

Aus dem Bereich Pädiatrische Kardiologie

Theoretische Medizin und Biowissenschaften bzw. Klinische Medizin

der Medizinischen Fakultät

der Universitätsklinik des Saarlandes, Homburg/Saar

**Charakterisierung von miRNA-Profilen im Blut gesunder  
Probanden vor und nach kurzzeitiger Kontaktphase mit  
experimentellen Oberflächen**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Humanmedizin  
der Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2023

vorgelegt von: Philipp Andrés Letulé

geb. am: 05.11.1994 in Trier

## Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die häufigste Todesursache in entwickelten Ländern und machen 31 % der globalen Todesfälle aus. Trotz des signifikanten Fortschritts bei der Reduzierung von Mortalität und Morbidität durch die Einführung und Entwicklung von Stents, ist ihr Nutzen aufgrund biologischer Reaktionen, die durch den Kontakt von Blut mit artifiziellen Oberflächen ausgelöst werden, begrenzt. Diese Reaktionen wie Proteinabsorption, Zelladhäsion, Inflammation und Thrombozytenaktivierung sind für Komplikationen wie In-Stent Thrombosen und In-Stent Restenosen verantwortlich. Um sie zu mildern und ihre molekularen Mechanismen zu verstehen, wurden umfangreiche Forschungsbemühungen unternommen.

Eine vielversprechende Forschungsrichtung beinhaltet die Untersuchung von miRNAs, die kurze, nicht codierende RNA-Moleküle sind und eine wichtige Rolle in der Genregulation spielen. miRNAs sind an vielen biologischen Prozessen wie Zellwachstum und Zellentwicklung beteiligt. Diese Funktionen erfüllen sie, indem sie an komplementäre Stränge der mRNA binden und damit deren Expression beeinflussen. Sie reagieren auf Stimuli und steuern meist durch Post-transkriptionelle Inhibition die Expression von Genen. In anderen Studien zeigte sich bereits, dass ein kurzer Stimulus ausreichen kann, um eine Veränderung in der miRNA zu bewirken.

Aufgrund dessen haben wir die Hypothese aufgestellt, dass Änderungen in der miRNA-Expression eine Rolle bei der unmittelbaren Interaktion zwischen Blut und artifiziellen Oberflächen spielen könnten. Um diese Hypothese zu testen, haben wir die Veränderung des miRNA-Profiles im Blut gesunder Probanden nach einem 30-sekündigen Kontakt mit verschiedenen Oberflächen untersucht. Für diesen Versuch stand eine neu designte 3-D superhydrophobe Oberfläche bestehend aus  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Nanowire und einer PTFEP Beschichtung zur Verfügung. Außerdem wurde das miRNA-Verhalten auf folgenden acht weiteren Oberflächen getestet: Glas, Edelstahl 316L, Cobalt Chrome, Glas-Kaliumsilicat in Stickstoff gesintert, Glas-Kaliumsilicat in Luft gesintert, Cobalt-Chrom-Kaliumsilicat in Stickstoff gesintert, Cobalt-Chrom-Kaliumsilicat in Luft gesintert und  $\text{Al}/\text{Al}_2\text{O}_3$ .

Die Ergebnisse zeigten Veränderungen in den miRNA Profilen nach kurzzeitigem Kontakt (30s) von Vollblut mit den Oberflächen. Besonders interessant war der superhydrophobe Effekt, der nur bei der  $\text{Al}/\text{Al}_2\text{O}_3$ -PTFEP Oberfläche ausgeprägt war und zu einem Abperlen des Vollblutes führte. Es zeigte sich, dass durch Kontakt mit dieser Oberfläche 19 miRNAs signifikant unterschiedlich im Vergleich zu den restlichen acht Oberflächen exprimiert wurden. Diese miRNAs wurden alle hochreguliert und wiesen teilweise

interessante Funktionen auf, die einen Einfluss auf die biologische Reaktion zwischen Blut und artifiziellen Oberflächen haben.

Die Hochregulation der miR-130b-3p und der miR-320a wirkt antiinflammatorisch. Die Hochregulation der miR-320d hat eine wichtige Rolle in der Apoptose von glatten Muskelzellen und könnte damit protektiv gegen In-Stent Restenosen wirken. Die Hochregulation von miR-320c ist mit der Hemmung der Thrombozytenaktivierung assoziiert und könnte somit protektiv gegen In-Stent-Thrombosen wirken. Die Hochregulation von miR-320b und miR-6740-5p wirkt endothelprotektiv und die Hochregulation von miR-320b und miR-378a-3p wirkt durch den Schutz vor Ischämie- und Reperfusionsschäden der Kardiomyozyten kardioprotektiv. Somit könnten möglicherweise Komplikationen, die bei gängigen Oberflächenmaterialien entstehen können, unterbunden werden.

## **Abstract**

Cardiovascular diseases are the leading cause of death in developed countries and a general issue, representing 31% of global deaths. Despite significant progress made in reducing mortality and morbidity through the introduction and development of stents, their use is still limited by biological reactions induced by blood contact with artificial surfaces. These reactions, including protein absorption, cell adhesion, inflammation, and platelet activation, lead to complications such as in-stent thrombosis and in-stent restenosis. In order to mitigate these responses and understand their underlying molecular mechanisms, extensive research efforts have been undertaken.

One promising approach of research involves the examination of miRNA, a type of small non-coding RNA molecule that plays a crucial role in gene regulation. miRNAs are involved in a variety of biological processes, including cell growth and development, and can control gene expression by binding to complementary sequences in mRNA, either promoting or inhibiting its expression. miRNAs can respond to short stimuli with an immediate change in their expression, which was already demonstrated in other studies.

With this in mind, we have hypothesized that changes in miRNA expression may play a role in the immediate interaction between blood and artificial surfaces. To test this hypothesis, we analyzed the change in miRNA profile in the blood of healthy subjects following a 30 second contact with various artificial surfaces. For this experiment a newly designed 3-D superhydrophobic surface consisting of Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanowires and a PTFEP coating was available. The miRNA behavior on eight other surfaces containing: Glass, stainless steel 316L, cobalt chrome, glass potassium silicate sintered in nitrogen, glass

potassium silicate sintered in air, cobalt chromium potassium silicate sintered in nitrogen, cobalt chromium potassium silicate sintered in air and Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> was tested as well.

The results of the experiment showed changes in miRNA profiles after brief contact between blood and the surfaces. Notably, the superhydrophobic effect was only observed on the Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> PTFEP surface, causing the blood to bounce off the surface. Contact with this surface resulted in 19 miRNAs being expressed significantly differently than with the other eight surfaces. These miRNAs were all upregulated and some displayed interesting functions.

For example, upregulation of miR-130b-3p and miR-320a was shown to have anti-inflammatory effects, while upregulation of miR-320d was linked to smooth muscle cell apoptosis, potentially protective against in-stent restenosis. Upregulation of miR-320c was associated with inhibition of platelet activation, which could have a protective effect against in-stent thrombosis. In addition, upregulation of miR-320b and miR-6740-5p was found to be endothelial protective, while upregulation of miR-320b and miR-378a-3p was shown to be cardio protective, protecting cardiomyocytes from ischemic and reperfusion injury. This could potentially prevent complications associated with commonly used surface materials.



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>VII</b>
<b>Abbildungsverzeichnis.....</b>	<b>IX</b>
<b>Tabellenverzeichnis.....</b>	<b>X</b>
<b>1 Einleitung.....</b>	<b>1</b>
1.1 Die koronare Herzkrankheit.....	1
1.1.1 Hintergrund.....	1
1.1.2 Definition .....	2
1.1.3 Pathophysiologie und Ätiologie der Atherosklerose am Herzen .....	2
1.1.4 Klinische Einteilung .....	3
1.1.5 Therapie .....	4
1.2 Stents .....	7
1.2.1 Bare Metal Stents (BMS).....	7
1.2.2 Drug Eluting Stents (DES).....	7
1.2.3 Stents in der Kinderkardiologie .....	8
1.3 Interaktion von Blut mit synthetischen Oberflächen .....	8
1.3.1 Proteinadsorption .....	8
1.3.2 Thrombozytenaggregation und Aktivierung .....	9
1.3.3 Koagulation .....	9
1.3.4 Komplementsystem.....	12
1.3.5 Leukozyten .....	14
1.4 Oberflächen .....	14
1.4.1 Edelstahl 316L.....	14
1.4.2 Kobalt-Chrom .....	15
1.4.3 Neue glasartige Beschichtungen.....	15
1.4.4 Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP Hybrid Nanowire .....	16
1.5 MicroRNA .....	17
1.5.1 Hintergrund.....	17
1.5.2 Biogenese .....	17
1.5.3 Funktion.....	19
1.5.4 Zirkulation.....	21
<b>2 Zielsetzung .....</b>	<b>22</b>
<b>3 Material und Methodik .....</b>	<b>23</b>
3.1 Materialien .....	23
3.2 Methodik .....	25
3.2.1 Probandenkollektiv .....	25
3.2.2 Versuchsaufbau .....	26

3.2.3	Probengewinnung .....	27
3.2.4	Isolation von RNA.....	27
3.2.5	Bestimmung der Quantität und Qualität der RNA .....	28
3.2.6	miRNA Microarrays .....	29
3.2.7	Statistische Analyse .....	29
3.2.8	Signalweganalyse .....	30
<b>4</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>31</b>
4.1	<i>Ergebnisse der Quantität und Qualität der RNA.....</i>	31
4.2	<i>Ergebnisse der Microarrays.....</i>	32
4.2.1	Zusammenfassung.....	32
4.2.2	Signifikante miRNAs.....	36
4.2.3	Hochsignifikante miRNAs.....	38
4.2.4	Höchstsignifikante miRNAs .....	40
4.3	<i>Signalweganalyse.....</i>	41
4.3.1	Diana-miRPath .....	41
4.3.2	miRTargetLink .....	43
<b>5</b>	<b>Diskussion .....</b>	<b>44</b>
5.1	<i>Diskussion der Methodik .....</i>	44
5.1.1	Diskussion des Probandenkollektivs .....	44
5.1.2	Diskussion der Probengewinnung.....	44
5.2	<i>Diskussion der Ergebnisse .....</i>	45
5.2.1	Diskussion der RNA-Quantität- und Qualitätsergebnisse .....	45
5.2.2	Diskussion der Microarrayergebnisse .....	45
5.3	<i>Limitationen der Studie und Ausblick .....</i>	51
<b>6</b>	<b>Anhang.....</b>	<b>53</b>
6.1	<i>Probandeninformation .....</i>	53
6.2	<i>Einverständniserklärung .....</i>	56
6.3	<i>Fragebogen .....</i>	57
6.4	<i>Laborbefunde .....</i>	59
6.5	<i>Ergebnisse der RNA Quantität und Qualität.....</i>	68
6.6	<i>Tabelle der arithmetischen Mittel der FC-Werte .....</i>	69
6.7	<i>Heatmap der arithmetischen Mittel der FC-Werte .....</i>	79
<b>7</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>84</b>
	<b>Danksagung .....</b>	<b>96</b>
	<b>Curriculum vitae.....</b>	<b>97</b>

# Abkürzungsverzeichnis

°C	-	Grad Celsius
A.	-	<i>arteria</i>
ACE	-	angiotensin converting enzyme
ACS	-	acute coronary syndrome
ADP	-	Adenosindiphosphat
AGO2	-	Argonaut Protein 2
Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	-	Aluminium <sub>2</sub> Oxid <sub>3</sub>
ANOVA	-	analysis of variance
AP	-	angina pectoris
ASS	-	Acetylsalicylsäure
AT	-	Angiotensin
BA	-	Ballonangioplastie
BMS	-	bare metal stents
Ca <sup>2+</sup>	-	Calcium <sup>2+</sup>
CCS	-	chronic coronary syndrome
CIP	-	calf intestinal phosphatase
cm	-	Zentimeter (Einheit)
CoCr	-	Cobalt-Chrom
CoCr-KSi-Luft	-	Cobalt-Chrom-Kaliumsilicat in Luft
CoCr-KSi-N <sub>2</sub>	-	Cobalt-Chrom-Kaliumsilicat in Stickstoff
COX-2	-	Cyclooxygenase 2
CVD	-	chemical vapor deposition
DAPT	-	dual antiplatelet therapy
DCP2	-	decapping protein 2
DES	-	drug eluting stents
DGCR8	-	DiGeorge syndrome critical region 8
DMSO	-	Dimethylsulfoxid
eCIRP	-	extrazelluläre kälteinduzierbare RNA-bindende Protein
EDTA	-	Ethylendiamintetraessigsäure
ESC	-	European Society of Cardiology
<i>et al.</i>	-	<i>et alii/ et aliae</i>
EV	-	extrazelluläre Vesikel
F	-	Faktor
FC	-	Foldchange
FDR	-	false discovery rate
FXR1	-	fragile-x-mental retardation related protein 1
Glas-KSi-Luft	-	Glas-Kaliumsilicat in Luft
Glas-KSi-N <sub>2</sub>	-	Glas-Kaliumsilicat in Stickstoff
h	-	Stunde(n) (Einheit)
HMK	-	hochmolekulares Kininogen
hsa-miR	-	menschliche microRNA
ICAM-1	-	intercellular adhesion molecule 1

IL-1	-	Interleukin-1
ISR	-	in stent restenosis
KHK	-	koronare Herzerkrankung
LDL	-	low density lipoprotein
miRISC	-	microRNA-induced silencing complex
miRNA	-	microRNA
ml	-	Milliliter (Einheit)
mm	-	Millimeter (Einheit)
MRE	-	microRNA response element
MRT	-	Magnetresonanztomographie
ng	-	Nanogramm (Einheit)
nm	-	Nanometer (Einheit)
NSTEMI	-	non-ST-elevation myocardial infarction
nt	-	Nukleotid(e)
PCR	-	polymerase chain reaction
PCSK9	-	Proteinkonvertase-Subtilisin/Kexin-Typ-9
PDGF	-	plättchenabhängiger Wachstumsfaktor
PL	-	Phospholipide
Pre-miRNAs	-	precursor microRNAs
Pri-miRNAs	-	primary microRNAs
PTCA	-	perkutane transluminale Koronarangioplastie
Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP	-	Poly(bis(2,2,2-trifluorethyl)phosphazen-Aluminium <sub>2</sub> Oxid <sub>3</sub>
RAP1	-	Ras assoziiertes Protein-1
RIN	-	RNA-Integritätszahl
RNA	-	Ribonukleinsäure
rpm	-	revolutions per minute
s	-	Sekunde(n) (Einheit)
SAT	-	subakute Stentthrombose
SD	-	Standardabweichung
shRNAs	-	short hairpin RNAs
STEMI	-	ST-elevation myocardial infarction
TAP1	-	Antigen Peptid Transporter 1
TF	-	tissue factor
TNF	-	Tumornekrosefaktor
TRPV4	-	transient receptor potential vanilloid cation channel 4
vWF	-	von Willebrand Faktor
XRN1	-	Exoribonuclease 1
µg	-	Mikrogramm (Einheit)
µl	-	Mikroliter (Einheit)

# Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1:</b> Ausprägung der koronaren Herzkrankheit.....	4
<b>Abbildung 2:</b> Intrinsischer Weg der plasmatischen Gerinnung .....	10
<b>Abbildung 3:</b> Extrinsischer Weg der plasmatischen Blutgerinnung .....	11
<b>Abbildung 4:</b> Gemeinsame Endstrecke der plasmatischen Gerinnung .....	12
<b>Abbildung 5:</b> Komplementsystemaktivierung.....	13
<b>Abbildung 6:</b> Herstellungsverfahren der Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP Oberfläche .....	16
<b>Abbildung 7:</b> Biogenese der miRNA .....	19
<b>Abbildung 8:</b> mRNA-Abbau.....	20
<b>Abbildung 9:</b> Versuchsaufbau und Durchführung .....	26
<b>Abbildung 10:</b> Mittelwerte mit SD der RNA-Konzentrationen .....	31
<b>Abbildung 11:</b> Mittelwerte mit SD der RNA-Integritätszahlen (RIN).....	32
<b>Abbildung 12:</b> Heatmap signifikant veränderter miRNAs .....	35
<b>Abbildung 13:</b> Signifikante miRNAs ( $p \leq 0,05$ ) einfaktorieller ANOVAs.....	37
<b>Abbildung 14:</b> Hochsignifikante miRNAs ( $p \leq 0,01$ ) einfaktorieller ANOVAs.....	39
<b>Abbildung 15:</b> Höchstsignifikante miRNAs ( $p \leq 0,001$ ) einfaktorieller ANOVAs .....	41
<b>Abbildung 16:</b> Schnittstellen der Zielsignalwege von $\geq 3$ miRNAs .....	43

# Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Übersicht der verwendeten Sets .....	23
<b>Tabelle 2:</b> Übersicht der verwendeten Einwegmaterialien.....	23
<b>Tabelle 3:</b> Übersicht der verwendeten Apparaturen .....	24
<b>Tabelle 4:</b> Übersicht der verwendeten Softwares .....	24
<b>Tabelle 5:</b> Übersicht der verwendeten Onlinetools .....	25
<b>Tabelle 6:</b> Übersicht der verwendeten Oberflächen .....	25
<b>Tabelle 7:</b> Arithmetische Mittel der FC-Werte der signifikant veränderten miRNAs ...	34
<b>Tabelle 8:</b> KEGG- Signalweganalyse der signifikant veränderten miRNAs.....	42

# 1 Einleitung

## 1.1 Die koronare Herzkrankheit

### 1.1.1 Hintergrund

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen eine bedeutende Bedrohung für die Gesundheit der Weltbevölkerung dar und sind eine der größten Herausforderungen für die moderne Medizin. Der epidemiologische Wandel, der durch Urbanisierung und Industrialisierung insbesondere in Ländern mit niedrigem bis mittlerem Einkommen, beschleunigt wird, führt zu einer Zunahme degenerativer und gesellschaftlich bedingter Erkrankungen [98]. Kardiovaskuläre Erkrankungen wie Herzkrankheiten und Schlaganfälle sind weltweit die häufigste Todesursache, was jährlich zu mehr als 17 Millionen Todesfällen führt [98]. Diese Belastung wird in den kommenden Jahren aufgrund von Bevölkerungswachstum, Alterung und der Annahme westlicher Lebensstile in Entwicklungsländern weiter zunehmen [98]. Hervorstechend sind die Herzkreislauferkrankungen, die im Jahr 2016 für 31,4 % aller Todesfälle weltweit verantwortlich waren [102]. Die Untergruppe koronare Herzkrankheit ist mit 16,5 % aller Todesfälle am stärksten vertreten und ist zugleich die Erkrankung, die in entwickelten Ländern die größten wirtschaftlichen Kosten verursacht [111]. Obwohl durch neue Therapieansätze, Präventivmaßnahmen und öffentliche Gesundheitskampagnen die Mortalitätsrate für kardiovaskuläre Erkrankungen in einkommensstarken Ländern rückläufig ist, gewinnt deren Bedrohung weltweit immer weiter an Präsenz und wird nach Schätzungen aus Daten der Global Burden of disease study im Jahr 2030 einen vorläufigen Höchstwert mit 32,5 % aller Todesfälle erreichen [98].

Auch in Deutschland kann man anhand der Todesursachenstatistik des Statistischen Bundesamtes die Tragweite kardiovaskulärer Erkrankungen herauslesen. Im Jahr 2019 verstarben in Deutschland 939 520 Menschen, 331 211 (35,2 %) davon erlagen einer Herzkreislauferkrankung und von diesen kann man 119 082 (12,7 %) Menschen einen Tod durch eine koronare Herzkrankheit zuordnen [110].

Es stellt sich als von großer Bedeutung heraus, kardiovaskuläre Erkrankungen zu untersuchen, da sie als die häufigste Todesursache weltweit anerkannt sind und durch die Entwicklung innovativer Therapieansätze und Präventionsstrategien eine signifikante Anzahl an Leben gerettet werden könnten. Diese Erkenntnisse könnten dazu beitragen, die Belastung der Gesellschaft durch diese Erkrankungen zu reduzieren und somit einen positiven Einfluss auf die Gesundheit der Bevölkerung haben.

### 1.1.2 Definition

In den Nationalen Versorgungsleitlinie wird die koronare Herzerkrankung folgendermaßen definiert:

*„Die koronare Herzerkrankung (KHK) ist die klinisch relevante Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzarterien. Sie führt häufig zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im Herzmuskel. Eine KHK ist mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko verbunden und manifestiert sich typischerweise als Angina pectoris [109].“*

Die zugrunde liegende Atherosklerose ist eine Erkrankung der großen und mittelgroßen Arterien, die geprägt ist durch eine chronische Entzündungsreaktion in der Gefäßintima, welche durch herdförmigen Lipid- und diffuse Kollagenfaseranhäufungen auf der Basis einer Endothelläsion ausgelöst wird [79].

### 1.1.3 Pathophysiologie und Ätiologie der Atherosklerose am Herzen

Es ist hinreichend bekannt, dass wie eingangs erwähnt die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzgefäßen für die koronare Herzkrankheit verantwortlich ist. Doch obwohl die Atherosklerose seit vielen Jahren Gegenstand der Forschung ist, sind einige grundlegende Charakteristika in ihren Einzelheiten nicht ausreichend geklärt. Heutzutage nimmt man an, dass der Anfang der diskontinuierlich entstehenden Plaques durch „Fatty Streaks“ (Fettstreifen) hervorgerufen wird [53]. Diese entstehen durch Anlagerung und Oxidierung von Lipoproteinen insbesondere Low-Density-Lipoproteine (LDL) im Bereich der extrazellulären Matrix der Gefäßintima. Es lagern sich proinflammatorische Monozyten ab. Dies wird begünstigt durch Leukozytenadhäsionsmoleküle, die bevorzugt in Bereichen distal von arteriellen Aufzweigungen auftreten, da dort der inhibierende Faktor der laminaren Scherkräfte weniger vertreten ist [92]. Nachdem die Monozyten vor allem an diesen Prädilektionsstellen in die Intima eingedrungen sind, werden sie als Makrophagen bezeichnet, versuchen die Lipoproteine zu phagozytieren und transformieren sich dabei in Schaumzellen um.

Wenn die Menge der eindringenden Lipide die Menge der Lipide, die durch Makrophagen und andere Mechanismen heraustransportiert wird, überschreitet, bilden sich durch Akkumulation und Verdichtung über längere Zeit Atherome [53]. Im Zentrum der sich vergrößernden Intimaläsion gehen als Nächstes Schaumzellen in Apoptose und formen damit einen lipidreichen, nekrotischen Kern [79]. In der Entzündungsreaktion werden Zytokine wie beispielsweise Interleukin-1(IL-1) und der Tumornekrosefaktor (TNF) von Makrophagen freigesetzt und induzieren die lokale Produktion von Wachstumsfaktoren



[53,64]. Der plättchenabhängige Wachstumsfaktor (PDGF) und der Fibroblasten-Wachstumsfaktor sorgen für die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen, die normalerweise in der Tunica media sitzen, und für deren Produktion von extrazellulärer Matrix. Dieser Schritt stellt eine kritische Veränderung dar und markiert den Übergang in eine bindegewebige fetthaltige Läsion [53]. Zu einer weiteren Progression können Mikrothromben führen, die sich in die Endothelläsionen setzen, welche durch atherogene Risikofaktoren begünstigt werden und nach Kontakt mit der hochthrombogenen Matrix der Basalmembran durch die Ausschüttung von Faktoren wie PDGF den Prozess weiter anheizen.

Atherome unterliegen in ihrer Entstehung ständigen Umbauprozessen, die entscheidend für ihre mannigfaltigen klinischen Manifestation sind. Viele Plaques führen trotz jahrelangem Wachstum zu einer stabilen Symptomatik und verursachen selbst bei einer kompletten Stenose eines Herzkranzgefäßes nicht zwingend einen Myokardinfarkt, weil der Körper in diesem Zeitraum in der Lage ist Kollateralkreisläufe auszubilden [64]. Besonders gefährlich sind vulnerable Plaques, die durch eine dünne fibröse Hülle und einen großen Lipidkern gekennzeichnet sind. Durch deren Instabilität kann es zu einer Plaque-ruptur kommen und dadurch zur Freisetzung des thrombogenen Lipidkerns [64]. Der schnell entstehende Thrombus kann okklusiv sein und durch mangelnde Anpassungsprozesse eine akute Symptomatik verursachen. Entzündungsreaktionen sind für die Plaqueinstabilität verantwortlich und werden durch atherogene Risikofaktoren gefördert.

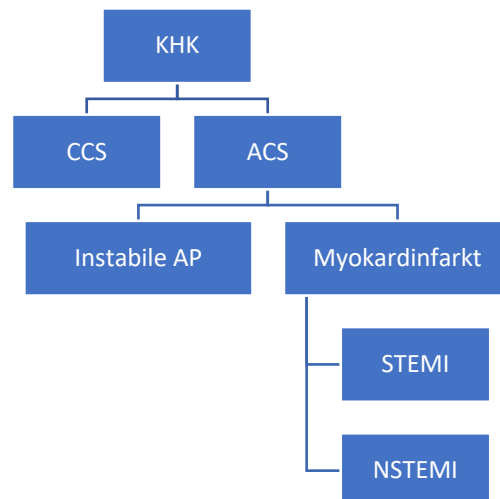
In der großangelegte Framington Heart Study wurden erstmals die Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit analysiert [66]. Auf deren Erkenntnisse aufbauend leiten sich die folgenden Hauptrisikofaktoren ab [37]:

- Lebensalter
- Erhöhung der LDL-Cholesterin Werte
- Erniedrigung der HDL-Cholesterin Werte
- Arterielle Hypertonie
- Positive Familienanamnese
- Diabetes mellitus
- Geschlecht

#### 1.1.4 Klinische Einteilung

Schweregrad und Dauer der durch die Koronararteriosklerose hervorgerufene Ischämie bestimmen die Verlaufsform der KHK [2]. Die Differenzierung dieser Verlaufsformen ist im klinischen Alltag außerordentlich wichtig.

Die symptomatische KHK kann man unterteilen in chronisches Koronarsyndrom (chronic coronary syndrome, CCS) und Akutes Koronarsyndrom (acute coronary syndrome, ACS), welches wiederum drei Entitäten umfasst: Instabile Angina Pectoris (AP), Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt (non-ST-elevation myocardial infarction, NSTEMI) und ST-Streckenhebungsinfarkt (ST-elevation myocardial infarction, STEMI) [37,50].



**Abbildung 1:** Ausprägung der koronaren Herzkrankheit. Koronare Herzkrankheit (KHK); Chronisches Koronarsyndrom (CCS); Akutes Koronarsyndrom (ACS); Angina Pectoris (AP); ST-Streckenhebungsinfarkt (STEMI) und Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt (NSTEMI).

### 1.1.5 Therapie

Die Therapie der koronaren Herzkrankheit lässt sich in die vier Bereiche Änderung der Lebensgewohnheiten, Arzneimitteltherapie, Bypassoperation und koronare Revaskularisierung untergliedern. Sie sollte individuell auf das Risikoprofil des Patienten abgestimmt sein und verfolgt das Ziel das Auftreten pektangöser Beschwerden zu reduzieren und kardiovaskuläre Ereignisse zu verhindern. In diesem Kapitel werden die verschiedenen Therapieansätze auf Grundlage der Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der European Society of Cardiology (ESC) zusammengefasst [50].

#### 1.1.5.1 Änderung der Lebensgewohnheiten

Die Grundlage einer Lebensgewohnheitsänderung ist ein gutes Verständnis der Erkrankung. Eine Erläuterung klinischer Studienergebnisse, die den Nutzen therapeutischer und präventiver Maßnahmen zeigen, erhöht die Compliance des Patienten [45]. Die Empfehlungen beinhalten:

- Eine Rauchentwöhnung mithilfe von medikamentösen und verhaltenstherapeutischen Ansätzen

- Eine gesunde Diät bestehend aus Gemüse, Früchten und Vollkorn
- Eine Limitation von Alkohol (<15 g/d) und gesättigten Fettsäuren (<10 % der gesamten Aufnahme)
- Eine regelmäßige, moderate körperliche Betätigung für 30-60 Minuten
- Vermeidung von Übergewicht (Body-Mass-Index < 25)

#### 1.1.5.2 Arzneimitteltherapie

Die pharmakologische Therapie kann man in antiischämische und präventive Medikation unterteilen.

Die Antiischämische Medikation verbessert die AP-Symptomatik, hat aber bei den meisten Patienten keinen positiven Einfluss auf die Verhinderung eines kardiovaskulären Ereignisses. Die Medikation sollte individuell angepasst werden und deren Nutzen nach 2-4 Wochen reevaluiert werden. Zur Verfügung stehen:

- Betarezeptoren-Blocker, welche die pathoadrenerge Zunahme von Herzfrequenz, Blutdruck und myokardialer Kontraktilität verhindern und damit den kardialen Sauerstoffbedarf minimieren [45]
- Nitrate und andere NO-Donatoren, welche durch systemische Venodilatation und Verminderung der myokardialen Wandspannung den kardialen Sauerstoffbedarf reduzieren und durch Dilatation der epikardialen Koronargefäße und Steigerung des Blutflusses der Kollateralgefäße die kardiale Sauerstoffausbeute maximieren [45]
- Kalziumantagonisten, welche über eine Verminderung der Kontraktilität des Herzens den kardialen Sauerstoffbedarf reduzieren und über eine koronare Dilatation die kardiale Sauerstoffausbeute maximieren [45]
- If-Kanal-Blocker, welche selektiv über den Sinusknoten bradykardisierend wirken und damit den kardialen Sauerstoffbedarf minimieren [45]
- Ranolazine, welche eine Natriumüberladung ischämischer Kardiomyozyten verhindern

Die Medikation zur Prävention kardiovaskulärer Ereignisse erfolgt zum einen über die weitere Einstellung der Risikofaktoren, wenn eine Lebensgewohnheitsänderung nicht ausreichend ist, zum anderen über die Hemmung der Plättchenaggregation zur Vermeidung eines thrombotischen Ereignisses.

Zur Einstellung der Risikofaktoren werden folgende Medikamente verwendet:

- Statine, Ezetimib und PCSK9-Inhibitoren zur Senkung des LDL-Cholesterins um mindestens 50 % des Ausgangswertes oder auf eine Konzentration <55 mg/dl

- ACE-Inhibitoren oder AT1-Antagonisten zur Behandlung von Patienten mit Komorbiditäten wie Hypertonie oder Herzinsuffizienz (LVEF<40 %)

Bei der Hemmung der Plättchenaggregation muss eine Balance zwischen Blutungsrisiko und Vermeidung eines ischämischen Ereignisses geschaffen werden. Zur Verfügung stehen folgende Medikamente:

- Acetylsalicylsäure (ASS), welches niedrigdosiert (75-100 mg/d) und lebenslänglich bei Patienten nach Myokardinfarkt oder Revaskularisation eingesetzt wird
- Orale P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren, welche in Kombination mit niedrig dosiertem ASS als duale Plättchenaggregationshemmung (DAPT) zeitlich limitiert nach Stentimplantation eingesetzt werden

#### 1.1.5.3 Koronararterielle Bypasschirurgie

Die koronararterielle Bypassoperation ist eine symptomatische Therapie, die klassischerweise über eine Thorakotomie am kardioplegisch stillgelegten Herzen durchgeführt wird. Die Revaskularisation wird optimalerweise durch Überbrückung der stenosierten Koronararterie mithilfe eines arteriellen Gefäßes durchgeführt. Hierfür wird meistens die A. mammaria, die sich aufgrund ihrer anatomischen Lage anbietet, distal der Stenose an das Koronarsystem anastomosiert. Außerdem gibt es die Möglichkeit einen aortokoronaren Venenbypass durchzuführen. Hierzu wird meist aufgrund ihrer Länge und guter operativer Erreichbarkeit die V. saphena magna gewählt.

#### 1.1.5.4 Perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA)

Grünzig leitete im Jahr 1977 das Zeitalter der interventionellen Kardiologie ein, indem er zum ersten Mal eine PTCA mit einer Ballonangioplastie (BA) durchführte [30]. Hierbei wurde ein Katheter mit einem gefalteten Ballon bis zur verengten Gefäßstelle vorgeschoben und dort aufgeblasen. Der Ballon komprimierte die verstopfende Plaque und die verschlossene Gefäßstelle wurde aufgeweitet. Obwohl es sich bei der BA um eine revolutionäre Methode handelte, hatte sie einige Schwachstellen. Nach Dilatation kam es beispielsweise häufig zu unkontrollierten Plaquerupturen, welche periprozedural zu Myokardinfarkten führten. Außerdem gab es eine 20-40 % Wahrscheinlichkeit einer Restenose [70]. Auslöser für diese sind die unmittelbare Gefäßrückstellung nach Dehnung, das negative arterielle Remodeling und die neointimale Hyperplasie. Die Gefäßrückstellung tritt meist innerhalb von 24h nach Intervention auf und ist auf die elastischen Eigenschaften der arteriellen Gefäße zurückzuführen [4]. Das negative arterielle Remodeling tritt meist Wochen bis Monate nach Intervention auf und ist eine lokale Kontraktion der Gefäßwand, welche zu einer weiteren Einengung des Lumens führt [71]. Die neointimale

Hyperplasie wird durch Verletzungen der Gefäßwand begünstigt und ist eine Proliferation der glatten Muskulatur [63]. Um diesen Mechanismen entgegenzuwirken und die periprozeduralen Ereignisse zu minimieren, wurden Stents eingeführt.

## 1.2 Stents

### 1.2.1 Bare Metal Stents (BMS)

Nachdem ersichtlich wurde, dass nach erfolgreicher PTCA der Wiederverschluss des Gefäßes als Hauptkomplikation auftrat, setzte man Gefäßstützen, Stents, in die dilatierten Gefäße ein.

Die erste Generation der Stents wird Bare Metal Stents (BMS) genannt. Man kann sie unterteilen in ballonexpandierende Stents zuerst aus Edelstahl 316L und später aus Cobalt Chrom bestehend und selbstexpandierende Stents, die aus einer Nickel-Titan Legierung (Nitinol) bestehen. Durch die Einführung der Bare Metal Stents konnte man die unmittelbare Gefäßrückstellung und das negative arterielle Remodeling in den Griff bekommen. Doch auch diese Weiterentwicklung hatte Schwachstellen. Patienten erlitten In-Stent-Restenosen (ISR) und subakute Stentthrombosen (SAT). Obwohl man die SAT-Rate durch die Einführung einer adäquaten DAPT auf 1 % minimieren konnte, mussten 15-20 % der Patienten nach 6-12 Monaten reinterveniert werden, da die ISR als Hauptursache des Stentversagens nicht beherrschbar war [24].

Hauptverantwortlich für die ISR ist die neointimale Hyperplasie, die durch Proliferation und Migration glatter Muskelzellen der Gefäßmedia ausgelöst wird [63]. Die Gefäßverletzung nach Implantation triggert einen Entzündungsprozess, welcher zur Thrombozytenadhäsion, -aktivierung und -aggregation führt. Die dadurch entstehenden Mikrothromben verstärken die Inflammation und angelockte Entzündungszellen setzen lokal Wachstumsfaktoren und Zytokine frei. Diese aktivieren ruhende glatte Muskelzellen, welche ins Stentlumen wandern und eine neointimale Schicht formen [51]. Obwohl dieser Prozess nach 2 Wochen zum Erliegen kommt, produzieren die glatten Muskelzellen weiterhin Extrazellulärmatrix und verengen damit weiter das Lumen bis hin zur ISR.

### 1.2.2 Drug Eluting Stents (DES)

Um die Wahrscheinlichkeit der ISR zu verringern, wurden Drug Eluting Stents entwickelt, welche aus einer Stentplattform, einer Trägersubstanz und einem Medikament bestehen. Die lokale Wirkstoffabgabe erfolgt in das dilatierte Gefäß, wobei das Ziel dieser Freisetzung die Proliferationshemmung der glatten Muskulatur und die Förderung der Endothelialisierung darstellt. Der Cypher-Stent von Johnson & Johnson benetzt mit

Sirolimus und der Taxus-Stent von Boston Scientific beschichtet mit Paclitaxel waren die ersten DES, die erfolgreich auf dem Markt eingeführt wurden. Die durchgeführten Studien demonstrierten eine signifikante Verringerung der Restenoseraten gegenüber BMS [72,90]. In einer Meta-Analyse zeigte sich jedoch, dass es eine höhere Rate an Spätthrombosen bei diesen ersten Generation DES gab, welche auf einen fehlenden Aufbau der Endothelschicht zurückzuführen waren [84]. Die DES wurden seitdem immer weiterentwickelt. Die Polymermatrix, welche als Trägersubstanz des lipophilen Medikamentes fungiert, wurde biokompatibler, die Stentstreben dünner, um die Verletzung des Endothels bei der Expansion zu verringern und die Freisetzungskinetik des Wirkstoffes wurde verändert [11,40]. Trotz all dieser Bemühungen muss aufgrund der verzögerten Reendothelialisierung eine verlängerte, suffiziente DAPT durchgeführt werden. Diese ist mit dem Risiko einer lebensbedrohlichen Blutung, welche mit einer Wahrscheinlichkeit von 1,2 % innerhalb eines Jahres nach Stentimplantation auftritt, assoziiert [94].

### 1.2.3 Stents in der Kinderkardiologie

Seit über drei Jahrzehnten kommen Stents in der Kinderkardiologie zum Einsatz [35]. Bei angeborenen Herzfehlern werden sie sowohl in kurativer als auch in palliativer Absicht verwendet. Durch ihre Anwendung geraten chirurgische Herzoperationen immer mehr in den Hintergrund und können entweder ersetzt oder verschoben werden [5,9].

Die Stententwicklung wird vor allem bei kleinen Kindern vor große Herausforderungen gestellt. In-Stent-Restenosen und Stentthrombosen sind auch hier die Hauptkomplikationen. Erschwerend kommt hinzu, dass die wachsenden Gefäße meist eine Nachdilatation der Stents notwendig machen und dass der Einsatz von DES in Kindern kontrovers diskutiert wird [57,68]. *Lee et al.* zeigten beispielsweise, dass bei Neugeborenen nach Implantation von Sirolimus beschichteten Stents die Sirolimus Spitzenspiegel 20-mal höher und die Sirolimus Clearance 30-mal niedriger lag als bei Erwachsenen. Dadurch lagen sie systemisch über längere Zeit im immunsuppressiven Bereich [57]. Dies stellt eine Bedrohung durch die unkontrollierbare Freisetzung von potenziell schädlichen Stoffen und deren gestörter Clearance in kleinen Kindern dar.

## 1.3 Interaktion von Blut mit synthetischen Oberflächen

### 1.3.1 Proteinadsorption

Bei Erstkontakt von Blutbestandteilen mit synthetischen Oberflächen findet eine schnelle Adsorption von Plasmaproteinen statt. Hierbei handelt es sich um einen dynamischen Prozess, in dem sich die Zusammensetzung der entstehenden Proteinschicht verändert.

Dem Vroman Effekt entsprechend lagern sich zuerst kleine Proteine, die zahlreich im Blut vertreten sind und eine geringe Affinität zur Oberfläche besitzen, an und werden dann von größeren, selteneren Proteinen mit einer höheren Affinität verdrängt [60]. Die charakteristische Proteinabsorption ist abhängig von den Eigenschaften der synthetischen Oberfläche, welche in der Produktion kontrolliert werden kann. Entscheidend hierbei sind unter anderem Oberflächenladung, Hydrophilie und Topografie der Oberfläche. Die Proteinschicht bedeckt die synthetische Oberfläche, verändert ihre Eigenschaften und bestimmt weitere Reaktionen wie Koagulation, Inflammation und Komplementaktivierung [101]. Aus diesem Grund ist die Kontrolle der Proteinadsorption ein entscheidender Faktor in der Produktion von blutkompatiblen Oberflächen.

### 1.3.2 Thrombozytenaggregation und Aktivierung

Durch die Implantation der synthetischen Oberflächen kommt es zu einer Verletzung der Blutgefäße und zu einer Freilegung von Kollagen und dem von Willebrand Faktor (vWF). Die frei zirkulierenden Blutplättchen binden mit ihrem GP1b-V-IX oder GPIIb/IIIa an den vWF und adhären an der Gefäßläsion [82]. Als Nächstes binden die Blutplättchen mit ihrem Kollagenrezeptor GP-VI und Integrin  $\alpha 2\beta 1$  an das offenliegende Kollagen. Dadurch findet eine Aktivierung der Thrombozyten statt. Das negativ geladene Phosphatidylserin wird hinaustransportiert und lagert sich an der Membranoberfläche an. Hierdurch wird eine gute Ausgangssituation für die folgende plasmatische Gerinnung geschaffen. Außerdem setzen die Thrombozyten chemische Signale wie Adenosindiphosphate (ADP) und Thromboxan A2 frei, welche die weitere Thrombozytenadhäsion und Aktivierung unterstützen. Das aktivierte GPIIb/IIIa bindet Fibrinogen und fördert durch die resultierende Verbindung der Thrombozyten deren Aggregation [82]. Zusammenfassend haben Thrombozyten eine entscheidende Funktion in der Bildung eines Thrombus und ihre Adhäsion und Aktivierung sollte auf synthetischen Oberflächen verhindert werden.

### 1.3.3 Koagulation

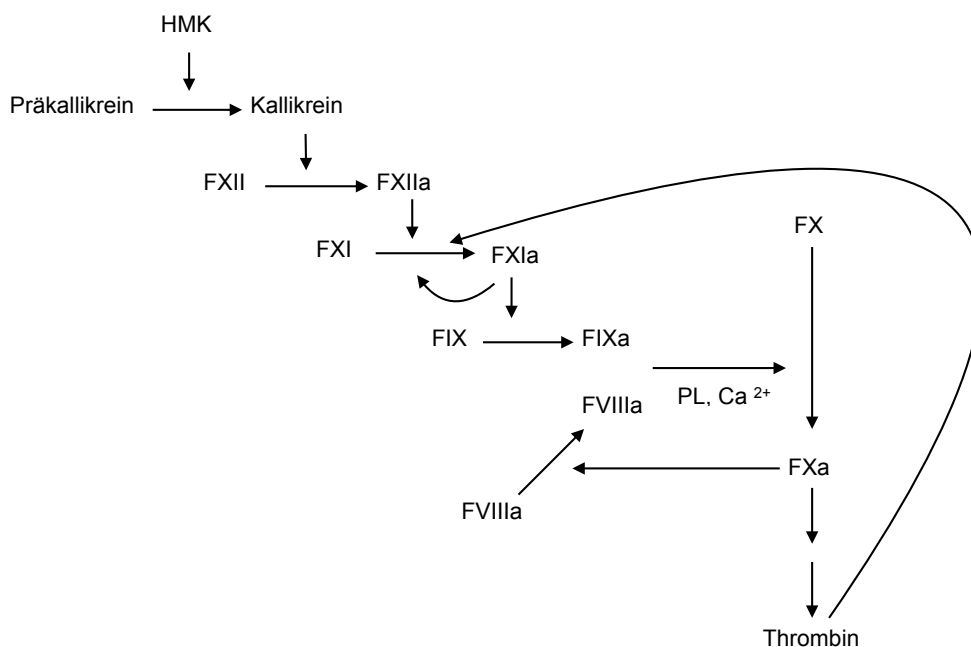
Die Koagulation spielt eine wichtige Rolle im Reparaturmechanismus der Blutgefäße und besteht aus einer komplexen Gerinnungskaskade. Nachdem sich durch die Thrombozytenaggregation ein primärer Thrombus formiert hat, wird das Koagulationssystem aktiviert, um diesen Thrombus zu stabilisieren. Im weiteren Verlauf wird die Gefäßverletzung repariert und der Thrombus im Schritt der Fibrinolyse aufgelöst [13]. Die Hämostase, welche das Gleichgewicht zwischen Koagulation und Antikoagulation beschreibt, muss einer engen Kontrolle unterliegen, da eine Veränderung in Richtung Koagulation zu

Schlaganfall, Myokardinfarkt und Thrombose führen kann. Eine Veränderung in Richtung Antikoagulation kann eine Hämorrhagie begünstigen. Der Kontakt von Blut mit synthetischen Oberflächen verschiebt das Gleichgewicht oft zugunsten der Koagulation und führt infolgedessen zur Ausbildung eines Thrombus [28]. Die Formation des sekundären Thrombus kann durch zwei Wege- intrinsischer und extrinsischer Weg- ausgelöst werden und endet in einer gemeinsamen Endstrecke.

### 1.3.3.1 Intrinsischer Weg

Der intrinsische Weg wird aufgrund seiner Aktivierbarkeit durch synthetische Oberflächen als „Kontaktaktivierungsweg“ bezeichnet. Hierbei sind vor allem negativ geladene Oberflächen von großer Relevanz und eine Aktivierung kann auch ohne Freilegung sub-endothelialer Strukturen stattfinden [29].

Als erstes binden das hochmolekulare Kininogen (HMK), Präkallikrein und Faktor XII an die Oberfläche. HMK spaltet Präkallikrein zu Kallikrein, welches wiederum den Faktor XII zu Faktor XIIa aktiviert. Die weitere Kaskade über Faktor XI und Faktor IX mündet im Tenase Komplex, welcher aus Faktor IXa, Phospholipiden, Calcium  $^{2+}$  ( $Ca^{2+}$ ) und Faktor VIIIa bestehend, Faktor X zu Faktor Xa katalysiert [29].



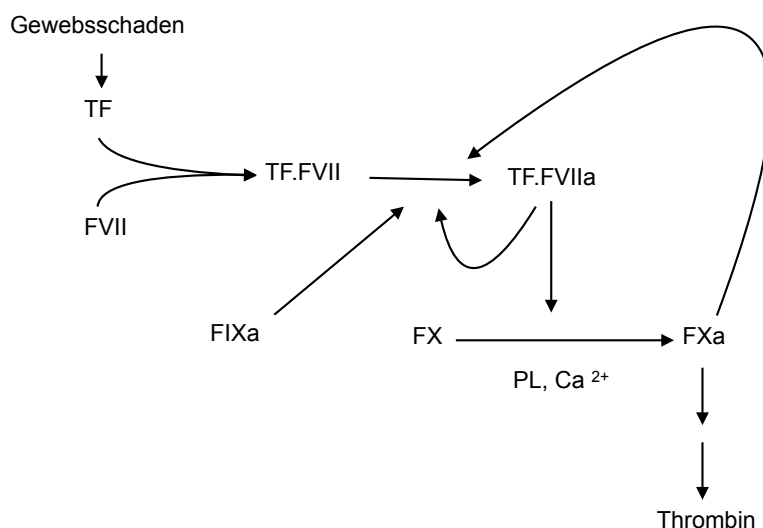
**Abbildung 2:** Intrinsischer Weg der plasmatischen Gerinnung. Hochmolekulares Kininogen (HMK); Faktor (F); Phospholipide (PL) und Calcium  $^{2+}$  ( $Ca^{2+}$ ).



### 1.3.3.2 Extrinsischer Weg

Der extrinsische Weg hat physiologisch die größere Bedeutung in der sekundären Hämostase. Er wird durch Gewebethromboplastin (tissue factor, TF), ein Membranprotein, welches bei Gewebsverletzung von glatten Muskelzellen freigesetzt wird, eingeleitet. Diese Freisetzung ist in der Wundheilung essenziell, führt aber bei der Implantation von medizinischen Geräten mit unvermeidbarer Gewebsverletzung zu Komplikationen [20].

Der TF bildet mit Faktor VIIa, welcher in kleinen Mengen frei im Blut zirkuliert,  $\text{Ca}^{2+}$  und Phospholipiden den extrinsischen Tenase Komplex, der bereits kleine Mengen Prothrombin zu Thrombin (Faktor IIa) aktivieren kann. Das Thrombin leitet durch die Aktivierung von Faktoren V, VIII und XI eine positive Rückkopplungsschleife ein, welche die Gerinnungsaktivität entscheidend verstärkt. Faktor VIIIa und Faktor IXa bilden nun einen Aktivatorkomplex, der elementar zur Aktivierung von Faktor X beiträgt [20].



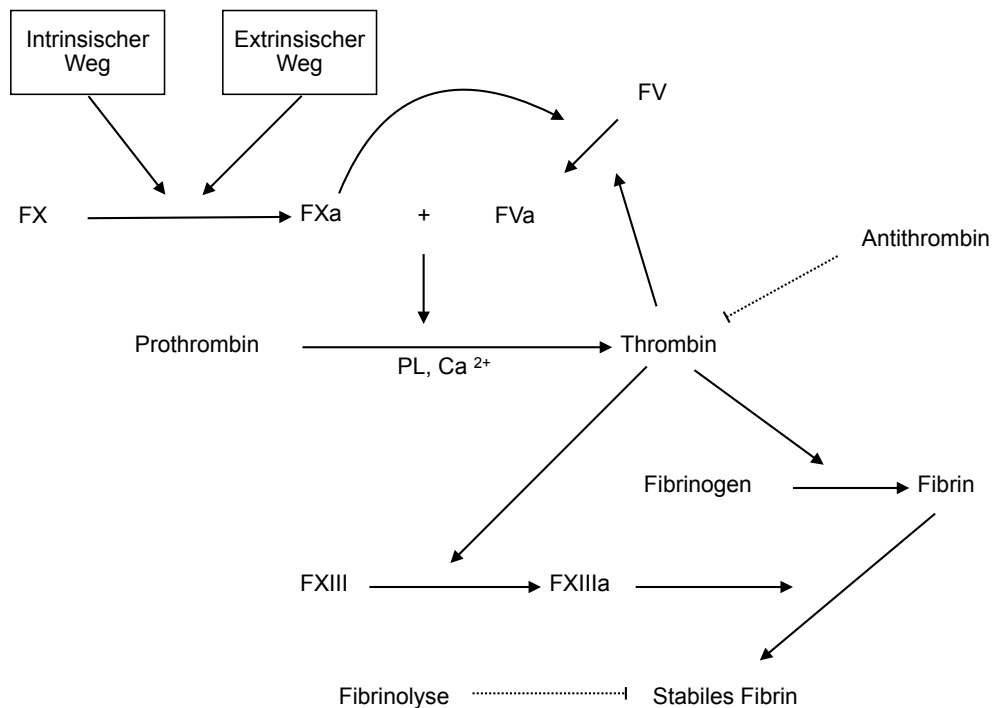
**Abbildung 3:** Extrinsischer Weg der plasmatischen Blutgerinnung. Tissue Faktor (TF); Faktor (F); Phospholipide (PL) und Calcium  $^{2+}$  ( $\text{Ca}^{2+}$ ).

### 1.3.3.3 Gemeinsame Endstrecke

Sowohl der extrinsische als auch der intrinsische Weg münden in der Aktivierung von Faktor Xa. Dieser bildet zusammen mit Faktor Va den Prothrombinasekomplex, welcher in Anwesenheit von  $\text{Ca}^{2+}$  und einer negativ geladenen Phospholipidoberfläche Prothrombin in Thrombin umwandelt [20].

Thrombin nimmt eine Schlüsselfigur in der plasmatischen Gerinnung ein. Neben der Auslösung einer positiven Rückkopplungsschleife wandelt es Fibrinogen in Fibrin um und stabilisiert somit den Thrombus [28]. Das Fibrinnetzwerk wird mithilfe des Faktors

XIIIa, welcher durch Thrombin aktiviert wird, quervernetzt und dadurch zusätzlich verstärkt.



**Abbildung 4:** Gemeinsame Endstrecke der plasmatischen Gerinnung. Faktor (F); Phospholipide (PL) und Calcium  $^{2+}$  ( $Ca^{2+}$ ).

### 1.3.4 Komplementsystem

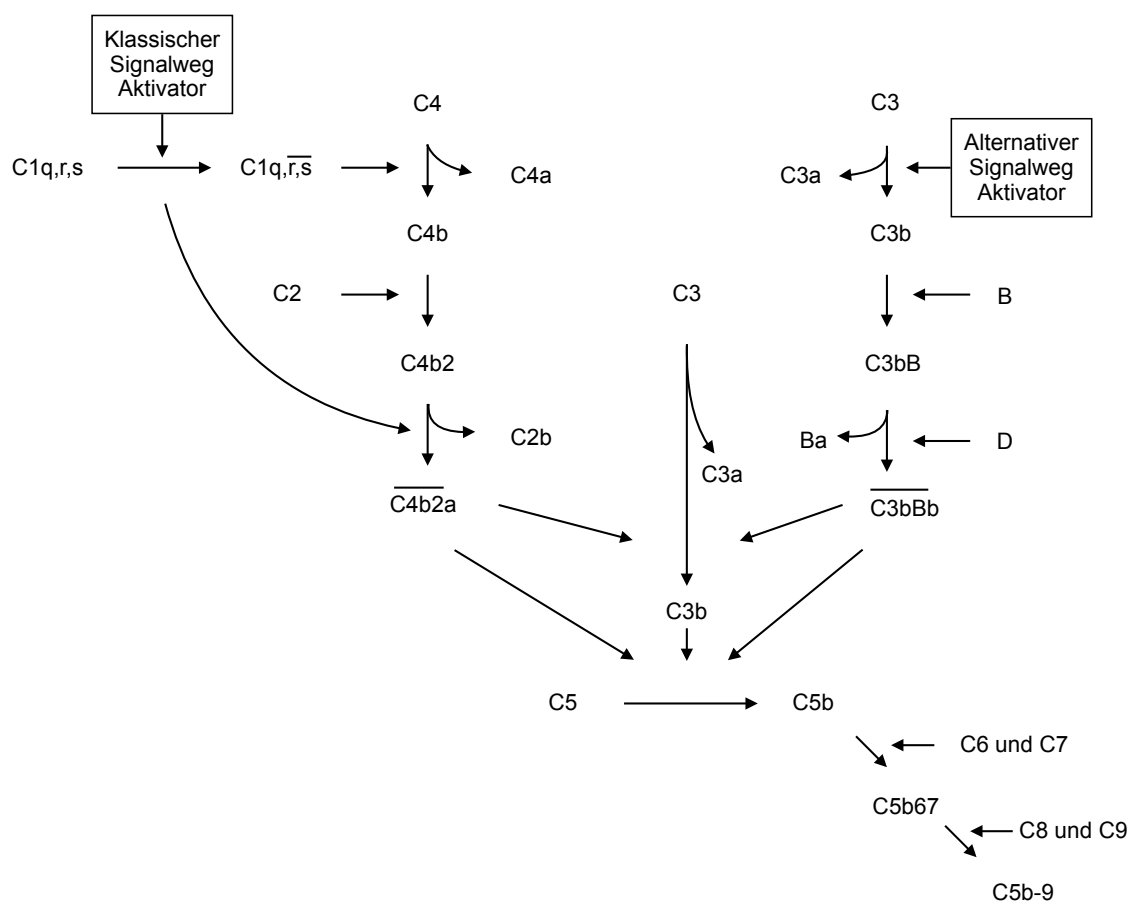
Das Komplementsystem ist ein Teil des unspezifischen humoralen Immunsystems und damit einer der ersten Instanzen zur Verteidigung gegen Pathogene, die sich versuchen im Blut auszubreiten [42]. Es besteht aus ca. 20 Proteasen, die komplementär zu spezifischen Antikörpern wirken und mit diesen Fremdzellen durch Zellyse abtöten können. Es existieren drei Wege zur Komplementaktivierung: Der klassische Aktivierungsweg, der Lektin-Weg und der alternative Weg.

Der klassische Weg wird durch Antigen-Antikörperkomplexe aktiviert und führt zu einer Aktivierung des C1q,r,s-Komplexes. Dieser führt durch die Spaltung von C4 und C2 zu der C3-Konvertase C4b2a [28].

Bei der Aktivierung über den Lektin-Weg werden mannosehaltige Kohlenhydrate in der Membran von Bakterien durch Lektin, das ubiquitär im Blut vorkommt, erkannt. Es weist eine strukturelle Ähnlichkeit zum C1q auf und kann dadurch über den klassischen Weg C3 aktivieren.

Der alternative Weg wird über körperfremde Oberflächen wie Bakterien, Pilze und Biomaterialien aktiviert und mündet ebenfalls in einer C3-Konvertase C3bBb [28].

Die C3-Konvertasekomplexe spalten C3 in C3a und C3b. C3b ist ein besonders wichtiger Baustein in der Komplementsystemkaskade. Es kann zum einen als Opsonin wirken und damit Zellen für das zelluläre Immunsystem markieren und zum anderen kann es aus C5 C5b herauschneiden, welches zusammen mit C6, C7, C8, C9 den Membranangriffskomplex bildet, welcher in der Lage ist, Zellen zu lysieren. Für medizinische Implantate ist vor allem die Opsonierungseigenschaft von C3b relevant, da es zu einer Immunantwort führt, welche die Funktion der Implantate einschränken kann. Außerdem können Komplementproteasen Gerinnungsfaktoren aktivieren und hierüber zu weiteren Komplikationen führen [28].



**Abbildung 5:** Komplementsystemaktivierung. Der klassische Signalweg wird über Antigen-Antikörper-Komplexe aktiviert und der alternative Signalweg über die Anwesenheit von Pilz- und Bakterienzellwänden. Beide Signalwege münden in der Aktivierung des Membranangriffskomplexes (C5b-9), welcher Zellen lysieren kann.

### 1.3.5 Leukozyten

Leukozyten reagieren mit synthetischen Oberflächen und lösen eine Inflammation aus [3]. Ihre Hauptaufgabe ist die Beseitigung von Fremdkörpern. Dies kann über die antigenpräsentierenden Zellen geschehen, welche über die Präsentation von Peptidfragmenten die Antikörperproduktion der B-Zellen einleiten. Monozyten entfernen zusätzlich zur Antigenpräsentation Fremdkörper mithilfe der Phagozytose. Neutrophile Granulozyten greifen mit Peroxidasen und Sauerstoffradikalen Pathogene oder Implantate an. In solidem Gewebe führt die chronische Entzündungsreaktion meist zu einer Umhüllung des Implantates durch eine Fibrosekapsel [88]. Dadurch wird die Körperreaktion minimiert. Synthetische Oberflächen, welche endovaskulär eingesetzt werden, werden nicht abgekapselt und stehen ständig in Kontakt mit zirkulierenden Monozyten. Diese präsentieren TF an ihrer Außenmembran und leiten über den extrinsischen Weg die lokale Koagulation ein [88]. Dies resultiert in einer Stenose des Blutgefäßes und kann bei einer Ablösung des Blutgerinnsels zu einer Embolisation distaler Gefäße führen. Obwohl die akute Entzündungsreaktion moderat abläuft, kann die chronische Entzündungsreaktion zu Komplikationen führen, welche oft in einen Austausch des Implantates mündet [3].

## 1.4 Oberflächen

### 1.4.1 Edelstahl 316L

Die erste Generation der BMS besteht aus Edelstahl 316L, das Eisen, Nickel, Chrom und Molybdän enthält [112]. Aus Edelstahl 316L bestehende Stents zeigen gute mechanische Eigenschaften und eine gute Korrosionsbeständigkeit. Zusätzlich besitzen sie ein hohes Elastizitätsmodul und eine hohe Zugfestigkeit, wodurch eine ausreichend hohe radiale Festigkeit kreiert werden kann, um den Rückstellmechanismus des Gefäßes zu verhindern und es offen zu halten [67]. Um Stents aus diesem Material zu produzieren, müssen aufgrund der geringen Dichte dicke Streben angefertigt werden, die zu einer erhöhten Restenoserate und zu eingeschränkter Einsetzbarkeit führen [11]. Da Eisen die Hauptkomponente der Legierung ist, besitzen die BMS eine geringe Radioopazität und eine schlechte Magnetresonanztomographie (MRT) -Kompatibilität. Außerdem ist die Biokompatibilität ein weiteres Problem des Edelstahls. Die Freisetzung der Nickel-, Chrom- und Molybdän-Ionen führt zu einer intimalen Hyperplasie, zu vermehrten In-Stent-Restenoseraten und zu allergischen Reaktionen [52].

### 1.4.2 Kobalt-Chrom

Stents aus Kobalt-Chrom besitzen bessere mechanische Eigenschaften als Stents aus Edelstahl 316L. Die Legierung weist eine größere radiale Festigkeit auf, die ihren Ursprung im hohen Elastizitätsmodul hat. Da der Eisenanteil vernachlässigbar gering ausfällt, besteht eine MRT-Kompatibilität und eine gute Radioopazität [67].

Vor allem die hohe Dichte des Materials hat es ermöglicht die Stentstreben dünner zu fabrizieren, ohne die Verformungsbeständigkeit zu gefährden [13]. Dünnere Streben sind vorteilhaft, da sie die Flexibilität verbessern, den Innendurchmesser des Stents vergrößern und das Ausmaß der Gefäßverletzung während der Implantation verringern [11].

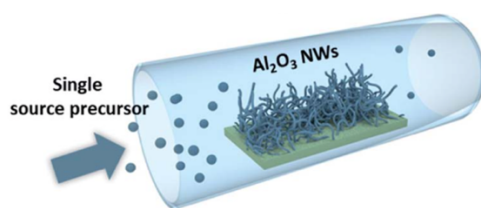
### 1.4.3 Neue glasartige Beschichtungen

Glasartige Beschichtungen gelangen immer mehr in den Fokus von wissenschaftlichen Arbeiten. Das erste bioaktive Glas wurde bereits 1969 von Larry L. Hench entwickelt. Aufgrund hervorragender Eigenschaften fand es schon Einzug in vielen verschiedenen Feldern der Medizin wie beispielsweise der Knochengewebsregeneration und der Arzneimittellabgabe [77,103]. Die hohen Temperaturen im Beschichtungsprozess beschränkten weitere Entwicklungen. Durch die Sol-Gel Technik kann die Herstellung bei moderaten Temperaturen stattfinden, was zur Erschließung weiterer Anwendungsgebiete führte [47]. Ein Einsatz als kardiovaskuläres Implantat ist nun denkbar und setzt weitere Charakterisierungen dieser neuen glasartigen Beschichtungen voraus. Die Erforschung zeigte bereits, dass die bloße Änderung der Sinterumgebung im Herstellungsprozess mit einer Veränderung der Biokompatibilität einhergeht. Dies eröffnet neue Möglichkeiten wie die topografische Modifikation der Oberflächen zur Bahnung der Endothelialisierung. Außerdem verfügen die neuartigen Beschichtungen über weitere Eigenschaften, die für endovaskuläre Implantate eine bedeutende Rolle einnehmen. Sie besitzen eine Korrosionsbeständigkeit in Kombination mit einer hohen Flexibilität. Des Weiteren interferieren sie nicht mit der Fluoroskopie, sodass eine röntgenologische Lagekontrolle der Stents durch die meist röntgenopaken Trägermaterialien möglich ist [47]. Die Beschichtung lässt sich auf besonders dünne Drähte sintern, wodurch eine schonende Implantation und eine geringe Fremdkörperreaktion des Körpers ermöglicht werden kann. Die genannten Eigenschaften befördern neue glasartige Beschichtungen zu einem aussichtsreichen Kandidaten in der Entwicklung von endovaskulären Implantaten und sollten deshalb weiteren Charakterisierungsprozessen unterzogen werden.

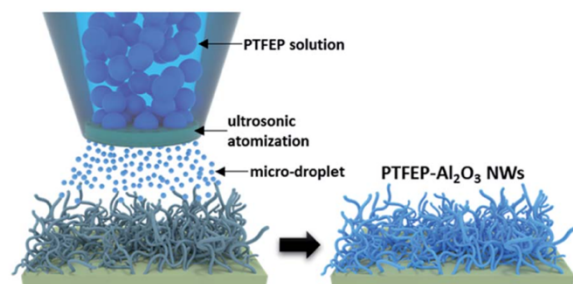
#### 1.4.4 Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Hybrid Nanowire

Die aus Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP (Poly(bis(2,2,2-trifluorethyl)phosphazen-Aluminium<sub>2</sub>Oxid<sub>3</sub>) bestehende neuartige Oberfläche hat bei Benetzung mit PTF-Lösung einen Fortschreitwinkel von 163±1° und somit superhydrophobe Eigenschaften. Diese basieren auf dem Zusammenspiel von einem Träger, welcher mikro- und nanoskalige Merkmale in der Topografie besitzt und einer Beschichtung mit einer geringen Oberflächenladung [33]. Durch eine neuartige chemische Gasphasenabscheidung, welche auf dem Single-Source-Precursorkonzept beruht, wurden zunächst verzweigte AL<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Nanowire auf einem Glassubstrat abgeschieden. Zwischen den Nanowirebündeln (Mikrorauheit) und den kreuzenden Nanowire (Nanorauheit) entstehen Lufttaschen, die durch ihre geringe Viskosität den wasserabweisenden Effekt verstärken. Im nächsten Schritt wurde mit einem Ultraschalldüsensystem die PTFEP-Lösung aufgetragen, welche homogen verteilt tief in die entstandenen Nanoporen eindringt und dadurch die Oberflächenmorphologie nicht verändert (Abbildung 6). Dieses Herstellungsverfahren kann auf komplexen 3-D Strukturen wie beispielsweise Stents durchgeführt werden und wird genauer erläutert [33,48]. Haidar *et al.* haben nachgewiesen, dass die Kombination aus PTFEP Polymer und Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanowire zu einer geringeren Thrombozytenadhäsion und Thrombozytenaktivierung führt. Außerdem fanden sie heraus, dass die neuartige Oberfläche die Bakterienadhäsion und Kolonisation im Vergleich zu Glas oder Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Nanowire reduziert [33]. Diese herausragenden Eigenschaften machen den Hybriden zu einem vielversprechenden Kandidaten neuer Generationsbeschichtungen endovaskulärer Implantate.

##### 1. Step: CVD



##### 2. Step: Ultrasonic infiltration



**Abbildung 6:** Herstellungsverfahren der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche. Die Herstellung wird in zwei Schritte unterteilt. Im ersten Schritt wird mithilfe einer neuartigen chemischen Gasphasenabscheidung (chemical vapor deposition, CVD) verzweigte AL<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Nanowire auf einem Glassubstrat abgeschieden. Im zweiten Schritt wurde mit einem Ultraschalldüsensystem die PTFEP-Lösung aufgetragen. Abbildung modifiziert nach Haidar *et al.* [25].

## 1.5 MicroRNA

### 1.5.1 Hintergrund

Victor Ambros und seine Kolleginnen Rhonda Feinbaum und Rosalind Lee fanden im Jahr 1993 heraus, dass das Gen *lin-4*, das für die Larvenentwicklung von *C. elegans* entscheidend ist, keine Proteine codiert, sondern für die Produktion von kleinen RNAs verantwortlich ist [58]. Das Ruvkun Labor zeigte, dass die entdeckten RNAs über komplementäre Basensequenzen die Menge der *lin-14* Proteine senkt ohne die Level der *lin-14* mRNA herabzusetzen [100]. Mit diesen Ergebnissen postulierten sie, dass die *lin-14* RNAs über spezifische Translationshemmung an der *lin-14* mRNA die Entwicklung vom ersten in das zweite Larvenstadium von *C. elegans* mitreguliert [6,100].

Die Kürzere der entdeckten RNAs ist heute als erstes Mitglied der immer weiterwachsenden miRNA-Familie bekannt. miRNAs sind eine Klasse von durchschnittlich 22 Nukleotide (nt) kurzen, einzelsträngigen RNAs, die an der Regulation der Genexpression beteiligt sind. Forschung mit miRNA gewinnt durch neue Hochdurchsatzsequenzierungsmethoden und computergestützte bioinformatische Auswertungen immer mehr an Bedeutung.

### 1.5.2 Biogenese

Die Biogenese der miRNA ist ein mehrere Schritte umfassender Prozess, der in verschiedenen Zellkompartimenten stattfindet. Ungefähr die Hälfte der identifizierten miRNAs haben einen intragenetischen Ursprung. Sie entstammen meist den Introns und selten den Exons einer Gensequenz [49]. Die restlichen werden aus intergenetischen Regionen prozessiert und von ihren eigenen Promotern reguliert [55]. Die anfängliche Prozessierung findet durch die RNA Polymerase II/III co- oder posttranskriptionell statt [32]. Man kann die Synthese der miRNA in den kanonischen und nicht-kanonischen Weg unterteilen.

#### 1.5.2.1 Kanonischer Weg

In dem dominanten kanonischen Weg werden Primary miRNAs (Pri-miRNAs) bestehend aus über tausend Basen durch die RNA-Polymerase II transkribiert. Diese werden im nächsten Schritt mithilfe des Mikroprozessorkomplexes, welcher aus dem RNA-Bindprotein DiGeorge Syndrome Critical region 8 (DGCR8) und dem Ribonuclease III Enzym Drosha besteht, in 70-80 nt umfassende Precursor miRNAs (Pre-miRNAs) prozessiert [21]. In diesem Vorgang erkennt DGCR8 die Pri-miRNAs und Drosha spaltet diese an der Basis ihrer charakteristischen Haarnadelstruktur [34]. Die entstehenden

Pre-miRNAs werden durch Exportin-5 und dessen Cofaktor Ran GTP aktiv aus dem Zellkern in das Zytoplasma transportiert [76].

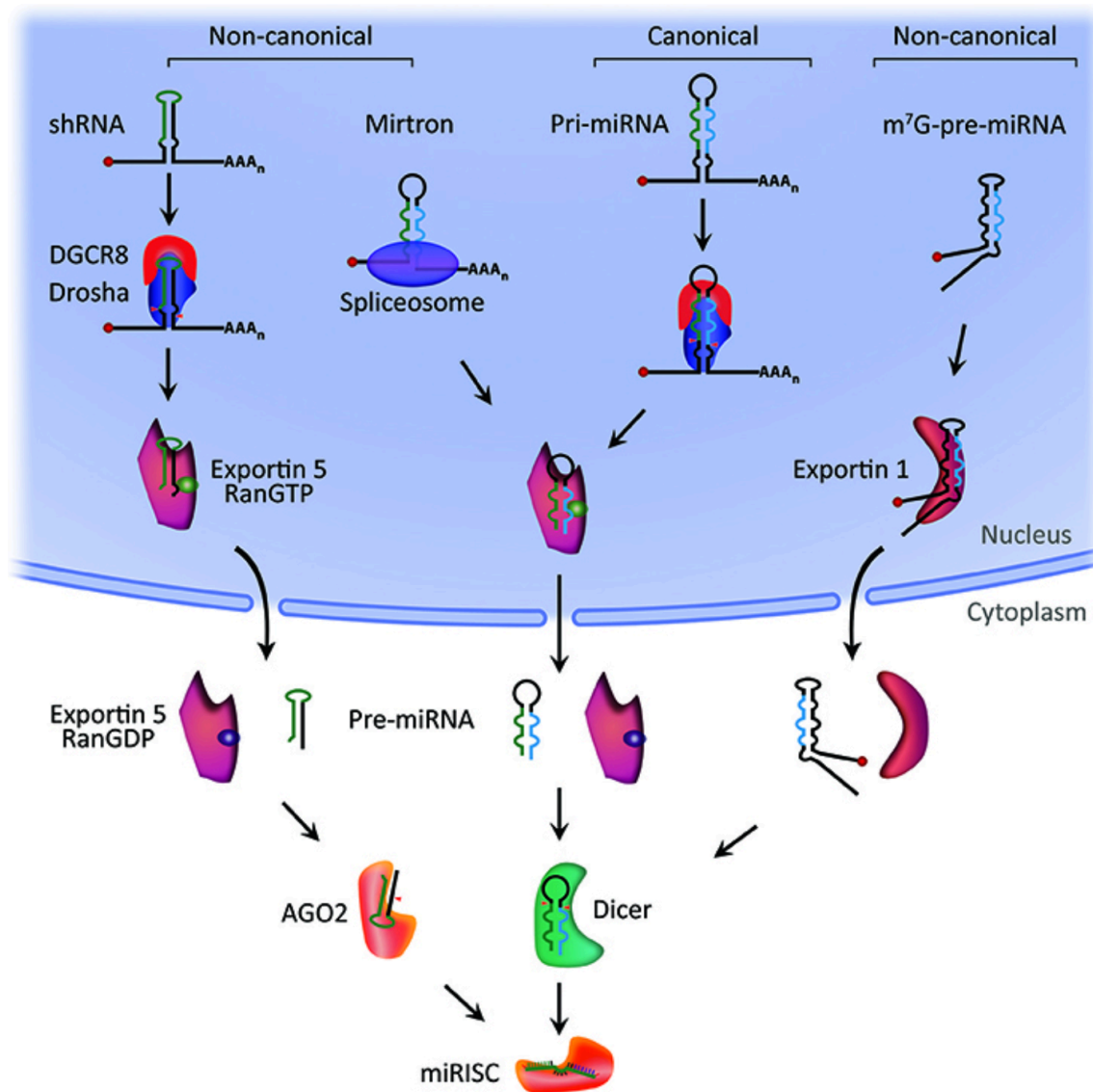
Im Zytoplasma wird die Prozessierung durch das Polymerase-III- Enzym Dicer fortgesetzt. In diesem Schritt werden die Endschleifen entfernt und reife miRNA Duplexe entstehen. Die Richtung der entstehenden Stränge ist namensgebend für die reife miRNA. Der 5-p Strang kommt vom 5' Ende der ehemaligen Haarnadelstruktur und der 3-p Strang vom 3' Ende. Welcher dieser Stränge sich durchsetzt, ist abhängig von Zelltyp und Zellumgebung [69]. Der sich durchsetzende Strang wird als Leitstrang bezeichnet und auf ein Protein der Argonaut Familie geladen [106]. Der andere Strang wird als Passagierstrang bezeichnet, von dem Leitstrang entwunden und abgebaut.

#### 1.5.2.2 Nicht-kanonischer Weg

Es sind viele nicht-kanonische Wege der miRNA-Synthese bekannt. Sie unterscheiden sich in der Ausprägung der Proteine, die im kanonischen Weg involviert sind. Man unterscheidet zwischen einem Drosha/DGCR8-unabhängigen und einem Dicer-unabhängigen Weg [75]. Die Produkte der Drosha/DGCR8-unabhängigen Wege sind im Zytoplasma immer Substrate des Dicer Enzyms. Sie beginnen entweder mit Mirtrons, welche aus Introns der mRNA entstehen oder mit Pre-miRNAs, welche eine 7-Methylguanosin-Kappe ( $m^7G$ ) besitzen [80]. Die Mirtrons werden vor dem Export aus dem Zellkern mithilfe von Spliceosomen verarbeitet. Die  $m^7G$ -Pre-miRNAs erfahren im Zytoplasma keine Spaltung und werden mithilfe des Exportin-1 Proteins ins Zytoplasma transportiert.

Auf der anderen Seite existieren Dicer- unabhängige miRNAs, die short hairpin RNAs (shRNAs), die im Zellkern durch Drosha prozessiert werden, mithilfe des Exportin5/RanGTP Komplexes ins Zytoplasma geschleust werden und aufgrund ihrer unzureichenden Länge nicht vom Dicer, sondern vom Argonaut Protein 2 (AGO2) aufgenommen werden und dort ihre zytoplasmatische Reife beenden [105].



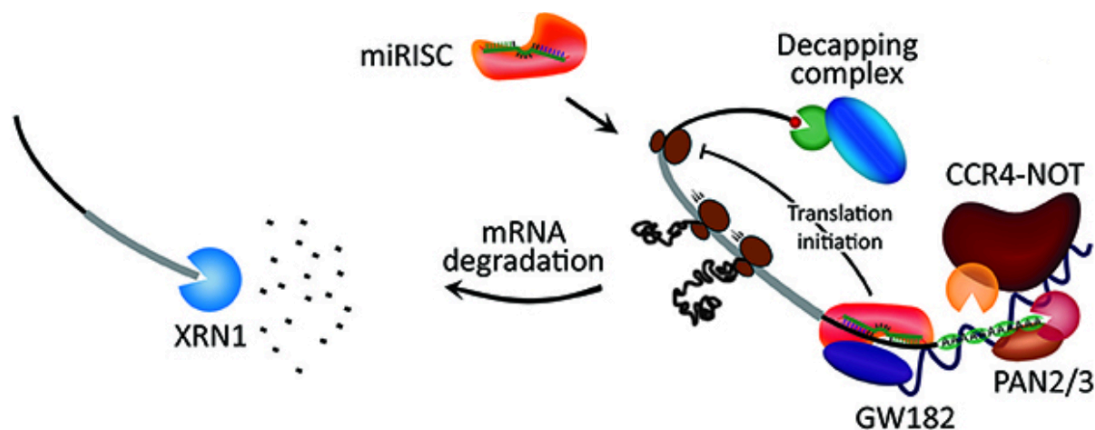


**Abbildung 7:** Biogenese der miRNA. In der Abbildung sind sowohl der dominante kanonische Syntheseweg als auch die rezessiven nicht-kanonischen Synthesewege der miRNA dargestellt. Abbildung modifiziert nach O'Brien *et al.* [75].

### 1.5.3 Funktion

miRNAs sind mächtige Genregulatoren mit vielfältiger Wirkweise. Am besten untersucht ist ihre Funktion als Inhibitor der Genexpression. Hierbei bindet der Kern des miRNA-induced silencing complex (miRISC), welcher aus dem miRNA Leitstrang und AGO besteht, an eine komplementäre Sequenz der Ziel-mRNA, die als miRNA Response Element (MRE) bezeichnet wird [75]. Die Komplementarität dieser zwei Sequenzen entscheidet über die Art des Gen-Silencing. Wenn eine volle Komplementarität besteht, wird die Spaltung der Ziel-mRNA durch AGO2 eingeleitet [43]. Jedoch findet beim Großteil der miRNA-MRE Interaktion in tierischen Zellen ein zentralerer Mismatch statt, welcher die Endonucleaseaktivität von AGO2 verhindert [44]. In diesen Fällen wirkt AGO2 als Mediator der RNA-Interferenz, sorgt für eine Translation Inhibition und es kommt zu

einem Zerfall der Ziel-mRNA. Dieser Prozess wird durch die Rekrutierung von Proteinen der GW182 Familie initiiert. Sie bieten ein Gerüst für weitere Effektorproteine wie PAN2-PAN3 und CCR4-NOT, welche zu einer Poly-A-deadenylation der Ziel-mRNA führen [44]. Decapping Protein 2 (DCP2) und in Verbindung stehende Proteine nehmen die 7-Methylguanosinkappe ab und machen den Weg frei für die 5'-3' Degradation durch die Exoribonuclease 1 (XRN1) [7,10].



**Abbildung 8:** mRNA-Abbau. In der Abbildung ist der Abbau der miRNA durch die GW182 Familie und beteiligten Effektorproteinen dargestellt. Abbildung modifiziert nach O'Brien *et al.* [75].

Unter speziellen Bedingungen können miRNAs sogar zu einer Translationsaktivierung führen. So wurde in einer Studie beispielsweise nachgewiesen, dass AGO2 und fragile-x-mental retardation related protein 1 (FXR1), welche zum miRNA Proteinkomplex gehören, bei Serum ausgehungerten Zellen über goldreichen Elementen der 3'UTR zu einer Aktivierung der Translation führen [96].

Außerdem sind intranukleäre miRISCs in der Lage die Transkriptionsrate und posttranskriptionelle Level der mRNA zu regulieren [75]. Die hierfür benötigten AGO-Proteine gelangen mithilfe des zur GW182 Familie gehörende TNRC6A, welches als Nuklear-Zytoplasmashuttle fungiert, in den Zellkern [73].

miRNA vermittelte Genregulation ist ein dynamischer Prozess, der dafür zuständig ist, die Genexpression ins Gleichgewicht zu bringen. Er ist abhängig von vielen Faktoren wie Verfügbarkeit und Fülle der miRNAs und Ziel-mRNAs. Außerdem spielen funktionelle Unterteilung und Beförderung von miRISC innerhalb der Zelle eine große Rolle [75].

#### 1.5.4 Zirkulation

miRNAs sind nicht nur innerhalb Zellen zu finden, sondern können auch in extrazellulären Medien wie Blutserum, Blutplasma, Follikelflüssigkeit, Spermienflüssigkeit, Urin, Liquor cerebrospinalis und Brustmilch nachgewiesen werden [15]. Im Gegensatz zu anderen RNA-Spezies, die innerhalb von Sekunden in extrazellulären Medien abgebaut werden, sind extrazelluläre miRNA stabil und können trotz ungünstiger Bedingungen der Zersetzung widerstehen [27,75]. Valadi *et al.* zeigten, dass Exosome funktionale miRNAs transportieren können und lieferten damit die erste Erklärung für ihre Widerstandsfähigkeit. Heute weiß man, dass die miRNA durch Apoptosekörper, Mikrovesikel, Exosome, AGO-Proteinkomplexe oder Highdensityproteine von den harten extrazellulären Bedingungen abgeschirmt werden können [25]. Manche miRNA gelangen als Nebenprodukt von Zellaktivität wie Zellschäden und Zelltod beispielsweise in Apoptosekörpern verpackt nach extrazellulär. Wohingegen andere in Exosome und Mikrovesikel eingehüllte miRNA aus lebendigen Zellen heraus nach extrazellulär gelangen und damit die These bekräftigen, dass es sich hierbei um einen regulierten Prozess handelt, der zur Folge hat, dass die ausgesandte miRNA die mRNA in den aufnehmenden Zellen beeinflussen kann. Deswegen nimmt man an, dass miRNA hormonähnliche Eigenschaften besitzt und autokrin, parakrin und/oder endokrin Zellaktivitäten modulieren kann [41].

## 2 Zielsetzung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die führende Todesursache weltweit. Durch die Einführung und Weiterentwicklung von Stents konnte die Morbidität und Mortalität gesenkt werden. Dennoch kann es nach Implantation zu Komplikationen kommen, die von dem Material oder der begleitenden Medikation ausgelöst werden.

Die Charakterisierungen der verschiedenen Materialien sind für die Weiterentwicklung von großer Bedeutung. Bisher fand die miRNA keinen Einzug in das bedeutsame Feld der Stentforschung, obwohl sie in wissenschaftlichen Publikationen immer mehr an Einfluss gewinnt. Ziel dieser Arbeit ist es die Veränderung des miRNA Profils des Blutes gesunder Probanden zu nutzen, um experimentelle Oberflächen zu untersuchen.

Dabei ergaben sich folgende Forschungsfragen:

*Reagieren die miRNAs des Blutes innerhalb kürzester Zeit (30s) auf den Reiz von experimentellen und Kontrolloberflächen mit einer Expressionsänderung?*

*Unterscheidet sich die Veränderung der miRNAs abhängig von der Beschaffenheit der Oberflächen und korreliert das Fließverhalten des Blutes auf der superhydrophoben Nanowire Polymeroberfläche mit einer Veränderung der miRNA Profile?*

*Für welche Stoffwechselwege sind die bei Erstkontakt veränderten miRNAs verantwortlich und kann man daraus einen Nutzen für die Oberflächenentwicklung ziehen?*

## 3 Material und Methodik

### 3.1 Materialien

**Tabelle 1:** Übersicht der verwendeten Sets

Set	Hersteller
PAXgene Blood miRNA Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
RNase – Free DNase Kit	Qiagen, Hilden, Deutschland
Agilent RNA 6000 Nano Kit	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
Gene Expression Wash Buffer Kit	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
SurePrint G3 Human r21 miRNA microarray	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland

**Tabelle 2:** Übersicht der verwendeten Einwegmaterialien

Einwegmaterialien	Hersteller
Injekt® Luer Solo 2,5ml	Braun, Melsungen, Deutschland
Injekt® Luer Solo 5ml	Braun, Melsungen, Deutschland
BD Venflon™ Pro Safety	Becton Dickinson, Helsingborg, Schweden
Discofix® C	Braun, Melsungen, Deutschland
Multiadapter	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
SARSTEDT Monovette® Coagulation 3ml	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
SARSTEDT Monovette® EDTA K 2,7ml	Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland
I.V. Dressing	3M Poland Manufacturing, Wroclaw, Polen
President The Original light body	Coltene, Langenau, Deutschland
PAXgene blood RNA tubes	PreAnalytiX, QIAGEN / BD, Schweiz
MicroAmp™ 96-well optical adhesive film	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
MicroAmp™ fast optical 96-well reaction plate	Life Technologies, Darmstadt, Deutschland
Sterile filtertips 10 µl	Sorenson BioScience, Inc, UT, USA
Sterile filtertips 20 µl	Sorenson BioScience, Inc, UT, USA
Sterile filtertips 200 µl	Sorenson BioScience, Inc, UT, USA
Sterile filtertips 1000 µl	Sorenson BioScience, Inc, UT, USA

QIAcube reagent bottles 30 ml	Qiagen, Hilden, Deutschland
QIAcube reagent bottle rack	Qiagen, Hilden, Deutschland
QIAcube rotor adapters	Qiagen, Hilden, Deutschland
QIAcube sample tubes RB (2 ml)	Qiagen, Hilden, Deutschland
QIAcube filtertips 200µl	Qiagen, Hilden, Deutschland
Genexpression Wasch-Paket	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland

**Tabelle 3:** Übersicht der verwendeten Apparaturen

Apparaturen	Hersteller
Gefrierschrank -20°C	Liebherr
Gefriertruhe -80°C	Ewald
2100 Bioanalyzer	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
Mini Zentrifuge	Labnet International Inc., NJ, US
Digital Dry Bath	Labnet International Inc, NJ, US
Nanodrop 2000 Spectrophometer	Thermo fisher scientific, Massachusetts, USA
IKA MS3 Vortexer	IKA, Staufen im Breisgau, Deutschland
DNA Microarrayscanner Agilent G2545A	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
Hybridisationsofen	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
Hybridisationskammer	Agilent Technologies, Waldbronn, Deutschland
Univapo 100H	Uniequip, Martinsried, Deutschland
QIAcube Roboter	Qiagen, Hilden, Deutschland
ProFlex PCR System Thermocycler	Thermo fisher scientific, Massachusetts, USA
QIAgility	Qiagen, Hilden, Deutschland
Computer	DELL, USA

**Tabelle 4:** Übersicht der verwendeten Software

Softwares	Herausgeber
Agilent 2100 Expert v.10.10.11	Agilent Technologies, Inc., US
Agilent AGW Feature Extraction software v.10.10.11	Agilent Technologies, Inc., USA

Agilent Scan Control software v.8.5.1	Agilent Technologies, Inc., USA
R Software v.4.2.1	R Core Team, Austria
Python v.3.11.1	Python Software Foundation, US
GraphPad PRISM v.9.2	GraphPad Software, Inc., US
Pages v.12.1	Apple Inc., US

**Tabelle 5:** Übersicht der verwendeten Onlinetools

Softwares	Website
DIANA-miRPath v.3.0	<a href="https://dianalab.e-ce.uth.gr/html/mir-pathv3/index.php?r=mirpath">https://dianalab.e-ce.uth.gr/html/mir-pathv3/index.php?r=mirpath</a>
miRTargetLink v.2.0	<a href="https://ccb-compute.cs.uni-saarland.de/mirtargetlink2">https://ccb-compute.cs.uni-saarland.de/mirtargetlink2</a>

**Tabelle 6:** Übersicht der verwendeten Oberflächen

Oberflächen	Abkürzungen
Glas	Glas
Cobalt-Chrom	CoCr
Edelstahl 316L	Edelstahl
Glas-Kaliumsiliat in Stickstoff	Glas-KSi-N <sub>2</sub>
Glas-Kaliumsiliat in Luft	Glas-KSi-Luft
Cobalt-Chrom-Kaliumsiliat in Stickstoff	CoCr-KSi-N <sub>2</sub>
Cobalt-Chrom-Kaliumsiliat in Luft	CoCr-KSi-Luft
Aluminium <sub>2</sub> Oxid <sub>3</sub>	Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Poly(bis(2,2,2-trifluorethyl)phosphazen-Aluminium <sub>2</sub> Oxid <sub>3</sub>	Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP

Die Glas-, CoCr- und Edelstahloberflächen wurden als Kontrolloberflächen ausgewählt. Als experimentelle Oberflächen wurden Glas-KSi-N<sub>2</sub>-, Glas-KSi-Luft-, CoCr-KSi-N<sub>2</sub>-, CoCr-KSi-Luft-, Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>- und Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP -Oberflächen verwendet.

## 3.2 Methodik

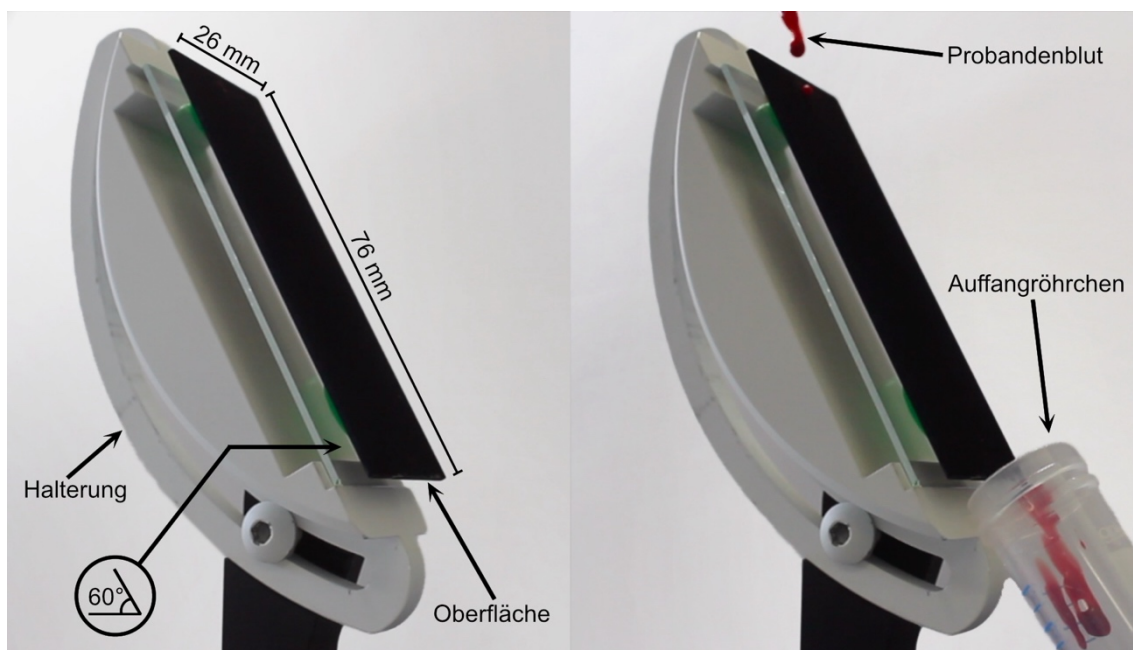
### 3.2.1 Probandenkollektiv

Es spendeten anamnestisch gesunde Probanden zwischen 21 und 28 Jahren ihr Vollblut, welches im Anschluss direkt verwendet wurde. Der Antrag Ha90/19 für diese Studie wurde durch die Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes genehmigt. Die

Einschlusskriterien sind in einem Fragebogen (Anhang 5 und Anhang 6), der den Probanden vorgelegt wurde, dargestellt. Die Probanden durften mindestens 48 h vor der Blutabnahme keinen Alkohol trinken und mussten Nichtraucher sein. Sie durften keine Gerinnungsstörungen aufweisen, keine Medikamente einnehmen, die die Blutgerinnung beeinflussen und unter keinen Vorerkrankungen wie beispielsweise Diabetes mellitus oder arterielle Hypertonie leiden. Während des Versuches wurde Blut entnommen, um laborchemisch Gerinnungsstörungen zu entdecken. Aufgrund einer hierbei erfassten extrinsischen Gerinnungsstörung musste eine Probandin aus der Studie ausgeschlossen werden. Daraus resultierte ein Probandenkollektiv mit einer heterogenen Geschlechterverteilung (4 männliche Probanden und 4 weibliche Probandinnen) und einem Altersdurchschnitt von 24 Jahren.

### 3.2.2 Versuchsaufbau

Die Oberflächen wurden mithilfe eines Klebers im Abstand von 4 mm auf einem Objektträger befestigt und in einer eigens konzipierten Halterung in einem Winkel von  $60^\circ$  angebracht (Abbildung 9).



**Abbildung 9:** Versuchsaufbau und Durchführung. Auf dem linken Bild ist der Versuchsaufbau mit einer Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche, die in einem Winkel von  $60^\circ$  auf der Halterung fixiert wird, dargestellt. Auf dem rechten Bild sieht man die Gewinnung der Proben nach Oberflächenkontakt. Das Blut läuft über die Oberfläche und wird in einem Auffangröhrchen aufgefangen. Das Auffangröhrchen ist im Versuch ein PAXgene-Röhrchen.



### 3.2.3 Probengewinnung

Dem Probanden wurde ein Stauschlauch angelegt und die Einstichstelle gründlich desinfiziert. Nach einer Einwirkzeit von 30 s wurde unter Tragen von Einweghandschuhen eine Venenverweilkanüle in einem Winkel von 30° in die Kubitalvene eingeführt, nach erfolgreicher Punktion der Winkel abgeflacht, die Kanüle 1-2 cm vorgeschoben und die Nadel zurückgezogen. Der periphere Venenverweilkatheter wurde mithilfe eines Fixierungspflasters befestigt. Nach der Öffnung des Stauschlauches wurde unter Abdrücken der Vene die Nadel komplett herausgezogen und ein Dreivegehahn an den Venenverweilkatheter angeschlossen.

Anschließend wurde dem Probanden 2 Citrat- und 2 EDTA-Blut Röhrchen abgenommen. Diese wurden mehrmals invertiert und aufrecht gelagert. Im Folgenden wurde dem Probanden mithilfe einer 2,5 ml Spritze das im Katheter stehende Blut abgenommen und verworfen. Zur Gewinnung einer Probe vor Oberflächenkontakt (Baseline) erfolgte direkt im Anschluss die Blutabnahme mit einer 5ml Spritze, wovon 2,5 ml in ein PAXgene Blood RNA Tube (PreAnalytiX GmbH) gegeben wurde. PAXgene Blood RNA Tube enthält ein patentiertes Reagenz, das zuerst Blutzellen lysiert und gesamt-RNA >18 Nukleotide, zu welcher auch die miRNA zählt, stabilisiert. Dieses Röhrchen wurde 10-mal vorsichtig geschwenkt, um das Probandenblut mit der Stabilisierungslösung, welche den Abbau der RNA-Moleküle verhindert und die Geninduktion *in vitro* minimiert, zu vermischen.

Daraufhin wurden Blutproben nach Oberflächenkontakt gewonnen. Erneut wurde mit einer 2,5 ml Spritze das im Katheter befindliche Blut abgenommen und verworfen. Sofort im Anschluss wurde dem Freiwilligen mit einer 5 ml Spritze frisches Blut abgenommen, welches unverzüglich für ca. 30 s auf die Oberfläche getropft wurde. Nachdem das Blut die Oberfläche benetzt hatte, wurden 2,5 ml mit einem PAXgene Blood RNA Tube aufgefangen. Auch dieses Röhrchen wurde 10-mal geschwenkt. Dieser Ablauf der Blutprobengewinnung nach Oberflächenkontakt wurde in gleicher Weise mit acht verschiedenen Oberflächen durchgeführt, und zwar Glas, Edelstahl, CoCr, Glas-KSi-N<sub>2</sub>, Glas-KSi-Luft, CoCr-KSi-N<sub>2</sub>, CoCr-KSi-Luft und Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>. Dieser Versuch wurde unter den gleichen Bedingungen mit den gleichen Probanden acht Monate später mit einer Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche wiederholt. Die Proben wurden aufrechtstehend für 24 h bei Raumtemperatur gelagert und im Anschluss bei -20 °C eingefroren.

### 3.2.4 Isolation von RNA

Die Extraktion der RNA inklusive miRNA wurde automatisiert mithilfe des PAXgene® Blood miRNA kit und des QIAcube Roboter (Qiagen, Hilden) durchgeführt.

Die PAXgene Blood RNA Tubes wurden in einem Röhrchenständer aus Draht bei Raumtemperatur (18-25°C) für ca. 2 h aufgetaut, um eine komplette Lyse der Blutzellen zu gewährleisten und die RNA-Spezies zu stabilisieren. Im Anschluss wurden die Proben bei 3000 x g für 10 min zentrifugiert. Daraufhin wurde der resultierende Überstand abgegossen und ausgeklopft. Das verbleibende Pellet wurde mit 4 ml RNase-freiem Wasser gewaschen und mit einem Vortexmixer vollständig aufgelöst. Nach einer erneuten Zentrifugation bei 3000 x g für 10 min wurde der Überstand dekantiert, 350 µl Resuspendierungspuffer hinzugegeben, das Gemisch erneut im Vortexer durchmischt und die gelöste Probe in ein 2ml Reaktionsgefäß pipettiert. Der QIAcube Roboter wurde nach Herstellerangaben beladen und gestartet. Nach Beendigung der automatisierten Pipettierung und Filtration wurden die Mikrozentrifugenröhrchen unverzüglich auf Eis gelagert.

### 3.2.5 Bestimmung der Quantität und Qualität der RNA

Um zu gewährleisten, dass die Quantität und Qualität zur späteren miRNA Expressionsprofilanalytik und qRT-PCR-Validierungsanalyse ausreichend sind, wurde die Konzentration und die Integrität der RNA bestimmt. Die Konzentrationsbestimmung wurde mit dem Nanodrop 2000/2000c Spectrophotometer (ThermoScientific) durchgeführt. Die Absorptionsmessung wurde bei einer Wellenlänge von 260 nm und 280 nm bestimmt. Zusätzlich wurde das Verhältnis des Absorptionskoeffizienten bei 260 nm zu 280 nm ermittelt, um die Reinheit der RNA zu beurteilen. Ein Quotient, der größer als zwei ist, zählt als Reinheitskriterium. Denn damit wir eine stärkere Verunreinigung durch Proteine und Phenole, die eine starke Absorption bei 280 nm aufweisen, ausgeschlossen. Zuerst wurde das Gerät mittels RNase-freiem Wasser geeicht. Im Anschluss erfolgte die Messung der RNA-Konzentration in der Einheit ng/µl durch die Zugabe von 1 µl der zu untersuchenden Probe. Zwischen den Messungen wurde das Gerät mit einem fuselfreiem Laborwischtuch gereinigt, um die Verfälschung der Konzentration durch vorherige Proben zu verhindern.

Die Integritätsbestimmung der RNA wurde mit dem Agilent 2100 Bioanalyzer und dem RNA 6000 Nano-Kit durchgeführt. Die RNA-Nanochips wurden nach Herstellerprotokoll mit dem zuvor hergestellten Gel-Farbstoffmix, dem RNA Nano 6000 Marker, der RNA Leiter und der RNA Probe beladen. Im Bioanalyzer wurde dann die RNA mikrokapillarelektrophorisch aufgespalten und die verschiedenen Größen mithilfe laserinduzierter Fluoreszenz analysiert. Die 2100 Expert Software berechnet die RNA-Integritätszahl (RIN), die das Ausmaß der RNA-Degradation anzeigt. Ein Wert von 1 repräsentiert eine

komplett fragmentierte RNA von niedrigster Qualität und ein Wert von 10 steht für eine intakte, nicht fragmentierte RNA von sehr hoher Qualität.

### 3.2.6 miRNA Microarrays

Mittels SurePrint G3 Human miRNA r21 MicroArray kits wurden die Expressionsprofile von 2549 miRNAs nach Herstellerangaben analysiert. Hierzu wurden im ersten Schritt konzentrationsabhängig 100 ng der isolierten RNA auf ein Volumen von 2 µg eingedampft oder mit destilliertem Wasser aufgefüllt. Durch Zugabe von 2 µl 100%iger Dimethylsulfoxid (DMSO) und 2 µl zuvor angesetzter CIP MasterMix-Lösung bestehend aus 0,5 µl Calf Intestinal Phosphatase (CIP), 1,1 µl Nuclease freiem Wasser und 0,4 µl CIP Puffer wurde die RNA dephosphoryliert und anschließend im Thermocycler bei 37°C für 30 min inkubiert. Nach erneuter Zugabe von 2,8 µl DMSO wurde die RNA im Thermocycler bei 99°C für 7,5 min denaturiert und die CIP inaktiviert. Direkt im Anschluss wurden die Proben in ein Eiswasserbad transferiert, um sicherzustellen, dass die Proben richtig denaturiert bleiben. Dann wurden 4,5 µl Ligations-Master-Mix hinzugegeben, der 3 µl Cyanin3-pCp, 0,5 µl RNA Ligase und 1 µl RNA Ligase Puffer enthielt, und die Mischung bei 16°C im Thermocycler für 2 h ligiert. Nach Trocknung in einer Vakuumzentrifuge bei 45°C wurden die Proben durch Versetzung mit 17 µl Nuclease freiem Wasser, 22,5 µl Hi-RPM Hybridisationspuffer, 4,5 µl Blocking Agent und 1 µl Hyb-Spike-In Lösung auf die Hybridisation vorbereitet, dann erneut für 5 min bei 100°C inkubiert und anschließend in ein Eiswasserbad für 5 min transferiert. Daraufhin wurden die Proben auf die Arrays aufgetragen, für 20 Stunden bei 20 rpm und 55°C hybridisiert, nach Herstellerangaben gewaschen, getrocknet und im Agilent G2565BA Scanner analysiert. Die Datenerhebung wurde mithilfe der Agilent AGW Feature Extraction Software Version 10.10.11 ausgeführt.

### 3.2.7 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde in Zusammenarbeit mit M. Sc. Viktoria Wagner vom Zentrum für Bioinformatik der Universität des Saarlandes durchgeführt. Die miRNA-Expression wurde mit der R-Software v.4.2.1 analysiert, die Daten mit Python v.3.11.1 sortiert und die Diagramme mit GraphPad PRISM v.9.2 erstellt. Für die Analyse wurde eine im Zentrum für Bioinformatik entwickelte Software verwendet.

Die Normalisierung zwischen den Arrays wurde unter Verwendung der Quantilnormalisierung durchgeführt. Es wurden alle miRNAs verwendet, die in 75 % aller Proben nachgewiesen wurden.

Zur Baselinenormalisierung wurden die Foldchangewerte (FC-Werte) aus Expressionswerten vor Oberflächenkontakt (Baseline) und Expressionswerten nach Oberflächenkontakt gebildet.

Mit den FC-Werten der verbleibenden miRNAs wurden einfaktorielle Varianzanalysen (analysis of variances, ANOVAs) durchgeführt und nach der Benjamini-Hochberg-Formel korrigierte p-Werte von  $\leq 0,05$  als statistisch signifikant, p-Werte  $\leq 0,01$  als hochsignifikant und p-Werte  $\leq 0,001$  als höchstsignifikant definiert. Als Post-Hoc-Test wurde der Tukey Mehrfachvergleich durchgeführt.

### 3.2.8 Signalweganalyse

Mithilfe der DIANA-miRPath v.3.0 Software wurden KEGG-Signalweganalysen durchgeführt, wobei die Zielgene, die von mindestens zwei der signifikanten miRNAs beeinflusst werden, in dem DIANA-miRPath Algorithmus auf Basis der Tarbasedatenbank vorhergesagt wurden. KEGG-Signalwege mit einem p-Wert  $\leq 0,05$  nach konservativer FDR Korrektur wurden in einer Tabelle dargestellt [97].

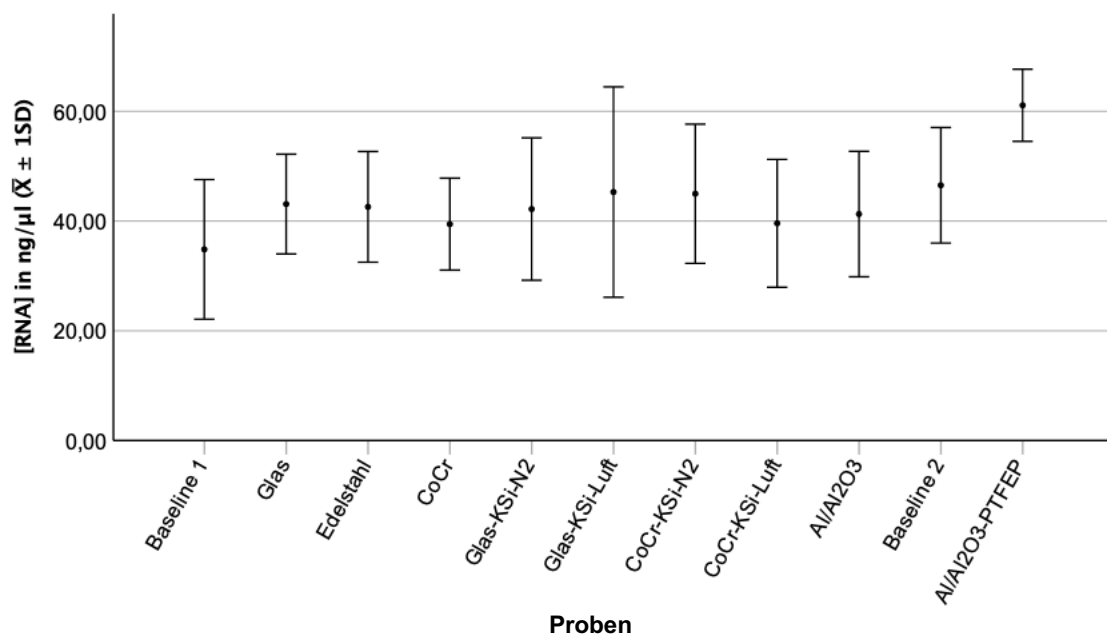
Unter Verwendung der miRTargetLink v.2.0 Software wurden Signalwege, die durch  $\geq 3$  miRNAs beeinflusst werden visualisiert [46].

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Ergebnisse der Quantität und Qualität der RNA

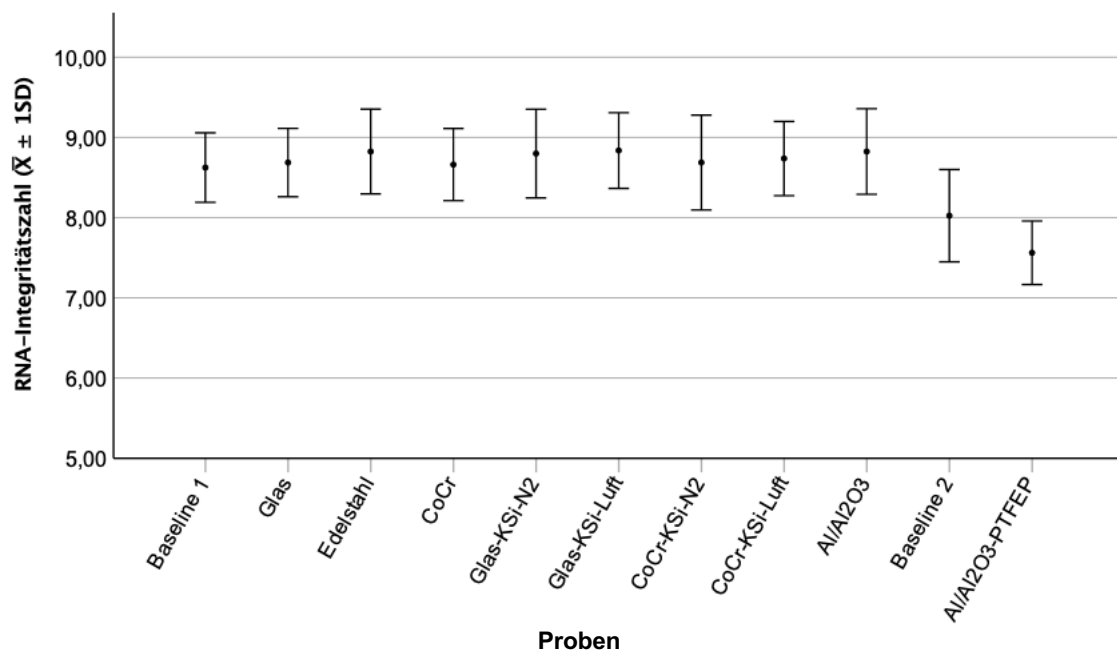
Es wurde Blut von acht gesunden Probanden je zweimal vor Oberflächenkontakt (Baseline1 und Baseline 2), dreimal nach Kontakt zu Kontrolloberflächen (Glas, Edelstahl, CoCr) und sechsmal nach Kontakt zu experimentellen Oberflächen (Glas-KSi-N2, Glas-KSi-Luft, CoCr-KSi-N2, CoCr-KSi-Luft, Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP) gesammelt. Für die acht Probanden ergab dies somit jeweils elf Datenpunkte. Die daraus resultierenden 88 Proben wurden unter Verwendung von Microarrays analysiert. Die RNA-Isolierung wurde automatisch unter Verwendung einer Roboter-Workstation (QIAcube von Qiagen) durchgeführt, um eine potenzielle Verzerrung zu reduzieren, die durch die manuelle Verarbeitung entstehen könnte. Die Isolierung ergab für die Proben vor Oberflächenkontakt durchschnittliche Konzentrationen in ng/μl von  $34,85 \pm 12,72$  (Baseline 1) und  $46,53 \pm 10,53$  (Baseline 2).

Für die Proben nach Kontakt zu den Kontrolloberflächen ergaben sich durchschnittliche Konzentrationen von  $43,11 \pm 9,09$  nach Glas;  $42,60 \pm 10,08$  nach Edelstahl und  $39,45 \pm 8,38$  nach CoCr. Für die Proben nach Kontakt zu den experimentellen Oberflächen ergaben sich durchschnittliche Konzentrationen von  $42,2 \pm 12,98$  nach Glas-KSi-N2;  $45,30 \pm 19,17$  nach Glas-KSi-Luft;  $44,98 \pm 12,69$  nach CoCr-KSi-N2;  $39,60 \pm 11,65$  nach CoCr-KSi-Luft;  $41,28 \pm 11,42$  nach Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und  $61,11 \pm 6,58$  nach Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP.



**Abbildung 10:** Mittelwerte mit SD der RNA-Konzentrationen. Auf der Y-Achse sind die Mittelwerte der RNA-Konzentrationen in ng/μl mit jeweils einem Fehlerbalken einer Standardabweichung (SD) aufgetragen. Auf der X-Achse sind die dazugehörigen Proben zu sehen.

Die von der Software des Bioanalyzer 2100 berechnete RNA-Integritätszahl (RIN) lag bei den Proben vor Oberflächenkontakt durchschnittlich bei  $8,63 \pm 0,43$  (Baseline 1) und  $8,03 \pm 0,58$  (Baseline 2). Für die Proben nach Kontakt zu den Kontrolloberflächen ergaben sich durchschnittliche RIN-Werte von  $8,69 \pm 0,43$  nach Glas;  $8,83 \pm 0,53$  nach Edelstahl und  $8,66 \pm 0,45$  nach CoCr. Für die Proben nach Kontakt zu den experimentellen Oberflächen ergaben sich RIN-Werte von  $8,80 \pm 0,55$  nach Glas-KSi-N<sub>2</sub>;  $8,84 \pm 0,47$  nach Glas-KSi-Luft;  $8,69 \pm 0,59$  nach CoCr-KSi-N<sub>2</sub>;  $8,74 \pm 0,46$  nach CoCr-KSi-Luft;  $8,83 \pm 0,53$  nach Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> und  $7,56 \pm 0,40$  nach Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP.



**Abbildung 11:** Mittelwerte mit SD der RNA-Integritätszahlen (RIN). Auf der Y-Achse sind die Mittelwerte der RIN- Werte mit jeweils einem Fehlerbalken einer Standardabweichung (SD) aufgetragen. Auf der X-Achse sind die dazugehörigen Proben zu sehen.

## 4.2 Ergebnisse der Microarrays

### 4.2.1 Zusammenfassung

Das miRNA-Profil im Blut von acht gesunden Probanden wurde vor und nach Kontakt mit neun verschiedenen Oberflächen analysiert. Zur Vergleichbarkeit der einzelnen Oberflächen wurden die FC-Werte der Expressionswerte aus den Baselines, welche die Expressionswerte vor Oberflächenkontakt repräsentieren und den Expressionswerten nach Oberflächenkontakt gebildet.

Von den 2549 in den Microarrays analysierten miRNAs verblieben 383 nach der Quartilnormierung. Die FC-Werte (n=8) der neun Oberflächen wurden für jede der 383

miRNAs mit einfaktoriellen ANOVAs untersucht und die p-Werte mithilfe der Benjamin Hochberg-Formel korrigiert. Hierbei zeigte sich bei sieben miRNAs ein signifikanter Unterschied ( $p \leq 0,05$ ), bei sieben miRNAs ein hochsignifikanter Unterschied ( $p \leq 0,01$ ) und bei fünf miRNAs ein höchstsignifikanter Unterschied ( $p \leq 0,001$ ). Für jede ANOVA wurde im Anschluss ein Tukey-Post-Hoc Test durchgeführt. Der Mehrfachvergleich zeigte, dass nach Korrektur überwiegend signifikante p-Werte entstehen, wenn die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche miteinbezogen wird. Die anderen acht Oberflächen: Glas, Edelstahl, CoCr, Glas-KSi-N<sub>2</sub>, Glas-KSi-Luft, CoCr-KSi-N<sub>2</sub>, CoCr-KSi-Luft und Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> zeigten untereinander keine signifikanten Unterschiede.

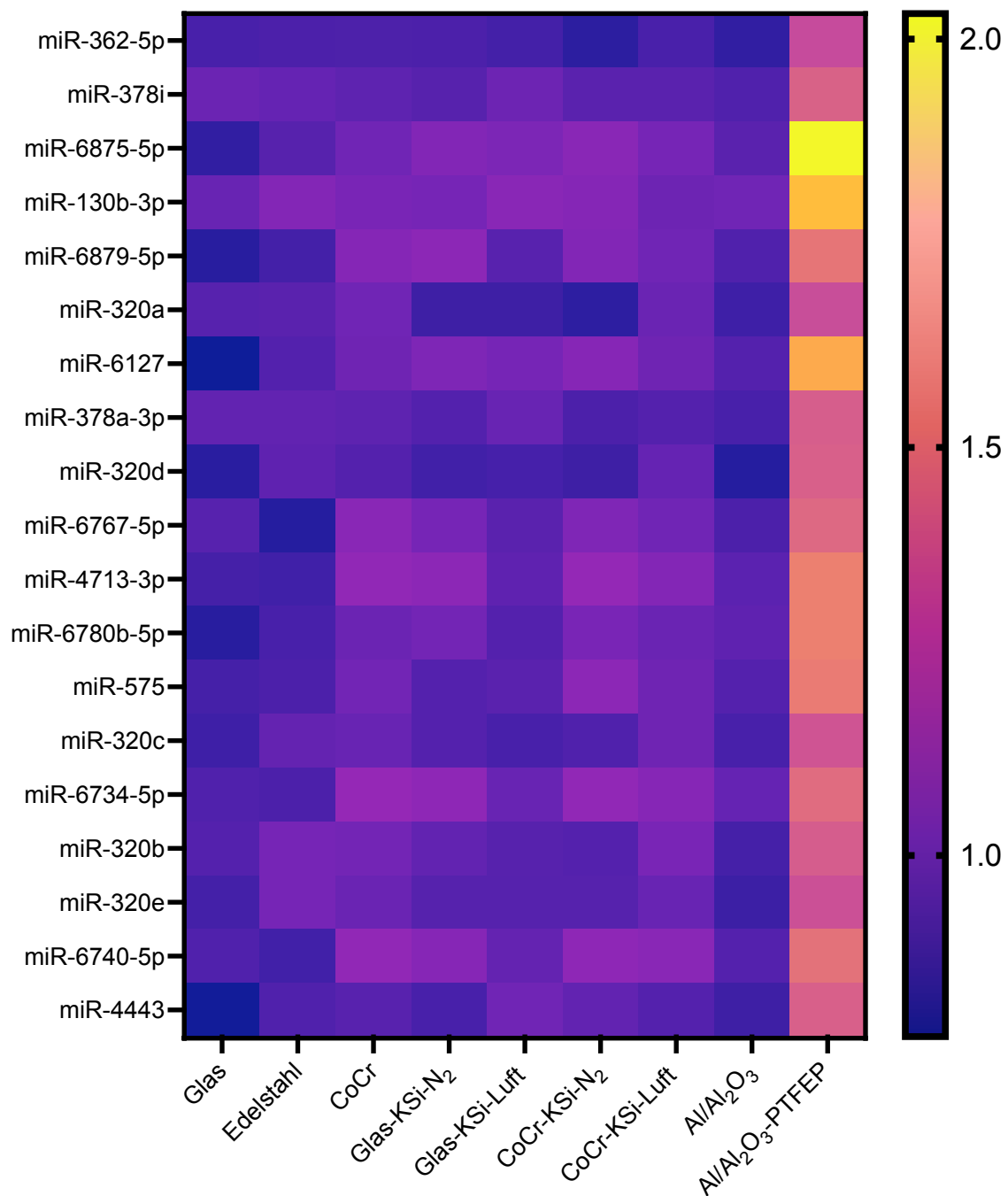
In der Tabelle 7 sind die Mittelwerte der FC-Werte aller Probanden (n=8) dargestellt. Es werden nur die signifikanten, hochsignifikanten und höchstsignifikanten miRNAs der ANOVAs gezeigt und aufsteigend nach den adjustierten p-Werten sortiert. Die nicht signifikanten ( $p > 0,05$ ) miRNAs befinden sich im Anhang 17. Die FCs der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche weisen in allen dargestellten miRNAs einen Wert  $>1$  auf und sind somit alle im arithmetischen Durchschnitt hochreguliert wurden. Zwölf miRNAs (miR-362-5p, miR-378i, miR-320a, miR-378a-3p, miR-320d, miR-6767-5p, miR-320c, miR-6734-5p, miR-320b, miR-320e, miR-6740-5p und miR-4443) zeigten im Durchschnitt einen FC-Wert zwischen 1 und 1,5. Sechs miRNAs (miR-130b-3p, miR-6879-5p, miR-6127, miR-4713-3p, miR-6780b-5p und miR-575) zeigten einen Wert zwischen 1,5 und 2. Eine miRNA (miR-6875-5p) zeigte einen Wert von über 2, was einer Verdopplung der miRNA Expression bedeutet. Die miRNAs zeigten nach Kontakt mit den restlichen Oberflächen kaum Veränderungen und undulierten um einen FC-Wert von 1.

**Tabelle 7:** Arithmetische Mittel ( $\bar{X}$ ) der FC-Werte der signifikant veränderten miRNAs. Arithmetische Mittel der FC-Werte **signifikanter** ( $0,01 < p \leq 0,05$ ), **hochsignifikanter** ( $0,001 < p \leq 0,01$ ) und **höchstsignifikanter** ( $p \leq 0,001$ ) miRNAs dargestellt in einer Tabelle sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs.

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	$\bar{X}$ Glas	$\bar{X}$ Edel- stahl	$\bar{X}$ CoCr	$\bar{X}$ Glas- KSi- N <sub>2</sub>	$\bar{X}$ Glas- KSi- Luft	$\bar{X}$ CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	$\bar{X}$ CoCr- KSi- Luft	$\bar{X}$ Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	$\bar{X}$ Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> - PTFEP
miR-362-5p	0.00012	0.87	0.88	0.88	0.88	0.86	0.81	0.88	0.82	1.30
miR-378i	0.00012	0.96	0.95	0.93	0.91	0.97	0.92	0.92	0.89	1.42
miR-6875-5p	0.00012	0.82	0.91	0.98	1.04	1.02	1.06	1.00	0.92	2.03
miR-130b-3p	0.00014	0.96	1.04	1.01	1.00	1.06	1.04	0.97	0.98	1.81
miR-6879-5p	0.00047	0.81	0.86	1.04	1.07	0.91	1.04	0.98	0.89	1.51
miR-320a	0.00108	0.91	0.92	0.98	0.84	0.84	0.82	0.96	0.85	1.32
miR-6127	0.00108	0.78	0.90	0.98	1.02	1.00	1.05	0.97	0.90	1.74
miR-378a-3p	0.00114	0.94	0.94	0.93	0.90	0.96	0.88	0.90	0.87	1.40
miR-320d	0.00202	0.81	0.93	0.90	0.86	0.87	0.85	0.95	0.80	1.41
miR-6767-5p	0.00260	0.91	0.80	1.06	1.00	0.92	1.03	0.98	0.88	1.45
miR-4713-3p	0.00862	0.86	0.85	1.09	1.07	0.93	1.10	1.04	0.92	1.55
miR-6780b-5p	0.00927	0.81	0.87	0.97	0.99	0.90	1.01	0.96	0.93	1.55
miR-575	0.01068	0.86	0.88	0.99	0.90	0.92	1.07	0.97	0.90	1.53
miR-320c	0.01626	0.85	0.94	0.96	0.90	0.88	0.89	0.98	0.87	1.36
miR-6734-5p	0.02245	0.90	0.88	1.10	1.08	0.96	1.09	1.05	0.95	1.46
miR-320b	0.02471	0.90	1.00	0.99	0.94	0.91	0.90	1.01	0.87	1.39
miR-320e	0.02893	0.86	1.00	0.96	0.90	0.91	0.90	0.96	0.84	1.33
miR-6740-5p	0.03051	0.89	0.85	1.09	1.05	0.94	1.08	1.06	0.90	1.49
miR-4443	0.03520	0.78	0.89	0.91	0.87	0.98	0.94	0.90	0.84	1.40

In der Abbildung 12 sind die Mittelwerte der FC-Werte aller Probanden (n=8) als Heatmap dargestellt. Es werden nur die signifikanten, hochsignifikanten und höchstsignifikanten miRNAs der ANOVAs gezeigt und aufsteigend nach den adjustierten p-Werten sortiert. Die nicht signifikanten ( $p > 0,05$ ) miRNAs befinden sich ebenfalls als Heatmap dargestellt im Anhang 18-22. Die Farbskalierung bildet alle FC-Werte zwischen 0,78 und 2,03 ab. Auch hier zeigen sich farblich visualisiert die höheren FC-Werte, die durch Kontakt mit der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche entstehen.





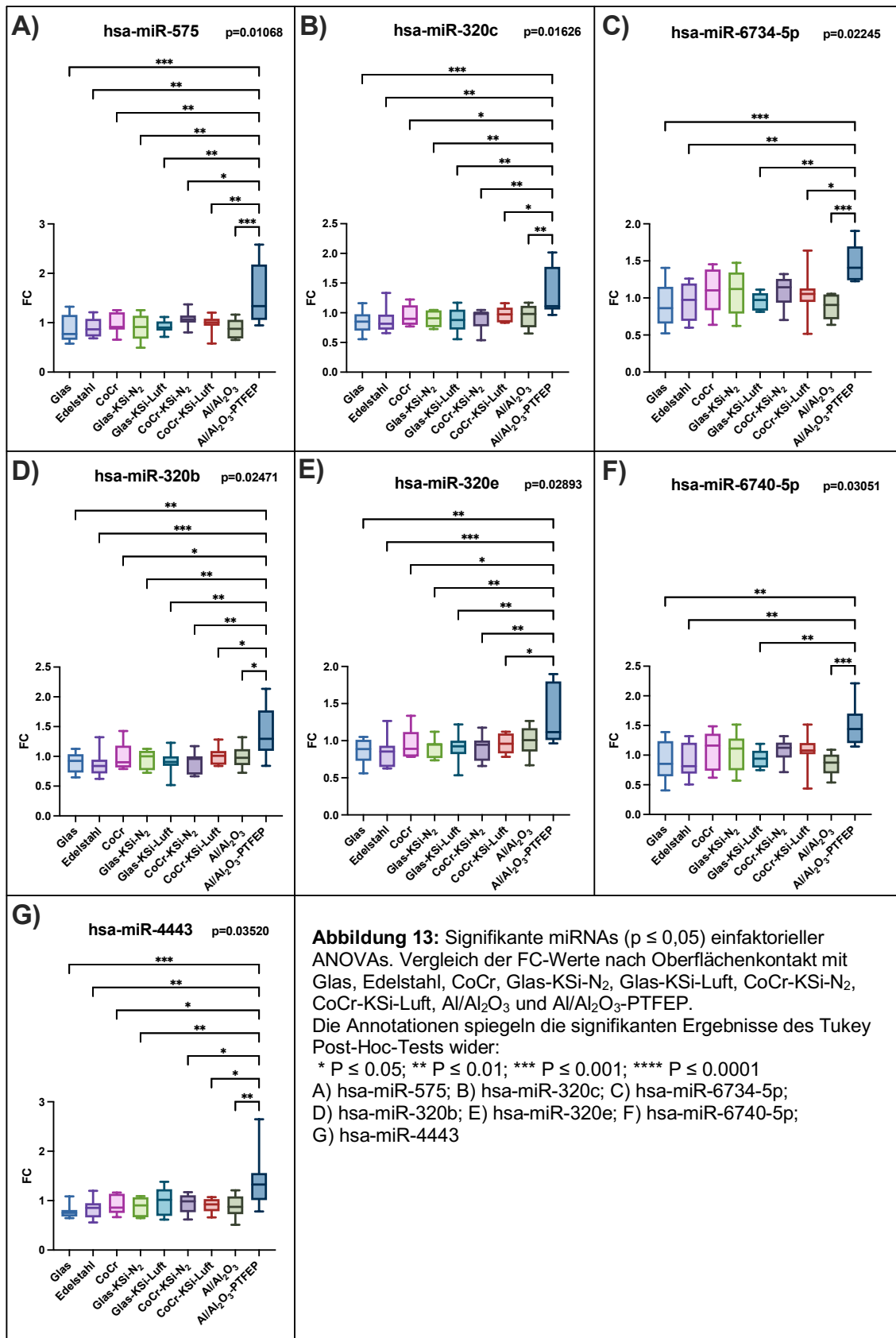
**Abbildung 12:** Heatmap signifikant veränderter miRNAs. Arithmetische Mittel der FC-Werte signifikanter ( $0,01 < p \leq 0,05$ ), hochsignifikanter ( $0,001 < p \leq 0,01$ ) und höchstsignifikanter ( $p \leq 0,001$ ) miRNAs dargestellt als Heatmap sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs.

#### 4.2.2 Signifikante miRNAs

Sieben der 383 analysierten miRNAs (0,018%) zeigten in den einfaktoriellen ANOVAs einen signifikanten Unterschied ( $0,01 < p \leq 0,05$ ). Hierzu zählen wie in Abbildung 13 gezeigt: A) hsa-miR-575 mit einem p-Wert von 0,01068; B) hsa-miR-320c mit einem p-Wert von 0,01626; C) hsa-miR-6734-5p mit einem p-Wert von 0,02245; D) hsa-miR-320b mit einem p-Wert von 0,02471; E) hsa-miR-320e mit einem p-Wert von 0,02893; F) hsa-miR-6740-5p mit einem p-Wert von 0,03051 und G) hsa-miR-4443 mit einem p-Wert von 0,0352.

In Abbildung 13 wurden die p-Werte der Mehrfachtestungen mit Annotationen (\*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ ; \*\*\*\*  $P \leq 0.0001$ ) gekennzeichnet und nur die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

Es entstanden signifikante Ergebnisse in der Mehrfachtestung unter Einbeziehung der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche mit Ausnahme folgender Vergleiche: Abbildung 13C) Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP mit jeweils CoCr, Glas-KSi-N<sub>2</sub>, CoCr-KSi-N<sub>2</sub>; Abbildung 13E) Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP mit Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>; Abbildung 13F) Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP mit jeweils CoCr, Glas-KSi-N<sub>2</sub>, CoCr-KSi-N<sub>2</sub>, CoCr-KSi-Luft und Abbildung 13G) Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP mit Glas-KSi-Luft. Die anderen Oberflächen zeigten untereinander keine Signifikanzen. Die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche weist in allen Boxplots der Abbildung 13 höhere FC-Werte als die anderen Oberflächen auf.

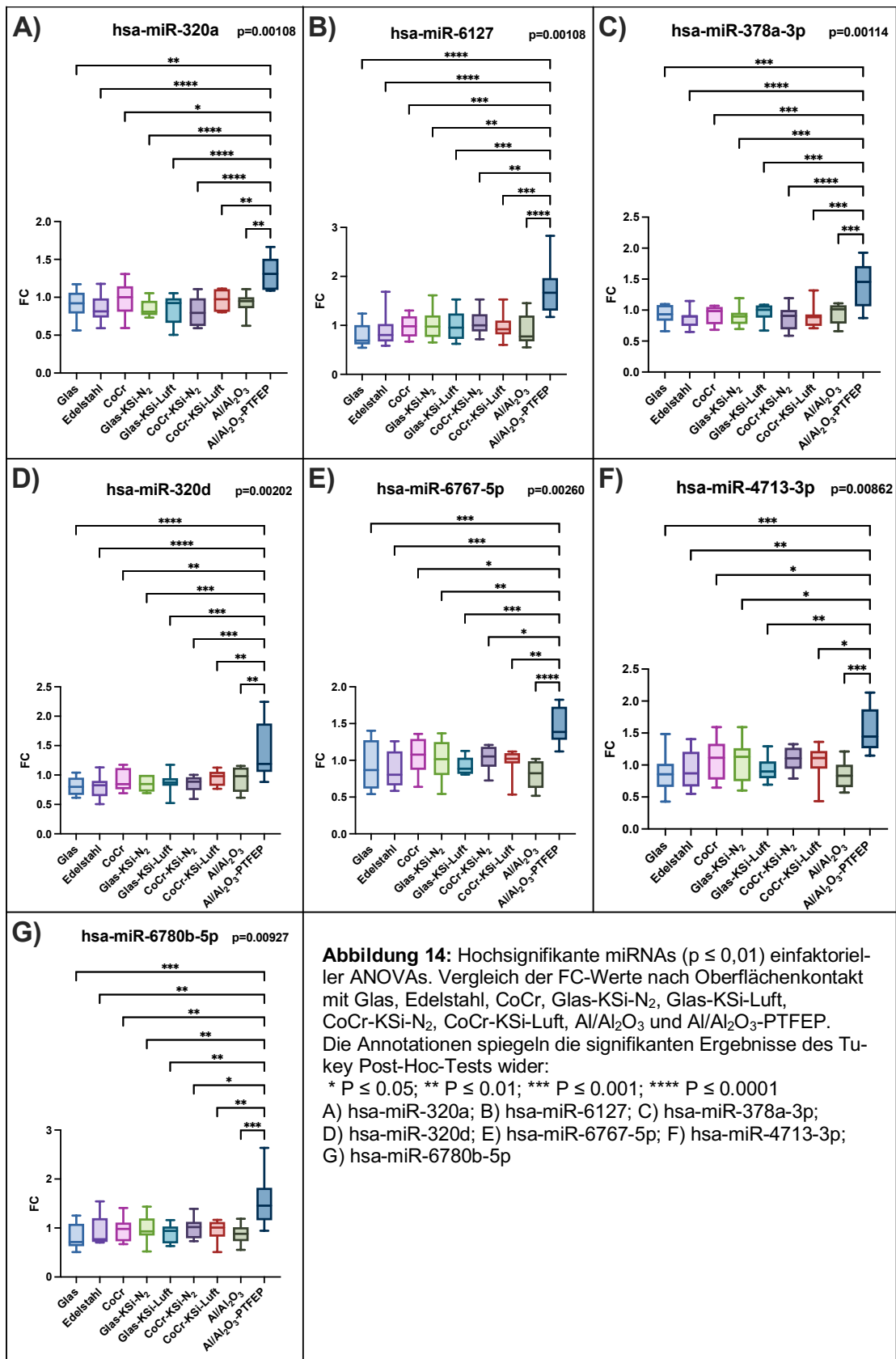


#### 4.2.3 Hochsignifikante miRNAs

Sieben der 383 analysierten miRNAs (0,018%) zeigten einen hochsignifikanten Unterschied ( $0,001 < p \leq 0,01$ ). Hierzu zählen wie in Abbildung 14 gezeigt: A) hsa-miR-320a mit einem p-Wert von 0,00108; B) hsa-miR-6127 mit einem p-Wert von 0,00108; C) hsa-miR-378a-3p mit einem p-Wert von 0,00114; D) hsa-miR-320d mit einem p-Wert von 0,00202; E) hsa-miR-6767-5p mit einem p-Wert von 0,0026; F) hsa-miR-4713-3p mit einem p-Wert von 0,00862 und G) hsa-miR-6780b-5p mit einem p-Wert von 0,00927.

In Abbildung 14 wurden die p-Werte der Mehrfachtestungen mit Annotationen (\*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ ; \*\*\*\*  $P \leq 0.0001$ ) gekennzeichnet und nur die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

Es entstanden signifikante Ergebnisse in der Mehrfachtestung unter Einbeziehung der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche mit Ausnahme des folgenden Vergleiches: Abbildung 14F) Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP mit CoCr-KSi-N<sub>2</sub>. Die anderen Oberflächen zeigten erneut keine Signifikanzen in der Mehrfachtestung untereinander. Die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche weist in allen Boxplots der Abbildung 14 höhere FC-Werte als die anderen Oberflächen auf.

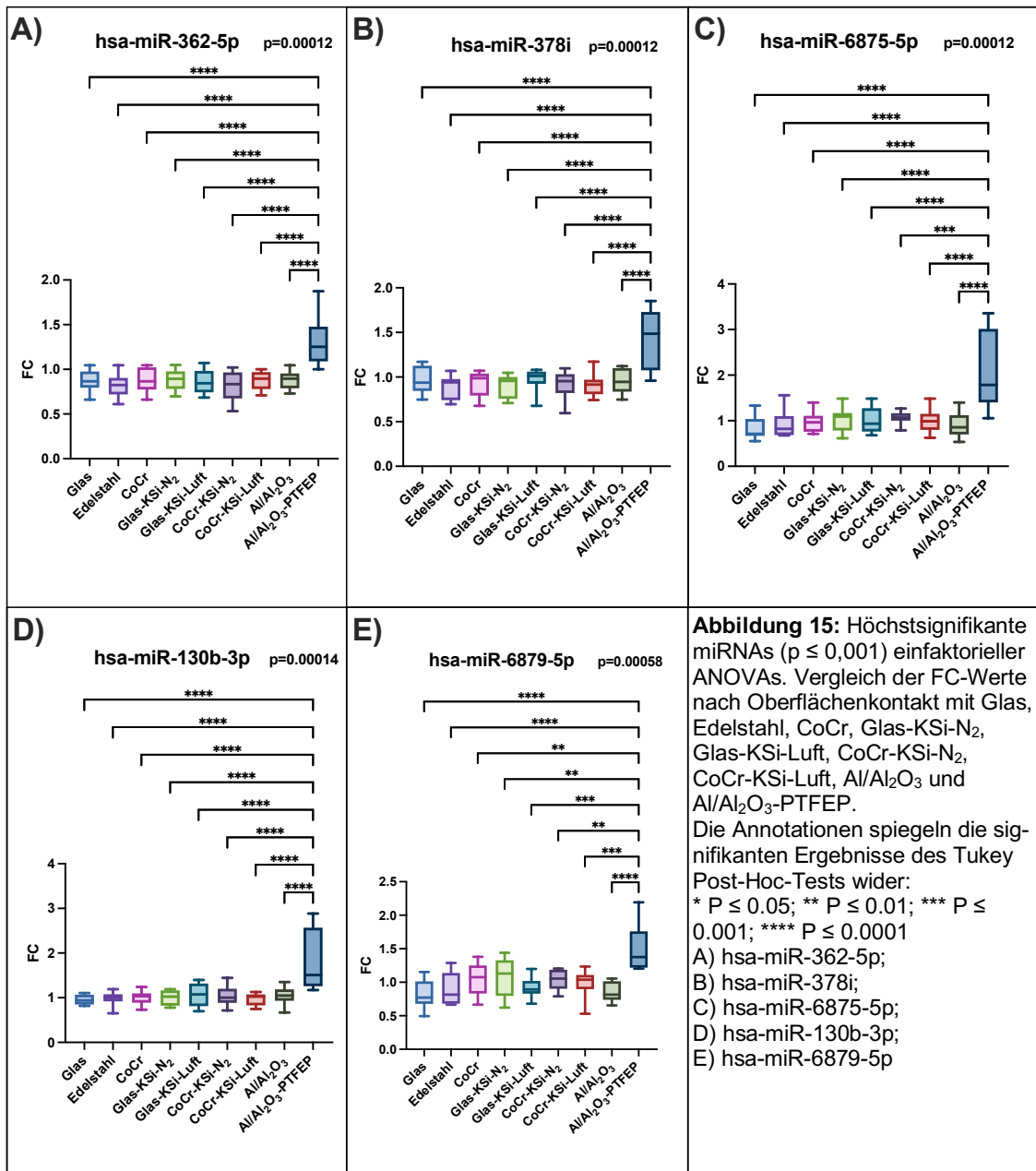


#### 4.2.4 Höchstsignifikante miRNAs

Fünf der 383 analysierten miRNAs (0,013%) zeigten einen höchstsignifikanten Unterschied ( $p \leq 0,001$ ). Hierzu zählen wie in Abbildung 15 gezeigt: A) hsa-miR-362-5p mit einem p-Wert von 0,00012; B) hsa-miR-378i mit einem p-Wert von 0,00012; C) hsa-miR-6875-5p mit einem p-Wert von 0,00012; D) hsa-miR-130b-3p mit einem p-Wert von 0,00014 und E) hsa-miR-6879-5p mit einem p-Wert von 0,00058.

In Abbildung 15 wurden die p-Werte der Mehrfachtestungen mit Annotationen (\*  $P \leq 0.05$ ; \*\*  $P \leq 0.01$ ; \*\*\*  $P \leq 0.001$ ; \*\*\*\*  $P \leq 0.0001$ ) gekennzeichnet und nur die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

Es entstanden immer signifikante Ergebnisse in der Mehrfachtestung unter Einbeziehung der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche. Die anderen Oberflächen zeigten erneut keine Signifikanzen in der Mehrfachtestung untereinander. Die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche weist in allen Boxplots der Abbildung 15 höhere FC-Werte als die anderen Oberflächen auf.



## 4.3 Signalweganalyse

### 4.3.1 Diana-miRPath

Um einen Einblick in die biologischen Signalwege der signifikant veränderten miRNAs zu erhalten wurde der DIANA-miRPath-Algorithmus verwendet. Hierzu wurden die Zielgene, auf die mindestens 2 der 19 signifikanten miRNAs (miR-362-5p, miR-378i, miR-320a, miR-378a-3p, miR-320d, miR-6767-5p, miR-320c, miR-6734-5p, miR-320b, miR-320e, miR-6740-5p, miR-4443, miR-130b-3p, miR-6879-5p, miR-6127, miR-4713-3p, miR-6780b-5p, miR-575 und miR-6875-5p) Einfluss haben, verwendet.

Unter Hinzunahme einer konservativen FDR-Korrektur wurden sechs signifikante Signalwege ausfindig gemacht ( $p < 0,5$ ). Die Signalwege, deren beteiligte Gene und miRNAs sind in Tabelle 7 dargestellt.

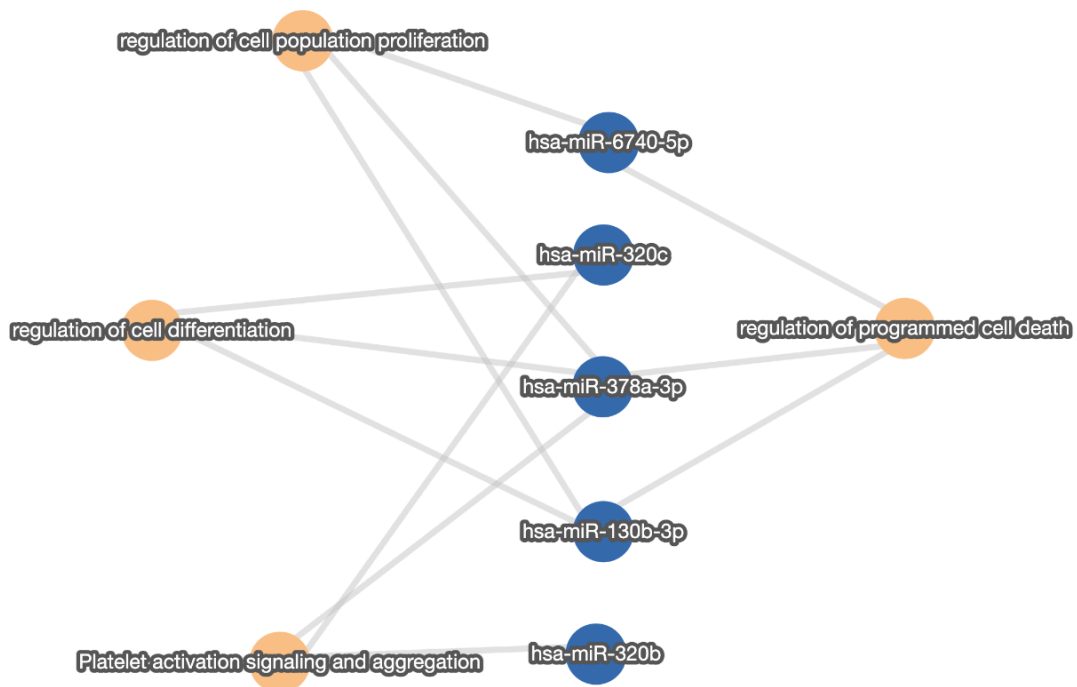
**Tabelle 8:** KEGG- Signalweganalyse der signifikant veränderten miRNAs.

KEGG Signalweg	P-Wert	Anzahl der Gene	Gennamen	Anzahl der miRNAs	miRNAs
<b>TGF-<math>\beta</math>-Signalweg</b>	0.00107	14	THBS1, PPP2CA, SMAD3, ACVR2B, MYC, PPP2R1A, ZFYVE9, SMAD5, SP1, EP300, BAMBI, SMAD7, MAPK1, TGFB2	10	miR-130b-3p, miR-320a, miR-320d, miR-362-5p, miR-320c, miR-320b, miR-378a-3p, miR-320e, miR-575, miR-378i
<b>Hippo-Signalweg</b>	0.00373	20	GSK3B, PPP2CA, YWHAG, CCND2, GLI2, SMAD3, MOB1B, WWTR1, MPP5, CDH1, CTNNB1, MYC, PPP2R1A, CSNK1E, WNT2, SMAD7, LATS1, LATS2, PARD6B, TGFB2	10	miR-320d, miR-320c, miR-320b, miR-378i, miR-378a-3p, miR-378a-3p, miR-362-5p, miR-130b-3p, miR-320e, miR-575
<b>Adhäsionsverbindungen</b>	0.00676	13	MET, SMAD3, IGF1R, TJP1, FYN, CDH1, CTNNB1, RAC1, INS, SSX2IP, EP300, MAPK1, TGFB2	10	miR-320a, miR-320d, miR-320c, miR-378a-3p, miR-362-5p, miR-130b-3p, miR-320e, miR-378i, miR-575
<b>Langzeit Depressionen</b>	0.00676	9	GNAS, PPP2CA, GNAI3, IGF1R, PPP2R1A, GNAI2, MAPK1, LYN, GNAI1	10	miR-130b-3p, miR-320a, miR-320d, miR-320c, miR-320b, miR-378i, miR-378a-3p, miR-575, miR-320e, miR-362-5p
<b>Kolorektales Karzinom</b>	0.02500	12	GSK3B, SMAD3, BCL2, APPL1, JUN, PIK3R3, CTNNB1, MYC, RAC1, AKT3, MAPK1, TGFB2	10	miR-320a, miR-320d, miR-320c, miR-320b, miR-575, miR-130b-3p, miR-362-5p, miR-378i, miR-378a-3p, miR-320e
<b>Kokainsucht</b>	0.02553	6	GNAS, JUN, PRKX, GNAI2, GNAI2, PRKACB	7	miR-320a, miR-320d, miR-320b, miR-130b-3p, miR-378a-3p, miR-320e, miR-320c



#### 4.3.2 miRTargetLink

Mithilfe der miRTargetLink 2.0 Software wurden die Schnittstellen der signifikanten miRNAs visualisiert. Es wurden nur Verlinkungen zu Signalwegen aufgeführt, die  $\geq 3$  miRNAs betreffen und in den verfügbaren Datenbanken eine starke Validierung aufwiesen. In der Abbildung 16 ist ein Auszug der gefundenen Signalwege dargestellt.



**Abbildung 16:** Auszug eines Netzwerkes, das die Schnittstellen der Zielsignalwege mit starker Validierung von  $\geq 3$  miRNAs darstellt.

## 5 Diskussion

### 5.1 Diskussion der Methodik

Die Charakterisierung von Oberflächen anhand der miRNA Expressionsänderung, die durch kurzzeitigen Kontakt zwischen Blut und Oberfläche zustande kommt, ist ein ganz neuer Ansatz. Dafür musste der Versuchsaufbau zur Probengewinnung neu etabliert werden. Die weitere Methodik ist bereits etabliert und wird an dieser Stelle nicht diskutiert.

#### 5.1.1 Diskussion des Probandenkollektivs

Diese Studie wurde mit Genehmigung des Ethik-Antrags Ha90/19 an gesunden Probanden durchgeführt. Um Gerinnungsstörungen anamnestisch auszuschließen, mussten die Probanden einen Fragebogen ausfüllen. Um sie laborchemisch auszuschließen, wurde mit freundlicher Unterstützung von Prof. Dr. Geisel von jedem Probanden ein Blutbild erstellt. Damit sollte verhindert werden, dass Auffälligkeiten in der Blutzusammensetzung die Ergebnisse verfälschen. Aufgrund einer extrinsischen Gerinnungsstörung, die in der laborchemischen Untersuchung entdeckt wurde, mussten wir eine Probandin von unserer Studie ausschließen.

Das Probandenkollektiv ist mit einem Durchschnittsalter von 24 Jahren jung gewählt, aber durch diese Auswahl stieg die Wahrscheinlichkeit die Versuche an gesunden Menschen ohne Medikamenteneinfluss durchzuführen.

Um die Bevölkerung dennoch so breit wie möglich abzubilden und den bewiesenen Einfluss des Geschlechts auf das miRNA Profil bei den Ergebnissen nicht ins Gewicht fallen zu lassen, wurde eine ausgeglichene Geschlechterverteilung genutzt [15].

Die Oberflächen wurden an acht Probanden geprüft. Pro Proband wurden elf zu analysierende Proben generiert. Da es sich um eine Pilotstudie handelt, wurde die Fallzahl nicht größer gewählt. Die Ergebnisse sollen eine Grundlage für weitere Versuche bilden.

#### 5.1.2 Diskussion der Probengewinnung

Die Probengewinnung lief standardisiert ab und das Vollblut wurde so frisch wie möglich mit den Oberflächen in Kontakt gebracht. Hierzu wurde die Kontaktzeit mit anderen unverzichtbaren Oberflächen wie Venenverweilkanüle und Entnahmespritze möglichst geringgehalten. Das Vollblut wurde direkt im Anschluss an die Abnahme verwertet und musste deswegen keine Maßnahmen der Konservierung erfahren. Es wurde Vollblut

benutzt, um die Wirkung im Körper bestmöglich zu simulieren. Die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche wurde zu einem anderen Zeitpunkt untersucht. Der marginale Unterschied der Baselinewerte wurde in den statistischen Berechnungen durch die Verwendung der FC-Werte korrigiert, um eine Vergleichbarkeit der Oberflächen herzustellen.

## 5.2 Diskussion der Ergebnisse

### 5.2.1 Diskussion der RNA-Quantität- und Qualitätsergebnisse

Die RNA-Konzentrationsmessungen wurde für alle Proben mit dem Nanodrop 2000/2000c Spectrophometer (ThermoScientific) durchgeführt und die Konzentrationen waren bei allen Proben hoch genug, um weitere Analyse auszuführen.

Die Qualität der RNA wurde mithilfe der Bioanalyzer 2100 Software sichergestellt. Die RIN-Werte zeigen das Ausmaß der RNA-Degradation an. Ein Wert von 1 repräsentiert eine RNA von niedrigster Qualität und ein Wert von 10 steht für eine in RNA von sehr hoher Qualität. Die RIN-Werte lagen in unseren Proben im Durchschnitt bei  $8,57 \pm 0,60$ . Die Proben für die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche waren mit einem durchschnittlichen RIN-Wert von  $7,56 \pm 0,40$  unterdurchschnittlich, aber die Qualität war hoch genug, um weitere Analysen durchzuführen.

Die Quantität und Qualität der RNA wurde mit etablierten Verfahren überprüft und die Ergebnisse sind ausreichend gewesen, um weitere Analyse mithilfe von Microarrays durchzuführen.

### 5.2.2 Diskussion der Microarrayergebnisse

Es wurde für jede untersuchte miRNA eine einfaktorielle ANOVA durchgeführt, um zu untersuchen, ob es Unterschiede in den FC-Werten der miRNAs nach Kontakt mit den neun Oberflächen gab. Die p-Werte wurden mithilfe der Benjamin-Hochberg-Formel adjustiert. Der FC-Wert unterschied sich bei fünf miRNAs höchstsignifikant ( $p \leq 0,001$ ), bei sieben miRNAs hochsignifikant ( $0,001 < p \leq 0,01$ ) und bei sieben miRNAs signifikant ( $0,01 < p \leq 0,05$ ). Bei diesen miRNAs wurden im Anschluss Tukey-Post-hoc Tests durchgeführt.

Besonders auffällig war, dass die miRNAs, die in den ANOVAs entweder einen signifikanten, hochsignifikanten oder höchstsignifikanten adjustierten p-Wert aufwiesen, alle im folgenden Post-hoc Test signifikante Ergebnisse generierten, wenn die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche im Vergleich beteiligt war. Die anderen Oberflächen unterscheiden sich untereinander im Post hoc Test nicht signifikant voneinander. Die oben

aufgeführten miRNAs zeigten nach Kontakt mit der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche immer eine Hochregulation. Die anderen Oberflächen zeigten kaum einen Effekt auf die miRNA. Viele dieser hochregulierten miRNAs haben interessante Funktionen von denen einige auszugsweise im Folgenden abgehandelt werden:

miR-130b-3p wird bei Sepsis hochreguliert und besitzt dort eine antiinflammatorische Wirkung. Diese entfaltet sie durch einen inhibitorischen Effekt auf das extrazelluläre kälteinduzierbare RNA-bindende Protein (eCIRP). In dem nachgewiesenen Mechanismus behindert hsa-miR-130b-3p den Rezeptor TLR4/MD2, welcher von eCIRP genutzt wird, um die Makrophagenproduktion zu aktivieren. Hierdurch wird auch das proinflammatorische Cytokin Tumor Nekrosefaktor- $\alpha$  inhibiert [31].

miR-362-5p ist eine miRNA, die bei jungen Endothelzellen im Vergleich zu alten Endothelzellen hochreguliert ist und damit potentiell wichtige nachgeschaltete Gene beeinflusst [107].

miR-6875-5p und miR-4443 besitzen eine regulatorische Rolle für TAP1, ein ABC-Transporterprotein, welches bei Herzinsuffizienzpatienten erhöht exprimiert wird und als prognoseverschlechternder Faktor angesehen wird. Dadurch werden sie zu einem möglichen Angriffspunkt für zukünftige Herzinsuffizienzmedikamente [23].

Die Herunterregulation der miR-320a bei Myasthenia gravis Patienten führt zu einer Überexpression von proinflammatorischen Zytokinen durch Förderung der COX-2 Expression [16]. Einen hauptregulatorischen Effekt besitzt diese miRNA auch auf NOD2, welches mit der Inflammation, die für die Progression von Osteonekrose verantwortlich ist, assoziiert ist [61]. Außerdem tritt eine Herunterregulation derselben miRNA vermehrt bei Patienten mit einer diabetischen Kardiomyopathie auf [1].

Extrazelluläre Vesikel, unter anderem angereichert mit hochregulierter miR-320a, die von transplantierten mesenchymalen Stromazellen sekretiert wurden, erhöhten die arteriöle Dichte und die Ejektionsfraktion infarzierter Mäuseherzen [65]. In einer anderen Studie wurde nachgewiesen, dass miR-320a eine entscheidende regulatorische Rolle in der Zelldifferenzierung während der Osteogenese einnimmt [38].

Die Hochregulation der miR-320d hat in unserem Versuch eine außerordentliche Stellung. Es wurde beschrieben, dass sie einen wichtigen Einfluss auf die Apoptose glatter Muskelzellen hat. Zusammen mit miR-582 reguliert sie eine Vielzahl von Genen, die größtenteils für Apoptosesignalwege verantwortlich sind. Nach der Transfektion dieser beiden miRNAs in menschliche glatte Muskelzellen der Aorta wurde die Apoptose der glatten Muskelzellen durch Staurosporine und TNF $\alpha$  deutlich erhöht [85].

miR-320d wird zudem als möglicher Biomarker eines Schlaganfalls diskutiert. Sie und die ebenfalls in unseren Versuchen bei Kontakt mit Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP hochregulierte miR-320e wurden vermindert exprimiert bei Schlaganfallpatienten nachgewiesen [99].

Für die in unserem Versuch hochregulierte miR-378a-3p ist ein kardioprotektiver Effekt für ischämische Herzkrankheiten vorbeschrieben. In einem Rattenmodell wurde bestätigt, dass miR-378a-3p durch verschiedene Signalwege, die durch Ischämie und Reperfusionsschädigung eingeleitete Apoptose der Kardiomyozyten vermindern kann [89]. Es wurde außerdem nachgewiesen, dass der häufig beschriebene kardioprotektive Effekt von in der chinesischen Medizin eingesetzten Salidroside durch miR-378a-3p reguliert wird und eine Inhibition der miRNA zu einem Ausbleiben jenes Effektes führt [104].

miR-320b wird ebenfalls ein kardioprotektiver Effekt zugeschrieben. Tang *et al.* erforschten die Exosome von mesenchymalen Stammzellen, die einen großen Einfluss auf die Reparatur von Kardiomyozyten bei Ischämie und Reperfusionsschäden haben. Dabei entdeckten sie, dass in diesen Exosomen miR-320b hochreguliert ist. Diese miRNA inhibiert die Pyroptose durch Unterdrückung der NLRP3 Expression und schützt damit die Kardiomyozyten vor Ischämie und Reperfusionsschäden [91].

Eine weitere Studie beschäftigt sich mit miR-320b. Gidlöf *et al.* fanden heraus, dass in Thromben von STEMI-Patienten miR-320b herunterreguliert ist und zeigten, dass miR-320b bei Thrombozytenaggregation freigesetzt wird. Anschließend transferierten sie miR-320b auf Endothelzellen, um den Effekt dieser miRNA Freisetzung zu untersuchen. Sie erkannten eine durch miR-320b induzierte Depression der ICAM-1 Expression [26]. ICAM-1 ist ein Adhäsionsmolekül, das bei Atherosklerose vermehrt exprimiert wird. Bei einer Überexpression haften Leukozyten an ICAM-1 und sorgen für eine Endotheldysfunktion [56]. Die Hochregulation von miR-320b, die man auch in unserem Versuch gesehen hat, wirkt folglich durch Herunterregulation von ICAM-1 endothelprotektiv. Stützend für diese Postulierung ist eine weitere Studie, die zeigte, dass bei Herzinfarktpatienten miR-320b herunterreguliert ist. Huang *et al.* stellten die Hypothese auf, dass miR-320b Expressionsprofile von Genen regulieren könnte, die bei mehreren Signaltransduktionswegen in Endothelzellen bei der Genese von Atherosklerose mitwirken [39]. Zhang *et al.* untersuchten die Korrelation von Carotidplaques und miRNA Expressionen. Auch sie fanden heraus, dass die Manifestation der Atherosklerose an der Halsschlagader und das Vorkommen von vulnerablen Plaques mit einer Herunterregulation von miR-320b zusammenhängt [108].

Auch miR-320c wurde in unserem Versuch hochreguliert. Für diese miRNA wird die Hemmung der Thrombozytenaktivierung beschrieben. Dies fanden Dahiya *et al.* heraus, indem sie Thrombozyten mit miR-320c behandelten und sowohl eine Herunterregulation

des RAP1, welches ein wichtiges GTPase Protein in der Aktivierung von Thrombozyten darstellt, als auch eine Reduzierung der Thrombozytenaktivierung selbst beobachteten [19].

Die ebenfalls in unserer Studie hochregulierte miR-6740-5p ist Teil einer TRPV4/miR-6740/ET-1-Signalachse. Eine zunehmende Steifigkeit in Endothelzellen führt zu einer Herunterregulation der miR-6740-5p und zu einer Herunterregulation des TRPV4 Calciumkanals, was zu einer weiteren Inhibierung der miR-6740-5p führt. Dadurch wird der hemmende Faktor dieser miRNA auf die Endothelin-1-Expression vermindert [87]. Das nun vermehrt exprimierte Endothelin-1 führt zu einer endothelialen Dysfunktion [87]. miR-6740-5p wird folglich ebenfalls wie der vorher beschriebenen miR-320b ein endothelprotektiver Effekt zugeschrieben. Eine weitere Gemeinsamkeit dieser beiden miRNAs ist, dass sie bei Patienten mit Carotisstenosen herunterreguliert sind [87,108].

Bei Patienten, die unter einer degenerativen Aortenklappenstenose leiden, wurde eine Herunterregulation, der in unserem Versuch hochregulierten miR-575 festgestellt [86].

In den statistischen Analysen unterscheidet sich die Expressionsänderung des Vollblutes, die durch die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche ausgelöst wurde, signifikant von der Expressionsänderung, die durch die anderen Oberflächen ausgelöst wurden. Die signifikanten miRNAs werden durch die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche hochreguliert. Viele dieser hochregulierten miRNAs sind bereits gut beschrieben.

Einzelne von ihnen wirken endothel- und kardioprotektiv, antiinflammatorisch, inhibieren die Proliferation von glatten Muskelzellen und hemmen die Thrombozytenaktivierung. Diese Eigenschaften sind für die Entwicklung neuer Stentmaterialien von großer Bedeutung. Die Inhibierung der Proliferation glatter Muskelzellen könnte der Komplikation einer Restenose entgegenwirken und durch die daraus resultierende Einsparung an zytotoxischen Substanzen auf DES zu einer besseren Endothelproliferation führen und damit die Thrombogenität der Stents reduzieren. Die Hemmung der Thrombozytenaktivierung könnte die Anzahl der In-Stent Thrombosen herabsetzen und dafür sorgen, dass weniger Blutungskomplikationen durch eine intensive DAPT entstehen. Der endothelprotektive Effekt könnte der Schädigung des Endothels, die zwangsläufig bei Stententfaltung resultiert, begrenzen. Außerdem könnte die antiinflammatorische Wirkung die Fremdkörperreaktion des Körpers abmildern. Die Hochregulierung von beispielsweise miR-6740-5p und miR-320b durch die Reaktion auf die Oberfläche könnte dem Mangel jener miRNAs bei Patienten mit Atherosklerose entgegenwirken und damit Mechanismen ankurbeln, die zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht vollends verstanden sind.

In der KEGG-Signalweganalyse mit dem DIANA-miRPath-Algorithmus (Abbildung 15) zeigte sich unter anderem eine signifikante Verlinkung der veränderten miRNAs mit dem TGF- $\beta$ -Signalweg. Zehn der 19 miRNAs haben laut DIANA-miRPath Analyse einen Einfluss auf die Gene des Signalweges. Der Signalweg ist an vielen zellulären Prozessen einschließlich Zellwachstum, Zelldifferenzierung und Apoptose beteiligt [17,62]. Ein weiterer Signalweg, der von den signifikant veränderten miRNAs beeinflusst wird, ist der Hippo-Signalweg. Er ist für die Hemmung der Zellproliferation und Förderung der Apoptose verantwortlich [14].

Auch in der Signalweganalyse mithilfe der miRTargetLink 2.0 Software zeigten sich unter anderem Verlinkungen der veränderten miRNAs mit Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Zelltod, Thrombozytenaktivierung und Thrombozytenaggregation (Abbildung 16).

Bei dem ersten Kontakt von Blutbestandteilen mit synthetischen Oberflächen spielen sich viele Reaktionen innerhalb von Bruchteilen von Sekunden ab. Kleine Proteine haften an den Oberflächen und werden später durch größere Proteine verdrängt [60]. Das Gerinnungssystem reagiert mit der Initiierung der primären und sekundären Hämostase [82] und das unspezifische humorale Immunsystem startet die Aktivierung des Komplementsystems [28]. Inspiriert von den Auswirkungen des Erstkontaktes haben wir entdeckt, dass das Blut innerhalb von Sekunden auf verschiedene Oberflächen mit unterschiedlichen Zellsignalen in Form von miRNA reagiert. Diese miRNAs bestimmen weitere langfristige Prozesse mit. 19 miRNAs veränderten sich abhängig von der jeweiligen Oberfläche innerhalb von 30 Sekunden Einwirkzeit des frisch abgenommenen Vollblutes signifikant unterschiedlich. Im Post-hoc-Test wies nur die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche bei 19 miRNAs einen signifikanten Unterschied der FC-Werte gegenüber den anderen Oberflächen auf. Die Hochregulation dieser miRNAs haben Einfluss auf diverse interessante Signalwege, die für die Entwicklung von neuen Stentmaterialien von großer Bedeutung sind.

Dass die Expressionsänderung der miRNA des Blutes abhängig von verschiedenen Oberflächenstimuli innerhalb kürzester Zeit (30 s) stattfinden kann, ist ein Novum. Leidinger *et al.* fanden bereits heraus, dass sich das miRNA Profil des Blutes innerhalb von Sekunden nach Kontakt mit EDTA verändern kann. Hierzu bestimmten sie das miRNA Profil von sechs gesunden Probanden vor und nach Kontakt mit EDTA. Das Profil nach Kontakt bestimmten sie nach 0, 10 und 120 min. Dabei fiel auf, dass sich das miRNA Profil bereits nach 0 min Kontaktzeit mit EDTA verändert hatte [59]. Im Blut befinden sich größtenteils kernlose Zellen, die nicht in der Lage sind miRNA zu synthetisieren. Außerdem ist die Neusynthese der miRNA ein komplexer Prozess, der eine längere Zeit in Anspruch nimmt. Dennoch wiesen wir und andere Forschungsgruppen eine Änderung der Expression innerhalb von Sekunden nach [59]. Ein Erklärungsansatz für die rasche

Expressionsänderung ist, dass die miRNAs intrazellulär gespeichert sind und durch den Reiz der Oberflächen als Inhalt extrazellulärer Vesikel (EV) freigesetzt werden.

EVs haben eine wichtige Funktion in der interzellulären Kommunikation, indem sie als Vehikel für den Transfer von Proteinen, Lipiden und RNA zwischen Zellen fungieren [78]. Valadi *et al.* zeigten, dass auch miRNAs verpackt in EVs vorkommen und diese von entfernten Zellen aufgenommen werden können um dort eine Änderung der Genexpression zu bewirken [93].

EVs können im Blutplasma überleben und dort *in vivo* nachgewiesen werden. Das Blut dient somit als Kommunikationsmedium für Zellen, die ihre Informationen mithilfe von EVs weitergeben [12]. Man nimmt an, dass EVs von allen Zellen gebildet werden können [8]. Selbst kernlose Erythrozyten sind in der Lage an dieser Art der Kommunikation teilzunehmen [54]. Man könnte also annehmen, dass miRNAs intrazellulär gelagert werden und selektiv auf einen Stimulus in EVs freigesetzt werden, um eine Änderung der Genexpression in Effektorzellen zu bewirken. Diese Annahme würde die Expressionsveränderung in kürzester Zeit erklären.

Ein weiterer Erklärungsansatz ist, dass kernhaltigen Leukozyten, die im Blut die Fähigkeit besitzen miRNA zu synthetisieren, für die rasche Expressionsveränderung verantwortlich sind [83]. Sambandan *et al.* wiesen nach, dass Hippocampus Neurone in einem Zeitraum von 5-30 s reife miRNAs auf einen Reiz synthetisieren können [81]. Dies geschieht, indem der letzte, meist dicerabhängige Prozessierungsschritt von Prä-miRNA zur reifen miRNA innerhalb kürzester Zeit stattfinden kann. Sie machten diesen Schritt unter Verwendung einer Fluoreszenz, die durch Spaltung von modifizierter Prä-miRNA ausgelöst wird, sichtbar und demonstrierten, dass reife miRNA nach Auslösung eines Aktionspotentials (Reiz) sich lokal innerhalb von Sekunden anreichert. Daraufhin zeigten sie, dass diese reifen miRNAs weiterhin ihre Aufgabe der Translationshemmung erfüllen.

Somit ist auch in unserem Versuch vorstellbar, dass der letzte Prozessierungsschritt in kernhaltigen Blutzellen, die miRNA synthetisieren können, durch den Stimulus der Oberflächen ausgelöst werden könnte und zu der nachgewiesenen raschen miRNA Expressionsänderung führen könnte. Dies sind Hypothesen, die durch weitere gezielte Studien verifiziert werden müssen.

Die Entwicklung der Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche erforderte viele Jahre intensiver Forschung. Kiefer *et al.* zeigten bereits, dass die Grundstruktur der Oberfläche, die auf Micro-und Nanostrukturen aufgebaut ist, in der Lage ist die Proliferation glatter Muskelzellen zu inhibieren und die Proliferation von Endothelzellen zu fördern [48]. Haider *et al.* zeigten, dass die Oberfläche die Thrombozytenaggregation und -aktivierung



erschwert [33]. Die vorliegende Studie untermauert die Erkenntnisse auf miRNA-Ebene [19,26,85,87]. Eine besondere Eigenschaft dieser Oberfläche, die bei den anderen untersuchten Oberflächen nicht vorhanden ist, ist der superhydrophobe abperlende Effekt. Dieser Effekt entsteht durch das Zusammenspiel des Trägers, welcher mikro- und nanoskalige Merkmale in der Topografie besitzt und einer Beschichtung geringer Oberflächenladung. Dieser Effekt war bei keiner der anderen Oberflächen zu beobachten und könnte für die veränderten miRNAs verantwortlich sein.

### 5.3 Limitationen der Studie und Ausblick

Da es sich bei dieser Arbeit um eine Pilotstudie handelt, war die Anzahl der Studienteilnehmer (n=8) gering. Die Gruppe hatte eine homogene Altersverteilung und das Durchschnittsalter war gering und entsprach damit nicht dem Alter der Personen, die eine Stentimplantation benötigen. Dies ergab sich daraus, dass der Einfluss durch etwaige Erkrankungen und Medikamenteneinnahmen so gering wie möglich gehalten werden sollte.

Der unterschiedliche Abnahmezeitpunkt der Oberflächen ist ein weiterer Kritikpunkt der vorliegenden Studie. Es wurde die Vergleichbarkeit der Oberflächen durch Berechnung der individuellen FC-Werte wiederhergestellt. Dennoch ist zu empfehlen den Versuch mit allen Oberflächen zum gleichen Zeitpunkt zu wiederholen. Die Kontaktzeit des Blutes mit den Oberflächen wurde sehr gering gewählt (30s), um den Einfluss des ersten Kontaktes zu untersuchen. Um die weiteren Reaktionen der miRNA und damit den längeren Verbleib der Oberfläche im Körper zu simulieren, ist eine zusätzliche Analyse nach einer längeren Kontaktzeit zu empfehlen. Um dies zu realisieren, müsste man ein Modell konzipieren, in dem die Oberflächen ständig mit dem Probandenblut umspült werden. Eine Möglichkeit hierfür wäre das Chandler Loop System<sup>®</sup>, welches dazu gedacht ist, den menschlichen Kreislauf mit 37 °C Körpertemperatur nahezu realistisch zu simulieren [89]. Problematisch hierbei wäre der Einfluss unterschiedlicher Materialien des Modells auf die miRNA.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass eine unmittelbare Zellantwort in Form von miRNA Expressionsänderung im Vollblut nach Kontakt zu Oberflächen besteht. Diese Veränderung unterscheidet sich nach Kontakt mit der neuartigen polymerbeschichteten, hybriden Nanowireoberfläche, die einen superhydrophoben Effekt aufweist, signifikant von den anderen untersuchten Oberflächen.

Oberflächen ohne superhydrophoben Effekt zeigten untereinander keine signifikanten Unterschiede. Die signifikant veränderten miRNAs zeigten interessante Funktionen in

der Inhibition von glatten Muskelzellen, Entzündungsreaktionen und Thrombozytenaktivierung. Mit diesen Ergebnissen kann der Grundstein zur Beantwortung der Frage gelegt werden, ob bereits der Erstkontakt des Blutes innerhalb von Sekunden weitere Prozesse des Körpers beeinflusst. Um diese herausragende Oberfläche weiter zu untersuchen, ist unsere Arbeitsgruppe in einem Tierversuch damit beschäftigt, die Reaktionen von Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP beschichteten Stents *in vivo* zu untersuchen. Die explantierten, beschichteten Stents zeigten bereits eine höhere Endothelproliferation als die Kontrollstents. Parallel wird untersucht, ob die Proteine, die von den Oberflächen absorbiert werden, sich zwischen den Oberflächen ebenfalls unterscheiden. Weitere Experimente müssen angeschlossen werden, um zum einen die Al/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-PTFEP Oberfläche genauer zu untersuchen und zum anderen die Funktionen der veränderten miRNAs genauer zu verstehen.

Ein Ausblick ist die Beschichtung von Oberflächen mit miRNAs, die in unseren Versuchen eine signifikante Veränderung aufgewiesen haben. Biologische Beschichtungen für Implantate bieten vielversprechende Möglichkeiten für die nächste Generation von Oberflächenmodifikationen. Unsere Forschungsgruppe wird durch die Beschichtung prüfen, ob die in anderen Studien beschriebenen Funktionen der ausgewählten miRNAs die Eigenschaften der modifizierten Oberflächen verändern können. Durch diese Modifikation könnten Komplikationen von kardiovaskulären Implantaten reduziert und gleichzeitig zytotoxische Medikamente bei der Beschichtung von Stents obsolet werden.

## 6 Anhang

### 6.1 Probandeninformation



#### **Probandeninformation**

##### **Entwicklung neuartiger Oberflächen für den Einsatz in kardiovaskulären Implantaten und medizinischen Geräten**

Sehr geehrte Damen und Herren,

herzlichen Dank dafür, dass Sie sich die Zeit nehmen, Näheres über unsere wissenschaftliche Studie zu erfahren.

Die Klinik für Pädiatrische Kardiologie am Universitätsklinikum des Saarlandes führt derzeit eine Studie über einen Einsatz neuartiger Oberflächen in kardiovaskulären Implantaten und medizinischen Geräten durch. Für diese Studie werden Probanden gesucht, die das Interesse haben, an unserer Studie teilzunehmen:

Das Ziel unserer Studie ist es, die Bio- und die Hämkompatibilität neuentwickelter Beschichtungen für Oberflächen zu untersuchen.

**Die Teilnahme an dieser Studie ist kostenfrei und freiwillig. Die Studie kann JEDERZEIT OHNE NACHTEILE für Sie abgebrochen werden. Erhobene Daten werden vertraulich behandelt und in einer anonymisierten Form gespeichert und veröffentlicht.**

#### **Was untersuchen wir genau?**

##### **Überblick**

Reaktion des frischen menschlichen Vollblutes nach einem Kontakt mit künstlichen neuentwickelten und bereits vorhandenen Oberflächen

**Genauere Informationen zu den medizinischen Untersuchungen finden Sie auf der nächsten Seite.**

### **Information zu den Untersuchungsmethoden:**

#### **Blutentnahme:**

Im Rahmen unserer Studie erfolgt eine Blutentnahme von insgesamt 200 ml. Diese Menge an abgenommenem Blut führt zu keinen relevanten Nebenwirkungen auf das Herzkreislaufsystem. Das entnommene Blut wird sofort in Kontakt mit neuentwickelten Oberflächen gebracht und anschließend auf verschiedene Parameter untersucht. Dabei wird der Zustand der Blutzellen, die Aktivierung der Thrombozyten und verschiedener Gerinnungsfaktoren nach dem ersten Kontakt zu körperfremden Oberflächen analysiert. Ziel ist es, neue Oberflächen für kardiovaskuläre Implantate zu entwickeln, die aufgrund verbesserter Biokompatibilität weniger Komplikationen bei Patienten mit angeborenen oder erworbenen Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursachen.

Zu den Risiken der Blutabnahme gehören blaue Flecken an der Stelle, an der die Venenverweilkatheter in die Vene eingeführt wird. Manchmal kommt es zu einer geringen, wenige Minuten anhaltenden Blutung, wenn die Nadel herausgezogen wird. In seltenen Fällen entsteht eine örtlich begrenzte Entzündung der Haut oder der Vene. Die erhobenen genetischen Daten werden vertraulich behandelt und in einer anonymisierten Form gespeichert und veröffentlicht.

#### **Freiwilligkeitserklärung**

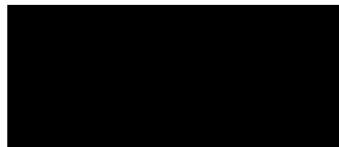
Die Teilnahme an der oben beschriebenen Studie ist freiwillig. Wir sind darüber informiert worden, dass wir zu jedem Zeitpunkt diese Einwilligung ohne Nachteil für uns widerrufen können.

#### **Datenschutz**

Alle Messdaten, die während der Studie erhoben werden, werden zur Auswertung und Archivierung anonymisiert und dann dauerhaft maschinell gespeichert. Dabei werden die geltenden gesetzlichen Bestimmungen des Datenschutzes eingehalten. Sie persönlich haben jederzeit die Möglichkeit die Daten einzusehen.

**Bei Fragen zu unserer Studie oder einer Terminvereinbarung, können Sie uns wie folgt erreichen:**

Lilia Lemke



Philipp Letulé



Wir danken Ihnen für Ihr Interesse und freuen uns auf Ihren Besuch,

Mit freundlichen Grüßen

Prof. Dr. med. Abdul-Khaliq  
Direktor der Klinik für  
Pädiatrische Kardiologie

Dr. rer.nat. Lilia Lemke  
Wissenschaftliche Mitarbeiterin der  
Klinik für Pädiatrische Kardiologie

Anhang 3: Probandeninformation (3/3)

## 6.2 Einverständniserklärung



### Einverständniserklärung

#### Entwicklung neuartiger Oberflächen für den Einsatz in kardiovaskulären Implantaten und medizinischen Geräten

#### Studie der Klinik für Pädiatrische Kardiologie am UKS

Hiermit erkläre ich mich damit einverstanden, dass

Ich \_\_\_\_\_ Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

an der Studie „Entwicklung neuartiger Oberflächen für den Einsatz in kardiovaskulären Implantaten und medizinischen Geräten“ teilnehme.

Ich bin damit einverstanden, dass die beschriebenen Untersuchungen an mir durchgeführt werden.

Ich wurde über das Ziel und den Zweck dieser klinischen Studie und die praktische Durchführung aufgeklärt. Beiliegende Probandeninformation habe ich erhalten, gelesen und verstanden. Eine Kopie dieser Einverständniserklärung habe ich ebenfalls erhalten.

Ich bin damit einverstanden, dass die im Rahmen der Untersuchung an mir erhobenen Daten aufgezeichnet, wissenschaftlich ausgewertet und archiviert werden. Ich stimme ihrer Veröffentlichung unter der Voraussetzung zu, dass jeder Bezug zu mir unkenntlich gemacht wurde. Ich bin darüber informiert worden, dass die Speicherung und Verarbeitung der erhaltenen Daten den Bestimmungen des Datenschutzgesetzes unterliegen.

Ich weiß, dass ich jederzeit ohne Nachteile und ohne Angabe von Gründen mit sofortiger Wirkung dieses Einverständnis zurückziehen und die gespeicherten Daten löschen lassen kann.

**Ort, Datum** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
**Unterschrift des Probanden**

\_\_\_\_\_  
**Unterschrift des Arztes**

Anhang 4: Einverständniserklärung

## 6.3 Fragebogen



Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geburtsdatum: \_\_\_\_\_

Gewicht:	kg	Größe:	cm	Geschlecht:	Ethnizität:
----------	----	--------	----	-------------	-------------

Bitte zutreffendes ankreuzen:	Ja	Nein
Ist bei Ihnen jemals eine Blutgerinnungsstörung oder Thrombose festgestellt worden?		
Sind/waren Sie Raucher?		
Beobachten Sie Nasenbluten ohne erkennbaren Grund?		
Beobachten Sie blaue Flecken oder punktförmige Blutungen ohne sich anzustoßen?		
Beobachten Sie Gelenks-, Weichteil- oder Muskelblutungen ohne erkennbaren Grund?		
Beobachten Sie bei Schnittwunden und/oder Schürfwunden ein längeres Nachbluten?		
Gab es in Ihrer Vorgeschichte ein längeres/verstärktes Nachbluten beim Zahnarzt?		
Gab es in Ihrer Vorgeschichte eine verstärkte Blutung während oder nach Operationen?		
Gab/gibt es in Blutsverwandschaft Fälle von Blutungsneigung?		
Nehmen oder nahmen Sie in letzter Zeit Medikamente zur Blutverdünnung ein?		
Nehmen Sie Schmerz- oder Rheumamittel ein?		
Nehmen Sie stimmungsaufhellende Medikamente ein?		
Nehmen Sie Drogen?		
Haben Sie in den letzten 48 Stunden Alkohol konsumiert?		
Ist bei Ihnen ein Diabetes Mellitus bekannt?		
Ist bei Ihnen eine arterielle Hypertonie bekannt?		

Anhang 5: Fragebogen zur anamnestischen Erfassung von Gerinnungsstörungen (1/2)



**UKS**  
Universitätsklinikum  
des Saarlandes

<b>Zusatzfragen an Patientinnen:</b>	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>
Sind Ihre Monatsblutungen verlängert (>7 Tage) und/oder verstärkt?		
Nehmen Sie ein orales Verhütungsmittel (Pille)?		

Nehmen Sie sonstige Medikamente ein, wenn ja, welche? \_\_\_\_\_

Ort und Datum: \_\_\_\_\_ Unterschrift: \_\_\_\_\_

Anhang 6: Fragebogen zur anamnestischen Erfassung von Gerinnungsstörungen (2/2)





**Universitätsklinikum des Saarlandes**

**Zentrallabor - Prof. Dr. J. Geisel**

Geb. 57 - 66421 Homburg/ Saar

Tel. 06841/16-30712 Fax 06841/16-30713

**Akkreditierung durch:**



Deutsche  
Akkreditierungsstelle  
D-ML-13220-01

<b>Patientin</b>	<b>Einsender / Auftrag</b>
<b>JM 0494</b>	<b>Zentrallabor</b>
Telefon:	Telefon: 06841/16-30701 Telefax: 06841/16-30703
Fall-Nr.	Auftrag: 200121Z1139/22682500
Geburtsdatum: 01.04.1994, weiblich	Probeneingang: 21.01.2020 - 14:43

Analyse	21/01/2020 14:43	Einheit	Ref.-bereich
----- Hämatologie (EDTA-Blut) (In Kooperation mit der Inneren Medizin I) -----			
----- Kleines Blutbild -----			
Leukozyten	5.7	10 <sup>9</sup> /l	3.9-10.2
Erythrozyten	4.12	10 <sup>12</sup> /l	4.00-5.20
Hb	13.7	g/dl	12.0-16.0
Hkt	39	%	36-46
MCV	95	fl	80-99
MCH	* 33	pg	27-33
MCHC	35	g/dl	31-37
RDW	11.6	%	11.5-14.5
Thrombozyten	292	10 <sup>9</sup> /l	140-400
MPV	10.0	fl	7.8-11.0
----- Gerinnung (Citrat 1+9) -----			
Thromboplastinzeit (Quick)	86	s	70-130
INR	1.07		0.85-1.15
Part. Thromboplastinzeit (PTT)	25	s	21-34
Fibrinogen	237	mg/dl	180-400
Plättchenfunktionstest	normal		
Kommentar	Normalbefund		
Befundung durch: Fr. Dr. Kekukh (Hämostaseologie)			
Folgende Parameter sind nicht akkreditiert: Plättchenfunktionstest (Zitrat-Plasma)			

Resultatkennzeichen: \*=Referenzwertverletzung !=Extremwert #=Wert telefonisch mitgeteilt





**Universitätsklinikum des Saarlandes**  
**Zentrallabor - Prof. Dr. J. Geisel**  
 Geb. 57 - 66421 Homburg/Saar  
 Tel. 06841/16-30712 Fax 06841/16-30713



Patient	Einsender / Auftrag
<b>S.W. 0697</b> Telefon: Fall-Nr. Geburtsdatum: 01.06.1997	<b>Zentrallabor</b> Telefon: 06841/16-30701 Telefax: 06841/16-30703 Auftrag: <b>20012720687/22682506</b> Probeneingang: <b>27.01.2020 - 10:49</b>

Laborbefund (Routine)		Seite 1/1 Druckzeit 29.01.2020 14:04	
Endbefund Kopie mit Stand vom : 27.01.2020 - 13:07		Zuständig: Dr. Hübner	
Analyse	27/01/2020 10:49	Einheit	Ref.-bereich
----- Hämatologie (EDTA-Blut) (In Kooperation mit der Inneren Medizin I) -----			
----- Kleines Blutbild -----			
Leukozyten	4.4	10 <sup>9</sup> /l	3.9-10.2
Erythrozyten	* 4.78(1)	10 <sup>12</sup> /l	s. Ref.liste
Hb	* 14.6(1)	g/dl	s. Ref.liste
Hkt	* 41(1)	%	s. Ref.liste
MCV	86	fl	80-99
MCH	30	pg	27-33
MCHC	35	g/dl	31-37
RDW	11.7	%	11.5-14.5
Thrombozyten	* 206(2)	10 <sup>9</sup> /l	s. Ref.liste
MPV	10.9	fl	7.8-11.0
(1) Referenzwerte ohne Geschlechtsangabe sind nicht für jedes Alter verfügbar			
(2) Referenzwerte ohne Geschlechtsangabe sind nicht verfügbar			
----- Gerinnung (Citrat 1+9) -----			
Thromboplastinzeit (Quick)	96	%	70-130
INR	1.02		0.85-1.15
Part. Thromboplastinzeit (PTT)	26	s	21-34
Fibrinogen	298	mg/dl	180-400
Plättchenfunktionstest	normal		
Kommentar	Normalbefund		
Kommentar Freitext	Induzierte Thrombozytenaggregationen (Amplitude): Collagen-induzierte Thrombozytenaggregation (5 µg/ml): 86%. Collagen-induzierte Thrombozytenaggregation (2 µg/ml): 80%. TRAP-6-induzierte Thrombozytenaggregation (0,1 mmol/l): 79%. ADP-induzierte Thrombozytenaggregation (10 µmol/l): 77%. Regelrechte Thrombozytenaggregation.		
Befundung durch: Dr. Schleicher (Hämostaseologie)			
Folgende Parameter sind nicht akkreditiert: Plättchenfunktionstest (Zitrat-Plasma)			
Resultatkennzeichen: *=Referenzwertverletzung !=Extremwert #-Wert telefonisch mitgeteilt			

Anhang 9: Laborbefunde (3/9)



**Universitätsklinikum des Saarlandes**  
**Zentrallabor - Prof. Dr. J. Geisel**  
 Geb. 57 - 66421 Homburg/Saar  
 Tel. 06841/16-30712 Fax 06841/16-30713



Patient	Einsender / Auftrag
<b>PL 1194</b> Telefon: Fall-Nr. Geburtsdatum: , männlich	<b>Zentrallabor</b> Telefon: 06841/16-30701 Telefax: 06841/16-30703 Auftrag: <b>20012721055/22682507</b> Probeneingang: <b>27.01.2020 - 14:06</b>

Laborbefund (Routine)		Seite 1/1 Druckzeit 29.01.2020 14:04	
Endbefund Kopie mit Stand vom : 27.01.2020 - 17:07		Zuständig: Dr. Hübner	
Analyse	27/01/2020 14:06	Einheit	Ref.-bereich
----- Hämatologie (EDTA-Blut) (In Kooperation mit der Inneren Medizin I) -----			
----- Kleines Blutbild -----			
Leukozyten	4.6	10 <sup>9</sup> /l	3.6-10.5
Erythrozyten	4.93	10 <sup>12</sup> /l	4.50-5.90
Hb	15.0	g/dl	14.0-18.0
Hkt	43	%	41-53
MCV	86	fl	80-99
MCH	30	pg	27-33
MCHC	35	g/dl	31-37
RDW	11.7	%	11.5-14.5
Thrombozyten	195	10 <sup>9</sup> /l	140-400
MPV	10.3	fl	7.8-11.0
----- Gerinnung (Citrat 1+9) -----			
Thromboplastinzeit (Quick)	81	%	70-130
INR	1.10		0.85-1.15
Part. Thromboplastinzeit (PTT)	25	s	21-34
Fibrinogen	205	mg/dl	180-400
Plättchenfunktionstest	normal		
Kommentar	Normalbefund		
Kommentar Freitext	Induzierte Thrombozytenaggregationen (Amplitude): Collagen-induzierte Thrombozytenaggregation (5 µg/ml): 83%. Collagen-induzierte Thrombozytenaggregation (2 µg/ml): 83%. TRAP-6-induzierte Thrombozytenaggregation (0,1 mmol/l): 78%. ADP-induzierte Thrombozytenaggregation (10 µmol/l): 78%. Regelrechte Thrombozytenaggregation.		
Befundung durch: Dr. Schleicher (Hämostaseologie)			
Folgende Parameter sind nicht akkreditiert: Plättchenfunktionstest (Zitrat-Plasma)			
November 1994			
Resultatkennzeichen: * = Referenzwertverletzung / = Extremwert # = Wert telefonisch mitgeteilt			

Anhang 10: Laborbefunde (4/9)















## 6.5 Ergebnisse der RNA Quantität und Qualität

Oberflächen	SG1196		SW0697		JB0997		JM0494		JW0999		SA1191		PL1194		RA0898	
	RNA	RIN	RNA	RIN	RNA	RIN	RNA	RIN	RNA	RIN	RNA	RIN	RNA	RIN	RNA	RIN
Glas	48.2	8.5	35.6	8.2	46.9	8.7	57.1	8.7	46.4	8.2	31.2	9.3	47.2	9.3	32.3	8.6
Edelstahl 316L	62.2	8.2	35.9	8.8	49.2	8.8	33.1	8.9	46.6	9.8	41.6	9.1	41.0	8.9	31.2	8.1
CoCr	38.8	8.4	31.3	8.0	55.9	8.7	38.6	8.7	40.2	8.5	31.7	9.3	46.4	9.3	32.7	8.4
Glas-KSi-N2	50.9	8.4	35.2	8.2	49.1	8.6	29.8	8.8	67.5	9.5	34.9	9.6	40.6	9.1	29.6	8.2
Glas-KSi-Luft	83.3	8.5	30.1	8.4	47.5	8.8	44.7	8.7	61.0	9.7	36.1	9.2	36.4	9.1	23.3	8.3
CoCr-KSi-N2	68.2	8.4	36.0	7.9	49.6	8.7	40.5	8.3	57.1	9.6	40.2	9.2	39.7	9.2	28.6	8.2
CoCr-KSi-Luft	46.0	8.2	41.7	8.5	62.7	8.5	31.2	8.6	33.5	9.7	39.1	8.9	39.2	9.0	23.4	8.5
Al/Al2O3	53.3	8.8	41.1	8.5	59.0	8.5	43.7	8.8	29.5	9.5	41.9	9.4	37.8	9.2	24.0	7.9
Al/Al2O3-PTFEP	71.0	7.8	66.9	7.1	52.1	8.1	57.2	7.8	63.4	7.9	65.3	7.4	58.7	7.4	54.3	7.0
Baseline 1	40.3	8.6	26.4	8.5	60.8	8.5	32.0	7.8	34.9	9.2	27.7	9.1	38.7	8.8	18.0	8.5
Baseline 2	30.6	8.6	55.2	8.0	54.2	7.1	34.1	8.4	60.5	7.5	43.7	8.7	43.1	7.6	50.9	8.3

Anhang 16: Quantität und Qualität der RNA

RNA-Quantität in ng/µl und Qualität auf einer Skala von 1-10 für jede Oberfläche und jeden Probanden in einer Tabelle dargestellt

## 6.6 Tabelle der arithmetischen Mittel der FC-Werte

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-362-5p	0.00012	0.87	0.88	0.88	0.88	0.86	0.81	0.88	0.82	1.30
miR-378i	0.00012	0.96	0.95	0.93	0.91	0.97	0.92	0.92	0.89	1.42
miR-6875-5p	0.00012	0.82	0.91	0.98	1.04	1.02	1.06	1.00	0.92	2.03
miR-130b-3p	0.00014	0.96	1.04	1.01	1.00	1.06	1.04	0.97	0.98	1.81
miR-6879-5p	0.00047	0.81	0.86	1.04	1.07	0.91	1.04	0.98	0.89	1.51
miR-320a	0.00108	0.91	0.92	0.98	0.84	0.84	0.82	0.96	0.85	1.32
miR-6127	0.00108	0.78	0.90	0.98	1.02	1.00	1.05	0.97	0.90	1.74
miR-378a-3p	0.00114	0.94	0.94	0.93	0.90	0.96	0.88	0.90	0.87	1.40
miR-320d	0.00202	0.81	0.93	0.90	0.86	0.87	0.85	0.95	0.80	1.41
miR-6767-5p	0.00260	0.91	0.80	1.06	1.00	0.92	1.03	0.98	0.88	1.45
miR-4713-3p	0.00862	0.86	0.85	1.09	1.07	0.93	1.10	1.04	0.92	1.55
miR-6780b-5p	0.00927	0.81	0.87	0.97	0.99	0.90	1.01	0.96	0.93	1.55
miR-575	0.01068	0.86	0.88	0.99	0.90	0.92	1.07	0.97	0.90	1.53
miR-320c	0.01626	0.85	0.94	0.96	0.90	0.88	0.89	0.98	0.87	1.36
miR-6734-5p	0.02245	0.90	0.88	1.10	1.08	0.96	1.09	1.05	0.95	1.46
miR-320b	0.02471	0.90	1.00	0.99	0.94	0.91	0.90	1.01	0.87	1.39
miR-320e	0.02893	0.86	1.00	0.96	0.90	0.91	0.90	0.96	0.84	1.33
miR-6740-5p	0.03051	0.89	0.85	1.09	1.05	0.94	1.08	1.06	0.90	1.49
miR-4443	0.03520	0.78	0.89	0.91	0.87	0.98	0.94	0.90	0.84	1.40
miR-6131	0.06548	0.87	0.83	1.04	1.06	0.94	1.06	0.96	0.90	1.47
miR-6124	0.06743	0.93	0.95	1.08	1.09	0.95	1.04	1.03	0.93	1.37
miR-7641	0.07268	1.00	1.06	1.10	1.04	1.12	1.04	1.10	1.02	1.76
miR-6717-5p	0.11437	0.83	0.91	1.05	1.05	0.94	1.13	1.05	0.90	1.45
miR-4306	0.12084	0.94	1.04	1.00	0.98	1.06	1.03	0.94	0.96	1.40
miR-5581-5p	0.12397	0.93	0.85	1.12	1.06	0.94	1.12	1.09	0.98	1.45
miR-1249-3p	0.14930	0.84	0.82	0.88	0.85	0.86	0.77	0.88	0.81	1.32
miR-22-3p	0.15312	0.83	0.96	0.90	0.87	0.97	0.88	0.92	0.87	1.41
miR-5194	0.16880	0.83	0.88	1.01	0.96	0.88	1.01	1.03	0.93	1.35
miR-3198	0.17249	0.90	0.88	1.08	1.04	0.94	1.13	1.02	0.94	1.39
miR-6803-3p	0.19097	1.20	1.22	1.01	0.99	1.08	0.95	1.12	1.24	0.77
miR-664a-5p	0.19914	1.08	1.16	1.13	1.12	1.10	1.12	1.07	1.09	1.59
miR-1305	0.20267	0.87	0.92	1.11	1.02	0.92	1.09	1.08	0.96	1.32
miR-210-3p	0.20267	1.10	1.15	1.14	1.19	1.22	1.19	1.12	1.11	1.77
miR-30b-5p	0.20267	1.22	1.00	1.03	0.89	0.82	0.86	1.09	1.08	0.62
miR-4485-5p	0.20267	1.12	1.14	1.10	1.16	1.02	1.04	1.11	1.11	1.62
miR-664a-3p	0.21400	1.45	1.24	1.14	1.00	1.04	1.01	1.24	1.33	0.79
miR-197-5p	0.21760	0.86	0.91	1.05	1.08	0.91	1.01	1.01	0.90	1.34
miR-6089	0.21760	0.94	1.01	1.07	1.12	1.15	1.17	1.14	1.05	1.71
miR-6780a-5p	0.28341	0.98	0.94	1.21	1.10	1.01	1.26	1.13	1.11	1.59
miR-7152-3p	0.28341	0.84	0.89	0.98	0.97	0.88	0.93	0.96	0.89	1.22

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-4716-3p	0.29804	0.95	0.84	1.13	1.10	0.95	1.18	1.15	0.99	1.44
miR-550a-3p	0.35907	1.04	1.05	1.03	0.94	0.90	0.94	1.03	0.99	0.69
miR-133b	0.36016	1.05	1.01	0.99	0.94	0.93	1.02	1.02	1.02	0.76
miR-145-5p	0.37432	1.52	1.46	1.13	1.02	1.16	0.98	1.36	1.31	0.69
miR-1914-3p	0.37432	0.85	0.88	1.00	0.99	0.89	0.98	0.95	0.90	1.27
miR-4442	0.37432	0.84	0.87	1.03	1.03	0.89	0.98	1.01	0.88	1.28
miR-6511b-3p	0.38940	1.32	1.35	1.07	1.04	1.10	1.12	1.17	1.33	0.78
miR-93-3p	0.40219	1.16	1.08	0.94	0.94	0.90	0.89	1.09	1.06	0.66
miR-454-5p	0.40845	1.26	1.07	1.03	0.85	0.90	0.86	0.92	1.08	0.59
miR-99b-5p	0.41833	1.17	1.11	1.05	1.00	0.94	0.98	1.15	1.14	0.74
miR-4653-3p	0.42246	0.99	0.93	1.11	1.07	0.99	1.12	1.09	1.01	1.39
miR-4685-5p	0.50076	1.08	1.01	1.06	1.10	1.05	1.18	1.18	1.08	1.64
miR-132-3p	0.51169	1.01	1.09	1.03	1.02	0.95	1.09	1.07	1.06	0.86
miR-182-5p	0.51169	1.24	1.03	0.96	0.87	0.93	0.87	0.99	1.10	0.57
miR-378d	0.51169	1.02	1.02	0.95	0.94	1.07	1.00	0.94	1.00	1.33
miR-4732-5p	0.51169	0.88	0.92	0.94	0.78	0.86	0.86	0.89	0.83	1.22
miR-942-5p	0.51169	1.30	1.12	0.94	0.83	0.90	0.81	1.03	1.07	0.63
miR-15b-3p	0.60162	1.40	1.12	0.94	0.82	1.00	0.96	0.91	1.16	0.52
miR-125b-5p	0.61348	1.08	1.07	1.06	0.97	0.94	0.96	1.10	1.05	0.83
miR-30c-5p	0.61652	1.21	1.00	1.05	0.86	0.86	0.77	1.00	0.98	0.66
miR-1202	0.62825	1.01	0.91	1.08	1.09	1.06	1.13	0.95	0.95	1.32
miR-296-5p	0.62825	1.46	1.34	1.16	1.21	1.24	1.11	1.29	1.28	0.85
miR-186-5p	0.63991	1.27	1.00	0.95	0.78	0.90	0.74	0.97	1.02	0.63
miR-4788	0.63991	0.84	0.97	0.99	1.02	0.90	0.94	0.95	0.92	1.33
miR-22-5p	0.66712	1.25	1.11	0.99	0.95	1.04	1.09	1.05	1.18	0.82
miR-6512-5p	0.66712	0.91	0.90	1.01	1.09	1.00	1.12	1.05	1.07	1.38
miR-125a-5p	0.67662	1.01	1.06	1.05	0.94	0.93	0.96	1.03	1.01	0.76
miR-423-5p	0.67662	0.93	0.97	0.90	0.94	0.91	0.94	0.95	0.95	1.23
miR-4284	0.67662	1.25	0.99	1.11	1.17	1.06	1.04	1.08	1.13	1.55
miR-627-5p	0.67662	0.97	0.93	0.95	0.86	0.94	0.91	0.83	0.98	1.13
miR-424-5p	0.68029	1.34	1.04	1.12	1.02	1.24	1.25	0.98	1.25	0.87
miR-4318	0.69200	1.20	1.20	0.96	0.96	1.16	1.02	1.08	1.15	0.76
miR-339-5p	0.69637	1.26	1.09	1.03	1.02	0.95	0.93	1.10	1.12	0.76
miR-361-3p	0.69637	1.17	1.13	1.10	1.08	1.07	1.07	1.18	1.10	0.85
miR-4732-3p	0.69637	1.04	1.07	0.95	0.83	0.88	0.84	1.05	1.03	0.72
miR-6087	0.69637	0.91	1.03	1.08	1.22	1.11	1.11	1.08	0.94	1.32
miR-4505	0.70240	0.94	1.06	1.03	1.14	1.16	1.18	1.11	1.07	1.37
miR-96-5p	0.70240	1.19	1.17	1.09	1.14	1.36	1.29	1.04	1.21	0.80
let-7i-5p	0.71615	1.29	1.46	1.31	1.56	1.69	1.81	1.22	1.34	0.94
miR-642b-3p	0.71615	0.93	0.97	1.04	1.02	1.03	1.07	0.98	0.94	1.22
miR-769-5p	0.74985	0.92	0.91	0.92	0.92	0.89	0.91	0.88	0.94	1.18
miR-130b-5p	0.75217	1.33	1.24	1.16	1.05	1.16	1.03	1.22	1.26	0.85

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-140-5p	0.75217	1.16	1.08	1.13	1.20	1.40	1.16	0.97	1.14	0.82
miR-30a-5p	0.75217	1.22	1.11	1.05	0.83	0.87	0.80	1.10	1.05	0.72
miR-638	0.75217	0.88	0.93	1.03	1.12	1.12	1.19	0.99	0.97	1.50
miR-1288-3p	0.75449	0.97	0.94	1.17	1.11	0.89	1.13	1.04	0.98	1.41
miR-199a-5p	0.82920	1.05	0.91	0.92	0.82	0.82	0.80	0.88	0.94	0.55
miR-425-5p	0.82920	1.00	1.00	1.02	1.03	0.89	0.97	1.12	1.03	0.85
miR-1246	0.83106	1.15	1.12	0.99	1.01	1.00	0.97	1.10	1.05	1.56
miR-183-5p	0.90896	0.84	0.94	0.97	0.94	0.95	0.99	0.94	0.93	0.75
let-7e-5p	0.91442	1.03	1.14	0.95	0.96	0.99	1.00	0.99	1.16	0.92
miR-1268b	0.91442	0.97	0.93	1.05	1.10	1.09	1.15	1.03	0.99	1.27
miR-505-3p	0.91442	1.03	1.04	0.91	0.81	0.91	0.82	0.97	0.97	0.67
miR-6165	0.91442	1.13	1.07	1.29	1.31	1.32	1.34	1.08	1.15	1.73
miR-744-5p	0.91442	1.12	1.06	1.01	1.02	1.02	1.01	1.08	1.04	0.84
miR-939-5p	0.91442	0.99	0.95	1.10	1.09	1.09	1.15	0.97	1.03	1.40
miR-328-3p	0.92582	1.14	1.19	1.08	1.00	1.09	1.01	1.15	1.12	0.76
miR-484	0.92945	1.35	1.10	1.09	1.05	1.01	0.93	1.20	1.13	0.78
miR-660-5p	0.93066	1.10	1.01	1.07	1.01	1.07	1.13	0.95	1.07	0.77
miR-222-3p	0.94065	1.21	1.15	1.05	1.00	1.10	1.01	1.10	1.16	0.85
miR-17-3p	0.99959	0.99	0.96	0.91	1.05	1.19	0.94	0.91	0.97	0.72
let-7a-5p	0.99998	1.13	1.17	1.15	1.27	1.48	1.24	1.08	1.14	1.16
let-7b-3p	0.99998	1.15	1.21	1.18	1.10	1.22	1.05	1.13	1.22	1.05
let-7b-5p	0.99998	1.38	1.64	1.57	1.62	1.94	2.01	1.58	1.55	1.42
let-7c-5p	0.99998	1.44	1.71	1.39	1.44	1.85	1.74	1.55	1.48	1.18
let-7d-3p	0.99998	0.93	1.03	0.92	0.90	0.89	0.92	0.92	0.97	0.85
let-7d-5p	0.99998	1.04	1.21	1.06	1.15	1.20	1.13	1.05	1.07	1.04
let-7f-5p	0.99998	1.22	1.27	1.23	1.35	1.40	1.30	1.10	1.19	1.07
let-7g-5p	0.99998	1.21	1.17	1.17	1.36	1.44	1.41	1.16	1.14	1.12
miR-100-5p	0.99998	1.03	0.96	0.95	0.92	0.87	0.98	0.91	1.00	0.73
miR-101-3p	0.99998	1.74	1.34	1.57	1.69	2.03	1.97	1.31	1.66	0.92
miR-103a-3p	0.99998	1.10	1.09	1.05	1.10	1.14	1.18	1.10	1.14	1.02
miR-106b-5p	0.99998	1.40	1.35	1.35	1.43	1.54	1.45	1.29	1.38	1.05
miR-107	0.99998	1.16	1.20	1.10	1.16	1.18	1.27	1.15	1.20	1.11
miR-10a-5p	0.99998	0.96	0.84	0.89	0.79	0.81	0.81	0.83	0.88	0.82
miR-1207-5p	0.99998	0.94	0.94	1.04	1.13	1.09	1.11	1.01	0.91	1.27
miR-1225-5p	0.99998	0.95	1.00	1.05	1.09	1.02	1.02	1.01	0.94	1.14
miR-1228-3p	0.99998	0.96	1.02	0.98	0.97	1.04	0.95	1.02	1.00	1.08
miR-1233-5p	0.99998	1.13	1.09	1.60	1.42	1.27	1.53	1.21	1.31	1.66
miR-1234-3p	0.99998	0.93	1.06	0.99	1.01	1.07	0.95	1.03	0.94	1.06
miR-1237-3p	0.99998	0.99	1.01	1.05	1.02	1.03	1.01	0.95	1.00	1.18
miR-1238-3p	0.99998	0.93	1.03	0.98	0.90	0.98	0.84	1.00	0.94	0.88
miR-126-3p	0.99998	1.37	1.10	1.20	1.34	1.56	1.49	1.11	1.30	0.89
miR-1260a	0.99998	1.41	1.45	1.19	0.97	1.47	1.12	1.13	1.46	0.98

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-1260b	0.99998	1.24	1.20	1.25	0.97	1.25	1.03	1.05	1.26	0.88
miR-1268a	0.99998	1.27	1.34	1.22	1.42	1.38	1.36	1.25	1.20	1.10
miR-1271-5p	0.99998	1.03	0.98	0.92	0.94	0.89	0.96	0.97	1.03	0.71
miR-1273g-3p	0.99998	0.87	0.86	1.03	1.11	0.90	1.12	0.98	0.94	1.29
miR-1275	0.99998	1.10	1.12	1.06	1.04	1.03	1.06	1.08	1.09	1.06
miR-128-3p	0.99998	0.91	0.90	0.86	0.84	0.78	0.85	0.86	0.95	0.64
miR-1281	0.99998	0.93	1.03	1.03	0.98	0.98	0.94	1.04	0.93	1.02
miR-1285-3p	0.99998	0.87	0.86	0.84	0.81	0.84	0.78	0.82	0.82	0.89
miR-129-2-3p	0.99998	1.06	1.07	1.04	1.02	0.95	1.00	1.03	1.02	0.92
miR-1304-3p	0.99998	1.04	1.17	1.11	0.97	1.19	1.02	1.17	1.11	1.01
miR-1306-5p	0.99998	1.00	1.04	0.97	0.99	0.98	1.04	1.03	1.04	0.91
miR-130a-3p	0.99998	1.11	1.14	1.11	1.15	1.13	1.15	1.06	1.14	0.98
miR-140-3p	0.99998	0.86	0.83	0.88	0.89	0.79	0.84	0.88	0.88	0.75
miR-142-3p	0.99998	1.00	0.89	0.84	0.72	0.93	0.73	0.83	0.92	0.60
miR-142-5p	0.99998	1.60	1.54	1.44	1.26	1.52	1.52	1.32	1.48	0.93
miR-144-3p	0.99998	1.81	1.22	1.72	1.66	2.14	2.23	1.59	1.47	0.87
miR-144-5p	0.99998	1.64	1.10	1.43	1.59	1.67	1.56	1.02	1.18	0.97
miR-146a-5p	0.99998	1.11	1.12	0.98	0.91	1.04	1.00	0.98	1.06	1.09
miR-146b-5p	0.99998	0.87	0.82	0.77	0.74	0.83	0.80	0.71	0.88	0.71
miR-148a-3p	0.99998	1.35	1.34	1.18	1.28	1.47	1.36	1.20	1.38	1.42
miR-148b-3p	0.99998	0.91	0.89	0.86	0.88	0.87	0.88	0.89	0.89	0.66
miR-150-5p	0.99998	0.98	0.99	1.04	0.98	0.85	0.93	0.98	0.98	0.92
miR-151a-3p	0.99998	0.84	0.81	0.81	0.74	0.70	0.70	0.79	0.79	0.95
miR-151a-5p	0.99998	0.81	0.83	0.88	0.81	0.77	0.78	0.86	0.80	0.77
miR-151b	0.99998	0.95	1.00	0.97	0.99	0.95	0.94	0.96	0.95	0.98
miR-155-5p	0.99998	0.96	1.13	0.80	1.22	1.03	1.03	0.91	0.87	1.19
miR-1587	0.99998	1.04	1.12	1.05	1.08	1.18	1.19	1.15	1.17	1.22
miR-15a-3p	0.99998	1.05	1.06	1.03	0.98	1.04	1.10	1.02	1.14	0.98
miR-15a-5p	0.99998	1.31	1.16	1.17	1.18	1.45	1.31	1.17	1.25	0.98
miR-15b-5p	0.99998	0.89	0.90	0.91	0.98	0.94	1.03	0.90	0.92	0.85
miR-16-2-3p	0.99998	2.14	2.22	2.03	1.78	1.99	2.43	2.21	2.04	1.12
miR-16-5p	0.99998	1.20	1.21	1.12	1.22	1.22	1.37	1.11	1.13	0.93
miR-17-5p	0.99998	1.32	1.20	1.17	1.33	1.36	1.43	1.24	1.33	0.88
miR-181a-2-3p	0.99998	0.91	0.89	0.90	0.80	0.81	0.82	0.85	0.87	0.74
miR-181a-5p	0.99998	1.33	1.43	1.36	1.27	1.55	1.38	1.39	1.37	1.81
miR-181b-5p	0.99998	1.16	1.19	1.12	1.04	1.16	1.12	1.12	1.10	1.19
miR-1825	0.99998	1.13	1.23	1.16	1.05	1.19	1.06	1.16	1.16	0.91
miR-183-3p	0.99998	0.92	0.91	0.93	0.90	0.86	0.93	0.95	1.00	0.69
miR-185-5p	0.99998	0.97	1.09	1.05	1.01	0.97	1.05	1.06	1.05	1.26
miR-18a-5p	0.99998	1.59	1.34	1.36	1.61	1.95	1.83	1.43	1.76	0.85
miR-18b-5p	0.99998	1.47	1.39	1.38	1.49	1.80	1.71	1.34	1.67	0.97
miR-1908-3p	0.99998	1.13	1.05	1.02	0.98	1.13	1.02	1.05	1.06	0.99

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-191-3p	0.99998	0.99	1.05	1.00	0.92	0.94	0.93	1.01	0.91	0.94
miR-191-5p	0.99998	1.16	1.04	1.01	0.98	0.87	0.93	1.03	1.07	0.83
miR-1915-3p	0.99998	1.18	1.17	1.19	1.22	1.24	1.21	1.20	1.25	1.21
miR-192-5p	0.99998	0.81	0.77	0.88	0.77	0.68	0.74	0.77	0.77	0.73
miR-194-5p	0.99998	1.03	0.98	1.01	0.91	0.89	0.95	0.94	1.02	0.65
miR-195-5p	0.99998	1.08	1.06	0.92	0.91	1.11	0.94	0.89	1.10	0.70
miR-196b-5p	0.99998	1.05	1.04	1.05	0.98	1.14	1.16	1.01	1.13	1.06
miR-197-3p	0.99998	1.00	1.11	1.08	0.97	1.00	0.98	1.10	1.09	0.89
miR-199b-5p	0.99998	0.93	0.76	0.83	0.82	0.76	0.82	0.77	0.87	0.76
miR-19a-3p	0.99998	1.18	0.99	1.05	1.02	1.11	1.13	0.99	1.15	0.91
miR-19b-3p	0.99998	1.02	0.97	1.10	0.95	1.02	1.05	1.00	1.06	0.99
miR-200c-3p	0.99998	0.95	1.03	1.01	1.05	1.07	1.03	0.97	1.03	1.08
miR-20a-5p	0.99998	1.35	1.32	1.30	1.55	1.75	1.69	1.20	1.46	0.87
miR-20b-5p	0.99998	1.29	1.27	1.17	1.33	1.38	1.36	1.27	1.33	0.86
miR-21-3p	0.99998	1.42	1.52	1.39	1.42	1.62	1.49	1.51	1.51	1.20
miR-21-5p	0.99998	1.07	0.90	1.12	1.02	1.18	1.10	0.85	1.03	0.99
miR-211-3p	0.99998	1.24	1.19	1.15	1.12	1.27	1.25	1.14	1.28	1.09
miR-212-3p	0.99998	1.09	0.96	1.23	1.27	1.04	1.07	1.06	1.11	1.22
miR-215-5p	0.99998	0.91	0.83	0.88	0.82	0.76	0.79	0.80	0.91	0.56
miR-221-3p	0.99998	1.53	1.50	1.24	1.29	1.44	1.44	1.38	1.47	1.10
miR-223-3p	0.99998	0.95	0.91	1.00	0.92	0.83	0.89	0.88	0.92	0.97
miR-23a-3p	0.99998	0.86	0.81	0.87	0.79	0.80	0.75	0.84	0.85	0.78
miR-23b-3p	0.99998	0.85	0.85	0.89	0.86	0.80	0.78	0.87	0.91	0.66
miR-24-3p	0.99998	0.88	0.89	0.89	0.92	0.89	0.92	0.97	0.91	0.87
miR-25-3p	0.99998	0.97	0.96	1.01	0.99	0.93	0.92	1.05	0.98	0.88
miR-26a-5p	0.99998	1.00	0.95	0.95	0.95	0.98	0.97	0.98	1.06	0.65
miR-26b-5p	0.99998	0.91	0.79	0.86	0.96	0.97	0.94	0.75	0.87	0.84
miR-27a-3p	0.99998	1.01	0.92	1.01	1.08	0.95	0.95	0.96	0.99	0.54
miR-27b-3p	0.99998	0.90	0.85	0.80	0.87	0.90	0.90	0.82	0.96	0.75
miR-28-5p	0.99998	0.83	0.86	0.88	0.83	0.80	0.80	0.83	0.85	0.86
miR-2861	0.99998	1.07	1.07	1.08	1.14	1.17	1.17	1.13	1.15	1.31
miR-29a-3p	0.99998	1.02	1.02	1.04	1.00	0.97	1.04	1.02	1.07	0.99
miR-29b-3p	0.99998	1.40	1.32	1.25	1.28	1.47	1.40	1.24	1.39	1.22
miR-29c-3p	0.99998	1.30	1.29	1.24	1.27	1.37	1.40	1.24	1.33	1.18
miR-29c-5p	0.99998	0.96	0.87	0.86	0.80	0.78	0.73	0.91	0.87	0.75
miR-301a-3p	0.99998	1.41	1.06	1.25	1.36	1.60	1.40	0.98	1.26	0.99
miR-30c-1-3p	0.99998	0.97	1.02	0.99	0.94	0.95	0.95	0.95	0.98	1.00
miR-30d-5p	0.99998	1.04	1.01	0.99	0.87	0.86	0.83	1.04	0.97	0.78
miR-30e-3p	0.99998	0.78	0.77	0.76	0.71	0.70	0.62	0.76	0.77	0.57
miR-30e-5p	0.99998	1.22	1.17	1.09	1.09	1.16	1.19	1.12	1.22	1.01
miR-3125	0.99998	0.98	0.94	1.19	1.07	0.97	1.17	1.13	1.03	1.40
miR-3127-5p	0.99998	1.03	1.04	1.18	1.18	1.05	1.29	1.06	1.08	1.33

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-3135b	0.99998	1.60	1.66	1.46	1.39	1.67	1.72	1.55	1.64	1.41
miR-3156-5p	0.99998	1.01	0.92	1.10	1.11	0.93	1.18	1.06	1.09	1.31
miR-3162-3p	0.99998	0.98	1.07	0.99	0.94	1.08	0.87	1.06	0.94	0.92
miR-3162-5p	0.99998	1.09	1.05	1.20	1.27	1.15	1.20	1.13	1.08	1.40
miR-3180-3p	0.99998	1.14	1.16	1.14	1.08	1.04	1.02	1.15	1.13	0.93
miR-3180-5p	0.99998	1.28	1.01	0.88	1.10	1.01	0.99	1.01	1.03	1.13
miR-3195	0.99998	1.14	1.10	1.09	1.09	1.07	1.17	1.12	1.16	1.29
miR-3196	0.99998	1.33	1.22	1.13	1.18	1.34	1.39	1.26	1.32	1.38
miR-3200-3p	0.99998	1.04	1.05	0.92	0.88	0.93	0.94	1.01	1.04	0.84
miR-3200-5p	0.99998	0.93	0.99	0.91	0.97	0.92	0.90	0.98	0.97	1.02
miR-324-3p	0.99998	0.91	0.97	0.95	1.02	1.01	1.03	1.06	0.93	0.97
miR-324-5p	0.99998	0.97	0.99	0.98	0.96	0.95	0.92	1.01	0.93	0.87
miR-326	0.99998	0.98	1.00	0.97	0.85	0.88	0.80	0.99	0.94	0.70
miR-330-3p	0.99998	0.91	0.88	0.88	0.84	0.87	0.84	0.94	0.89	0.83
miR-331-3p	0.99998	0.86	0.88	0.99	0.99	0.83	0.84	0.98	0.89	0.68
miR-338-3p	0.99998	0.88	0.81	0.82	0.75	0.81	0.72	0.79	0.85	0.82
miR-339-3p	0.99998	1.13	1.06	1.03	1.06	0.93	1.05	1.17	1.09	0.86
miR-33b-3p	0.99998	1.18	1.26	1.24	1.06	1.34	1.17	1.26	1.18	1.09
miR-340-3p	0.99998	0.84	0.84	0.84	0.78	0.73	0.64	0.82	0.81	0.47
miR-340-5p	0.99998	1.93	1.85	1.60	1.63	1.77	1.65	1.52	1.92	1.09
miR-342-3p	0.99998	1.02	0.98	1.03	0.97	0.93	0.92	1.04	0.97	0.91
miR-342-5p	0.99998	0.95	1.12	1.05	1.07	1.06	1.04	1.04	1.00	1.04
miR-361-5p	0.99998	0.89	0.91	0.91	0.88	0.80	0.86	0.89	0.86	0.74
miR-3614-5p	0.99998	1.00	1.16	0.96	0.95	0.93	0.93	1.03	1.02	1.05
miR-362-3p	0.99998	1.17	1.13	1.11	0.92	1.07	1.29	1.05	1.35	0.53
miR-363-3p	0.99998	0.81	0.87	0.83	0.92	0.85	0.87	0.86	0.89	0.82
miR-3651	0.99998	1.19	1.06	1.02	1.16	0.99	1.00	1.11	1.10	1.02
miR-3652	0.99998	1.06	1.06	1.01	1.16	1.19	1.28	1.06	1.05	1.45
miR-3653-3p	0.99998	1.24	1.03	1.08	1.09	1.05	0.81	1.06	1.02	1.29
miR-3656	0.99998	0.99	1.11	1.06	1.11	1.19	1.14	1.13	1.09	1.22
miR-365a-3p	0.99998	1.15	1.11	1.03	0.97	0.97	1.02	1.09	1.07	0.79
miR-3665	0.99998	0.99	0.99	1.03	1.11	1.14	1.12	1.04	1.04	1.24
miR-3667-5p	0.99998	0.97	0.98	0.92	0.88	0.87	0.92	0.94	0.94	0.97
miR-3679-5p	0.99998	1.24	1.24	1.24	1.27	1.22	1.34	1.28	1.21	1.26
miR-374a-5p	0.99998	1.35	1.14	1.09	1.08	1.39	1.41	1.05	1.39	0.65
miR-374b-5p	0.99998	1.20	1.02	1.03	1.09	1.03	1.29	1.05	1.27	0.55
miR-378a-5p	0.99998	0.86	0.89	0.91	0.79	0.78	0.78	0.88	0.85	0.77
miR-3940-3p	0.99998	1.17	1.09	1.06	1.06	1.05	1.13	1.09	1.16	0.96
miR-3940-5p	0.99998	1.26	1.13	1.24	1.33	1.26	1.29	1.26	1.27	1.11
miR-3960	0.99998	0.98	1.01	1.07	1.08	1.08	1.02	1.06	1.00	1.30
miR-409-3p	0.99998	1.01	1.10	0.97	0.99	0.93	1.02	1.06	1.02	0.83
miR-423-3p	0.99998	0.99	0.92	0.84	0.89	0.86	0.80	0.92	0.92	0.68



miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-425-3p	0.99998	1.19	1.28	1.23	1.26	1.19	1.08	1.21	1.19	1.02
miR-4270	0.99998	1.03	1.03	0.97	1.02	0.99	0.97	1.04	1.07	1.01
miR-4281	0.99998	0.96	0.98	1.05	1.12	1.15	1.12	1.02	0.94	1.44
miR-4286	0.99998	1.34	1.31	1.44	1.20	1.44	1.40	1.24	1.39	1.24
miR-4299	0.99998	1.06	1.08	1.09	1.15	1.01	1.09	1.16	1.02	1.14
miR-4313	0.99998	0.95	1.06	1.00	0.94	1.01	0.88	1.01	0.95	0.92
miR-4317	0.99998	0.93	0.86	0.85	0.85	0.82	0.87	0.83	0.93	0.78
miR-4323	0.99998	0.95	1.03	0.98	0.95	0.93	0.89	1.03	0.97	0.79
miR-4433a-5p	0.99998	0.84	1.01	0.96	1.00	1.00	0.98	0.93	0.88	1.19
miR-4459	0.99998	1.04	1.14	1.08	1.32	1.13	1.21	1.15	1.07	1.23
miR-4465	0.99998	1.42	1.40	1.25	1.40	1.23	1.30	1.42	1.34	1.07
miR-4466	0.99998	1.03	1.02	1.02	1.13	1.16	1.13	1.07	1.07	1.20
miR-4484	0.99998	1.25	1.44	1.20	1.30	1.29	1.18	1.37	1.44	1.00
miR-4497	0.99998	1.14	1.04	1.06	1.24	1.06	1.16	1.14	1.11	1.13
miR-4507	0.99998	0.93	1.06	1.01	1.13	1.17	1.22	1.13	1.07	1.27
miR-4515	0.99998	0.96	1.02	1.00	0.98	0.98	0.91	0.99	0.98	1.10
miR-4516	0.99998	0.99	0.98	1.04	1.04	1.00	0.96	1.03	1.02	1.25
miR-451a	0.99998	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
miR-4530	0.99998	0.98	0.98	1.02	1.12	1.06	1.10	1.08	1.02	1.19
miR-454-3p	0.99998	1.15	0.96	1.03	1.06	1.33	1.01	0.90	1.02	0.80
miR-4649-3p	0.99998	0.96	1.06	1.00	0.92	0.94	0.85	1.03	0.93	0.98
miR-4659a-3p	0.99998	1.00	0.91	0.86	0.87	0.75	0.88	0.96	0.97	0.73
miR-4665-3p	0.99998	0.93	1.02	1.00	0.97	1.03	0.96	1.02	0.98	1.07
miR-4672	0.99998	1.03	1.13	1.06	1.20	1.11	1.25	1.13	1.11	1.16
miR-4687-3p	0.99998	1.19	1.20	1.17	1.23	1.21	1.17	1.21	1.19	1.17
miR-4721	0.99998	1.00	1.08	1.04	1.05	1.03	1.10	1.08	1.04	1.34
miR-4725-5p	0.99998	1.10	1.23	1.12	1.09	1.21	1.06	1.12	1.10	0.91
miR-4728-5p	0.99998	0.90	0.92	0.97	1.16	0.94	1.11	0.98	0.97	1.36
miR-4739	0.99998	0.98	1.03	1.00	1.12	1.02	1.03	1.05	0.98	1.04
miR-4746-3p	0.99998	1.06	1.08	1.04	1.16	0.95	1.03	1.12	1.04	1.07
miR-4749-3p	0.99998	0.90	0.99	0.98	0.97	1.01	0.95	0.95	0.86	1.13
miR-4763-3p	0.99998	1.03	1.04	1.02	1.05	1.08	0.97	1.05	1.01	1.06
miR-4769-3p	0.99998	1.04	1.11	1.05	0.97	1.13	1.04	1.08	1.07	1.12
miR-4787-3p	0.99998	0.98	1.04	1.04	0.96	1.08	0.84	1.07	1.03	1.00
miR-4787-5p	0.99998	1.11	1.13	1.12	1.17	1.14	1.10	1.22	1.14	1.17
miR-485-3p	0.99998	1.03	1.16	1.03	1.01	1.02	1.05	1.03	1.08	0.85
miR-486-5p	0.99998	1.00	1.00	0.95	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.08
miR-494-3p	0.99998	1.18	1.31	1.07	1.26	1.06	1.32	1.30	1.31	1.20
miR-5001-5p	0.99998	1.15	1.06	1.12	1.26	1.19	1.27	1.23	1.16	1.32
miR-500a-3p	0.99998	1.03	1.07	1.02	1.04	1.00	1.05	1.12	1.03	0.97
miR-500a-5p	0.99998	1.06	1.00	0.97	0.91	0.92	0.89	1.01	1.00	0.96
miR-500b-5p	0.99998	1.21	1.10	1.03	0.93	0.89	0.96	0.96	1.08	0.84

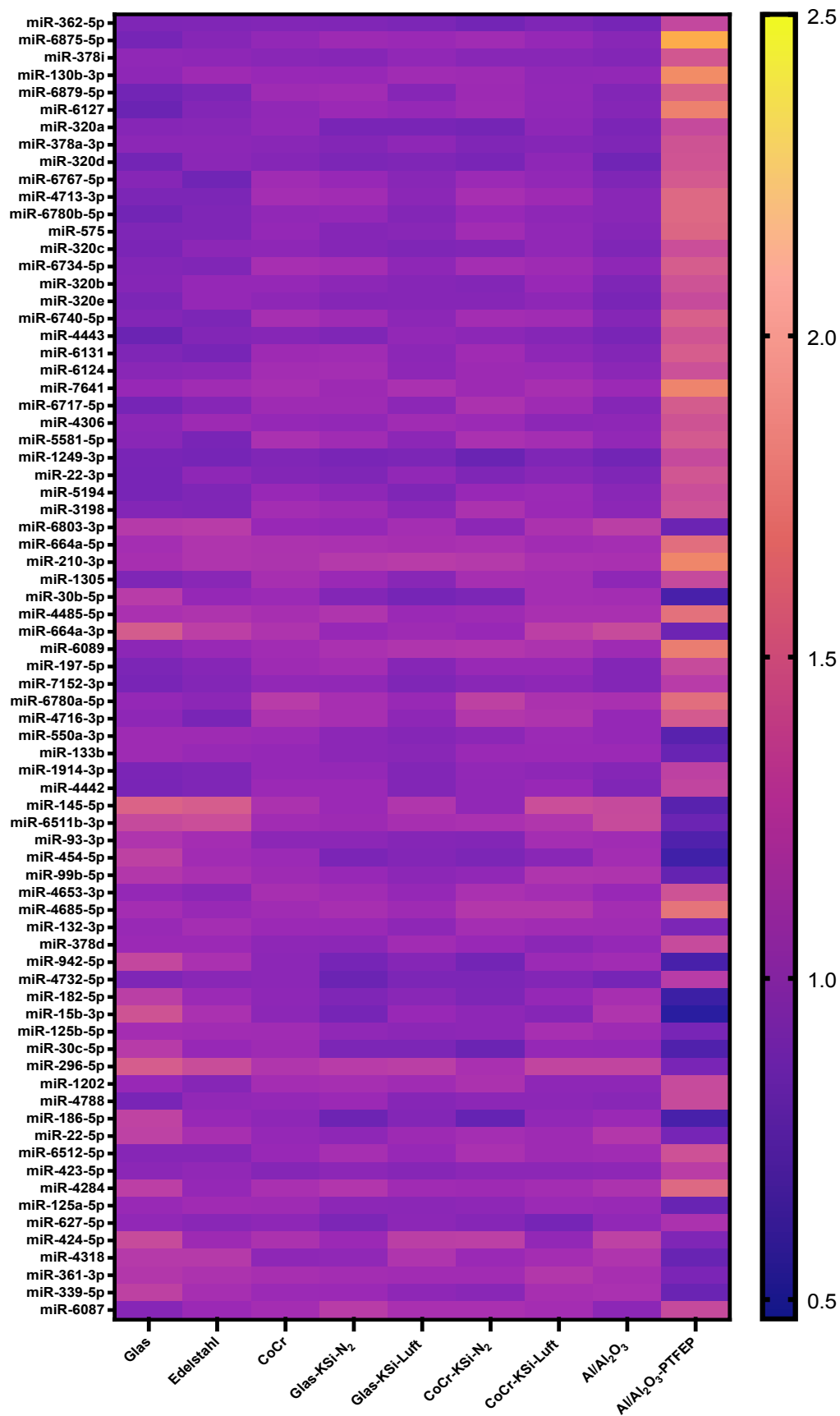
miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-501-3p	0.99998	1.03	1.07	1.02	1.02	1.00	1.00	1.13	1.04	0.93
miR-501-5p	0.99998	0.93	1.00	0.93	0.92	0.85	0.88	1.03	0.91	1.06
miR-502-3p	0.99998	0.90	1.00	1.00	0.95	0.91	0.99	1.04	0.97	0.90
miR-502-5p	0.99998	0.99	1.04	0.97	0.93	0.91	0.95	0.99	1.06	0.75
miR-505-5p	0.99998	0.88	1.08	1.02	1.03	0.99	1.01	1.02	0.99	1.06
miR-5088-5p	0.99998	0.93	0.90	1.10	1.07	1.00	1.15	1.09	1.03	1.22
miR-5100	0.99998	1.40	1.23	1.31	1.10	1.52	1.24	1.08	1.26	1.56
miR-5189-3p	0.99998	0.85	0.88	0.93	0.84	0.81	0.80	0.87	0.91	0.72
miR-532-3p	0.99998	1.09	1.11	1.05	1.01	0.99	1.00	1.17	1.09	0.90
miR-532-5p	0.99998	1.07	1.06	1.00	1.02	1.10	1.13	1.02	1.04	1.03
miR-550a-3-5p	0.99998	0.75	0.87	0.87	0.93	0.84	0.86	0.88	0.82	0.87
miR-550a-5p	0.99998	1.31	1.39	1.19	1.11	1.27	1.12	1.31	1.21	0.94
miR-550b-2-5p	0.99998	0.81	0.91	0.84	0.89	0.92	0.86	0.87	0.93	0.86
miR-5690	0.99998	0.92	0.87	0.84	0.86	0.79	0.79	0.86	0.93	0.78
miR-5739	0.99998	1.17	1.17	1.35	1.26	1.26	1.26	1.15	1.24	1.58
miR-574-3p	0.99998	0.97	1.03	1.04	0.99	1.02	1.04	1.05	1.00	0.86
miR-574-5p	0.99998	1.16	1.18	1.23	1.06	1.37	1.25	1.31	1.18	1.06
miR-584-5p	0.99998	1.27	1.41	1.23	1.20	1.34	1.29	1.31	1.36	1.28
miR-590-5p	0.99998	1.80	1.52	1.86	1.74	2.07	2.03	1.40	1.81	1.18
miR-6069	0.99998	0.97	1.01	0.96	0.94	1.01	0.92	0.99	0.98	0.99
miR-6073	0.99998	1.40	1.46	1.27	1.31	1.46	1.28	1.32	1.57	1.32
miR-6085	0.99998	1.53	1.53	1.44	1.30	1.43	1.37	1.33	1.56	1.38
miR-6088	0.99998	0.91	0.98	0.99	1.06	1.05	0.99	0.98	0.98	1.20
miR-6090	0.99998	0.99	0.95	1.05	1.09	1.06	1.03	1.04	1.00	1.19
miR-6125	0.99998	1.06	1.09	1.08	1.17	1.19	1.19	1.19	1.09	1.20
miR-6126	0.99998	1.33	1.18	1.25	1.17	1.36	1.37	1.23	1.35	1.40
miR-624-5p	0.99998	1.03	0.97	0.93	0.93	0.96	1.02	0.99	1.15	0.98
miR-625-3p	0.99998	1.16	1.21	0.99	1.07	1.13	1.01	1.12	1.11	1.13
miR-625-5p	0.99998	0.87	1.04	1.01	1.03	1.03	0.96	0.93	0.96	1.04
miR-628-3p	0.99998	1.27	1.28	1.11	1.11	1.14	1.21	1.29	1.32	0.84
miR-629-3p	0.99998	0.86	0.94	0.88	0.94	0.89	0.84	0.90	0.88	0.85
miR-629-5p	0.99998	1.20	1.24	1.09	1.09	1.20	1.13	1.13	1.17	1.04
miR-642a-3p	0.99998	1.15	1.14	1.08	1.11	1.03	1.01	1.18	1.15	0.99
miR-6508-5p	0.99998	0.97	1.11	1.03	0.95	1.02	0.85	1.05	1.01	0.99
miR-6513-3p	0.99998	0.94	0.89	0.91	0.85	0.81	0.94	0.88	0.91	0.79
miR-6515-3p	0.99998	0.87	0.98	0.97	0.95	0.94	0.89	0.93	0.88	1.03
miR-652-3p	0.99998	0.95	1.05	1.01	0.99	1.04	1.01	1.06	1.02	1.06
miR-654-3p	0.99998	0.92	0.91	0.91	0.84	0.82	0.83	0.86	0.90	0.61
miR-664b-3p	0.99998	1.02	0.98	1.01	0.93	0.95	0.87	1.04	0.96	1.00
miR-6723-5p	0.99998	1.30	1.30	1.30	1.16	1.23	1.25	1.22	1.29	1.33
miR-6724-5p	0.99998	1.17	1.16	1.15	1.23	1.35	1.25	1.17	1.15	1.26
miR-6737-3p	0.99998	0.91	1.04	1.00	0.97	0.99	0.90	0.98	0.89	1.08

miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-6749-5p	0.99998	1.10	0.97	1.09	1.06	1.05	1.10	0.97	1.06	1.21
miR-6757-5p	0.99998	0.95	0.97	1.01	0.97	0.94	0.97	0.94	0.97	0.99
miR-6763-3p	0.99998	1.00	1.01	1.05	1.11	1.17	1.03	1.05	0.96	1.07
miR-6763-5p	0.99998	1.17	1.04	1.26	1.32	1.20	1.25	1.09	1.21	1.55
miR-6766-3p	0.99998	0.86	0.98	0.89	1.02	0.92	1.03	0.94	0.93	1.23
miR-6777-3p	0.99998	0.97	1.08	1.07	0.97	1.04	0.96	0.99	0.98	1.06
miR-6789-5p	0.99998	1.09	1.08	1.08	1.17	1.13	1.16	1.20	1.21	1.11
miR-6797-3p	0.99998	0.94	1.03	1.00	0.98	0.99	0.88	1.01	0.95	1.00
miR-6798-3p	0.99998	0.95	1.02	1.00	1.08	1.03	1.01	1.05	1.00	1.02
miR-6800-3p	0.99998	1.02	1.12	1.03	1.05	1.07	0.97	1.07	1.03	1.05
miR-6800-5p	0.99998	1.07	1.05	1.02	1.10	1.11	1.09	1.11	1.07	1.14
miR-6803-5p	0.99998	0.99	1.13	1.08	1.18	1.17	1.19	1.22	1.20	1.30
miR-6807-5p	0.99998	1.14	1.16	1.28	1.17	1.17	1.38	1.22	1.19	1.29
miR-6812-3p	0.99998	1.03	1.02	0.97	1.01	0.99	0.89	1.02	0.99	1.09
miR-6813-3p	0.99998	1.07	1.22	1.16	1.08	1.26	1.15	1.21	1.10	0.92
miR-6819-3p	0.99998	0.87	1.09	1.00	1.01	1.01	0.88	0.99	0.87	1.10
miR-6821-5p	0.99998	1.11	1.05	1.07	1.10	1.10	1.04	1.09	1.04	1.10
miR-6824-3p	0.99998	0.91	0.99	0.96	0.97	0.92	0.84	0.97	0.94	1.01
miR-6826-5p	0.99998	1.09	0.99	1.20	1.08	1.15	1.14	0.97	1.03	1.35
miR-6848-3p	0.99998	1.10	1.15	1.04	1.09	1.14	1.10	1.06	1.10	1.36
miR-6851-3p	0.99998	1.08	1.11	1.06	0.97	0.92	0.96	0.95	1.05	1.08
miR-6865-3p	0.99998	1.01	0.98	1.02	1.01	0.93	0.85	0.99	0.90	1.01
miR-6869-5p	0.99998	1.11	1.05	1.15	1.30	1.23	1.33	1.16	1.12	1.46
miR-6870-3p	0.99998	0.86	0.97	0.97	0.94	0.91	0.89	0.89	0.92	1.10
miR-6880-3p	0.99998	0.93	0.96	0.98	1.00	1.06	0.97	1.00	1.00	1.05
miR-6889-3p	0.99998	0.92	1.04	1.03	0.93	0.95	0.92	1.05	0.92	0.97
miR-6891-5p	0.99998	1.17	1.06	1.08	1.23	1.19	1.26	1.17	1.08	1.17
miR-7-1-3p	0.99998	1.10	1.00	1.02	0.91	0.84	0.99	0.96	1.11	0.58
miR-7-5p	0.99998	1.22	1.19	1.16	1.10	1.31	1.21	1.06	1.19	1.05
miR-7107-5p	0.99998	1.39	1.20	1.19	1.33	1.39	1.39	1.25	1.21	1.19
miR-7114-5p	0.99998	1.29	1.25	1.27	1.21	1.34	1.21	1.14	1.32	1.34
miR-762	0.99998	1.18	1.14	1.13	1.25	1.13	1.13	1.19	1.21	1.14
miR-766-3p	0.99998	0.88	1.00	1.01	0.95	0.93	0.92	0.99	0.93	0.80
miR-7704	0.99998	0.97	1.03	1.08	1.19	1.12	1.16	1.13	1.06	1.20
miR-7847-3p	0.99998	0.88	0.95	1.01	1.02	0.94	0.97	0.96	0.90	1.14
miR-7975	0.99998	1.25	1.29	1.35	1.24	1.29	1.20	1.29	1.31	1.10
miR-7977	0.99998	1.55	1.39	1.39	1.23	1.47	1.28	1.25	1.42	1.29
miR-8069	0.99998	1.23	1.14	1.14	1.28	1.07	1.11	1.25	1.17	1.21
miR-8485	0.99998	1.06	1.15	1.19	1.08	1.35	1.34	1.33	1.16	1.18
miR-874-3p	0.99998	1.38	1.30	1.16	1.26	1.14	1.14	1.28	1.39	0.98
miR-892b	0.99998	0.95	0.79	1.05	1.09	0.94	1.08	0.90	1.02	1.30
miR-92a-3p	0.99998	1.05	0.98	0.99	0.90	0.96	0.85	1.00	0.98	0.98

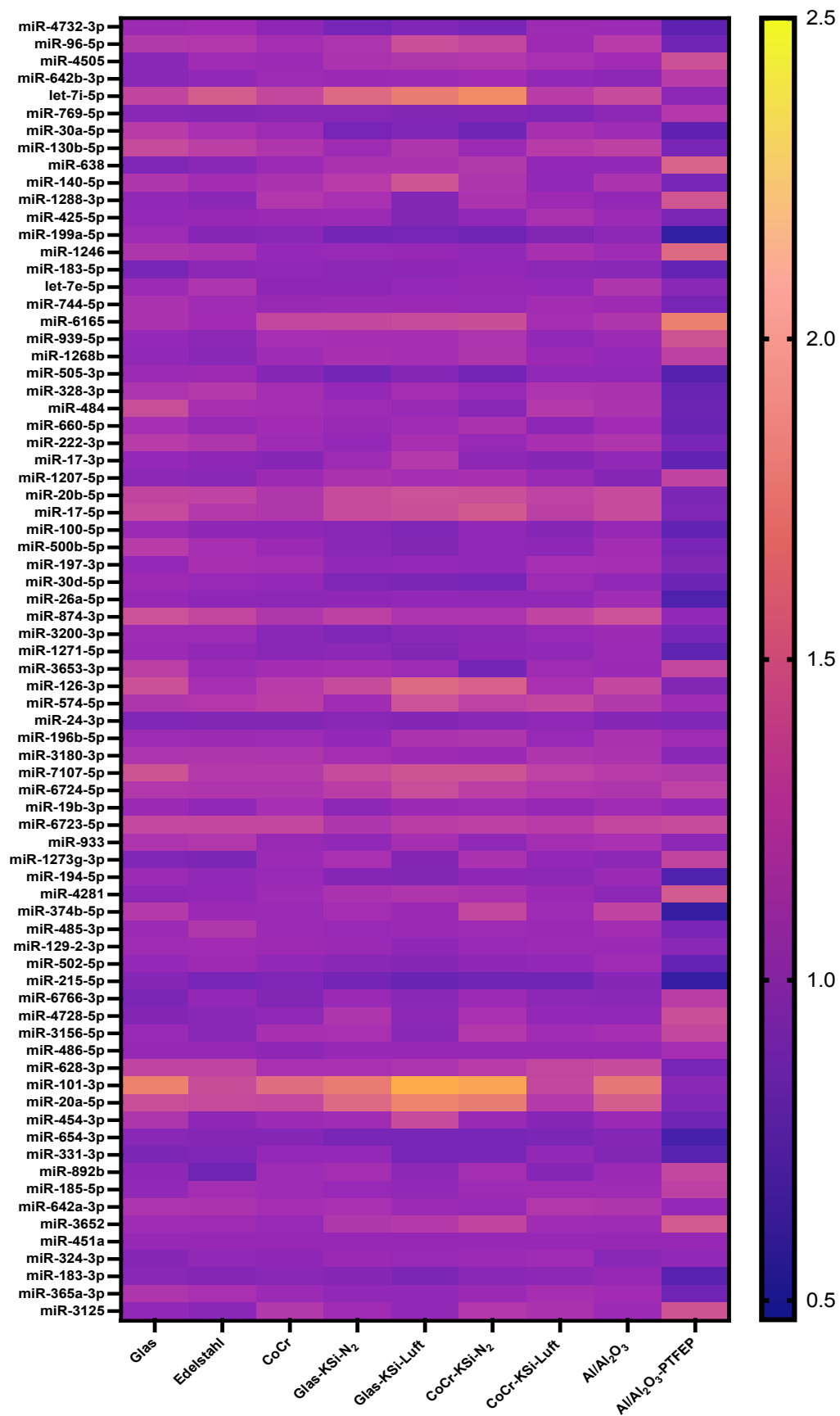
miRNA	ANOVA adj. p-Wert	X Glas	X Edel- stahl	X CoCr	X Glas- KSi- N <sub>2</sub>	X Glas- KSi- Luft	X CoCr- KSi- N <sub>2</sub>	X CoCr- KSi- Luft	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub>	X Al/Al <sub>2</sub> O <sub>3</sub> -PTFEP
miR-93-5p	0.99998	1.38	1.29	1.22	1.42	1.53	1.55	1.28	1.35	0.97
miR-933	0.99998	1.14	1.18	1.01	0.98	1.09	0.96	1.09	1.11	0.94
miR-937-5p	0.99998	1.02	1.04	0.98	1.00	0.98	1.01	1.02	1.09	1.04
miR-940	0.99998	1.07	1.11	1.00	0.97	1.04	0.92	1.05	1.02	0.95
miR-942-3p	0.99998	0.91	0.95	0.87	0.87	0.85	0.83	0.89	0.94	1.03
miR-98-5p	0.99998	1.23	1.21	1.17	1.17	1.36	1.22	1.16	1.17	1.03
miR-99a-5p	0.99998	0.99	0.99	0.89	0.82	0.88	0.90	0.93	0.94	0.68

Anhang 17: Arithmetische Mittel der FC-Werte aller analysierten miRNAs.  
Arithmetische Mittel der FC-Werte dargestellt in einer Tabelle sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs.

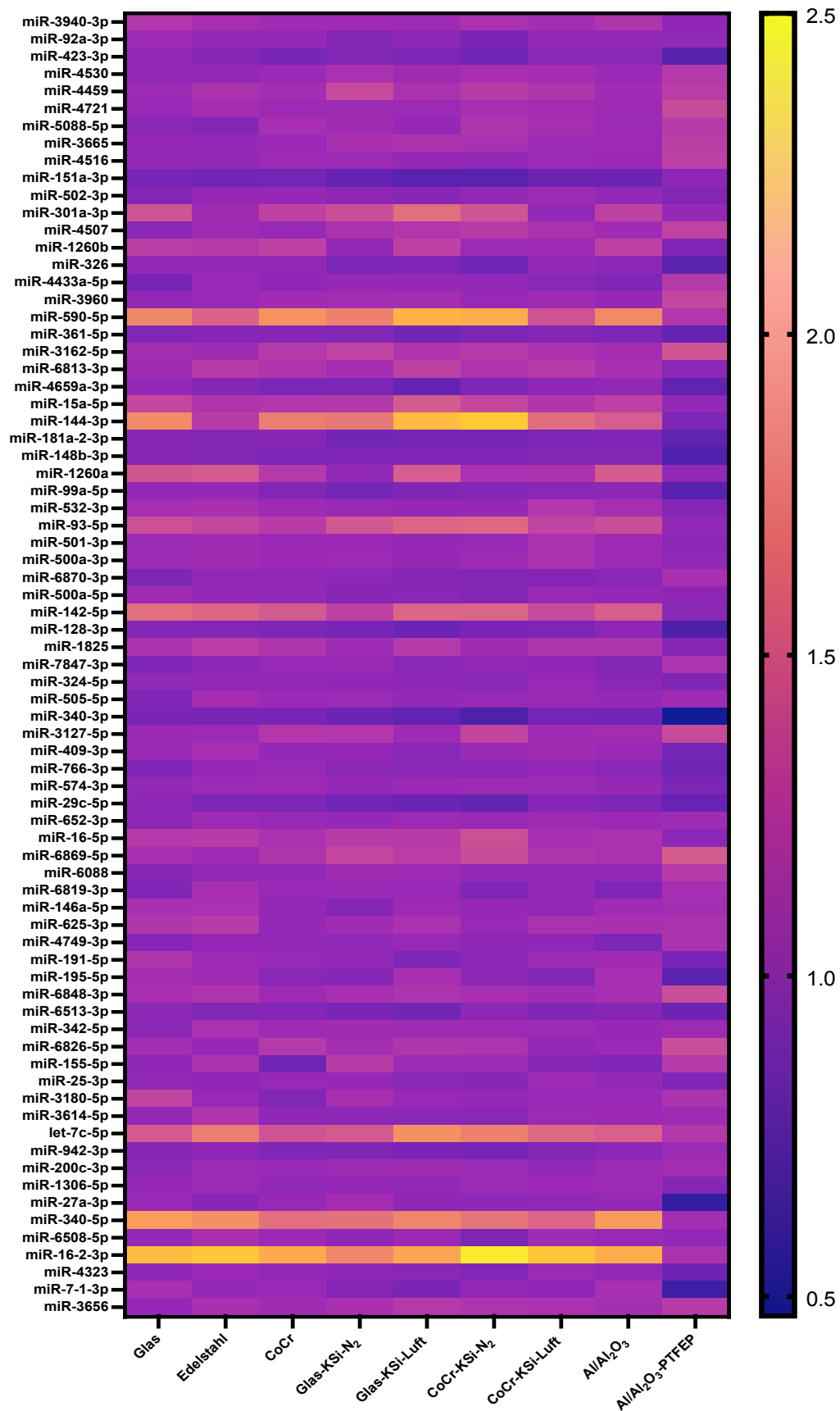
## 6.7 Heatmap der arithmetischen Mittel der FC-Werte



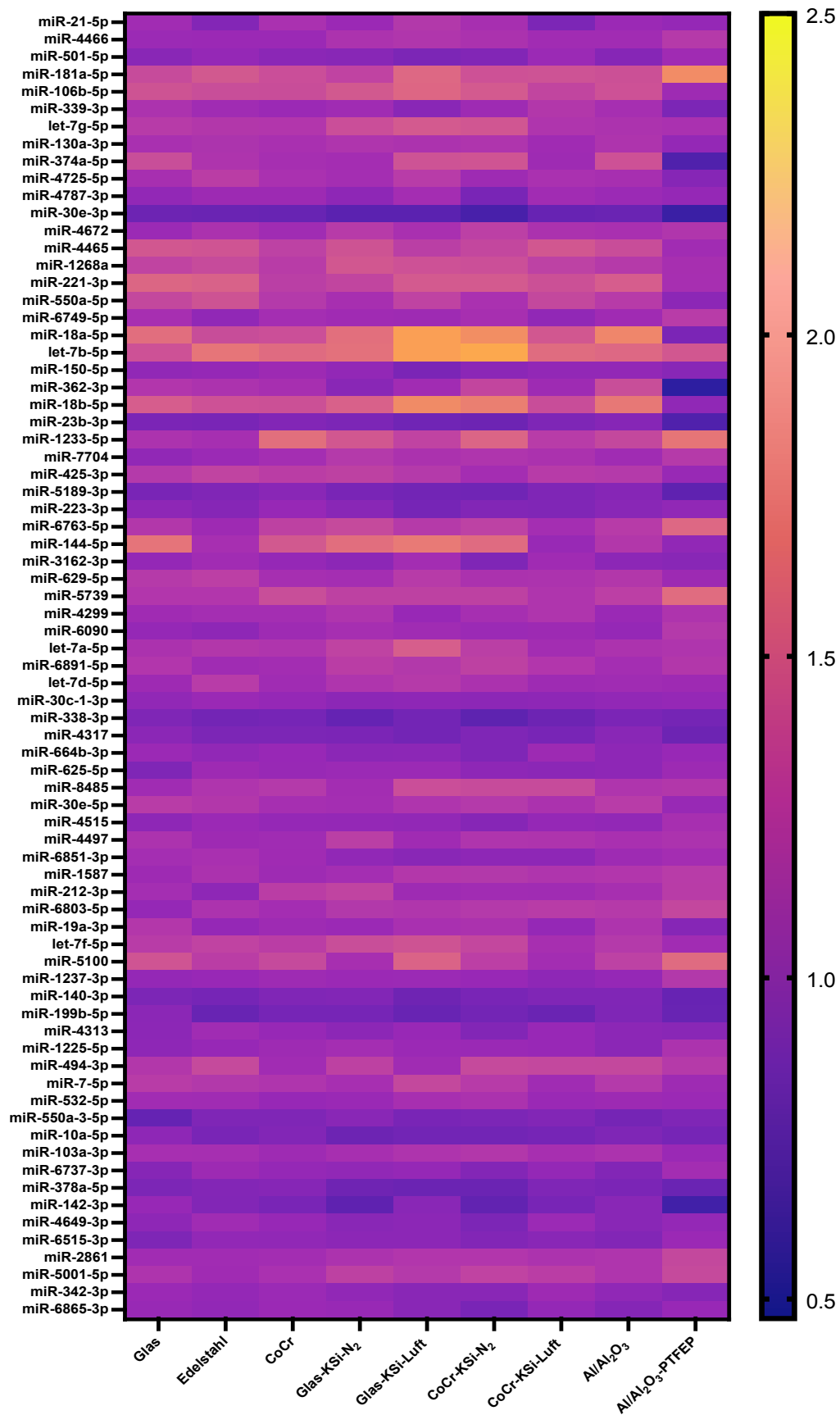
Anhang 18: Arithmetische Mittel der FC-Werte dargestellt als Heatmap sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs (1/5)



Anhang 19: Arithmetische Mittel der FC-Werte dargestellt als Heatmap sortiert nach adj. -Werten der ANOVAs (2/5)

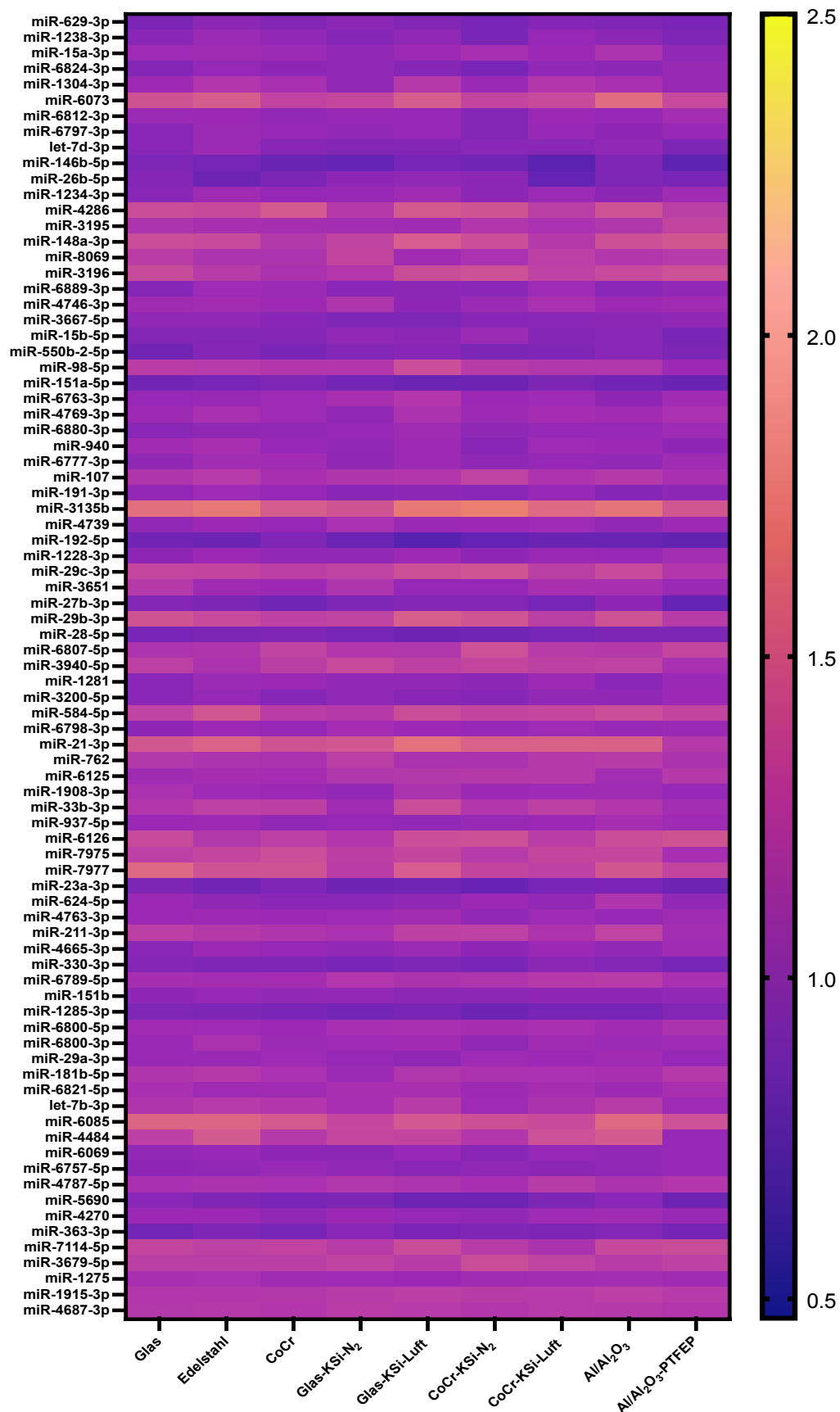


Anhang 20: Arithmetische Mittel der FC-Werte dargestellt als Heatmap sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs (3/5)



Anhang 21: Arithmetische Mittel der FC-Werte dargestellt als Heatmap sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs (4/5)





Anhang 22: Arithmetische Mittel der FC-Werte dargestellt als Heatmap sortiert nach adj. p-Werten der ANOVAs (5/5)

## 7 Literaturverzeichnis

1. Ahmed U, Ashfaq UA, Qasim M, Ahmad I, Ahmad HU, Tariq M, Masoud MS, Khaliq S (2021) Dysregulation of circulating miRNAs promotes the pathogenesis of diabetes-induced cardiomyopathy. *PLOS ONE* 16:e0250773
2. Amann-Vesti B, Arnold C, Panzer U, Stahl RAK, Thaiss F, Wenzel U (2018) *Klinische Pathophysiologie*. 10., vollständig überarbeitete und erweiterte Auflage edition. Georg Thieme Verlag, Stuttgart New York
3. Anderson JM (2001) Biological Responses to Materials. *Annu Rev Mater Res* 31:81–110
4. Ardissino D, Di Somma S, Kubica J, Barberis P, Merlini PA, Eleuteri E, De Servi S, Bramucci E, Specchia G, Montemartini C (1993) Influence of elastic recoil on restenosis after successful coronary angioplasty in unstable angina pectoris. *Am J Cardiol* 71:659–663
5. Barron DJ, Ramchandani B, Murala J, Stumper O, De Giovanni JV, Jones TJ, Stickley J, Brawn WJ (2013) Surgery following primary right ventricular outflow tract stenting for Fallot’s Tetralogy and variants: rehabilitation of small pulmonary arteries†. *Eur J Cardiothorac Surg* 44:656–662
6. Bartel DP (2004) MicroRNAs: Genomics, Biogenesis, Mechanism, and Function. *Cell* 116:281–297
7. Behm-Ansmant I, Rehwinkel J, Doerks T, Stark A, Bork P, Izaurralde E (2006) mRNA degradation by miRNAs and GW182 requires both CCR4:NOT deadenylase and DCP1:DCP2 decapping complexes. *Genes Dev* 20:1885–1898
8. Bhome R, Del Vecchio F, Lee G-H, Bullock MD, Primrose JN, Sayan AE, Mirnezami AH (2018) Exosomal microRNAs (exomiRs): Small molecules with a big role in cancer. *Cancer Lett* 420:228–235
9. Boe BA, Zampi JD, Schumacher KR, Yu S, Armstrong AK (2016) The Use and Outcomes of Small, Medium and Large Premounted Stents in Pediatric and Congenital Heart Disease. *Pediatr Cardiol* 37:1525–1533

10. Braun JE, Truffault V, Boland A, Huntzinger E, Chang C-T, Haas G, Weichenrieder O, Coles M, Izaurralde E (2012) A direct interaction between DCP1 and XRN1 couples mRNA decapping to 5' exonucleolytic degradation. *Nat Struct Mol Biol* 19:1324–1331
11. Briguori C, Sarais C, Pagnotta P, Liistro F, Montorfano M, Chieffo A, Sgura F, Corvaja N, Albiero R, Stankovic G, Toutoutzas C, Bonizzoni E, Di Mario C, Colombo A (2002) In-stent restenosis in small coronary arteries. *J Am Coll Cardiol* 40:403–409
12. Caby M-P, Lankar D, Vincendeau-Scherrer C, Raposo G, Bonnerot C (2005) Exosomal-like vesicles are present in human blood plasma. *Int Immunol* 17:879–887
13. Cesarman-Maus G, Hajjar KA (2005) Molecular mechanisms of fibrinolysis. *Br J Haematol* 129:307–321
14. Chang Y, Fu X, Cui M, Li W, Zhang L, Li X, Li L, Sun Z, Zhang X, Li Z, You X, Nan F, Wu J, Wang X, Zhang M (2019) Activated hippo signal pathway inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in NK/T cell lymphoma cells. *Cancer Med* 8:3892–3904
15. Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang C-Y (2008) Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 18:997–1006
16. Cheng Z, Qiu S, Jiang L, Zhang A, Bao W, Liu P, Liu J (2013) MiR-320a is Downregulated in Patients with Myasthenia Gravis and Modulates Inflammatory Cytokines Production by Targeting Mitogen-activated Protein Kinase 1. *J Clin Immunol* 33:567–576
17. Cheng Z, Zhang Q, Yin A, Feng M, Li H, Liu H, Li Y, Qian L (2018) The long non-coding RNA uc.4 influences cell differentiation through the TGF-beta signaling pathway. *Exp Mol Med* 50:e447–e447
18. Cui C, Yang W, Shi J, Zhou Y, Yang J, Cui Q, Zhou Y (2018) Identification and Analysis of Human Sex-biased MicroRNAs. *Genomics Proteomics Bioinformatics* 16:200–211

19. Dahiya N, Atreya CD (2018) RAP1 Downregulation by miR-320c Reduces Platelet Activation in Ex-vivo Storage. *MicroRNA* 8:36–42
20. Dahlbäck B (2000) Blood coagulation. *Lancet Lond Engl* 355:1627–1632
21. Denli AM, Tops BBJ, Plasterk RHA, Ketting RF, Hannon GJ (2004) Processing of primary microRNAs by the Microprocessor complex. *Nature* 432:231–235
22. Digirolamo GJ, Hintzman DL (1997) First impressions are lasting impressions: A primacy effect in memory for repetitions. *Psychon Bull Rev* 4:121–124
23. Fang X, Song R, Wei J, Liao Q, Zeng Z (2022) Mining Potential Drug Targets and Constructing Diagnostic Models for Heart Failure Based on miRNA-mRNA Networks. *Mediators Inflamm* 2022:1–21
24. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M, Cleman M, Heuser R, Almond D, Teirstein PS, Fish RD, Colombo A, Brinker J, Moses J, Shalovich A, Hirshfeld J, Bailey S, Ellis S, Rake R, Goldberg S (1994) A Randomized Comparison of Coronary-Stent Placement and Balloon Angioplasty in the Treatment of Coronary Artery Disease. *N Engl J Med* 331:496–501
25. Gallo A, Tandon M, Alevizos I, Illei GG (2012) The Majority of MicroRNAs Detectable in Serum and Saliva Is Concentrated in Exosomes. *PLOS ONE* 7:e30679
26. Gidlöf O, van der Brug M, Öhman J, Gilje P, Olde B, Wahlestedt C, Erlinge D (2013) Platelets activated during myocardial infarction release functional miRNA, which can be taken up by endothelial cells and regulate ICAM1 expression. *Blood* 121:3908–3917
27. Gilad S, Meiri E, Yogeve Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholakh H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut A (2008) Serum MicroRNAs Are Promising Novel Biomarkers. *PLOS ONE* 3:e3148
28. Gorbet MB, Sefton MV (2004) Biomaterial-associated thrombosis: roles of coagulation factors, complement, platelets and leukocytes. *Biomaterials* 25:5681–5703
29. Green D (2006) Coagulation cascade. *Hemodial Int* 10:S2–S4

30. Gruentzig AR (1981) Percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Semin Roentgenol* 16:152–153
31. Gurien SD, Aziz M, Jin H, Wang H, He M, Al-Abed Y, Nicastro JM, Coppa GF, Wang P (2020) Extracellular micro RNA 130b-3p inhibits ECIRP -induced inflammation. *EMBO Rep* 21:
32. Ha M, Kim VN (2014) Regulation of microRNA biogenesis. *Nat Rev Mol Cell Biol* 15:509–524
33. Haidar A, Ali AA, Veziroglu S, Fiutowski J, Eichler H, Müller I, Kiefer K, Faupel F, Bischoff M, Veith M, Aktas OC, Abdul-Khaliq H (2019) PTFEP–Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> hybrid nanowires reducing thrombosis and biofouling. *Nanoscale Adv* 1:4659–4664
34. Han J, Lee Y, Yeom K-H, Kim Y-K, Jin H, Kim VN (2004) The Drosha-DGCR8 complex in primary microRNA processing. *Genes Dev* 18:3016–3027
35. Hascoët S, Baruteau A, Jalal Z, Mauri L, Acar P, Elbaz M, Boudjemline Y, Fraise A (2014) Stents in paediatric and adult congenital interventional cardiac catheterization. *Arch Cardiovasc Dis* 107:462–475
36. Hassin RR, Herausgeber (2007) The new unconscious. First issued as an Oxford University Press paperback edition. Oxford University Press, New York
37. Herold G, Herausgeber (2018) Innere Medizin 2018: eine vorlesungsorientierte Darstellung: unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung: mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Gerd Herold, Köln
38. Huang J, Meng Y, Liu Y, Chen Y, Yang H, Chen D, Shi J, Guo Y (2016) MicroRNA-320a Regulates the Osteogenic Differentiation of Human Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells by Targeting HOXA10. *Cell Physiol Biochem* 38:40–48
39. Huang S, Chen M, Li L, He M, Hu D, Zhang X, Li J, Tanguay RM, Feng J, Cheng L, Zeng H, Dai X, Deng Q, Hu FB, Wu T (2014) Circulating MicroRNAs and the Occurrence of Acute Myocardial Infarction in Chinese Populations. *Circ Cardiovasc Genet* 7:189–198

40. Ielasi A, Panoulas V, Mastoris I, Konstantinou K, Tsepili M (2015) Everolimus-eluting stent platforms in percutaneous coronary intervention: comparative effectiveness and outcomes. *Med Devices Evid Res* 317
41. Iftikhar H, Carney GE (2016) Evidence and potential in vivo functions for biofluid miRNAs: From expression profiling to functional testing. *BioEssays* 38:367–378
42. Janatova J (2000) Activation and Control of Complement, Inflammation, and Infection Associated with the Use of Biomedical Polymers. *ASAIO J* 46:S53
43. Jo MH, Shin S, Jung S-R, Kim E, Song J-J, Hohng S (2015) Human Argonaute 2 Has Diverse Reaction Pathways on Target RNAs. *Mol Cell* 59:117–124
44. Jonas S, Izaurralde E (2015) Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing. *Nat Rev Genet* 16:421–433
45. Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, Harrison TR (2016) *Harrisons Innere Medizin*. 19. Auflage, deutsche Ausgabe edition. McGraw-Hill Education, New York
46. Kern F, Aparicio-Puerta E, Li Y, Fehlmann T, Kehl T, Wagner V, Ray K, Ludwig N, Lenhof H-P, Meese E, Keller A (2021) miRTargetLink 2.0—interactive miRNA target gene and target pathway networks. *Nucleic Acids Res* 49:W409–W416
47. Kiefer K, Amlung M, Aktas OC, de Oliveira PW, Abdul-Khaliq H (2016) Novel glass-like coatings for cardiovascular implant application: Preparation, characterization and cellular interaction. *Mater Sci Eng C* 58:812–816
48. Kiefer K, Akpınar G, Haidar A, Ikier T, Akkan CK, Akman E, Lee J, Miró MM, Kaçar E, Demir A, Veith M, Ural D, Kesmez M, Abdul-Khaliq H, Aktaş C Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Micro- and Nanostructures Affect Vascular Cells Response. 12
49. Kim Y-K, Kim VN (2007) Processing of intronic microRNAs. *EMBO J* 26:775–783
50. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C,

Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ, Group ESD, Neumann F-J, Sechtem U, Banning AP, Bonaros N, Bueno H, Bugiardini R, Chieffo A, Crea F, Czerny M, Delgado V, Dendale P, Flachskampf FA, Gohlke H, Grove EL, James S, Katritsis D, Landmesser U, Lettino M, Matter CM, Nathoe H, Niessner A, Patrono C, Petronio AS, Pettersen SE, Piccolo R, Piepoli MF, Popescu BA, Räber L, Richter DJ, Roffi M, Roithinger FX, Shlyakhto E, Sibbing D, Silber S, Simpson IA, Sousa-Uva M, Vardas P, Witkowski A, Zamorano JL, Achenbach S, Agewall S, Barbato E, Bax JJ, Capodanno D, Cuisset T, Deaton C, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Funck-Brentano C, Gersh BJ, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C, Prescott E, Saraste A, Storey RF, Svitil P, Valgimigli M, Windecker S, Aboyans V, Baigent C, Collet J-P, Dean V, Delgado V, Fitzsimons D, Gale CP, Grobbee D, Halvorsen S, Hindricks G, Iung B, Jüni P, Katus HA, Landmesser U, Leclercq C, Lettino M, Lewis BS, Merkely B, Mueller C, Petersen S, Petronio AS, Richter DJ, Roffi M, Shlyakhto E, Simpson IA, Sousa-Uva M, Touyz RM, Benkhedda S, Metzler B, Sujayeva V, Cosyns B, Kusljagic Z, Velchev V, Panayi G, Kala P, Haahr-Pedersen SA, Kabil H, Ainla T, Kaukonen T, Cayla G, Pagava Z, Woehrle J, Kanakakis J, Tóth K, Gudnason T, Peace A, Aronson D, Riccio C, Elezi S, Mirrakhimov E, Hansone S, Sarkis A, Babarskiene R, Beissel J, Maempel AJC, Revenco V, de Grooth GJ, Pejkov H, Juliebø V, Lipiec P, Santos J, Chioncel O, Duplyakov D, Bertelli L, Dikic AD, Studenčan M, Bunc M, Alfonso F, Bäck M, Zellweger M, Addad F, Yildirim A, Sirenko Y, Clapp B (2020) 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes The Task Force for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J* 41:407–477

51. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB (1998) In-Stent Restenosis: Contributions of Inflammatory Responses and Arterial Injury to Neointimal Hyperplasia. *J Am Coll Cardiol* 31:224–230
52. Köster R, Vieluf D, Kiehn M, Sommerauer M, Kähler J, Baldus S, Meinertz T, Hamm CW (2000) Nickel and molybdenum contact allergies in patients with coronary in-stent restenosis. *The Lancet* 356:1895–1897
53. Kröger K (2016) 291e Pathogenese, Prävention und Behandlung der Atherosklerose. ABW Verlag URL: <https://eref.thieme.de/cockpits/clHarrison0004/0/coHarrison0004/4-79>
54. Kuo WP, Tigges JC, Toxavidis V, Ghiran I (2017) Red Blood Cells: A Source of Extracellular Vesicles. Springer New York, New York, NY. URL:

55. Latronico MVG, Condorelli G (2009) MicroRNAs and cardiac pathology. *Nat Rev Cardiol* 6:418–429
56. Lawson C, Wolf S (2009) ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol Rep* 61:22–32
57. Lee K-J, Seto W, Benson L, Chaturvedi RR (2015) Pharmacokinetics of Sirolimus-Eluting Stents Implanted in the Neonatal Arterial Duct. *Circ Cardiovasc Interv* 8:e002233
58. Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V (1993) The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*. *Cell* 75:843–854
59. Leidinger P, Backes C, Rheinheimer S, Keller A, Meese E (2015) Towards Clinical Applications of Blood-Borne miRNA Signatures: The Influence of the Anticoagulant EDTA on miRNA Abundance. *PLOS ONE* 10:e0143321
60. Leonard EF, Vroman L (1992) Is the Vroman effect of importance in the interaction of blood with artificial materials? *J Biomater Sci Polym Ed* 3:95–107
61. Li T, Huang C, Ma J, Ding R, Zhang Q, Wang W (2022) Identification of Inflammation-Related Genes and Exploration of Regulatory Mechanisms in Patients with Osteonecrosis of the Femoral Head. *BioMed Res Int* 2022:1–21
62. Li Y, Liu Y, Fu Y, Wei T, Le Guyader L, Gao G, Liu R-S, Chang Y-Z, Chen C (2012) The triggering of apoptosis in macrophages by pristine graphene through the MAPK and TGF-beta signaling pathways. *Biomaterials* 33:402–411
63. Liu MW, Roubin GS, King SB (1989) Restenosis after coronary angioplasty. Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia. *Circulation* 79:1374–1387
64. Lusis AJ (2000) Atherosclerosis. *Nature* 407:233–241
65. Madonna R, Pieragostino D, Rossi C, Guarnieri S, Nagy CT, Giricz Z, Ferdinandy P, Del Boccio P, Mariggiò MA, Geng Y-J, De Caterina R (2020) Transplantation of



telomerase/myocardin-co-expressing mesenchymal cells in the mouse promotes myocardial revascularization and tissue repair. *Vascul Pharmacol* 135:106807

66. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ (2014) The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *The Lancet* 383:999–1008
67. Mani G, Feldman MD, Patel D, Agrawal CM (2007) Coronary stents: A materials perspective. *Biomaterials* 28:1689–1710
68. McMahon CJ, El-Said HG, Grifka RG, Fraley JK, Nihill MR, Mullins CE (2001) Redilation of endovascular stents in congenital heart disease: factors implicated in the development of restenosis and neointimal proliferation. *J Am Coll Cardiol* 38:521–526
69. Meijer HA, Smith EM, Bushell M (2014) Regulation of miRNA strand selection: follow the leader? *Biochem Soc Trans* 42:1135–1140
70. Miller J, Ohman E (1999) Restenosis: the clinical issues. *Textbook of interventional cardiology*. WB Saunders
71. Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Chiu Wong S, Hong MK, Kovach JA, Leon MB (1996) Arterial Remodeling After Coronary Angioplasty: A Serial Intravascular Ultrasound Study. *Circulation* 94:35–43
72. Morice M-C, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, Colombo A, Schuler G, Barragan P, Guagliumi G, Molnár F, Falotico R (2002) A Randomized Comparison of a Sirolimus-Eluting Stent with a Standard Stent for Coronary Revascularization. *N Engl J Med* 346:1773–1780
73. Nishi K, Nishi A, Nagasawa T, Ui-Tei K (2013) Human TNRC6A is an Argonaute-navigator protein for microRNA-mediated gene silencing in the nucleus. *RNA* 19:17–35
74. Nissen E, Lilja G, Widström A-M, Uvnäs-Moberg K (1995) Elevation of oxytocin levels early post partum in women. *Acta Obstet Gynecol Scand* 74:530–533
75. O'Brien J, Hayder H, Zayed Y, Peng C (2018) Overview of MicroRNA Biogenesis, Mechanisms of Actions, and Circulation. *Front Endocrinol* 9:

76. Okada C, Yamashita E, Lee SJ, Shibata S, Katahira J, Nakagawa A, Yoneda Y, Tsukihara T (2009) A High-Resolution Structure of the Pre-microRNA Nuclear Export Machinery. *Science* 326:1275–1279
77. Rahaman MN, Day DE, Sonny Bal B, Fu Q, Jung SB, Bonewald LF, Tomsia AP (2011) Bioactive glass in tissue engineering. *Acta Biomater* 7:2355–2373
78. Raposo G, Stoorvogel W (2013) Extracellular vesicles: Exosomes, microvesicles, and friends. *J Cell Biol* 200:373–383
79. Ross R (2008) Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *Massachusetts Medical Society* URL: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199901143400207>
80. Ruby JG, Jan CH, Bartel DP (2007) Intronic microRNA precursors that bypass Drosha processing. *Nature* 448:83–86
81. Sambandan S, Akbalik G, Kochen L, Rinne J, Kahlstatt J, Glock C, Tushev G, Alvarez-Castelao B, Heckel A, Schuman EM (2017) Activity-dependent spatially localized miRNA maturation in neuronal dendrites. *Science* 355:634–637
82. Sang Y, Roest M, de Laat B, de Groot PG, Huskens D (2021) Interplay between platelets and coagulation. *Blood Rev* 46:100733
83. Schmidt WM, Spiel AO, Jilma B, Wolzt M, Müller M (2009) In vivo profile of the human leukocyte microRNA response to endotoxemia. *Biochem Biophys Res Commun* 380:437–441
84. Schömig A, Dibra A, Windecker S, Mehilli J, Suárez de Lezo J, Kaiser C, Park S-J, Goy J-J, Lee J-H, Di Lorenzo E, Wu J, Jüni P, Pfisterer ME, Meier B, Kastrati A (2007) A Meta-Analysis of 16 Randomized Trials of Sirolimus-Eluting Stents Versus Paclitaxel-Eluting Stents in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol* 50:1373–1380
85. Shen H, Lu S, Dong L, Xue Y, Yao C, Tong C, Wang C, Shu X (2018) hsa-miR-320d and hsa-miR-582, miRNA Biomarkers of Aortic Dissection, Regulate Apoptosis of Vascular Smooth Muscle Cells. *J Cardiovasc Pharmacol* 71:275–282

86. Shi J, Liu H, Wang H, Kong X (2016) MicroRNA Expression Signature in Degenerative Aortic Stenosis. *BioMed Res Int* 2016:1–6
87. Song X, Chen G, Sun Z, Shang P, You G, Zhao J, Liu S, Han D, Zhou H (2019) Matrix Stiffening Induce Endothelial Dysfunction Via the TRPV4/MicroRNA-6740/ET-1 Mechanotransduction Pathway. *SSRN Electron J*
88. Tabuchi N, Shibamiya A, Koyama T, Fukuda T, Oeveren W van, Sunamori M (2003) Activated Leukocytes Adsorbed on the Surface of an Extracorporeal Circuit. *Artif Organs* 27:591–594
89. Tan J, Shen J, Zhu H, Gong Y, Zhu H, Li J, Lin S, Wu G, Sun T (2020) miR-378a-3p inhibits ischemia/reperfusion-induced apoptosis in H9C2 cardiomyocytes by targeting TRIM55 via the DUSP1-JNK1/2 signaling pathway. *Aging* 12:8939–8952
90. Tanabe K, Serruys PW, Grube E, Smits PC, Selbach G, van der Giessen WJ, Staberock M, de Feyter P, Müller R, Regar E, Degertekin M, Ligthart JMR, Disco C, Backx B, Russell ME (2003) TAXUS III Trial: In-Stent Restenosis Treated With Stent-Based Delivery of Paclitaxel Incorporated in a Slow-Release Polymer Formulation. *Circulation* 107:559–564
91. Tang J, Jin L, Liu Y, Li L, Ma Y, Lu L, Ma J, Ding P, Yang X, Liu J, Yang J (2020) Exosomes Derived from Mesenchymal Stem Cells Protect the Myocardium Against Ischemia/Reperfusion Injury Through Inhibiting Pyroptosis. *Drug Des Devel Ther* Volume 14:3765–3775
92. Topper JN, Gimbrone Jr MA (1999) Blood flow and vascular gene expression: fluid shear stress as a modulator of endothelial phenotype. *Mol Med Today* 5:40–46
93. Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO (2007) Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 9:654–659
94. Valgimigli M, Campo G, Monti M, Vranckx P, Percoco G, Tumscitz C, Castriota F, Colombo F, Tebaldi M, Fucà G, Kubbajeh M, Cangiano E, Minarelli M, Scalone A, Cavazza C, Frangione A, Borghesi M, Marchesini J, Parrinello G, Ferrari R (2012)

Short- Versus Long-Term Duration of Dual-Antiplatelet Therapy After Coronary Stenting: A Randomized Multicenter Trial. *Circulation* 125:2015–2026

95. van Oeveren W, Tiellu IF, de Hart J (2012) Comparison of Modified Chandler, Roller Pump, and Ball Valve Circulation Models for *In Vitro* Testing in High Blood Flow Conditions: Application in Thrombogenicity Testing of Different Materials for Vascular Applications. *Int J Biomater* 2012:1–7
96. Vasudevan S, Steitz JA (2007) AU-Rich-Element-Mediated Upregulation of Translation by FXR1 and Argonaute 2. *Cell* 128:1105–1118
97. Vlachos IS, Zagganas K, Paraskevopoulou MD, Georgakilas G, Karagkouni D, Vergoulis T, Dalamagas T, Hatzigeorgiou AG (2015) DIANA-miRPath v3.0: deciphering microRNA function with experimental support. *Nucleic Acids Res* 43:W460–W466
98. Vollert JO, Möckel M (2016) 266e Epidemiologie kardiovaskulärer Erkrankungen. ABW Verlag URL: <https://eref.thieme.de/cockpits/0/0/coHarrison0004/4-71>
99. Wang W, Sun G, Zhang L, Shi L, Zeng Y (2014) Circulating MicroRNAs as Novel Potential Biomarkers for Early Diagnosis of Acute Stroke in Humans. *J Stroke Cerebrovasc Dis* 23:2607–2613
100. Wightman B, Ha I, Ruvkun G (1993) Posttranscriptional regulation of the heterochronic gene *lin-14* by *lin-4* mediates temporal pattern formation in *C. elegans*. *Cell* 75:855–862
101. Wilson CJ, Clegg RE, Leavesley DI, Percy MJ (2005) Mediation of biomaterial-cell interactions by adsorbed proteins: a review. *Tissue Eng* 11:1–18
102. World Health Organization (2020) World health statistics 2020: monitoring health for the SDGs, sustainable development goals. Geneva
103. Wu C, Chang J (2012) Mesoporous bioactive glasses: structure characteristics, drug/growth factor delivery and bone regeneration application. *Interface Focus* 2:292–306
104. Yan T, Li X, Nian T, Zhang X, He B, Bi K, Wang Z (2022) Salidroside Inhibits Ischemia/Reperfusion-Induced Myocardial Apoptosis by Targeting Mir-378a-3p Via the

Igflr/Pi3k/Akt Signaling Pathway. Transplant Proc 54:1970–1983

105. Yang J-S, Maurin T, Robine N, Rasmussen KD, Jeffrey KL, Chandwani R, Papapetrou EP, Sadelain M, O'Carroll D, Lai EC (2010) Conserved vertebrate mir-451 provides a platform for Dicer-independent, Ago2-mediated microRNA biogenesis. *Proc Natl Acad Sci* 107:15163–15168
106. Yoda M, Kawamata T, Paroo Z, Ye X, Iwasaki S, Liu Q, Tomari Y (2010) ATP-dependent human RISC assembly pathways. *Nat Struct Mol Biol* 17:17–23
107. Zhang J, Zhu X, Cui J, Chen P, Wang S, Wang J (2012) [Differential expressions of microRNA between young and senescent endothelial cells]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi* 92:2205–2209
108. Zhang R, Qin Y, Zhu G, Li Y, Xue J (2016) Low serum miR-320b expression as a novel indicator of carotid atherosclerosis. *J Clin Neurosci* 33:252–258
109. (2019) Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK - Langfassung, 5. Auflage. Version 1. 124
110. (2020) Statistisches Bundesamt Deutschland - GENESIS-Online. URL: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=abruftabelleBearbeiten&levelindex=2&levelid=1607536681700&auswahloperation=abruftabelleAuspraegungAuswaehlen&auswahlverzeichnis=ordnungsstruktur&auswahlziel=werteabruf&code=23211-0001&auswahltext=&werteabruf=Werteabruf#abreadcrumb>
111. Häufigste Todesursachen weltweit 2016. URL: <https://de.statista.com/statistik/daten/studie/38995/umfrage/weltweite-odesfaelle-aufgrund-chronischer-krankheiten/>
112. 1110132739468.pdf. URL: <http://www.medtronic.com/newsroom/content/1110132739468.pdf>

## Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle bei allen Personen bedanken, die mich während meiner Forschungsarbeit und der Erstellung meiner Dissertation unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Hashim Abdul-Khaliq für die Überlassung des vielversprechenden Promotionsthemas. Durch seine fachliche Kompetenz und Erfahrung bereitete er mir einen ausgezeichneten Einstieg in ein interessantes Forschungsfeld.

Ebenso möchte ich mich bei meiner Betreuerin Frau Dr. rer. nat. Lilia Lemke für die zuverlässige und herzliche Betreuung bedanken. Sie ermutigte mich stets auch in schwierigen Zeiten nicht aufzugeben und unterstützte mich mit wertvollen Anregungen.

Außerdem danke ich Frau M. Sc. Viktoria Wagner vom Zentrum für Bioinformatik der Universität des Saarlandes für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Frau Ina Marsollek möchte ich herzlich für die Hilfe bei der Bearbeitung der Blutproben im Labor danken.

Herrn Priv.- Doz. Dr. rer. nat. Masood Abu-Halima danke ich für seine fachkundige Beantwortung meiner Fragen im Themenbereich der miRNA.

Für die Herstellung und Zurverfügungstellung der neuen glasartigen Beschichtungen bedanke ich mich bei Herrn Dr. Martin Amlung vom Leibniz Institut für Neue Materialien.

Ebenfalls möchte ich mich bei Herrn Univ.-Prof. Dr. David Scheschkewitz und Herrn Thomas Büttner von der Arbeitsgruppe für Allgemeine und Anorganische Chemie der Universität des Saarlandes für die Bereitstellung der  $\text{Al}_2\text{O}_3$  Nanowire Oberflächen insbesondere der hybriden  $\text{Al}/\text{Al}_2\text{O}_3$ -PTFEP Oberflächen bedanken.

Zuletzt möchte ich mich bei meinen Eltern und meiner Freundin bedanken, die mich in allen Phasen meines Studiums und meiner Promotion unterstützt haben und mir stets zur Seite standen.

## **Curriculum vitae**

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Tag der Promotion: 13. März 2024

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D. Menger

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Hashim Abdul-Khaliq

Prof. Dr. rer. nat. Eckart Meese