

Charité Centrum für Kardiovaskuläre Erkrankungen
Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie
Campus Charité Mitte
Direktor: Univ.-Professor Dr. med. W. Konertz

Habilitationsschrift

Untersuchungen zur Ursache der Thrombusbildung und Verbesserung der Biokompatibilität während der Entwicklung eines implantierbaren biventrikulären nonpulsatilen Systems zur mechanischen Kreislaufunterstützung

zur Erlangung der Venia Legendi
für das Fach Herzchirurgie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
CHARITÉ-UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN

vorgelegt von

Dr. med. Jörg Linneweber

Eingereicht: Februar 2011
Dekanin: Frau Professor Dr. med. A. Grüters-Kieslich
1. Gutachter: Herr Professor. Dr. med. H. Bittner, Leipzig
2. Gutachter: Herr Professor Dr. med. R.E. Silber, Halle

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	2
1.1	Indikationen zur mechanischen Kreislaufunterstützung	2
1.1.1	Mechanische Kreislaufunterstützung bei akuter Herzinsuffizienz	2
1.1.2	Mechanische Kreislaufunterstützung bis zur myokardialen Erholung "Bridge to recovery"	3
1.1.3	Mechanische Kreislaufunterstützung bis zur Herztransplantation "Bridge-to-heart transplantation"	3
1.1.4	Mechanische Kreislaufunterstützung zur permanenten Therapie "Destination-therapy"	4
1.2	Historische Entwicklung von „Kunstherz“-Systemen	4
1.3	Die REMATCH und INTrEPID Studien	5
1.4	Einteilung von Blutpumpen	7
1.4.1	„Kunstherz“ versus „ventrikuläres Unterstützungssystem“	7
1.4.2	Einteilung von Blutpumpen nach der Unterstützungsdauer	7
1.4.3	Verdrängerpumpen versus Rotationspumpen	8
1.4.3.1	Pulsatile VAD	8
1.4.3.2	Nonpulsatile VAD (=continuous flow VAD)	10
1.5	Entwicklungskonzept für ein implantierbares BVAD	11
1.6	Fluidynamische Strömungskräfte in nonpulsatilen VAD	13
2	Fragestellungen	15
3	Originalarbeiten mit Zusammenfassung der Ergebnisse	17
3.1	Präklinische Evaluation der Zentrifugalpumpe, in-vitro Studien	17
3.1.1	Durchflußzytometrischer Nachweis von Erythrozytenfragmenten zur Bestimmung der Hämolysewirkung der Zentrifugalpumpe	17
3.1.2	Untersuchungen zum Nachweis und zur Quantifizierung von VAD-induzierten Thrombozyten-Mikroaggregationen	22
3.2	Präklinische Evaluation der Zentrifugalpumpe, in-vivo Studien	30
3.2.1	Aufrechterhaltung der Lungenfunktion unter biventrikulärer nonpulsatiler Langzeitperfusion	30
3.2.2	Kreislaufregulation unter Belastung in Kälbern mit einem implantierbaren biventrikulären nonpulsatilen VAD	34
3.3	Untersuchungen zur Ursache der Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD	39
3.3.1	Vermehrte Bindung des von Willebrand Faktor an Thrombozyten in nonpulsatilen VAD: Evidenz für Scher-induzierte Thrombozyten-aggregation	40
3.4	Verbesserung der Biokompatibilität nonpulsatiler VAD	55
3.4.1	Effekt der Oberflächentopographie auf die Aktivierung des Gerinnungssystems und Thrombozyten-Adhäsion in nonpulsatilen VAD	55
3.4.2	Modifizierung der VAD Oberfläche in ein hydrophiles Titania Gel	63
3.4.3	Lokale Freisetzung eines Glycoprotein IIb/IIIa Rezeptor Inhibitors von der Oberfläche reduziert Thrombozytenadhäsionen in nonpulsatilen VAD	69
3.4.4	Aktueller Status des Gyro BVAD	78
4	Diskussion	84
5	Zusammenfassung und Ausblick	104
6	Abkürzungsverzeichnis	106
7	Literatur	108
8	Danksagung	118
9	Eidesstattliche Erklärung	119

1 Einleitung

Die Herzinsuffizienz ist das Endstadium vieler verschiedener Krankheitsprozesse, welche die kardiale Pumpfunktion beeinträchtigen. Die ischämische Herzkrankheit und arterielle Hypertonie, allein oder in Kombination, sind die häufigsten Ursachen der Herzinsuffizienz in westlichen Ländern.^{1,2,3} Die Hospitalisationsraten wegen Herzinsuffizienz haben sich in verschiedenen europäischen Ländern in den letzten 10–15 Jahren verdoppelt. Mindestens 5% aller stationären Aufnahmen in medizinischen Kliniken erfolgen wegen Herzinsuffizienz. Diese Diagnose ist der häufigste Grund einer stationären Behandlung bei über 65jährigen Patienten überhaupt. Innerhalb von 3–6 Monaten nach Entlassung aus stationärer Behandlung müssen 29–47% vor allem ältere Herzinsuffizienzpatienten rehospitalisiert werden.^{1,2,4} Die Prognose der Herzinsuffizienz ist ausgesprochen ungünstig und nicht besser als bei vielen malignen Tumoren, eine Tatsache, welche allgemein wenig wahrgenommen wird. Daten der „European cardiovascular disease statistics“ der British Heart Foundation zeigen, daß ca. 40% der Patienten innerhalb eines Jahres nach Diagnosestellung versterben.⁵ Die Mortalität innerhalb einer 5-Jahres Beobachtungsstudie lag in den USA bei 78,5%.⁶ Neben medikamentösen Behandlungsmöglichkeiten bzw. der relativ neu eingeführten ventrikulären Resynchronisationstherapie, ist seit vielen Jahren die Anwendung der mechanischen Kreislaufunterstützung durch Herzunterstützungssysteme (= **ventricular assist device (VAD)**) etablierter Bestandteil in der Behandlung akuter oder chronischer Herzinsuffizienz.

1.1 Indikationen zur mechanischen Kreislaufunterstützung

1.1.1 Mechanische Kreislaufunterstützung bei akuter Herzinsuffizienz

Hierunter ist eine mechanische Kreislaufunterstützung für Stunden bis Tage zu verstehen, die im Allgemeinen für die Behandlung eines potentiell reversiblen akuten kardialen Pumpversagens eingesetzt wird. Hierbei können unterschiedliche Ätiologien diesem Pumpversagen zu Grunde liegen, etwa das plötzliche Herzversagen nach akutem Myokardinfarkt oder eine rasch progrediente Kontraktilitätseinbuße im Rahmen akuter Myokarditiden.⁷ In ca. 0,5-1 % der Patienten wird ein kardiales Pumpversagen nach kardiochirurgischen Eingriffen beobachtet, wofür sich in den letzten Jahren der Begriff des Postkardiotomie-Syndroms etabliert hat. Der Einsatz extrakorporaler Blutpumpen zur postoperativen Kreislaufunterstützung ist mittlerweile fester Bestandteil der klinischen Praxis. Darüber hinaus erfolgt der Einsatz von extrakorporalen Blutpumpen auch im Rahmen der extrakorporalen Membranoxygenierung (ECMO). Zur mechanischen Kreislaufunterstützung werden in diesen Fällen in der Regel nonpulsatile Zentrifugalpumpen aus Kunststoff eingesetzt.

1.1.2 Mechanische Kreislaufunterstützung bis zur myokardialen Erholung "Bridge to recovery"

Im Jahre 1997 wurde zum ersten Mal berichtet, dass sich die Myokardfunktion unter mechanischer Entlastung durch ein VAD erholen kann.⁸ Im beschriebenen Fall trat bei einem Patient nach 505 Tagen mechanischer Linksherzunterstützung eine massive zerebrale Thromboembolie ein, die den Hirntod des Patienten zur Folge hatte. Nach Abstellen des LVAD wurde beobachtet, dass sich das native Herz in seiner Funktion deutlich verbessert hatte und nunmehr in der Lage war, den Kreislauf ohne inotrope Unterstützung aufrecht zu erhalten. Diese Beobachtung bewirkte eine Vielzahl weiterer klinischer und experimenteller Studien, um die Mechanismen der Myokarderholung unter mechanischer Kreislaufunterstützung aufzudecken.^{9 - 15} Zusammengefasst besteht das wesentliche „bridge-to-recovery“ Prinzip darin, dass sich unter fortgeführter mechanischer Entlastung des Ventrikels die kardialen kontraktilen und mitochondrialen Funktionen verbessern. Es kommt im weiteren Verlauf zu einem Umbau (Remodeling) des Ventrikels, welcher letztlich Ventrikelvolumen- und geometrie positiv beeinflusst. Diese Veränderungen der linksventrikulären Geometrie, Wanddicken und enddiastolischen Volumen führen zu einer Linksverlagerung der Druck-Volumen Kurven und verbessern die ventrikuläre Funktion. Zahlreiche Studien belegen weitere positive Auswirkungen der VAD Unterstützung. Hierzu gehören Verbesserungen im Zytokin- und neurohormonalen System, Verringerung von Myozyten-Nekrose, Apoptosis sowie Verbesserungen im Calciumstoffwechsel. In erster Linie wurde eine Erholung der Myokardfunktion bei Patienten mit akuter Myokarditis beobachtet. Eine Erholung wurde aber auch bei Patienten mit dilatativer oder ischämischer Kardiomyopathie beschrieben. Bis heute bleibt jedoch ungeklärt, warum sich einige Patienten unter mechanischer Kreislaufunterstützung erholen und andere nicht. Letztlich bleibt die Rate der „bridge to recovery“ Fälle bei Patienten mit langfristiger mechanischer Kreislaufunterstützung niedrig und liegt bei etwa 5%.¹⁶

1.1.3 Mechanische Kreislaufunterstützung bis zur Herztransplantation "Bridge-to-heart transplantation"

Hierunter ist eine mechanische Kreislaufunterstützung durch ein VAD zu verstehen, bis ein geeignetes Spenderorgan zur Herztransplantation zugewiesen werden kann. Diese, in der Regel langfristige Kreislaufunterstützung über Monate oder sogar Jahre, wird als „bridge-to-transplantation therapy“ bezeichnet und stellt nach wie vor die wichtigste Strategie bei der Anwendung langfristiger mechanischer Kreislaufunterstützung dar. Die „bridge-to-transplantation“ Therapie repräsentiert ca. 80% aller Fälle, in denen eine langfristige mechanische Kreislaufunterstützung durchgeführt wird.¹⁶

1.1.4 Mechanische Kreislaufunterstützung zur permanenten Therapie „Destination-therapy“

In den letzten Jahren ist das Therapieprinzip der „destination therapy“ immer stärker in den Vordergrund gerückt. Hierunter ist eine permanente Kreislaufunterstützung als Alternative zur Herztransplantation zu verstehen. Derzeit findet dieses Konzept nur bei Patienten Anwendung, bei denen eine Kontraindikation für eine Herztransplantation vorliegt. Derzeit liegt der Anteil der „destination-therapy“ bei etwa 12%. Ob sich diese Therapieform weiter durchsetzen wird, ist derzeit völlig offen und hängt wesentlich von der Verbesserung der Langzeitergebnisse unter mechanischer Kreislaufunterstützung ab. Die „Mechanical Circulatory support (MCS) Database“¹⁶ der International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT) zeigt eine 1-Jahres Überlebensrate der „destination-therapy“-Patienten von nur 34%. Nur wenn es gelingt Mortalität und Morbidität unter mechanischer Kreislaufunterstützung zu verbessern, könnte diese Therapie potentiell eine Alternative zur Herztransplantation werden und sich zu einer weiteren Therapieoption bei der Behandlung der terminalen Herzinsuffizienz entwickeln.

1.2 Historische Entwicklung von „Kunstherz“-Systemen

Bereits während der 1950´er Jahre experimentierte eine Forschergruppe um den Pionier Dr. W. Kolff mit Systemen zur mechanischen Unterstützung des Kreislaufs. 1957 veröffentlichten Kolff und Mitarbeiter die erste erfolgreiche Implantation eines hydraulischen Polyvinylchlorid Kunstherzen. In diesem Versuch konnte das Versuchstier über 90 Minuten unterstützt werden. Im Jahr 1967 führte Dr. C. Barnard in Südafrika die erste Herztransplantation beim Menschen durch, was einen entscheidenden Einfluss für das Konzept und die Entwicklung von „Kunstherzen“ hatte. Zwei Jahre später, 1969, gelang es Dr. D. Cooley erstmals, einen 47-jährigen Patienten mittels mechanischer Kreislaufunterstützung für 64 Stunden zu unterstützen und im Anschluß erfolgreich eine Herztransplantation durchzuführen.¹⁷ Das Konzept des „bridge-to-transplantation“ war geboren. In Salt Lake City ersetzte Dr. W. DeVries 1982 das Herz eines Patienten durch ein pneumatisches Kunstherz, das Jarvik-7, welches als permanenter Herzersatz gedacht war. Der Patient überlebte für 112 Tage an dem System. Obwohl auch weiterhin einige Arbeitsgruppen an Systemen zum „Herzersatz“ arbeiten, entwickelte sich über die Jahre ein Trend, der das Konzept der „Herzunterstützung“ (assist device) gegenüber dem des „Herzersatzes“ favorisiert. Erste erfolgreiche klinische Anwendungen eines elektrisch angetriebenen und implantierbaren Systems, dem Novacor LVAS (Baxter Healthcare Inc., Novacor Division, Oakland CA, USA) erfolgten 1984. Mit der Implantation der NASA-DeBakey Axialpumpe (Micromed Inc. Houston, TX., USA) erfolgte 1998 die erste klinische Anwendungen eines nonpulsatilen bzw. „continuous-flow“ VAD.

1.3 Die REMATCH und INTrEPID Studien

Einen wesentlichen Meilenstein in der Beurteilung der klinischen Ergebnisse der mechanischen Kreislaufunterstützung stellte die REMATCH Studie (Randomized Evaluation of Mechanical Assistance for the Treatment of Congestive Heart failure) dar.¹⁸ Zwischen 1998 und 2001 wurden 129 Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz in zwanzig Zentren der USA in die Studie eingeschlossen. Einschlusskriterien waren unter anderem eine Herzinsuffizienz im Stadium NYHA IV bzw. eine linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF) < 25%. Alle Patienten nahmen zuvor eine medikamentöse Therapie für wenigstens 60 Tage innerhalb der letzten 90 Tage ein und hatten dennoch eine prognostizierte Lebenserwartung von weniger als zwei Jahre. Die Kohorte wurde randomisiert wobei 68 Patienten eine mechanische Kreislaufunterstützung durch ein HeartMate I VAD erhielten, 61 Patienten wurden einer maximalen medikamentösen Therapie zugeführt. Die Ergebnisse bewiesen eine signifikant bessere Überlebensrate sowohl nach einem als auch nach zwei Jahren in der VAD Gruppe. Nach einem Jahr lag die Überlebensrate in der VAD Gruppe mit 52 Prozent doppelt so hoch wie in der Gruppe mit medikamentöser Therapie, die lediglich eine 1-Jahres Überlebensrate von 25 Prozent aufwies. Auch nach zwei Jahren konnte ein bemerkenswert signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen verzeichnet werden. Während in der Gruppe mit medikamentöser Therapie nur 8 Prozent diesen Beobachtungszeitraum überlebten, lag in der VAD Gruppe die 2-Jahres Überlebensrate bei 23 Prozent (P=0.001). Darüber hinaus konnte während des Studienverlaufs eine deutliche Verbesserung der Ergebnisse in der VAD Gruppe verzeichnet werden. Die Überlebensrate der VAD Patienten war in der Kohorte, die in der zweiten Hälfte des Studienzeitraums eine mechanische Kreislaufunterstützung erhielt signifikant besser als in der Kohorte, die in der ersten Hälfte des Studienzeitraums eine VAD Implantation erhielt (37% vs. 21% 2- Jahres Überlebensrate). Im Gegensatz hierzu zeigte sich über den Studienzeitraum in der Gruppe mit medikamentöser Therapie keine Veränderung hinsichtlich der Überlebensraten. Darüber hinaus war bei Patienten mit mechanischer Kreislaufunterstützung eine deutliche Verbesserung der NYHA Stadien von Klasse IV auf bis zu Klasse II während des zweijährigen Beobachtungszeitraums zu sehen, während bei keinem der Patienten in der Gruppe mit medikamentöser Therapie eine nachhaltige Verbesserung des NYHA Status dokumentiert werden konnte. Dies spiegelte sich auch im sekundären Endpunkt, der Beurteilung der Lebensqualität wieder: Die Lebensqualität wurde anhand von drei verschiedenen Scores evaluiert. Bemerkenswerter Weise schnitt die VAD Gruppe in allen Tests mit jeweils höheren Werten ab. Somit zeigte sich trotz der Implantation eines VAD -und der hiermit verbundenen Lebens Einschränkungen- ein deutlich besseres Ergebnis bezüglich der Lebensqualität.

Die INTrEPID Studie (The Investigation of Nontransplant-Eligible Patients Who Are Inotrope-Dependent) war eine prospektive Studie mit ähnlichem Studienaufbau wie die Rematch Studie und verglich ebenfalls Mortalität und Lebensqualität zwischen VAD- und Herzinsuffizienzpatienten, die eine inotrope Therapie benötigen, jedoch einer Herztransplantation nicht zugeführt werden konnten. Als System zur mechanischen Kreislaufunterstützung kam in dieser Studie jedoch das Novacor VAD zum Einsatz. Zwischen 2001 und 2003 wurden 51 Patienten in zwanzig US-amerikanischen Zentren eingeschlossen. Im Jahr 2007 wurden die Ergebnisse publiziert.¹⁹ Auch in dieser Studie zeigten die VAD-Patienten deutlich bessere Überlebensraten sowohl nach 6 als auch nach 12 Monaten. Im Vergleich zu der Patientenkohorte mit optimaler medikamentöser Therapie betrug die Überlebensrate 46 Prozent vs. 22 Prozent ($p = 0.03$) nach sechs Monaten und 27 Prozent vs. 11 Prozent ($p = 0.02$) nach einem Jahr. Auch hinsichtlich der Lebensqualität wurden ähnliche Ergebnisse wie in der REMATCH Studie beobachtet.

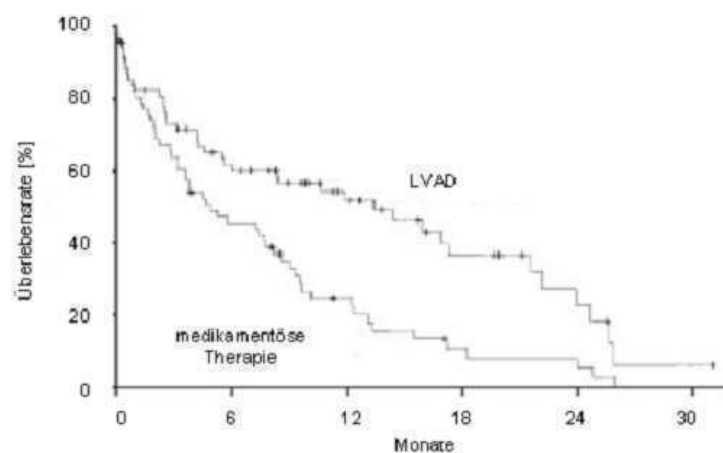


Abbildung 1: Kaplan–Meier Analyse der Überlebensrate von Patienten der REMATCH Studie

Darstellung der Überlebensrate der Gruppe mit mechanischer Kreislaufunterstützung (LVAD) und der Gruppe mit optimaler medikamentöser Therapie.
Überarbeitet aus: Rose et al. 18

1.4 Einteilung von Blutpumpen

1.4.1 „Kunstherz“ versus „ventrikuläres Unterstützungssystem“

Blutpumpen zur Aufrechterhaltung des Kreislaufs können prinzipiell in Systeme zum mechanischen „Herzersatz“ (auch als „Kunstherz“ bzw. „total artificial heart“ (**TAH**) bezeichnet) bzw. in Systeme zur „Herzunterstützung“ (auch als „ventricular assist device“ (**VAD**) bezeichnet) unterteilt werden. Während ein TAH das native Herz ersetzt, wird bei VAD das native Herz belassen und der Kreislauf zusätzlich zu einer verbliebenen Restfunktion unterstützt.



Abbildung 2: Schematische Darstellung eines Kunstherzen (total artificial heart)

Bei einem Kunstherz (total artificial heart (TAH)) ersetzen zwei Blutpumpen die nativen Ventrikel des Herzen.

1.4.2 Einteilung von Blutpumpen nach der Unterstützungsdauer

In Abhängigkeit von der Dauer der Kreislaufunterstützung werden VAD in drei Kategorien eingeteilt:

Am häufigsten kommen Blutpumpen für die *kurzfristige* mechanische Kreislaufunterstützung inklusive der Anwendung während des kardiopulmonalen Bypass zum Einsatz. Obwohl die typische Einsatzdauer unter sechs Stunden liegt, sind diese Blutpumpen in der Regel so ausgelegt, dass sie für einen Zeitraum von bis zu zwei Tagen betrieben werden können.

Eine zweite Kategorie von Blutpumpen ermöglicht eine *mittelfristige* mechanische Kreislaufunterstützung, etwa zur Therapie eines potentiell reversiblen Postkardiotomieversagens oder bei der Anwendung während extrakorporaler Membranoxygenierung (ECMO). Diese Klasse von Blutpumpen sollte Kriterien für eine Kreislaufunterstützung von wenigstens zwei Wochen erfüllen.

Die dritte Kategorie an VAD wird für die *langfristige* mechanische Kreislaufunterstützung beim „bridge-to-transplantation“ oder „bridge-to-recovery“ Therapieprinzip benötigt. Diese Blutpumpen sollten für zwei oder mehrere Jahre störungsfrei betrieben werden können.

1.4.3 Verdrängerpumpen versus Rotationspumpen

Bezug nehmend auf die Flussform die VAD generieren, werden sie in „pulsatile“ oder „nonpulsatile“ (auch continuous flow) Systeme unterschieden.

1.4.3.1 Pulsatile VAD

Alle VAD bestehen im Wesentlichen aus drei Komponenten: dem Pumpenkörper, welcher das Blut auswirft, Ein- und Ausflusskanülen, sowie eine Steuer- und Antriebseinheit. Pulsatil arbeitende VAD benötigen neben der Antriebsvorrichtung eine Blutkammer mit entsprechendem Füllvolumen, um ein Schlagvolumen von ca. 70 ml für eine erwachsene Person bereitzustellen. In den meisten Systemen wird durch Verschiebung einer flexiblen Membran mittels pneumatischem, hydraulischem oder elektromagnetischem Antrieb das in der Blutkammer befindliche Volumen ausgedrückt. Klappen innerhalb dieser Systeme stellen eine unidirektionale Flussrichtung sicher.

Dieses Prinzip verursacht durch die Blutkammer eine erhebliche Baugröße, die die Implantation des Pumpenkopfes in den Situs zunächst unmöglich machte. Somit wurden die Vertreter der **ersten Generation** ventrikulärer assist devices als parakorporale Systeme eingesetzt, wobei sowohl Pumpenkopf als auch Antriebs- und Steuereinheit des Systems außerhalb des Patienten angebracht waren und das System über transcutane Ein- und Ausflussconduits dem Kreislauf Blut zuführte.

Seit Ende der 1970er bis Mitte der 1980er Jahre förderte das US-amerikanische “National Heart and Lung Institute” Forschungsvorhaben zur Entwicklung von “implantierbaren“ VAD Systemen. Aus dieser Förderung resultierte die **zweite Generation** von VAD Systemen, die bis heute erfolgreich klinische Anwendung findet. Systeme dieser zweiten Generation zeichnen sich dadurch aus, dass der Pumpenkörper implantiert werden kann und lediglich die elektrischen Steuerkabel durch die Haut des Patienten geführt werden müssen. Die Möglichkeit den Pumpenkopf zu implantieren, stellte einen wesentlichen Fortschritt in der Entwicklung dieser Systeme dar, da die perkutane Durchführung der kaliberstarken Ein- und Ausflußconduits eine gefährliche Eintrittspforte für Infektionen darstellt. Infektionen an den transcutanen Ein- und Ausflußconduits bzw. Infektionen entlang der Antriebskabel sind gefürchtete Komplikationen und gehen mit einer erheblichen Morbidität und Mortalität einher, wenn die Infektion auf den Pumpenkopf übergreift. Abbildung 3 stellt die beiden wichtigsten Vertreter dieser VAD Generation dar: das Novacor VAD (Baxter Healthcare, Novacor Division, Oakland CA USA) sowie das Heart Mate I VAD (Terumo Cardiosystems Inc, Woburn MA USA).

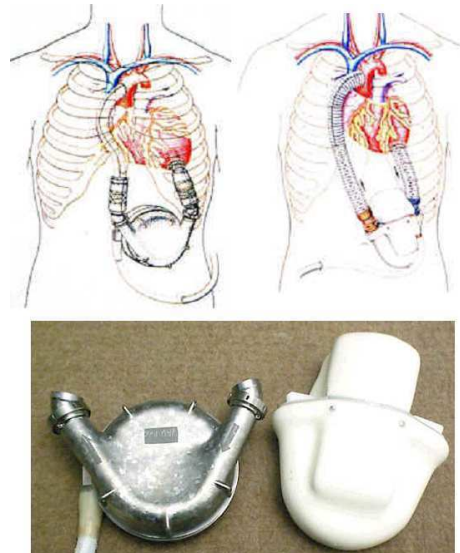


Abbildung 3: Pulsatile VAD:

Links: das HeartMate I VAD (Terumo Cardiosystems Inc, Woburn MA USA).

Rechts: das Novacor VAD (Baxter Healthcare, Novacor Division, Oakland CA USA)

Obwohl die Pumpenköpfe der zweiten VAD Generation implantierbar sind, ist erkennbar, dass sie nach wie vor von erheblicher Baugröße sind. Eine biventrikuläre Unterstützung ist mit pulsatilen Systemen dieser Generation zwar fester Bestandteil der klinischen Praxis, jedoch ist hierbei eine „Implantation“ von zwei Pumpenköpfen in den situs aufgrund der Raumanforderungen nicht möglich. Bislang erfolgte eine langfristige biventrikuläre Kreislaufunterstützung daher nur durch zwei *extrakorporal* gelegene Blutpumpen (vgl. Abbildung 4) oder durch ein TAH. Letzteres erzwingt jedoch das native Herz zu ersetzen, womit die Therapieoption des „bridge to-recovery“ genommen wird.



Abbildung 4: Biventrikuläre mechanische Kreislaufunterstützung mit extracorporal gelegenen pulsatilen VAD

Zur langfristigen biventrikulären mechanischen Kreislaufunterstützung können zwei pulsatile arbeitende VAD eingesetzt werden. Ein- und Ausflusskanülen werden durch die Haut des Patienten geführt. Darstellung einer biventrikulären Unterstützung mit dem Berlin Heart VAD (Berlin Heart, Berlin, Germany).

1.4.3.2 Nonpulsatile VAD (=continuous flow VAD)

Hierbei handelt es sich um Blutpumpen, die einen nonpulsatilen, d.h. kontinuierlichen Fluß erzeugen. Sie werden auch als **dritte Generation** von VAD Systemen bezeichnet. Seit jeher wurden nonpulsatile Blutpumpen (Rollerpumpen, Zentrifugalpumpen etc.) während der kurz- und mittelfristigen mechanischen Kreislaufunterstützung eingesetzt. Einen wesentlichen Paradigmenwechsel stellte die Einführung nonpulsatiler VAD auch für die langfristige mechanische Kreislaufunterstützung dar. Prinzipiell unterscheidet man bei nonpulsatilen VAD Axial- von Zentrifugalpumpen.

Axialpumpen: Bei einer Axialpumpe wird das archimedische Schraubprinzip genutzt, um das Blut anzutreiben. Dieses Bauprinzip ermöglicht es, die Pumpenköpfe sehr klein zu halten. Der Rotor dieser Systeme dreht mit Geschwindigkeiten von ca. 10.000 Umdrehungen pro Minute.

Zentrifugalpumpen: Zentrifugalpumpen haben eine rotierende Scheibe (Impeller) und nutzen die hier entstehenden Fliehkräfte, um das Blut anzutreiben. Um gleiche Flussleistungen gegen einen definierten Widerstand zu erzeugen, benötigen diese Systeme aufgrund ihrer Bauart zwar ein relativ größeres Volumen im Vergleich zu Axialpumpen, jedoch erreichen Zentrifugalpumpen diese Leistung mit einer um ca. ein Fünftel bis ein Drittel geringeren Umdrehungszahl des Rotors.



Abbildung 5: Darstellung einer Axialpumpe und einer Zentrifugalpumpe.

Oben: NASA- DeBakey Axialpumpe (Micromed Inc., Houston, TX, USA)

Unten: Duraheart Zentrifugalpumpe (Terumo Heart Inc., Ann Arbor, MI, USA)

1.5 Entwicklungskonzept für ein implantierbares BVAD.

Das neu zu entwickelnde VAD sollte zwei Forderungen erfüllen: Erstens, sollte es individuell sowohl als linksventrikuläres VAD (LVAD), rechtsventrikuläres VAD (RVAD) vor allem aber auch als *biventrikuläres VAD (BVAD)* einsetzbar sein. Zweitens, sollte es so konzipiert sein, dass beide Unterstützungspumpen in-situ *implantiert* werden können. Um diese Anforderungen realisieren zu können, basierte das Konzept auf einem VAD, welches sich aus zwei Zentrifugalpumpen zusammensetzt. Abbildung 6 zeigt den schematischen Aufbau des als „**Gyro VAD**“ bezeichneten Systems.

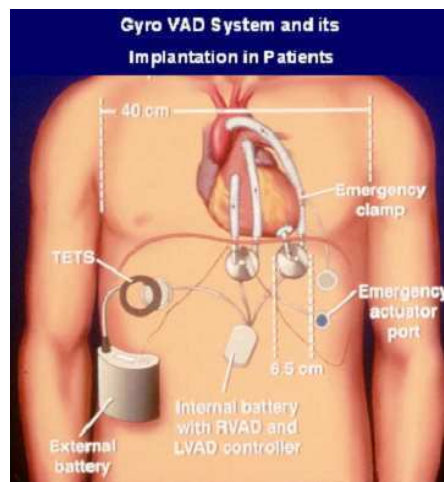


Abbildung 6: Konzept des implantierbaren biventrikulären Gyro VAD.

Zwei Zentrifugalpumpen werden zur Unterstützung des rechten und linken Ventrikels subdiaphragmal platziert. Die Steuereinheit (Controller) mit einer internen Batterie wird ebenfalls präperitoneal in-situ platziert. Über ein transcutanes Energie- und Informationssystem (TETS) werden die Pumpen mit Energie versorgt. Eine Notfallvorrichtung (emergency clamp) ermöglicht den Verschluss des Ausflussconduits, um im Falle eines Pumpenausfalls einen Rückfluss in den jeweiligen Ventrikel zu verhindern.

Das Konzept des *implantierbaren BVAD* wurde in drei Stufen realisiert: In einer ersten Phase erfolgte die Entwicklung einer aus Polycarbonat bestehenden Zentrifugalpumpe für den Einsatz im kardiopulmonalen Bypass bzw. zur kurz- bis mittelfristigen extrakorporalen Kreislaufunterstützung. Abbildung 7 stellt diese als C1E3 bezeichnete Zentrifugalpumpe dar.



Abbildung 7: Darstellung der C1E3 Zentrifugalpumpe

Die C1E3 Zentrifugalpumpe besitzt die Zulassung für den Einsatz im kardiopulmonalen Bypass sowie als VAD zur mechanischen Kreislaufunterstützung bzw. ECMO bis zu zehn Tage.

In einer zweiten Entwicklungsstufe erfolgte die Überführung der **C1E3 Zentrifugalpumpe** in ein implantierbares Langzeit-VAD (das **Gyro VAD**). Hierbei wurde eine weitere Verkleinerung des Pumpengehäuses sowie die Konvertierung in die langlebige Titanlegierung Ti6Al4V erzielt.

In der dritten Entwicklungsstufe erfolgte die Zusammenführung zweier Gyro Zentrifugalpumpen zu einem biventrikulären System (**BVAD**) (Abbildung 8)

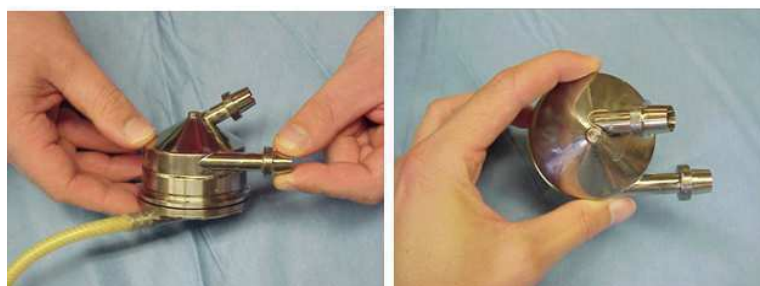
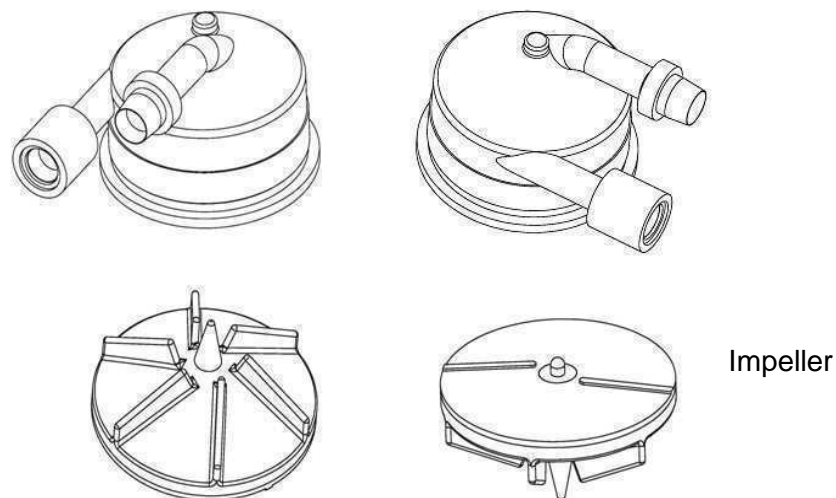


Abbildung 8: Darstellung der Gyro Zentrifugalpumpe.

Das Gyro BVAD besteht aus zwei Zentrifugalpumpen für die rechts- und linksventrikuläre Unterstützung.

1.6 Fluiddynamische Strömungskräfte in nonpulsatilen VAD

Für das Verständnis der folgenden Untersuchungen werden einige Definitionen aus dem Bereich der Strömungslehre benötigt. Die Blutkomponenten sind innerhalb nonpulsatiler VAD in besonderem Maße Kräften ausgesetzt, die sich unter anderem als Reibung beim Strömen äußern. Wichtige Begriffe, die bei der Betrachtung dieser fluiddynamischen Prozesse eine Rolle spielen sind die Scherrate und die Schubspannung.

Eine laminare Strömung wird als Folge der Verschiebung unendlich dünner Flüssigkeitsschichten gegeneinander verstanden. Abbildung 9 stellt das Prinzip der Scherströmung zwischen zwei parallelen Platten dar.

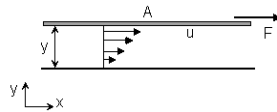


Abbildung 9: Scherströmung zwischen zwei parallelen Platten

Eine bewegliche Platte der Fläche A bewegt sich mit der Geschwindigkeit u über eine feste Grundplatte. Dazu muß die Tangentialkraft F aufgebracht werden. Auf Grund der Haftbedingung an den Wänden entsteht im Fluid eine Scherung.

Der Geschwindigkeitsgradient du/dx wird als **Scherrate** (synonym Schergrad oder Schergeschwindigkeit) bezeichnet. Die Scherrate ist die Ableitung der Geschwindigkeit nach einer zur Geschwindigkeitsrichtung senkrechten Raumkoordinate. Die Einheit der Scherrate ist s^{-1} . Die Verschiebung der Schichten mit der Geschwindigkeit u wird durch eine von außen tangential zur Fläche A einwirkende Kraft F verursacht. Diese von außen aufzubringende Kraft pro Flächeneinheit ist die **Schubspannung** die in 10^{-3} Pa bzw. mPa angegeben wird. Die Schubspannung ist nach Newton proportional zur Scherrate. Der Zusammenhang zwischen Schubspannung und Scherrate ist abhängig von der Viskosität und wird durch das Newtonsche Reibungsgesetz gegeben:

$$\tau = \eta \times \frac{du}{dy} = \eta \times \dot{\gamma}$$

Formel 1: Newtonsches Reibungsgesetz

Viskosität= η , Schubspannung = F/A , Scherrate = du/dy

Unter Anwendung von computersimulierten Darstellungen der Flussprofile (engl. computational flow dynamics=CFD), können die fluiddynamischen Kräfte innerhalb von Zentrifugalpumpen berechnet und Zonen unterschiedlicher Schubspannungen dargestellt werden. Hierbei ist die Höhe der Scherrate von der Umdrehungszahl des Imellers abhängig. CFD-Studien an der Gyro Zentrifugalpumpe zeigen, dass die Höhe der Scherrate bei Umdrehungszahlen von 1400 bis 2400 U/min in einem Bereich zwischen 500 und 2500s⁻¹ liegt.^{20,21}

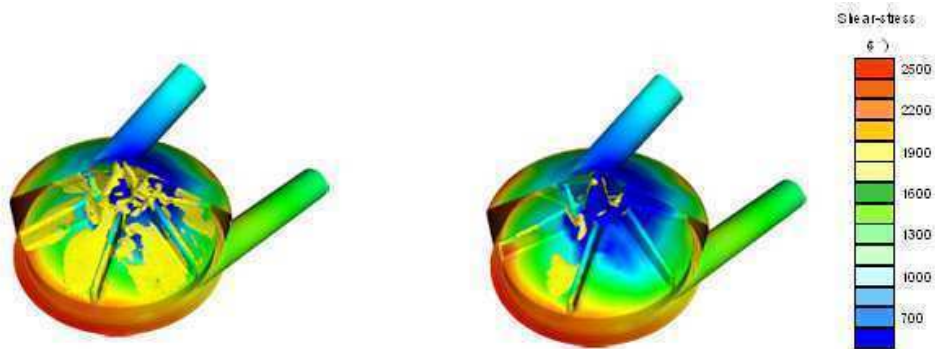


Abbildung 10: CFD-Analyse zur Ermittlung der Scherrate in Zentrifugalpumpen

Dargestellt sind Zonen unterschiedlicher Schubspannungen. Die Höhe der Scherrate ist bei gleicher Viskosität abhängig von der Umdrehungszahl des Impellers (2200 U/min (links) bzw. 1800 U/min (rechts)).

2 Fragestellungen

Die Forschung und Entwicklung erfolgte in drei Schritten:

- Die **präklinische Evaluation** des entwickelten Zentrifugalpumpen-Systems. Diese gliederte sich in *in-vitro* und *in-vivo* Versuchsreihen.
- Untersuchungen zur **Ursache der Thrombusbildung** in nonpulsatilen VAD.
- Untersuchungen zur **Verbesserung der Biokompatibilität** von nonpulsatilen VAD.

Die Themengebiete sollten folgende Fragestellungen beantworten:

Präklinische Evaluation des Zentrifugalpumpen-Systems, in-vitro Studien:

1. Wie ist die Hämolyserate der Zentrifugalpumpe?
Kann die Hämolysewirkung unabhängig von Hämoglobin und Hämatokrit sensitiv aus Vollblut erfasst werden?
2. Wie ist die Thrombogenität der Zentrifugalpumpe?
Bilden sich Thrombozyten-Mikroaggregate und wenn ja, wie ist das Ausmaß im Vergleich zu einer klinisch etablierten Referenzpumpe?

Präklinische Evaluation des Zentrifugalpumpen-Systems, in-vivo Studien:

3. Kann das entwickelte Gyro BVAD sicher und zuverlässig *in-vivo* betrieben werden?
4. Ist es möglich eine nonpulsatile Perfusion auch in einem *biventrikulären* Modus langfristig durchzuführen?
5. Welche Auswirkungen hat eine biventrikuläre nonpulsatilen Langzeitperfusion auf die Organfunktion, insbesondere auf die Lungenfunktion?
6. Kann das neue BVAD auch unter körperlicher Bewegung und Belastung sicher und funktionell betrieben werden, so dass im klinischen Einsatz eine Mobilisation der Patienten möglich sein wird?
7. Welchen Einfluß hat die veränderte hämodynamische Situation während körperlicher Belastung auf den Pumpenfluß des nonpulsatilen BVAD: kommt es zu einem Anstieg oder Abfall der Pumpenflüsse?
8. Welche Auswirkungen besitzt eine nonpulsatile biventrikuläre Perfusion auf die physiologische Regulation des Kreislaufs zu Beginn körperlicher Belastung?

Untersuchungen zur Ursache der Thrombusentstehung in nonpulsatilen VAD.

9. Welche Wechselwirkung tritt zwischen Blut und der im Blutkontakt stehenden Fremdoberfläche des nonpulsatilen VAD ein: kann trotz der enormen Flussgeschwindigkeiten eine Thrombozytenadhäsion an dieser Oberfläche stattfinden?
10. Welche Mechanismen liegen zugrunde, dass sich Thrombozyten unter den unphysiologisch hohen Strömungsgeschwindigkeiten an der im Blutkontakt stehenden Oberfläche von nonpulsatilen VAD anlagern können?
11. Kommt es trotz der kurzen Expositionsdauer innerhalb nonpulsatiler VAD zu einer Aktivierung von Thrombozyten aufgrund hoher fluiddynamischer Strömungseffekte: ist Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung ein Mechanismus bei der Bildung von Thromben in nonpulsatilen VAD?

Verbesserung der Biokompatibilität von nonpulsatilen VAD.

12. Kann durch Veränderung der physikalischen Topographie der im Blutkontakt stehenden Oberfläche, Einfluß auf die Thrombozytenadhäsion in nonpulsatilen VAD genommen werden?
13. Kann durch Veränderung der hydrophilen Eigenschaft der im Blutkontakt stehenden Oberfläche, Einfluß auf die Aktivierung des Gerinnungssystems genommen werden?
14. Ist es möglich einen Thrombozytenfunktionshemmer an die im Blutkontakt stehende Oberfläche eines nonpulsatilen VAD zu binden?
15. Kann durch eine Beschichtung der im Blutkontakt stehenden Oberfläche mit einem Thrombozytenfunktionshemmer, Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenadhäsion in nonpulsatilen VAD reduziert werden?

3 Originalarbeiten mit Zusammenfassung der Ergebnisse

3.1 Präklinische Evaluation der Zentrifugalpumpe, in-vitro Studien

3.1.1 Durchflußzytometrischer Nachweis von Erythrozytenfragmenten zur Bestimmung der Hämolysewirkung der Zentrifugalpumpe

Die Hämolysewirkung ist ein wesentlicher Parameter von Blutpumpen, da sie das Pumpen-induzierte Trauma auf die Blutzellen widerspiegelt. Zahlreiche Indizes wie der „Normalized Index of Hemolysis“ (NIH)²², der „Index of Hemolysis“ (IH)²³ oder der „Modified Index of Hemolysis“ (MIH)²⁴ wurden in der Vergangenheit eingeführt, um die Hämolyse rate von Blutpumpen zu quantifizieren. Alle diese Indices beruhen auf der Bestimmung des freien Hämoglobins im Plasma (fHb). Ziel der folgenden Versuchsreihe war, das entwickelte Zentrifugalpumpensystem auf seine Hämolysewirkung hin zu prüfen und es mit einem im klinischen Alltag bewährten Referenzsystem zu vergleichen. Versuchsaufbau- und ablauf zur in-vitro Evaluation der Hämolyse Indices von Blutpumpen sind durch internationale Normen (ASTM bzw. DIN) standardisiert.^{25,26,27} Jedoch bleibt die Verwendung der fHb Konzentration (und somit aller hiervon abgeleiteter Hämolyse Indices) zur Bestimmung der Hämolyseeigenschaft von Blutpumpen umstritten. Da es sich hierbei um ein „indirektes“ Verfahren zum Nachweis der Zelldestruktion handelt, mag diese Methode das wahre Ausmaß der Erythrozytendestruktion nicht exakt wiederzugeben. Zur Bestimmung der Hämolyseeigenschaft der entwickelten Zentrifugalpumpe wurde daher eine neue Nachweismethode entwickelt, die das zelluläre Trauma „direkt“ nachweisen kann. Kommt es aufgrund der mechanischen Beanspruchung innerhalb der Blutpumpe zur Zerstörung von Erythrozyten, entstehen sogenannte Erythrozytenfragmente. Es wurde eine durchflußzytometrische Methodik entwickelt, die mit hoher Sensitivität und Spezifität die Anzahl an Erythrozytenfragmenten in Vollblutproben nachweisen kann. Diese neue Methodik zeigte eine sehr gute Korrelation mit traditionellen Hämolyseparametern wie dem „Normalized Index of Hemolysis“ oder der LDH Konzentration im Blut. Somit beantwortete diese Versuchsreihe die Frage 1, indem gezeigt wurde, dass die Hämolysewirkung unabhängig von Hämoglobin und Hämatokrit sensitiv aus Vollblut erfasst werden kann. Obwohl in beiden Kreisläufen Erythrozytenfragmente auftraten, wurden in der Gruppe der neu entwickelten C1E3 Zentrifugalpumpe signifikant weniger Erythrozytenfragmente nachgewiesen als in der Rollerpumpen Gruppe. Da die Anzahl an gebildeten Erythrozytenfragmenten direkt das Ausmaß des Bluttraumas widerspiegelt, konnte durch diese Versuchsreihe auch der zweite Aspekt der Frage 1 beantwortet werden: Die entwickelte C1E3 Zentrifugalpumpe zeigt im Rahmen eines kardiopulmonalen Bypasses eine sehr niedrige und signifikant bessere Hämolyseeigenschaft als eine klinisch etablierte Referenzpumpe.

Direct detection of red blood cell fragments: a new flow cytometric method to evaluate hemolysis in blood pumps.

Linneweber J, Chow TW, Takano T, Maeda T, Nonaka K, Schulte-Eistrup S, Kawahito S, Elert O, Moake JL, Nosé Y.

ASAIO J. 2001 Sep-Oct;47(5):533-6.

3.1.2 Untersuchungen zum Nachweis und zur Quantifizierung von VAD-induzierten Thrombozyten-Mikroaggregationen

Neben der Hämolysewirkung ist die „Thrombogenität“ von VAD ein weiterer wichtiger Parameter. Hierbei ist die solide, d.h. makroskopisch sichtbare Thrombusbildung innerhalb der Blutpumpe von kleinsten Thrombozyten-Mikroaggregationen zu unterscheiden. Unter Thrombozyten-Mikroaggregationen versteht man die Vernetzung einiger weniger aktivierter Thrombozyten zu Thrombozytenkonglomeraten im Mikrometerbereich. Insbesondere bei der Anwendung von nonpulsatilen Blutpumpen im Rahmen des kardiopulmonaler Bypass konnten schon frühzeitig mikroembolische Signale per Dopplersonographie im arteriellen Gefäßsystem nachgewiesen werden. Jedoch besteht bis heute Uneinigkeit darüber, ob es sich bei diesen dopplersonographisch erfassten Signalen in der Mehrzahl um solide, d.h. von Thrombozyten ausgehende Mikroaggregationen, oder um gasförmige Gebilde handelt. Unabhängig von ihrem umstrittenen Aggregatzustand haben Mikroemboli erhebliche klinische Auswirkungen. Es wird spekuliert, dass Embolisierungen im Kapillarbett zu Störung der Mikrozirkulation führen. Neben anderen Ursachen wird z.B. die Störung der zerebralen Mikrozirkulation für das neurologisch-kognitive Defizit mit verantwortlich gemacht, welches in bis zu 70% aller Patienten nach kardiopulmonalem Bypass nachgewiesen werden kann.²⁸ Neben der Anwendung zur kurz- bis mittelfristigen mechanischen Kreislaufunterstützung sollte die entwickelte C1E3-Zentrifugalpumpe vor allem als Blutpumpe für den kardiopulmonalen Bypass bestimmt sein.

Ziel der Versuchsreihen war es, die unter 3.1.1 beschriebene durchflußzytometrische Methodik weiterzuentwickeln, um hiermit den Nachweis zu erbringen, dass es sich bei den detektierten mikroembolischen Signalen tatsächlich um solide, d.h. von vernetzten Thrombozyten ausgehende Mikroaggregationen handelt. Darüber hinaus sollte die „Thrombogenität“ der entwickelten C1E3-Zentrifugalpumpe bezüglich der Bildung dieser Thrombozyten-Mikroaggregationen untersucht werden und mit einer kommerziell verfügbaren und im klinischen Alltag routinemäßig eingesetzten Rollerpumpe verglichen werden.

Die entwickelte durchflußzytometrische Methodik konnte eindeutig die Bildung von Thrombozyten-Mikroaggregationen in dem Perfusat nachzuweisen. Obwohl in beiden zu vergleichenden Kreisläufen (Rollerpumpe vs. C1E3 Zentrifugalpumpe) zirkulierende Thrombozyten-Mikroaggregationen detektiert wurden, zeigte sich, dass die Menge an gebildeten Thrombozyten-Mikroaggregationen in der Zentrifugalpumpen-Gruppe signifikant geringer war. Diese Studie beantwortet somit die Frage 2 und belegt, dass die entwickelte C1E3 Zentrifugalpumpe neben guter Effizienz und geringer Hämolyse auch eine deutlich geringere „thrombogene Wirkung“ bezüglich sich bildender Mikroaggregationen entfaltet, als im kardiopulmonalen Bypass routinemäßig eingesetzte Rollerpumpen.

In vitro comparison of blood pump induced platelet microaggregates between a centrifugal and roller pump during cardiopulmonary bypass.

Linneweber J, Chow TW, Kawamura M, Moake JL, Nosè Y.

Int J Artif Organs. 2002 Jun;25(6):549-55.

3.2 Präklinische Evaluation der Zentrifugalpumpe, in-vivo Studien

3.2.1 Aufrechterhaltung der Lungenfunktion unter biventrikulärer nonpulsatiler Langzeitperfusion

Nachdem die vorangegangenen in-vitro Versuche gezeigt hatten, dass die entwickelte Zentrifugalpumpe gute Hämolyse- sowie antithrombogene Eigenschaften besitzt und somit in der Lage sein könnte auch eine langfristige Kreislaufunterstützung zu leisten, mußte die Durchführbarkeit einer langfristigen nonpulsatilen, biventrikulären Kreislaufunterstützung durch in-vivo Studien bewiesen werden.

Alle bislang für die langfristige Kreislaufunterstützung eingesetzten nonpulsatilen VAD sind nur für eine univentrikuläre (in der Regel linksventrikuläre) Unterstützung ausgelegt. Nur wenige Informationen liegen über die Auswirkungen einer *langfristigen biventrikulären nonpulsatilen Kreislaufunterstützung* vor. Insbesondere sind Folgen einer fortgesetzten nonpulsatilen Perfusion auf die Lungenfunktion weitgehend unbekannt. Einige frühe Publikationen beschreiben unter fortgesetzter nonpulsatiler Perfusion einen Anstieg des mittleren pulmonalarteriellen Drucks und des pulmonalvaskulären Widerstands im Vergleich zu einer pulsatilen Perfusion.^{29,30} Darüber hinaus ist während der Durchführung einer biventrikulären mechanischen Kreislaufunterstützung eine kontrollierte Steuerung beider Blutpumpen zwingend notwendig, so dass stets eine Balance zwischen den geförderten Flussvolumina des LVAD und des RVAD besteht. Die Ziele der Versuchsreihe lagen darin, den Nachweis über die langfristige Durchführbarkeit einer solchen balancierten Flußführung zu erbringen. Weiterhin sollte untersucht werden, ob eine langfristige nonpulsatile Perfusion Veränderungen in der Hämodynamik des Lungenkreislaufs hervorruft.

Alle im Folgenden beschriebenen tierexperimentellen Untersuchungen wurden am Baylor College of Medicine, Houston, TX. USA durchgeführt. Sie sind nach Prüfung durch die Ethikkommission und Tierschutzkommission bewilligt worden (Internal Review Board number IRB AN-362 version 4) und wurden in Übereinstimmung mit dem „Guide for the care and use of laboratory animals“ des US-amerikanischen „National Research Council“ durchgeführt.³¹

Diese in-vivo Untersuchungen beantworten die Fragen drei bis fünf. Sie zeigten, dass es möglich ist, auch im wachen und mobilisierten Versuchstier die Balance zwischen LVAD- und RVAD-Flüssen aufrechtzuerhalten. Das entwickelte Gyro BVAD konnte sicher und zuverlässig betrieben werden. Mit Ausnahme eines Versuchstieres konnte bei allen Versuchstieren eine gute Lungenfunktion in dem Beobachtungszeitraum aufrechterhalten werden. Durch die langfristige biventrikuläre nonpulsatile Perfusion konnten keine negativen Auswirkungen auf die Lungenfunktion beobachtet werden.

Assessing the calf pulmonary function during a long-term biventricular assist device study with a centrifugal blood pump.

Nonaka K, Linneweber J, Ichikawa S, Kawahito S, Motomura T, Ishitoya H, Oestmann D, Glueck J, Nosé Y.

Artif Organs. 2002 Nov;26(11):924-6.

3.2.2 Kreislaufregulation unter Belastung in Kälbern mit einem implantierbaren biventrikulären nonpulsatilen VAD

Ein wesentliches Ziel bei der Entwicklung eines neuen VAD-Systems ist es, das System so zu gestalten, dass Patienten eine mobile und ambulante Lebensführung ermöglicht wird. Um eine ambulante Lebensführung zu gewährleisten, besteht die Notwendigkeit, dass das VAD bei körperlicher Bewegung keine Funktionseinschränkung aufweist. Weiterhin muss es den veränderten Kreislaufbedingungen unter Belastung mit erhöhten vaskulären Widerständen, steigender Herzfrequenz etc. gerecht werden. Der Einfluß einer biventrikulären nonpulsatilen Perfusion auf die Regulation des Kreislaufs zu Beginn körperlicher Belastung („Startreaktion“) und vice versa, der Effekt der veränderten Hämodynamik auf die Leistung der Zentrifugalpumpen ist weitgehend unbekannt.

Die Ziele der folgenden Versuchsreihe waren die Funktionalität, Haltbarkeit und Sicherheit des Gyro BVAD unter körperlicher Belastung zu untersuchen. Weiterhin sollte untersucht werden, wie sich die VAD Flüsse unter belastungsinduzierter Veränderung der Kreislaufparameter verhalten und ob die physiologische Kreislaufregulation zu Beginn körperlicher Belastung durch eine nonpulsatile biventrikuläre Perfusion beeinflusst wird.

Im Anschluss an eine zehntägige Rekonvaleszenz nach BVAD Implantation und Gewöhnung an ein Laufbandergometer, wurden die Versuchstiere regelmäßigen Belastungstests unterzogen.

Diese Versuchsreihe beantwortet die Fragen sechs bis acht. Das System bewies seine Fähigkeit, die Unterstützung des Kreislaufs nicht nur in Ruhe, sondern auch unter körperlicher Aktivität und Belastung sicher und störungsfrei aufrecht zu erhalten. Ferner konnte gezeigt werden, dass die nonpulsatile biventrikuläre Perfusion die physiologische „Startreaktion“ zu Beginn körperlicher Belastung nicht beeinflusst. Jedoch zeigte sich, dass die veränderte hämodynamische Situation unter Belastung keinen Einfluß auf den Pumpenfluß des nonpulsatilen BVAD ausübt. Es kam weder zu einem Anstieg noch zu einem Abfall der Pumpenflüsse.

Hemodynamic exercise response in calves with an implantable biventricular centrifugal blood pump.

Linneweber J, Nonaka K, Takano T, Kawahito S, Schulte-Eistrup S, Motomura T, Ichikawa S, Mikami M, Stevens S, Schima H, Wolner E, Nosé Y.

Artif Organs. 2001 Dec;25(12):1018-21.

3.3 Untersuchungen zur Ursache der Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD

Während der voran beschriebenen, ersten in-vivo Versuchsserie, zeigte sich in acht von zwölf implantierten Zentrifugalpumpen solide Thrombusbildung innerhalb der Pumpengehäuse bzw. auf dem Impeller. Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen der Endorgane offenbarten entsprechende Makro- und Mikroembolien. In zwei Fällen wurden Thromben in der Lungenstrombahn bzw. renale Infarkte nachgewiesen.



Abbildung 11: Thrombusbildung am Impeller der Zentrifugalpumpe

Aufsicht auf den Impeller aus in-vivo Versuch Nr. 3. Der Impeller zeigt an der Seite sowie hinter den Schaufeln und an der Unterseite solide Thromben.



Abbildung 12.: Pathologisch-anatomische Untersuchung der Endorgane

Die pathologisch-anatomischen Untersuchungen offenbarten Niereninfarkte (links, mitte) unterschiedlichen Alters bzw. Thromben in Lappen- und Segmentarterien der Lungen (rechts).

Für die weitere Entwicklungstätigkeit war es zwingend notwendig, die zugrunde liegenden Mechanismen der Thrombusbildung aufzudecken. Die folgenden Versuchsreihen sollten daher die Ursachen der Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD untersuchen.

3.3.1 Vermehrte Bindung des von Willebrand Faktor an Thrombozyten in nonpulsatilen VAD: Evidenz für Scher-induzierte Thrombozytenaggregation

Die Lokalisation der beobachteten Thromben an der Peripherie bzw. an den Schaufeln des Impellers (Abbildung 11), weist eine auffallende Korrelation mit Zonen hoher Scherrate aus den CFD Analysen der Gyro Zentrifugalpumpe auf (vgl. Abbildung 10 auf Seite 14). Thrombozyten können durch den physikalischen Mechanismus der Scherung aktiviert werden.^{32,33} Es wurde daher spekuliert, dass *Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung* eine spezifische Ursache für die Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD sein könnte. Die subzellulären Mechanismen Scher-induzierter Thrombozytenaktivierung wurden in den letzten Jahren detailliert beschrieben. Es gilt heute als bewiesen, daß die Bindung von gelöstem von Willebrand Faktor an den Glycoprotein GP-Ib-IX-V Rezeptor-Komplex der initiale Schritt bei dieser Form der Thrombozytenaktivierung ist. Die Bindung des von Willebrand Faktor an den GPIb-Rezeptor ist bislang nur bei Scher-induzierter Thrombozytenaktivierung beschrieben worden und gilt als beweisend für diesen Mechanismus der Thrombozytenaktivierung.^{34 - 38}

In der folgenden Versuchsreihe wurde untersucht, ob es aufgrund der auftretenden Scherkräfte innerhalb der Zentrifugalpumpe tatsächlich zu einer vermehrten Bindung des von Willebrand Faktors an Thrombozyten kommt. Zudem sollte durch gezielte Inhibierungsstudien untersucht werden, welche subzellulären Mechanismen zugrunde liegen, dass Thrombozyten -den unphysiologisch hohen Strömungsgeschwindigkeit zum Trotz- auf dem Impeller der Zentrifugalpumpe binden können. Hierzu wurde in einem in-vitro Versuchsaufbau humanes Vollblut mit dem Gyro VAD zirkuliert und die Bindung des von Willebrand Faktor an den Thrombozyten GPIb-Rezeptor-Komplex durchflußzytometrisch bestimmt.

Nach Perfusion konnte in allen Versuchen eine signifikant vermehrte Anlagerung von vWF an Thrombozyten nachgewiesen werden. Die Inhibierung der Thrombozytenrezeptoren zeigte eine dosisabhängige Reduktion adhärenter Thrombozyten auf dem Impeller der Zentrifugalpumpe. Elektronenmikroskopische Analysen der Impelleroberfläche bestätigten diese immunhistochemischen Ergebnisse. Diese Versuchsreihe beantwortet die Fragen 9 bis 11 zur Ursache der Thrombusentstehung in nonpulsatilen VAD. Sie beweist, dass Thrombozyten trotz der kurzen Expositionsdauer innerhalb nonpulsatiler VAD durch Scher-induzierte Mechanismen aktiviert werden. Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung ist somit ein entscheidender Faktor bei der Entstehung von Thromben innerhalb nonpulsatiler VAD Systeme.

Increased Von Willebrand Factor Binding to Platelets in Continuous Flow: Evidence for Shear-Induced Platelet Aggregation.

Linneweber J, Dohmen PM, Kersch U, Affeld K, Konertz W

Cardiovasc Sci Forum 2007; Vol. 2 (No.4): 12-25.

3.4 Verbesserung der Biokompatibilität nonpulsatiler VAD

3.4.1 Effekt der Oberflächentopographie auf die Aktivierung des Gerinnungssystems und Thrombozyten-Adhäsion in nonpulsatilen VAD

Die vorangegangene Studie zeigte, dass Thrombozyten aufgrund der hohen Scherkräfte innerhalb der Zentrifugalpumpe aktiviert werden. Es gilt heute jedoch als unbestritten, daß aktivierte Thrombozyten nicht direkt an einem Fremdmaterial binden können. Gelangt ein Fremdmaterial in Kontakt mit Blut, kommt es unmittelbar bei Blutexposition zu einer Proteindeposition auf der Fremdoberfläche. Diese adsorbierten Plasmaproteine bilden einen sogenannten „Biofilm“, welcher erst die Grundlage für die sekundär erfolgende Thrombozytenadhäsion ist. Es sollte daher der Frage nachgegangen werden, ob durch physikalische Maßnahmen eine Reduktion der Menge an adsorbiertem Plasmaprotein und somit eine Verbesserung der Thrombogenität der Zentrifugalpumpe zu erreichen ist. Speziell sollte untersucht werden, inwieweit durch Veränderung der Oberflächentopographie (Oberflächenrauigkeit) der im Blutkontakt stehenden Grenzfläche, Einfluss auf diesen Biofilm und die Thrombozytenadhäsion in nonpulsatilen VAD genommen werden kann. Darüber hinaus kommt es an Fremdoberflächen aber auch zur Kontaktaktivierung des Gerinnungssystems. Der Einfluß der Rautiefe, also der mittleren Oberflächenrauigkeit, von nonpulsatilen VAD auf die Aktivierung des Gerinnungssystems sind bislang unbekannt.

Drei baugleiche Gyro VAD wurden hergestellt, die sich in der mittleren Rautiefe der im Blutkontakt stehenden Oberfläche im Pumpeninneren unterschieden. Die Adsorption von Proteinen sowie die Thrombozyten-Adhäsionen wurden auf den jeweiligen Oberflächen der Zentrifugalpumpe untersucht. Ferner wurden durch Bestimmung von Prothrombin F1.2 Fragmenten und Thrombin-Antithrombin-Komplexen (TAT) die Auswirkungen der Oberflächenrauigkeit auf die Aktivierung des Gerinnungssystems untersucht.

Obwohl es infolge der Perfusion zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems kam, konnte kein signifikanter Unterschied im Ausmaß der Gerinnungsaktivierung zwischen den unterschiedlich rauen Zentrifugalpumpen gefunden werden. Im Gegensatz hierzu zeigte sich, dass durch Veränderung der physikalischen Topographie der im Blutkontakt stehenden VAD-Oberfläche durchaus Einfluß auf die initiale Proteindeposition und damit sekundär auf die Menge adsorbierter Thrombozyten genommen werden kann. Diese Versuchsreihe beantwortet die Frage zwölf: Durch Veränderung der Beschaffenheit (Rauigkeit“) der im Blutkontakt stehenden VAD-Oberfläche kann die von der Proteindeposition abhängige sekundäre Thrombozytenadhäsion verringert werden.

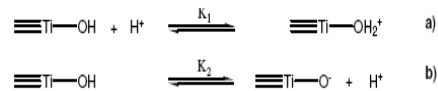
The effect of surface roughness on activation of the coagulation system and platelet adhesion in rotary blood pumps.

Linneweber J, Dohmen PM, Kertzsch U, Affeld K, Nosé Y, Konertz W.

Artif Organs. 2007 May;31(5):345-51

3.4.2 Modifizierung der VAD Oberfläche in ein hydrophiles Titania Gel

Der Werkstoff Titan, bzw. die Titanlegierung Ti6Al4V hat sich aufgrund seiner Materialeigenschaften als Implantatmaterial bei Langzeit VAD bewährt. Dies begründet sich aufgrund seiner guten Eigenschaften mit niedriger Wärmeleitfähigkeit, hoher Festigkeit und ausgezeichneter Korrosionsbeständigkeit. Die gute Gewebeverträglichkeit beruht im Wesentlichen darauf, dass Titan bei Kontakt mit Sauerstoff spontan eine ca. 10 nm dicke passivierende Oxidschicht ausbildet.³⁹



Reaktionsgleichung 1: Amphoterer Verhalten von hydroxyliertem TiO₂ in wässrigem Medium. Die Hin- und Rückreaktion stehen in einem dynamischen Gleichgewicht a) Formale Reaktion als Base durch Protonenaufnahme b) Formale Reaktion als Säure durch Protonenabgabe

Im wässrigen Milieu liegt die Oberfläche dieser Oxidschicht hydroxyliert vor und reagiert amphoter, d.h. sowohl als Säure als auch als Base. Die Säure-Base-Reaktionen erzeugen eine Oberflächenladung, die vom pH-Wert abhängig ist. Der Punkt, an dem die Oberfläche ungeladen ist (Ti-OH) bzw. die Anzahl positiver (Ti-OH₂⁺) und negativer Ladungen (Ti-O⁻) gleich groß ist, wird pH_{pzc} (pzc = point of zero charge) genannt. Bei Titanoxid liegt dieser Punkt zwischen pH=4,5 und pH=6,5. Oberhalb des pH_{pzc} ist die Oberfläche negativ, unterhalb positiv geladen. Aus diesem Grund ist die Oberfläche von Titan unter physiologischem pH-Wert von 7,4 negativ geladen. Bei Blutkontakt erweist sich dies als problematisch, da durch den Kontakt von Blut mit negativ geladenen Oberflächen das Gerinnungssystem aktiviert und die Gerinnungskaskade ausgelöst wird.⁴⁰ Diese Aktivierung des Gerinnungssystems konnte in der zuvor beschriebenen Studie (vgl. 3.4.1) nachgewiesen werden.

Ziel der folgenden Versuchsreihe war zu untersuchen, ob durch ein chemisch-thermisches Verfahren die Fremdoberfläche des nonpulsatilen VAD so modifiziert werden kann, dass die beobachtete Aktivierung des Gerinnungssystems minimiert wird.

Hierzu wurde die Oberfläche der für das Gyro-VAD verwendeten Titanlegierung Ti6Al4V in ein sogenanntes Titania-Gel überführt und die Bildung von Thrombin an Titania-Gel Oberflächen bzw. an unbehandelten Ti6Al4V Oberflächen verglichen. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen zeigen, dass in der Titania-Gel Gruppe die Thrombinbildung signifikant geringer war als in der unbehandelten Kontrollgruppe. Diese Versuchsreihe beantwortet die Frage 13. Durch chemisch-thermische Oberflächenmodifizierung kann die hydrophile Eigenschaft der im Blutkontakt stehenden VAD-Oberfläche verändert werden. Hierdurch kann die Aktivierung des Gerinnungssystems an der Fremdoberfläche von VAD minimiert werden.

Titania gel reduces thrombin generation.

Ishitoya H, Kawamura M, Linneweber J, Motomura T, Ichikawa S, Nishimura I, Glueck J, Shinohara T, Nosé Y.

Artif Organs. 2002 Nov;26(11):959-63.

3.4.3 Lokale Freisetzung eines Glycoprotein IIb/IIIa Rezeptor Inhibitors von der Oberfläche reduziert Thrombozytenadhäsionen in nonpulsatilen VAD

Die Ergebnisse der vorangegangenen Versuchsreihen zeigten, dass Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung und die Interaktion von adsorbiertem Fibrinogen als auch von Willebrand Faktor wesentliche pathophysiologische Mechanismen darstellen, die zur Entstehung von Thromben auf der Grenzfläche von nonpulsatilen VAD führen. Diese Ergebnisse führten zu dem Schluß, dass die spezifische Inhibierung der von Willebrand Faktor-GPIIb- bzw. von Willebrand Faktor-GPIIb/IIIa -Achse ein entscheidendes Angriffsziel darstellen könnte, um Thrombozytenaktivierung und konsekutive Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD zu begegnen. Die systemische Gabe eines von Willebrand Faktor Inhibitors bzw. von Thrombozytenrezeptorinhibitoren ist jedoch im Rahmen der klinischen Anwendung einer mechanischen Kreislaufunterstützung derzeit unmöglich, da es mit größter Wahrscheinlichkeit zu unkontrollierbaren Hämorrhagien kommen würde.

Die folgende Studie sollte die Fragen 14 und 15 der Fragestellung beantworten: Sie sollte untersuchen ob es möglich ist, einen kleinmolekularen GPIIb/IIIa Rezeptor Inhibitor an die Oberfläche eines nonpulsatilen VAD zu binden und von dieser kontrolliert abzugeben. Ferner sollte untersucht werden, ob durch die lokale Wirkstoffabgabe von der Zentrifugalpumpenoberfläche eine Verringerung der Thrombozytenadhäsion innerhalb der Zentrifugalpumpe bewirkt werden kann.

Die Versuchsreihe konnte zeigen, dass ein kleinmolekularer Thrombozytenfunktionshemmer an die im Blutkontakt stehende Oberfläche eines nonpulsatilen VAD gebunden werden kann. Durch lokale Freisetzung dieses Wirkstoffs kann Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenadhäsion im Inneren der Blutpumpe reduziert werden.

Local glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitor delivery from the pump surface attenuates platelet adhesion in continuous flow ventricular assist devices.

Linneweber J, Dohmen PM, Kertzsch U, Affeld K, Konertz W.

Artif Organs. 2008 Oct;32(10):792-9

3.4.4 Aktueller Status des Gyro BVAD

Nachdem Methoden zur Verbesserung der Biokompatibilität zur Anwendung kamen, wurden weitere in-vivo Langzeit-Versuche mit dem Gyro BVAD durchgeführt. Neben der Überprüfung der Wirksamkeit dieser Materialverbesserungen war das Ziel dieser Versuchsreihe, die Sicherheit, Zuverlässigkeit und Effektivität des Systems vor dem Beginn klinischer Studien zu demonstrieren. Das BVAD wurde in weitere acht Kälber (Alter zwischen 6-8 Monate, mittleres Gewicht 65 kg) implantiert. Alle Versuchstiere konnten für einen Zeitraum von mehr als vier Wochen biventrikulär unterstützt werden. Die Kreislaufunterstützung wurde für einen Zeitraum zwischen 37 und 90 Tagen durchgeführt. Während des Versuchszeitraums zeigten sich keinerlei mechanische oder elektrische Fehlfunktionen. Während des gesamten Beobachtungszeitraums zeigten die Tiere keine klinischen Zeichen für thromboembolische Ereignisse. Auch die pathologisch-anatomischen Begutachtungen zeigten keine signifikanten Infarktgebiete in den untersuchten Organen. Alle Versuchstiere zeigten eine gute pulmonale Funktion mit regelrechtem Blut-Gasaustausch. Es kam zu keiner klinisch relevanten pulmonalen Stauung während des Beobachtungszeitraums.

Diese Versuchsreihe zeigte, dass das neu entwickelte implantierbare BVAD sicher und zuverlässig betrieben werden kann. Es konnte eine gute Biokompatibilität und ein guter Wirkungsgrad in-vivo erzielt werden. Diese in-vivo Versuchsreihe schloss die präklinische Evaluation des Gyro BVAD ab.

Current status on the development of a totally implantable biventricular assist device: the Baylor Gyro BVAD.

Linneweber J, Nonaka K, Ichikawa S, Ishitoya H, Motomura T, Nosé Y.

Thorac Cardiovasc Surg. 2004 Feb;52(1):1-5.

4 Diskussion

Rationale für die Entwicklung eines“ implantierbaren, biventrikulären“ VAD

Die Prävalenz der Herzinsuffizienz in der Gesamtbevölkerung wird in den westlichen Ländern auf ca. 3% geschätzt mit einem dramatischen Anstieg auf bis zu 13% bei über 65jährigen.⁴¹ Gegenwärtig ist die orthotope Herztransplantation immer noch die effektivste Behandlung der terminalen Herzinsuffizienz mit 1-Jahres-Überlebensraten von 80% und 10-Jahres-Überlebensraten von 50%.⁴² Jedoch verbleibt die Bereitschaft zur Organspende in der Bevölkerung seit Jahren auf einem unzureichenden Niveau. In nahezu allen westlichen Ländern sind die Transplantationszahlen stagnierend oder sogar rückläufig. Einem Großteil der Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz kann somit nicht rechtzeitig durch eine Herztransplantation geholfen werden. Angesichts der begrenzten Ressourcen aufgrund des chronischen Mangels an Organspendern ist die Wartezeit auf ein Spenderorgan in den westlichen Ländern in den letzten Jahren nicht gesunken. Unverändert versterben aufgrund der langen Wartezeit ca. ein Drittel der Patienten, die für eine Transplantation gelistet sind. Hieraus ergibt sich die dringende Notwendigkeit zur Entwicklung von zuverlässigen VAD Systemen, die die Wartezeit sicher und effektiv überbrücken können. Die Anwendung langfristiger mechanischer Kreislaufunterstützung bis ein Spenderorgan gefunden ist, wird aufgrund des persistierenden Organmangels auch zukünftig eine wichtige Rolle spielen. Bedingt durch die zunehmend höhere Lebenserwartung in der Bevölkerung werden Inzidenz und Prävalenz der Herzinsuffizienz weiter zunehmen. Die Herzinsuffizienz wird deshalb eine der zentralen Herausforderungen für das Gesundheitswesen darstellen wobei das „bridge to destination“ Konzept zunehmend an Bedeutung gewinnen wird.

Erhebliche Fortschritte sind im Bereich der mechanischen Kreislaufunterstützung in den letzten Jahrzehnten erzielt worden. So sind ehemals häufig zu beobachtende Komplikationen aufgrund von Materialermüdung heute in den Hintergrund getreten. Neben thrombembolischen Ereignissen beherrschen jedoch nach wie vor zwei weitere Komplikationen die Komorbidität und Mortalität während langfristiger mechanischer Kreislaufunterstützung: Das Auftreten einer akuten rechtsventrikulären Dysfunktion (Rechtsherzversagen) nach Implantation eines linksventrikulären VAD sowie Infektionen entlang transkutaner Einflußconduits und Steuerkabel. In der frühen Entwicklungsgeschichte der VAD wurde zunächst fälschlicher Weise angenommen, dass eine univentrikuläre Unterstützung durch ein linksventrikuläres VAD in den meisten Fällen von Herzinsuffizienz ausreichen würde, um einen suffizienten Kreislauf sicherzustellen. Mit zunehmender klinischer und experimenteller Erfahrung zeigte sich jedoch, dass 20-40% der Patienten, die mittels linksventrikulärem VAD unterstützt werden, im Verlauf dieser assistierten Zirkulation ein relevantes und pharmakologisch nicht zu beherrschendes

Rechtsherzversagen entwickeln. Relativ schnell wurde klar, dass ein linksventrikuläres VAD neben seinen Vorteilen auch negative Auswirkungen auf die Determinanten der rechtsventrikulären Funktion wie Vorlast, Nachlast und Kontraktilität entfaltet. Im Gegensatz zur physiologischen, d.h. in Serie geschalteten Anordnung der beiden Ventrikel, arbeitet das LVAD parallel zum linken Ventrikel. Hierdurch wird die rechtsventrikuläre Vor- und Nachlast durch Flussveränderungen beeinträchtigt. Darüber hinaus kommt es zu einer mechanischen Beeinträchtigung der rechtsventrikulären Funktion. Die linksventrikuläre Füllungsentlastung („unloading“) und die resultierende Reduktion der linksventrikulären Kammergröße führt zu einer Septumverschiebung wodurch der rechte Ventrikel in seiner Mechanik behindert wird. Diese Septumverlagerung führt zusätzlich zu einer vermehrten rechtsventrikulären Füllung. Die vermehrte rechtsventrikuläre Füllung sowie der durch das linksventrikuläre VAD bedingte erhöhte venöse Rückfluß, beeinträchtigen die rechtsventrikuläre Funktion infolge Vorlastanstieg.

Hauptsächlich ist die rechtsventrikuläre Funktion jedoch Nachlast-abhängig, weshalb die rechtsventrikuläre Ventrikelfunktion sehr vom pulmonalarteriellen Gefäßwiderstand abhängt. Bei normalem pulmonalvaskulärem Widerstand reduziert ein linksventrikuläres VAD die rechtsventrikuläre Arbeit durch Nachlastsenkung. Bei Patienten mit langjähriger Herzinsuffizienz stellt sich im Rahmen der Grunderkrankung jedoch häufig ein sekundärer pulmonaler Hypertonus ein. Besteht eine Widerstandserhöhung in der Lungenstrombahn oder gar ein fixierter pulmonaler Hypertonus, verursacht ein linksventrikuläres VAD eine Rechtsherzbelastung durch Volumenlast ohne eine Verbesserung des rechtsventrikulären Widerstandes leisten zu können. In solchen Fällen ist von einer univentrikulären Unterstützung Abstand zu nehmen und eine biventrikuläre Unterstützung indiziert.

Bis heute kann eine rechtsventrikuläre Dysfunktion nach LVAD-Implantation trotz sorgfältigster Evaluierung der pulmonalarteriellen Drucke und pulmonalvaskulären Widerstände vor elektiver VAD-Implantation nicht sicher vorhergesagt werden. Die klinische Erfahrung zeigt, dass der rechte Ventrikel aufgrund seiner vergleichbar geringeren Pumpleistung in vielen Fällen nicht in der Lage ist, mit dem zusätzlichen LVAD-Volumen mitzuhalten. Somit besteht ein wesentlicher Faktor für das Überleben unter linksventrikulärer Kreislaufunterstützung darin, dass die Funktion und Auswurfleistung des rechten Ventrikels eine ausreichende Füllung des LVAD gewährleisten kann.

Dass Verhindern dieses Rechtsherzversagens und die Unterstützung der rechtsventrikulären Funktion muss also integraler Bestandteil im Konzept eines neu zu entwickelnden Systems zur mechanischen Kreislaufunterstützung sein. Hieraus resultiert die Forderung nach einem VAD, welches sowohl univentrikulär, vor allem aber auch biventrikulär den Kreislauf unterstützen kann.

Infektionen entlang transkutaner Einflußconduits und Steuerkabel stellen nach wie vor die zweite schwerwiegende Komplikation im Rahmen der mechanischen Kreislaufunterstützung dar. In einer retrospektiven Studie beschrieben Zierer et. al.⁴³ bei 23% der Patienten, die mit einem VAD der zweiten Generation unterstützt wurden, eine schwere Infektion. Bemerkenswert erscheint, dass in 71% der Fälle die Infektion durch ein leichtes Bagateltrauma (z.B. durch das Fallenlassen der Batterie- und Treibereinheit) an der transcutanen Kabelführung verursacht wurde. Solche Bagateltraumen an transcutanen Steuerkabeln bzw. Ein- und Ausflußconduits sind jedoch nicht zu vermeiden, wenn Patienten eine mobile Lebensführung unter VAD Unterstützung ermöglicht werden soll. Allerdings, so zeigte die Studie, steigt durch diese Bagateltraumen das kumulative Risiko einer sogenannten „drive-line“ Infektion mit zunehmender Unterstützungsdauer dramatisch an. Schreiten diese Infektionen voran entstehen gefürchtete VAD-Prothesen Infektionen. Diese stellen trotz maximaler intensivmedizinischer Betreuung nach wie vor ein bedrohliches Krankheitsbild dar und sind oftmals nur durch Entfernung des Systems und eine schnelle Transplantation zu beherrschen.⁴⁴

Abgesehen von der umstrittenen Möglichkeit der Implantation eines totalen Herzersatzes, war bis dahin eine biventrikuläre mechanische Kreislaufunterstützung nur mit extrakorporal gelegenen VAD Systemen möglich. Die großlumigen Ein- und Ausflußgrafts potenzieren jedoch das Risiko einer transcutanen Infektion des Systems erheblich. Aus diesen klinischen Beobachtungen resultiert die Forderung nach einem „implantierbaren“ VAD System, bei dem zwei Pumpenköpfe in-situ platziert werden können.

In den hier vorgestellten Studien wurden erstmals die beiden vorgenannten Forderungen erfüllt. Es wurde ein „*implantierbares biventrikuläres VAD*“ entwickelt und in experimentellen in-vitro und in-vivo Versuchen evaluiert.

Hämolyseeigenschaft der entwickelten Gyro Zentrifugalpumpe

Die Hämolysewirkung ist einer der wichtigsten Parameter zur Qualitätsbestimmung einer Blutpumpe. Während der assistierten Kreislaufunterstützung kommt es durch die mechanische Belastung zur Erythrozytendestruktion und zur Freisetzung von Hämoglobin. Bereits 1938 beschrieben Ottenberg et. al.⁴⁵ die Nephrotoxizität von freiem Hb (fHb) und ermittelten experimentell eine renale Schwellenkonzentration von 150 mg% fHb. Kommt es zu einer Überschreitung dieser Blutkonzentration führt dies zu einer Hämoglobinurie und Nierenschädigung. Aufgrund dieser nachgewiesenen nephrotoxischen Wirkung des fHb, stellte sich schon frühzeitig in der Entwicklung von „Kunsth Herzen“ die Frage, wieviel Hämolyse eine Blutpumpe auslösen darf bzw. wieviel fHb Bildung durch den Organismus langfristig tolleriert werden kann. Basierend auf Versuchsreihen, in denen Hunden bzw. Kaninchen kontinuierlich Hämoglobin infundiert wurde, ermittelten Bernstein et al. bereits 1964 eine Tolleranzschwelle von 0,1mg fHb/kg/Tag. Unter dieser chronischen fHb Belastung konnten keine pathologischen

Auswirkungen in den Tiermodellen beobachtet werden. Heutzutage ist der „Normalized Index of Hemolysis“ (NIH) der durch die „American Society for Testing and Materials“ (ASTM) standardisierte klinische Meßparameter zur Bestimmung der Hämolyseeigenschaft von Blutpumpen. In den letzten Jahren wurden NIH Werte für zahlreiche klinisch eingesetzte Zentrifugalpumpen experimentell ermittelt. Unter kardiopulmonalen Bypassbedingungen ermittelten Kawahito et al.⁴⁶ NIH Werte von 0,004 (g/100l) und 0,010 (g/100l) für die marktführenden Capiiox- (Terumo Inc., Tokyo, Japan) bzw. Biomedicus BP80- (Medtronic, Eden Prairie, MN, USA) Zentrifugalpumpen. Darüber hinaus wurden Grenzwerte für den NIH und ihre klinischen Auswirkungen beschrieben. Der klinisch akzeptable NIH Wert für nonpulsatile Blutpumpen wurde mit 0,02 (g/100l) ermittelt. Ab einem Wert von 0,04 (g/100l) kommt es zu einem Transfusionsbedarf. NIH Werte >0,06 (g/100l) führen zu einem kontinuierlich fHb Anstieg und sind langfristig nicht kompensierbar.⁴⁷

Unsere Versuchsreihen konnten zeigen, dass die entwickelte Zentrifugalpumpe im Rahmen eines kardiopulmonalen Bypass eine niedrige und zudem signifikant bessere Hämolyseeigenschaft aufweist, als eine klinisch etablierte Referenzpumpe. Weitere Studien zeigten eine lineare Korrelation zwischen fHb Werten, Umdrehungszahl des Impellers, sowie Druck- und Flussrate der Zentrifugalpumpe.⁴⁸ Es konnte demonstriert werden, dass die entwickelte Zentrifugalpumpe mit einem NIH <0,004 (g/100l) deutlich unterhalb der geforderten Schwelle von 0,02 (g/100l) liegt und somit eine sehr niedrige Hämolysewirkung besitzt. Aus diesen Ergebnissen wurde geschlossen, dass die entwickelte Zentrifugalpumpe aufgrund ihrer geringen Hämolyse rate auch zur langfristigen mechanischen Kreislaufunterstützung genutzt werden kann.

Aufgrund zahlreicher Nachteile ist die Verwendung des fHb bzw. des NIH zur Nominierung der Hämolyse von Blutpumpen jedoch umstritten. Zum einen sind das Auftreten und das Ausmaß von fHb sowohl vom mittleren korpuskulären Hämoglobingehalt (MCH) als auch vom Hämatokrit (HKT) der Blutprobe abhängig. Beides sind sehr variable Parameter, die die geforderte Standardisierung der Untersuchung erschweren. Weiterhin wird ein nicht unerheblicher Anteil des fHb an Haptoglobin gebunden bzw. über die Nieren filtriert, wodurch es sich dem laboranalytischen Nachweis im Plasma entzieht. Der entscheidende Nachteil der fHb Bestimmung und der o.g. Indizes besteht jedoch darin, dass die Blutprobe zur Bestimmung des fHb zunächst durch Zentrifugation in Plasma und korpuskuläre Phase getrennt werden muss. Dieses führt zu einem erheblichen artifiziellen Bluttrauma und scheint eine exakte Bestimmung der Hämolyseeigenschaft der zu untersuchenden (Zentrifugal-) Blutpumpe nahezu unmöglich zu machen.

Aus diesen Gründen sollte der Frage nachgegangen werden, ob die Hämolysewirkung auch unabhängig von Hämoglobin und Hämatokrit sensitiv aus Vollblut erfasst werden kann?

Hierzu wurde eine neue Methodik entwickelt, die das Blutpumpen-induzierte Zelltrauma unabhängig von Hämatokrit und Hämoglobinkonzentration bestimmen kann. Durch Anwendung einer durchflusszytometrischen Analyse wurde erstmals das Blutpumpen-induzierte Zelltrauma durch Bestimmung von Erythrozytenfragmenten erfasst. Die Ergebnisse zeigten eine sehr gute Korrelation mit den traditionellen Hämolysemarkern. Ein Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, dass die Bestimmung direkt aus der Vollblutprobe durchgeführt werden kann und somit keine Trennung von Plasma und korpuskulärer Phase durch Zentrifugation mehr notwendig ist. Ein weiterer Vorteil dieser Methode beruht auf der sehr hohen Sensitivität und vor allem Spezifität der Erythrozytenschädigung. Ob sich dieser neue Untersuchungsgang zur Beurteilung der VAD-induzierten Hämolyse in der klinischen Anwendung etablieren wird, ist derzeit noch ungewiss. Zwischenzeitlich nutzen auch andere Arbeitsgruppen diese von uns beschriebene Nachweismethode zur Bestimmung der Hämolysewirkung von Blutpumpen.⁴⁹ Eine weitere Standardisierung scheint jedoch notwendig, um das Verfahren in die breite klinische Praxis umzusetzen.

Thrombogenität der entwickelten Gyro Zentrifugalpumpe

Seit mehr als zwanzig Jahren ist bekannt, dass die nonpulsatile Perfusion im Rahmen des kardiopulmonalen Bypass mit einer Störung der Mikrozirkulation in den Endorganen einhergeht. Es wird spekuliert, dass neben anderen Mechanismen vor allem Mikroembolisationen im Kapillarstromgebiet zu Zirkulationsstörungen führen und hierdurch die Organperfusion schädigen. Unsere Versuchsreihen sollten daher die Frage beantworten, wie die Thrombogenität der entwickelten Zentrifugalpumpe ist und ob sich Thrombozyten-Mikroaggregationen innerhalb der Pumpe bilden?

Durch Blutpumpen bzw. Komponenten der Herzlungenmaschine ausgelöste zirkulierende Mikroemboli wurden bislang mittels transkranieller Dopplersonographie nachgewiesen.⁵⁰ In-vitro-Untersuchungen an künstlichen Kreisläufen⁵¹ oder Tiermodellen⁵² konnten zeigen, dass dopplersonographisch erfasste mikroembolische Signale (MES) hochspezifisch für die Passage embolischen Materials durch das beschallende Lumen sind. Es wurde ferner belegt, dass die transkranielle Dopplersonographie eine hochempfindliche Methode zur Detektion embolischen Materials darstellt, die in der Lage ist, solide Partikel ab einem Mindestdurchmesser von 40 µm und gasförmige ab einem Durchmesser von 10 µm zu erfassen.⁵³ Mikroembolisationen werden unter anderem für das kognitive Defizit nach extrakorporaler Perfusion verantwortlich gemacht. Die Annahme, dass die Inzidenz neuropsychologischer Defizite von der intraoperativen MES Anzahl abhängt wurde in mehreren Studien bestätigt.^{54,55}

Das Auftreten mikroembolischer Signale konnte jedoch nicht nur während des kurzfristigen kardiopulmonalen Bypass sondern auch in Patienten mit pulsatilen VAD während langfristiger mechanischer Kreislaufunterstützung nachgewiesen werden. In einer Untersuchung bei

Patienten, die mit dem Novoacor® LVAD unterstützt wurden, konnten Nabavi et al.⁵⁶ eine signifikante Korrelation zwischen der Häufigkeit detektierter mikroembolischer Signale und dem individuellen Risiko einer thromboembolischen Komplikation während mechanischer Kreislaufunterstützung zeigen.

Eine wesentliche Limitation der dopplersonographischen Methode zur Detektion mikroembolischer Strukturen ist jedoch das häufige Auftreten von Artefaktsignalen, weshalb diese Methode sehr von der Erfahrung des Untersuchers abhängig ist. Wesentlich schwerer wiegt der Nachteil, dass diese Methodik die Natur des zugrunde liegenden embolischen Materials nicht diskriminieren kann. Nabavi et al. konnten in ihrer Studie eine signifikante Korrelation zwischen der Häufigkeit detektierter mikroembolischer Signale und der Behandlung mit Thrombozyteninhibitoren finden. Hieraus schlussfolgern die Autoren, dass zumindest ein Teil der detektierten Mikroemboli bei den Patienten aus soliden Thrombozyten Mikroaggregationen bestehen. Andererseits sprechen mehrere Hinweise dafür, dass eine Vielzahl der dopplersonographisch detektierten mikroembolischen Signale gasförmiger Natur sind. So kann insbesondere eine signifikante Reduktion der MES-Anzahl unter Einatmung von 100% Sauerstoff⁵⁷ bzw. eine deutliche Erhöhung derselben unter hyperbarer Exposition⁵⁸ beobachtet werden. Die Bildung solcher Kavitationsblasen ist ein von künstlichen Herzklappen bekanntes Phänomen, welches in in-vitro Modellen zur Testung künstlicher Herzklappen nachgewiesen werden konnte.⁵⁹

Es wurde daher spekuliert, dass auch in nonpulsatilen Blutpumpen solche Mikroblasen generiert werden könnten. Thoennissen et al.⁶⁰ detektierten in Patienten, die mit einem Micromed-DeBakey VAD® versorgt wurden mittels transcranieller Dopplersonographie eine hohe Inzidenz mikroembolischer Signale. Von 23 untersuchten LVAD-Patienten konnten in 20 Patienten zirkulierende Mikroemboli nachgewiesen werden. Bemerkenswerter Weise verliefen diese Embolisationen bei einer Inzidenz manifester embolischer Ereignisse von 0,24% (0,24 Ereignisse/100 Tage LVAD-Unterstützung) klinisch stumm. Auch in dieser Studie reduzierte sich die Anzahl dopplersonographisch detektierter MES (die mittlere Anzahl betrug beachtliche 81.2 ± 443 Signale/Stunde) unter der Gabe von Sauerstoff. Die Autoren zogen daher die Schlussfolgerung, dass es sich in der weitaus größten Mehrzahl der detektierten Signale vermutlich um gasförmige Embolisationen handelt, die durch einen „Kavitations-Effekt“ innerhalb des nonpulsatilen LVAD entstanden. Im Gegensatz zu dieser Studie zeigte jedoch eine Untersuchung von Potapov et. al.⁶¹ ein gänzlich anderes Ergebnis. In ihrer Studie konnte keine signifikante Anzahl an mikroembolischen Signalen in Patienten nachgewiesen werden, die ebenfalls mit einem Micromed-DeBakey VAD® linksventrikulär unterstützt wurden. Hierbei ist jedoch die weitaus geringere Patientenzahl von nur fünf Patienten in letztgenannter Studie zu berücksichtigen. Die Autoren dieser Studie folgerten daher, dass durch die hohe

Umdrehungszahl des Impellers keine Mikrothromben bzw. Mikroblasen innerhalb des nonpulsatilen VAD verursacht werden.

Somit blieb zu klären, inwieweit nonpulsatile Blutpumpen Thrombozyten-Mikroaggregationen hervorrufen. Unsere Versuche beantworten diese Frage und belegen, dass innerhalb verschiedener nonpulsatiler Blutpumpen, Thrombozyten-Mikroaggregationen entstehen. Ein Vorteil der angewendeten durchflusszytometrischen Nachweismethode gegenüber der dopplersonographischen Evaluation besteht darin, dass hierdurch eindeutig die thrombozytäre Herkunft dieser zirkulierenden Strukturen bewiesen werden kann. Weiterhin zeigten unsere Versuche, dass die Anzahl an thrombozytären Mikroaggregationen in der neu entwickelten C1E3 Zentrifugalblutpumpe deutlich geringer war als in einer klinisch etablierten Referenzpumpe. Diese Ergebnisse stellen wichtige Kriterien für den heutigen kommerziellen Erfolg der C1E3-Zentrifugalpumpe dar, die von der Firma Kyocera Ltd. vertrieben wird.

Durchführbarkeit einer biventrikulären nonpulsatilen Langzeitperfusion

Seit Einführung des nonpulsatilen Blutflusses hält die Diskussion über Nachteile dieser Flussform für den Organismus an. Zahlreiche negative Auswirkungen sind im Zusammenhang mit nonpulsatiler Perfusion beschrieben worden. So untersuchten z.B. Vasku et al.⁶² mit Hilfe eines TAH welches sowohl einen pulsatilen als auch nonpulsatilen Fluss erzeugen kann, die Auswirkungen chronischer nonpulsatiler Perfusion auf die Mikrozirkulation im Ziegenmodell. Unter nonpulsatiler Langzeitperfusion wurden eine reduzierte Mikrozirkulation und eine Abnahme des kapillären Netzwerks in zentralen Organen wie Leber, Nieren und Lunge beobachtet. Ferner wurde eine deutliche Verringerung der Blutflussgeschwindigkeit von Erythrozyten in den Kapillaren während nonpulsatiler Perfusion beschrieben. Auch im Aufbau der zentralen Gefäße konnten Veränderungen durch nonpulsatile Langzeitperfusion beobachtet werden. Nishimura et al.⁶³ beschrieben strukturelle Veränderungen der Aorta aufgrund der reduzierten Puls-Druck Kurve während nonpulsatiler Perfusion in einem Langzeitversuch mit Linksherzunterstützung im Ziegenmodell. Hier zeigten sich nach 137 Tagen mittlerer Perfusionsdauer mit nonpulsatiler Unterstützung eine Reduzierung der Wanddicke und eine Atrophie der glatten Muskelzellen im Bereich der Aorta und der großen Gefäße. Zahlreiche weitere Studien beschreiben eine Überlegenheit der pulsatilen Perfusion gegenüber der nonpulsatilen Perfusion während kurz- oder langfristiger mechanischer Kreislaufunterstützung.^{64 - 67}

Andererseits stehen diesen Publikationen zahlreiche Veröffentlichungen gegenüber, in denen die Untersucher keinen Unterschied in der Organfunktion zwischen beiden Flussformen nachweisen konnten.^{68,69} Letztlich bleiben die Auswirkungen der nonpulsatilen Langzeitperfusion auf die Organfunktion bis heute umstritten.

Unsere Ergebnisse unterstützen die Hypothese, dass eine Perfusion mit nonpulsatiler Flussform auch langfristig möglich ist. Unsere Ergebnisse zeigen, dass eine normale Organfunktion über einen Zeitraum von mehreren Monaten aufrechterhalten werden kann.

Aufgrund der verbliebenen Restaktivität des nativen Ventrikels ist eine nonpulsatile Perfusion in fast allen Fällen nicht pulslos. Dies gilt sowohl für unsere hier dargestellten tierexperimentellen biventrikulären Ergebnisse, als auch für klinische Anwendungen mit univentrikulärer Unterstützung.⁷⁰ Im Gegensatz zu pulsatilen Pumpen, bei denen der erzeugte Fluss neben Vorlast und Nachlast auch von Pumpfrequenz und dem innerhalb der Pumpe aufgebauten Druck abhängt, ist der generierte Fluß bei nonpulsatilen Pumpen ausschließlich von Umdrehungszahl und Druckgradient über dem Pumpenkopf abhängig. Selbst wenn aufgrund der ventrikulären Entlastung kein Fluß durch die Semilunarklappen erfolgt, bewirkt eine Kontraktion des Ventrikels eine verbesserte Füllung (preload) der Pumpe. Zum anderen reduziert diese Kontraktion die Druckdifferenz über dem nonpulsatilen VAD. Bei konstanter Umdrehungszahl führen diese beiden Mechanismen zu einer leichten Zunahme des Flusses und somit zu einem Herzfrequenz abhängigen Fluß mit niedriger Druckamplitude („low-pulsatile flow“).

Tsutsui et al.⁷¹ beobachteten sogar eine geringe Pulsation in Versuchen an Kälbern, deren Kreislauf mit induziertem Kammerflimmern durch extrakorporal gelegene Zentrifugalpumpen nonpulsatil unterstützt wurden. In ihrer retrospektiv durchgeführten Analyse wurde trotz fibrillierender Ventrikel im Anschluß an eine sechs Wochen dauernde Initialphase ein regelmäßiger, frequenzstarrer Pulsschlag von ca. 40 Schlägen/Minute beobachtet. Dieser ist bislang keinen anderen physiologischen Mechanismen wie Atem- oder Vorhoffrequenz zuzuordnen. Es ist denkbar, daß dieses Phänomen eine Adaptation des vasomotorischen Zentrums auf eine unphysiologische Zirkulation darstellt. Diese Fluktuation des arteriellen Blutdrucks (die arteriellen Druckpulsationen hatten die Tendenz von 7 mmHg nach 40 Tagen auf 12 mmHg nach 99 Tagen anzusteigen) wird als „idioperiphere Pulsation“ bezeichnet. Es wurde vermutet, daß dieser Pulsdruck weiter ansteigt, wenn eine längerdauernde nonpulsatile Perfusion durchgeführt wird. Die „ideoperiphere Pulsation“ bleibt bis heute sehr umstritten. In unseren Untersuchungen konnte eine derartige Fluktuation der Flußkurven nicht beobachtet werden.

Die Diskussion, ob eine nonpulsatile Perfusion langfristig ohne Organschädigung durchgeführt werden kann, beruht vermutlich auf grundsätzlichen Fehlern, die im Umgang mit dieser Flussform gemacht werden. Soll eine nonpulsatile Langzeitperfusion erfolgreich sein, d.h. ohne Organschädigungen durchgeführt werden, sind wichtige Grundlagen zu beachten: Valdes et al.⁷² beobachteten bereits 1980, dass zur Aufrechterhaltung der physiologischen Funktionen bei nonpulsatiler Zirkulation ein ca. 20 Prozent höherer Perfusionsfluß im Vergleich zur pulsatilen

Zirkulation benötigt wird. Die alleinige Erhöhung des Perfusionsflusses bei gegebenem Perfusionsdruck reicht aber in der Regel nicht aus, um langfristig Organschäden abzuwenden. Ein wesentlicher Grund für die anhaltende Kontroverse bezüglich der beiden Flussformen scheint auf der Tatsache zu beruhen, dass in den meisten Untersuchungen auf eine Analyse der hämodynamischen Energie, die aus der jeweiligen Flussform resultiert, verzichtet wurde. Es gilt heute als bewiesen, dass die Wirkung eines pulsatilen Flusses von dem zugrundeliegenden Energiegradienten und nicht von seinem Druckgradient abhängig ist.⁷³ Dies zeigten unter anderem Ergebnisse aus Versuchen, bei denen unterschiedliche pulsatile Blutpumpen (z.B. pulsatil arbeitende Rollerpumpe vs. Verdrängerpumpe) trotz gleichem Pulsdruck signifikant unterschiedliche hämodynamische Energielevel erreichten.⁷⁴ Die Quantifizierung eines pulsatilen Perfusionsmodus allein über die Pulsamplitude ist daher unzulänglich. Mithilfe verschiedener Indices ist es möglich, die aus einem pulsatilen Fluß hervorgehende Energie zu analysieren. Zu diesen Indices gehören die „Energy equivalent pressure“ (EEP) Formelⁱ, der Pulsatilitäts-Index (PI)ⁱⁱ und der „pulse power index“ (PPI). Die Einheit des EEP ist mmHg weshalb es möglich ist, den EEP mit dem mittleren arteriellen Druck (MAP) zu vergleichen. Die Differenz zwischen EEP und MAP ist die zusätzlich hergestellte Energie, die durch die Pulsatilität eines Systems generiert wird. Für das humane Herz beträgt die Differenz zwischen EEP und MAP ca. 10%.⁷⁵ Wird eine nonpulsatile Pumpe zum Einsatz gebracht und das native Herz würde keinerlei Aktion zeigen, entspricht der EEP im Wert dem MAP. Im Gegensatz zu pulsatilen Systemen wird keine extra Energie freigesetzt. In der klinischen Anwendung von nonpulsatilen Blutpumpen beträgt der Pulsdruck der Perfusion aufgrund der beschriebenen Restkontraktilität des Herzen jedoch 15 bis 20 mmHg, oder reicht sogar weit darüber hinaus, bis hin zu einer physiologischen Pulskontur.^{76,70}

Somit beträgt die Differenz zwischen EEP und MAP nicht Null. Dem Einsatz der EEP Formel sind jedoch in der klinischen Anwendung Grenzen gesetzt, da die Berechnung eine Analyse der arteriellen Blutdruck- als auch der Pumpenfluss Kurve erfordert. Derzeit besitzt nur ein einziges Langzeit-VAD System (das Micromed-DeBakey VAD[®]) eine technische Vorrichtung zur direkten Messung des Pumpenflusses. Da in der ambulanten Betreuung von Patienten eine kontinuierliche invasive arterielle Druckmessung ebenfalls nicht gegeben ist, ist die Steuerung der nonpulsatilen Perfusion mittels der EEP Formel klinisch nicht durchführbar. Aus diesem Grund zogen wir in den hier vorgestellten Langzeitstudien andere Parameter zur Quantifizierung der Pulsatilität heran. Wir wählten den Pulsatilitäts-Index bzw. den „Pulse Power Index“ (PPI), um die hämodynamischen Energielevel zu bestimmen und somit die

ⁱ Shepard's "Energy equivalent pressure" Formel:

$$EEP = \frac{\int (f \cdot p) dt}{\int f dt} \quad \begin{matrix} f = \text{flow} \\ p = \text{pressure} \end{matrix}$$

ⁱⁱ Pulsatilitäts-Index:

$$PI = \frac{(f_{\text{flow}_{\text{max}}} - f_{\text{flow}_{\text{min}}})}{f_{\text{flow}_{\text{mean}}}}$$

physiologischen Funktionen sicherzustellen.^{77,78} In den Versuchen gelang es mit einem PI von im Mittel $3,96 \pm 0,5$ ein Niveau zu halten, das keinen signifikanten Unterschied zu einer pulsatilem Perfusion zeigte. Bei der Interpretation dieser Ergebnisse ist jedoch zu berücksichtigen, dass die Studien an gesunden Versuchstieren durchgeführt wurden. Insbesondere in den beschriebenen Belastungstests kam es aufgrund der sympathomimetischen Kontraktilitätszunahme des Herzens zu einem Anstieg der Pulsatilität der Perfusion.

Die Aufrechterhaltung der Homöostase in den Organen während nonpulsatiler Perfusion ist somit nicht nur von Perfusionsdruck und Flussvolumen abhängig. Sie ist auch abhängig von dem Energielevel den die Perfusion erzeugt. Pulsatile Perfusionen erreichen mit niedrigeren Drücken und Flüssen höhere hämodynamische Energielevel.⁷⁹ Ziel der Indizes ist es, Perfusionsfluß und Perfusionsdruck während nonpulsatiler Perfusion kontinuierlich so anzupassen, dass stets die maximale hämodynamische Energie erzeugt wird. Eine genaue Analyse der aus den Konturen der Druck- und Flußkurven resultierenden Energie und deren Anwendung scheint somit unerlässlich zu sein, wenn eine nonpulsatile Perfusion langfristig mit Erfolg durchgeführt werden soll.

Alle höher entwickelten Lebewesen bedienen sich ausnahmslos eines pulsatilem Blutflusses. Die Blut- und Gefäßpulsation ist eine wesentliche physiologische Funktion, die in der Evolution perfektioniert wurde. Es besteht kein Zweifel, dass eine nonpulsatile Perfusion nicht die Effizienz einer pulsatilem Perfusion besitzt und dieser vermutlich in weiteren, noch unbekanntem Belangen, unterlegen ist. Das Konzept eines *implantierbaren biventrikulären* assist devices lässt sich jedoch gegenwärtig nur mit nonpulsatilen Pumpen realisieren.

Mittlerweile haben zahlreiche nonpulsatile VAD Einzug in die klinische Anwendung gehalten, wobei Unterstützungszeiten über mehrere Jahre erreicht wurden.⁸⁰⁻⁸³ Diese Anwendungen belegen, dass eine langfristige nonpulsatile Kreislaufunterstützung ohne wesentliche Beeinträchtigung der Organfunktion durchgeführt werden kann. Alle diese Publikationen beschreiben jedoch lediglich eine linksventrikuläre Kreislaufunterstützung. Mit Ausnahme weniger Veröffentlichungen lagen bislang kaum Erfahrungen mit einer biventrikulären nonpulsatilen Langzeitperfusion vor. Unseres Wissens nach stellen unsere Publikationen die ersten Untersuchungen mit einem „vollkommen *implantierbaren*“ VAD System dar, in denen es gelungen ist, ein Versuchstier zu mobilisieren und den Kreislauf über einen Zeitraum von mehr als drei Monaten *biventrikulär* zu unterstützen.

Einige Publikationen beschreiben unter nonpulsatiler Perfusion einen Anstieg des mittleren pulmonalarteriellen Drucks und des pulmonalvaskulären Widerstands im Vergleich mit einer pulsatilem Perfusion. Die Mehrzahl dieser Experimente betrug jedoch nur einige Stunden und

wurde während der Durchführung von Akut-Experimenten gewonnen, weshalb der Einfluß der chirurgischen Intervention auf diese Beobachtungen nicht ausgeschlossen werden konnte.²⁹

Es stellte sich daher die Frage, welche Auswirkungen eine biventrikuläre nonpulsatile Langzeitperfusion auf die Organfunktion, insbesondere auf die Lungenfunktion hat?

Die Ergebnisse unserer Studien belegen, dass eine balancierte Steuerung der RVAD und LVAD Flüsse das entscheidende Kriterium zur Aufrechterhaltung der Lungenfunktion ist. Die zugrundeliegende Flussform, also ob es sich um eine pulsatile oder nonpulsatile Perfusion handelt, scheint –wenn überhaupt- von untergeordneter Wichtigkeit zu sein.

Lediglich eine Gruppe der Cleveland Clinic führte längerfristige Studien mit biventrikulärer nonpulsatiler mechanischer Kreislaufunterstützung durch, wobei jedoch die damals noch extrakorporal gelegenen Pumpen regelmäßig gewechselt werden mussten.³⁰ Auch diese Versuche zeigten einen Trend zu höheren pulmonalvaskulären Widerständen. Im Gegensatz zu diesen Beobachtungen stehen hingegen Beobachtungen von Sakaki et al.⁸⁴ In ihren tierexperimentellen Untersuchungen im Ziegenmodell erfolgte durch extrakorporale VADs nach einer initialen pulsatilen Perfusion eine nonpulsatile Perfusion der Lungenstrombahn für einen Zeitraum von bis zu 14 Tagen. Hier zeigten sich im direkten Vergleich zwischen pulsatiler- und nonpulsatiler Perfusion keine signifikanten Veränderungen. Es konnte weiterhin mittels farblich markierter Mikrosphären gezeigt werden, dass nach dem Wechsel von einem pulsatilen zu einem nonpulsatilen pulmonalen Blutfluss keine Veränderung der Ventilations-Perfusionsareale stattgefunden hatte.

Unsere Untersuchungen stehen im Einklang mit diesen Beobachtungen: Im Vergleich zu den präoperativen Werten konnten in dem Beobachtungszeitraum von bis zu 50 Tage keine Veränderungen bezüglich hämodynamischer Parameter wie pulmonalarterieller Druck oder pulmonalvaskulärer Widerstand durch die nonpulsatile Perfusion der Lungenstrombahn beobachtet werden. Somit belegen unsere Ergebnisse, dass -sinngemäß zur systemischen Zirkulation- auch die Lungenstrombahn mittels nonpulsatiler Flußform langfristig perfundiert werden kann, ohne dass die physiologische Funktion der Lunge beeinträchtigt wird.

Kreislaufregulation unter Belastung mit einem biventrikulären nonpulsatilen VAD

Die Auswirkungen körperlicher Belastung auf das Fördervolumen von nonpulsatilen VAD ist umstritten. Mehrere Publikationen beschreiben, dass eine Veränderung in der Aktivität des nativen Herzens trotz konstanter Umdrehungszahl des nonpulsatilen VAD zu einer Adaptation des Pumpenflusses führen kann.^{85,86} Somit wurde über eine mögliche „spontane“ Erhöhung des Pumpenflusses bei nonpulsatilen VAD während körperlicher Belastung spekuliert.⁸⁷

Die Ursachen für einen Anstieg des Pumpenflusses unter körperlicher Belastung sind bis heute nicht abschließend geklärt. Die zunehmende Kontraktilität des nativen Ventrikels führt unter körperlicher Belastung zu einem erhöhten intraventrikulären Druck und damit zu einer Verringerung des Druckgradienten über der nonpulsatilen Pumpe. Darüber hinaus kommt es unter körperlicher Belastung zu einer vermehrten Füllung des linken Ventrikels aufgrund eines erhöhten pulmonalvenösen Rückstroms. Zweifelsfrei führen beide Mechanismen zu einer Zunahme des Pumpenflusses. Jedoch verbleibt dieser „spontane“ Anstieg des Pumpenflusses deutlich unterhalb der normalen Antwort durch den Frank-Starling Mechanismus und reicht für die Bereitstellung eines ausreichenden Herzzeitvolumens unter Belastung in der Regel nicht aus.

In unseren Studien konnte die Hypothese einer spontanen Zunahme des Pumpenflusses unter körperlicher Belastung nicht bestätigt werden. Es konnte kein signifikanter Anstieg der Pumpenflüsse beobachtet werden. Dies gilt sowohl für das RVAD als auch das LVAD. Diese Ergebnisse stimmen mit Beobachtungen anderer Autoren überein, die ebenfalls keine Zunahme des geförderten Flussvolumens von nonpulsatilen VAD unter körperlicher Belastung beobachten konnten.^{88,89}

Die Tatsache, dass die Studie an (Herz) gesunden Versuchstieren vollzogen wurde (derzeit besteht kein Herzinsuffizienz-Modell für langfristige Großtierversuche) limitiert die Interpretation der erhobenen Daten. Insgesamt boten die Versuchstiere eine normale Reflexantwort auf den Belastungsreiz. Dies führte neben Anstieg von Herzfrequenz, Blutdruck und Sauerstoffaufnahme auch zu einer deutlichen Zunahme der Kontraktilität, welche zu einem Anstieg der Pulsatilität der Perfusion führte. In unseren Versuchen regulierte letztlich das native Herz das vermehrt benötigte Herzzeitvolumen. Der Anstieg im Herzzeitvolumen wurde wie erwartet nicht durch einen Anstieg der VAD Flüsse bestimmt. Diese Ergebnisse offenbaren jedoch einen wesentlichen Vorteil des „assist device“ Konzeptes gegenüber dem des „total artificial heart“. Nur „assist devices“ sind in der Lage, eine bestehende Restfunktion des Herzens für die hämodynamische Kreislaufanpassung zu nutzen.

Die Beobachtungen dieser Studie zeigen, dass das BVAD nicht in der Lage ist, den geforderten Mehrbedarf an Herzzeitvolumen ohne Gegenregulation bereitzustellen.

Primäres Ziel der hier dargestellten Belastungsstudie war jedoch, die Fähigkeit des Systems zu belegen, auch unter körperlicher Bewegung sicher und funktionell arbeiten zu können. Die

Ergebnisse der Belastungsstudien zeigten, dass das implantierbare BVAD unter moderater körperlicher Belastung einen sicheren und störungsfreien Betrieb gewährleisten kann. Somit konnte die Frage, ob das BVAD in der Lage sein würde, eine ambulante Versorgung eines mobilisierten Patienten zu gewährleisten, positiv beantwortet werden.

Es erscheint bemerkenswert, dass die biventrikuläre nonpulsatile Perfusion offenbar keinerlei Einfluß auf die initiale physiologische Kreislaufregulation zu Beginn körperlicher Belastung (hämodynamic exercise response reflex) nimmt. Dies beruht vermutlich aufgrund der Anzahl verschiedenster Sensoren des autonomen Nervensystems wie Muskelchemo- und Mechanorezeptoren sowie vaskuläre Barorezeptoren, die involviert sind, um die komplexe physiologische Antwort auf körperliche Belastung zu steuern.

Letztlich resultiert aus unseren Ergebnissen erneut die Forderung nach einer automatisierten Steuerung, die den VAD Fluss an einen veränderten Herzzeitvolumen Bedarf selbstständig adaptiert. Zahlreiche Versuche sind von verschiedenen Arbeitsgruppen unternommen worden, eine solche Automatisierung der VAD Flüsse zu realisieren.^{90,91} Neben den erheblichen zusätzlichen Kosten erscheint ein so komplexes technisches Gebilde derzeit aber vor allem zu störanfällig, um in einer langfristigen klinischen Anwendung robust und zuverlässig funktionieren zu können. Keines der derzeit verfügbaren VAD besitzt eine „automatische“ Flussregulation.

Untersuchungen zur Ursache der Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD

Thrombembolische Ereignisse stellen die vermutlich schwerwiegendste Komplikation im Rahmen mechanischer Kreislaufunterstützung dar. Sie sind für mehr als 50 Prozent der tödlichen Zwischenfälle verantwortlich. Die „Mechanical Circulatory Support Device Database“ der „International Society for Heart and Lung Transplantation“ (ISHLT) beschreibt eine Inzidenz von Schlaganfällen unter mechanischer Kreislaufunterstützung von 10,1%.¹⁶ Diese Zahlen verdeutlichen den hohen Stellenwert, den die Verbesserung der Rate an Thrombembolien in der Weiterentwicklung von Langzeit-VAD einnehmen muss. Wenn diese Systeme zukünftig eine erfolgreiche Alternative zur Herztransplantation darstellen wollen bzw. die Strategie des „bridge-to-destination“ eine breitere Anwendung finden soll, ist es zwingend erforderlich, die Biokompatibilität dieser Systeme weiter zu verbessern. Diese Aufgabe stand im Mittelpunkt unserer Forschungstätigkeit. Die Adhäsion strömender Thrombozyten an eine Fremdoberfläche vollzieht sich nach heutigem Wissensstand durch die Interaktion plasmatischer Liganden mit spezifischen Thrombozytenrezeptoren. Die wichtigsten Liganden sind von Willebrand Faktor sowie Fibrinogen. Unsere Versuchsreihen belegen, dass sich diese unspezifische Proteinadsorption unmittelbar nach Blutexposition an der Fremdoberfläche des nonpulsatilen VAD abspielt. Ferner zeigen experimentelle Untersuchungen, dass Thrombozyten sehr sensibel auf physikalische Scherkräfte reagieren. Grundlegende Arbeiten von Moake et al.^{92,93} bewiesen,

daß bereits physiologische Scheraten von 50 dyne/cm^2 reversible Thrombozytenaggregationen in Vollblut auslösen können, ohne dass hierzu zusätzliche Agonisten der Plättchenaktivierung notwendig sind. Höhere Scherraten ($\geq 100 \text{ dyne/cm}^2$) induzieren sogar irreversible Thrombozytenaggregationen. Bei diesen Beobachtungen ist jedoch zu berücksichtigen, dass scherinduzierte Thrombozytenaggregationen ganz wesentlich von der Dauer der Scherexposition abhängig ist.⁹⁴ Somit galt die Frage zu beantworten, ob die sehr kurze Expositionsdauer innerhalb des nonpulsatilen VAD bzw. die wiederholte Exposition ausreicht, um tatsächlich eine Thrombozytenaktivierung über diesen Mechanismus auszulösen.

Unsere Ergebnisse belegen, dass zirkulierende Thrombozyten-Mikroaggregationen sowie Thrombozytenadhäsionen auf der Grenzfläche von nonpulsatilen VAD auf der Interaktion des von Willebrand Faktor mit dem thrombozytären GPIIb-IIIa-Rezeptor-Komplex beruhen. Unserem Wissen nach geben diese Studien erstmalig experimentelle Evidenz dafür, dass „Scherinduzierte Thrombozytenaktivierungs- und Adhäsion“ ein wesentlicher pathophysiologischer Mechanismus bei der Entstehung von Thromben innerhalb nonpulsatiler VAD ist. Schon frühzeitig konnte gezeigt werden, dass die Bindung strömender Thrombozyten an oberflächenimmobilisiertes Fibrinogen irreversibel und unabhängig von einer vorangegangenen Thrombozytenaktivierung ist. Jedoch kann die Bindung strömender Thrombozyten an oberflächengebundenes Fibrinogen nur erfolgen, wenn die Scherrate unterhalb einer kritischen Schwelle von etwa 1.500 s^{-1} liegt.⁹⁵ CFD-Analysen an der Gyro-Zentrifugalpumpe sowie an anderen nonpulsatilen VAD⁹⁶ erbrachten Scherraten die deutlich über dieser Schwelle liegen. Bei diesen hohen Scherraten würde die Interaktion zwischen immobilisiertem Fibrinogen und Thrombozyten nicht ausreichen, um eine permanente Thrombozytenadhäsion innerhalb nonpulsatiler VAD zu bewirken. Bei Wandscherraten $>1.500 \text{ s}^{-1}$ ist eine Dezeleration und ein initiales Anhaften von Thrombozyten aus der schnellen Strömung nur möglich, wenn eine Interaktion zwischen immobilisiertem von Willebrand Faktor und dem Thrombozyten Glykoprotein IIb/IIIa erfolgt.⁹⁷ Unsere Versuchsreihe konnte diese vermehrte Bindung des von Willebrand Faktor an den Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptor strömender Thrombozyten in Folge der nonpulsatilen Perfusion nachweisen. Diese Bindung beweist, dass die Expositionsdauer innerhalb der Zentrifugalpumpe (bzw. die wiederholte Scher-Exposition) ausreicht, um eine Thrombozytenaktivierung hervorzurufen. Desweiteren konnte gezeigt werden, dass die Inhibierung dieser von Willebrand Faktor-Thrombozyten Interaktion zu einer dosisabhängigen Reduktion adhärenter Thrombozyten auf der Grenzfläche der Zentrifugalpumpe führt.

Die Scher-induzierte Bindung des von Willebrand Faktor an den Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptor strömender Thrombozyten löst eine komplexe intrazelluläre Signaltransduktion („Signaling“) aus, die schließlich zur Aktivierung des Thrombozyten führt.⁹⁸ Hierdurch kommt es zur vermehrten Expressierung und Aktivierung des Integrin $\alpha\text{IIb}\beta_3$ Rezeptors. Diese Expressierung

des Integrin α IIb β 3 Rezeptors stellt den wichtigsten Schritt in der Thrombozytenaktivierung dar. Die Scher-induzierte Bindung der strömenden Thrombozyten an das Interface des nonpulsatilen VAD scheint somit ein dynamischer, zweistufiger Prozeß zu sein, der nach einer initialen GPIb-vWF-Bindung die Interaktion des aktivierten Integrin α IIb β 3 mit von Willebrand Faktor und Fibrinogen umfaßt. So kann es offenbar zur dauerhaften Thrombozytenadhäsion an der Fremdoberfläche des VAD kommen. Unsere elektronenmikroskopischen Analysen der Impeller zeigen weiterhin, dass die gebundenen Thrombozyten innerhalb von Minuten mit einer flächigen Ausbreitung ("spreading") auf dem Interface des nonpulsatilen VAD beginnen. Das Ausbreiten auf der VAD Oberfläche schafft nun offenbar einen neuen Stimulus für das Anhaften weiterer Thrombozyten, indem die immobilisierten Thrombozyten lösliche adhäsive Proteine binden. Das Anhaften weiterer Thrombozyten an die erste Schicht adhärenter Thrombozyten erfordert die Bindung und Brückenbildung von vWF und Fibrinogen als Ligand zwischen den Thrombozyten. Die nachfolgende Thrombusbildung scheint somit von einer Thrombozyten-Thrombozyten Interaktion via den α IIb β 3 -Rezeptorkomplex abhängig zu sein, was vermutlich letztlich zum Thrombuswachstum führt. Die Blockade des α IIb β 3-Rezeptorkomplex führte sowohl zu einer signifikanten Abnahme zirkulierender Thrombozytenaggregationen, als auch zu einer dosisabhängigen Abnahme der Thrombozytenadhäsionen auf der Grenzfläche des VAD. Jedoch konnte die α IIb β 3 -Rezeptorinhibierung die Thrombozytenaggregation- und adhäsion nicht so stark suprimieren wie eine Blockade der von Willebrand Faktor-GPIb Rezeptor Interaktion. Dies wird dadurch erklärt, dass bei sehr hohen Scherraten (ab 1500 s^{-1}) Thrombuswachstum mit alleiniger GPIb-vWF Interaktion zunächst zwar vorhanden ist, jedoch nehmen die Scherraten an der Thrombusoberfläche zu, je höher der Thrombus wächst. Fehlt die zusätzliche Stabilisierung der Aggregate durch Blockade der Integrin α IIb β 3-Fibrinogen-Wechselwirkung, zerfallen sie und werden mit weiter anhaltender Strömung weggerissen. Die Applikation des α IIb β 3 Rezeptor Inhibitors TAK-029 konnte daher zwar eine Reduktion adhärenter Thrombozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe bewirken, sie konnte jedoch das Auftreten von Thrombozytenadhäsionen nicht gänzlich verhindern. Im Gegensatz hierzu konnten Thrombozyten durch Blockade der Glykoprotein Ib α -vWF-Interaktion über ihr α IIb β 3 und lösliches Fibrinogen nur eine ineffiziente Adhäsion an der Fremdoberfläche der Zentrifugalpumpe erreichen. Da nur die Glykoprotein Ib α -vWF-Bindung den sehr hohen Scherraten widerstehen kann reicht diese ineffiziente Adhäsion offenbar nicht aus, dass es zu einer weiterführenden Aggregation auf dem Impeller kommen kann. Hieraus wird geschlossen, dass sich aus diesem Grund die Inhibierung der vWF-Glykoprotein Ib α Achse als wesentlich effektiver zeigte, als die Blockade des Integrin α IIb β 3 Rezeptor. Zusammenfassend ist aus den Beobachtungen zu folgern, dass weder Glykoprotein Ib α noch Integrin α IIb β 3 eine exklusive Rolle spielen, sondern erst durch das Zusammenspiel dieser Plättchenrezeptoren eine effektive

und stabile Thrombozytenadhäsion- und aggregation auf der Grenzfläche des nonpulsatilen VAD ausgelöst werden kann. In jedem Fall, dass zeigen unsere Ergebnisse, spielt Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung eine wesentliche Rolle bei der Entstehung von Thromben innerhalb nonpulsatiler VAD.

Scher-induzierte Thrombozytenaggregation ist sowohl gegen Heparin- bzw. Cumadinderivate als auch gegen Acetylsalicylsäure resistent.⁹⁹ Die wichtigste Schlussfolgerung für die klinische Anwendung unserer Ergebnisse liegt somit in der Erkenntnis, dass die im Rahmen der mechanischen Kreislaufunterstützung derzeit klinisch praktizierte antikoagulative- bzw. antithrombozytäre Therapie keinerlei Einfluss auf diesen wichtigen Aspekt der Thrombusbildung ausüben vermag. Aus diesem Grund sollten neue Verfahren angewendet werden, die zur Verbesserung der Biokompatibilität nonpulsatiler VAD führen.

Verbesserung der Biokompatibilität nonpulsatiler VAD

Je nach Anwendung eines Biomaterials werden heute unterschiedliche Strategien zur Verbesserung der Biokompatibilität verfolgt. Eine Strategie zielt auf eine „Minimierung der Wechselwirkungen“ zwischen Biomaterial und Biosystem ab.¹⁰⁰ Dieses „Minimalkonzept“ wird dort verfolgt, wo die normale Reaktion des Biosystems auf einen Fremdkörper (die unspezifische Proteinadsorption) nicht erwünscht ist. In den beschriebenen Versuchsreihen haben wir daher versucht, durch gezielte Maßnahmen, Einfluß auf diese Biolisation des VAD zu nehmen.

Bereits in früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass eine grobe Oberflächenbeschaffenheit in nonpulsatilen VAD ein mechanisches Trauma auf zelluläre Blutbestandteile auslöst und sich in einer verstärkten Hämolyse widerspiegelt.¹⁰¹ Zunächst wurde durch physikalische Maßnahmen (Veränderung der Topographie der im Blutkontakt stehenden Oberfläche) Einfluß auf die Thrombozytenadhäsion in nonpulsatilen VAD genommen. Unsere Ergebnisse belegen erstmals, dass durch Verbesserung der Oberflächentopographie die „Thrombogenität“ von nonpulsatilen VAD beeinflusst werden kann. Unsere Ergebnisse stehen jedoch in bemerkenswerter Weise den klinischen Erfahrungen mit pulsatilen VAD entgegen. Das vermutlich erfolgreichste pulsatile VAD mit der niedrigsten Thrombembolirate ist das seit Jahrzehnten etablierte HeartMate I. Dieses pulsatil arbeitende VAD besitzt eine bewusst gewählte und als „textured surface“ bezeichnete, rau-gekörnte Oberfläche. Im Gegensatz zu einer glatten Oberfläche begünstigt diese eine Zelladhäsion, die schließlich zur Ausbildung einer sogenannten „Pseudo-Neointima“ führt.^{102,103} Neben unseren Versuchen stehen bis heute keine weiteren experimentellen Daten zur Verfügung die belegen, dass in nonpulsatilen VAD eine glatte Oberfläche einer rauhen Oberfläche überlegen ist. Unsere Annahme wird jedoch durch die klinische Beobachtung unterstützt, dass der Versuch der Firma Thoratec, die erfolgreiche „textured surface“ auch in dem Nachfolgemodell des HeartMate I,

dem nonpulsatilen VAD „HeartMate II“, zur Anwendung zu bringen, fehlschlug. Die entsprechende klinische Studie mit dem HeartMate II welches initial eine texturierte Oberfläche besaß, musste aufgrund inakzeptabel hoher thrombembolischer Komplikationen gestoppt werden.¹⁰⁴ Erst nach Umwandlung der Grenzfläche in eine glatte Oberfläche konnte das nonpulsatile HeartMate II erfolgreich in die klinische Anwendung gebracht werden.

Letztlich sind die Auswirkungen der Oberflächentopographie auf die Protein- und Thrombozytendeposition in nonpulsatilen VAD noch nicht endgültig geklärt und bieten ein weites Feld für weitere wissenschaftliche Untersuchungen. Die dargestellten klinischen Ergebnisse sowie unsere experimentellen Daten unterstützen jedoch die Annahme, dass sich die pathophysiologischen Mechanismen der Thrombusbildung zwischen nonpulsatilen und pulsatilen VAD unterscheiden. Es wird spekuliert, dass eine raue Oberfläche in nonpulsatilen VAD zu einer noch höheren Schubspannung an dieser Grenzfläche führt und so eine vermehrte Thrombozytenadhäsion auslöst. Aus unseren Ergebnissen folgern wir, dass eine möglichst „spiegelglatte“ Oberfläche für nonpulsatile VAD gewählt werden sollte.

Neben dieser physikalischen Maßnahme wurde die im Blutkontakt stehende Titanoberfläche auch durch ein chemisch-thermisches Verfahren in ein sogenanntes „Titania-Gel“ modifiziert. Unter Titania-Gel versteht man einen ultra-dünnen Film auf der Oberfläche. Dieser verändert die Oberfläche in ein nano-strukturiertes Profil. Dies verbessert die Fähigkeit, Wasser in den Werkstoff aufzunehmen, so dass ein „schwammartiges“ Gebilde entsteht. Es wird angenommen das hierdurch die Benetzbarkeit der Oberfläche -also die Eigenschaft, dass Flüssigkeiten an der Oberfläche haften bleiben und nicht abperlen- verbessert wird. Über diesen Mechanismen soll eine Verbesserung der „hydrophilen“ Eigenschaft der VAD Grenzfläche erreicht werden. Die Verbesserung der „hydrophilen“ Eigenschaft des Werkstoffs zielt ebenfalls darauf ab, die beschriebene initiale Proteinadsorption als initialen Schritt der Thrombozytenadhäsion zu beeinflussen. Hintergrund hierfür ist die Beobachtung, dass Proteine bevorzugt an hydrophoben Oberflächen adsorbieren, während die Adsorption von Proteinen mit steigender Oberflächenspannung, d. h. zunehmender Hydrophilie, abnimmt. Roach et al.¹⁰⁵ untersuchten die Adsorption von bovinem Serumalbumin und Fibrinogen auf hydrophoben und hydrophilen Oberflächenmodellen. Die Autoren konnten zeigen, dass Fibrinogen sowohl an der hydrophoben als auch an der hydrophilen Oberfläche schneller bindet als Albumin, wobei Fibrinogen eine höhere Affinität zur hydrophoben Oberfläche besitzt. Darüber hinaus zeigten Untersuchungen zur Proteinstruktur, dass die chemische Oberflächenbeschaffenheit den Konformationszustand der Proteine beeinflusst. Sowohl Albumin als auch Fibrinogen bilden nach Adsorption an einer hydrophoben Oberfläche eine weniger organisierte Sekundärstruktur aus, verglichen mit der Sekundärstruktur, die sie bei Adsorption an einer hydrophilen Oberfläche

aufbauen. Inwieweit dieser veränderte Konformationszustand in der Sekundärstruktur der Proteine Einfluss auf die Protein- und Zelladhäsion nimmt, ist bislang ungeklärt.

Wir verglichen die Bildung von Thrombin an der hydrophilen Titania-Gel Oberfläche mit der Adsorption an unbehandeltem (hydrophoben) Ti6Al4V. Unsere Ergebnisse stehen im Einklang mit den o.g. Beobachtungen und zeigen ebenfalls eine verminderte Thrombin Bildung an der „hydrophilen“ Titania-Gel Oberfläche. Thrombin gilt als wichtiger Aktivator für das Gerinnungssystem als auch von Thrombozyten. Aus unseren Beobachtungen schließen wir, dass die Titania-Gel Oberfläche negative Ladungen an dem VAD Interface minimiert und durch Wassereinlagerung die Proteinadsorption als auch die Aktivierung des Gerinnungssystems unterdrückt. Die Reduktion der Thrombinbindung an der Blut Grenzfläche des VAD stellt einen wesentlichen Aspekt für die Verbesserung der antithrombogenen Eigenschaft des Systems dar. Durch Modifikationen in dem Herstellungsprozess (Veränderung von pH, Temperatur, Inkubationszeit etc.) kann die Dicke der Titania-Gel Schicht als auch die Nano-Struktur so verändert werden, dass die Hydrophilie der Pumpenoberfläche optimiert wird.

In vielen Anwendungsgebieten, insbesondere bei Langzeitimplantaten mit Blutkontakt ist das oben beschriebene „*Minimalkonzept*“ nicht ausreichend, um eine ausreichende Hämokompatibilität zu bewirken. Ein anderes Konzept zur Steuerung biologischer Vorgänge am Implantationsort basiert daher auf der „*lokalen Freisetzung von Wirkstoffen*“. Generell ermöglicht die lokale Freisetzung eines Wirkstoffs, diesen in einem umschriebenen Raum in einer effektiven Konzentration an die Ziel-Zelle zu bringen. Hiermit soll der gewünschte Effekt lokalisiert erreicht oder gar potenziert werden, ohne dass wesentliche systemische (Neben-) Wirkungen auftreten.

Unsere Studien zeigten, dass die gezielte Blockade der von Willebrand Faktor-GPIIb Interaktion am effektivsten Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung- und adhäsion zu inhibieren vermag. Die von uns eingesetzte Substanz Aurintricarboxylsäure ist jedoch toxisch und daher für eine klinische Anwendung ungeeignet. Bislang steht keine Substanz für eine klinische Anwendung zur Verfügung, die diese Interaktion selektiv hemmen könnte. Im Gegensatz hierzu, ist eine Vielzahl verschiedener Inhibitoren des GPIIb/IIIa Plättchenrezeptor-Komplexes für den klinischen Einsatz zugelassen. Zunächst sollte die Frage geklärt werden, ob es möglich ist, einen solchen GPIIb/IIIa Rezeptor-Inhibitor an die im Blutkontakt stehende Oberfläche eines nonpulsatilen VAD zu binden? Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob durch eine solche Beschichtung, Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenadhäsion in nonpulsatilen VAD reduziert werden kann. Unsere Ergebnisse zeigen, dass es möglich ist, einen kleinmolekularen GPIIb/IIIa Rezeptor Antagonisten an das Blut-Interface eines nonpulsatilen VAD zu binden und von dieser Oberfläche langsam freizusetzen. Die Oberflächenbeschichtung mit dem spezifischen GPIIb/IIIa Rezeptor Inhibitor reduzierte die

Anzahl adhärenter Thrombozyten auf der Grenzfläche des nonpulsatilen VAD signifikant. In der vorliegenden Studie wurde der Thrombozytenrezeptor Antagonist an Albumin gebunden und durch Adsorption auf die Grenzfläche des VAD aufgebracht. Hieraus resultiert eine nur schwache ionische Bindung, die zu einer relativ schnellen Ablösung des Wirkstoffs von der Grenzfläche des VAD führt. In den letzten Jahren sind zahlreiche Methoden entwickelt worden, Wirkstoffe kovalent an einer Grenzfläche zu immobilisieren bzw. „kontrolliert“ freizusetzen. So kann beispielsweise Heparin über Hydroxyl-, Carbonyl-, oder Aminogruppen kovalent an Oberflächen gebunden werden. Eine solche Heparinbeschichtung (Cameda®) wurde unter anderem in dem nonpulsatilen VAD Incor (BerlinHeart AG, Berlin) zum Einsatz gebracht. Die kovalente Immobilisierung eines Wirkstoffs kann sich jedoch als nachteilig erweisen, wenn dadurch biologisch wirksame Gruppen sterisch behindert werden und somit die Wirksamkeit nicht mehr gewährleistet ist. Dies gilt vor allem für Heparin.¹⁰⁶ Weiterhin beinhaltet die langfristige Exposition von Heparin die Gefahr der Ausbildung einer Heparin-induzierten Thrombozytopenie. In einer vergleichenden Studie zwischen VAD Patienten die mit Heparinbeschichteten bzw. mit unbeschichteten VAD unterstützt wurden, konnten Koster et al.¹⁰⁷ zwar keinen Unterschied im Auftreten von Heparin/platelet factor 4 Antikörpern (HPF4) zwischen beiden Gruppen nachweisen, jedoch zeigte die Studie, dass in 73% der untersuchten VAD Patienten HPF4 Antikörper nachweisbar waren. Das entscheidende Kriterium, welches gegen eine Heparinbeschichtung von nonpulsatilen VAD Oberflächen spricht, liegt jedoch in der Tatsache, dass Heparin gegen die beschriebenen Mechanismen der Scher-induzierten Thrombozytenaktivierung- und deposition vollkommen unwirksam ist. Im Gegensatz hierzu zeigte unsere GPIIb/IIIa Rezeptor Inhibitor Beschichtung einen stärkeren Effekt in der Gruppe mit hohen Impeller Umdrehungszahlen (high-shear Gruppe) als in der Gruppe mit niedrigen Impeller Umdrehungszahlen (low-shear Gruppe), woraus erneut geschlossen wird, dass das angestrebte Ziel „Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung zu inhibieren“, durch diese Maßnahme erreicht wurde.

Die hier zur Anwendung gekommene elektrostatische Adsorption des antithrombozytären Wirkstoffs hat gegenüber der kovalenten Immobilisierung von Heparin den Vorteil, dass eine sterische Inaktivierung des Wirkstoffs nicht eintreten kann. Die offenbar kurze Halbwertszeit unserer Oberflächenmodifizierung stellt unserer Meinung keinen Nachteil dar. Im Gegenteil: eine langfristige Wirkstoff Freisetzung über Wochen oder gar Monate von der Grenzfläche eines VAD scheint unter Berücksichtigung unserer Forschungsergebnisse nicht erforderlich zu sein und sollte aufgrund der potentiellen Gefahren kritisch hinterfragt werden. Die Erkenntnisse unserer Studien führen uns zu dem Schluss, dass die beschriebene initiale Reaktion an der Blut-Grenzfläche darüber entscheidet, inwieweit sich frühzeitig Thromben innerhalb des VAD bilden. Diese initiale Reaktion, die mit der unspezifischen Proteinadsorption beginnt, scheint

nach wenigen Stunden, spätestens aber nach wenigen Tagen, abgeschlossen zu sein. Danach eintretende späte Thrombusbildung beruht offenbar auf anderen Faktoren wie mangelhaftem Pumpendesign mit Stagnationszonen im Blutfluss oder mechanischer Aktivierung von Thrombozyten an Unebenheiten der Pumpenoberfläche und Konnektorverbindungen. Nicht zuletzt spielt die exakte Platzierung der Einflusskanüle im Ventrikel eine zentrale Rolle, um den Blutfluss innerhalb des VAD harmonisch und kontinuierlich zu gewährleisten.

Unseres Wissens nach stellen die hier beschriebenen Versuchsreihen erstmalig die Anwendung einer gezielten Thrombozyten-Inhibitor Beschichtung auf der Blutgrenzfläche eines nonpulsatilen VAD dar, um dem Problem Scher-induzierter Thrombozytenaktivierung in diesen Systemen zu begegnen. An dieser Stelle muss jedoch ausdrücklich betont werden, dass die Verwendung antithrombozytärer Wirkstoffe -auch wenn diese lokal und zeitlich begrenzt bleiben- aufgrund der Gefahr von Blutungskomplikationen unter mechanischer Kreislaufunterstützung kritisch zu betrachten ist! Weitere in-vivo Langzeitversuche sowie klinische Studien müssen die Sicherheit einer solchen lokalen Wirkstoff Freisetzung insbesondere in Bezug auf Hämorrhagien genauer evaluieren. Sie sind Gegenstand der weiteren Forschungstätigkeit der Arbeitsgruppe.

5 Zusammenfassung und Ausblick

Hintergrund: Die mechanische Kreislaufunterstützung ist fester Bestandteil im Therapiekonzept der Herzinsuffizienz. In ca. einem Drittel aller Patienten ist eine biventrikuläre Entlastung erforderlich, um eine ausreichende Hämodynamik sicherzustellen. Alle derzeit verfügbare implantierbare Systeme zur mechanischen Kreislaufunterstützung (ventricular assist devices=VAD) sind jedoch nur für eine univentrikuläre Unterstützung ausgelegt. Eine biventrikuläre mechanische Kreislaufunterstützung konnte bislang nur durch einen mechanischen Herzersatz (der jedoch wegen der fehlenden „bridge-to-recovery“ Option umstritten bleibt) bzw. durch extrakorporal gelegene Blutpumpen durchgeführt werden. Neben einer erheblich eingeschränkten Lebensqualität birgt die extrakorporale Lage von Blutpumpen ein hohes Risiko für Infektionen entlang der transkutanen Einfluß- und Ausflußconduits. Diese Infektionen stellen nach wie vor ein sehr ernstes Krankheitsbild dar.

Aus diesen Gründen sollte ein „*implantierbares biventrikuläres VAD (BVAD)*“ entwickelt werden. Nur nonpulsatile Blutpumpen sind klein genug, daß zwei Blutpumpen in-situ implantiert werden können und diese aufgrund ihrer hydrodynamischen Effizienz dennoch in der Lage sind, ein ausreichendes Herzzeitvolumen zur Verfügung zu stellen. Das Konzept eines implantierbaren BVAD beruhte daher auf der Basis von zwei Zentrifugalpumpen. Die Auswirkungen einer nonpulsatilen Langzeitperfusion auf den Organismus bleiben jedoch seit Einführung dieser Flussform umstritten. Nahezu keine Erfahrungen lagen bezüglich einer *biventrikulären* nonpulsatilen Langzeitunterstützung vor.

Mit einer Inzidenz von mehr als 10 Prozent stellen Schlaganfälle die vermutlich schwerwiegendste Komplikation im Rahmen mechanischer Kreislaufunterstützung dar. Innerhalb nonpulsatiler VAD werden Blutzellen unphysiologisch hohen Scherkräften ausgesetzt. Thrombozyten können durch Scherung aktiviert werden und aggregieren. Es wurde daher spekuliert, daß „*Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung*“ ein möglicher Mechanismus bei der Entstehung von Thromben innerhalb nonpulsatiler VAD sein könnte.

Ziele der Untersuchungen: Der Forschungsschwerpunkt widmete sich den Ursachen, die zur Thrombusbildung in nonpulsatilen VAD führen. Insbesondere sollte der Nachweis erbracht werden, ob Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung ein pathophysiologischer Mechanismus bei der Entstehung von Thromben innerhalb nonpulsatiler VAD ist. Darüber hinaus bestand ein weiteres Ziel darin, die subzellulären Mechanismen aufzudecken, die es Thrombozyten ermöglichen, trotz der hohen Strömungsgeschwindigkeiten auf der im Blutkontakt stehenden Grenzfläche von nonpulsatilen VAD zu aggregieren. Die Erkenntnisse über diese Wechselwirkung zwischen Blut und VAD-Oberfläche sollten schließlich zur Umsetzung von Oberflächenbehandlungen führen, die die Thrombusbildung unterdrücken und somit die Biokompatibilität des zu entwickelnden nonpulsatilen VAD verbessern.

Ein weiteres Ziel bestand darin, unter Anwendung neu zu entwickelnder Methoden die Hämolyseeigenschaft und Thrombogenität der neuen Zentrifugalpumpe zu untersuchen. In-vivo Versuche im Großtiermodell hatten schließlich die Aufgabe das implantierbare BVAD vor der klinischen Anwendung zu evaluieren und die Auswirkungen einer nonpulsatilen biventrikulären Langzeitperfusion auf den Organismus zu untersuchen.

Ergebnisse: Unsere Versuchsreihen zeigten, dass an die Fremdoberfläche adsorbiertes Fibrinogen und von Willebrand Faktor als Liganden für Thrombozyten dienen und die Grundlage für eine Thrombozytenadhäsion an der Blutgrenzfläche der Zentrifugalpumpe bilden. Durch a) physikalische Maßnahmen (Verbesserung der Oberflächenrauigkeit (Topographie) und b) chemisch-thermische Verfahren (Herstellung eines Titania Gels) wurde gezielt Einfluß auf diese Biolisation der Grenzfläche genommen. Hierdurch konnte die Proteinadsorption und resultierende Thrombozytenadhäsion- und aggregation sowie die Aktivierung des Gerinnungssystems auf der Grenzfläche des VAD reduziert werden. Mittels durchflußzytometrischer Analysen konnte in-vitro die Bindung von gelöstem von Willebrand Faktor an strömende Thrombozyten während nonpulsatiler VAD Perfusion nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse beweisen, dass Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung eine Ursache für Thrombusbildung innerhalb nonpulsatiler VAD ist. Durch eine biologisch aktive Oberflächenbeschichtung wurden Scher-induzierte Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenadhäsionen auf der Blut-Grenzfläche des VAD reduziert. Hierzu wurde ein GPIIb/IIIa Rezeptor Inhibitor an Albumin gebunden und durch ionische Bindung auf das Pumpeninnere aufgetragen. Durch diese Oberflächenbeschichtung konnte eine lokale antithrombogene Wirkung auf der im Blutkontakt stehenden Oberfläche erzielt werden: durch Inhibierung der Thrombozyten Interaktion wurde das Auftreten zirkulierender Thrombozyten-Mikroaggregationen sowie Thrombozytenadhäsionen signifikant verringert. Diese Maßnahmen verbesserten die Biokompatibilität der entwickelten Zentrifugalpumpe nachhaltig.

Die präklinische in-vitro Evaluation der entwickelten Zentrifugalpumpe zeigte bei hoher hydrodynamischer Effizienz eine niedrigere Hämolysewirkung und Thrombogenität. Hieraus kann geschlossen werden, dass dieses Pumpendesign für langfristige Anwendungen geeignet ist. Unsere in-vivo Studien im Großtiermodell beschreiben erstmalig die erfolgreiche Durchführung einer langfristigen mechanischen Kreislaufunterstützung mit einem „*implantierbaren BVAD*“. Während der Beobachtungsperiode von bis zu drei Monaten zeigten sich keinerlei mechanische oder elektrische Fehlfunktionen. Die Hämolysewirkung des BVAD war insgesamt niedrig und blieb ohne klinische Relevanz. Unter der nonpulsatilen biventrikulären Unterstützung verblieben Leber- und Nierenwerte im Normbereich, die pulmonale Funktion und Hämodynamik zeigten unter einer balancierten Flußführung keine Beeinträchtigung. Diese Versuchsreihen belegen, dass durch eine biventrikuläre nonpulsatile Perfusion auch langfristig eine normale Endorganfunktion aufrecht erhalten werden kann. Darüber hinaus bewies das implantierbare BVAD in Belastungsstudien seine Zuverlässigkeit, Funktionalität und Sicherheit unter körperlicher Bewegung. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass eine biventrikuläre nonpulsatile Perfusion die Kreislaufregulation zu Beginn körperlicher Belastung nicht beeinflusst. Das implantierbare Gyro BVAD sollte daher in der Lage sein, Patienten eine ambulante Lebensführung zu ermöglichen. Diese Untersuchungen schlossen die präklinische Evaluation des Gyro BVAD ab.

Das Gyro BVAD wurde von der Miwatech, Ltd. (Hokkaido, Japan), einer Tochter der globalen Mutoh Unternehmensgruppe erworben. Für das kommende Jahr ist die Durchführung der klinischen Studien in ausgewählten Zentren geplant.

6 Abkürzungsverzeichnis

ACT	Engl. Activated clotting time
ALAT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
AP	Arterial pressure, arterieller Druck
ASAT	Aspartat-Amino-Transferase
ASTM	American Society for Testing and Materials
ATA	Aurintricarboxylsäure
BUN	Engl. Blood urea nitrogen
C	Celsius
CFD	Engl. computational flow dynamic
CK	Kreatininkinase
Cl	Chlorid
DIN	Deutschen Instituts für Normung
ECMO	extrakorporale Membranoxygenierung
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
fHb	Plasma freies Hämoglobin
FITC	Fluoresceinisothiocyanat
H ₂	Wasserstoff
HCl	Chlorwasserstoff
HKT	Hämatokrit
HPO	Engl. horseradish peroxidase
IgG	Immunglobulin
IH	Index of Hemolysis
INR	Engl. International Normalized Ratio
l	Liter
min	Minute
LDH	Laktatdehydrogenase
Ltd	Engl. Aktiengesellschaft
M	Molar
MAP	Mittlerer arterieller Blutdruck
MCH	mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MES	mikroembolische Signale
MIH	Modified Index of Hemolysis
mm	Milimeter
Na	Natrium

NIH	Normalized Index of Hemolysis
O ₂	Sauerstoff
Pa	Pascal
PaCO ₂	arterieller Kohlendioxidpartialdruck
PaO ₂	arterieller Sauerstoffpartialdruck
PAP	Pulmonalarterieller Druck
PAP(mean)	Mittlerer pulmonalarterieller Druck
PAP(syst)	systolischer pulmonalarterieller Druck
PE	Phycoerythrin
REMATCH	Randomized Evaluation of Mechanical Assistance for the Treatment of Congestive Heart failure
s	Sekunde
TAH	Engl. total artificial heart
TAT	Thrombin-Antithrombin-Komplex
U/min	Umdrehungen pro Minute
VAD	Engl. ventricular assist devices
vWF	von Willebrand Faktor
ZVD	Zentralvenöser Druck

7 Literatur

- 1 Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC.: The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J*; 1997; 18:208-25.
- 2 Massie BM, Shah NB.: Evolving trends in the epidemiologic factors of heart failure: rationale for preventive strategies and comprehensive disease management. *Am Heart J*; 1997; 133: 703-12.
- 3 Lip GYH, Gibbs CR, Beevers DG.: ABC of heart failure. Aetiology. *Br Med J*; 2000; 320; 104-7.
- 4 McMurray JJV, Petrie MC, Murdoch DR, Davie AP.: Clinical epidemiology of heart failure. Public and private health burden. *Eur Heart J*; 1998; 19; 9-16.
- 5 Allender S, Scarborough P, Peto V, Rayner M.: British Heart Foundation third edition of the European cardiovascular disease statistics published by the European Heart Network (February 2008).
- 6 Goldberg RJ, Ciampa J, Lessard D, Meyer TE, Spencer FA.: Long-term survival after heart failure: a contemporary population-based perspective. *Arch Intern Med.* ; 2007; 12; 167(5): 490-6.
- 7 Felker GM, Adams KF, Jr., Konstam MA, O'Connor CM, Gheorghiu M.: The problem of decompensated heart failure: nomenclature, classification, and risk stratification. *Am Heart J*; 2003; 145; 18-25.
- 8 Rose EA, Frazier OH.: Resurrection after mechanical circulatory support. *Circulation*; 1997; 96; 393-5 .
- 9 McCarthy PM, Nakatani S, Vargo R, Kottke-Marchant K, Harasaki H, James KB, Savage RM, Thomas JD.: Structural and left ventricular histologic changes after implantable LVAD insertion. *Ann Thorac Surg*; 1995; 59:609-13.
- 10 Levin HR, Oz MC, Chen JM, Packer M, Rose EA, Burkhoff D. Reversal of chronic ventricular dilation in patients with end-stage cardiomyopathy by prolonged mechanical unloading. *Circulation*; 1995; 91: 2717-20.
- 11 Frazier OH, Benedict CR, Radovancevic B, et al. Improved left ventricular function after chronic left ventricular unloading. *Ann Thorac Surg* 1996;62:675-82.
- 12 Goldstein DJ, Moazami N, Seldomridge JA.: Circulatory resuscitation with left ventricular assist device support reduces interleukins 6 and 8 levels. *Ann Thorac Surg* 1997;63:971-4.

-
- 13 James KB, McCarthy PM, Vargo R, Hobbs RE, Bravo E. The effect of the implantable left ventricular assist device on neurohormones in heart failure. *Circulation* 1994;90:47.
- 14 Scheinin SA, Capek P, Radovancevic B, Duncan JM, McAllister HA, Frazier OH. The effect of prolonged left ventricular support on myocardial histopathology in patients with end-stage cardiomyopathy. *ASAIO J* 1992;38:M271–4.
- 15 Altemose GT, Gritsus V, Jeevanandam V, Goldman B, Margulies KB. Altered myocardial phenotype after mechanical support in human beings with advanced cardiomyopathy. *J Heart Lung Transplant* 1997;16:765–73.
- 16 Deng MC, Edwards LB, Hertz MI, Rowe AW, Keck BM, Kormos R, Naftel DC, Kirklin JK, Taylor DO; International Society for Heart and Lung Transplantation. Mechanical circulatory support device database of the International Society for Heart and Lung Transplantation: third annual report--2005. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Sep;24(9):1182-7.
- 17 Cooley D, Liotta D, Hallman GL, Bloodwell RD, Leachman RD, Milam RC. First human implantation of cardiac prosthesis for staged total replacement of the heart. *Tr Am Soc Artif Intern Org* 15:252-263, 1969.
- 18 Rose EA, Gelijns AC, Moskowitz AJ, Heitjan DF, Stevenson LW, Dembitsky W, Long JW, Ascheim DD, Tierney AR, Levitan RG, Watson JT, Meier P, Ronan NS, Shapiro PA, Lazar RM, Miller LW, Gupta L, Frazier OH, Desvigne-Nickens P, Oz MC, Poirier VL; Randomized Evaluation of Mechanical Assistance for the Treatment of Congestive Heart Failure (REMATCH) Study Group. Long-Term Use of a Left Ventricular Assist Device for End-Stage Heart Failure *N Engl J Med*. 2001 Nov 15;345(20):1435-43.
- 19 Rogers JG, Butler J, Lansman SL, Gass A, Portner PM, Pasque MK, Pierson RN 3rd; INTrEPID Investigators Chronic mechanical circulatory support for inotrope-dependent heart failure patients who are not transplant candidates: results of the INTrEPID Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Aug 21;50(8):741-7. Epub 2007 Aug 6.,
- 20 M. Behr: *Parallel CFD—New Frontiers and Multi-Disciplinary Applications*, Elsevier (2003) 451–458 1
- 21 Yamane T, Kodama T, Yamamoto Y, Shinohara T, Nosé Y. Flow visualization in a centrifugal blood pump with an eccentric inlet port. *Artif Organs*. 2004 Jun;28(6):564-70.
- 22 Naito K, Mizuguchi K, Nose Y.: The need for standardizing the index of hemolysis. *Artif Organs* 1994 Jan;18(1):7-10.
- 23 Allen JG, ed. *Extracorporeal circulation*. Springfield, Il.: Charles C Thomas, 1960:514.

-
- 24 Mueller MR, Schima H, Engelhardt H, Salat A, Olsen DB, Losert U, Wolner E.: In vitro hematological testing of rotary blood pumps: remarks on standardization and data interpretation. *Artif Organs* 1993 Feb;17(2):103-10.
- 25 DIN EN ISO 10993-4:2003-03: Biologische Beurteilung von Medizinprodukten – Teil 4: Auswahl von Prüfungen zur Wechselwirkung mit Blut
- 26 ASTM F 1830 – 97: Standard Practice for Selection of Blood for In Vitro Evaluation of Blood Pumps.
- 27 ASTM F 1841 – 97: Standard Practice for Assessment of Hemolysis in Continuous Flow Blood Pumps.
- 28 Newman MF, Kirchner JL, Phillips-Bute B, Gaver V, Grocott H, Jones RH, Mark DB, Reves JG, Blumenthal JA.: Longitudinal Assessment of Neurocognitive Function after Coronary-Artery Bypass Surgery. *N Engl J Med* 2001 Feb 8;344(6):395-402.
- 29 Mandelbaum I., Burns WH.: Pulsatile and non-pulsatile blood flow. *JAMA* 191; 657-660, 1965
- 30 Golding LR, Murakami G, Harasaki H, Takatani S, Jacobs G, Yada I, Tomita K, Yozu R, Valdés F, Fujimoto LK, Koike S, Nosé Y. Chronic nonpulsatile blood flow. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1982;28:81-5.
- 31 Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences, National Research Council, National Academy Press, Washington, D.C. 1996
- 32 Brown CH 3rd, Leverett LB, Lewis CW, Alfrey CP Jr, Hellums JD. Morphological, biochemical, and functional changes in human platelets subjected to shear stress. *J Lab Clin Med*. 1975 Sep;86(3):462-71.
- 33 Anderson GH, Hellums JD, Moake JL, Alfrey CP Jr: Platelet lysis and aggregation in shear fields. *Blood Cells* 4: 499–511, 1978.
- 34 Kroll MH, Dong JF, Francis K, Hellums JD, Vlahos CJ, Lopez JA: Shear activates a functionally important phosphatidylinositol 3-kinase in intact human platelets. *Blood*; 86; 612a; 1995 (abstr, suppl 1).
- 35 Brown CH 3d, Leverett LB, Lewis CW, Alfrey CP Jr, Hellums JD: Morphological, biochemical, and functional changes in human platelets subjected to shear stress. *J Lab Clin Med* 1975 Sep;86(3):462-71.

-
- 36 Chow TW, Hellums JD, Moake JL, Kroll MH: Shear stress-induced von Willebrand factor binding to platelet glycoprotein Ib initiates calcium influx associated with aggregation. *Blood* 1992 Jul 1;80(1):113-20.
- 37 Kroll MH, Hellums JD, Guo Z, Durante W, Razdan K, Hrbolich JK, Schafer AI: Protein kinase C is activated in platelets subjected to pathological shear stress. *J Biol Chem* 1993 Feb 15;268(5):3520-4.
- 38 Razdan K, Hellums JD, Kroll MH: Shear-stress-induced von Willebrand factor binding to platelets causes the activation of tyrosine kinase(s). *Biochem J* 1994 Sep 15;302 (Pt 3):681-6.
- 39 Feng B., Weng J., Yang B.C., Chen J.Y., Zhao J.Z., He L., Qi S.K., Zhang X.D.: Surface characterization of titanium and adsorption of bovine serum albumin. *Mater Charac* 2002, 49, 129-137.
- 40 S. Tosatti, S.M. De Paul, A. Askendal, S.V. VandeVondele, J.A. Hubbell, P. Tengvall, M. Textor: Peptide functionalized poly(L-lysine)-g-Poly(ethylene glycol) on titanium: resistance to protein adsorption in full heparinized human blood plasma. *Biomaterials* 2003, 24, 4949-4958.
- 41 Rickenbacher P.: Herzinsuffizienz: Epidemiologie, Pathophysiologie; *Swiss Medical Forum* Nr. 1/2 10. Januar 2001
- 42 Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-second official adult heart transplant report – 2005. *J Heart Lung Transplant* 2005;24:945–55.
- 43 Zierer A, Melby SJ, Voeller RK, Guthrie TJ, Ewald GA, Shelton K, Pasque MK, Moon MR, Damiano RJ Jr, Moazami N.: Late-onset driveline infections: the Achilles' heel of prolonged left ventricular assist device support. *Ann Thorac Surg.* 2007 Aug;84(2):515-20).
- 44 Simon D, Fischer S, Grossman A, et al. Left ventricular assist device-related infection: treatment and outcome. *Clin Infect Dis* 2005;40:1108–15.)
- 45 Ottenberg R., Fox, C.: The rate of removal of hemoglobin from the circulation and its renal threshold in human beings. *Am J Physiol* Vol. 123, Issue 2, 516-525, July 31, 1938.
- 46 Kawahito K, Nosé Y.: Hemolysis in different centrifugal pumps. *Artif Organs.* 1997 Apr;21(4):323-6.
- 47 Kenneth L. Franco, Edward D. Verrier: *Advanced therapy in cardiac surgery*; Hamilton: Decker, 2003. S 526.

48 Takami Y, Makinouchi K, Nakazawa T, Benkowski R, Glueck J, Ohara Y, Nosé Y.: Hemolytic characteristics of a pivot bearing supported Gyro centrifugal pump (C1E3) simulating various clinical applications. *Artif Organs*. 1996 Sep;20(9):1042-9.

49 Fan J, Xu S, Chen F, Ding M.: The significance of erythrocyte fragment count to predicting hemolysis in roller pumps. *J of Biomedical Engineering*; 2008 Jun;25(3):632-6.

50 Padayachee TS, Parsons S, Theobald R, Lindley J, Gosling RG, Deverall PB.: The detection of microemboli in the middle cerebral artery during cardiopulmonary bypass: A transcranial Doppler ultrasound investigation using membrane and bubble oxygenators. *Ann Thorac Surg* 44:298–302, 1987.

51 Moehring MA, Klepper JR.: Pulse Doppler ultrasound detection, characterisation and size estimation of emboli in flowing blood. *IEEE Trans Biomed Eng* 41:35–44, 1994.

52 Russell D, Madden KP, Clark WM, Sandset PM, Zivin JA.: Detection of arterial emboli using Doppler ultrasound in rabbits. *Stroke* 22: 253–258, 1991.

53 Russel D, Brucher R.: The size of cerebral microemboli in prosthetic heart valve patients. *Stroke* 26: 733, 1995

54 Clark RE, Brillman J, Davis DA, Lovell MR, Price TR, Magovern GJ.: Microemboli during coronary artery bypass grafting. Genesis and effect on outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 109:249–257, 1995.

55 Sylivris S, Levi C, Matalanis G.: Pattern and significance of cerebral microemboli during coronary artery bypass grafting. *Ann Thorac Surg* 66:1674–1678, 1998.

56 Nabavi DG, Stockmann J, Schmid C, Schneider M, Hammel D, Scheld HH, Ringelstein EB.: Doppler microembolic load predicts risk of thromboembolic complications in Novacor patients *Thorac Cardiovasc Surg* 2003;126:160-7

57 Georgiadis D, Wenzel A, Lehmann D, Lindner A, Zierz S, Spencer MP.: Influence of oxygen ventilation on Doppler microemboli signals in patients with artificial heart valves. *Stroke* 1997; 28: 2189–2194

58 Baumgartner RW, Frick A, Hermann M, Ochslin P, Russi E, Turina J, Georgiadis D.: Microembolic signals in patients with artificial heart valves during hyperbaric exposure. *J Thorac Cardiovasc Surg* 122 (6):1142–1146, 2001.

-
- 59 Graf T, Fischer H, Reul H, Rau G.: Cavitation potential of mechanical heart valve prostheses. *Int J Artif Organs* 14:169–174; 1991.
- 60 Thoennissen NH, Schneider M, Allroggen A, Ritter M, Dittrich R, Schmid C, Scheld HH, Ringelstein EB, Nabavi DG.: High level of cerebral microembolization in patients supported with the DeBakey left ventricular assist device *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130:1159-66)
- 61 Potapov EV, Nasser BA, Loebe M, Kukucka M, Koster A, Kuppe H, et al. Transcranial detection of microembolic signals in patients with a novel nonpulsatile implantable LVAD. *ASAIO J.* 2001;47:249-53
- 62 Vasků J, Wotke J, Dobsák P, Baba A, Rejthar A, Kuchtícková S, Imachi K, Abe Y, Saito I, Isoyama T, Nitta S, Yambe T. :. Acute and chronic consequences of non-pulsatile blood flow pattern in long-term total artificial heart experiment; *Pathophysiology* 14 ; 87–95, 2007
- 63 Nishimura T, Tatsumi E, Takaichi S, Taenaka Y, Wakisaka Y, Nakatani T, Masuzawa T, Takewa Y, Nakamura M, Endo S, Sohn YS, Takano H. Morphologic changes of the aortic wall due to reduced systemic pulse pressure in prolonged nonpulsatile left heart bypass. *ASAIO J* 1997;43:691–695
- 64 Baba A, Dobsak P, Mochizuki S, et al. Evaluation of pulsatile and nonpulsatile flow in microvessels of the bulbar conjunctiva in the goat with an undulation pump artificial heart. *Artif Organs* 2003;27:875–81.
- 65 Orime Y, Shiono M, Hata H, Yagi S, Tsukamoto S, Okumura H, Nakata K, Kimura S, Hata M, Sezai A, Sezai Y.: Cytokine and endothelial damage in pulsatile and non-pulsatile cardiopulmonary bypass. *Artif Organs* 1999;23:508–12.
- 66 Orime Y, Shiono M, Nakata K, Hata M, Sezai A, Yamada H, Iida M, Kashiwazaki S, Nemoto M, Kinoshita J, Kojima T, Saito T, Sezai Y.: The role of pulsatility in end-organ microcirculation after cardiogenic shock. *ASAIO J*, 1996;42:M724–9.
- 67 Minami K, Dramburg W, Notohamiprodjo G, Körfer R. Effects of pulsatile perfusion on perioperative morbidity and mortality in high-risk patients. In: Minami K, Körfer R, Wada J, eds. *Cardio-Thoracic Surgery. What Is New in Current Practice* . Amsterdam: Elsevier, 1992; 67–75.
- 68 Saito S, Westaby S, Piggot D, et al. End-organ function during chronic non-pulsatile circulation. *Ann Thorac Surg* 2002;74: 1080–5.

-
- 69 Potapov EV, Loebe M, Abdul-Khaliq H, et al. Postoperative course of S-100B protein and neuron-specific enolase in patients after implantation of continuous and pulsatile flow LVADs. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:1310–16.
- 70 Potapov EV, Loebe M, Nasser BA, et al. Pulsatile flow in patients with a novel nonpulsatile implantable ventricular assist device. *Circulation* 2000;102(Suppl III):183–7.)
- 71 Tsutsui-T, Nose Y.: Arterial Pressure Pulsation During Nonpulsatile biventricular Bypass experiments: possible idioperipheral pulsation. *Artif. Organs*: 10(2): 153-155; 1986
- 72 Valdes F, Takatani S, Jacobs BG, et al. Comparison of haemodynamic changes in a chronic non-pulsatile biventricular bypass and total artificial heart. *Trans ASAIO* 1980;26:455
- 73 Shepard RB, Simpson DC, Sharp JF. Energy equivalent pressure. *Arch Surg* 1966;93:730–40.18.
- 74 Ündar A, Masai T, Frazier OH, Fraser CD Jr. Pulsatile and nonpulsatile flows can be quantified in terms of energy equivalent pressure during cardiopulmonary bypass for direct comparisons. *ASAIO J* 1999;45:610–14.
- 75 Wright G. Hemodynamic analysis could resolve the pulsatile blood flow controversy. *Ann Thorac Surg* 1994;58:1199–204.
- 76 Undar A, Fraser CD Jr. Physiology of nonpulsatile perfusion: acute versus chronic support [letter]. *ASAIO J* 2000;46:150.
- 77 Kawahito S, Takano T, Nakata K, Maeda T, Nonaka K, Linneweber J, Schulte-Eistrup S, Sato T, Mikami M, Glueck J, Nosé Y.: Analysis of the arterial blood pressure waveform during left ventricular nonpulsatile assistance in animal models. *Artif Organs*. 2000 Oct;24(10):816-20.
- 78 Kawahito S, Nakata K, Nonaka K, Sato T, Yoshikawa M, Takano T, Maeda T, Linneweber J, Schulte-Eistrup S, Flowers D, Glueck J, Nosé Y.: Analysis of the arterial blood pressure waveform using Fast Fourier Transform technique during left ventricular nonpulsatile assistance: in vitro study. *Artif Organs*. 2000 Jul;24(7):580-3.
- 79 Ündar A, Eichstaedt HC, Masai T.: Comparison of six pediatric cardiopulmonary bypass pumps during pulsatile and nonpulsatile perfusion. *J Thoracic Cardiovasc Surg* 122: 827–829, 2001.

-
- 80 Frazier OH, Gemmato C, Myers TJ, Gregoric ID, Radovancevic B, Loyalka P, Kar B.: Initial clinical experience with the HeartMate II axial-flow left ventricular assist device; *Tex Heart Inst J*. 2007;34(3):275-81.
- 81 Frazier OH, Myers TJ, Westaby S, Gregoric ID: Use of the Jarvik 2000 left ventricular assist system as a bridge to heart transplantation or as destination therapy for patients with chronic heart failure. *Ann Surg*. 2003 May;237(5):631-6; discussion 636-7.
- 82 Goldstein DJ.: Worldwide experience with the MicroMed DeBakey Ventricular Assist Device as a bridge to transplantation. *Circulation*. 2003 Sep 9;108 Suppl 1:II272-7.
- 83 Schmid C, Tjan TD, Etz C, Schmidt C, Wenzelburger F, Wilhelm M, Rothenburger M, Drees G, Scheld HH.: First clinical experience with the Incor left ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant*. 2005 Sep;24(9):1188-94.
- 84 Sakaki M, Taenaka Y, Tatsumi E, Nakatani T, Takano H. Influences of nonpulsatile pulmonary flow on pulmonary function. Evaluation in a chronic animal model. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1994 Sep;108(3):495-502.
- 85 Wieselthaler GM, Schima H, Hiesmayr M, et al. First clinical experience with the DeBakey VAD continuousaxial-flow pump for bridge to transplantation. *Circulation* 2000;101:356–9.
- 86 Schima H, Vollkron M, Jantsch U, Crevenna R, Roethy W, Benkowski R, Morello G, Quittan M, Hiesmayr M, Wieselthaler G.: First clinical experience with an automatic control system for rotary blood pumps during ergometry and right-heart catheterization. (*J Heart Lung Transplant*. 2006 Feb;25(2):167-73.
- 87 Akimoto T, Yamazaki K, Litwak P.: Rotary blood pump flow spontaneously increases during exercise under constant pump speed: results of a chronic study. *Artif Organs* 1999;23:797–801.
- 88 Shoor PM, Hammill FS., Griffith LD., Dille RB., Bernstein EF.: Hemodynamic responses to exercise in the unanesthetized calf with pulseless arterial flow. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1980; 26; 1-7.
- 89 Yozu R, Golding L, Yada I, Harasaki H, Takatani S, Kawada S, Nosé Y: Do we really need pulse? Chronic nonpulsatile and pulsatile blood flow: from the exercise response viewpoints. *Artif Organs* 1994 Sep;18(9):638-42.
- 90 Konishi H, Antaki JF, Amin DV. .: Controller for an axial flow blood pump. *Artif Organs* 1996;20:618–20.

-
- 91 Wu Y, Allaire P, Tao G, Wood H, Olsen D, Tribble C. An advanced physiological controller design for a left ventricular assist device to prevent left ventricular collapse. *Artif Organs* 2003;27:926–30.
- 92 Moake, J. L., Turner, N. A. Stathopoulos, L. H. Nolasco, and J. D. Hellums. Involvement of large plasma von Willebrand factor (vWF) multimers and unusually large vWF forms derived from endothelial cells in shear stress-induced platelet aggregation. *J. Clin. Invest.* 78:1456-1461, 1986.
- 93 Moake, J. L., N. A. Turner, N. A. Stathopoulos, L. H. Nolasco, and J. D. Hellums. Shear-induced platelet aggregation can be mediated by vWF released by platelets, as well as exogenous large or unusually large vWF multimers, requires adenosine diphosphate, and is resistant to aspirin. *Blood* 71:1366-1374, 1988.
- 94 Jesty J, Yin W, Perrotta P, Bluestein D.: Platelet activation in a circulating flow loop: combined effects of shear stress and exposure time. *Platelets*. 2003 May;14(3):143-9.
- 95 Savage B, Saldivar E, Ruggeri ZM. Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor. *Cell* 1996;84:289–97
- 96 Asztalos B, Yamane T, Nishida M. Flow visualization analysis for evaluation of shear and recirculation in a new closed-type, monopivot centrifugal blood pump. *Artif Organs* 1999;23:939–46.
- 97 Savage B, Ruggeri ZM. Platelet thrombus formation in flowing blood. In: Michelson AD, editor. *Platelets*. Amsterdam: Academic Press, 2002:216–7.
- 98 Kasirer-Friede A, Cozzi MR, Mazzucato M, De Marco L, Ruggeri ZM, Shattil SJ. Signaling through GP Ib-IX-V activates alpha IIb beta 3 independently of other receptors. *Blood* 2004;103:3403–11.
- 99 Moake JL, Turner NA, Stathopoulos NA, Nolasco L, Hellums JD.: Shear-induced platelet aggregation can be mediated by vWf released from platelets, as well as by exogenous large or unusually large multimers, requires adenosine diphosphate, and is resistant to aspirin. *Blood* 1988;71:1366–74.
- 100 Ratner B.D.: New ideas in biomaterials science—a path to engineered biomaterials; *J. Biomed. Mater. Res.* 27 1993, 837.
- 101 Takami Y, Nakazawa T, Makinouchi K, Tayama E, Glueck J, Benkowski R, Nose Y.: Hemolytic effect of surface roughness of an impeller in a centrifugal blood pump. *Artif Organs* 1997 Jul;21(7):686-90.

-
- 102 Salih V, Graham TR, Berry CL, Coumbe A, Smith SC, Dasse K, Frazier OH.: The lining of textured surfaces in implantable left ventricular assist devices. An immunocytochemical and electronmicroscopic study. *Am J Cardiovasc Pathol.* 1993;4(4):317-25.
- 103 Graham TR, Dasse K, Coumbe A, Salih V, Marrinan MT, Frazier OH, Lewis CT.: Neo-intimal development on textured biomaterial surfaces during clinical use of an implantable left ventricular assist device. *Eur J Cardiothorac Surg.* 1990;4(4):182-90.
- 104 Buttler K: Current status on the Development of the HeartMate II. Intl. Symposium of Artificial Organs and Opening of the ICMT, Houston, TX. Nov. 9-11.2002.
- 105 Roach P, Farrar D, Perry CC.: Interpretation of protein adsorption: surface-induced conformational changes. *J Am Chem Soc.* 2005 Jun 8;127(22):8168-73.
- 106 Ebert C.D., Lee E.S., Deneris J., Kim S.W.: The anticoagulant activity of derivatized and immobilized heparins. *Advances in Chemistry Series* 1982, 199, 161-76.
- 107 Koster A, Sanger S, Hansen R, Sodian R, Mertzlufft F, Harke C, Kuppe H, Hetzer R, Loebe M. Prevalence and persistence of heparin/platelet factor 4 antibodies in patients with heparin coated and noncoated ventricular assist devices. *ASAIO J.* 2000 May-Jun;46(3):319-22.

8 Danksagung

Es ist mir ein großes Anliegen, mich bei Professor Dr. med. Konertz, Direktor der Klinik für Kardiovaskuläre Chirurgie der Charité für die Förderung meiner Forschungstätigkeit der letzten Jahre und die Unterstützung meines Habilitationswunsches zu bedanken. Durch die Bereitstellung von Laborflächen sowie seiner Hilfe bei der Planung und Durchführung der Studien war es möglich, die Forschungsvorhaben erfolgreich voranzubringen. Seine konstruktiven Ratschläge bei der Durchsicht der Publikationsmanuskripte ermöglichte nicht zuletzt die wissenschaftliche Veröffentlichung der Forschungsergebnisse und somit die Erstellung dieser Habilitationsschrift.

Mein ganz besonderer Dank gilt auch meinem früheren Mentor, Professor Dr. Yukihiro Nosé, Department of Surgery, am Baylor College of Medicine, USA. Ihm verdanke ich im besonderen Maße, mein Interesse an wissenschaftlicher Arbeit und für das spannende Thema der mechanischen Kreislaufunterstützung. Für seine Weitsicht der wissenschaftlichen Relevanz des Forschungsthemas bin ich besonders dankbar. Nicht zuletzt ermöglichte seine finanzielle Unterstützung die Durchführung großer Teile meiner Forschungsarbeit. Professor Joel Moake und Dr. Thomas Chow, Department of Bioengineering, Rice University, Houston, TX. verdanke ich das Erlernen zahlreicher medizintechnischer Verfahren und Methoden.

Mein Dank gilt ferner Professor Dr. Ing. Affeld, Leiter des Labors für Biofluidmechanik der Charité, für die anregende und fruchtbare wissenschaftliche Unterstützung sowie Professor Dr. med. Heymann, Klinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, für die konstruktive Durchsicht und Diskussion dieser Habilitationsschrift.

Darüber hinaus gilt mein Dank sämtlichen Mitarbeitern unserer Arbeitsgruppe. Ohne ihren fortgesetzten Einsatz und ihrem Engagement bei der Arbeit wäre die Durchführung der Forschungsarbeiten nicht möglich gewesen.

Ich bedanke mich ferner bei der Deutschen Herzstiftung e.V. sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) für die Finanzierung der Forschungsprojekte.

Zu allergrößtem Dank bin ich meinen Eltern verpflichtet. Sie ermöglichten mir durch ihre finanzielle Unterstützung nicht nur meine Ausbildung, sondern legten vor allem durch ihre Erziehung und Förderung den Grundstein, der meinen beruflichen als auch persönlichen Werdegang ermöglichte.

9 Eidesstattliche Erklärung

ERKLÄRUNG

§ 4 Abs.3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorliegende Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Berlin, Februar 2011

Dr. med. Jörg Linneweber