

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Klinik für Herz- und Gefäßchirurgie

Direktor: Prof. Dr. Dr. Hermann Reichenspurner

**Funktionelle und strukturelle Unterschiede des Myokards bei Patienten
mit Aortenklappenstenose beziehungsweise Aortenklappeninsuffizienz**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Shahria Ahammed Iqbal
aus Berlin

Hamburg 2022

„Allah hat keine Krankheit herabkommen lassen,
ohne dass Er für sie zugleich ein Heilmittel herabkommen ließ.“

Aussage unseres Propheten Muhammad ﷺ, berichtet von Abu Huraira

Sahih al-Buchari, Kapitel 69/Hadith-Nummer: 5678

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 24.01.2023**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD Dr. med. Torsten Christ

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. med. Evaldas Girdauskas

Inhalt

1	Einleitung	2
1.1	Klappenvitien	2
1.1.1	Aortenklappenstenose	2
1.1.2	Aortenklappeninsuffizienz	4
1.2	Der optimale Operationszeitpunkt?	5
1.2.1	Operative Indikationen für AS	6
1.2.2	Operative Indikationen für AI.....	6
1.3	Quantifizierung von Herzinsuffizienz	7
1.4	In vitro Quantifizierung der Herzinsuffizienz	9
1.5	Störung der β -adrenergen Rezeptoren.....	9
1.6	Myokardfibrose	11
1.7	Ziel der Arbeit	11
2	Material und Methoden	12
2.1	Patientenauswahl	12
2.2	Datenbank	13
2.3	Statistische Auswertung	14
2.4	Kontraktionsversuch mit humanem ventrikulären Myokardgewebe	14
2.4.1	Bereitstellung der Myokardproben	14
2.4.2	Vorbereitungen für den Kontraktionsversuch	16
2.4.3	Für den Versuch verwendete Geräte	18
2.4.4	Aufbau der Apparatur zur Kontraktilitätsmessung.....	18
2.4.5	Für den Versuch verwendete Lösungen	21
2.4.6	Für den Versuch verwendete pharmakologisch aktive Substanzen.....	22
2.4.7	Durchführung des Kontraktionsversuches	24
2.5	Auswertung der Kontraktionsversuche	29
2.6	Histologische Bestimmung der Myokardfibrose.....	29
3	Ergebnisse	32
3.1	Auswertung der Patientendaten	32
3.2	Kontraktionsversuch	37
3.2.1	Berechnung der Erfolgsquote des Kontraktionsversuchs	37
3.2.2	Ergebnisse des Kontraktionsversuchs	37
3.2.3	Korrelation zwischen Kontraktilität und Patientendaten	44
3.3	Myokardfibrose	47
3.3.1	Korrelation zwischen Fibrose und klinische Daten.....	47

3.3.1	Korrelation zwischen Fibrose und Kontraktionsdaten	50
4	Diskussion.....	52
4.1	Vom Tiermodell zu in vitro Versuchen mit humanem Gewebe	52
4.1.1	Untersuchung von Druck- und Volumenbelastung am Mausmodell.....	52
4.1.2	Unterschiede zwischen Druck- und Volumenbelastung am humanen Myokard	53
4.2	Unterschiede im Patientenkollektiv	57
4.2.1	Klinische Daten	57
4.2.2	Bildgebung	58
4.3	Septumbioptate als neues pharmakologisches Modell.....	60
4.4	Vergleich der Kontraktionskraft zwischen AS und AI.....	61
4.4.1	Interpretation der eigenen Versuchsergebnisse.....	61
4.4.2	Korrelation der Ergebnisse mit klinischen Parametern	64
4.4.3	Assoziation der β -AR-Funktionsparameter mit klinischen Variablen in einer gemischten multivariaten Regressionsanalyse	65
4.5	Myokardfibrose	66
4.6	Ausblick.....	67
5	Zusammenfassung.....	69
6	Summary.....	71
7	Abkürzungsverzeichnis	73
8	Tabellenverzeichnis	74
9	Abbildungsverzeichnis	75
11	Publikationen	83
12	Danksagung	84
13	Lebenslauf	85
14	Eidesstattliche Versicherung	86

1 Einleitung

1.1 Klappenvitien

Pathologische Veränderungen an Herzklappen stellen eine häufige Indikation zu einem herzchirurgischen Eingriff dar. Die sogenannten Klappenvitien manifestieren sich als Stenose oder Insuffizienz, können aber auch kombiniert vorliegen. Die meisten Vitien betreffen die Aortenklappe und sind dabei vornehmlich auf degenerative Ursachen zurückzuführen (Zakkar et al., 2016).

Langfristig können Klappenvitien in eine manifeste Herzinsuffizienz (HI) übergehen. Daher müssen früher oder später alle hämodynamisch bedeutsamen Klappenvitien operativ oder interventionell korrigiert werden.

1.1.1 Aortenklappenstenose

Die Aortenklappenstenose (AS) bezeichnet eine Einengung im Bereich der Aortenklappe. Dabei kommt es zunächst kompensatorisch zu einem Anstieg der Druckarbeit der linken Herzkammer. Kann der linke Herzmuskel die Druckbelastung auf Dauer nicht standhalten, kommt es über eine verminderte Kontraktilität zu einer Verminderung des ausgeworfenen Blutvolumens. Mit einer Prävalenz von 1-3 % der über 70-Jährigen stellt die AS die häufigste Herzklappenerkrankung in der entwickelten Welt dar (Eveborn et al., 2012).

Am häufigsten ist die AS erworben durch eine kalzifizierende Degeneration ihrer Taschen (Grimard et al., 2016). Bei jüngeren Patienten mit AS hingegen findet sich häufig eine angeborene Malformation der Aortenklappe, z.B. in Form einer bikuspiden Aortenklappe (Roberts et al., 2005). Bei der bikuspiden Klappe führen veränderte hämodynamische Blutströmungen entlang der Aortenklappe zu einer verfrühten Degeneration (Lewin et al., 2005).

Eine relevante Stenose der Aortenklappe führt zu einem erhöhten Widerstand im linkventrikulären Ausflusstrakt. Der linke Ventrikel baut einen höheren Druck auf, um das Blut gegen den erhöhten Widerstand auszuwerfen.

Nach dem Laplace-Gesetz

$$T(\Delta \pm 0) = \frac{p \uparrow \cdot r}{2d \uparrow}$$

T = Wandspannung, p = Druck, r = Radius (des Ventrikels), d = Wanddicke (des Ventrikels)

steigt mit zunehmendem Druck im Ventrikel ($p \uparrow$), bei erhaltener Wandspannung ($T \Delta \pm 0$), die Wanddicke des Ventrikels ($d \uparrow$). Mit anderen Worten reagiert der linke Ventrikel mit einer kompensatorischen Hypertrophie, um die Wandspannung aufrecht zu erhalten (Grossmann et al., 1975). Dieses Phänomen bezeichnet man als konzentrische Hypertrophie und ist charakteristisch für die AS. Der hypertrophierte Ventrikel ist schließlich nicht mehr in der Lage, ausreichend zu relaxieren (Zile et al., 2002). Folglich sinkt das Füllungsvolumen in der Diastole bei erhöhtem enddiastolischem Druck. Ein weiterer pathophysiologisch relevanter Aspekt stellt die mangelhafte Blutversorgung des hypertrophierten Muskels dar. (Carabello et. al., 2009)

Die Abb. 1.1 (aus Carabello und Paulus, 2009) zeigt den klinischen Verlauf der AS. Dabei bleibt die AS lange asymptomatisch. Mit dem Beginn der Symptome fällt die Lebenserwartung drastisch ab. Angina pectoris, Synkope und Präsynkope zeichnen das Beschwerdebild aus. Eine Dyspnoe im Rahmen eines Lungenödems ist ebenfalls möglich (Carabello et. al., 2009).

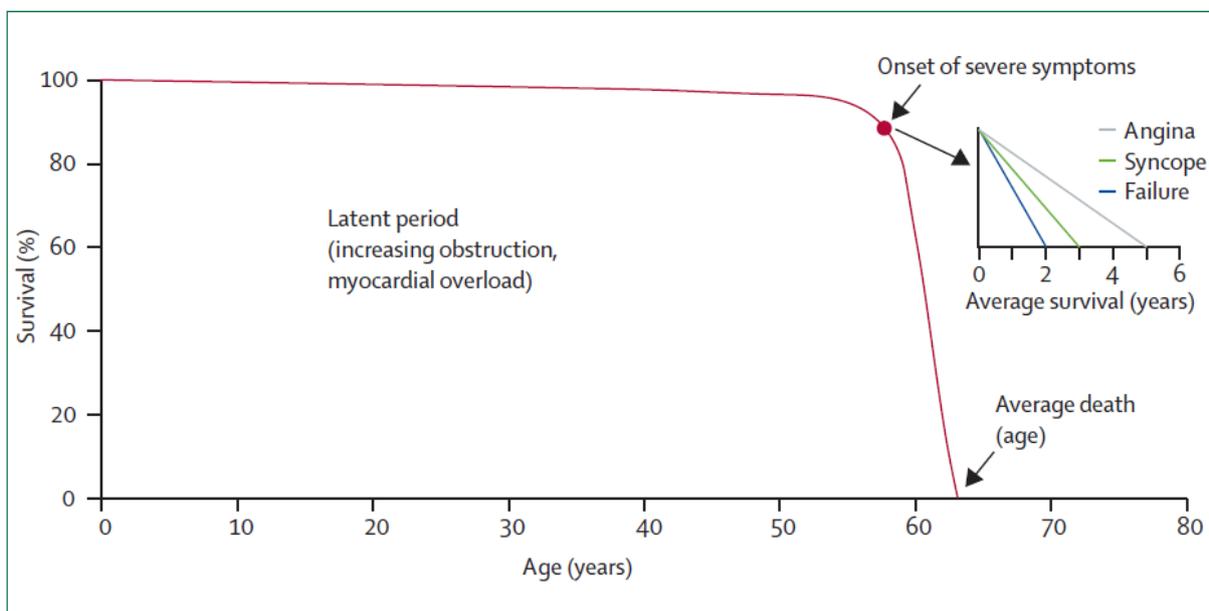


Abbildung 1.1: Darstellung des Überlebens bei Patienten mit AS (aus Carabello und Paulus, 2009 modifiziert nach Ross et al., 1968)

Die Aortenklappenstenose kann über einen langen Zeitraum kompensiert werden, sodass keine Symptome auftreten. Der Symptombeginn geht mit einer erheblichen Verminderung der Überlebenschancen einher. Eine Intervention zu diesem Zeitpunkt kann die Prognose der Betroffenen verbessern.

Heute steht noch keine kausal orientierte medikamentöse Therapie der AS zur Verfügung (Carabello et. al., 2009). Möglicherweise reduzieren Statine das Fortschreiten einer Aortenklappenstenose (Moura et al., 2007). Vor- und Nachlastsenkende Medikamente verbieten sich bei schwerer AS, da es zum Abfall des koronaren Perfusionsdruckes kommen kann (Carabello et. al., 2009). Daher ist häufig ein Ersatz der Aortenklappe nötig.

In der konventionellen chirurgischen Behandlung wird die verkalkte stenosierte Aortenklappe entweder durch eine mechanische oder durch eine biologische Klappenprothese ersetzt. Die Wahl der Prothese hängt von verschiedenen Faktoren ab, darunter das Alter des Patienten, die körperliche Belastung im Alltag sowie persönliche Präferenzen. Da biologische Klappen keine dauerhafte Antikoagulation benötigen, stellt das Vorhandensein von Kontraindikationen zu einer Antikoagulation ein wichtiges Argument bei der Entscheidungsfindung dar (Zakkar et al., 2016).

Patienten, die aufgrund ihres klinischen Zustandes keiner offen-chirurgischen Operation zugeführt werden können, steht seit über 10 Jahren die sogenannte Transcatheter Aortic Valve Implantation (kurz TAVI) zur Verfügung (Aumiller, 2018).

1.1.2 Aortenklappeninsuffizienz

Der Schluss der Taschenklappen in der Diastole verhindert, dass in der Systole ausgeworfenes Blut zurück in die Herzkammern gelangt. Die Aortenklappeninsuffizienz (AI) beschreibt einen Herzklappenfehler, der durch eine Undichtigkeit der Aortenklappe während der Diastole gekennzeichnet ist. Die Prävalenz der AI betrug in der Framingham-Studie bei Männern 13 % und bei Frauen 8,5 % (Singh, 1999). Eine moderate bis schwere AI fand sich hingegen bei 0,5 % der Studienpopulation. In der westlichen Welt wird sie am häufigsten durch degenerative Veränderungen sowie durch das Vorliegen einer kongenitalen bikuspiden Aortenklappe ausgelöst (Maurer, 2016). Ebenfalls kann die AI durch eine Erweiterung des Aortenannulus entstehen. Demgegenüber stellt in den Entwicklungsländern das rheumatische Fieber die führende Ursache für eine AI dar (Goldberg et al., 2008). Man kann die AI in eine akute und chronische Form unterteilen. Da in unserer Studie ausschließlich Patienten mit einer chronischen AI untersucht wurden, beschränkt sich die folgende Arbeit auf die chronische Form.

Bei der AI führt der Rückfluss eines erheblichen Blutvolumens zurück in den linken Ventrikel zu einer Volumenbelastung des Herzmuskels in der Diastole. Zunächst kann der Herzmuskel die Volumenbelastung durch ein Remodeling kompensieren (Goldbarg et al., 2008). Die erhöhte Volumenbelastung des Ventrikels führt jedoch nach dem Laplace-Gesetz zu einer erhöhten Wandspannung ($T \uparrow\uparrow$). Hierbei reagiert der Ventrikel aufgrund der Volumenbelastung überwiegend mit einer exzentrischen Hypertrophie ($d \uparrow$) und Ventrikeldilatation ($r \uparrow\uparrow$) (Champetier et al., 2019).

$$T \uparrow\uparrow (\text{Volumenbelastung}) = \frac{p \cdot r \uparrow\uparrow}{2d \uparrow}$$

Im weiteren Verlauf aggravieren die Umbauprozesse am Herzen. Es kommt zu einer vermehrten Fibrosierung (Borer et al., 2002). Unbehandelt führt die AI sicher zur Entwicklung einer Herzinsuffizienz. (Akinseye et al., 2018)

Viele betroffene Patienten mit AI bleiben lange beschwerdefrei. Treten jedoch Symptome auf, entsprechen sie denen einer Herzinsuffizienz, wie zum Beispiel Dyspnoe. Die erhöhte Wandspannung des Herzmuskels erhöht den Sauerstoffbedarf, welches sich als Angina pectoris beim Patienten bemerkbar macht. (Akinseye et al., 2018)

Bei klinischem Verdacht kann die AI durch eine Echokardiografie gesichert und ihre Ausprägung bestimmt werden.

Im Gegensatz zur AS bieten sich Ansatzpunkte für eine pharmakologische Therapie. Wenn kein operativer Aortenklappenersatz möglich ist, kann die pharmakologische Nachlastsenkung das Regurgitationsvolumen senken (Nadeau-Routhier et al., 2017).

1.2 Der optimale Operationszeitpunkt?

Jeder operative Eingriff erfordert eine Bestimmung des optimalen OP-Zeitpunktes. Bei einem zu frühen herzchirurgischen Eingriff könnte die intraoperative Mortalität höher ausfallen als das Risiko an einen plötzlichen Herztod zu versterben ohne Intervention. Auf der anderen Seite kann eine Verzögerung des Eingriffs die Lebensqualität des Patienten erheblich beeinträchtigen und pathologische Veränderungen am Herzen könnten irreversibel verändert sein.

Im Folgenden werden die Kriterien und Herausforderungen der OP-Indikationen für AS und AI dargestellt.

1.2.1 Operative Indikationen für AS

Die Leitlinie der ESC/EACTS bewertet folgende Kriterien für die AS mit dem Empfehlungsgrad I (Baumgartner, 2017)

- symptomatische AS
Die symptomatische AS wird durch die Messung des mittleren Druckgradienten ≥ 40 mmHg, der Spitzen-Flussgeschwindigkeit $\geq 4,0$ m/s und durch eine reduzierten EF objektiviert.
- asymptomatische Patienten mit schwerer AS
Eine schwere AS ist hierbei definiert als Vorhandensein einer LV-Dysfunktion (LVEF < 50 %), die überwiegend auf die AS zurückzuführen ist. Ebenfalls zutreffend ist ein pathologischer Belastungstest, der auf die AS zurückzuführen ist.
- begleitende Aortenklappenoperation möglich zum Zeitpunkt einer anderen Herzoperation

Bei fortgeschrittener AS wird die Indikation zum operativen Eingriff heute unabhängig vom Alter und der Schwere der linksventrikulären systolischen Dysfunktion gestellt. Ohne Aortenklappenersatz überleben nur 50 % der Betroffenen die nachfolgenden zwei und nur 20 % die nächsten fünf Jahre (Otto, 2000). Dagegen überleben 80 % der Betroffenen in den nachfolgenden drei Jahren nach Aortenklappenersatz (Culliford et al., 1991). Zudem kann sich in 76 % der Fälle die systolische ventrikuläre Funktion nach Klappenersatz verbessern (Connolly et al., 1997).

Vor Einsetzen der Symptome und dem Auftreten einer ventrikulären Dysfunktion sind Operationen bei nachgewiesener AS nicht indiziert, da das Risiko für einen plötzlichen Herztod weitaus niedriger einzustufen ist als die intraoperative Mortalität (Otto, 2000).

1.2.2 Operative Indikationen für AI

Die Leitlinien der ESC/EACTS von 2017 empfehlen eine operative Behandlung der AI bei folgenden Kriterien (Baumgartner, 2017):

- hochgradige symptomatische AI

Die Symptome im Rahmen einer hochgradigen AI geben keinen Rückschluss auf eine bestehende linksventrikuläre Dysfunktion (Chaliki et al., 2002). Jedoch zeigt die Studie von Dujardin et al. aus dem Jahr 1999 sehr eindrucksvoll, dass das postoperative Outcome durchaus von der Symptomatik bei hochgradiger AI

abhängt. Patienten mit AI im Stadium NYHA III-IV hatten dabei eine jährliche Mortalität von 25 %. Bei asymptomatischen Patienten hingegen konnte eine jährliche Mortalität von lediglich 3% gemessen werden (Dujardin et al., 1999).

- hochgradige AI mit Nachweis einer linksventrikulären Dysfunktion (EF in Ruhe <50%)

Die postoperative Prognose wird von der Dauer der linksventrikulären Dysfunktion beeinflusst (Nishimura et al., 2017). Liegt die linksventrikuläre Dysfunktion weniger als 14 Monate vor, kann der operative Aortenklappenersatz zur vollständigen Erholung des Herzmuskels führen (Bonow et al., 1984)

- bei gleichzeitiger OP anderer Ursache

Wird der Patient aufgrund einer anderen herzchirurgischen Indikation am offenen Herzen operiert, ist ein simultaner Ersatz oder Rekonstruktion der Aortenklappe zu empfehlen, da bei hochgradiger AI eine Herzinsuffizienz absehbar ist.

Da im Gegensatz zu AS asymptotische Patienten mit einer hochgradigen AI langfristig von einem frühen Aortenklappenersatz profitieren (Nadeau-Routhier et al., 2017), stellt sich berechtigterweise die Frage:

„Wann ist der optimale Zeitpunkt für die OP?“

Eine konservative Therapie der asymptomatischen hochgradigen AI kann den operativen Zeitpunkt mit dem besten postoperativen Outcome maskieren. Das liegt daran, dass der Übergang in eine Herzinsuffizienz sehr variabel ist und mit den bisherigen diagnostischen Möglichkeiten nicht zuverlässig vorhergesagt werden kann (Goldberg et al., 2008).

Die perioperative Mortalität bei Aortenklappenersatz variiert zwischen 1 und 16,4 % (Thiagarajan, 2017). Diesem Risiko möchte man dem Patienten nicht unnötig aussetzen. Auf der anderen Seite verschlechtert sich die peri- und postoperative Prognose bei Patienten im fortgeschrittenen Stadium der AI (Nadeau-Routhier et al., 2017).

Neuere Parameter sind notwendig, um eine bessere Risikostratifizierung im Hinblick auf die OP-Indikation durchzuführen (Nadeau-Routhier et al., 2017).

1.3 Quantifizierung von Herzinsuffizienz

Die American College of Cardiology definiert die Herzinsuffizienz als klinisches Syndrom, welche aus einer strukturellen oder funktionellen Schädigung des

Herzmuskels hervorgeht. Ursache ist eine Störung der Füllung oder des Auswurfs des Herzmuskels (Yancy, 2013). Der häufigste Grund für eine Herzinsuffizienz stellt die koronare Herzkrankheit dar (Baldasseroni, 2002). Im Grunde können alle Herzerkrankungen im fortgeschrittenen Stadium in eine Herzinsuffizienz übergehen, so auch Herzklappenerkrankungen. In einer echokardiografischen Studie von herzinsuffizienten Patienten hatten 14,1 % eine mittel- bis hochgradige Herzklappenerkrankung (Marciniak, 2017).

Für die Quantifizierung der Herzinsuffizienz gibt es verschiedene Möglichkeiten. Im klinischen Setting haben sich vor allem die symptomorientierte NYHA-Klassifikation (Tab.1.1), der 6-Minuten-Gehtest und die Messung der maximalen Sauerstoffkapazität bewährt. Liegen Herzmuskelpräparate vor (z.B. bei einem Herz-Explantat nach Herztransplantation oder Herzmuskelbiopsien), kann eine Quantifizierung der Herzinsuffizienz auch in vitro erfolgen.

Tabelle 1.1: Symptomorientierte New York Heart Association (NYHA) Klassifikation
Die NYHA-Klassifikation teilt die Herzinsuffizienz auf Grundlage der Dyspnoe ein.

NYHA 1	Herzinsuffizienz ohne Dyspnoe
NYHA 2	Herzinsuffizienz mit Dyspnoe bei starker körperlicher Belastung
NYHA 3	Herzinsuffizienz mit Dyspnoe bei leichter körperlicher Belastung
NYHA 4	Herzinsuffizienz mit Dyspnoe in Ruhe

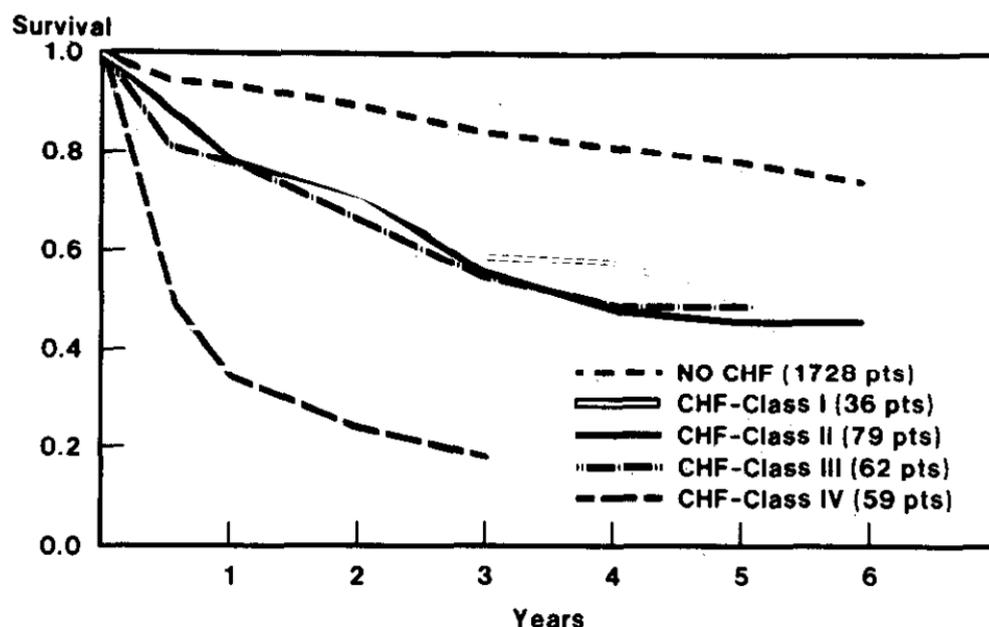


Abbildung 1.2: Überleben abhängig von der NYHA Klassifikation (aus McFate, 1985)
Die NYHA-Klassifikation teilt die Herzinsuffizienz auf Grundlage der Dyspnoe ein. Darstellung der Stadien I bis IV und der gesunden Kontrolle. Je höher dabei die NYHA-Klassifikation, desto geringer beträgt die Überlebenswahrscheinlichkeit.

1.4 In vitro Quantifizierung der Herzinsuffizienz

Die in vitro Quantifizierung der Herzinsuffizienz kann anhand von Kontraktilitätsmessungen an Herzmuskelpräparaten erfolgen. Die Ursache der Insuffizienz kann zusätzlich durch pharmakologische Untersuchungen eingegrenzt werden.

Die Kraft isolierter ventrikulärer Gewebe von Patienten mit terminaler (transplantationspflichtiger) HI unterschied sich nicht hinsichtlich ihrer basalen Kontraktionskraft von denen Gesunder. Jedoch ist der positive inotrope Effekt einer Stimulation von β -Adrenozeptoren (β -AR) abgeschwächt. Der positiv inotrope Effekt von Calcium ist demgegenüber vollständig erhalten (Ginsburg et al., 1983). Neben der Größe des maximalen Effektes (Efficacy) ist auch Konzentration zur Erreichung des halbmaximalen Effektes (Potency) als Maß für die Empfindlichkeit der β -AR reduziert. Die abgeschwächte Inotropie auf β -AR Stimulation geht mit einer abgeschwächten Aktivierung der Adenylatzyklase durch β -AR Stimulation einher (Bristow et al., 1982). Forskolin, als direkter Aktivator der Adenylatzyklase behält aber seine volle Wirksamkeit bei HI (Bristow et al., 1984). Diese Befunde gelten als wegweisende Befunde in der modernen Herzinsuffizienz-Forschung.

Daher sollte in der vorliegenden Arbeit geprüft werden, ob klassische Methoden experimenteller Herzinsuffizienz-Forschung geeignet sein könnten, Patienten mit Aortenklappenvitien genauer zu klassifizieren. Klinische Motivation für diesen Ansatz waren die unzureichenden Möglichkeiten der Risikostratifizierung bei AI. Es sollten aber auch Patienten mit AS eingeschlossen werden, um zu sehen, ob sich beide Aortenklappenvitien hinsichtlich der HI Quantifizierung unterscheiden.

1.5 Störung der β -adrenergen Rezeptoren

Rezeptor-vermittelte Effekte werden häufig durch die Erstellung von Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen untersucht und beschrieben. Zur Messung inotroper Effekte am Herzmuskel werden hierzu überwiegend isometrische Kontraktionen gemessen. Die dabei erstellten Konzentrations-Wirkungs-Beziehungen erlauben einen Rückschluss auf die Funktion der Rezeptoren, hinsichtlich der Empfindlichkeit sowie der maximalen Effektgröße. Anhand derartiger Untersuchungen konnten Ginsburg et al. bereits 1982 zeigen, dass der insuffiziente Herzmuskel ein vermindertes Ansprechen einer β -adrenergen vermittelten Stimulation aufweist. Die ermittelte halbmaximale effektive Konzentration (EC_{50}) von Isoprenalin war fünffach höher beim

insuffizienten Herzmuskel verglichen mit dem normalen Herzmuskel (Ginsburg et al., 1983).

Die genauen Mechanismen einer verminderten Empfindlichkeit von β -adrenergen Rezeptoren bei Herzinsuffizienz sind noch nicht vollständig aufgeklärt. Offenbar könnte eine längere Zeit andauernde Exposition an erhöhten Spiegeln von endogenen Katecholaminen beim Verlust der β -AR-Empfindlichkeit eine Rolle spielen. Es wird angenommen, dass die erhöhten Katecholamine im Körper ansteigen, um die verminderte Herzpumpleistung zu kompensieren (Chidsey et al., 1962). Als Folge kommt es zu einer reduzierten Rezeptoraffinität und zu einer verminderten β -adrenergen Rezeptordichte (Downregulation) (Ginsburg et al., 1983). Auf biochemischer Ebene ist das Phänomen „receptor uncoupling“ so zu erklären, dass die Agonist-besetzten β -adrenergen Rezeptoren durch die spezifische β -adrenerge Rezeptorkinase (β ARK) phosphoryliert werden. Im Anschluss bindet das Inhibitorprotein β -Arrestin die phosphorylierten Rezeptoren und schränkt die Funktion der β -Rezeptoren um ungefähr 70 % ein (Ungerer et al., 1993) (Sigmund et al., 1996). Die reduzierte β -AR-Dichte beruht entweder auf einer eingeschränkten mRNA-Expression und damit einhergehenden verminderten Rezeptorsynthese oder auf einen verstärkten Abbau der β -Rezeptoren (Ungerer et al., 1993). So ist in Herzmuskelgewebe von explantierten Herzen (terminale Herzinsuffizienz auf dem Boden einer ischämischen oder dilatativen Kardiomyopathie) die β -AR-mRNA-Expression vermindert, die β ARK-mRNA-Expression jedoch erhöht (Ungerer et al., 1993).

Der gestörten β -adrenergen Rezeptorfunktion bei Herzinsuffizienz kann durch eine langfristige Behandlung mit β -AR-Antagonisten entgegengesetzt werden (Ungerer et al., 1993) (Sigmund et al., 1996). Die Erholung der β -adrenergen Rezeptoren (vor allem β_1 -Rezeptoren) unter β -AR-Antagonist-Therapie (in der Klinik als β -Blocker bezeichnet) führt unter anderem zu einer Zunahme des Herzzeitvolumens, einem Anstieg der Ejektionsfraktion sowie einem verbesserten Ansprechen auf eine Stimulation der β_1 -Rezeptoren mit Dobutamin, wie sie in der klinischen Studie von Heilbrunn et al. gezeigt werden konnte (Heilbrunn et al., 1989). Interessanterweise konnte man unter β -Blocker-Therapie eine Verdopplung der β -adrenergen Rezeptordichte erzielen und erreicht damit Werte, wie bei Patienten ohne relevante Zeichen einer Herzinsuffizienz. Heilbrunn et al. vermuten die Ursache der erhöhten β -

Rezeptordichte in der reduzierten Katecholaminexposition durch die Besetzung der β -adrenergen Rezeptoren durch die β -Blocker.

In unserer Studie beabsichtigen wir, die Funktion der β -adrenergen Rezeptoren zwischen Patienten mit Aortenklappenstenose und Aortenklappeninsuffizienz experimentell zu vergleichen.

1.6 Myokardfibrose

Nahezu alle Herzerkrankungen gehen mit einer Fibrosierung des Herzmuskels einher. Die Folge ist eine verminderte Dehnbarkeit (Compliance) des Herzmuskelgewebes und damit ein Fortschreiten der Funktionsstörung. Bei diesem Prozess spielen kardiale Fibroblasten eine wichtige Rolle, welche sich im Interstitium des Herzmuskelgewebes befinden. Der Herzmuskel hat nach einer Schädigung nur eine limitierte Regenerationsfähigkeit (Hashimoto et al., 2018). Nach der Schädigung wird das nekrotische Herzmuskelgewebe abgebaut und heilt mit fibrotischem Narbengewebe aus. Um die Bildung des Narbengewebes voranzubringen, wandeln sich kardiale Fibroblasten aus der Extrazellulärmatrix in Myofibroblasten und sezernieren extrazelluläre Matrixproteine. Eine vermehrte Fibrosierung führt schließlich zu einer Herzmuskeldilatation, Herzmuskelhypertrophie und Apoptose von Herzmuskelzellen (Travers et al., 2016).

Im Rahmen unserer Studie untersuchten wir histologisch den Fibroseanteil bei den Patienten mit AS und AI und korrelierten die Ergebnisse mit den in vitro Kontraktilitätsdaten sowie klinischen Daten.

1.7 Ziel der Arbeit

Behandlern von Patienten mit Aortenklappenitien, vor allem bei Aortenklappeninsuffizienz, fehlen aktuell prädiktive Marker für die vollständige Rückbildung der Herzinsuffizienz nach erfolgreicher operativer Klappenkorrektur. Die Arbeit stellt den Beginn der Evaluation des prädiktiven Wertes von in vitro gemessenen Kontraktilitätsparametern im Hinblick auf das postoperative Outcome der Patienten dar.

Da das postoperative Outcome zwischen AS und AI sich unterscheidet, wird die Kontraktilität im Vergleich untersucht. Schließlich wird das Ausmaß der Myokardfibrose bestimmt und eruiert, wie stark sie die klinischen und Kontraktilitätsparameter beeinflusst.

2 Material und Methoden

2.1 Patientenauswahl

Für die Untersuchung funktioneller und struktureller Unterschiede am Myokard bei Patienten mit AS und AI wurden im Universitäten Herzzentrum Hamburg (UHZ) Patienten mit einer operativ behandlungsbedürftigen AS oder AI ausgewählt und nach schriftlicher Einwilligung in die „Valvuläre-Kardiomyopathie-Studie“ unter der Leitung von Prof. Dr. med. Evaldas Girdauskas eingeschlossen.

Im Zeitraum vom 11.03.2016 bis zum 23.01.2019 wurden Herzmuskelproben von

- 33 Patienten/-innen mit einer Aortenklappenstenose (AS)
- 47 Patienten/-innen mit einer Aortenklappeninsuffizienz (AI)

aus dem herzchirurgischen OP des UHZ entnommen. Es wurden Patienten mit einer echokardiografisch gesicherten weitestgehend isolierten Aortenklappenstenose bzw. Aortenklappeninsuffizienz eingeschlossen. Patienten mit gleichzeitigen höhergradigen Mitralklappenvitium wurden ausgeschlossen.

Die Kardiomyopathie-Studie umfasste:

- 1) Präoperatives Labor
- 2) Präoperative Echokardiografie
- 3) präoperatives MRT des Herzens
- 4) intraoperative ventrikuläre Schnittbiopsie
- 5) Kontraktilitätsversuch
- 6) Histologische Fibrosequantifizierung.

Die ausführliche Aufklärung über den Ablauf und die damit verbundenen potenziellen Risiken erfolgten durch das ärztliche Kollegium der Klinik für Herzchirurgie des UHZ. Die Studie entspricht den Richtlinien der Deklaration von Helsinki. Ein positives Ethikvotum der Universität Hamburg liegt vor (Nr. PV3759, 21.02.2016).

Am Institut für Experimentelle Pharmakologie und Toxikologie des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (UKE) wurde die Kontraktilität der Herzmuskelbiopsien untersucht und danach histologisch begutachtet. Vorgegangen waren Kontraktionsversuche von Dr. med. Benjamin Kloth und PD Dr. med. Torsten Christ. Fortgesetzt wurden die Kontraktionsversuche vom Autor dieser Arbeit und von Dr. med. Johannes Petersen.

2.2 Datenbank

Informationen über die Krankheitsgeschichte und diagnostische Parameter wurden in einer Datenbank eingepflegt. Die Datenbank wurde mit Microsoft Excel Version 2019 (Redmond, USA) erstellt.

In der Patientendatenbank wurden folgende Parameter dokumentiert:

Tabelle 2.1: Klinische Daten

Klinische Daten	Echokardiografie	MRT
Alter, Geschlecht Größe, Gewicht, BMI, BSA, vorliegendes Vitium, Klappenmorphologie. Rauchverhalten, ausgewählte, Vorerkrankungen, Medikamente, präoperatives Labor (Gesamtcholesterin, LDL, Kreatinin, CRP und BNP)	LVEDD, LVESD, IVEDD, IVESD, PWEDD, EF nach Simpson, EF nach 3D-Bild, TAPSE, E-Welle, A-Welle, E/E', maximaler Gradient an der Aortenklappe, mittlerer Gradient an der Aortenklappe, Fluss an der Aortenklappe, Aortenklappenöffnungsfläche, Schweregrad des Vitiums	EDV, ESV, SV, EF (letztgenannten auch körperoberflächen- adjustiert), LV-Diameter, Septumdicke. FF, BF, Netflow, Regurgitation Fraction, Late gadolinium enhancement (LGE), Diameter: Aortenbulbus, STJ, Aorta ascendens, Arcus Aortae, Aorta descendens

BMI = body mass index; BSA = body surface area; LDL = low-density lipoprotein; CRP = C-reaktives Protein, BNP = brain natriuretic peptide

LVEDD = left ventricular end-diastolic diameter; LVESD = left ventricular end-systolic diameter; IVEDD = interventricular septal end-diastolic diameter; IVESD = interventricular septal end-diastolic diameter; PWEDD = posterior wall end-diastolic diameter; EF = Ejektionsfraktion; TAPSE = tricuspid annular plane systolic excursion; E-Welle = Flussprofil während frühdiastolischer (passive) Füllung; A-Welle = Flussprofil während spätdiastolischer (aktiver) Füllung, E/E' = Füllungsindex

EDV = end-diastolic volume; ESV = end-systolic volume; SV = Schlagvolumen; EF = Ejektionsfraktion; LV = linksventrikulär; FF = forward flow; BF = backward flow; STJ = sinotubular junction

Tabelle 2.2: Experimentelle Daten

Kontraktionsversuch	Histologie
Kraft unter Phenoxybenzamin (PBA), Isoprenalin (ISO), Forskolin (FSK) und Calcium (Ca ²⁺) Δ ISO_FSK, ISO in % von FSK, Δ ISO_FSK, FSK in % von Ca ²⁺ ISO in % von Ca ²⁺ Log EC ₅₀	Quantitative Fibrosemessung

2.3 Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung der klinischen und experimentellen Daten wurde Microsoft Excel Version 2019 (Redmond, USA) sowie GraphPad Prism Version 5 (San Diego, USA) genutzt.

Die Untersuchung auf Unterschiede zwischen AS und AI der metrischen Variablen ähnlicher Varianzen erfolgte durch den zweiseitigen t-Test für unabhängige Variablen. Für den Nachweis ähnlicher Varianzen wurde der Levene-Test durchgeführt. Bei ungleichen Varianzen der Vergleichsgruppen wurde in Microsoft Excel der t-Test für unabhängige Variablen ungleicher Varianzen und in GraphPad Prism die Welch's-Korrektur verwendet. Beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen untereinander wurde der Tukey's multiple comparisons test herangezogen.

Unterschiede im Bereich der nominalen Variablen wurden mithilfe des χ^2 -Tests ausgewertet. Waren jedoch die erwarteten Zellhäufigkeiten ≤ 5 in weniger als 80% der Kategorien, erfolgte die Auswertung nach dem exakten Test von Fisher.

Die Ergebnisse der in vitro Quantifizierung wurden mit klinischen Parametern der Herzinsuffizienz korreliert. Zunächst wurden die Korrelationen isoliert ohne Berücksichtigung von Wechselwirkungen verwendet und mit GraphPad Prism erstellt. Anschließend wurden durch unsere Arbeitsgruppe Korrelationsanalysen unter Berücksichtigung von Wechselwirkungen durch eine multivariate Regressionsanalyse erstellt. Diese statistische Untersuchung führte Dr. Bastian Geelhoed unter Anwendung der Software R Version 3.5.3 (Auckland, Neuseeland) durch.

Unterschiede mit p-Werten unter 0,05 wurden als signifikant gewertet.

2.4 Kontraktionsversuch mit humanem ventrikulären Myokardgewebe

2.4.1 Bereitstellung der Myokardproben

Die Entnahme der ventrikulären Schnittbiopsien für die Kontraktionsversuche wurde durch Herrn Prof. Girdauskas bei Eingriffen an der Aortenklappe bei Studienpatienten im herzchirurgischen OP des UHZ durchgeführt. Grund für den herzchirurgischen Eingriff waren operationspflichtige Befunde an der Aortenklappe (AS oder AI). Die feine Schnittbiopsie am hohen linksventrikulären Septum erfolgte nach dem Eröffnen der Aorta über dem linksventrikulären Ausflusstrakt (Abb. 2.1).

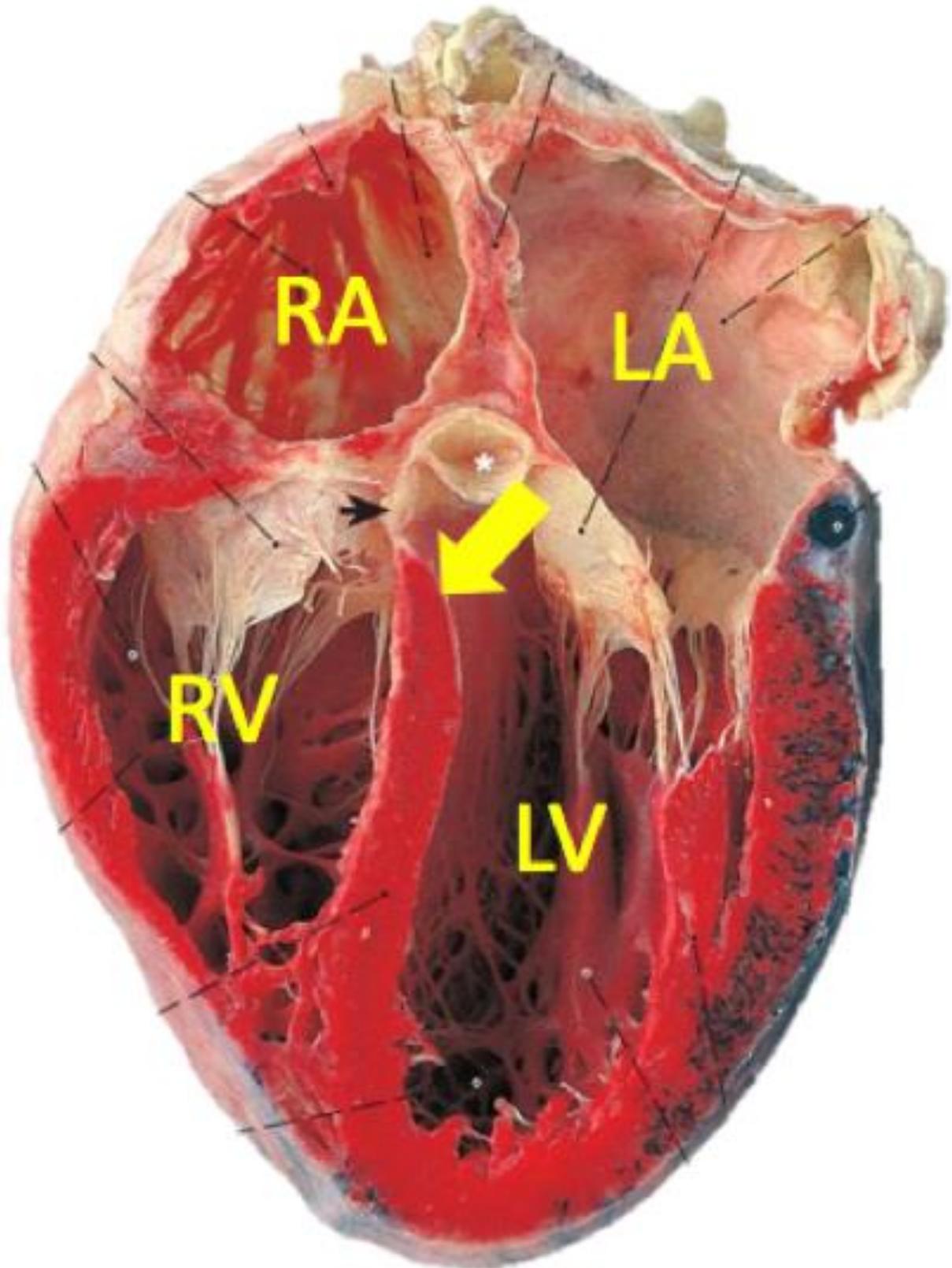


Abbildung 2.1: Lokalisation der intraoperativen Schnittbiopsie (modifiziert aus Taschenbuch Anatomie Benninghoff, Drenckhahn, 3. Auflage ELSEVIER)
Der gelbe Pfeil markiert den Ort der Schnittbiopsie während der Aortenklappenoperation.
RA = rechtes Atrium, LA = linkes Atrium, RV = rechter Ventrikel, LV = linker Ventrikel.

2.4.2 Vorbereitungen für den Kontraktionsversuch

Das Myokardgewebe wurde umgehend nach Entnahme in ein Röhrchen mit gekühlter kardiopleger Transportlösung aufgenommen (Abb. 2.2 Teil A). Die genaue Zusammensetzung dieser Transportlösung ist in der Tabelle 2.5 dargestellt. Das Gewebe wurde in weniger als 60 Minuten in das Labor des Instituts für Experimentelle Pharmakologie und Toxikologie gebracht. Einzelne Proben wurden jedoch noch später gemessen. Waren Kontraktionen messbar, so wurden sie in die Auswertung mit aufgenommen.

Das Myokardgewebe wurde zusammen mit der Transportlösung in eine mit Sylgard 184 beschichtete Petrischale ausgegossen (Abb. 2.2 Teil B). Dort konnte das Gewebe mit Nadeln fixiert werden. War das Gewebe groß genug, so wurde es in mehrere Streifen (jeweils 2-4 mm breit) geschnitten. Dies wurde unter Zuhilfenahme eines Stereomikroskops ausgeführt, um den Schnitt in Längsrichtung der Fasern zu setzen. An dem einen Ende des Herzmuskelstreifens wurde ein chirurgischer Faden angeknötet. Das andere Fadenende wurde zu einer Schlaufe für die spätere Befestigung am Kraftaufnehmer geknötet (Abb. 2.2 Teil C).

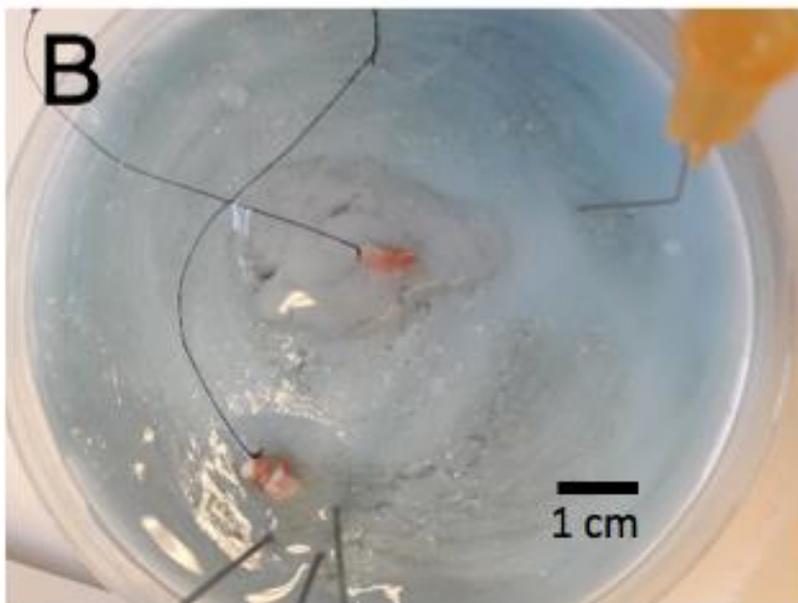
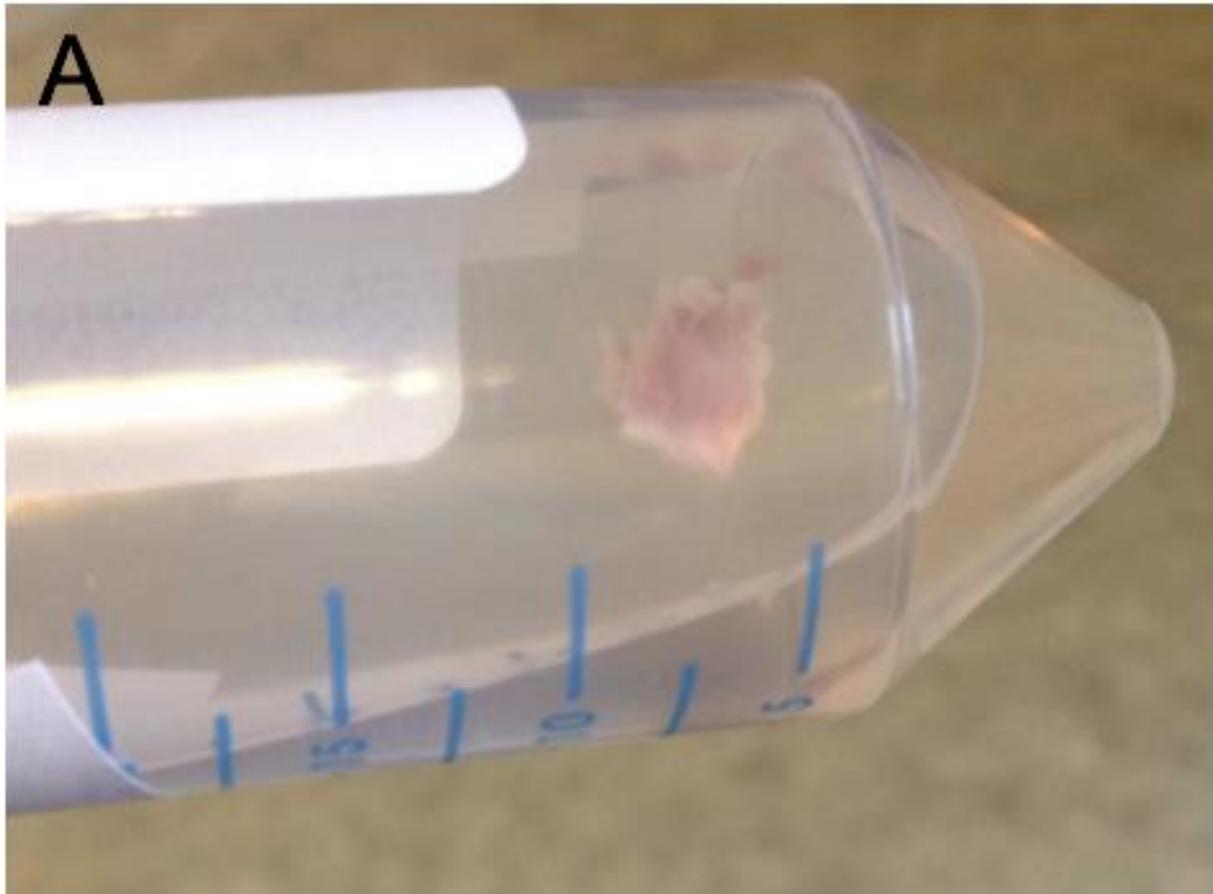


Abbildung 2.2: Vorbereitungen für den Kontraktionsversuch

A: Myokardpräparat in der Transportlösung

B: Myokardpräparat mit einer Augenschere in zwei Proben zertrennt jeweils mit einem chirurgischen Faden angeschlungen

C: Myokardprobe (gelber Pfeil) zwischen Gewebeklemme und Faden im Organbad

2.4.3 Für den Versuch verwendete Geräte

Tabelle 2.3: Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Augenschere	F.S.T Fine Science Tools, Heidelberg
Becherglas (200 ml) für Tyrode	Schott-Jena Glas
Chirurgischer Faden	Resorba, Nürnberg
Eppendorf Tubes (2 ml)	Eppendorf AG, Hamburg
Feinwaage	Sartorius AG Mechatronik, Göttingen
Kraftaufnehmer, Power Lab/8SP	ADInstruments, Dunedin, Neuseeland
Lichtmikroskop, Stemi 2000	Carl-Zeiss AG, Oberkochen
Nadeln zur Fixierung des Gewebes	(beliebige Nadeln möglich)
Petrischale mit Silikonboden	Sarstedt AG, Nümbrecht
Pinzette	FST Fine Science Tools, Heidelberg
Pipetten	Eppendorf AG, Hamburg
Tubes (50 ml)	Greiner bio one, Kremsmünster, Österreich
Wärmepumpe	Lauda Dr R. Wobser GmbH & Co. KG, Lauda Königshofen
Organbad	Selbst hergestellt (AG Torsten Christ)
Vakuumabsaugsystem	Vacuubrand GmbH, Wertheim
Vortexer	IKA-Labortechnik, Staufen

2.4.4 Aufbau der Apparatur zur Kontraktilitätsmessung

Für die Versuche wurde eine Apparatur zur Kontraktilitätsmessung (Abb. 2.3) am Institut für Experimentelle Pharmakologie und Toxikologie des UKE verwendet. Die Apparatur besteht in groben Zügen aus einem für das untersuchte Gewebe vorgesehene Organbad, einem Stimulator, einer Umwälzpumpe mit Heizung und einem Computer für die Aufzeichnung der Kontraktionen. In Tabelle 2.4 wird der Aufbau sowie die Funktionsweise der Apparatur zur Kontraktilitätsmessung näher betrachtet.

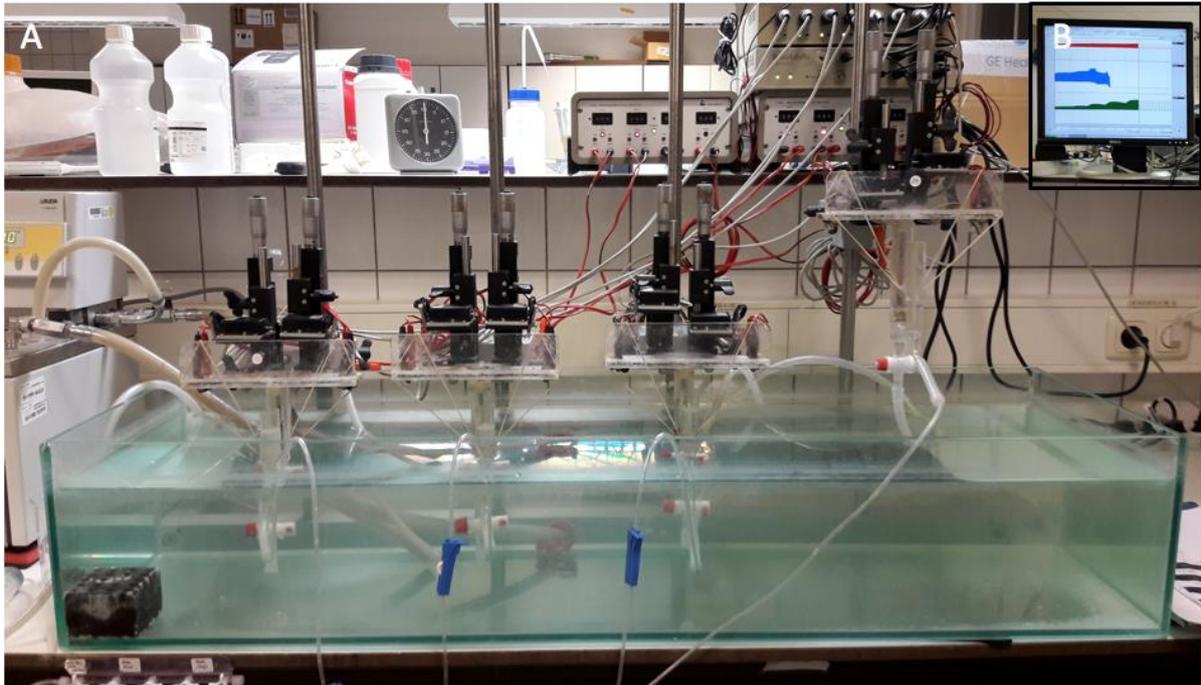


Abbildung 2.3: Foto der Kontraktilitätsapparatur aus dem Institut für Experimentelle Pharmakologie und Toxikologie am UKE

- A Kontraktilitätsapparatur
- B Monitor mit Aufzeichnung eines Kontraktionsversuches

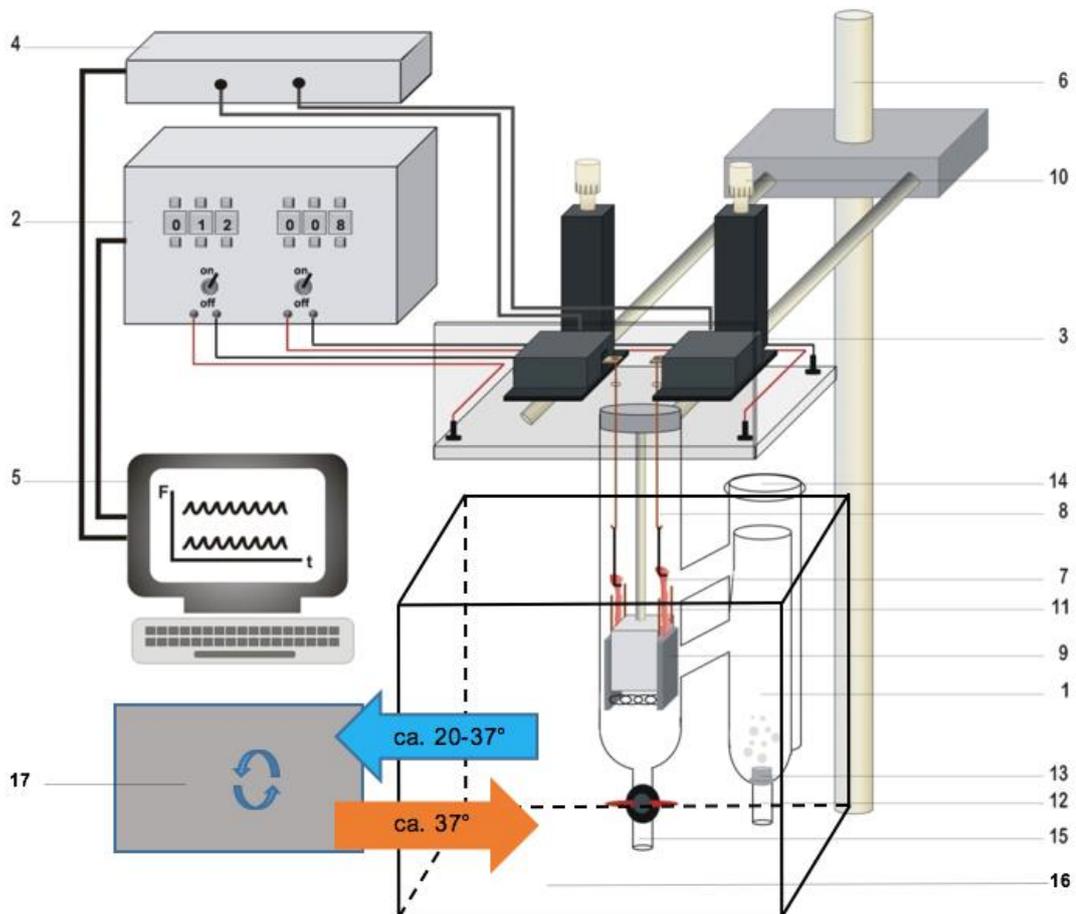


Abbildung 2.4: Modifiziertes Schema der Kontraktilitätsapparatur (Schweigler, 2012)
Bestandteile der Kontraktilitätsapparatur werden in der Tabelle 2.5 ausgeführt.

Tabelle 2.4: Bestandteile der Apparatur zur Kontraktilitätsmessung und ihre Funktionen

Nr.	Bezeichnung	Funktion
1	Organbad	Das Organbad wurde mit 50 ml Tyrode's-Lösung (Zusammensetzung siehe Tab. 2.6 und 2.7) gefüllt. Zudem erhielt das Organbad eine Carbogen-Zufuhr zur Oxygenierung und pH-Wert-Einstellung der Lösung. Es beinhaltete das eingespannte Myokardgewebe (11) sowie die Elektroden zur elektrischen Stimulation des Gewebes.
2	Stromquelle	Die Stromquelle lieferte den Strom für die elektrische Erregung des Herzmuskelgewebes mit einer Stromstärke von 60-90 Milliampere (mA). Der Stromstoß bildete den Reiz für die Kontraktion.
3	Kraftaufnehmer	Die Kraftaufnehmer registrierten die Kraft, welche durch die isometrische Kontraktion des Muskelgewebes erzeugt wurde.
4	Kraftsensor	Die gemessene Kraft wurde über den Kraftsensor registriert.
5	Computer	Im Rechner war die Software Chart (Version 5.5.6, ADInstruments, Dunedin, Neuseeland) installiert. Die Software diente zur Aufzeichnung und zur späteren Auswertung des Kontraktionsversuchs.
6	Stange	Gerüst der Messinstrumente
7	Chirurgischer Faden	Der chirurgische Faden verband das Myokardgewebe (11) mit dem Draht des Kraftaufnehmers (3).
8	Draht	Der Draht war unten zu einem Haken gebogen. Dieser verband die Schlaufe des chirurgischen Fadens mit dem Kraftaufnehmer.
9	Gewebeklemme	Mithilfe der Gewebeklemme wurde das Myokardgewebe am unteren Ende fixiert und ermöglichte darüber die Messung der isometrischen Kraftentwicklung.
10	Drehknopf	Durch den Drehknopf wurde die Höhe des Kraftaufnehmers verstellt. Sie ermöglichte dadurch eine Dehnung bzw. Entspannung des Myokards.

11	Myokardgewebe	Das ventrikuläre Myokardgewebe befand sich im Organbad zwischen der Gewebeklemme (9) und dem chirurgischen Faden (7). Durch den Drehknopf (10) konnte das Gewebe beliebig gedehnt und entlastet werden.
12 +13	Carbogen-Zufuhr	Das Gasgemisch Carbogen bestand zu 95% aus O ₂ und zu 5% aus CO ₂ . Der Sauerstoff diente zur Oxygenierung der Myokardprobe. Über das CO ₂ wurde der Bikarbonatpuffer eingestellt.
14	Öffnung Organbad	Das Organbad war nach oben hin geöffnet, sodass überschüssiges Carbogen in den Raum entwich.
15	Ausleitung	Flüssigkeiten im Organbad konnten über die Ausleitung am Waschbecken entsorgt werden.
16	Wasserbecken	Alle Organbäder wurden im Versuch in ein Wasserbecken eingetaucht. Das Wasser im Wasserbecken wurde auf 37°C erwärmt und stellte sicher, dass die Versuchsbedingungen der Körperkern-temperatur angeglichen waren.
17	Umwälzpumpe mit Heizung	Die Umwälzpumpe saugte das Wasser aus dem Wasserbecken an, erwärmte dieses und gab sie wieder an das Becken ab.

2.4.5 Für den Versuch verwendete Lösungen

2.4.5.1 Transportlösung

Tabelle 2.5: Zusammensetzung der kardioplegen Transportlösung (250 ml)

Substanz	Hersteller	Konzentration
D-(+)-Glucose	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	20 mM
Natriumchlorid	Carl Roth, Karlsruhe	100 mM
KH ₂ PO ₄	Merck, München	1,2 mM
MgSO ₄	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	3 mM
Taurin	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	50 mM
MOPS (Puffer)	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	5 mM
BDM	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	30 mM
KCl	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	10 mM

2.4.5.2 Tyrode's-Lösung

Die Tyrode's Lösung setzte sich aus 100 ml einer Stammlösung A, 100 ml aus einer Stammlösung B, 2 g Glucose sowie 1800 ml destilliertem Wasser zusammen.

Tabelle 2.6: Stammlösung A (100 ml)

Substanz	Hersteller	Konzentration
NaCl	Carl Roth, München	2,55 M
KCl	Sigma-Aldrich, St. Louis, USA	108,1 mM
MgCl ₂ x 6 H ₂ O	Merck, München	19,7 µM
CaCl ₂ x 2 H ₂ O	Merck, München	34,01 µM
H ₂ O		

Tabelle 2.7: Stammlösung B (100 ml)

Substanz	Hersteller	Konzentration
NaH ₂ PO ₄ x 1 H ₂ O	Merck, München	7,2 µM
NaHCO ₃	Merck, München	440 mM
H ₂ O		

Hieraus ergeben sich in der Tyrode's Lösung folgende Endkonzentrationen der gelösten Substanzen: NaCl 126,7 mM, KCl 5,4 mM, CaCl₂ 1,8 mM, MgCl₂ 1,05 mM, NaH₂PO₄ 0,42 mM, NaHCO₃ 22 mM und Glucose 5 mM. Nach Zuleitung von Carbogen (5 % CO₂ und 95% O₂) lag der pH-Wert der Tyrode's Lösung bei 7,4.

2.4.6 Für den Versuch verwendete pharmakologisch aktive Substanzen

2.4.6.1 Phenoxybenzamin

Phenoxybenzamin (im Folgenden PBA) blockiert irreversibel α -adrenerge Rezeptoren durch Alkylierung. (Constantine et al., 1980). Physiologischerweise führt eine Aktivierung präsynaptischer α_2 -Rezeptoren durch den natürlichen Agonisten Noradrenalin an den sympathischen Nervenendigungen zu einer Hemmung der Noradrenalinfreisetzung (Schwartz, 1997). Die Freisetzung von Noradrenalin wird so auf Ebene der Synapse autoreguliert. Blockiert PBA hingegen die präsynaptischen α_2 -Rezeptoren, so wird Noradrenalin mit jeder Stimulation aus den Endigungen freigesetzt.

In der Klinik findet PBA in der perioperativen Einstellung des Blutdrucks bei Patienten mit Phäochromozytom sowie bei der kurzfristigen symptomatischen Behandlung von Blasenentleerungsstörungen Anwendung (Coleman et al., 2009). In unserem Versuch benutzen wir PBA, um Noradrenalin aus dem Herzmuskelgewebe freizusetzen (Enero et al., 1997), um es danach in der Badlösung auszuwaschen.

Tabelle 2.8 Phenoxybenzamin

Substanz	Hersteller	Konzentration
Phenoxybenzamin	Merck KGaA, Darmstadt	100 mM

2.4.6.2 Isoprenalin

Isoprenalin ist ein synthetischer Wirkstoff mit struktureller Ähnlichkeit zum Adrenalin. Isoprenalin hat aber verglichen zu Adrenalin eine höhere Affinität zu β -AR (Hoffmann et al., 2004). Darüber hinaus aktiviert es β_1 - und β_2 -AR gleich gut (Hoffmann et al., 2004). Es ist in vielen pharmakologischen Untersuchungen zur Herzinsuffizienz eingesetzt worden und gehört zu den Standardsubstanzen zur Stimulation von β -AR. Um unsere Versuche möglichst gut mit Literaturdaten vergleichen zu können, haben wir daher Isoprenalin als Agonist gewählt. Über die Bestimmung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven für Isoprenalin im Rahmen des Kontraktilitätsversuchs wurden Rückschlüsse über die Funktion der β -adrenergen Rezeptoren im ventrikulären Herzmuskel geschlossen.

Tabelle 2.9: Isoprenalin

Substanz	Hersteller	Konzentration
Isoprenalin	Merck KGaA, Darmstadt	10 mM

2.4.6.3 Forskolin

Forskolin (im Folgenden auch FSK) ist eine Substanz, welche die Adenylatzyklase direkt aktiviert. Somit kann es die cAMP/PKA vermittelte Inotropie steigern, ohne dass zuvor eine Aktivierung von adrenergen Rezeptoren nötig ist. Daher wird es häufig zur Quantifizierung der maximalen Stimulierbarkeit der cAMP/PKA verwendet (Bristow et al., 1984).

Tabelle 2.10: Forskolin

Substanz	Hersteller	Konzentration
Forskolin	Merck KGaA, Darmstadt	10 mM

2.4.6.4 Calciumchlorid

Im letzten Abschnitt des Kontraktilitätsversuches wurde die Ca^{2+} -Konzentration im Organbad auf 8 mM erhöht. Dabei wurde der direkte inotrope Effekt von Calcium auf die Herzmuskelzellen untersucht. Die Calciumionen gelangen durch die L-Typ-Calciumkanäle in die Herzmuskelzellen und bewirken eine noch stärkere Freisetzung von Calciumionen aus dem sarkoplasmatischen Retikulum über die Ryanodinrezeptoren ins Zytosol (Eisner et al, 2017). Damit ergab sich die Möglichkeit, die maximale Kraftentwicklung unabhängig von β -AR und Adenylatzyklase zu bestimmen.

Tabelle 2.11: Calcium

Substanz	Hersteller	Konzentration
Calciumchlorid	Merck KGaA, Darmstadt	2,25 M

2.4.7 Durchführung des Kontraktionsversuches

Der Kontraktionsversuch lässt sich in drei Abschnitte gliedern:

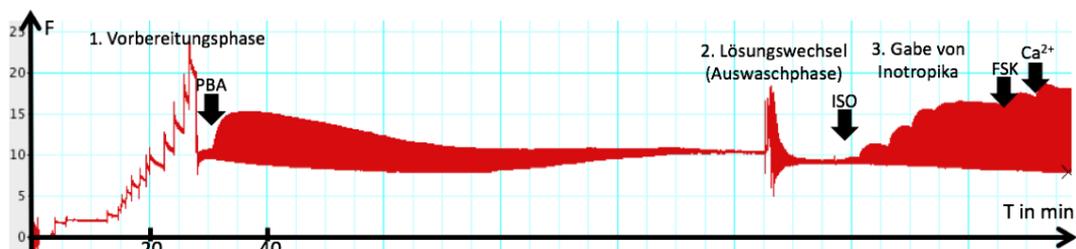
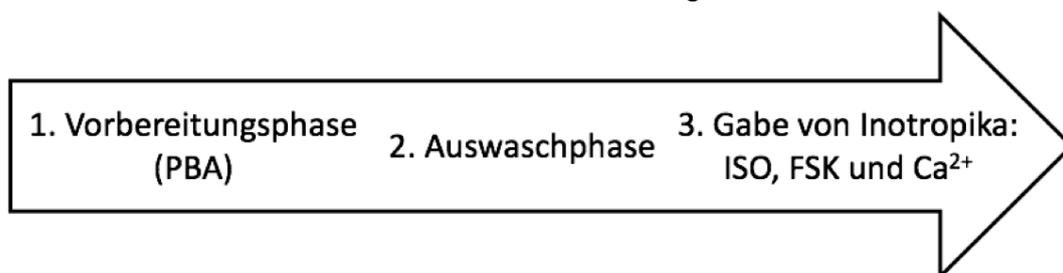


Abbildung 2.5: Überblick zum Ablauf des Kontraktionsversuchs

Zeitlicher Ablauf des als Zeitstrahl (oben) und Aufzeichnung eines gesamten Kontraktionsversuchs (unten), X-Achse als Zeit in min und Y-Achse Kraft (F) in Millinewton. PBA = Phenoxybenzamin, ISO = Isoprenalin, FSK = Forskolin, Ca^{2+} = Calcium.

1. Vorbereitungsphase (PBA)

Nach dem Erwärmen des Organbades auf 37°C und dem Einspannen der Gewebestückchen in die Organbäder, wurde die elektrische Stimulation unter Aufzeichnung durch die Software Chart 5 Pro (v.5.5.6, ADInstruments, Dunedin, Neuseeland) gestartet. Das Myokardgewebe wurde zunächst mit der maximal möglichen Stromstärke von 90 mA bei 1 Hz stimuliert. Bei Vorliegen von asynchronen Kontraktionen wurde die Stromstärke reduziert. Sobald die ersten Kontraktionswellen erfasst werden konnten, wurde das Myokardgewebe durch Betätigung des Drehknopfes vorsichtig gedehnt (Abb. 2.6). In der Regel war dabei ein Kraftzuwachs festzustellen. Dieser Vorgang wurde so lange fortgeführt, bis durch eine weitere Vordehnung kein weiterer Kraftzuwachs mehr festzustellen war. Anschließend wurde die Myokardprobe auf 50% der Vordehnung zurückgesetzt, bei der die Kraft maximal war.

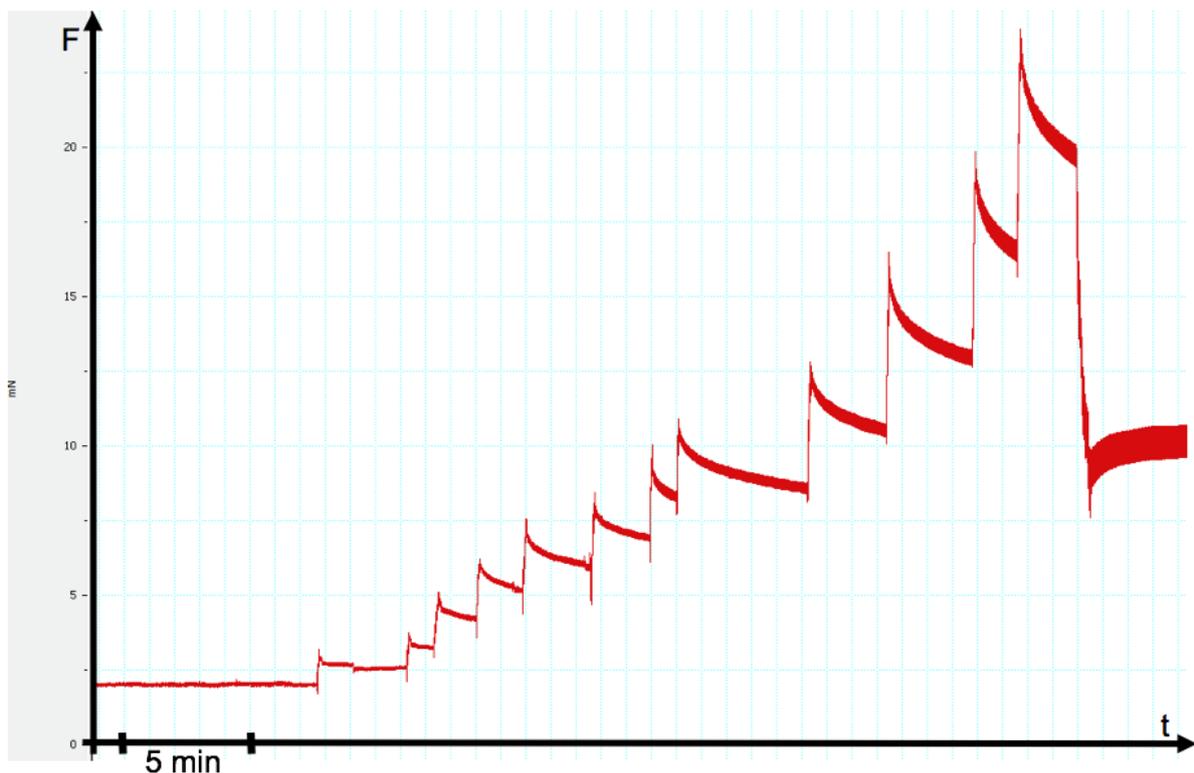


Abbildung 2.6: Kontinuierliche Vordehnung des Myokardgewebes bis zum Erreichen der maximalen Kraftentwicklung. Anschließend wird das Gewebe auf 50% der maximalen Kraft entlastet [Versuch vom 30.08.2017]

Ausschnitt aus der Softwareoberfläche Chart 5 Pro (v.5.5.6., AD Instruments, Dunedin, Neuseeland).

Grundsätzlich wurde die Vordehnung der Myokardproben auf ihre halbmaximale Kraft angestrebt. Bei etwa $\frac{1}{4}$ aller Präparate war das Gewebe recht klein und durch eine Vordehnung verletzlich. Hierbei wurde soweit vorgedehnt, bis Kontraktionswellen messbar waren. Anschließend erfolgte die Gabe von Phenoxybenzamin.

Hat sich die Kraft in ihrem Niveau stabilisiert, so wurden 3 μ l einer 0,1 mM Stammlösung des Wirkstoffs PBA in das Organbad pipettiert (Endkonzentration: 5 μ M). Darauf folgte eine 90-minütige Inkubationszeit. PBA hemmt die Wiederaufnahme von Noradrenalin in die synaptischen Endigungen durch die Blockade von α_2 -Rezeptoren (Constantine et al., 1980). Das freigesetzte Noradrenalin im Organbad steigerte die Kraft des untersuchten Myokards (siehe Abbildung: 2.7).

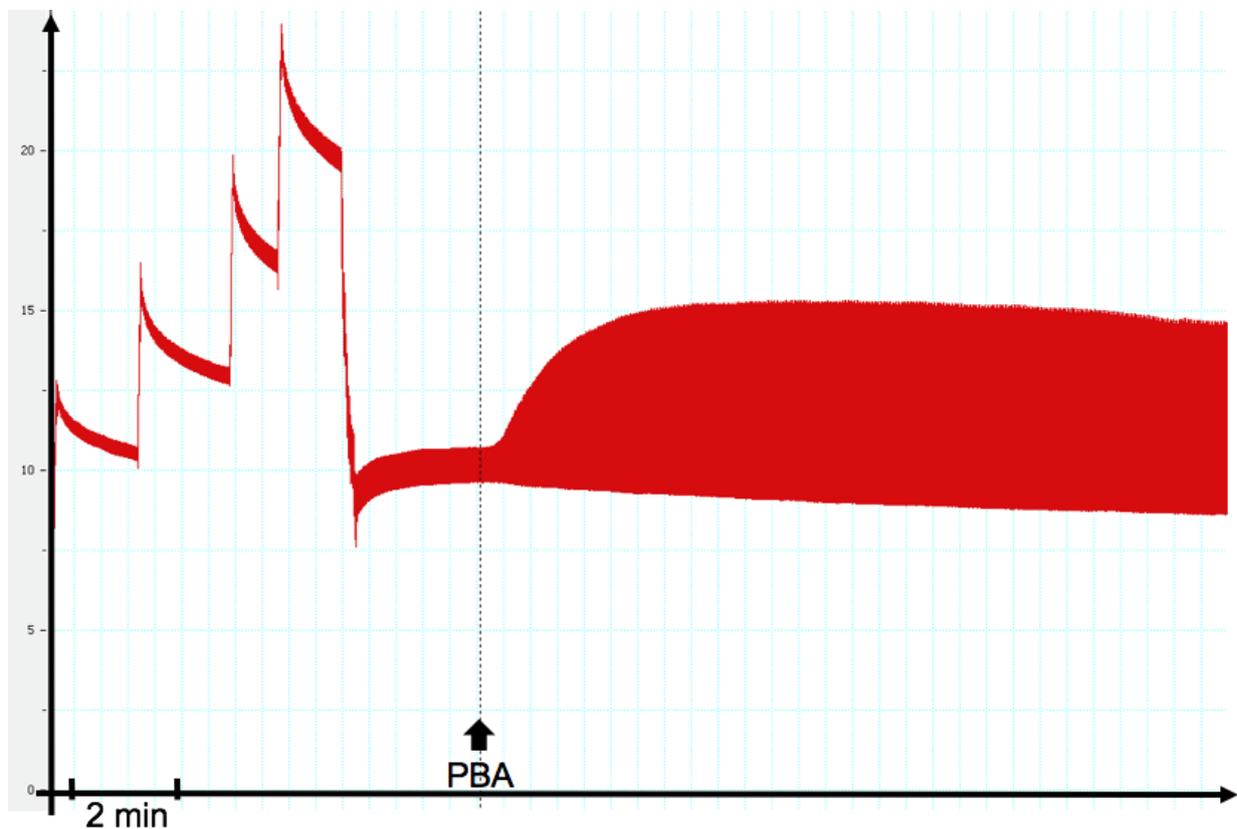


Abbildung 2.7: Effekt von Phenoxybenzamin (PBA) [Versuch vom 30.08.2017]

Ausschnitt aus der Softwareoberfläche Chart 5 Pro (v.5.5.6., AD Instruments, Dunedin, Neuseeland). Die X-Achse gibt den zeitlichen Verlauf und die Y-Achse die Kraft (F) in Millinewton (mN) wieder.

2. Lösungswechsel

Nach der 90-minütigen Inkubationsphase wurde das im Organbad befindliche Lösungsgemisch aus Tyrode's-Lösung, Noradrenalin und Phenoxybenzamin ausgewaschen. Direkt im Anschluss erfolgte die Gabe von 50 ml frischer Tyrode's-Lösung.

3. Versuch mit: ISO, FSK und Ca²⁺

Versuch mit ISO

Isoprenalin-Konzentrations-Wirkungs-Kurve

Hatte sich die Kraft des Myokards nach dem Lösungswechsel (zumeist nach 10-20 min) stabilisiert, so erfolgte die Gabe von Isoprenalin in einer aufsteigenden halblogarithmischen Konzentrationsreihe (Tab. 2.12). Dabei wurde die nächsthöhere Konzentration erst dann verabreicht, wenn durch die vorherige Gabe entweder sicher keine Kraftsteigerung (mindestens fünf Minuten) oder wenn bereits ein Plateau nach Anstieg der Kraftentwicklung messbar war.

Tabelle 2.12: Gabe von Isoprenalin

Schritt	Stock	Volumen	ISO-Endkonzentration
1.	10 ⁻⁷ M	50 µl	0,1 nM
2.		100 µl	0,3 nM
3.	10 ⁻⁶ M	35 µl	1 nM
4.		100 µl	3 nM
5.	10 ⁻⁵ M	35 µl	10 nM
6.		100 µl	30 nM
7.	10 ⁻⁴ M	35 µl	100 nM
8.		100 µl	300 nM
9.	10 ⁻³ M	35 µl	1 µM
10.		100 µl	3 µM
11.	10 ⁻² M	35 µl	10 µM
12.		100 µl	30 µM

Nach Gabe von Isoprenalin in einer aufsteigenden Konzentrationsreihe ergibt sich folgendes Profil (Abb. 2.8):

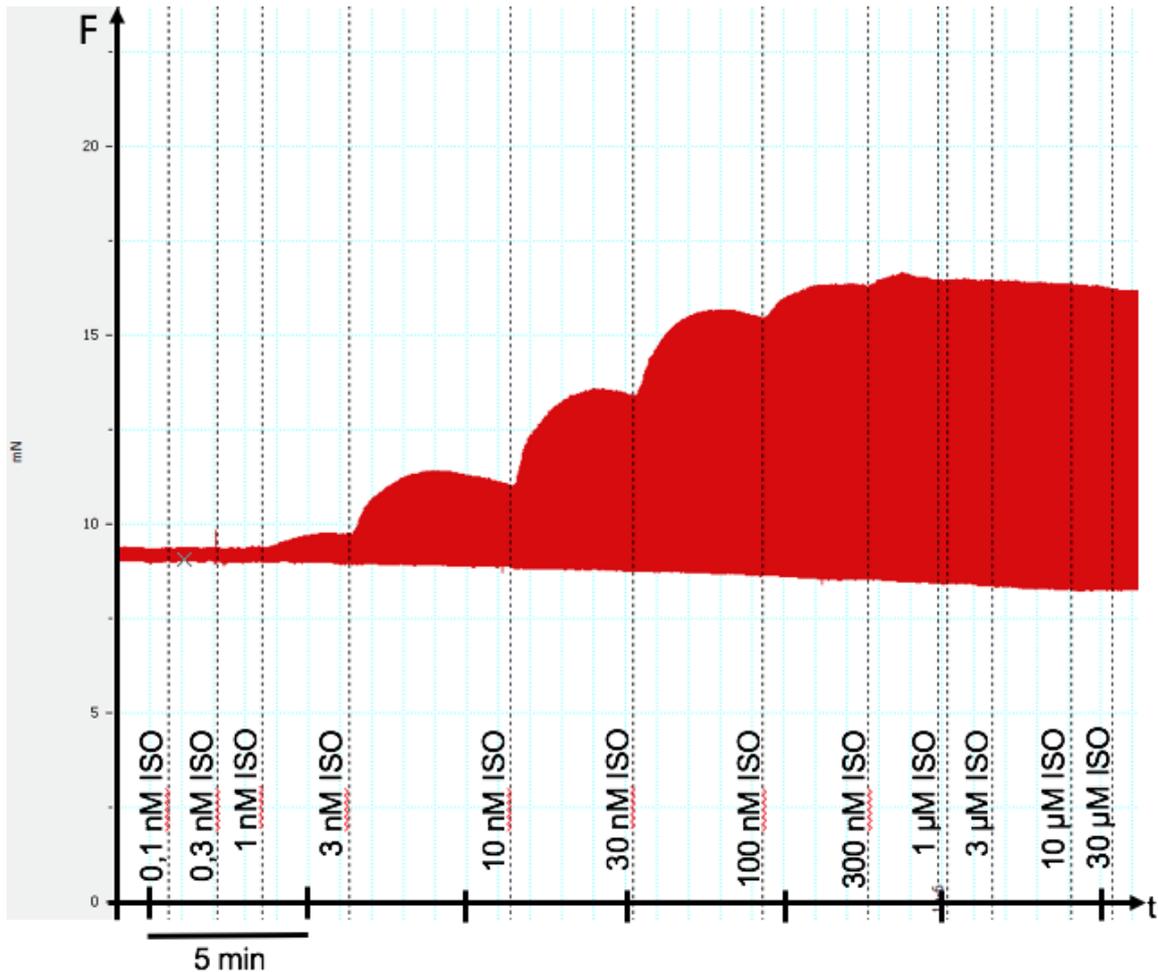


Abbildung 2.8: Inotroper Effekt von kumulativ ansteigenden Konzentrationen von Isoprenalin [Versuch vom 30.08.2017]

Ausschnitt aus der Softwareoberfläche Chart 5 Pro (v.5.5.6., AD Instruments, Dunedin, Neuseeland). Die X-Achse gibt den zeitlichen Verlauf und die Y-Achse die Kraft (F) in Millinewton (mN) wieder.

Versuch mit FSK und Ca^{2+}

Nach der Verabreichung der höchsten Konzentration von Isoprenalin (30 μM) wurden in das Organbad 50 μl einer 10 mM Forskolin-Lösung gegeben. Hatte sich der Effekt von Forskolin eingestellt, so wurden 125 μl einer 2,25 M Calciumchloridlösung appliziert. Sobald sich die Kraft unter Calciumchlorid stabilisierte, wurde die Aufzeichnung des Kontraktionsversuchs beendet (Abb. 2.9).

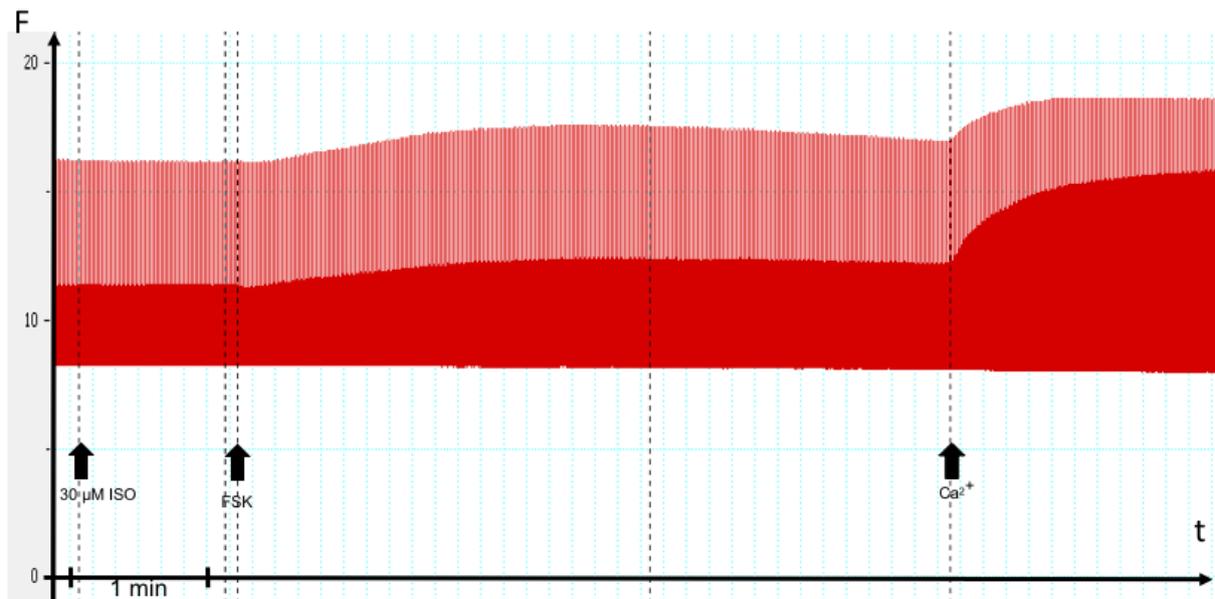


Abbildung 2.9: Inotroper Effekt von Forskolin (FSK) und Calciumchlorid (CaCl₂) [Versuch vom 30.08.2017]
 Ausschnitt aus der Softwareoberfläche Chart 5 Pro (v.5.5.6., AD Instruments, Dunedin, Neuseeland). Die X-Achse gibt den zeitlichen Verlauf und die Y-Achse die Kraft (F) in Millinewton (mN) wieder.

2.5 Auswertung der Kontraktionsversuche

Für die Dokumentation der Daten aus dem Kontraktionsversuch wurde in Microsoft Excel Version 2019 und GraphPad Prism Version 5 genutzt. Die Auswertung und die Darstellung der Ergebnisse in Grafiken erfolgten ebenfalls in GraphPad Prism.

2.6 Histologische Bestimmung der Myokardfibrose

Anfertigung der histologischen Schnitte

Nach Durchführung des Kontraktionsversuches wurde das Gewebe aus dem Halter im Organbad gelöst und in eine Eppendorf-Tube gefüllt mit Formaldehyd (Histofix©) zur Gewebefixierung überführt. Die fixierten Myokardproben wurden bis zur histologischen Untersuchung im Kühlschrank bei 8°C aufbewahrt.

Die medizinische Laborassistentin Yvonne Randi aus der Arbeitsgruppe Girdauskas fertigte freundlicherweise die Paraffinschnitte des Myokardgewebes an und färbte diese nach Masson-Goldner-Trichrom. Mit Unterstützung von PD Dr. Susanne Krasemann wurden die histologischen Schnitte am Institut für Neuropathologie des UKE digitalisiert. Für die Digitalisierung der Schnittpräparate wurde das Mikroskop Leica DMD108 verwendet.

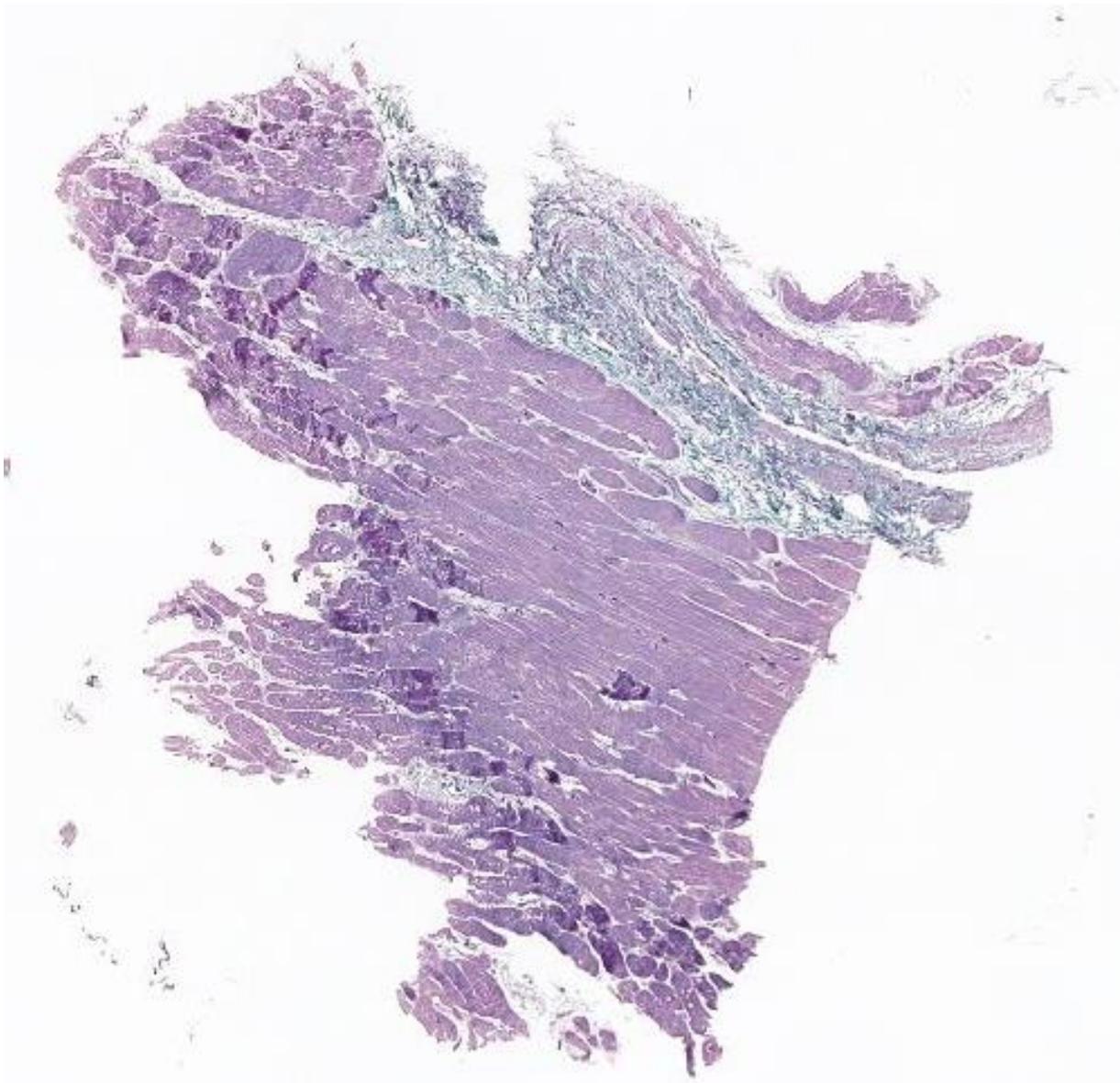


Abbildung 2.10: Herzmuskelpräparat gefärbt nach Masson-Goldner-Trichrom

Das Muskelgewebe wird violett gefärbt, während das Bindegewebe (Fibrose) in türkis erscheint.

Quantitative Messung der Myokardfibrose

In der Färbung nach Masson-Goldner-Trichrom stellte sich das Myokard violett und das Bindegewebe (entspricht der Fibrose) grün-bläulich. Die Fibrosequantifizierung erfolgte mithilfe der Software Image J (Version 1.52e, National Institute of Health, USA).

Protokoll für die Fibrosequantifizierung mittels Image J

1. Öffnen des histologischen Schnittbildes im JPEG Format mit Image J
2. Eingrenzung der Fibrose mit der Funktion Threshold Color mit den Reglern Hue, Saturation, Brightness

Für die Regler Hue, Saturation und Brightness wurden folgende Grenzen festgelegt:

Hue min 0 und Hue max. 170 bis 200

Saturation min 0 und Saturation max. immer 255

Brightness min 0 und Brightness max. 220 bis 240

3. Eingrenzung des gesamten Gewebes im histologischen Schnitt
4. Bestimmung der Pixelfläche (Fläche dimensionslos)
5. Bestimmung des Verhältnisses zwischen Fibrose und gesamten Gewebes

$$\text{Formel: } \text{Fibrose} = \frac{\text{Fibrosefläche} \cdot 100}{\text{Fläche des Gewebes}}$$

$$\text{Beispiel: } \text{Fibrose} = \frac{8836 \cdot 100}{76652} = \mathbf{11,53\%}$$

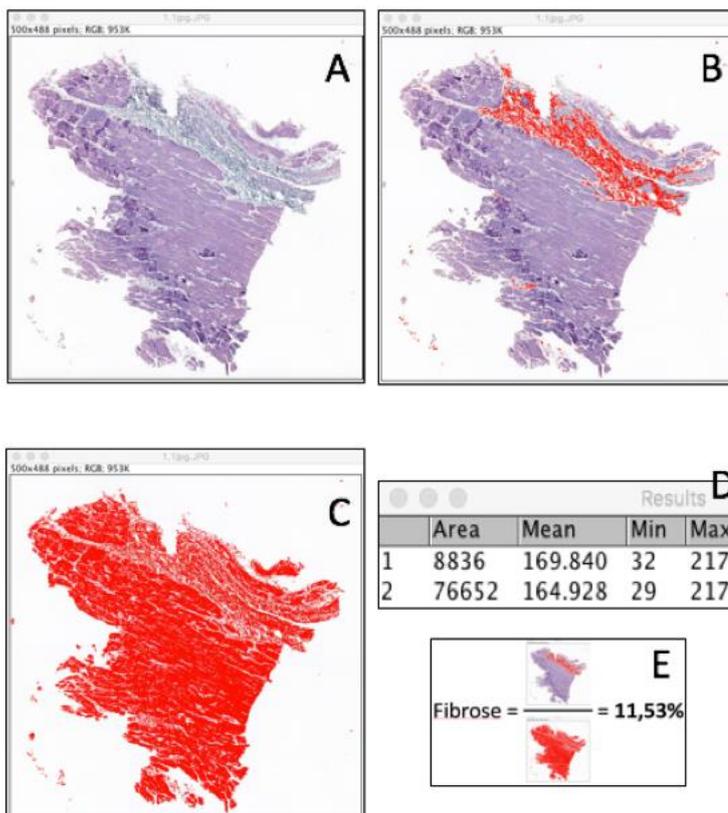


Abbildung 2.11: Schritte der digitalen Fibrosequantifizierung mit der Software Image J (Version 1.52e, National Institute of Health, USA)

- A Histologische Aufnahme wird mit Image J geöffnet
- B Auswahl der Fibrosefläche
- C Auswahl der Gesamtfläche
- D Pixelzahl der Fibrose wird in das Verhältnis der Gesamtpixelzahl des Gewebes gesetzt

3 Ergebnisse

Im Folgenden werden die klinischen Daten, Ergebnisse des Kontraktionsversuches und die histologischen Fibrosequantifizierung sowie die Korrelationsstudien der

- 33 Patienten/-innen mit einer Aortenklappenstenose (AS)
- 47 Patienten/-innen mit einer Aortenklappeninsuffizienz (AI)

dargelegt. Intra- und postoperativ trat bei keinem Patienten eine Komplikation durch die Biosieentnahme auf.

3.1 Auswertung der Patientendaten

Die präoperativen klinischen Patientendaten sind im Vergleich zwischen AS und AI in der Tabelle 3.1. dargestellt.

Sowohl die Geschlechterverteilung als auch das Alter zum OP-Zeitpunkt unterschied sich signifikant zwischen AS und AI. Während in der AS Gruppe Frauen dominierten, gab es in der AI Gruppe knapp dreimal mehr Männer als Frauen ($p < 0,001$). Im Mittel waren die Patienten in der AS Gruppe 10 Jahre älter ($p = 0,003$). Die Patienten aus der AI Kohorte hingegen waren im Schnitt 10 cm größer ($p < 0,001$) und wiesen eine größere Körperoberfläche auf ($p = 0,01$).

Bei der genauen Betrachtung der NYHA-Stadien im Vergleich zwischen AS und AI fiel auch hier eine unterschiedliche Verteilung auf. Während die meisten Patienten der AS Gruppe präoperativ im NYHA-Stadium III vorzufinden waren, ordnete man die Patienten der AI Gruppe überwiegend in den NYHA-Stadien I und II zu. Am deutlichsten unterschieden sich die Vitien-Gruppen im NYHA-Stadium III ($p = 0,0006$). Der Anteil der Patienten mit bikuspiden Klappe war bei AI (47%) etwas höher als bei AS (28%), wobei der Unterschied nicht signifikant ausfiel ($p = 0,10$).

Die Patienten mit AS waren häufiger von Hyperlipidämie ($p = 0,08$) betroffen und entsprechend mit Statinen ($p = 0,02$) behandelt. Auf der anderen Seite schienen Patienten mit AI häufiger mit ACE-Hemmern behandelt zu werden, wobei der Unterschied zu AS nicht signifikant ausfiel ($p = 0,21$). In beiden Gruppen wurden ungefähr 1/3 der Patienten mit einem β -AR-Antagonisten behandelt. Ca^{2+} -Kanalblocker wurden häufiger bei AS eingesetzt ($p = 0,03$).

Alle erhobenen laborchemischen Parameter unterschieden sich nicht signifikant zwischen AS und AI.

In der Echokardiografie war der linksventrikuläre Durchmesser in Systole ($p = 0,03$) und Diastole ($p < 0,001$) signifikant größer bei AI als bei AS. Der linksventrikuläre Durchmesser im MRT bei geringerer Fallzahl war nahezu signifikant größer bei AI als bei AS ($p = 0,09$). Sowohl die Ejektionsfraktion in der Echokardiografie (nach Simpson) als auch im MRT war bei AS höher als bei AI ($p < 0,05$). Die rechtsventrikuläre Funktion gemessen an der TAPSE war bei beiden Vitien vergleichbar ($p = 0,39$). Der höhere mittlere und maximale Gradient in der Echokardiografie bei AS war pathophysiologisch vorherzusehen ($p < 0,001$). Echokardiografisch war die Aortenklappenöffnungsfläche bei AI größer als bei AS ($p = 0,001$). Charakteristischerweise war eine höhere Regurgitationsfraktion im MRT bei AI zu verzeichnen ($p < 0,001$).

Tabelle 3.1: Charakteristika der Untersuchungsgruppen

Abweichungen der Gesamtzahlen werden in eckigen Klammern aufgeführt. Kontinuierliche Variablen werden mit dem Standardfehler (SEM) angegeben. Bei kategorialen Variablen findet sich zusätzlich die relative Häufigkeit.

Klinische Angaben			
	AS	AI	p-Wert
männlich/weiblich (n)	13/20	36/11	< 0,001
Alter (Jahre)	65 (± 3) [n = 29]	55 (± 2) [n = 41]	0,003
Körpergröße (cm)	167 (± 2) [n = 27]	178 (± 2) [n = 44]	< 0,001
Gewicht (kg)	81 (± 4) [n = 27]	86 (± 3) [n = 44]	0,31
BMI (kg/m ²)	28,7 (± 1) [n = 27]	26,9 ($\pm 0,8$) [n = 44]	0,14
BSA (m ²)	1,85 ($\pm 0,04$) [n = 22]	2,04 ($\pm 0,05$) [n = 39]	0,01

BMI = body mass index; BSA = body surface area

	AS	AI	p-Wert
NYHA I	4 (17%)	13 (39%)	0,06
NYHA II	7 (29%)	16 (48%)	0,14
NYHA III	13 (54%)	4 (12%)	0,0006
NYHA IV	0	0	-

NYHA = New York Heart Association Stadien; für Ausführungen der NYHA-Stadien siehe Tab. 1.1

Klappenmorphologie			
	AS	AI	p-Wert
tricuspid	20 (63%)	24 (51%)	0,32
bicuspid	9 (28%)	22 (47%)	0,10
unicuspid	3 (9%)	1 (2%)	0,15

Vorerkrankungen			
	AS	AI	p-Wert
Hypertonie	19 (73%)	22 (51%)	0,07
Hyperlipidämie	11 (44%)	9 (23%)	0,08
Diabetes mellitus	6 (23%)	1 (2%)	0,999
KHK	7 (27%)	7 (16%)	0,27
Schlaganfall/TIA	2 (8%)	1 (2%)	0,95
pAVK	0 (0%)	1 (2%)	0,63
Raucher (aktuell und ehemals)	6 (26%)	16 (38%)	0,23

KHK = koronare Herzkrankheit; TIA = transitorische ischämische Attacke; pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit

Medikamente			
	AS	AI	p-Wert
β-AR-Antagonist	9 (38%)	12 (29%)	0,45
ACE-Hemmer	7 (30%)	19 (46%)	0,21
AT ₁ -R-Antagonist	5 (21%)	8 (19%)	0,69
Ca ²⁺ -Kanalblocker	10 (42%)	7 (17%)	0,03
Statin	9 (38%)	5 (13%)	0,02

β-AR = β-Adrenozeptor; ACE = angiotensin converting enzyme; AT₁ = Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1; Ca²⁺ = Calcium

Labor			
	AS	AI	p-Wert
Gesamtcholesterin (mg/dl)	188 (± 8) [n = 30]	182 (± 7) [n = 44]	0,63
LDL (mg/dl)	100 (± 6) [n = 30]	104 (± 7) [n = 43]	0,66
Kreatinin (mg/dl)	0,94 (± 0,08) [n = 30]	0,99 (± 0,04) [n = 44]	0,61
CRP (mg/l)	7 (± 4) [n = 30]	9 (± 3) [n = 43]	0,62
BNP (pg/ml)	1215 (± 457) [n = 20]	937 (± 222) [n = 32]	0,55

LDL = low-density lipoprotein, CRP = C-reaktives Protein; BNP = brain natriuretic peptide

Operative Daten			
	AS	AI	p-Wert
OP-Dauer (min)	255 (\pm 12) [n = 15]	293 (\pm 18) [n = 22]	0,09

Echokardiografie			
	AS	AI	p-Wert
LVEDD (mm)	45 (\pm 2) [n = 14]	62 (\pm 1) [n = 32]	< 0,001
LVESD (mm)	24 (\pm 2) [n = 6]	44 (\pm 8) [n = 5]	0,03
Fractional shortening (%)	48 (\pm 3) [n = 5]	37 (\pm 16) [n = 4]	0,47
IVEDD (mm)	13 (\pm 0,6) [n = 15]	11 (\pm 0,4) [n = 29]	0,01
IVESD (mm)	19 (\pm 1) [n = 5]	13 (\pm 2) [n = 2]	0,14
PWEDD (mm)	12 (\pm 0,6) [n = 13]	11 (\pm 0,4) [n = 28]	0,12
EF Simpson (%)	62 (\pm 3) [n = 15]	53 (\pm 2) [n = 23]	0,01
EF 3D (%)	56 (\pm 3) [n = 4]	55 (\pm 3) [n = 5]	0,83
TAPSE (mm)	23 (\pm 1) [n = 16]	24 (\pm 1) [n = 30]	0,39
E-Welle (cm/s)	77 (\pm 11) [n = 10]	60 (\pm 6) [n = 22]	0,16
A-Welle (cm/s)	89 (\pm 13) [n = 10]	65 (\pm 8) [n = 20]	0,12
E/E'	11 (\pm 2) [n = 9]	9 (\pm 1) [n = 18]	0,18
max. Gradient über AK (mmHg)	71 (\pm 7) [n = 18]	15 (\pm 1) [n = 31]	< 0,001
mittl. Gradient über AK (mmHg)	44 (\pm 4) [n = 19]	8 (\pm 1) [n = 31]	< 0,001
max. Fluss AK (m/s)	6,3 (\pm 2,2) [n = 18]	1,9 (0,9) [n = 31]	< 0,006
LVOT Diameter (mm)	22 (\pm 0,5) [n = 7]	23 (\pm 1,4) [n = 11]	0,41
AÖF Kontin. (cm ²)	0,8 (\pm 0,09) [n = 13]	2,6 (\pm 0,1) [n = 4]	< 0,001

LVEDD = left ventricular end-diastolic diameter; LVESD = left ventricular end-systolic diameter; IVEDD = interventricular septal end-diastolic diameter; IVESD = interventricular septal end-diastolic diameter; PWEDD = posterior wall end-diastolic diameter; EF = Ejektionsfraktion; TAPSE = tricuspid annular plane systolic excursion; E-Welle = Flussprofil während frühdiaastolischer (passive) Füllung; A-Welle = Flussprofil während spätdiaastolischer (aktiver) Füllung; E/E' = Füllungsindex; max. = maximal; mittl. = mittlerer; AK = Aortenklappe; LVOT = left ventricular outflow tract; AÖF = Aortenklappenöffnungsfläche

Herz-MRT			
	AS	AI	p-Wert
EDV (ml)	121 (\pm 15) [n = 4]	302 (\pm 31) [n = 12]	0,006
ESV (ml)	38 (\pm 11) [n = 4]	141 (\pm 17) [n = 12]	< 0,0001
SV (ml)	83 (\pm 5) [n = 4]	160 (\pm 17) [n = 12]	0,002
EF (%)	70 (\pm 4) [n = 4]	54 (\pm 2) [n = 12]	0,006
EDV qm (ml)	70 (\pm 9) [n = 4]	155 (\pm 16) [n = 11]	< 0,001
ESV qm (ml)	22 (\pm 6) [n = 4]	72 (\pm 8) [n = 11]	< 0,001
SV qm (ml)	48 (\pm 4) [n = 4]	83 (\pm 9) [n = 11]	0,04
LV Diameter in Diastole (mm)	54 (\pm 5) [n = 2]	70 (\pm 3) [n = 11]	0,09
Septumdicke (mm)	13 (\pm 1) [n = 3]	11 (\pm 1) [n = 11]	0,31
FF (ml)	94 (\pm 16) [n = 2]	148 (\pm 19) [n = 11]	0,08
BF (ml)	2 (\pm 1) [n = 2]	72 (\pm 17) [n = 11]	0,11
Regurg Fraction (%)	2 (\pm 1) [n = 2]	44 (\pm 5) [n = 11]	< 0,001
LGE	0 (0%)	5 (42%)	0
Bulbus (mm)	31 (\pm 2) [n = 3]	41 (\pm 2) [n = 10]	0,009
Aorta ascendens (mm)	32 (\pm 2) [n = 4]	42 (\pm 4) [n = 9]	0,05
Arcus aortae (mm)	22 (\pm 3) [n = 2]	26 (\pm 2) [n = 5]	0,39
Aorta descendens (mm)	20 (\pm 2) [n = 3]	25 (\pm 1) [n = 6]	0,03

EDV = end-diastolic volume; ESV = end-systolic volume; SV = Schlagvolumen; EF = Ejektionsfraktion; qm = Quadratmeter (Werte an die Körperoberfläche angepasst); LV = linksventrikulär; FF = forward flow; BF = backward flow; LGE = late Gadolinium enhancement;

3.2 Kontraktionsversuch

3.2.1 Berechnung der Erfolgsquote des Kontraktionsversuchs

Wir fanden in unserer initialen Literaturrecherche keine Veröffentlichungen über Messungen der Kontraktilität an ventrikulären septalen Schnittbiopsien, welchen Patienten während eines operativen Eingriffs entnommen wurde. Es stellte sich jedoch heraus, dass bei einem Großteil des Herzmuskelgewebes zuverlässig Kontraktionen über einen Zeitraum von vier Stunden messbar waren. In der folgenden Tabelle ist die Erfolgsquote der durchgeführten Versuche von Dezember 2016 bis Dezember 2018 dargestellt:

Tabelle 3.2: Erfolgsquote des Kontraktionsversuchs

	AS	AI
Versuch erfolgreich	51 (65%)	64 (72%)
Versuch nicht erfolgreich	27 (45%)	25 (28%)
Präparate insgesamt	78 (100%)	89 (100%)

Bei 45% der Myokardproben der AS-Kohorte und 28% der AI-Kohorte waren keine auswertbaren Kontraktionen nach elektrischer Stimulation im Organbad nachweisbar. Für das Fehlen von messbaren Kontraktionen sind folgenden Ursachen zu vermuten:

- sehr kleines Myokardpräparat
- Austrocknen des Präparates während der Versuchsvorbereitung
- längere Zeit zwischen Myokardentnahme und Versuchsbeginn und damit längere Ischämiezeit
- wenig verfügbares kontraktiles Gewebe bei hohem Fibrosegrad

Die Erfolgsquote unterscheidet sich nicht signifikant in den beiden Kohorten AS und AI. Die Durchführung des exakten χ^2 -Tests ergab einen p-Wert von 0,40.

3.2.2 Ergebnisse des Kontraktionsversuchs

Im Folgenden werden Versuchsergebnisse mit einer Zeitleiste zur Orientierung abgebildet. Für jeden Kontraktionsversuch wurden Konzentrations-Wirkungs-Kurven erstellt. Aus diesen konnten wichtige pharmakologische Größen wie die Potency (als mittlere effektive Konzentration nach Gabe von Isoprenalin in der maximalen Wirkung, im Folgenden EC₅₀ [ISO]) und die Efficacy (als maximale Kraft nach Isoprenalin-Gabe

im Verhältnis zur Kraft nach Ca^{2+} -Gabe, im Folgenden $F_{\text{ISO}/\text{Ca}}$) abgeleitet werden. Die Ermittlung Potency und Efficacy ermöglichten eine differenzierte Untersuchung der β -AR-Funktion. Anhand der Konzentrations-Wirkungs-Kurve konnten auch die Effekte von Forskolin und Calcium verglichen werden. Die Abbildung 3.1 stellt die gemittelten Kräfte aller Versuche und gemittelten Kräfte auf Patientenebene dar. Über den gesamten Kontraktionsversuch fielen höhere absolute Kraftwerte bei AI als bei AS auf. In Folgenden werden die gemessenen Kräfte über den gesamten Kontraktionsversuch genauer betrachtet.

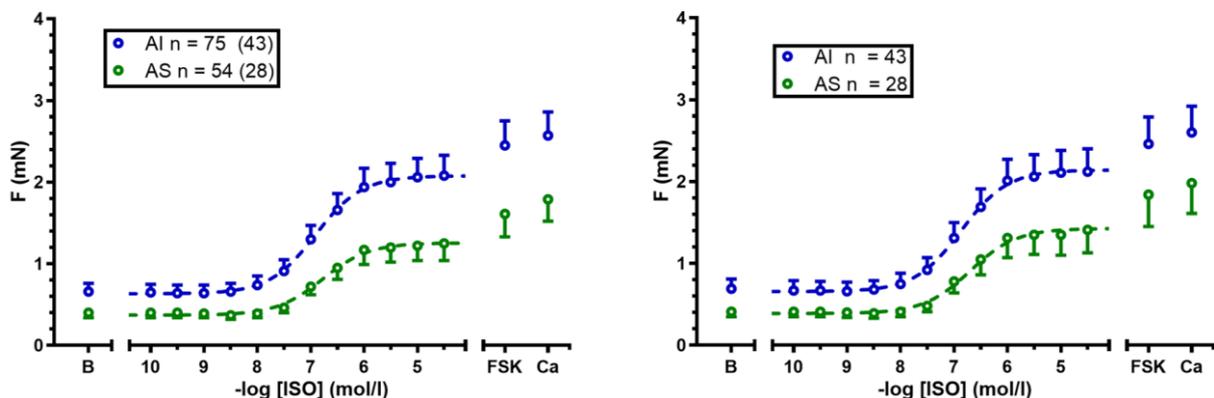


Abbildung 3.1: Ergebnisse aller Versuche

Mittelwert \pm SEM der Kräfte aller Präparate (links) und gemittelt (rechts) auf Patientenebene von AS und AI unter basalen Bedingungen (B) und in Gegenwart kumulativ ansteigender Konzentrationen von Isoprenalin ($-\log [\text{ISO}]$), sowie nach zusätzlicher Gabe von $10 \mu\text{M}$ Forskolin (FSK) und 8 mM Ca^{2+} (Ca), n (n) = Zahl der Präparate (Zahl der Patienten), gestrichelte Linie repräsentiert den fit einer sigmoidalen Funktion an die Datenpunkte.

alle Präparate: signifikanter Unterschied der sigmoidalen Kurve zwischen AS und AI ($p < 0,0001$)

Patientenebene: signifikanter Unterschied der sigmoidalen Kurve zwischen AS und AI ($p < 0,0001$)

Der erste Schritt im Kontraktionsversuch stellte die Vordehnung der Muskelpräparate auf die Vorspannung dar, die mit halbmaximaler Kraftentwicklung assoziiert war. Nach darauffolgender Stabilisierung des Kraftniveaus, wurde Phenoxybenzamin zur Entleerung der endogenen Katecholaminspeicher in das Organbad hinzugegeben (Abb. 3.2). Phenoxybenzamin wirkte in den meisten Versuchen positiv inotrop. Einzelne Präparate reagierten mit einer Kraftminderung. Dabei war die Kraft in Präparaten der AI Gruppe mit $0,70 \pm 0,14 \text{ mN}$ größer als in Präparaten von Patienten mit AS mit $0,24 \pm 0,07 \text{ mN}$ ($p = 0,01$). Dieser Unterschied fiel jedoch auf Patientenebene schwächer aus und erreichte nicht das Signifikanzniveau (AI $0,69 \pm 0,15 \text{ mN}$ vs. AS $0,35 \pm 0,12 \text{ mN}$, $p 0,11$).

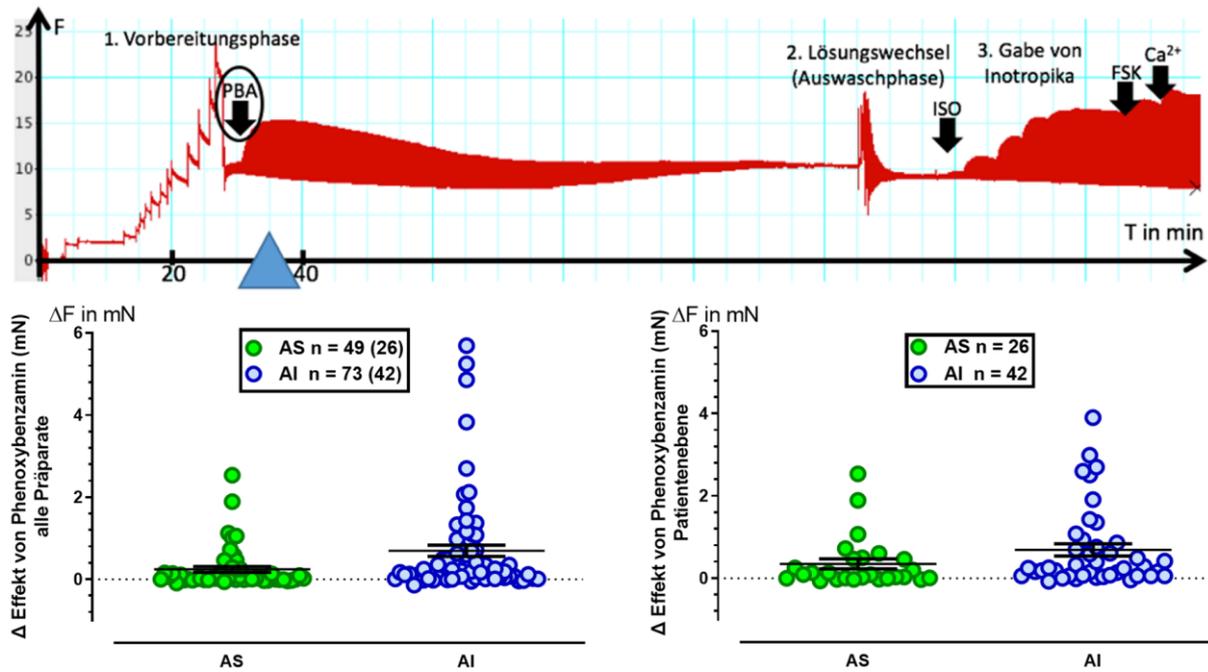


Abbildung 3.2: Individuelle Zunahme der Kontraktionskräfte durch Phenoxybenzamin (PBA) in Präparaten von Patienten mit Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI). Zur Bestimmung des Effektes von PBA wurde die Kraft der Kontraktionen vor der PBA-Gabe gemessen und danach. Die Differenz beider Größen ist in der folgenden Abbildung als PBA-Effekt dargestellt.

Oben: Überblick und Einordnung in den Kontraktionsversuch. Einzelwerte und Mittelwert \pm SEM der absoluten Zunahme der Kraft (ΔF): Werte für alle einzelnen Präparate (links) sowie gemittelt auf Patientenebene (rechts). Gesamtzahl als n = Zahl der Präparate (Anzahl der Patienten).

Alle Präparate: AS 0,24 (\pm 0,07) mN vs. AI 0,70 (\pm 0,14) mN, $p = 0,01$

Patientenebene: AS 0,35 (\pm 0,12) mN vs. AI 0,69 (\pm 0,15) mN, $p = 0,11$

PBA wirkte am Gewebe für 90 Minuten und wurde danach ausgewaschen. In der neuen Tyrode's-Lösung stellte sich bei Abwesenheit pharmakologisch aktiver Substanzen eine neue basale Kraft ein (Abb. 3.3). Die basale Kraft unterschied sich signifikant zwischen AS und AI in allen Präparaten und erreichte fast das Signifikanzniveau auf Patientenebene (alle Präparate AS 0,40 mN \pm 0,06 vs. AI 0,66 mN \pm 0,10, $p = 0,04$; Patientenebene: AS 0,41 \pm 0,06 mN vs. AI 0,69 \pm 0,12 mN, $p = 0,07$).

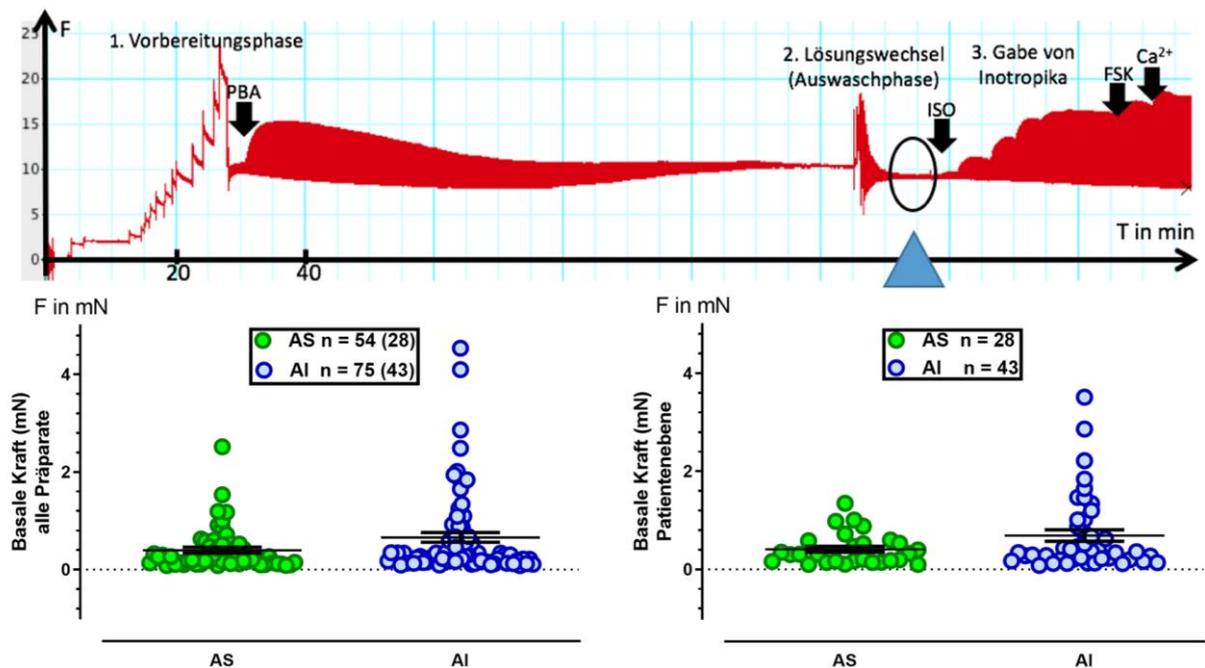
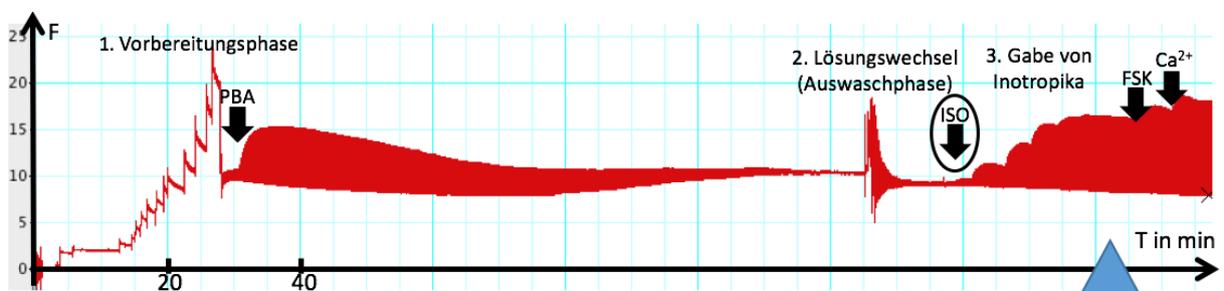


Abbildung 3.3: Nach Austausch der Tyrode's-Lösung Stabilisierung der Kraft. Messung der basalen Kraft ohne Zugabe von pharmakologisch aktiven Substanzen Individuelle Kontraktionskräfte unter basalen Bedingungen in Präparaten von Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI)

Oben: Überblick und Einordnung in den Kontraktionsversuch. Werte für alle Präparate (links) sowie gemittelt (rechts) auf Patientenebene. Mittelwert ± SEM.
 alle Präparate: AS 0,40 (± 0,06) mN vs. AI 0,66 (± 0,10) mN, p = 0,04
 Patientenebene: AS 0,41 (± 0,06) mN vs. AI 0,69 (± 0,12) mN, p = 0,07

Sobald sich die basale Kraft eingestellt hatte, begann die aufsteigende Isoprenalin-Konzentrationsreihe (Tab. 2.12). Beim Vergleich der maximalen Wirkung von Isoprenalin (Abb. 3.4) fiel auf, dass ein Unterschied zwischen AS und AI bei allen Präparaten (AS 1,23 ± 0,19 mN vs. AI 2,11 ± 0,24 mN, p 0,007) und auf Patientenebene AS 1,36 ± 0,25 mN vs. AI 2,16 ± 0,27 mN, p 0,04) vorlag.



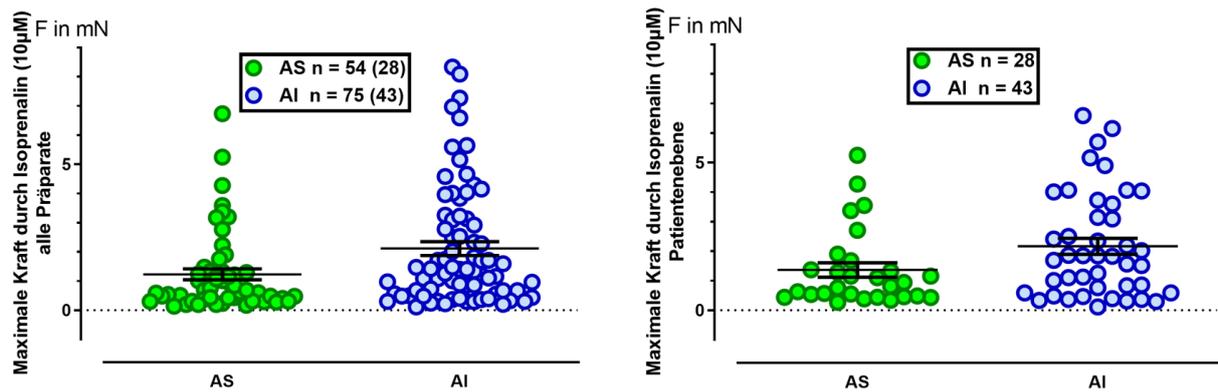


Abbildung 3.4: Maximaler Effekt einer Stimulation von β -AR durch Isoprenalin. Individuelle Kraft in Gegenwart der höchsten Konzentration von Isoprenalin (bis der maximale inotrope Effekt erreicht wurde) in Präparaten von Patienten mit Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI)
 Werte für alle Präparate (links) sowie gemittelt (rechts) auf Patientenebene. Mittelwert \pm SEM.
 alle Präparate: AS 1,23 (\pm 0,19) mN vs. AI 2,11 (\pm 0,24) mN, $p = 0,007$
 Patientenebene: AS 1,36 (\pm 0,25) mN vs. AI 2,16 (\pm 0,27) mN, $p = 0,04$

Über die Konzentrations-Wirkungs-Kurve von Isoprenalin ließ sich die Empfindlichkeit des Gewebes gegenüber Isoprenalin ermitteln, welche als Logarithmus des EC_{50} -Wertes angegeben wurde (Abb. 3.5). Im Vergleich zwischen AS und AI aller Präparate sowie auf Patientenebene wurde kein signifikanter Unterschied bezüglich der Empfindlichkeit auf Isoprenalin (Potency) festgestellt.

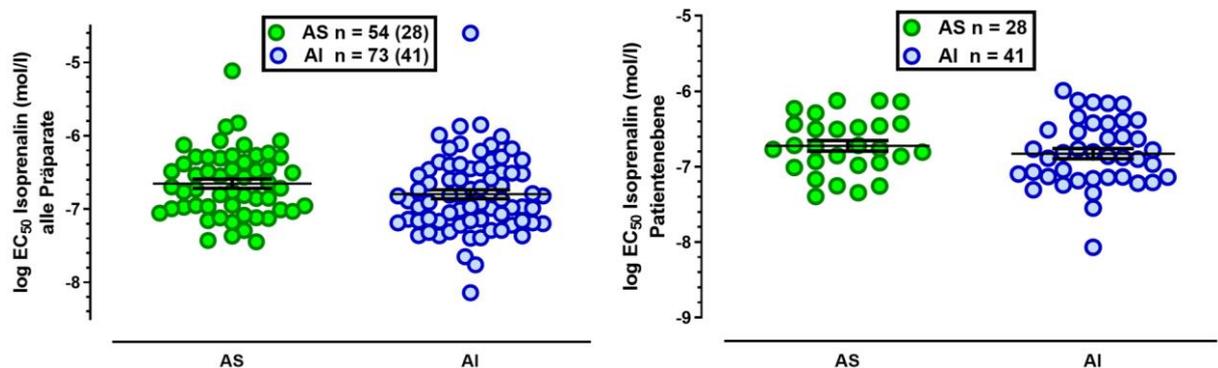


Abbildung 3.5: Die EC_{50} (mittlere effektive Konzentration) für Isoprenalin beschreibt die Empfindlichkeit des Gewebes für Isoprenalin (Potency). Individuelle $\log EC_{50}$ -Werte in Präparaten von Patienten mit Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI)
 Werte für alle einzelnen Präparate (links) sowie gemittelt auf Patientenebene (rechts). Mittelwert \pm SEM.
 alle Präparate: AS -6,65 (\pm 0,06) mol/l vs. AI -6,80 (\pm 0,06) mol/l, $p = 0,10$
 Patientenebene: AS -6,72 (\pm 0,07) mol/l vs. AI -6,83 (\pm 0,07) mol/l, $p = 0,29$

Neben der Empfindlichkeit der β -AR für Isoprenalin interessierten wir uns auch für die maximale Effektgröße nach Isoprenalin-Stimulation (Efficacy). Um die maximale Effektgröße von Isoprenalin zu normieren, kann die Kraft unter Isoprenalin in Relation zur Kraft in Anwesenheit von Calcium genutzt werden (als $F_{ISO/Ca}$ in %). Eine Normierung auf Ca^{2+} -Ebene war notwendig, da es für den Isoprenalin-Effekt keine Referenzwerte gab. Somit wurde die Kontraktionskraft jedes Herzmuskelpräparates individuell betrachtet. Im Vergleich zwischen AS und AI (Abb. 3.6) war die maximale Effektgröße von Isoprenalin sowohl bei allen Gewebepräparaten als auch auf Patientenebene bei AI signifikant höher als bei AS (alle Präparate: AS 63 ± 3 % vs. AI 81 ± 3 %, $p = 0,0004$; auf Patientenebene AS 61 ± 3 % vs. AI 83 ± 5 %, $p = 0,0005$).

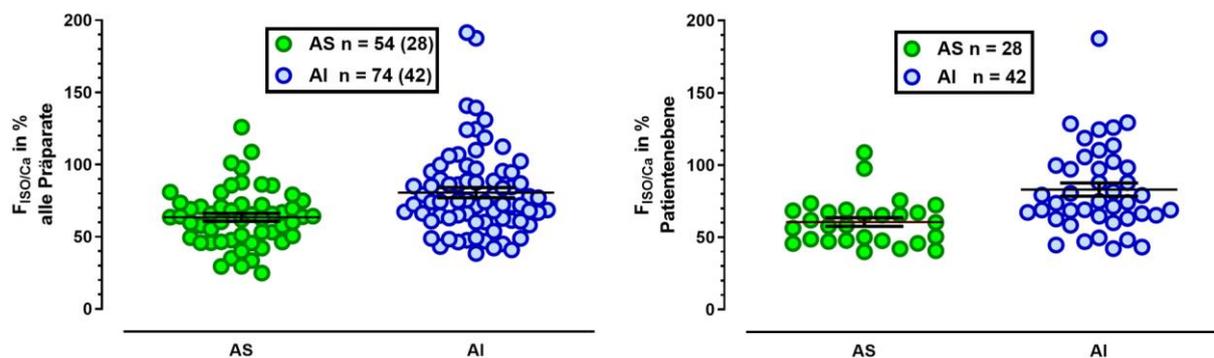
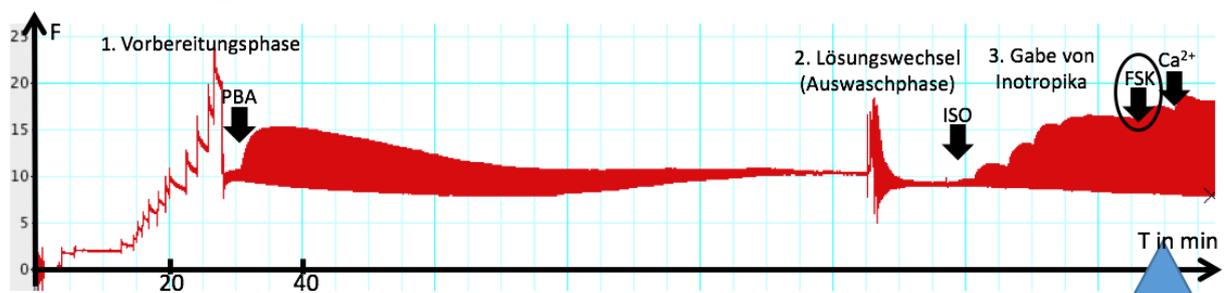


Abbildung 3.6: Individuelles Verhältnis zwischen der maximalen Isoprenalin Antwort bei 10 μ M und der Calciumantwort in % in Präparaten von Patienten mit Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI)
 Werte für alle einzelnen Präparate (links) sowie gemittelt auf Patientenebene (rechts). Mittelwert \pm SEM.
 alle Präparate: AS $63\% (\pm 3)$ vs. AI $81\% (\pm 3)$, $p = 0,0004$
 Patientenebene: AS $61\% (\pm 3)$ vs. AI $83\% (\pm 5)$, $p = 0,0005$

Nach Gabe von Forskolin untersuchten wir die Kontraktilität auf Second-Messenger-Ebene durch direkte Stimulation der Adenylatzyklase. Bei der Betrachtung aller Präparate wird das Signifikanzniveau beinahe erreicht, auf Patientenebene bestand jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen AS und AI (Abb. 3.7).



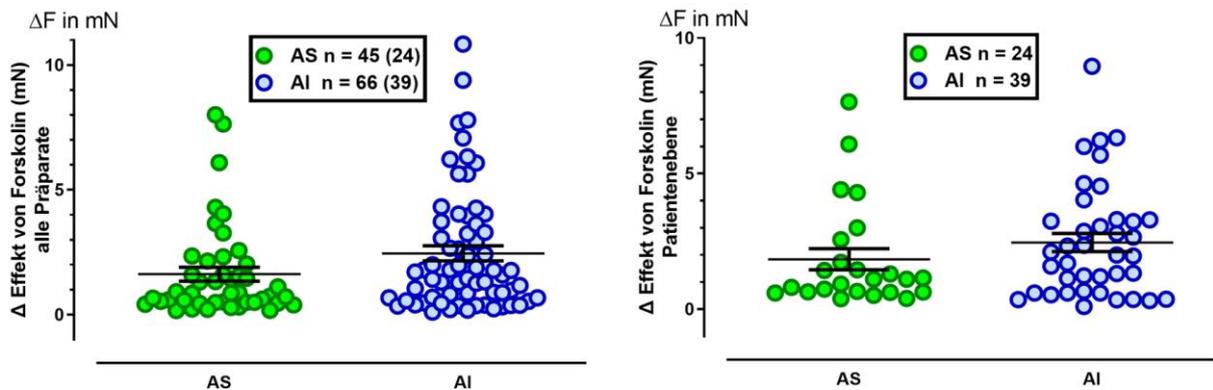


Abbildung 3.7: Maximaler Effekt einer direkten Stimulation der Adenylatzyklase durch Forskolin in Präparaten von Patienten mit Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI)

Werte für alle Präparate (links) sowie gemittelt (rechts) auf Patientenebene. Mittelwert \pm SEM.

alle Präparate: AS 1,61 (\pm 0,28) mN vs. AI 2,45 (\pm 0,3) mN, $p = 0,054$

Patientenebene: AS 1,84 (\pm 0,39) mN vs. AI 2,46 (\pm 0,33) mN, $p = 0,23$

Im letzten Schritt des Kontraktionsversuchs wurde Calcium hinzugegeben, welches in der Regel den stärksten inotropen Effekt im Versuch auslöste. Ähnlich wie bei der Forskolin-Gabe ergab sich auch nach der Gabe von Calcium ein nahezu signifikanter Unterschied zwischen AS und AI bei allen Präparaten, wohingegen auf Patientenebene kein relevanter Unterschied messbar war (Abb. 3.8).

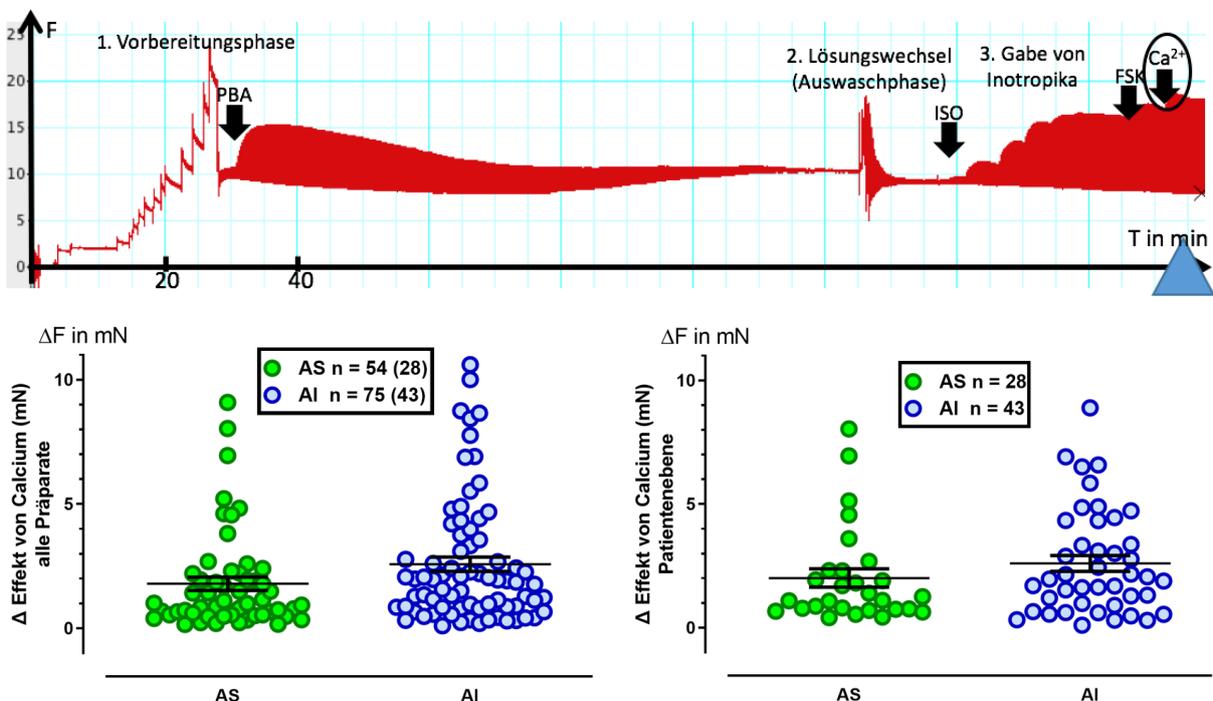


Abbildung 3.8: Maximaler Effekt von Ca^{2+} in Präparaten von Patienten mit Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI)

Werte für alle Präparate (links) sowie gemittelt (rechts) auf Patientenebene. Mittelwert \pm SEM.

alle Präparate: AS 1,79 (\pm 0,27) mN vs. AI 2,57 (\pm 0,29) mN, $p = 0,058$

Patientenebene: AS 2 (\pm 0,37) mN vs. AI 2,6 (\pm 0,32) mN, $p = 0,23$

3.2.3 Korrelation zwischen Kontraktilität und Patientendaten

In der Einleitung wurde die klinische Quantifizierung der Herzinsuffizienz durch die NYHA-Klassifikation vorgestellt (Tab. 1.1). Wir untersuchten, ob die in vitro gemessenen Kontraktilitätsparameter überhaupt mit der klinischen Quantifizierung in Abhängigkeit stehen. Hierzu korrelierten wir die Parameter zur Beurteilung der β -AR-Funktion mit den Stadien der NYHA-Klassifikation. Hierbei wurde das NYHA-Stadium der Patienten vor der OP mit der Empfindlichkeit des Gewebes für Isoprenalin (EC_{50} von ISO) sowie mit der maximalen Effektgröße von Isoprenalin ($F_{ISO/CA}$) gegenübergestellt (Abb. 3.9).

Interessanterweise war die Empfindlichkeit der β -AR in den NYHA-Stadien 1 und 3 am empfindlichsten. Die maximale Effektgröße von Isoprenalin nahm den höchsten Wert in Stadium 1 an und fiel im NYHA-Stadium 2 und 3 ab.

Insgesamt stellte sich sowohl in der β -AR-Empfindlichkeit als auch in der maximalen Effektgröße von Isoprenalin keine lineare Beziehung zwischen β -AR und NYHA-Stadium ein.

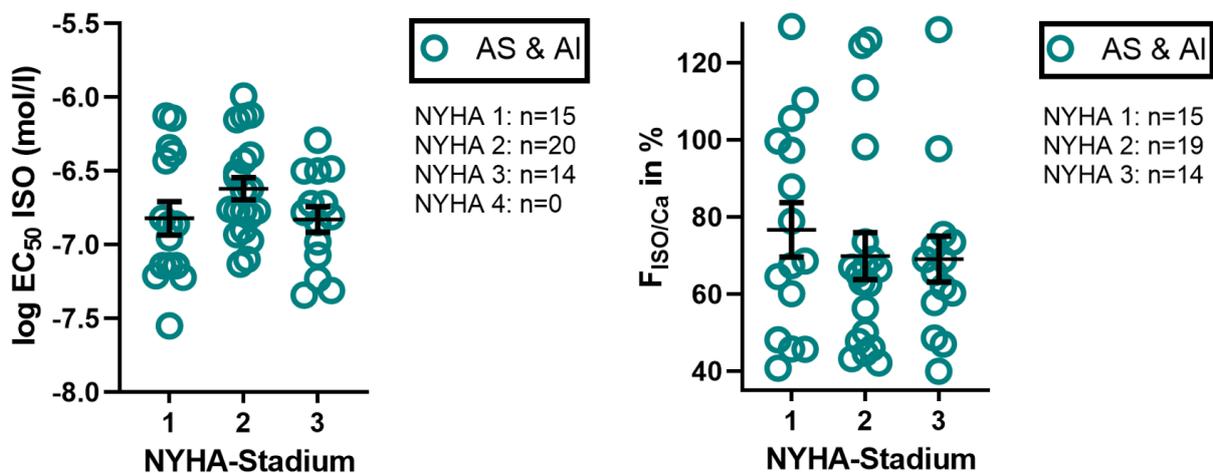


Abbildung 3.9: Prüfung einer Abhängigkeit zwischen präoperativem NYHA-Stadium und in vitro gemessener β -AR-Funktion (links Empfindlichkeit als $\log EC_{50}$ von ISO und rechts maximale Effektgröße als $F_{ISO/CA}$)

$\log EC_{50}$ ISO: NYHA 1: $-6,82 (\pm 0,11)$ mol/l, NYHA 2: $-6,62 (\pm 0,07)$ mol/l, NYHA 3: $-6,83 (\pm 0,09)$ mol/l

- NYHA 1 vs. NYHA 2: $p = 0,13$
- NYHA 2 vs. NYHA 3: $p = 0,08$
- NYHA 1 vs. NYHA 3: $p = 0,96$

$F_{ISO/CA}$: NYHA 1: $77\% (\pm 7)$, NYHA 2: $70\% (\pm 6)$, NYHA 3: $69\% (\pm 6)$

- NYHA 1 vs. NYHA 2: $p = 0,47$
- NYHA 2 vs. NYHA 3: $p = 0,93$
- NYHA 1 vs. NYHA 3: $p = 0,42$

Im nächsten Schritt beurteilten wir die Beziehung zwischen NYHA-Klassifikation und β -AR-Funktion für AS und AI getrennt (Abb. 3.10). Lediglich bei der Betrachtung der maximalen Effektgröße von ISO war in der NYHA-Klasse 1 ein signifikanter Unterschied zwischen AS und AI festzustellen.

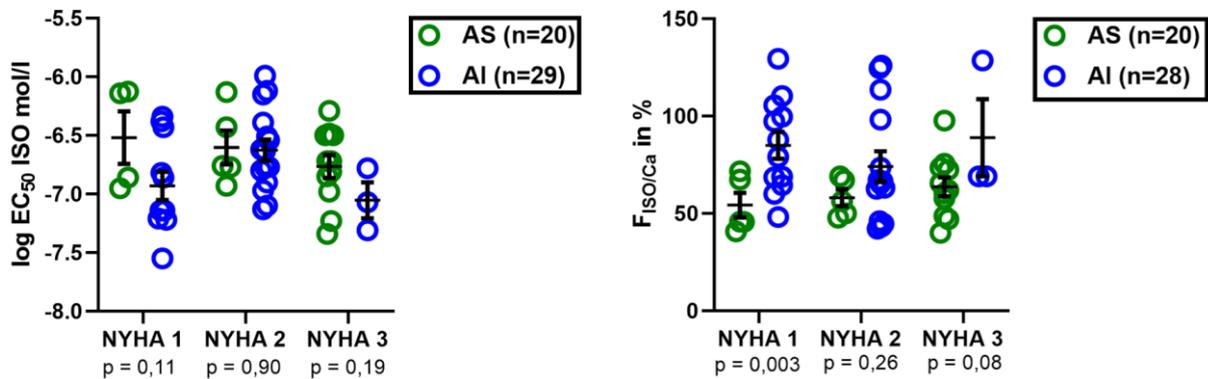


Abbildung 3.10: Prüfung einer Abhängigkeit zwischen β -AR-Funktion (links Empfindlichkeit als $\log EC_{50}$ von ISO, rechts maximale Effektgröße als $F_{ISO/CA}$ in %) und präoperativ erhobenem NYHA-Stadium unter Berücksichtigung der Vitiengruppen

Neben der NYHA-Klassifikation kann die Herzinsuffizienz auch durch die echokardiografisch ermittelte Ejektionsfraktion quantifiziert werden. Analog zur NYHA-Klassifikation prüften wir auch hier eine Abhängigkeit zwischen Ejektionsfraktion (nach Simpson) und β -AR-Funktion (Abb. 3.11). Für beide Vitien fanden wir keine signifikante Korrelation zwischen Ejektionsfraktion und β -AR-Funktion (sowohl bei $\log EC_{50}$ von ISO als auch bei $F_{ISO/CA}$)

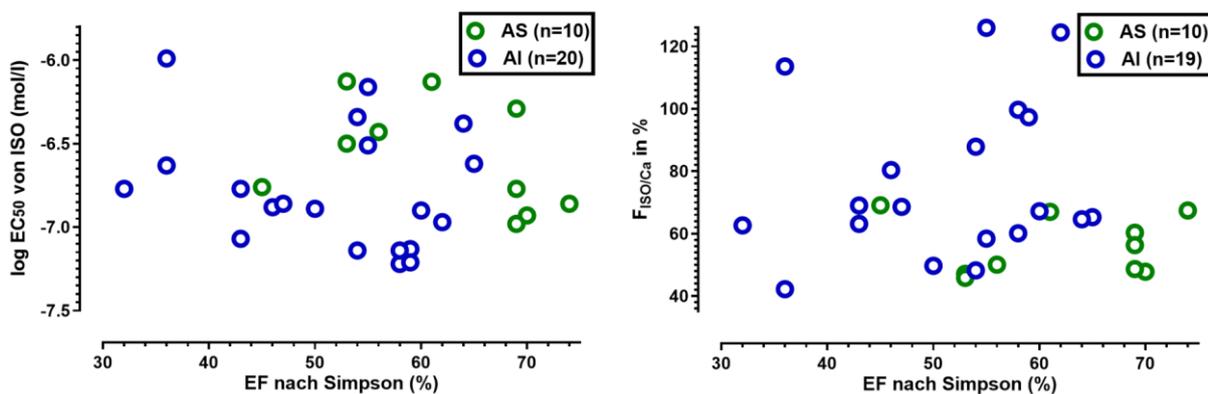


Abbildung 3.11: Prüfung einer Abhängigkeit zwischen β -AR-Funktion präoperativ gemessener Ejektionsfraktion (EF) in der Echokardiografie

Keine signifikante Korrelation zwischen der Ejektionsfraktion der β -AR-Funktion (links Empfindlichkeit über $\log EC_{50}$ von ISO und rechts maximale Effektgröße als $F_{ISO/CA}$ sowohl bei der Aortenklappenstenose (AS) als auch bei der Aortenklappeninsuffizienz (AI))

EF gegen $\log EC_{50}$ von ISO: AS: $R^2 = 0,001$, $p = 0,93$ vs. AI: $R^2 = 0,04$, $p = 0,44$

EF gegen $F_{ISO/CA}$: AS: $R^2 = 0,06$, $p = 0,45$ vs. AI: $R^2 < 0,01$, $p = 0,97$

Etwa 1/3 der Patienten bei AS und AI wurden mit einem β -AR-Antagonist eingestellt. Wir untersuchten, ob sich die Medikation mit β -AR-Antagonisten auf die β -AR-Funktionsparameter auswirkte (Abb. 3.12). Innerhalb der Vitiengruppen bewirkte die medikamentöse Einstellung mit β -AR-Antagonisten keinen signifikanten Unterschied auf die β -AR-Funktionsparameter. Allerdings war die Empfindlichkeit auf Isoprenalin bei AI höher als bei AS bei β -AR-Antagonist-Einnahme ($p = 0,03$). Ebenfalls war die maximale Effektgröße von Isoprenalin bei AI größer als bei AS, wenn die Patienten nicht mit β -AR-Antagonisten behandelt waren ($p = 0,002$).

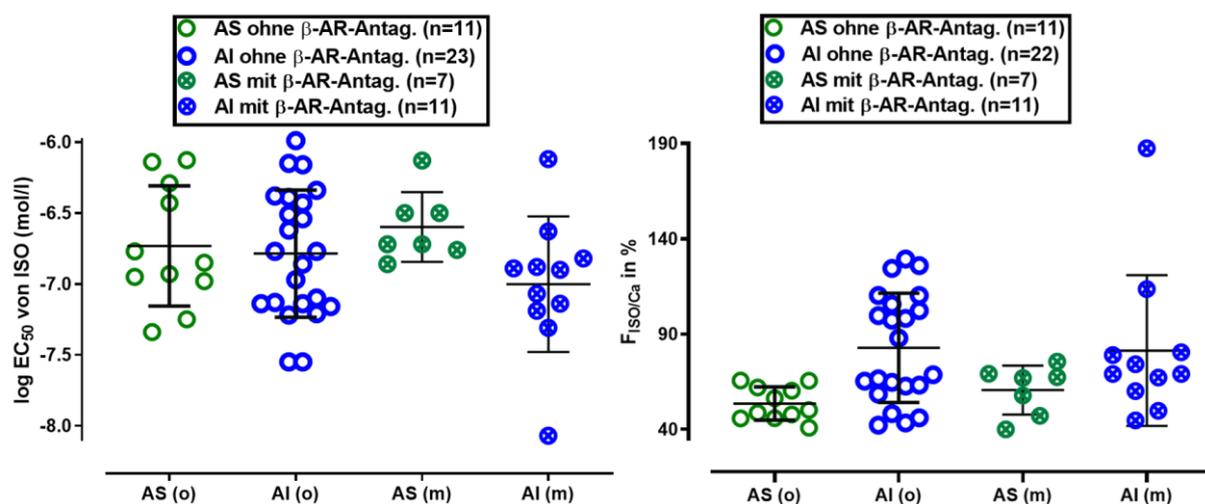


Abbildung 3.12: Einfluss einer β -AR-Antagonist-Therapie auf β -AR-Funktion: Links Potency und rechts Efficacy

Vergleich des Einflusses β -AR-Antagonisten auf β -AR-Funktionsparameter innerhalb der Vitiengruppen mittels Tukey's multiple comparisons test ergab keine signifikanten Unterschiede.

log EC₅₀ ISO: AS (o): $-6,73 (\pm 0,13)$ mol/l, AI (o): $-6,79 (\pm 0,09)$ mol/l, AS (m): $-6,60 (\pm 0,09)$ mol/l, AI (m): $-7 (\pm 0,14)$ mol/l

- AS (o) vs. AI (o): $p = 0,74$
- AS (m) vs. AI (m): $p = 0,03$
- AS (o) vs. AS (m): $p = 0,46$
- AI (o) vs. AI (m): $p = 0,22$

F_{ISO/CA}: AS (o): $53\% (\pm 3)$, AI (o): $83 (\pm 6)$, AS (m): $61\% (\pm 5)$, AI (m): $81\% (\pm 12)$

- AS (o) vs. AI (o): $p = 0,002$
- AS (m) vs. AI (m): $p = 0,20$
- AS (o) vs. AS (m): $p = 0,23$
- AI (o) vs. AI (m): $p = 0,92$

3.3 Myokardfibrose

Die Fibrose wurde auf Patientenebene gemittelt und anschließend für Korrelationsuntersuchungen verwendet.

Zunächst interessierten wir uns die Frage, ob sich die Fibrosequantifizierung zwischen AS und AI unterschied (Abb. 3.13). Im Mittel konnten wir mehr Fibrose bei AS mit 13,9% (± 3) als bei AI mit 9,8% (± 2) feststellen, wobei der Unterschied nicht signifikant ausfiel ($p = 0,22$).

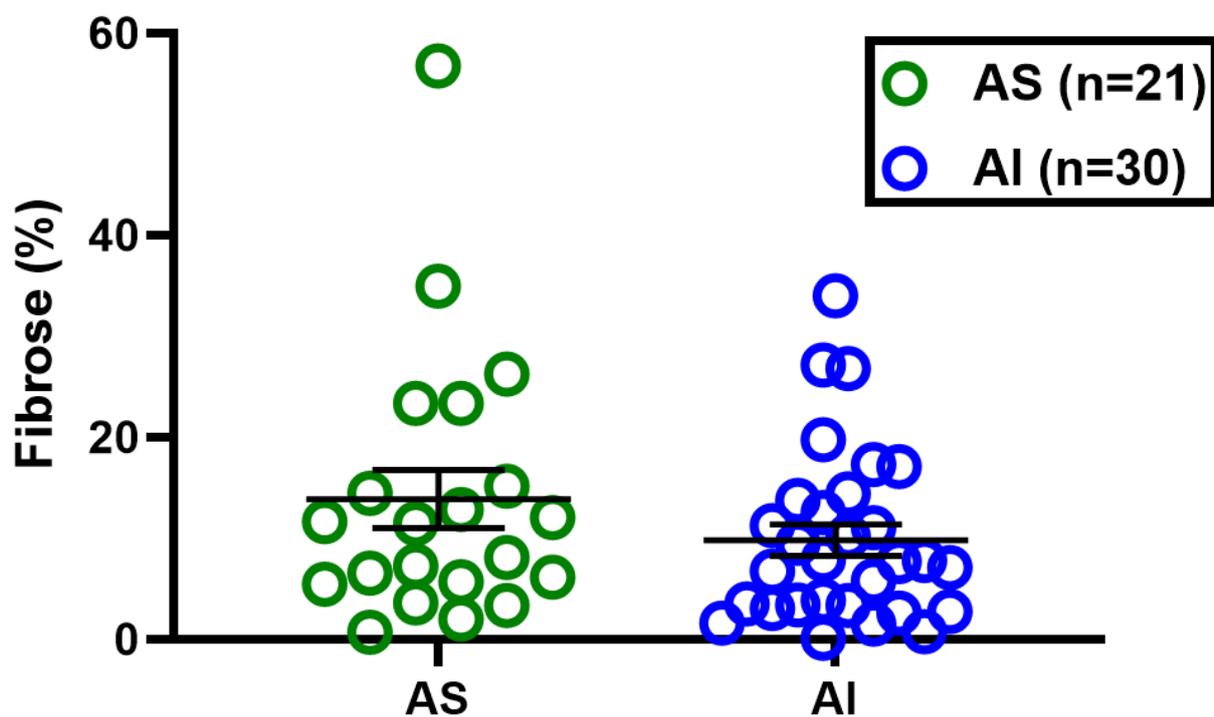


Abbildung 3.13: Myokardfibrose auf Patientenebene

Mittelwert \pm SEM. AS 13,9% (± 3) vs. AI 9,8% (± 2), $p = 0,22$

3.3.1 Korrelation zwischen Fibrose und klinische Daten

Wir korrelierten das Patientenalter zum OP-Zeitpunkt mit der Fibrose, mit der Hypothese, dass mit zunehmendem Alter der Fibrosegrad im Herzmuskelgewebe steigt. Wir konnten jedoch keinen Zusammenhang zwischen Patientenalter und Fibrose in unserem Patientenkollektiv feststellen (Abb. 3.14). Auch konnten wir keine Abhängigkeit der Fibrose vom Geschlecht beobachten (nicht dargestellt).

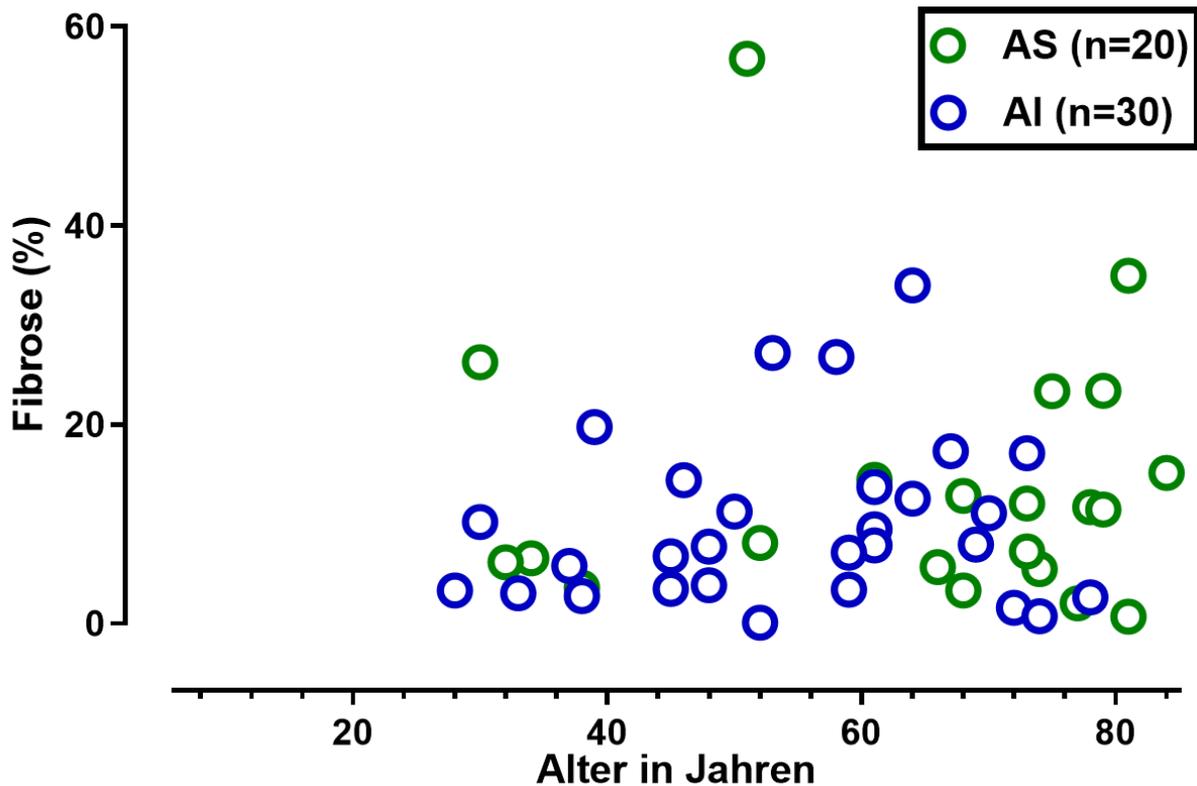


Abbildung 3.14: Patientenalter in Jahren gegen Fibrose in Prozent der Herzmuskelpräparate aufgetragen

Keine signifikante Korrelation sowohl bei Aortenklappenstenose (AS) als auch bei Aortenklappeninsuffizienz (AI)

Korrelation für AS: $R^2 = 0,002$, $p = 0,84$ und für AI: $R^2 = 0,008$, $p = 0,65$

Wir untersuchten ebenso, ob es einen Zusammenhang zwischen Medikation und Myokardfibrose gab (Abb. 3.15). Wir stellten die Einnahme von ACE-Hemmern abhängig vom Vitium der Myokardfibrose gegenüber. Innerhalb der Vitiengruppen wirkte sich die Einnahme von ACE-Hemmern nicht signifikant auf die Fibrose aus.

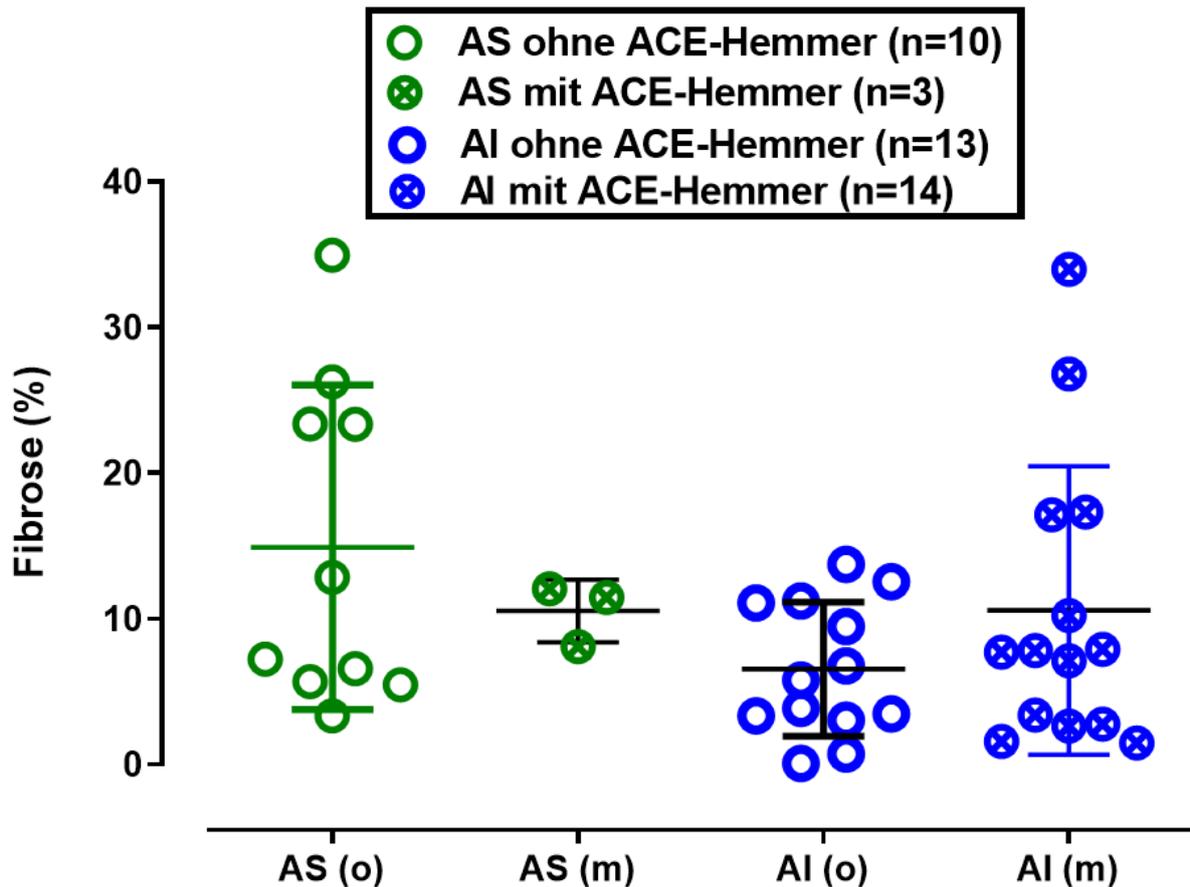


Abbildung 3.15: Patienten sind abhängig vom Vitium und Einnahme von ACE-Hemmern in vier Kategorien eingeteilt. Betrachtung der Fibrosequantifizierung in den einzelnen Kategorien.

Vergleich der Säulen untereinander mittels Tukey's multiple comparison test.

Signifikante Unterschiede im Vergleich zwischen:

AS ohne ACE-H. vs. AS mit ACE-H.: 14,92% (± 4) vs. 10,56% (± 1), $p = 0,87$

AI ohne ACE-H. vs. AI mit ACE-H.: 6,57% (± 1) vs. 10,58% (± 3), $p = 0,62$

Im weiteren Verlauf untersuchten wir den Einfluss der Fibrose auf die Ejektionsfraktion mit der Hypothese, dass höhere Fibrosewerte mit einer niedrigeren Ejektionsfraktion in der Echokardiografie einhergehen (Abb. 3.16). Bei AI tendierte eine niedrigere Fibrose mit einer höheren Ejektionsfraktion ($p = 0,08$).

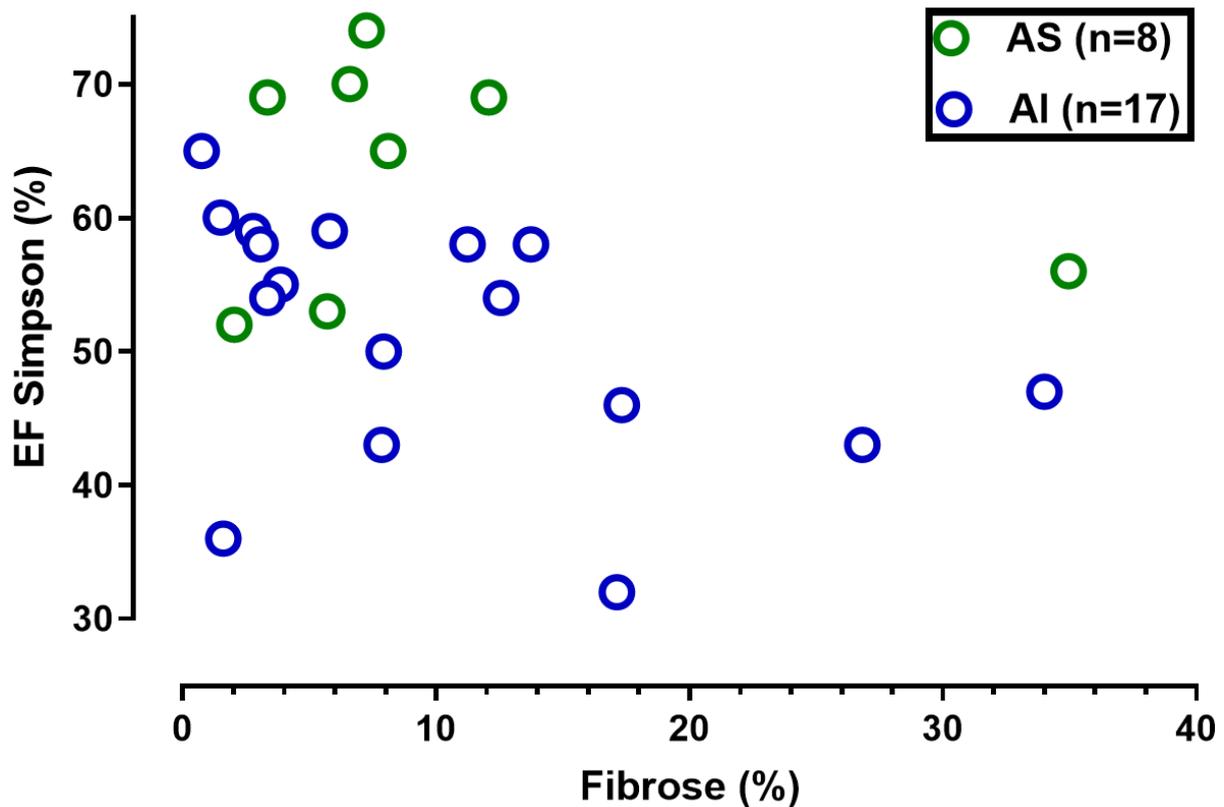


Abbildung 3.16: Fibrose der Herzmuskelpräparate gegen präoperative Ejektionsfraktion aufgetragen

Sowohl AS als auch AI korrelieren nicht signifikant mit der Ejektionsfraktion

AS: $R^2 = 0,04$, $p = 0,63$

AI: $R^2 = 0,19$, $p = 0,08$

3.3.1 Korrelation zwischen Fibrose und Kontraktionsdaten

In weiteren Korrelationsanalysen untersuchten wir, ob die gemessene Myokardfibrose einen direkten Einfluss auf die β -AR-Funktionsparameter (EC_{50} ISO und $F_{ISO/Ca}$) hat. Bei der statistischen Auswertung wurde keine signifikante Abhängigkeit der genannten Parameter von Fibrose festgestellt (Abb. 3.17 und 3.18).

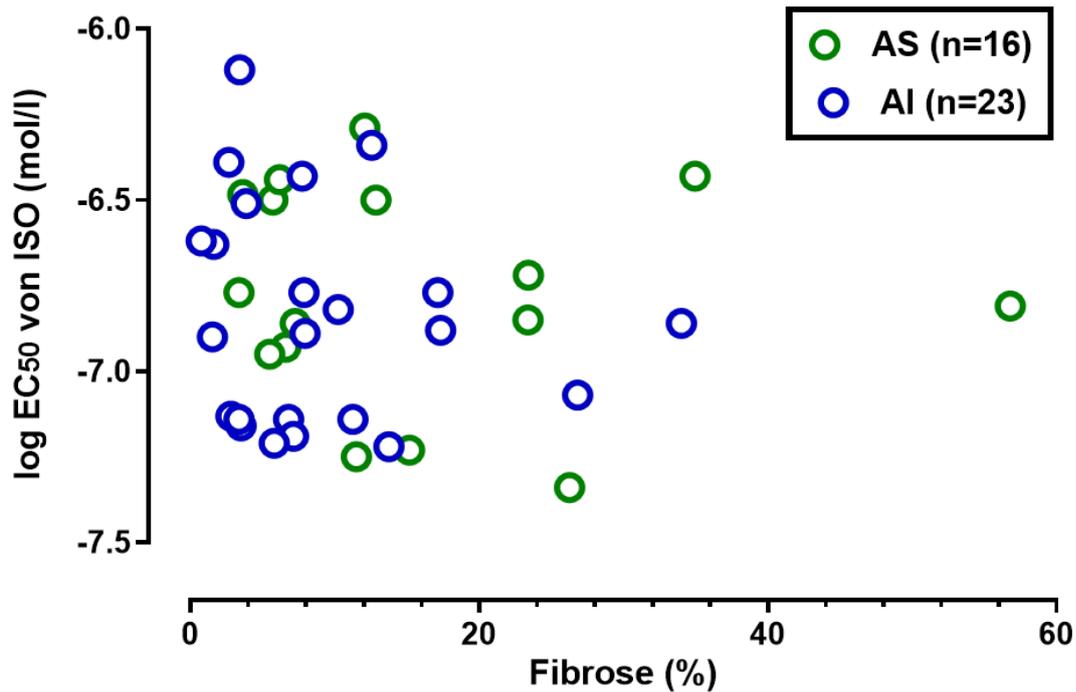


Abbildung 3.17: Fibrose in Prozent der Herzmuskelpräparate gegen Empfindlichkeit der Herzmuskelpräparate gegenüber Isoprenalin dargestellt als negativen Logarithmus von EC₅₀ aufgetragen
 Sowohl bei AS als auch bei AI war keine statistische Abhängigkeit von Fibrose nachweisbar:
 Korrelation für AS: $R^2 = 0,01$, $p = 0,71$
 Korrelation für AI: $R^2 = 0,03$, $p = 0,47$

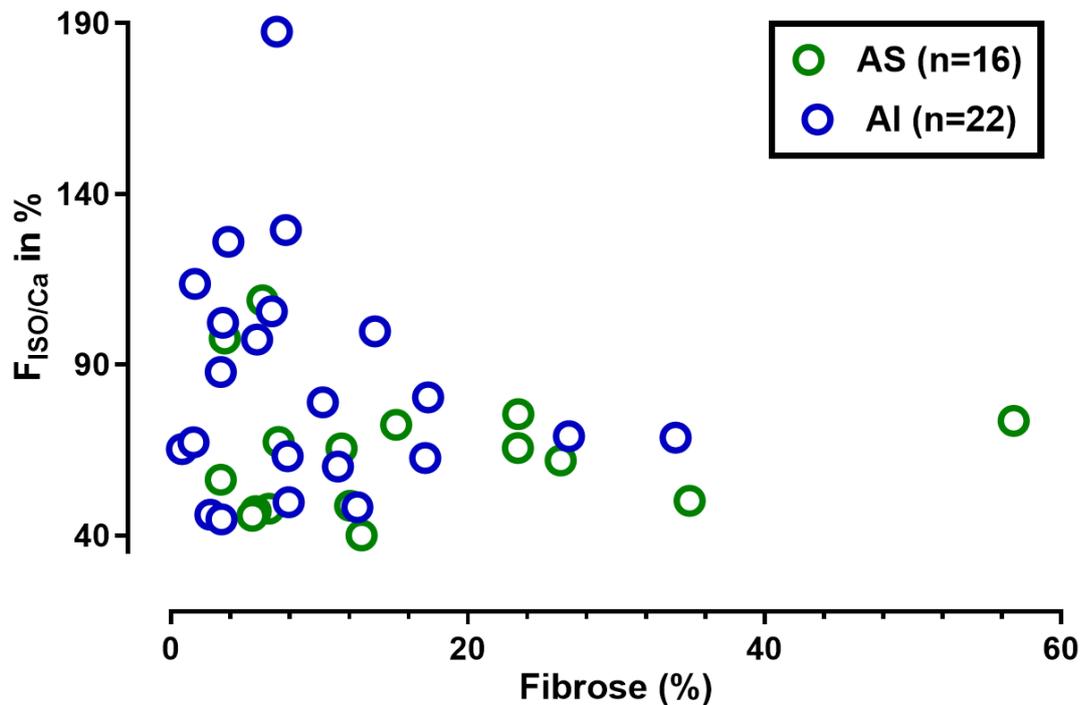


Abbildung 3.18: Fibrose in Prozent der Herzmuskelpräparate gegen maximale Effektgröße von Isoprenalin in Prozent von Calcium
 Sowohl bei AS als auch bei AI war keine statistische Abhängigkeit von Fibrose nachweisbar:
 Korrelation für AS: $R^2 < 0,001$, $p = 0,96$
 Korrelation für AI: $R^2 = 0,03$, $p = 0,43$

4 Diskussion

Jede pathologische Veränderung am Herzen kann zu einem Remodeling führen. Molekulare, zelluläre und interstitielle Veränderungen manifestieren sich in der Größe, Masse, Geometrie und Funktion des Herzmuskels (Cohn et al., 2000). Dies geschieht ebenfalls bei Herzklappenerkrankungen, auf die etwa 10 % aller Herzinsuffizienzen zurückzuführen sind (Hasenfuss, 1998). Pathophysiologische Veränderungen am Myokard durch Herzklappenerkrankungen lassen sich sowohl am Tiermodell als auch am humanen Gewebe studieren.

4.1 Vom Tiermodell zu in vitro Versuchen mit humanem Gewebe

4.1.1 Untersuchung von Druck- und Volumenbelastung am Mausmodell

Unterschiede zwischen Druck- und Volumenbelastung wurden in der Vergangenheit am Mausmodell untersucht (Toischer et al., 2010). Für die Untersuchung von Druckbelastung am Herzen schnürten Toischer et al. Mäusen die Aorta ascendens ab (sog. transaortic constriction, TAC-Mäuse). Zur Simulation der Volumenbelastung wurde eine Shunt-Verbindung zwischen Aorta descendens und Vena cava inferior hergestellt (sog. Shunt-Mäuse). Der höhere Druck in der Aorta trieb das Blut über die angelegte Shuntverbindung in das venöse System und schließlich ins Herz. Die Ergebnisse beider Modelle wurden mit Kontrollmäusen verglichen.

Diese tierexperimentelle Arbeit stellte mitunter eine Motivation dar, strukturelle und funktionelle Parameter zwischen AS und AI gegenüberzustellen. Zwar ist das Mausmodell ohne weiteres nicht auf den Vergleich zwischen AS und AI sowie auf den Menschen übertragbar, dennoch sind die Erkenntnisse der Arbeit von Toischer et al. für das genaue Verständnis der Vorgänge bei Druck- und Volumenbelastung interessant.

Bisher nahm man an, dass eine höhere Wandspannung des Ventrikels mit einer höheren Myokardbelastung und damit langfristig schlechterer Myokardfunktion sowie Prognose assoziiert ist, da die Wandspannung des Herzmuskels direkt proportional zum myokardialen Sauerstoffverbrauch steht (Antonopoulos et al., 2018). Bei Druckbelastung hypertrophiert die Wand des Ventrikels zur Verminderung der Wandspannung (Gesetz nach Laplace). Bei Volumenbelastung hingegen hypertrophiert die Wand nicht in dem Maße, wie bei der Druckbelastung. Die Wandspannung ist bei Volumenbelastung tendenziell höher.

Erstaunlicherweise konnten Toischer et al. bei Mäusen mit Volumenbelastung eine günstigere fractional shortening und damit eine bessere hämodynamische Kompensation aufzeigen, welche darüber hinaus mit einem Überlebensvorteil gegenüber Druckbelastung einherging. Diese Beobachtung stand im Widerspruch zur Annahme, dass eine höhere Wandspannung, so wie sie bei Volumenbelastung vorliegt, mit einer schlechteren Myokardfunktion und Prognose in Verbindung steht. Toischer et al. führten ihre Ergebnisse auf ein günstigeres Remodeling-Profil bei Volumenbelastung zurück. Entscheidend für Kompensationsmöglichkeiten und Prognose nach Myokardbelastung könnte anstelle der Wandspannung eher die Zusammensetzung des Myokardgewebes auf histologischer Ebene sein.

Interessanterweise konnten Toischer et al. bei Druckbelastung eine deutlich höhere Mortalität als bei Volumenbelastung feststellen (Sterblichkeit nach 8 Wochen Druckbelastung 79 % vs. Volumenbelastung 30 %). Zudem war die Druckbelastung auf mikroskopischer Ebene mit einer erhöhten Inflammation, Fibrose und Apoptose assoziiert.

Nach der Darstellung unserer Ergebnisse, bei der sich eine bessere β -AR-Antwort (siehe Abb. 3.6) bei AI im Vergleich mit AS zeigte, sind ähnliche pathophysiologische Erklärungen wie am Mausmodell denkbar. Ob sich das Überleben der Patienten genau wie im Mausmodell darstellt, kann anhand der aktuellen Daten nicht beantwortet werden.

4.1.2 Unterschiede zwischen Druck- und Volumenbelastung am humanen Myokard

4.1.2.1 Arbeit von Mannacio et al. (2015)

Die Arbeitsgruppe um Mannacio et al. erforschte ebenfalls strukturelle und funktionelle Unterschiede an humanem Myokard bei AS und AI (Mannacio et al., 2015). Eine zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse zeigt Tabelle 4.1 Klinische und experimentell erhobene Parameter bei AS und AI wurden zusätzlich mit gesunden Kontrollen verglichen. Im Folgenden sollen daher die Unterschiede des Studiendesigns einschließlich ihrer Ergebnisse von Mannacio et al. und der vorliegenden Arbeit diskutiert werden.

Tabelle 4.1: Versuchsergebnisse der Arbeit von (Mannacio et al., 2015)

Patientendaten			
	AS	AI	p-Wert
Anzahl	35	35	
Alter	62 ± 7	60 ± 6	0,3
Geschlecht (m/w)	12/23	15/20	0,8
BMI (kg/m ²)	24 ± 4	24 ± 4	0,2
Ursache des Vitiums	23 degenerativ 6 rheumatisch 6 gemischt	22 rheumatisch 6 Endokarditis 5 degenerativ 2 gemischt	
Echokardiografie			
EDV (ml/m ²)	70 ± 8	115 ± 29	Keine Angabe
ESV ml/m ²)	21 ± 4	55,3 ± 7,3	
LVEF (%)	67 ± 5	51 ± 6	
PWEDD (mm)	12 ± 2	11 ± 2	
IVEDD (mm)	13 ± 1	12 ± 2	
Aortenklappenfläche (cm ² /m ²)	0,6 ± 0,03		
Flussgeschwindigkeit (m/s)	4 ± 0,004		
max. Gradient (mmHg)	108 ± 18		
mittl. Gradient (mmHg)	59 ± 7		
Regurgitationsvolumen (ml/Schlag)		57 ± 5	
Regurgitation Fraktion (%)		54 ± 6	
Fractional Shortening (%)	21 ± 2	13 ± 3	
Kontraktionsversuch			
F _{passive}	6,6 (± 0,3) kN/m ²	4,6 (± 0,2) kN/m ²	< 0,001
F _{total}	19,5 (± 5,2) kN/m ²	18,5 (± 8,3) kN/m ²	0,5
Myokardfibrose			
Interstitielle Fibrose	8,9 (± 2,3)	7,7 (± 2,3)	0,01

Mittelwerte ± Standardabweichung

4.1.2.2 Unterschiede der klinischen Daten

Im Unterschied zu unserer Studie waren bei Mannacio et al. Alter und Geschlechterverteilung der Vitiengruppen ähnlich. Dies könnte für eine bessere Vergleichbarkeit beider Vitien ihrer Arbeit sprechen. Neben der Voraussetzung reiner Aortenvitien fanden sich weitere Ausschlusskriterien. So wurden Patienten mit einer bikuspiden Aortenklappe, KHK und Diabetes mellitus nicht berücksichtigt. Des Weiteren muss die unterschiedliche Genese der Vitien beider Studien berücksichtigt werden. In unserer Studie ist die AI häufig Folge einer Degeneration oder einer bikuspiden Aortenklappe, wohingegen die AI bei Manaccio et al. am häufigsten durch eine rheumatische Genese bedingt ist (~ 63 %). Die Ausprägung der Herzinsuffizienz könnte daher aufgrund der abweichenden Ausgangsbedingungen in den jeweiligen Studien unterschiedlich fortgeschritten sein.

Zwischen beiden Studienpopulationen ergaben sich Unterschiede in der Bildgebung. Beim Vergleich der AI-Patienten unserer Studie fallen hinsichtlich des EDV und des ESV im MRT im Mittel deutlich höhere Volumina auf als bei den AI-Patienten bei Mannacio et al. gemessen in der Echokardiografie (EDV_{MRT} 302 ml vs. EDV_{Echo} 115 ml ESV_{MRT} 141 ml vs. ESV_{Echo} 55 ml).

Die EF beider Studien waren für AS und AI vergleichbar. Während der maximale Fluss bei AS in beiden Studien ähnlich war, konnten Mannacio et al. bei ihren AS Patienten deutlich höhere Druckgradienten nachweisen (max. Gradient unserer Studie 71 mmHg vs. Mannacio et al. 108 mmHg). Folglich ist der Schweregrad der AS in der Studienpopulation bei Manaccio et al. ausgeprägter.

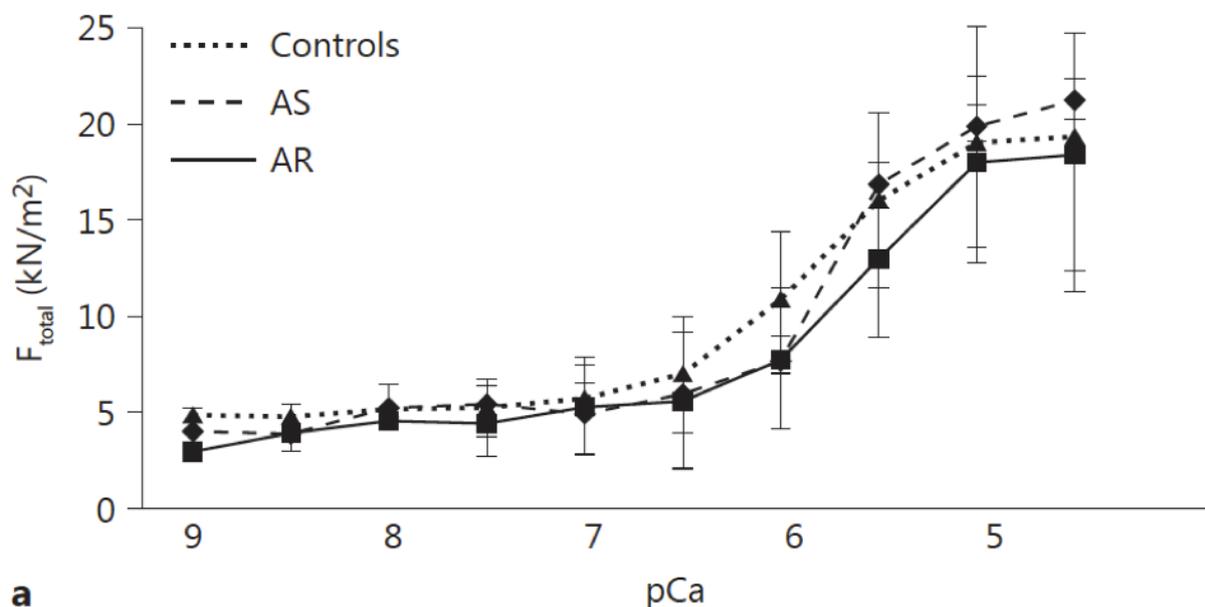
Das Remodeling nach Druck- bzw. Volumenbelastung konnten sie sowohl makroskopisch als auch mikroskopisch verfolgen. Die für AS typische konzentrische Hypertrophie ging bei ihnen mit einem erhöhten Kardiomyozytenquerdurchmesser bei AS im Vergleich zu AI einher (AS $22,7 \pm 2,2$ vs. AI $13,2 \pm 0,7$ μm , $p < 0,001$), welche stark mit der myokardialen Wanddicke korrelierte ($R^2 = 0,85$, $p < 0,001$). Die für AI charakteristische exzentrische Hypertrophie konnte bei Mannacio et al. anhand der erhöhten Kardiomyozytenlänge nachvollzogen werden (AI $121,2 \pm 9,4$ vs. AS $95,6 \pm 3,7$ μm , $p < 0,001$).

4.1.2.3 Unterschiede der experimentellen Daten

Beide Studien nutzten für den Kontraktionsversuch ventrikuläre Myokardbiopsien, welche allerdings intraoperativ an unterschiedlichen Lokalisationen entnommen

wurden. In unserer Studie erfolgte die Schnittbiopsie am Septum im Bereich des linksventrikulären Ausflusstrakts, bei Mannacio et al. waren es Stanzbiopsien aus dem linksventrikulären Apexbereich. Aus den letztgenannten Stanzbiopsien wurden den Herzmuskelzellen isoliert, die einzeln stimuliert wurden. In unserem Versuch hingegen wurden mehrzellige Gewebestücke zum Kontrahieren gebracht.

Mannacio et al. untersuchten die Kontraktilität des Myokards mit einer aufsteigenden Calcium-Konzentrationsreihe (Abb. 4.1). Wie in unserem Versuch konnten sie nach maximaler Konzentration von Calcium keinen Unterschied zwischen AS und AI feststellen. Eine gezielte Untersuchung der β -AR wurde nicht durchgeführt.



a **Abbildung 4.1: Kontraktionsversuch mittels aufsteigender Calciumreihe, Mannacio et al., 2015**

Beide Studien konnten höhere Fibrosewerte bei AS zeigen, wobei der Unterschied beider Vitien in unserer Studie nicht signifikant ausfiel (Ergebnisse dieser Arbeit: AS 13,88 % (± 3) vs. AI 9,8 % (± 2), $p = 0,22$; Ergebnisse Mannacio et al.: AS 8,9 % ($\pm 2,3$) vs. AI 7,7 ($\pm 2,3$), $p = 0,01$).

4.2 Unterschiede im Patientenkollektiv

4.2.1 Klinische Daten

Für die kritische Bewertung der Ergebnisse im Kontraktionsversuch und der Fibrose sind die Unterschiede der Patientendaten in der AS und AI Gruppe zu berücksichtigen. Während in der AS-Gruppe Frauen häufiger vorkommen, treten bei AI etwa dreimal mehr Männer als Frauen auf. Eine mögliche Erklärung für diese Verteilung liefert die genauere Betrachtung der Klappenmorphologie dieser Patienten. Denn fast die Hälfte unserer AI Patienten weist eine bikuspidale Aortenklappe auf. Die bikuspidale Aortenklappe kommt bei Männern etwa viermal häufiger vor als bei Frauen (Kong et al., 2020) (Kong et al., 2017). Interessanterweise führen die hämodynamischen Veränderungen durch die bikuspidale Klappe bei Frauen häufiger zur Entstehung einer AS, hingegen bei Männern eher zu einer AI (Kong et al., 2020). Eine weitere Erklärung der Unterrepräsentation der Frauen bei AI könnte in der Indikationsstellung für die OP liegen (Nitsche et al., 2020). Denn in den Indikationsstudien für die AI-Richtwerte wurden vornehmlich Männer untersucht (Tarasoutchi et al., 2003) (Tornos et al., 2006). Für gewöhnlich weisen Männer größere Herzen als Frauen auf (Pfaffenberger et al., 2013). Demnach würden diese Grenzwerte für die OP von Frauen aufgrund ihrer tendenziell kleineren Herzen erst in fortgeschritteneren Stadien erreicht werden. Die Indikationsstellung zur Operation sollte daher Körperoberflächen-adjustiert erfolgen (Nitsche et al., 2020). In der aktuellen ESC/EACTS Leitlinie von 2017 wird lediglich beim LVEDD-Grenzwert die Körperoberfläche bei „kleinen Körpergrößen“ berücksichtigt. Eine differenzierte operative Indikationsstellung hinsichtlich des Geschlechts findet nicht statt.

Im Mittel waren die AI Patienten um 10 Jahre jünger als bei AS und wurden überwiegend in die NYHA-Klassen I-II eingestuft. Dieser Altersunterschied könnte ebenfalls durch das dominierende Vorkommen der bikuspidalen Klappe bei AI erklärbar sein. Degenerative Veränderungen treten bei bikuspidaler Klappe früher auf als bei trikuspidaler Aortenklappe und könnten bei den Betroffenen zu früheren operativen Eingriffen führen (Michelena et al., 2008). So wird die bikuspidale Klappe meist im Alter zwischen dem 40. und 50. Lebensjahr durch eine Aortenklappenstenose oder Dilatation der Aorta mit konsekutiver Aortenklappeninsuffizienz symptomatisch (Michelena et al., 2011).

Darüber hinaus befürchtet man bei der AI, dass eine lang andauernde ventrikuläre Dysfunktion zu irreversiblen Schäden des Herzmuskels führt und der Ventrikel sich nach der OP nicht mehr erholt (Bonow et al., 1984). Patienten mit hochgradiger AI und dem Nachweis einer ventrikulären Dysfunktion wird die OP angeraten, selbst wenn keine Symptome zum OP-Zeitpunkt vorliegen (siehe Abschnitt 1.2.2).

Für eine optimale Vergleichbarkeit der Kontraktionskräfte und der Fibrose bei AS und AI sollten die Patienten beider Gruppen ungefähr gleichaltrig sein, wie bei Mannacio et al., 2015. Je älter die Patienten sind, desto eher ist von einer Abnahme der myokardialen Pumpfunktion auszugehen. Im Idealfall sollte der Vergleich auch in denselben NYHA-Stadien erfolgen. Je fortgeschrittener das NYHA-Stadium, desto ausgeprägter ist auch die Herzinsuffizienz und desto schlechter ist die Kontraktionskraft anzunehmen. Eine Angleichung des OP-Alters und des NYHA-Stadiums bei AS und bei AI für eine bessere Vergleichbarkeit durch Verzögerung des OP-Zeitpunktes bei AI innerhalb der Studie ist ethisch nicht vertretbar.

Sowohl die Körpergröße als auch die Körperoberfläche waren bei AI signifikant höher als bei AS. Dieses Ergebnis könnte durch das jüngere Patientenalter und durch den höheren männlichen Anteil der AI Gruppe bedingt sein.

Kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Hyperlipidämie und Hypertonie waren bei AS verhältnismäßig häufiger, welches wahrscheinlich auf das höhere mittlere Alter bei AS zurückzuführen ist, da sich mit zunehmendem Alter kardiovaskuläre Risikofaktoren anhäufen. Eine weitere Erklärung stellt die unterschiedliche Genese der Erkrankung dar. Die AS wird in erster Linie durch degenerative Prozesse ausgelöst, welche durch metabolische Erkrankungen und Hypertonie verstärkt werden können (Briand et al., 2006). Die AI kann auch ohne wesentliche metabolische Erkrankungen im Rahmen einer Aortendilatation zum Beispiel bei bikuspidaler Aortenklappe auftreten (Siu et. al., 2010).

4.2.2 Bildgebung

Das unterschiedliche Remodeling zwischen Druck- und Volumenbelastung spiegelte sich in den bildgebenden Untersuchungen wider. Die höhere LVEDD und LVESD in der Echokardiografie sowie der höhere LV Diameter im MRT bei AI verglichen mit AS weisen auf eine exzentrische Hypertrophie hin.

Die größere myokardiale Wanddicke (gemessen als IVEDD, IVESD, PWEDD in der Echokardiografie sowie vergrößerte Septumdicke im MRT) und höhere

Ejektionsfraktion bei AS sprechen für das Vorliegen einer konzentrischen Hypertrophie. Der verminderte linksventrikuläre Auswurf wird durch das verminderte Füllungsvolumen in der Diastole ausgeglichen, wodurch die Ejektionsfraktion weitestgehend erhalten bleibt. Daher wird diese Art der Herzinsuffizienz auch als Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) klassifiziert.

Letztlich führt die Hypertrophie bei beiden Vitien zu einer Störung der ventrikulären Relaxation, welche an der am Quotienten $E/A = \frac{E\text{-Welle}}{A\text{-Welle}}$ sichtbar wird (physiologisch > 1 , AS = 0,87, AI = 0,92). (Galderisi, 2005)

Die Aortenklappeninsuffizienz wird häufig durch eine Dilatation der Aorta ascendens verursacht, welches sich am erhöhten LVOT Diameter sowie vergrößerten Aortenklappenöffnungsfläche in der Echokardiografie und dem vergrößerten Durchmesser der Aorta ascendens im MRT bemerkbar macht (Akinseye et al., 2018). Die Durchmesser der Aorta ascendens und Aorta descendens waren bei AI höher als bei AS. Dieser vergrößerte Durchmesser könnte entweder Ursache oder Folge der AI sein. Bei bikuspider Klappe spielen genetische als auch intravasale hämodynamische Einflüsse bei der Entstehung der Aortendilatation eine Rolle (Girdauskas et al., 2011). Der Rückfluss des Blutvolumens zurück in den Ventrikel in der Diastole aufgrund des inkompetenten Aortenklappenschlusses bei AI hinterlässt im MRT eine erhöhte Regurgitations-Fraktion. Das enddiastolische und endsystolische Volumen bei AI sind durch die Ventrikeldilatation im Rahmen der exzentrischen Hypertrophie erklärbar. Die erhöhten enddiastolischen Volumina bei noch erhaltener „normaler“ Kontraktilität führen zum deutlich erhöhten Schlagvolumen über den Frank-Starling Mechanismus bei AI (Frank, 1895) (Patterson et al., 1914).

Die Untersuchung der Herzmuskelfunktion mittels Magnetresonanztomografie wird häufig durch eine Gabe des Kontrastmittels Gadolinium ergänzt. Gadolinium wurde ursprünglich zur Detektion von infarziertem Herzmuskelgewebe verwendet (Lehrke et al., 2010). Es hat sich in der MRT Diagnostik als Surrogatparameter für die Bestimmung der Infarktgröße etabliert (Ferreira et al., 2018). Darüber hinaus ist ein sog. Late Gadolinium Enhancement (LGE) mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für kardiovaskuläre Risiken bei nicht-ischämischer Kardiomyopathie assoziiert (Wu et al., 2008).

Für den Vergleich des LGE zwischen AS und AI kann aufgrund der aktuellen unzureichenden Fallzahl keine Aussage getroffen werden und muss in Zukunft durch weitere Studien untersucht werden.

4.3 Septumbioptate als neues pharmakologisches Modell

Ergebnisse aus pharmakologischen Experimenten an Geweben von Versuchstieren sind nur mit Einschränkungen auf den Menschen übertragbar. Dies gilt insbesondere für Versuche mit Myokardgewebe. Strukturelle und funktionelle Unterschiede zwischen verschiedenen Spezies ergeben sich aufgrund von Variationen in der Anatomie, Proteinexpression sowie der unterschiedlichen Anpassungen der Spezies an ihre Umwelt.

Humanes ventrikuläres Myokard für pharmakologische Experimente konnte in der Vergangenheit ausschließlich im Zusammenhang mit einer Herztransplantation gewonnen werden. Dabei wurde vorwiegend Gewebe aus explantierten Herzen von terminal herzinsuffizienten Patienten benutzt. Ein zügiger Transport des Organs in einem geeigneten Medium ermöglichte die Durchführung von Experimenten im Labor (Beispiel: Ginsburg, 1983). Daten aus gesunden Kontrollen konnten aus Herzen gewonnen werden, die für eine Herztransplantation explantiert wurden, jedoch aus technischen Gründen nicht implantiert werden konnten (Beispiel: Ginsburg, 1983). Dieses Verfahren ist juristisch fragwürdig, da aus einer Einwilligung in die Organtransplantation nicht automatisch auf eine Einwilligung zur Verwendung des Organs für pharmakologische Experimente geschlossen werden kann.

Die Entnahme von Herzmuskelgewebe am Herzen in situ ist für Vorhofgewebe gut etabliert, für Ventrikelgewebe bislang nur selten genutzt. Nur wenige Arbeiten sind publiziert, bei denen intraoperativ gewonnene Septumbioptate für pharmakologische Versuche benutzt wurden. Humane Septumbioptate sind bislang erfolgreich für die Messungen von Aktionspotenzialen benutzt worden. Dabei wurde das Gewebe, ebenso wie in der vorliegenden Arbeit, von Patienten während eines operativen Eingriffs an der Aortenklappe unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine entnommen (Skibsbye et al., 2014) (Lemoine et al., 2018). Auch Biopsien aus dem Apex des linken Ventrikels können genutzt werden. So berichtete die Arbeitsgruppe um Mannacio et al. im Jahr 2015 über histologische Untersuchungen aber auch über Kontraktionsmessungen am humanen Myokard, die aus Stanzbiopsien aus dem Apex des linken Ventrikels im Rahmen eines Aortenklappenersatzes entnommen wurden (Mannacio et al., 2015).

Die vorliegende Arbeit zeigt, dass etablierte experimentelle Protokolle zu pharmakologischen Untersuchungen von Herzmuskelgewebe auf β -AR-Ebene mittels Kraftmessungen auch an humanen Septumbiopsien möglich sind. So waren in

ungefähr 70 % aller Versuche Kontraktionen messbar. Wissenschaftler, die erfahren an Kontraktionsmessungen sind erreichen mit Sicherheit höhere Erfolgsquoten.

Eine mögliche Schwäche der Septumbiopsate besteht darin, dass die Biopsien sich in ihrer Länge, Breite und Form unterscheiden. Die intraindividuellen Unterschiede der Patientenbiopsien machen sich durch unterschiedliche Kraftentwicklungen bemerkbar. Daher zeigten wir die Ergebnisse aller Versuche auf Biopsieebene und gemittelt auf Patientenebene getrennt auf.

4.4 Vergleich der Kontraktionskraft zwischen AS und AI

4.4.1 Interpretation der eigenen Versuchsergebnisse

Bei näherer Betrachtung der Konzentrations-Wirkungs-Kurven der gemittelten Kräfte (Abb. 3.1) fällt auf, dass die AI-Kräfte durchweg höher waren als bei AS. Damit zeichnen sich AI Patienten durch eine bessere Kontraktilität als bei AS in unserer Studie aus. Dieses Ergebnis steht im Einklang mit den tierexperimentellen Ergebnissen der Arbeit von Toischer et al. (Toischer et al., 2010), welche günstigere Kompensationsmöglichkeiten bei Volumenbelastung (~AI) trotz höherer Wandspannung und ein maladaptives Remodeling bei Druckbelastung (~AS) zeigen konnten. Jedoch könnten auch das jüngere Patientenalter und die günstigeren NYHA-Stadien der AI Patienten ihre bessere Kontraktilität erklären. Über die Kontraktionskraft bei klinisch fortgeschrittener AI (NYHA 3) kann aufgrund der niedrigen Fallzahl keine genaue Aussage getroffen werden.

Nach Zugabe der ersten pharmakologisch aktiven Substanz Phenoxybenzamin, konnten größere Kräfte bei AI gemessen werden als bei AS (Abb. 3.2). Wie bereits erwähnt, führt Phenoxybenzamin über eine Entleerung der endogenen Noradrenalinspeicher zu einer β -AR-vermittelten Steigerung der Kontraktionskraft (Enero et al., 1997). Nach PBA-Stimulation könnten sympathische synaptische Endigungen bei AI mehr NA gespeichert und freigesetzt haben als bei AS. Die Kraftentwicklung nach PBA-Gabe könnte als Surrogatparameter für die Menge an endogenem NA verwendet werden. Bei AS könnte eine verminderte NA-Synthese oder beeinträchtigter Re-Uptake von NA vorliegen. Ebenso sind Unterschiede auf Membranrezeptorebene möglich, welche im Folgenden (nach Gabe von Isoprenalin) näher ausgeführt werden.

Die Untersuchung der basalen Kraft kann auf mögliche strukturelle Unterschiede hinweisen, da das Myokard ohne den Einfluss von endogenem Noradrenalin und anderer inotropen Wirkstoffe lediglich elektrisch stimuliert wird. Die basale Kraft war bei AI signifikant höher als bei AS bei der Betrachtung aller Präparate (Abb. 3.3). Bei AI lagen somit günstigere Ausgangsbedingungen für den weiteren Kontraktionsversuch vor, welche womöglich durch eine bessere Qualität der kontraktile Elemente erklärt werden könnte. Für die Aufschlüsselung dieser Theorie sind Untersuchungen auf elektronenmikroskopischer und molekularer Ebene nötig.

Sowohl Isoprenalin- als auch die NA-Wirkung nach PBA-Gabe ermöglichen eine Untersuchung auf β -AR-Ebene. In der gegenwärtigen Literatur konnten wir kaum Untersuchungen der β -AR-Funktion bei valvulären Kardiomyopathien finden, sodass wir diese zwischen AS und AI im Vergleich untersuchten. Nach β -AR-Stimulation mit Isoprenalin fielen die Kräfte bei AI signifikant höher aus als bei AS (Abb. 3.4). Mögliche Gründe für die höheren Kräfte bei AI verglichen mit AS könnten sein:

- (I) bessere Kontraktilität durch jüngeres Patientenalter und niedrigeres NYHA-Herzinsuffizienz-Stadium
- (II) weniger Fibrose (hier nicht signifikant) und damit mehr kontraktiles Gewebe vorhanden (Abb. 3.12). Mit zunehmender Fibrose wird das Myokard steifer (Brilla et al., 2003) und könnte damit die Kontraktilität beeinträchtigen.
- (III) β -AR reagieren empfindlicher auf NA bzw. Isoprenalin als bei AS. Nach genauerer Betrachtung der Potency (Abb. 3.5) hat sich diese Hypothese nicht bestätigt. Mit steigender Konzentration des Wirkstoffs Isoprenalin nahm die Kontraktionskraft bei AS und AI mit ähnlicher Dynamik zu. Es bestand also kein messbarer Unterschied in der Potency. Zwar war bei Ginsburg et al. die Empfindlichkeit für Isoprenalin (gemessen als ED_{50}) bei gesunden Kontrollen höher als bei ischämischer und idiopathischer Herzinsuffizienz, sodass man auf eine Störung auf β -AR-Ebene schlussfolgerte. Aber zwischen idiopathischer und ischämischer Kardiomyopathie konnten sie keinen Unterschied in der Potency feststellen (Ginsburg et al., 1983).
- (IV) Höhere Wirkstärke (Efficacy) von Isoprenalin auf β -AR. Tatsächlich war die maximale Effektgröße von Isoprenalin bei AI signifikant größer als bei AS (Abb. 3.6). Eine β -AR-Stimulation bewirkte also im Mittel höhere

Kontraktionskräfte bei AI als bei AS. Hierbei könnte eine niedrigere β -AR-Dichte bei AS als bei AI vorliegen. Zudem ist eine stärkere Desensibilisierung der β -AR bei AS als bei AI möglich. Der sicherere Nachweis einer verminderten β -AR-Dichte auf der Herzmuskelzellmembran erfordert die Durchführung von Radioligand-Bindungsstudien.

Die Ursache der verminderten Kontraktilität bei AS könnte auch in der Signalkaskade nach der β -AR-Ebene liegen. Um dies zu überprüfen, stimulierten wir die Adenylatzyklase direkt mit Forskolin. Nach der Forskolin-Gabe konnten wir bei allen Präparaten einen annähernd signifikanten und auf Patientenebene keinen signifikanten Unterschied zwischen den Kräften bei AS und AI messen. Man könnte also annehmen, dass die Enzymaktivität der Adenylatzyklase und Menge an gebildetem cAMP vergleichbar war. Um diese Hypothese zu überprüfen, müsste man die cAMP-Konzentration nach β -AR-Stimulation in Herzmuskelzellen bei AS und AI messen. Möglich ist dies durch die Fluoreszenz-Energietransfer-Technologie (Evellin et al., 2004).

Die Untersuchung der Kontraktionskraft unabhängig der β -AR und der Adenylatzyklase kann durch die Gabe einer hohen Konzentration von Calcium erfolgen. Die größte Kraftentwicklung erfolgt in Gegenwart von 8 mM CaCl_2 . Normalerweise bewirkt die höchste Konzentration mit Isoprenalin einen quantitativ ähnlichen Effekt wie CaCl_2 (Christ et al., 2006). In unserem Versuch waren die Kräfte unter Isoprenalin niedriger als unter Calciumchlorid, sodass eine Störung auf β -AR-Ebene wahrscheinlich ist. Nach Gabe von Calciumchlorid unterschieden sich die Kräfte bei AS und AI nicht signifikant voneinander. Folglich ist die Funktion des kontraktiven Apparates nach Überwinden der β -AR- und cAMP-Ebene vergleichbar. Diese Ergebnisse legen nahe, dass sich die verminderte β -AR-Antwort bei Herzinsuffizienz unabhängig von der Genese (valvulär, ischämisch oder idiopathisch) ausbildet.

Die Ursache für die erhöhte Efficacy bei AI scheint noch unklar. Eine mögliche Hypothese jedoch ist, dass viele AI Patienten noch vor einer manifesten Herzinsuffizienz operiert wurden. Eine Dichteabnahme und Dysfunktion der β -AR auf der Kardiomyozytenoberfläche würde bei AI eventuell erst bei noch fortgeschrittener Herzinsuffizienz auftreten. Weitere Kontraktionsversuche mit Gewebeproben von Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz (NYHA 3) sind nötig, um diese Hypothese zu überprüfen.

4.4.2 Korrelation der Ergebnisse mit klinischen Parametern

Die in vitro Quantifizierung der Herzinsuffizienz über den Kontraktionsversuch stellt keine etablierte Methode in der Klinik dar. Daher interessierten wir uns dafür, ob die routinemäßig erhobenen klinischen Parameter zur Quantifizierung der Herzinsuffizienz (NYHA-Klassifikation und echokardiografische EF-Bestimmung) einen prädiktiven Wert hinsichtlich der in vitro ermittelten β -AR-Funktionsparameter haben. Bei der Korrelation stellten wir fest, dass es keine lineare Beziehung zwischen dem NYHA-Stadium und der Potency (gemessen als $\log EC_{50}$ von Isoprenalin) fest. Jedoch fand sich eine annähernd lineare Beziehung zwischen NYHA-Klassifikation und der Efficacy (gemessen als $F_{ISO/Ca}$). Für eine Risikostratifizierung im Rahmen der Herzinsuffizienzdiagnostik wäre demnach die Efficacy ($F_{ISO/Ca}$) geeigneter.

Bei der Korrelation der echokardiografisch gemessenen Ejektionsfraktion mit den β -AR-Funktionsparametern konnten wir keine lineare Beziehung feststellen. Auch hier wurde das Signifikanzniveau nicht erreicht, sodass die EF keine Aussage hinsichtlich der β -AR-Funktion treffen kann.

Sowohl die AS als auch die AI Patienten wurden zu 1/3 mit β -AR-Antagonisten behandelt. Innerhalb der Vitiengruppen bewirkte die Einstellung mit einem β -AR-Antagonisten keine signifikanten Veränderungen. Bei der Datenerhebung wurde nicht die Dauer der Einnahme erfasst, wodurch die Aussagekraft des Vergleichs eingeschränkt bleibt.

Wurden Patienten mit β -AR-Antagonisten behandelt, zeigte die AI-Gruppe eine höhere Empfindlichkeit gegenüber Isoprenalin als bei AS. Die in frühem Krankheitsstadium (NYHA 1 und 2) durch β -AR-Antagonist behandelten AI Patienten könnten somit vorzeitig vor einer endogenen Katecholaminexposition im Rahmen der Herzinsuffizienz geschützt und die β -AR in ihrer Qualität und Quantität bewahrt haben. Außerdem fielen bei fehlender β -AR-Antagonist-Therapie die AI Patienten mit einer höheren maximalen β -AR-Antagonist-Antwort ($F_{ISO/Ca}$) als AS auf. Bei diesem Vergleich stellen die AI Patienten die deutlich gesündere Kohorte dar, da sie trotz AI keine medikamentöse Behandlung der Herzinsuffizienz durch β -AR-Antagonisten benötigen.

Nichtsdestotrotz bilden β -AR-Antagonisten eine feste Säule in der pharmakologischen Behandlung der Herzinsuffizienz (vor allem bei reduzierter EF), da sie nachweislich das Überleben verlängern (Ponikowski et al., 2016)

4.4.3 Assoziation der β -AR-Funktionsparameter mit klinischen Variablen in einer gemischten multivariaten Regressionsanalyse

In den bisher dargestellten Ergebnissen wurden eventuelle Unterschiede zwischen AS und AI über den t-Test und den χ^2 -Test ermittelt. Dabei kann der Einfluss einer unabhängigen Variablen (Alter, Geschlecht, NYHA-Klasse etc.) auf eine abhängige Variable (Kontraktionskraft, Empfindlichkeit, Fibrose etc.) nur ohne Berücksichtigung des Einflusses anderer unabhängigen Variablen betrachtet werden. Damit vernachlässigen derart einfache statistischen Untersuchungen jedoch die Wechselwirkung der unabhängigen Variablen untereinander. Zum Beispiel könnte ein höheres Patientenalter (unabhängige Variable) mit einem höheren BNP-Spiegel im Blut (unabhängige Variable) einhergehen und beide Faktoren sich auf eine verminderte Kontraktilität (abhängige Variable) auswirken. Somit besteht die Gefahr, dass man statistisch signifikante Ergebnisse misst, welche in Wirklichkeit unter Berücksichtigung der Wechselwirkung gar nicht vorliegen.

Zur Umgehung dieser Problematik hat sich daher in Studien mit vielen Messparametern und mindestens zwei abhängigen Variablen (Belle et al., 2004) einer hohen Fallzahl die statistische Auswertung nach der multivariaten Regressionsanalyse etabliert.

Um herauszufinden, welche klinischen Parameter die stärkste Korrelation und damit womöglich höchsten prädiktiven Wert für die ermittelten in vitro β -AR-Funktionsparameter haben, führte Dr. Bastiaan Geelhoed (Klinik für Kardiologie, UHZ) eine multivariate Regressionsanalyse durch. Die Ergebnisse der multivariaten Regressionsanalyse wurden von unserer Arbeitsgruppe durch Dr. med. Johannes Petersen veröffentlicht (Petersen et al., 2021) und sollen im Folgenden dargestellt werden. Sämtliche funktionelle Parameter wurden logarithmiert, um eine Gauß'sche Verteilung zu erreichen.

Tabelle 4.2: Multivariate Analyse der Assoziation zwischen klinischen Parametern der Herzinsuffizienz und der maximalen β -AR-vermittelten Kraft $F_{ISO/CA}$ (%)

Variable	Odds ratio (95% KI)	p-Wert
Alter (in 5-Jahresschritten)	-2,23 (-2,34 bis 1,88)	0,832
Geschlecht	9,736 (-3,21 bis 22,68)	0,140
Aortenklappenstenose	-23,63 (-54,39 bis 7,14)	0,132
Aortenklappeninsuffizienz	0,16 (-27,61 bis 27,93)	0,991
Terminale Herzinsuffizienz	-29,60 (-61,92 bis 2,72)	0,073
LVEDD (in 10 mm Schritten)	-9,24 (-16,66 bis -1,82)	0,015
NYHA Stadium 2	-1,44 (-14,92 bis 12,03)	0,834
NYHA Stadium 3	1,20 (-16,20 bis 18,60)	0,893
NYHA Stadium 4	-1,93 (-25,28 bis 21,43)	0,872
Prä-OP LVEF	-1,04 (-4,54 bis 2,46)	0,560
Prä-OP NT-proBNP (\log_{10}) (Zunahme um Faktor 10-Schritten)	-1,556 (-13,448 bis 10,336)	0,798

KI = Konfidenzintervall; LVEDD = linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser; NYHA = New York Heart Association Klassifikation; Prä-OP = präoperativ;

Die Ergebnisse der multivariaten Regressionsanalyse in der Tabelle 4.2. zeigen, dass nur der echokardiografisch gemessene linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) eine signifikante Korrelation mit der maximalen β -AR-Antwort ($F_{ISO/CA}$) aufweist. Je höher der LVEDD, desto schwächer fällt die maximale β -AR-Antwort aus.

4.5 Myokardfibrose

Im letzten Abschnitt unserer Versuche untersuchten wir die Fibrosequantität der ventrikulären Herzmuskelbiopsate und stellten dabei einen höheren Fibrosegrad bei AS im Vergleich zu AI fest, wobei der Unterschied nicht signifikant ausfiel.

Hierbei ist am ehesten eine multifaktorielle Ursache dieses Ergebnisses anzunehmen. Mit zunehmendem Alter nimmt die Myokardfibrose auch bei Menschen ohne Herzinsuffizienz zu (Lakatta et al., 2003). So könnte das höhere Patientenalter und das im Mittel fortgeschrittenere NYHA-Stadium bei AS zu einer etwas höheren Fibrose geführt haben. Bei der Betrachtung der Pharmakotherapie der AS und AI Patienten fällt auf, dass deutlich mehr AI Patienten (42%) mit einem ACE-Hemmer behandelt

wurden. Eine Hemmung des RAAS durch ACE-Hemmer könnte die geringere myokardiale Fibrose bei AI erklären. Auf der anderen Seite ist durch den verminderten Auswurf bei AS eine verminderte Nierendurchblutung und damit konsekutiv eine Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) zu erwarten. Die Myokardfibrose ist mit einem aktivierten Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) assoziiert (Brilla et al., 2003).

Interessanterweise waren auch bei Druckbelastung ein höherer Fibroseanteil in den histologischen Schnitten bei Toischer et al. zu beobachten (Toischer et al., 2010). Ebenso haben Mannacio et al. mehr Fibrose bei AS als bei AI gemessen (Mannacio et al., 2015).

4.6 Ausblick

Erste Ergebnisse über strukturelle und funktionelle Unterschiede bei Aortenklappenvitien der Arbeitsgruppe um Prof. Girdauskas wurden 2021 (Petersen et al., 2021) und in dieser Arbeit veröffentlicht. Unsere Ergebnisse können noch keine Aussage über potenzielle Biomarker für die diagnostische und prognostische Beurteilung des optimalen OP-Zeitpunkts bei Aortenklappeninsuffizienz treffen. Dennoch stellen unsere Daten einen wichtigen Meilenstein für den Aufbau einer Biodatenbank sowie für das Langzeit-Follow-up unserer Patienten dar. Zukünftig sind weitere interdisziplinäre Studien notwendig, um das postoperative Überleben, die NYHA-Reklassifizierung nach OP und postoperative Komplikationen zu erfassen. Diese postoperativen Parameter können mit den klinischen und in vitro-Parametern der Herzinsuffizienz korreliert werden. Frühestens dann kann die Bedeutung von ausgewählten Biomarkern in der Diagnostik und OP-Planung der Aortenklappeninsuffizienz diskutiert werden.

In Zukunft sollten weiterhin Patienten nach Zustimmung in die Studie eingeschlossen und die Daten in der Biodatenbank festgehalten werden. Regelmäßige statistische Auswertungen bei höheren Fallzahlen erhöhen die statistische Power unserer prospektiven Studie. Zudem sind genauere Analysen möglich (zum Beispiel alters- und Krankheitsstadium-standardisierter Vergleich). Darüber hinaus sollte die Biodatenbank um weitere Parameter ergänzt werden. Im präoperativen Labor ist die Bestimmung der endogenen Katecholamine im Blut sinnvoll, um die Ursachen der verminderten β -AR Empfindlichkeit bei valvulärer Kardiomyopathie besser zu

verstehen. Zusammen mit der Bestimmung der β -AR-Dichte auf der Kardiomyozytenoberfläche, sollten sie mit den erhobenen in vitro Kontraktilitätsparametern (insbesondere mit den β -AR-Funktionsparametern) verglichen werden. Über die echokardiografische Bestimmung der Strain-Parameter (deutsch Deformationsparameter) kann eine Aussage über die lokalisierte Verkürzung eines Herzmuskelsegments getroffen werden (Blessberger et al., 2018). Strain-Daten des Septums im linksventrikulären Ausflusstrakt sollten mit in vitro Kontraktilitätsdaten korreliert werden. Vermutlich haben die Strainparameter einen prädiktiven Wert hinsichtlich der in-vitro gemessenen Kontraktilität.

Untersuchungen über der β -AR-Ebene hinaus können die Pathogenese der valvulären Kardiomyopathie aufschlüsseln. So kann die cAMP Bildung nach β -AR-Stimulation und nach Forskolin-Gabe durch Fluoreszenz-Energietransfer-Technologie (FRET) bei AS und AI verglichen werden.

Die beteiligten Gene beim Remodeling nach Druck- und Volumenbelastung kann durch die Sequenzierung von DNA oder mRNA erfolgen.

Bisher wurde die Quantität der Fibrose zwischen AS und AI verglichen. Im nächsten Schritt kann eine qualitative Fibrosebestimmung zum besseren Verständnis des Remodeling bei AS und AI erfolgen. Neben der Quantifizierung der Fibrose ist die qualitative Fibrosebestimmung hinsichtlich der Fibrosezusammensetzung interessant. Explantierte Herzen Gesunder, welche im Rahmen einer Herztransplantation nicht implantiert werden konnten, können nach Einwilligung der Familie des Verstorbenen und durch die Zustimmung des Ethikrates im Kontraktilitätsversuch und histologisch untersucht werden. So können Referenzwerte für die Versuchsergebnisse definiert werden.

5 Zusammenfassung

Hintergrund

Unbehandelt führen Aortenklappenervitien zu einer Herzinsuffizienz, wobei sich makroskopische, histologische und molekulare Merkmale zwischen Aortenklappenstenose (AS) und Aortenklappeninsuffizienz (AI) unterscheiden. Während sich für die AS klare OP-Indikationen definieren lassen, fehlen für die AI zuverlässige Marker zur Bestimmung des optimalen OP-Zeitpunktes, bei der es zu einer erfolgreichen Rückbildung der Herzinsuffizienz kommt. Die unbefriedigende Risikostratifizierung der AI stellte unsere Motivation dar, Kontraktilität, β -Adrenozeptor-Funktion (β -AR-Funktion) sowie Fibrose zwischen AS und AI in humanen ventrikulären Schnittbiopsien zu vergleichen und in den klinischen Kontext zu bringen.

Methoden

Nach schriftlicher Einwilligung wurden 33 Patienten/-innen mit einer isolierten AS und 47 Patienten/-innen mit einer isolierten AI in unsere Studie rekrutiert. Während des operativen Eingriffs an der Aortenklappe wurde eine Schnittbiopsie aus dem Septum des linksventrikulären Ausflusstraktes für die Messung isometrischer Kontraktionen und für die histologische Fibrosequantifizierung entnommen.

Im Kontraktionsversuch wurde das Gewebe gezielt mit dem β -AR-Agonisten Isoprenalin (ISO), Forskolin (FSK, Aktivierung der Adenylatzyklase) und Calcium (Ca^{2+}) stimuliert. Die β -AR-Funktion wurde zum einen über die mittlere effektive Konzentration für Isoprenalin (EC_{50} ISO) und zum anderen über die maximale Effektgröße von ISO im Verhältnis zur Calciumwirkung ($F_{\text{ISO}/\text{Ca}}$) beschrieben.

Nach dem Kontraktionsversuch wurden die Gewebestücke histologisch untersucht und die Fibrose quantifiziert.

Schlussendlich wurden klinische Parameter mit kontraktile Parameter und mit Fibrose miteinander auf Abhängigkeit geprüft. Zusätzlich erfolgte eine Korrelation klinischer mit in vitro erhobenen Parametern durch die multivariate Regressionsanalyse.

Ergebnisse

In der AS-Gruppe waren Patienten durchschnittlich 10 Jahre älter. Etwa die Hälfte der AI Patienten wies eine bikuspidale Aortenklappe auf. Ebenfalls war die Ausprägung der Herzinsuffizienz unterschiedlich: Während die meisten AS Patienten sich in der NYHA III befanden, wurden AI Patienten zum Großteil in NYHA I bis II eingestuft.

Die Messung der Kontraktionskraft an intraoperativ entnommenen ventrikulären Schnittbiopsien war in etwa 2/3 aller Proben erfolgreich.

Bei der Betrachtung aller Präparate waren die basalen Kräfte bei AI höher als bei AS. Nach Stimulation der β -AR durch ISO wurden höhere Kontraktionskräfte bei AI als bei AS gemessen. Wir stellten eine signifikant höhere maximale Effektgröße nach β -AR-Stimulation ($F_{ISO/Ca}$) bei AI als bei AS fest, wobei die Empfindlichkeit der β -AR (gemessen als EC_{50} von ISO) sich nicht unterschied. Zum Ende des Kontraktionsversuches wurde nach Stimulation der Adenylatzyklase und nach Calcium-Gabe kein signifikanter Unterschied zwischen AS und AI beobachtet.

Die multivariate Regressionsanalyse zeigte, dass der echokardiografisch gemessene linksventrikuläre enddiastolische Diameter (LVEDD) am stärksten mit der maximalen β -AR-Antwort ($F_{ISO/Ca}$) korreliert: Je höher die LVEDD, desto geringer war die maximale β -AR-Antwort nach Stimulation mit Isoprenalin.

Das Ausmaß der Myokardfibrose unterschied sich nicht signifikant zwischen AS und AI. Die Fibrose zeigte sowohl keine signifikante Abhängigkeit zum Alter und Geschlecht als auch zu sämtlichen Kontraktionsparametern.

Schlussfolgerung

Unsere Versuche zeigten höhere Kontraktionskräfte und eine stärkere β -AR-Antwort durch Isoprenalin bei AI. Der echokardiografisch ermittelte linksventrikuläre enddiastolische Diameter (LVEDD) korrelierte stark mit der β -AR-Antwort und kann am ehesten auf eine β -AR-Funktionsstörung hinweisen.

Das Ausmaß der Myokardfibrose war bei beiden Vitien vergleichbar.

Weitere Untersuchungen sind nötig, um die prognostische Bedeutung der in vitro Kontraktilitäts- und β -AR-Funktionsparameter aufzuklären.

6 Summary

Background

Without treatment aortic valve diseases lead to congestive heart failure. Macroscopic, histological and molecular characteristics differ between aortic stenosis (AS) and aortic regurgitation (AI). In contrast to AS, guidelines for surgical treatment for AI are poorly defined because markers to determine the optimal time for surgery are missing in which heart failure reverses after successful valve surgery. The dissatisfying risk stratification for AI was our motivation to compare contractility, β -adrenoceptor-(β -AR)-function and fibrosis in human ventricular preparations of AS and AI and to relate them to the clinical context.

Methods

33 patients with isolated AS and 47 patients with isolated AI underwent our trial after written consent. During open heart surgery section biopsy was taken from the septum of left ventricular outflow tract and used for contractility experiment and histological examination.

In contractility experiment tissue was stimulated by the β -AR-agonist isoprenaline (ISO), forskolin (FSK, direct activator of adenylate cyclase) and calcium (Ca^{2+}). β -AR-function was described as half maximal effective concentration for isoprenaline (EC_{50} ISO) and as maximal β -AR-response after ISO in relation to calcium effect ($F_{\text{ISO}/\text{Ca}}$).

After contractility experiment tissue specimens were histologically analyzed and myocardial fibrosis was quantified.

Finally, correlation between clinical, contractility and histological markers were examined. Additionally, correlation of clinical and in vitro measured parameters was conducted by multivariate regression analysis.

Results

In the AS group patients were in average 10 years older. About half of the patients with AI showed bicuspid aortic valve. Severity of congestive heart failure differed as well: while most AS patients were categorized in NYHA III, majority of AI patients were in NYHA I and II.

We could successfully perform contractility experiments in 2/3 of all tissue samples.

On closer examination of all preparations basal forces were higher in AI compared to AS. After β -AR-stimulation with ISO higher forces were measured in AI compared to

AS. We could observe higher maximal effect after β -AR-stimulation ($F_{ISO/Ca}$) in AI, although sensitivity of β -AR (measured as EC_{50} for ISO) did not differ between both groups. At the end of the experiment, stimulation of adenylate cyclase and direct calcium stimulation showed no significant differences between AS and AI.

The multivariate regression analysis revealed that echocardiographically determined left ventricular end diastolic diameter (LVEDD) correlated most strongly with maximal β -AR-response ($F_{ISO/Ca}$): The higher LVEDD, the lower maximal $F_{ISO/Ca}$ after ISO-stimulation.

The extent of myocardial fibrosis was not significantly different between AS and AI. Fibrosis was independent of age and sex as well as to all contractility parameters.

Conclusion

Our experiments show higher contractility forces and a stronger β -AR response to Isoprenaline in AI. Because LVEDD correlated strongly with β -AR-response, it most likely indicates an impaired β -AR-response.

The extent of fibrosis is probably not determined by the cause of aortic valve disease. Further research is needed to study the prognostic value of in vitro contractility and β -AR-functional parameters.

7 Abkürzungsverzeichnis

A

ACE *angiotensin converting enzyme*
 AI *Aortenklappeninsuffizienz*
 AÖF *Aortenklappenöffnungsfläche*
 AS *Aortenklappenstenose*
 AT₁ *angiotensin II receptor type 1*

B

backward flow 15
 BMI *body mass index*

C

Ca *Calcium*
 CaCl₂ *Calciumchlorid*
 cAMP *Cyclisches Adenosinmonophosphat*
 CO₂ *Kohlenstoffdioxid, Kohlenstoffdioxid*
 CRP *C-reaktives Protein*

D

d *Wanddicke, Wanddicke*

E

EACTS *European Association for Cardio-Thoracic Surgery, European Association for Cardio-Thoracic Surgery*
 EC₅₀ *halbmaximale effektive Konzentration*
 EDV *enddiastolisches Volumen*
 EF *Ejektionsfraktion, Ejektionsfraktion*
 ESC *European Society of Cardiology, European Society of Cardiology*
 ESV *endsystolisches Volumen, endsystolisches Volumen*
 et al *et alii (und andere)*

F

F *Kraft*
 FF *forward flow*
 F_{ISO/CA} *max. Isoprenalin Effekt in Relation zum Calcium-Effekt*
 FRET *Fluoreszenz-Energietransfer-Technologie*
 FSK *Forskolin, Forskolin, Forskolin*

G

g *Gramm*

H

H₂O *Wasser*
 HI *Herzinsuffizienz*
 Hz *Hertz*

I

ISO *Isoprenalin*
 IVEDD *intraventricular septum end-diastolic diameter*
 IVESD *intraventricular septum end-systolic diameter*

J

JPEG *Joint Photographic Experts Group (Bildformat)*

K

KCl *Kaliumchlorid*
 KH₂PO₄ *Kaliumhydrogenphosphat*
 KI *Konfidenzintervall*

L

LA *linkes Atrium*
 LDL *low-density lipoprotein*
 LGE *late gadolinium enhancement*
 LV *linksventrikulär, linker Ventrikel*
 LVEDD *left ventricular end-diastolic diameter*
 LVEF *linksventrikuläre Ejektionsfraktion*
 LVESD *left ventricular end-systolic diameter*
 LVOT *left ventricular outflow tract*

M

m/s *Meter pro Sekunde*
 mA *Milliampere*
 max. *maximal*
 MgCl₂ *Magnesiumchlorid*
 MgSO₄ *Magnesiumphosphat*
 min *Minuten*
 ml *Milliliter*
 mm *Millimeter*
 mM *Millimol, Millimol*
 mmHg *Millimeter Quecksilbersäule*
 mN *Millinewton*
 MOPS *Morpholinopropansulfonsäure*
 mRNA *messenger Ribonukleinsäure*
 MRT *Magnetresonanztomografie*

N

NaCl *Natriumchlorid*
 NaH₂PO₄ *Natriumdihydrogenphosphat*
 NaHCO₃ *Natriumhydrogencarbonat*

NaOH *Natronlauge*
 Nr. *Nummer, Nummer*
 NYHA *New York Heart Association*

O

O₂ *Sauerstoff*

P

p *Druck*
 pAVK *periphere arterielle Verschlusskrankheit*
 PBA *Phenoxybenzamin*
 PD *Privat-Dozent*
 PKA *Proteinkinase A*
 Prof. *Professor*
 PWEDD *posterior wall end-diastolic diameter*

R

r *Radius*
 RA *rechtes Atrium*
 RAAS *Renin-Angiotensin-Aldosteron-System*
 RV *rechter Ventrikel*

S

SEM *Standardfehler 42*
 STJ *sinotubular junction*
 SV *Schlagvolumen*

T

T *Wandspannung, Wandspannung*
 TAPSE *tricuspid annular plane systolic excursion*
 TAVI *transcatheter aortic valve implantation*

U

UHZ *Universitäres Herzzentrum Hamburg*

V

vs. *versus 47*

β

β-AR *β-Adrenozeptor*
 βARK *β-adrenerge Rezeptorkinase*

μ

μl *Mikroliter, Mikroliter*
 μM *Mikromol*

8 Tabellenverzeichnis

Einleitung

Tabelle 1.1: Symptomorientierte NYHA-Klassifikation.....	8
--	---

Material und Methoden

Tabelle 2.1: Klinische Daten.....	13
Tabelle 2.2: Experimentelle Daten.....	13
Tabelle 2.3: Verwendete Geräte.....	18
Tabelle 2.4: Bestandteile Apparatur zur Kontraktilitätsmessung.....	20-21
Tabelle 2.5: Zusammensetzung der kardioplegen Transportlösung.....	21
Tabelle 2.6: Stammlösung A.....	22
Tabelle 2.7: Stammlösung B.....	22
Tabelle 2.8: Phenoxybenzamin.....	23
Tabelle 2.9: Isoprenalin.....	23
Tabelle 2.10: Forskolin.....	24
Tabelle 2.11: Calcium.....	24
Tabelle 2.12: Gabe von Isoprenalin.....	27

Ergebnisse

Tabelle 3.1: Charakteristika der Untersuchungsgruppen.....	33-36
Tabelle 3.2: Erfolgsquote des Kontraktionsversuchs.....	

Diskussion

Tabelle 4.1: Versuchsergebnisse der Arbeit von Monaccio et al., 2015.....	54
Tabelle 4.2: Multivariate Regressionsanalyse.....	66

9 Abbildungsverzeichnis

Einleitung

- Abbildung 1.1: Darstellung des Überlebens bei Patienten mit AS3
Carabello et al. (2009). Aortic stenosis. *Lancet*, p. 957. Figure 1.
doi: 10.1016/S0140-6736(09)60211-7
- Abbildung 1.2: Überleben abhängig von der NYHA Klassifikation 8
McFate. (1985). Epidemiology of Congestive Heart Failure. *The American Journal of Cardiology*, p. 5. Figure 2. doi: 10.1016/0002-9149(85)90789-1

Material und Methoden

- Abbildung 2.1: Lokalisation der intraoperativen Schnittbiopsie 15
Benninghoff et al. (2020). Taschenbuch Anatomie. *Elsevier*, Kapitel 8.
Abb 8.12. Online Version (Clinical Key Student)
- Abbildung 2.2: Vorbereitung für den Kontraktionsversuch 17
- Abbildung 2.3: Kontraktilitätsapparatur 19
- Abbildung 2.4: Schema Kontraktilitätsapparatur 19
Schweigler. (2012). Blockade transienter Kaliumströme führt zur Überwindung der Vorhofflimmern-induzierten kontraktilen Dysfunktion auf Kosten stabiler Kontraktionsrhythmen. *Dissertation Medizinische Fakultät Carl Gustav Carus TU Dresden*
- Abbildung 2.5: Überblick Ablauf Kontraktionsversuch 24
- Abbildung 2.6: Vordehnung Myokardgewebe 25
- Abbildung 2.7: Effekt von Phenoxybenzamin 26
- Abbildung 2.8: Effekt von Isoprenalin 28
- Abbildung 2.9: Effekt von Forskolin und Calciumchlorid 29
- Abbildung 2.10: Färbung Herzmuskelpräparat (Masson-Goldner-Trichrom) 30
- Abbildung 2.11: Fibrosequantifizierung mittels Image J 31

Ergebnisse

- Abbildung 3.1: Ergebnisse aller Versuche 38
- Abbildung 3.2: Kraft nach Phenoxybenzamin-Gabe 39
- Abbildung 3.3: Basale Kraft 40
- Abbildung 3.4: Effekt von Isoprenalin 40-41
- Abbildung 3.5: EC₅₀ ISO 41
- Abbildung 3.6: F_{ISO/Ca} 42

Abbildung 3.7:	Effekt nach Forskolin-Gabe.....	42-43
Abbildung 3.8:	Calcium-Antwort.....	43
Abbildung 3.9:	β -AR-Funktion in verschiedenen NYHA-Stadien.....	44
Abbildung 3.10:	β -AR-Funktion in verschiedenen NYHA-Stadien (Vitien getrennt).....	45
Abbildung 3.11:	Korrektion: Ejektionsfraktion mit β -AR-Funktion.....	45
Abbildung 3.12:	Einfluss der β -AR-Antagonist-Therapie auf β -AR-Funktion....	46
Abbildung 3.13:	Myokardfibrose.....	47
Abbildung 3.14:	Korrelation Patientenalter mit Myokardfibrose.....	48
Abbildung 3.15:	Einfluss von ACE-Hemmern auf Myokardfibrose.....	49
Abbildung 3.16:	Korrelation Ejektionsfraktion mit Myokardfibrose.....	50
Abbildung 3.17:	Korrelation Myokardfibrose mit EC_{50} ISO.....	51
Abbildung 3.18:	Korrelation Myokardfibrose mit $F_{ISO/Ca}$	51
Diskussion		
Abbildung 4.1:	Kontraktionsversuch nach Mannacio et al (2015).....	56

10. Literaturverzeichnis

- Akinseye et al. (2018, 10). Aortic Valve Regurgitation: A Comprehensive Review. *Current Problems in Cardiology*, pp. 315-334. doi:10.1016/j.cpcardiol.2017.10.004
- Antonopoulos et al. (2018). Myocardial oxygen consumption. *Coronary Artery Disease*, pp. 127-136. doi:10.1016/B978-0-12-811908-2.00009-X
- Aumiller, J. (2018, Februar). 10 Jahre CE-Zulassung für TAVI. *CardioVasc*. doi:10.1007/s15027-018-1297-z
- Baldasseroni, S. (2002, 03). Left bundle-branch block is associated with increased 1-year sudden and total mortality rate in 5517 outpatients with congestive heart failure: a report from the Italian network on congestive heart failure. *American Heart Journal*, pp. 398-405. doi:10.1067/mhj.2002.121264
- Baumgartner, H. (2017, 08 26). 2017 ESC/EACTS Guidelines for the management of valvular heart disease. *European Heart Journal*, pp. 2739–2791. doi:10.1093/eurheartj/ehx391
- Belle et al. (2004). *Biostatistics: A Methodology for the Health Sciences*. Hoboken, New Jersey: Wiley-Interscience.
- Blessberger et al. (2018). Strain-Echokardiografie. *Journal für Kardiologie (Austrian Journal of Cardiology)*, pp. 343-348.
- Bonow et al. (1984, 10). Reversal of left ventricular dysfunction after aortic valve replacement for chronic aortic regurgitation: influence of duration of preoperative left ventricular dysfunction. *Circulation*, pp. 570-579. doi:10.1161/01.cir.70.4.570
- Borer et al. (2002, April). Myocardial Fibrosis in Chronic Aortic Regurgitation. *Circulation*, pp. 1837-1842. doi:10.1161/01.CIR.0000014419.71706.85
- Briand et al. (2006, 06). Metabolic Syndrome Negatively Influences Disease Progression and Prognosis in Aortic Stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 2229-2236. doi:10.1016/j.jacc.2005.12.073
- Brilla et al. (2003, 12). Effects of ACE Inhibition versus Non-ACE Inhibitor Antihypertensive Treatment on Myocardial Fibrosis in Patients with Arterial Hypertension. *Herz*, pp. 744-753. doi:10.1007/s00059-003-2524-6
- Bristow et al. (1982, July). Decreased Catecholamine Sensitivity and β -Adrenergic-Receptor Density in Failing Human Hearts. *The New England Journal of Medicine*, pp. 205-211. doi:10.1056/NEJM198207223070401
- Bristow et al. (1984, 11). Pharmacology and Inotropic Potential of Forskolin in the Human Heart. *The Journal of Clinical Investigation*, pp. 212-223. doi:10.1172/JCI111404
- Carabello et al. (2009, 02 19). Aortic stenosis. *Lancet*, pp. 956-966. doi:10.1016/S0140-6736(09)60211-7
- Chaliki et al. (2002, November). Outcomes after aortic valve replacement in patients with severe aortic regurgitation and markedly reduced left ventricular function. *Circulation*, pp. 2687-2693. doi:10.1161/01.cir.0000038498.59829.38
- Champetier et al. (2019, March). Gene profiling of left ventricle eccentric hypertrophy in aortic regurgitation in rats: rationale for targeting the β -adrenergic and renin-

- angiotensin systems. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, pp. 669-677. doi:10.1152/ajpheart.01046.2008
- Chidsey et al. (1962). Augmentation of the plasma norepinephrine response to exercise in patients with congestive heart failure. *New England Journal of Medicine*.
- Christ et al. (2006, 11 15). Cilostamide potentiates more the positive inotropic effects of (-)-adrenaline through beta(2)-adrenoceptors than the effects of (-)-noradrenaline through beta (1)-adrenoceptors in human atrial myocardium. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, pp. 249-253. doi:10.1007/s00210-006-0119-5
- Coffey, S. (2014, October). Right-sided valve disease. *International Journal of Clinical Practice*.
- Cohn. (1994, March). Tricuspid regurgitation secondary to mitral valve disease: when and how to repair . *Journal of Cardiac Surgery*.
- Cohn et al. (2000, 03). Cardiac remodeling-concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 569-582. doi:10.1016/s0735-1097(99)00630-0
- Coleman et al. (2009). Antihypertensive drugs. *Side Effects of Drugs Annual*, pp. 375-400. doi:10.1016/S0378-6080(10)32020-4
- Connolly et al. (1997, 05 20). Aortic valve replacement for aortic stenosis with severe left ventricular dysfunction. Prognostic indicators. *Circulation*, pp. 2395-2400. doi:10.1161/01.cir.95.10.2395
- Constantine et al. (1980, 08 8). Complete Blockade by Phenoxybenzamine of α 1- but not of α 2-Vascular Receptors in Dogs and the Effects of Propranolol. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, pp. 149-156. doi:10.1007/BF00504531
- Culliford et al. (1991, 06 1). Aortic Valve Replacement for Aortic Stenosis in Persons Aged 80 years and over. *American Journal of Cardiology*, pp. 1256-1260. doi:10.1016/0002-9149(91)90937-g
- Cuypers, J. (2013). Pulmonary stenosis update on diagnosis and therapeutic options. *Heart*(99), pp. 339-47.
- Dolgin, M. (1994). *The Criteria Committee of the New York Heart Association. Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*. Lippincott Williams and Wilkins.
- Dujardin et al. (1999, April). Mortality and Morbidity of Aortic Regurgitation in Clinical Practice. *Circulation*, pp. 1851-1857. doi:10.1161/01.cir.99.14.1851
- Eisner et al, D. (2017, 07 07). Calcium and Excitation-Contraction Coupling in the Heart. *Circulation Research*, pp. 181-195. doi:10.1161/CIRCRESAHA.117.31023
- Eisner, D. (2014, August 14). Calcium in the heart: from physiology to disease. *Experimental Physiology*, pp. 1273-1282.
- Enero et al. (1997, 02). Role of the α -adrenoceptor in regulating noradrenaline overflow by nerve stimulation. *British Journal of Pharmacology*, pp. 361-377. doi: 10.1111/j.1476-5381.1997.tb06817.x

- Eveborn et al. (2012, 09 03). The evolving epidemiology of valvular aortic stenosis. The Tromsø Study. *Heart British Medical Journals*, pp. 396-400. doi:doi:10.1136/heartjnl-2012-302265
- Evellin et al. (2004). Measuring dynamic changes in cAMP using fluorescence resonance energy transfer. *Methods in Molecular Biology*, pp. 284-259. doi:10.1385/1-59259-816-1:259
- Ferreira et al. (2018, 12). Cardiovascular Magnetic Resonance in Nonischemic Myocardial Inflammation: Expert Recommendations. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 3158-3176. doi:10.1016/j.jacc.2018.09.072
- Frank. (1895). Zur Dynamik des Herzmuskels. pp. 370-447.
- Galderisi. (2005, 04). Diastolic dysfunction and diastolic heart failure: diagnostic, prognostic and therapeutic aspects. *Cardiovascular Ultrasound*. doi:10.1186/1476-7120-3-9
- Ginsburg et al. (1983, 09). Study of normal and Failing isolated human heart: Decreased response of failing heart to isoproterenol. *American Heart Journal*, pp. 535-540. doi:10.1016/0002-8703(83)90698-1
- Girdauskas et al. (2011, 06). Is aortopathy in bicuspid aortic valve disease a congenital defect or a result of abnormal hemodynamics? A critical reappraisal of a one-sided argument. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, pp. 809-814. doi:10.1016/j.ejcts.2011.01.001
- Goldberg et al. (2008, 03 25). Aortic regurgitation: disease progression and management. *Nature*, pp. 269-279. doi:10.1038/ncpcardio1179
- Grimard et al. (2016, 03 1). Aortic Stenosis: Diagnosis and Treatment. *American Family Physician*, pp. 371-378.
- Grossmann et al. (1975, July). Wall Stress and Patterns of Hypertrophy. *The Journal of Clinical Investigation*, pp. 56-64. doi:10.1172/JCI108079
- Harb and Griffin. (2017, 07 07). Mitral Valve Disease: a Comprehensive Review. *Current Cardiology Reports*.
- Hasenfuss, G. (1998, 3 23). Animal models of human cardiovascular disease, heart failure and hypertrophy. *Cardiovascular Research*, pp. 60-76. doi:10.1016/s0008-6363(98)00110-
- Hashimoto et al. (2018, 10). Therapeutic approaches for cardiac regeneration and repair. *Nature Reviews Cardiology*, pp. 585-600. doi:0.1038/s41569-018-0036-6
- Heilbrunn et al. (1989, 03). Increased β -Receptor Density and Improved Hemodynamic Response to Catecholamine Stimulation During Long-term Metoprolol Therapy in Heart Failure From Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*, pp. 483-490. doi:10.1161/01.cir.79.3.483
- Hoffmann et al. (2004, 01). Comparative pharmacology of human β -adrenergic receptor subtypes – characterization of stably transfected receptors in CHO cells. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*, pp. 151-159. doi:10.1007/s00210-003-0860-y
- John Alfred Carr, E. B. (2004). Aortic valve repair for aortic insufficiency in adults: a contemporary review and comparison with replacement techniques. *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*.

- Kong et al. (2017, March). Sex Differences in Phenotypes of Bicuspid Aortic Valve and Aortopathy. *Circulation: Cardiovascular Imaging*. doi:10.1161/CIRCIMAGING.116.005155
- Kong et al. (2020, July). Sex differences in bicuspid aortic valve disease. *Progress in Cardiovascular disease*, pp. 452-456. doi:10.1016/j.pcad.2020.06.00
- Lachance et al. (2008, May 3). Early left ventricular remodeling in acute severe aortic regurgitation: insights from an animal model. *The Journal of Heart Valve Disease*.
- Lakatta et al. (2003, 01). Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises (Part II). *Circulation*, pp. 346-354. doi:10.1161/01.cir.0000048893.62841.f7
- Lehrke et al. (2010, 11). Use of cardiovascular magnetic resonance for riskstratification in chronic heart failure: prognostic value of late gadolinium enhancement in patients with non-ischaemic dilated cardiomyopathy. *Heart*, pp. 727-732. doi:10.1136/hrt.2010.205542
- Lemoine et al. (2018, 07). Human Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Engineered Heart Tissue as a Sensitive Test System for QT Prolongation and Arrhythmic Triggers. doi:10.1161/CIRCEP.117.006035
- Lewin et al. (2005, 02 22). The Bicuspid Aortic Valve - Adverse Outcomes From Infancy to Old Age. *Circulation*, pp. 832-834. doi:DOI: 10.1161/01.CIR.0000157137.59691.0B
- Mannacio et al. (2015, 07 01). Comparison of Left Ventricular Myocardial Structure and Function in Patients with Aortic Stenosis and Those with Pure Aortic Regurgitation. *Cardiology*, pp. 111-118. doi:10.1159/000431283
- Marciniak, A. (2017, 01 27). Cohort profile: prevalence of valvular heart disease in community patients with suspected heart failure in UK. *British Medical Journal Open*. doi:10.1136/bmjopen-2016-012240
- Maurer, G. (2016, 06 14). Aortic Regurgitation. *British Medical Journal*, pp. 994-1000. doi:10.1136/hrt.2004.042614
- McElroy, P. A. (1988, July 11). Cardiopulmonary Exercise Testing in Congestive Heart Failure. *The American Journal of Cardiology*.
- McFate, W. (1985, January 11). Epidemiology of Congestive Heart Failure. *The American Journal of Cardiology*.
- Michael Bristow, R. G. (1984, July). Pharmacology and Inotropic Potential of Forskolin in the Human Heart. *Journal of Clinical Investigation*.
- Michelena et al. (2008, 05). Natural history of asymptomatic patients with normally functioning or minimally dysfunctional bicuspid aortic valve in the community. *Circulation*, pp. 2776-2784. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.107.740878
- Michelena et al. (2011, 09). Incidence of aortic complications in patients with bicuspid aortic valves. *Journal of the American Medical Association*, pp. 1104-1112. doi:10.1001/jama.2011.1286
- Moura et al. (2007, February). Rosuvastatin Affecting Aortic Valve Endothelium to Slow the Progression of Aortic stenosis. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 554-561. doi:10.1016/j.jacc.2006.07.072

- Nadeau-Routhier et al. (2017, February). Current Management of Patients with Severe Aortic Regurgitation. *Current Treatment Options in Cardiovascular Medicine*. doi: 10.1007/s11936-017-0508-8
- Nishimura et al. (2017, March). 2017 AHA/ACC Focused Update of the 2014 AHA/ACC Guideline for the Management of Patients With Valvular Heart Disease: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *Circulation*, pp. 1159-1195. doi:10.1161/CIR.0000000000000503
- Nitsche et al. (2020, 01). Gender-specific differences in valvular heart disease. *Wiener Klinische Wochenschrift*, pp. 61-68. doi:10.1007/s00508-019-01603-x
- Otto, C. M. (2000). Timing of aortic valve surgery. *Heart*, pp. 211-218. doi:10.1136/heart.84.2.211
- Pasipoularides, A. (2016, August 6). Calcific Aortic Disease: Part 2 - Morphomechanical Abnormalities, Gene expression, and Gender Effects on Ventricular Hypertrophy and Its Reversibility. *J Cardiovasc Transl Res*.
- Patterson et al. (1914, 09). On the mechanical factors which determine the output of the ventricles. *The Journal of Physiology*, pp. 357-379. doi:10.1113/jphysiol.1914.sp001669
- Petersen et al. (2021, 02). Blunted-beta-adrenoceptor mediated inotropy in valvular cardiomyopathy: another piece of the puzzle in human aortic valve disease. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery*, pp. 56-63. doi:10.1093/ejcts/ezab004
- Pfaffenberger et al. (2013, 09 06). Size matters! Impact of age, sex, height, and weight on the normal heart size. *Circulation Cardiovascular Imaging*, pp. 1073-1079. doi:10.1161/CIRCIMAGING.113.000690
- Ponikowski et al. (2016, 05). 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, pp. 2129–2200. doi:10.1093/eurheartj/ehw128
- Roberts et al. (2005, 02 14). Frequency by Decades of Unicuspid, Bicuspid, and Tricuspid Aortic Valves in Adults Having Isolated Aortic Valve Replacement for Aortic Stenosis, With or Without Associated Aortic Regurgitation. *Circulation*, pp. 920-925.
- Schwartz, D. D. (1997, 07 01). Activation of Alpha-2 Adrenergic Receptors Inhibits Norepinephrine Release by a Pertussis Toxin-Insensitive Pathway Independent of Changes in Cytosolic Calcium in Cultured Rat Sympathetic Neurons. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, pp. 248-255.
- Schweigler. (2012). *Blockade transienter Kaliumströme führt zur Überwindung der Vorhofflimmern-induzierten kontraktile Dysfunktion auf Kosten stabiler Kontraktionsrhythmen*. Dresden: Technische Universität Dresden.
- Sigmund et al. (1996, 10). Effects of metoprolol on myocardial β -adrenoceptors and G α -proteins in patients with congestive heart failure. *Pharmacodynamics*, pp. 127-132. doi:10.1007/s002280050172
- Singh, J. P. (1999, 03 15). Prevalence and Clinical Determinants of Mitral, Tricuspid, and Aortic Regurgitation (The Framingham Heart Study). *American Journal of Cardiology*, pp. 897-902. doi:10.1016/s0002-9149(98)01064-9

- Siu et al. (2010, June). Bicuspid Aortic Valve Disease. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 2789–2800. doi:10.1016/j.jacc.2009.12.068
- Skibsbye et al. (2014, 07). Small-conductance calcium-activated potassium (SK) channels contribute to action potential repolarization in human atria. *Cardiovascular Research*, pp. 156-167. doi:10.1093/cvr/cvu121
- Tang, G. (2006). Tricuspid valve repair with an annuloplasty ring results in improved long-term outcomes. *Circulation*(114), pp. 1577-81.
- Tarasoutchi et al. (2003, 04). Ten-year clinical laboratory follow-up after application of a symptom-based therapeutic strategy to patients with severe chronic aortic regurgitation of predominant rheumatic etiology. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 1316-1324. doi:10.1016/S0735-1097(03)00129-3
- Thiagarajan, K. (2017). Perioperative Stroke and Mortality After Surgical Aortic Valve Replacement - A Meta Analysis. *The Neurologist*, pp. 227-233. doi:10.1097/NRL.0000000000000151
- Toischer et al. (2010, 09 07). Differential Cardiac Remodelling in Preload Versus Afterload. *Circulation*, pp. 993-1003. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.110.943431
- Tornos et al. (2006, 03). Long-term outcome of surgically treated aortic regurgitation: influence of guideline adherence toward early surgery. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 1012-1017. doi:10.1016/j.jacc.2005.10.049
- Travers et al. (2016, 03 18). Cardiac Fibrosis: The Fibroblast Awakens. *Circulation Research*, pp. 1021-1040. doi:10.1161/CIRCRESAHA.115.306565
- Ungerer et al. (1993, 02). Altered expression of beta-adrenergic receptor kinase and beta 1-adrenergic receptors in the failing human heart. *Circulation*, pp. 454-463. doi:10.1161/01.CIR.87.2.454
- van der Linde et al. (2011, August). Birth Prevalence of Congenital Heart Disease Worldwide. *Journal of the American College of Cardiology*.
- Wu et al. (2008, 06). Late Gadolinium enhancement by cardiovascular magnetic resonance heralds an adverse prognosis in nonschemic cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*, pp. 2414-2421. doi:10.1016/j.jacc.2008.03.018
- Yancy, C. W. (2013, 10 15). 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of Heart Failure. *Journal of American College of Cardiology*, pp. 240-327. doi:10.1161/CIR.0b013e31829e8776
- Zakkar et al. (2016, October). Aortic Stenosis: diagnosis and management. *The British Medical Journal*. doi: doi: 10.1136/bmj.i5425
- Zielinska, D. (2013, July 24). Prognostic Value of the Six-Minute Walk Test in Heart Failure Patients Undergoing Cardiac Surgery: A Literature Review. *Rehabilitation Research and Practice*.
- Zile et al. (2002, March). New Concepts in Diastolic Dysfunction and Diastolic Heart Failure: Part II - Causal Mechanisms and Treatment. *Circulation*, pp. 1503-1508. doi:10.1161/hc1202.105290

11 Publikationen

1. Blunted beta-adrenoceptor mediated inotropy in valvular cardiomyopathy: another piece of the puzzle in human aortic valve disease

Autoren: Johannes Petersen, Benjamin Kloth, Shahria Iqbal, Hermann Reichenspurner, Bastian Geelhoed, Renate Schnabel, Thomas Eschenhagen, Torsten Christ, Evaldas Girdauskas

Zeitschrift: European Journal of Cardio-Thoracic Surgery

Erscheinung: Februar 2021

DOI: 10.1093/ejcts/ezab004

2. Functional In Vitro Myocardial Performance in Patients with Aortic Disease (Conference Abstract)

Autoren: Benjamin Kloth, Shahria Iqbal, Thomas Eschenhagen, Hermann Reichenspurner, Torsten Christ, Evaldas Girdauskas

Zeitschrift: The Thoracic and Cardiovascular Surgeon

Konferenz: 48. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie

Erscheinung: Januar 2021

DOI: 10.1055/s-0039-1678958

12 Danksagung

Meine Hochachtung, Dank und Respekt gebühren allen Patientinnen und Patienten, welche für die Studienteilnahme einwilligten. Sie vertrauten uns Gewebeproben ihres unversehrten Körpers für den medizinischen Fortschritt an.

Herrn Prof. Dr. Evaldas Girdauskas danke ich herzlich für das Vertrauen in mich zur Bearbeitung des Promotionsthemas. Seine Initiierung, Konzeptualisierung und Koordination gaben den Anstoß zu diesem interdisziplinären Forschungsprojekt.

Ein unzähliger Dank richtet sich an Herrn PD Dr. Torsten Christ – meinem Lehrer der Pharmakologie und Motivator der experimentellen Versuche. Sein Wissen, seine Geduld und seine Begeisterung für kardiovaskuläre Forschung bereicherten das gemeinsame Projekt.

Mit einem großen Dank komme ich Herrn Dr. Benjamin Kloth, Herrn Klaus Söhren (†) und Herrn Dr. Bernardo Dolce für die ausgezeichnete Einarbeitung und Begleitung der Versuche entgegen.

Die Experimente und ihre Auswertung wurden tatkräftig durch Anna Stenpaß, Dr. Johannes Petersen, Yvonne Randi, Dr. Susanne Krasemann und Dr. Dr. Justus Stenzig unterstützt. Auch Ihnen gegenüber möchte ich meinen Dank aussprechen.

Die Teilnahme an wissenschaftlichen Seminaren (Thursdays Scientific Meeting, Doktoranden-Meeting, Kongresse) bereicherten meine wissenschaftliche Laufbahn immens. Hierfür danke ich Herrn Prof. Dr. Dr. Hermann Reichenspurner sowie Herrn Prof. Dr. Thomas Eschenhagen.

Ich danke Herrn PD Dr. Peter Bannas für die Bereitstellung der radiologischen Daten.

Über besondere Begegnungen im Labor mit Dr. Zafar Iqbal, Dr. Marc Lemoine, Dr. Ahmed Uzun und Dipl. Ing. Bülent Akşehirlioğlu bin ich unendlich dankbar.

Meinen Eltern, meiner Ehefrau, unserer gesamten Familie sowie Gemeinde danke ich für ihre Bittgebete und allumfängliche Unterstützung.

13 Lebenslauf

■ Persönliche Daten

Name: Shahria Ahammed Iqbal
Geburtstag: 24. April 1996
Geburtsort: Berlin

■ Ärztliche Weiterbildung

Seit 02/2022 Assistenzarzt Rheumatologie, Immanuel Krankenhaus Berlin
02/2021 bis 01/2022 Assistenzarzt Orthopädie, Immanuel Krankenhaus Berlin

■ Ausbildung

2013 bis 2020 Studium der Humanmedizin, Universität Hamburg
2006 bis 2013 Lessing-Gymnasium, Berlin
2002 bis 2006 Erika-Mann-Grundschule, Berlin

■ Praktika

Praktisches Jahr (11/19 - 10/20)	Innere Medizin: Elbe Klinikum, Stade (Niedersachsen) Chirurgie: Charité Campus Virchow-Klinikum Kinderheilkunde: Vivantes Klinikum im Friedrichshain
Famulaturen	Humangenetik (ambulant) UKE Hamburg, 09/19 Herzchirurgie (stationär) DHZB Berlin, 08/16 Hausärztliche Versorgung Praxis Dr. Neubert, Berlin, 02/16 Neurochirurgie (stationär) Charité Berlin, 08/15
Pflegepraktika	Angiologie, Kardiologie und Neurologie Jüdisches Krankenhaus Berlin 2014 und 2015

■ Studienbegleitende Tätigkeiten

2016 bis 2019 studentische Aushilfe in der Pflege, UKE Hamburg
2019 Impfassistent, Bernhard-Nocht-Institut, Hamburg
SoSe 2016 Tutor für das Tutorium körperliche Untersuchung, UKE Hamburg
WS 15/16 und Tutor im Präparierkurs für Anatomie und Experimentelle Morphologie der Universität Hamburg

14 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'fjm', written over a dotted line.

Unterschrift: