

4. Material und Methode

4.1 Testapparatur

4.1.1 Herzklappenprüfstand HKP+

Für die hydrodynamischen Untersuchungen wurde der modifizierte Herzklappenprüfstand HKP+ nach AFFELD und SCHICHL [62] verwendet, in dem die zu testenden Herzklappen Strömungs- und Druckverhältnissen ausgesetzt werden, die den Bedingungen in vivo weitgehend entsprechen.

Ein besonderer Vorteil des HKP+ gegenüber anderen Testapparaturen ist es, dass die Simulation von physiologischen aber auch pathologischen Strömungsbedingungen auf der Grundlage eines intelligenten Steuerprogramms ermöglicht wird. Dadurch konnte ein besonders einfaches und flexibles System ohne die hardwaremäßige Realisierung komplizierter Kreislaufelemente wie peripherer Widerstände und Windkessel geschaffen werden, und das zudem Messungen mit hoher Präzision erlaubt. Die hydrodynamischen Parameter werden gemäß dem ISO - Standard 5840 [4] bestimmt.

Der Pumpstand (Abb.3) besteht aus einer computergesteuerten Pistonpumpe und einem Flüssigkeitsbehälter. Zwischen beiden befindet sich die Klappenhalterung, die je nach Klappenposition konstruiert wird und in aortaler Klappenposition die Aortenwurzel umfaßt. Der Kolben der Pumpe wird mittels eines Scheibenläufermotor (F12M4; MATTKKE AG; Freiburg, Deutschland) über eine Schraubenspindel angetrieben. Dabei wird eine Aufwärtsbewegung erzeugt, die einen Volumenstrom durch die Herzklappe zur Folge hat. Über die Steuereinheit kann die Art der Klappenperfusion (aortale oder mitrale Durchströmung), die Zahl der Pumpzyklen, die Herzfrequenz (HF) im Bereich von 30 bis 150 Schlägen / Minute und das Schlagvolumen (SV) von 30 bis 90 ml vorgegeben werden. In der systolischen Flussphase erzwingt die Regelung eine vorher festgelegte Volumenstromkurve. Daran anschließend schaltet die Steuereinheit auf Druckregelung um, wobei ein Gegendruck erzeugt wird, der der gewählten Klappenposition entspricht. In dieser Phase erfolgt der Klappenschluß, wobei das Klappenschließvolumen und eine mögliche Leckage der Klappe zu einem entsprechenden retrograden Volumenfluss führen. Nach

Abschluss von 3 bis 4 Messzyklen erfolgt die Rückführung des Kolbens in die Ausgangsposition, wobei das Testfluid über einen Bypass durch ein zwischenzeitlich geöffnetes Ventil in den Zylinder zurückgeführt wird. Für diese Zeit wird der Messvorgang unterbrochen.

Für die Druckmessung werden zwei Druckmesssonden (PR10; Firma KELLER Gesellschaft für Druckmesstechnik MBH; Jestetten, Deutschland) jeweils im Zylinder unterhalb der Klappenebene und im Speichergefäß oberhalb der Klappenebene verwendet. Die Kalibrierung der Drucksonden erfolgt durch statische Flüssigkeitssäulen. Die Bestimmung des Volumenflusses erfolgt indirekt über einen inkrementellen digitalen Winkelmesser, der mit der Schraubenspindel des Kolbens verbunden ist. Die Messwerte werden im Steuerrechner für die spätere umfassende Auswertung gespeichert und zur Kontrolle in einer stark gedrängten Form auf dem Bildschirm angezeigt. (Abb. 4)

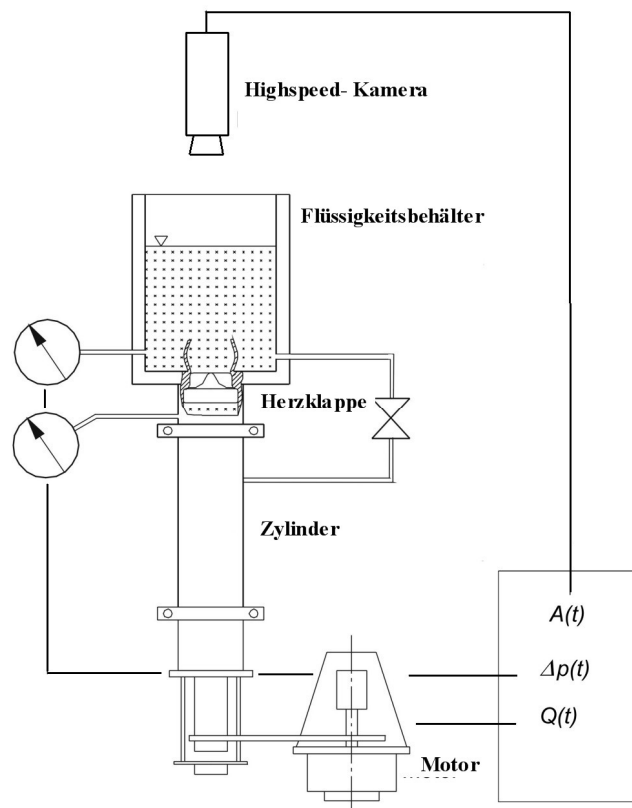


Abb.3: Skizze vom Versuchsaufbau des Herzklappenprüfstands HKP+

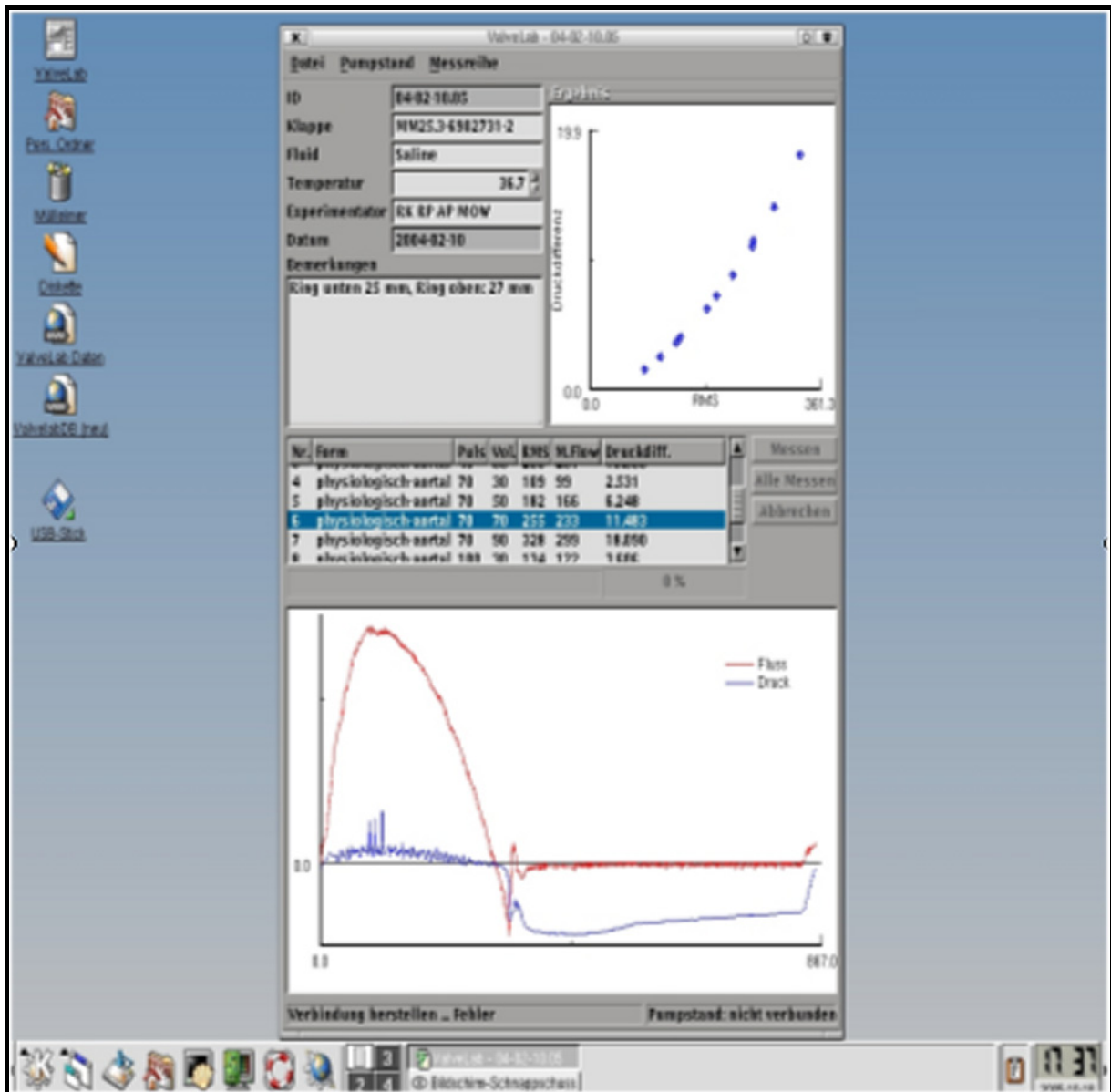


Abb.4 Bildschirmausdruck des Mess - und Steuerrechners zum Herzklappenprüfstand HKP+ (Software entwickelt von Jan Groth)

4.2 Videoaufzeichnung



Abb.5 Highspeedkamera FASTCAM PCI R2

Für die kinematografischen Aufzeichnungen der Klappenbewegung diente anfänglich eine Digitalkamera (*SONY- HANDYCAM DCR- PC 120E PAL*) mit einer Bildrate von 25 Bildern pro Sekunde (frames per second, fps). Die Aufzeichnungen der Kamera erfolgten auf MiniDV in Farbe. Eine genaue quantitative Charakterisierung der Öffnungs- und Schließphasen der zu testenden Bioprothesen war jedoch mit dieser Kamera aufgrund der geringen Bildrate nicht möglich.

Später wurde für die Visualisierung eine digitale Highspeedkamera (*PHOTRON-FASTCAM PCI R2, MODEL 1K* mit *COMPUTAR – ZOOM - OPTIK/ 8-48mm/ F 1:1,0/ M49*) (Abb.5) mit einer Aufnahmefrequenz bis zu maximal 1000 Bildern / Sekunde verwendet.

Die Bildgröße betrug bei einer Bildrate von 1000 / Sekunde 256 x 240 Bildpunkte. Die Kameras wurden jeweils an einem Stativ senkrecht oberhalb der Klappenprothese fixiert. Um sie vor Spritzwasser zu schützen, wurde der Flüssigkeitsbehälter des Prüfstandes HKP+ mit einer transparenten Plexiglasscheibe abgedeckt.

Ausgeleuchtet wurde der Versuchsaufbau mit zwei Halogenscheinwerfern, die senkrecht, oberhalb der Klappe und seitlich der Klappenebene positioniert waren.

Die Ansteuerung erfolgte über die kameraspezifische Software PHOTRON MOTION TOOLS®, implementiert in einem PC, der auch zur Speicherung und Auswertung der Bilder diente. Zur automatischen Bestimmung der zeitaufgelösten Klappenöffnungsfläche diente eine speziell für diesen Zweck entwickelte Software (*REALTIME IMAGING* © Dr. Michael Schmauder). Die Kalibrierung der Flächenmessung erfolgte mit einer Millimeterskala, die nach Abschluss der Aufzeichnung an die Stelle der Klappe eingebracht wurde.

4.3 Untersuchte Herzklappenprothesen

Die verwendeten Klappen sind gestentete Schweineklappen der Firma *Medtronic* ® (*Minneapolis, Minnesota, USA* [63]) und Perikardklappen der Firma *Edwards Lifescience* ® LLC (*Irvine, Kalifornien, USA*) (*Abb.6*).

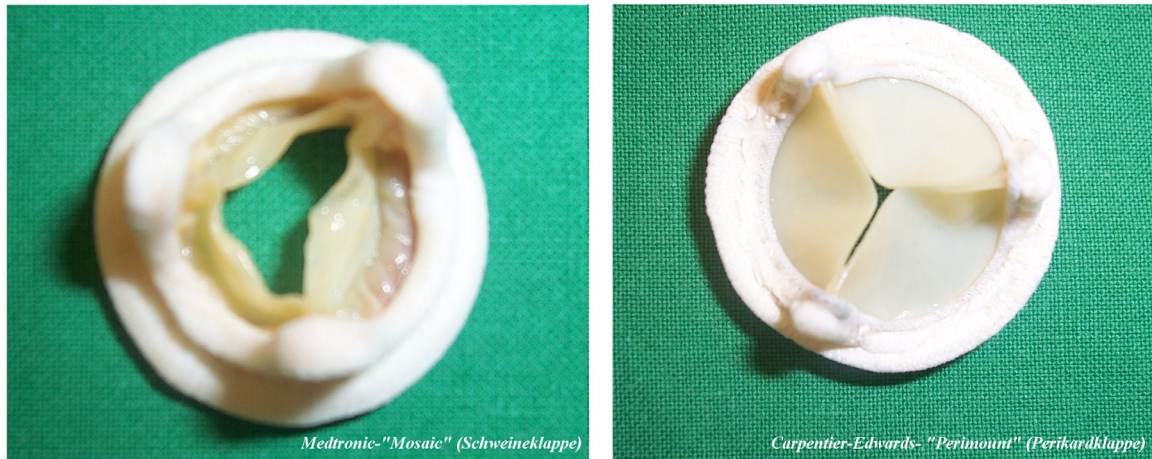


Abb.6 Beispiel einer untersuchten Medtronic Mosaic- Schweineklappe (links) und Edwards Perimount- Perikardklappe (rechts) vor Installation in den Prüfstand

Die **Medtronic – Prothese**, Modell „Mosaic“ zählt zu der dritten Generation von porcinen Bioprothesen mit supraannularer Konfiguration und wurde im Jahre 2000 durch die FDA zugelassen. Die Klappe besteht aus einer präparierten nativen Schweineklappe, die auf einen niedrigen Delrin- Stentring montiert ist. Sie verfügt über biegsame Stentstützen und einen gewellten Nahtring. Die *Mosaic*- Klappe wurde in Nulldruck- Differentialtechnik fixiert, d.h. daß Teile der Klappe mit höheren Drücken fixiert wurden (z.B. Aortenwurzel), während die Taschen in Nulldrucktechnik fixiert werden, also im ungespannten, nicht gedehnten Zustand.

Alpha – Amino - Ölsäure wurde als Oberflächenagenz verwendet, um Verkalkungen vorzubeugen.

Die Klappe wurde, um einen repräsentativen Mittelwert zu erhalten, an jeweils 3 Exemplaren in den Größen 21, 23 und 25 mm getestet.

Die **Carpentier - Edwards - Bioprothese**, Modell *Perimount* zählt zu den Perikardklappen der zweiten Generation. Diese Klappe wurde im Jahre 1991 durch die FDA zugelassen. Die Klappengeometrie wird durch das Perikardgewebe bestimmt, das sowohl an federnden Stentbrücken fixiert und auf einen Nahtring, bestehend aus Silikon mit einer

Polytetrafluorethylen- Schicht genäht wird. Die Form der Klappe wird im Gegensatz zur naturbelassenen Form der Schweineklappe konstruiert.

Die Perikardklappe wurde stressfrei mit Glutaraldehyd fixiert. XenologiX[®] wird verwendet, um den Phospholipidgehalt des Gewebes zu reduzieren und damit der Kalzifizierung vorzubeugen [5]. Es wurden auch hier jeweils 3 Klappen in den Größen 21, 23 und 25 mm getestet.

Die zu testenden Klappen waren durch den Hersteller in einer Glutaraldehydlösung aufbewahrt, steril verpackt und werden bei Kühlschranktemperatur gelagert.

Nach vorsichtiger Entnahme wurde bei den Klappen mit Hegar – Stiften (*Abb.7*) die mögliche Klappenöffnungsfläche gemessen, wobei kein Widerstand den Durchtritt behindern durfte und eine Dilatation des Annulus vermieden wurde. Der Hegar-Durchmesser, bezogen auf den Geweberingdurchmesser (TAD) nach Herstellerangaben unterschied sich deutlich zwischen den Schweine- und Rinderklappen. So lagen die ermittelten Hegar- Durchmesser bei gleicher Nahtringgröße der Perikardklappen 2 mm über den Hegar- Durchmessern der Schweineklappen (siehe Tab.2).



Abb.7 Darstellung eines Hegar- Obturators der Größe 16 mm

Anschließend wurden die Klappen mit monofilem, nichtresorbierbarem Nahtmaterial der Stärke 6 x 0 in fortlaufender Nahttechnik an einem Gummiring fixiert. Die elastischen Ringe wurden speziell an die Größe des Stentrings angepasst. Die so präparierte Klappe wurde zwischen zwei Abstandshaltern in den Klappenhalteapparat des HKP+ eingebaut.

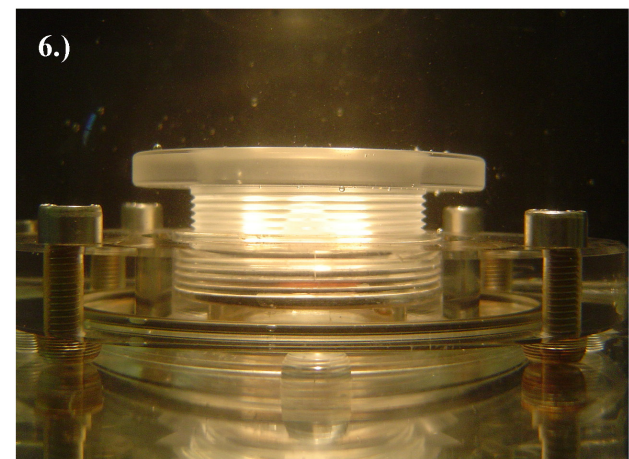
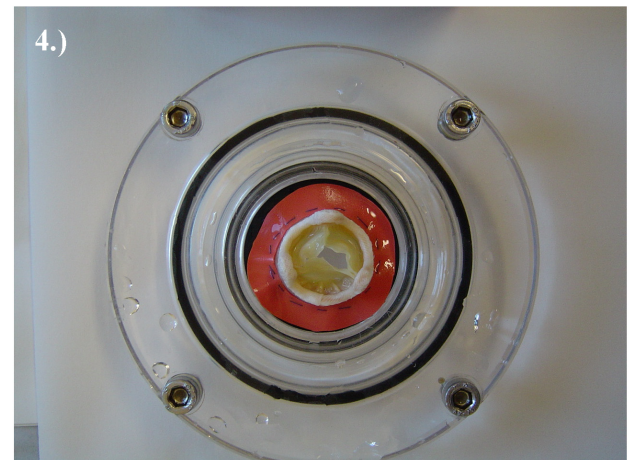
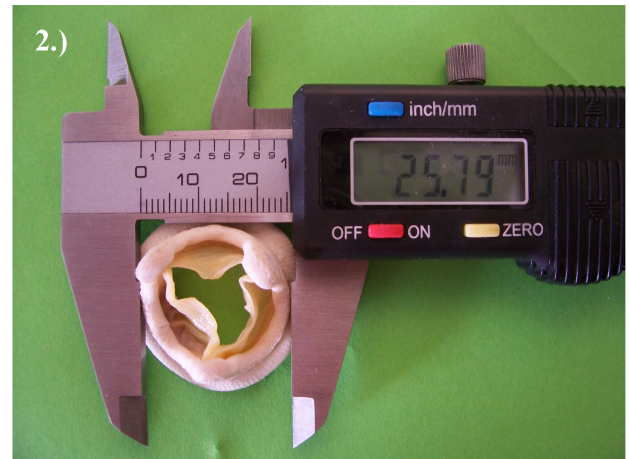


Abb.8 (1 - 6) *Vermessung und Präparation einer Schweineklappe vor (1 - 5) und während der Installation im HKP+(6)*

Klappenname	Seriennummer	TAD	Hegar-Durchmesser
<i>Medtronic Mosaic (MM)</i>			
<i>MM21</i>	627994I	21 mm	16mm
	690182I	21 mm	16mm
	666056I	21 mm	16mm
<i>MM23</i>	690236I	23mm	18mm
	680704I	23mm	18mm
	608105I	23mm	18mm
<i>MM25</i>	A688697	25mm	20mm
	A677294I	25mm	20mm
	A621068I	25mm	20mm
<i>Carpentier Edwards Perimount (EP)</i>			
<i>EP21</i>	JF9744	21mm	18mm
	JM9815	21mm	18mm
	JR9700	21mm	18mm
<i>EP23</i>	JG6590	23mm	20mm
	JR1826	23mm	20mm
	JR8395	23mm	20mm
<i>EP25</i>	JK5205	25mm	22mm
	JL1946	25mm	22mm
	JT3274	25mm	22mm

Tab. 2 Auflistung der getesteten Klappen nach Geweberingdurchmesser (TAD) und Hegar-Durchmesser

4.4 Testfluid

Als Testfluid wurde physiologische Kochsalzlösung (0.9 %, $\eta = 1 \text{ mPa} \cdot \text{s}$, $\rho = 997 \text{ kg} / \text{m}^3$, $25 \text{ }^\circ \text{C}$) verwendet. In - situ wird die Herzklappe von Blut durchströmt, wobei Blut als Nicht-Newton'sche Flüssigkeit spezielle Fließeigenschaften aufweist, die bei der Kochsalzlösung nicht gegeben sind.

Es ist bekannt, daß die rheologischen Eigenschaften des Blutes bei der Mikrozirkulation eine herausragende Rolle spielen [64] und in den entsprechenden Tests nicht vernachlässigt werden dürfen. Es konnte aber gezeigt werden, daß diese speziellen Fließeigenschaften bei der systolischen Strömung durch die Herzklappe nur von untergeordneter Bedeutung sind [65].

4.5 Hydrodynamische Messwerterfassung und –auswertung

Die experimentelle Evaluierung einer Klappe erfolgte bei Herzminutenvolumina von 1,4 bis 6,3 l / min. Jede Messung beruht auf 10 aufeinander folgenden Pumpzyklen bei verschiedenen, vom Steuerprogramm vorgegebenen Sollgrößen für Flussrate, Herzfrequenz und systolischer Ejektionsdauer in einem Bereich der simulierten Herzleistung von 1,4 bis 6,3 l / min. Als Ergebnis einer Messung wurden einerseits zwei Zeitreihen mit einer Abtastrate von 1 Millisekunde mit $Q(t)$ [ml / s] für den transvalvulären Fluss und $\Delta P(t)$ [mmHg] für die Druckdifferenz zwischen Aortenwurzel und Ventrikel, zum anderen die vom Regler realisierten Ist- Werte von Herzfrequenz [1 / min] und Ejektionszeit ET [ms] registriert.

Mit diesen Messgrößen ist es möglich den folgenden Datensatz zu berechnen:

1.) Mittlere Fluss Rate MF [ml / s]:

$$MF = \frac{1}{ET} \int_0^{ET} Q(t) \cdot dt \quad (4)$$

2.) Schlagvolumen SV [ml]:

$$SV = \int_0^{ET} Q(t) \cdot dt \quad (5)$$

3.) Q_{rms} Effektivwert des Volumenstroms [ml / s]¹

$$Q_{rms} = \sqrt{\frac{1}{ET} \cdot \int_0^{ET} Q^2(t) \cdot dt} \quad (6)$$

¹ Der Q_{rms} wird verwendet, weil die momentane Druckdifferenz dem Quadrat des momentanen Volumenstroms proportional ist, und daraus die mittlere Druckdifferenz zu ermitteln ist.

4.) Herzminutenvolumen HMV [l / min]

$$HMV = \frac{SV \cdot HF}{1000} \quad (7)$$

5.) Transvalvulärer Widerstand TVR [dyn · s / cm⁵]

$$TVR = \frac{1333 \cdot \Delta P}{MF} \quad (8)$$

6.) Gesamtverlustleistung während der Systole N [mW]²

$$N = MF \cdot \frac{\Delta P}{7.519} \quad (9)$$

7.) Verlustleistung durch Deformation ND [mW]

$$ND = B \cdot \frac{MF^2}{7.519} \quad (10)$$

² Der Zahlenwert 7.519 ist ein Umrechnungsfaktor der SI- Einheiten mmHg * ml/ s in mW.

4.6 Kinematografische Erfassung der Klappen- Öffnungsflächen, der Öffnungs- und Schließzeiten

Die mit der *SONY- HANDYCAM* im avi.- Format erzeugten Videosequenzen wurden mit Hilfe des MPEG-Encoders (*TMPEG- ENCODERS 2.5[®]*) in Sequenzen von 50 Halbbildern / Sekunde umgewandelt.

Der Vorteil der *HANDYCAM*- Aufnahmen sind hochauflösende Bilder, die trotz der relativ niedrigen Bildrate durch vergleichende 4- Bilddarstellungen (Abb.15) einen anschaulichen Eindruck von den sichtbaren Öffnungsflächen vermitteln.

Mit dem Grafik- Programm *PAINT-SHOP-PRO[®]* konnten die Ränder der Klappenöffnungsfläche für jedes einzelne Bild erfasst, in eine Vektorgrafik umgewandelt und unter Verwendung der hierfür entwickelten Software *VALVEVIDEO[®]* in Flächenwerten ausgegeben werden. Diese wurden dann in *EXCEL[®]*- Tabellen übertragen und grafisch als Kurvenverlauf dargestellt.

Bei großen Bildfolgen, die die Highspeed- Kamera lieferte, war dieses manuelle Auswerteverfahren sehr zeitaufwändig.

In Abhängigkeit vom sich ändernden Flächenwert wurden daher nur alle 2 bis 5 ms die Konturen mit den entsprechenden Flächenwerten bestimmt. Mit dieser Methode wäre jedoch der Vorteil der hohen Zeitauflösung der Highspeedkamera verschenkt worden. Aus diesem Grunde wurde ein halbautomatischer Verarbeitungsmodus (*HEART VALVE INSPECT[©]*) von der Firma *REALTIME IMAGING[®]* (*Dr.-Ing. Michael Schmauder*) entwickelt, der weitgehend automatisch die Konturen der Öffnungsflächen ermittelt und deren Flächeninhalt planimetriert.

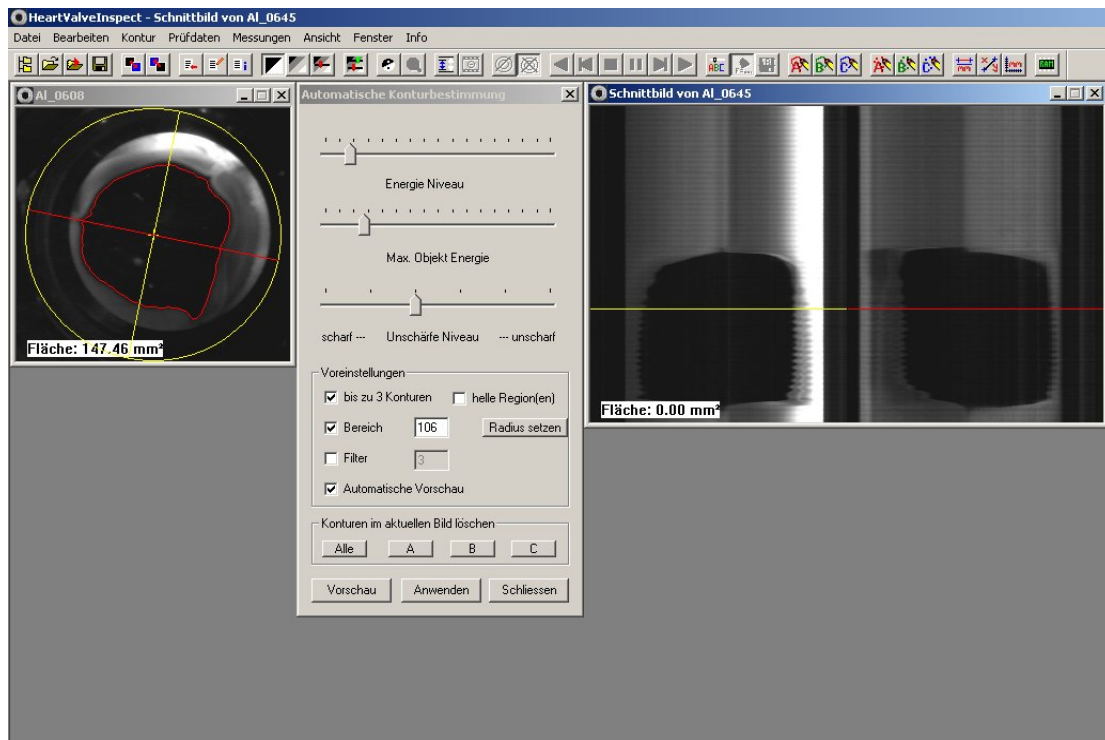


Abb. 9 Darstellung der Konturenerfassung mit HEART-VALVE-INSPECT® (dargestellt sind die axiale Aufsicht aus der Kameraperspektive mit der sichtbaren Öffnungsfläche, links im Bild, sowie ein zweidimensionales Schnittbild der Öffnungsflächenebene einer Ejektionsphase am Beispiel einer Perikardklappe)

Die aus der Highspeed-Visualisierung errechneten Messgrößen sind:

1.) Mittlere Öffnungsfläche MOA [mm²]

$$MOA = \frac{1}{ET/4} \cdot \int_{\frac{ET}{4}}^{\frac{ET}{2}} VOA(t) \cdot \Delta t \quad (11)$$

VOA(t) ist die aktuelle, sichtbare Öffnungsfläche, die das Bildverarbeitungsprogramm liefert und von der die mittlere Öffnungsfläche (MOA) im Intervall von 25% bis 50% der Systolenzeit als Mittelwert berechnet wird (Abb. 10).

2.) Öffnungszeit OT [ms]

Ausgehend von der MOA wurde die Öffnungszeit bestimmt.

Die Öffnungszeit umfasst das Zeitintervall vom Beginn der Klappenöffnung bis zum Erreichen von 90% der mittleren Öffnungsfläche.

3.) *Schließzeit CT [ms]*

Die Schließzeit ist das Zeitintervall innerhalb der späten Systole, wo die Kurve der MOA die 90%- Marke wieder unterschreitet, bis zum erneuten Nullpunkt der *VOA*.

4.) Systolischer Bewegungsmuster Index *SMPI*³

$$SMPI = \frac{\text{Systolendauer}(t_{\text{sys}}) - (\text{Öffnungszeit}(t_{\text{ÖF}}) + \text{Schließzeit}(t_{\text{SZ}}))}{\text{Systolendauer}(t_{\text{sys}})} \quad (12)$$

5.) Flächenindex *AI_{TAD}*, bezogen auf die Geweberingfläche *A_{TAD}*

$$AI_{TAD} = \frac{EOA}{A_{TAD}} \quad (13)$$

6.) Flächenindex *AI_{HEGAR}*, bezogen auf Hegar- Fläche *A_{HEGAR}*

$$AI_{HEGAR} = \frac{EOA}{A_{HEGAR}} \quad (14)$$

³ *SMPI* = systolic movement performance index

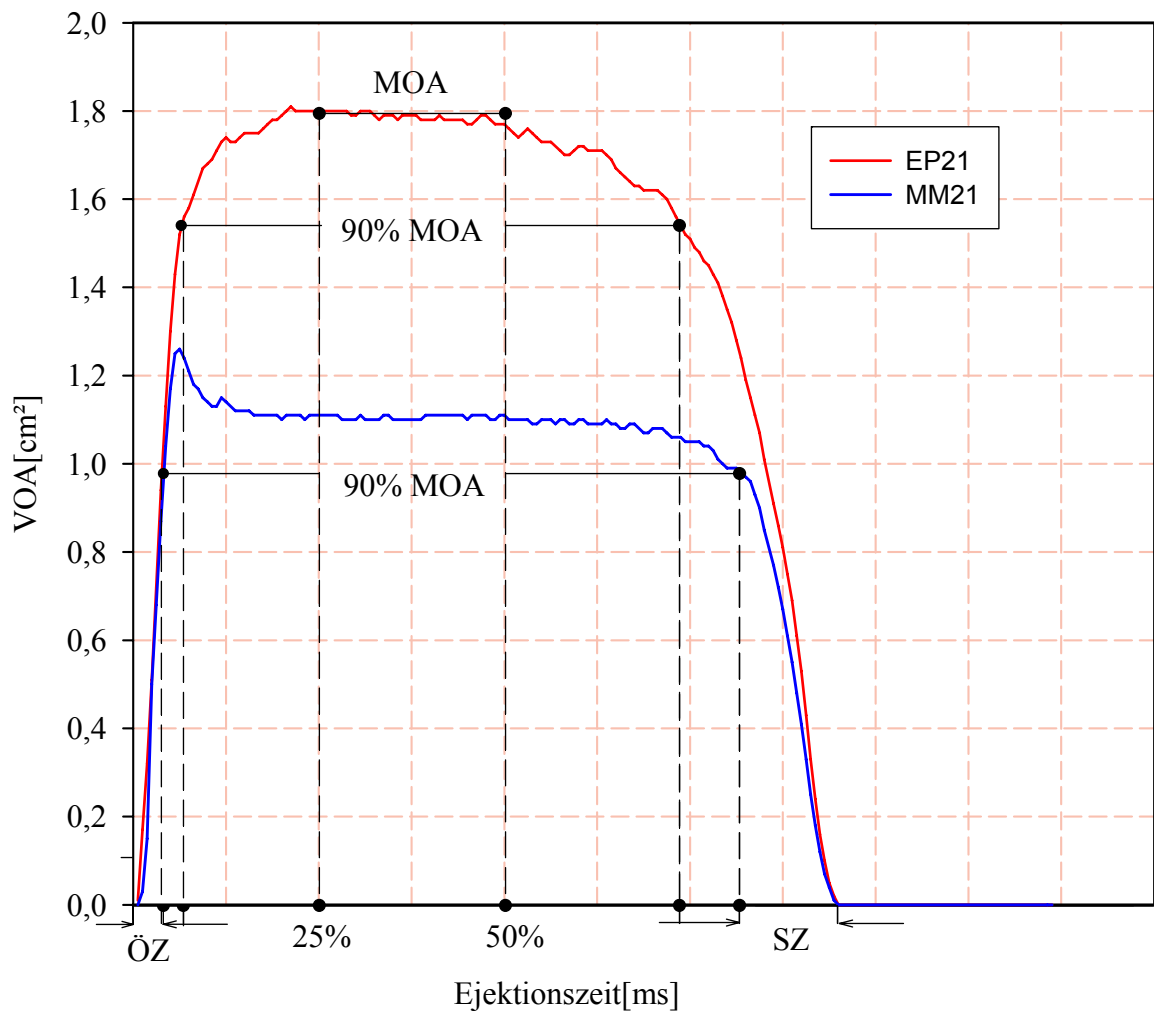


Abb. 10 Schema zur Berechnung der Mittleren Öffnungsfläche (MOA), der Öffnungs- und der Schließzeit aus Kurven der sichtbaren Öffnungsfläche (VOA) für beide Klappentypen am Beispiel einer MM21 und EP21

4.7 Statistik

Jeder der ermittelten Werte beruhte auf 10 aufeinander folgenden Pumpzyklen bei verschiedenen, vom Steuerprogramm vorgegebenen Sollgrößen für Flussrate, Herzfrequenz und systolischer Ejektionsdauer in einem Bereich der simulierten Herzleistung von 1,4 bis 6,3 l/min bei physiologisch- aortaler Durchströmung.

Die Flussabhängigkeit der mittleren systolischen Druckdifferenz wurde durch lineare Regression des ΔP über den Q_{rms}^2 und den MF nach Gleichung 3 ermittelt. Die darin enthaltenen Koeffizienten A und B wurden mit dem Regressionsmodell *RGP* (*Microsoft EXCEL*® für Windows) bestimmt und als Prognosewert, Standardabweichung, Bestimmtheitsmass der Korrelation R^2 und F- Statistik ausgegeben.

Mit Hilfe der Koeffizienten A und B wurden für 3 charakteristische hämodynamische Zustände ($HMV_{min} = 1,4 \text{ l/min}$; $HMV_{standard} = 4,9 \text{ l/min}$; $HMV_{max} = 6,3 \text{ l/min}$) die zugehörigen Werte für Druckdifferenz, Verlustleistung, Transvalvulärer Widerstand und Effektive Öffnungsfläche bestimmt.

Die so berechneten Werte aller 3 Klappen einer Größe und eines Typs wurden durch eine deskriptive Datenanalyse mit SPSS 12.0 für Windows analysiert und die so erhaltenen Mittelwerte und Standardabweichungen aller Klappengrößen beider Typen in einer One – way - ANOVA paarweise verglichen (*Student–Newman–Keuls-Methode*).

Die Irrtumswahrscheinlichkeit wurde mit $\alpha = 0,05$ angenommen.