29

Abb. 14:	Originalbild aus http://lang-website.homepage.t-online.de/Strahlenschutzkurs-Website/skript06.html	30
Abb. 15:	(a) und (b): OP-Vorbereitungen	31
Abb. 16:	(a) Teilweise entfalteter PCU-Klappenstent (c) Vollständig selbstexpandierter Nitinol-Stent	33
Abb. 17:	GE Vivid I, Echokardiographiegerät mit TTE-Sonde	34
Abb. 18:	Ansicht auf den Truncus pulmonalis mit implantierter PCU-Klappe/ Nitinol-Stent	35
Abb. 19:	(a) Ansicht des Herzens von ventral (Schünke et al. , 2019, S. 96) (b) Ansicht der Perikardhöhle ohne Herz (Schünke et al., 2019, S. 98)	35
Abb. 20:	post mortem Analyse, PCU-Stent	36
Abb. 21:	eröffneter rechter Ventrikel, Stentbett	37
Abb. 22:	H.-E.-Färbung Stentbett, Vergrößerung: 32x	38
Abb. 23:	E.v.G-Färbung Stentbett, Vergrößerung: 10x	39
Abb. 24:	M.P.-Färbung Stentbett, Vergrößerung: 32x	40
Abb. 25:	Versilberung nach Kossa Stentbett, Vergrößerung: 10x	41
Abb. 26:	CD3 Färbung (a) Positivkontrolle Tonsille; Vergrößerung: 32x; (b) Stentbett; Vergrößerung: 32x	44

Abb. 27:	Bioreaktor für dynamische Zellkultivierung	48
Abb. 28:	Angiographie-Aufnahmen während Explantation (a) PU 2; (b) PU 5; (c) PU12	51
Abb. 29:	TTE-Bilder PU 4, 4W-FU (a) CW-Doppler ü. Pulmonalklappe; (b) M-Mode li. Ventrikel	71
Abb. 30:	TTE-Bilder PU 7, 8W-FU (a) CW-Doppler ü. Pulmonalklappe; (b) 2D-Mode, parasternal kurze Achse (c) Vegetation im RVOT	71
Abb. 31:	12W-FU TTE PU 15: (a) 2D-Mode: parasternal lange Achse, PVL; (b) CW-Doppler: PVL	72
Abb. 32:	Post mortem Analyse PU 1	74
Abb. 33:	Post mortem Analyse PU 2	74
Abb. 34:	Post mortem Analyse PU 3	75
Abb. 35:	Post mortem Analyse PU 4	75
Abb. 36:	Post mortem Analyse PU 5	76
Abb. 37:	Post mortem Analyse PU 7	76
Abb. 38:	Post mortem Analyse PU 12	77
Abb. 39:	Post mortem Analyse PU 14	77
Abb. 40:	Post mortem Analyse PU 15	78

Abb. 41:	Übersichtsfärbungen PU 2 (a) H.E., 32x Vergrößerung; (b) E.v.G., 10x Vergrößerung; (c) M.-P., 32x Vergrößerung	79
Abb. 42:	Übersichtsfärbungen PU 3 (a) H.E., 10x Vergrößerung; (b) E.v.G., 32x Vergrößerung; (c) M.-P., 32x Vergrößerung	79
Abb. 43:	Übersichtsfärbungen PU 7 (a) H.E., 10x Vergrößerung; (b) E.v.G., 32x Vergrößerung; (c) M.-P., 20x Vergrößerung	80
Abb. 44:	Übersichtsfärbungen PU 12 (a) H.E., 32x Vergrößerung; (b) E.v.G., 32x Vergrößerung; (c) M.-P., 20x Vergrößerung	80
Abb. 45:	Versilberung nach Kossa Gruppe 2 (a) PU 4, 10x Vergrößerung; (b) PU 5, 10x Vergrößerung; (c) PU 7, 10x Vergrößerung	81
Abb. 46:	Immunhistochemie PU 14 (a) CD3, 20x Vergrößerung; (b) CD20, 32x Vergrößerung; (c) CD45, 20x Vergrößerung; (d) CD68, 10x Vergrößerung	82
Abb. 47:	Immunhistochemie PU 7 (a) CD3, 10x Vergrößerung; (b) CD20, 32x Vergrößerung; (c) 20x Vergrößerung; (d) CD68, 10x Vergrößerung	82
Abb. 48:	Prokollagen III-Färbung (a) PU 3, 10x Vergrößerung; (b) PU 4, 10x Vergrößerung; (c) PU 14, 10x Vergrößerung	83
Abb. 49:	REM Bilder native PCU-Klappe (a) 120x Vergrößerung; (b) 900x Vergrößerung; (c) 12,0k Vergrößerung	83
Abb. 50:	REM Aufnahmen dynamisch besiedelter PCU-Klappe (a) 400x Vergrößerung; (b) 8,00k-fache Vergrößerung; (c) 8,00k- fache Vergrößerung	84
Abb. 51:	REM-Aufnahmen statisch besiedeltes PCU a) 120x Vergrößerung; b) 1,20k-fache Vergrößerung; (c) 4,00k-fache Vergrößerung	85

8. Tabellen- und Grafikenverzeichnis

Tab. 1:	Blutdruck Normalwerte im Herzen und der abgehenden Gefäße (Baer, 2011, S. 213)	3
Tab. 2:	Einteilung der angeborenen Herzfehler (Herold, 2017, S. 180)	6
Tab. 3:	Syndrom-assoziierte Pulmonalstenose bzw. Fallot' Tetralogie Blum, 2016, S. 16)	7
Tab. 4:	Schweregradeinteilung der Pulmonalstenose (Herlod, 2017, S. 181)	9
Tab. 5:	Versuchstierübersicht	24
Tab. 6:	Vorzeitiges Versuchsende;	25
Tab. 7:	Versuchstiereinteilung in drei Gruppen	50
Tab. 8:	Zeitpunkte der Nachsorgeuntersuchungen	70
Tab. 9:	CW-Dopplermessungen PU 12, 12W-FU: Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten über der Pulmonalklappe	71
Tab. 10:	M-Mode-Messungen PU 12, 12W-FU	72
Tab. 11:	CW-Dopplermessungen PU 14, 12W-FU: Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten über der Pulmonalklappe	73
Tab. 12:	M-Mode-Messungen PU 14, 12W-FU	73
Tab. 13:	CW-Dopplermessungen PU 15, 12W-FU: Flussgeschwindigkeiten und Druckgradienten über der Pulmonalklappe	73
Tab. 14:	M-Mode-Messungen PU 15, 12W-FU	73
Tab. 15:	Mittelwerte/ Maxima/ Minima/ Median der CW-Dopplermessungen der Gruppe 3	73
Tab. 16:	Entzündungsgrade nach Auszählung CD3-, CD30-, CD45- und CD8-positiver Zellen	82
Grafik 1:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 1, Präimplantation	53
Grafik 2:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 1, Präimplantation	53
Grafik 3:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 2, Präimplantation	54
Grafik 4:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 2, Präimplantation	55

Grafik 5:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 3, Präimplantation	56
Grafik 6:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 3, Präimplantation	56
Grafik 7:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aller Versuchstiere, Präimplantation	57
Grafik 8:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 1, Postimplantation	58
Grafik 9:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 1, Postimplantation	59
Grafik 10:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 2, Postimplantation	60
Grafik 11:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 2, Postimplantation	60
Grafik 12:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 3, Postimplantation	61
Grafik 13:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 3, Postimplantation	62
Grafik 14:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aller Versuchstiere, Postimplantation	63
Grafik 15:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 1, Explantation	64
Grafik 16:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 1, Explantation	64
Grafik 17:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 2, Explantation	65
Grafik 18:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 2, Explantation	66
Grafik 19:	Mittelwerte/ SF/ Median/ Minimum und Maximum der hämodynamischen Daten aus Gruppe 3, Explantation	67
Grafik 20:	Mittelwerte der hämodynamischen Messungen der einzelnen Tiere der Gruppe 3, Explantation	67

9. Anhang

Tabelle 5.1 Versuchstierparameter Gruppe 1

	Schaf	Gewicht [kg]	Überlebensdauer [Tage]	Stentgröße [mm]
Gruppe 1	PU1	40,0	28	22
	PU2	36,0	26	22
	PU3	32,0	34	22
Mittelwert		36	29,33	-
Median		36	28	-
Maximum		40	34	-
Minimum		32	26	-
SD		4,0	4,2	-

Tabelle 5.2 Versuchsparameter Gruppe 2

	Schaf	Gewicht [kg]	Überlebensdauer [Tage]	Stentgröße [mm]
Gruppe 2	PU4	35,0	84	20
	PU5	34,9	26	20
	PU7	38,5	64	20
Mittelwert		36,13	58	-
Median		35,0	64	-
Maximum		38,5	84	-
Minimum		34,9	26	-
SD		2,1	29,5	-

Tabelle 5.3 Versuchsparameter Gruppe 3

		Gewicht [kg]	Überlebensdauer [Tage]	Stentgröße [mm]
Gruppe 3	PU12	38,5	189	22-26
	PU14	50,6	207	22-26 (2x)
	PU15	48,6	153	22-26 (2x)
Mittelwert		45,9	183	-
Median		48,6	189	-
Maximum		50,6	207	-
Minimum		38,5	153	-
SD		6,5	27,5	-

Tabelle 16.1 Zellenausählung CD3-, CD20-, CD45- und CD68-Färbung

		CD3	CD20	CD45	CD68
Gruppe 1	PU 1	<10	<10	<10	<10
	PU 2	<10	<10	36	52
	PU 3	12	28	16	36
Gruppe 2	PU 4	>60	>60	>60	45
	PU 5	>60	>60	>60	>60
	PU 7	>60	>60	>60	>60
Gruppe 3	PU 12	14	<10	29	38
	PU 14	<10	<10	<10	<10
	PU 15	<10	16	12	17

Tabelle 17.1a Hämodynamische Daten PU 1, Präimplantation

PU 1	1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
03.11.2008				
Präimplantation				
RV sys.	25			25
RV diast.	10			10
RV ED	14			14
PA sys.	25	26		25,5
PA diast.	13	14		13,5
PA mean	18	17		17,5
peak-to-peak gradient	0			0
A. fem. sys.	84	86	70	80
A. fem. dias.	44	50	60	51,3
A. fem. mean	64	68	65	65,7

Tabelle 17.1b Hämodynamische Daten PU 1, Postimplantation

PU 1	1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
03.11.2008				
Postimplantation				
RV sys.	30			30
RV diast.	15			15
RV ED	22			22
PA sys.	25			25
PA diast.	16			16
PA mean	21			21
peak-to-peak gradient	5			5
A. fem. sys.	80			80
A. fem. dias.	55			55
A. fem. mean	67			67

Tabelle 17.1c Hämodynamische Daten PU 1, Explantation

PU 1		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
01.12.2008					
Explantation					
	RV sys.	26	27	28	27
	RV diast.	17	18	20	18,3
	RV ED	21	22	24	22,3
	PA sys.	29	22	23	24,7
	PA diast.	13	18	18	16,3
	PA mean	21	17	18	18,7
	peak-to-peak gradient	3	5	5	4,3
	A. fem. sys.				
	A. fem. dias.				
	A. fem. mean				

Tabelle 17.2a Hämodynamische Daten PU 2, Präimplantation

PU 2		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
12.11.2008					
Präimplantation					
	RV sys.	28	32		30
	RV diast.	0	4		2
	RV ED	10	13		11,5
	PA sys.	28	30		29
	PA diast.	12	8		10
	PA mean	17	15		16
	peak-to-peak gradient	0	2		1
	A. fem. sys.	86	84	120	96,7
	A. fem. dias.	50	44	80	58
	A. fem. mean	68	64	100	77,3

Tabelle 17.2b Hämodynamische Daten PU 2, Postimplantation

PU 2		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
12.11.2008					
Postimplantation					
	RV sys.	30	30		30
	RV diast.	0	0		0
	RV ED	10	8		9
	PA sys.	25	23		24
	PA diast.	16	13		14,5
	PA mean	20	18		19
	peak-to-peak gradient	5	7		6
	A. fem. sys.	120	110	125	118,3
	A. fem. dias.	80	80	110	90
	A. fem. mean	100	95	117	104

Tabelle 17.2c Hämodynamische Daten PU 2, Explantation

PU 2		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
08.12.2008					
Explantation					
	RV sys.	26	27	27	26,7
	RV diast.	0	1	1	0,7
	RV ED	11	11	11	11
	PA sys.	20	21	20	20,3
	PA diast.	11	10	9	10
	PA mean	15	15	15	15
	peak-to-peak gradient	6	6		6
	A. fem. sys.				
	A. fem. dias.				
	A. fem. mean				

Tabelle 17.3a Hämodynamische Daten PU 3, Präimplantation

PU 3	1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
27.01.2009				
Präimplantation				
RV sys.	15	15	14	14,7
RV diast.	4	4	4	4
RV ED	9	9	9	9
PA sys.	14	12	12	12,7
PA diast.	10	8	9	9
PA mean	11	10	10	10,3
peak-to-peak gradient	1	3	2	2
A. fem. sys.	80	70	80	76,7
A. fem. dias.	50	50	40	46,7
A. fem. mean	65	60	60	61,7

Tabelle 17.3b Hämodynamische Daten PU 2, Postimplantation

PU 3	1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
27.01.2009				
Postimplantation				
RV sys.	15	14	15	14,7
RV diast.	1	0	1	0,7
RV ED	6	6	7	6,3
PA sys.	12	13	12	12,3
PA diast.	6	7	7	6,7
PA mean	9	9	9	9
peak-to-peak gradient	3	1	3	2,7
A. fem. sys.	100	70		85
A. fem. dias.	60	50		55
A. fem. mean	80	60		70

Tabelle 17.3c Hämodynamische Daten PU 3, Explantation

PU 3		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
02.03.2009					
Explantation					
	RV sys.	12	16	11	13
	RV diast.	2	3	3	2,7
	RV ED	6	0	6	4
	PA sys.	12	10	11	11
	PA diast.	2	3	4	3
	PA mean	6	8	7	7
	peak-to-peak gradient	0	6	0	2
	A. fem. sys.	80	88	95	87,7
	A. fem. dias.	55	58	65	59,3
	A. fem. mean	67	73	80	73,3

Tabelle 17.4a Hämodynamische Daten PU 4, Präimplantation

PU 4		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
04.02.2009					
Präimplantation					
	RV sys.	14	14	13	13,7
	RV diast.	0	0	0	0
	RV ED	3	2	3	2,7
	PA sys.	14	13	14	13,7
	PA diast.	3	2	4	3
	PA mean	8	7	9	8
	peak-to-peak gradient	0	1	0	0,3
	A. fem. sys.	64	65	65	64,7
	A. fem. dias.	42	40	41	41
	A. fem. mean	53	52	53	52,7

Tabelle 17.4b Hämodynamische Daten PU 4, Postimplantation

PU 4		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
04.02.2009					
Postimplantation					
	RV sys.	21	20	21	20,7
	RV diast.	0	0	0	0
	RV ED	3	2	3	2,7
	PA sys.	18	18	21	19
	PA diast.	5	6	3	4,7
	PA mean	12	12	12	12
	peak-to-peak gradient	3	2	0	1,7
	A. fem. sys.	62	64	64	63,3
	A. fem. dias.	40	40	39	39,7
	A. fem. mean	51	52	51	51,3

Tabelle 17.4c Hämodynamische Daten PU 4, Explantation

PU 4		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
29.04.2009					
Explantation					
	RV sys.	26	25	26	25,7
	RV diast.	9	9	9	9
	RV ED	10	10	10	10
	PA sys.	17	18	20	18,3
	PA diast.	12	15	13	13,3
	PA mean	16	16	16	16
	peak-to-peak gradient	9	7	6	7,3
	A. fem. sys.	98	95	96	96,3
	A. fem. dias.	68	68	67	67,7
	A. fem. mean	76	78	77	77

Tabelle 17.5a Hämodynamische Daten PU 5, Präimplantation

PU 5	1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
11.02.2009				
Präimplantation				
RV sys.				
RV diast.				
RV ED				
PA sys.	12	15	17	14,7
PA diast.	3	5	4	4
PA mean	8	10	10	9,3
peak-to-peak gradient				
A. fem. sys.	64	65	68	65,7
A. fem. dias.	43	45	44	44
A. fem. mean	52	55	56	54,3

Tabelle 17.5b Hämodynamische Daten PU 5, Postimplantation

PU 5	1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
11.02.2009				
Postimplantation				
RV sys.				
RV diast.				
RV ED				
PA sys.	12	12	12	12
PA diast.	3	5	3	3,7
PA mean	8	8	8	8
peak-to-peak gradient				
A. fem. sys.	120			120
A. fem. dias.	88			88
A. fem. mean	104			104

Tabelle 17.5c Hämodynamische Daten PU 5, Explantation

PU 5		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
11.03.2009					
Explantation					
	RV sys.	40	41	39	40
	RV diast.	-3	-2	-4	-3
	RV ED	20	18	18	18,7
	PA sys.	20	21	22	21
	PA diast.	8	7	8	7,7
	PA mean	13	14	16	14,3
	peak-to-peak gradient	20	20	17	19
	A. fem. sys.	88	70	90	82,7
	A. fem. dias.	44	45	60	49,7
	A. fem. mean	66	57	75	66

Tabelle 17.6a Hämodynamische Daten PU 7, Präimplantation

PU 7		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
22.06.2009					
Präimplantation					
	RV sys.	22	23	21	22
	RV diast.	3	4	5	4
	RV ED	15	11	12	12,7
	PA sys.	20	23	21	21,3
	PA diast.	11	12	11	11,3
	PA mean	18	13	15	15,3
	peak-to-peak gradient	2	0	0	0,7
	A. fem. sys.	87	86	82	85
	A. fem. dias.	62	63	52	59
	A. fem. mean	73	74	75	74

Tabelle 17.6b Hämodynamische Daten PU 7, Postimplantation

PU 7		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
22.06.2009					
Postimplantation					
	RV sys.	38	37	37	37,3
	RV diast.	7	9	6	7,3
	RV ED	23	23	22	22,7
	PA sys.	29	28	28	28,3
	PA diast.	16	13	14	14,3
	PA mean	22	24	21	22,3
	peak-to-peak gradient	9	9	9	9
	A. fem. sys.	119	117	117	117,7
	A. fem. dias.	96	96	97	96,3
	A. fem. mean	102	106	94	100,7

Tabelle 17.7a Hämodynamische Daten PU 12, Präimplantation

PU 12		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
06.09.2010					
Präimplantation					
	RV sys.	22	20	21	21
	RV diast.	3	3	3	3
	RV ED	10	8	8	8,7
	PA sys.	19	14	19	17,3
	PA diast.	8	4	9	7
	PA mean	8	8	10	8,6
	peak-to-peak gradient	3	6	2	3,7
	A. fem. sys.	113	108	108	109,7
	A. fem. dias.	75	75	74	74,7
	A. fem. mean	94	91	91	92

Tabelle 17.7b Hämodynamische Daten PU 12, Postimplantation

PU 12		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
06.09.2010					
Postimplantation					
	RV sys.	29	28	28	28,3
	RV diast.	1	1	1	1
	RV ED	7	9	7	7,7
	PA sys.	13	18	15	15,3
	PA diast.	7	13	7	9
	PA mean	9	14	9	10,7
	peak-to-peak gradient	16	10	13	13
	A. fem. sys.	120	122	121	121
	A. fem. dias.	75	74	76	75
	A. fem. mean	90	93	89	90,7

Tabelle 17.7c Hämodynamische Daten PU 12, Explantation

PU 12		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
14.03.2011					
Explantation					
	RV sys.	27	25	25	25,7
	RV diast.	3	2	3	2,7
	RV ED	9	8	8	8,3
	PA sys.	19	16	16	17
	PA diast.	12	8	9	9,7
	PA mean	14	12	12	12,7
	peak-to-peak gradient	8	9	9	8,7
	A. fem. sys.	100	100	95	98,3
	A. fem. dias.	66	65	62	64,3
	A. fem. mean	83	83	79	81,7

Tabelle 17.8a Hämodynamische Daten PU 14, Präimplantation

PU 14		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
22.11.2010					
Präimplantation					
	RV sys.	27	25	24	25,3
	RV diast.	1	3	2	2
	RV ED	9	8	8	8,3
	PA sys.	20	20	22	20,7
	PA diast.	7	7	8	7,3
	PA mean	11	11	10	10,7
	peak-to-peak gradient	7	5	2	4,7
	A. fem. sys.	60	58	62	60
	A. fem. dias.	25	26	24	25
	A. fem. mean	40	42	41	41

Tabelle 17.8b Hämodynamische Daten PU 14, Postimplantation

PU 14		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
22.11.2010					
Postimplantation					
	RV sys.	20	21	24	21,6
	RV diast.	2	3	5	3,3
	RV ED	10	10	10	10
	PA sys.	18	19	18	18,3
	PA diast.	11	13	12	12
	PA mean	12	15	15	14
	peak-to-peak gradient	2	2	6	3,3
	A. fem. sys.	120	122	121	121
	A. fem. dias.	75	74	76	75
	A. fem. mean	90	93	89	90,7

Tabelle 17.8c Hämodynamische Daten PU 14, Explantation

PU 14		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
17.06.2011					
Explantation					
	RV sys.	27	28	27	27,3
	RV diast.	2	3	2	2,3
	RV ED	5	5	6	5,3
	PA sys.	23	25	23	23,7
	PA diast.	10	14	10	11,3
	PA mean	16	18	16	16,7
	peak-to-peak gradient	4	3	4	3,7
	A. fem. sys.	83	87	88	86
	A. fem. dias.	64	65	62	63,7
	A. fem. mean	74	72	75	73,7

Tabelle 17.9a Hämodynamische Daten PU 15, Präimplantation

PU 15		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
24.01.2011					
Präimplantation					
	RV sys.	21	22	22	21,7
	RV diast.	6	7	8	7
	RV ED	12	13	13	12,7
	PA sys.	19	19	15	17,7
	PA diast.	7	8	4	6,3
	PA mean	11	13	7	10,3
	peak-to-peak gradient	2	3	7	4
	A. fem. sys.	92	90	92	91,3
	A. fem. dias.	72	70	75	72,3
	A. fem. mean	82	80	84	82

Tabelle 17.9b Hämodynamische Daten PU 15, Postimplantation

PU 15		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
24.01.2011					
Postimplantation					
	RV sys.	19	19	19	19
	RV diast.	3	4	3	3,3
	RV ED	7	9	8	8
	PA sys.	15	15	17	15,7
	PA diast.	5	8	10	7,7
	PA mean	10	12	13	11,7
	peak-to-peak gradient	4	4	2	3,3
	A. fem. sys.	80	66		73
	A. fem. dias.	53	44		48,5
	A. fem. mean	62	55		58,5

Tabelle 17.9c Hämodynamischen Daten PU 15, Explantation

PU 15		1 [mmHg]	2 [mmHg]	3 [mmHg]	MW [mmHg]
27.06.2011					
Explantation					
	RV sys.	19	22	20	20,3
	RV diast.	7	9	7	7,7
	RV ED	11	10	9	10
	PA sys.	19	21	19	19,7
	PA diast.	8	8	9	8,3
	PA mean	13	14	14	13,7
	peak-to-peak gradient	0	1	1	0,7
	A. fem. sys.	93	97	98	96
	A. fem. dias.	73	72	72	72,3
	A. fem. mean	83	84	85	84

10. Danksagung

„Man kann die Erkenntnisse der Medizin auf eine knappe Formel bringen: Wasser, mäßig genossen, ist unschädlich.“

Mark Twain (1835-1910)

Ich möchte mich hiermit bei Herrn Prof. Lutter für seine Geduld, Ausdauer und das zur Verfügung stellen dieses Themas bedanken. Herrn Dr. Thomas Pühler für seine Unterstützung und Hilfestellung im Endspurt und beim Verfassen des Papers. Bei Frau Dr. Anja Metzner, die mir bis zum Ende zur Seite stand. Ich danke meinen Eltern, meinem Bruder und seiner Familie, die mich stets unterstützen. Ohne sie wäre ich nie so weit gekommen.

Ich danke Herrn Dr. Christian Sellschopp, den ich als eine Art Mentor sehe und der mich stets zur Außergewöhnlichkeit ermutigt hat.

Meinen Freunden: Vanessa Lammert, die mich geistig wie fachlich als bessere Hälfte mitbetreut hat. Esther Dorsch, deren Interesse an dieser Arbeit so groß war, dass ich beinahe schon an ihrem Verstand gezweifelt habe. Anne Passarge für ihre Unterstützung in jeder Lebenslage mit der nötigen Portion Humor, Helge Schneider und Rosinenknoten. Dr. med. dent. und PehaDe Ulf Schepke, dessen Kompetenz und wissenschaftlicher Geist kaum zu übertreffen sind. Anna Tissen, dass sie regelmäßig für Momente gesorgt hat, um mich vom Schreibtisch wegzuzerren. Tina Kleinböck für die seelische Fürsorge, tiefe Freundschaft und ihre offenen Ohren. Edward de los Santos für seine Verrücktheit und Lebensfreude. Ylva Kilian, die mich durch ihr wunderbares Wesen und ihre Gastfreundschaft in so manchen Momenten vor dem Untergang bewahrt hat. Meinen Mitbewohnern, Ellen Klappert und Johannes Glogau, die mich monatelang mit meinen Unzulänglichkeiten ertragen haben und nicht müde wurden, mich zu motivieren und für Aufwind zu sorgen. Katharina Glogau-Schlüter, die mich durch die Ausflüge in die „Traube“ der Wahrheit ein Stückchen nähergebracht hat. Christian Anspach für das Anpacken in schweren Zeiten und das „Feierbeast“ in ihm. Herrn Leonhardt für die Gelassenheit und das mich walten lassen. Franz Wahl für die Luxusgüter, die Balsam für die Seele gewesen sind. Christoph Sauter für sein graphisches Auge und seine Großzügigkeit. Viktor Kataev für den finalen Tritt in den Hintern. Und ich danke all den restlichen, fehlenden Freunden, für die diese Seite leider nicht reicht. Auch ohne sie wäre ich nicht das, was ich bin. Hoch lebe Charly Brown!

„Reich sind nur die, die wahre Freunde haben.“

Thomas Fuller (1608-1661)

11. Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN

Name Ayça Topal
Geburtsdatum und –Ort 22.11.1985 Augsburg
Familienstand ledig
Nationalität Deutsch
Anschrift Neidhartstr. 27
86159 Augsburg
Mobil +49 162 2825373
E-Mail ayca85@gmx.net

BERUFLICHE TÄTIGKEITEN

Februar 2018- Dezember 2019 Assistenzärztin in der Anästhesie,
Stadtklinik im diako, Augsburg
Januar 2015- Dezember 2016 Assistenzärztin in der Allgemein- und
Herzchirurgie, Albertinen Krankenhaus
Hamburg, Common Trunk
Juli 2014- Dezember 2014 Tätigkeit als Belegärztin im Nachtdienst,
Parkklinik Kiel

HOCHSCHULAUSBILDUNG

Juli 2014 Abschluss Hammerexamen Christian-
Albrechts-Universität Kiel, Note: 2, 0
Februar 2013 - Januar 2014 Praktisches Jahr
1. Tertiär Chirurgie: Hadassah Medical
Center Jerusalem
2. Tertiär Innere Medizin: Diakonissen
Krankenhaus, Flensburg
3. Tertiär Anästhesie: UKSH, Kiel

April 2010 - Juli 2014 Klinischer Abschnitt Humanmedizin, CAU
Kiel

April 2009 - März 2010 Vorklinischer Abschnitt Humanmedizin,
Universität Leipzig

Oktober 2006 - März 2009 Vorklinischer Abschnitt Zahnmedizin,
Universität Frankfurt

Oktober 2005 - März 2006 Angewandte Kulturwissenschaften,
Universität Lüneburg

PROMOTION

seit Februar 2012 Prof. Dr. Georg Lutter, Lehrstuhl für
Experimentelle Herzchirurgie und
Klappenersatz, UKSH Kiel
Thema: Perkutaner Pulmonalklappenersatz
mit PCU-Stents zur Behandlung der
Pathologien des RVOTs

STUDIENBEGLEITENDE PRAKTIKA

März 2012 Famulatur Amerikanisches Krankenhaus,
Istanbul: Allgemein- und Viszeralchirurgie

September 2011 Famulatur Hadassah Medical Center
Jerusalem: Herz- und Thoraxchirurgie

August 2011 Praxisfamulatur Gynäkologie

März 2011 Famulatur UKSH, Campus Kiel
Allgemein- und Thoraxchirurgie

September 2010 Famulatur Deutsches Krankenhaus, Istanbul
Chirurgie, Kardiologie

2008 -2009 3-monat. Krankenpflegepraktikum BKH
Augsburg, Psychiatrie

STUDENTISCHE TÄTIGKEITEN

- November 2010- Januar 2013 Tätigkeit als student. OP-Assistenz und Blutentnahmedienst, UKSH, Allgemein- und Thoraxchirurgie
- Mai 2010- Dezember 2014 Tätigkeit als student. OP-Assistenz, Parkklinik Kiel, Allgemeinchirurgie, Gynäkologie, Proktologie, HNO
- September 2007- September 2008 Tätigkeit als student. OP-Assistenz, Asklepios Paulinen-Frauenklinik Wiesbaden
- September 2007- März 2008 Wissenschaftliche Hilfskraft im Präparierkurs „Anatomie“ bei Prof. Dr. rer. nat. Helmut Oelschläger, Universität Frankfurt

SCHULBILDUNG

- September 1996 - Juni 2005 A.B. von Stettensches Institut Augsburg, Gymnasium, Leistungskurse: Latein, Kunst, Abiturnote: 1,9

12. Veröffentlichungen

- Präsentation eines E-Posters auf dem Kongress „PCR London Valves- The Heart Team Course- focus on transcatheter therapies for valvular heart disease“ 17-19. November 2019, ExCel London, Royal Victoria Dock, 1 Western Gateway, London, United Kingdom

“Percutaneous pulmonary valve implantation with polycarbonate-urethane valved nitinol stents in an ovine model: one- and six-month follow-up.”

Ayça Topal, PD Dr. Gunther Fischer, Dr. Jan Hinnerk Hansen, PD Dr. Thomas Pühler, Prof. Dr. Derk Frank, Prof. Dr. Georg Lutter
- *Veröffentlichung nach Beendigung des Promotionsverfahrens:*
Lutter G*, Topal A*, Hansen JH, Haneya A, Santhanthan J, Freitag-Wolf S et al. Transcatheter pulmonary valve replacement: a new polycarbonate urethane valve. Eur J Cardiothorac Surg 2021; doi:10.1093/ejcts/ezaa479

* geteilte Erstautorenschaft