

Aus der Herzchirurgischen Klinik und Poliklinik
Der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Christian Hagl

**Aortenklappenersatz mit Homografts:
Einflussfaktoren auf das Langzeitergebnis**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Dr. med. univ. Ferdinand Vogt

aus
Wien, Österreich

Jahr
2012

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
Der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Bruno Reichart

Mitbetreut durch den promovierten
Mitarbeiter: Priv. Doz. Dr. med. Eckehard Kilian

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. med. Eckehard Kilian
Prof. Dr. med. Peter Conzen

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. Maximilian Reiser,
FACR, FRCR

Tag der mündlichen Prüfung: 18. 10. 2012

Inhalt

1. Einleitung:	4
1. 1. Allgemeines	4
1. 2. Unterschiedliche Klappenmodelle	4
1. 2. 1. Mechanische Prothesen	4
1. 2. 2. Biologische Prothesen.....	5
1. 2. 3. Homografts	6
2. Material und Methoden:.....	7
2. 1. Klappen	7
2. 2. Operative Technik:	9
2. 3. Studiendesign:.....	10
2. 4. Echokardiographische Untersuchungsergebnisse:	11
2. 5. Datenverarbeitung & Statistik:	11
3. Ergebnisse:	12
3. 1. Patientendemographie:	12
3. 2. Indikationen zur Operation:	12
3. 3. Prozeduren	13
3. 4. Echokardiographische Ergebnisse:.....	14
3. 5. Hämorrhagische Komplikationen.....	16
3. 6. Überleben:	17
3. 7. Ereignisfreiheit von Re-Operationen:	19
3. 8. Reoperationen:.....	21
4. Diskussion:.....	23
5. Schlussfolgerung:	27
6. Zusammenfassung:	28
7. Summary:	29
8. Literaturverzeichnis.....	30
9. Originalarbeit	35
10. Eidesstattliche Erklärung	41

1. Einleitung:

1.1. Allgemeines

Der operative Ersatz der erkrankten Aortenklappe ist der häufigste Eingriff der Herzklappenchirurgie. Die Notwendigkeit des Ersatzes der Aortenklappe zog von Beginn an die Frage nach dem richtigen oder vermeintlich ideal geeigneten Klappenprothesenmodell nach sich. Nach den ersten Versuchen und klinischen Anwendungen von mechanischen Prothesen durch Harken und Starr in den frühen 1950er & 1960er Jahren haben 1962 unabhängig voneinander Sir David Ross [1] und der Sir Barret-Boyes [2] eine menschliche Herzklappe, als Homograft, in Aortenposition implantiert. Im Jahr 1965 wurde erstmals eine von Alain Carpentier entwickelte Xeno-Perikard-Klappenprothese implantiert. Alle diese Klappen zeigen gute hämodynamische Eigenschaften bei unterschiedlichen Limitationen in deren Anwendung.

1.2. Unterschiedliche Klappenmodelle

1.2.1. Mechanische Prothesen

Mechanische Herzklappen entsprechen heutzutage in der Regel einem zweiflügeligen Kippscheiben-Ventil. Der Ring besteht aus Metall, der mit einem Polyesterbezug versehen ist um die Klappe mit Nähten zu fixieren. Die Kippscheiben selbst werden aus pyrolytischen Kohlenstoff hergestellt.



Abb. 1: Mechanische Klappenprothese

Aufgrund der Oberflächenbeschaffenheit und der mechanischen Kippfunktion ist eine lebenslange Antikoagulation erforderlich. Diese kann durch Heparine oder Cumarine (Phenprocoumon, Warfarin, Acenocumarol) erzielt werden, die jedoch eine engmaschige Gerinnungskontrolle notwendig macht. Neuere Antikoagulationen, wie

direkte Thrombininhibitoren oder Faktor Xa-Inhibitoren, werden mit der Erwartung einer leichteren Dosierung im Rahmen klinischer Studien geprüft. Eine Abweichung vom therapeutischen Bereich, der oralen Antikoagulation, kann bei Unterdosierung zu thromboembolischen Ereignissen und einer Fehlfunktion der Klappe führen. Bei Überdosierung sind hämorrhagischen Komplikationen wie starke Blutungen bei Verletzungen oder zerebrale Einblutungen und gastrointestinale Blutungen zu befürchten. Des Weiteren erzeugen mechanische Klappenprothesen ein, für den Patienten, mehr oder weniger unangenehm, wahrnehmbares Klappengeräusch, den „Prothesenklick“. Leider zeigt sich in der Langzeitbeobachtung, dass auch diese Klappen nicht „lebenslang“ haltbar sind. Furnary et al. aus Portland zeigten, dass nach 20 Jahren, auch bei den mechanischen Prothesen, bei 20% der Patienten ein Klappentausch erforderlich war.

1. 2. 2. Biologische Prothesen

Biologische Herzklappen, so genannte „Xenografts“, bestehen aus tierischem Gewebe. Hierbei findet entweder die Aortenklappe direkt vom Schwein Verwendung oder eine solche Klappe wird aus tierischem Herzbeutelgewebe, meist Rinderperikard, konstruiert. Je nach Bauart werden solche, xenogenen Klappen auf einem Gerüst („Stent“) fixiert oder gerüstfrei zur Verfügung gestellt.



Abb. 2: Biologische Prothese

Alle diese biologischen Prothesen, porcinen oder bovinen Ursprungs, benötigen aufgrund der niedrigen Thrombogenität keine Antikoagulation. Dennoch zeigen diese Klappenprothesen in der Langzeitbeobachtung eine strukturelle Degeneration der Klappensegel und eine damit verbundene limitierte Haltbarkeit. Die Aufbereitung der Klappen mittels Dekalzifizierung und Fixierung mit Glutaraldehyd brachte zwar eine Verbesserung, eine sukzessive Verkalkung kann aber dennoch nicht verhindert werden.

1. 2. 3. Homografts

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Verwendung menschlicher Allografts. Diese, so bezeichneten „Homografts“ sind menschliche Klappen, die entweder posthum von Spendern gewonnen wurden (sogenannten non-heart-beating-donors) oder aber im Rahmen von Transplantationen aus den explantierten Empfängernherzen oder aus nicht-transplantierten Spenderorganen gewonnen wurden (heart-beating-donors). Unter aseptischen Bedingungen (siehe Abb. 3) wurde schließlich die Unversehrtheit der Klappe überprüft, der Innendurchmesser zur Größenanpassung mittels eines Hägarstiftes ausgemessen und entsprechend gelagert (siehe 2. 1.).

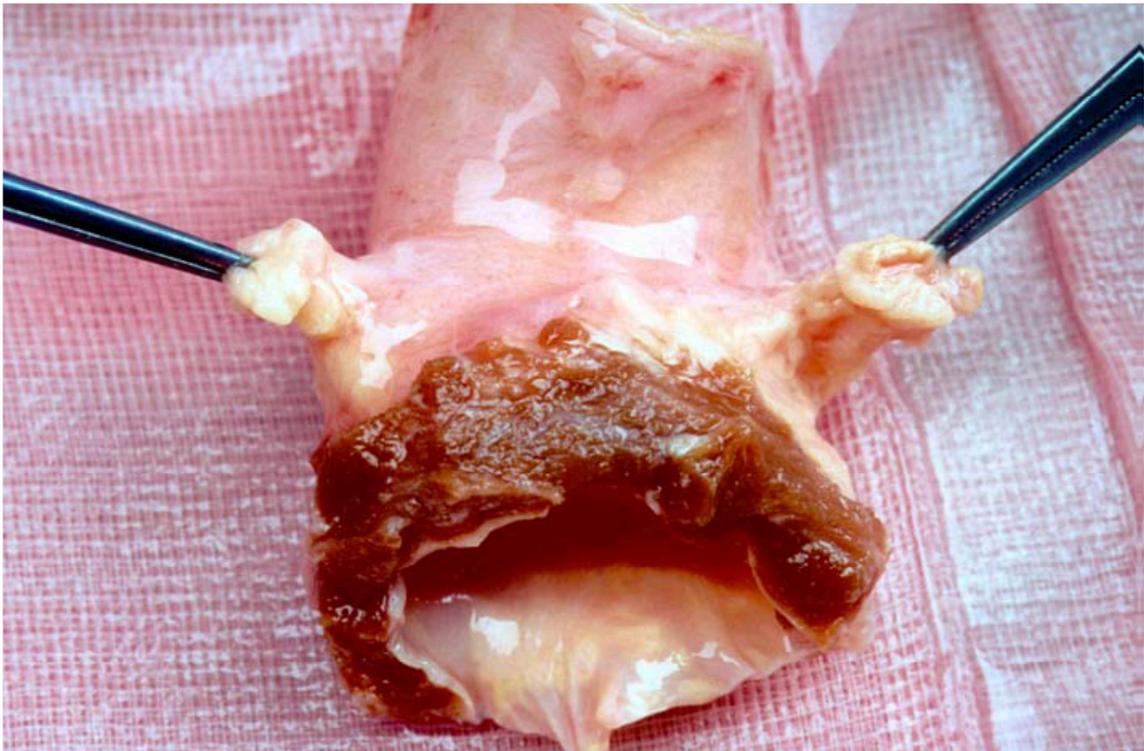


Abb. 3: Homograft mit den beiden Koronarostien

Die ersten Erfahrungen in der Anwendung solcher Homografts im Jahre 1962 durch Ross und 1969 durch Barratt-Boyce zeigten eine schlechte Langzeithaltbarkeit. Erst durch die Aufbereitung mittels Antibiotikasterilisation durch Yacoub 1970 [3] und die Einführung und kontinuierliche Weiterentwicklung der Kryopräservation [4-8] konnten gute Langzeitergebnisse erzielt werden. Durch die ersten Erfahrungen des direkten

Aortenklappenersatzes mittels Homografts von Ross, Yacoub, et al. [2, 8] wurde an unserer Klinik vermehrt der Einsatz solcher Homografts forciert. Bei der nach Ross beschriebenen Operation aus der Kinderherzchirurgie wird die eigene Pulmonalklappe in Aortenposition gesetzt. Der rechtsventrikuläre Ausfluss Trakt wird mittels eines Homografts oder einer xenogenen Klappenprothese rekonstruiert. Aufgrund der sehr guten Ergebnisse dieser Methode, auch in der Langzeitbeobachtung, war die Erwartung in die Haltbarkeit dieser Pulmonalklappen entsprechend groß.

In der hier vorgestellten Arbeit zeigen wir die Langzeitbeobachtung nach Aortenklappenersatz mittels Homografts, bezogen auf den Klappenursprung mit besonderem Augenmerk auf Infektionen und frühen Degenerationen der Homografts.

2. Material und Methoden:

2.1. Klappen

Die ersten menschlichen Herzklappen wurden im Rahmen von Autopsien aus Verstorbenen gewonnen. Schon bald wurden solche, auch an unserer Klinik verwendeten menschlichen Klappen zum überwiegenden Teil aus explantierten Empfängerherzen bei Transplantationen, sog. „Dominoherzen“ sowie aus Spenderherzen, die nicht zu einer Herztransplantation verwendet werden konnten, gewonnen. Um eine ausreichende Verfügbarkeit von Homografts unterschiedlicher Größe zu gewährleisten wurde an unserer Klinik eine eigene Homograftbank aufgebaut. Neben der Möglichkeit verschiedene Größen vorrätig zu haben, erreichte man auch eine Unabhängigkeit von anderen Institutionen und den damit verbundenen hohen Kosten.

Initial wurden diese Homografts unprozessiert, das heißt ohne chemisch-pharmazeutischer oder physikalischer Aufbereitung implantiert. Nach ersten Versuchen mit Methoden der Gefriertrocknung, die zu einer deutlichen Verminderung der Elastizität der Klappensegel führten, wurden Sterilisationsverfahren mit Antibiotika und Antimykotika angewandt. Dies erfolgte mittels Einlagerung für 24 Stunden in einem antibiotischen Cocktail der Amikacin, Ciprofloxacin, Vancomycin, Amphotericin B und Metronidazol beinhaltete. Die Lagerung erfolgte schließlich in einer 4°C kalten

Nährlösung. Solche, für maximal sechs Wochen lagerungsfähige Homografts wurden als „fresh-wet“ bezeichnet und auch an unserer Klinik verwendet. Als Weiterentwicklung zur längeren Lagerung der Homografts wurden kurzfristig Gefriertrocknungsverfahren angewandt. Dies zeigte jedoch eine erhebliche Schädigung der elastischen Anteile der Klappe und einer damit verbundenen verminderten Haltbarkeit.

Erst die Einführung der Kryopräservierung, einem Gefrier- und Lagerungsverfahren in flüssigem Stickstoff bei -197°C , ermöglichte eine langfristige Aufbewahrung und ein kurzfristiges Bereitstellen von mehreren Klappenersatzpräparaten. Hierbei wurden die Klappenpräparate initial in 10%-iger Dimethylsulfoxid-Lösung zum Schutz vor Eiskristallbildung zwischengelagert. Danach wurden diese Präparate schockgefroren, wobei bis zur Temperatur von -70°C auf ein konstantes Geschwindigkeitsgefälle von $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ geachtet wurde. Schließlich erfolgte ein langsames Abkühlen bis zum Erreichen der Zieltemperatur von -197°C [5]. Die Lagerung erfolgte schließlich in Stickstoff-Tanks, wobei regelmäßige mikrobiologische Tests durchgeführt wurden um eine Kontamination der Grafts zu vermeiden. Nur bei negativen Testergebnissen wurden die Homografts zur Implantation in Patienten freigegeben.

Das Größenmatch wurde präoperativ mittels transösophagealer Echokardiographie oder durch eine Computertomographie bestimmt. Der Auftauprozess der Homografts erfolgte schließlich unter sterilen Bedingungen im Operationsaal. Eine langsame, komplette Entfrostung ist hierbei erforderlich um das Homograft nicht zu beschädigen und Kristallrückstände zu vermeiden. Ein „Matching“ der Blutgruppen oder der HLA-Klassen von Spendern und Empfänger wurde nicht durchgeführt.

Seit 1992 erfolgte die prospektiv angelegte Beobachtung all unserer Patienten, die ein Homograft an der Herzchirurgischen Klinik am Klinikum der Universität München erhalten haben. Neben 26 „fresh-wet-grafts“ wurden überwiegend kryopreservierte Homografts verwendet. Insgesamt wurden 320 Aorten-Homografts und 46 Pulmonalis-Homografts in Aortenposition, in einem Zeitraum von 17 Jahren implantiert.

2. 2. Operative Technik:

Zwischen 1992 und 1995 erfolgte Implantation der Homografts in einer subkoronaren Technik bei der die Aortenwurzel des Empfängers bestehen blieb (n=75). Aufgrund von zwei aufeinander folgender, intraoperativer Graftinsuffizienzen, die bei der subkoronaren Technik auftraten, wurde diese Methode an unserer Klinik verworfen. Seit März 1995 wurde ausschließlich die Root-Implantations-Technik, als kompletter Aortenwurzelerersatz mit Reimplantation der Koronarien durchgeführt (n=291). Dies gewährleistet, dass die Klappe sowie die Aortenwurzel in ihrer funktionellen Architektur erhalten bleiben. Bei Patienten mit einer Endokarditis kann dies zusätzliche Vorteile bringen, da sich dadurch Abszesshöhlen gut decken lassen und sich eine verbesserte Stabilität erreichen lässt.

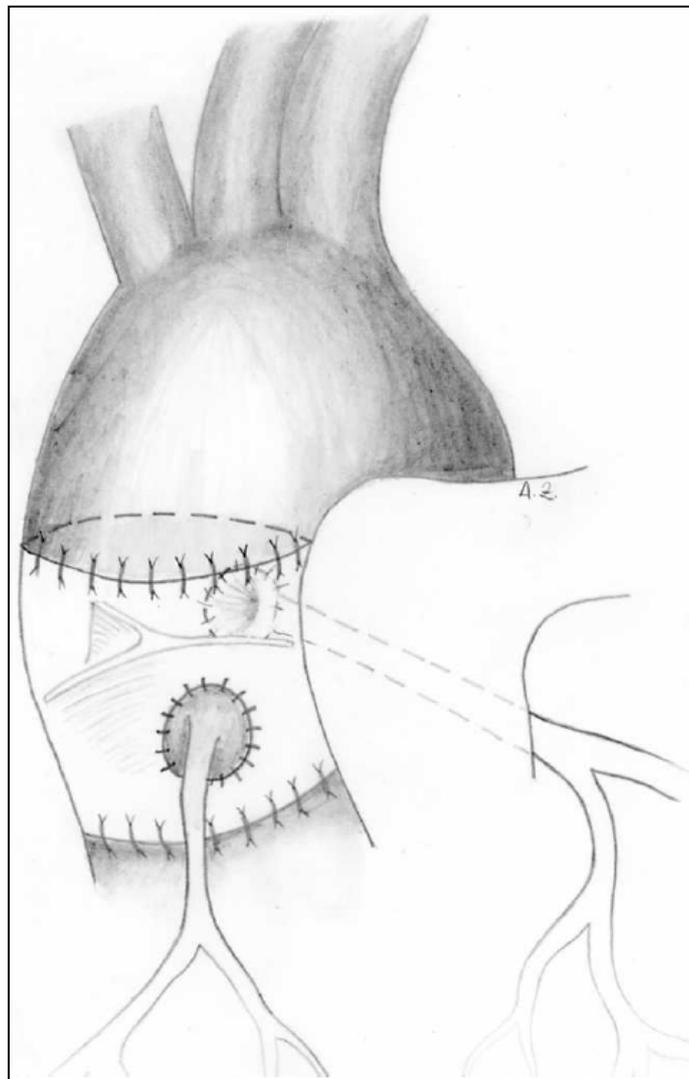


Abb. 4: Aortenwurzelerersatz mit Re-Implantation der Koronarien (Root-replacement)

Alle Operationen wurden über eine mediane Sternotomie unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt. Die niedrigste Körpertemperatur an der Herz-Lungen-Maschine war abhängig von zusätzlichen Prozeduren oder von der Erweiterung des Eingriffes, die einen Kreislaufstillstand erforderlich machten. Die Temperatur lag in beiden Gruppen zwischen 16°C & 32°C (26,6°C im Mittel).

Die durchschnittliche Bypass-Zeit lag bei 170 min +/- 52 min. in der Aorten-Homograft-Gruppe und 163 +/- 49 min. in der Pulmonalis-Homograft-Gruppe ohne signifikanten Unterschied. Die Aortenklemmzeit lag in der Aortenklappengruppe bei 121 +/- 30 min. und in der Pulmonalklappengruppe bei 126 +/- 30 min. (nicht signifikant). Die Kardioplegie wurde routinemäßig mit Bretschneider'scher Lösung (Dr. Franz Köhler Chemie, Bensheim, Deutschland) durchgeführt. In 48 „Aortenklappenfällen“ und 6 „Pulmonalklappenfällen“ wurde eine Blutkardioplegie nach Buckberg (ebenfalls Dr. Franz Köhler Chemie, Bensheim, Deutschland) verwendet.

2. 3. Studiendesign:

Beginnend im Mai 1992 wurden insgesamt 432 Patienten mit einem Homograft versorgt. Patienten die aufgrund eines angeborenen Herzfehlers operiert worden sind wurden in dieser Studie nicht eingeschlossen (n=55). Dank jährlicher Kontrolluntersuchungen, die in unserer Poliklinik durchgeführt wurden, war eine kontinuierliche Beobachtung aller Patienten möglich. Im Rahmen dieser Patientenvorstellung wurden neben einer ausführlichen Anamnese eine transthorakale echokardiographische Untersuchung (TTE), ein Elektrokardiogramm (EKG) sowie eine umfassende laborchemische Untersuchung durchgeführt. 11 Patienten konnten nicht mehr nachverfolgt werden.

2. 4. Echokardiographische Untersuchungsergebnisse:

Um die hämodynamischen Langzeitergebnisse zu vergleichen wurden folgende Parameter mittels transthorakaler Echokardiographie erhoben und entsprechende Strukturalterationen nach Yacoub et al. [9] definiert:

- Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF in %)
- Stenosegrad mittels maximalen und mittleren Druckgradienten
- Grad der Regurgitation / Insuffizienz (0°-III°)
- Enddiastolischer Diameter (in mm)
- Klappendurchmesser an der Aortenwurzel (Root-Diameter in mm)

Die Stenosegrade wurden als „moderat“ definiert, wenn der mittlere Druckgradient zwischen 30 – 50 mmHg lag; als „hochgradig“, wenn der mittlere Gradient über 50 mmHg lag. Die Insuffizienz bzw. der Regurgitationsgrad wurde als 0° (keine Insuffizienz), I° (mild), II° (moderat) und III° (schwer) bezeichnet.

2. 5. Datenverarbeitung & Statistik:

Die Auswertung der Ergebnisse wurde anhand der aktuellen „Guidelines for Reporting Morbidity and Mortality after Cardiac Valve Operations“ [10] erstellt. Zur statistischen Auswertung wurde eine anonymisierte Datenbank verwendet. Alle Daten wurden statistisch mittels Varianz-Analyse, t-Tests, Chi-Quadrat-Test und dem Wilcoxon Test ausgewertet. Das kumulative Überleben und die Ereignisfreiheit von Reoperation/Reintervention wurden mittels Kaplan-Meier-Kurven (95% Konfidenzintervall) getrennt ausgewertet, wobei die zensierten Fälle und die Anzahl nicht-zensierter-lebender Patienten („patients-at-risk“) dargestellt wurden.

Als Datenbank diente das klinikinterne Softwareprogramm „Kardiosoft“ der Firma Kardiomed GmbH, München. Für die statistische Auswertung wurde das „Statistical Package for Social Science“ (SPSS, Chicago, IL, USA) in der Version 17.0 für Windows verwendet.

3. Ergebnisse:

Die hier präsentierten Daten zeigen die Ergebnisse nach Aortenklappenersatz mit Homografts aus unserer hauseigenen Homograftbank, die die bislang größte Patientenkohorte in Deutschland darstellt. Ein Votum der Ethikkommission zur Auswertung dieser anonymisierten Daten liegt vor.

3.1. Patientendemographie:

Das Follow up konnte für insgesamt 366 Patienten (97%) durchgeführt werden. Von den untersuchten, erwachsenen Patienten waren 253 Männer (72%) und 113 Frauen (28%). Das Durchschnittsalter war 51,6 Jahre mit einer Follow-Up-Zeit von 9,4 (+/- 3,8) Jahren.

3.2. Indikationen zur Operation:

Die Patienten wurden überwiegend mit klassischen Indikationen zum Aortenklappenersatz vorstellig wie:

- Schwere Aortenklappenstenosen mit Symptomen wie Schwindel, Synkopen, Dyspnoe, Angina pectoris oder anderen Zeichen der Linksherzinsuffizienz.
- Asymptomatische Aortenklappenstenosen (Klappenöffnungsfläche < 1 cm², mittleren Gradienten > 50 mmHg, Ejektionsfraktion < 50 %, etc.)
- Aortenklappeninsuffizienzen
- Kombinierten Aortenklappenitien
- Native Endokarditiden
- Prothesen-Infektionen

Tabelle 1 zeigt eine genaue Aufstellung der Indikationen zur Operation, jedoch ohne signifikanten Unterschied ob das Homograft aortalen oder pulmonalen Ursprungs war.

Indikation	Anzahl der Patienten:	Aorten-Homografts	Pulmonalis-Homografts	p:
Degenerativ (gesamt)	298	259	39	<i>n.s.</i>
Infektiös	51	46	5	<i>n.s.</i>
Aortenklappenstenose	98	94	4	<i>n.s.</i>
Aortenklappeninsuffizienz	65	47	18	<i>n.s.</i>
Kombinierte Klappenvitien	59	47	12	<i>n.s.</i>
Ersatz einer Klappenprothese	8	8	0	<i>n.s.</i>

Tabelle 1: Indikation zur Operation

Zusätzlich hatten zwei Patienten eine hypertrophe, obstruktive Kardiomyopathie (HOCM). In diesen Fällen wurde eine transaortale subvalvuläre Myektomie nach Morrow durchgeführt.

3. 3. Prozeduren

Von den hier untersuchten Patienten erhielten 320 ein Aortenklappenhomograft und 46 ein Pulmonalklappenhomograft. Die Indikationen für den initialen Aortenklappenersatz waren überwiegend degenerative (298), gefolgt von infektiösen Ursachen (51) ohne Unterscheidung zwischen den Gruppen, die ein Homograft aortalen oder pulmonalen Ursprungs erhielten. Einige Patienten benötigten eine Erweiterung des Eingriffes oder eine zusätzliche Prozedur, wie folgt:

- bei 55 Patienten war ein Ersatz der Aorta ascendens notwendig
- 39 Patienten erhielten zusätzlich eine aortokoronare Revaskularisation
- 12 Patienten eine operative Versorgung der Mitralklappe mittels Rekonstruktion oder Ersatz
- ein Patient benötigte zusätzlich eine Trikuspidalklappenrekonstruktion.

3. 4. Echokardiographische Ergebnisse:

In beiden Gruppen konnte eine leichte Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion beobachtet werden. Der linksventrikuläre enddiastolische Diameter (LVEDD) verringerte sich ebenfalls in beiden Gruppen ohne signifikante Unterschiede. In der Gruppe, die ein Homograft aortalen Ursprungs erhielten, erweiterte sich der Root-Diameter von 28 mm unmittelbar postoperativ auf durchschnittlich 33 mm nach 15 Jahren. Im gleichen Zeitraum erhöhte sich der maximale transvalvuläre Druckgradient von 10,5 mmHg auf 37 mmHg. Eine häufig minimale Aortenklappeninsuffizienz unmittelbar postoperativ (< I °) nahm über die Jahre in beiden Gruppen deutlich zu (II° - III°). (Tabelle 2, 3 & 4)

Parameter	Graftursprung	Post-OP	5 Jahre	10 Jahre	15 Jahre
Klappendurchmesser (Root diameter in mm)	aortal	28.3	30,7	29	33
	pulmonal	30.0	30,5	29	-
Maximaler Druckgradient (Peak pressure gradient) in mmHg	aortal	10.5	15,5	20.6	37
	pulmonal	11.2	9,8	11,0	-
Aortenklappeninsuffizienz (0°-III°)	aortal	0.43	0,99	0.91	2,5
	pulmonal	0.96	1,15	1	-

Tabelle 2: Echokardiographische Daten

Eine statistische Auswertung mittels T-Test konnte nur für die 5- bzw. 10-Jahres-Werte erhoben werden, da nach 10 Jahren keine Echokardiographischen Daten von Patienten mit pulmonalen Homografts mehr vorlagen.

Parameter	Graftursprung	n	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler
Klappendurchmesser (Root diameter in mm)	aortal	73	30,71	4,69	0,55
	pulmonal	4	30,50	3,00	1,5
Maximaler Druckgradient (Peak pressure gradient) in mmHg	aortal	92	15,41	10,16	1,06
	pulmonal	9	9,78	5,14	1,71
Aortenklappeninsuffizienz (0°-III°)	aortal	121	0,99	0,811	0,074
	pulmonal	13	1,15	0,68	0,19

Tabelle 3: T-Test 5-Jahres-Werte

Parameter	Graftursprung	n	Mittelwert	Standardabweichung	Standardfehler
Klappendurchmesser (Root diameter in mm)	aortal	21	28,95	4,54	0,99
	pulmonal	2	29,00	1,41	1,00
Maximaler Druckgradient (Peak pressure gradient) in mmHg	aortal	27	20,56	14,11	2,71
	pulmonal	2	11,00	0,00	0,00
Aortenklappeninsuffizienz (0°-III°)	aortal	44	0,91	1,07	0,15
	pulmonal	1	1,00	-	-

Tabelle 4: T-Test 10-Jahres-Werte

3. 5. Hämorrhagische Komplikationen:

Eine Antikoagulation der Homografts war grundsätzlich nicht erforderlich. Einige Patienten mit einer zusätzlichen koronaren Herzerkrankung benötigten eine Thrombozytenaggregationshemmung mit Acetylsalicylsäure (ASS). Bei Vorliegen einer schweren Kardiomyopathie oder Herzrhythmusstörungen im Sinne von Vorhofflimmern wurde eine entsprechende Antikoagulation mit Marcumar durchgeführt. In der frühen postoperativen Phase kam es bei 16 Patienten der Aortenklappengruppe und 2 Patienten der Pulmonalklappengruppe zu einer relevanten Blutungskomplikation. Eine Perikardtamponade kam in sechs Aortengraft-Fällen und in zwei Pulmonalisgraft-Fällen vor. In keiner Gruppe kam es zu einer intracerebralen oder intrakraniellen Blutung. Drei Patienten aus der Aortengruppe und ein Patient aus der Pulmonalisgruppe erlitten Nasenblutung. Zwei Patienten der Aortenklappengruppe hatten eine einmalige gastrointestinale Blutung.

Ausschließlich in der Pulmonalisgruppe kam es zu zwei Schlaganfällen und elf transitorisch ischämischen Attacken im gesamten Beobachtungszeitraum (Abb. 5).

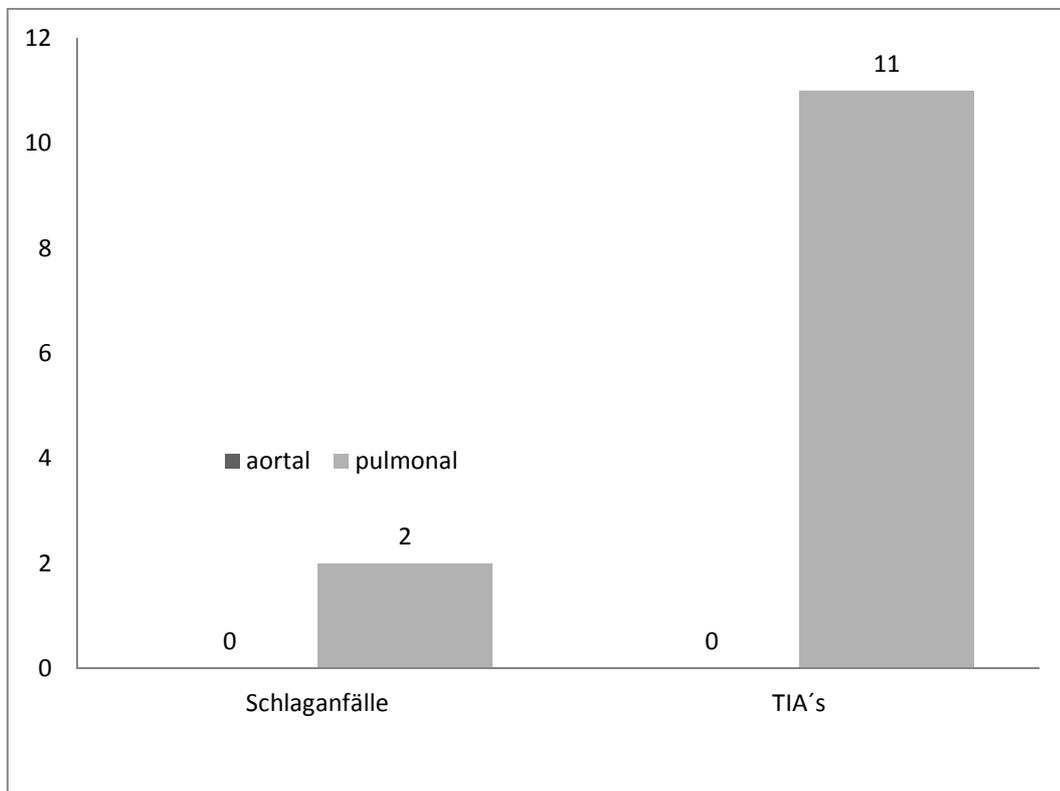


Abb. 5: Neurologische Komplikationen

3. 6. Überleben:

Die Patientensterblichkeit wurde als Frühmortalität, innerhalb der ersten 30 Tage postoperativ und als Spätmortalität nach 30 Tagen vom initialen Aortenklappenersatz aus definiert.

Die 30-Tage-Mortalität war in der Pulmonalklappengruppe mit 15,2 % (7/46) bereits signifikant höher als in der Aortenklappengruppe mit 3,7 % (10/320). Wobei zwei Patienten aus der Pulmonalklappengruppe an einer Prothesenendokarditis verstarben. Ein Patient starb nach zusätzlicher Herztransplantation und zwei weitere aus nicht-kardialen Gründen.

Die Ein-Jahres-Mortalität war 6,5% in der Aortenklappengruppe (21/320) und 17,4% in der Pulmonalklappengruppe (8/46) ohne signifikanten Unterschied ($p=0,43$).

Nach fünf Jahren zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Überlebensrate ($p=0,001$). 89,6% in der Aortenklappengruppe und 76% in der Pulmonalklappengruppe. Diese Signifikanz ($p=0,024$) zeigt sich ebenfalls nach zehn Jahren mit 85,6% in der Aortenklappengruppe und 76% in der Pulmonalklappengruppe, wie auch nach 15 Jahren mit einer Überlebensrate von 79,9% in der Gruppe, die ein Homograft aortalen Ursprungs erhielten und 68,7% in der Gruppe, die ein Homograft pulmonalen Ursprungs erhielten ($p=0,049$) (Abb. 6).

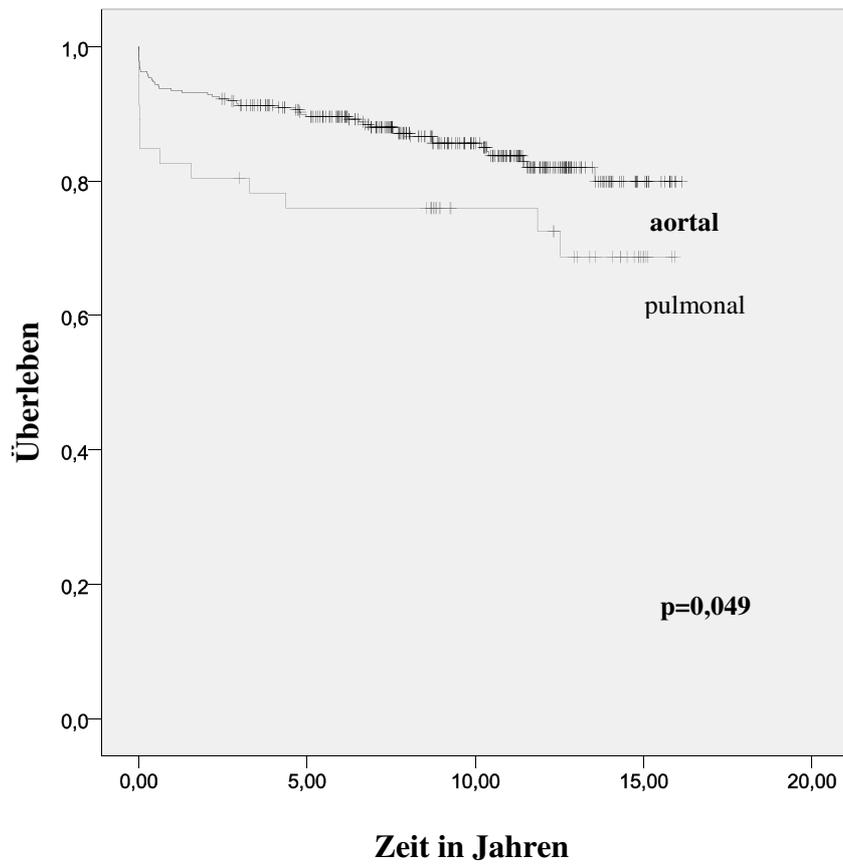


Abb. 6: Überleben Vergleich Homografts aortalen und pulmonalen Ursprungs

3. 7. Ereignisfreiheit von Re-Operationen:

Als „Reoperation“ wurde jeder operative Eingriff definiert, der das vorhandene Homograft repariert, verändert oder ersetzt. Nach einem Jahr lag die Ereignisfreiheit von Re-Operationen bei 99,1% in der Aortenklappengruppe und bei 97,8% in der Pulmonalisgruppe. ohne signifikanten Unterschied ($p=0,08$). Fünf Jahre nach Implantation der Klappen war die Rate bei 95,8% und 82,5% bereits signifikant schlechter in der Pulmonalisgruppe ($p=0,001$). Nach zehn Jahren lag diese Ereignisfreiheit bei 84,5 % in der Aortenklappengruppe. In der Pulmonalklappengruppe war diese mit 64,0% ebenfalls signifikant schlechter ($p<0,001$). In der Langzeitbeobachtung von 15 Jahren zeigte sich eine Ereignisfreiheit von 77,7 % in der Aortenklappengruppe & nur noch 57,4 % in der Pulmonalklappengruppe ($p< 0,001$).

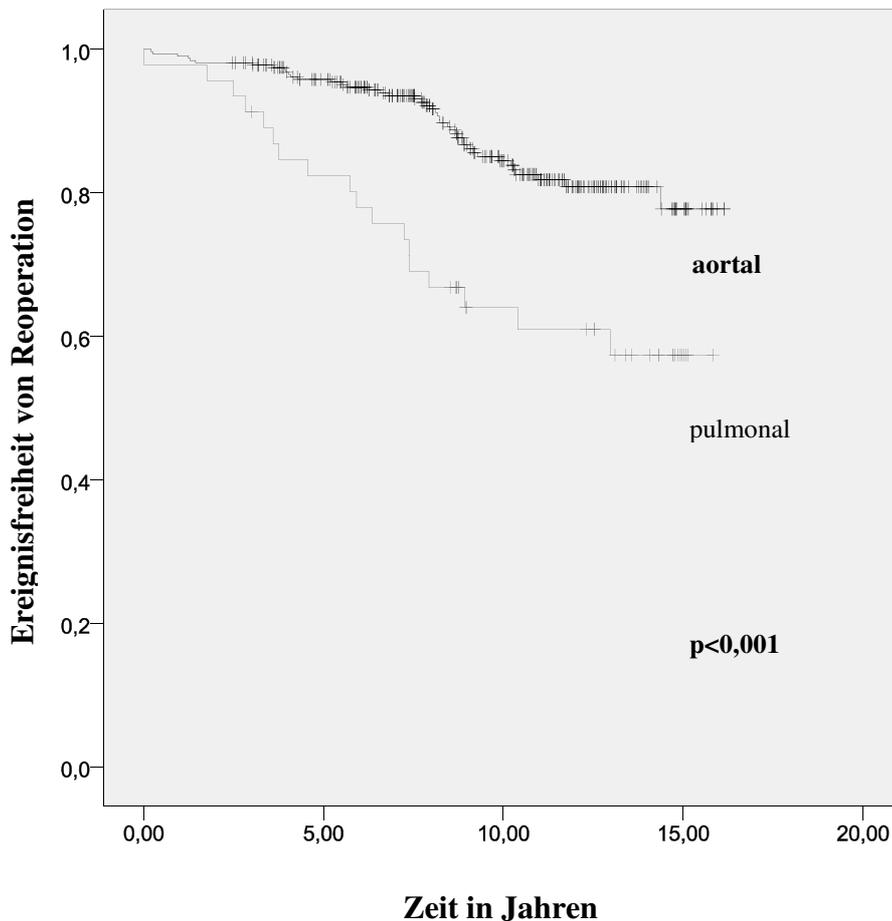


Abb. 7: Ereignisfreiheit von Reoperationen

39 Patienten mussten sich aufgrund einer degenerativen Prothesenveränderung einem erneuten Eingriff unterziehen. In der Pulmonalklappengruppe waren alle degenerative Ursachen (Stenosen und Insuffizienzen) mit 15 von 46 Fällen (32,6%) relativ häufiger als in der Aortenklappengruppe mit 24 von 320 Fällen (7,8%).

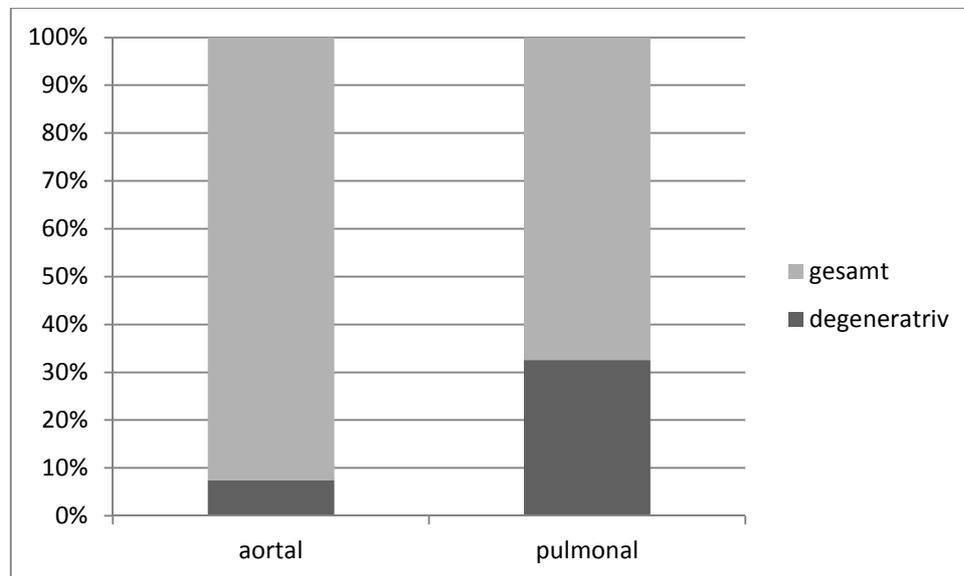


Abb. 8: Degenerative Ursachen

Klinisch relevante Insuffizienzen als degenerative Ursache kamen in der Pulmonalklappengruppe häufiger vor, als in der Aortenklappengruppe, wo vorwiegend Stenosen auftraten. Dies führen wir auf eine strukturelle Unterlegenheit der Pulmonalklappe in Aortenposition zurück. Graftinfektionen, insbesondere Graft-Reinfektionen nach ursprünglicher Endokarditis waren für die frühzeitigen Reoperationen der Homografts verantwortlich. Insgesamt führten Endokarditiden in 16 Fällen in der Aortenklappengruppe und in 3 Fällen der Pulmonalklappengruppe zu Reoperationen, jedoch ohne signifikanten Unterschied.

Da eine schlechtere Haltbarkeit von Homografts pulmonalen Ursprungs bereits im Verlauf absehbar war, wurde in unserer Klinik bald keine Pulmonalklappen mehr in Aortenposition implantiert.

3. 8. Reoperationen:

Die meisten Reoperationen wurden via medianer Re-Sternotomie unter Zuhilfenahme der Herz-Lungen-Maschine durchgeführt. In 53 Fällen konnte ein konventioneller Re-Aortenklappenersatz mittels biologischer oder mechanischer Prothese durchgeführt werden. Bei weichem Aortenannulus wurden lediglich die Klappentaschen exzidiert und die neue Prothese in den Homograft-Anulus eingenäht. Neun Patienten aus dieser Gruppe benötigten einen zusätzlichen Ersatz der Aorta ascendens.



Abb. 9: Verkalkter Aortenannulus nach Homograftimplantation

Bei sechs Patienten mit deutlich verkalkter Aortenwurzel musste das ursprüngliche Homograft „en bloc“ entfernt werden, wobei die Koronarostien ausgeschnitten wurden. Nach Ersatz der Aortenklappe sowie des Anulus nach der Bentall'schen Methode mußten die Koronarien wie bei der ursprünglichen Operation reimplantiert werden. Bei zwei Patienten wurde diese Prozedur erneut mit einem Homograft durchgeführt (Abb. 9).

Aufgrund der erschwerten Prozedur bei solcherart verkalkten Aortenwurzeln wurde an unserer Klinik nach neuen Lösungen gesucht. Im Jahr 2009 wurde schließlich von Schmoeckel et. al [26] weltweit die erste minimalinvasive Aortenklappe in ein bestehendes Homograft implantiert. Zwischenzeitlich konnte in drei Fällen ein solcher minimal-invasiver transapikaler Zugang gewählt werden. Bei diesen Patienten konnte bei stark verkalktem Aortenannulus und hohem konventionellen Operationsrisiko eine Edwards-Sapien©-Prothese in die bestehende Homograftklappe, „Valve-in-Valve“ implantiert werden.

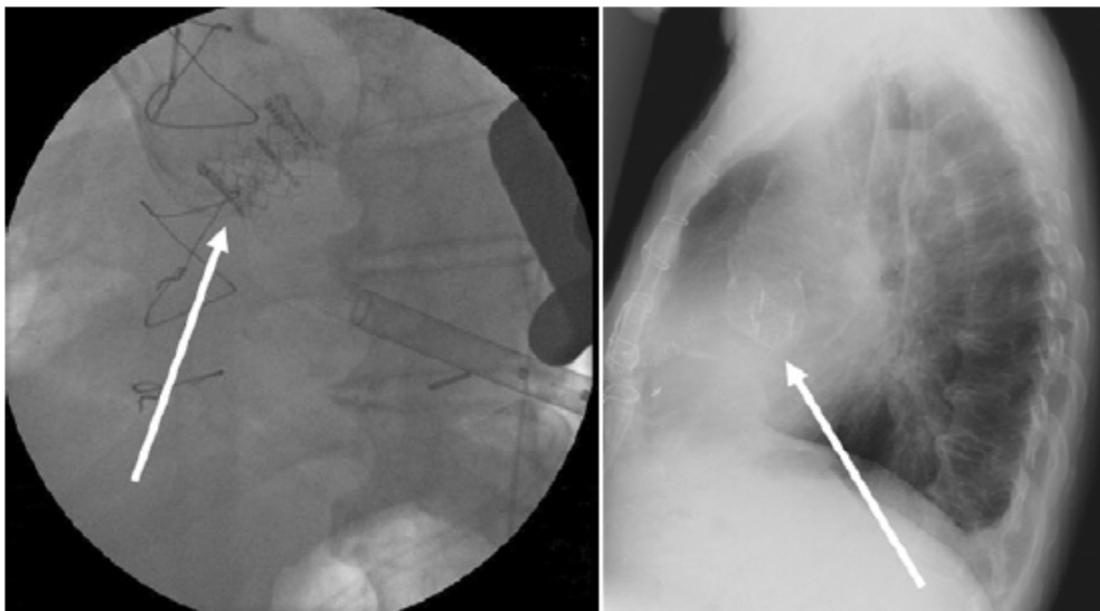


Abb.10: Edwards-Sapien©-Prothese in korrekter Position „Valve-in-Valve“

4. Diskussion:

Die Intention Homografts zum Aortenklappenersatz an unserer Klinik zu verwenden war mit der Erwartung verknüpft, exzellente, hämodynamische Eigenschaften mit einer langen Haltbarkeit zu erreichen. Darüber hinaus erhoffte man sich, dass diese Homografts konventionellen, porcinen oder bovinen Xenografts überlegen sind. Besonders durch den Wegfall der Antikoagulation wurden Homografts vor allem bei jüngeren Patienten eingesetzt. Des Weiteren sind diese Homografts eine gute Alternative, wenn eine Antikoagulation kontraindiziert ist, ein Schwangerschaftswunsch bei Frauen besteht oder bei besonders aktiven Lebensumständen mit erhöhtem Verletzungsrisiko.

Aufgrund der großen Nachfrage und vielversprechender Vorpublikationen [7, 8] wurden ebenfalls ab 1992 auch Pulmonalklappen-Homografts zur Implantation in Aortenposition verwendet um den Mangel an verfügbaren Grafts auszugleichen.

Ziel der vorliegenden Arbeit war die Evaluation der Haltbarkeit von Homografts in Aortenposition bezogen auf deren Ursprung. Zu berücksichtigen ist, dass Homografts speziell in unserer Institution für schwerwiegendere Indikationen, insbesondere im Falle nativer Endokarditiden mit Abszessbildungen im Aortenwurzelbereich, Verwendung fanden. Die hier präsentierten Zahlen zeigen deutlich, dass Homografts pulmonalen Ursprungs, in der Langzeitbeobachtung bezogen auf Überleben und Ereignisfreiheit von Re-Operationen, Homografts aortalen Ursprungs unterlegen sind.

Die Überlebensraten von Patienten, die ein Aortenklappenhomgraft erhielten sind vergleichbar mit anderen Zentren und Prüffärzten, die Homografts in Aortenposition implantiert haben [8, 12- 14]. Auch im Vergleich mit Xenografts waren die Homografts aortalen Ursprungs nicht unterlegen [15, 16].

Im Gegensatz zu früheren Publikationen [9, 10, 17, 178 war die Inzidenz eines Graftversagens in Patienten, die ein Homograft pulmonalen Ursprungs erhielten deutlich höher. Die höhere Mortalität gegenüber Aortenklappen-Homografts war der deutlichste Unterschied in dieser Arbeit. Eine Erklärung hierfür dürfte die frühe Degeneration bereits innerhalb des ersten Jahres nach Implantation sein. Diese, im

Verlauf absehbare, schlechtere Haltbarkeit von Homografts pulmonalen Ursprungs führte in unserer Klinik dazu, dass keine Pulmonalklappen mehr in Aortenposition implantiert wurden.

Die Notwendigkeit der Homograftexplantationen wird anhand der Ereignisfreiheiten von Re-Operationen gezeigt. Dies ist der zweite Aspekt der hier vorliegenden Arbeit, im Vergleich der unterschiedlichen Klappentypen. Die Ereignisfreiheit von Re-Operationen war nach 15 Jahren 77,7% bei Patienten, die ein Homograft aortalen Ursprungs erhielten und 57,4% für Pulmonalklappen in Aortenposition. Ein interessante Erkenntnis war die höhere Anzahl degenerativer Veränderungen, insbesondere der höhere Anteil an Insuffizienzen in der Gruppe der Pulmonalklappenempfänger, die einer Re-Operation unterzogen werden mussten. Die Auswertung der echokardiographischen Daten zeigte eine Zunahme der Klappenregurgitation sowie eine Erhöhung des transvalvulären Druckgradienten in beiden Gruppen. Diese Unterschiede waren aber ohne signifikanten Unterschied.

In einer Vergleichsstudie von Homografts, die im Rahmen der Ross-Operation durch Höhrer et al. [19] verwendet wurden, zeigten, dass der Ursprung des Homografts (aortal oder pulmonal) tatsächlich einen Einfluß auf das Outcome und das Follow-up hat. Die positiven Ergebnisse der Ross-Operation, bei der die körpereigene Pulmonalklappe in Aortenposition transponiert wird hier mit aufbereiteten, kryopräservierten Pulmonalklappengrafts vergleichbar. Dieser Konservierungs- und Lagerungsprozess dürfte die Struktur der Pulmonalklappe mehr negativ beeinträchtigen, als dies bei Aortenklappen der Fall ist. Diese Hypothese könnte eine Erklärung sein, warum das Hauptproblem der Ross-Operation nicht das Pulmonalklappen-Autograft in Aortenposition ist, sondern das degenerierte, meist kalzifizierte Homograft in Pulmonalklappenposition.

Einige Studien, die die Struktur der Klappentaschen genauer untersuchten, zeigten, dass die Taschensegel von Pulmonalklappen in Pulmonalisposition Degenerationszeichen mit Schlieren & Verkalkungen sowie Pannusbildung zeigten, die sich auf beiden Seiten der Taschensegel ablagerten [20]. Ein Verlust des Klappengewebes mit daraus resultierendem Schrumpfen wurde ebenfalls in dieser Studie beschrieben. Anzeichen von Inflammation konnten in dieser Untersuchung nicht nachgewiesen werden.

Morphologische Veränderungen an explantierten Pulmonalklappen nach Ross-Operationen wurden ebenfalls beobachtet. Twedell (2000) und Butany (2004) zeigten hierbei, dass es bei diesen explantierten Klappen einen signifikanten Gewebeverlust der Klappentaschen kam, genauso wie eine Kalzifizierung und Verknöcherung an der Basis der Taschensegel. Diese Veränderungen, die zu Stenosen und Regurgitationen führten waren ursächlich für die Explantation dieser untersuchten Klappen [21, 22].

Gerosa et al. [10] untersuchte die ultrastrukturellen und biomechanischen Eigenschaften der pulmonalen Homografts. In der Raster-Elektronen-Mikroskopie zeigte sich, dass die Segel der pulmonalen Homografts dünner als die Segel der aortalen Homografts waren und mit geringerem Anteil an elastischem Gewebe auf der ventrikulären Seite. Allerdings gab es keine wesentlichen Unterschiede in der Ultrastruktur. Einachsige Zugversuche zeigten unter Belastung bis 200 KPa keine wesentlichen Unterschiede in der mechanischen „Belastbarkeit“.

Einige Autoren haben die Wirkweise des Aufbereitungsprozesses beschrieben sowie die potentiellen Nebeneffekte aufgezeigt. Ein Bezug auf den Klappenursprung wurde aber bisher nicht erwähnt. In früheren Publikationen [10] zur Verwendung von Pulmonalklappen-Homografts als Aortenklappenersatz zeigte sich kein Unterschied zu Aortenklappen-Homografts, was auf den eher kurzen Beobachtungszeitraum

Erst in Langzeitstudien [9, 17, 18] zeigte sich eine höhere Inzidenz an Graft-Versagen in Patienten, die ein solches Pulmonalklappen-Graft erhielten im Vergleich zu jenen Patienten, denen ein Aortenklappen-Homograft implantiert wurde. Auch die Ergebnisse unserer Institution lassen Rückschlüsse zu, dass der Konservierungs- und Lagerungsprozess die Klappen unterschiedlich verändert und die „schwächere“ Pulmonalklappe mehr beeinträchtigt.

Eine Erkenntnis, die zur Beendigung der Implantation von Pulmonalklappen in Aortenposition führte. Die Anzahl von degenerativen Veränderungen war in der Pulmonalklappen-Gruppe deutlich höher als erwartet.

Im Unterschied zu anderen Publikationen [23-25] werden an unserer Klinik Homografts speziell bei Indikationen mit einem erhöhten perioperativen Risiko implantiert. Insbesondere Patienten mit einer floriden Endokarditis mit Abszessbildung im Aortenwurzelbereich profitierten von diesem Verfahren [26].

5. Schlussfolgerung:

Die häufige Verwendung von Homografts und der Aufbau einer eigenen Homograftbank waren mit der Erwartung verknüpft, einen Klappenersatz zu finden, der keine Antikoagulation benötigt und länger haltbar ist, als konventionelle Xenoprothesen. In den Vorstudien zu der vorgelegten Arbeit zeigte sich im Vergleich zu mechanischen & auch biologischen Prothesen zumindest keine Unterlegenheit. Insbesondere durch die Root Replacement Technik wurde die Indikationsstellung zur Verwendung von Homografts bei ausgeprägten Endokarditiden mit beteiligten Aortenwurzelsabszessen untermauert. Das Vermeiden von künstlichem prothetischem Material schien in dieser Beobachtung von Vorteil. Das Hauptaugenmerk der vorliegenden Arbeit lag in der Erforschung der Ursachen für eine frühe Degeneration der Klappen. Bei den degenerativen Klappeninsuffizienzen zeigte sich ein signifikant höherer Anteil in der Pulmonalklappen-Gruppe. Dies könnte zum einen damit zusammenhängen, dass Pulmonalklappen in Aortenposition einem deutlich höheren Druckgradienten ausgesetzt sind. Zum anderen wäre eine Schädigung der Klappe im Aufbereitungsprozess möglich, da Pulmonalklappen, die im Rahmen der Ross-OP in Aortenposition gesetzt werden, weniger solche frühen Degenerationszeichen aufweisen.

Da auch mechanische Prothesen in vielen Fällen von einer Reoperation nicht verschont bleiben, gilt es herauszufinden mit welcher Prothese die höchste Lebensqualität erreicht wird und wie eine kalkulierbare Reoperation oder Reintervention mit überschaubarem Risiko durchgeführt werden kann.

Das perioperative Risiko bei den Re-Eingriffen unserer durchschnittlich 62 Jahre alten Patienten, zeigte sich vergleichbar zu dem bei Reoperationen konventioneller mechanischer oder biologischer Prothesen. Jedoch scheint aufgrund des zunehmenden Alters und der sich anhäufenden Komorbiditäten der kathetergestützte Klappenersatz als eine sehr praktikable Lösung für dieses Problem. Für Endokarditiden, als häufigste Ursache zum Re-Eingriff nach Homograftimplantationen, ist die kathetergestützte Methode kontraindiziert, weshalb in diesen Fällen die konservative Reoperation das Mittel der Wahl ist.

6. Zusammenfassung:

In der hier vorgelegten Arbeit wird das Langzeitergebnis von Homografts als Aortenklappenersatz beschrieben. Die Verwendung von Homografts an unserer Klinik und der Aufbau einer eigenen Homografbank war mit großen Erwartungen verbunden, hierdurch einen idealen Klappenersatz bei degenerativen wie auch bei infektiösen Klappenvitien zu finden. Im Rahmen dieses Programmes wurde eine prospektive Beobachtung samt jährlicher Kontrolluntersuchung all unserer Patienten durchgeführt. Inhalt der vorgelegten Arbeiten ist die Langzeit-Haltbarkeit von Homografts pulmonalen Ursprungs, die in Aortenposition implantiert wurden sowie die Beschreibung des Outcome der Patienten, die einem Folgeeingriff unterzogen wurden. Die Homografts pulmonalen Ursprungs zeigten eine deutlich erhöhte Frühmortalität sowie eine deutlich erhöhte Reoperationsrate, was sich auch in der Langzeitbeobachtung widerspiegelt.

Bei den Patienten, die einer Reintervention bzw. Reoperation unterzogen wurden, zeigten sich überwiegend höhergradige Aortenklappeninsuffizienzen, gefolgt von Verkalkungen und Protheseninfektionen. Ursächlich hierfür scheint eine Degeneration bzw. Retraktion der Klappensegel. Insbesondere bei Klappen pulmonalen Ursprungs schien dieser Prozess schneller als bei Klappen aortalen Ursprungs vorstatten zu gehen. Dafür könnten die höheren Druckverhältnisse in Aortenposition und oder der Aufbereitungsprozess mit Sterilisation & Gefrierprozessierung für die Pulmonalklappen verantwortlich sein.

In unserer Arbeit zeigte sich, dass Homografts pulmonalen Ursprungs für den Klappenersatz in Aortenposition nicht geeignet sind. Die Haltbarkeit von Homografts ist generell mit der von biologischen Prothesen vergleichbar [28]. Das Risiko einer Reoperation beziehungsweise Reintervention ist ebenfalls vergleichbar mit dem Risiko nach konventionellem Aortenklappenersatz. Homografts stellen also eine gute Alternative zum herkömmlichen Klappenersatz dar und bieten ein erweitertes Anwendungsspektrum, sollte ein Ersatz der Aortenwurzel notwendig sein. [26, 28]

7. Summary:

The use of homografts for aortic valve replacement (AVR) poses an alternative to mechanical or biological valve prostheses, especially in younger patients. The presented studies evaluated our single-center long-term results with a focus on the different origins of the homografts and the outcome after homograft redo surgery based on prospective data from the biggest patient cohort in Germany for this procedure. Since 1992, homografts have been implanted in our institution. Initial sub-coronary implantation-technique of the homografts was modified to complete root replacement, which poses a surgical challenge whenever redo procedures are necessary. We performed a multivariate analysis to identify independent factors influencing survival. Freedom from reintervention and survival rates were calculated as cumulative events according to the Kaplan-Meier method, and differences were tested with the log-rank test.

Overall early mortality was significantly higher in the pulmonary graft group. Also in the long-term follow-up, the 15-year survival rate and the rate of freedom from reoperation was significantly lower for patients with grafts from pulmonary origin. The main reasons for homograft explantation were degeneration followed by calcification and graft infection. This might be caused due to the higher pressure circumstances in the aortic position and or due to the conservation and storing process. In conclusion the implantation with a pulmonary graft was associated with a higher risk of redo surgery, because of earlier degenerative alterations.

Homograft replacement was indicated in 90 of these 363 patients due to degenerative or infective conditions. Mean time between homograft implantation and redo operation was 8.4 ± 3.6 years. Redo valve replacement through the aorta/homograft was performed in 86 cases (valve into homograft wall=80, total replacement of the homograft=6) and trans-apical homograft replacement with a trans-catheter valve in four. The reason for a thirty-day mortality of 8.9% in all cases was endocarditis. The risk for a redo procedure after aortic-valve replacement with a homograft seems to be acceptable when compared with other prostheses. Mortality was, however, elevated in patients with a homograft infection. Trans-apical procedures are safe and feasible and might be our preferred technique for the future. Valve infections still remain a contraindication for trans-apical procedures

8. Literaturverzeichnis:

1. Ross DN
Homograft Replacement of the Aortic Valve.
Lancet 2. 1962 487-493
2. Barratt-Boyes BG, Roche AH, Brandt PW, Smith JC, Lowe JB
Aortic homograft valve replacement. A long-term follow-up of an initial series of 101 patient.
Circulation. 1969 Dec;40(6):763-75.
3. Yacoub M, Kittle F
Sterilization of homografts by antibiotic solutions
Circulation 1970; 41/42 (Suppl): II29-31
4. Hehrlein FW
Preservation problems of homologous and heterologous aortic valve grafts..
Thoraxchir Vask Chir. 1971 Oct; 19(5):394-5.
5. Schütz A, Fischlein T, Haushofer M, Detter C, Uhlig A, Kemkes BM, Hammer C, Reichart B
Homograft aus der eigenen Herzklappenbank.
Zeitschrift für Transplantationsmedizin 1993, 5. Jahrg., 194
6. Fischlein T, Schütz A, Haushofer M, Frey R, Uhlig A, Detter C, Reichart B:
Immunologic Reaction and Viability of Cryopreserved Homografts
Ann Thorac Surg 1995; 60: 122-6
7. O'Brian MF, Stafford EG, Gardur M
The viable cryopreserved allograft aortic valve.
J Cardiac Surg 2 (Suppl 1) 1987: 815-822.

8. Mirabet V, Carda C, Solves P, Novella-Maestre E, Carbonell-Uberos F, Caffarena JM, Hornero F, Montero JA, Roig RJ
Long-term storage in liquid nitrogen does not affect cell viability in cardiac valve allografts
Cryobiology. 2008 Oct;57(2):113-21. Epub 2008 Jul 26
9. Yacoub M, Nasser RH, Lund O, Boyland E, Radley-Smith R, Khaghani A, Mitchell A
Fourteen-year experience with homovital homografts for aortic valve replacement.
J Thorac Cardiovasc Surg 1995; 110: 186-193
10. Gerosa G, Ross DN, Brucke PE, Dziatkowiak A, Mohammad S, Norman D, Davies J, Sbarbati A, Casarotto D.
Aortic valve replacement with pulmo-nary homografts. Early experience.
J Thorac Card Surg 1994;107:424—37.
11. Edmunds LH Jr, Clark RE, Cohn LH, Grunkemeier GL, Miller DC, Weisel RD
Guidelines for reporting morbidity and mortality after cardiac valvular operations. The American Association for Thoracic Surgery, Ad Hoc Liason Committee for Standardizing Definitions of Prosthetic Heart Valve Morbidity.
Ann Thorac Surg. 1996 Sep;62(3):932-5
12. Kilian E, Oberhoffer M, Gulbins H, Uhlig A, Kreuzer E, Reichart B.
Ten years' experience in aortic valve replacement with homografts in 389 cases.
J Heart Valve Dis. 2004 Jul;13(4):554-9
13. Lund O, Chandrasekaran V, Grocott-Mason R, Elwidaa H, Mazhar R, Khaghani A, Mitchell A, Ilsley C, Yacoub MH
Primary aortic valve replacement with allografts over twenty-five years: valve-related and procedure-related determinants of outcome
J Thorac Cardiovasc Surg. 1999 Jan;117(1):77-90; discussion 90-1.

14. O'Brien MF, Harrocks S, Stafford EG, Gardner MA, Pohlner PG, Tesar PJ, Stephens F
The homograft aortic valve: a 29-year, 99.3% follow up of 1,022 valve replacements
J Heart Valve Dis. 2001 May;10(3):334-44; discussion 335.
15. Borger M, Ivanov J, Armstrong S, Christie-Hrybinsky D, Feindel Ch, David T:
Twenty-Year Results of the Hancock II Bioprosthesis
J Heart Valve Dis. 2006; 15: 49 – 56
16. Frater RW, Furlong P, Cosgrove DM, Okies JE, Colburn LQ, Katz AS, Lowe NL, Ryba EA
Long-term durability and patient functional status of the Carpentier-Edwards Perimount pericardial bioprosthesis in the aortic position
J Heart Valve Dis. 1998 Jan;7(1):48-53
17. A. Gorczynski, M. Trenkner, L. Anisimowicz, R. Gutkowwski, A. Drapella, E. Kwiatkowska and M. Dobke
Biomechanics of the pulmonary autograft valve in the aortic position.
Thorax **37** (1982), pp. 535–539
18. R. Mair, W. Harringer, G. Wimmer-Greinecker, U. Klima, C. Gross, F. Peschl and P. Bruecke
Aortic valve replacement with cryopreserved pulmonary allografts: five years follow-up.
Ann Thorac Surg 60 (1995), pp. S185–S188
19. Hörer J, Hanke T, Stierle U, Takkenberg JJ, Bogers AJ, Hemmer W, Rein JG, Hetzer R, Hübler M, Robinson DR, Sievers HH, Lange R
Homograft performance in children after the Ross operation.
Ann Thorac Surg. 2009 Aug;88(2):609-15

20. Luk A, Butany J, Erlich SA, Henry J, David TE
Long-term morphological changes in a cryopreserved pulmonary valve homograft.
Can J Cardiol. 2007 Aug;23(10):817-9

21. Tweddell JS, Pelech AN, Frommelt PC, Mussatto KA, Wyman JD, Fedderly RT, Berger S, Frommelt MA, Lewis DA, Friedberg DZ, Thomas JP Jr, Sachdeva R, Litwin SB
Factors affecting longevity of homograft valves used in right ventricular outflow tract reconstruction for congenital heart disease.
Circulation. 2000 Nov 7;102(19 Suppl 3):III130-5

22. Butany J, Ahluwalia MS, Nair V, David TE
Cryopreserved pulmonary homograft: postimplant changes. Cardiovasc Pathol. 2004 Jan-Feb; 13(1):59-61

23. Naegele H, Bohlmann M, Doring V, Kalmar P, Rodiger W
Results of aortic valve replacement with pulmonary and aortic homografts.
J Heart Valve Dis. 2000 Mar;9(2):215-20; discussion 220-1

24. Riberi A, Caus T, Mesana T, Coudard A, Mouly G, Habib G, Monties JR
Aortic valve or root replacement with cryopreserved homograft for active infectious endocarditis
Cardiovascular Surgery, Vol. 5, No. 6, 579-583, 1997

25. Niwaya K, Elkins RC, Knott-Craig CJ, Santangelo KL, Cannon MB, Lane MM, Elkins RC.
Advantage of Autograft and Homograft Valve Replacement for Complex Aortic Valve Endocarditis
Ann Thorac Surg. 1999; 67: 1603 – 8.

26. Gulbins H, Kilian E, Roth S, Uhlig A, Kreuzer E, Reichart B
Is there an Advantage in Using Homografts in Patients with Acute Infective Endocarditis of the Aortic Valve?
J Heart Valve Dis Vol. 11. No. 4, July 2002, 492-497
27. Schmoeckel M, Boekstegers P, Nikolaou K, Reichart B
.First successful transapical aortic valve implantation after aortic allograft replacement.
J Thorac Cardiovasc Surg. 2009 Oct;138(4):1016-7. Epub 2009 Jul 25
28. Homograft implantation for aortic valve replacement since 15 years: results and follow-up
Kilian E, Fries F, Kowert A, Vogt F, Kreuzer E, Reichart B
Heart Surg Forum. 2010 Aug;13(4):E238-42

9. Originalarbeit

Pulmonary Homografts for Aortic Valve Replacement: Long-term Comparison with Aortic Grafts

publiziert in

“The Heart Surgery Forum”

2010-1162 14 (4), 2011

Eingereicht am 11. November 2010; In überarbeiteter Form am 20. Januar 2011;

Zur Publikation akzeptiert am 23. Februar 2011

Pulmonary Homografts for Aortic Valve Replacement: Long-term Comparison with Aortic Grafts

Ferdinand Vogt, Anke Kowert, Andres Beiras-Fernandez, Martin Oberhoffer,
Ingo Kaczmarek, Bruno Reichart, Eckehard Kilian

Department of Cardiac Surgery, University Hospital, Ludwig-Maximilians University, Munich, Germany

ABSTRACT

Objective: The use of homografts for aortic valve replacement (AVR) is an alternative to mechanical or biological valve prostheses, especially in younger patients. This retrospective comparative study evaluated our single-center long-term results, with a focus on the different origins of the homografts.

Methods: Since 1992, 366 adult patients have undergone AVR with homografts at our center. We compared 320 homografts of aortic origin and 46 homografts of pulmonary origin. The grafts were implanted via either a subcoronary technique or the root replacement technique. We performed a multivariate analysis to identify independent factors that influence survival. Freedom from reintervention and survival rates were calculated as cumulative events according to the Kaplan-Meier method, and differences were tested with the log-rank test.

Results: Overall mortality within 1 year was 6.5% (21/320) in the aortic graft group and 17.4% (8/46) in the pulmonary graft group. In the pulmonary graft group, 4 patients died from valve-related complications, 1 patient died after additional heterotopic heart transplantation, and 1 patient who entered with a primary higher risk died from a prosthesis infection. Two patients died from non-valve-related causes. During the long-term follow-up, the 15-year survival rate was 79.9% for patients in the aortic graft group and 68.7% for patients in the pulmonary graft group ($P = .049$). The rate of freedom from reoperation was 77.7% in the aortic graft group and 57.4% in the pulmonary graft group ($P < .001$). The reasons for homograft explantation were graft infections (aortic graft group, 5.0%; pulmonary graft group, 6.5%) and degeneration (aortic graft group, 7.5%; pulmonary graft group, 32.6%).

Conclusion: Our study demonstrated superior rates of survival and freedom from reintervention after AVR with aortic homografts. Implantation with a pulmonary graft was associated with a higher risk of redo surgery, owing to earlier degenerative alterations.

Received November 11, 2010; received in revised form January 20, 2011; accepted February 23, 2011.

Correspondence: Andres Beiras-Fernandez, MD, Department of Cardiac Surgery, University Hospital Munich, Marchioninistraße 15, 81377 Munich, Germany; 49-89-7095-0; fax: 49-89-7095-8898 (e-mail: abeiras@med.uni-muenchen.de).

INTRODUCTION

The use of homografts for aortic valve replacement (AVR) is a good alternative to mechanical or biological prostheses, because anticoagulation medication can be avoided and excellent hemodynamic conditions can be achieved.

After the introduction of homografts for AVR in 1962 [Ross 1962; Barratt-Boyes 1969], the early preparation and preservation techniques generated fewer favorable long-term results until the establishment of antibiotic sterilization [Yacoub 1970] and cryopreservation techniques [Hehrlein 1971; O'Brien 1987; Schütz 1993; Fischlein 1995; Mirabet 2008]. After publications [Barratt-Boyes 1969; Mirabet 2008] that promised good midterm results after homograft implantation, a program based on our in-house homograft bank was launched in our institution. Because of the growing demand for homografts, the use of homografts of pulmonary origin was also established; however, early degeneration of homografts may lead to hemodynamic compromise. In this retrospective study, the outcomes after homograft implantation were evaluated with respect to the origin of the grafts, with special attention paid to infections and early degeneration.

MATERIALS AND METHODS

Homografts

The homografts were harvested from the hearts of cardiac transplant recipients. After treatment with an antibiotic cocktail containing amikacin, ciprofloxacin, vancomycin, amphotericin B, and metronidazole, the homografts were stored in liquid nitrogen at -197°C in our in-house homograft bank, with dimethyl sulfoxide used as a cryoprotectant [Schütz 1993]. Overall, 320 aortic homografts and 46 pulmonary homografts were implanted.

Surgical Techniques

Between 1992 and 1995, homografts ($n = 75$) were implanted via a subcoronary technique that conserved the patient's aortic root. All other implantations occurred via root replacement, which requires reimplantation of the coronary arteries ($n = 291$) (Figure 1). All procedures were performed via a median sternotomy and with cardiopulmonary bypass. The septal temperature depended on the need for additional cardiac arrest and ranged between 16.0°C and 32.0°C (mean, 26.6°C) in both the pulmonary graft and aortic graft groups. The mean (\pm SD) bypass time was 170 ± 52 minutes in the aortic graft group

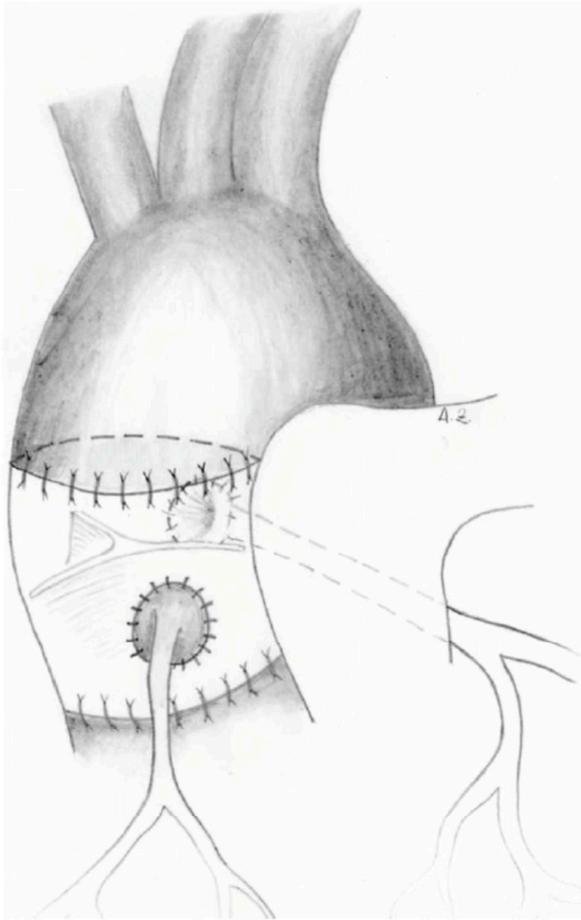


Figure 1. The homograft is implanted into the desired position.

and 163 ± 49 minutes in the pulmonary graft group (difference not statistically significant). The mean aortic-clamping time was 121 ± 30 minutes in the aortic graft group and 126 ± 30 minutes in the pulmonary graft group (not significantly different). Standard cardioplegic arrest was performed with Bretschneider solution (HTK; Dr. Franz Köhler Chemie, Bensheim, Germany). In 48 aortic graft cases and 6 pulmonary graft cases, Buckberg blood cardioplegia was used.

Study Design

Starting in May 1992, 432 patients underwent AVR with homografts at our institution. Patients with congenital heart diseases ($n = 55$) were not included in this study. The patients participated in annual prospective follow-ups that included echocardiography, electrocardiography, and history-taking evaluations, which were completed for 97% (366) of the patients. The institutional review board provided dispensation for this retrospective study.

Echocardiographic Analysis/Follow-up according to the Origin of the Graft

To compare the long-term hemodynamic results of aortic grafts and pulmonary grafts, we assessed the following parameters by echocardiography: end-diastolic diameter (in millimeters), left ventricular ejection fraction, peak pressure gradient via the homograft (in millimeters of mercury), regurgitation grade (0-III), and root diameter (in millimeters).

All of these data provide information about overall graft function. Structural alterations to grafts were described according to Yacoub et al [1995]. Regurgitation was graded as absent (grade 0), mild (grade I), moderate (grade II), or severe (grade III). Stenosis was defined as moderate at a mean pressure gradient between 30 and 50 mm Hg and as severe at a mean pressure gradient >50 mm Hg. In addition, we analyzed the effects of the type of graft (aortic versus pulmonary), the implantation technique (subcoronary versus root replacement; Figure 1), and patient sex. Postoperatively, patients underwent thorough echocardiographic reexaminations and reinterview evaluations once a year in our outpatient department.

Data Acquisition and Analysis

Surgical results and follow-up data were reported in accordance with the recommendations of the Ad Hoc Liaison Committee [Edmunds 1996]. All recorded data were examined statistically via analysis of variance, the Student t test, the chi-square test, and the Wilcoxon test as appropriate for the comparison of means. A P value $<.05$ was considered statistically significant.

Survival and freedom from reoperation were analyzed as cumulative events according to the Kaplan-Meier method and were evaluated statistically with the log-rank test, with documentation of the patients at risk. Statistical analyses were carried out with SPSS (version 17.0. for Windows; SPSS, Chicago, IL, USA).

RESULTS

Demographics

Of 366 adult patients, 253 (72.0%) were male. The mean age at homograft implantation was 51.6 years (range, 12-84 years), with a mean (\pm SD) follow-up time of 9.4 ± 3.8 years (maximum, 16.2 years). The indications for AVR with either an aortic graft or a pulmonary graft are shown in Table 1. Additional surgical procedures (stand alone or in combination) were necessary in 55 patients for replacement of the ascending aorta, 12 mitral valve operations, 1 tricuspid valve reconstruction, and 39 coronary artery bypass grafts.

Echocardiographic Results

The left ventricular ejection fraction increased slightly but not significantly in both groups after surgery, and the left ventricular end-diastolic diameter decreased in both groups. In the aortic graft group, the postoperative root diameter showed a progression from a mean diameter of 28 mm to 33 mm after 15 years. The peak pressure gradient increased from 10.5 mm Hg to 37 mm Hg after 15 years, and aortic valve regurgitation increased from less than grade I after

Table 1. Indication for Surgery

Indication for Surgery	Patients, n	Aortic Grafts, n	Pulmonary Grafts, n	P
Degenerative	298	259	39	NS*
Infectious	51	46	5	NS
Aortic valve stenosis	98	94	4	NS
Aortic valve regurgitation	65	47	18	NS
Combined aortic valve diseases	59	47	12	NS
Replacement of preexisting prostheses	8	8	0	NS

*NS indicates not statistically significant.

surgery to grade II to III after 15 years without significant differences between the aortic graft and pulmonary graft groups. The echocardiographic results are summarized in Table 2.

Bleeding and Thromboembolism

Because anticoagulation therapy is not required after homograft implantation, some patients received acetylsalicylic acid or coumarin therapy for other reasons, such as coronary artery disease or atrial fibrillation. In the early postoperative course, major bleeding was found in 16 aortic graft cases and 2 pulmonary graft cases. A hemodynamically relevant tamponade occurred in 6 aortic graft cases and 2 pulmonary graft cases. No cerebral bleeding occurred. Two patients in the aortic graft group presented with single episodes of upper gastrointestinal bleeding, and 3 patients in the aortic graft group experienced epistaxis. Only 1 patient in the pulmonary graft group with coumarin therapy experienced epistaxis. Exclusively in the pulmonary graft group, 2 strokes and 11 transitory ischemic attacks were registered during the observation period.

Survival

The 30-day mortality rate was 3.7% (10/320) in the aortic graft group and 15.2% (7/46) in the pulmonary graft group. Two patients in the pulmonary graft group died from endocarditis after prosthesis infection. One patient who underwent additional heterotopic heart transplantation died, and 2 other patients died from non-valve-related causes. The mortality rate within 1 year was 6.5% in the aortic graft group (21/320) and 17.4% in the pulmonary graft group (8/46) ($P = .43$, nonsignificant). The survival rate after 5 years was 89.6% in the aortic graft group and 76.0% in the pulmonary graft group ($P = .001$). After 10 years, the survival rate was 85.6% in the aortic graft group and 76.0% in the pulmonary graft group ($P = .024$). During the long-term follow-up (Figure 1), the 15-year survival rate was 79.9% among patients with homografts of aortic origin and 68.7% among patients with homografts of pulmonary origin ($P = .049$).

Freedom from Reintervention

The rate of freedom from reintervention after 1 year was 99.1% in the aortic graft group and 97.8% in the pulmonary graft group ($P = .08$). At 5 years after surgery, the rates were

Table 2. Echocardiography Data*

Parameter	Postoperative	Follow-up		
		5 Years	10 Years	15 Years
Root diameter, mm				
AG	28.3	30.7	29	33
PG	30.0	30.5	29	—
Peak pressure gradient, mm Hg				
AG	10.5	15.5	20.6	37
PG	11.2	9.8	11.0	—
Aortic valve regurgitation, grade (0-III)				
AG	0.43	0.99	0.91	2.5
PG	0.96	1.15	1	—

*AG indicates aortic graft; PG, pulmonary graft.

95.8% and 82.4%, respectively ($P = .001$). After 10 years, 84.5% of the patients in the aortic graft group and 64.0% of the patients in the pulmonary graft group were free from reintervention ($P < .001$). The long-term freedom of reintervention (after 15 years) was 77.7% in the aortic graft group and 57.4% in the pulmonary graft group ($P < .001$; Figure 2).

The main reason for homograft replacement was graft infection. Infections necessitated redo AVR in 16 patients in the aortic graft group and 3 patients in the pulmonary graft group (difference not statistically significant). Degeneration was more often seen in the pulmonary graft group (15 patients) than in the aortic graft group (24 patients). In contrast to the aortic graft group, regurgitation was the main cause of degenerative alteration in the pulmonary graft group and led to graft explantation. Of these patients, 53 underwent classic redo surgery with mechanical or xenobiotic prostheses. Two patients specifically asked for another homograft, and 3 patients underwent minimally invasive transapical valve implantation.

DISCUSSION

The intention to use homografts for AVR in our department was to obtain excellent hemodynamic conditions that were superior to those for stented xenografts and to obtain improved long-term durability, following the publication of promising studies that described enhanced preservation methods [O'Brien 1987; Mirabet 2008]. Because of an overall lack of grafts, pulmonary grafts were also used in the aortic position.

The results we have presented focus on the implantation of pulmonary grafts versus aortic grafts for AVR and their long-term follow-up results. As suspected, we can now accept our hypothesis that the need for redo AVR (Figure 3) and even survival rates (Figure 2) are significantly worse for patients who received pulmonary grafts than for those who received aortic grafts. The survival results for the

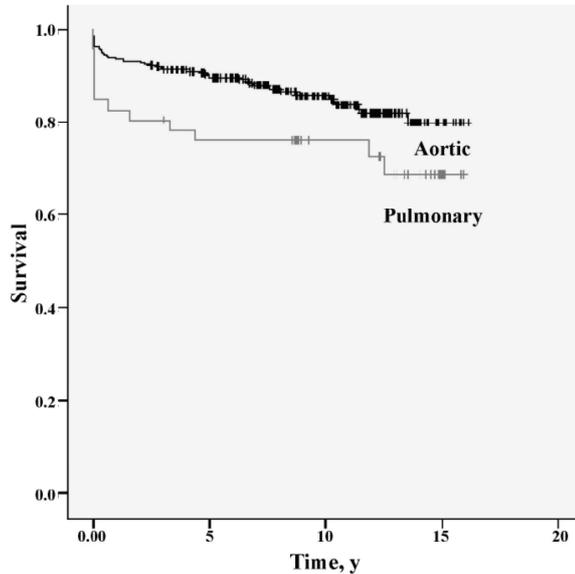


Figure 2. Long-term follow-up of survival among patients with homografts of aortic and pulmonary origin.

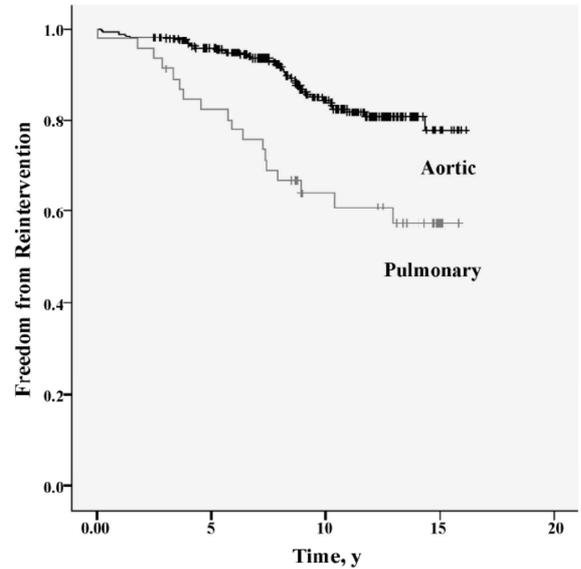


Figure 3. Long-term follow-up of freedom from reintervention among patients with homografts of aortic and pulmonary origin.

aortic group are comparable to results reported by other investigators regarding homograft implantation [Lund 1999; O'Brien 2001; Kilian 2004; Mirabet 2009] or after AVR with xenografts [Frater 1998; Borger 2006]. In contrast to early publications regarding the use of pulmonary grafts for AVR [Gorczyński 1982; Mair 1995; Yacoub 1995], the incidence of graft failure in our series of patients was higher in patients who received pulmonary grafts. The higher early mortality in patients who received pulmonary grafts was the most obvious difference between the 2 graft groups. Because of this fact, we cancelled the implantation of pulmonary grafts at our institution; however, mortality at 1 year after implantation of a homograft was independent of the anatomic origin of the graft. A possible explanation for this early-mortality result is that early degeneration of pulmonary valve homografts might occur mostly in the first year after implantation.

The necessity for graft explantation is reflected in the freedom from redo AVR, which is another major issue of interest in comparing aortic and pulmonary grafts. The rate of freedom from redo AVR after 15 years was 77.7% for an aortic graft and 57.4% for a pulmonary graft in the aortic position ($P < .001$; Figure 3). The 2 graft groups showed no significant differences in the reasons for graft explantation. This finding may be biased by the smaller number of pulmonary grafts. A remarkable finding was the higher number of degenerative alterations, especially in the rate of regurgitation, that led to pulmonary graft explantation. Our echocardiographic data revealed increases in the regurgitation rate and the pressure gradient in both groups, but the differences were not statistically significant.

In a comparison of AVR using homografts with the Ross operation, Hörer [2009] showed that the origin of the graft indeed influenced the outcome and follow-up of the subsequently performed surgery. Owing to the positive results for pulmonary autografts in the aortic position as performed in the Ross operation, this transpositioning procedure was replicated with cryopreserved grafts. This conservation and storing process might have affected pulmonary grafts more negatively than aortic grafts. This hypothesis might explain why the major problem in the Ross procedure is not the pulmonary autograft in the aortic position but the degenerated or, more likely, calcified homograft in the pulmonary position. Some morphologic studies have shown cusp tissue degeneration with tears and calcification, as well as pannus growth on the flow and nonflow surfaces of the cusps, when pulmonary grafts are implanted in the pulmonary position [Luk 2007]. A significant loss of cuspal tissue on one side was described in that report, but there was no evidence of inflammation. Few reports have discussed long-term morphologic changes in explanted pulmonary homografts after the Ross procedure [Tweddell 2000; Butany 2004]. Such changes have been described as a significant loss of cuspal tissue, as well as calcification and ossification at the basis of the cusps. Such changes contribute to stenosis, incompetence, and eventual failure that necessitate surgical explantation.

Although some authors have described the process of cryopreservation and its potential side effects as such, no explicit examination has yet been performed with respect to the origin of the valve. The results obtained at our institution suggest a difference in outcomes that is related to the origin of the graft. In contrast to early publications regarding

the use of pulmonary grafts for AVR [Gorczyński 1982; Mair 1995; Yacoub 1995], the incidence of graft failure was higher in patients who received pulmonary grafts than in those who received aortic grafts, an observation that led to the decision to cease implantation of pulmonary grafts in the aortic position at our institution. The actual number of degenerations was higher than expected, especially in the pulmonary graft group. In contrast, as previously described [Riberi 1997; Niwaya 1999; Naegele 2000], homografts are especially used in our institution for difficult cases involving patients presenting with native aortic valve endocarditis, including root abscesses [Gulbins 2002].

CONCLUSION

AVR using homografts has been performed at our institution for 16 years. Our experience has shown that the use of a pulmonary graft leads to worse results after AVR; we therefore cancelled the implantation of homografts of pulmonary origin. The data we have presented confirm both a higher rate of graft explantation and increased mortality in patients who receive a pulmonary graft. Our data for survival and freedom from redo procedures for aortic grafts are comparable to the data of others who have described similar techniques or AVR procedures involving xenoprostheses.

REFERENCES

- Barratt-Boyes BG, Roche AH, Brandt PW, Smith JC, Lowe JB. 1969. Aortic homograft valve replacement. A long-term follow-up of an initial series of 101 patient. *Circulation* 40:763-75.
- Borger MA, Ivanov J, Armstrong S, Christie-Hrybinsky D, Feindel CM, David TE. 2006. Twenty-year results of the Hancock II bioprosthesis. *J Heart Valve Dis* 15:49-56.
- Butany J, Ahluwalia MS, Nair V, David TE. 2004. Cryopreserved pulmonary homograft: postimplant changes. *Cardiovasc Pathol* 13:59-61.
- Edmunds LH Jr, Clark RE, Cohn LH, Grunkemeier GL, Miller DC, Weisel RD. 1996. Guidelines for reporting morbidity and mortality after cardiac valvular operations. The American Association for Thoracic Surgery, Ad Hoc Liaison Committees for Standardizing Definitions of Prosthetic Heart Valve Morbidity. *Ann Thorac Surg* 62:932-5.
- Fischlein T, Schütz A, Haushofer M, et al. Immunologic reaction and viability of cryopreserved homografts. *Ann Thorac Surg* 1995;60:122-6.
- Frater RW, Furlong P, Cosgrove DM, et al. 1998. Long-term durability and patient functional status of the Carpentier-Edwards Perimount pericardial bioprosthesis in the aortic position. *J Heart Valve Dis* 7:48-53.
- Gorczyński A, Trenkner M, Anisimowicz L, et al. 1982. Biomechanics of the pulmonary autograft valve in the aortic position. *Thorax* 37:535-9.
- Gulbins H, Kilian E, Roth S, Uhlig A, Kreuzer E, Reichart B. 2002. Is there an advantage in using homografts in patients with acute infective endocarditis of the aortic valve? *J Heart Valve Dis* 11:492-7.
- Hehrlein FW. 1971. Preservation problems of homologous and heterologous aortic valve grafts [in German]. *Thoraxchir Vask Chir* 19:394-5.
- Hörner J, Hanke T, Stierle U, et al. 2009. Homograft performance in children after the Ross operation. *Ann Thorac Surg* 88:609-15.
- Kilian E, Oberhoffer M, Gulbins H, Uhlig A, Kreuzer E, Reichart B. 2004. Ten years' experience in aortic valve replacement with homografts in 389 cases. *J Heart Valve Dis* 13:554-9.
- Luk A, Butany J, Erlich SA, Henry J, David TE. 2007. Long-term morphological changes in a cryopreserved pulmonary valve homograft. *Can J Cardiol* 23:817-9.
- Lund O, Chandrasekaran V, Grocott-Mason R, et al. 1999. Primary aortic valve replacement with allografts over twenty-five years: valve-related and procedure-related determinants of outcome. *J Thorac Cardiovasc Surg* 117:77-90; discussion 90-1.
- Mair R, Harringer W, Wimmer-Greinecker G, et al. 1995. Aortic valve replacement with cryopreserved pulmonary allografts: five years' follow-up. *Ann Thorac Surg* 60:S185-8.
- Mirabet V, Carda C, Solves P, et al. 2008. Long-term storage in liquid nitrogen does not affect cell viability in cardiac valve allografts. *Cryobiology* 57:113-21.
- Naegele H, Bohlmann M, Doring V, Kalmar P, Rodiger W. 2000. Results of aortic valve replacement with pulmonary and aortic homografts. *J Heart Valve Dis* 9:215-20; discussion 220-1.
- Niwaya K, Elkins RC, Knott-Craig CJ, et al. 1999. Advantage of autograft and homograft valve replacement for complex aortic valve endocarditis. *Ann Thorac Surg* 67:1603-8.
- O'Brien MF, Harrocks S, Stafford EG, et al. 2001. The homograft aortic valve: a 29-year, 99.3% follow up of 1,022 valve replacements. *J Heart Valve Dis* 10:334-44; discussion 335.
- O'Brien MF, Stafford EG, Gardner M, et al. 1987. The viable cryopreserved allograft aortic valve. *J Card Surg* 2(suppl):153-67.
- Riberi A, Caus T, Mesana T, et al. 1997. Aortic valve or root replacement with cryopreserved homograft for active infectious endocarditis. *Cardiovasc Surg* 5:579-83.
- Ross DN. 1962. Homograft replacement of the aortic valve. *Lancet* 2:487-93.
- Schütz A, Fischlein T, Haushofer M, et al. 1993. Homograft aus eigenen Herzklappenbank. *Z Transplantationsmedizin* 5:194.
- Tweddell JS, Pelech AN, Frommelt PC, et al. 2000. Factors affecting longevity of homograft valves used in right ventricular outflow tract reconstruction for congenital heart disease. *Circulation* 102(suppl 3):III130-5.
- Yacoub M, Kittle F. 1970. Sterilization of homografts by antibiotic solutions. *Circulation* 41(suppl):II29-32.
- Yacoub M, Nasser RH, Lund O, et al. 1995. Fourteen-year experience with homovital homografts for aortic valve replacement. *J Thorac Cardiovasc Surg* 110:186-93.

10. Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich an Eides statt, dass die vorliegende Arbeit, laut der mir bekannten Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München, von mir eigenständig verfasst wurde. Mit Ausnahme der angegebenen Literaturquellen wurden keinerlei Hilfsmittel verwendet. Die Arbeit wurde ohne Hilfe Dritter angefertigt und stellt auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten dar.

.....
Dr. med. univ. Ferdinand Vogt