

Aus der
Klinik für Herzchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor/Leiter: Univ.-Prof. Dr. Lichtenberg

**Perioperativer Verlauf von zirkulierenden Exosomen bei operativem
Aortenklappenersatz**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Vorgelegt von
Shining Sophie Liu
Düsseldorf 2021

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. P. Akhyari

Zweitgutachter: PD Dr. med. T. Brandenburger

Meinen Eltern
In Liebe und Dankbarkeit

Publikation

Andreas Weber, Shining Sophie Liu, Letizia Cardone, Philipp Rellecke, Stephan Urs Sixt, Artur Lichtenberg, Payam Akhyari, *The course of circulating small extracellular vesicles in patients undergoing surgical aortic valve replacement*, BioMed Research International, Vol. 2020, Artikel ID 6381396, 12 Seiten, 2020.

Zusammenfassung

Kalzifizierte Aortenklappenstenosen (AS) sind die häufigsten erworbenen Herzklappenerkrankungen Deutschlands. Die bisher einzig kurative Therapie stellt der Aortenklappenersatz (AKE) dar. Wenn die neue Klappenöffnungsfläche zu klein ist für die Körperoberfläche, besteht ein Prothesen-Patienten-Mismatch (PPM). Zur Diagnostik einer PPM kann die transthorakale Echokardiographie (TTE) herangezogen werden. Jedoch spielen in den letzten Jahren extrazelluläre Vesikel (EVs) wie Mikropartikel und Exosomen eine immer größer werdende Rolle als potentielle Biomarker. Exosomen sind 20-150 nm große EVs, die der interzellulären Kommunikation dienen.

In der vorliegenden Arbeit wurden Zusammenhänge zwischen Exosomenanzahl und demographischen, sowie hämodynamischen Parametern bei Patienten mit AS untersucht, um das mögliche diagnostische Potential zu evaluieren.

In der hiesigen Studie wurden bei 78 Patienten (38 Frauen, Alter $72,4 \pm 7,7$ J) mit isoliertem AKE prä- und post-OP TTE durchgeführt und Blutproben entnommen, um nach *ExoQuick*-Isolation die Exosomen mittels *Nanoparticle Tracking Analysis* zu quantifizieren.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass weder das Alter, noch das Geschlecht mit der Exosomenzahl assoziiert waren. Mit steigendem *Body Mass Index* (BMI), war die Anzahl der Exosomen von prä- zu post-OP stärker gesunken ($p = 0,002$). Die maximale Geschwindigkeit $v_{\max}$, der maximale Druckgradient $p_{\max}$ und der Scherstress zeigten isoliert betrachtet in Relation zur Exosomenzahl keine signifikanten Zusammenhänge. Jedoch korrelierte ein Anstieg der Exosomen von prä- zu post-OP mit einer starken Senkung von $v_{\max}$ ($p = 0,01$), $p_{\max}$ ($p = 0,01$) und Scherstress ($p = 0,01$). Im Hinblick auf ein PPM, konnte gezeigt werden, dass mit sinkender Exosomenzahl, verglichen zum präoperativen Ausgangswert, das Risiko für ein PPM bei Patienten mit hochgradigen AS signifikant stieg ($p = 0,001$). Insgesamt wurde bei acht Patienten ein moderates PPM diagnostiziert, die alle postoperativ weniger Exosomen hatten als präoperativ.

Zusammenfassend zeigten Exosomen signifikante Beziehungen zu hämodynamischen Größen und dem PPM-Risiko bei Patienten mit AS, was ihr diagnostisches Potential verdeutlicht. Weitergehende Studien könnten eine Etablierung der Exosomen für eine diagnostische Anwendung möglich machen.

Summary

Calcific aortic valve stenosis (AS) is the most common heart valve disease in Germany. To this day, the only curative therapy is the aortic valve replacement (AVR). If the effective orifice area (EOA) of the new valve is too small in relation to the body surface area, then a prosthesis-patient-mismatch (PPM) occurs. Transthoracic echocardiography can be used to diagnose a PPM. Recently, increasing efforts have been devoted to investigation on the role of extracellular vesicles (EVs) like microparticles (MPs) and exosomes as potential biomarkers. Exosomes are EVs in the range of 20-150 nm that function as intercellular communication.

The aim of this study is to investigate whether a correlation between the number of exosomes and demographic as well as hemodynamic parameters in patients treated with AVR may exist which may be further used as a possible diagnostic potential.

Peripheral blood from 78 patients (38 female, age 72.4 ± 7.7 y) undergoing isolated AVR was sampled and echocardiographic data was collected pre- and post-OP. Exosomes were isolated by ExoQuick-isolation and quantified by nanoparticle tracking analysis.

In this study, there were no significant correlations between the number of exosomes and age or gender of the patient. With an increasing body mass index (BMI) the number of exosomes decreased from pre- to post-op ($p = 0.002$). The maximum velocity $v_{\max}$, the maximum pressure gradient $p_{\max}$ and shear stress did not show any direct relations to the number of exosomes pre- or post-op. However, an increase of exosomes from pre- to post-op was correlated with a stronger decrease of $v_{\max}$ ($p = 0.01$), $p_{\max}$ ($p = 0.01$) and shear stress ($p = 0.01$). Moreover, it could be shown, that the risk of a PPM in patients with high-grade AS significantly increased, when the number of exosomes decreased from pre- to post-op ($p = 0.001$). Overall, there were moderate PPMs diagnosed in eight patients, which demonstrated a decreasing number of exosomes post-op compared to pre-op.

In summary, exosomes showed significant correlations to hemodynamic values and the risk of a PPM in patients with AS, which points out their diagnostic potential. Further studies, focusing on the behavior of exosomes in relation to patients with AS are necessary to possibly establish a diagnostic practice.

Inhaltsverzeichnis

Publikation	IV
Zusammenfassung.....	V
Summary	VI
Abbildungsverzeichnis	X
Tabellenverzeichnis	XI
Abkürzungsverzeichnis	XII
1 Einleitung	1
1.1 Aortenklappenstenose	1
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Pathophysiologie	1
1.1.3 Klinische Manifestationen	2
1.1.4 Operativer Aortenklappenersatz	2
1.2 Echokardiographie	3
1.2.1 Diagnostik der AS	3
1.2.2 Einteilung der AS	3
1.2.3 Prothesen-Patienten-Mismatch	4
1.2.4 Scherstress	4
1.3 Exosomen	5
1.3.1 Einordnung in die Familie der extrazellulären Vesikel	5
1.3.2 Entstehung und Freisetzung	6
1.3.3 Funktion	7
1.3.4 Oberflächenmarker und Inhalt	8
1.3.5 Nanoparticle Tracking Analysis	8
1.3.6 Rolle von Exosomen in der kardiovaskulären Medizin	9
1.4 Fragestellung	11
2 Material und Methoden	12
2.1 Materialien	12
2.1.1 Geräte und Gebrauchswaren	12
2.1.2 Chemikalien	12
2.1.3 Puffer und Lösungen	13
2.2 Studiendesign	15
2.2.1 Studienart	15
2.2.2 Untersuchungszeitpunkte	15

2.3	Patientenkollektiv	16
2.4	Ethikvotum	17
2.5	Datenerhebung	18
2.5.1	Blutentnahmen	18
2.5.2	Dokumentation	18
2.5.3	Echokardiographische Daten	19
2.6	Exosomen	21
2.6.1	Exosomen Isolation	21
2.6.2	Exosomen-Messung	22
2.6.3	Exosomencharakterisierung	24
2.7	Statistik	28
3	Ergebnisse	29
3.1	Studie	29
3.1.1	Studienverlauf	29
3.1.2	<i>Baseline</i> Charakteristika	31
3.1.3	OP-Ergebnisse	33
3.1.4	Echokardiographische Ergebnisse	35
3.2	Exosomen	39
3.2.1	Charakterisierung der isolierten Exosomen mittels Western Blot	39
3.2.2	Nachweis der Exosomen mittels Elektronenmikroskopie	39
3.2.3	Effektivität der Exosomenisolation mittels ExoQuick	40
3.2.4	Größenbestimmung durch Nanoparticle Tracking Analyse	40
3.3	Gesamtverlauf der Exosomen bei Patienten mit AKE	42
3.4	Zusammenhang zwischen demographischen Daten und Anzahl der Exosomen	45
3.4.1	Zusammenhang zwischen Geschlecht und Anzahl der Exosomen	45
3.4.2	Zusammenhang zwischen Alter und Anzahl der Exosomen	45
3.4.3	Zusammenhang zwischen Body-Mass-Index und Anzahl der Exosomen	46
3.5	Hämodynamische Auswirkungen auf die Anzahl der Exosomen	49
3.5.1	Einfluss des Druckgradienten auf die Anzahl der Exosomen	49
3.5.2	Einfluss der EOA auf die Anzahl der Exosomen	53
3.5.3	Einfluss des Scherstress auf die Anzahl der Exosomen	54
3.5.4	Einfluss des Patienten-Prothesen-Mismatches auf die Anzahl der Exosomen	55
4	Diskussion	59
4.1	Exosomen in der kardiovaskulären Medizin	59
4.2	Verlauf der Exosomen	60
4.3	Auswirkungen von demographischen Daten auf die Anzahl der Exosomen	62
4.4	Hämodynamische Auswirkungen auf die Anzahl der Exosomen	63

4.4.1	$V_{\max}$, $p_{\max}$ und p_{mean}	63
4.4.2	EOA	64
4.4.3	Scherstress	64
4.4.4	PPM	64
4.5	Limitationen dieser Arbeit	66
4.6	Ausblick: Exosomen als potentielle Biomarker für Patienten mit AS	68
5	Literaturverzeichnis	69
6	Danksagung.....	74
7	Anhang.....	75

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1.1: Arten der extrazellulären Vesikel.....	6
Abbildung 1.2: Entstehung und Freisetzung von Exosomen und MPs.	7
Abbildung 1.3: Prinzip des ZetaViews.....	9
Abbildung 2.1: Schritte der Exosomenisolation.....	21
Abbildung 2.2: Grundeinstellungen.	22
Abbildung 2.3: Messeinstellungen.....	23
Abbildung 2.4: Manuelle Fokussierung.	24
Abbildung 3.1: Patientenselektion.....	30
Abbildung 3.2: Kreatinin und eGFR nach MDRD-Formel für alle Patienten mit isolierten AKEs.....	32
Abbildung 3.3: Exosomencharakterisierung mittels Western Blots.....	39
Abbildung 3.4: Exosomencharakterisierung mittels Elektronenmikroskopie.....	40
Abbildung 3.5: Größenbestimmung der Exosomen.	41
Abbildung 3.6: Gesamtverlauf der Anzahl der Exosomen.....	42
Abbildung 3.7: Anzahl der Exosomen im Bezug zu U1.....	44
Abbildung 3.8: Zusammenhang zwischen Geschlecht und Anzahl der Exosomen.	45
Abbildung 3.9: Exosomenzahlen an U1 (A) und U5 (B) in Relation zu dem Alter.....	46
Abbildung 3.10: Zusammenhang zwischen Alter und p_{mean} an U1.....	46
Abbildung 3.11: Zusammenhang zwischen BMI und Anzahl der Exosomen.....	48
Abbildung 3.12: Einfluss des präoperativen Druckgradienten auf die Anzahl der Exosomen.....	49
Abbildung 3.13: Einfluss der v_{max} auf die Anzahl der Exosomen.....	50
Abbildung 3.14: Einfluss des p_{max} auf die Anzahl der Exosomen.....	51
Abbildung 3.15: Einfluss des p_{mean} auf die Anzahl der Exosomen.....	52
Abbildung 3.16: Einfluss der EOA auf die Anzahl der Exosomen.....	53
Abbildung 3.17: Verhältnis von Scherstress an U1 zur EOA an U1.....	54
Abbildung 3.18: Einfluss des Scherstress auf die Anzahl der Exosomen.....	55
Abbildung 3.19: Relation zwischen der EOAI an U5 und der Exosomen Ratio U5 / U1.....	57
Abbildung 3.20: Einfluss des Druckgradienten auf die Relation zwischen EOAI an U5 und Exosomen Ratio U5 zu U1.....	58

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1.1: Einteilung des Schweregrads einer AS	3
Tabelle 2.1: Untersuchungszeitpunkte.	15
Tabelle 2.2: Ein- und Ausschlusskriterien.	16
Tabelle 2.3: Blutentnahmeprotokoll.	18
Tabelle 2.4: Parameter der TTEs.	20
Tabelle 2.5: Grundeinstellungen Zeta View.	22
Tabelle 2.6: Zusammensetzung der Gele.	25
Tabelle 2.7: Verwendete Antikörper und eingesetzte Konzentrationen.	27
Tabelle 3.1: <i>Baseline</i> Charakteristika.	31
Tabelle 3.2: Operative Maßnahmen.	33
Tabelle 3.3: Eigenschaften der AV.	33
Tabelle 3.4: Aortenklappenprothesen.	34
Tabelle 3.5: Größen der Klappenprothesen.	34
Tabelle 3.6: Echokardiographische Daten der biologischen AKEs.	35
Tabelle 3.7: Statistische Signifikanz der Änderungen der echokardiographischen Daten bei biologischen AKEs.	36
Tabelle 3.8: Echokardiographische Daten der mechanischen AKEs.	37
Tabelle 3.9: Statistische Signifikanz der Änderungen der echokardiographischen Daten bei mechanischen AKEs.	38
Tabelle 3.10: Mittlerer Durchmesser der Exosomen aller isolierten AKE-Patienten.	41
Tabelle 3.11: Statistische Signifikanz der Änderungen der Exosomenzahl.	43
Tabelle 3.12: Anteile der BMI-Gruppen.	47
Tabelle 3.13: Prothesen-Patienten-Mismatch an U5.	56
Tabelle 9.1: Medikation der biologischen AKEs.	75
Tabelle 9.2: Medikation der mechanischen AKEs.	75
Tabelle 9.3: Laborwerte der Patienten mit biologischen AKEs.	76
Tabelle 9.4: Laborwerte der Patienten mit mechanischen AKEs.	77
Tabelle 9.5: Intensiv-Daten.	79
Tabelle 9.6: Anzahl Transfusionen.	80

Abkürzungsverzeichnis

ACE	<i>angiotensin converting enzyme</i>
ACT	<i>activated clotting time</i>
AI	Aortenklappeninsuffizienz
AK	Aortenklappe
AKE	Aortenklappenersatz
ALT	Alanin-Aminotransferase
APS	Ammoniumpersulfat
CCV	<i>clathrin-coated vesicles</i>
CRF	<i>case report form</i>
CRP	C-Reaktives-Protein
EDD	Enddiastolische Diameter
EDTA	<i>ethylene diamine tetraacetic acid</i>
EK	Erythrozyten-Konzentrat
EKZ	Extrakorporale Zirkulation
EOA	<i>effective orifice area</i>
EOAi	<i>indexed effective orifice area</i>
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>
EV	Extrazelluläre Vesikel
FFP	<i>fresh frozen plasma</i>
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GOT	Glutamat-Oxalat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HDL	<i>high density lipoprotein</i>
HRST	Herzrhythmusstörung
HSP	<i>heat shock protein</i>
INR	<i>international normalized ratio</i>
KHK	Koronare Herzkrankheit
KOF	Körperoberfläche
KÖF	Klappenöffnungsfläche
LDH	L-Lactatdehydrogenase
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
LV	Linker Ventrikel

LV-EF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVAD	Linksventrikuläres Unterstützungssystem
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter
LVESD	Linksventrikulärer endsystolischer Diameter
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
LVM	Linksventrikuläre Masse
LVOT	Linksventrikulären Ausflusstrakt
miRNA	mikro-RNA
miRNAs	mikro-Ribonukleinsäure
mRNA	<i>messenger</i> -RNA
MV	Mikrovesikel
MVC	<i>multivesicular bodies</i>
MVE	Multivesikuläres Endosom
n.s.	nicht signifikant
NTA	<i>Nanoparticle Tracking Analysis</i>
NYHA	New York Heart Association
o.g.	oben genannte(r)
p. M.	Pro Messung
PAGE	Polyacrylamid-Gelelektrophorese
p _{max}	Maximaler transvalvulärer Druckgradient
p _{mean}	Mittlerer transvalvulärer Druckgradient
PTT	<i>partial thromboplastin time</i>
PVDF	Polyvinylidenfluorid
RNA	Ribonukleinsäure
RT	Raumtemperatur
SDS	Sodiumdodecylsulfat
sog.	sogenannte
TAVI	<i>transaortic valve implantation</i>
TBS-T	Tris Buffered Saline + 0,05 % Tween
TEMED	Tetramethylethylendiamin
TK	Thrombozyten-Konzentrat
TSH	Thyroidea-stimulierendes Hormon

TTE	Transthorakale Echokardiographie
UKD	Universitäts-Klinikum-Düsseldorf
v.a.	vor allem
$v_{\max}$	Maximale Geschwindigkeit
Z.n.	Zustand nach

1 Einleitung

1.1 Aortenklappenstenose

1.1.1 Epidemiologie

Die Aortenklappenstenose (AS) ist das häufigste degenerative Klappenvitium in Europa und Nordamerika. 2-7 % aller >60-jährigen leiden unter der progressiven Erkrankung (1). Oft dauert es Jahrzehnte bis sich aus einer milden AS eine schwere entwickelt, sodass erst nach einer langen symptomfreien Latenzzeit klinische Zeichen wie Belastungsdyspnoe, *Angina pectoris* und Synkopen auftreten (2). Die ersten Symptome manifestieren sich meist ab dem sechsten Lebensjahrzehnt. Im Alter zwischen 65-74 Jahren beträgt die Prävalenz von Aortensklerose 20 % und die der AS 1,3 %. Betrachtet man die Population der über 84-Jährigen, so steigt die Prävalenz auf jeweils 48 % und 4 % an (3).

1.1.2 Pathophysiologie

Der AS liegt ein aktiver kalzifizierender Pathomechanismus zugrunde, bei der die Aortenklappen (AK) eine progressive Mineralisation und Fibrosierung erfahren, die zur Kalzifizierung der AK führen (4). Die daraus resultierende eingeschränkte Beweglichkeit der Klappen führt zu einem reduzierten Ausfluss aus dem linksventrikulären Ausflusstrakt (LVOT). Kompensatorisch versucht der linke Ventrikel (LV) durch Hypertrophie des Muskelgewebes eine Erhöhung des mittleren und maximalen Druckgradienten ($p_{\text{mean/peak}}$) zu schaffen, um noch genügend Blut in den großen Blutkreislauf pumpen zu können. Die Art der Hypertrophie kann individuell ausgeprägt sein (5). In den Spätphasen der AS kann die prolongierte Zunahme der Wandspannung und Nachlast zu einer Abnahme der Ejektionsfraktion (EF) und so auch zu einer Einschränkung der systolischen Pumpfunktion führen (6). Diese Dysfunktionen sowie die Hypertrophie des Herzmuskels an sich können zumindest partiell durch einen chirurgische Aortenklappenersatz reversibel sein (7). Das Ausmaß einer LV Hypertrophie (LVH) kann durch die LV Masse (LVM) dargestellt werden. Treibel et al. zeigten, dass ein Jahr nach AKE nicht nur die LVM im Durchschnitt um 19 % sinken, sondern auch die EF und damit die Pumpleistung des Herzens um 3 % ansteigen kann (8).

1.1.3 Klinische Manifestationen

Die AS hat ein weites Spektrum an klinischen Manifestationsmöglichkeiten, von einem symptomfreien Patienten bis hin zum plötzlichen Herzversagen. Die Kardinalsymptome der AS sind *Angina pectoris*, Schwindel bzw. Synkope und Herzinsuffizienz, wobei es in vielen Fällen jedoch eher mildere und allgemeinere Symptome wie Leistungsschwäche, Abgeschlagenheit und Belastungsdyspnoe sind (3, 9). *Angina pectoris*, gekennzeichnet durch Schmerzen in der Brust, tritt bei 30 - 40 % der Patienten mit einer schweren AS ohne koronare Herzkrankheit (KHK) auf. Dabei kommt es insbesondere zu einer Hypertrophie des Myokards. Es resultieren hohe systolische und diastolische Wandspannungen und eine reduzierte Koronararterienreserve, sodass eine Minderperfusion bei Belastung entstehen kann. Auch die Kompression der Gefäße während der Systole scheint dabei eine Rolle zu spielen (10-13).

1.1.4 Operativer Aortenklappenersatz

Patienten mit hochgradigen AS haben ohne AKE eine schlechte Lebensprognose, weshalb bei ihnen immer eine frühe Therapie angestrebt werden sollte. Sie profitieren von einem AKE durch eine verbesserte physische Lebensqualität, mehr Gesundheit und Vitalität. Schon milde Symptome stellen emotionale und physische Herausforderungen im alltäglichen Leben dar und schränkt die Lebensqualität deutlich ein (14). Die einzigen Ausnahmen, bei denen eine Intervention nicht empfohlen wird, sind Patienten mit ernsthaften Komorbiditäten, wodurch deren Lebensprognose < 1 Jahr liegt und Patienten im fortgeschrittenem Alter mit entsprechenden Komorbiditäten, bei denen eine Verbesserung der Lebensqualität und -prognose durch eine Intervention unwahrscheinlich ist (15). Laut Empfehlung der ESC Guidelines sollten Patienten mit symptomatischer AS und einem $p_{\text{mean}} > 40 \text{ mmHg}$ oder $V_{\text{max}} > 4,0 \text{ m/s}$ eine Intervention erhalten. Dabei sollten Patienten mit niedrigem Risiko primär operativ behandelt werden, solche mit hohem Risiko primär interventionell mittels Transkatheter-Verfahren, während bei Patienten mit intermediärem Risiko eine Abwägung zwischen den beiden Verfahren erfolgen sollte. Bei fehlender Symptomatik sollten hochgradige AS trotzdem eine invasive Therapie erfolgen, wenn die Flussbeschleunigung 5,5 m/s überschreitet oder eine hochgradige Verkalkung mit rascher hämodynamischer Progression vorliegt (1, 15, 16).

1.2 Echokardiographie

1.2.1 Diagnostik der AS

Die transthorakale Echokardiographie (TTE) ist der Goldstandard bei der Diagnostik der AS. Mit der TTE können nicht nur erhöhte maximale Flussgeschwindigkeiten ($v_{\max}$) über der Klappe und erhöhte mittlere sowie maximale Druckgradienten ($p_{\text{mean/peak}}$) erfasst werden, sondern es kann auch das Ausmaß der Kalzifizierung und die Größe der Klappenöffnungsfläche (KÖF) bzw. die *effective orifice area* (EOA) bestimmt werden. Diese Parameter werden dann genutzt, um eine AS zu klassifizieren. Weitere prognostische Parameter sind die Ejektionsfraktion (EF) und die linksventrikulären Diameter enddiastolisch (LVEDD) und endsystolisch (LVESD) sowie das Diameter des Septums (1). Langfristig bietet die TTE ein optimales Tool zur Beobachtung der hämodynamischen Progression der AS (17). Schwere AS sollten alle 6 - 12 Monate echokardiographisch reevaluiert werden. Bei moderaten AS kann dagegen eine Zeitspanne von 1 - 2 Jahren und bei milden AS von 3 - 5 Jahren bis zur nächsten Kontrolle gewartet werden (16).

Studien über den hämodynamischen Verlauf der AS haben gezeigt, dass der p_{mean} im Mittel um 8 mmHg und die $V_{\max}$ um rund 0,4 m/s pro Jahr steigt, wohingegen die KÖF im Mittel um 0,1 cm² sinkt (18-20).

1.2.2 Einteilung der AS

Die Quantifizierung der AS erfolgt mittels TTE anhand verschiedener Parameter, die in Tabelle 1.1 zusammengefasst sind (1, 16, 21).

Tabelle 1.1: Einteilung des Schweregrads einer AS

Parameter	Schweregrad					
	gering		mäßig		schwer	
	ESC ¹	AHA ²	ESC	AHA	ESC	AHA
$V_{\max}$ ³ (m/s)	2,6 - 2,9		3,0 - 4,0		> 4,0	
p_{mean} ⁴ (mmHg)	< 30	< 20	30 - 50	20 - 40	> 50	> 40
KÖF ⁵ (cm ²)	> 1,5		1,0 - 1,5		< 1,0	

¹European Society of Cardiology, ²American Heart Association, ³maximale Flussgeschwindigkeit, ⁴mittlerer transvalvulärer Druckgradient, ⁵Klappenöffnungsfläche

1.2.3 Prothesen-Patienten-Mismatch

Ein Prothesen-Patienten-Mismatch (PPM) liegt vor, wenn die KÖF einer implantierten Klappenprothese kleiner ist als die KÖF einer normalen Klappe (21), bzw. zu klein ist im Verhältnis zur Körperoberfläche (KOF), sodass erhöhte Druckgradienten bei einer normalen Klappenfunktion entstehen (22-24). Eine normale Aortenklappe hat einen Durchmesser von 3 - 4 cm² – eine Größe, die eine Prothese kaum erreichen kann. Durch die LV-Hypertrophie muss zudem oftmals eine zu kleine Prothese implantiert werden. Außerdem führen Kalzifizierung und Endothelialisierung der Prothese dazu, dass die KÖF mit der Zeit noch weiter abnimmt (21, 25).

Ein PPM ist ein häufiger aber modifizierbarer Risikofaktor für eine reduzierte Hämodynamik und einen eingeschränkten Rückgang einer LV-Hypertrophie. Zudem erhöht ein PPM das Risiko für das Auftreten von kardialen Komplikationen und ist mit einer kürzeren Überlebenszeit assoziiert (22). Risikofaktoren für das Auftreten eines PPM sind unter anderem hohes Alter, größere KOF und kleinere Prothesengröße (21, 24, 26).

Zur Berechnung eines PPM wird die *indexed effective orifice area* (EOAi) als Verhältnis zwischen Klappenöffnungsfläche und Körperoberfläche berechnet: $EOAi = KÖF / KOF$ (23, 24, 27). Ein PPM ist definitionsgemäß vorhanden, sobald $EOAi \leq 0,85$ ist. Bei einem $PPM \leq 0,85$ spricht man von einer moderaten PPM und ein $PPM \leq 0,65$ beschreibt eine schwere Form (22).

1.2.4 Scherstress

Durch die kalzifizierte und somit verengte Aortenklappe erfahren die Blutzellen hohe Scherkräfte (28, 29). Scherstress ist definiert als Verhältnis zwischen V_{max} und linksventrikulärer EF (LV-EF), also $V_{max} / LV-EF$. Bei Patienten mit schwerer AS ist der Scherstress signifikant höher als bei Gesunden (29).

1.3 Exosomen

1.3.1 Einordnung in die Familie der extrazellulären Vesikel

Eine interzelluläre Kommunikation ist essentiell für einen multizellulären Organismus. Diese Kommunikation kann durch direkten Zell-Zell-Kontakt, mithilfe von sezernierten Molekülen, oder durch interzellulären Transfer von extrazellulären Vesikeln (EVs) stattfinden (30).

In der Literatur sind zahlreiche Beschreibungen von EVs im Zusammenhang mit den verschiedensten Krankheiten beschrieben. Jedoch nutzen viele Autoren EVs als einen allgemeinen Überbegriff. Die Nomenklatur kann verwirrend sein (30). Zu diesen EVs zählen Apoptosekörperchen in der Größe von 1 – 4 μm , Mikropartikel (MPs) in der Größe von 100 – 1000 nm und die kleinsten der Familie:

Exosomen - 20-150 nm große, runde Vesikel (31).

In Abbildung 1.1 sind die drei Arten der EVs mit ihren jeweiligen Entstehungsmechanismen gegenübergestellt. Apoptosekörperchen, die beim kontrollierten Zelltod entstehen, können sowohl DNA als auch Zellorganellen in sich tragen. MPs entstehen durch Abschnürung aus der Plasmamembran der Mutterzelle, wodurch sie sowohl ihre Oberflächenproteine als auch ihren Zellinhalt behalten können (32, 33). Exosomen hingegen werden aktiv in den Extrazellulärraum sezerniert (34).

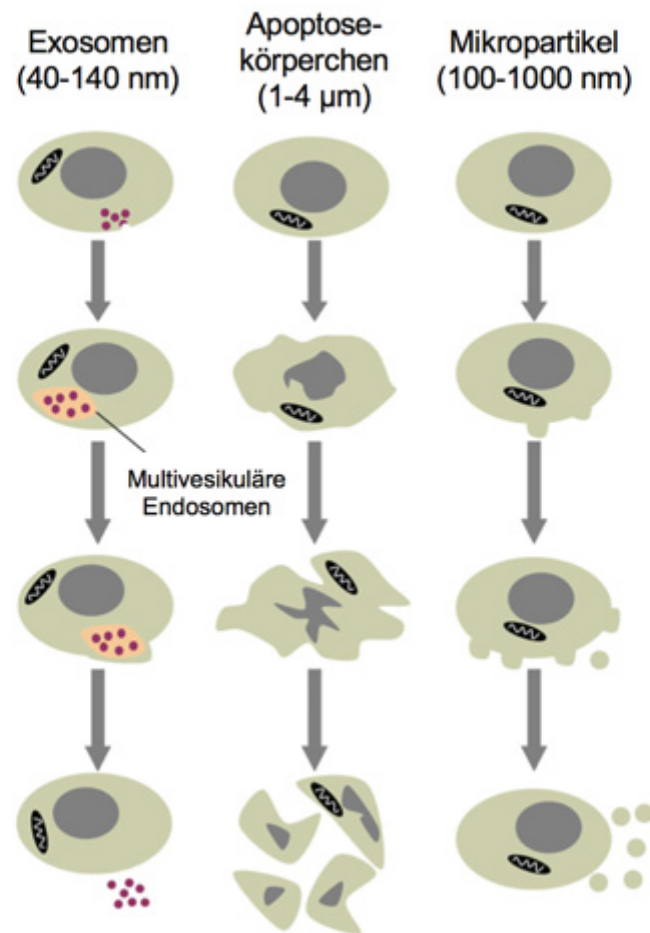


Abbildung 1.1: Arten der extrazellulären Vesikel.

Gegenübergestellt sind die Entstehungsmechanismen von Exosomen, Apoptosekörperchen und Mikropartikeln. Exosomen werden durch Fusionierung von Multivesikulären Endosomen (MVEs) mit der Plasmamembran in den Extrazellulären Raum sezerniert. Modifiziert nach Burger et al (34).

1.3.2 Entstehung und Freisetzung

Die meisten Körperflüssigkeiten wie Blut (35), bronchoalveoläre Flüssigkeiten (36), Pleuraergüssen (37), Aszites (38), Gallenflüssigkeit (39), Amnionflüssigkeit (40), Muttermilch (41), Speichel (42), Cerebrospinalflüssigkeit (43) und Urin (40, 44) beinhalten eine beträchtliche Menge an Exosomen oder Exosomen-ähnlichen EVs. Exosomen werden von diversen Zellarten in die Extrazellulärmatrix sezerniert. Der Proteininhalt der Exosomen ist abgestimmt auf Pathologien oder Stresssituationen (45). Anders als MVs, die direkt von der Plasmamembran der sezernierenden Zelle abgeschnürt werden, entstehen Exosomen zunächst in multivesikulären Endosomen (MVEs), bevor sie durch Fusionierung der MVEs mit der

Plasmamembran der sezernierenden Zelle in den Extrazellulärraum freigesetzt werden (30). Der genaue Vorgang der Entstehung und Freisetzung von Exosomen ist in Abbildung 1.2 schematisiert.

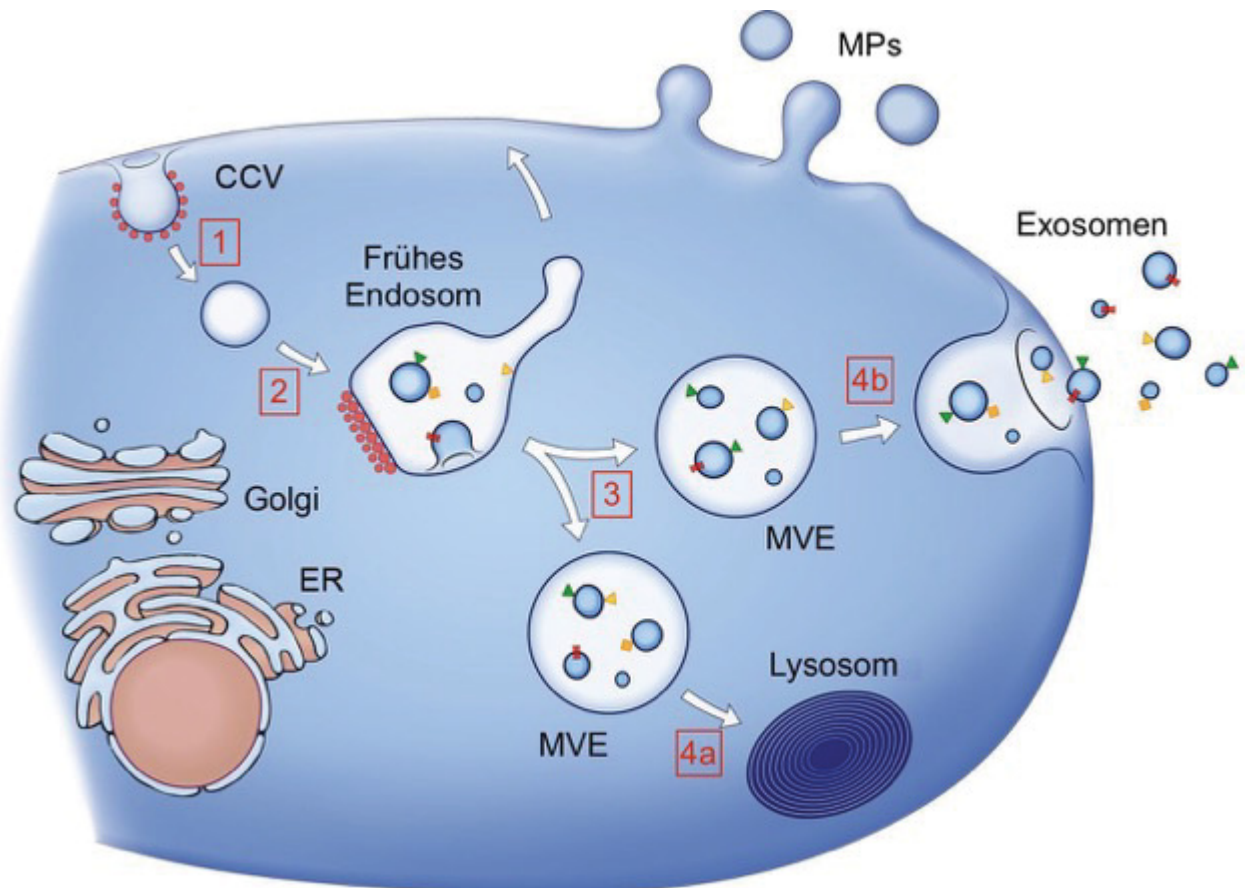


Abbildung 1.2: Entstehung und Freisetzung von Exosomen und MPs.

Dargestellt ist eine Zelle mit Golgi-Apparat und endoplasmatischen Retikulum (ER). MPs entstehen durch direktes Abschnüren von der Plasmamembran. Exosomen hingegen entstehen intrazellulär: 1) *Clathrin-coated vesicles* (CCV) schnüren sich von der Zellmembran nach innen ab. 2) Es entstehen frühe Endosomen. 3) Innerhalb der frühen Endosomen schnüren sich u.a. Exosomen nach innen ab. Dabei wird das frühe Endosom zum MVE. Von hier aus gibt es zwei Möglichkeiten. 4a) Einige MVEs fusionieren mit Lysosomen. 4b) Andere fusionieren mit der Zellmembran und geben so ihren Inhalt, inklusive der Exosomen, in den Extrazellulärraum ab. Modifiziert nach Raposo et al (30).

1.3.3 Funktion

Exosomen dienen neben anderen EVs als Transportmittel von Informationen in Form von RNA, Lipiden und Proteinen und ermöglichen so eines der meist genutzten interzellulären Kommunikationswege (30).

Die Funktionen der Exosomen sind vielfältig und reichen von lebenswichtigen Grundfunktionen wie der Entsorgung unbrauchbarer Proteine und der Antikoagulation bis zur Reaktion auf spezifische pathologische sowie physiologische Zustände wie der Mitbeteiligung an der Kardioprotektion nach Myokardinfarkt. Exosomen haben jedoch nicht nur protektive Eigenschaften, sondern werden bspw. auch von Krebszellen zur Immunsuppression sezerniert (46-48). Außerdem transportieren Exosomen unter anderem *messengerRNA* (mRNA) und *microRNA* (miRNA) (49), die bspw. im Rahmen der Kardioprotektion über Exosomen sezerniert werden (50). Je nachdem, von welcher Zellart die Exosomen sezerniert werden, haben sie diverse Aufgabenbereiche und werden daher als potentielle Biomarker diskutiert (51, 52).

1.3.4 Oberflächenmarker und Inhalt

Exosomen haben eine Vielzahl von Oberflächenproteinen, die es ihnen ermöglichen an den verschiedensten Zellarten festzuhalten, um dort ihre Wirkung freizusetzen (53). Dazu zählen u.a. die Oberflächenproteine Tetraspanine, die in der Zellmembran durch vier Transmembrandomänen verankert sind. Diverse Tetraspanine wie CD9 (54), CD37, CD53, CD63, CD81, und CD82 wurden auf der Exosomenoberfläche beschrieben (55, 56). Außerdem sind die *heat-shock*-Proteine HSP27, HSP70 und HSP90 im Lumen der Exosomen detektiert worden (57). Weitere intrazelluläre Proteine, die Exosomen charakterisieren, sind ALIX und TSG101 (58).

1.3.5 Nanoparticle Tracking Analysis

Die *Nanoparticle Tracking Analysis* (NTA) bestimmt Größe und Konzentration von Partikeln. Mithilfe des ZetaViews (Particle Metrix GmbH, Meerbusch, Deutschland) werden Partikel von einem Laser bestrahlt, wodurch es zu einer Streuung des Lichts kommt. Diese Lichtstreuung wird bei der Videoanalyse durch die ZetaView Software genutzt, um die Konzentration der Partikel zu bestimmen. Die Brownsche Molekularbewegung besagt, dass sich die Diffusion von Partikeln in einer flüssigen Suspension antiproportional zu der Größe der Partikel verhält (59). Durch Bestimmung der Diffusionskonstante der einzelnen Partikel und Anwendung der Stokes-Einstein-Gleichung kann daher die Partikelgröße berechnet werden. In

dieser Gleichung ist D der Diffusionskoeffizient, k die Boltzmann-Konstante, T die Temperatur, η die Viskosität und r der Partikelradius.

$$D = \frac{kT}{6\pi\eta r}$$

Das ZetaView besteht aus einem Mikroskop mit einer Videokamera, einem Laser und einer länglichen, gefensterten Zelle, in der flüssige Suspension mit den Partikeln eingespritzt werden. Das Mikroskop ist horizontal in Richtung des Zellkanals ausgerichtet. Der Laserstrahl trifft vertikal dazu durch die gefensterte Zelle auf die Partikel, die das Licht streuen. Diese Bewegungen werden von der Videokamera aufgezeichnet (Abbildung 1.3). Dieses semiautomatische Verfahren ermöglicht eine konstant reproduzierbare Art der Exosomen-Charakterisierung (59).

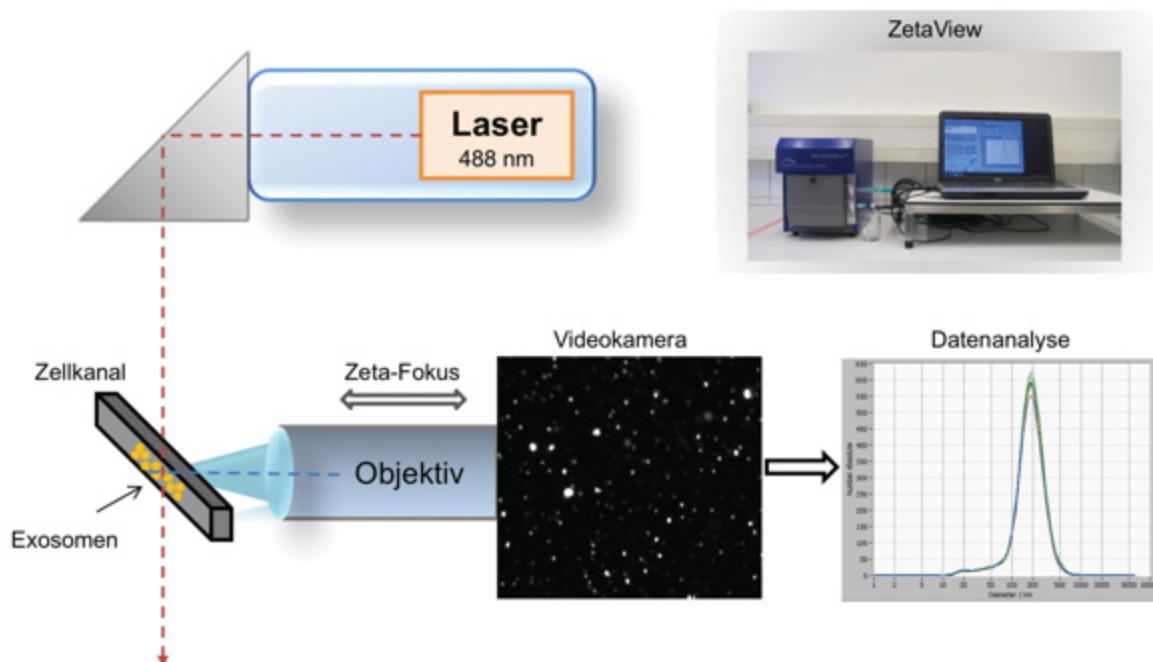


Abbildung 1.3: Prinzip des ZetaViews.

Der Laser wird um 90° reflektiert und trifft orthogonal auf den Zellkanal. Die Videokamera ist ebenfalls orthogonal zum Zellkanal ausgerichtet und nimmt die Bewegung von Exosomen auf.

1.3.6 Rolle von Exosomen in der kardiovaskulären Medizin

Zu den extrazellulären Vesikeln (EVs) zählen Exosomen, Apoptosekörperchen und Mikropartikel (MPs) (34). Während Exosomen noch größtenteils ungenügend erforscht sind, finden MPs in den letzten Jahren zunehmend Berücksichtigung in der kardiovaskulären Forschung. Sie werden bereits als wichtige Mediatoren in der

Pathophysiologie der kardiovaskulären Erkrankungen beschrieben und als in-vivo Marker für Inflammation und Gefäßschädigung in Betracht gezogen (29). Zudem erhöht sich die Zahl der zirkulierenden MPs sowohl bei Patienten mit AS (29) als auch bei Patienten mit Herzinsuffizienz (60). Außerdem können MPs als ein Maß für die Gerinnungsaktivität gesehen werden, weil Thrombozyten bei Patienten mit AS mehr MPs abschnüren. Patienten mit schweren AS haben ein signifikant höheres Level an prothrombotischen und proinflammatorischen MPs (29).

Während MPs weitaus häufiger beschrieben sind, gibt es noch wenig Erkenntnisse über Exosomen bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen. Dabei haben wenige Studien bereits die Relevanz der Exosomen verdeutlicht. Beispielsweise werden die vaskulären Reparaturmechanismen mitunter von Exosomen getriggert (61). In anderen Fachrichtungen spielen Exosomen bereits eine wesentliche Rolle. So wurden in der Hepatologie die Exosomen schon als potentielle diagnostische Marker beschrieben. Bei Alkoholgenuss erhöht sich die Exosomenanzahl, sodass Patienten mit alkoholbedingter Fettleber signifikant mehr Exosomen sezernieren als Patienten ohne Leberschaden. Außerdem korreliert der Blutparameter Alanin-Aminotransferase (ALT) signifikant mit der Anzahl der Exosomen (62).

1.4 Fragestellung

In der kardiovaskulären Chirurgie sind kaum Arbeiten zum Thema Exosomen zu finden, obwohl den Exosomen generell in den letzten Jahren immer mehr Aufmerksamkeit geschenkt wurde.

Ziel dieser Arbeit ist es, das Verhalten von Exosomen bei Patienten mit AS zu beobachten und in Relation zu demographischen und hämodynamischen Daten zu setzen, um möglicherweise einen Ansatz für ein neues diagnostisches Kriterium für diese Patienten zu finden.

Im Rahmen dieser Studie wird die Hypothese aufgestellt, dass sowohl die präoperative Ausprägung der AS als auch das postoperative *Outcome* der AKE mit einer Veränderung der Exosomenzahl assoziiert sein könnte.

Da es kaum Literatur über Exosomen in Bezug auf Patienten mit AS gibt, wurden im Rahmen der vorliegenden Arbeit die Exosomenzahlen von Patienten mit AS vor und nach AKE untersucht. Mögliche Korrelationen von demographischen und echokardiographischen Parametern mit der Anzahl der Exosomen wurden analysiert.

2 Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Geräte und Gebrauchswaren

Zentrifuge 5804 R	Eppendorf AG, Hamburg, DE
ZetaView	Particle Metrix GmbH, Meerbusch, DE
Reagenzglasschüttler Reax 2000	Heidolph, Schwabach, DE
Sprout Minizentrifuge	Biozym Scientific GmbH, Hessisch Oldendorf, DE
Vacutainer Butterfly	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA
Vacutainer Blutröhrchen	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA
Vacutainer Einmal-Halter	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA
Spritzen	B. Braun Medical AG, Sombach-Station, Schweiz
Safe-Lock Tubes	Eppendorf AG, Hamburg, DE
Falcons	Sarstedt AG & Co, Nümbrecht; DE
Ultraschallgerät GE Vivid S5/S6	GE Healthcare Company, Little Chalfont, Großbritannien
GE Amersham Imager 600	GE Healthcare Company, Little Chalfont, Großbritannien

2.1.2 Chemikalien

ExoQuick Precipitation Solution	System Biosciences (SBI), Palo Alto, USA
Ampuwa Spüllösung	Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, DE
Daily Check Suspension	Particle Metrix GmbH, Meerbusch, DE
2-Propanol (Isopropanol)	Emsure Merck Chemicals GmbH, Darmstadt, DE
40% Acrylamide	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, DE
Ammonium persulfate (APS)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
Bromophenol blue	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
Complete Tablets, Mini EASYpack	Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzh-Wyhlen, DE
DC Protein Assay	Bio-Rad, Hercules, USA
DL-Dithiothreitol (DTT)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
DPBS	BioFroxx GmbH, Einhausen, DE

Glycerol	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
Glycin	Serva Electrophoresis GmbH, Heidelberg, DE
Methanol	VWR BDR Prolabo, Darmstadt, DE
NaCl	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, DE
PageRuler Plus Prestained Protein Ladder	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
PhosSTOP EASYpack	Roche Deutschland Holding GmbH, Grenzh-Wyhlen, DE
Pierce Western Blot Transfer Buffer, 10X	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
Protein standard (BSA 1 mg/ml)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
PVDF Blotting Membrane 0,45 µm	GE Healthcare Life Science, Freiburg, DE
RIPA Puffer	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
Rotilabo-Blottingpapiere 580x600 mm	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, DE
SDS Pellets	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, DE
Skim Milk Powder	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
SuperSignal West Femto Maximum Sensivity Substrate	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
TEMED	Bio-Rad, Hercules, USA
Tris base	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München, DE
Tris-Glycine SDS Buffer 10X (Laufpuffer 10X)	Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, USA
Tween	Calbiochem, San Diego, USA

2.1.3 Puffer und Lösungen

Tris / HCl (1,5 M)	Tris-Base Ad 100 ml H ₂ O _{dd} pH 8,8	18,8 g
Tris / HCl (0,5 M)	Tris-Base Ad 100 ml H ₂ O _{dd} pH 6,8	6,1 g
SDS 10 %	SDS pellets	10 %

APS 10 %	APS	10 %
TBS (10x)	H ₂ O _{dd} Tris-Base	
TBS-T (1x)	TBS (1x) Tween-20	200 ml 0,6 ml
Blocking-Puffer	TBS-T (1x) Magermilchpulver	100 ml 5 g
Laemmli-Ladepuffer (2x)	Tris-HCL pH 6,8 Glycerin SDS Bromphenolblau Dithiothreitol (DDT)	65,8 mM 26,3 % 2,1 % 0,01 % 200 mM

2.2 Studiendesign

2.2.1 Studienart

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine deskriptiv angelegte, prospektive, monozentrische, nicht-randomisierte Studie mit 204 Patienten, die am Universitätsklinikum Düsseldorf (UKD) im Zeitraum von Juni 2015 bis September 2016 einen chirurgischen AKE erhalten haben. Von den 204 Patienten haben 83 (40,69 %) Patienten einen AKE ohne weitere Maßnahmen, wie Bypass-OP oder Ascendensersatz, erhalten. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich auf diese Kohorte der 83 Patienten mit isoliertem AKE.

2.2.2 Untersuchungszeitpunkte

Es gab fünf festgelegte Untersuchungszeitpunkte (Tabelle 2.1). Die Patienten hatten vier Untersuchungen während ihres Krankenhausaufenthaltes im Rahmen des elektiven AKEs. Zudem wurde nach drei Monaten ein Follow-up durchgeführt.

Tabelle 2.1: Untersuchungszeitpunkte.

- U1** Aufnahmetag
- U2** Unmittelbar präoperativ
- U3** 24h postoperativ
- U4** 7 Tage postoperativ
- U5** 3 Monate postoperativ (Follow-up)

Der regelhafte Krankenhausaufenthalt eines Patienten begann mit der Aufnahme auf die kardiochirurgische Normalstation. Nach schriftlicher Einwilligung in Operation und Studie erfolgte neben standardmäßigen auch studienspezifische Blutentnahmen. Zudem wurde die präoperative TTE durch Erhebung von zusätzlichen studienspezifischen Daten erweitert. In der Regel erfolgte die Operation am Folgetag. In der Einleitung wurde das Studienblut direkt nach Legen der zentralvenösen Zugänge abgenommen. Am Morgen nach der OP erfolgte die dritte Blutentnahme auf Intensivstation. Nach Verlegung auf Normalstation konnte der Patient frühestens sieben Tage postoperativ entlassen werden. Vor Entlassung erfolgte eine weitere TTE und die vierte Blutentnahme. Nach drei Monaten wurden die Patienten zu einer Follow-up-Untersuchung eingeladen, an der schließlich die letzte Blutentnahme und die letzte TTE stattfanden.

2.3 Patientenkollektiv

In der vorliegenden Studie wurden alle Patienten mit hämodynamisch signifikanter AS, die für einen konventionellen AKE am Universitätsklinikum Düsseldorf zwischen Juni 2015 und September 2016 geplant waren auf die Ein- und Ausschlusskriterien (Tabelle 2.2) der Studie überprüft.

Tabelle 2.2: Ein- und Ausschlusskriterien.

Einschlusskriterien	
Schriftliche Einwilligung des Patienten zur Teilnahme an dieser Studie	
Alter ≥ 18 Jahre	
Hämodynamisch signifikante Aortenklappenstenose ad Ersatz	
Ausschlusskriterien	
Primäre	Sekundäre
Höhergradiges Klappenvitium ($> II^\circ$) anderer Klappen als der Aortenklappe	Aktive maligne Erkrankung
Z.n. Myokardinfarkt innerhalb der letzten 30 Tage	Thromboembolische Ereignisse innerhalb der letzten 6 Monate (unabhängig von Quelle)
Peripher arterielle Verschlusskrankheit ($> \text{Stadium IIb}$ nach Fontaine)	Autoimmunerkrankung
Schwere Einschränkung der LV ¹ -Funktion ($EF^2 < 30\%$)	Entzündungsprozesse
	Dialyse

¹Linksventrikuläre, ²Ejektionsfraktion

Nach Abwägung der Ein- und Ausschlusskriterien willigten insgesamt 204 Patienten ein und wurden in die Studie aufgenommen. Davon traf auf 34 Patienten (16,67 %) entweder im Nachhinein ein Ausschlusskriterium zu oder sie wurden aufgrund von aktuellen diagnostischen oder auch sonstigen Anlässen abweichend vom ursprünglich geplanten Plan eines AKE behandelt. 170 Patienten (83,33 %) erhielten die geplante AKE und sind Teil der vorliegenden Studie.

2.4 Ethikvotum

Das Ethikvotum wurde am 04.09.2012 durch die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf unter der Studiennummer 3881 mit einem positiven Votum bewertet. Die Teilnahme an der Studie hatte keine Auswirkung auf die Wahl der Klappenprothese.

Geeignete Patienten wurden bei Aufnahmetag über die Studie informiert. Nach mündlicher und schriftlicher Einwilligung zur Teilnahme an der Studie wurden die Patienten auf ihren Krankenhausakten als Studienpatienten kenntlich gemacht. Eine Kopie der Aufklärung befindet sich im Anhang.

2.5 Datenerhebung

2.5.1 Blutentnahmen

Die Blutentnahmen erfolgten stets möglichst protokollkonform in einer fest definierten Reihenfolge, die in Tabelle 2.3 zusammengefasst ist. Wenn es Protokollabweichungen gab, so wurden diese auf den Blutentnahmeprotokollbögen aus den *case report forms* (CRFs) schriftlich festgehalten. Die Blutentnahmen an U1, U4 und U5 wurden über sog. *Butterfly* der Nadelgröße 21 G abgenommen. An U2 und U3 erfolgten die Blutentnahmen über eine Schleuse mit 8,5 Fr (Arrow International, Hamburg, Deutschland).

Tabelle 2.3: Blutentnahmeprotokoll.

1. Stauen
2. 20 s warten
3. Nadel legen
4. Stau lösen
5. 30 s warten
6. Erneut stauen
7. 10 s warten
8. die ersten 1 - 2 ml verwerfen
9. Blutentnahme in folgender Reihenfolge: a) Serum (5 ml) b) Citrat (2,7 ml) c) Heparin (3 ml) d) EDTA ¹ (6 ml)
10. Stau lösen

¹*ethylene diamine tetraacetic acid*

Alle Blutröhrchen wurden im Anschluss an die Entnahme bei 4 °C, 1700g 15 min lang zentrifugiert. Die Proben, die zur Exosomenquantifizierung dienten, wurden direkt weiterverarbeitet. Rückstellproben wurde bei -80 °C gelagert.

2.5.2 Dokumentation

Alle vorliegenden Daten wurden mittels standardisierter Fragebögen erhoben oder aus internen Softwares ermittelt und sofort schriftlich in den studienspezifischen

CRFs dokumentiert und schließlich in Studienmasken in Excel 2016, Microsoft Corporation organisiert.

Präoperativ und im Drei-Monate-Follow-up wurden die Patienten jeweils mittels standardisierter Aufnahmebögen anamnestisch befragt. Zu allen fünf definierten Zeitpunkten wurden Laborwerte durch die Software Medico erfasst. Zusätzlich sind Patientenakten herangezogen worden. Informationen über den herzchirurgischen Eingriff wurden direkt am Tag der OP vom Operateur übermittelt. Wenn Patienten zur Zeit des Follow-ups nicht zur angebotenen Untersuchung kommen konnten, wurden echokardiographischen Daten beim behandelnden niedergelassenen Kardiologen und Laborwerte beim Hausarzt erfragt. In diesen Fällen wurde der Anamnesebogen telefonisch erhoben.

Die Follow-up Daten waren bei 180 von 204 Patienten (88,24 %) komplett. Für die nachfolgenden Analysen wurden nur Patienten miteingeschlossen, deren Daten zu allen fünf Zeitpunkten komplett waren.

2.5.3 Echokardiographische Daten

An U1, U4 und U5 bekam jeder Patient eine TTE. Doppler-Messungen von Aorta und LV wurden nach heutigen Empfehlungen durchgeführt. Diese wurden von einem Facharzt des Echokardiographie-Labors der Klinik für Herzchirurgie am UKD unter Berücksichtigung aktueller Standards (GE Vivid S5 oder S6) durchgeführt. Dabei wurden die in Tabelle 2.4 beschriebenen Parameter erhoben.

Tabelle 2.4: Parameter der TTEs.

Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter (LVEDD)	mm
Linksventrikulärer endsystolischer Diameter (LVESD)	mm
Enddiastolische Diameter (EDD) Septum	mm
EDD Vorderwand	mm
EDD Hinterwand	mm
Mittlerer transvalvulärer Druckgradient (P_{mean})	mmHg
Maximaler transvalvulärer Druckgradient (P_{max})	mmHg
Effektive Öffnungsfläche (EOA)	cm ²
Klappenöffnungsfläche (KÖF)	cm ²
Maximale Geschwindigkeit (V_{max})	m/s
V_{max} im Linksventrikulären Ausflusstrakt (LVOT)	m/s
Aortenklappeninsuffizienz (AI)	Gradeinteilung: 0-IV Typ: zentral/ paravalvulär/ kombiniert

Bei manchen Patienten konnten aufgrund von schlechten Schallbedingungen, wie Adipositas oder störenden Pflastern und Kathetern, nicht alle Parameter erhoben werden. Wenn der Patient nicht zum Follow-up erschienen war, wurden fehlende Werte von niedergelassenen weiterbehandelnden Kardiologen bezogen.

2.6 Exosomen

2.6.1 Exosomen Isolation

Die Exosomen wurden mittels ExoQuick (System Biosciences, Palo Alto, USA) nach Herstellerinformation isoliert (Abbildung 2.1). Alle Zentrifugationsschritte erfolgten bei 4° C. Nach der Blutentnahme wurde das Röhrchen bei 1700g 15 min lang zentrifugiert. 300 ml des Serums wurden erneut bei 3000g für 15 min zentrifugiert. Danach kamen auf 250 µl Serum 63 µl ExoQuick, die dann 30 min auf Eis inkubiert und anschließend bei 1500 g 30 min lang zentrifugiert wurden. Das Pellet wurde nach einer letzten Zentrifugation bei 1500 g für 5 min komplett von Überstand befreit und dann in 30 µl Ampuwa (Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) Wasser aufgelöst. In zwei Schritten wurde eine Verdünnung von 1:250.000 erreicht.

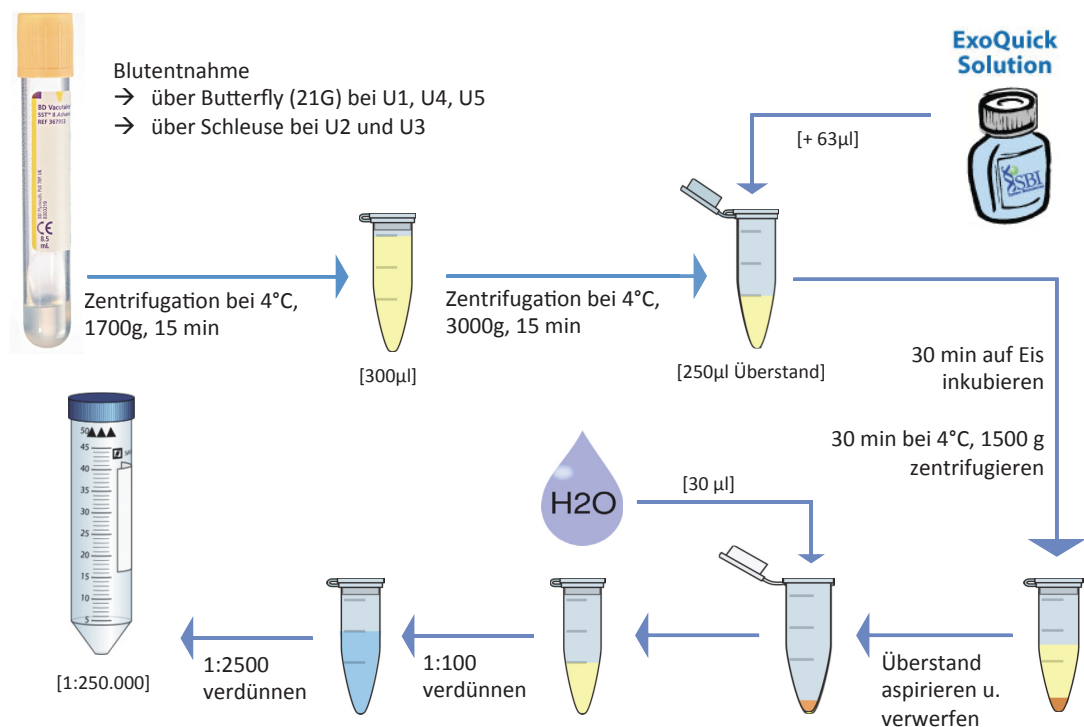


Abbildung 2.1: Schritte der Exosomenisolation.

Die Isolation der Exosomen erfolgte mit ExoQuick nach Herstellerinformationen. Schließlich wurde die Probe auf 1:250.000 verdünnt, damit eine messbare Konzentration erreicht wurde.

2.6.2 Exosomen-Messung

Die NTA wurde mit einem ZetaView (Particle Metrix GmbH, Meerbusch, Deutschland) und der zugehörigen Software (ZetaView 8.02.30.02) durchgeführt. Es wurde ausschließlich die Zelle mit der Nummer „Z158_C1149_cell0014“ verwendet. Vor jeder Messung wurde überprüft, ob die Grundeinstellungen in Tabelle 2.5 und Abbildung 2.2 gegeben waren.

Tabelle 2.5: Grundeinstellungen Zeta View.

Parameter	Wert
Sensitivität	70
Verschluss	70
Verdünnung	250000
Minimale Helligkeit	20
Maximale Größe	500
Minimale Größe	20
Spannung	OFF

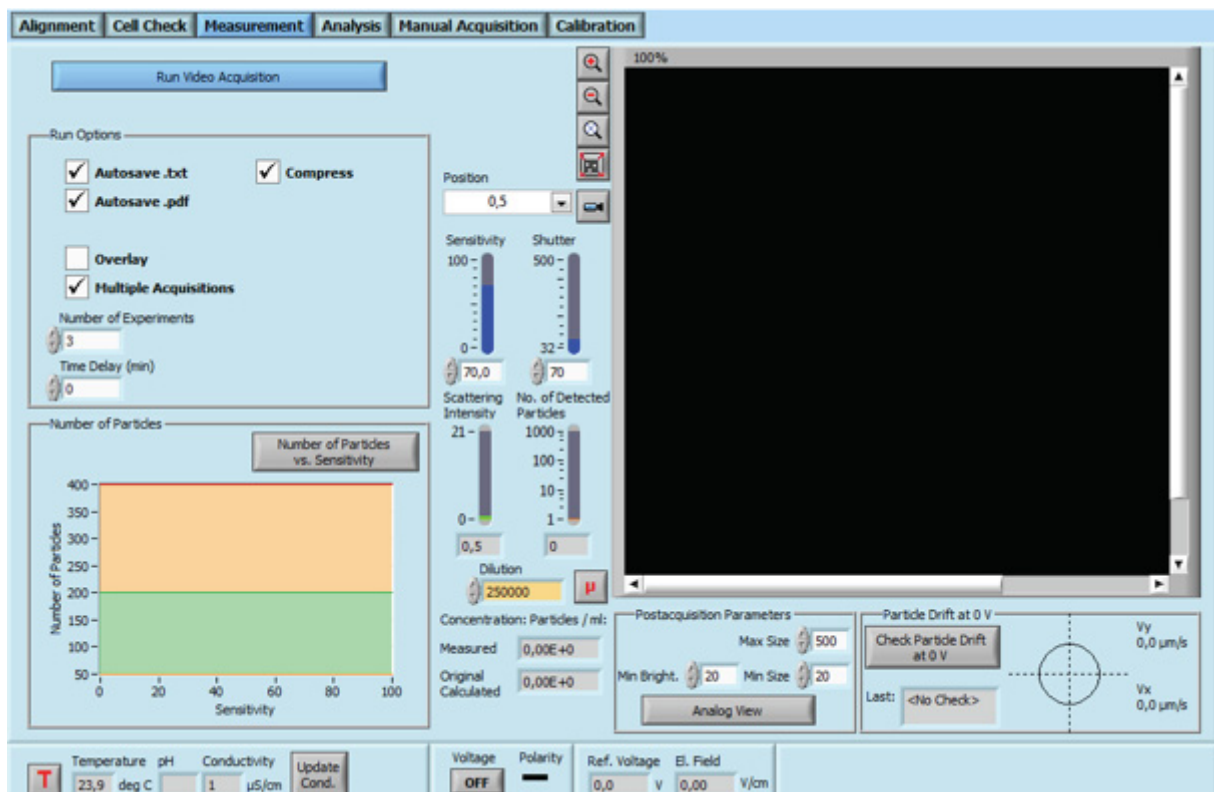


Abbildung 2.2: Grundeinstellungen.

In dem schwarzen Quadrat in der rechten Bildschirmhälfte ist ein Live-Bild der ausgewählten Zellposition zu sehen (hier: Position 0,5). Die zwei Balken, die Streuungsintensität und Anzahl der detektierten Partikel anzeigen, sollten sich im für optimale Messbedingungen im grünen Bereich bewegen.

Nach Applikation jeder Probe wurde vor der Messung mittels „Check Particle Drift at 0 V“ die aktuelle Geschwindigkeit getestet und ein *particle drift* von weniger als 30 µm/s abgewartet, um eine valide Messung durchführen zu können.

Jede Messung erfolgte mit drei Wiederholungen („*Number of Experiments*“) und jeweils zehn Zyklen („*# Cycles*“), in denen auf allen elf Positionen („*Positions 11*“) mit einer langsamen Aufnahmegeschwindigkeit („*Low*“) die Messgröße („*Size*“) analysiert wurde (Abbildung 2.3).

The screenshot shows the 'Experiment Parameters' tab of the ZetaView software. The 'Experiment ID' is '20161121_0000' and the 'Custom Entry' is 'Exo'. The 'Path' is 'C:\Users\UK Düsseldorf\Desktop\Shining, Letizia\P162\U5\Exo\20161121_0000_Exo_size_000.avi'. Under 'Sample Information', 'Autosave .txt' and 'Autosave .pdf' are checked, 'Compress' is checked, 'Overlay' is unchecked, and 'Multiple Acquisitions' is checked. The 'Number of Experiments' is set to 3 and 'Time Delay (min)' is 0. Under 'Experiment Type', 'Zetapot.' is selected with a red icon, 'Size' is selected with a green icon, 'Positions' are 11, 2, and 1, '# Cycles' is 10, and 'Low Medium High' is selected with a green icon. The 'Remarks' field is empty. 'OK' and 'Cancel' buttons are at the bottom right.

Abbildung 2.3: Messeinstellungen.

Die ZetaView Software analysiert nach Herausrechnen von Ausreißern Mittelwert, Standardabweichung (SD), relative SD, die Anzahl und den Durchmesser der Partikel, sowie anderen Parametern wie Konzentration, Anzahl der verfolgten Partikel, Median-Durchmesser und Drift.

Da mit der Zeit, z.B. durch mechanische Einwirkungen auf die Arbeitsfläche, die Exosomen im Live-Bild nicht mehr scharf abgebildet wurden, musste bei Bedarf eine

manuelle Fokussierung durchgeführt werden, um möglichst alle Exosomen zu erfassen (Abbildung 2.4).

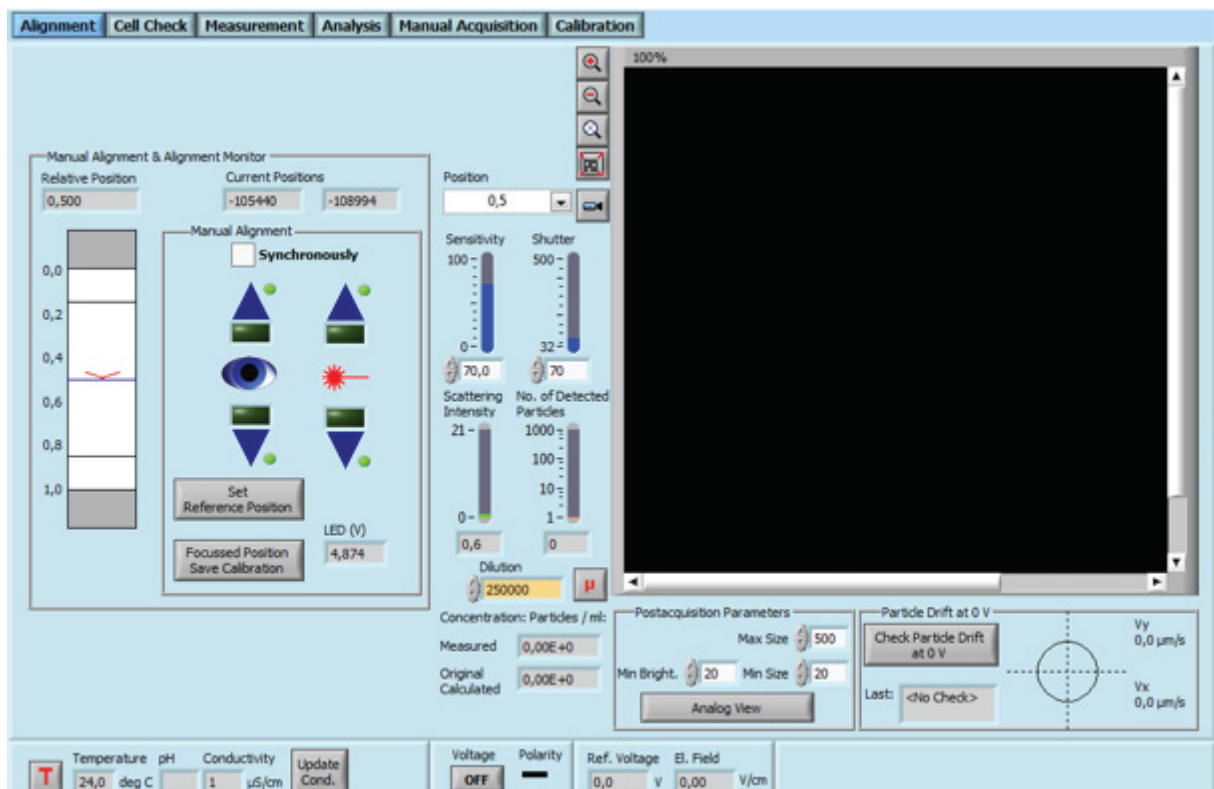


Abbildung 2.4: Manuelle Fokussierung.

Mit den vier blauen Pfeilen konnte die Kamera optimal auf die Exosomen fokussiert werden, bis die Exosomen als runde, scharf begrenzte, weiße Punkte erfasst waren. Anschließend wurde die eingestellte Position der Kamera für die weiteren Messungen gespeichert.

2.6.3 Exosomencharakterisierung

Da die NTA nicht zwischen Exosomen und anderen Partikeln unterschied, sondern alle Partikel einer Probe analysierte, wurden SDS-Page, Western Blot und elektronenmikroskopische Bilder der Proben zur Hilfe genommen, um die gemessenen Partikel als Exosomen zu identifizieren.

Probenvorbereitung

Die Exosomen wurde nach Protokoll (2.6.1) isoliert. Im letzten Schritt wurden die Exosomen in RIPA-Puffer (plus Phosphostop und Complete Mini) gelöst. Anschließend wurden sie im Ultraschallbad sonifiziert. Dann wurden sie für 15 min bei 4°C 12000g zentrifugiert. Der Überstand wurde in neue Reaktionsgefäße pipettiert. Die Proben wurden 1:50 verdünnt. Dann wurde der Proteingehalt mittels

DC-Protein-Assay nach Herstellerangaben bestimmt. Im Anschluss daran wurde die Proben mit Laemmli Ladepuffer (2x, 2.1.3) auf eine finale Konzentration von 2 µg/µl verdünnt, 5 min auf 95°C erhitzt und vor Verwendung auf Raumtemperatur (RT) abgekühlt.

SDS-Page

Um Proteine entsprechend ihrer spezifischen Molekulargewichte aufzutrennen, wurden Natriumdodecylsulfat-Polyacrylamid-Gelelektrophoresen (SDS-PAGEs) zur Hilfe genommen. Das Trennmedium bestand aus einem weitporigen Sammelgel (4 % Acrylamid/Bisacrylamid) und einem engporigen Trenngel (10 % Acrylamid/Bisacrylamid) (ung für 70 min auf 150 V erhöht.

Tabelle 2.6). Als Laufpuffer für die Elektrophorese diente ein kombiniertes Tris-Glycin System (63-65). Das fertige Gel wurde in eine vertikale Gelkammer gestellt und mit SDS-Laufpuffer (1x) überschichtet. Anschließend wurden 20 µl der Probe aufgetragen. Außerdem wurde ein Molekulargewichtsstandard (5 µl; Molekular Marker Kaleidoscope Prestained Standards) mitgeführt. Zunächst wurde für 15 min eine konstante Spannung von 60 V eingestellt, bis die Laufront ins Trenngel eingetreten war. Dann wurde die Spannung für 70 min auf 150 V erhöht.

Tabelle 2.6: Zusammensetzung der Gele.

	Für zwei Trenngele (10 % Acrylamid)	Für zwei Sammelgele (4 % Acrylamid)
kDa	30-200	-
ddH ₂ O ¹ (ml)	9,6	6,3
0.5M Tris pH 6,8 (ml)	-	2,5
1.5M Tris pH 8,8 (ml)	5,0	-
40 % Acrylamide (ml)	5,0	1,0
10 % SDS ² (µl)	200	100
TEMED ³ (µl)	40	20
10 % APS ⁴ (µl)	200	100

¹doppelt destilliertes Wasser, ²Sodiumdodecylsulfat, ³ Tetramethylethylendiamin, ⁴Amoniumpersulfat

Western Blot

Im Anschluss an die SDS-Page erfolgte der Western Blot. Dafür wurde ein senkrecht zum Polyacrylamid-Gel gerichtetes elektrisches Feld angelegt, wodurch die Proteine aus dem Trenngel auf eine Polyvinylidenfluorid (PVDF)-Membran wandern konnten. Das ursprünglich im Gel erhaltene Trennmuster der Proteine blieb nach der Übertragung erhalten, so dass eine exakte Kopie des Gels entstand. Dadurch dass die Proteine an der Oberfläche der Membran hafteten, waren sie für weitere Methoden, wie eine Antikörper-Detektion zugänglich (64, 65). Zunächst wurde die PVDF-Membran (6,5 x 8,5 cm) in Methanol aktiviert. Anschließend wurden zwei Filterpapiere und die Membran in Laufpuffer getränkt. Das Gel und die Membran wurden zwischen die zwei Filterpapiere positioniert und die dabei entstandenen Luftblasen wurden mithilfe eines Stabes entfernt. Anschließend wurde der Blotting-Stapel in einem Tank mit Laufpuffer befestigt. Schließlich erfolgte der Transfer der Proteine bei einer konstanten Stromstärke von 70 V für 60 min. Im Anschluss an den Blot-Vorgang erfolgte die Immundetektion.

Immundetektion

Nach dem Blot-Vorgang wurde die Membran in ein Falcon überführt. Anschließend wurden 5 ml Blockierlösung hinzugegeben und dann für 60 min bei RT inkubiert, um freie Bindungsstellen der Membran zu blockieren. Im Anschluss daran erfolgte die Inkubation mit den entsprechenden Primärantikörpern (

Tabelle 2.7) rotierend bei 4°C. Im Anschluss daran wurde die Membran dreimal mit jeweils 10 ml TBS-T für 5 min gewaschen und für 60 min bei RT rotierend inkubiert. Nach erneutem dreimaligem Waschen mit TBS-T wurde die Membran bis zur Detektion in TBS-T gelagert. Die Detektion erfolgte mittels SuperSignal West Femto Maximum Sensivity Substrate an einem Amersham Imager, GE Healthcare.

Tabelle 2.7: Verwendete Antikörper und eingesetzte Konzentrationen.

	Antikörper	Firma	Verdünnung
1. Primärantikörper	CD63	Santa Cruz Biotechnology, Dallas, USA	1:500
2. Primärantikörper	CD9	SBI, Palo Alto, USA	1:1000
3. Primärantikörper	HSP70	SBI, Palo Alto, USA	1:1000
Sekundärantikörper	Goat anti- Rabbit IgG- HRP	SBI, Palo Alto, USA	1:10.000

Elektronenmikroskopie

Elektronenmikroskopische Bilder der verdünnten Exosomenproben wurden freundlicherweise von Herrn Dr. Andreas Barbian vom Institut für Anatomie angefertigt und zur Verfügung gestellt.

2.7 Statistik

Die statistische Auswertung wurde mithilfe der GraphPad Prism Software Version 6.0 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA) und Excel 2016 (Microsoft Corporation) durchgeführt.

Die Verlaufsanalysen der Exosomen sind als Box-Whisker-Plots dargestellt. Bei diesen sind die Ergebnisse als Median mit Minimal- und Maximalwert abgebildet. Der Zusammenhang zwischen der Exosomenzahl und dem Geschlecht wurde durch ein Säulendiagramm mit Mittelwerten $\pm$ SEM (Standardfehler) dargestellt. Zur Analyse des Einflusses von präoperativen Druckgradienten auf die Anzahl der Exosomen wurden *superimposed scatter plots* verwendet.

Alle anderen Beziehungen zur Anzahl der Exosomen, wie Alter, BMI, $V_{\max}$, $p_{\max}$, p_{mean} , EOA, Scherstress und PPM wurden jeweils in Streudiagrammen visualisiert. Dabei angegeben sind jeweils die Regressionsgeraden. Die statistischen Analysen wurde mittels Varianzanalyse (Anova) mit *Turkey-Post-Hoc-Test* durchgeführt.

Werte von $p \leq 0,05$ (*) wurden als statistisch signifikant, Werte von $p \leq 0,01$ (**) als sehr signifikant, Werte von $p \leq 0,001$ (***) als hoch signifikant und Werte von $p \leq 0,0001$ (****) als höchst signifikant definiert. Alle p-Werte $> 0,05$ wurden als statistisch nicht signifikant (n.s.) bezeichnet.

3 Ergebnisse

3.1 Studie

3.1.1 Studienverlauf

Im Zeitraum zwischen Juni 2015 und September 2016 wurden am Universitätsklinikum Düsseldorf insgesamt 250 Patienten zum konventionellen AKE zugewiesen. Davon erfüllten 204 (81,6 %) Patienten die Ein- und Ausschlusskriterien und erteilten die schriftliche Einwilligung zur Aufnahme in die Studie. Von den 204 Patienten wurden 34 (16,67 %) Patienten sekundär ausgeschlossen. Gründe dafür waren eine später festgestellte höhergradige AI, ein zusätzlicher Ascendensersatz, die Entscheidung zu einer TAVI, einer Infektion mit einem Hepatitis-Virus, eine Endokarditis, ein persistierendes Foramen Ovale (PFO), eine Trikuspidalklappenrekonstruktion (TKR) oder ein kürzlich zurückliegender Intensivaufenthalt (innerhalb der letzten 3 Monate). In der Studie blieben 170 (83,33 %) Patienten, die einen konventionellen AKE erhielten. Davon sind sechs (3,53 %) Patienten während der Studienzeit verstorben und bei 18 (10,59 %) Patienten konnten nicht sämtliche Datenpunkte erhoben werden. Aus den insgesamt 204 Studienpatienten blieben schließlich 146 (71,57 %) Patienten mit vollständigem Datensatz und ohne sekundären Ausschluss. Davon bekamen 63 (43,15 %) Patienten einen Kombinationseingriff mit Bypass-OP. Die Kohorte der isolierten AKEs verblieb mit 83 (56,46 %) Patienten. Dabei handelte es sich um 78 (93,98 %) biologische und fünf (6,02 %) mechanische AKEs.

Die Patientenselektion ist in Abbildung 3.1 dargestellt. Die vorliegende Arbeit befasst sich ausschließlich mit der Kohorte der 83 Patienten mit isolierten AKEs.

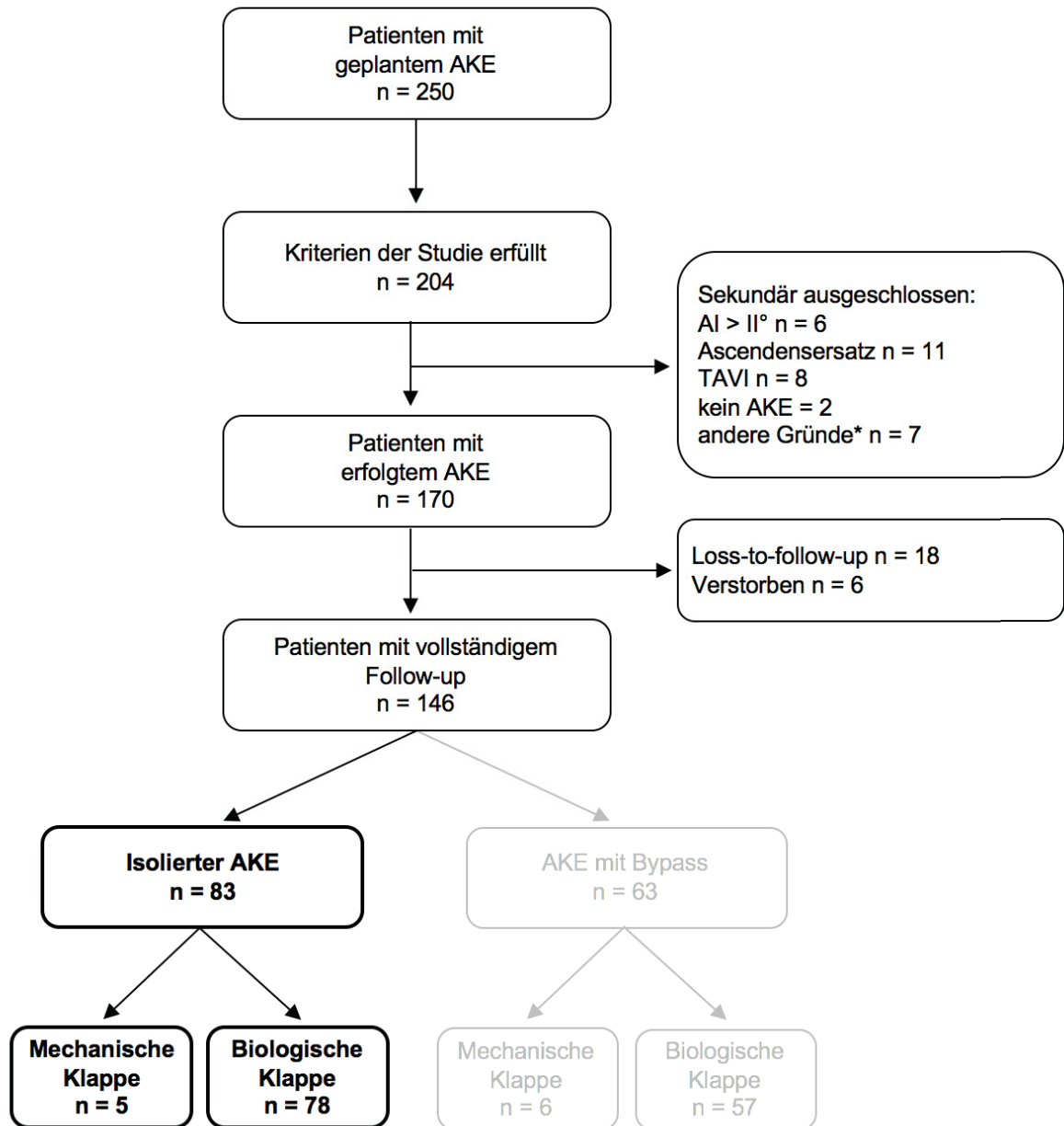


Abbildung 3.1: Patientenselektion.

TAVI = Transkatheter-Aortenklappenimplantation, AKE = Aortenklappenersatz, AI = Aortenklappeninsuffizienz

*Hepatitis C Virus Infektion, Persistierendes Foramen Ovale (PFO), Trikuspidalklappenrekonstruktion (TKR), > 3 Monate auf Intensivstation

3.1.2 *Baseline* Charakteristika

In Tabelle 3.1 sind die *Baseline* Charakteristika der Studienpatienten zusammengefasst.

Tabelle 3.1: *Baseline* Charakteristika.

Merkmal	Biologischer AKE Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)	Mechanischer AKE Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)
Alter, J	72,4 $\pm$ 7,7	55,2 $\pm$ 5,42
Geschlecht, weiblich	38 (49)	0 (0)
Gewicht, kg	80,5 $\pm$ 16,1	93 $\pm$ 7,46
BMI ¹ , kg/m ²	27,8 $\pm$ 4,85	27,9 $\pm$ 3,17
Normalgewicht	24 (31)	1 (20)
Präadipositas	30 (38)	3 (20)
Adipositas Grad I	17 (22)	1 (20)
Adipositas Grad II	6 (8)	0 (0)
Adipositas Grad III	1 (1)	0 (0)
KOF ² , m ²	1,92 $\pm$ 0,2	2,15 $\pm$ 0,07
Kardiale Dekompensation	5 (6)	0 (0)
KHK ³	28 (36)	2 (40)
Synkope	10 (13)	0 (0)
Raucherstatus		
Nie	46 (59)	2 (40)
Ex-Nikotin	13 (17)	0 (0)
Aktuell	19 (24)	3 (60)
Hämorrhagie	2 (3)	0 (0)
Diabetes mellitus		
Typ I	1 (1)	1 (20)
Typ II	16 (21)	0 (0)
HRST ⁴	13 (17)	2 (40)
Fettstoffwechselstörung	27 (35)	1 (20)
Pulmonale Hypertonie	12 (15)	1 (20)
Arterielle Hypertonie	60 (77)	2 (40)
NYHA ⁵		
I	15 (19)	1 (20)
II	24 (31)	3 (60)

Merkmal	Biologischer AKE Mittelwert ± SD oder n (%)	Mechanischer AKE Mittelwert ± SD oder n (%)
III	36 (46)	1 (20)
IV	3 (4)	0 (0)
Lebererkrankung	2 (3)	0 (0)
Lungenerkrankung	11 (14)	1 (20)
Bikuspide Aortenklappe	14 (18)	2 (40)
Euroscore II, %	1,44 ± 0,51	0,81 ± 0,29

¹Body-Mass-Index,

²Körperoberfläche,

³Koronare

Herzkrankung,

⁴Herzrhythmusstörung,

⁵New

York

Heart

Association

*KOF berechnet nach Dubois.

Da die vorliegende Arbeit weder mit Medikamenten noch mit Laborwerten der Patienten gearbeitet hat, sind diese Daten im Anhang zu finden (Tabelle 7.1 - Tabelle 7.4)

Abbildung 3.2 zeigt den Verlauf von Kreatinin zum eGFR bei allen Patienten mit isolierten AKEs. Dabei sind Frauen rot und Männern blau gekennzeichnet.

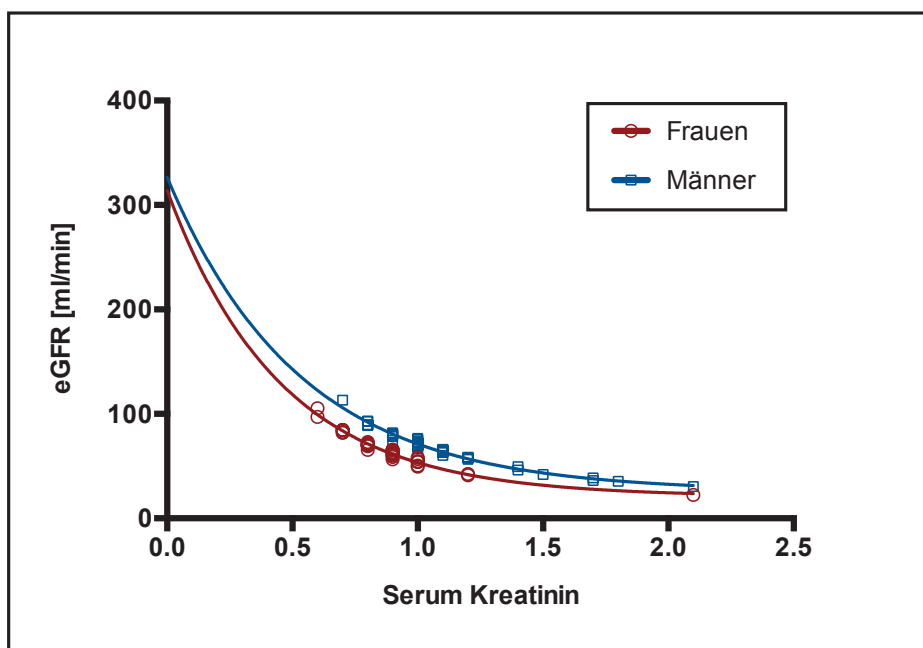


Abbildung 3.2: Kreatinin und eGFR nach MDRD-Formel für alle Patienten mit isolierten AKEs.

Die eGFR wurde mithilfe der MDRD-Formel berechnet: $GFR_{\text{Männer}} = 175 \times \text{Kreatinin}^{-1,154} \times \text{Alter}^{-0,203}$, $GFR_{\text{Frauen}} = 175 \times \text{Kreatinin}^{-1,154} \times \text{Alter}^{-0,203} \times 0,742$

3.1.3 OP-Ergebnisse

In der nachfolgenden Tabelle werden die operativen Daten der Patienten mit biologischen AKEs denen der Studienteilnehmer mit mechanischen AKEs gegenübergestellt Tabelle 3.2.

Tabelle 3.2: Operative Maßnahmen.

	biologische AKEs Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)	mechanische AKEs Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)
OP-Dauer, min	177 $\pm$ 51,2	206 $\pm$ 54,1
EKZ ¹ -Dauer, min	102 $\pm$ 33,2	121 $\pm$ 29,6
Aortenklammzeit, min	68,9 $\pm$ 22,8	85,4 $\pm$ 21,7
Plegieart Brettschneider Calafiore	30 (38) 48 (62)	2 (40) 3 (60)
Implantationstechnik intraanuläre supraanulär	44 (56) 34 (44)	2 (40) 3 (60)
Erweiterungsplastik ja nein	3 (4) 75 (96)	1 (20) 4 (80)

¹Extrakorporale Zirkulation

In

Tabelle 3.3 sind intraoperativ festgestellte Eigenschaften der stenosierten AV aufgeführt.

Tabelle 3.3: Eigenschaften der AV.

	biologische AKEs Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)	mechanische AKEs Mittelwert $\pm$ SD n (%)
Kalzifizierung ja nein	78 (100) -	5 (100) -
Vegetation ja nein	- 78 (100)	- 5 (100)
Klappenanomalien primär bikuspid sekundär bikuspid quadrikuspid	2 (3) 14 (18) 1 (1)	1 (20) 1 (20) -

	biologische AKEs Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)	mechanische AKEs Mittelwert $\pm$ SD n (%)
keine	61 (78)	3 (60)

Die verwendeten Klappenprothesen sind nachfolgend in Tabelle 3.4 aufgeführt.

Tabelle 3.4: Aortenklappenprothesen.

Aortenklappenprothesen	Biologischer AKE n (%)	Mechanischer AKE n (%)
Mechanische Prothesen		
Regent AGN -751		3 (60)
Medtronic Aortic AP 360		2 (40)
Biologische Prothesen	78	
SJM Trifecta	13 (17)	
SJM Trifecta GT	8 (10)	
Edwards Magna Ease 3300 TFX	29 (37)	
Edwards Intuity Elite	25 (32)	
Edwards Perimount 2800	2 (3)	
Sorin Perceval S	1 (1)	

Perioperativ wurde bei jedem Patienten individuell abgeschätzt, welche Klappengröße am besten geeignet war. Die Verteilung der verwendeten Klappenprothesengrößen sind in Tabelle 3.5 angegeben.

Tabelle 3.5: Größen der Klappenprothesen.

Größe der Klappenprothese, cm	n (%)
Biologischer AKE	
19	4 (5)
21	20 (26)
23	31 (40)
25	16 (20)
27	7 (9)
Mechanischer AKE	
21	1 (20)
22	1 (20)

Größe der Klappenprothese, cm	n (%)
23	2 (40)
24	1 (20)

Weitere Ergebnisse der intensivmedizinischen Daten, die in dieser Arbeit nicht berücksichtigt wurden, sind im Anhang in Tabelle 7.5 -

Tabelle 7.6 zu finden

3.1.4 Echokardiographische Ergebnisse

TTE beim biologische AKE

Die Ergebnisse der TTEs von Patienten mit biologischen (Tabelle 3.6) AKE sind nachfolgend aufgeführt.

Tabelle 3.6: Echokardiographische Daten der biologischen AKEs.

Messparameter, Einheit	Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)		
	U1	U4	U5
EF ¹ , %	59,2 $\pm$ 6,57	59,3 $\pm$ 5,05	60,6 $\pm$ 4,66
LVEDD ² , mm	48,1 $\pm$ 3,72	47,1 $\pm$ 3,08	48,1 $\pm$ 3,44
LVESD ³ , mm	32,3 $\pm$ 5,29	32,4 $\pm$ 3,78	30,5 $\pm$ 4,17
EDD ⁴ Septum, mm	14 $\pm$ 2,25	13,5 $\pm$ 2,16	12,6 $\pm$ 1,66
EDD ⁴ Vorderwand, mm	11,6 $\pm$ 1,57	11,1 $\pm$ 1,61	10,9 $\pm$ 1,31
EDD ⁴ Hinterwand, mm	11 $\pm$ 1,23	10,6 $\pm$ 1,31	10,4 $\pm$ 1,12
p _{peak} ⁵ , mmHg	69,3 $\pm$ 21	17,6 $\pm$ 6,02	17,3 $\pm$ 5,89
p _{mean} ⁶ , mmHg	41,7 $\pm$ 13,8	10 $\pm$ 3,34	9,07 $\pm$ 3,02
EOA ⁷ , cm ²	0,74 $\pm$ 0,12	1,95 $\pm$ 0,24	1,94 $\pm$ 0,25
V _{max} ⁸ , m/s	4,12 $\pm$ 0,62	2,07 $\pm$ 0,35	2,05 $\pm$ 0,34
Scherstress (V _{max} /LV-EF ⁹)	0,07 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0,01	0,03 $\pm$ 0,01
AI ¹⁰			
Grad I	40 (51)	2 (3)	2 (3)
Grad II	15 (19)	0 (0)	0 (0)
Grad III	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Grad IV	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Typ zentral	55 (71)	2 (3)	2 (3)
Typ paravalvulär	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Typ kombiniert	0 (0)	0 (0)	0 (0)

¹Ejektionsfraktion, ²linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, ³linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, ⁴enddiastolischer Durchmesser, ⁵maximaler Gradient, ⁶mittlerer Gradient, ⁷effektive Öffnungsfläche, ⁸maximale Flussgeschwindigkeit, ⁹linksventrikuläre Ejektionsfraktion, ¹⁰Aortenklappeninsuffizienz

Der Übersicht halber sind die p-Werte zu den einzelnen Zeitpunkten der TTE-Daten bei biologischen AKEs in Tabelle 3.7 aufgeführt. Für die Tests wurde ein *One-way* Anova verwendet. Signifikante Ergebnisse sind fett markiert.

Tabelle 3.7: Statistische Signifikanz der Änderungen der echokardiographischen Daten bei biologischen AKEs.

Messparameter	p-Wert		
	U1 zu U4	U1 zu U5	U4 zu U5
EF ¹	0,99	0,25	0,3
LVEDD ²	0,16	< 0,99	0,16
LVESD ³	0,99	0,03	0,02
EDD ⁴ Septum	0,28	< 0,0001	0,02
EDD ⁴ Vorderwand	0,1	0,01	0,68
EDD ⁴ Hinterwand	0,1	0,01	0,56
p _{peak} ⁵	< 0,0001	< 0,0001	0,99
p _{mean} ⁶	< 0,0001	< 0,0001	0,77
EOA ⁷	< 0,0001	< 0,0001	0,95
V _{max} ⁸	< 0,0001	< 0,0001	0,96
Scherstress (V _{max} /LV-EF ⁹)	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001

¹Ejektionsfraktion, ²linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, ³linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, ⁴enddiastolischer Durchmesser, ⁵maximaler Gradient, ⁶mittlerer Gradient, ⁷effektive Öffnungsfläche ⁸maximale Flussgeschwindigkeit, ⁹linksventrikuläre Ejektionsfraktion

Es konnte gezeigt werden, dass Veränderungen der myokardialen Messwerte erst zum Zeitpunkt drei Monate nach Operation zu zeigen waren. Zudem wurde deutlich, dass sich die Pumpfunktion von prä- zu post-OP nicht signifikant verändert hatte. Die linksventrikulären Durchmesser zeigten enddiastolisch gemessen keine signifikanten Veränderungen, wohingegen sich die endsystolischen Werte innerhalb der drei Monate post-OP signifikant verringerten. Auch die Septumdicke nahm innerhalb dieser drei Monate deutlich ab, sowie die EDD Vorderwand und Hinterwand von U1 zu U5 ebenso abnahmen. In Anbetracht der valvulären Parameter, konnte gezeigt werden, dass sich die Druckgradienten, die Maximalgeschwindigkeit und die KÖF sofort nach AKE signifikant verbesserten und danach keine deutlichen Veränderungen innerhalb der darauffolgenden drei Monate

zeigten. Nur der Scherstress verringerte sich signifikant sowohl von prä- zu post-OP als auch von U4 zu U5.

TTE beim mechanischen AKE

Die Ergebnisse der TTEs von Patienten mit mechanischen (Tabelle 3.8) AKE sind nachfolgend aufgeführt.

Tabelle 3.8: Echokardiographische Daten der mechanischen AKEs.

Messparameter, Einheit	Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)		
	U1	U4	U5
EF ¹ , %	56,2 $\pm$ 9,56	58,2 $\pm$ 3,71	61,6 $\pm$ 2,87
LVEDD ² , mm	54,6 $\pm$ 3,38	51 $\pm$ 2,53	50,8 $\pm$ 3,71
LVESD ³ , mm	35,6 $\pm$ 5,54	31,8 $\pm$ 2,04	31,6 $\pm$ 2,65
EDD ⁴ Septum, mm	13,9 $\pm$ 1,56	13,8 $\pm$ 0,98	13,9 $\pm$ 1,22
EDD ⁴ Vorderwand, mm	11,5 $\pm$ 1,67	12,6 $\pm$ 1,36	11,8 $\pm$ 0,75
EDD ⁴ Hinterwand, mm	12,1 $\pm$ 1,11	12 $\pm$ 1,1	11,2 $\pm$ 0,5
p _{peak} ⁵ , mmHg	78 $\pm$ 21,8	21,8 $\pm$ 5,31	21,9 $\pm$ 7,58
p _{mean} ⁶ , mmHg	45 $\pm$ 10,7	15 $\pm$ 3	12 $\pm$ 2,92
EOA ⁷ , cm ²	0,74 $\pm$ 0,2	1,88 $\pm$ 0,17	2,25 $\pm$ 0,05
V _{max} ⁸ , m/s	4,37 $\pm$ 0,61	2,32 $\pm$ 0,28	2,31 $\pm$ 0,37
Scherstress (V _{max} /LV-EF ⁹)	0,08 $\pm$ 0,03	0,04 $\pm$ 0,01	0,04 $\pm$ 0
AI ¹⁰			
Grad I	1 (20)	0 (0)	1 (20)
Grad II	2 (40)	0 (0)	0 (0)
Grad III	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Grad IV	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Typ zentral	3 (60)	0 (0)	1 (20)
Typ paravalvulär	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Typ kombiniert	0 (0)	0 (0)	0 (0)

¹Ejektionsfraktion, ²linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, ³linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, ⁴enddiastolischer Durchmesser, ⁵maximaler Gradient, ⁶mittlerer Gradient, ⁷effektive Öffnungsfläche, maximale Flussgeschwindigkeit, ⁹linksventrikuläre Ejektionsfraktion, ¹⁰Aortenklappeninsuffizienz

Auch bei den mechanischen AKEs sind die p-Werte zu den einzelnen Zeitpunkten der echokardiographischen Daten für eine bessere Übersicht in Tabelle 3.9 aufgeführt. Auch hier wurden *One-way* Anova verwendet und signifikante Ergebnisse fett markiert.

Tabelle 3.9: Statistische Signifikanz der Änderungen der echokardiographischen Daten bei mechanischen AKEs.

Messparameter	p-Wert		
	U1 zu U4	U1 zu U5	U4 zu U5
EF ¹	0,87	0,38	0,67
LVEDD ²	0,23	0,2	0,99
LVEDS ³	0,28	0,25	0,99
EDD ⁴ Septum	0,99	0,99	0,99
EDD ⁴ Vorderwand	0,41	0,93	0,61
EDD ⁴ Hinterwand	0,98	0,32	0,4
p _{peak} ⁵	< 0,0001	< 0,0001	0,99
p _{mean} ⁶	< 0,0001	< 0,0001	0,76
EOA ⁷	< 0,0001	< 0,0001	0,01
V _{max} ⁸	< 0,0001	< 0,0001	0,99
Scherstress (V _{max} /LV-EF ⁹)	0,01	0,01	0,99

¹Ejektionsfraktion, ²linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser, ³linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser, ⁴enddiastolischer Durchmesser, ⁵maximaler Gradient, ⁶mittlerer Gradient, ⁷effektive Öffnungsfläche, ⁸maximale Flussgeschwindigkeit, ⁹linksventrikuläre Ejektionsfraktion

Bei den mechanischen AKEs konnten von prä- zu post-OP keine signifikanten Unterschiede in den myokardialen Messparametern festgestellt werden. Lediglich sämtliche valvuläre Parameter zeigten von prä- zu post-OP signifikante Verbesserungen der Klappenwerte, jedoch ohne Veränderungen zwischen U4 und U5. Nur bei der KÖF gab es zusätzlich einen signifikanten Unterschied von U4 zu U5, die wahrscheinlich bei einer geringen n-Zahl durch Messvarianz zu erklären sind.

3.2 Exosomen

3.2.1 Charakterisierung der isolierten Exosomen mittels Western Blot

Zur näheren Charakterisierung wurden bei sechs stichprobenartig ausgewählten Patienten Western Blot Analysen für exosomenspezifische Marker durchgeführt. Exemplarisch sind zwei Charakterisierungen repräsentativer Patienten in Abbildung 3.3 dargestellt. Es wird deutlich, dass die isolierten Exosomen sowohl die Tetraspanine CD9 und CD63 als auch das Hitzeschockprotein HSP70 aufweisen. Da diese Analysen nur zum Nachweis von Exosomen in den gemessenen Proben zu allen Zeitpunkten dienten, wurde keine semiquantitative Auswertung durchgeführt.

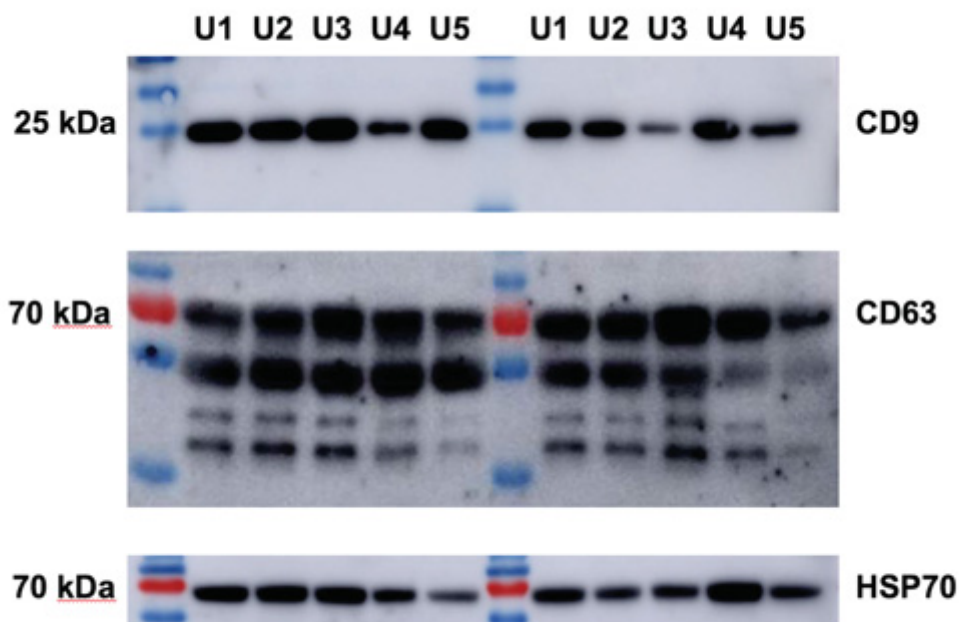


Abbildung 3.3: Exosomencharakterisierung mittels Western Blots.

Repräsentative Western Blots von zwei Patienten an U1-U5 für die spezifischen Exosomenmarker CD9, CD63 und HSP70. Repräsentativ sind 2 von 6 n dargestellt.

3.2.2 Nachweis der Exosomen mittels Elektronenmikroskopie

Auch mit der Elektronenmikroskopie konnte bestätigt werden, dass eine Vielzahl von Exosomen in den gemessenen Suspensionen vorlag. Dazu wurden bei fünf stichprobenartig ausgewählten Patienten zu Zeitpunkt U1

elektronenmikroskopische Aufnahmen angefertigt. Die charakteristische runde Form und die Größe von 20-150 nm konnte hierbei bestätigt werden. Exemplarisch ist eine Probe eines repräsentativen Patienten in Abbildung 3.4 dargestellt.

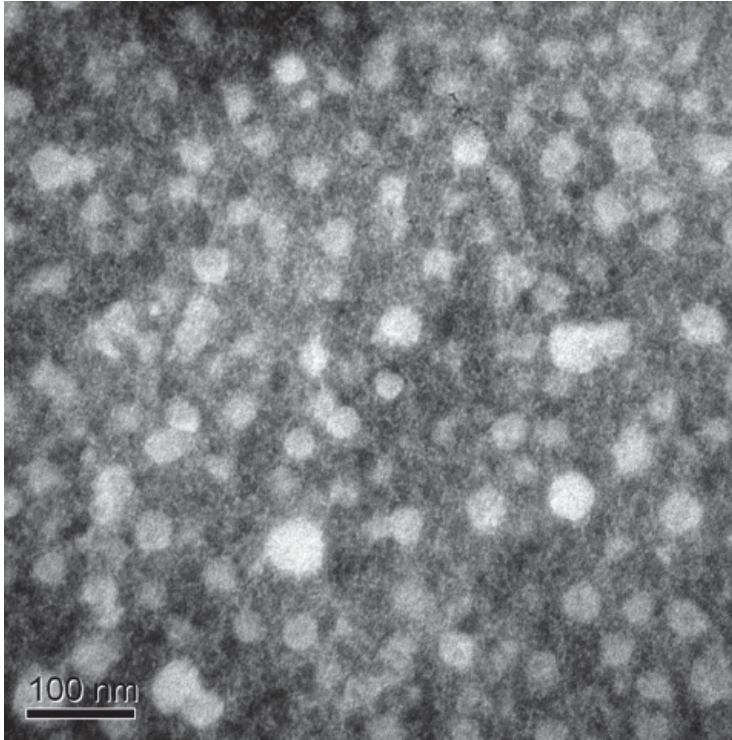


Abbildung 3.4: Exosomencharakterisierung mittels Elektronenmikroskopie.

Exemplarische elektronenmikroskopische Analyse der Exosomen an U1 in 100 nm Vergrößerung. Die Exosomen zeigen sich als unterschiedlich große, runde, scharf begrenzte, weiße Punkte in der Elektronenmikroskopie.

3.2.3 Effektivität der Exosomenisolation mittels ExoQuick

Nach Fällung der Exosomen mittels ExoQuick wurden die Restüberstände durch NTA mit dem ZetaView gemessen. Dabei lagen die Ergebnisse unterhalb der Nachweisgrenze, sodass keine Partikel gemessen werden konnten. Dadurch konnte bestätigt werden, dass der Großteil aller Exosomen durch die Isolation gefällt wurden.

3.2.4 Größenbestimmung durch Nanoparticle Tracking Analyse

Bei jeder Messung durch NTA am ZetaView wurde neben der Anzahl der Partikel auch die Größe der gemessenen Partikel (Tabelle 3.10, Abbildung 3.5) bestimmt. Diese bestätigt die Größenordnung von Exosomen zwischen 20-150 nm.

Tabelle 3.10: Mittlerer Durchmesser der Exosomen aller isolierten AKE-Patienten.

	Mittelwerte $\pm$ SEM				
	U1	U2	U3	U4	U5
Durchmesser [nm]	142,93 $\pm$ 13,64	149,91 $\pm$ 13,23	149,64 $\pm$ 13,96	143,32 $\pm$ 12,13	144,36 $\pm$ 12,23

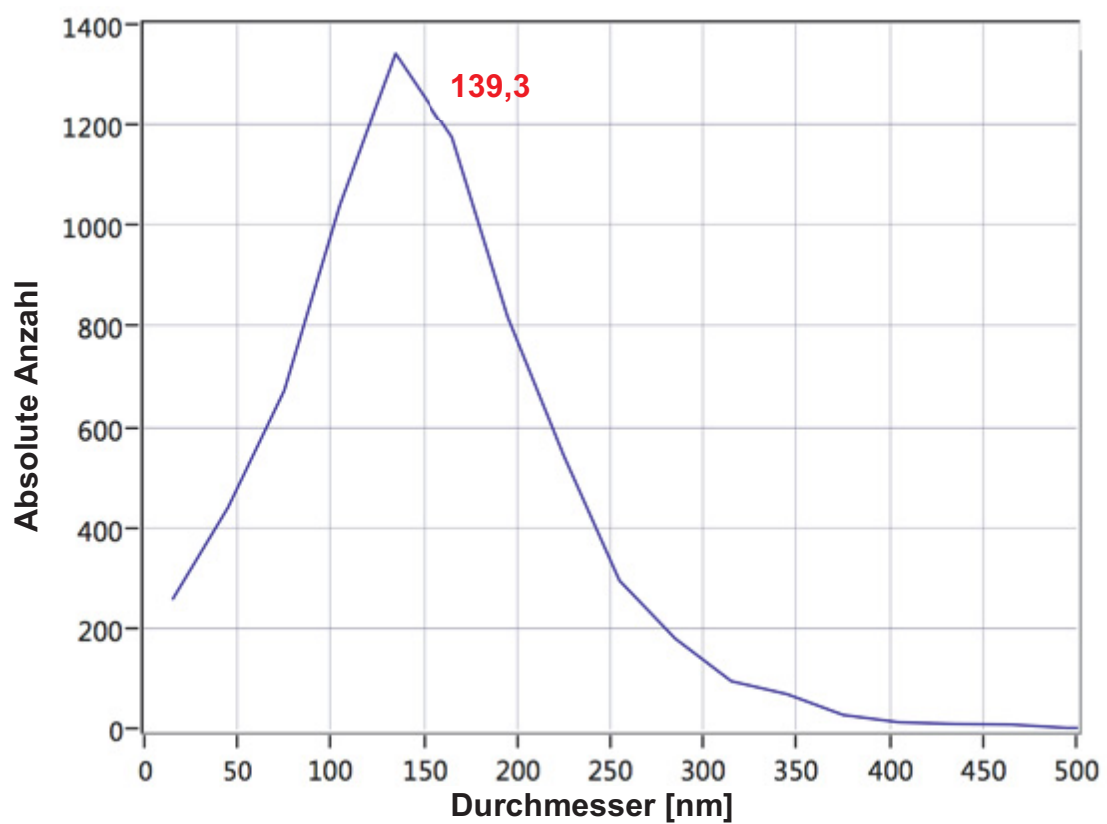


Abbildung 3.5: Größenbestimmung der Exosomen.

Gezeigt ist eine repräsentative Messung der NTA an U1 mit dem ZetaView. Bei dieser Probe liegt der Modalwert der gemessenen Partikel bei einem Durchmesser von 139,3 nm.

3.3 Gesamtverlauf der Exosomen bei Patienten mit AKE

Über den gesamten Zeitraum U1-U5 wurde der Verlauf der Exosomenanzahl beobachtet (Abbildung 3.6). Im Mittel nahm die Anzahl der Exosomen von U1 zu U2 ab. An U3 wurde die geringste Exosomenanzahl beobachtet. Eine Woche später an U4 stieg der Wert leicht über auf das Ausgangsniveau von U1 an und stabilisierte sich drei Wochen post-OP an U5 auf das Level von U1.

Im Folgenden beziehen sich alle Angaben über die Anzahl der Exosomen auf einen Milliliter.

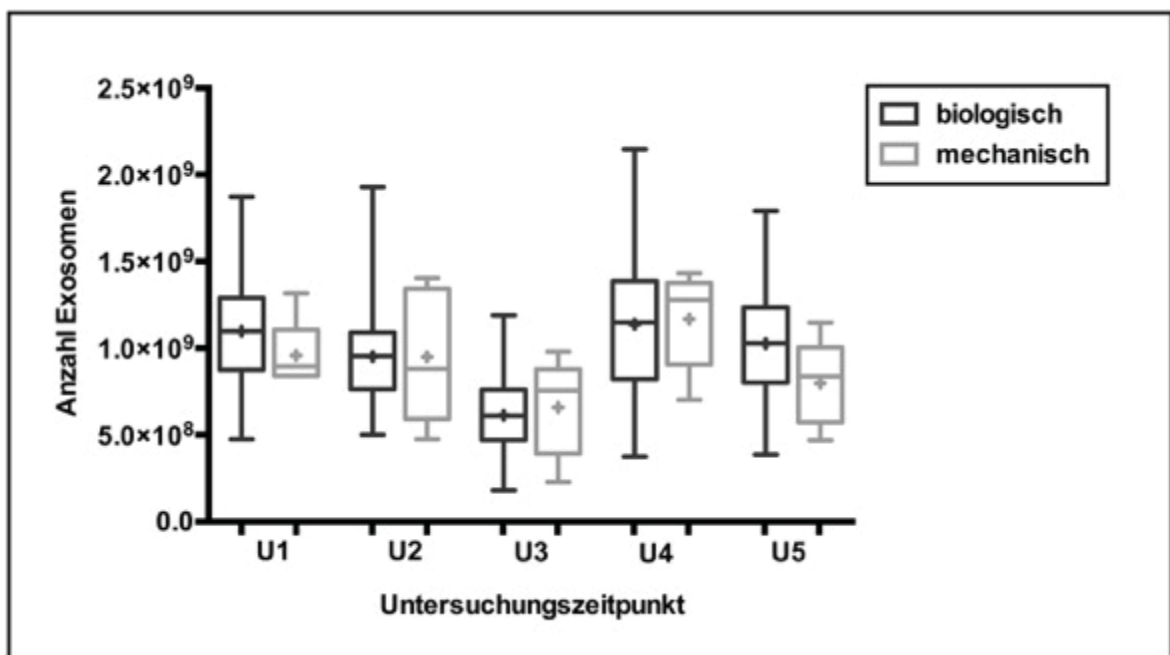


Abbildung 3.6: Gesamtverlauf der Anzahl der Exosomen.

Dargestellt sind die Anzahl der Exosomen (Median + IQR und Mittelwert (+)) der gesamten Patientenkohorte ($n = 78$) von U1 bis U5. In dunkelgrau sind die Patienten mit biologischen und in hellgrau die mit mechanischen AKEs dargestellt.

Wenn die Mittelwerte der Patienten mit biologischen und mit mechanischen AKEs gegeneinander betrachtet wurden, so wurde deutlich, dass der Verlauf beider Gruppen nahezu identisch war und sich nur hinsichtlich ihrer Signifikanzen unterschied, vermutlich weil die Anzahl der Patienten mit mechanischen AKEs zu gering war.

Der Übersichtlichkeit halber sind die p-Werte des Gesamtverlaufs der Exosomen in Tabelle 3.11 zusammengefasst. Diese wurden mittels Anova bestimmt. Signifikante Ergebnisse sind fett gedruckt.

Tabelle 3.11: Statistische Signifikanz der Änderungen der Exosomenzahl.

	p-Wert	
	biologischer AKE ¹	mechanischer AKE
U1 zu U2	0,001	> 0,99
U1 zu U3	< 0,0001	0,22
U1 zu U4	0,83	0,53
U1 zu U5	0,35	0,75
U2 zu U3	< 0,0001	0,24
U2 zu U4	< 0,0001	0,5
U3 zu U4	< 0,0001	0,01
U3 zu U5	< 0,0001	0,84
U4 zu U5	0,03	0,09

¹Aortenklappenersatz

Bei den Patienten mit biologischem AKE war der Abfall zwischen U1 und U2 hoch signifikant ($p = 0,001$), der Abfall von U2 auf U3 sowie der erneute Anstieg bei U4 waren jeweils höchst signifikant ($p < 0,0001$) und das Erreichen von U4 zu U5 auf des Ausgangsniveaus U1 zeigte signifikante Ergebnisse ($p = 0,032$). Bei den Patienten mit mechanischem AKE wurden lediglich an U3 zu U4 eine signifikante ($p < 0,012$) Zunahme der Exosomenanzahl beobachtet. Letztendlich gab es von U1 zu U5 keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Exosomenzahl.

Die Ausgangsmenge der Exosomen bei den Patienten war sehr variabel. Um die Verläufe besser beurteilen zu können, wurden daher Deltawerte berechnet. Die Deltawerte setzen die einzelnen Zeitpunkte immer jeweils im Vergleich zum Ausgangswert an U1 (Abbildung 3.7). So hatte ein Patient A im Verlauf U1 - U5 beispielsweise immer mehr Exosomen als ein Patient B. Um die individuellen Differenzen des einzelnen Patienten beurteilen zu können, wurden daher Deltawerte zur Auswertung herangezogen. Die Anzahl der Exosomen der Zeitpunkte U2 bis U5 wurden dabei jeweils als Differenz zum Ausgangswert U1 dargestellt. U1 diente demnach als Bezugswert und findet sich in den Graphen auf der x-Achse bei null wieder. Die Mittelwerte zeigten auch hier den gleichen Verlauf wie oben in Abbildung 3.6.

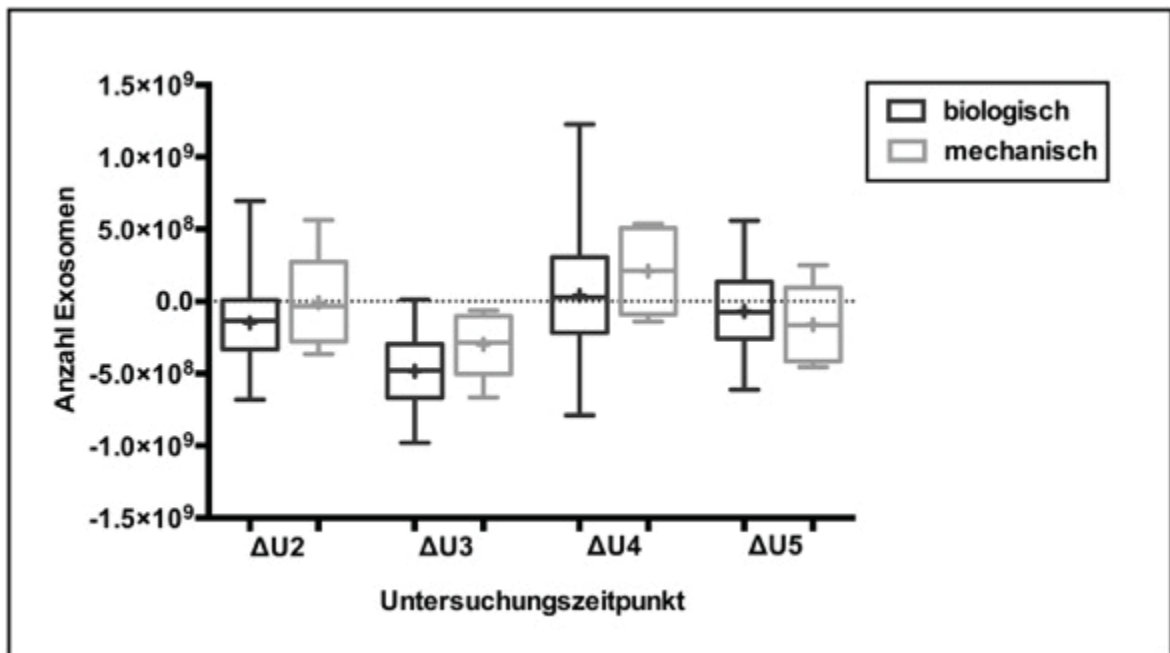


Abbildung 3.7: Anzahl der Exosomen im Bezug zu U1.

In dieser Abbildung sind die Exosomenzahlen der einzelnen Patienten in Relation zu jeweiligen Ausgangswerten an U1 veranschaulicht. Dunkelgrau stellt die Patienten mit biologischen und hellgrau die mit mechanischen AKEs dar. Die Abbildung bestätigt, dass die Exosomenzahl zum Zeitpunkt U3 abnimmt und zu U5 wieder zu Ausgangswerten (U1) zurückkehrt.

Für alle folgenden Auswertungen wurden ausschließlich die Ergebnisse der Zeitpunkte U1, U4 und U5 verwendet, um prä- und postoperative Werte zu repräsentieren. Die Zeitpunkte U2 und U3 wurden wegen mehrerer Gründe ausgeklammert. Einen wichtigen Faktor spielte die Art der Blutabnahme. Während die Blutentnahme an U1, U4 und U5 durch einen Butterfly erfolgte, wurde an U2 und U3 durch die Schleuse und somit durch einen Zugang mit deutlich größerem Durchmesser abgenommen. Zudem spielen viele weitere medizinische Variablen an U2 und U3 mit, wie Flüssigkeitstransfusionen perioperativ, intraoperativer Blutverlust und etwaige Bluttransfusion. Durch diese klinischen Faktoren würden die Streuung und die Fehleranfälligkeit zu groß werden.

3.4 Zusammenhang zwischen demographischen Daten und Anzahl der Exosomen

3.4.1 Zusammenhang zwischen Geschlecht und Anzahl der Exosomen

Zur Überprüfung, ob es einen Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und der Anzahl der Exosomen gab, wurden die Patienten in männlich und weiblich aufgeteilt und die Exosomenanzahlen gegenübergestellt. Es konnten hierbei keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Abbildung 3.8).

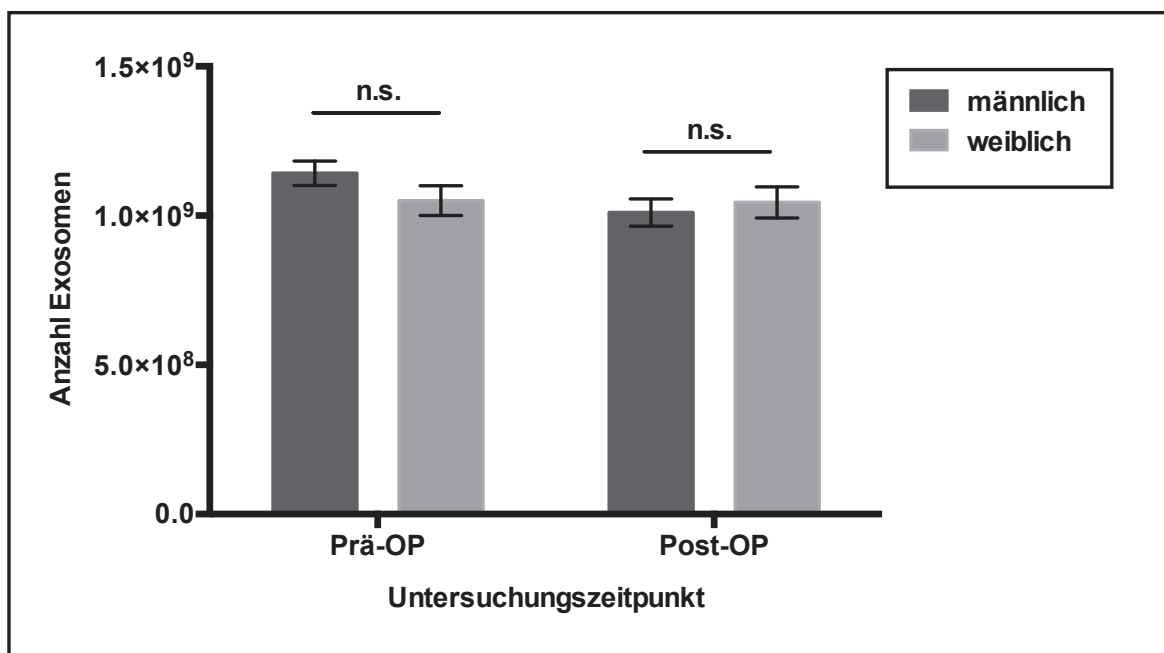


Abbildung 3.8: Zusammenhang zwischen Geschlecht und Anzahl der Exosomen.

Dargestellt sind die Exosomenanzahlen am Aufnahmetag U1 (Prä-OP) und drei Monate nach der OP an U5 (Post-OP) jeweils für männliche (dunkelgrau) und weibliche (hellgrau) Patienten. Prä-OP hatten tendenziell Männer mehr und post-OP Frauen mehr Exosomen im Blutserum.

3.4.2 Zusammenhang zwischen Alter und Anzahl der Exosomen

Prä- und postoperativ wurde die Anzahl der Exosomen in Relation zum Alter der Patienten an U1 analysiert. Wie in Abbildung 3.9 ersichtlich, konnten weder an U1 ($p = 0,18$), noch an U5 ($p = 0,35$) signifikante Assoziationen zum Alter nachgewiesen werden.

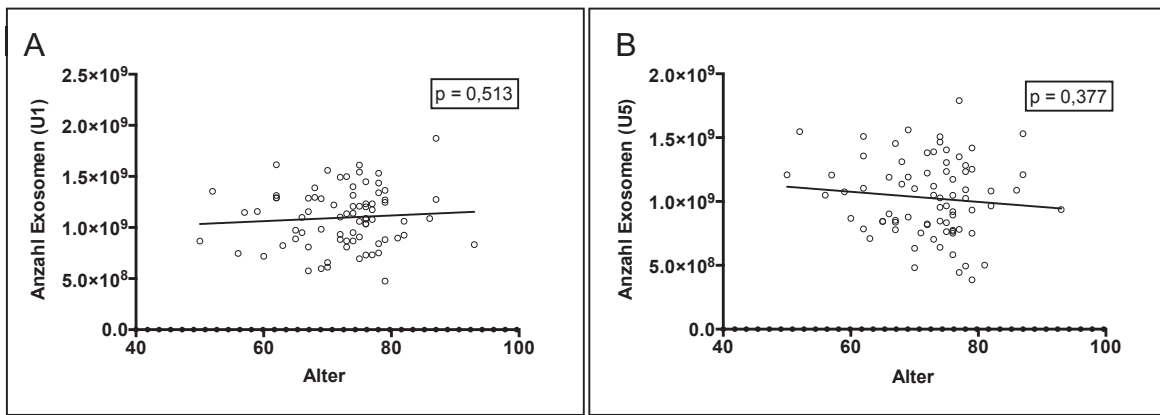


Abbildung 3.9: Exosomenzahlen an U1 (A) und U5 (B) in Relation zu dem Alter.

Abbildung 3.10 zeigt den Zusammenhang zwischen Alter und Stenosegrad: Der p_{mean} an U1 war bei jüngeren Patienten signifikant höher als bei älteren ($p = 0,04$).

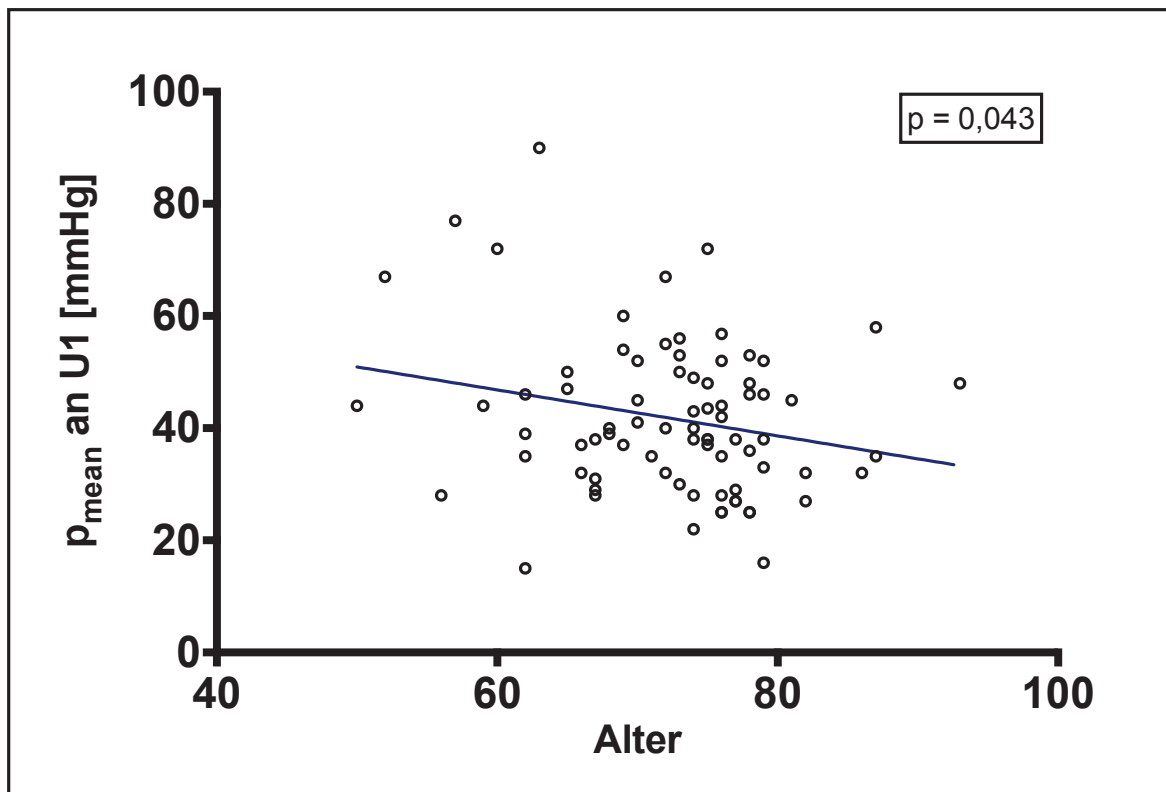


Abbildung 3.10: Zusammenhang zwischen Alter und p_{mean} an U1.

3.4.3 Zusammenhang zwischen Body-Mass-Index und Anzahl der Exosomen

Im Folgenden wurde untersucht, ob die Anzahl der Exosomen mit dem prä-OP Body-Mass-Index (BMI) korrelierte. Als Normalgewichtiger galt man mit einem $\text{BMI} < 25 \text{ kg/m}^2$. Die Anteile der BMI-Gruppen an der Studienpopulation ist der Tabelle 3.12 zu entnehmen.

Tabelle 3.12: Anteile der BMI-Gruppen.

	BMI in kg/m²	n (%)
Normalgewichtig	18 - 25	24 (31)
Präadipositas	25 - 30	30 (38)
Adipositas	> 30	24 (31)
Grad I	30 - 35	17 (71)
Grad II	35 - 40	6 (25)
Grad III	> 40	1 (4)

Der BMI hatte weder eine Relation zu der Exosomenzahl an U1 ($p = 0,178$) noch an U5 ($p = 0,72$), jedoch eine sehr signifikante ($p = 0,002$) zwischen der Exosomen Ratio U5 / U1 und dem BMI an U1 (Abbildung 3.11)

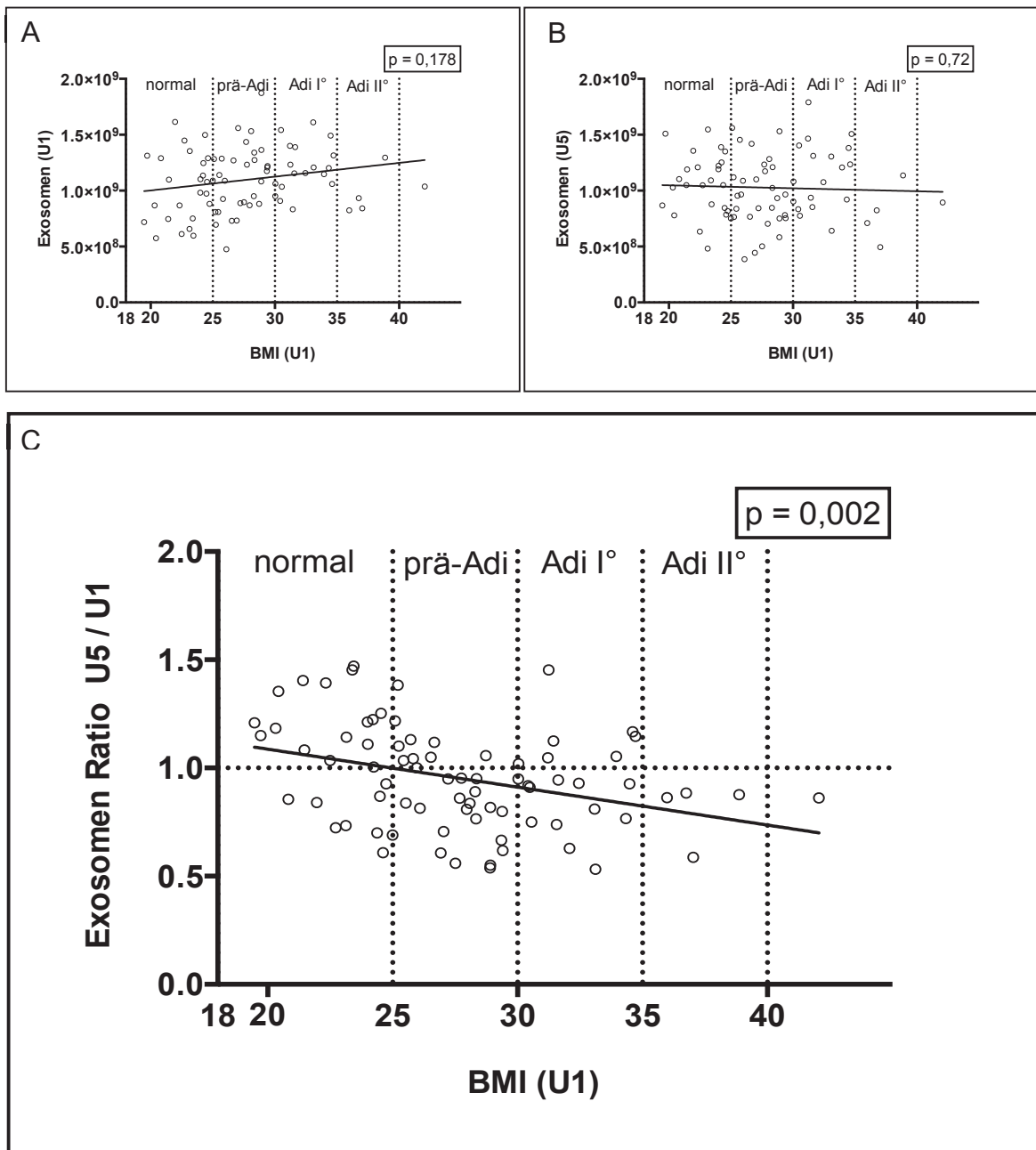


Abbildung 3.11: Zusammenhang zwischen BMI und Anzahl der Exosomen.

Abgebildet sind die Anzahl der Exosomen an U1 (A) und U2 (B) nach BMI und die Ratio der Exosomen von U5 zu U1 in Korrelation zu dem BMI an U1 (C).

3.5 Häodynamische Auswirkungen auf die Anzahl der Exosomen

3.5.1 Einfluss des Druckgradienten auf die Anzahl der Exosomen

Zur besseren Übersicht wurde der Einfluss des Druckgradienten auf die Anzahl der Exosomen dargestellt, indem die Patienten in drei Untergruppen gemäß ESC kategorisiert wurden: Patienten mit $p_{\text{mean}} < 30$ mmHg, $p_{\text{mean}} = 30 - 50$ mmHg und $p_{\text{mean}} > 50$ mmHg.

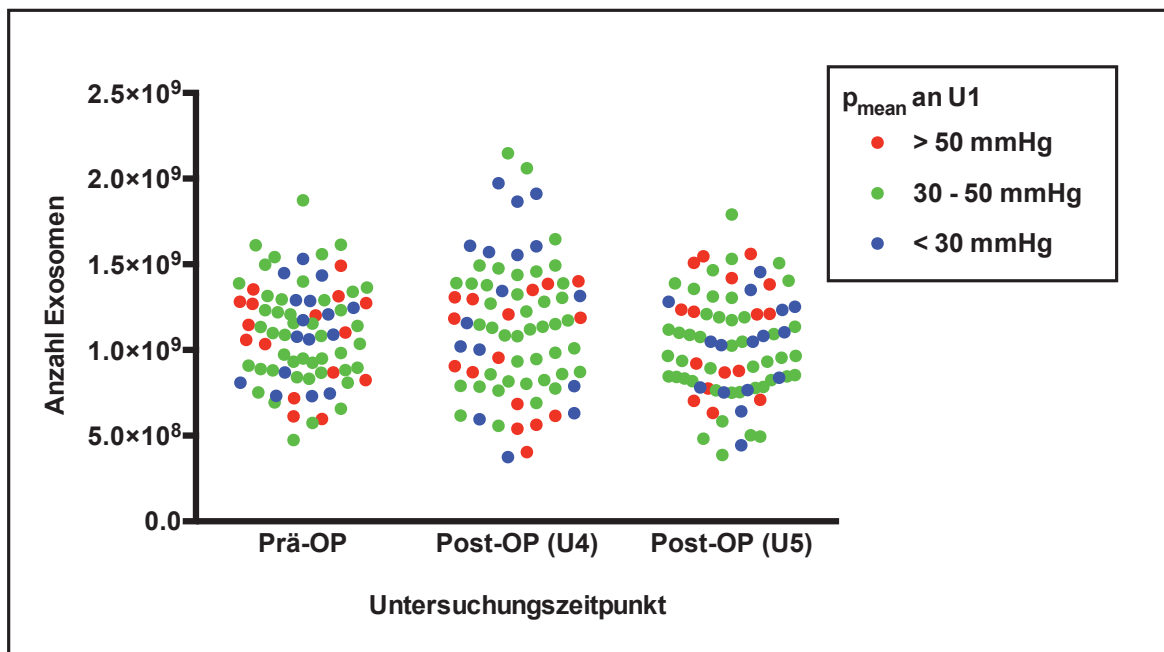


Abbildung 3.12: Einfluss des präoperativen Druckgradienten auf die Anzahl der Exosomen.

Gegenübergestellt sind die Anzahl der Exosomen prä- und postoperativ an U5, aufgeteilt nach gemessenen transvalvulären Druckgradienten an U1. Die Aufteilung erfolgte gemäß ESC nach p_{mean} an U1.

In Abbildung 3.12 konnte kein Zusammenhang zwischen Anzahl der Exosomen und Druckgradienten, weder prä- noch post-OP, erkannt werden. Hier wurde auch deutlich, dass sich U4 weniger als post-OP-Wert eignete als U5, da an U4 noch mehr Schwankungen bestanden. Diese nahmen an U5 ab und optimierten so die Vergleichbarkeit.

Um genauere Aussagen über das Verhalten der Exosomen treffen zu können, wurde die Anzahl der Exosomen sowohl prä- als auch post-OP in

Korrelationskurven mit der $v_{\max}$ (Abbildung 3.13) und den Druckgradienten $p_{\max}$ (Abbildung 3.14) und p_{mean} (Abbildung 3.15) dargestellt.

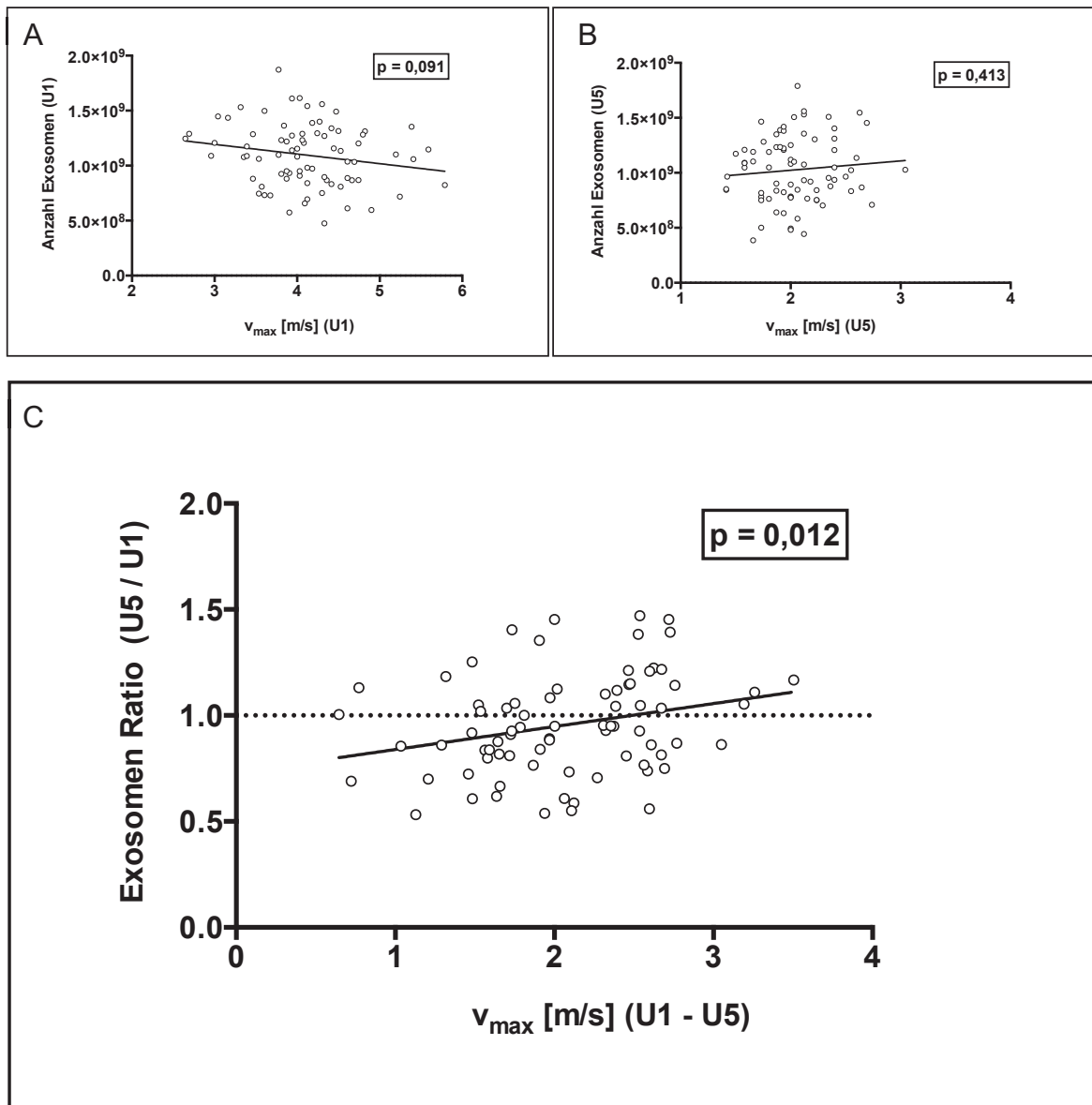


Abbildung 3.13: Einfluss der $v_{\max}$ auf die Anzahl der Exosomen.

Dargestellt sind die Regressionsgeraden der Exosomenanzahlen und der $v_{\max}$ an U1 (A) und U5 (B) sowie die Exosomen Ratio von U5 / U1 und die $v_{\max}$ an U1 – U5 (C).

In Abbildung 3.13 wird deutlich, dass die Anzahl der Exosomen keine signifikanten Korrelationen zur $v_{\max}$ hatte. Weder an U1 ($p = 0,091$) noch an U5 ($p = 0,413$) konnte eine Tendenz festgestellt werden. Wurde jedoch die Exosomen Ratio U5 / U1 im Hinblick auf das Ausmaß der Veränderung von $v_{\max}$ prä- zu post-OP untersucht, war eine signifikante Tendenz zu erkennen ($p = 0.012$): Je deutlicher die $v_{\max}$ von prä- zu post-OP gesunken war, desto höher war die Exosomenanzahl

post-OP im Vergleich zu prä-OP. Somit zeigt sich ein signifikanter umgekehrt proportionaler Verlauf von Flussgeschwindigkeiten und Exosomenzahl nach AKE (Abbildung 3.13 C).

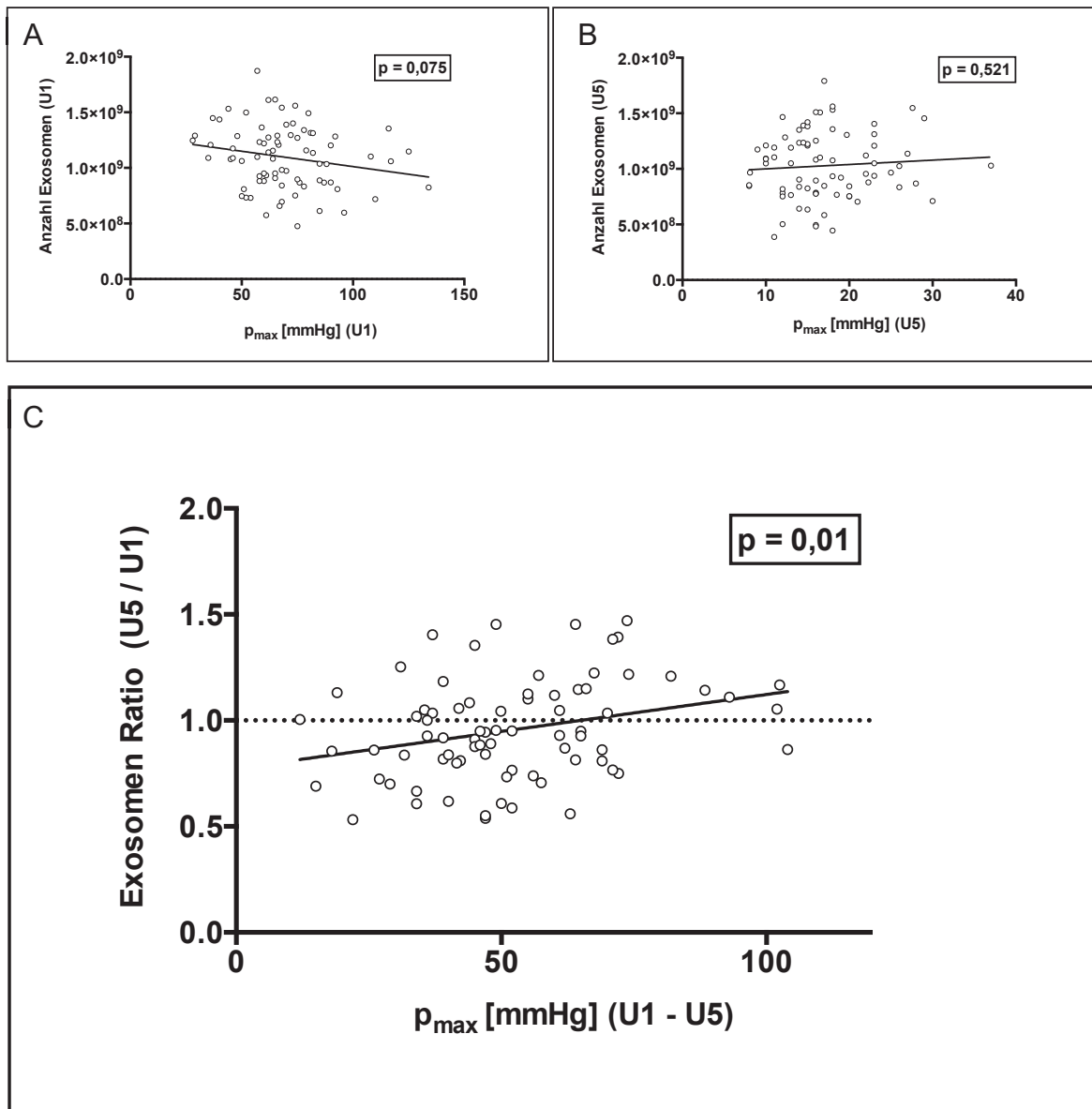


Abbildung 3.14: Einfluss des $p_{\max}$ auf die Anzahl der Exosomen.

Dargestellt sind die Regressionsgraden der Exosomenanzahlen und der $p_{\max}$ an U1 (A) und U5 (B) sowie die Exosomen Ratio von U5 / U1 und die $p_{\max}$ an U1 – U5 (C).

Auch an Abbildung 3.14 wird deutlich, dass kein direkter Zusammenhang zwischen Exosomenanzahl und $p_{\max}$, weder an U1 ($p = 0,075$) noch an U5 ($p = 0,521$), zu sehen ist. Die Regressionsgerade in C zeigt, dass mit zunehmender $p_{\max}$ -Differenz (U1-U5) die Exosomen Ratio (U5 / U1) signifikant stieg ($p = 0,01$). Patienten, die einen größeren Unterschied von prä- zu post-OP in der $p_{\max}$ zeigten, hatten

dementsprechend post-OP mehr Exosomen als prä-OP, was logischerweise dem o.g. Ergebnis hinsichtlich $v_{\max}$ entspricht.

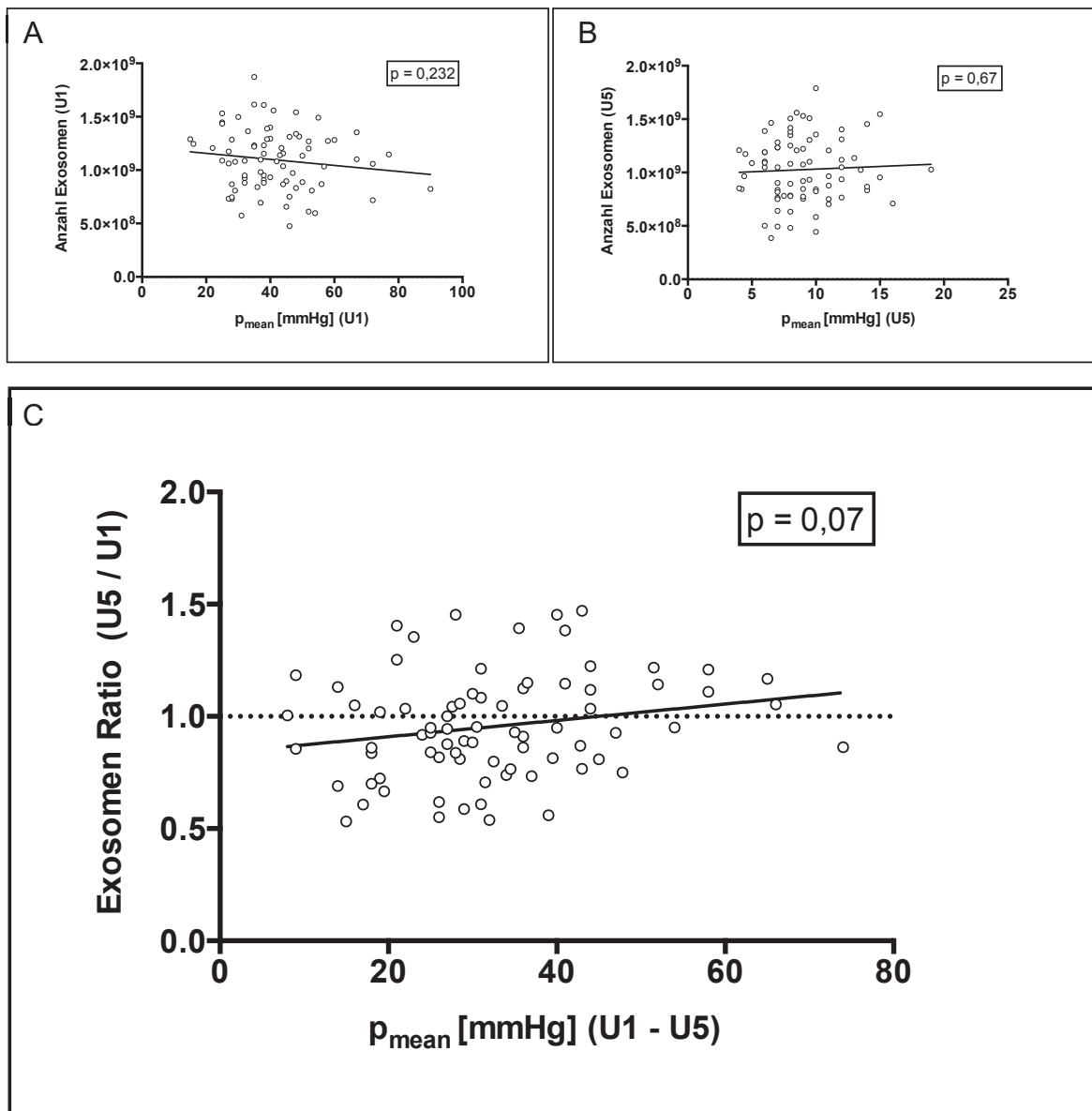


Abbildung 3.15: Einfluss des p_{mean} auf die Anzahl der Exosomen.

Gegenübergestellt sind jeweils die Exosomenanzahlen in Korrelation mit dem p_{mean} an U1 (A) und U5 (B) sowie die Ratio von U5 / U1 aufgetragen zum p_{mean} an U1 – U5 (C).

Wie in Abbildung 3.15 dargestellt, ähneln die Ergebnisse der mittleren Gradienten den zuvor genannten Ergebnissen für Maximalgradienten sowie -geschwindigkeit. Lediglich eine statistische Signifikanz wird knapp verfehlt (Abbildung 3.15 C).

3.5.2 Einfluss der EOA auf die Anzahl der Exosomen

Um herauszufinden, ob die KÖF eine Auswirkung auf die Anzahl der Exosomen hatte, wurde die EOA in Korrelation zur Exosomenanzahl gesetzt.

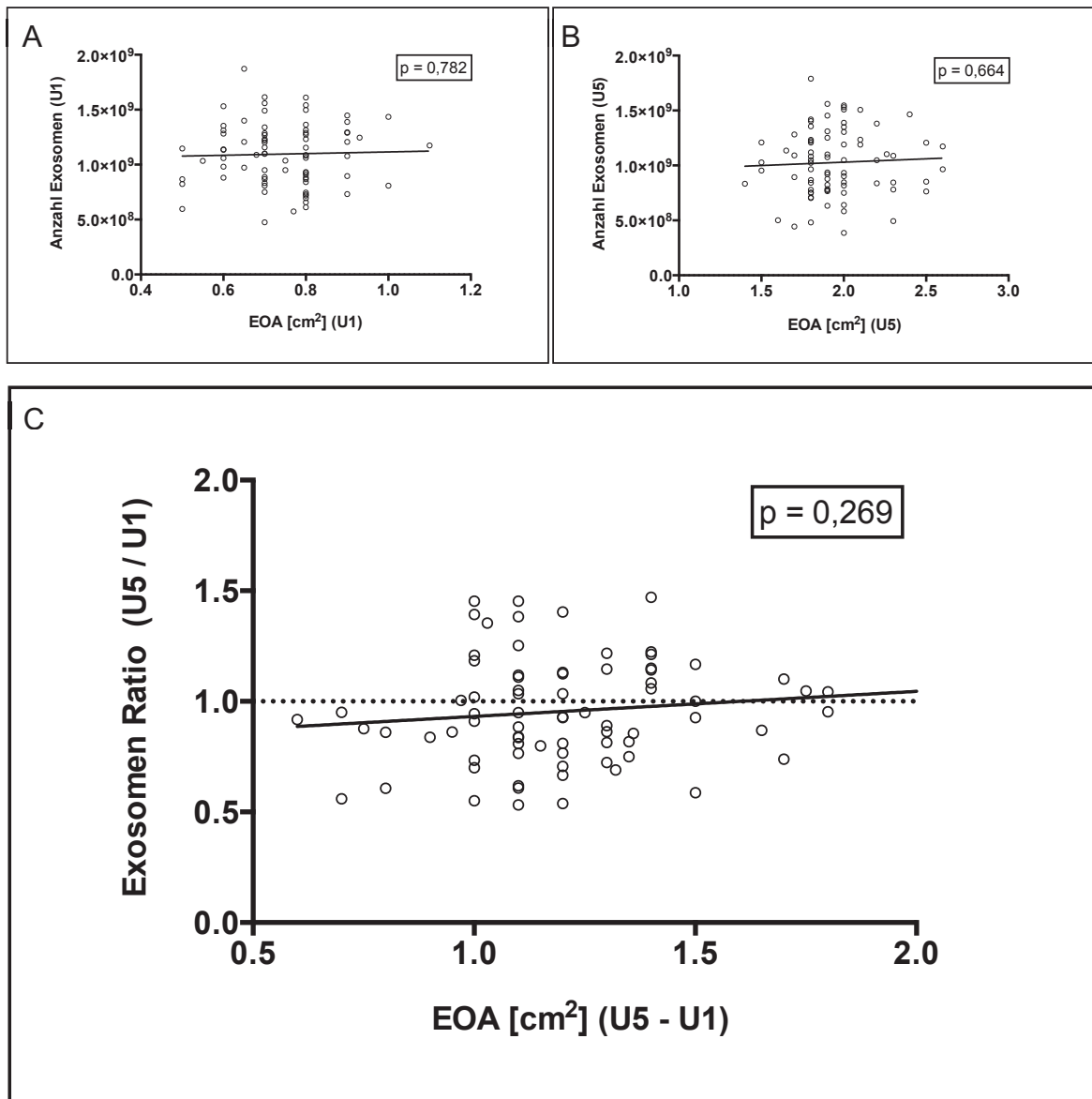


Abbildung 3.16: Einfluss der EOA auf die Anzahl der Exosomen.

Dargestellt sind die Regressionsgraden der Exosomenanzahlen und der EOA an U1 (A) und U5 (B) sowie der Exosomen Ratio von U5 / U1 und der EOA an U1 – U5 (C).

Anders als die oben genannten signifikanten Ergebnisse gibt es keine signifikante Korrelation zwischen der EOA (U5 - U1) und der Exosomen Ratio (U5 / U1) ($p = 0,8702$). Auch die EOA an U1 ($p = 0,6704$) und U5 ($p = 0,8212$) korrelierten nicht mit der Anzahl der Exosomen (Abbildung 3.16).

3.5.3 Einfluss des Scherstress auf die Anzahl der Exosomen

Scherstress ist definiert als Verhältnis zwischen $V_{\max}$ und EF im linken Ventrikel (LV), also $V_{\max}/LV\text{-EF}$. Abbildung 3.17 zeigt, dass sich der Scherstress antiproportional zur EOA verhielt. Je kleiner die EOA war, desto stärker ausgeprägt war der Scherstress ($p < 0,0001$).

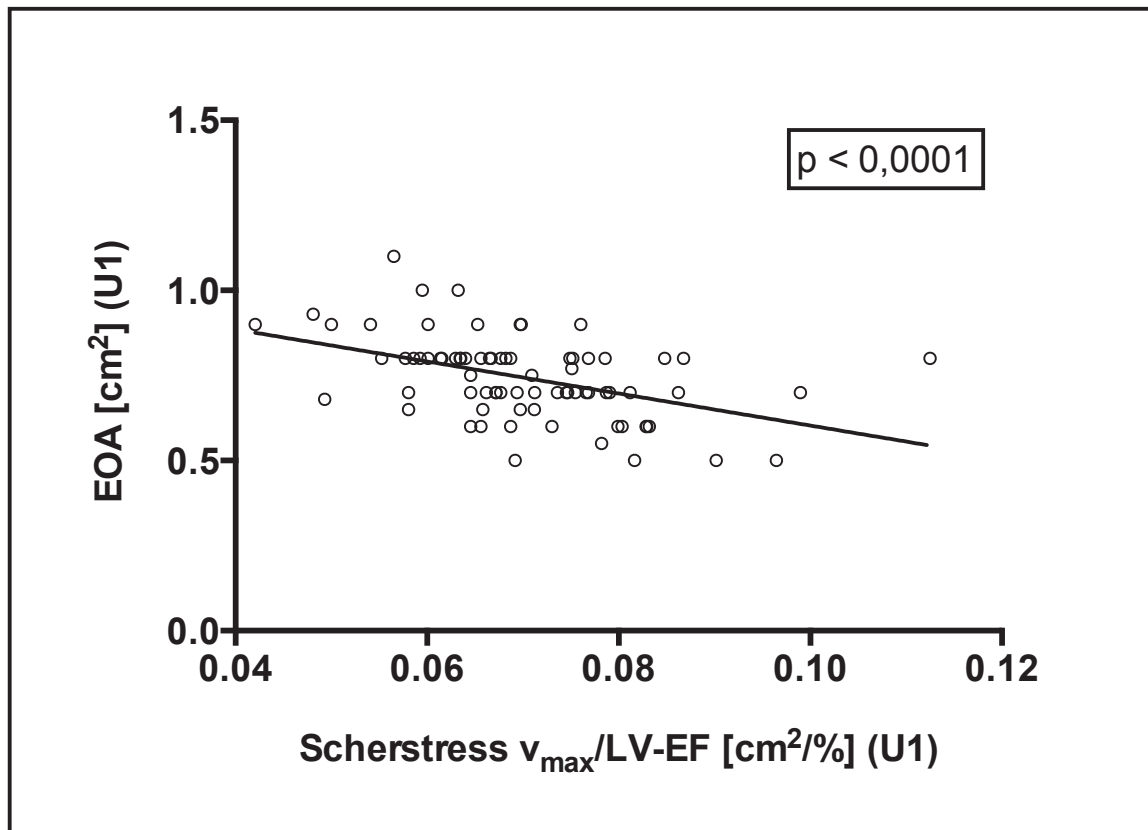


Abbildung 3.17: Verhältnis von Scherstress an U1 zur EOA an U1.

Um herauszufinden, ob der Scherstress einen Einfluss auf die Anzahl der Exosomen hatte, wurde ein Korrelationsplot zwischen der Anzahl der Exosomen und dem Scherstress an U1 und U5 dargestellt. Abbildung 3.18 zeigt, dass auch der Scherstress und die Anzahl der Exosomen weder an U1 ($p = 0,444$) noch an U5 ($p = 0,192$) signifikant korrelierten. Jedoch ist ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Verhältnis der Exosomenanzahl von U5 zu U1 und der Differenz des Scherstress von U1 zu U5 ($p = 0,01$) erkennbar. Wenn der Scherstress post-OP stark gesunken war, stieg die Anzahl der Exosomen post-OP an. Andersrum sank die Exosomenanzahl post-OP, wenn der Scherstress nur wenig reduziert wurde.

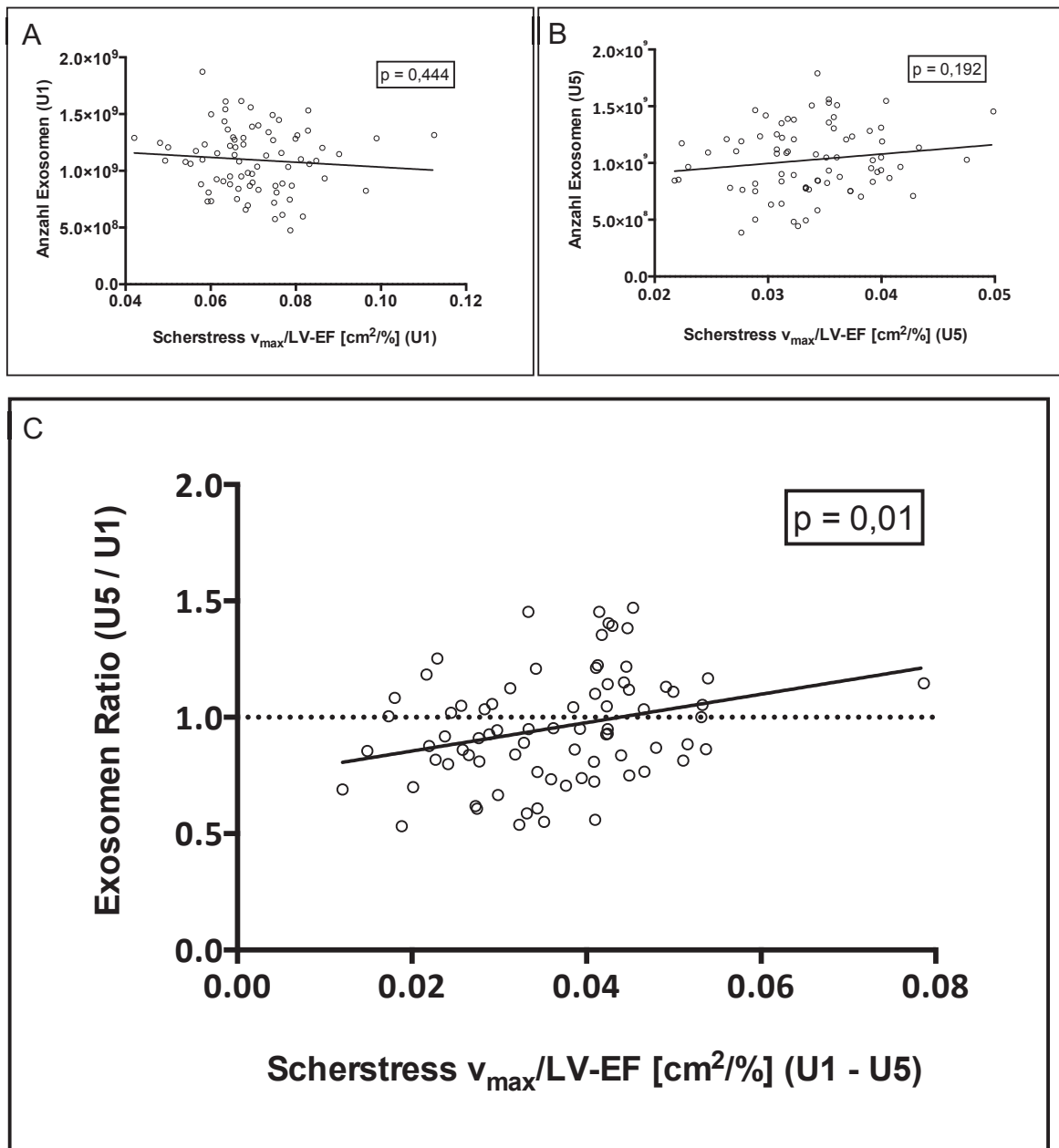


Abbildung 3.18: Einfluss des Scherstress auf die Anzahl der Exosomen.

Dargestellt sind die Zusammenhänge zwischen Exosomenanzahlen und Scherstress an U1 (A) und U5 (B) sowie zwischen Exosomen Ratio von U5 / U1 und Scherstress von U1 – U5 (C).

3.5.4 Einfluss des Patienten-Prothesen-Mismatches auf die Anzahl der Exosomen

Ein Patienten-Prothesen-Mismatch liegt vor, wenn die Klappenöffnungsfläche im Verhältnis zur Körperoberfläche zu klein ist. Zur Berechnung des *indexed orifice Area* (EOAi) werden die EOA und die KOF benötigt. Es gilt: $\text{EOAi} = \text{EOA}/\text{KOF}$. Bei Werten größer als 0,85 liegt kein PPM vor. Werte zwischen 0,65 und 0,85 definieren

ein moderates PPM. Liegt der EOAI unter 0,65, handelt es sich um ein schweres PPM.

Ein moderates PPM wurde an U4 bei zehn und bei U5 bei acht Patienten gemessen. Ein schweres PPM konnte bei keinem Patienten festgestellt werden (Tabelle 3.13).

Tabelle 3.13: Prothesen-Patienten-Mismatch an U5.

PPM	n (%)
kein	70 (90)
mittelgradig	8 (10)
schwer	0 (0)

Um zu analysieren, ob eine Dynamik der Exosomenzahl eine Prognose für das Auftreten eines PPM ermöglicht, wurde die Exosomen Ratio von U5 zu U1 mit der EOAI an U5 in Korrelation gesetzt.

In Abbildung 3.19 kann ein proportionaler Zusammenhang zwischen der EOAI an U5 und der Exosomen Ratio U5 / U1 beobachtet werden ($p = 0,013$). Je größer das Verhältnis der Exosomenanzahl von U5 zu U1 ist, desto höher ist die EOAI und somit unwahrscheinlicher ein PPM. Interessanterweise wurde bei allen Patienten mit einem errechneten PPM ($EOAI < 0,85$) eine Abnahme der Exosomenzahl von U1 zu U5 beobachtet.

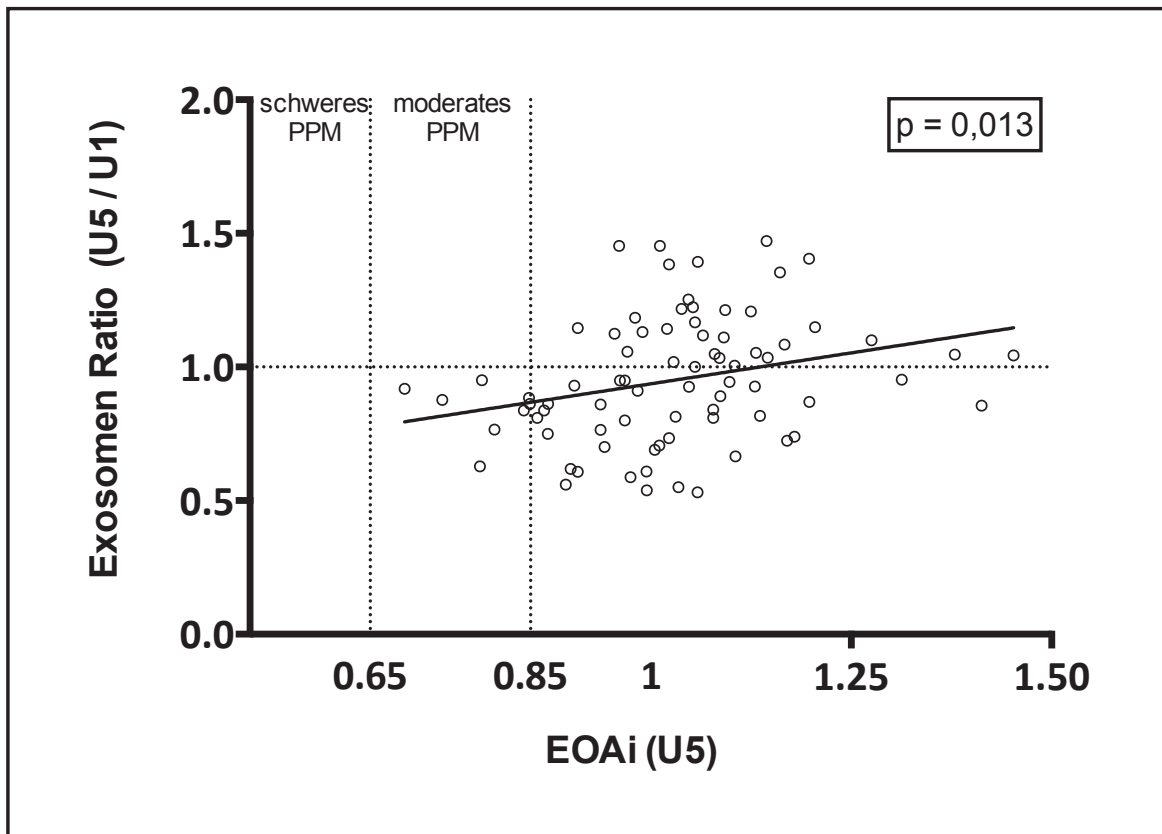


Abbildung 3.19: Relation zwischen der EOAi an U5 und der Exosomen Ratio U5 / U1.
 Ein aufgetretenes Prothesen-Patienten-Mismatch (PPM) ist hier anhand der *indexed effective orifice area* (EOAi) ablesbar. EOAi-Werte $< 0,85$ und $> 0,65$ zeigen ein moderates PPM (acht Patienten) und Werte $< 0,65$ (keine Patienten) würden ein schweres PPM zeigen.

Nach Analyse der Gesamtgruppe mit signifikantem Ergebnis wurden die Patienten getrennt und gruppiert nach ihren präoperativen p_{mean} betrachtet, um innerhalb der Gruppen detailliertere Aussagen treffen zu können.

Abbildung 3.20 zeigt die Korrelationen zwischen der EOAi und der Exosomen Ratio U5 / U1 von leichtgradigen, mittelgradigen und hochgradigen AS. Die Einteilung erfolgte nach ESC. Nur die Patienten mit hochgradigen Stenosen unterstützen die o.g. Aussage der Gesamtgruppe, dass postoperativ sinkende Exosomenzahlen ein PPM wahrscheinlicher machen.

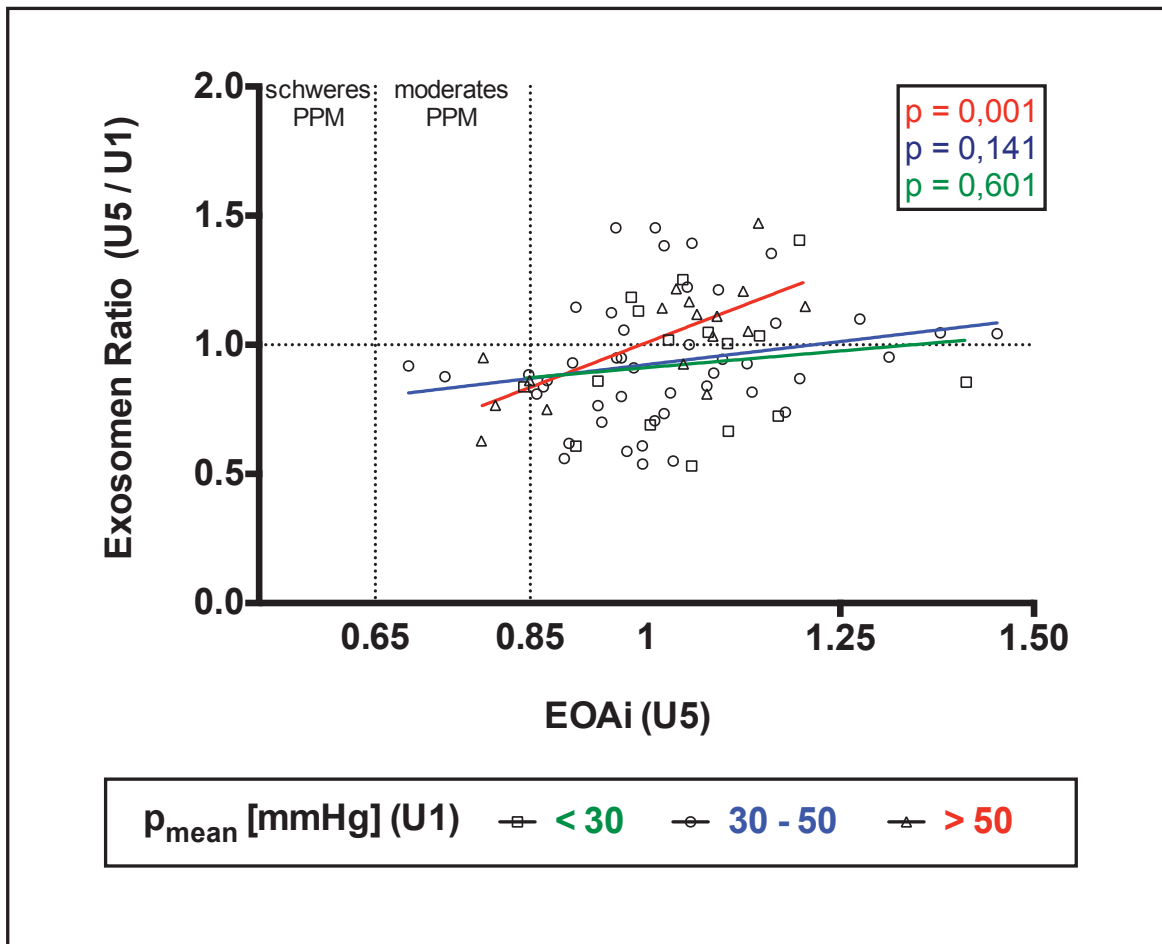


Abbildung 3.20: Einfluss des Druckgradienten auf die Relation zwischen EOAi an U5 und Exosomen Ratio U5 zu U1.

Auch hierbei definiert ein *indexed effective orifice area* (EOAi) $\leq 0,85$ das Auftreten eines Prothesen-Patienten-Mismatch (PPM). Rot (Dreieck) stellt die Patienten mit hochgradigen AS, blau (Kreis) die Patienten mit mittelgradigen und grün (Viereck) die Patienten mit leichtgradigen AS dar. Die Klassifikation erfolgt nach ESC durch die p_{mean} -Werte von U1.

Die Patienten mit hochgradiger AS (rot) zeigten eine sehr signifikante Korrelation ($p = 0,001$) zwischen der Exosomen Ratio U5 / U1 und der EOAi an U5. Je stärker die Exosomenzahl von prä- zu postoperativ abfielen, desto kleiner war die EOAi und desto wahrscheinlicher war das Auftreten eines PPMs. Bei Patienten mit mittelgradigen ($p = 0,141$) oder leichten AS ($p = 0,601$) waren die gleichen Tendenzen erkennbar, jedoch ohne statistische Signifikanz.

4 Diskussion

4.1 Exosomen in der kardiovaskulären Medizin

Anders als Exosomen wurde das Verhalten von MPs bereits in der kardiovaskulären Forschung und speziell auch bei Patienten mit AS beschrieben. Nun sollten Exosomen als weitere Untergruppe der EVs weitergehend untersucht werden.

Diese Arbeit ist die erste, die sich spezifisch mit dem perioperativen Verlauf von Exosomen nach einem konventionellen Aortenklappenersatz zur Behandlung der AS fokussiert. Daher wurde in dieser Arbeit nach möglichen Einflussfaktoren auf die Anzahl der Exosomen gesucht. Es sollte analysiert werden, in welchen Situationen oder Zuständen Exosomen mehr oder weniger ausgeschüttet werden, und ob es einen spezifischen Verlauf der Exosomenanzahl über die Zeit gibt. Aus diesen Ergebnissen sollte geschlossen werden, ob Exosomen als Verlaufsmarker für Patienten mit AS von Bedeutung sind, und ob die Anzahl der Exosomen womöglich einen prädiktiven Wert im Hinblick auf Komplikationen oder Outcome der AKE-OP haben könnte.

Um die anfängliche Hypothese zu beantworten, dass die Anzahl der Exosomen von demographischen und hämodynamischen Größen beeinflusst werden könnten, wurden das Geschlecht, das Alter und der BMI, sowie $v_{\max}$, p_{mean} , Scherstress und PPM im Hinblick auf Exosomenveränderungen untersucht.

4.2 Verlauf der Exosomen

Über den Untersuchungszeitraum zeigte sich ein charakteristischer Verlauf der Exosomenzahlen. Unmittelbar post-OP fiel die Anzahl ab, stieg sieben Tage später etwas über den Ausgangswert und erholte sich auf diesen nach drei Monaten. Zunächst sollte jedoch geklärt werden, ob jeder Patient vergleichbar viele Exosomen hatte und ob das Level der Exosomenzahl eines jeden Patienten über den Verlauf gleichblieb. Es gab eine große Varianz zwischen den Exosomenzahlen der einzelnen Patienten. So hatten beispielsweise einige Patienten konsequent über alle Zeitpunkte niedrigere Exosomenzahlen als der Rest. Unabhängig vom Ausgangswert konnten allerdings bei allen eingeschlossenen Patienten eine ähnliche Verlaufskurve nachgewiesen werden. Durch die große Streuung der individuellen Ausgangswerte der Exosomenzahl ist es bisher noch nicht möglich, einen allgemein gültigen Normwert zu etablieren.

Bei biologischem AKE gab es einen signifikanten Unterschied in der Anzahl der Exosomen von U1 zu U2. Obwohl es sich bei beiden um prä-OP-Werte handelte, differierten sie signifikant mit einem Abfall an Exosomen von Aufnahmetag zum Zeitpunkt unmittelbar vor der OP. Möglicherweise spielte die Abnahmeart eine gewisse Rolle. Auffällig war, dass die beiden niedrigsten Werte, an U2 und U3, beide jeweils durch Abnahme durch die Schleuse erfolgte. Die Abnahme durch einen dünnen Butterflyschlauch könnte möglicherweise durch darin entstehende höhere Scherkräfte zu einer gesteigerten Exosomenausschüttung führen. Möglicherweise führten durch Vakuum ausgelöste höhere Drücke zu einem Zerfall von Zellen und MPs, die dadurch die Größe von Exosomen annehmen konnten. Diese Zellfragmente hätten sich in der NTA den tatsächlichen Exosomen ähneln und so zu einer falsch zu hohen Exosomenanzahl führen können. Durch die Blutentnahmen allein durch einen Butterfly, könnte dieses Phänomen möglicherweise herausgerechnet werden.

Der Abfall von beiden prä-OP-Zeitpunkten zu U3 war hoch signifikant. Die Ursache hierfür kann aktuell nur hypothetisch beantwortet werden. Wie bereits zuvor erwähnt, könnte die Abnahme durch die Schleuse zu einem Artefakt geführt haben. Der alleinige artifizielle Effekt der Abnahme durch die Schleuse konnte jedoch auch ausgeschlossen werden. Denn wenn es keine weiteren Einflüsse gegeben hätte,

hätte der Abfall von U2 zu U3 keine signifikanten Ergebnisse gezeigt, da zu beiden Zeitpunkten die Blutentnahmen über eine Schleuse erfolgte. Der niedrige Exosomenspiegel könnte womöglich durch eine biophysiologische Reaktion auf die OP erklärt werden. Vielleicht spielte auch der Einsatz der Herzlungenmaschine mit den verschiedenen Filtersystemen eine Rolle. Festgehalten werden konnte, dass AKE-Patienten 24h post-OP signifikant weniger Exosomen im Blutserum aufwiesen als prä-OP.

Da die Studie mit U4 und U5 zwei ähnliche post-OP-Zeitpunkte darstellt, sollte nun analysiert werden, welcher Zeitpunkt aussagekräftiger war. An U4 gab es eine sehr starke Streuung der Exosomenzahlen. Diese könnten durch Störfaktoren wie Transfusionen, Infusionen, Entzündungs- und Erholungsprozesse innerhalb der ersten sieben Tage nach der OP erklärt werden. Drei Monate post-OP an U5 hingegen lagen invasive medizinische Behandlungen in der Regel in deutlicher zeitlicher Entfernung. Aus diesem Grund wurde für die vorliegende Arbeit immer U5 als post-OP-Wert definiert.

Da sich die Exosomenanzahl drei Monate nach AKE nicht signifikant veränderte, könnte man vermuten, dass die AS selbst keinen Effekt auf die Anzahl der Exosomen hätte.

Bei den Patienten mit mechanischem AKE zeigte sich ein ähnlicher Gesamtverlauf. Allerdings konnten hierbei nur signifikante Ergebnisse im Anstieg der Exosomenzahl von U3 zu U4 gezeigt werden. Der Unterschied in den Signifikanzen ist wahrscheinlich auf die deutlich kleinere Stichprobe ($n = 5$) zurückzuführen.

Obwohl sich die Patienten mit mechanischen AKEs von denen mit biologischen AKEs vor allem im Alter unterschieden, war der Gesamtverlauf der Anzahl der Exosomen doch sehr ähnlich. Die Patienten mit mechanischem AKE waren im Durchschnitt deutlich jünger als die Patienten mit biologischem AKE.

4.3 Auswirkungen von demographischen Daten auf die Anzahl der Exosomen

Wenn das Alter, das Geschlecht oder der BMI einen Einfluss auf die Anzahl der Exosomen hätten, würde es die Interpretation der Studienergebnisse deutlich beeinflussen. Daher wurden diese Faktoren im Folgenden untersucht.

Ameling et al. beschrieben signifikante Assoziationen von aus Exosomen isolierten miRNA mit den Faktoren Geschlecht, Alter und BMI. Diese drei Faktoren schienen das Ausmaß der miRNA stark zu beeinflussen (66). Jedoch wurde die Anzahl der Exosomen nicht spezifisch betrachtet. Da die miRNA jedoch in Exosomen transportiert werden, könnte auch die Anzahl der Exosomen durch Geschlecht, Alter und BMI beeinflusst werden. Den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zufolge hatte das Alter jedoch keine signifikanten Auswirkungen auf die Anzahl der Exosomen. Auch das Geschlecht schien keine deutlichen Effekte auf die Exosomenzahlen zu haben. Passend dazu fanden auch Ivak et al. keine Effekte von Alter und Geschlecht auf MP-Konzentration (67).

Interessanter wurde es bei Betrachtung des BMIs. In der vorliegenden Arbeit schien der BMI der Patienten weder prä- noch post-OP einen alleinigen Einfluss auf die Anzahl der Exosomen zu haben. Betrachtete man jedoch die dynamische Entwicklung der Exosomenzahlen, konnte gezeigt werden, dass Patienten mit einem höheren BMI post-OP signifikant weniger Exosomen hatten als prä-OP. Da der BMI als alleiniger Faktor keinen starken Einfluss auf die Anzahl der Exosomen hatte, könnte es an einem *Confounder* liegen. Mögliche *Confounder* könnten eine Hyperlipidämie, ein Diabetes mellitus oder ein erhöhtes OP-Komplikationsrisiko sein. Adipositas stellt einen Risikofaktor für Wundheilungsstörung dar. In diesem Zusammenhang könnten auch zirkulierende Lipide eine Rolle spielen. Diese treten in Wechselwirkung mit den Exosomen, da diese sowohl Lipide transportieren, als auch Lipide in ihrer Oberfläche tragen (68).

Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass Alter und Geschlecht keinen Einfluss auf die Exosomenzahlen hatten. Der BMI jedoch in der dynamischen Betrachtung der Exosomenzahl signifikante Assoziation zeigte. Ein niedriger BMI war mit einem postoperativen Anstieg der Exosomen assoziiert.

4.4 Häodynamische Auswirkungen auf die Anzahl der Exosomen

Exosomen werden von kardialen und vaskulären Zellen sezerniert (69, 70) und steuern die interzelluläre Kommunikation zwischen endothelialen Zellen und glatten Muskelzellen (71). Der operative AKE führte in dieser Studie bei allen Patienten zu einer häodynamischen Erholung der präoperativen AS. Da Diehl et al. bei Patienten mit schweren AS ein signifikant höheres Level an prothrombotischen und proinflammatorischen MPs zeigten (29), führte dies zur Annahme, dass ein AKE eine numerische Veränderung auch der Exosomen zufolge haben könnte. Daher wurde analysiert, ob sich häodynamische Veränderungen auf die Anzahl der Exosomen auswirkten. Dabei wurden $v_{\max}$, $p_{\max}$, p_{mean} , EOA und PPM untersucht.

4.4.1 $v_{\max}$, $p_{\max}$ und p_{mean}

In der vorliegenden Arbeit konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen den Variablen $v_{\max}$, $p_{\max}$ oder p_{mean} und der absoluten Anzahl der Exosomen ausgemacht werden, wenn die Variablen allein betrachtet wurden.

Wird die Dynamik der $v_{\max}$ von U1 zu U5 betrachtet, so hatten Patienten mit einer stärkeren postoperativen Abnahme der $v_{\max}$ signifikant mehr Exosomen als prä-OP. Andersrum hatten Patienten mit einer geringeren Korrektur der $v_{\max}$ post-OP signifikant an Exosomen abgenommen.

Auch bei dynamischer Betrachtung der $p_{\max}$ konnten signifikante Ergebnisse festgehalten werden. Je stärker der $p_{\max}$ durch den AKE gesenkt wurde, desto mehr Exosomen hatten die Patienten post-OP im Vergleich zu prä-OP.

Mit der gleichen Herangehensweise konnte bei dynamischer Betrachtung der p_{mean} zwar die gleiche Tendenz erkannt, jedoch keine signifikanten Ergebnisse beobachtet werden.

Zusammengefasst bedeutet eine operativ geschaffene Normalisierung der häodynamischen Werte einen relativen Anstieg der Exosomen post-OP. Ein relativer Anstieg der Exosomen post-OP könnte somit als besonders effiziente

Korrektur der hämodynamischen Werte und somit einer nachträglich bewiesenen Notwendigkeit des AKEs gesehen werden.

4.4.2 EOA

Da die KÖF ausschlaggebend für die Schwere einer AS war, wurde auch eine Relation zwischen Exosomenanzahl und KÖF vermutet. Jedoch korrelierte diese mit der Anzahl der Exosomen weder prä- noch post-OP. Auch eine dynamische Betrachtung der EOA von prä- zu post-OP im Verhalten zur Zu- oder Abnahme der Exosomenanzahl brachte keine signifikanten Ergebnisse. Festzuhalten war jedoch, dass es eine starke Abhängigkeit zwischen KÖF und Scherstress gab.

4.4.3 Scherstress

Scherstress entsteht bei Patienten mit AS durch eine verkleinerte EOA, was in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden konnte: Je kleiner die EOA war, desto signifikant größer war der Scherstress. Im Gegensatz zu veröffentlichten Daten zu MPs konnte hier kein direkter Zusammenhang zwischen erhöhtem Scherstress und erhöhter Exosomenfreisetzung gezeigt werden. Des Weiteren konnte gezeigt werden, dass eine stärkere Senkung des Scherstress mit einem relativen Anstieg der Exosomenzahl einhergeht. Bei Betrachtung der Dynamik von prä- zu post-OP zeigten sich auch hier signifikante Ergebnisse. Passend zum Verhalten von $v_{\max}$ und $p_{\max}$, bedeutete eine stärkere Reduktion des Scherstress durch die OP auch, dass post-OP die Exosomen anstiegen. Ein postoperativer relativer Anstieg der Exosomenzahl kann auch hier als Zeichen eines guten operativen Ergebnisses verstanden werden. Erhöhter Scherstress führt demnach nicht zu erhöhter Exosomenfreisetzung, sondern die Freisetzung wird wahrscheinlich durch andere Faktoren, wie biochemische Vorgänge, ausgelöst.

4.4.4 PPM

Zur Beurteilung der postoperativen Hämodynamik, kann der PPM herangezogen werden. Um herauszufinden, ob Exosomen als diagnostisches Tool zur Abschätzung der Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines PPMs verwendet werden können, wurde die Exosomenanzahl in Relation zur EOAI untersucht.

Es konnte gezeigt werden, dass ein Abfall der Exosomen von prä- zu post-OP mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für das Auftreten eines PPMs assoziiert ist. Bei Betrachtung der Gesamtgruppe der Patienten mit isoliertem biologischem AKE hatten Patienten mit postoperativem Anstieg der Exosomen ein signifikant höheres EOAI. Auch hier ist ein postoperativer relativer Anstieg der Exosomenzahl ein Zeichen für ein höheres EOAI, woraus basierend auf anderen Arbeiten eine bessere Prognose für den Patienten abgeleitet werden kann. Wurde jedoch die Gesamtgruppe getrennt nach Stenosegraden isoliert analysiert, waren nur bei Patienten mit hochgradigen AS die Ergebnisse hoch signifikant. Patienten mit leicht- oder mittelgradigen AS zeigten jedoch den gleichen Trend, allerdings ohne signifikante Ergebnisse. Dass die Signifikanz nur bei den Patienten mit den höchsten p_{mean} -Werten gegeben war, passt zu der Beobachtung, dass mit stärkerer Reduktion von pathologisch erhöhten Werten, der Effekt im Anstieg der Exosomenzahl postoperativ deutlicher wurde. Denn bei mittel- und leichtgradig erhöhten p_{mean} -Werte bestand ohnehin ein kleineres Potential zur Abnahme durch den AKE-Eingriff.

Das Vorhandensein von einem relativen Anstieg der Exosomenzahlen post-OP schien prognostisch günstig für ein Nicht-Auftreten eines PPMs zu sein. Andersherum hatten alle Patienten mit PPM post-OP weniger Exosomen als prä-OP. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, dass die Bestimmung von zirkulierenden Exosomen prä- und post-OP als prognostisches Tool biologischer Natur für das Auftreten eines PPMs herangezogen werden könnten. Diese Methode könnte eine Alternative zur echokardiographischen Bestimmung der EOAI darstellen, wenn beispielsweise schlechte Schallbedingungen, mangelndes Personal oder logistische Schwierigkeiten eine Echokardiographie nicht ermöglichen, oder sie könnte eine Ergänzung bei grenzwertigen Befunden darstellen.

4.5 Limitationen dieser Arbeit

Folgende Limitationen treffen bei dieser Arbeit zu:

1. Die Teilnehmerzahl der isolierten AKEs ist zu gering, um eine valide Aussage von genereller Bedeutung treffen zu können. Insbesondere die Anzahl der Patienten mit PPMs ist in dieser Kohorte zu gering.
2. Es handelte sich in dieser Arbeit um eine monozentrische Studie. Eine multizentrische Studie mit Datenerhebungen an verschiedenen Kliniken würde den Einfluss interner Faktoren reduzieren.
3. In dieser Studie wurden letztendlich nur die Gruppe der isolierten AKEs betrachtet. In der Realität werden jedoch häufig Kombinationseingriffe mit Bypässen oder Ascendensersatz durchgeführt.
4. Die Anzahl der Exosomen ist durch verschiedenste Faktoren beeinflussbar. Zu diesen Faktoren könnten der Zustand des Patienten bei Blutabnahme, die Art der Blutabnahme an sich, die Isolation der Exosomen zählen könnten letztlich die gemessene Exosomenzahl möglicherweise beeinflussen.
5. Es wäre denkbar, dass Flüssigkeitssubstitution, bspw. bei Einleitung vor der OP mit Jonosteril (Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland) möglicherweise für einen Verdünnungseffekt gesorgt haben, der zu beeinflussten Messergebnissen geführt haben könnte. Gleiches gilt auch für Bluttransfusionen.
6. Möglicherweise könnten kleinste Unterschiede in der Blutentnahme bereits, wie bspw. die Dauer der Stauung oder die Lage der *Butterfly*-Nadel bei Abnahme, zu einer Beeinflussung der Messwerte geführt haben. Daher wurde das Blut für die Studienzwecke immer protokollkonform zu möglichst gleichen Bedingungen und nur nach vorheriger Schulung abgenommen.
7. In der Literatur gibt es keine festdefinierte Größenordnung der Exosomen. Die meisten Studien beschreiben sie in der Größenordnung zwischen 20-150 nm (31).

Die Variabilität der Größe differiert durch die Art der Messung. Die NTA misst Exosomen im oberen Bereich von ca. 150 nm im Durchmesser (31), was auch die Ergebnissen der vorliegenden Arbeit bestätigt. Hier befand sich der durchschnittliche Durchmesser der Exosomen bei 146 nm. Die Größenvariabilität könnte darauf hindeuten, dass es mehrere Entwicklungsstufen oder Subgruppen von Exosomen gibt (31, 42). Die unterschiedlichen Größen könnten jedoch auch durch ein Artefakt der Isolationsmethode zustande kommen (45). Vorstellbar wäre auch die Bildung von Agglomeraten aus mehreren Exosomen, was zu einer fehlerhaft zu großen Messung führen könnte.

8. Zudem könnte das benutzerabhängige Verfahren der Exosomenisolation durch NTA in Frage gestellt werden. Zum einen hängt die Qualität der Messung stark von den Einstellungen der Software ab (31). Zum anderen bringt die Isolation als Vorbereitung auf die Messung eine Benutzerabhängigkeit mit sich. Bei der notwendig starken Verdünnung der isolierten Exosomen vor Messung hätten kleinste Veränderungen beim Pipettieren schon zu großen Unterschieden in der verdünnten Probe geführt haben können. Daher wurden in dieser Arbeit die Isolationen und Messungen auch erst nach ausführlichsten Anleitungen und ausreichenden Probemessungen gestartet. Um die Benutzerabhängigkeit weiter zu minimieren, müssten standardisierte Verfahren in Betracht gezogen werden, wie z.B. durch die Nutzung von automatischen Pipettierhilfen.

9. Um eine Aussage darüber treffen zu können, ob die gesamten Ergebnisse nur für Patienten mit AS gelten, müsste eine gesunde Kontrollgruppe herangezogen werden. Obwohl gezeigt werden konnte, dass bei Patienten mit AS Alter und Geschlecht keinen Einfluss auf die Exosomenzahl hatten, sollte dennoch im Idealfall eine Kontrollgruppe gewählt werden, die der AS-Kohorte in den demographischen Daten gleicht und vor allem auch den mittleren BMI der Patienten mit AS widerspiegelt, da der BMI einen signifikanten Einfluss auf die AS haben kann.

4.6 Ausblick: Exosomen als potentielle Biomarker für Patienten mit AS

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass es signifikante Korrelationen zwischen hämodynamischen Parametern und der Veränderung der Exosomenzahl von prä- zu post-OP bei Patienten mit AKE gab. Eine starke Senkung der pathologischen Werte sprach für ein effizientes OP-Ergebnis. Schlussfolgernd, kann eine postoperative Erhöhung der Exosomenzahl einen operativen Erfolg untermalen. In Zukunft könnte eine routinemäßige Erhebung der Exosomenzahl dementsprechend zur Evaluation der OP-Ergebnisse, neben dem TTE herangezogen werden. Dies würde v.a. niedergelassenen Fachärzten ohne TTE-Möglichkeiten ein Werkzeug geben, mit dessen Hilfe eine Verlaufskontrolle mittels Blutentnahme möglich würde.

Vor allem in der Betrachtung für das Auftreten eines PPMs, könnten Exosomen als innovative Screeningmethode herangezogen werden. Wenn Exosomenzahlen nach AKE niedriger sind als vorher, könnte ein intensiviertes Nachsorgeprogramm durchgeführt werden, um ein PPM frühzeitig zu diagnostizieren.

Exosomen haben möglicherweise ein großes Potential in Zukunft als prognostische Marker für das Auftreten eines PPMs oder neben der Echokardiographie therapiebegleitend als biologischer Verlaufsparemeter zur Kontrolle dienen. Vor allem wäre diese neue Methodik interessant für Situationen, in denen ein TTE nicht möglich ist, sei es aus mangelndem Equipment bzw. Personal oder schlechter Schallbarkeit des Patienten. Ferner ist das hier angewandte Verfahren (NTA) zur Bestimmung der Exosomen nicht wie die Echokardiographie untersucherabhängig. Um die Exosomenmessung als eine Screeningmethode etablieren zu können, bedarf es weiterer Validierung und einer größeren Fallzahl. Insbesondere eine höhere Fallzahl der PPMs wäre erforderlich, um eine aussagekräftige Datenlage zu erhalten.

Auf den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit aufbauend, ergeben sich viele weitere Fragestellungen. Daher sollten Exosomen in Zukunft weiter an Popularität in der Forschung gewinnen, um ihre möglichen therapeutischen und diagnostischen Möglichkeiten erkennen und anwenden zu können.

5 Literaturverzeichnis

1. Joint Task Force on the Management of Valvular Heart Disease of the European Society of C, European Association for Cardio-Thoracic S, Vahanian A, Alfieri O, Andreotti F, Antunes MJ, et al. Guidelines on the management of valvular heart disease (version 2012). *European heart journal*. 2012;33(19):2451-96.
2. Horstkotte D, Loogen F. The natural history of aortic valve stenosis. *European heart journal*. 1988;9 Suppl E:57-64.
3. Faggiano P, Antonini-Canterin F, Erlicher A, Romeo C, Cervesato E, Pavan D, et al. Progression of aortic valve sclerosis to aortic stenosis. *American Journal of Cardiology*. 91(1):99-101.
4. Mathieu P, Boulanger M-C. Basic Mechanisms of Calcific Aortic Valve Disease. *Canadian Journal of Cardiology*. 2014;30(9):982-93.
5. Douglas PS, Otto CM, Mickel MC, Labovitz A, Reid CL, Davis KB. Gender differences in left ventricle geometry and function in patients undergoing balloon dilatation of the aortic valve for isolated aortic stenosis. *NHLBI Balloon Valvuloplasty Registry*. *British heart journal*. 1995;73(6):548-54.
6. Krayenbuehl HP, Hess OM, Ritter M, Monrad ES, Hoppeler H. Left ventricular systolic function in aortic stenosis. *European heart journal*. 1988;9 Suppl E:19-23.
7. Carabello BA, Green LH, Grossman W, Cohn LH, Koster JK, Collins JJ, Jr. Hemodynamic determinants of prognosis of aortic valve replacement in critical aortic stenosis and advanced congestive heart failure. *Circulation*. 1980;62(1):42-8.
8. Treibel TA, Kozor R, Schofield R, Benedetti G, Fontana M, Bhuva AN, et al. Reverse Myocardial Remodeling Following Valve Replacement in Patients With Aortic Stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;71(8):860-71.
9. Kelly TA, Rothbart RM, Cooper CM, Kaiser DL, Smucker ML, Gibson RS. Comparison of outcome of asymptomatic to symptomatic patients older than 20 years of age with valvular aortic stenosis. *Am J Cardiol*. 1988;61(1):123-30.
10. Selzer A. Changing aspects of the natural history of valvular aortic stenosis. *The New England journal of medicine*. 1987;317(2):91-8.
11. Julius BK, Spillmann M, Vassalli G, Villari B, Eberli FR, Hess OM. Angina pectoris in patients with aortic stenosis and normal coronary arteries. Mechanisms and pathophysiological concepts. *Circulation*. 1997;95(4):892-8.
12. Basta LL, Raines D, Najjar S, Kioschos JM. Clinical, haemodynamic, and coronary angiographic correlates of angina pectoris in patients with severe aortic valve disease. *British heart journal*. 1975;37(2):150-7.
13. Rajappan K, Rimoldi OE, Dutka DP, Ariff B, Pennell DJ, Sheridan DJ, et al. Mechanisms of Coronary Microcirculatory Dysfunction in Patients With Aortic Stenosis and Angiographically Normal Coronary Arteries. *Circulation*. 2002;105(4):470-6.
14. van Geldorp MW, Heuvelman HJ, Kappetein AP, Busschbach JJ, Takkenberg JJ, Bogers AJ. The effect of aortic valve replacement on quality of life in symptomatic patients with severe aortic stenosis. *Netherlands heart journal : monthly journal of the Netherlands Society of Cardiology and the Netherlands Heart Foundation*. 2013;21(1):28-35.
15. Baumgartner H, Falk V, Bax JJ, De Bonis M, Hamm C, Holm PJ, et al. Corrigendum to: 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *European heart journal*. 2018;39(21):1980-.
16. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, Guyton RA, et al. 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: Executive Summary. A Report of the American College of

Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2014;129(23):2440-92.

17. Chen L, Otto CM. Longitudinal assessment of valvular heart disease by echocardiography. *Current opinion in cardiology*. 1998;13(6):397-403.

18. Faggiano P, Ghizzoni G, Sorgato A, Sabatini T, Simoncelli U, Gardini A, et al. Rate of progression of valvular aortic stenosis in adults. *Am J Cardiol*. 1992;70(2):229-33.

19. Davies SW, Gershlick AH, Balcon R. Progression of valvar aortic stenosis: a long-term retrospective study. *European heart journal*. 1991;12(1):10-4.

20. Otto CM, Pearlman AS, Gardner CL. Hemodynamic progression of aortic stenosis in adults assessed by Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol*. 1989;13(3):545-50.

21. Rahimtoola SH. The problem of valve prosthesis-patient mismatch. *Circulation*. 1978;58(1):20-4.

22. Pibarot P, Dumesnil JG. Prosthesis - patient mismatch: definition, clinical impact, and prevention. *Heart (British Cardiac Society)*. 2006;92(8):1022-9.

23. Dumesnil JG, Honos GN, Lemieux M, Beauchemin J. Validation and applications of indexed aortic prosthetic valve areas calculated by Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol*. 1990;16(3):637-43.

24. Dumesnil JG, Yoganathan AP. Valve prosthesis hemodynamics and the problem of high transprosthetic pressure gradients. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 1992;6 Suppl 1:S34-7; discussion S8.

25. Pibarot P, Dumesnil JG. Hemodynamic and clinical impact of prosthesis-patient mismatch in the aortic valve position and its prevention. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(4):1131-41.

26. De Paulis R, Sommariva L, Russo F, Tomai F, Tondo A, Pagliaricci C, et al. Doppler echocardiography evaluation of the CarboMedics valve in patients with small aortic anulus and valve prosthesis-body surface area mismatch. *The Journal of thoracic and cardiovascular surgery*. 108(1):57-62.

27. Pibarot P, Dumesnil JG, Jobin J, Lemieux M, Honos G, Durand LG. Usefulness of the indexed effective orifice area at rest in predicting an increase in gradient during maximum exercise in patients with a bioprosthesis in the aortic valve position. *Am J Cardiol*. 1999;83(4):542-6.

28. Goto S, Ikeda Y, Saldívar E, Ruggeri ZM. Distinct mechanisms of platelet aggregation as a consequence of different shearing flow conditions. *Journal of Clinical Investigation*. 1998;101(2):479-86.

29. Diehl P, Nagy F, Sossong V, Helbing T, Beyersdorf F, Olschewski M, et al. Increased levels of circulating microparticles in patients with severe aortic valve stenosis. *Thromb Haemost*. 2008;99(4):711-9.

30. Raposo G, Stoorvogel W. Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *The Journal of Cell Biology*. 2013;200(4):373-83.

31. Sitar S, Kejžar A, Pahovnik D, Kogej K, Tušek-Žnidarič M, Lenassi M, et al. Size Characterization and Quantification of Exosomes by Asymmetrical-Flow Field-Flow Fractionation. *Analytical Chemistry*. 2015;87(18):9225-33.

32. Dignat-George F, Boulanger CM. The Many Faces of Endothelial Microparticles. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2011;31(1):27-33.

33. Morel O, Jesel L, Freyssinet J-M, Toti F. Cellular Mechanisms Underlying the Formation of Circulating Microparticles. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 2011;31(1):15-26.

34. Burger D, Schock S, Thompson Charlie S, Montezano Augusto C, Hakim Antoine M, Touyz Rhian M. Microparticles: biomarkers and beyond. *Clinical Science*. 2013;124(7):423-41.
35. Caby MP, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, Raposo G, Bonnerot C. Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *International immunology*. 2005;17(7):879-87.
36. Admyre C, Grunewald J, Thyberg J, Gripenback S, Tornling G, Eklund A, et al. Exosomes with major histocompatibility complex class II and co-stimulatory molecules are present in human BAL fluid. *The European respiratory journal*. 2003;22(4):578-83.
37. Bard MP, Hegmans JP, Hemmes A, Luider TM, Willemsen R, Severijnen LA, et al. Proteomic analysis of exosomes isolated from human malignant pleural effusions. *American journal of respiratory cell and molecular biology*. 2004;31(1):114-21.
38. Navabi H, Croston D, Hobot J, Clayton A, Zitvogel L, Jasani B, et al. Preparation of human ovarian cancer ascites-derived exosomes for a clinical trial. *Blood cells, molecules & diseases*. 2005;35(2):149-52.
39. Masyuk AI, Huang BQ, Ward CJ, Gradilone SA, Banales JM, Masyuk TV, et al. Biliary exosomes influence cholangiocyte regulatory mechanisms and proliferation through interaction with primary cilia. *American journal of physiology Gastrointestinal and liver physiology*. 2010;299(4):G990-9.
40. Keller S, Rupp C, Stoeck A, Runz S, Fogel M, Lugert S, et al. CD24 is a marker of exosomes secreted into urine and amniotic fluid. *Kidney international*. 2007;72(9):1095-102.
41. Simpson RJ, Jensen SS, Lim JW. Proteomic profiling of exosomes: current perspectives. *Proteomics*. 2008;8(19):4083-99.
42. Ogawa Y, Miura Y, Harazono A, Kanai-Azuma M, Akimoto Y, Kawakami H, et al. Proteomic analysis of two types of exosomes in human whole saliva. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2011;34(1):13-23.
43. Vella LJ, Sharples RA, Lawson VA, Masters CL, Cappai R, Hill AF. Packaging of prions into exosomes is associated with a novel pathway of PrP processing. *The Journal of pathology*. 2007;211(5):582-90.
44. Gonzales PA, Pisitkun T, Hoffert JD, Tchapyjnikov D, Star RA, Kleta R, et al. Large-scale proteomics and phosphoproteomics of urinary exosomes. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2009;20(2):363-79.
45. Conde-Vancells J, Rodriguez-Suarez E, Embade N, Gil D, Matthiesen R, Valle M, et al. Characterization and comprehensive proteome profiling of exosomes secreted by hepatocytes. *Journal of proteome research*. 2008;7(12):5157-66.
46. del Conde I, Shrimpton CN, Thiagarajan P, López JA. Tissue-factor-bearing microvesicles arise from lipid rafts and fuse with activated platelets to initiate coagulation. *Blood*. 2005;106(5):1604.
47. Vicencio JM, Yellon DM, Sivaraman V, Das D, Boi-Doku C, Arjun S, et al. Plasma Exosomes Protect the Myocardium From Ischemia-Reperfusion Injury. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015;65(15):1525-36.
48. Hall JL. Exosomes Decrease Infarct Size*. *Journal of the American College of Cardiology*. 2015;65(15):1537-8.
49. Valadi H, Ekstrom K, Bossios A, Sjostrand M, Lee JJ, Lotvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nature cell biology*. 2007;9(6):654-9.
50. Barile L, Moccetti T, Marban E, Vassalli G. Roles of exosomes in cardioprotection. *European heart journal*. 2016.

51. Zhou H, Cheruvanky A, Hu X, Matsumoto T, Hiramatsu N, Cho ME, et al. Urinary exosomal transcription factors, a new class of biomarkers for renal disease. *Kidney international*. 2008;74(5):613-21.
52. Pisitkun T, Johnstone R, Knepper MA. Discovery of urinary biomarkers. *Molecular & cellular proteomics : MCP*. 2006;5(10):1760-71.
53. Schorey JS, Bhatnagar S. Exosome function: from tumor immunology to pathogen biology. *Traffic*. 2008;9(6):871-81.
54. Graner MW, Alzate O, Dechkovskaia AM, Keene JD, Sampson JH, Mitchell DA, et al. Proteomic and immunologic analyses of brain tumor exosomes. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2009;23(5):1541-57.
55. Escola JM, Kleijmeer MJ, Stoorvogel W, Griffith JM, Yoshie O, Geuze HJ. Selective enrichment of tetraspan proteins on the internal vesicles of multivesicular endosomes and on exosomes secreted by human B-lymphocytes. *The Journal of biological chemistry*. 1998;273(32):20121-7.
56. Khushman M, Bhardwaj A, Patel GK, Laurini JA, Roveda K, Tan MC, et al. Exosomal Markers (CD63 and CD9) Expression Pattern Using Immunohistochemistry in Resected Malignant and Nonmalignant Pancreatic Specimens. *Pancreas*. 2017;46(6):782-8.
57. Clayton A, Turkes A, Navabi H, Mason MD, Tabi Z. Induction of heat shock proteins in B-cell exosomes. *Journal of Cell Science*. 2005;118(16):3631-8.
58. Xu R, Greening DW, Zhu HJ, Takahashi N, Simpson RJ. Extracellular vesicle isolation and characterization: toward clinical application. *The Journal of clinical investigation*. 2016;126(4):1152-62.
59. Mehdiani A, Maier A, Pinto A, Barth M, Akhyari P, Lichtenberg A. An Innovative Method for Exosome Quantification and Size Measurement. *Journal of Visualized Experiments : JoVE*. 2015(95):50974.
60. Berezin AE, Kremzer AA, Martovitskaya YV, Samura TA, Berezina TA. The predictive role of circulating microparticles in patients with chronic heart failure. *BBA Clin*. 2015;3:18-24.
61. Beltrami C, Besnier M, Shantikumar S, Shearn AIU, Rajakaruna C, Laftah A, et al. Human Pericardial Fluid Contains Exosomes Enriched with Cardiovascular-Expressed MicroRNAs and Promotes Therapeutic Angiogenesis. *Molecular Therapy*. 25(3):679-93.
62. Momen-Heravi F, Saha B, Kodys K, Catalano D, Satishchandran A, Szabo G. Increased number of circulating exosomes and their microRNA cargos are potential novel biomarkers in alcoholic hepatitis. *Journal of translational medicine*. 2015;13:261.
63. Gey M. *Instrumentelle Analytik und Bioanalytik*. 2 ed: Springer-Verlag Berlin; 2008.
64. Lottspeich F, Engels J. *Bioanalytik*. 2 ed: Spektrum Akademischer Verlag; 2009.
65. Stryer L, Berg JM, Tymoczko JL. *Biochemie*. 6 ed: Spektrum Akademischer Verlag; 2007.
66. Ameling S, Kacprowski T, Chilukoti RK, Malsch C, Liebscher V, Suhre K, et al. Associations of circulating plasma microRNAs with age, body mass index and sex in a population-based study. *BMC Medical Genomics*. 2015;8(1):61.
67. Ivak P, Pitha J, Wohlfahrt P, Kralova Lesna I, Stavek P, Dorazilova Z, et al. Endothelial dysfunction expressed as endothelial microparticles in patients with end-stage heart failure. *Physiol Res*. 2014;63 Suppl 3:S369-73.

68. Record M, Poirot M, Silvente-Poirot S. Emerging concepts on the role of exosomes in lipid metabolic diseases. *Biochimie*. 2014;96(Supplement C):67-74.
69. Gray WD, French KM, Ghosh-Choudhary S, Maxwell JT, Brown ME, Platt MO, et al. Identification of Therapeutic Covariant MicroRNA Clusters in Hypoxia-Treated Cardiac Progenitor Cell Exosomes Using Systems Biology. *Circulation Research*. 2015;116(2):255-63.
70. Barile L, Lionetti V, Cervio E, Matteucci M, Gherghiceanu M, Popescu LM, et al. Extracellular vesicles from human cardiac progenitor cells inhibit cardiomyocyte apoptosis and improve cardiac function after myocardial infarction. *Cardiovascular Research*. 2014;103(4):530-41.
71. Hergenreider E, Heydt S, Treguer K, Boettger T, Horrevoets AJ, Zeiher AM, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs. *Nature cell biology*. 2012;14(3):249-56.

6 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Payam Akhyari für die Überlassung des Themas dieser Dissertation und für die hervorragenden Hilfestellungen, die entscheidend zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen haben. Ich möchte mich herzlich für die wertvollen Anregungen, die kritischen Hinweise und insgesamt für eine äußerst schöne Zusammenarbeit bedanken.

Ich möchte mich insbesondere bei meinem Betreuer Herrn Dr. Andreas Weber herzlich bedanken, der mir stets mit Rat und Tat zur Seite stand. Ich danke dir für die unzähligen Stunden gemeinsamer Arbeit, die fachliche Expertise und die unermüdliche Unterstützung beim Fertigstellen dieser Arbeit. Außerdem danke ich auch Angela Weber für ihre unglaubliche Geduld und liebevolle Art.

Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Stephan Sixt, der im OP alles möglich gemacht hat, stets ansprechbar war und im klinischen Alltag die nötige Unterstützung gegeben hat. Ebenso möchte ich mich bei Herrn Dr. Philipp Rellecke für die konsequente und zuverlässige Durchführung der Echokardiographien und für die vielen wertvollen Erläuterungen bedanken. Mein Dank gilt auch den Operateuren der Herzchirurgie, die sich immer Zeit nahmen, um die Operationen zu erläutern und alle Fragen zu beantworten. Dr. Clemens Helmbrecht und Dr. Sascha Raschke danke ich für die stetige Erreichbarkeit und sehr zuverlässige und gewissenhafte Zusammenarbeit. Ich danke Dr. Andreas Barbian für die Erstellung und Bereitstellung der elektronenmikroskopischen Bilder.

Ich danke dem gesamten Team der HURRICANE-Studie Lauren Lageveen, Yeo Min Lee, Letizia Cardone und Anna-Lena Büttner für den tollen Zusammenhalt und die Freundschaft. Außerdem danke ich allen Mitarbeitern des Labors für die großartige Arbeitsatmosphäre, die vielen gemeinschaftlichen Unternehmungen, die unzähligen gemeinsamen Stunden und die wunderbaren Erinnerungen.

Zuletzt möchte ich mich von ganzen Herzen bei meinem Freund Jannik Konein und meinen Eltern bedanken, die mir den Rücken freigehalten haben, immer für mich da waren und unglaubliches Verständnis aufgebracht haben.

7 Anhang

Tabelle 7.1: Medikation der biologischen AKEs.

Medikament	Einnahme in %				
	U1	U2	U3	U4	U5
Katecholamine	0	93,6	75,6	2,56	0
Statine	47,4	18	24,4	50	61,5
Beta-Blocker	37,2	1,28	5,13	61,5	70,5
ACE ¹ -Hemmer	32,1	1,28	7,69	33,3	37,2
AT ² -Rezeptor-Blocker	23,1	0	3,85	25,6	26,9
Kalzium-Antagonisten	11,5	0	6,41	19,2	19,2
Orale Antikoagulantien	48,7	1,28	39,7	76,9	88,5
Diuretika	25,7	7,69	44,9	73,1	35,9
Digitalis	0	0	0	0	1,28
Antiarrhythmika	0	1,28	2,56	18	5,13

¹angiotensin-converting-enzyme, ²Angiotensin

Tabelle 7.2: Medikation der mechanischen AKEs.

Medikament	Einnahme in %				
	U1	U2	U3	U4	U5
Katecholamine	0	100	80	0	0
Statine	60	20	20	40	40
Beta-Blocker	60	0	0	80	80
ACE ¹ -Hemmer	40	0	0	40	40
AT ² -Rezeptor-Blocker	0	0	0	0	20
Kalzium-Antagonisten	40	0	20	40	20
Orale Antikoagulantien	40	20	40	40	100
Diuretika	20	20	40	80	20
Digitalis	0	0	0	0	0
Antiarrhythmika	0	0	0	0	20

¹angiotensin-converting-enzyme, ²Angiotensin

Tabelle 7.3: Laborwerte der Patienten mit biologischen AKEs.

Laborwerte	Mittelwert $\pm$ SD				
	U1	U2	U3	U4	U5
Hämoglobin [g/dl]	13,5 $\pm$ 1,47	9,59 $\pm$ 1,01	10,8 $\pm$ 1,15	10,7 $\pm$ 1,31	13 $\pm$ 1,17
Hämatokrit [%]	40,4 $\pm$ 4	27,8 $\pm$ 3,86	32 $\pm$ 3,4	32,6 $\pm$ 3,97	39,6 $\pm$ 3,2
Leukozytenzahl [1000/ μ l]	7,36 $\pm$ 1,8	9,13 $\pm$ 3,08	9,99 $\pm$ 3,05	9,17 $\pm$ 3,27	7,17 $\pm$ 1,58
Thrombozytenzahl [1000/ μ l]	241 $\pm$ 66,2	115 $\pm$ 33,1	145 $\pm$ 43,9	252 $\pm$ 92,1	239 $\pm$ 75,3
ACT ¹ [s]	174 $\pm$ 110	163 $\pm$ 90,8	-	-	-
Quick [%]	101 $\pm$ 11,9	66,2 $\pm$ 17,7	78,5 $\pm$ 10	90 $\pm$ 19,7	88,1 $\pm$ 26,8
INR ²	1 $\pm$ 0,14	1,3 $\pm$ 0,17	1,16 $\pm$ 0,10	1,14 $\pm$ 0,46	1,18 $\pm$ 0,48
PTT ³ [s]	24,3 $\pm$ 3,09	31 $\pm$ 5,49	32,7 $\pm$ 5,29	26,4 $\pm$ 4,41	26,1 $\pm$ 5,80
CRP ⁴ [mg/dl]	0,34 $\pm$ 0,35	0,76 $\pm$ 1,15	6,62 $\pm$ 4,47	6,74 $\pm$ 5,64	0,62 $\pm$ 1,09
Kreatinin [mg/dl]	0,99 $\pm$ 0,26	0,91 $\pm$ 0,19	0,94 $\pm$ 0,28	0,95 $\pm$ 0,29	1,09 $\pm$ 0,36
Kreatinkinase [U/l]	118 $\pm$ 68,3	331 $\pm$ 196	661 $\pm$ 433	70,1 $\pm$ 52,4	109 $\pm$ 77
LDH ⁵ [U/l]	218 $\pm$ 65,3	269 $\pm$ 75,1	356 $\pm$ 99,1	318 $\pm$ 75,6	229 $\pm$ 55,9
Harnstoff [mg/dl]	37,8 $\pm$ 13	30,1 $\pm$ 11,2	33 $\pm$ 13	34,1 $\pm$ 17,7	42,8 $\pm$ 18,1
GOT ⁶ [U/l]	27,4 $\pm$ 9,92	42,2 $\pm$ 29,5	73,1 $\pm$ 62	41,5 $\pm$ 24,2	25,2 $\pm$ 10,1
Troponin [ng/l]	18,8 $\pm$ 15,7	496 $\pm$ 327	624 $\pm$ 365	221 $\pm$ 208	17,4 $\pm$ 18,7
GPT ⁷ [U/l]	28,6 $\pm$ 15,6	-	-	-	-
Gesamtbilirubin [mg/dl]	0,47 $\pm$ 0,23	-	-	-	-
Calcium [mmol/l]	2,41	2,20	-	-	2,38

Laborwerte	Mittelwert $\pm$ SD				
	U1	U2	U3	U4	U5
	$\pm 0,1$	$\pm 0,11$			$\pm 0,1$
Natrium [mmol/l]	141 $\pm 2,48$	-	-	140 $\pm 2,32$	-
Kalium [mmol/l]	4,42 $\pm 0,39$	-	-	4,44 $\pm 0,40$	-
LDL ⁸ [mg/dl]	-	104 $\pm 33,2$	-	-	111 $\pm 34,9$
HDL ⁹ [mg/dl]	-	50,5 $\pm 17,2$	-	-	57,5 ± 17
Triglyceride [mg/dl]	-	171 $\pm 62,3$	-	-	184 $\pm 94,8$
Phosphat [mg/dl]	-	1,09 $\pm 0,13$	-	-	1,19 $\pm 0,16$
TSH ¹⁰ [μ l/U/l]	1,46 $\pm 1,09$	-	-	-	-
Blutzucker [mmol/L]	121 $\pm 32,3$	-	-	-	-
eGFR ¹¹ (MDRD-Formel)	67,8 $\pm 15,7$	-	-	-	-

¹activated clotting time, ²international normalized ratio, ³partial thromboplastin time, ⁴C-Reaktives-Protein, ⁵L-Lactatdehydrogenase, ⁶Glutamat-Oxalat-Transaminase, ⁷Glutamat-Pyruvat-Transaminase, ⁸low density lipoprotein, ⁹high density lipoprotein, ¹⁰Thyroidea-stimulierendes-Hormon, ¹¹glomeruläre Filtrationsrate

Tabelle 7.4: Laborwerte der Patienten mit mechanischen AKEs.

Laborwerte	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung				
	U1	U2	U3	U4	U5
Hämoglobin [g/dl]	15,1 1,18	9,46 0,63	10,3 1,31	10,2 1,04	14,6 1,94
Hämatokrit [%]	43,9 2,93	27,7 2,08	30,6 4,55	30,3 3	43,6 4,81
Leukozytenzahl [1000/ μ l]	7,86 1,99	10 3,95	12,2 4,16	10,3 2,87	7,82 1,4

Laborwerte	Mittelwert ± Standardabweichung				
	U1	U2	U3	U4	U5
Thrombozytenzahl [1000/μl]	245 39	159 27,1	193 10,4	285 132	267 52,5
Quick [%]	86 24,7	62,4 10,1	75,4 13,1	67 22,9	33,8 1,94
INR ²	1,18 0,32	1,32 0,12	1,18 0,15	1,34 0,30	2,16 0,10
PTT ³ [s]	26,8 4,17	31,2 3,60	29 2,45	35,6 12,2	36 3,85
CRP ⁴ [mg/dl]	0,76 1,09	0,8 0,85	7,2 1,57	7,34 4,39	0,5 0,52
Kreatinin [mg/dl]	1,04 0,19	1,17 0,25	1,14 0,41	1 0,4	1 0,21
Kreatinkinase [U/l]	140 43,3	395 217	692 264	147 161	143 51,6
LDH ⁵ [U/l]	246 24	343 63,6	382 86,3	315 20,8	316 65,1
Harnstoff [mg/dl]	37,4 9,56	34,7 6,80	34,8 6,49	33 8,46	34,8 8,91
GOT ⁶ [U/l]	27 3,35	55,8 24,1	82,6 44	38,5 5,59	27,8 4,79
Troponin [ng/l]	26 23	474 351	624 305	234 47,7	13,8 2,79
GPT ⁷ [U/l]	36,2 13,3	-	-	-	-
Gesamtbilirubin [mg/dl]	1,04 0,34	-	-	-	-
Calcium [mmol/l]	2,4 0,13	2,13 0,09	-	-	2,33 0,07
Natrium [mmol/l]	141 2,14	-	-	137 2,58	-
Kalium [mmol/l]	4,44 0,14	-	-	4,48 0,29	-
LDL ⁸ [mg/dl]	-	96 50,3	-	-	120 41,1
HDL ⁹ [mg/dl]	-	45,5 12,5	-	-	52,6 8,4
Triglyceride [mg/dl]	-	129	-	-	110

Laborwerte	Mittelwert $\pm$ Standardabweichung				
	U1	U2	U3	U4	U5
		42,5			24,9
Phosphat [mg/dl]	-	1,08 0,15	-	-	1,02 0,15
TSH ¹⁰ [μ l/U/l]	1,56 0,97	-	-	-	-
Blutzucker [mmol/l]	114 16,9	-	-	-	-
eGFR ¹¹ (MDRD-Formel)	69,1 12,4	-	-	-	-

¹activated clotting time, ²international normalized ratio, ³partial thromboplastin time, ⁴C-Reaktives-Protein, ⁵L-Lactatdehydrogenase, ⁶Glutamat-Oxalat-Transaminase, ⁷Glutamat-Pyruvat-Transaminase, ⁸low density lipoprotein, ⁹high density lipoprotein, ¹⁰Thyroidea-stimulierendes-Hormon, ¹¹glomeruläre Filtrationsrate

Tabelle 7.5: Intensiv-Daten.

	Biologischer AKE Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)	Mechanischer AKE Mittelwert $\pm$ SD oder n (%)
IABP ¹ , h	0 (0)	0 (0)
Beatmung, h	10,2 $\pm$ 13,5	8,5 $\pm$ 3,26
Intensiv-Dauer, h	45,1 $\pm$ 62,9	27,7 $\pm$ 11,6
Re-Intubation	1 (1)	1 (20)
Re-Thorakotomie	3 (4)	0 (0)
Gesamtdrainagevolumen, ml	1314 $\pm$ 1164	948 $\pm$ 511

¹intraaortale Ballonpumpe

Tabelle 7.6: Anzahl Transfusionen.

Transfusionen	Mittelwert $\pm$ SE			
	biologische AKEs		mechanische AKEs	
	Peri-OP	Post-OP	Peri-OP	Post-OP
EKs ¹	2,89 $\pm$ 2,58	0,31 $\pm$ 0,83	1,4 $\pm$ 1,96	0,1 $\pm$ 0,3
TKs ²	0,84 $\pm$ 1,21	0,16 $\pm$ 0,56	1,2 $\pm$ 1,6	0,1 $\pm$ 0,3
FFPs ³	0,29 $\pm$ 1,21	0,23 $\pm$ 0,90	0 $\pm$ 0	0,2 $\pm$ 0,6

¹Erythrozytenkonzentrate, ²Thrombozytenkonzentrate, ³gefrorenes Frischplasma

Es folgt die Aufklärung über die Studienteilnahme.

Patienteninformation

Verlauf von zirkulierenden Mikropartikeln nach einem Aortenklappenersatz bei Patienten mit isolierter hochgradiger Aortenklappenstenose

Kurztitel: Mikropartikel bei AKE

Sehr geehrte Patientin, sehr geehrter Patient,

Ihr Arzt hat bei Ihnen eine hochgradige Aortenklappenstenose festgestellt, die eine operative Therapie durch die Implantation einer Herzklappenprothese erfordert. Die Wahl der Klappenprothese, die bei Ihnen implantiert werden soll, erfolgt nach rein medizinischer Indikation sowie nach Ihren Präferenzen und völlig unabhängig von der Teilnahme an dieser Studie.

Informationen zur klinischen Prüfung

Sie werden gebeten, an einer klinischen Untersuchung teilzunehmen, in der eine von Ihnen entnommene Blutprobe auf verschiedene laborchemische Werte hin untersucht werden soll. Die Teilnahme an dieser Studie hat für Ihre medizinische Behandlung weder einen positiven, noch einen negativen Effekt. Die Teilnahme an dieser Studie bedeutet für Sie lediglich, dass im Rahmen der therapeutisch routinemäßig indizierten Blutentnahmen an vier Zeitpunkten eine zusätzliche Abnahme von 20 ml erfolgt. Die Blutabnahme für diese Studie wird im zeitlichen Zusammenhang mit Blutabnahmen eingeplant, die im Rahmen Ihrer weiteren postoperativen Behandlung und Nachsorge notwendig sind, und denen Sie sich unabhängig von einer Teilnahme an dieser Studie unterziehen müssten. Darüber hinaus werden nur die üblichen Untersuchungen, denen Sie sich auch unterziehen müssten, wenn Sie nicht an der Untersuchung teilnehmen würden, vorgenommen. Drei Monate nach dem Eingriff werden Sie zu einem Nachsorgetermin gebeten, an dem die Funktion des Herzens im Verlauf untersucht werden soll.

Ziel der Untersuchung ist es, einen detaillierten Einblick in den Verlauf von zell-sezernierten Mikropartikeln zu gewinnen. Diese Erkenntnisse könnten gegebenenfalls dazu beitragen, die heute angewandten Therapieverfahren zu optimieren und schonender zu gestalten.

Risiken

Durch Ihre Teilnahme an der klinischen Untersuchung sind Sie keinem erhöhten Operationsrisiko ausgesetzt. Die Blutentnahme erfolgt in der Regel im Rahmen einer Routine-Blutabnahme. Zu den Risiken der Blutabnahme gehört das Entstehen blauer Flecken im Bereich der Einstichstelle. Es besteht das sehr geringe Risiko einer lokalen oder allgemeinen Infektion. In extrem seltenen Fällen kann es zu einer Verletzung eines Hautnervs, evtl. sogar mit chronischem Verlauf, kommen.

Vertraulichkeit

Damit Sie an der klinischen Prüfung teilnehmen können, muss Ihre Einwilligung vorliegen, nachdem Sie durch einen Arzt über Wesen, Bedeutung und Tragweite der klinischen Prüfung aufgeklärt worden sind und mit dieser Einwilligung zugleich erklären, dass Sie mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten durch die Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie und mit der Auswertung dieser Daten durch die Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie einverstanden sind. Sie selbst haben auch die Möglichkeit, Ihre für die Prüfung erhobenen Daten einzusehen.

Die ärztliche Schweigepflicht und die Bestimmungen des Bundesdatenschutzgesetzes werden eingehalten. Es werden nur pseudonymisierte Daten* ausgewertet und ggf. auch nur in pseudonymisierter Form weitergegeben. Dritte erhalten keinen Einblick in Originalunterlagen.

(*Pseudonymisierung bedeutet Verschlüsselung von Daten/Proben ohne Namensnennung nur mit Nummern und ggf. mit dem Geburtsdatum codiert. Die Zuordnung der Daten oder Proben zu einer Person ist nur möglich, wenn hierfür der Schlüssel eingesetzt wird, mit dem die Daten pseudonymisiert wurden.)

Freiwillige Teilnahme

Ihre Teilnahme an dieser klinischen Prüfung ist freiwillig. Sie können jederzeit Ihre Teilnahme verweigern, ohne dass das zu irgendeinem Zeitpunkt Nachteile oder den Verlust der ärztlichen Behandlung für Sie zur Folge hat. Auch kann Ihre Teilnahme an der klinischen Prüfung ohne Einwilligung abgebrochen werden, wenn eine Fortführung nach dem Ermessen Ihres Arztes oder der Ethik-Kommission nicht in Ihrem besten Sinne ist.

Rücktrittsrecht

Sie können Ihr Einverständnis jederzeit, ohne Angabe von Gründen und ohne Nachteile für Ihre weitere medizinische Versorgung, zurückziehen. Bei Rücktritt von der Studie kann auf Wunsch bereits gewonnenes Daten-/Probenmaterial vernichtet werden. Sie können sich beim Ausscheiden aus der Studie entscheiden, ob Sie mit der Auswertung des Materials bzw. Ihrer Studiendaten einverstanden sind oder nicht. Sollten Sie zu einem späteren Zeitpunkt Ihre Entscheidung ändern wollen, setzen Sie sich bitte mit dem Studienarzt in Verbindung.

Vergütung für die Teilnahme

Sie erhalten für die Teilnahme an der klinischen Prüfung keine finanzielle Entschädigung.

Fragen zur klinischen Prüfung

Wenn Sie der Meinung sind, dass nicht alle Fragen zur klinischen Prüfung zufriedenstellend beantwortet sind, wenden Sie sich bitte an den Prüfarzt Herrn PD Dr. med. Akhyari (Tel.: 0211-81-18331) oder an die entsprechende Abteilung des Krankenhauses. Wenn Sie Fragen zu Ihren Rechten als Teilnehmer an einer klinischen Prüfung haben, so können Sie sich jederzeit an uns wenden.

Einverständniserklärung

Ich habe die schriftliche Patienteninformation erhalten, diese gelesen und voll inhaltlich verstanden, bzw. die Informationen zu meiner Teilnahme an der klinischen Studie *Mikropartikel bei AKE* sind mir vorgelesen worden, und ich erkläre mich freiwillig bereit zur

Teilnahme an dieser Studie. Ich hatte die Gelegenheit, alle erdenklichen Fragen zu stellen und habe für mich zufriedenstellende Antworten erhalten.

Ich weiß, dass meine Teilnahme an der klinischen Prüfung freiwillig ist und dass ich diese Einverständniserklärung jederzeit und ohne Angabe von Gründen widerrufen kann und dass eine Beendigung meiner Teilnahme an dieser klinischen Prüfung keinen Einfluss auf die weitere ärztliche Behandlung hat.

Information und Einwilligungserklärung zum Datenschutz

1) Ich bin damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie erhobene Daten, insbesondere Angaben über meine Gesundheit, erhoben, in Papierform oder auf elektronischen Datenträgern pseudonymisiert aufgezeichnet und gespeichert werden und dass die Studiendaten in anonymisierter Form für wissenschaftliche Darstellungen und Veröffentlichungen verwendet werden dürfen.

2) Ich bin darüber aufgeklärt worden, dass ich meine Einwilligung in die Aufzeichnung, Speicherung und Verwendung meiner Daten jederzeit widerrufen kann. Bei einem Widerruf werden meine Daten unverzüglich gelöscht.

3) Ich erkläre mich damit einverstanden, dass meine Daten nach Beendigung oder Abbruch der Studie 10 Jahre lang aufbewahrt werden. Danach werden meine personenbezogenen Daten gelöscht, soweit dem nicht gesetzliche, satzungsgemäße oder vertragliche Aufbewahrungsfristen entgegenstehen.

Name des/der Patienten/-in
(Druckbuchstaben oder Etikett)

Unterschrift des/der Patienten/-in

Datum

Unterschrift des aufklärenden Arztes

Datum

☐

Ich erkläre mich damit einverstanden, dass im Rahmen dieser Studie gewonnenes Material auch für spätere Untersuchungen zu kardialen Erkrankungen verwendet werden kann.

Düsseldorf, den _____
Datum Name des Patienten Unterschrift des Patienten

Auf den nachfolgenden Seiten folgt das CRF.

--	--	--

Laufende Nr. des Probanden

--	--	--	--	--	--	--	--

Patienten ID

--	--	--	--	--	--

T T M M J J
Datum der Untersuchung

A: Einschlusskriterien

U1 Prä-OP-Daten [1/5]

- ✓ Schriftliche Einwilligung des Patienten zur Teilnahme an dieser Studie
- ✓ Alter ≥ 18 Jahre
- ✓ hämodynamisch signifikante Aortenklappenstenose ad Ersatz

B: Primäre Ausschlusskriterien

- Ø Höhergradiges Klappenvitium anderer Klappen als der Aortenklappe ($>11^\circ$)
- Ø Z.n. Myokardinfarkt innerhalb der letzten 30 Tage
- Ø peripher-arterielle Verschlusskrankheit ($>$ Stadium IIb nach Fontain)
- Ø Schwere Einschränkung der LV-Funktion (EF $> 30\%$)

C: Sekundäre Ausschlusskriterien

- Ø Aktive maligne Erkrankung
- Ø Thromboembolische Ereignisse in den letzten 6 Monaten (unabhängig von Quelle)
- Ø Autoimmunerkrankungen
- Ø Entzündungsprozesse
- Ø Dialyse

D: Patienteneinschluss / Einverständniserklärung

Patienteneinschluss: ☐ Ja ☐ Nein
(Ein-/ Ausschlusskriterien zutreffend)

--	--	--	--	--	--

T T M M J J
Datum der Unterschrift

E: Demografische Daten

Alter:

--	--	--

 Jahre

Größe:

--	--	--

 cm

Gewicht:

--	--	--

 kg

Oberfläche:

--	--	--

 qm

*Daten vom Narkoseleitungsprotokoll
(Anästhesieprotokoll)*

Geschlecht: ☐ männlich

☐ weiblich

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

F: Anamnese

U1 Prä-OP-Daten [2/5]

Kardiale Dekompensation:	☐ Ja ☐ Nein	Relevanz der KHK: ☐ nicht relevant ☐ relevant →	Art der KHK
KHK	☐ Ja ☐ Nein		
Synkope:	☐ Ja ☐ Nein	HTN:	☐ Ja ☐ Nein
Nikotin:	☐ Ex-Nikotin ☐ Ja ☐ Nein	Lungenerkrankungen:	☐ Ja ☐ Nein
Hämorrhagie:	☐ Ja ☐ Nein	Hämorrhagie-Art: ☐ Magen Darm ☐ Nasenblutung ☐ Bei nichtkardialen Vor-OP	
Diabetes mellitus:	☐ Typ I ☐ Typ II ☐ Nein		
Pulmonale Hypertonie:	☐ Ja ☐ Nein		
Bekannte Herzrhythmusstörungen:	☐ Ja ☐ Nein	Herzrhythmusstörung-Art:	
Fettstoffwechselstörung:	☐ Ja ☐ Nein	Sonstige Erkrankungen 	
Lebererkrankungen:	☐ Ja ☐ Nein		
Sonstige Erkrankungen:	☐ Ja ☐ Nein		
Vorhandene Implantate mit Kontakt zum Blut:	☐ Herzschrittmacher ☐ Aortenstent ☐ Gefäßprothesen ☐ Sonstige		
NYHA:	☐ I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐ unbekannt		
Herzkatheter:	☐ Ja ☐ Nein	 T T M M J J	

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

U1 Prä-OP-Daten [3/5]

G: Medikation *Medikamente am Tag der Aufnahme*

Kathecholinamin:	☐ Ja ☐ Nein	Orale Antikoagulantien:	☐ Ja ☐ Nein
Statine:	☐ Ja ☐ Nein	Diuretika:	☐ Ja ☐ Nein
β-Blocker:	☐ Ja ☐ Nein	Digitalis:	☐ Ja ☐ Nein
ACE-Hemmer:	☐ Ja ☐ Nein	Antiarrhythmika:	☐ Ja ☐ Nein
AT1-Antagonisten:	☐ Ja ☐ Nein	Sonstige	
Ca-Antagonisten:	☐ Ja ☐ Nein		

H: Untersuchung Blutdruck

RR Systolisch:		mmHg
	Systolischer Blutdruck	
RR Diastolisch:		mmHg
	Diastolischer Blutdruck	

I: EKG

Herzrhythmusstörung:	☐ Nein ☐ atrial ☐ AV-Block ☐ ventrikulär ☐ kombiniert	Bemerkungen
Herzfrequenz:	bpm	

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

K: Labor

U1 Prä-OP-Daten [5/5]

Hämoglobin:		g/dl	GOT:		U/l
Hämatokrit:		%	GPT:		U/l
Leukozytenzahl:		1000/ μ l	Lipase:		U/l
Thrombozytenzahl:		1000/ μ l	Gesamtbilirubin:		mg/dl
ACT:		s	Kreatinkinase:		U/l
Quick:		%	Calcium:		mmol/l
INR:			Natrium:		mmol/l
PTT:		s	Kalium:		mmol/l
CRP:		mg/l	Troponin:		ng/l
Kreatinin:		mg/dl	TSH:		uI/U/l
Harnstoff:		mg/dl	Gesamteiweiß:		g/dl
LDH:		U/l			

L: Ereignisse / Protokollabweichungen

Sind unerwünschte Ereignisse aufgetreten?	nein ☐	ja ☐	→ Formular "Unerwünschte Ereignisse" !
Sind Protokollabweichungen aufgetreten?	☐	☐	→ Formular "Protokollabweichungen" !

 T T M M J J	Verantwortlicher Arzt	Durchführende Person(en)
-------------------------------------	-----------------------	--------------------------

Hurricane II Studie

Version 5 – 05.08.2015

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

A: Medikation Bei Ankunft auf Intensivstation

U2 Intra-OP-Daten [1/5]

Kathecholamin:	☐ Ja ☐ Nein	Orale Antikoagulantien:	☐ Ja ☐ Nein
Statine:	☐ Ja ☐ Nein	Diuretika:	☐ Ja ☐ Nein
β-Blocker:	☐ Ja ☐ Nein	Digitalis:	☐ Ja ☐ Nein
ACE-Hemmer:	☐ Ja ☐ Nein	Antiarrhythmika:	☐ Ja ☐ Nein
AT1-Antagonisten:	☐ Ja ☐ Nein	Sonstige	
Ca-Antagonisten:	☐ Ja ☐ Nein		

B: Untersuchung Blutdruck

mmHg / mmHg
Systolischer Blutdruck Diastolischer Blutdruck

OP- Ende; letzter Eintrag auf Anästhesiebogen

C: Transfusion (intraoperativ)

Transfusion erfolgt?: ☐ Ja ☐ Nein

Details →

Transfusion EK: Einheiten

Transfusion ThK: Einheiten

Transfusion FFP: Einheiten

D: EKG Bei Ankunft auf Intensivstation

EKG-Veränderungen: ☐ Ja ☐ Nein

welche? →

Herzrhythmusstörung:

☐ Nein

☐ atrial

☐ AV-Block

☐ ventrikulär

☐ kombiniert

Herzfrequenz: bpm

Bemerkungen

OP- Ende; letzter Eintrag auf Anästhesiebogen

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

U2 Intra-OP-Daten [4/5]

G: Labor

Bei Ankunft auf Intensivstation

Hämoglobin:		g/dl	Quick:		%
Hämatokrit:		%	INR:		
Leukozytenzahl:		1000/ μ l	PTT:		s
Thrombozytenzahl:		1000/ μ l	Harnstoff:		mg/dl
ACT: Letzter Wert Anästhesiebogen		s	CRP:		mg/l
Calcium:		mmol/l	HDL:		mg/dl
Albumin:		g/dl	LDL:		mg/dl
BZ: 1. Wert Anästhesiebogen		mmol/l	Triglyceride:		mg/dl
Kreatinkinase:		U/l	GOT:		U/l
LDH:		U/l	Troponin:		ng/l
Kreatinin:		mg/dl	Phosphat:		mmol/l

H: OP-Daten

OP Datum:		OP Dauer:	min
	T T M M J J		Schnitt-Naht-Dauer
EKZ Dauer:	min	X-clamp Dauer:	min
	Dauer der extrakorporalen Zirkulation		Dauer der Aortenklammung

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

A: Medikation

U3 1. Tag Post-OP [1/2]

Kathecholin:	☐ Ja ☐ Nein	Orale Antikoagulantien:	☐ Ja ☐ Nein
Statine:	☐ Ja ☐ Nein	Diuretika:	☐ Ja ☐ Nein
β-Blocker:	☐ Ja ☐ Nein	Digitalis:	☐ Ja ☐ Nein
ACE-Hemmer:	☐ Ja ☐ Nein	Antiarrhythmika:	☐ Ja ☐ Nein
AT1-Antagonisten:	☐ Ja ☐ Nein	Sonstige	
Ca-Antagonisten:	☐ Ja ☐ Nein		

B: Untersuchung Blutdruck

mmHg / mmHg 24h Post-OP
Systolischer Blutdruck Diastolischer Blutdruck

C: Transfusion (seit Operation)

Transfusion erfolgt?: ☐ Ja ☐ Nein

↓ Details →

Transfusion EK:		Einheiten
Transfusion ThK:		Einheiten
Transfusion FFP:		Einheiten

D: EKG

EKG-Veränderungen: ☐ Nein ☐ Ja

Herzrhythmusstörung: ☐ Nein ☐ atrial ☐ AV-Block ☐ ventrikulär ☐ kombiniert

↓ welche? →

Herzfrequenz: bpm

Bemerkungen

--	--	--

Laufende Nr. des Probanden

--	--	--	--	--	--	--	--

Patienten ID

--	--	--	--	--	--

T T M M J J
Datum der Untersuchung

E: Labor

U3 1. Tag Post-OP [2/2]

Hämoglobin:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					g/dl	GOT:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					U/l
Hämatokrit:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					%	Kreatinkinase:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					U/l
Leukozytenzahl:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					1000/ μ l	Troponin:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					ng/l
Thrombozytenzahl:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					1000/ μ l	LDH:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					U/l
Quick:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					%	Harnstoff:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					mg/dl
INR:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>						Kreatinin:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					mg/dl
PTT:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					s	CRP:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					mg/l

F: Ereignisse / Protokollabweichungen

	nein	ja	
Sind unerwünschte Ereignisse aufgetreten?	☐	☐	→ Formular "Unerwünschte Ereignisse" !
Sind Protokollabweichungen aufgetreten?	☐	☐	→ Formular "Protokollabweichungen" !

<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table> T T M M J J							Verantwortlicher Arzt	Durchführende Person(en)

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

U4 7. Tag Post-OP [1/4]

A: Medikation

Kathecholinamin:

☐ Ja ☐ Nein

Statine:

☐ Ja ☐ Nein

β-Blocker:

☐ Ja ☐ Nein

ACE-Hemmer:

☐ Ja ☐ Nein

AT1-Antagonisten:

☐ Ja ☐ Nein

Ca-Antagonisten:

☐ Ja ☐ Nein

Orale Antikoagulantien:

☐ Ja ☐ Nein

Diuretika:

☐ Ja ☐ Nein

Digitalis:

☐ Ja ☐ Nein

Antiarrhythmika:

☐ Ja ☐ Nein

Sonstige

B: Untersuchung Blutdruck

Systolischer Blutdruck

mmHg /

Diastolischer Blutdruck

mmHg

C: Transfusion (seit letzter Kontrolle)

Transfusion erfolgt?:

☐ Ja ☐ Nein

Details

Transfusion EK:

Einheiten

Transfusion ThK:

Einheiten

Transfusion FFP:

Einheiten

D: EKG

EKG-Veränderungen:

☐ Nein ☐ Ja

Herzrhythmusstörung:

☐ Nein
☐ atrial
☐ AV-Block
☐ ventrikulär
☐ kombiniert

welche?

Herzfrequenz:

bpm

Bemerkungen

--	--	--

Laufende Nr. des Probanden

--	--	--	--	--	--	--	--

Patienten ID

--	--	--	--	--	--

T T M M J J
Datum der Untersuchung

U4 7. Tag Post-OP [2/4]

E: Intensiv-Daten

IABP-Dauer:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				h		
Beatmung:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				h	Re-Intubation: ☐ Ja ☐ Nein	
Intensiv-Dauer:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				h		
Gesamtdrainagevolumen:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td><td></td></tr></table>					ml	Re-Thorakotomie: ☐ Ja ☐ Nein

F: Demografische Daten

Gewicht:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				kg	Oberfläche:	<table border="1"><tr><td></td><td></td><td></td></tr></table>				qm

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

H: Labor

U4 7. Tag Post-OP [4/4]

Hämoglobin:		g/dl	GOT:		U/l
Hämatokrit:		%	LDH:		U/l
Leukozytenzahl:		1000/ μ l	Natrium:		mmol/l
Thrombozytenzahl:		1000/ μ l	Kalium:		mg/dl
Quick:		%	Troponin:		ng/l
INR:			Harnstoff:		mg/dl
PTT:		s	Kreatinin:		mg/dl
CRP:		mg/l	Kreatinkinase:		U/l

I: Ereignisse / Protokollabweichungen

Sind unerwünschte Ereignisse aufgetreten?	nein ☐	ja ☐ → Formular "Unerwünschte Ereignisse" !
Sind Protokollabweichungen aufgetreten?	☐	☐ → Formular "Protokollabweichungen" !

 T T M M J J	Verantwortlicher Arzt	Durchführende Person(en)
-------------------------------------	-----------------------	--------------------------

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

A: Demografische Daten

U5 3 Monate Post-OP [1/4]

Gewicht: kg

Oberfläche: qm

B: Medikation

Statine: ☐ Ja ☐ Nein

β-Blocker: ☐ Ja ☐ Nein

ACE-Hemmer: ☐ Ja ☐ Nein

AT1-Antagonisten: ☐ Ja ☐ Nein

Ca-Antagonisten: ☐ Ja ☐ Nein

Orale Antikoagulantien: ☐ Ja ☐ Nein

Diuretika: ☐ Ja ☐ Nein

Digitalis: ☐ Ja ☐ Nein

Antiarrhythmika: ☐ Ja ☐ Nein

Sonstige

C: Untersuchung Blutdruck

mmHg / mmHg
Systolischer Blutdruck Diastolischer Blutdruck

D: Transfusion (seit letzter Kontrolle)

Transfusion erfolgt?: ☐ Ja ☐ Nein

E: EKG

EKG-Veränderungen: ☐ Nein ☐ Ja

Herzrhythmusstörung: ☐ Nein
☐ atrial
☐ AV-Block
☐ ventrikulär
☐ kombiniert

welche?

Herzfrequenz: bpm

Bemerkungen

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

F: Anamnese

U5 3 Monate Post-OP [2/4]

Kardiale Dekompensation:	☐ Ja ☐ Nein	Relevanz der KHK: ☐ nicht relevant ☐ relevant →	Art der KHK
KHK	☐ Ja ☐ Nein		
Synkope:	☐ Ja ☐ Nein	HTN:	☐ Ja ☐ Nein
Nikotin:	☐ Ex-Nikotin ☐ Ja ☐ Nein	Lungenerkrankungen:	☐ Ja ☐ Nein
Hämorrhagie:	☐ Ja ☐ Nein	Hämorrhagie-Art: ☐ Magen Darm ☐ Nasenblutung ☐ Bei nichtkardialen Vor-OP	
Diabetes mellitus:	☐ Typ I ☐ Typ II ☐ Nein		
Pulmonale Hypertonie:	☐ Ja ☐ Nein		
Bekannte Herzrhythmusstörungen:	☐ Ja ☐ Nein	Herzrhythmusstörung-Art:	
Fettstoffwechselstörung:	☐ Ja ☐ Nein	Sonstige Erkrankungen 	
Lebererkrankungen:	☐ Ja ☐ Nein		
Sonstige Erkrankungen:	☐ Ja ☐ Nein		
Vorhandene Implantate mit Kontakt zum Blut:	☐ Herzschrittmacher ☐ Aortenstent ☐ Gefäßprothesen ☐ Sonstige →		
NYHA:	☐ I ☐ II ☐ III ☐ IV ☐ unbekannt		
Herzkatheter:	☐ Ja ☐ Nein		T T M M J J

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

T T M M J J
Datum der Untersuchung

U5 3 Monate Post-OP [4/4]

H: Labor

Hämoglobin:		g/dl	GOT:		U/l
Hämatokrit:		%	Kreatinkinase:		U/l
Leukozytenzahl:		1000/ μ l	Troponin:		ng/l
Thrombozytenzahl:		1000/ μ l	LDH:		U/l
Quick:		%	Gesamtbilirubin:		mg/dl
INR:			Triglyceride:		mg/dl
PTT:		s	Calcium:		mg/dl
CRP:		mg/l	Phosphat:		mg/dl
Kreatinin:		mg/dl	HDL:		mg/dl
Harnstoff:		mg/dl	LDL:		mg/dl

I: Ereignisse / Protokollabweichungen

Sind unerwünschte Ereignisse aufgetreten?	nein	ja
	☐	☐ → Formular "Unerwünschte Ereignisse" !
Sind Protokollabweichungen aufgetreten?	☐	☐ → Formular "Protokollabweichungen" !

 T T M M J J	Verantwortlicher Arzt	Durchführende Person(en)
-------------------------------------	-----------------------	--------------------------

Laufende Nr. des Probanden

Patienten ID

Datum der letzten Studienuntersuchung
T T M M J J

Ende der Nachbeobachtung [1/1]

A: Zeitpunkt

☐ Prä-OP (U1)
 ☐ Intra-OP (U2)
 ☐ 1. Tag Post-OP (U3)
 ☐ 7. Tag Post-OP (U4)
 ☐ 3 Monate Post-OP (U5)
 ☐ Ungeplant/Sonstige

B: Details zum Ende der Nachbeobachtung

Hat der Patient die Studie planmäßig beendet?

☐

Ja

☐

Nein

☐ Rücknahme der Patienteneinwilligung

☐ Lost of Follow-Up

☐ Abbruch der gesamten Studie

☐ Explantation

Explantationsdatum

T T M M J J

☐ Infektion

Keim

☐ nicht-infektiös

Grund

☐ Patient verstorben

Todesdatum

T T M M J J

Formular "Ereignisse" ausfüllen

☐ Kardial,
arrhythmiebedingt

☐ Kardial,
nicht arrhythmiebedingt

☐ Nicht kardial

☐ Unbekannt

☐ Plötzlich

☐ Nicht plötzlich

☐ Unbekannt

☐ Pre operativ

☐ Peri operativ
(≤ 30 Tage nach Impl.)

☐ post operativ
(>30 Tage nach Impl.)

☐ Anderer Grund:

T T M M J J

Verantwortlicher Arzt

Durchführende Person(en)

Hurricane II Studie

Version 5 – 05.08.2015