

Aus der Klinik für Herzchirurgie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Direktor Univ.-Prof. Dr. med. Artur Lichtenberg

*Osteopontin als ein neuartiger Biomarker für die Rückbildung
druckbelastungsinduzierter linksventrikulärer Hypertrophie
nach chirurgischem Aortenklappenersatz*

Dissertation

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

vorgelegt von
Annalena Louisa Büttner
2022

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

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Payam Akhyari

Zweitgutachter: PD Dr. med. Patrick Horn

Widmung

Für meine Eltern

Auflistung der Publikationen

Teile dieser Arbeit wurden in folgender Publikation veröffentlicht:

Weber, A., Büttner, A., L., Rellecke, P., Petrov G., Albert A., Sixt, S. U., Lichtenberg, A., Akhyari, P - Osteopontin as novel biomarker for reversibility of pressure overload induced left ventricular hypertrophy *Biomarkers in Medicine* 2020 May,14(7):513-523. doi: 10.2217/bmm-2019-0410. Epub 2020 May 28.PMID:32462909

Zusammenfassung

Das Krankheitsbild der Aortenklappenstenose (AKS) führt zu einer Verringerung der Klappenöffnungsfläche, welche den Druck in der linken Herzkammer so erheblich erhöht, dass das Myokard mit der Verdickung der Kammerwand des linken Ventrikels reagiert, woraus sich eine linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) entwickelt. Die einzige Therapie der AKS, ist ein operativer oder katheter-gestützter Ersatz der Aortenklappe durch eine Klappenprothese. Patienten, bei denen sich im Verlauf der Erkrankung eine linksventrikuläre Hypertrophie entwickelt hat, weisen ein erhöhtes Mortalitätsrisiko auf und es kann im Verlauf zu lebensbedrohlichen Komplikationen kommen. Das Ziel dieser Arbeit war es daher, einen Biomarker im Blut zu etablieren, welcher als ein einfaches, schnelles und kostengünstiges *Screening*-Instrument für die AKS und der daraus resultierenden LVH genutzt werden kann. In den Fokus dieser Arbeit stellten wir Osteopontin (OPN), welches sich mit seiner Vielzahl an Aufgaben im menschlichen Körper bereits bei diversen kardiovaskulären Erkrankungen als ein Biomarker gezeigt hat und nachweislich an Umbauprozessen des Herzgewebes mit beteiligt ist. Dazu wurden im Rahmen einer prospektiven Untersuchung die OPN-Konzentrationen laborchemisch aus dem Blut der Patienten präoperativ vor der Operation und drei Monate postoperativ bei einer *Follow-up*-Untersuchung ermittelt und mit anderen Parametern verglichen. Insgesamt wurde in dieser Arbeit bei 107 von 149 Patienten eine LVH des Herzens festgestellt, aufgrund einer therapiebedürftigen AKS. Das primäre Ergebnis dieser Arbeit war die Erkenntnis über den Zusammenhang zwischen hohen OPN-Werten im Blut und der Entwicklung der linksventrikulären Muskelmasse des Herzens und damit der LVH nach einem operativen Aortenklappenersatz. Damit könnte OPN als ein Indikator dienen, welcher auf ein erhöhtes postoperatives Mortalitätsrisiko nach einem Aortenklappenersatz hindeutet. Außerdem konnten signifikant höhere OPN-Konzentrationen bei Patienten mit einer exzentrischen LVH nachgewiesen werden, woraufhin die Höhe der OPN-Werte eine Einschätzung über die geometrische Form der LVH möglich machen könnte. Die verstorbenen Patienten dieser Studie hatten höhere präoperative OPN-Werte als die nicht verstorbenen Patienten. Damit könnte OPN als ein Marker verwendet werden, welcher die präoperative Risikobewertung von Patienten erweitert und möglicherweise verbessert.

Abstract

In context of aortic valve stenosis left ventricular hypertrophy is considered as an adaptive response to chronic pressure overload in the left ventricle to prevent systolic dysfunction. Many research groups suggest that OPN promotes fibrosis and repair responses during myocardial remodeling and that OPN plays a crucial role in atherosclerosis, valvular stenosis and left ventricular hypertrophy. The aim of this study was to evaluate the prognostic value of OPN as a marker for left ventricular hypertrophy and its reversibility after surgical aortic valve replacement. To evaluate that OPN plasma levels and echocardiographic data were obtained pre-operatively prior to aortic valve replacement and three months post-operatively in 149 consecutive patients. The primary outcome was the reversibility of the left ventricular hypertrophy in patients 3 months after surgical aortic valve replacement. Left ventricular mass was calculated according to current recommendations of the American Society of Echocardiography. OPN was measured using the Quantikine Human OPN immunoassay. OPN plasma levels of all patients were significantly higher post-operatively. Further there was a significant correlation between higher OPN plasma levels and lower left ventricular mass regression. High OPN plasma levels were also an indicator for an eccentric hypertrophy phenotype in patients receiving surgical aortic valve replacement combined with coronary artery bypass grafting. Further, pre-operative OPN plasma levels of the deceased patients were significantly higher when compared to the respective value of the surviving patients. The results show, OPN may be a useful indicator to confirm the diagnosis of left ventricular hypertrophy phenotype. In addition, OPN could have a prognostic value to estimate left ventricular-mass regression after surgical aortic valve replacement. Moreover, preoperative OPN may predict adverse outcome in patients undergoing aortic valve replacement.

Abkürzungsverzeichnis

AKS	Aortenklappenstenose
AKE	Aortenklappenersatz
BMI	<i>body mass index</i>
BnP	B-Typ natriuretische Peptid
EF	Ejektionsfraktion
ELISA	<i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>
EuroSCORE	<i>European System for Cardiac Operative Risk Evaluation</i>
HRP	<i>horseradish peroxidase</i>
IVSd	<i>interior ventricular septum diastolic</i>
KHK	koronare Herzkrankheit
KOF	Körperoberfläche
KÖF	Klappenöffnungsfläche
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
LV	Linker Ventrikel
LVEDd	<i>left ventricular end diastolic diameter</i>
LVH	linksventrikuläre Hypertrophie
LVMI	linksventrikuläre Muskelmassenindex
LVMM	linksventrikuläre Muskelmasse
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
OPN	Osteopontin
PBS	<i>phosphate buffered saline</i>
P _{max}	Spitzendruckgradient
P _{mean}	mittlerer Druckgradient
PWd	<i>posterior wall thickness during diastole</i>
RWT	<i>relative wall thickness</i>
STS	<i>Society of Thoracic Surgeons</i>
TAVI	<i>Transcatheter Aortic Valve Implantation</i>
TTE	transthorakale Echokardiographie
V _{max}	maximale Flussgeschwindigkeit

Inhaltsverzeichnis

Zusammenfassung.....	I
Abstract	II
Abkürzungsverzeichnis	III
1. Einleitung	1
1.1 Epidemiologie der Aortenklappenstenose.....	1
1.2 Pathologie der AKS	2
1.3 Therapie der AKS.....	4
1.4 Die linksventrikuläre Hypertrophie	4
1.5 Osteopontin.....	7
1.5.1 Allgemeines	7
1.5.2 Funktionen von OPN	7
1.5.3 Der Einfluss von OPN auf kardiovaskuläre Erkrankungen	9
1.5.4 OPN als Biomarker	10
1.6 Ziele der Arbeit.....	11
2. Material und Methoden	13
2.1 Materialien	13
2.1.1 Geräte	13
2.1.2 Verbrauchsmaterialien.....	13
2.1.3 Verwendete Kits.....	14
2.1.4 Verwendete Puffer und Lösungen	14
2.1.5 Software	14
2.2 Studientechnische Methoden	15
2.2.1 Ethikvotum	15
2.2.2 Studiendesign und Patientenauswahl.....	15
2.2.3 Studienaufbau.....	16
2.2.4 Allgemeine Datenerfassung	16
2.2.5 Berechnung der Risikoscores	17
2.2.6 Blutprobenentnahme	18
2.2.7 Echokardiographische Untersuchung	18
2.2.8 Berechnung spezieller echokardiographischer Parameter	19

2.3	Quantifizierung von OPN mittels <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i>	20
2.3.1	Grundlagen der experimentellen Methoden	20
2.3.2	Versuchsvorbereitung	21
2.3.3	Durchführung des <i>Sandwich-ELISA</i>	21
2.3.4	Datenmessung und Analyse mit dem Spektralphotometer	23
2.3.5	Statistische Analyse.....	23
3.	Ergebnisse	24
3.1	Studienpopulation	24
3.2	Echokardiographische Parameter	26
3.3	OPN-Konzentration im Blutplasma	27
3.4	Zusammenhang zwischen OPN-Konzentration und der Rückbildung der LVH.....	28
3.5	Erhöhte OPN-Plasmakonzentration als Indikator für eine exzentrische LVH	28
3.6	OPN-Konzentration zur Risikobewertung für das postoperative Mortalitätsrisiko eines chirurgischen AKE	30
4.	Diskussion	32
4.1	Limitationen.....	34
4.2	Schlussfolgerung.....	35
	Literatur und Quellenverzeichnis	37
	Anhang	43
	Danksagung	44

1. Einleitung

1.1 Epidemiologie der Aortenklappenstenose

Die Aortenklappe besteht regulär aus 3 halbmondförmigen Taschen (Semilunarklappen) und stellt die Grenze zwischen dem linken Ventrikel (LV) des Herzens und der Aorta ascendens dar (Abb. 1). Durch ihren Aufbau verhindert die Aortenklappe während der Diastole einen pathologischen Rückstrom des Blutes aus der Aorta zurück in die linke Herzkammer (1).

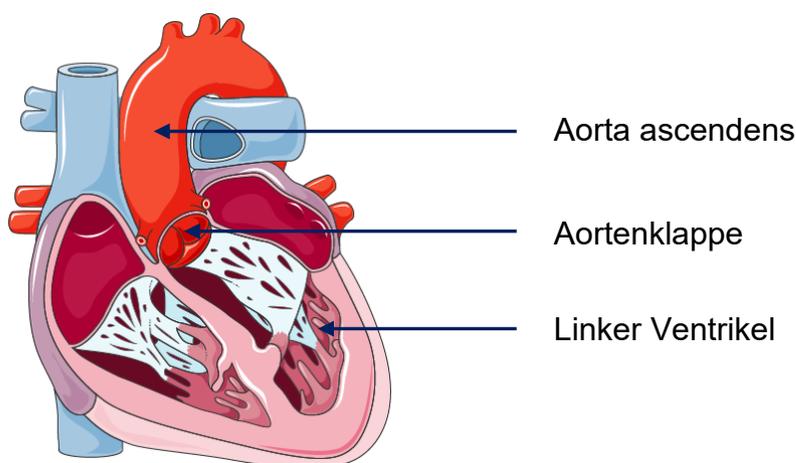


Abb. 1: Lage der Aortenklappe im Herzen. Während der Diastole sind die Taschenklappen geschlossen und verhindern durch ihren Aufbau den Rückstrom des Blutes in die linke Herzkammer (modifiziert nach <https://smart.servier.com>).

Aufgrund der kontinuierlich älter werdenden Bevölkerung und eines zusätzlich ungesunden Lebensstils sind kardiovaskuläre Erkrankungen, wie die Aortenklappenstenose (AKS), weitverbreitet und gemeinsam mit der Mitralklappeninsuffizienz europaweit die häufigsten Herzklappenerkrankungen (2, 3). Speziell in Europa und Nordamerika hat die AKS in der Patientenkohorte über 75 Jahren eine Prävalenz von 12,4 %, wobei die Häufigkeit für das Vorliegen einer schweren AKS bei 3,4 % liegt (4). Viele Forschungsgruppen zeigen, dass die Risikofaktoren welche für eine Atherosklerose (die Verhärtung von Gewebe infolge von entzündlichen oder degenerativen Vorgängen) des Klappengewebes und im weiteren Verlauf für die Entstehung der AKS verantwortlich sind, mit den Risikofaktoren, die zur Entstehung von Atherosklerose in den Gefäßen beitragen, weitgehend übereinstimmen (5, 6). Zusammengefasst sind das: ein höheres

Lebensalter, das männliche Geschlecht, Rauchen, arterielle Hypertonie, hohe Lipoprotein(a) und *low density lipoprotein* (LDL) Serumspiegel, erhöhter *body mass index* (BMI), Niereninsuffizienz und Diabetes mellitus (4, 5, 7-9). Des Weiteren ist die AKS der häufigste Grund für einen operativen Aortenklappenersatz (AKE) und geht mit weiteren kardiovaskulären Pathologien, wie der Erkrankung der Koronararterien, der koronaren Herzkrankheit (KHK) einher (2, 10). Bei mindestens der Hälfte aller Patienten mit einer schweren symptomatischen AKS wird zusätzlich eine relevante KHK diagnostiziert (11, 12). Die KHK ist definiert durch die Manifestation atherosklerotischer Veränderungen in den Herzkranzgefäßen, wodurch es zu einer Minderperfusion des Herzmuskels mit sauerstoffreichem Blut kommen kann. Das Deutsche Aortenklappenregister hat im Zeitraum zwischen 2011 und 2015 insgesamt 42776 Patienten mit einem operativen AKE registriert und diverse Daten erhoben. 26618 der operierten Patienten (62,2 %) erhielten dabei einen isolierten AKE und 16158 Patienten (37,8 %) einen AKE mit einer zusätzlichen aortokoronaren Bypassoperation aufgrund einer KHK (13).

1.2 Pathologie der AKS

Bei der AKS handelt es sich nicht um einen passiven degenerativen Prozess, sondern um aktive pathologische Veränderungen des Klappengewebes, welche durch eine Schädigung des Endothels, unter anderem aufgrund einer chronischen Druckbelastung ausgelöst werden (9, 14). Auf eine solche Schädigung folgt die Einlagerung und Akkumulation von Lipoproteinen wie LDL und die aktive Einwanderung entzündungsmodulierender Zellen wie Makrophagen und T-Lymphozyten in das Gewebe der Herzklappe (Abb. 2) (7, 15, 16). Die Entzündungszellen setzen verschiedene Zytokine, wie *transforming growth factor- β* , *tumor necrosis factor- α* und Interleukin-1 β frei, was durch die Vermehrung von kollagenen Fasern zu fibrotischen Gewebeveränderungen der Klappentaschen führen kann (14, 17-19). Aus diesen fibrotischen Veränderungen heraus kommt es zur Entstehung atherosklerotischer Plaques, welche zu einer Verdickung des Gewebes führen (5, 18). Im Laufe der Zeit werden diese atherosklerotischen Plaques größer und konvergieren zu großen kalzifizierten Bereichen. Das Klappengewebe kann das Übermaß an Ablagerungen nicht mehr bewältigen und die kalzifizierten Areale beginnen in die Öffnung der Aortenklappe hineinzuwachsen (20).

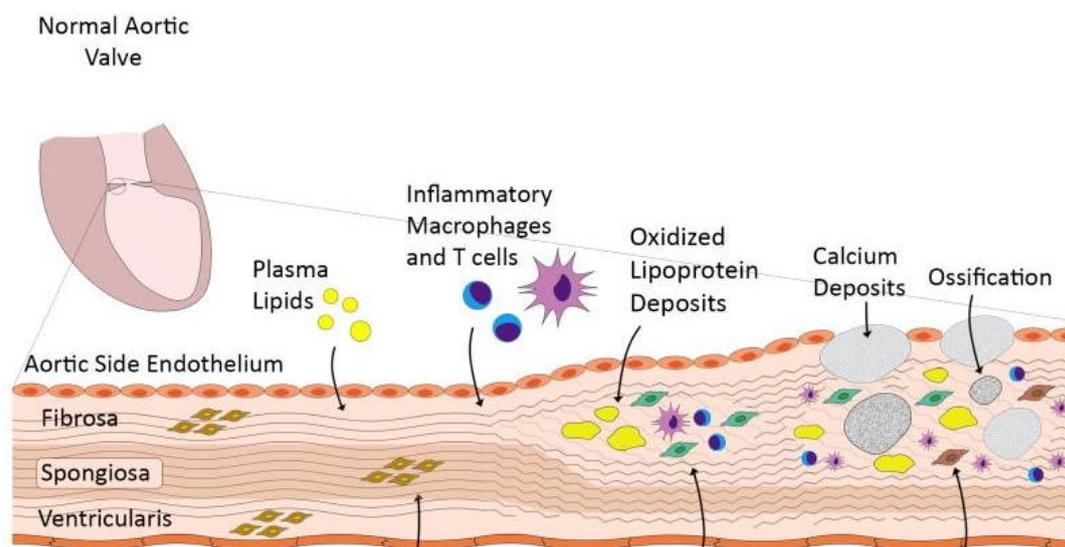


Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der biochemischen Vorgänge der AKS. Die frühe Phase der Entstehung der AKS ist charakterisiert durch die subendotheliale Akkumulation von oxidiertem *low density lipoprotein* (LDL) und einer Entzündungsreaktion durch die Einwanderung von T-Lymphozyten und Makrophagen in das Gewebe der Aortenklappe. Makrophagen phagozytieren das vorhandene LDL wodurch sie zu Schaumzellen mutieren. In der Kombination mit den schon genannten Risikofaktoren führt dies zu fibrotischen Veränderungen der Herzklappe und endet in der Kalzifizierung des Gewebes (modifiziert nach Small, A. et al. 2017).

Bei einem progredienten Verlauf dieser Pathologie kommt es durch die Einengung der Aortenklappenöffnungsfläche (KÖF) zu einer Funktionsminderung der Klappentätigkeit, wodurch in Spätstadien weniger Blut während der Systole aus der linken Herzkammer in die Aorta und damit in den Kreislauf gepumpt werden kann (21, 22). Nun ist das Endstadium der AKS mit einer Linksherzinsuffizienz erreicht. Die Einteilung der Schwere der AKS erfolgt in „leicht“, „moderat“ und „schwer“ mittels Echokardiographie (Tabelle 1) (23, 24).

Schweregrad der AKS	Leicht	Moderat	Schwer
V_{max} [m/s]	2,60-2,90	3,00-4,00	$\geq 4,00$
P_{mean} [mmHg]	< 20	20-40	≥ 40
KÖF [cm ³]	$> 1,50$	1,00-1,50	$< 1,00$
indexgekoppelte KÖF in cm ³ /m ²	$> 0,85$	0,60-0,85	$< 0,60$

Tabelle 1: Einteilung der AKS in drei Schweregrade. V_{max} : maximale Flussgeschwindigkeit, P_{mean} : mittlerer Druckgradient, KÖF: Klappenöffnungsfläche

1.3 Therapie der AKS

Eine rein medikamentöse Therapie für die AKS existiert aktuell nicht, daher ist die operative Therapie durch einen operativen oder katheter-gestützten AKE der Goldstandard und die einzige Option, eine AKS dauerhaft zu beheben (25, 26). Bei einem konventionellen operativen AKE erfolgt der chirurgische Zugang über den Thorax und einer Operation am offenen Herzen, mit der Implantation einer neuen Aortenklappe unter Einsatz der Herz-Lungen-Maschine. Postoperativ kann eine Steigerung der Lebenserwartung, erhebliche Symptomlinderung und der Erhalt der linksventrikulären Funktion erreicht werden (27, 28), wobei das operative Verfahren -ebenso wie andere invasive Verfahren- auch ein gewisses Mortalitätsrisiko birgt. Verwendet werden zwei verschiedene Arten von Aortenklappenprothesen: mechanische oder biologische Modelle (29). Im Vergleich zeichnen sich mechanische Klappenprothesen durch eine längere Haltbarkeit aufgrund einer geringeren strukturellen Abnutzung aus. Jedoch ist eine lebenslange medikamentöse Antikoagulation bei diesen Modellen notwendig, um das Risiko für thrombotische Ereignisse zu reduzieren (30). Bei einer biologischen Klappenprothese hingegen ist eine vorübergehende Antikoagulation mit einer Mindestdauer von drei Monaten ausreichend (30, 31). Zur Therapie der KHK wird eine operative Revaskularisation der Koronararterien mittels eines aortokoronaren Bypasses unter Verwendung autologer Gefäße aus dem Körper des Patienten durchgeführt. Es erfolgt dabei eine Anastomosierung zwischen der Aorta und dem Bereich distal der Stenose der betroffenen Koronararterie, wodurch der arterielle Blutfluss wieder hergestellt und die Versorgung des Myokards mit Blut wieder sichergestellt wird.

1.4 Die linksventrikuläre Hypertrophie

Im Verlauf einer AKS kommt es wie im vorherigen Kapitel beschrieben, zu einer Einengung der KÖF. Die AKS bewirkt eine zunehmende Verringerung der KÖF, wodurch der Druck, den die linke Kammermuskulatur aufbringen muss, um den erhöhten Ausflusswiderstand (Nachlast) zu überwinden, kontinuierlich ansteigt (32, 33). Aufgrund der anhaltenden Belastungssituation reagiert das Ventrikelmyokard mit der Vergrößerung der einzelnen Muskelzellen und es entsteht eine Verdickung der Kammerwand des LV, auch linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) genannt (34-36). Kurzfristig bedeutet ein solcher Umbau einen positiven kompensatorischen

Effekt auf die Herzarbeit und eine Verringerung der Wandspannung des Ventrikels, was zu einer Entlastung des Herzens führt (14). Einige Studien stützen die Meinung, dass diese kompensatorische Muskelhypertrophie als eine zweckmäßige Antwort des Körpers auf eine AKS zu verstehen ist, jedoch hat die LVH im weiteren Verlauf diverse negative Konsequenzen, wie eine mögliche systolische Herzinsuffizienz oder ein Herzversagen (35, 37-39). Die durch eine AKS entstandene LVH ist mit dem chirurgischen Austausch der pathologisch veränderten Aortenklappe primär nicht zu beheben und spielt für das postoperative Überleben der betroffenen Patienten eine entscheidende Rolle. Trotz eines erfolgreich durchgeführten AKE ist das Langzeitüberleben der Patienten mit einer LVH verringert, da sich die Hypertrophie postoperativ nicht mehr vollständig zurückbildet (40, 41). Mihaljevic et al. veranschaulichen mit ihren Ergebnissen den negativen Einfluss des Schweregrades der AKS und der Ausprägung der LVH auf das postoperative Überleben nach einem chirurgischen AKE (40). Weitere Faktoren die zu einer LVH führen können sind: arterielle Hypertonie, Geschlecht, Lebensalter, Rasse, BMI, die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und die Stimulation des sympathischen Nervensystems (42). Die LVH als Folge der AKS, kann bei der Betrachtung der Strukturveränderungen des LV unterteilt werden in ein konzentrisches Modell, meistens das Ergebnis einer Drucküberlastung des LV und ein exzentrisches Modell, meistens Ergebnis einer Volumenüberlastung des LV mit zu viel Blut (43). Zu einer Drucküberlastung kommt es, wenn der Ventrikel gegen einen hohen Druck das Blut aus der Kammer in die Aorta pumpen muss, wie dies z.B. bei einer AKS der Fall ist. Eine Volumenüberlastung entsteht, wenn die Aortenklappe in der Diastole nicht vollständig schließt (Klappeninsuffizienz), und Blut pathologischerweise aus der Aorta zurück in den Ventrikel fließt (Regurgitation). Durch das dauerhaft vergrößerte Blutvolumen im Ventrikel wird eine exzentrische Hypertrophie induziert, wobei hier das Krankheitsbild der Aortenklappeninsuffizienz im Vordergrund steht (44). Anhand echokardiographischer Messungen kann man vier verschiedene geometrische Strukturformen des LV unterscheiden: die normale Struktur, das konzentrische *Remodeling*, die konzentrische Hypertrophie und die exzentrische Hypertrophie (34, 45). In Abbildung 3 sind die vier Strukturformen gegenübergestellt. Zur Einteilung in eine der vier Strukturformen werden die *relative wall thickness* (RWT) des LV und der linksventrikuläre Muskelmassenindex (LVMI) echokardiographisch ermittelt.

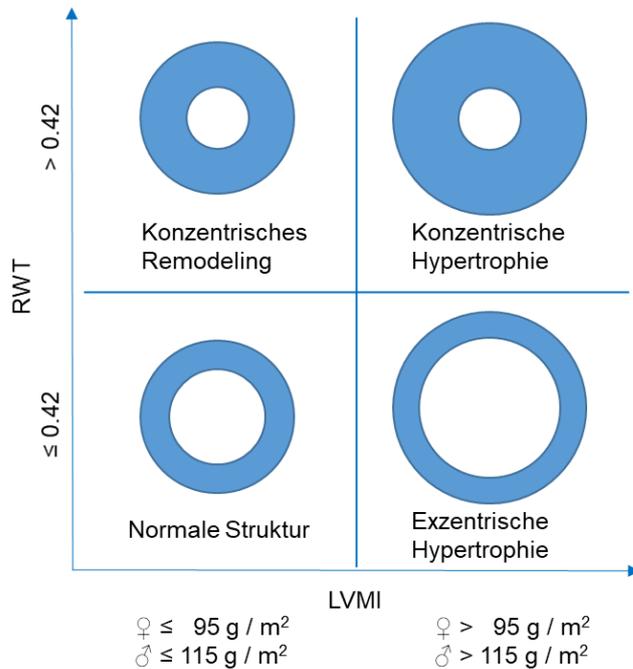


Abb. 3: Die vier verschiedenen geometrischen Strukturformen des LV bei der LVH. Das konzentrische *Remodeling* des LV definiert sich durch einen normalen linksventrikulären Muskelmassenindex (LVMI) und eine erhöhte *relative wall thickness* (RWT) (> 0.42). Bei der konzentrischen Hypertrophie hingegen sind sowohl der LVMI (Frauen > 95 g/m², Männer > 115 g/m²) wie auch die RWT erhöht und bei der exzentrischen Hypertrophie besteht ein erhöhter LVMI mit einer normwertigen RWT (46, 47) (modifiziert nach Capoulade R. et al. 2017).

Es sind für beide Messwerte feste Grenzen definiert, und die dafür notwendigen Angaben können rechnerisch ermittelt werden (46, 48). Die RWT des LV ist nicht geschlechterspezifisch und definiert eine konzentrische Geometrie bei einer RWT > 0.42 und eine exzentrische Geometrie bei einer RWT ≤ 0,42. Ein normaler LVMI wird bis zu einer Obergrenze von 95 g/m² bei Frauen und 115 g/m² bei Männern definiert (46). Lindman B.R et al. unterstützt in seinen Arbeiten die Theorie, dass eine Rückbildung der LVH nach einem operativen AKE mit gesundheitlichen Vorteilen für den Patienten verbunden ist (49).

1.5 Osteopontin

1.5.1 Allgemeines

Osteopontin (OPN) ist ein kalzium-bindendes, phosphorylierendes Glykoprotein, welches an diversen physiologischen und pathophysiologischen Prozessen im menschlichen Körper beteiligt ist (50, 51). Es wurde erstmals 1979 beschrieben und besteht aus 314 Aminosäuren mit einem Molekulargewicht zwischen 44 kDa und 75 kDa (52-55). Es gehört zu einer Proteinfamilie nicht-kollagener Proteine, genannt *Small Integrin-Binding Ligand N-linked Glycoprotein*, in welcher alle zugehörigen Proteine in mineralisierten Geweben wie Konchen oder Zähnen vorkommen und genetisch auf dem menschlichen Chromosom 4 kodiert werden (56, 57). OPN ist ein multifunktionelles Protein, welches von vielen verschiedenen Zelltypen, unter anderem natürlichen Killerzellen, B- und T-Lymphozyten, Kardiomyozyten, Fibroblasten, Makrophagen, dendritischen Zellen, Osteoblasten und Osteozyten exprimiert und sezerniert wird (58-60).

1.5.2 Funktionen von OPN

OPN übernimmt als membranständiges extrazelluläres Matrixprotein und als lösliches Zytokin, welches von verschiedene Geweben und Zellen sezerniert wird, vielfältige Funktionen im Organismus und spielt in diversen Bereichen der menschlichen Biochemie eine wichtige Rolle (Abb. 4) (54, 60, 61). Es kann an eine Vielzahl von Molekülen, Liganden und Oberflächenrezeptoren binden, wie auch an intrazelluläre Signalmoleküle, Kalzium oder Heparin (53). Zu den wesentlichen Funktionen von OPN im menschlichen Organismus gehören unter anderem die Verankerung von Osteoblasten und Osteozyten in der Knochenmatrix und damit die Beteiligung am Prozess der Knochenkalzifizierung (51, 62).

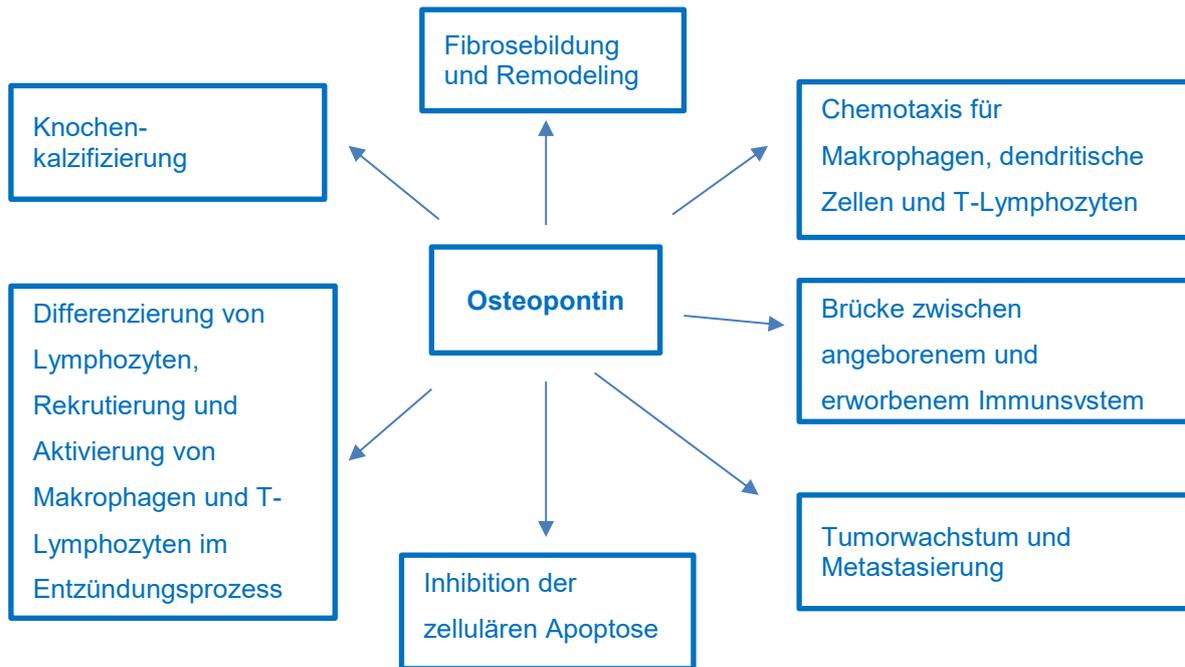


Abb. 4: Vereinfachte Darstellung einiger Funktionen von OPN (54, 61, 63) (modifiziert nach Shevde L.A. et al. 2014)

Des Weiteren werden für OPN sowohl pro- als auch antiinflammatorische Eigenschaften beschrieben, da es an diversen Schritten des Entzündungsprozesses im menschlichen Körper beteiligt ist (64). OPN spielt eine wichtige Rolle bei der Differenzierung von Lymphozyten und der Rekrutierung und Aktivierung von Makrophagen und T-Lymphozyten im Entzündungsgebiet (54, 65). Es bietet zusätzlich eine chemotaktische Komponente für Makrophagen, dendritische Zellen und T-Lymphozyten und hat regulierende Aufgaben bei der Produktion von entzündungsspezifischen Zytokinen (54, 61, 65, 66). Zusätzlich bildet OPN bei der Immunantwort eine Brücke zwischen dem angeborenen und dem erworbenen Immunsystem und schützt das Überleben von Zellen durch die Inhibition der zellulären Apoptose (53, 64, 66). Zudem kommt OPN eine entscheidende Rolle in der menschlichen Tumorbiologie zu, vor allem bei der Regulierung des Tumorwachstums und der Tumormetastasierung im Körper (67). Außerdem wirkt OPN auch auf unterschiedlichen Ebenen bei der Gewebefibrosierung mit und ist einer der Akteure beim myokardialen *Remodeling*, den pathologischen Umbauvorgängen des Myokardgewebes (68-70).

1.5.3 Der Einfluss von OPN auf kardiovaskuläre Erkrankungen

In zahlreichen Studien konnte OPN als eines der Proteine identifiziert werden, welches an den entscheidenden Prozessen der Entstehung einer AKS, der LDL-Akkumulation, dem Entzündungsereignis, der Kalzifizierung des Klappengewebes und der daraus resultierenden Stenosebildung mitbeteiligt ist (71-74). Des Weiteren konnte ein Zusammenhang sowohl zwischen dem Schweregrad der AKS und der Menge an OPN im Blut, als auch zwischen der OPN-Konzentration und der Sklerosierung der Aortenklappe hergestellt werden (52, 75). Ein direkter Nachweis von OPN in kalzifizierten Aortenklappen war im Klappengewebe selbst in vermehrtem Maße möglich (71, 76). Es wird davon ausgegangen, dass bei der Atherosklerose und anderen chronisch-entzündlichen Erkrankungen, die Anwesenheit von OPN zu einer Verstärkung der Entzündungsreaktion im Gewebe führt (61, 77, 78). Auch belegt ist ein Einfluss von OPN auf weitere kardiovaskuläre Ereignisse wie der KHK, da es dort in den atherosklerotischen Plaques innerhalb der Koronararterien nachgewiesen werden kann, wo es vermutlich eine Rolle bei der Kalzifizierung spielt (51, 62). Des Weiteren konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass bei einem Myokardinfarkt-bedingten myokardialen *Remodeling* in den Infarktregionen eine erhöhte OPN Expression festzustellen ist (70, 79). Zusätzlich spielt OPN eine wichtige Rolle bei den Adaptations- und Umbauprozessen des Ventrikelgewebes und den Veränderungen von Struktur und Funktion der extrazellulären Matrix (80, 81). Es wird davon ausgegangen, dass OPN dabei die Aktivität der Matrix-Metalloproteasen, einer Familie von zinkabhängigen Endopeptidasen, welche für den Abbau der extrazellulären Matrix verantwortlich sind, reduziert und ihre Expression reguliert (82-86). Krishnamurthy et al. zeigen zusätzlich, dass nach einem Myokardinfarkt ein Mangel an OPN die Produktion von Matrix-Metalloprotease2 aktiviert, was zu einer reduzierten kompensatorischen Hypertrophie des Ventrikels führt und die Entstehung von Fibrose verringert (87). Bei *in vitro* Versuchen durch Hou et al. konnte gezeigt werden, dass bei einer Stimulation von Kardiomyozyten mit OPN eine Veränderung dieser Zellen in Form einer Hypertrophie einsetzt (88). Des Weiteren weisen Xie et al. im Tiermodell eine erhöhte OPN Expression im Herzgewebe als Folge einer chronischen Drucküberlastung des Herzens nach und zeigen einen Zusammenhang zwischen OPN und einer kompensatorischen Herzmuskelhypertrophie (89). Andere Forschungsgruppen zeigen außerdem, dass die Entstehung einer LVH mit einer

gleichzeitig erhöhten OPN Expression assoziiert ist, wobei die wahrscheinlichste Quelle für dieses OPN die Kardiomyozyten sind (90, 91).

1.5.4 OPN als Biomarker

Unter einem Biomarker versteht man ein biologisches Merkmal, welches durch objektive Messbarkeit und Auswertbarkeit definiert ist und unter anderem als diagnostisches Werkzeug zur Beurteilung von gesundheitlichen Zuständen oder einer pharmakologischen Therapie verwendet werden kann (92-95). Ein Biomarker kann dabei durch seine physikalischen Eigenschaften oder durch eine im Verlauf auftretende, messbare Veränderung verwendet werden (94, 95). Eingesetzt werden Biomarker unter anderem bei *Screening*-Verfahren, z.B. bei Brustkrebs-*Screening*. Weitere Aufgabenbereiche sind eine frühzeitige Erkennung und Bewertung von Krankheiten, wie beispielsweise der Hepatitis-C (96, 97). Auch einige kardiovaskuläre Erkrankungen können mit Biomarkern diagnostiziert werden und werden daher im klinischen Alltag häufig angewandt. Das B-Typ natriuretische Peptid (BNP), welches bei der Dehnung des Ventrikelmyokards freigesetzt wird, kann zur laborchemischen Diagnostik einer Herzinsuffizienz ergänzend zur Diagnosestellung herangezogen werden (98). Bei stark erhöhten BNP Blutwerten ist eine Herzinsuffizienz sehr wahrscheinlich, wobei ein Rückgang des BNP eine Genesung des Patienten andeuten kann (99). Zusätzlich kann es zur Beurteilung der gesundheitlichen Situation eines Patienten mit Herzinsuffizienz und zur Therapieüberwachung verwendet werden (100). Der Nachweis von OPN im Blutplasma von Patienten wird in einigen Studien bereits als Biomarker zur Diagnosesicherung für verschiedene kardiovaskuläre Erkrankungen herangezogen (52). Bei der KHK kann bereits gezeigt werden, dass die OPN-Konzentrationen im Blut von Patienten mit einer relevanten KHK signifikant höher sind als die OPN-Plasmakonzentrationen von gesunden Patienten, unabhängig von zusätzlich erhobenen, allgemeinen Risikofaktoren. Des Weiteren spiegeln die erhöhten OPN Werte die Anzahl und den Umfang der stenosierten Koronararterien am Herzen wieder (101-103). Bei Patienten mit chronisch stabiler Angina pectoris kann gezeigt werden, dass die Menge des im Blut zirkulierenden OPNs verwendet werden kann, um Vorhersagen über zukünftige gesundheitliche Ereignisse in dieser Patientengruppe zu treffen. Steigende OPN Werte sind dabei ein unabhängiger prognostischer Biomarker für negative Ereignisse, wie z. B. einen Herzinfarkt oder das Versterben der Patienten an einer kardialen Ursache (50). Ein weiterer, sehr

enger Zusammenhang ist auch zwischen der Menge des im Blut zirkulierendem OPN und der Anwesenheit von atherosklerotischen Plaques in der Halsschlagader von Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz beschrieben (104). In einer Studie von Lutz et al. konnte gezeigt werden, dass postoperativ erhöhte OPN Konzentrationen im Blutplasma von Patienten nach TAVI auf eine erhöhte Mortalität dieser Patienten hindeutet (60). Bei dem Krankheitsbild der Herzinsuffizienz ist beschrieben, dass Patienten mit einer beginnenden Herzinsuffizienz eine deutliche Steigerung des OPN im Blut aufweisen (91). Auch Rosenberg et al. deuten mit ihren Ergebnissen einen Einsatz von OPN als prognostischen Biomarker bei chronischer Herzinsuffizienz an, da die OPN Werte im Blutplasma bei Patienten mit diesem Krankheitsbild signifikant höher sind als bei gesunden Menschen (105). Außerdem können diese hohen OPN Werte mit einem erhöhtem Mortalitätsrisiko in Zusammenhang gebracht werden, wobei OPN dabei unabhängig von anderen Biomarkern wie z.B. *New York Heart Association* (NYHA)-Stadien oder N-terminales pro-BNP verwendet werden kann (105).

1.6 Ziele der Arbeit

Da OPN bereits in diversen kardiovaskulären Erkrankungen als ein potenzieller prognostischer Biomarker beschrieben ist und es zudem eine Vielzahl an Aufgaben im menschlichen Körper besitzt, liegt es nahe, eine Verbindung zwischen OPN und der LVH zu untersuchen. Eine verlässliche präoperative Risikoeinschätzung des Mortalitätsrisikos eines Patienten ist entscheidend sowohl für die Operation als auch für das postoperative Management. Daher ist es relevant, weitere und bessere Biomarker zu erkunden, welche dabei helfen Risikopatienten sicher zu identifizieren. Bei der LHV auf dem Boden einer AKS steht zur Diagnostik aktuell die Echokardiographie als Goldstandard im Vordergrund. Die daraus resultierenden Messergebnisse können dabei jedoch weder eine Aussage über die Pathophysiologie der Erkrankung noch über das perioperative Risiko des Patienten geben (15). Daher beschäftigt sich diese Arbeit damit, einen Biomarker im Blut zu etablieren, welcher als ein einfaches, schnelles und kostengünstiges *Screening-Instrument* für die AKS und der daraus resultierenden LVH genutzt werden kann (9). Der klinische Einsatz dieses Biomarkers zur präoperativen Einschätzung des Mortalitätsrisikos gemeinsam mit den schon vorhandenen Risikoscores und anderen *Tools*, kann somit zu einer noch genaueren Risikobewertung beitragen (9).

Aufgrund der Vielzahl an Signalwegen, welche bei den Krankheitsbildern der AKS und der LVH im menschlichen Körper aktiv sind, gibt es diverse Ansatzpunkte den diagnostischen Nutzen von OPN mit seinen vielfältigen Aufgaben im Blutplasma zu untersuchen. In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob die OPN-Konzentrationen im Blutplasma nach einem operativen AKE mit der postoperativen Rückbildung der LVH in Zusammenhang stehen. Es wird damit das Ziel verfolgt, OPN als einen möglichen präoperativen Marker für die Vorhersage der Rückbildung einer LVH zu etablieren. Des Weiteren soll untersucht werden, ob die präoperative OPN-Konzentration mit negativen Resultaten nach einem operativen AKE in Verbindung gebracht und damit eine Vorhersage über das postoperative Risiko eines Patienten getroffen werden kann.

2. Material und Methoden

2.1 Materialien

2.1.1 Geräte

Geräte	Hersteller
Kühlschrank 4 °C	Nalge Nanc International
Tiefkühlschrank -20 °C	Liebherr, Biberach
Tiefkühlschrank -80 °C	Thermo Scientific
MS1 Minishaker	IKA Work, Wilmington NC, USA
Infinite M1000pro	Tecan
Zentrifuge 5804 R	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Ultraschallgerät GE Vivid S5/S6	GE Healthcare Company, Little Chalfont, Großbritannien

Tabelle 2: Verwendete Geräte

2.1.2 Verbrauchsmaterialien

Material	Hersteller
Falcons (50 ml)	Greiner Bio One, Kremsmünster
Pipettenspitzen (10-5000 µl)	Starlab, Ahrensberg
Mehrkanalpipetten-Schalen 50 ml	Starlab, Ahrensberg
Reaktionsgefäße (1,5 ml, easy cap)	Sarsteat, Nümbrecht
96 Well Mikroplatte, f-Boden (Kaminform)	Greiner Bio-one, Frieckenhausen
<i>Ethylene diamine tetraacetic acid</i> Blutentnahmeröhrchen	Becton, Dickinson&Company, Franclin Lakes, New Jersey
Vacutainer Butterfly	Becton, Dickinson&Company,
Vacutainer Einmal-Halter	Becton, Dickinson&Company,
Spritzen	B. Braun Medical AG, Sombach, Schweiz

Tabelle 3: Verwendete Verbrauchsmaterialien

2.1.3 Verwendete Kits

Kits	Hersteller
<i>DuoSet Quantikine Human Osteopontin Immunoassay</i>	R&S Systems, Minneapolis, USA
<i>DuoSet Ancillary Reagent Kit 2</i>	R&S Systems, Minneapolis, USA

Tabelle 4: Verwendete Kits

2.1.4 Verwendete Puffer und Lösungen

<i>phosphate buffered saline (PBS) 10x</i>	NaCl	1,37 M
	Na ₂ HPO ₄	65 mM
	KCl	27 mM
	KH ₂ PO ₄	15 mM
	gelöst in H ₂ O _d , pH 7,4	

Tabelle 5: Verwendete Puffer und Lösungen

2.1.5 Software

Software	Hersteller
Tecan i-control Microplate Reader	Tecan
Endnote 6	Adept Scientific, Frankfurt
Office 2010	Office 2010
PRISM 6	GraphPad Software Inc, CA, USA
SPSS Statistics	IBM, Armonk, New York

Tabelle 6: Verwendete Software

2.2 Studientechnische Methoden

2.2.1 Ethikvotum

Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf geprüft und genehmigt (106). Die Referenznummer des genehmigten Ethikantrags lautet 3881. Die Durchführung der Studie erfolgte in Übereinstimmung mit der aktuellen Fassung der Deklaration von Helsinki. Alle an der Studie teilnehmenden Patienten nahmen freiwillig daran teil und konnten ihre Zustimmung jederzeit ohne Angaben von Gründen und ohne Nachteile für ihre weitere medizinische Betreuung und Versorgung zurückziehen. Die informierte Einwilligung erfolgte in schriftlicher Form.

2.2.2 Studiendesign und Patientenauswahl

Es handelt sich um eine prospektive Studie deskriptiven Charakters, welche als Single-Center-Studie am Universitätsklinikum Düsseldorf durchgeführt wurde. In einem Zeitraum zwischen Juli 2015 und September 2016 wurden 250 aufeinanderfolgende Patienten, welche in der Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie des Universitätsklinikums zu einem elektiven chirurgischen AKE einbestellt wurden, auf ihre Teilnahme an der Studie überprüft. Zu den Einschlusskriterien gehörten eine hämodynamisch relevante AKS von mittlerem bis schwerem Schweregrad und die damit verbundene Indikation für einen operativen AKE. Des Weiteren bestand die Studiengruppe nur aus volljährigen Erwachsenen. Die gesamte medizinische Behandlung, wie auch alle während der Operationen verwendeten Materialien, insbesondere die Aortenklappenprothesen, wurden nach der Ermessensentscheidung des behandelnden Operateurs für jeden Patienten einzeln ausgewählt. Dies wurde selbstverständlich in Übereinstimmung mit den Präferenzen jedes Patienten und den aktuellen Empfehlungen und Standardrichtlinien der *European Society of Cardiology* und der *European Association of Cardio-Thoracic Surgery* entschieden. Die Ausschlusskriterien wurden in primäre und sekundäre unterteilt. Bei den primären Ausschlusskriterien handelte es sich um relevante Erkrankungen anderer Herzklappen (Klappeninsuffizienzen oder Klappenstenosen > II°), einen Myokardinfarkt innerhalb der letzten 30 Tage, eine periphere arterielle Verschlusskrankheit im Stadium nach Fontaine > IIb und eine eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion (Ejektionsfraktion (EF) < 30 %). Daneben waren thrombotisch bedingte Embolien

innerhalb der letzten sechs Monate, Autoimmunerkrankungen, ein dialysepflichtiges Nierenversagen, Tumorerkrankungen und vorangegangene Herzoperationen die sekundären Ausschlusskriterien.

2.2.3 Studienaufbau

Präoperativ wurden die Patienten stationär aufgenommen, über die Studie aufgeklärt, und eine schriftliche Einwilligung wurde eingeholt. Zum selben Zeitpunkt erfolgte die erste transthorakale Echokardiographie (TTE) und eine Blutentnahme (Zeitpunkt t1, präoperativ [prä-OP]). Der AKE erfolgte bis auf wenige Ausnahmen am nächsten Tag, und nach einem siebentägigen Aufenthalt im Universitätsklinikum Düsseldorf wurden die Patienten, nach Rücksprache mit dem behandelnden Arzt, in eine Rehabilitationsklinik entlassen. Alle Patienten wurden bis zu ihrer Entlassung auf der herzchirurgischen Station des Universitätsklinikums behandelt und betreut. Drei Monate nach dem chirurgischen AKE wurden die Patienten zu einem *Follow-up* Termin einbestellt. Bei dieser *Follow-up*-Untersuchung wurde eine weitere TTE durchgeführt und es erfolgte eine zweite Blutprobenentnahme (Zeitpunkt t2, postoperativ [post-OP]). Mit 21 Patienten, welche zum Zeitpunkt t2 nicht persönlich zu ihrer *Follow-up*-Untersuchung erscheinen konnten, wurde ein Telefoninterview durchgeführt, bei dem medizinische Ereignisse der ersten drei postoperativen Monate, sowie die aktuelle Leistungsfähigkeit, die körperliche Aktivität und Mobilität erfragt wurden. Gleichzeitig wurde bei diesem Telefonat das Einverständnis der Patienten erfragt, um aktuelle TTE-Ergebnisse bei dem behandelnden niedergelassenen Kardiologen anzufordern. Nach der erteilten Zustimmung wurden die von den Patienten konsultierten Kardiologen informiert und die entsprechenden Untersuchungsergebnisse übermittelt.

2.2.4 Allgemeine Datenerfassung

Folgende Ausgangsdaten der Patienten wurden vorab ermittelt: Alter, Geschlecht, Gewicht, Körpergröße, BMI und wenn vorhanden, der Schweregrad der pulmonalen Hypertonie sowie eine KHK. Zur Einschätzung des Einflusses der kardialen Erkrankung auf den Alltag, wurde das jeweilige NYHA-Stadium, durch Befragung der Patienten über ihre körperliche Belastbarkeit in Ruhe und bei körperlicher Aktivität ermittelt. Tabelle 7 zeigt die entsprechende Definition der vier NYHA Stadien.

NYHA-Stadium	Subjektive Belastbarkeit
1	Herzkrankheit (objektiver Nachweis einer kardialen Dysfunktion) ohne körperliche Limitation
2	Beschwerden bei mindestens mittelschwerer körperlicher Belastung (z.B. zwei Stockwerke Treppensteigen)
3	Beschwerden bei leichter körperlicher Belastung (z.B. ein Stockwerk Treppensteigen)
4	Beschwerden in Ruhe

Tabelle 7: Definition der NYHA-Stadien nach den Richtlinien der *New York Heart Association* (NYHA)

Des Weiteren wurden relevante Komorbiditäten, wie die chronisch obstruktive Lungenerkrankung, Diabetes mellitus, Dyslipidämie, arterielle Hypertonie, periphere Gefäßerkrankungen, zerebrovaskuläre Erkrankungen und chronische Nierenerkrankungen mit einer eingeschränkten glomerulären Filtrationsrate abgefragt und dokumentiert.

2.2.5 Berechnung der Risikoscores

Ein Risikoscore dient der präoperativen Abschätzung des möglichen Mortalitätsrisikos eines Patienten bei einer herzchirurgischen Operation. In dieser Arbeit wurden der EuroSCORE II (*European System for Cardiac Operative Risk Evaluation*) und der *Society of Thoracic Surgeons-Score* (STS-Score) verwendet, welche im Krankenhaus regelhaft eingesetzte Instrumente zur Risikobewertung von herzchirurgischen Operationen darstellen. Jegliche Komorbiditäten und Risikofaktoren der betroffenen Patienten wurden bei der Berechnung der Risikoscores berücksichtigt. Der EuroSCORE II ermöglicht durch seinen komplexeren Aufbau eine genauere Berechnung des Mortalitätsrisikos. Er wird als einer der genauesten und aktuellsten Scores mit einem hohen Vorhersagewert eingeschätzt. Mit dem STS-Score hingegen können Berechnungen zu sechs speziellen Klappenoperationen, in Kombination mit einer koronaren Bypassoperation, durchgeführt werden. Neben dem intraoperativen Mortalitätsrisiko kann mit diesem Score zusätzlich die Gefahr eines postoperativen Schlaganfalls,

das mögliche Auftreten eines Nierenversagens, das Re-Operationsrisiko, das Infektionsrisiko, eine eventuelle postoperative Beatmung und die voraussichtliche Aufenthaltsdauer im Krankenhaus berechnet werden. Vergleicht man die beiden Scores miteinander, gilt die Abschätzung der großen Vielzahl an postoperativen Folgen als Vorteil des STS-Scores, wobei dieser Score am häufigsten in den USA eingesetzt wird. Der Vorteil des EuroSCORE II hingegen ist, dass er bei einer größeren Anzahl an herzchirurgischen Eingriffen verwendet werden kann, was eine höhere Flexibilität in der Einsetzbarkeit im Krankenhaus bedeutet. Gleichzeitig können mit dem EuroSCORE II Hochrisikopatienten besser kalkuliert werden. Alle im Krankenhaus zur Anwendung kommenden Risikoscores haben individuelle Vor- und Nachteile, weswegen eine klinische Entscheidung niemals ausschließlich auf der Basis eines Scores getroffen werden sollte. Daher werden Risikoscores lediglich als unterstützendes Element bei der individuellen Beurteilung eines Patienten durch den behandelnden Herzchirurgen genutzt und sollten immer in Kombination mit anderen diagnostischen Werkzeugen verwendet werden.

2.2.6 Blutprobenentnahme

Die peripher-venöse Blutentnahme erfolgte zu beiden Zeitpunkten mithilfe einer Flügelkanüle an der *Vena cubitalis* des Armes. Hierfür wurden Ethylendiamintetraessigsäure Blutentnahmeröhrchen verwendet. Das Blut wurde umgehend auf Eis gekühlt und zur Weiterverarbeitung im Labor bei 4 °C und 1700 g für 15 Minuten zentrifugiert. Nach der Zentrifugation wurde das Blutplasma in speziell beschriftete Eppendorf Reaktionsgefäße pipettiert. Das System der Beschriftung erfolgte mit vorher festgelegten und dokumentierten patienteneigenen Nummern. Die gewonnenen Plasmaproben wurden bis zur Durchführung der Versuche bei -80 °C gelagert.

2.2.7 Echokardiographische Untersuchung

Zur Erhebung der echokardiographischen Daten wurde die Doppler-Echokardiographie Technik verwendet, welche im klinischen Alltag bei der Diagnose einer AKS eine entscheidende Rolle spielt. Verwendet wurde dabei ausschließlich die TTE, da es sich dabei um ein nicht-invasives, schnelles und sicheres Verfahren handelt, welches in fast jedem Krankenhaus zu Verfügung steht und schon frühzeitige Klappenveränderungen darstellen kann. Des Weiteren ist die

Methode mit einem geringen Aufwand für den Untersucher und keine gesundheitlichen Risiken für den Patienten verbunden. Erhoben wurden die Untersuchungsergebnisse im echokardiographischen Labor der Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie des Universitätsklinikums Düsseldorf durch speziell ausgebildete und zertifizierte Ärzte. Verwendet wurden hierfür die dem aktuellen Standard angepassten Ultraschallgeräte Vivid S5 oder S6 von der Firma *General Electric*. Es wurden folgende Daten erhoben: die linksventrikuläre EF in Prozent, der *left ventricular end diastolic diameter* (LVEDd) in mm, die *interior ventricular septum diastolic* (IVSd) in mm, die *posterior wall thickness during diastole* (PWd) in mm, die maximale Flussgeschwindigkeit (V_{\max}) in m/s, der mittlere Druckgradient (P_{mean}) in mmHg, der Spitzendruckgradient (P_{\max}) über der Klappe in mmHg und die indexgekoppelte KÖF in cm^3/m^2 der Körperoberfläche (KOF). Diese Parameter wurden zum einen bei der Diagnosestellung, zum anderen auch bei der Entscheidung über eine operative Therapie und der Ermittlung der Prognose für jeden Patienten herangezogen. Zusätzlich entscheidend für die Diagnosestellung waren das Vorhandensein und die Ausprägung von Symptomen bei den betroffenen Patienten.

2.2.8 Berechnung spezieller echokardiographischer Parameter

Die linksventrikuläre Muskelmasse (LVMM) in g, der LVMI in g/m^2 und die RWT der Myokardwand wurden nachträglich, nach den Vorgaben der *American Society of Echocardiography*, des *Standards Committee* und der *Chamber Quantification Writing Group* folgendermaßen berechnet (107-110):

$$\text{LVMM [g]} = 0,8 \times \{1,04[(\text{LVEDD} + \text{IVSd} + \text{PWd})^3 - \text{LVEDD}^3]\} + 0,6$$

Der LVMI wurde auf der Grundlage der LVMM berechnet, wobei die LVMM in Relation zur KOF gesetzt wurde:

$$\text{LVMI [g/m}^2\text{]} = \text{LVM [g]} \div \text{KOF [m}^2\text{]}$$

Die RWT wurde errechnet durch:

$$\text{RWT} = (2 \times \text{PWd [mm]}) \div \text{LVEDD [mm]}$$

2.3 Quantifizierung von OPN mittels *Enzyme-linked Immunosorbent Assay*

2.3.1 Grundlagen der experimentellen Methoden

Die OPN-Konzentrationen wurden mit Hilfe eines kommerziellen Kits (R&D Systems, *Quantikine Human OPN Immunoassay*) in den gewonnenen Plasmaproben der Patienten bestimmt. Der Nachweis basiert dabei auf der Technik des *Sandwich Enzyme-linked Immunosorbent Assays* (*Sandwich-ELISA*) (111). Diese Methode beschreibt ein antikörperbasiertes Nachweisverfahren, bei dem das in der Probe enthaltene OPN zunächst an spezifische Antikörper am Boden der Mikroplatte bindet. Die beiden verwendeten Antikörper binden an unterschiedliche Stellen des Zielantigens OPN (Epitope), wodurch sie sich im Versuchsverlauf nicht kompetitiv hemmen. Als Ergebnis bildet sich ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex, welcher den Begriff *Sandwich-ELISA* prägt und in Abbildung 5 dargestellt ist.

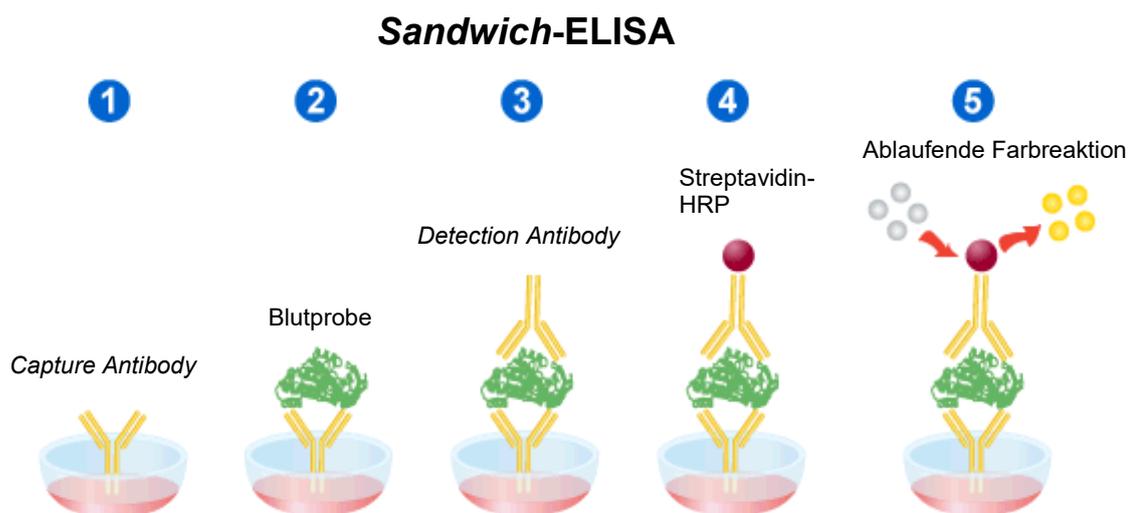


Abb. 5: Funktionsweise des *Sandwich-ELISA* in fünf Schritten. (1) Der *Capture Antibody* bindet über hydrophobe Wechselwirkungen an den Boden der 96 Well Mikroplatte. (2) In diesem Schritt bindet der *Capture Antibody* das in den Blutproben vorhandene und nachzuweisende Antigen und fixiert es durch eine Antigen-Antikörper-Bindung. (3 + 4) Es wird der *Detection Antibody* pipettiert, welcher eine zusätzliche Antigen-Antikörper-Bindung mit dem bereits gebundenen Antigen eingeht, welcher auch als Bindungsstelle für das farbreaktive Protein Streptavidin-*horseradish peroxidase* (HRP) fungiert. (5) Bei der nun ablaufenden Farbreaktion katalysiert das HRP eine enzymatische Reaktion mit einer Substratlösung und es kommt zu einem Farbumschlag (modifiziert nach <https://www.leinco.com/sandwich-elisa-protocol>).

2.3.2 Versuchsvorbereitung

Alle Reagenzien aus dem *Immunoassay Kit* wurden im Kühlschrank bei 4 °C gelagert und vor Beginn der Durchführung auf Raumtemperatur erwärmt. Für die Versuchsdurchführung wurden 96 Well Mikroplatten verwendet. Die beiden verwendeten Antikörper sind nach ihrer Funktion in einen Erstantikörper, den *Capture Antibody* (Fängerantikörper), und einen Zweitantikörper, den *Detection Antibody* (Detektionsantikörper) unterteilt. Zur Vorbereitung wurden der *Capture Antibody (Mouse Anti-Human-OPN)* auf die finale Anwendungskonzentration von 2 µg/ml PBS und der *Detection Antibody (Biotinylated Goat Anti-Human-OPN)* auf die Anwendungskonzentration von 15 ng/ml PBS verdünnt. Anschließend wurden die zu untersuchenden Blutproben mit dem *Reagent Diluent* (Verdünnungsreagenz) 1:200 verdünnt. Zur Vorbereitung der später benötigten Farbreaktion erfolgte die 200-fache Verdünnung des Streptavidin-HRP mit Verdünnungsreagenz.

2.3.3 Durchführung des Sandwich-ELISA

Im ersten Versuchsschritt wurde pro Well der 96 Well Mikroplatte 100 µl des verdünnten *Capture Antibody*s pipettiert und für 24 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert, wobei der *Capture Antibody* über hydrophobe Wechselwirkungen an den Boden der Mikroplatte bindet. Anschließend wurde die Mikroplatte zur Entfernung von noch ungebundenem *Capture Antibody* in drei Durchgängen mit Waschpuffer (300 µL/Well) gewaschen. Freie unspezifische Antikörperbindungsstellen wurden durch eine darauf folgende einstündige Inkubation mit Verdünnungsreagenz bei Raumtemperatur blockiert. Es erfolgte wieder das Waschen mit Waschpuffer (300 µL/Well) in drei Durchgängen. Im folgenden Schritt wurden pro Well 100 µl der vorbereiteten Blutproben, sowie eine Standardreihe pipettiert und zwei Stunden bei Raumtemperatur inkubiert, um eine effektive Bindung des *Capture Antibody*s an das nachzuweisende OPN zu gewährleisten. Auf jeder Mikroplatte wurde eine eigene Standardreihe (Eichgerade) pipettiert, welche mit dem im Kit vorhandenen Standard, auf eine Stockkonzentration von 4 ng/ml eingestellt und zur Herstellung von sieben weiteren Verdünnungen, inklusive einer Negativ-Probe (Leerwertkorrektur) verwendet wurde (Abb. 6). Für jede Probe auf der Mikroplatte wurde eine Doppelbestimmung erstellt. Nach Ablauf der Inkubationszeit erfolgte ein erneuter Waschvorgang, um ungebundene Bestandteile zu entfernen.

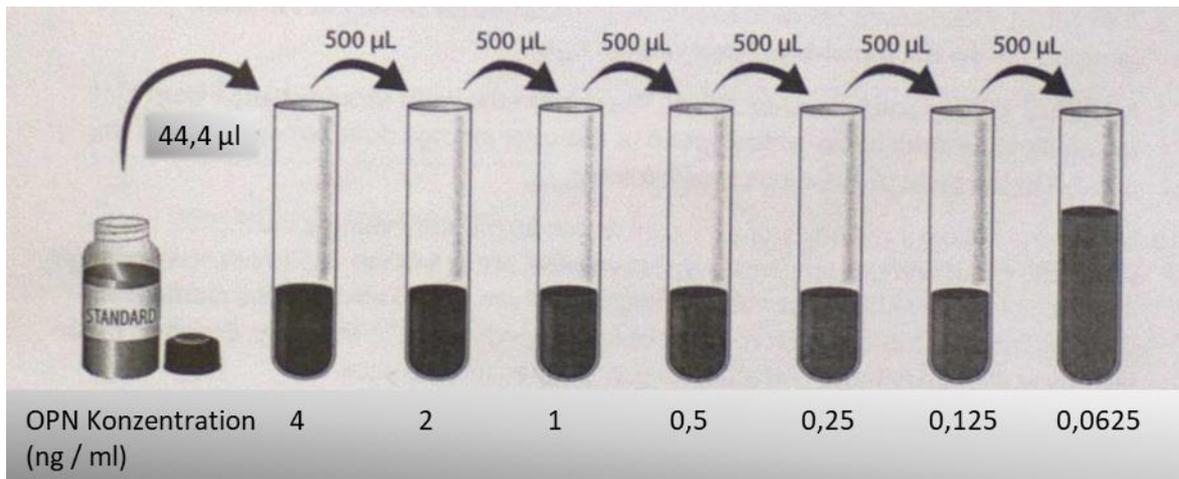


Abb. 6: Verfahren zur Herstellung einer Standardreihe. (1) Herstellung einer OPN (Osteopontin) Konzentration von 4 ng/ml mit 44,4 µl *Recombinant Human OPN Standard* und 955,6 µl Verdünnungsreagenz. (2) Verdünnung der vorherigen OPN Konzentration durch Entnahme von 500 µl Lösung und Mischung mit 500 µl Verdünnungsreagenz bis zu einer OPN Konzentration von 0,0625 ng/ml (modifiziert nach <https://docplayer.org>)

Im nächsten Schritt wurden pro Well 100 µl des vorbereiteten *Detection Antibody* pipettiert und erneut für eine Inkubationszeit von zwei Stunden bei Raumtemperatur belassen. Hierbei geht der Antikörper eine zusätzliche Bindung mit dem nun an der Platte fixierten OPN ein und fungiert im Anschluss als Bindungsstelle für den farbreaktiven *Streptavidin-horseradish peroxidase* (HRP) Komplex. In dieser Arbeit wurde ein biotinylierter *Detection Antibody* verwendet, da Streptavidin eine hohe Bindungsaffinität gegenüber Biotin aufweist. Es erfolgte erneut der dreimalige Waschvorgang mit Waschpuffer (300 µL/Well), um die ungebundenen Antikörper zu entfernen. Nun lag der vollständige Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex zwischen *Capture Antibody*-OPN-*Detection Antibody* final vor. Es wurden im Anschluss pro Well 100µl Streptavidi-HRP pipettiert und für 20 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit inkubiert. Während dieser Zeit bindet Streptavidin-HRP über eine kovalenten Bindung an das Biotin des *Detection Antibody*s. Nach erneutem dreimaligem Waschen mit Waschpuffer (300 µL/Well) wurde die Mikroplatte für weitere 20 Minuten bei Raumtemperatur und in Dunkelheit mit Substratlösung (Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid im Verhältnis 1:1, 100 µL/Well) inkubiert. Bei der nun ablaufenden Farbreaktion katalysiert die Meerrettichperoxidase eine enzymatische Reaktion mit der Substratlösung und es kommt zu einem blauen Farbumschlag in den Wells. Die Intensität der Farbe steigt dabei proportional mit der Konzentration des OPN an. Durch Zugabe von 50 µl

Stopplösung (Schwefelsäure) pro Well wurde die Farbreaktion gestoppt und die Farbintensität photometrisch in einem Spektralphotometer bestimmt.

2.3.4 Datenmessung und Analyse mit dem Spektralphotometer

Mit dem Spektralphotometer (Tecan) wurde die Extinktion der Proben wie auch der Standardreihe bei 450 nm Wellenlänge bestimmt. Eine Wellenlängenkorrektur wurde bei 540 nm vorgenommen. Anhand der Standardreihe wurde eine Standardkurve erstellt, mit dem natürlichen Logarithmus der Konzentration auf der x-Achse und der Extinktion auf der y-Achse. Die OPN Konzentration in den gemessenen Proben wurde anhand der erstellten Standardkurve ermittelt. Des Weiteren wurde die Leerwertkorrektur mit den Ergebnissen verrechnet, um Messfehler durch die zugegebenen Flüssigkeiten zu minimieren.

2.3.5 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung und Analyse der Standardkurve wurden mit Hilfe der GraphPad Prism 6 Software und Microsoft Excel 2013 durchgeführt. Die Ergebnisse sind als Mittelwert \pm Standardabweichung, als Median eines Interquartilsabstandes oder wenn erforderlich in Prozentzahlen dargestellt. Zur statistischen Analyse aller erhobenen Patientenparameter, wie auch alle echokardiographischen Daten wurde der gepaarte *Student's T-Test* verwendet. Zur Auswertung der prä- und postoperativ erhobenen OPN Werte wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test verwendet. Für den Vergleich der OPN Werte aus dem Blutplasma wurden die Patienten in drei Gruppen unterteilt: Patienten mit einer normal konfigurierten Struktur des LV, einer konzentrischen Hypertrophie des LV oder einer exzentrischen Hypertrophie des LV. Anschließend wurden die Blutparameter der Patienten mit einer Einweg-Varianzanalyse und dem Holm-Šídák multiplen Vergleichstest verglichen. Auch die OPN Werte aus den Plasmaproben, der während der Studie verstorbenen Patienten wurden mit den Plasmaproben aller anderen Patienten durch den Wilcoxon-Mann-Whitney-Test verglichen. Die *Odds ratio* wurde anhand des Pearson-Chi-Quadrat-Tests ermittelt. Des Weiteren wurde ein multivariates Analyseverfahren mit den Variablen: prä- und postoperative LVH, Alter, Geschlecht, BMI und KHK unter Verwendung des SPSS Statistik Programms durchgeführt. Alle Werte von $p < 0,05$ wurden als statistisch signifikant definiert.

3. Ergebnisse

3.1 Studienpopulation

Nach Beachtung aller primären und sekundären Ein- und Ausschlusskriterien wurden insgesamt 204 Patienten (Abb. 7), welche sich einem operativen AKE unterzogen, in die Studie aufgenommen. Weitere Ausschlusskriterien, durch welche zusätzlich 34 Patienten im Laufe ihrer Behandlung aus der Studie ausgeschlossen wurden, waren eine Aortenklappeninsuffizienz $> \text{II}^\circ$ und ein zusätzlicher operativer Ersatz der Aorta ascendens aufgrund einer behandlungsbedürftigen Aortendilatation. Bei acht Patienten wurde präoperativ ein zu hohes Operationsrisiko diagnostiziert und daraufhin eine interdisziplinäre Fallbesprechung unter Beteiligung der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie des Universitätsklinikums Düsseldorf vorgenommen, in dessen Folge eine TAVI empfohlen wurde. Bei zwei Patienten konnte während der Operation kein chirurgischer AKE durchgeführt werden, woraufhin diese Patienten nicht weiter an der Studie teilnahmen. Bei sieben weiteren Patienten gab es zusätzlich andere Gründe, welche zu einem späteren Ausschluss aus der Studie führten. Somit nahmen schlussendlich 170 Patienten über den gesamten Zeitraum an der Studie teil und wurden drei Monate nach dem chirurgischen AKE zum *Follow-up* Termin einbestellt. Insgesamt wurden 21 Patienten, welche postoperativ nicht persönlich zu ihrer *Follow-up*-Untersuchung erscheinen konnten, in einem Telefoninterview zu ihrer medizinischen Vergangenheit der letzten drei Monate und zu ihrem aktuellen Gesundheitszustand befragt. Diese Patienten wurden jedoch aufgrund der Voraussetzung eines persönlichen Erscheinens zum *Follow-up* Termin nachträglich aus der Studie ausgeschlossen. Zusammenfassend ergab sich daraus in dieser Arbeit eine Gesamtzahl von 149 Patienten als definierte Studiengruppe. Bei 42 der 149 Patienten (28,19 %) konnte keine LVH festgestellt werden. Bei den übrigen 107 Patienten (71,81 %) konnte eine LVH diagnostiziert und in eine der verschiedenen geometrischen Strukturformen eingeteilt werden. Die Einteilung ergab bei 78 der 107 Patienten eine konzentrische LVH (72,90 %) und bei 29 Patienten eine exzentrische LVH (27,10 %). Zusätzlich wurden weitere Patientendaten gesammelt, dokumentiert und ausgewertet (Tabelle 8). Die am häufigsten aufgetretene Kombination von Komorbiditäten war, die arterielle Hypertonie zusammen mit Dyslipidämie, Diabetes mellitus Typ 2 und Herzrhythmusstörungen. Insgesamt erhielten 138 Patienten eine biologische Aortenklappenprothese, die übrigen 11

Patienten eine mechanische Aortenklappenprothese. Die 30-Tage Sterblichkeitsrate lag bei 1,7 %. Über die gesamte Studie hinweg verstarben insgesamt sechs Patienten innerhalb der drei monatigen *Follow-up* Periode (4,0 %).

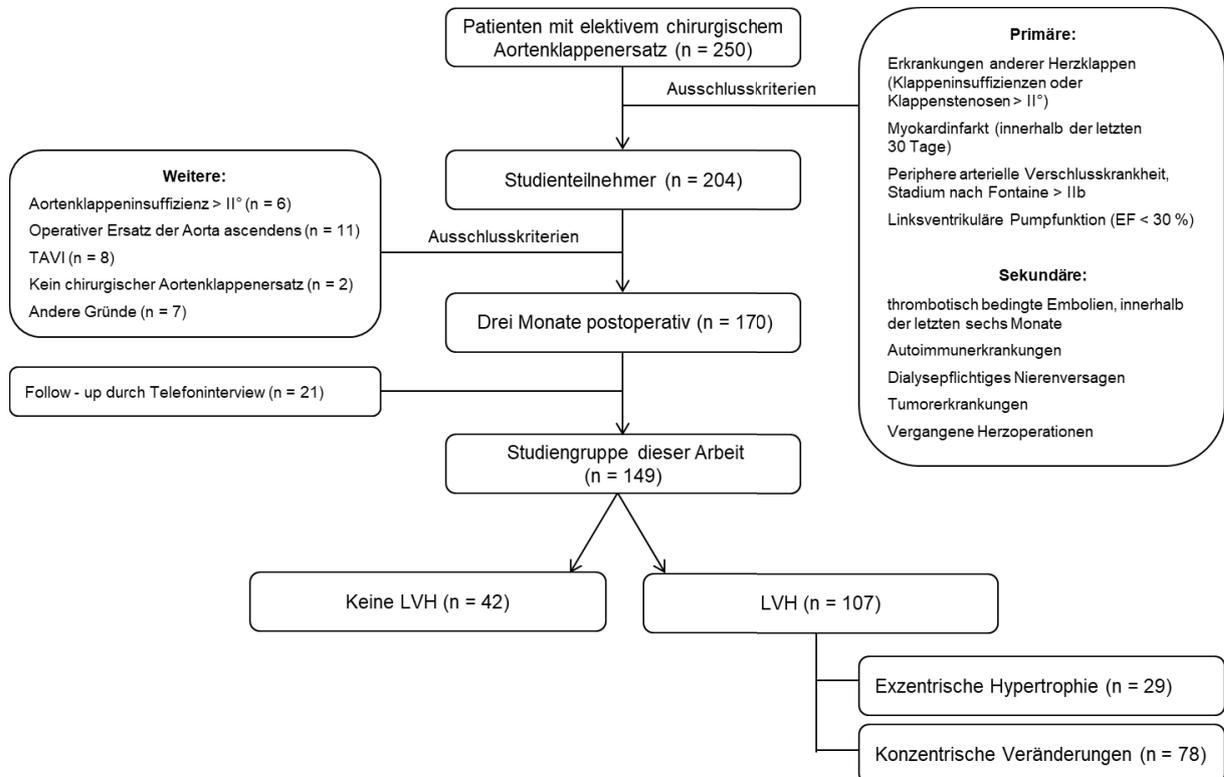


Abb. 7: Flussdiagramm der Studienteilnehmer. EF: Ejektionsfraktion, TAVI: *Transcatheter Aortic Valve Implantation*, LVH: Linksventrikuläre Hypertrophie

Studienbezogene Patientendaten	Anteil in Prozent (%), *Median (Interquartilsabstand), **Mittelwert ± Standardabweichung
Alter (Jahre)	74 (67-78 *)
Männliches Geschlecht	94 (63,1)
BMI (kg/m ²)	27.1 (24,7-29,4 *)
NYHA Stadium 1	22 (14,8)
NYHA Stadium 2	46 (30,9)
NYHA Stadium 3	72 (48,3)
NYHA Stadium 4	9 (6,0)
Zurückliegende kardiale Dekompensation	11 (7,4)
Zurückliegende Synkope	14 (9,4)
Zurückliegende Blutung	3 (2,0)
Arterielle Hypertonie	121 (81,2)
Pulmonale Hypertonie	24 (16,1)

Diabetes mellitus Typ 2	38 (25,5)
Herzrhythmusstörungen	34 (22,8)
Dyslipidämie	64 (42,9)
Hepatitis	4 (2,7)
Pulmonale Erkrankungen	21 (14,1)
GFR (ml/min):	
< 30 ml/min	2 (1,3)
30-60 ml/min	40 (26,8)
> 60 m /min	107 (71,8)
STS-Score	1.67 ± 0.79 **
EuroSCORE II	2.20 ± 1.51 **
Bikuspide Aortenklappe	19 (12,8)

Tabelle 8: Übersicht erhobener studienbezogener Patientendaten. BMI: *body mass index*, NYHA: *New York Heart Association*, GFR: glomeruläre Filtrationsrate, STS: *Society of Thoracic Surgeons*

3.2 Echokardiographische Parameter

Sämtliche von den Patienten erhobenen echokardiographischen Parameter sind in Tabelle 9 zusammengefasst. Nach dem chirurgischen AKE waren die echokardiographischen Messwerte des P_{mean} und des P_{max} signifikant verringert im Vergleich zu den gemessenen Werten vor der Operation. Zusätzlich war durch den Ersatz der AK mit einer neuen funktionsfähigen Prothese die indexgekoppelte KÖF hochsignifikant erhöht ($p < 0,0001$). Drei Monate nach dem operativen AKE konnte eine signifikante Verringerung der IVSd festgestellt werden ($p < 0,05$), wohingegen der LVEDd nicht verändert war. Gleichmaßen konnte drei Monate postoperativ eine signifikante Reduzierung der PWd und RWT nachgewiesen werden ($p < 0,001$). Auch die LVMM und der LVMI waren nach dem chirurgischen AKE signifikant reduziert ($p < 0,001$).

Echokardiographische Parameter	Präoperativ	Postoperativ	P-Wert
EF (%)	58,1 ± 7,58	59,9 ± 5,91	0,0300
V_{max} (m/s)	3,96 ± 0,75	2,06 ± 0,34	< 0,0001
P_{max} (mmHg)	66,1 ± 19,5	17,6 ± 5,91	< 0,0001
P_{mean} (mmHg)	39,4 ± 12,6	9,23 ± 3,12	< 0,0001

indexgekoppelte KÖF (cm ³ /m ² der KOF)	0,75 ± 0,15	1,94 ± 0,22	< 0,0001
LVEDd (mm)	48,5 ± 4,38	48,6 ± 3,91	0,8681
IVSd (mm)	13,7 ± 2,01	12,7 ± 1,49	0,0002
PWd (mm)	11,1 ± 1,13	10,4 ± 1,04	< 0,0001
RWT	0,45 ± 0,06	0,43 ± 0,05	0,0009
LVMM (g)	243 ± 56,2	220 ± 51,4	0,0003
LVMI (g/m ²)	126 ± 26,2	114 ± 23,3	< 0,0001

Tabelle 9: Übersicht der erhobenen echokardiographischen Studiendaten. EF: Ejektionsfraktion, V_{\max} : maximale Flussgeschwindigkeit, P_{\max} : Spitzendruckgradient, P_{mean} : mittlerer Druckgradient, KÖF: Klappenöffnungsfläche, KOF: Körperoberfläche, LVEDd: *left ventricular end diastolic diameter*, IVSd: *interior ventricular septum diastolic*, PWd: *posterior wall thickness during diastole*, RWT: *relative wall thickness*, LVMM: linksventrikuläre Muskelmasse, LVMI: linksventrikuläre Muskelmassenindex

3.3 OPN-Konzentration im Blutplasma

Zu Beginn dieser Arbeit wurden zuerst die OPN-Plasmakonzentration prä- sowie postoperativ ermittelt und anschließend miteinander verglichen (Abb. 8; $p < 0,0001$). Die ermittelten OPN-Konzentrationen waren drei Monate postoperativ im Mittelwert bei 218,1 ng/ml mit einem Interquartilsabstand von 66,21 ng/ml. Damit konnte gezeigt werden, dass drei Monate nach dem chirurgischen AKE die OPN-Konzentration gegenüber den präoperativen OPN-Werten signifikant erhöht war (präoperativ: Mittelwert bei 184,1 ng/ml, Interquartilsabstand 56,7 ng/ml).

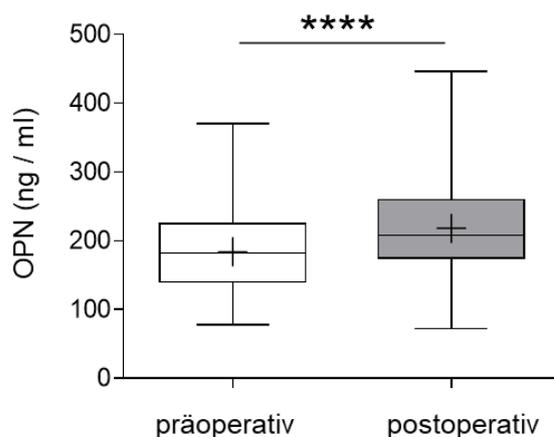


Abb. 8: Vergleich der prä- und postoperativen OPN-Konzentration im Blutplasma. Dargestellt sind der Median (+) und der Mittelwert ± Interquartile Range (IQR) der OPN-Konzentrationen aller 149 Patienten der Studiengruppe. **** $p < 0,0001$.

3.4 Zusammenhang zwischen OPN-Konzentration und der Rückbildung der LVH

Weiterführend wurde untersucht, ob die OPN-Werte im Blut mit der Rückbildung der LVH in Zusammenhang stehen. Es konnte gezeigt werden, dass sowohl präoperativ ($p < 0,001$) als auch postoperativ ($p < 0,001$) eine erhöhte OPN-Plasmakonzentration im Blut mit einer verminderten postoperativen Rückbildung der LVMM in Zusammenhang steht (Abb. 9). Mit Hilfe einer Regressionsanalyse konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Höhe der OPN-Konzentration und der Rückbildung der LVMM nach einem chirurgischen AKE gezeigt werden.

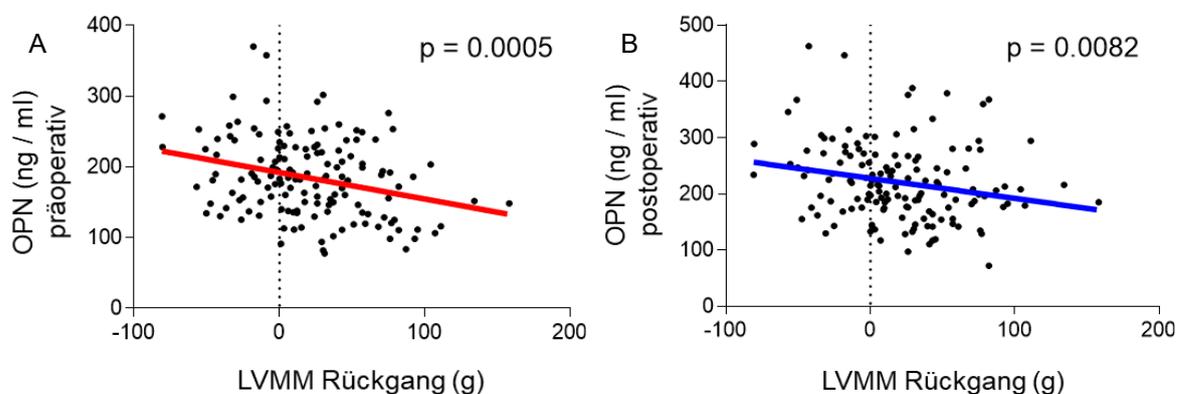


Abb. 9 : Zusammenhang zwischen der OPN-Konzentration im Blutplasma und der Rückbildung der LVMM. (A) Präoperative OPN-Plasmakonzentration auf der y-Achse und der postoperative LVMM Rückgang auf der x-Achse. (B) Postoperative OPN-Plasmakonzentration auf der y-Achse und der postoperative LVMM Rückgang auf der x-Achse.

3.5 Erhöhte OPN-Plasmakonzentration als Indikator für eine exzentrische LVH

Um das Potenzial von OPN als Biomarker für die LVH und deren Unterteilung in eine konzentrische und eine exzentrische geometrische Strukturform zu ermitteln, wurden alle Patienten anhand der Strukturveränderung ihres LV in drei Gruppen unterteilt. Dabei konnte gezeigt werden, dass die Konzentration des OPN im Blutplasma signifikant höher in der Gruppe der Patienten war, welche eine exzentrische Hypertrophie des LV (normwertige RWT $\leq 0,42$ und erhöhter LVMI (Frauen $> 95 \text{ g/m}^2$, Männer $> 115 \text{ g/m}^2$)) aufwiesen, im Vergleich zu den Gruppen mit einer konzentrischen Hypertrophie (sowohl erhöhte RWT $> 0,42$, wie auch erhöhter LVMI) oder den Patienten ohne LVH (Abb. 10). Dies konnte sowohl

präoperativ (Abb. 10A, $p < 0,001$ exzentrische LVH vs. konzentrische LVH, $p < 0,01$ exzentrische LVH vs. keine LVH) als auch postoperativ (Abb. 10B, $p < 0,01$ exzentrische LVH vs. keine LVH, $p < 0,05$ exzentrische LVH vs. konzentrische LVH) gezeigt werden.

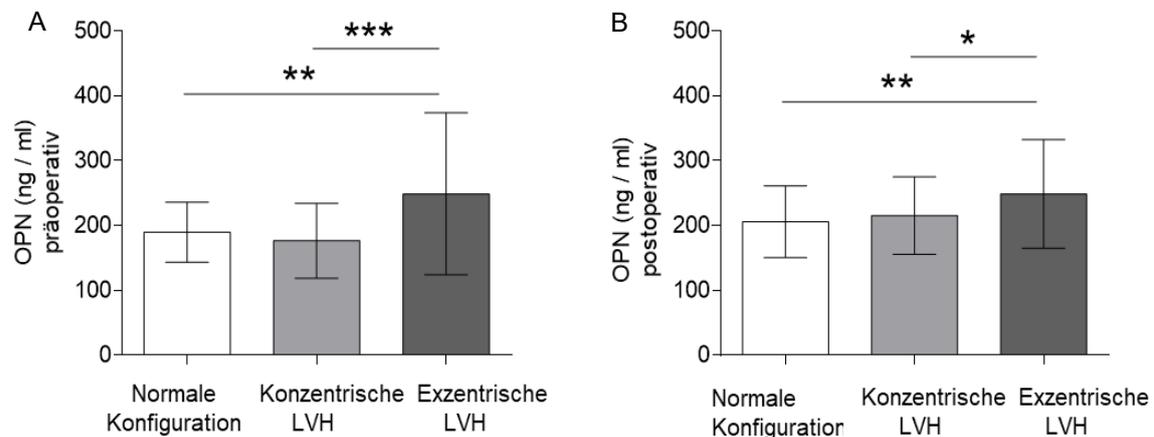


Abb. 10: Vergleich der OPN-Konzentration bei den verschiedenen geometrischen Formen der Hypertrophie. (A) Dargestellt sind der Mittelwert in ng/mg \pm Standardabweichung der präoperativen OPN-Plasmakonzentration bei der konzentrischen LVH ($n = 78$), der exzentrischen LVH ($n = 29$) und bei Patienten ohne LVH ($n = 42$) (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). (B) Dargestellt sind der Mittelwert in ng/ml \pm Standardabweichung der postoperativen OPN-Plasmakonzentration bei der konzentrischen LVH der exzentrischen LVH und bei fehlender LVH, (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$).

Um die Auswirkungen der operativen Methode auf den Zusammenhang zwischen der OPN-Konzentration im Blut und der Konfiguration des LV aufzuzeigen, wurden die Patienten anhand der chirurgisch durchgeführten Maßnahmen in zwei Gruppen unterteilt. In der einen Gruppe befanden sich Patienten, welche zusätzlich zu ihrem AKE eine operative Revaskularisation einer oder mehrerer Koronararterien mittels eines aortokoronaren Bypasses erhalten hatten. In der zweiten Gruppe verblieben alle anderen Patienten mit einem isoliert durchgeführten AKE. Es zeigten sich signifikant höhere OPN-Plasmakonzentrationen in der Gruppe, welche zusätzlich zu dem AKE eine operative Revaskularisation einer oder mehrerer Koronararterien erhalten hatten ($n = 61$) und außerdem eine exzentrische LVH aufwiesen (Abb. 11).

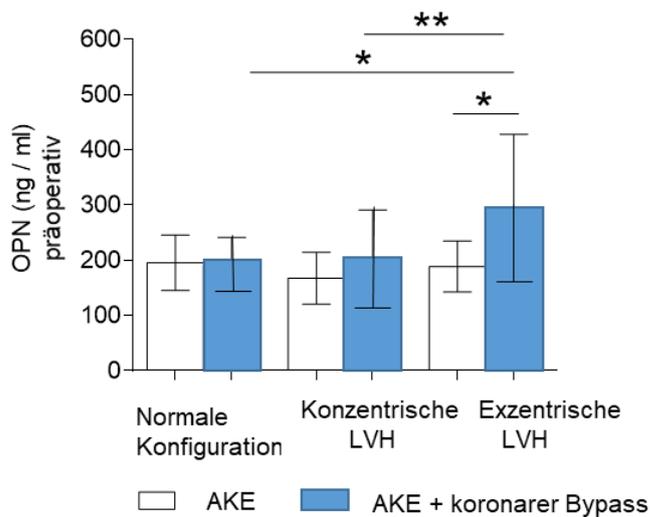


Abb. 11: Vergleich der präoperativen OPN-Konzentration bei den verschiedenen geometrischen Formen der Hypertrophie des LV und den zwei unterschiedlichen chirurgischen Maßnahmen. Dargestellt sind die Mittelwerte \pm Standardabweichung der präoperativen OPN-Plasmakonzentration bei der konzentrischen LVH (linksventrikulären Hypertrophie), der exzentrischen LVH und keiner LVH und den zwei verschiedenen Operationsmethoden, dem chirurgischen Aortenklappenersatz (AKE) und dem AKE inklusive koronarer Bypässe (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

3.6 OPN-Konzentration zur Risikobewertung für das postoperative Mortalitätsrisiko eines chirurgischen AKE

Wie zu erwarten war zeigte sich ein positiver Zusammenhang zwischen den beiden in dieser Arbeit verwendeten Risikoscores (EuroSCORE II und STS-Score) und einer postoperativ beobachteten Mortalität. Es wurde präoperativ bei beiden Risikoscores deutlich, dass in der Gruppe der verstorbenen Patienten höhere Werte (EuroSCORE II: $3,45 \pm 1,16$, $p < 0,01$ und STS-Score: $2,26 \pm 0,68$, $p < 0,05$) als in der Gruppe der nicht verstorbenen Patienten (EuroSCORE II: $2,14 \pm 1,51$ und STS-Score: $1,65 \pm 0,79$) ermittelt wurden. Daraufhin wurde untersucht, ob die ermittelten OPN-Plasmawerte zusätzlich als ein Indikator für das postoperative Mortalitätsrisiko der Patienten aussagekräftig sein könnten. Es konnte gezeigt werden, dass ein entscheidender Unterschied zwischen den OPN-Konzentrationen der während der Studie verstorbenen ($n = 6$) und der nicht verstorbenen Patienten ($n = 143$) besteht (Abb. 12). Bei den nach dem AKE verstorbenen Patienten zeigte sich eine signifikant höhere präoperative OPN-Konzentration im Blutplasma von $487,2 \pm 110,6$ ng/ml, bei den nicht verstorbenen Patienten lag dieser Wert bei $184,2 \pm 56,28$ ng/ml (Abb. 11, $p < 0,001$).

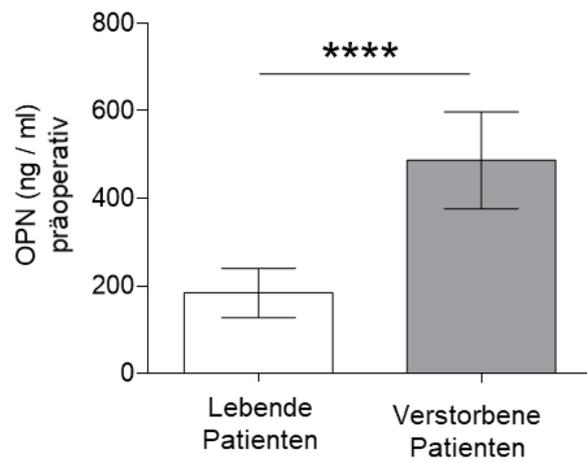


Abb. 12: Vergleich der OPN-Konzentration in Abhängigkeit von Überleben. Dargestellt sind der Mittelwert \pm Standardabweichung der präoperativen OPN-Plasmakonzentrationen der lebenden Patienten (n = 143) und der während der Studie verstorbenen Patienten (n = 6), **** p < 0,001.

4. Diskussion

Der Umbau des Herzmuskels im Rahmen einer LVH führt zu einer sich fortwährend verschlechternden systolischen Funktionen des Herzens, einer erhöhten Mortalitätsrate und zum Auftreten möglicher lebensbedrohlicher Komplikationen für die betroffenen Patienten (34, 41, 42, 112). Einer der Gründe für die Entstehung einer LVH ist die AKS. Die heute einzige Möglichkeit, eine AKS therapeutisch zu behandeln, ist der Ersatz der pathologisch veränderten Aortenklappe durch eine Prothese mittels chirurgisch-operativer oder kathetergestützter Verfahren. Nach einem chirurgischen AKE bildet sich die entstandene LVH bis zu einem gewissen Grad von selbst zurück, individuell unterschiedlich bei jedem Patienten (41, 113). Die Idee dieser Arbeit war es daher, einen präoperativ bestimmbar Biomarker im Blut von Patienten zu etablieren, welcher zur Abschätzung der Rückbildung der LVH nach einem AKE herangezogen werden kann.

Es konnte gezeigt werden, dass die postoperative Rückbildung der LVMM und damit der Rückgang der LVH, bei Patienten mit niedrigen OPN-Konzentrationen stärker ausgeprägt war als bei Patienten mit hohen OPN-Werten im Blut. Diese Ergebnisse ergaben sich unabhängig voneinander sowohl bei der präoperativen Blutentnahme wie auch bei den postoperativen Blutproben, die während der *Follow-up*-Untersuchung gewonnen wurden. Dies lässt den Schluss zu, dass Patienten mit hohen postoperativen OPN-Konzentrationen im Blut, weiterhin eine große LVMM aufwiesen. Grund dafür war eine nach dem chirurgischen AKE verminderte Rückbildung der LVMM. Viele Studien beschreiben die LVMM als einen Messwert, welcher ergänzend zu den traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren, prognostische Informationen über das kardiovaskuläre Risiko eines Patienten liefern kann. Genauer gesagt ist damit die pathologisch vermehrte Bildung der LVMM gemeint, welche mit einem häufigeren Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse bis hin zum Tod in Verbindung gebracht werden kann (114-116). Mitbeeinflusst wird die Vermehrung der LVMM wahrscheinlich durch einige hämodynamische Faktoren, wie zum Beispiel der arteriellen Hypertonie oder dem Schlagvolumen des Herzens. Des Weiteren durch gesundheitlich unabhängige Faktoren wie Körpergröße, Geschlecht und Lebensalter der Patienten (117). Diese vermehrte Bildung der LVMM kann auch als ein Anhaltspunkt für den Übergang von einer

positiv kompensatorischen Herzmuskelvergrößerung zur Entlastung des Herzens, bis hin zu einem pathologischen Umbau der Herzmuskulatur in eine LVH mit negativen Effekten auf die Herzarbeit gesehen werden (118). Mit diesem Zusammenhang zwischen den hohen OPN-Konzentrationen und der geringeren postoperativen Rückbildung der LVMM wäre es möglich, OPN als einen Marker einzusetzen, welcher eine Vorhersage über einen pathologischen Rückgang der LVH auf Basis der verminderten Rückbildung der LVMM nach einem AKE treffen kann.

Des Weiteren konnte eine Verbindung zwischen OPN im Blutplasma der Patienten und der Form der LVH sowohl präoperativ als auch postoperativ gezeigt werden. Bei den 107 Patienten in dieser Arbeit, welche eine LVH aufwiesen, hatten 78 Patienten eine konzentrische Hypertrophie, 29 andere wiesen eine exzentrische Veränderung des LV auf. Die OPN-Plasmakonzentrationen bei den Patienten mit einer exzentrischen Hypertrophie waren im Vergleich höher als bei den Patienten mit einer konzentrischen Hypertrophie oder bei Patienten ohne LVH. Somit besteht die Möglichkeit, mit der Messung von OPN im Blut eine zusätzliche Aussage über die Veränderung des LV im Rahmen der LVH zu treffen, wobei hohe OPN-Plasmakonzentrationen das Vorliegen einer exzentrischen Form der Hypertrophie nahelegen. Noch deutlicher war dieses Ergebnis bei der Aufteilung der Patienten in zwei Gruppen zu sehen. In der Patientengruppe, welche zusätzlich zu dem AKE eine operative Revaskularisation einer oder mehrerer Koronararterien mittels eines aortokoronaren Bypasses erhalten hatte, ließen sich auch hohe präoperative OPN-Konzentrationen mit einer exzentrischen Form der LVH in Verbindung bringen. Zusätzlich zeigte sich in dieser Patientengruppe, dass alle OPN-Konzentrationen zusammengenommen signifikant höher waren als in der Patientengruppe mit einem alleinigen AKE. Dieses Ergebnis lässt sich zum einen durch die diversen biologischen Funktionen von OPN im menschlichen Körper erklären, zum anderen durch die Expression von OPN in den atherosklerotischen Plaques innerhalb der Koronararterien selbst, wo es vermutlich eine Rolle bei der Kalzifizierung spielt (51, 62).

Letztendlich wurde auch gezeigt, dass erhöhte präoperative OPN-Konzentrationen im Blut der Patienten auf ein erhöhtes postoperatives Mortalitätsrisiko dieser Patienten nach einem AKE hindeuten. Die während der Studie verstorbenen Patienten hatten deutlich höhere präoperative OPN-Werte im

Vergleich zu den nicht verstorbenen Patienten der Studie. Damit könnte OPN auch als ein Marker verwendet werden, der die präoperative Risikobewertung von Patienten erweitert und verbessert. Gemeinsam mit den am meisten verwendeten Risikoscores EuroSCORE II und STS-Score zur Berechnung des präoperativen Mortalitätsrisikos könnte OPN als ein weiterer Marker die Genauigkeit solcher Scores verbessern und Patienten identifizieren, bei denen das Risiko für einen operativen AKE deutlich erhöht sein könnte. Da heute ein AKE auch mit nicht-chirurgischen (katheter-gestützten) Techniken erfolgen kann, sollte daher in bestem Sinne für das Wohl des Patienten die passende Therapie ermittelt werden.

Passend zu den bereits beschriebenen Ergebnissen dieser Arbeit, lässt sich außerdem zeigen, dass hohe OPN-Werte im Blut ein Ausdruck für eine postoperativ bestehende LVH und damit für ein erhöhtes Risiko für im Verlauf auftretende kardiovaskulären Ereignisse sein können. Dies schließt auch ein erhöhtes postoperatives Mortalitätsrisiko nach einem AKE ein (37, 38, 40). Da LVH unter anderem durch die pathologische Vermehrung der LVMM über das physiologische Maß hinaus entsteht, werden auch additive Wechselwirkungen, beziehungsweise synergistische Effekte zwischen der LVH und der LVMM vermutet. Verschiedene Studien sehen die pathologische Vermehrung der LVMM als funktionell wichtig für die Entstehung der LVH an (116, 119). Des Weiteren wurde in verschiedenen Studien belegt, dass OPN an Umbauprozessen des Herzmuskels mit beteiligt ist. So konnte bei einem durch einen Myokardinfarkt ausgelösten myokardialen *Remodeling* eine erhöhte OPN Expression in der Infarktregion festgestellt werden (70, 79). Diese Erkenntnisse über OPN und seine prognostischen Fähigkeiten könnte als zusätzliches Mittel zur Diagnosesicherung einer LVH, neben der Echokardiographie genutzt werden. Als eine einfache Laboranalyse zur Ergänzung der bereits bestehenden Standardmethoden könnte OPN auch für niedergelassene Mediziner neue Möglichkeiten bieten, eine frühzeitige Diagnose zu stellen.

4.1 Limitationen

Zu den Limitationen dieser Arbeit gehört die limitierte Anzahl an Studienteilnehmern von insgesamt 149 Patienten, nach Einbeziehung aller Ausschlusskriterien. Eine weitere Limitation besteht in der beobachteten Häufigkeit der postoperativen Mortalität von sechs Patienten über die gesamte Dauer der Studie, welche keine belastbare statistische Auswertung zulässt. Die hier gewonnenen Ergebnisse

sollten daher anhand von größeren Kohorten validiert werden. Des Weiteren könnten die niedrigen Fallzahlen der verstorbenen Patienten für die Definition von OPN als Biomarker, zur präoperativen Risikobewertung vor einem AKE nicht ausreichend aussagekräftig sein.

Die Erhebung der Daten erfolgte als *Single-Center*-Studie am Universitätsklinikum Düsseldorf, wodurch das Risiko für unbekannte Fehlerquellen bei der Datenerhebung aufgrund nicht standardisierter Abläufe möglich ist. Eine *Multi-Center*-Studie an mehreren Kliniken könnte zum Einen eine größere Fallzahl von Patienten erbringen und zum Anderen Fehler bei der Datenerhebung oder den laborchemischen Arbeiten beim Vergleich der Ergebnisse aus den verschiedenen Standorten aufdecken. Außerdem mussten im Verlauf der Studie 34 Patienten aus der Studie ausgeschlossen werden, da sich bei ihnen retrospektiv betrachtet eine Abweichung im Operationsverfahren ergeben hatte und keine standardisierte Operation zum AKE erfolgte. Eine weitere Limitation ergibt sich aufgrund der vielfältigen biologischen Funktionen von OPN im menschlichen Körper, wodurch die Erhöhung der OPN-Konzentrationen im Blut der verstorbenen Patienten auch durch die Vielzahl ihrer Komorbiditäten oder durch andere Faktoren mitbeeinflusst sein könnte, da OPN kein spezifisches Protein für das Krankheitsbild der AKS oder der daraus resultierende LVH ist. Darüber hinaus erfolgte die Erhebung der LVMM in dieser Arbeit nicht direkt am Patienten, sondern rein rechnerisch anhand der während der Studie erhobenen Daten.

4.2 Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass hohe präoperative wie auch postoperative OPN-Konzentrationen im Blut als ein Indikator für eine verminderte Rückbildung der LVH nach einem chirurgischen AKE verwendet werden können. Außerdem deuten die Ergebnisse dieser Arbeit darauf hin, dass mit der Höhe der OPN-Konzentrationen eine Aussage über die geometrische Form der LVH getroffen werden könnte, da hohe OPN-Konzentrationen speziell auf eine exzentrische LVH hindeuten. Zur Verifizierung dieses diagnostischen Potentials von OPN im Blut sind weitere Studien erforderlich, um die vielfältigen Aufgaben von OPN miteinzubeziehen und diagnostisch korrekt einordnen zu können. Zusätzlich kann eine präoperative Bestimmung von OPN bei einem an einer AKS erkrankten Patienten Hinweise auf dessen postoperatives Mortalitätsrisiko bei einem

chirurgischen AKE geben. Es konnte gezeigt werden, dass hohe OPN-Konzentrationen auf ein erhöhtes postoperatives Mortalitätsrisiko nach einem AKE hindeuten. Die Bestimmung der OPN-Konzentrationen könnte als Ergänzung zu den bereits verwendeten Methoden, den beiden Risikoscores EuroSCORE II und STS-Score als ein zusätzliches Instrument bei der präoperativen Risikobewertung verwendet werden.

Literatur und Quellenverzeichnis

1. Gerhard Aumüller GA, Andreas Doll, Jürgen Engele, Joachim Kirsch, Laurenz J Wurzinger. Duale Reihe: Thieme; 2014.
2. Faggiano P, Antonini-Canterin F, Baldessin F, Lorusso R, D'Aloia A, Cas LD. Epidemiology and cardiovascular risk factors of aortic stenosis. *Cardiovasc Ultrasound*. 2006;4:27.
3. Iung B, Vahanian A. Epidemiology of valvular heart disease in the adult. *Nat Rev Cardiol*. 2011;8(3):162-72.
4. Osnabrugge RL, Mylotte D, Head SJ, Van Mieghem NM, Nkomo VT, LeReun CM, et al. Aortic stenosis in the elderly: disease prevalence and number of candidates for transcatheter aortic valve replacement: a meta-analysis and modeling study. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(11):1002-12.
5. Stewart BF, Siscovick D, Lind BK, Gardin JM, Gottdiener JS, Smith VE, et al. Clinical factors associated with calcific aortic valve disease. Cardiovascular Health Study. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29(3):630-4.
6. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, Fischer CS, Vocke DC, Kilic R, et al. Inflammatory regulation of extracellular matrix remodeling in calcific aortic valve stenosis. *Cardiovasc Pathol*. 2005;14(2):80-7.
7. Cho KI, Sakuma I, Sohn IS, Jo SH, Koh KK. Inflammatory and metabolic mechanisms underlying the calcific aortic valve disease. *Atherosclerosis*. 2018;277:60-5.
8. Lindroos M, Kupari M, Valvanne J, Strandberg T, Heikkila J, Tilvis R. Factors associated with calcific aortic valve degeneration in the elderly. *Eur Heart J*. 1994;15(7):865-70.
9. Latsios G, Tousoulis D, Androulakis E, Papageorgiou N, Synetos A, Tsioufis C, et al. Monitoring calcific aortic valve disease: the role of biomarkers. *Curr Med Chem*. 2012;19(16):2548-54.
10. Efe TH, Gayretli Yayla K, Yayla C, Ertem AG, Cimen T, Erken Pamukcu H, et al. Calcific aortic stenosis and its correlation with a novel inflammatory marker, the lymphocyte/monocyte ratio. *Rev Port Cardiol*. 2016;35(11):573-8.
11. Lindman BR, Bonow RO, Otto CM. Current management of calcific aortic stenosis. *Circ Res*. 2013;113(2):223-37.
12. Kaur K, Cisneros M, Nathan S, Blair JEA, Balkhy HH. Percutaneous Coronary Intervention following Placement of Sutureless Aortic Bioprostheses. *Innovations (Phila)*. 2019:1556984519836841.
13. Fujita B, Ensminger S, Bauer T, Mollmann H, Beckmann A, Bekeredjian R, et al. Trends in practice and outcomes from 2011 to 2015 for surgical aortic valve replacement: an update from the German Aortic Valve Registry on 42 776 patients. *Eur J Cardiothorac Surg*. 2018;53(3):552-9.
14. Dweck MR, Boon NA, Newby DE. Calcific aortic stenosis: a disease of the valve and the myocardium. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(19):1854-63.
15. Small A, Kiss D, Giri J, Anwaruddin S, Siddiqi H, Guerraty M, et al. Biomarkers of Calcific Aortic Valve Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017;37(4):623-32.
16. O'Brien KD. Pathogenesis of calcific aortic valve disease: a disease process comes of age (and a good deal more). *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2006;26(8):1721-8.
17. Jian B, Narula N, Li QY, Mohler ER, 3rd, Levy RJ. Progression of aortic valve stenosis: TGF-beta1 is present in calcified aortic valve cusps and promotes aortic valve interstitial cell calcification via apoptosis. *Ann Thorac Surg*. 2003;75(2):457-65; discussion 65-6.
18. Kaden JJ, Dempfle CE, Grobholz R, Tran HT, Kilic R, Sarikoc A, et al. Interleukin-1 beta promotes matrix metalloproteinase expression and cell proliferation in calcific aortic valve stenosis. *Atherosclerosis*. 2003;170(2):205-11.
19. Towler DA. Molecular and cellular aspects of calcific aortic valve disease. *Circ Res*. 2013;113(2):198-208.
20. Rajamannan NM, Evans FJ, Aikawa E, Grande-Allen KJ, Demer LL, Heistad DD, et al. Calcific aortic valve disease: not simply a degenerative process: A review and agenda for research from the National Heart and Lung and Blood Institute Aortic Stenosis Working Group. Executive summary: Calcific aortic valve disease-2011 update. *Circulation*. 2011;124(16):1783-91.
21. Izquierdo-Gomez MM, Hernandez-Betancor I, Garcia-Niebla J, Mari-Lopez B, Laynez-Cerdena I, Lacalzada-Almeida J. Valve Calcification in Aortic Stenosis: Etiology and Diagnostic Imaging Techniques. *Biomed Res Int*. 2017;2017:5178631.
22. Cowell SJ, Newby DE, Boon NA, Elder AT. Calcific aortic stenosis: same old story? *Age Ageing*. 2004;33(6):538-44.

23. Baumgartner H, Hung J, Bermejo J, Chambers JB, Edvardsen T, Goldstein S, et al. Recommendations on the Echocardiographic Assessment of Aortic Valve Stenosis: A Focused Update from the European Association of Cardiovascular Imaging and the American Society of Echocardiography. *J Am Soc Echocardiogr*. 2017;30(4):372-92.
24. Bonow RO, Carabello BA, Chatterjee K, de Leon AC, Jr., Faxon DP, Freed MD, et al. 2008 focused update incorporated into the ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Writing Committee to revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease). Endorsed by the Society of Cardiovascular Anesthesiologists, Society for Cardiovascular Angiography and Interventions, and Society of Thoracic Surgeons. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(13):e1-142.
25. Hansson NH, Sorensen J, Harms HJ, Kim WY, Nielsen R, Tolbod LP, et al. Metoprolol Reduces Hemodynamic and Metabolic Overload in Asymptomatic Aortic Valve Stenosis Patients: A Randomized Trial. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2017;10(10).
26. Alexopoulos A, Kaoukis A, Papadaki H, Pyrgakis V. Pathophysiologic mechanisms of calcific aortic stenosis. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2012;6(2):71-80.
27. Nishimura RA, Otto CM, Bonow RO, Carabello BA, Erwin JP, 3rd, Guyton RA, et al. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(22):e57-185.
28. Vahanian A, Iung B, Himbert D, Nataf P. Changing demographics of valvular heart disease and impact on surgical and transcatheter valve therapies. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2011;27(8):1115-22.
29. Chiang YP, Chikwe J, Moskowitz AJ, Itagaki S, Adams DH, Egorova NN. Survival and long-term outcomes following bioprosthetic vs mechanical aortic valve replacement in patients aged 50 to 69 years. *JAMA*. 2014;312(13):1323-9.
30. Glaser N, Jackson V, Holzmann MJ, Franco-Cereceda A, Sartipy U. Aortic valve replacement with mechanical vs. biological prostheses in patients aged 50-69 years. *Eur Heart J*. 2016;37(34):2658-67.
31. Goldstone AB, Chiu P, Baiocchi M, Lingala B, Patrick WL, Fischbein MP, et al. Mechanical or Biologic Prostheses for Aortic-Valve and Mitral-Valve Replacement. *N Engl J Med*. 2017;377(19):1847-57.
32. Dweck MR, Joshi S, Murigu T, Gulati A, Alpendurada F, Jabbour A, et al. Left ventricular remodeling and hypertrophy in patients with aortic stenosis: insights from cardiovascular magnetic resonance. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2012;14:50.
33. Lindman BR, Clavel MA, Mathieu P, Iung B, Lancellotti P, Otto CM, et al. Calcific aortic stenosis. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16006.
34. Rymuza B, Zbronski K, Scislo P, Wilimski R, Kochman J, Cwiek A, et al. Left ventricular remodelling pattern and its relation to clinical outcomes in patients with severe aortic stenosis treated with transcatheter aortic valve implantation. *Postepy Kardiol Interwencyjnej*. 2017;13(4):288-94.
35. Frey N, Olson EN. Cardiac hypertrophy: the good, the bad, and the ugly. *Annu Rev Physiol*. 2003;65:45-79.
36. Opie LH, Commerford PJ, Gersh BJ, Pfeffer MA. Controversies in ventricular remodelling. *Lancet*. 2006;367(9507):356-67.
37. Kupari M, Turto H, Lommi J. Left ventricular hypertrophy in aortic valve stenosis: preventive or promotive of systolic dysfunction and heart failure? *Eur Heart J*. 2005;26(17):1790-6.
38. Berenji K, Drazner MH, Rothermel BA, Hill JA. Does load-induced ventricular hypertrophy progress to systolic heart failure? *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289(1):H8-H16.
39. Rassi AN, Pibarot P, Elmariah S. Left ventricular remodelling in aortic stenosis. *Can J Cardiol*. 2014;30(9):1004-11.
40. Mihaljevic T, Nowicki ER, Rajeswaran J, Blackstone EH, Lagazzi L, Thomas J, et al. Survival after valve replacement for aortic stenosis: implications for decision making. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2008;135(6):1270-8; discussion 8-9.
41. Beach JM, Mihaljevic T, Rajeswaran J, Marwick T, Edwards ST, Nowicki ER, et al. Ventricular hypertrophy and left atrial dilatation persist and are associated with reduced survival after valve replacement for aortic stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2014;147(1):362-9 e8.
42. Gradman AH, Alfayoumi F. From left ventricular hypertrophy to congestive heart failure: management of hypertensive heart disease. *Prog Cardiovasc Dis*. 2006;48(5):326-41.
43. Gaasch WH, Zile MR. Left ventricular structural remodeling in health and disease: with special emphasis on volume, mass, and geometry. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(17):1733-40.

44. You J, Wu J, Zhang Q, Ye Y, Wang S, Huang J, et al. Differential cardiac hypertrophy and signaling pathways in pressure versus volume overload. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2018;314(3):H552-H62.
45. Ganau A, Devereux RB, Roman MJ, de Simone G, Pickering TG, Saba PS, et al. Patterns of left ventricular hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19(7):1550-8.
46. Lang RM, Badano LP, Mor-Avi V, Afilalo J, Armstrong A, Ernande L, et al. Recommendations for cardiac chamber quantification by echocardiography in adults: an update from the American Society of Echocardiography and the European Association of Cardiovascular Imaging. *J Am Soc Echocardiogr*. 2015;28(1):1-39 e14.
47. Capoulade R, Clavel MA, Le Ven F, Dahou A, Thebault C, Tastet L, et al. Impact of left ventricular remodelling patterns on outcomes in patients with aortic stenosis. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2017;18(12):1378-87.
48. Cramariuc D, Gerdts E, Davidsen ES, Segadal L, Matre K. Myocardial deformation in aortic valve stenosis: relation to left ventricular geometry. *Heart*. 2010;96(2):106-12.
49. Lindman BR, Stewart WJ, Pibarot P, Hahn RT, Otto CM, Xu K, et al. Early regression of severe left ventricular hypertrophy after transcatheter aortic valve replacement is associated with decreased hospitalizations. *JACC Cardiovasc Interv*. 2014;7(6):662-73.
50. Minorette P, Falcone C, Calcagnino M, Emanuele E, Buzzi MP, Coen E, et al. Prognostic significance of plasma osteopontin levels in patients with chronic stable angina. *Eur Heart J*. 2006;27(7):802-7.
51. Schoenhagen P. Osteopontin, coronary calcification, and cardiovascular events: future diagnostic and therapeutic targets for disease prevention? *Eur Heart J*. 2006;27(7):766-7.
52. Waller AH, Sanchez-Ross M, Kaluski E, Klapholz M. Osteopontin in cardiovascular disease: a potential therapeutic target. *Cardiol Rev*. 2010;18(3):125-31.
53. Clemente N, Raineri D, Cappellano G, Boggio E, Favero F, Soluri MF, et al. Osteopontin Bridging Innate and Adaptive Immunity in Autoimmune Diseases. *J Immunol Res*. 2016;2016:7675437.
54. Singh M, Ananthula S, Milhorn DM, Krishnaswamy G, Singh K. Osteopontin: a novel inflammatory mediator of cardiovascular disease. *Front Biosci*. 2007;12:214-21.
55. Senger DR, Wirth DF, Hynes RO. Transformed mammalian cells secrete specific proteins and phosphoproteins. *Cell*. 1979;16(4):885-93.
56. Fisher LW, Torchia DA, Fohr B, Young MF, Fedarko NS. Flexible structures of SIBLING proteins, bone sialoprotein, and osteopontin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;280(2):460-5.
57. Fisher LW, Fedarko NS. Six genes expressed in bones and teeth encode the current members of the SIBLING family of proteins. *Connect Tissue Res*. 2003;44 Suppl 1:33-40.
58. Ramaiah SK, Rittling S. Role of osteopontin in regulating hepatic inflammatory responses and toxic liver injury. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2007;3(4):519-26.
59. Uede T, Katagiri Y, Iizuka J, Murakami M. Osteopontin, a coordinator of host defense system: a cytokine or an extracellular adhesive protein? *Microbiol Immunol*. 1997;41(9):641-8.
60. Lutz M, von Ingersleben N, Lambers M, Rosenberg M, Freitag-Wolf S, Dempfle A, et al. Osteopontin predicts clinical outcome in patients after treatment of severe aortic stenosis with transcatheter aortic valve implantation (TAVI). *Open Heart*. 2017;4(2):e000633.
61. Scatena M, Liaw L, Giachelli CM. Osteopontin: a multifunctional molecule regulating chronic inflammation and vascular disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27(11):2302-9.
62. Fitzpatrick LA, Severson A, Edwards WD, Ingram RT. Diffuse calcification in human coronary arteries. Association of osteopontin with atherosclerosis. *J Clin Invest*. 1994;94(4):1597-604.
63. Shevde LA, Samant RS. Role of osteopontin in the pathophysiology of cancer. *Matrix Biol*. 2014;37:131-41.
64. Mazzali M, Kipari T, Ophascharoensuk V, Wesson JA, Johnson R, Hughes J. Osteopontin--a molecule for all seasons. *QJM*. 2002;95(1):3-13.
65. Wang KX, Denhardt DT. Osteopontin: role in immune regulation and stress responses. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2008;19(5-6):333-45.
66. Kazanecki CC, Uzwiak DJ, Denhardt DT. Control of osteopontin signaling and function by post-translational phosphorylation and protein folding. *J Cell Biochem*. 2007;102(4):912-24.
67. Rittling SR, Chambers AF. Role of osteopontin in tumour progression. *Br J Cancer*. 2004;90(10):1877-81.
68. Frangogiannis NG. Matricellular proteins in cardiac adaptation and disease. *Physiol Rev*. 2012;92(2):635-88.
69. Matsui Y, Jia N, Okamoto H, Kon S, Onozuka H, Akino M, et al. Role of osteopontin in cardiac fibrosis and remodeling in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy. *Hypertension*. 2004;43(6):1195-201.

70. Trueblood NA, Xie Z, Communal C, Sam F, Ngoy S, Liaw L, et al. Exaggerated left ventricular dilation and reduced collagen deposition after myocardial infarction in mice lacking osteopontin. *Circ Res*. 2001;88(10):1080-7.
71. Yu PJ, Skolnick A, Ferrari G, Heretis K, Mignatti P, Pintucci G, et al. Correlation between plasma osteopontin levels and aortic valve calcification: potential insights into the pathogenesis of aortic valve calcification and stenosis. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009;138(1):196-9.
72. Olsson M, Dalsgaard CJ, Haegerstrand A, Rosenqvist M, Ryden L, Nilsson J. Accumulation of T lymphocytes and expression of interleukin-2 receptors in nonrheumatic stenotic aortic valves. *J Am Coll Cardiol*. 1994;23(5):1162-70.
73. Olsson M, Thyberg J, Nilsson J. Presence of oxidized low density lipoprotein in nonrheumatic stenotic aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(5):1218-22.
74. Mohler ER, 3rd, Gannon F, Reynolds C, Zimmerman R, Keane MG, Kaplan FS. Bone formation and inflammation in cardiac valves. *Circulation*. 2001;103(11):1522-8.
75. Poggio P, Grau JB, Field BC, Sainger R, Seefried WF, Rizzolio F, et al. Osteopontin controls endothelial cell migration in vitro and in excised human valvular tissue from patients with calcific aortic stenosis and controls. *J Cell Physiol*. 2011;226(8):2139-49.
76. Mohler ER, 3rd, Adam LP, McClelland P, Graham L, Hathaway DR. Detection of osteopontin in calcified human aortic valves. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17(3):547-52.
77. Isoda K, Nishikawa K, Kamezawa Y, Yoshida M, Kusuhara M, Moroi M, et al. Osteopontin plays an important role in the development of medial thickening and neointimal formation. *Circ Res*. 2002;91(1):77-82.
78. Giachelli CM, Bae N, Almeida M, Denhardt DT, Alpers CE, Schwartz SM. Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*. 1993;92(4):1686-96.
79. Singh M, Foster CR, Dalal S, Singh K. Osteopontin: role in extracellular matrix deposition and myocardial remodeling post-MI. *J Mol Cell Cardiol*. 2010;48(3):538-43.
80. Lindsey ML, Zouein FA, Tian Y, Padmanabhan Iyer R, de Castro Bras LE. Osteopontin is proteolytically processed by matrix metalloproteinase 9. *Can J Physiol Pharmacol*. 2015;93(10):879-86.
81. Lindsey ML. MMP induction and inhibition in myocardial infarction. *Heart Fail Rev*. 2004;9(1):7-19.
82. Ahmed SH, Clark LL, Pennington WR, Webb CS, Bonnema DD, Leonardi AH, et al. Matrix metalloproteinases/tissue inhibitors of metalloproteinases: relationship between changes in proteolytic determinants of matrix composition and structural, functional, and clinical manifestations of hypertensive heart disease. *Circulation*. 2006;113(17):2089-96.
83. Mori S, Gibson G, McTiernan CF. Differential expression of MMPs and TIMPs in moderate and severe heart failure in a transgenic model. *J Card Fail*. 2006;12(4):314-25.
84. Chapman RE, Spinale FG. Extracellular protease activation and unraveling of the myocardial interstitium: critical steps toward clinical applications. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2004;286(1):H1-H10.
85. Philip S, Bulbule A, Kundu GC. Osteopontin stimulates tumor growth and activation of promatrix metalloproteinase-2 through nuclear factor-kappa B-mediated induction of membrane type 1 matrix metalloproteinase in murine melanoma cells. *J Biol Chem*. 2001;276(48):44926-35.
86. Xie Z, Singh M, Siwik DA, Joyner WL, Singh K. Osteopontin inhibits interleukin-1beta-stimulated increases in matrix metalloproteinase activity in adult rat cardiac fibroblasts: role of protein kinase C-zeta. *J Biol Chem*. 2003;278(49):48546-52.
87. Krishnamurthy P, Peterson JT, Subramanian V, Singh M, Singh K. Inhibition of matrix metalloproteinases improves left ventricular function in mice lacking osteopontin after myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*. 2009;322(1-2):53-62.
88. Hou X, Hu Z, Huang X, Chen Y, He X, Xu H, et al. Serum osteopontin, but not OPN gene polymorphism, is associated with LVH in essential hypertensive patients. *J Mol Med (Berl)*. 2014;92(5):487-95.
89. Xie Z, Singh M, Singh K. Osteopontin modulates myocardial hypertrophy in response to chronic pressure overload in mice. *Hypertension*. 2004;44(6):826-31.
90. Graf K, Do YS, Ashizawa N, Meehan WP, Giachelli CM, Marboe CC, et al. Myocardial osteopontin expression is associated with left ventricular hypertrophy. *Circulation*. 1997;96(9):3063-71.
91. Singh K, Sirokman G, Communal C, Robinson KG, Conrad CH, Brooks WW, et al. Myocardial osteopontin expression coincides with the development of heart failure. *Hypertension*. 1999;33(2):663-70.

92. Gerd Schmitz SE, Dieter Götte (Herausgeber). Biomarker - Bedeutung für den medizinischen Fortschritt und Nutzenbewertung: Schattauer GmbH, Verlag für Medizin und Naturwissenschaften; 2008.
93. Peakall DB, Shugart, Lee R. (Eds.). Biomarkers - Research and Application in the Assessment of Environmental Health: Springer; 1993.
94. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;5(6):463-6.
95. Mobasher A, Henrotin Y. Biomarkers of (osteo)arthritis. *Biomarkers*. 2015;20(8):513-8.
96. Dhingra R, Vasani RS. Biomarkers in cardiovascular disease: Statistical assessment and section on key novel heart failure biomarkers. *Trends Cardiovasc Med*. 2017;27(2):123-33.
97. European Commission DR-B. Stratification biomarkers in personalised medicine. 2010, 10-11 June
98. Wolsk E, Claggett B, Pfeffer MA, Diaz R, Dickstein K, Gerstein HC, et al. Role of B-Type Natriuretic Peptide and N-Terminal Prohormone BNP as Predictors of Cardiovascular Morbidity and Mortality in Patients With a Recent Coronary Event and Type 2 Diabetes Mellitus. *J Am Heart Assoc*. 2017;6(6).
99. Khanam SS, Son JW, Lee JW, Youn YJ, Yoon J, Lee SH, et al. Prognostic value of short-term follow-up BNP in hospitalized patients with heart failure. *BMC Cardiovasc Disord*. 2017;17(1):215.
100. Maalouf R, Bailey S. A review on B-type natriuretic peptide monitoring: assays and biosensors. *Heart Fail Rev*. 2016;21(5):567-78.
101. Ohmori R, Momiyama Y, Taniguchi H, Takahashi R, Kusuhashi M, Nakamura H, et al. Plasma osteopontin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2003;170(2):333-7.
102. Georgiadou P, Iliodromitis EK, Kolokathis F, Varounis C, Gizas V, Mavroidis M, et al. Osteopontin as a novel prognostic marker in stable ischaemic heart disease: a 3-year follow-up study. *Eur J Clin Invest*. 2010;40(4):288-93.
103. Abdel-Azeez HA, Al-Zaky M. Plasma osteopontin as a predictor of coronary artery disease: association with echocardiographic characteristics of atherosclerosis. *J Clin Lab Anal*. 2010;24(3):201-6.
104. Chaitanya V, Devi NH, Suchitra MM, Rao P, Lakshmi BV, Kumar VS. Osteopontin, Cardiovascular Risk Factors and Carotid Intima-Media Thickness in Chronic Kidney Disease. *Indian J Nephrol*. 2018;28(5):358-64.
105. Rosenberg M, Zugck C, Nelles M, Juenger C, Frank D, Remppis A, et al. Osteopontin, a new prognostic biomarker in patients with chronic heart failure. *Circ Heart Fail*. 2008;1(1):43-9.
106. Internetseite. Ethikkommission HHU 2020 [Die Ethikkommission an der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf ist ein unabhängiges Gremium aus im Gesundheitswesen und in nicht-medizinischen Bereichen tätigen Personen. Available from: <http://www.medizin.hhu.de/dekanat/gremien-und-kommissionen/kommissionen/ethikkommission.html>.
107. Devereux RB, Reichek N. Echocardiographic determination of left ventricular mass in man. Anatomic validation of the method. *Circulation*. 1977;55(4):613-8.
108. Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sachs I, et al. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol*. 1986;57(6):450-8.
109. Troy BL, Pombo J, Rackley CE. Measurement of left ventricular wall thickness and mass by echocardiography. *Circulation*. 1972;45(3):602-11.
110. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18(12):1440-63.
111. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*. 1971;8(9):871-4.
112. Bing R, Cavalcante JL, Everett RJ, Clavel MA, Newby DE, Dweck MR. Imaging and Impact of Myocardial Fibrosis in Aortic Stenosis. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2019;12(2):283-96.
113. Lamb HJ, Beyerbach HP, de Roos A, van der Laarse A, Vliegen HW, Leujes F, et al. Left ventricular remodeling early after aortic valve replacement: differential effects on diastolic function in aortic valve stenosis and aortic regurgitation. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40(12):2182-8.
114. de Simone G, Palmieri V, Koren MJ, Mensah GA, Roman MJ, Devereux RB. Prognostic implications of the compensatory nature of left ventricular mass in arterial hypertension. *J Hypertens*. 2001;19(1):119-25.

115. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med.* 1990;322(22):1561-6.
116. Lim YH, Lee JU, Kim KS, Kim SG, Kim JH, Lim HK, et al. Association between inappropriateness of left ventricular mass and left ventricular diastolic dysfunction: a study using the tissue Doppler parameter, e/e'. *Korean Circ J.* 2009;39(4):138-44.
117. de Simone G, Devereux RB, Kimball TR, Mureddu GF, Roman MJ, Contaldo F, et al. Interaction between body size and cardiac workload: influence on left ventricular mass during body growth and adulthood. *Hypertension.* 1998;31(5):1077-82.
118. Palmieri V, de Simone G, Roman MJ, Schwartz JE, Pickering TG, Devereux RB. Ambulatory blood pressure and metabolic abnormalities in hypertensive subjects with inappropriately high left ventricular mass. *Hypertension.* 1999;34(5):1032-40.
119. de Simone G, Verdecchia P, Pede S, Gorini M, Maggioni AP. Prognosis of inappropriate left ventricular mass in hypertension: the MAVI Study. *Hypertension.* 2002;40(4):470-6.

Anhang

Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Abbildungen

Abb. 1: Lage der Aortenklappe im Herzen.....	1
Abb. 2: Vereinfachte Darstellung der biochemischen Vorgänge der AKS	3
Abb. 3: Die vier verschiedenen geometrischen Strukturformen des LV bei der LVH	6
Abb. 4: Vereinfachte Darstellung einiger Funktionen von OPN	8
Abb. 5: Funktionsweise des <i>Sandwich</i> -ELISA in fünf Schritten	20
Abb. 6: Verfahren zur Herstellung einer Standardreihe	22
Abb. 7: Flussdiagramm der Studienteilnehmer.....	25
Abb. 8: Vergleich der prä- und postoperativen OPN-Konzentration im Blutplasma	27
Abb. 9 : Zusammenhang zwischen der OPN-Konzentration im Blutplasma und der Rückbildung der LVMM	28
Abb. 10: Vergleich der OPN-Konzentration bei den verschiedenen geometrischen Formen der Hypertrophie	29
Abb. 11: Vergleich der präoperativen OPN-Konzentration bei den verschiedenen geometrischen Formen der Hypertrophie des LV und den zwei unterschiedlichen chirurgischen Maßnahmen.....	30
Abb. 12: Vergleich der OPN-Konzentration in Abhängigkeit von Überleben	31

Tabellen

Tabelle 1: Einteilung der AKS in drei Schweregrade.....	3
Tabelle 2: Verwendete Geräte	13
Tabelle 3: Verwendete Verbrauchsmaterialien.....	13
Tabelle 4: Verwendete Kits.....	14
Tabelle 5: Verwendete Puffer und Lösungen	14
Tabelle 6: Verwendete Software	14
Tabelle 7: Definition der NYHA-Stadien nach den Richtlinien der <i>New York Heart Association</i>	17
Tabelle 8: Übersicht erhobener studienbezogener Patientendaten	26
Tabelle 9: Übersicht der erhobenen echokardiographischen Studiendaten.....	27

Danksagung

Zu aller erst bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Payam Akhyari für die Überlassung des Themas meiner Doktorarbeit und für die damit verbundene Möglichkeit in einem äußerst professionellen Team aus sehr kompetenten Wissenschaftlern mitarbeiten zu dürfen. Ich danke ihm für seinen wertschätzenden Umgang und die sehr gute Betreuung während der gesamten Zeit meiner Forschung.

Insbesondere danke ich meinem Betreuer Dr. rer. nat. Andreas Weber, ohne ihn wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Sein wissenschaftliches Arbeiten, umfangreiches Wissen und fachliches Können haben dieses Werk sehr geprägt. Er hat mich während der gesamten Promotion sehr unterstützt und nach der langen Zeit der Zusammenarbeit bleiben wir in freundschaftlichem Verhältnis verbunden.

Des Weiteren danke ich meiner Arbeitskollegin und Freundin Vera Schmidt, die sich die Mühe gemacht hat, meine gesamte Arbeit mit ihrem umfangreichen fachlichen Wissen Korrektur zu lesen.

Der größte Dank gilt meinen Eltern Brigitte und Horst Büttner, die mich auf meinem Weg zu einer promovierten Ärztin unglaublich unterstützt und immer an mich geglaubt haben. Sie haben mir stets weitergeholfen und waren Tag und Nacht für mich da, wenn ich ihren Rat oder nur ein offenes Ohr brauchte. Ich danke Euch beiden von ganzem Herzen für all Das und liebe Euch sehr.