



Aus dem  
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der  
Technischen Universität München  
(Direktor Prof. Dr. med. B. Gänsbacher)  
und der  
I. Medizinischen Klinik der Technischen Universität München  
(Direktor Prof. Dr. med. A. Schömig)  
angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. med. E. Alt

Eingereicht über den  
Lehrstuhl für Allgemeine Pathologie und Neuropathologie  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München  
(Vorstand: Prof. Dr. med. vet. Dr. med. vet. habil. W. Schmahl)

**Experimentelle Untersuchungen am porzinen „over-sized coronary stent“-  
Modell zur In-Stent-Restenoserate nach Implantation von unbeschichteten und  
mit Iridiumoxid beschichteten Stents aus Niobzirkonium**

Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde  
der Tierärztlichen Fakultät  
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von  
Cornelia Reimer  
aus Mannheim

München 2003

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. R. Stolla
Referent:	Univ.-Prof. Dr. W. Schmahl
Koreferent:	Prof. Dr. W. Rambeck

Tag der Promotion: 18. Juli 2003

Für meine Eltern und meine Schwester

**Inhaltsverzeichnis**

1	Einleitung.....	1
2	Schrifttum .....	2
2.1	Das Schwein als Tiermodell in der Herzforschung .....	2
2.2	Histologie der Koronararterien.....	3
2.3	Endothelfunktion.....	4
2.4	Koronare Herzkrankheit.....	7
2.4.1	Atherosklerose des Menschen.....	7
2.4.1.1	Endotheliale Dysfunktion .....	7
2.4.1.2	Pathogenese der Atherosklerose .....	8
2.4.1.3	Morphologische Beschreibung koronarer Plaques .....	9
2.4.1.4	Plaquestabilität .....	11
2.4.1.4.1	Verfettung und Kalzifizierung .....	11
2.4.1.4.2	Entzündung .....	12
2.4.1.4.3	Infektiöse Agentien.....	13
2.5	Arteriosklerose und Atherosklerose beim Tier .....	13
2.6	Pathologische Anatomie der Myokardischämie .....	14
2.6.1	Makroskopische Befunde .....	14
2.6.2	Histologische Befunde .....	14
2.7	Interventionelle Therapieformen der KHK.....	15
2.7.1	Perkutane Transluminale Koronare Angioplastie (PTCA).....	15
2.7.1.1	Problematik der PTCA.....	16
2.7.1.1.1	Subakute Thrombose.....	16
2.7.1.1.2	Chronische Restenose nach PTCA.....	17
2.7.2	Laserstrahlen/Excimer-Laser-Koronarangioplastie .....	18
2.7.3	Mechanische Verfahren („debulking“).....	18
2.7.3.1	Hochfrequenzrotationsangioplastie (Rotablation).....	18
2.7.3.2	Direktionale Atherektomie (DCA).....	19
2.7.4	Coronary Artery Bypass Grafting (CABG) .....	19
2.7.5	Stents .....	20
2.7.5.1	Geschichte der Stents .....	21
2.7.5.2	Stent-Klassifikation .....	22
2.7.5.3	Stentmodelle.....	23
2.7.5.4	Stentdesign.....	25

2.7.5.5	Stentmaterialien.....	26
2.7.5.6	Trägerpolymere und Beschichtungen für Stents.....	28
2.7.5.7	Problematik der Stentimplantation.....	32
2.7.5.7.1	Subakute Stentthrombose (early outcome).....	32
2.7.5.7.2	Chronische In-Stent-Restenose (late outcome) .....	33
2.7.5.8	Histologie nach Stentimplantation .....	36
2.7.5.8.1	Rasterelektronenmikroskopische Analysen.....	37
2.7.6	Vaskuläre Brachytherapie (VBT) und externe Radiotherapie .....	37
2.7.7	Gentherapie zur Minimierung der Restenose .....	39
2.7.8	Medikamentöse Restenosereduktion.....	40
2.7.8.1	Konventionelle Thrombozytenaggregationshemmer .....	41
2.7.8.2	Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor-Antagonisten.....	41
2.7.8.3	Thrombininhibitoren.....	42
2.7.8.4	Weitere Medikamente zur Inhibition der Restenose .....	43
3	Eigene Untersuchungen .....	45
3.1	Zielsetzung .....	45
3.2	Material und Methoden .....	46
3.2.1	Versuchstiere und deren Haltung .....	46
3.2.2	Versuchsplan .....	46
3.2.3	Versuchsdurchführung.....	48
3.2.3.1	Stent.....	48
3.2.3.1.1	Herstellung der Stents aus Niobzirkonium .....	49
3.2.3.2	Operation.....	49
3.2.3.2.1	Prämedikation und Anästhesie.....	49
3.2.3.2.2	Operatives Vorgehen und Stentimplantation.....	51
3.2.3.2.3	Postoperative Versorgung.....	52
3.2.3.3	Angiographie .....	53
3.2.3.4	Euthanasie, Sektion und Probenentnahme .....	54
3.2.3.5	Probenverarbeitung für die Hartschliffhistologie .....	55
3.2.3.6	Verarbeitung und Einbettung der Proben in Paraffin .....	56
3.2.3.7	Schneiden und Färben der Proben.....	57
3.2.3.8	Durchführung der HE-Reaktion .....	57
3.2.3.9	Färbung mit Resorcinfuchsin .....	58
3.3	Histomorphologie.....	58

---

3.3.1	Histologische Beurteilung der Myokardproben .....	58
3.3.2	Beurteilung der stenttragenden Myokardproben.....	59
3.3.3	Beurteilung der stenttragenden Gefäßsegmente .....	59
3.3.4	Untersuchung der Referenzquerschnitte .....	60
3.3.5	Verletzungsgrad der Gefäßwand/Injury Score (IS) .....	60
3.3.6	Symmetrie der Stentaufdehnung (AD).....	61
3.4	Histomorphometrie .....	62
3.4.1	Neointimale Fläche (NF).....	62
3.4.2	Mittlere berechnete Neointimadicke (mNID) .....	63
3.4.3	Mittlere absolute Neointimadicke (mNIT).....	63
3.4.4	Relative Neointimafläche (RF).....	63
3.4.5	Relativer Restenosediameter (RD).....	64
3.4.6	Distanzmessung (D) .....	64
3.5	Statistische Berechnungen und Tests zur Signifikanz .....	65
3.6	Ergebnisse.....	66
3.6.1	Überlebensrate .....	66
3.6.2	Verlauf der Implantation.....	66
3.6.3	Angiographische Ergebnisse .....	71
3.6.3.1	Gefäßdiameter.....	74
3.6.3.2	Überdehnungsfaktor .....	75
3.6.3.3	Ballon-to-vessel-ratio (BTV).....	76
3.6.3.4	Angiographische Restenose.....	77
3.6.4	Pathologisch-anatomische Befunde am Herz und an Koronargefäßen ..	77
3.6.5	Ergebnisse der Histomorphologie.....	79
3.6.5.1	Histopathologische Befunde an Herzen .....	79
3.6.5.2	Histopathologische Befunde an stenttragenden Myokardproben ....	80
3.6.5.3	Histopathologische Befunde an stenttragenden Gefäßsegmenten..	81
3.6.5.4	Histopathologische Befunde an Referenzgefäßen .....	85
3.6.5.5	Ergebnisse des Verletzungsindex (IS).....	85
3.6.5.6	Ergebnisse der Symmetrie der Stentaufdehnung (AD).....	85
3.6.6	Ergebnisse der Histomorphometrie .....	86
3.6.6.1	Neointimale Fläche (NF).....	87
3.6.6.2	Mittlere berechnete Neointimadicke (mNID).....	90
3.6.6.3	Mittlere absolute Neointimadicke (mNIT).....	90

3.6.6.4	Relative Neointimafläche nach Schwartz (RF) .....	90
3.6.6.5	Relativer Restenosediameter (RD).....	91
3.6.6.6	Distanzmessung (D) .....	91
3.6.7	Korrelationen .....	92
4	Diskussion .....	94
4.1	Material und Methoden .....	94
4.1.1	Wahl der Versuchstierspezies .....	94
4.1.2	Standardisierte postmortale humane Stentimplantation .....	97
4.1.3	Stent .....	97
4.1.3.1	Design und Material.....	97
4.1.3.2	Eigenschaften der Iridiumoxid-Oberfläche.....	100
4.1.4	Auswertungstechniken.....	100
4.1.4.1	Angiographie .....	100
4.1.4.2	Hartschliffhistologie .....	101
4.1.4.3	Paraffinhistologie .....	102
4.1.4.4	Histomorphometrie .....	102
4.2	Ergebnisse.....	103
4.2.1	Implantationsdaten .....	103
4.2.2	Angiographische Untersuchungen.....	103
4.2.3	Pathologie der Herzen und der Myokardproben .....	104
4.2.4	Histomorphologie.....	105
4.2.4.1	Verletzungsgrad der Gefäßwand (IS).....	107
4.2.4.2	Aufdehnung der Stents (AD).....	107
4.2.5	Histomorphometrie .....	108
4.2.5.1	Neointimale Fläche (NF).....	109
4.2.5.2	Mittlere berechnete Neointimafläche (mNID).....	109
4.2.5.3	Mittlere absolute Neointimadicke (mNIT).....	110
4.2.5.4	Restenoserate .....	110
4.2.5.5	Distanzmessungen .....	110
4.2.5.6	Korrelationen .....	111
4.3	Schlussfolgerung und Ausblick.....	111
5	Zusammenfassung .....	114
6	Summary .....	116
7	Literaturverzeichnis.....	118

8	Tabellenverzeichnis .....	137
9	Abbildungsverzeichnis .....	140
10	Abkürzungsverzeichnis .....	143
11	Danksagung.....	148
12	Lebenslauf .....	149

## 1 EINLEITUNG

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind als klinische Manifestation der Atherosklerose in den westlichen Nationen noch immer die Haupttodesursache. In Deutschland sind etwa 20% aller Todesfälle auf koronare Herzkrankheit (KHK) zurückzuführen. Die Ausbildung eines Thrombus auf rupturierten atherosklerotischen Plaques führt zu klinischen Symptomen. Die Hälfte der betroffenen Menschen stirbt infolge eines akuten Myokardinfarkts, die anderen 50% unterliegen chronisch kardialen Folgen der KHK, insbesondere der Herzinsuffizienz. Jenseits des 40. Lebensjahres ist die KHK die häufigste Herzerkrankung und bei 20% aller Frauen und 40% aller Männer die Todesursache [RECKER, 2001].

Die Einführung koronarer Stents stellt einen Meilenstein in der interventionellen Kardiologie zur Therapie stenosierter Koronargefäße dar. Die Überlegenheit dieses Behandlungsprinzips gegenüber der alleinigen Ballonangioplastie wird in randomisierten klinischen Studien belegt und hat zu einer deutlichen Zunahme der Stentimplantationen seit ihrer Einführung 1986 geführt [FISCHMAN et al., 1994][SERRUYS et al., 1994]. Dennoch bleibt die In-Stent-Restenose ein bisher ungelöstes klinisches und zunehmend auch finanzielles Problem.

Die Anzahl kommerziell verfügbarer Stents, die sich sowohl im Werkstoff als auch im Design unterscheiden, ist in den letzten Jahren enorm gestiegen. Obwohl erste Untersuchungen mit abbaubaren Polymeren vielversprechende Ergebnisse gezeigt haben, werden heute verfügbare Stents fast ausnahmslos aus metallischen Werkstoffen gefertigt. Neuere Untersuchungen zeigen, dass das verwendete Metall Auswirkungen auf das Ausmaß der Restenose hat. So unterscheiden sich die Metalllegierungen nicht nur in ihren mechanischen Eigenschaften sondern auch in ihrer Biokompatibilität, zwei Faktoren, die entscheidend bei der Induktion von Entzündungsprozessen und Gewebeproliferation mitwirken [FISCHER et al., 2001]. Es ist nicht auszuschließen, dass die Restenose nach Implantation von Stents aus medizinischem Edelstahl zum Teil auf eine Nickel-, Molybdän- und Chromallergie zurückzuführen ist [KÖSTER et al., 2000].

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, Stents aus Niobzirkonium und die Beschichtung dieser Legierung mit Iridiumoxid auf ihre In-Stent-Restenoserate zu untersuchen.

## 2 SCHRIFTTUM

### 2.1 Das Schwein als Tiermodell in der Herzforschung

Der morphologische Bauplan des Herzens zeigt bei den Säugetieren im Allgemeinen eine große Ähnlichkeit. Die arterielle Gefäßversorgung des Organs folgt bei Mensch und Schwein einem einheitlichen Grundmuster: Die rechte und die linke Koronararterie verlaufen subepikardial und entspringen als einzige Äste der Aorta ascendens unmittelbar oberhalb der Semilunarklappen [ALLWORK, 1987].

Der Ramus interventricularis paraconalis („left anterior descending coronary artery“= LAD) der linken Koronararterie folgt dem Sulcus paraconalis bis gegen die Herzspitze. Der Stamm der A. coronaria sinistra zieht weiter als Ramus circumflexus („left circumflex coronary artery“= LCX) und verläuft, vom linken Herzohr verdeckt, im Sulcus coronarius bis zur Kaudalfläche des Herzens [DYCE et al., 1991][WAIBL und WILKENS, 1996]. Siehe Abb. 1 und 2.

Die Anatomie des Koronargefäßsystems und der Durchmesser der porcinen Koronararterien ist mit menschlichen Kranzgefäßen vergleichbar. Die histologische und biochemische Struktur der Arterien vom muskulären Bautyp sind sehr ähnlich [COHEN, 1985][MULLER et al., 1992][WHITE et al., 1992b][BANNING et al., 1999]. Es bestehen jedoch sowohl interspezifische, als auch individuelle, intraspezifische Unterschiede, was das Aufzweigungsmuster und den Umfang des jeweiligen Versorgungsgebietes dieser beiden Koronararterien angeht [BERTHO, 1964]. Beim Menschen liegt zu 80% der beidseitig koronare Versorgungstyp vor [MEYER et al., 2000], beim Schwein beteiligen sich immer die linke und die rechte Herzkranzarterie etwa zu gleichen Anteilen an der Myokardversorgung [WAIBL und WILKENS, 1996]. Der koronare Kollateralkreislauf ist beim Schweineherzen nur sehr spärlich ausgebildet. Er besteht aus einem feinen intramuralen Netzwerk von anastomotisch verbundenen Gefäßen, das mit dem kollateralen Koronargeflecht beim herzgesunden Menschen vergleichbar ist [COHEN, 1985]. Eine vollständige Koronarienunterbindung führt beim Schwein zu einem maximal großen Infarkt. Beim Menschen können unter pathologischen Bedingungen präformierte Kollaterale und Anastomosen zu weiterlumigen Gefäßen ausgebaut werden. Ihre Ausbildung ist proportional zum Grad der Lumeneinengung. In ihrer Häufigkeit werden sie mit 6 bis 100% angegeben, die Durchmesser variieren von 20 bis 300 µm [MEYER et al., 2000].

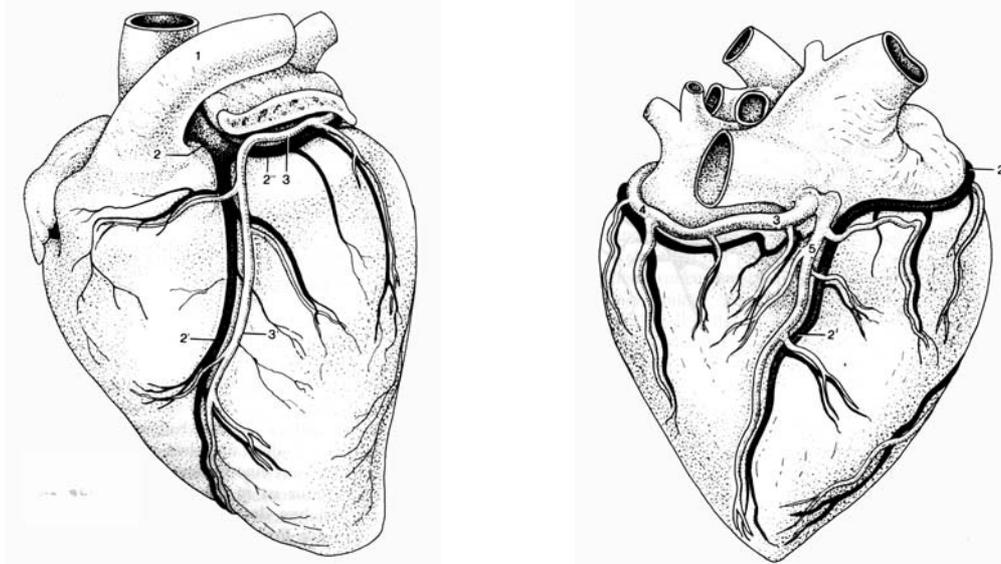


Abbildung 1, links: Aufzweigungsmuster der linken Koronararterie des Schweines, Ansicht von links. Das linke Herzohr ist zum Teil entfernt. 1:Truncus pulmonalis, 2:A.coronaria sinistra, 2':R.interventricularis paraconalis, 2'':R.circumflexus, 3:V.cordis magna, 3':R.interventricularis paraconalis von 3, (aus DYCE et al., 1991).

Abbildung 2, rechts: Muster der porcinen Herzkranzgefäße von rechts gesehen. Der rechte R. interventricularis subsinuosus (2') stellt die Fortsetzung der rechten Koronararterie dar. 2:rechte Koronararterie, 2':rechter R. interventricularis subsinuosus, 3:Sinus coronarius, 4:V.cordis magna, 5:V.cordis media, (aus DYCE et al., 1991).

Das Schwein ist ein geeignetes Versuchsmodell für die Entwicklung nützlicher interventioneller Verfahren in der Restenoseforschung [MULLER et al., 1992][WHITE et al., 1992b][BONAN et al., 1993].

## 2.2 Histologie der Koronararterien

Der Wandaufbau der Blutgefäße besteht bei Arterien und Venen aus folgenden drei Schichten: Tunica intima (Intima), Tunca media (Media), Tunica externa (Adventitiita) [THOMAS et al., 1990]. Beim Menschen wächst die Intima der Kranzarterien unter physiologischen Bedingungen stärker als in anderen muskulären Organarterien. Sie ist diffus verdickt und schließt glatte Muskelzellen ein, die somit bei der Entwicklung eines arteriosklerotischen Polsters nicht aus der Media einwandern müssen. Bei keiner anderen bisher untersuchten Tierart wird eine physiologische Intimaverdickung der Kranzarterien in diesem Maße gefunden. Beim Tier ist sie umso stärker, je größer die Anfälligkeit gegenüber Koronarsklerose ist [MEYER et al., 2000].

Die glatten Muskelzellen der Media (vascular smooth muscle cells – VSMC bzw. SMC) können in mindestens zwei unterschiedlichen Phänotypen vorliegen, dem

synthetisierenden und dem kontraktile Typ. Letzterer dominiert in der ausdifferenzierten Arterienwand und ist durch zahlreiche Myosinfilamente und nahezu fehlende Mitoseaktivität gekennzeichnet [VAN DER LOOP et al., 1997]. Der synthetisierende Typ dagegen ist zur Proliferation fähig. Er besitzt weniger Myofilamente und mehr stoffwechselaktive Organellen zur Bildung und Sekretion von Kollagen, Elastin und Proteoglykanen, sowie Wachstumsfaktoren und Zytokinen. Diesen synthetisierenden Phänotyp findet man vermehrt in jungen, sich entwickelnden Arterien, aber auch bei atherosklerotischen Veränderungen [IP et al., 1990][FORRESTER et al. 1991]. Zwischen den beiden Phänotypen können zahlreiche Übergangsstadien auftreten [VAN DER LOOP et al., 1997].

### 2.3 Endothelfunktion

Die Endothelzellen kleiden das Innere der Blutgefäße aus. In seiner Lage zwischen Blutstrom und glatten Gefäßmuskelzellen erfüllt das Endothel eine Reihe von hochdifferenzierten Aufgaben [KROLL und WALTENBERGER, 2000]. Es kann in seiner Gesamtheit als das größte Organ des Körpers mit endokrinen und parakrinen Funktionen aufgefasst werden. Bei einem 70 kg schweren Mann wiegen die ca.  $10^{13}$  Einzelzellen 1500-1800 g und sind somit schwerer als die Leber [PEPINE et al., 1996].

*Wichtige Aufgaben des Endothels zum Erreichen der kardiovaskulären Hämostase sind* [PEPINE et al., 1996]:

- Aufrechterhalten des Gefäßtonus und der Gefäßstruktur
- Regulation des vaskulären Zellwachstums
- Regulation thrombotischer und fibrinolytischer Eigenschaften
- Vermittlung entzündlicher und immunologischer Mechanismen
- Regulation der Oberflächenadhäsion von Leukozyten und Thrombozyten
- Modulation der Lipidoxidation
- Regulation der Gefäßpermeabilität

Lokale prokoagulatorische und proadhäsive Reaktionen des Endothels sind essentiell für die physiologische Antwort auf Infektion und Wundheilung [BECKER et al., 2000]. Das Endothel interagiert sowohl mit den jenseits der Lamina elastica interna (LEI) lokalisierten SMC, als auch mit Zellen des zirkulierenden Blutes, wie Thrombozyten, neutrophilen Granulozyten und Monozyten/Makrophagen [MEYER et al., 2000].

*Einige wichtige Faktoren, die die Endothelfunktion beeinflussen sind:*

- **Stickstoffmonoxid (NO):** Stickstoffmonoxid wird kontinuierlich von der NO-Synthase in vaskulären Endothelzellen gebildet. Drei Isoformen der NO-Synthase existieren [FÖRSTERMANN, 1996][BANNING et al., 1999]:
  - Die endotheliale NO-Synthase (eNOS) ist kalzium- und kalmodulin-abhängig und wird über verschiedene Agonisten reguliert.
  - Die induzierbare, kalziumabhängige NO-Synthase wird von Makrophagen und VSMC über verschiedene Zytokine (z.B. Interferon- $\gamma$ , Interleukin-1 (IL-1), TNF- $\alpha$ ) stimuliert.
  - Die neuronale NO-Synthase ist die dritte Form des Isoenzym.

Aus einer der terminalen Guanidinogruppen [KROLL und WALTENBERGER, 2000] der Aminosäure L-Arginin wird in Endothelzellen das membrangängige NO gebildet, das in der Zelle die lösliche Isoform der Guanylatzyklase aktiviert und cGMP aus GTP bildet. Die intrazelluläre Kalziumsequestration führt zu Vasodilatation. Im gesunden Endothel wird kontinuierlich NO in geringgradigen Konzentrationen abgegeben, sodass lokal eine physiologische Dilatation der Gefäße aufrecht erhalten bleibt. Die Blockade der endogenen NO-Synthase führt durch Konstriktion von Arteriolen und präkapillären Sphinktern zu Blutdruckanstieg. NO ist zudem ein Inhibitor der Plättchenaggregation und -adhäsion, es vermindert die Adhäsion von Leukozyten an die Gefäßwand und unterdrückt die Proliferation glatter Muskelzellen [GROVES et al., 1995][FÖRSTERMANN, 1996][MEYER et al., 2000].

NO kann die Expression des Adhäsionsmoleküls Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) reduzieren [LIBBY et al., 2002].

- **Prostacyclin  $I_2$  (PGI<sub>2</sub>):** Der Arachidonsäuremetabolit PGI<sub>2</sub> wird hauptsächlich in Endothelzellen synthetisiert. Er aktiviert rezeptorvermittelt über ein G-Protein die Adenylatcyclase, steigert den cAMP-Spiegel und reguliert die Kalziumkonzentration. PGI<sub>2</sub> bewirkt eine Relaxation glatter Muskelzellen und inhibiert die Aggregation von Thrombozyten [PEPINE et al., 1996][MEYER et al., 2000]. PGI<sub>2</sub> unterdrückt die Proliferation der SMC, reduziert Lipidakkumulation in Leukozyten und glatten Muskelzellen und kann die Interaktion zwischen Monozyten und Endothel blockieren [JAX et al., 2000].
- **Endothelin (ET):** Endothelin kommt im Körper in drei Isoformen (ET-1, ET-2, ET-3) vor. Viele Substanzen können die Abgabe stimulieren, so Thrombin, Transforming-Growth-Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), IL-1, Epinephrin, Angiotensin II, Ca<sup>2+</sup>-

lonen. Mit NO existiert ein negativer Feedbackmechanismus, da erhöhte cGMP-Spiegel die Endothelinsynthese hemmen. ET-1 wirkt über den ET<sub>A</sub>-Rezeptor vasokonstriktiv und hat in vitro eine mitogene Wirkung auf glatte Muskelzellen [FÖRSTERMANN, 1996].

- **Thromboxan A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>):** TXA<sub>2</sub> vermittelt Plättchenaggregation und Vasokonstriktion. Es wird hauptsächlich in Thrombozyten, aber auch im Endothel gebildet und steigert die zytosolische Ca<sup>2+</sup>-Konzentration über Bildung von Inositol-1,4,5-Trisphosphat (IP<sub>3</sub>) und einen proteinkinase-C-vermittelten Mechanismus [PEPINE et al., 1996].
- **β-Fibroblast Growth Factor (β-FGF):** β-FGF aktiviert glatte Muskelzellen und verursacht eine Infiltration der Gefäßwand mit Monozyten [WALTENBERGER, 1998].
- **Platelet Derived Growth Factor (PDGF):** PDGF wird in Monozyten, Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Thrombozyten gebildet und stimuliert die Migration und Proliferation der SMC, sowie die Infiltration der Gefäßwand mit Monozyten [ROSS, 1986][WALTENBERGER, 1998].
- **Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF):** VEGF induziert Proliferation und Regeneration des Endothels [WALTENBERGER, 1998].
- **Transforming Growth Factor-β (TGF-β):** TGF-β inhibiert die Mitogenese glatter Muskelzellen und reduziert ihre Matrixsynthese, v.a. über Downregulation von Metalloproteinasen [FORRESTER et al., 1991][WALTENBERGER, 1998].
- **Tissue Factor Pathway Inhibitor (TFPI):** TFPI wird in Endothelzellen gebildet und blockiert die Gerinnung auf ex- und intrinsischem Weg [GLUSA et al., 1996][BECKER et al., 2000].
- **Gewebsplasminogen-Aktivator (t-PA):** t-PA ist ein Serin-Protease Inhibitor aus dem Gefäßendothel, der Plasminogen in Plasmin umwandelt. T-PA wird bei Stress, Venenverschluss, sowie in Anwesenheit von Thrombin, Bradykinin und Cytokinen gebildet [PEPINE et al., 1996][NORDT und BODE, 2000].
- **Plasminogenaktivator-Inhibitor Typ 1 (PAI-1):** Das Akutphaseprotein reguliert Ausmaß und Verbreitung der Fibrinolyse und wird aus Endothelzellen in aktiver Form durch Thrombin, Endotoxin und Zytokine freigesetzt. Die Freisetzung ist z.B. bei Venenthrombose und koronarer Herzkrankheit vermehrt [GLUSA et al., 1996]. Eine erhöhte PAI-1-Aktivität im Plasma und folglich eine verminderte

endogene fibrinolytische Aktivität wird heute als ein unabhängiger kardiovaskulärer Risikofaktor angesehen [NORDT und BODE, 2000].

## **2.4 Koronare Herzkrankheit**

Die koronare Herzkrankheit (KHK) beschreibt das klinische Bild der primären Koronarinsuffizienz durch Atherosklerose an den Herzkranzarterien beim Menschen. Im weitesten Sinne umfasst der Begriff eine relative oder absolute Insuffizienz der Koronararterien, die pathophysiologisch zu einem regionalen Missverhältnis zwischen koronarem Sauerstoffangebot und myokardialen Sauerstoffbedarf führt und besonders durch eine Steigerung des myokardialen O<sub>2</sub>-Verbrauchs hervorgerufen wird [THOMAS et al., 1990].

*Manifestationsformen der KHK:*

- Stabile Angina pectoris mit oder ohne Anginaschmerz
- Instabile Angina pectoris / transiente Myokardischämie
- Akuter Myokardinfarkt
- Herzinsuffizienz
- Plötzlicher Herztod

### **2.4.1 Atherosklerose des Menschen**

Die Atherosklerose ist eine besondere Form der Arteriosklerose. Die Arteriosklerose umfasst eine Gruppe degenerativer Arterienerkrankungen, die mit erworbener, fibrotischer Verdickung der Tunica intima einhergehen [HEES, 1996].

Koronare Herzkrankheit, ischämischer Schlaganfall und periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) sind Manifestationsformen der Atherosklerose des arteriellen Gefäßsystems. Verschiedenste Schädigungen des Endothels und der glatten Gefäßmuskelzellen verursachen eine überschießende entzündlich-fibroproliferative Plaquebildung [MEYER et al., 2000].

Die Atherosklerose befällt im menschlichen Gefäßsystem verschiedene Arterienabschnitte nur selten gleichmäßig. In ihrer Ausprägung gibt es arterien- und lokalisationspezifische Besonderheiten. Bei KHK sind meist auch andere größere Körperarterien und die A. carotis verändert [BÖSING et al., 2001].

#### **2.4.1.1 Endotheliale Dysfunktion**

Viele Erkrankungen des kardiovaskulären Systems sind ursächlich oder im weiteren Krankheitsverlauf mit endothelialer Dysfunktion assoziiert [IP et al., 1990]. Ischämie,

Hypoxie und andere Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit alterieren zunächst das Endothel, auf das dann vasokonstriktorische und mitogene Effekte wirken können [PEPINE et al., 1996].

Die Mitoserate der Endothelzellen ist im Bereich der durch turbulenten Blutfluss und erhöhten Blutdruck mechanisch gereizten Prädilektionsstellen erhöht. Ihre Kontaktinhibition ist noch vor dem Heranwachsen atherosklerotischer Läsionen aufgehoben [ZEIHER, 1998]. Arterielle Endothelzellen können in Kultur nur wachsen, wenn sie sich in einem abnormalen bzw. „verletzten“ Status befinden und kontinuierlich PDGF und andere Wachstumsfaktoren sezernieren [ROSS, 1986].

Der Verlust der Fähigkeit zur Gefäßdilatation wird als ein fundamentaler, diagnostisch verwertbarer Defekt der endothelialen Zellfunktion angesehen. Er tritt auf, noch bevor atherosklerotische Läsionen ausgebildet oder angiographisch sichtbar sind. Generell wird von endothelialer Dysfunktion gesprochen, wenn NO und PGI<sub>2</sub> nicht mehr verfügbar sind oder ihr vaskulärer Effekt vermindert ist [PEPINE et al., 1996].

Thrombozyten können ungehindert adhären und der Thrombus schichtet sich unter Einwirkung von TXA<sub>2</sub>, Serotonin und ATP. Der endotheliale Gewebsplasminogenaktivator t-PA ist außer Funktion, sodass PAI-1 verstärkt wirken kann [MEYER et al., 2000].

Das auf der Thrombozytenoberfläche exprimierte Zytokin CD40L verändert chemotaktische und adhäsive Eigenschaften des Endothels [GAWAZ, 1998]. Proinflammatorische Interaktionen bestehen zwischen dem CD-40-Ligand der aktivierten Blutplättchen und dem CD-40-Rezeptor auf Monozyten, B-Lymphozyten und Endothelzellen [BECKER et al., 2000].

#### **2.4.1.2 Pathogenese der Atherosklerose**

Es existieren verschiedene Theorien über die Entstehung atherosklerotischer Plaques. Durchgesetzt hat sich die „Response-to-injury-Hypothese“ [ROSS, 1986]. Morphologische Endotheldefekte sowie funktionelle Veränderungen sind der Anstoß für die Entwicklung eines atherosklerotischen Beetes [MEYER et al., 2000].

Die übergeordnete Erkrankungsform Arteriosklerose basiert auf Thrombozytenaggregation und Mediazystenproliferation, die sich gegenseitig bedingen [DAHME, 1999]. Am freigelegten kollagenen Bindegewebe der Intima adhären Thrombozyten. Wie auch Endothelzellen, Makrophagen und glatte Muskelzellen geben sie Wachstumsfaktoren ab, die eine Proliferation der VSMC und

deren Auswanderung in die Intima bewirken [ROSS, 1986][IP et al., 1990][MEYER et al., 2000]. Die aggregierten Thrombozyten werden von Endothel überkleidet und in die Intima inkorporiert. Sobald die Schichtdicke, in der ein bradytropher Stoffwechsel gerade noch stattfinden kann, überschritten ist, beginnen in der Tiefe des Sklerosebeets nekrobiotische Prozesse [DAHME, 1999]. Die herdförmige Intimaverdickung ist das Werk glatter Muskelzellen, die großteils ihren kontraktilem Apparat zugunsten erhöhter Speicher- und Synthesefähigkeit verloren haben [IP et al., 1990][MEYER et al., 2000].

Von „Atherosklerose“ spricht man, wenn im Nekrosefeld Lipide, v.a. kristallines Cholesterin, dominieren, die einen grützebrei-ähnlichen Gewebszerfall bewirken (αυηρη=Weizenmehlbrei). Diese Beete können im fortgeschrittenen Stadium exulzerieren, wobei der Detritus im Gefäßlumen einerseits eine Embolie verursacht und sich andererseits Abscheidungsthromben bilden [DAHME, 1999].

#### **2.4.1.3 Morphologische Beschreibung koronarer Plaques**

Das Plaquewachstum verläuft episodisch mit plötzlicher Progression und oft unbemerkt [MEYER et al., 2000][VIRMANI et al., 2001].

##### Fibromuskuläre Intimaverdickung:

Es handelt sich um eine Akkumulation von Abkömmlingen glatter Muskelzellen in der Intima, die wahrscheinlich durch monoklonale Proliferation entstanden sind. Früher wurde angenommen, dass die Zellen aus Fibroblasten entstehen. Das Auftreten von extrazellulären Lipiden in tieferen Schichten ist pathologisch. Man spricht dann auch von „intermediate lesions“ [VIRMANI et al., 2001].

##### Lipidflecke („fatty streaks“):

Sie gelten als früheste Region der Atherosklerose und werden bereits bei Kindern gefunden [ROSS, 1986]. Die noch rückbildungsfähigen, in Längsrichtung zum Gefäß angeordneten Läsionen werden auch intimale Xanthome genannt. Sie sind gekennzeichnet durch luminale Akkumulation von lipidbeladenen Makrophagen bzw. Schaumzellen ohne Nekrosezentrum und ohne fibröse Deckplatte. Bei Tieren bilden sich Lipidflecke vorzugsweise diätinduziert aus [HEES, 1996][VIRMANI et al., 2001].

##### Fibröse Plaque mit Deckplatte:

Eine stabile Plaque hat eine relativ feste Konsistenz und besteht aus proliferierten Muskelzellen und synthetisierter Bindegewebsmatrix in herdförmiger Anordnung. Im Zentrum befinden sich intra- und extrazelluläre Lipide und amorphe Zwischensubstanzen (Glycosaminoglykane), die von einer bindegewebigen Platte

bedeckt sind. Die benachbarte Media ist oft verdünnt [ROSS, 1986][IP et al., 1990][VIRMANI et al., 2001]. Die Plaques wachsen zunächst nach außen zur Media, bis ca. 40 % der Querschnittsfläche aus Media und Intima erfasst sind, dann wölben sie sich in das Lumen vor. Das Gefäßlumen wird anfangs durch Erweiterung der Lamina elastica interna kompensatorisch aufrechterhalten (positives Remodeling) [GLAGOV et al., 1987].

#### Artherom/ komplizierte Plaque:

Lokal ist die instabile Plaque durch Akkumulation von aktivierten Makrophagen und T-Lymphozyten, Sekretion proteolytischer Enzyme, Aktivierung proinflammatorischer Gene in den Zellen der Gefäßwand und der nachfolgenden Expression von Zytokinen und Wachstumsfaktoren gekennzeichnet [IP et al., 1990][KATUS und KRONE, 1998].

Die fibröse Deckplatte ist nur noch maximal 65 µm dick. Die zentrale, graugelbe und bröckelige Nekrose exponiert zum Lumen hin Gewebe-Faktor (TF) und ist rupturgefährdet. Flache parietale Thromben werden in das Polster inkorporiert und im Randgebiet werden kollagene und elastische Fasern neu gebildet. Es kann zu Lumeneinengung, Spasmen und Embolien kommen [ROSS, 1986][VIRMANI et al., 2001].

#### Koronare Thromben:

Nach Plaqueruptur der verdünnten, fibrösen Deckplatte wird ein Thrombus direkt über dem Nekrosefeld abgeschieden [VIRMANI et al., 2001]. Die Degradation der Plaque wird über Interferon- $\gamma$  (INF-  $\gamma$ ) aus aktivierten T-Lymphozyten gesteuert. INF- $\gamma$  hemmt die Proliferation und fördert die Apoptose der VSMC. Aktivierte Makrophagen initiieren über Metalloproteinasen die Katalyse der extrazellulären Matrix der fibrösen Deckplatte [LIBBY et al., 2002]. Obwohl im atherosklerotischen Tiermodell regelmäßig Metalloproteinasen vorkommen, konnte bisher keine Plaqueruptur demonstriert werden [VIRMANI et al., 2001]. Da die bindegewebige Deckplatte sehr fest ist, wird sie in ihrer Randpartie durch Zugkräfte mechanisch sehr beansprucht; hier besteht die Prädilektionsstelle für Einrisse. Den physikalischen Kräften erhöhter Blutdruck und erhöhter osmotischer Druck im Plaqueinneren wird eine wesentliche Bedeutung beigemessen [MEYER et al., 2000].

Nach Erosion: Die oberflächliche Endothelzellschicht der Deckplatte zerreißt, ohne dass sie vorher an ihrer Stärke eingebüßt hat. Ein Nekrosezentrum ist meist nicht ausgebildet. Die Läsionen wachsen exzentrisch, sind selten kalzifiziert und weniger

lumeneinengend als bei Ruptur. Die Pathomechanismen sind weitgehend unklar. Betroffen sind meist junge Menschen, oft Raucher und oft Frauen. In 35% führt Plaqueerosion zum akuten Herztod [VIRMANI et al., 2001].

Nach Verkalkung: Beim Zerreißen der fibrösen Deckplatte werden tiefe Kalkknötchen erodiert, die wahrscheinlich von verheilten Plaquerupturen stammen. Sie kommen vor allem an Koronargefäßsegmenten mit hohem Torsionsstress vor und sind meist mit Plaqueruptur assoziiert [VIRMANI et al., 2001].

Die koronare Thrombose kann Ursache des plötzlichen Herztodes sein [VIRMANI et al., 2001].

#### **2.4.1.4 Plaqueinstabilität**

Die Transformation einer stabilen atherosklerotischen Läsion in eine instabile Plaque ist nicht vollständig geklärt [KATUS und KRONE, 1998].

##### **2.4.1.4.1 Verfettung und Kalzifizierung**

Bei der pathophysiologischen Betrachtung der Arteriosklerose muss zwischen dem gefäßsklerosierenden, kalzifizierenden Prozess und der Verfettung differenziert werden, die beide zur Plaqueinstabilität führen [SCHAEFER, 1998].

Subendotheliale Lipideinlagerung ist die erste Reaktion auf Alteration der Endothelzellen [IP et al., 1990][SCHAEFER et al., 1998][LIBBY et al., 2002]. Beim Menschen entfalten erhöhte LDL-Cholesterolkonzentrationen (>100 mg/dl) nach Lipidperoxidation atherogene Wirkung. Bei verlängerter Verweildauer der Lipide im Interstitium werden in einer Kettenreaktion Superoxid Anionen gebildet. Oxidierte LDL sind verantwortlich für die Degradation von NO, für Zelltoxizität und für die Einleitung der Apoptose [THIERY, 1998]. Die modifizierten Lipide induzieren die Expression von Adhäsionsmolekülen, Chemokinen, proinflammatorischen Zytokinen und anderen Entzündungsmediatoren in Makrophagen und Gefäßwandzellen [LIBBY et al., 2002].

Bei gestörter Endothelfunktion oder nach Beginn einer atherogenen Diät werden vermindert endotheliale Mediatoren freigesetzt und vermehrt Adhäsionsmoleküle, auf der Zelloberfläche ausgebildet, insbesondere VCAM-1, an die Monozyten und T-Lymphozyten adhären [IP et al., 1990][PEPINE et al., 1996][LIBBY et al., 2002]. Monozyten dringen in das Subendothel ein und nehmen als Makrophagen die modifizierten LDL über den Scavenger-Rezeptor auf [ROSS, 1986][SCHAEFER, 1998].

Endothelzellen, glatte Muskelzellen und adhärierende Leukozyten setzen Wachstumsfaktoren und Zytokine frei, sodass sich die in die Media eingewanderten Monozyten nach Lipideinlagerung zu Schaumzellen umwandeln [IP et al., 1990]. Die Umwandlung von Monozyten in Makrophagen und Schaumzellen und die Migration in die Intima wird über MCP-1 und M-CSF gesteuert [LIBBY et al., 2002]. MCP-1 wird über den Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B hochreguliert [GAWAZ, 1998]. Schaumzellen gehen zugrunde, sobald ihre Speicherkapazität überschritten ist. Die Freisetzung proteolytischer Enzyme und proinflammatorischer Mediatoren leitet die Plaquestabilisierung ein [SCHAEFER, 1998].

Die Umwandlung glatter kontraktile Muskelzellen (SMC) in den sekretorischen Status wird über verschiedene Mediatoren von aktivierten Leukozyten initiiert [IP et al., 1990]. Sie ist charakteristisch für eine fortgeschrittene atherosklerotische Läsion [LIBBY et al., 2002]. Die SMC sind von selbst synthetisiertem Matrixprotein umgeben. Der Vernarbungsprozess führt zu einer Stresssituation. Die myointimalen Zellen produzieren vermehrt das Apoptose einleitende Protein p53. Es kommt zu einem Proliferationsarrest, der die Wachstumsphase der glatten Muskelzellen beendet. Die atherosklerotische Läsion verarmt zunehmend an Zellen. Infolge der leiomyokulären Atrophie der Media akkumuliert progressiv Kalziumphosphat extrazellulär in der Matrixsubstanz. Es werden knochenspezifische Proteine, wie z.B. kalziumbindendes Osteopontin, gebildet [SCHAEFER, 1998].

Ring- bzw. röhrenförmige Verkalkung des Gefäßes führt zu völliger Wandstarre. Sogar sekundäre Verknöcherungen kommen vor [HEES, 1996].

#### **2.4.1.4.2 Entzündung**

Die Entzündung spielt in allen Phasen der Atherosklerose eine zentrale Rolle. Ein Anstieg der Entzündungsmarker kann beim Menschen das Auftreten eines akuten Koronarsyndroms ankündigen [LIBBY et al., 2002]. Bei chronisch systemischen Entzündungen ist insbesondere das C-reaktive Protein (CRP) in Gegenwart von Makrophagen und T-Lymphozyten verantwortlich für erhöhte vaskuläre Permeabilität, Komplementaktivierung sowie Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren [SCHMITZ, 1998]. Es bestehen Korrelationen zwischen Konzentrationen an CRP und atherosklerotischen Komplikationen bzw. einem Myokardinfarkt-Risiko [SCHMITZ, 1998][LIBBY et al., 2002]. Auch die Akute-Phase-Proteine Fibrinogen und Serumamyloid A korrelieren mit kardialen Ereignisraten [KATUS und KRONE, 1998]. Makrophagen produzieren Gewebe-Faktor (TF), den stärksten in Plaques

gefundenen Initiator der Thrombose. Die TF-Expression wird über Entzündungsmediatoren gesteuert, was den engen Zusammenhang zwischen Entzündung und Thrombose erklärt [LIBBY und SIMON, 2001].

Die Entzündungsreaktion in der Plaque kann durch modifiziertes LDL, glykosilierte Proteine, Bakterien und Viren, aber auch durch mechanische Faktoren im Sinne einer „response-to-injury“ erklärt werden [KATUS und KRONE, 1998].

#### **2.4.1.4.3 Infektiöse Agentien**

Extravaskuläre Entzündungen und infektiöse Agentien können inflammatorische Zytokine stimulieren, das Gerinnungs- und Fibrinolyse-System beeinflussen und somit zu Progression der Atherosklerose führen [LIBBY et al., 2002].

Das obligat intrazelluläre Bakterium *Chlamydia pneumoniae* infiziert beim Menschen primär respiratorisches Epithel, kann aber auch direkt im Atherom nachgewiesen werden [DALHOFF, 1998][MAASS et al., 1998]. In vitro können Alveolar-Makrophagen, vaskuläre Zellen, Endothelzellen und glatte Muskelzellen infiziert werden. In Immunkomplexen von KHK-Patienten kann Chlamydien-LPS vermehrt nachgewiesen werden [DALHOFF, 1998]. Produkte der Chlamydien, so das Hitzeschockprotein 60 und Endotoxine, können die Entzündung der Gefäßzellen beschleunigen und die atherogene Funktion der Makrophagen aktivieren [LIBBY et al., 2002]. Im Blut binden Lipopolysaccharid-Strukturen zu 90% an LDL- und HDL-Partikel [SCHMITZ, 1998]. In einer Studie kann gezeigt werden, dass der Serumtiter gegen *Chlamydia pneumoniae* nicht mit dem Risiko einer Restenose korreliert. Er ist aber prädiktiv für den Behandlungseffekt mit dem Antibiotikum Roxithromycin [NEUMANN et al., 2002].

In degenerativen Aortenklappen sind valvuläre Infektionen mit *Chlamydia pneumoniae* und Zytomegalie-Virus, unabhängig von nativer oder prothetischer Herkunft der Klappen, häufig nachweisbar [SKOWASCH et al., 2002].

### **2.5 Arteriosklerose und Atherosklerose beim Tier**

Beim Tier wird zwischen arteriosklerotischer Intimafibrose großer elastischer Arterien und der Atherosklerose strikt unterschieden, da atheromatöse Komponenten nur bei Arteriosklerosen bestimmter Spezies, wie Schwein, einigen Exoten, Vögeln und gelegentlich Karnivoren, gesehen werden [DAHME und SCHRÖDER, 1990].

Im Gegensatz zu den Verhältnissen beim Menschen, führt die Atherosklerose beim Tier selten zu klinischen Ereignissen. Über zahlreiche experimentelle Studien wird

herausgefunden, dass Schweine, Kaninchen und Hühner nach cholesterinreicher Diät empfänglich für induzierte Atherosklerose sind. Alte Schweine und Vögel, sowie Hunde neigen zu atherosklerotischen Veränderungen auf natürlichem Wege [VAN VLEET und FERRANS, 1995]. Bei Vögeln, insbesondere Psittaciden mit hoher Lebenserwartung, kann Atherosklerose zum Tode führen [DAHME, 1999]. Wildschwein und Schwein neigen zu einer Arterioskleroseform, die der Atherosklerose des Menschen sehr ähnlich ist. Sie ist allerdings aufgrund der beschränkten Lebenszeit der Nutztiere kaum nachweisbar. Betroffen sind im Alter von 10 Jahren vor allem die Abdominalaorta und die Zerebralarterien. Bei Wildschweinen im Alter von 17 bis 21 Jahren sind regelmäßig Arterienveränderungen nachweisbar [KUNTZE, 1995].

## **2.6 Pathologische Anatomie der Myokardischämie**

### **2.6.1 Makroskopische Befunde**

6 bis 8 Stunden nach Koronarverschluss ist das Infarktgebiet makroskopisch sichtbar. In den betroffenen Gebieten zeigt sich eine Aufhellung des Myokards. Nach 9 Stunden ist eine lehmfarbene, trockene, feste, landkartenartige Nekrose ausgebildet, deren Größe und Lokalisation von der verschlossenen Koronararterie abhängt [VON SANDERSLEBEN, 1989][THOMAS et al., 1990]. Nach einer Woche ist kapillarreiches, rotes Granulationsgewebe in den Infarkttrandbereich eingesprosst. Der Abbau der Nekrose erfolgt von der Peripherie zum Zentrum hin mit einer Geschwindigkeit von ca. 0,1 mm/Woche. Die weiße, derbe, sehnige Myokardnarbe ist nach 6 bis 8 Wochen ausgebildet [THOMAS et al., 1990].

### **2.6.2 Histologische Befunde**

Beim akuten Herzinfarkt kommt es 30 bis 60 Minuten nach Ischämiebeginn zu einem Myokardfaserödem. Nach 2 Stunden liegt eine Homogenisierung, später eine Verklumpung des Sarkoplasmas mit kleinen und hyperchromatischen Kernen vor. Die Nekrose ist nach 4 bis 6 Stunden voll entwickelt [THOMAS et al., 1990]. Zu Beginn der eintretenden Koagulationsnekrose ist das Sarkoplasma verstärkt eosinophil. Im Interstitium sieht man nach 24 Stunden ein entzündliches eiweißarmes Ödem und eine Hyperämie der Kapillaren [WHEATER et al., 1987].

Nach 2 bis 3 Tagen gehen die Querstreifung der Myozyten und die Anfärbbarkeit der Kerne mit Hämalaun verloren. Im Interstitium erkennt man ein granulozytäres

Exsudat, den leukozytären Randsaum. Die akuten entzündlichen Reaktionen nehmen in den folgenden Tagen zu, nekrotische Herzmuskelfasern werden aufgelöst und teilweise bleiben leere Sarkolemmschläuche zurück [WHEATER et al., 1987].

2 bis 3 Wochen später werden die Nekrosereste von einem kapillarreichen Granulationsgewebe und von wenigen neugebildeten kollagenen Fasern eingeschlossen. Histozyten speichern Hämosiderin und Lipofuszin. Gegen Ende des zweiten Monats sind unregelmäßig begrenzte, zell- und kapillararme, faserreiche Narben ausgebildet. Die Kollagenfasern sind zunächst zart und gewellt, später verdickt und hyalinisiert. Umgebende Myozyten sind hypertroph. In der Umgebung intramuskulärer Koronararterien finden sich bei chronischer Koronarinsuffizienz kleinere Myokardschwien, die später Fettzellen einschließen [THOMAS et al., 1990]. Das Infarktgewebe hebt sich vom erhaltenen Myokard durch seine blasse Anfärbbarkeit mit Eosin ab [WHEATER et al., 1987].

## **2.7 Interventionelle Therapieformen der KHK**

Zur Behandlung der KHK kommen Prävention, medikamentöse Therapie, interventionelle und operative Verfahren in Frage. Die interventionellen Therapieverfahren sind die Alternative oder Ergänzung zur Bypassoperation. Das Ziel ist die Revaskularisation des stenosierten Gefäßes.

### **2.7.1 Perkutane Transluminale Koronare Angioplastie (PTCA)**

Bei der PTCA wird der stenotische Gefäßabschnitt im Herzkranzgefäß aufgeweitet. Dazu wird die Arterie herzfern punktiert und ein Spezialkatheter in das Gefäß eingeschleust.

DOTTER und JUDKINS führen 1964 die transluminale Angioplastie ein, um atherosklerotische Verengungen an Nierengefäßen und Femoralarterien zu behandeln [DOTTER und JUDKINS, 1964]. GRÜNTZIG und Mitarbeiter modifizieren den Katheter und führen 1977 die erste perkutane transluminale Angioplastie an Koronararterien beim Menschen durch [GRÜNTZIG et al., 1979]. Sie verwenden einen Katheter, an dessen Spitze sich ein aufblasbarer Ballon aus Polyvinylchlorid befindet, der im nichtentfalteten Zustand über die Stenose geführt und dann mit Kontrastmittel bis zum Erreichen eines vorgegebenen Umfangs gedehnt wird [GRÜNTZIG und KUMPE, 1979].

Heute wird ein über ein Katheterlumen eingeführter Führungsdraht als Leitschiene für den Ballonkatheter verwendet. Nach örtlicher Betäubung werden die

Femoralgefäße (Judkins-Technik), die Kubitalgefäße (Sones-Technik) oder die A. radialis punktiert. Die arterielle Gefäßschleuse kann in der A. femoralis über 24 Std. belassen werden. Die Ballondilatation wird in USA und in Deutschland inzwischen häufiger als die Bypassoperation durchgeführt [MEYER et al., 2000].

Die erfolgreiche Lumenerweiterung nach PTCA beruht auf dem Aufbrechen und Einreißen einer atherosklerotischen Plaque, bevorzugt in den Randteilen der Polster. Plaquematerial wird in Richtung Gefäßwand disloziert und die Media und Adventitia werden an diesen Stellen plastisch überdehnt [FAXON et al., 1997][MEYER et al., 2000]. Das Plaquematerial wird in Längsrichtung verteilt [POMPA und KUNTZ, 2001].

An die Wandrisse und Endotheldefekte lagern sich rasch Blutplättchen und Fibrin an, sodass die Wunden verheilen und sich die Oberfläche glättet. Wie bei der Entstehung der Arteriosklerose proliferieren auch hier modifizierte glatte Muskelzellen, die vom kontraktiven in den sekretorischen Status wechseln [IP et al., 1990][VAN DER LOOP et al., 1997].

### **2.7.1.1 Problematik der PTCA**

#### **2.7.1.1.1 Subakute Thrombose**

Die PTCA verursacht Endotheldenudation, Plaqueruptur und unterschiedlich starke Dehnungen und Verletzungen der Intima und Media [IP et al., 1990][BAYKAL et al., 1995]. Milde Denudation des Endothels ohne Alteration der Lamina elastica interna (LEI) verursacht die Ablagerung eines dünnen Thrombozytensaums auf dem Subendothel des dilatierten Wandabschnittes. Nach tiefer Wandverletzung mit Ruptur der LEI bildet sich ein makroskopisch sichtbarer Thrombus auf den negativ geladenen Kollagen-Typ I-Strukturen [CHESEBRO et al., 1987].

Ausgedehnte Rupturen bis in die Media verursachen unter Nekrose glatter Muskelzellen Dissektionen der Gefäßwand. Begünstigt durch Spasmen proximal und vor allem distal des dilatierten Gefäßabschnitts [CHESEBRO et al., 1987] kommt es in 3 bis 8% nach PTCA zu akuten Kranzarterienverschlüssen. Der Gewebe-Faktor TF wird in der Adventitia, der Media aber vor allem in atherosklerotischen Plaques exprimiert [BAYKAL et al., 1995] und aktiviert zusätzlich das extrinsische Gerinnungssystem [CHESEBRO et al., 1987]. Die ex- und instrinsischen Thrombinbildungsphasen verlaufen in einer gemeinsamen Endstrecke [GLUSA et al., 1996].

Thrombin ist nach Arterienwandverletzung der Hauptmediator der Plättchenaktivierung und führt, unterstützt durch ADP und Thromboxan A<sub>2</sub>, zu einer Selbstaktivierung der Thrombozyten [HARKER et al., 1995]. Postinterventionell kann im Blut eine Erhöhung der Prothrombin Fragmente F<sub>1+2</sub> nachgewiesen werden, die als sensitive Marker der Thrombinbildung gelten [NEUMANN und SCHÖMIG, 1999]. In einer Studie wird gezeigt, dass für mindestens zwei Wochen nach PTCA eine kontinuierliche Thrombinbildung andauert [GALLO et al., 1998]. Der Thrombus enthält viele Wachstumsfaktoren, vor allem in den  $\alpha$ -Granula der Blutplättchen, z.B. PDGF und TGF- $\beta$ . Er dient den invadierenden und proliferierenden glatten Muskelzellen als Matrix [BAYKAL et al., 1995][FUSTER et al., 1995]. Neben dem Ausmaß der Gefäßwandverletzung ist die Morphologie und Zusammensetzung der postinterventionell freigelegten Substrate der Plaque für die Thrombogenität entscheidend. Das atheromatöse, lipidreiche Zentrum in der Plaque ist die thrombogene Komponente [FUSTER et al., 1995]. Bei instabiler Angina pectoris besteht aufgrund der thrombotischen Gefäßsituation nach PTCA ein höheres Risiko [CALIFF et al., 1991][MEYER et al., 2000].

#### **2.7.1.1.2 Chronische Restenose nach PTCA**

Restenose wird als über 50%ige Stenose bei der Kontrollangiographie oder als über 50%ige Lumeneinengung im Vergleich zum Vordilatationsergebnis definiert. Sie tritt nach PTCA mit einer Inzidenz von ca. 30 bis 40% auf [POMPA und KUNTZ, 2001] und hat verschiedene Ursachen [MEYER et al., 2000]:

- Elastische Rückstellkräfte (Recoil) der Gefäßwand: In der Frühphase wirkt das Recoil schon innerhalb von Minuten bis 24 Std. nach PTCA [FUSTER et al., 1995].
- Narbenbildung und Schrumpfung der Media und Adventitia: Negatives Remodeling.
- Proliferation glatter Muskelzellen und Einwanderung in die Intima: Zellreiche Areale mit Produktion extrazellulärer Matrix, die Fibrose ist nach 4 bis 6 Monaten voll ausgebildet [IP et al., 1990].

Die Neointimabildung nach PTCA verläuft in drei Phasen [IP et al., 1990][FUSTER et al., 1995]:

- Hypertrophie und Proliferation der medialen glatten Muskelzellen, die 24 bis 48 Std. nach der Gefäßwandverletzung beginnt [LIU et al., 1989]; der Wachstumsfaktor  $\beta$ -FGF ist in dieser Phase von Bedeutung.
- Migration der glatten Muskelzellen in die Intima, PDGF ist ein Mediator.
- Intimale Proliferation der SMC und vermehrte Synthese extrazellulärer Matrix.

Nach PTCA wird die Lumeneinengung langfristig vor allem durch negatives vaskuläres Remodeling der Arterienwand bestimmt, das zur allmählichen Schrumpfung insbesondere der Adventitia infolge kontraktiler Fibrose führt [POST et al., 1994][FAXON et al., 1997]. Genaue Mechanismen die zur Schrumpfung führen, sind noch nicht bekannt [VON HODENBERG et al., 2000].

Als Risikofaktoren werden das Ausmaß der Wandschädigung, Rupturen der LEI sowie oberflächlich raue Stenosen angesehen [BONAN et al., 1993]. Inwieweit ein Thrombus die Restenose beeinflusst, ist unklar [CARTER et al., 1994].

### **2.7.2 Laserstrahlen/Excimer-Laser-Koronarangioplastie**

Verschiedene Laserquellen werden experimentell untersucht, wobei sich die Excimer-Laser-Angioplastie für die Anwendung beim Menschen als die geeignetste Methode herausgestellt hat [HOMBACH et al., 1995]. Atherosklerotische Polster werden thermisch verdampft oder verkohlt und durch photoablativ Effekte zerstört. Die Ausheilung wird durch das Wachstum glatter Muskelzellen erreicht. Im Langzeitverlauf wird eine höhere Rezidivrate als bei alleiniger PTCA beobachtet. Mit Gefäßperforationen muss gerechnet werden [MEYER et al., 2000]. In 40 bis 90% wird zusätzlich eine Ballonkatheterdilatation durchgeführt. Es kann kein entscheidender Beitrag zur Lösung des Restenoseproblems geliefert werden [HOMBACH et al., 1995].

### **2.7.3 Mechanische Verfahren („debulking“)**

Verschiedene Methoden entfernen überschüssiges Plaquematerial mechanisch mit rotierenden Drähten, turbinengetriebenen Spiralwellen, Rundmessern oder modifizierten Kathetern [MEYER et al., 2000].

#### **2.7.3.1 Hochfrequenzrotationsangioplastie (Rotablation)**

Über einen zentralen Führungskatheter wird ein mit feinen Diamantpartikeln (30 bis 80  $\mu$ m) besetzter, olivenförmiger Bohrkopf in den stenosierten Bezirk vorgebracht. Unter Flüssigkeitsspülung werden insbesondere Ostiumstenosen und

langgestreckte, nicht komprimierbare, verkalkte, diffuse und exzentrische Gefäßwandbestandteile abgetragen, die durch Ballondilatation nicht beseitigt werden können. Das Gewebe wird stufenweise entfernt. Die kleinsten abradierten Partikel sind zu über 90% kleiner als Erythrozyten. In über 50% der Fälle ist zusätzlich eine PTCA erforderlich. Elastische und weiche Materialien weichen dem Messer aus (Dottereffekt) [ERBEL et al., 1989][MEYER et al., 2000]. Man muss davon ausgehen, dass mit dieser Methode die Restenoserate nicht gesenkt werden kann [HOMBACH et al., 1995][RADKE et al., 2001].

### **2.7.3.2 Direktionale Atherektomie (DCA)**

Dieses Verfahren stammt von J. Simpson, der auch den steuerbaren Führungsraht entwickelte. Ein röhrenförmiges Metallgehäuse, das um einen zentralen Führungsdraht liegt und an einer Seite geöffnet ist, wird so platziert, dass ein Teil einer nicht kalzifizierten Plaque in das Metallgehäuse hineinragt. Mit Hilfe eines insufflierten Ballons und eines von proximal nach distal rotierenden Messers wird Plaquematerial abgetragen. 10 bis 20 mg Gewebe können entfernt werden und histologisch, histochemisch und molekularbiologisch aufgearbeitet werden [ERBEL et al., 1995][HOMBACH et al., 1995][MEYER et al., 2000][ZOHLNHÖFER et al., 2001]. Das Gefäßlumen kann meist wiederhergestellt werden [CALIFF et al., 1991]. Die Restenoserate kann im Vergleich zur PTCA nicht gesenkt werden [HOMBACH et al., 1995].

Inzwischen steht ein Pullback-Atherektomie-Katheter, der atheromatöse Plaques zirkumferenziell entfernt, als alternatives Debulking-Verfahren zur Verfügung. Restenosen können einfacher und sicherer gehandhabt werden [LINS et al, 2002].

### **2.7.4 Coronary Artery Bypass Grafting (CABG)**

Bei der klassischen operativen Therapie wird das verengte Gefäßstück durch einen Bypass überbrückt. Die aortokoronare Bypassoperation wird in Kardioplegie am stillstehenden Herzen nach Abklemmen der Aorta und Kanülierung der oberen und unteren Hohlvene in Hypothermie bei 24 bis 32°C durchgeführt. Für Venenbrücken wird in der Regel die V. saphena magna zwischen der Aorta ascendens und einem distal der Stenose gelegenen Koronararterienabschnitt implantiert. Routinemäßig wird inzwischen auch die A. thoracica interna nach Unterbindung ihrer Seitenäste aus dem Gefäßbett mobilisiert und bevorzugt mit dem Ramus interventricularis anterior anastomosiert. Die Verschlussrate der Grafts hängt vom Durchmesser des

nativen Gefäßes, dem Ausmaß der Atherosklerose distal der Gefäßinsertion und dem distalen Blutfluss ab [MEYER et al., 2000].

Die Zahl notfallmäßiger-Bypass-Operationen wird infolge zunehmender Praktizierung der Stentimplantation reduziert [VIRMANI et al., 2001].

### 2.7.5 Stents

Die Unzufriedenheit mit der relativ hohen Restenoserate nach PTCA und die klinisch verheerenden Komplikationen des akuten arteriellen Verschlusses haben direkt zur Entwicklung intraarterieller mechanischer Gefäßstützen geführt [VIRMANI et al., 2001].

Nach dem Leitsatz „larger is better“ wird ein im Vergleich zur PTCA größerer akuter Lumengewinn erzielt [KUNTZ et al., 1993]. Die stärkere Gefäßwandverletzung und die als Fremdkörper wirkende Metallendoprothese induzieren zwar eine stärkere Neointimaproliferation [KUNTZ et al., 1993][SERRUYS et al., 1994][ROGERS und EDELMANN, 1995], aber das Residuallumen bleibt langfristig größer. Der Stent verhindert wirkungsvoll das akute Recoil der dilatierten Arterie nach Intervention [FUSTER et al., 1995] und eliminiert das chronische negative Remodeling. Eine Lumeneinengung wird hauptsächlich der Neointimaformation zugeschrieben [KUNTZ et al., 1993][HOFFMANN et al., 1996][VIRMANI et al., 2001].

In den ersten Langzeitergebnissen der vergleichbaren BENESTENT- und STRESS-Studien liegt ein randomisierter Vergleich zur PTCA vor, der eine signifikant niedrigere Restenoserate nach Stentimplantation demonstriert. Allerdings ist die Rate an akuten Komplikationen wie Thrombosen und lokale Blutungen zunächst höher [FISCHMAN et al., 1994][SERRUYS et al., 1994]. Weltweit werden Stents inzwischen in über 50% aller kardiologisch interventionellen Eingriffe verwendet (>500.000 Stents/Jahr) [TOPOL und SERRUYS, 1998][RECKER, 2001].

*Indikationen zur Stentimplantation* [TOPOL und SERRUYS, 1998]:

- Bailout-Stenting: Ein Stent wird bei akutem oder drohendem Gefäßverschluss während PTCA implantiert [SCHATZ, 1989].
- Provisional-Stenting: Bei PTCA wird ein „stent-gleiches“ Ergebnis angestrebt oder andernfalls eine intrakoronare Stentimplantation durchgeführt.
- Primäre Anwendung bei fokalen Stenosen mit über 3 mm Gefäßdurchmesser.
- Wiedereröffnung von stenosierten Bypasstransplantaten/ fokale saphenous vein graft Läsionen.

- Wiedereröffnung chronisch verschlossener Gefäße.
- Behandlung bei akutem Myokardinfarkt.

*Anfängliche Limitierungen des Einsatzes von Stents [TANGUAY et al., 1994]:*

- Thrombogenität
- Blutungskomplikationen
- Limitierte Flexibilität
- Geringe Röntgensichtbarkeit
- Gefäßverletzung nach Überexpansion und Aneurysmbildung nach Gefäßperforation
- Allergenwirkung
- Begrenzte Beschichtungsmöglichkeit mit Medikamenten, um eine protrahierte Freisetzung zu ermöglichen.

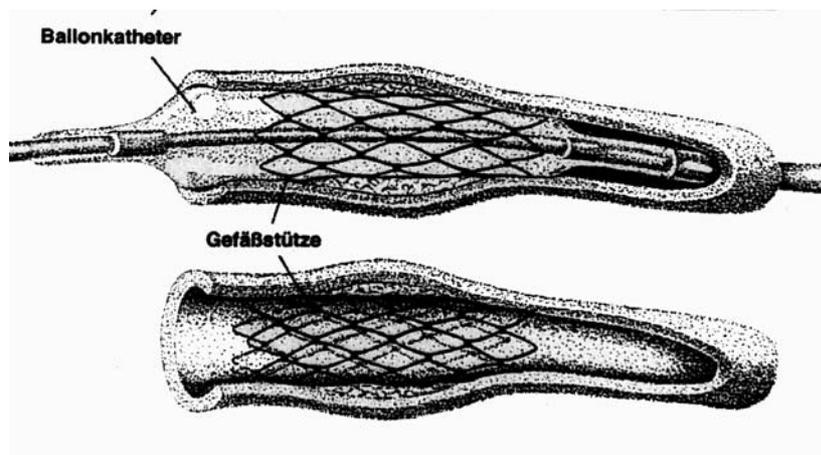


Abbildung 3: Schematische Darstellung eines dilatierten Ballonkatheters und einer Gefäßstütze im stenosierten Gefäßlumen, (aus ERBEL et al., 1995, modifiziert).

### 2.7.5.1 Geschichte der Stents

Erste Versuche mit intravaskulären Gefäßstützen aus paraffin-beschichteten Glasröhrchen, die in die Aorta von Hunden implantiert werden, berichtet ALEXIS CARREL [CARREL, 1912]. Seit den 80er Jahren werden diese Gefäßstützen Stents genannt. Wahrscheinlich geht der Name zurück auf den schottischen Zahnarzt Charles Thomas Stent (1807-1895), der ein Gerüstsystem aus röhrenförmigen Strukturen entwickelt [ERBEL et al., 1995][FISCHER et al., 2001].

1964 führen DOTTER und JUDKINS die Technik der PTCA und die Implantation einer elastischen Kunststoffschiene in kanine Femoralarterien ein. Das Implantat wandert und es kommt zu Thrombosen [DOTTER und JUDKINS, 1964].

In den 80er Jahren erlangt man über verschiedene Tierversuche mit Spiralfedern [CRAGG et al., 1983][DOTTER et al., 1983], mit einem Spiralstent [MAASS et al., 1984] und mit einem Z-förmig gefalteten, selbstexpandierbaren Stahlstent [WRIGHT et al., 1985] die Erkenntnis, dass durch PTCA aufgeweitete Gefäße nachträglich mit einer Gefäßendoprothese erfolgreich gestützt werden können. 1985 wird von PALMAZ und Mitarbeitern ein ballonexpandierbarer Maschenstent verwendet, der aus Stahldraht gewickelt und an den Kreuzungspunkten zusammengelötet wird [PALMAZ et al., 1985]. Neue Fertigungstechniken erlauben die Entwicklung von Röhrchenstents [SCHATZ et al., 1987].

Die erste Implantation selbstexpandierender Koronarstents im Menschen erfolgt 1986 [PUDEL et al., 1987][SIGWART et al., 1987]. Der erste Stent in Deutschland und weltweit der erste Palmaz-Schatz-Stent wird 1988 von ERBEL und Mitarbeitern implantiert [ERBEL et al., 1989].

### **2.7.5.2 Stent-Klassifikation**

Grundsätzlich unterscheidet man zwischen selbstexpandierenden permanenten, ballonexpandierbaren permanenten und temporären Stents [SIGWART, 1995].

#### **Permanente Stents**

##### → Selbstexpandierende Stents:

Die Selbstexpansion wird durch elastische Rückstellung eines vorher zusammengedrückten und verriegelten Stents bewerkstelligt [FISCHER et al., 2001]. Über einen Koronarkatheter werden die multiplen Faserelemente aus chirurgischem Stahl (z.B. Wallstent) oder Nitinol (z.B. Radius-Stent) im nichtentfalteten Zustand in den Stenosebereich gebracht. Eine Schutzhülle wird zurückgezogen und die elastische Prothese entfaltet sich unter Verkürzung von distal nach proximal auf ihr definiertes Lumen [SIGWART, 1990]. Der Nitinolstent wird seinen vorprogrammierten Durchmesser aufrechterhalten, wogegen der Stahlstent erst durch gegenwirkende Wandkräfte gestoppt wird [SCHWARTZ et al., 1992]. Selbstexpandierende Stents können keine hohen radialen Kräfte aufnehmen [FISCHER et al., 2001].

##### → Ballonexpandierbare Stents:

Sie werden 1985 von PALMAZ und Mitarbeitern eingeführt [PALMAZ et al., 1985]. Ein PTCA-Ballonkatheter dient zur Platzierung und Expansion des Stents. Durch die Ballonentfaltung wird der Stent im Bereich von Knoten und Bögen über seine Grenzen hinaus plastisch deformiert, sodass seine Form nach Ballondilatation erhalten bleibt. Der Stent entfaltet sich zunächst unter Ausbildung einer

Knochenform, bis er beim sogenannten Plateaudruck auf seinen Nenndurchmesser aufspringt. Nach Entlastung des Ballons kommt es zu elastischer Rückstellung (Recoil). Durch die mit diesem Vorgang verbundene Kaltverfestigung des Metalls kann diese Gefäßstütze höhere radiale Kräfte als ein selbstexpandierender Stent aufnehmen [FISCHER et al., 2001]. Durch Insufflation mit nur sehr niedrigem Druck wird einem Verletzen des Ballons vorgebeugt [ERBEL et al., 1995]. Ballonexpandierbare Stents, deren endgültiger Durchmesser vom Dilatationsballon bestimmt wird, sind sehr zuverlässig. Zu geringe Expansion kann zu Thrombose führen, zu starke Expansion verursacht Gefäßzerreiung [SCHATZ, 1989].

Bis vor wenigen Jahren wurden die Stents „bare“, d.h. noch nicht auf einen Ballonkatheter vormontiert, angewendet. Der Stent wird vom Operateur durch manuelle Montage, das sogenannte „Krimpen“, auf dem Trägersystem befestigt. Inzwischen werden vorzugsweise vormontierte, sterile Systeme von den Herstellern angeboten, sogenannte Stent Delivery Systeme (SDS), bei denen der Stent fest auf dem Ballonkatheter sitzt [SCHEUERMANN, 2002]. Die meisten der heute im Handel erhältlichen Stents sind ballonexpandierbar [FISCHER et al., 2001].

### **Temporäre Stents**

Temporäre Stents sind entweder explantierbar oder biodegradierbar [SIGWART, 1995]. Der Grundgedanke ist, eine mechanische Stütze und zugleich lokale Medikamentenfreisetzung zu bieten. Dafür kommt ein biokompatibles und immunologisch inertes Polymer in Frage, dessen Abbauprodukte nicht toxisch sind [TANGUAY et al., 1994].

Anfang der 80er Jahre wird der erste bioabsorbierbare Stent aus einer speziellen Form des Poly-L-Lactid (PLA) produziert und in Femoralarterien beim Hund implantiert [ZIDAR et al., 1993]. Der Stent ist nach 9 Monaten abgebaut und es wird nur eine geringe Entzündungsreaktion initiiert [TANGUAY et al., 1994].

Heute sind temporäre Stents eher von geringer klinischer Bedeutung [TANGUAY et al., 1994]. Der Trend geht dahin, diese Polymere als Trägersubstanzen für mit Medikamenten beschichtete Stents zu verwenden, siehe Kap.2.7.5.6.

### **2.7.5.3 Stentmodelle**

In Europa werden für die Therapie der Koronarstenose derzeit über 50 verschiedene Stents angeboten [MAHR et al., 2000]. In Bezug auf Struktur und Fertigungsfolge von Stents kann man 5 Gruppen unterscheiden [FISCHER et al., 2001]:

**Maschenstent** (engl.: mesh stent)

Diese Stents werden aus gewalztem und/oder gezogenem Draht gewickelt. Die Oberfläche kann in einer nachfolgenden chemischen Behandlung eingestellt werden. Die Stents haben einen großen elastischen Bereich, sodass sie besonders als selbstexpandierende Modelle eingesetzt werden [FISCHER et al., 2001], z.B.:

- *Wallstent*: Kobaltgerüst mit Platinbeschichtung.

#### **Spiralstent** (engl.: coil stent)

Diese Stents werden ebenfalls aus nur einem Metalldraht kontinuierlich gewalzt oder gezogen. Die Struktur wird durch nachfolgendes Wickeln oder Stricken erarbeitet. Spiralstents werden mit einem Ballon expandiert [FISCHER et al., 2001]. Der Spiralstent hat im Vergleich zum starren Röhrchenstent (s.u.) eine überlegene longitudinale Flexibilität, er kann optimal auf einem Ballonkatheter platziert werden und gewundene Gefäße passieren. Nach der Implantation wird die natürliche Konformität der Arterie aufrechterhalten [WHITE et al., 1992a], z.B.:

- *Gianturco- Roubin-II-Stent*: 316L-Stahl-Drahtfilamente sind um einen Ballon gewickelt und erlauben eine radiale Expansion ohne Verkürzung des Stents. Der Stent weist eine sehr lose Struktur auf [SIGWART, 1995].
- *Wiktor-Stent*: Der Tantalum-Draht ist in sinusförmigen Helixwindungen auf einen Ballon aufgebracht. Er ist flexibel und röntgenologisch gut sichtbar; aber spröder als 316L-Stahl [SIGWART, 1995].

#### **Röhrchenstent** (engl.: tubular stent oder slotted-tube stent)

Aus einem vorher gezogenen, dünnwandigen, nahtlosen Metallrohr werden diese Stents durch Funkenerosion oder Laserstrahlschneiden hergestellt. Das Schmelzen verändert chemische und mechanische Eigenschaften, sodass durch eine anschließende Wärmebehandlung und elektrolytisches Polieren die funktionsgerechte Oberfläche wiederhergestellt werden muss. Ein häufig genutztes Herstellungsverfahren für selbstexpandierende und ballonexpandierbare Stents [FISCHER et al., 2001], z.B.:

- *Palmaz-Schatz-Stent*: Ein tubuläres 316L-Stahl-Netzwerk, das in verschiedenem Design erhältlich ist. Da der ursprünglich von Palmaz konzipierte Stent keine Flexibilität zeigt, wird von Schatz durch Artikulation kürzerer Segmente der Einsatz längerer, flexibler Stents ermöglicht [SIGWART, 1990].

Erste Studien über Patienten, die seit 8 bis 10 Jahren mit dem Stent leben, liegen vor [CHOUSSAT et al., 2001]. Restenose wird vor allem im Bereich der

Artikulationen und an den Rändern beobachtet. Sie wird auf eine vermehrte Dilatation und Gefäßwandverletzung des „knochenförmig“ dilatierten Stents zurückgeführt [IKARI et al., 1995].

### **Ringstent** (engl.: ring stent oder corrugated ring stent)

Die ballonexpandierbaren Ringstents bestehen aus unterschiedlich geformten, gezogenen Drahttringen, die in verschiedenen Anordnungen zusammen gelötet oder geschweißt werden können [FISCHER et al., 2001]. ROGERS und EDELMANN berichten von einer besseren Durchflussrate für wellenförmige Ringstents als für Röhrenstents nach Implantation in Femoralarterien beim Kaninchen. Sie postulieren, dass ein multi-zelluläres Design eine höhere longitudinale Flexibilität garantiere, ohne dabei die optimale Radialkraft zu verlieren [ROGERS und EDELMANN, 1995].

### **Multidesign Stents**

In diese Gruppe gehören ballonexpandierbare Stents, die sich aufgrund ihrer Struktur oder Fertigungsfolge nicht in die anderen Gruppen zuordnen lassen [FISCHER et al., 2001], z.B.:

- *NIR-Stent*: Wird aus einem Dünnsblech geschnitten und erst danach zu einem Rohr geformt und längsnahtgeschweißt.
- *Navius Stent*: Wird ähnlich hergestellt und hat einen konstruktiv vorgesehenen Verhakungsmechanismus.

Speziell im Koronarbereich werden Stents eingesetzt, die nicht über ihre gesamte Länge eine periodisch wiederkehrende Struktur aufweisen, um z.B. die Durchlässigkeit von Seitenastabgängen zu gewähren [FISCHER et al., 2001].

#### **2.7.5.4 Stentdesign**

Stenteigenschaften, die eine verminderte Lumeneinengung induzieren, bieten eine kostengünstige und relativ einfach verfügbare Option der Restenosereduktion [KASTRATI et al., 2001]. Die metallische Zusammensetzung der Stentoberfläche und die geometrische Form des Stents sind wichtiger für das Ausmaß an Neointimabildung und Thrombosegefahr als durch den Operateur bedingte Faktoren [VAN DER GIESSEN et al., 1991][ROGERS und EDELMANN, 1995][SCOTT et al., 1995]. Sie beeinflussen im Tierversuch die entzündliche Reaktion der Arterienwand auf den Fremdkörper [EDELMANN und ROGERS, 1996].

Eine ausgeprägte Thromboresistenz der Stentoberfläche ist zur Prävention der akuten Thrombose wichtig. Elektropositive, korrosionsresistente Metalle wie

medizinischer Edelstahl reagieren leicht mit elektronegativen Blutbestandteilen, sie sind relativ thrombogen. Elektronegative Metalle dagegen sind thromboresistent, aber sehr korrosionsanfällig [SCHATZ, 1989]. Metalle mit höherer Oberflächenladung ziehen verstärkt negativ geladene Blutplättchen und Plasmaproteine an. Eine raue Textur der Oberfläche wird mit vermehrter Stentthrombose in Verbindung gebracht [KUTRYK und SERRUYS, 1999].

Flexibilität ist im nicht-entfalteten Zustand wichtig zur Passage des Führungskatheters und des gewundenen Gefäßverlaufs der Kranzarterien. Nach Implantation muss eine stabile Position aufrechterhalten werden [SCHATZ, 1989].

Die Stärke der einzelnen Streben des Stents (Struts) und die Metalloberfläche nehmen in experimentellen Studien Einfluss auf die Neointimabildung [SIGWART, 1990]. Eine signifikante Reduktion der angiographischen und klinischen Restenose wird bei der Implantation von Stents mit dünnen Struts (50 µm Dicke) im Vergleich zu dicken Struts (140 µm) assoziiert [KASTRATI et al., 2001]. Stents mit einer höheren Strutanzahl und Regularität bewirken eine bessere zirkuläre Lumengeometrie und signifikant weniger Neointimawachstum [GARASIC et al., 2000].

Auch In-vitro-Versuche belegen, dass das Design und die Materialeigenschaften von Stentsystemen wichtige Einflüsse auf das Stentverhalten haben. Das Design ist verantwortlich für das Verkürzungs- und Recoilverhalten und damit für den Enddurchmesser [MAHR et al., 2000].

Kein einzelnes Stentdesign kann alle Charakteristika eines optimalen Stents in sich vereinen [KUTRYK und SERRUYS, 1999].

#### **2.7.5.5 Stentmaterialien**

Das Dilatationsverhalten ist vorwiegend vom verwendeten Stentmaterial abhängig [MAHR et al., 2000].

##### **Chrom-Nickel-Stahl**

Heute werden ausschließlich Chrom-Nickel Stähle der AISI (American Iron and Steel Institute) Reihe 304, 316, 317 für Implantate eingesetzt, insbesondere medizinischer Edelstahl (316L) [FISCHER et al., 2001]. Stents aus 316L-Stahl zeigen ein insgesamt homogenes Dilatations- und Recoilverhalten, auch bei unterschiedlichem Design [MAHR et al., 2000].

##### **Nichteisenmetalle-Kobalt-Legierungen**

Neben einer geringfügig besseren chemischen Beständigkeit haben die Kobalt Basislegierungen nur den Vorteil einer stärkeren Kaltverformung und damit

Dauerfestigkeit. Die neue Generation der selbstexpandierenden Maschenstents wird aus einer Kobalt Basislegierung gefertigt und zur besseren Kontrastbildung unter Durchleuchtung mit einer Platin-Beschichtung versehen. Der *Magic-Wallstent* zeichnet sich durch eine hohe longitudinale Flexibilität und geringere Verkürzung während der Expansion aus [FISCHER et al., 2001].

### **Nichteisenmetalle-Tantal**

Tantal ist in seinen chemischen Eigenschaften dem Edelmetall Platin ähnlich, da sich auf der Oberfläche eine dichte Oxidschicht bildet. Es ist chemisch sehr beständig. Die hohe Dichte führt zu ausgeprägter Kontrastbildung unter Durchleuchtung. Tantal wird für ballonexpandierbare Spiral- und Röhrchenstents eingesetzt. Der am meisten verwendete, aus Tantal gefertigte Stent ist der *Wiktorstent* [VAN DER GIESSEN et al., 1991][WHITE et al., 1992a][RIBIERO et al., 1993][FISCHER et al., 2001].

Niobium steht in derselben Nebengruppe im Periodensystem der Elemente (PSE) und hat dem Tantal sehr ähnliche Eigenschaften. Niobium ist besser verfügbar und kostengünstiger als Tantal [RABENSEIFNER, 1984].

### **Reintitan**

Gegenüber 316L-Stahl zeigt Reintitan eine überlegene Biokompatibilität und höhere Korrosionsbeständigkeit. In Geweben kann eine antiinflammatorische Wirkung gezeigt werden, da Titan freie Radikale abzufangen vermag. Ein erniedrigter Plateaudruck zeigt, dass der Titan-Stent ein sehr elastischer Werkstoff ist, der direkt auf den Ballon anspricht und kein signifikant anderes Recoilverhalten hat als 316L. Auf den ausgeübten Ballondruck spricht er im Gegensatz zu Stahl nahezu linear an [MAHR et al., 2000].

### **Nichteisenmetalle-Nickel-Titan (Nitinol)**

Diesen Werkstoffen wird eine Pseudoelastizität bzw. Formgedächtniseigenschaft zugeschrieben. Der sogenannte mechanische Memory-Effekt führt zu einer sehr hohen scheinbar elastischen Dehnbarkeit. Die elastische Verformbarkeit dieser Materialien ist daher um eine Größenordnung höher als die von Stählen. Beim Entlasten kehrt der Wirkstoff in seine Ursprungsform zurück. Die Umwandlung kann auch durch Temperaturänderung herbeigeführt werden. Dieser thermische Memory-Effekt wurde in den 80er Jahren von DOTTER et al. [1983] und CRAGG et al. [1983] für Stents genutzt. Nitinol-Stents scheinen weniger thrombogen zu sein und können dadurch eventuell die Restenoserate positiv beeinflussen [FISCHER et al., 2001].

## **Edelmetalle**

Gold, Silber, Platin, Ruthenium und Iridium z.B. liegen in der elektrochemischen Spannungsreihe im positiven Bereich und haben eine hohe chemische Beständigkeit gegenüber Luftsauerstoff, Luftfeuchtigkeit und schwefeligen Gasen. Durch ihre Gitterstruktur sind sie leicht verformbar, was zu einer Kaltverfestigung führt [FISCHER et al., 2001].

## **Niobzirkonium (Nb-1%Zr)**

Die in der vorliegenden Arbeit verwendete Legierung des Stentgrundmaterials - Niobzirkonium - besteht zu 99% aus Niobium und zu 1% aus Zirkonium. Niobzirkonium wurde bislang noch nicht als Stentgrundmaterial eingesetzt [SCHEUERMANN, 2002].

Die Metalle Niobium und Zirkonium gehören der Nebengruppe V bzw. IV des Periodensystems der Elemente an. Sie sind relativ unedel, d.h. chemisch hochreaktiv. Von ihnen wird spontan eine dichte, feste Oxidschicht (Selbstpassivierung) ausgebildet, die sie chemisch inert und sehr korrosionsbeständig macht. Hier scheint die Ursache für eine gute Gewebeverträglichkeit zu liegen. Der Unterschied zwischen den Nebengruppen IV und V liegt in ihrem Kristallsystem und damit in den Verformungseigenschaften [RABENSEIFNER, 1984].

In der Natur findet sich Niobium (kurz Niob, Nb) hauptsächlich als Eisenniobat ( $(\text{Fe, Mn})(\text{NbO}_3)_2$ ), es tritt in der Regel zusammen mit Tantal auf. Das metallisch, hellgrau glänzende Niobium gleicht an Härte dem Schmiedeeisen, es lässt sich gut walzen und schweißen [HOLLEMANN und WIBERG, 1995].

Zirkonium (Zr) kommt in der Natur nur gebunden, v.a. als Silikat  $\text{ZrSiO}_4$  („Zirkon“) und als Dioxid  $\text{ZrO}_2$  (Zirkonerde) vor. Es ist wie Hafnium ein verhältnismäßig weiches, biegsames, wälz-, hämmer- und schmiedbares, silbrig glänzendes Metall. Durch Überziehen einer dünnen Oxidschutzhaut ist Zr sehr korrosionsbeständig [HOLLEMANN und WIBERG, 1995]. Zirkonium verändert die plastischen Eigenschaften des Stentgrundmaterials Niobzirkonium [SCHEUERMANN, 2002].

### **2.7.5.6 Trägerpolymere und Beschichtungen für Stents**

Viele Beschichtungen werden mit dem Ziel eingesetzt, die dem Metall eigene Thrombogenität zu reduzieren. Zwischen Stentoberfläche und zirkulierendem Blut soll eine biologisch inerte Barriere geschaffen werden. Das Reservoir für prolongierte Freisetzung des Wirkstoffs kann gebildet werden durch Beschichtung eines

metallischen Stents oder Inkorporation in einen biodegradierbaren Polymerstent oder über einen mit Trägerpolymeren komponierten Stent [TOPOL und SERRUYS, 1998][HERRMANN et al., 1999][KUTRYK und SERRUYS, 1999].

Vorzugsweise werden die Medikamente zur Prävention der Stentthrombose und Restenose in Trägerpolymere eingearbeitet. Über einen Zeitraum von Stunden bis Tagen geben sie den meist lipophilen Wirkstoff an die Gefäßwand ab [KUTRYK und SERRUYS, 1999][HEBERLEIN und BODE, 2002].

### **Trägerpolymere**

#### Nicht biodegradierbare Polymere:

Polyurethan (PUR), Silikon (SIL), Polyethylen-Terphthalat (PETP).

#### Biodegradierbare Polymere:

Polyactidsäure (PLA), Polyglycolsäure (PGA), Polyglycolsäure/Polyactidsäure (PGLA), Polycaprolacton (PCL), Polyhydroxybutyrat-Valerat (PHBV), Polyorthoester (POE), Polyethylenoxid/Polybutylen-Terephthalat (PEO/PBTP).

In einer Studie an porzinen Koronararterien werden fünf verschiedene biodegradierbare und drei verschiedene nicht biodegradierbare Polymere (s.o.) getestet. Sie werden jeweils in Form von Längsstreifen in einen Stent gebettet. Alle Polymere induzieren nach vier Wochen eine bemerkenswerte Entzündungs- und Neointimareaktion. Die Ergebnisse werden zurückgeführt auf die ursprüngliche Polymerzusammensetzung, auf entstehende Abbauprodukte und eventuell auf die Geometrie des implantierten Testmaterials [VAN DER GIESSEN et al., 1996].

PLA wird zu  $\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O}$  abgebaut. GOGOLEWSKI und Mitarbeiter beschreiben die Gewebereaktion auf PLA als eine milde chronische Fremdkörperreaktion, die durch das Auftreten von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen gekennzeichnet ist. Je länger die Biodegradation des Polymers andauert, desto geringer ist die entzündliche Reaktion auf den Fremdkörper [GOGOLEWSKI et al., 1993].

Chondroitinsulfat A kombiniert mit Gelatine (CSG) scheint ein neuerer, vielversprechender Medikamententräger zu sein [FARB et al., 2001].

### **Beschichtungen**

Über eine lokale Beschichtung können höhere Wirkstoffkonzentrationen in der Arterienwand erreicht werden als unter systemischer Applikation der Substanzen. Nebenwirkungen können reduziert werden. Die Effektivität der Beschichtung wird limitiert durch Biokompatibilität der Polymere, Eignung der pharmakologischen

Präparate, pharmakokinetische Eigenschaften in vivo und lokale Toxizität der Abbauprodukte [TOPOL und SERRUYS, 1998].

Relativ dünne Schichten (ca.10 µm) degradieren kontinuierlich, wohingegen aus einer dicken Beschichtung zu Beginn unkontrolliert viel Wirkstoff abgegeben wird [ALT und SELIGER, 1998][ALT et al., 2000].

**Gold-Beschichtung:** Das Edelmetall ist sehr biokompatibel und vermindert Korrosion und Infektion. Eine 5 µm dünne Beschichtung verbessert die röntgenologische Sichtbarkeit von Stahlstents [SCHULZ et al., 1999]. Erste experimentelle Untersuchungen zeigen eine geringere Thrombozytenaktivierung und Thrombusbildung. Allerdings wird ein Jahr nach Implantation beim Menschen eine erhöhte Restenoserate festgestellt [KASTRATI et al., 2000]. Als mögliche Ursache für die schlechten Resultate werden Mikrorisse in der aufgetragenen Goldschicht diskutiert [FISCHER et al., 2001].

**Heparin-Beschichtung:** In der BENESTENT-2-Studie wird der subakuten Thrombose mit Polyamin- und Heparin-beschichteten Stents erfolgreich vorgebeugt. Nach 6 Monaten ergeben sich zufriedenstellende klinische Ergebnisse [SERRUYS et al., 1996]. Der direkte Thrombininhibitor zeigt in porzinen Koronararterien, dass akute thrombotische Ereignisse reduziert werden können [HARDHAMMAR et al., 1996][KUTRYK und SERRUYS, 1999].

**Phosphorylcholin-Beschichtung:** Die Phospholipidkomponente biologischer Membranen (Biomimikry) liefert vielversprechende Ergebnisse in vitro und in tierexperimentellen Studien [TOPOL und SERRUYS, 1998].

**Fibrin-Beschichtung:** Das Fibrin wird eingesetzt, um als Leitschiene für nachwachsende Endothelzellen zu dienen. Bei Versuchen an Hund und Schwein können keine Fremdkörperreaktionen festgestellt werden [KUTRYK und SERRUYS, 1999].

**PEG-/rec-Hirudin - Prostaglandin I<sub>2</sub> (Iloprost)-Beschichtung:** Als antithrombotische und potentiell antiproliferative Beschichtung werden diese Komponenten in PLA eingearbeitet. Sowohl im „standard-pressure“-Modell (Schaf) als auch im „overstretch“-Modell (Schwein) kann unabhängig vom Ausmaß der Koronararterienwandverletzung eine Reduktion der Restenosefläche erreicht werden [ALT et al., 2000]. In einer Ex-vivo-Studie mit menschlichem Vollblut sind die beschichteten Stents, im Vergleich zu unbeschichteten Stents, frei von

Blutgerinnseln. Die Aktivität der Prothrombin Fragmente  $F_{1+2}$  ist reduziert [HERRMANN et al., 1999].

**Paclitaxel-Beschichtung (Taxol®):** Paclitaxel ist ein zytotoxisch wirksamer Naturstoff, der aus der Rinde der Pazifischen Eibe (*Taxus brevifoliata*) isoliert wird [HERDEG et al., 2000]. Paclitaxel oder Analoga können in vitro und in vivo die Proliferation und Migration glatter Muskelzellen hemmen [AXEL et al., 1997]. Dosisabhängig wird eine Polymerisation des Tubulin in den Mikrotubuli bewirkt. Die Zellreplikation wird in der  $G_0/G_1$ - und der  $G_1/M$ -Phase inhibiert. Als CSG-Polymer beschichtete Stents vermindern sie im Tierversuch das Neointimawachstum nach 28 Tagen, nicht jedoch nach 90 Tagen. Nach 28 Tagen wird bei hochdosierter Beschichtung eine eingeschränkte Heilung, wahrscheinlich durch lokale Toxizität, beobachtet. Eventuell wird eine Restenose nur verzögert, nicht aber verhindert [FARB et al., 2001].

**Rapamycin-Beschichtung (Sirolimus®):** Rapamycin wurde 1975 als Antibiotikum auf den Osterinseln entdeckt. Der Aktinomyzete *Streptomyces hygroscopicus* produziert das Makrolid-Antibiotikum [CURFMAN, 2002]. Da es die Immunabwehr unterdrückt, wird es in der Transplantationsmedizin erfolgreich eingesetzt [HEBERLEIN und BODE, 2002]. Unerwünschte Nebenwirkungen sind bei systemischer Wirkung ein erhöhtes Infektionsrisiko, Leukopenie, Thrombozytopenie und Hyperlipidämie [SUZUKI et al., 2001]. Experimentelle Daten zeigen, dass die Inhibition des Zellzyklus mit Rapamycin eine effektive Strategie sein kann, um die Restenose aufzuhalten [TOPOL und SERRUYS, 1998]. Im porzinen Modell kann die In-Stent-Neointimahyperplasie reduziert werden [SUZUKI et al., 2001]. In der multizentrischen RAVEL-Studie wird von ersten erfolgversprechenden Ergebnissen berichtet. Die Proliferation von Lymphozyten und glatten Muskelzellen wird inhibiert [HEBERLEIN und BODE, 2002][MORICE et al., 2002]. FKBP12 ist als der Zellrezeptor für Sirolimus und Tacrolimus (s.u.) identifiziert [ZOHLNHÖFER et al., 2001].

**Tacrolimus/FK 506 (Prograph®)-Beschichtung:** Ein neuer Ansatz der in-Stent-Restenose vorzubeugen, ist die Beschichtung mit einem Immunsuppressivum. Der Wirkstoff Tacrolimus hat zwei Effekte: Zum einen wird die Abgabe von TGF- $\beta$  aus T-Lymphozyten inhibiert und somit die Entzündungsreaktion eingedämmt. Zum anderen wird der FKBP12-Rezeptor auf glatten Muskelzellen blockiert, sodass diese nicht vom kontraktilen Typ in den sekretorischen Status umgewandelt werden. Die

ersten Ergebnisse nach 4 Wochen, 3 und 6 Monaten im porzinen „over-sized coronary stent“-Modell sind positiv [WOLF, in Vorbereitung].

**Endothelzellen-Beschichtung („endothelial cell seeding“):** Genetisch modifizierte Endothelzellen, die Komponenten zur Behandlung der Restenose produzieren, sollen als Beschichtung dienen [ROGERS et al., 1996][TOPOL und SERRUYS, 1998].

**Iridiumoxid-Beschichtung:** In der vorliegenden Arbeit ist eine Stentgruppe mit Iridiumoxid beschichtet. Die Iridiumschicht ist fest mit dem Grundmaterial Nb-1%Zr verbunden, was rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen an aufgedehnten Stents zeigen. Die Oberfläche ist gleichmäßig glatt und die Stegkanten bleiben abgerundet. Die Iridiumoxidschicht des Stents soll eine Oberflächenrauigkeit (Kerbweite) in der Größenordnung von  $< 1 \mu\text{m}$  aufweisen [SCHEUERMANN, 2002].

Die gute Biokompatibilität der Iridiumoxid-Oberfläche ist auf katalytische Effekte zurückzuführen. Im Blutstrom zirkulierende Leukozyten wehren den Fremdkörper Stent sofort nach intravaskulärer Implantation durch Hydrogenperoxid( $\text{H}_2\text{O}_2$ )-Abgabe ab.  $\text{H}_2\text{O}_2$  startet die entzündliche und proliferative Reaktion in der Media, indem es über Aktivierung von NF- $\kappa$ B und Bildung von Peroxynitrit aus Stickstoffoxid die Proliferation glatter Muskelzellen steigert. Die endotheliale NO-Synthese wird durch  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Abgabe gehemmt. Außerdem wird die Adhäsion von Entzündungszellen über die Stimulation der Expression von den Oberflächenproteinen, z.B. MCP-1 gesteigert [KÜHLING, 2000].

Iridiumoxid hat auf die frühe  $\text{H}_2\text{O}_2$ -Abgabe einen katalytischen Effekt. Die metallische Struktur des Stents wird nicht angegriffen [SCHEUERMANN, 2002].

## **2.7.5.7 Problematik der Stentimplantation**

### **2.7.5.7.1 Subakute Stentthrombose (early outcome)**

Die thrombogene Oberfläche des metallischen Stents und die Freilegung der verletzten oder atheromatösen Gefäßwand führt in den ersten Jahren der Stentimplantation in 20% der Fälle zu postinterventioneller, subakuter Thrombose [FISCHMAN et al., 1994][SERRUYS et al., 1994][FUSTER et al., 1995]. Die Anzahl schwerer Akutkomplikationen, wie Herzinfarkt oder Tod, ist zunächst höher als nach PTCA [FUSTER et al., 1995][HOMBACH et al., 1995]. Inzwischen liegt die Menge an subakuten Stentthrombosen unter antithrombotischer Therapie in Abhängigkeit vom Risiko des Patienten bei 0,5 bis 5% [NAKAMURA et al., 1994][ROGERS und EDELMANN, 1995][NEUMANN und SCHÖMIG, 1999][MEYER et al., 2000]. Die

aggressive antikoagulatorische Therapie führt zu Blutungskomplikationen im Bereich der Einführungsstelle der Schleuse [SERRUYS et al., 1994].

Eine optimale Röntgensichtbarkeit zur gezielten Implantation des Stents in die Läsion soll die Sicherheit und die Akutergebnisse der Stentimplantation verbessern [SCHATZ, 1989].

Zur Reduktion der Stentthromboserate werden Stents mit Expansionsdrucken von 14 bis 20 atm (High Pressure Stenting) implantiert, um eine tiefere Impression des Stents in die Gefäßwand zu bewirken und einen stufenlosen Übergang zwischen Gefäß und Stent zu erhalten. Das Auftreten thrombotischer Ereignisse kann ohne einen Anstieg in der Restenoserate reduziert werden. Restenose ist folglich von der gewählten Ballondruckhöhe unabhängig [DIRSCHINGER et al., 1999][GREWE et al., 2001]. Andererseits kann eine Implantationstechnik, die eine Zerstörung der Media und ein „stent-oversizing“ vermeidet, das Auftreten der In-Stent-Restenose senken. Denn beim Menschen führt die Verletzung der Media und die Penetration des lipidreichen Zentrums im Plaque zu verstärkter Entzündungsreaktion [FARB et al., 1999].

Die Thrombogenität intravaskulärer Stents ist hauptsächlich durch die elektropositive Ladung der Metalloberfläche bedingt, welche die Aktivierung der Blutplättchen steigert. Ansonsten bildet sich ähnlich wie nach PTCA ein weißer, plättchenreicher Thrombus [MAASS et al., 1984][TOPOL und SERRUYS, 1998].

Da bei Veränderungen von Faktoren der Gerinnungskaskade keine signifikante Relation zum Risiko der Stentthrombose gefunden werden kann, scheinen die Blutplättchen eine Schlüsselrolle zu spielen [NEUMANN und SCHÖMIG, 1999]. Die Aktivierung der Thrombozyten kann unabhängig vom Gerinnungsprozess ablaufen [GLUSA et al., 1996].

#### **2.7.5.7.2 Chronische In-Stent-Restenose (late outcome)**

Die In-Stent-Restenose (ISR) ist nach wie vor ein klinisches Problem. Stents werden immer häufiger auch in weniger geeignete Läsionen implantiert [MULLER et al., 1992][FARB et al., 2001]. Angiographisch wird die ISR definiert durch mehr als 50%ige Stenosierung des Stentlumendurchmessers. Dies entspricht einem zu 75% eingengten Querschnittslumen [VIRMANI et al., 2001]. In der Regel tritt sie innerhalb der ersten 6 Monate nach Implantation auf [SERRUYS et al., 1994][TANGUAY et al., 1994].

Die zentrale Hypothese der In-Stent-Restenoseentstehung ist, dass sie wie auch nach PTCA, eine uniforme Reaktion des Gefäßes im Sinne einer Wundheilung darstellt [FORRESTER et al., 1991]. Der Unterschied zwischen der physiologischen Wundheilung und der pathologischen Restenose liegt im Ausmaß und in der Dauer der Reaktion [HOMBACH et al., 1995].

Der neointimale Wachstumsprozess ist durch die Fremdkörperreaktion ausgeprägter als nach PTCA [HOFFMANN et al., 1996][VIRMANI et al., 2001]. Im Gegensatz zur chronischen Lumeneinengung nach PTCA ist die ISR von Intimahyperplasie geprägt [POMPA und KUNTZ, 2001].

Die anregenden Stimuli für die Freisetzung von wachstumsfördernden Protoonkogenen und Zytokinen sind die mechanische Zerstörung des Endothels und der glatten Muskelzellen in der Media, die Thrombusbildung sowie die Adhäsion und Infiltration der verletzten Gefäßwand mit Bestandteilen des zirkulierenden Blutes. Mitogene dienen als weiterer Stimulus für die Neointimabildung. Oberflächenrezeptoren der SMC reagieren mit Thrombin, PDGF, Angiotensin II, IL-1,  $\beta$ -FGF und anderen Wachstumsfaktoren [CALIFF et al., 1991][CARTER et al 1994]. Metalloproteinasen werden freigesetzt, welche die Matrixbildung aktivieren und das Einwandern der SMC in die Media erleichtern [VON HODENBERG et al., 2000].

Die vielfältigen Faktoren enden über gemeinsame second-messenger Systeme in einem gemeinsamen finalen Weg, der die Beeinflussung des Zellzyklus über die zelluläre DNA der SMC steuert [TOPOL und SERRUYS, 1998].

Die Möglichkeiten zur Therapie einer In-Stent-Restenose sind begrenzt. Es kommen PTCA, mechanische Interventionen und die erneute Stentimplantation in Frage, die allerdings eine hohe Rezidivrate fordern. Primär muss dem Auftreten der ISR vorgebeugt werden [VIRMANI et al., 2001].

### **Die Neointima**

Die Neointima besteht aus einer Proteoglykan-Kollagen-Matrix, die als Zellen glatte Muskelzellen und Fibroblasten/Fibrozyten beinhaltet [BUCHWALD et al., 1992][VIRMANI et al., 2001]. Die Migration der medialen glatten Muskelzellen in die Intima und ihre zelluläre Proliferation führt zum Wachstum der Neointima. Nach Differenzierung vom kontraktile in den sekretorischen Status wird vermehrt extrazelluläre Matrix synthetisiert [CLOWES et al., 1983][FORRESTER et al., 1991][MULLER et al., 1992][TOPOL und SERRUYS, 1998][FARB et al., 2001].

Die intimale SMC-Proliferation beginnt ca. drei Tage nach Gefäßwandalteration, sie ist nach einer Woche auf ihrem Höhepunkt und dauert an, bis die Reendothelialisierung beendet ist [BUCHWALD et al., 1992][CARTER et al., 1994]. Eventuell sind Gewebsmakrophagen, die aus dem zirkulierenden Blut eingewandert sind, die Vorstufen der neointimalen Myofibroblasten [BAYES-GENIS et al., 2002]. Es folgt die vollständige Einbettung des Stents in die reife Neointima. Die stärksten Lagen bilden sich über den Struts aus und die dünneren Lagen befinden sich zwischen den Stentstreben [FAXON et al., 1997]. In den Neointimaschichten kann man den unterschiedlichen Organisationsgrad des Narbengewebes erkennen: Zum Lumen hin findet man nahezu parallel zur Lumenoberfläche angeordnete Zellen, während in der Tiefe eine noch unruhige Formation zu beobachten ist [VIRMANI et al., 2001]. Die Neointimadicke erreicht nach ca. einem Monat ein Maximum, danach wird sie durch Zellverminderung und Sklerosierung kontinuierlich atrophisch [SCHATZ et al., 1987][WHITE et al., 1992a].

Über immunhistochemische Methoden und Western Blot können in der Neointima nach PTCA und nach Stentimplantation SMC als der Hauptzelltyp identifiziert werden. Es wird die Expression von  $\alpha$ -smooth muscle actin, smooth muscle (SM) myosin heavy chain in den Isoformen 1 und 2, Desmin und Smoothelin nachgewiesen [CHRISTEN et al., 2001]. Das Protein Smoothelin ist ein immunhistochemischer Marker, mit dem die differenzierten kontraktile Muskelzellen in der Media sicher vom synthetisierenden Typ in der Proliferationsphase der VSMC unterschieden werden können [VAN DER LOOP et al., 1997][CHRISTEN et al., 2001]. Aber auch in Plaques und Intimaverdickungen atherosklerotischer Läsionen wird Smoothelin nachgewiesen [VAN DER LOOP et al., 1997].

### **Die Reendothelialisierung**

Die oberste Schicht der Neointima besteht nach Ausheilung im Idealfall aus einem Monolayer von Zellen, die dem nativen Endothel sehr ähnlich ist [SIGWART, 1995]. Im Experiment am Hund [SCHATZ et al., 1987] und am Schaf [RIBIERO et al., 1993] wird die Endothelialisierung des Stents zwei Wochen nach der Implantation beobachtet. VIRMANI und Mitarbeiter berichten von vollständiger Reendothelialisierung im Experiment an Kaninchen, Hund und Schwein im Zeitraum von 7 Tagen bis 4 Wochen nach Implantation [VIRMANI et al., 2001]. Das neu gebildete Endothel limitiert die Entstehung von Thrombosen [CHESEBRO et al., 1987][VIRMANI et al., 2001].

Da die Endothelzellen auch als Regulatoren der glatten Muskelzellfunktion und -proliferation fungieren, ist ihr Fehlen ein möglicher Kofaktor für eine überschießende Proliferation der SMC [GREWE et al., 2000]. Nach VIRMANI und Mitarbeitern kann die neue Zellschicht das Neointimawachstum aber nicht verhindern. Von Bedeutung ist ihre intakte Endothelfunktion [VIRMANI et al., 2001]. Ob die komplexen Funktionen einer physiologischen Endothelzellschicht übernommen werden, ist nicht vollständig geklärt [ROGERS et al., 1996].

Der Nachweis für die Funktion der endothelialen NO-Synthase (ENOS) erfolgt immunhistochemisch und für die mRNA der ENOS erfolgt sie über PCR. Sie werden in vitalen Endothelzellen ungestörter Funktion gefunden. In einer Studie an der porzinen A. carotis wird von einer deutlichen Reduktion der Genexpression und Aktivität der endothelialen NO-Synthase nach PTCA und Endotheldenudation berichtet. In den VSMC der Media wird die induzierbare NO-Synthase 24 Std. nach Endothelverletzung aktiviert. Die Reendothelialisierung und die wiederkehrende Funktion der ENOS variiert zeitlich bei den verschiedenen Spezies [BANNING et al., 1999].

#### **2.7.5.8 Histologie nach Stentimplantation**

Histologische Befunde der Entzündungsreaktion werden direkt mit der Dauer der intraarteriellen Stentimplantation in Bezug gesetzt [VIRMANI et al., 2001]. Die lokale Inflammation korreliert positiv mit erhöhtem Neointimawachstum [FARB et al., 2001]. Akute Entzündungszellen werden gewöhnlich bis zu 30 Tage lang beobachtet, danach treten neutrophile Granulozyten noch in 72% auf. Chronische Entzündungszellen wie Makrophagen und Lymphozyten können zu jedem Zeitpunkt nach Implantation nachgewiesen werden [SCHWARTZ et al., 1992]. Nach 30 Tagen treten sie noch in 97% auf. Fremdkörperriesenzellen werden gewöhnlich erst nach über 30 Tagen rund um die Struts gesehen [VIRMANI, 2001]. In einer Studie wird nach Gefäßwandverletzung festgestellt, dass hämatopoetische Zellen der Makrophagen/Monozytenlinie die Läsion infiltrieren. Sie könnten Vorstufen der die Neointima bildenden Myofibroblasten darstellen [BAYES-GENIS et al., 2002]. Monozytenadhäsion an der Gefäßwand mit einem Peak am 3. Tag und bis zu 14 Tage nach Stentimplantation ist in der A. iliaca im Kaninchenmodell mit neointimalem Wachstum assoziiert [GOLINO et al., 1997][VIRMANI et al., 2001].

Eine unvollständige Einheilung der Stents ist assoziiert mit intimalen Blutungen, intimaler Fibrinablagerung, intimaler und adventitieller Entzündung, Medianekrose

und intimaler Zellproliferation [FARB et al., 2001]. An Struts mit Zerstörung der Media oder Plaqueruptur ist die Neointimadicke größer als an Struts, die in Kontakt mit einer Plaque oder intakter Media stehen [FARB et al., 1999][VIRMANI et al., 2001].

#### **2.7.5.8.1 Rasterelektronenmikroskopische Analysen**

Die Inkorporation humaner Koronarstents kann mit intraindividuellen Unterschieden in drei Phasen eingeteilt werden [GREWE et al., 2000]:

In der *Frühphase* bis zu ca. 6 Wochen wird die Grenzzone zwischen Gefäßlumen und Arterienwand durch einen dünnen, geschichteten Thrombus gebildet. In den ersten 2 Wochen ähnelt er einer geschichteten, membranartigen, thrombotischen Überkleidung. Thrombozyten und zelluläre Blutbestandteile werden von der Metalloberfläche durch eine Plasmaproteinmembran getrennt. Diese wird zunehmend von glatten Muskelzellen und Matrixstrukturen durchbaut. Endothelzellen sind nicht nachweisbar.

In einer *Intermediärphase* 6 bis 12 Wochen nach Stentimplantation besteht die Neointima aus einem dicken Bindegewebsgeflecht, in welches viele glatte Muskelzellen eingebettet sind. Ein feinretikuläres Fasergeflecht grenzt das Lumen ab. Immer größer werdende Endothelzellinseln finden sich auf der Oberfläche der Stentneointima.

In der *Spätphase* ab einer Stentliegezeit von ca. 3 Monaten wird eine komplette Reendothelialisierung der Neointima (96 Tage) durch uniforme, rautenförmige Zellen mit einer zentralen perinukleären Erhabenheit beobachtet. Der Anteil an Matrixstrukturen aus zwiebelschalenartig angeordneten Faserbündeln nimmt zu, der Anteil der glatten Muskelzellen nimmt ab. Nach 6 Monaten weisen die lumennahen Deckzellen der Neointima eine ausgeprägte Polymorphie auf, sie werden auch Neoendothelzellen genannt. Eine zentrale Erhabenheit der Zelle ist nur noch angedeutet, native Endothelzellen sind größer.

In allen Phasen der Stentinkorporation sind die alloplastischen Endoprothesen von einer nur wenige Nanometer dicken, zellfreien, fibrinoiden Proteinschicht überzogen, die es gilt, genauer zu analysieren [GREWE et al., 2000].

#### **2.7.6 Vaskuläre Brachytherapie (VBT) und externe Radiotherapie**

Ionisierende radioaktive Bestrahlung in niedriger Dosierung ist effektiv in der Verhinderung überschießender Wundheilungsprozesse in vielen verschiedenen klinischen Situationen [WAKSMAN et al., 1995].

Die Synthese von Regulatorproteinen in den SMC wird bei richtiger Dosierung gestört, die SMC bleiben lebensfähig, aber replikationsdefekt [TOPOL und SERRUYS, 1998]. Die Induktion der Apoptose und die Hemmung der Zellproliferation bereits in der Frühphase nach Brachytherapie scheinen additiv eine Verringerung der Zellzahl in der Gefäßwand zu bewirken. Dies könnte die Reduktion der Neointimabildung erklären [KAMENZ et al., 2002].

Die vaskuläre Brachytherapie bzw. intrakoronare Strahlentherapie wirkt über einen Katheter auf die verletzte Gefäßwand ein [HEBERLEIN und BODE, 2002] und wird mit Hilfe radioaktiver Drähte, sogenannter „seeds“, oder als radioaktive Lösung eingebracht [VON HODENBERG et al., 2000]. In niedriger Dosierung kann im „coronary-overstretch“-Modell am Schwein eine dosisabhängige Reduktion des neointimalen Wachstums beobachtet werden. Der positive Effekt ist auch 6 Monate nach Anwendung noch präsent [WAKSMAN et al., 1995]. Intrakoronare  $\beta$ -Radiotherapie bewirkt nach PTCA eine signifikante, dosisabhängige Reduktion der Restenoserate. Unter höchster Dosis (18-Gy) wird eine Vergrößerung des Lumens induziert, die im Sinne eines Remodeling verstanden werden kann [VERIN et al., 2001]. Bei Patienten mit Rezidivstenose kann nach Stentimplantation und intrakoronarer Gammabestrahlung mit  $^{192}\text{Iridium}$  eine verminderte In-Stent-Restenoserate (ISR) nachgewiesen werden [TEIRSTEIN et al., 1997].

Speziell ionisierende Gamma( $\gamma$ )-Strahler können bei äußerlicher Anwendung das Entstehen einer Restenose verhindern.  $\gamma$ -Strahlen haben eine höhere Eindringtiefe als Beta( $\beta$ )-Strahlen, die bevorzugt endovaskulär über einen Katheter eingebracht werden. Auch nach Exposition des  $\beta$ -Strahlers  $^{192}\text{Iridium}$  scheint sie rezuziert zu sein [MEYER et al., 2000].

Dosisabhängig wird eine verzögerte Reendothelialisierung beobachtet. Das Risiko thrombotischer Komplikationen könnte steigen, und ein verzögerter Heilungsprozess könnte zur Bildung von Koronaraneurysmen beitragen. Weitere Studienergebnisse z.B. über optimale Nuklide und optimale Strahlendosis müssen abgewartet werden [HEHRLEIN et al., 1996][MEYER et al., 2000].

### **Radioaktiv strahlende Stents**

Radioaktive Stents setzen ab einem Schwellenwert kontinuierlich in sehr geringer Dosis ionisierende Strahlung frei, je nach Halbwertszeit des inkorporierten Radioisotops. Im Tierversuch werden erstmals von HEHRLEIN und Kollegen  $\beta$ -(z.B.  $^{32}\text{P}$ ) und  $\gamma$ -Strahlen emittierende Stents implantiert [HEHRLEIN et al., 1996]. Eine

signifikante Reduktion der Neointimaformation und der Anzahl an SMC kann festgestellt werden [TOPOL und SERRUYS, 1998].

Die Strahlentherapie kann allerdings auch zu einer Progression der Koronarstenosen beitragen [MEYER et al., 2000]. Der sogenannte „Candy-wrapper“-Effekt wird an den Rändern von radioaktiven Stents beobachtet und resultiert aus einer Kombination von Gewebewachstum und negativem Remodeling, die zu Lumeneinengung führen. Wahrscheinlich wird dieser Randeffect bedingt durch einen lokalen Abfall der Radioaktivität und einer stärkeren Gefäßwandverletzung [ALBIERO et al., 2000].

Bei Palmaz-Schatz Stents wird diese Beobachtung unabhängig von der Radioaktivität bereits zuvor gemacht und auf eine erhöhte Gefäßwandverletzung in Zusammenhang mit verminderter mechanischer Stütze am Rand des Stents zurückgeführt [IKARI et al., 1995].

### **2.7.7 Gentherapie zur Minimierung der Restenose**

Die Gentherapie setzt die Kenntnis des vermindert oder vermehrt exprimierten Gens voraus. Die Vielzahl von pharmakologischen Ansätzen, mit denen in experimentellen Modellen bisher Parameter der Restenose verringert werden, zeigt, dass diese Voraussetzung bisher nicht unbedingt gegeben ist [BUCHWALD, 2001].

Klinisch erfolgreich ist bereits die Transfektion des Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF)-Gens, die über eine Beschleunigung der Reendothelialisierung den hemmenden Effekt eines intakten Endothels auf die Proliferation darunter liegender Gefäßwandschichten nutzt [VON HODENBERG et al., 2000][BUCHWALD, 2001].

Andererseits wird durch Gentransfer in die glatte Muskelzelle versucht, die Produktion antiproliferativer oder antithrombotischer Proteine zu codieren [MEYER et al., 2000]. Experimentell werden folgende Gene zur Synthese vasoprotektiver Moleküle in Arterien transferiert: COX-1 (katalysiert die PGI<sub>2</sub> Synthese), Thrombomodulin (Protein-C-Aktivierung), t-PA (katalysiert die Plasminaktivierung) und TFPI (inhibiert Faktor Xa und den Gewebe-Faktor/Faktor VIIa Komplex) [JAX et al., 2000]. Im Tiermodell führt die lokale, intramurale Applikation des Gens der induzierbaren NO-Synthase zu Reduktion der Proliferation nach PTCA [FICHTLSCHERER et al., 2002].

Für die erfolgreiche Durchführung einer vaskulären Gentherapie ist die Auswahl des Transfektionssystems für die rekombinante DNA entscheidend. Der virale Gentransfer wird mit Adeno- und Retroviren beschrieben, nichtvirale Transfektionssysteme sind DNA/Liposomenkomplexe (Verpackung der DNA in

Liposomen, die unter Verschmelzung mit der Zellmembran ein Eindringen in die Zielzelle ermöglichen) und DNA/Rezeptorkonjugate [TOPOL und SERRUYS, 1998]. Alternativ stellt das Einschleusen gentechnisch modifizierter Zellen in das behandelte Gefäßsegment eine interessante Perspektive dar [HOMBACH et al., 1995].

Der Vorteil gentherapeutischer Strategien ist die nur einmalig erforderliche Behandlung. Probleme bestehen derzeit vor allem im Erreichen einer hohen Transfektionseffizienz und der genügenden Selektivität für das Zielorgan, um unerwünschte Wirkungen an anderen Organsystemen zu vermeiden [BUCHWALD, 2001]. Über einen Katheter wird eine Infusion mit Virussuspension in das Gefäß appliziert. Die Lokalisation ist nur suboptimal und der Vektor kann nach distal im Gefäßsystem ausgebreitet werden. Die Gentherapie mit Stents könnte dieses Problem umgehen [KLUGHERZ et al., 2002].

### **Gentherapie und Stent**

Zur gemeinsamen, zeitgleichen Stentimplantation und Gentherapie könnten mit Genvektoren beschichtete Stents eine neue Methode darstellen. Ein Katheterwechsel wie bei PTCA wäre nicht nötig [JAX et al., 2000]. Das gewünschte Gen könnte über eine Polymerbeschichtung direkt in die Zellen der Arterienwand transferiert werden. Die Zellen können das gewünschte Genprodukt exprimieren und synthetisieren. Dazu müssen DNA, ein viraler Vektor oder antisense Oligonukleotide in ein polymeres Matrixsystem involviert werden [TOPOL und SERRUYS, 1998]. KLUGHERZ und Mitarbeiter stellen fest, dass eine intravaskuläre Endoprothese eine geeignete Applikationsform bietet, um einen viralen Vektor lokal zu verbreiten. Nach erfolgreichen experimentellen Studien bleibt die Gentherapie zur Reduktion der In-Stent-Restenose jedoch eine Herausforderung [KLUGHERZ et al., 2002].

### **2.7.8 Medikamentöse Restenosereduktion**

Mit sehr vielen Medikamenten wird bisher erfolglos versucht, die Häufigkeit angiographischer oder klinischer Restenosen zu reduzieren [FUSTER et al., 1995][BUCHWALD, 2001][POMPA und KUNTZ, 2001].

Antithrombotische Medikamente scheinen bei großvolumigen, akuten Thromben die Neointimabildung zu reduzieren [CHESEBRO et al., 1987][CARTER et al., 1994]. Die Kombination antithrombotischer und antiaggregatorischer Therapie wie auch eine systemische pharmakologische Inhibition können allerdings die Neointimaformation nicht verhindern [NEUMANN und SCHÖMIG, 1999].

### 2.7.8.1 Konventionelle Thrombozytenaggregationshemmer

**Azetylsalizylsäure/ASS** (*Aspirin®*): ASS ist ein relativ schwacher Plättcheninhibitor, der das Risiko für Tod und Myokardinfarkt in allen Phasen der KHK senkt und seit 20 Jahren zur Standardtherapie bei interventionellen Eingriffen gehört [HAMM, 2000]. Durch Acetylierung der Cyclooxygenase der Thrombozyten wird die Thromboxan A<sub>2</sub>-Synthese irreversibel gehemmt [GLUSA et al., 1996]. Auf Plättchenagonisten wie Kollagen, Thrombin und ADP hat ASS nur einen minimalen Effekt [LEFKOVITS et al., 1995]. Die Restenose kann nach PTCA und Stentimplantation nicht gesenkt werden [POMPA und KUNTZ, 2001].

**Ticlopidin** (*Ticlopidin-ratiopharm®*): Ticlopidin ist ein Thienopyridin, das die über ADP-Rezeptoren induzierte Plättchenaktivierung und –aggregation verhindert. Es wird bei Aspirinintoleranz verwendet und kann in Kombination mit Aspirin die Anzahl der zirkulierenden Blutplättchen mit aktiviertem GP IIb/IIIa-Rezeptor nach dreitägiger Behandlung reduzieren. Die  $\alpha$ -Degranulation der Thrombozyten wird verhindert [NEUMANN und SCHÖMIG, 1999]. In einer Studie wird unter der plättchenhemmenden Kombination von ASS und Ticlopidin im Vergleich zu konventioneller Antikoagulation mit Heparin und dem Cumarinderivat Phenprocoumon eine signifikante Reduktion kardialer Zwischenfälle, der Stentthrombose, vaskulärer Komplikationen und Blutungen beobachtet [SCHÖMIG et al., 1996][SERRUYS et al., 1996]. Die Kombination von ASS und Ticlopidin ist assoziiert mit thrombozytopenischen Purpura und Granulozytopenie [SCHÖMIG et al., 1996]. In einer 4-Jahresstudie können die positiven Ergebnisse der plättchenhemmenden Kombination von ASS plus Ticlopidin aufrechterhalten werden [SCHÜHLEN et al., 2001].

**Clopidogrel** (*Plavix®*): Das Thienopyridin ist ein ADP-Rezeptorblocker neuerer Generation mit größerem ADP-selektivem antiaggregatorischem Effekt aber mit geringeren systemischen Nebenwirkungen [TOPOL und SERRUYS, 1998]. Clopidogrel kann Ticlopidin bei Stentimplantationen gefahrlos und effizient ersetzen [BERGER et al., 1999].

### 2.7.8.2 Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor-Antagonisten

Die stark plättchenhemmenden Substanzen gehören zur Familie der Integrine und blockieren den Membranrezeptor für die Bindung von Fibrinogen auf den Thrombozyten. Die Quervernetzung der Plättchen und eine Thrombusbildung werden

verhindert [RECKER, 2001]. Sie greifen in den gemeinsamen finalen Weg des ex- und intrinsischen Systems der Gerinnung ein, indem sie unabhängig von den aktivierenden Stimuli die Fibrinogeninteraktion mit dem membranständigen GP IIb/IIIa-Rezeptor auf dem Blutplättchen verhindern [POMPA und KUNTZ, 2001].

In den ersten 30 Tagen nach PTCA kann eine Reduktion der kardialen Ereignisrate um 10-70% festgestellt werden. Blutungskomplikationen können auftreten [LEFKOVITS et al., 1995][NEUMANN und SCHÖMIG, 1999][POMPA und KUNTZ, 2001]. Das Risiko für Tod und Myokardinfarkt bei Patienten mit instabiler Angina mit und ohne Koronarintervention wird deutlich gesenkt [HAMM, 2000]. Eine konstante Reduktion der klinischen oder angiographischen Restenose kann in den Studien nicht dargelegt werden [POMPA und KUNTZ, 2001].

**Abciximab (ReoPro®):** Abciximab ist das F<sub>ab</sub>-Fragment eines monoklonalen chimären Antikörpers (Mensch-Maus-Chimäre). Der erste Repräsentant der Gruppe hat eine höhere Rezeptoraffinität und längerer Bindungsdauer als Vergleichssubstanzen [RECKER; 2001]. Rechtzeitige Gabe noch vor der Stentimplantation bei Patienten mit Herzinfarkt beeinflusst den Koronardurchfluss, den Verlauf der Implantation, die 6-Monatsergebnisse, die Funktion des linken Ventrikels und die klinische Ereignisrate positiv [NEUMANN et al., 1998]. Abciximab gehört inzwischen zur Standardmedikation bei Patienten mit Koronarintervention und ist dem Tirofiban überlegen [TOPOL et al., 2001].

**Eptifibatid (Integrelin®):** Ein niedermolekulares, synthetisches, zyklisches Peptid. In der vorliegenden Studie ist die Dosierung nicht ausreichend, um einen plättchenhemmenden Effekt zu bewirken [POMPA und KUNTZ, 2001].

**Tirofiban (Aggrastat®):** Das Nicht-Peptid zeigt der TARGET-Studie gegenüber Abciximab verminderten Schutz vor ischämischen Ereignissen. Eventuell ist dies ein dosisabhängiges Phänomen [TOPOL et al., 2001].

### 2.7.8.3 Thrombininhibitoren

Die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin durch Thrombin führt zu Aktivierung der Faktoren VIII und XIII, des vW-Faktors und Hochregulation von t-PA und Protein C. Außerdem werden Thrombozyten, Monozyten, Lymphozyten, Endothelzellen, glatte Muskelzellen und indirekt neutrophile Granulozyten stimuliert [BAYKAL et al., 1995].

**Heparin** beschleunigt als Cofaktor des Antithrombin III die Komplexbildung mit dem Blutgerinnungs-Faktor Xa und Thrombin. Durch die irreversible Bindung von Antithrombin III an Thrombin wird Thrombin inaktiviert. Niedermolekulare Heparine

sind besser bioverfügbar und haben eine stärkere Anti-Faktor Xa Wirkung als unfraktionierte Heparine.

Im hämostatischen Pfropf fixiertes Thrombin kann durch Heparin nicht gehemmt werden [SIGWART, 1995]. Weder unfraktioniertes noch niedermolekulares Heparin kann eine Restenose nach perkutaner Koronarintervention verhindern [POMPA und KUNTZ, 2001].

**Hirudin** verhindert direkt bzw. Antithrombin-III-unabhängig die thrombinvermittelte Stimulation der Gerinnungsfaktoren. Hirudin kann nicht nur zirkulierendes Thrombin sondern auch an Fibrin gebundenes Thrombin inhibieren [GLUSA et al., 1996].

Der ursprünglich aus der Speicheldrüse des medizinischen Blutegels (*Hirudo medicinalis*) extrahierte Wirkstoff wird heute durch halbsynthetisch hergestelltes Poly-Ethylen-Glycol-(PEG)-Hirudin und rekombinantes (rec)-Hirudin ersetzt.

Hirudin hat einen geringen Effekt auf die Prävention der Restenose [POMPA und KUNTZ, 2001]. Von GALLO und Mitarbeitern wird nach 2-wöchiger Gabe von r-Hirudin nach PTCA eine signifikante Reduktion der Neointimaformation festgestellt. Keinen Einfluss hat Bolusapplikation und 2-tägige Applikation des Wirkstoffs [GALLO et al., 1998].

**Warfarin** als Langzeitpräparat hat einen geringen Effekt auf die Prävention der Restenose [POMPA und KUNTZ, 2001].

#### 2.7.8.4 Weitere Medikamente zur Inhibition der Restenose

**Calciumkanalblocker:** Sie reduzieren früh nach perkutaner Koronarintervention den Vasospasmus. Verapamil und Diltiazem können der Restenose nicht vorbeugen [POMPA und KUNTZ, 2001].

**ACE-Hemmer:** Auf die Gefäße wirkt die Blockade des Renin-Angiotensin Systems mit einem ACE-Hemmer antiproliferativ, antiatherogen und antithrombotisch. Angiotensin II soll die SMC nach Gefäßwandverletzung modulieren und so die Neointimaproliferation hemmen [PEPINE et al., 1996].

Nach Gabe von Cilazapril, Fosinopril, Captopril oder Trandolapril wird keine Wirkung auf die Neointimaproliferation erreicht, aber ACE-Hemmer reduzieren signifikant kardiovaskuläre Ereignisse [POMPA und KUNTZ, 2001]. Eine ACE-Hemmung kann die endogene fibrinolytische Aktivität regulieren, indem die PAI-1-Synthese vermindert und die t-PA-Synthese erhöht wird. Die Zunahme der t-PA-Aktivität im Plasma kann medikamentös allerdings noch nicht erreicht werden [NORDT und BODE, 2000].

**Trapidil:** Trapidil wirkt antiproliferativ, indem es PDGF antagonisiert. Die Proliferation glatter Muskelzellen und die Thrombozytenaggregation werden gehemmt, die Prostaglandinsynthese wird gesteigert [FUSTER et al., 1995].

**Lipidsenker/Statine:** Verschiedene Substanzen (Cholestyramin, Colestipol, Lovastatin, Pravastatin, Fluvastatin) sind geeignet, um die Progression der Atherosklerose aufzuhalten [POMPA und KUNTZ, 2001]. Die Inhibitoren der HMG-CoA-Reduktase sind das Mittel erster Wahl zur Senkung der LDL-Cholesterinsynthese, und es werden günstige Effekte auf Triglyceride und HDL-Spiegel erreicht [MATHES, 2002].

**Probucol:** Probucol wirkt antiinflammatorisch und antioxidativ. Die aktiven Sauerstoffmetabolite  $O_2^*$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^*$  sind Vasokonstriktoren. Die Restenoserate nach PTCA und die LDL-Konzentration im Plasma können gesenkt werden [SCHNEIDER et al., 1992].

**Tranilast:** Tranilast verhindert die Aktivierung von TGF- $\beta$ , die Akkumulation von Leukozyten und Kollagen um Stentstruts und das Neointimawachstum in porzinen Koronararterien nach Stentimplantation [WARD et al., 2002].

### 3 EIGENE UNTERSUCHUNGEN

#### 3.1 Zielsetzung

In der vorliegenden Arbeit wird im Tiermodell am Schwein die Metalllegierung Niobium-1%Zirkonium (Nb-1%Zr) auf ihre Restenoserate nach koronarer Stentimplantation untersucht.

Von der Herstellerfirma der Stents (Fa. Inflow Dynamics AG, München) werden im Rahmen des Zulassungsverfahrens für das Stentgrundmaterial Niobzirkonium unter anderem folgende In-vitro-Tests durchgeführt [SCHEUERMANN, 2002]:

- Galvanische Korrosionstests an aufgedehnten Stents
- Hämokompatibilitätstests
- Zytotoxizitätstests
- Bewertung der Sicherheit gegenüber dem radioaktiven <sup>96</sup>Zr Isotop als Legierungsbestandteil
- Bewertung der Beständigkeit der Legierung Nb-1%Zr gegenüber Gammabestrahlung bei der Sterilisation

Die vorliegende Arbeit präsentiert eine In-vivo-Studie, um den Prototyp dieses Stents aus Niobzirkonium unter klinischen Bedingungen zu testen und um die Restenoserate zu ermitteln.

Die Versuche werden in drei Gruppen durchgeführt. Eine Stentgruppe hat eine Niobiumoxid-Außenschicht, die andere Gruppe wird mit Iridiumoxid beschichtet. Stents aus medizinischem Edelstahl 316L in der dritten Gruppe dienen der Kontrolle. Der Grad der Restenose wird mit den Methoden der Angiographie, der Histomorphologie und der Histomorphometrie in den sich anschließenden Untersuchungen quantitativ und qualitativ beurteilt.

Die Vorbereitungen zur Stentimplantation und das Betreuen der Tiere werden mit der Hilfe von zwei Mitdoktoranden und einer Betreuerin durchgeführt.

Das Tierversuchsvorhaben wurde gemäß § 8a des Deutschen Tierschutzgesetzes vom 25.5.1998 (geändert am 12.4.2001) bei der Regierung von Oberbayern angezeigt.

## 3.2 Material und Methoden

### 3.2.1 Versuchstiere und deren Haltung

Für die Untersuchungen stehen 23 männlich kastrierte Schweine (Deutsche Landrasse Hybrid) mit Körpergewichten zwischen 21 und 28 kg zur Verfügung. Die Tiere stammen aus einem staatlich anerkannten Mastbetrieb. Sie werden zweimal täglich gefüttert (TREFF-Haltungsfutter eiweißarm, Firma Hausladen, Heimstetten), und es steht ihnen eine Automatiktränke zur Verfügung.

Mindestens einen Tag vor Versuchsbeginn werden die Tiere in den Tierbereich des Instituts gebracht und dort in Gruppen bis zu 4 Tieren gehalten. Die Boxen haben planbefestigte Kunststoffböden ohne Einstreu. Über eine Zwangsbelüftungsanlage werden 18 bis 21°C Raumtemperatur und 60 bis 80% relative Luftfeuchte geregelt. Der Stall wird im geregelten Tag-Nacht-Rhythmus beleuchtet.

Alle Versuchstiere werden präoperativ einer klinischen Allgemeinuntersuchung unterzogen: Haltung, Verhalten, Ernährungszustand, Körperoberfläche, Atmung, Körpertemperatur, Schleimhäute, Episkleralgefäße, Augen- und Nasenausfluss werden überprüft, sowie Futter- und Wasseraufnahme, Kot- und Harnabsatz werden registriert. Unter besonderer Beachtung des Herzkreislaufsystems und der Lungenfunktion werden kranke Tiere aus dem Versuch ausgeschlossen. 12 Stunden vor dem operativen Eingriff bleiben die Tiere nüchtern.

### 3.2.2 Versuchsplan

Der Versuch wird mit 23 Tieren angesetzt, die in drei Gruppen eingeteilt sind:

**Gruppe I:** 13 unbeschichtete Stents aus einer Niobium-1%Zirkonium-Legierung (Niobzirkonium-Stents)

**Gruppe II:** 23 Stents aus einer Niobium-1%Zirkonium-Legierung, beschichtet mit Iridiumoxid (Niobzirkonium+IrOx-Stents)

**Gruppe III:** 8 Stents aus medizinischem Edelstahl 316L (Stahl-Stents)

Die Gruppeneinteilung ist mit den Tiernummern und dem jeweils gestenteten Gefäßabschnitt in Tabelle 1 dargestellt.

Jedem Schwein wird in den Ramus interventricularis paraconalis (entspricht der LAD) und den Ramus circumflexus (entspricht der LCX) randomisiert jeweils ein Stent implantiert. Es wird eine Überdehnung des Gefäßes um ca. den Faktor 1,25 angestrebt. Die Koronarstents werden in möglichst gestreckt verlaufenden

Gefäßabschnitten ohne Abgänge von Diagonalästen auf einen Durchmesser von 2,5 bis 3,5 mm expandiert. Bezüglich des Gefäß- und Stentquerschnitts, sowie der Gefäßwandüberdehnung sollen sich die einzelnen Implantationen möglichst entsprechen. Die Beobachtungsdauer beträgt 28 Tage.

**Tabelle 1:** Versuchsplan (NbZr=Niobium-1%Zirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung, Stahl=medizinischer Edelstahl 316L, LAD=left anterior descending coronary artery, LCX=left circumflex coronary artery, n=Anzahl, RCA=right coronary artery, Vers.-Nr.=Versuchsnummer; †=gestorbene Versuchstiere)

GRUPPE I NbZr-Stents n=13			GRUPPE II NbZr+IrOx-Stents n=23			GRUPPE III Stahl-Stents n=8		
Vers.-Nr.	Tier	Gefäß	Vers.-Nr.	Tier	Gefäß	Vers.-Nr.	Tier	Gefäß
I.1	34	LAD	II.14 †	23138	LAD	III.37	23270	LAD
I.2	34	RCA	II.15 †	23138	LCX	III.38	23179	LCX
I.3	37	LAD	II.16	23172	LAD	III.39	23917	LAD
I.4	41	LAD	II.17	23172	LCX	III.40	41	LCX
I.5	42	LAD	II.18	23219	LAD	III.41	24565	LCX
I.6	42	LCX	II.19	23219	LCX	III.42	24566	LAD
I.7 †	23099	LAD	II.20	23220	LAD	III.43	24567	LCX
I.8 †	23099	LCX	II.21	23221	LAD	III.44	24568	LAD
I.9	23141	LAD	II.22	23221	LCX			
I.10	23141	LCX	II.23	23929	LAD			
I.11	23170	LCX	II.24	23929	RCA			
I.12	23179	LAD	II.25	92	LAD			
I.13	23197	LCX	II.26	92	LCX			
			II.27	24084	LAD			
			II.28	24084	LCX			
			II.29	24151	LAD			
			II.30	24151	LCX			
			II.31	24565	LAD			
			II.32	24566	LCX			
			II.33	24567	LAD			
			II.34	24568	LCX			
			II.35 †	24728	LAD			
			II.36 †	24728	LCX			

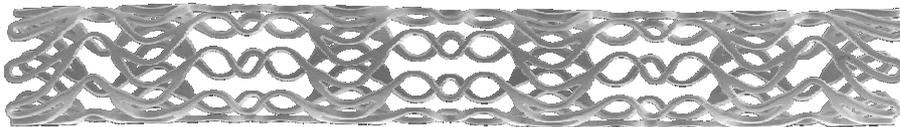
Vor der Opferung dient eine Kontrollangiographie der Koronargefäße der abschließenden Bilddokumentation. Bei der Sektion eröffnet man den Thorax, entnimmt das Herz und präpariert die stenttragenden Koronargefäße. Sie werden zusammen mit den entnommenen Herzmuskelproben und den Referenzgefäßen für das weitere Vorgehen fixiert.

### 3.2.3 Versuchsdurchführung

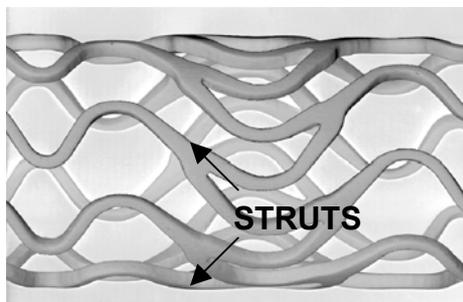
#### 3.2.3.1 Stent

Zur Implantation stehen 12 mm lange Inflow Dynamics Stents (Fa. Inflow Dynamics AG, München) zur Verfügung. Das verwendete „Starflex“-Design besteht aus radialstützenden und axialverbindenden Stegelementen (Struts), die eine multi-zelluläre Struktur ergeben, siehe Abb. 4 und 5. Der nicht expandierte Stent hat einen Durchmesser von 2 mm, er entfaltet sich ab einem Inflationsdruck von 2 bar und ist bei 6 bar voll geöffnet. Der expandierte Stent weist in Abhängigkeit von der Größe des gewählten Ballonkatheters einen Durchmesser von 2,5 bis 3,5 mm auf. Die Stents haben abgerundete Ecken, um bei der Implantation eine minimale Irritation der Gefäßwand und des Ballonkatheters zu gewährleisten.

Das Design und die Stegbreiten der Stents sind identisch. Die Wanddicke der Struts der unbeschichteten und der beschichteten Niobzirkonium-Stents ist 110 µm, die der Stahlstents ist 95 µm. Die Gruppen I und II unterscheiden sich nur in ihrer Beschichtung. Während Gruppe I eine Nb-Oxid-Außenschicht erhält, wird Gruppe II mit Iridiumoxid beschichtet. Gruppe III dient als Design-gleiche Kontrollgruppe aus medizinischem Edelstahl.



**Abbildung 4:** Stent im multi-zellulären „Starflex“-Design der Fa. Inflow Dynamics AG, München. Der nicht expandierte Stent ist 12 mm lang und hat einen Durchmesser von 2 mm. 100fache Vergrößerung.



**Abbildung 5:** Detailaufnahme aus Abb.4. Die Struts sind die einzelnen Stegelemente des Stents.

### 3.2.3.1.1 Herstellung der Stents aus Niobzirkonium

Für die Herstellung der Stents ist die Fa. Inflow Dynamics AG (München) zuständig. In der vorliegenden Arbeit stehen für die Versuche mit Stents aus beschichtetem und unbeschichtetem Niobzirkonium Prototypen zur Verfügung.

#### Niobzirkonium- und Niobzirkonium+IrOx-Stents:

- Der Laserschnitt aus einem Niobium-Rohr ergibt die Grundform des Inflow Dynamics Starflex Designs.
- Durch eine Elektropolitur werden ca. 25 µm des Materials abgetragen, sodass die Oberfläche eine minimale Rauigkeit aufweist. Die Kanten werden abgerundet, das Oberflächenpotential ist gering.
- Nach der Glühung unter Hochvakuum wird der Stent plastisch verformbar.

#### Weiteres Vorgehen bei den Niobzirkonium-Stents:

- Beim Anodisieren werden die obersten Materialschichten durch Passivierung in eine 300 nm dicke Nb-Oxidschicht umgewandelt.

#### Weiteres Vorgehen bei den Niobzirkonium+IrOx -Stents:

- Mit dem Sputterverfahren (auch Kathodenstrahlzerstäubung oder allgemein Physical Vapor Deposition-(PVD-)Verfahren genannt) wird eine 300 bis 400 nm dünne, haffeste Iridiumoxidschicht auf der Oberfläche abgeschieden.

Die ballonexpandierbaren Stahl-Stents werden aus einem Edelstahlrohr mit Laser herausgeschnitten, anschließend elektropoliert und gegläht.

Die Oberflächenkontrolle aller Stents erfolgt unter dem Mikroskop durch Mitarbeiter der Fa. Inflow Dynamics AG. Die geprüften Produkte können zu Stent Delivery Systemen (SDS) weiterverarbeitet werden, indem sie auf Trägerkathetersysteme aufgekrimpt werden [SCHEUERMANN, 2002].

### 3.2.3.2 Operation

#### 3.2.3.2.1 Prämedikation und Anästhesie

Die Prämedikation der Tiere erfolgt intramuskulär in die seitliche Halsmuskulatur mit Azaperon 2 mg/kg KGW (Stresnil®, Firma Janssen-Cilag GmbH, Neuss), Ketaminhydrochlorid 15 mg/kg KGW (Narketan®10, Fa. Chassot GmbH, Ravensburg) und Atropinsulfat 0,02 mg/kg KGW (Fa. Braun, Melsungen), aufgezogen in einer Mischspritze. 5 bis 8 Minuten nach der Applikation ist die Sedation ausreichend, sodass ein Venenverweilkatheter (Venflon®TM Pro, 1,1 x 32

mm, Fa. Becton Dickinson Helsingborg, Schweden) in die laterale Ohrrendvene (Vena auricularis lateralis) gelegt werden kann.

Narkoseeinleitung und Intubation erfolgen nach intravenöser Gabe von Narcobarbital 10 bis 15 mg/kg KGW (Eunarcon®, Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen). Die Größen der Endotrachealtuben (Nasal, Fa. Rüschi) variieren zwischen 7,0 und 7,5 mm Innendurchmesser. Ein weiterer Venenverweilkatheter wird in die Vene des zweiten Ohrs gelegt, dem Tier werden 2,7 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen entnommen. Das Operationsfeld an der linken ventralen Halsseite wird mit Seife gewaschen und rasiert. Die perioperative Antibiotikaprophylaxe erfolgt mit 400.000 I.E. Benzylpenicillin-Procaïn und Benzylpenicillin-Benzathin (Longicillin®, Fa. Chassot GmbH, Ravensburg) intramuskulär in die lange Sitzbeinmuskulatur.

Auf dem Operationstisch bindet man das Schwein in Rückenlage aus. Die antiseptische Vorbereitung des rasierten OP-Feldes erfolgt mit Alkohol (Cutasept®) und einer Alkohol-Jod-Lösung (Braunol®). Zur Sauerstoffbeatmung schließt man das Tier an ein Inhalationsgerät (Elvira, Fa. Hoyer-Engström, Achim, Schweden) an.

Die Narkoseerhaltung erfolgt unter totaler intravenöser Anästhesie (TIVA): Das Hypnotikum Propofol 40 bis 160 mg/Tier/Std. (2 bis 8 ml/h Disoprivan® 2%, AstraZeneca GmbH, Wedel) wird über einen Perfusor (Fa. Braun AG, Melsungen) in die Ohrvene geleitet. Zur Ausschaltung der Spontanatmung verabreicht man initial einen Bolus von 4 bis 6 ml Propofol. Das sedativ analgetische Morphinderivat Fentanyl-dihydrogenzitat (Fentanyl-Janssen®, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss) wird alle 30 min als Bolus in einer Dosierung von 0,025 mg/kg KGW intravenös appliziert. Vor Operationsbeginn gibt man 2 ml Fentanyl intravenös. Die Dosierung kann je nach Narkosetiefe individuell gesteuert werden.

Über den zweiten venösen Zugang in der Ohrrendvene erhält das Tier als Dauertropfinfusion eine Ringerlaktatlösung 10 bis 15 ml/kg KGW/Std. (Sterofundin®, Fa. Braun AG, Melsungen) zur Deckung des Flüssigkeitserhaltungsbedarfs.

Folgende Apparate werden zur perioperativen Narkoseüberwachung eingesetzt:

- Kontinuierliche, bipolare Ableitung des Elektrokardiogramms (Picker 212002, Fa. Schwarzer, München). Die vier Nadelelektroden werden dorsal in Höhe der Ellenbogengelenke und in den Kniefalten befestigt.
- Atemgasanalysegerät (Capnomac Ultima, Fa. Datex, Helsinki) zur Messung des endexpiratorischen CO<sub>2</sub>-Partialdrucks.

- Pulsoximeter (Lifestat 1600R, Fa. Physio-Control, Remond USA). Die Sonde wird zur Kontrolle von Sauerstoffsättigung und Pulsfrequenz an der Zunge oder an der Rüsselscheibe befestigt.
- Den zentralen arteriellen Blutdruck misst man über den Herzkatheter (HBV 20, Fa. Biotronik, Berlin)

In 30-minütigen Abständen wird die rektale Temperatur gemessen und mit den übrigen Messwerten in das Narkoseprotokoll eingetragen.

### **3.2.3.2.2 Operatives Vorgehen und Stentimplantation**

Nach steriler Abdeckung des OP-Feldes erfolgt der 5 bis 7 cm lange Hautschnitt in der linken Jugularisrinne medial, in Höhe von Buggelenk und Manubrium sterni nach kranial. Nach stumpfer Präparation durch das Platysma gibt sich lateral die V. jugularis externa und medial der M. sternocephalicus zu erkennen. Vorsichtiges Weiterpräparieren nach dorsomedial zum „VAN“-Strang, bestehend aus V. jugularis interna, A. carotis communis und dem N. vagus. Die Arterie wird freipräpariert. Man unterfährt sie mit einer Overholt-Klemme und ligiert sie kopfwärts mit einem resorbierbaren Faden (Vicryl®, USP 2-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt). Herzwärts legt man eine Fadenschlinge zunächst locker um das Gefäß. Sie soll während der Inzision in die Arterienwand durch Anheben der Fadenenden eine Blutleere im Gefäß erzeugen. Die 7-French-Gefäßschleuse (Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan) wird nach Seldinger-Technik eingeführt.

Sobald die Schleuse in der linken A. carotis liegt, wird das Schwein intravenös mit dem Thrombininhibitor Heparin 200 I.E./kg KGW (Liquemin N 25 000®, Fa. Roche, Grenzach-Wyhlen), dem Thrombozytenaggregationshemmer Acetylsalicylsäure 20 mg/kg KGW (Aspisol®, Fa. Bayer Vital GmbH, Leverkusen) sowie dem Antiarrhythmikum Amiodaronhydrochlorid 6 mg/kg KGW (Cordarex®, Sanofi Winthrop GmbH, München) versorgt.

Durch die mit einem Haltefaden fixierte Schleuse wird unter Durchleuchtungskontrolle (Exposcop 7000, Fa. Ziehm GmbH, Nürnberg) ein Judkins-Left-3,5-Führungskatheter (Fa. Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan) („Guiding“) über den Truncus brachiocephalicus und die Aorta descendens bis in den linken Koronarsinus eingeführt. Mit Hilfe eines 0,035-inch-Führungsdrahtes (Fa. Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan) kann der Guiding gezielt im linken Koronarostium des Bulbus aortae platziert werden.

Zur optischen Kontrolle wird über den Führungskatheter Kontrastmittel (Imeron350®) appliziert. Die Sondierung der LAD oder LCX geschieht mit Hilfe eines noch dünneren 0,014-inch-Führungsdrahtes („Floppy“)(Fa. Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan). Über diesen führt man einen dem Durchmesser des Koronargefäßes entsprechenden Ballonkatheter der Größe 2,0, 2,5 oder 3,0 ein.

Der Operateur krimpt den Stent (Fa. Inflow Dynamics AG, München) manuell auf den Ballonkatheter vom Typ Cordis Worldpass oder Cordis Tacker (Fa. Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan) auf.

Die Aufdehnung des Systems erfolgt über Hochdruck mit einem Drehinflator (Intellisystem 25, Merit Medical Systems, Irland) unter Durchleuchtungskontrolle. Der Ballon wird so weit aufgedehnt, bis das Gefäß und abgehende Diagonaläste distal des Systems unter Kontrastmittelgabe auf dem Angiographiebild nicht mehr darstellbar sind. Der Druck wird bei jeder Implantation für 20 bis 30 Sekunden gehalten. Der Ballonkatheter wird nach Deflation entfernt.

Beim Auftreten von Gefäßspasmen, die angiographisch sichtbar werden, wird über den Führungskatheter Glycerolnitrat (Nitrolingual®, Fa. Pohl Boskamp, Hohenlockstedt) in einer Kontrastmittel-Ringerlösung verabreicht.

Nach der Implantation zieht man die Schleuse und ligiert die Arterie herzwärts. Zur postoperativen Analgesie erhält das Tier am Ende der Operation langsam intravenös Metamizol-Natrium 40 mg/kg KGW (Novaminsulfon-ratiopharm1®, Ratiopharm GmbH, Ulm), verdünnt in 0,9%iger Kochsalzlösung.

Der Wundverschluss erfolgt zweischichtig: Hautmuskel und Unterhaut werden mit einer fortlaufenden Cushing-Naht (Vicryl®, USP 2-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt) adaptiert, die Haut verschließt man mit Einzelknopfheften (Prolene®, USP 2-0, Fa. Ethicon GmbH, Norderstedt). Ein Sprühverband (Nebocutan®) schützt die Wunde.

### **3.2.3.2.3 Postoperative Versorgung**

Die Schweine werden nach dem operativen Eingriff in Einzelboxen verbracht. Nach Einsetzen des Schluckreflexes werden sie extubiert und für einige Zeit beobachtet. Die Aufwachphase soll möglichst stressfrei verlaufen.

Bei ungestörtem Allgemeinbefinden werden die Schweine nach 24 bis 48 Stunden als Gruppe wieder in ihren Herkunftsbetrieb verbracht.

### 3.2.3.3 Angiographie

Während der Operation werden unter Durchleuchtung die verschiedenen Phasen der Stentimplantation auf Angiographiebildern festgehalten, siehe Abbildung 6. Vor der Euthanasie des Tieres wird die Durchgängigkeit der Koronargefäße erneut angiographisch dokumentiert. Folgende Bilder ergeben sich:

- Gefäßdurchmesser ( $\emptyset$ ) nativ
- $\emptyset$  des Gefäßes mit maximal dilatiertem Ballon und Stent (dB+S)
- $\emptyset$  des Gefäßes post implantationem (p.i.)
- $\emptyset$  des Gefäßes nach 28 Tagen

Die Auswertung erfolgt über computergestützte Bildanalyse (NIH-Image, Version Beta 4.0.2 von Scion Image für Windows®, National Institutes of Health, USA) nach Einscannen der Bilder (N 650U Cano Scan, Canon).

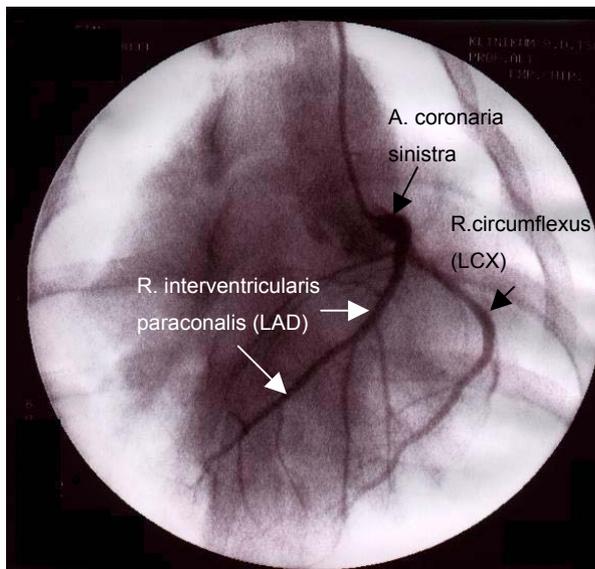


Abbildung 6: Angiographische Darstellung der linken Koronararterie nach Kontrastmittelinjektion unter Durchleuchtung.

Bei der Ausmessung muss berücksichtigt werden, dass der Abstand zwischen Strahlenquelle und Objekt bei den einzelnen Bildern variiert. Als Bezugspunkt wird zur Kalibrierung bei jedem Bild der 7 French Führungskatheter ausgemessen. 7 French entsprechen 2,31 cm. Bei den Opferungen wird zum Teil mit 6 French Führungskathetern gearbeitet, das entspricht 1,98 cm. Der Ballonhersteller (Fa. Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan) gibt für jede Ballongröße eine Compliance-Tabelle mit den zugehörigen Ballondiametern bei entsprechendem Druck an.

Mit den Messungen können folgende Parameter ermittelt werden:

- $\frac{\text{Ø des Gefäßes p.i.}}{\text{Ø des Gefäßes nativ}}$  → lokale Überdehnung der Gefäßwand am Implantationsort
- BTV (Ballon to vessel ratio) →  $\frac{\text{Ballongröße}}{\text{Ø des Gefäßes nativ}}$
- Überdehnungsfaktor (overstretch) →  $\frac{\text{Ø des dilat. Ballons}}{\text{Ø des Gefäßes nativ}}$
- Restenose →  $\frac{(\text{Ø des Gefäßes p.i.} - \text{Ø des Gefäßes bei der Opferung}) * 100}{\text{Ø des Gefäßes p.i.}}$

### 3.2.3.4 Euthanasie, Sektion und Probenentnahme

Zum Ablauf des Versuchszeitraumes nach 28 Tagen erfolgt mindestens einen Tag vor der Opferung der Transport in die Stallungen des Institutes.

Die Tiere werden nach der Untersuchung ihres Allgemeinzustandes zur abschließenden angiographischen Untersuchung und Bilddokumentation in den Operationsraum gebracht. Die Vorgehensweise der Prämedikation, Narkoseeinleitung und -erhaltung ist in Kap.3.2.3.1 und 3.2.3.2 beschrieben.

Dem Schwein wird aus der Ohrvene 2,7 ml Blut in ein EDTA-Röhrchen entnommen.

Die Katheterisierung/Kanülierung erfolgt über die rechte A. carotis. Vor der Euthanasie appliziert man jedem Schwein intravenös 10.000 I.E. Heparin (Liquemin N 25 000®, Fa. Roche, Grenzach-Wyhlen), um die postmortale Gerinnung des Blutes zu unterdrücken.

Zur Euthanasie werden intravenös über die Ohrvenen Pentobarbital-Natrium 50 bis 60 mg/kg KGW (Narcoren®, Fa. Merial GmbH, Hallbergmoos) und direkt danach möglichst zügig 40 ml einer 1 molaren Kaliumchloridlösung (Fa. Delta Pharma GmbH, Pfullingen) verabreicht. Der klinische Tod tritt nach wenigen Sekunden ein.

Zur Entnahme des Herzens durchtrennt man das Sternum und die Rippen in ihrer Fuge. Die Brusthöhlenorgane werden adspektorisch beurteilt. Nach Eröffnung des Perikards durchtrennt man die großen Gefäßstämme des Herzens und spült das Herz in 0,9%iger physiologischer Kochsalzlösung. Pathologisch-anatomische Veränderungen werden zu Dokumentationszwecken fotografiert.

Die stenttragenden Koronargefäße schneidet man keilförmig aus dem Myokard heraus, sodass allseits um das Gefäß ca. 2 mm Myokard verbleiben. Epikardiales Fettgewebe wird entfernt. Proximal der Gefäßendoprothese verbleiben ca. 3 bis 4 mm Gefäß und Myokard, distal nur ca. 2 mm.

Das Gefäß und der Stent werden für weitere Untersuchungen zerteilt. Den proximalen Präparatanteil, ca.  $\frac{3}{4}$  der Stentlänge, fixiert man für die Kunststoff-Einbettung in 6%iger Formalinlösung in PBS (Phosphate buffered saline, pH 7,4). Hier verbleibt der Stent im Gefäß. Das Lumen wird vor der Fixierung mit 10ml der Formalinlösung gespült.

Im distalen Präparatanteil erfolgt ein Längsschnitt durch das stenttragende Gefäß zur Entnahme der Stentstruts auf einer Länge von ca. 3 bis 4 mm. Man legt die Probe in 0,9%ige physiologische Kochsalzlösung und bettet sie mit Hilfe von flüssigem Stickstoff (-196°C) in Tissue-Tek®-Gewebekleber (Fa. Sakura, USA) ein. Diese Proben werden für immunhistochemische Untersuchungen bei -80°C gelagert. (FIRSOV, in Vorbereitung).

Für beide Untersuchungstechniken entnimmt man jeweils auch Referenzgefäßproben, z.B. aus der RCA.

Die Myokardproben makroskopisch veränderter Bereiche werden für die Paraffineinbettung in 6%igem Formalin fixiert.

### **3.2.3.5 Probenverarbeitung für die Hartschliffhistologie**

Als Grundlage hierzu dient ein Einbettungsprotokoll von HERRMANN, angelehnt an eine Veröffentlichung von LEBEAU et al. [1995]. Voraussetzung ist das Verwenden von Glaspipetten, da Plastikmaterialien die Polymerlösung verunreinigen und somit trübe Einbettungsblöcke entstehen, die eine Auswertung unmöglich machen.

Das gestentete Segment der Koronararterie ist in gepuffertem 6%igem Formalin fixiert. Vor der Einbettung werden das Fettgewebe und ein Teil des Myokards entfernt, sodass das Gewebe in eine gekennzeichnete Histologie-Einbettkassette eingelegt werden kann. Weiteres Vorgehen:

#### ***Wässern:***

Die Proben werden 90 Minuten unter fließendem Wasser gewässert.

#### ***Dehydrieren mit Alkohol:***

- 70%iges Ethanol → für 3-mal 20 Min. bei 0 bis 4°C
- 80%iges Ethanol → für 2-mal 20 Min. bei 0 bis 4°C
- 90%iges Ethanol → für 2-mal 20 Min. bei 0 bis 4°C
- 100%iges Ethanol → für 2-mal 20 Min. bei 0 bis 4°C
- Xylol → für 1-mal 60 Min. bei 0 bis 4°C
- Xylol → bei 0 bis 4°C über Nacht

Xylol dient als Zwischenmedium zur Entfettung der Gewebeproben.

***Infiltrieren mit dem Polymer:***

Pro Stent werden 20 ml destabilisierte Methylmetacrylat (MMA)-Lösung und 1ml Methylbenzoat benötigt. Die Arteriensegmente werden mit diesem Gemisch überschichtet und für 5 bis 10 min bei 20°C in ein Vakuum bei ca. -0,6 Pa gelegt. Durch Belüftung mit Stickstoff erfolgt das Ablassen des Vakuums. Man wiederholt diesen Vorgang mindestens 3-mal, bis keine Luftblasen mehr aufsteigen. Die Proben werden für weitere 8 Stunden im Kühlschrank gelagert.

***Einbetten in das Polymer:***

Pro Gefäßsegment werden folgende Substanzen benötigt:

- 20 ml destabilisiertes MMA (Spicker GmbH, München)
- 1 ml Methylbenzoat (Spicker GmbH, München)
- 4 ml Plastoid N (Fa. Röhm, Darmstadt)
- 100 mg Benzoylperoxid (Spicker GmbH, München)

Die Substanzen werden auf einem Magnetrührer für eine Minute sorgfältig gemischt und anschließend jeweils ca. 20 ml der Lösung in kleine Glasbehälter gefüllt. Den Katalysator N, N-Dimethyl-Anilin (Spicker GmbH, München), 150 µg pro Gefäß, gibt man erst kurz vor dem Einlegen der Arteriensegmente dazu und verrührt ihn mit einem Glasstab gut. Nun werden die stenttragenden Gefäßsegmente möglichst senkrecht, eventuell mit Hilfe eines kleinen Kunststoffringes oder am Faden herabhängend in die Glasbehälter eingebracht. Bei 20°C wird für 5 bis 15 Minuten ein Vakuum bei -0,6 Pa angelegt und danach mit Stickstoff belüftet. Diesen Vorgang wiederholt man 3-mal, bis keine Luftblasen mehr aufsteigen. Die Gläser verschraubt man luftdicht und stellt sie zur Polymerisation für 24 Stunden in ein 19°C warmes Wasserbad.

Durch Zerschlagen der Glasbehältnisse werden die polymerisierten MMA-Blöcke gewonnen, sie können 24 Stunden später geschnitten werden.

### **3.2.3.6 Verarbeitung und Einbettung der Proben in Paraffin**

Die Myokardproben lagern in gepuffertem 6%igem Formalin. Sie werden in gekennzeichnete Histologie-Einbettkassetten gelegt und wie folgt behandelt:

***Wässern:***

Die Proben werden 120 Min. unter fließendem Wasser gewässert.

***Dehydrieren:***

- 50%iges Ethanol → für 2 Std. bei Raumtemperatur (RT)
- 70%iges Ethanol → für 24 Std. bei RT, Medium 1-mal wechseln
- 80%iges Ethanol → für 24 Std. bei RT, Medium 1-mal wechseln
- 90%iges Ethanol → für 24 Std. bei RT, Medium 1-mal wechseln
- 96%iges Ethanol → für 24 Std. bei RT, Medium 1-mal wechseln
- 100%iges Ethanol → für 48 Std. bei RT, Medium 2-3-mal wechseln
- Xylol → für 2-3-mal für je 1 Std. bei RT
- flüssiges Paraffin → für 2 Std. bei 59°C im Wärmeschrank

Die Einbettung in flüssiges Paraffin und eine 24-stündige Aushärtung im Kühlschrank zu schneidfähigen Blöcken schließen sich an. Die Blöcke werden im Kühlschrank bei 4°C gelagert, bis man mit einem Schlittenmikrotom (Mikrotom MIKROM, HM 335E) 4 bis 5 µm dicke Schnitte anfertigt, diese im erwärmten Wasserbad entfaltet und auf Objektträger aufzieht. Über Nacht bleiben die Schnitte bei 59°C im Wärmeschrank, danach können sie bei Raumtemperatur gelagert werden.

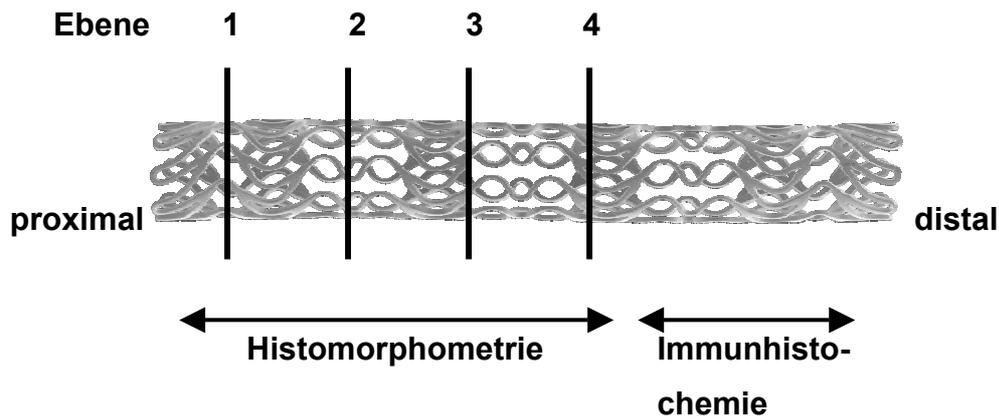
Zum Färben entparaffinisiert man sie in absteigender Alkoholreihe, färbt sie mit Hämatoxylin- und Eosinlösung (siehe Vorgehen bei MMA-Schnitten) und deckelt sie nach Durchlaufen der aufsteigenden Alkoholreihe mit Eukitt® (Fa. Novoglas, Bern) ein.

### **3.2.3.7 Schneiden und Färben der Proben**

Zur histomorphologischen und histomorphometrischen Beurteilung der Präparate werden mit einem Schlittenmikrotom (Nr. 25292, Firma Jung AG, Heidelberg) Schnitte von 10 bis 12 µm Dicke angefertigt. Pro stenttragendem Gefäßabschnitt schneidet man vier Ebenen aus dem Block, das Schema ist in Abb. 7 dargestellt. Pro Ebene werden 14 Schnitte gewonnen. Diese stehen für Hämatoxylin-Eosin (HE)- und Resorcinfuchsin-Färbung zur Verfügung.

### **3.2.3.8 Durchführung der HE-Reaktion**

Die Schnitte werden nach Vorschrift [PLENK, 1989] mit Hämatoxylin (saurer Hämalaun nach Mayer) und 5%iger wässriger Eosinlösung gefärbt. Das Aufkleben der Schnitte erfolgt auf Xylol-getränkte Objektträger mit Hilfe von Eukitt® (Fa. Novoglas, Bern).



**Abbildung 7:** Der 12 mm lange Stent der Fa. Inflow Dynamics AG wird für die histomorphometrischen und die immunhistochemischen Untersuchungen in 2 Abschnitte geteilt. Nach der Kunststoffeinfbettung des stenttragenden Gefäßanteils werden in den Schnittebenen der 4 dargestellten Ebenen die histomorphometrischen Messungen durchgeführt.

### 3.2.3.9 Färbung mit Resorcinfuchsin

Die Schnitte werden modifiziert nach Vorschrift [PLENK, 1989] mit Resorcinfuchsin und Pikrinsäure-Thiazinrot gefärbt. Die Differenzierung der Elastinfärbung und das Auswaschen der Pikrinsäure erfolgt in 80%igem Alkohol. Die Schnitte werden auf Xylol getränkte-Objekträger mit Hilfe von Eukitt® (Fa. Novoglas, Bern) aufgeklebt.

## 3.3 Histomorphologie

### 3.3.1 Histologische Beurteilung der Myokardproben

Das entnommene Gewebe wird histologisch im Bereich der Versorgungsgebiete der Koronararterien auf Zeichen einer Myokardischämie, bzw. eines Myokardinfarktes untersucht. Die gefärbten Paraffinschnitte betrachtet man unter einem Durchlichtmikroskop (Fa. Leica, Bensheim) in Lupen-, 40- und 100-facher Vergrößerung. Akute bis chronische Veränderungen werden unterschieden:

#### →Stadium der Koagulationsnekrose an den Herzmuskelzellen:

- Zellkernanomalien und Zellkernuntergang
- Hyalinschollige (Zenkersche) Degeneration mit Schwellung und Homogenisierung des Zytoplasmas, sichtbarer Verlust der Querstreifung
- Eosinophile Nekrose mit verstärkter eosinophiler Anfärbbarkeit
- Hyperämie des Gewebes
- Leukozytäre Infiltration

#### →Stadium der Organisation (nach 2 bis 3 Wochen):

- Kapillarreiches Granulationsgewebe (ab 4.Tag) um die zentrale Nekrosezone
- Makrophagen, die Hämoglobinabbauprodukte speichern
- Wenige neugebildete kollagene Fasern (Fibrozyten)

→Herzmuskelschwiele (nach 4 bis 6 Wochen):

- Bindegewebsnarbe

### 3.3.2 Beurteilung der stenttragenden Myokardproben

Nicht abpräparierte Myokardproben an dem stenttragenden Arteriensegment werden lichtmikroskopisch (siehe Kap. 3.3.1) beurteilt:

- Degeneration von Herzmuskelzellen und bindegewebige Narbenbildung
- Ausbildung eines Kollateralkreislaufs

### 3.3.3 Beurteilung der stenttragenden Gefäßsegmente

Im Durchlichtmikroskop beurteilt man die HE-gefärbten Kunststoffschnitte wie folgt:

- Endothelialisierung des Gefäßlumens
- Neointimabildung
- Gewebe in Umgebung der Struts:
  - Anzeichen einer Entzündungsreaktion
  - Anzeichen einer Fremdkörperreaktion
  - Anzeichen degenerativer Veränderungen (Nekrose, Vakuolen)
  - Hämorrhagien
  - Pigmentablagerungen
  - Neovaskularisation
  - Thrombenbildung

Folgende Histologieparameter werden semiquantitativ beurteilt:

- Neutrophile Granulozyten (PMN)
- Makrophagen (MO)
- Fremdkörperriesenzellen (FKRZ)
- Lymphozyten (Lyz.)
- Eosinophile Granulozyten (Eos.Gr.)

Für jedes stenttragende Arteriensegment wird an einem Präparat einer Schnittebene die Umgebung aller Struts betrachtet. Die ausgezählte Schnittebene hat jeweils ca. 8 Struts. In vier Gesichtsfeldern rund um jeden Strut werden die Zellen bei 100-facher Vergrößerung in Ölimmersion ausgezählt und die absoluten Werte bestimmt. In den

Ergebnissen wird die durchschnittlich pro Strut vorkommende Zellzahl semiquantitativ und entsprechend des Scores (siehe Tabelle 2) angegeben. Die Gruppen werden statistisch verglichen.

Tabelle 2: Semiquantitatives Scoresystem der Histologieparameter.

<b>SCORE</b>	<b>Histomorphologische Definition</b>
<b>0</b>	Merkmal nicht vorhanden
<b>1</b>	Merkmal geringgradig vorhanden/1-10 Zellen
<b>2</b>	Merkmal mittelgradig vorhanden/11-20 Zellen
<b>3</b>	Merkmal hochgradig vorhanden/>20 Zellen

### 3.3.4 Untersuchung der Referenzquerschnitte

Lichtmikroskopisch werden die Tunica intima, die Tunica media und die Tunica adventitia beurteilt. Histopathologische Auffälligkeiten werden dokumentiert.

### 3.3.5 Verletzungsgrad der Gefäßwand/Injury Score (IS)

Die Gefäßwandverletzung im Bereich jedes einzelnen Struts wird beurteilt und einem Verletzungsgrad von 0 bis 3 zugeteilt. Siehe Tabelle 3 und Abbildung 8.

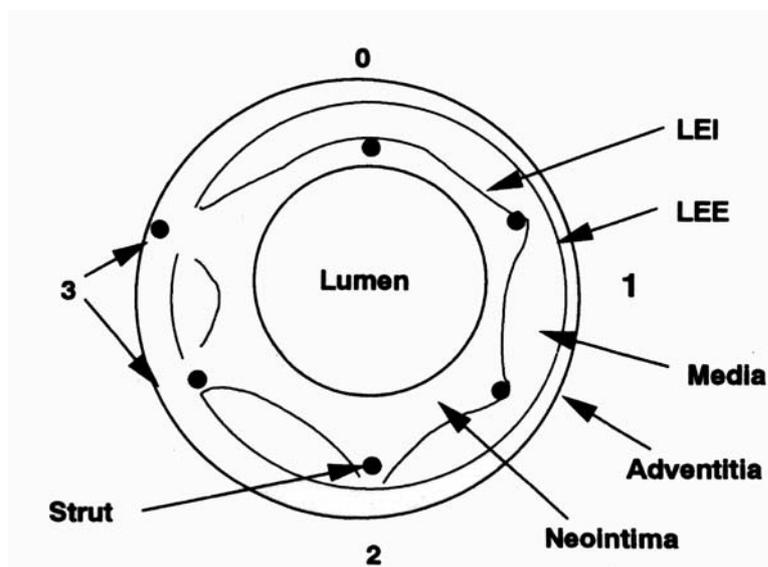


Abbildung 8: Schematische Darstellung der IS-Grade 0 bis 3 der Gefäßwandverletzung (IS=Injury-Score, LEI=Lamina elastica interna, LEE=Lamina elastica externa)

Die Berechnung des mittleren Verletzungsindex erfolgt nach der Methode von SCHWARTZ und Mitarbeitern [1992]. Die Verletzungsscores der Struts einer

Schnittebene werden addiert und durch ihre Anzahl geteilt. Es ergibt sich der mittlere Verletzungsindex pro Schnittebene als arithmetischer Mittelwert:

$$\text{Mittlerer Verletzungsindex} = \frac{\text{Summe der Grade aller Struts}}{\text{Anzahl aller Struts}}$$

Tabelle 3: Definition der Verletzungsgrade der Arterienwand im Strutbereich (IS=Verletzungsindex; LEE=Lamina elastica externa; LEI=Lamina elastica interna; ggr.=geringgradig)

<b>IS - SCORE</b>	<b>Histomorphologische Kriterien</b>
<b>0</b>	LEI intakt; Media nicht komprimiert
<b>1</b>	LEI intakt oder ggr. laceriert; Media komprimiert, aber nicht laceriert
<b>1,5</b>	Media sehr stark komprimiert, LEI aber intakt oder LEI nicht darstellbar, obwohl Media ggr. komprimiert
<b>1,8</b>	Media und LEE sehr stark komprimiert, LEI aber intakt
<b>2</b>	LEI und Media laceriert; Adventitia intakt
<b>3</b>	Adventitia verletzt oder sogar perforiert

### 3.3.6 Symmetrie der Stentaufdehnung (AD)

Die Beurteilung erfolgt auf allen Ebenen, indem die Gleichmäßigkeit der einzelnen Strutabstände zueinander bewertet wird. Mit Hilfe der Scores von 1 bis 3 aus Tab.4 wird der arithmetische Mittelwert für jede Schnittebene und für den ganzen Stent bestimmt. Beispiele für einen symmetrisch und einen asymmetrisch aufgedehnten Stent sind in Abb. 9 und 10 dargestellt.

Tabelle 4: Charakteristika der Stentaufdehnung

<b>SCORE</b>	<b>Charakteristika der Stentaufdehnung</b>
<b>1</b>	symmetrische Stentaufdehnung
<b>2</b>	deutliche Asymmetrie
<b>3</b>	hochgradige Asymmetrie



Abbildung 9 und 10: Beispiele für einen symmetrisch (links, Schwein 23929 LAD) und für einen asymmetrisch (rechts, 23179 LAD) aufgedehnten Stent. 2,5fache Vergrößerung.

### 3.4 Histomorphometrie

Die Objektträgerpräparate werden mit einem digitalen Kamerasystem für Mikroskope (Olympus® DP11, Olympus Optical CO., GmbH, Hamburg) fotografiert und mit einem Bildanalyseprogramm (NIH-Image, Version Beta 4.0.2 von Scion Image für Windows®; National Institutes of Health, USA) werden nach Eichung planimetrische Messungen angewendet. Im Tabellenkalkulationsprogramm (Excel XP 2002, Microsoft Corporation) berechnet man die Ergebnisse der Histomorphometrie-Parameter. Zur Eichung werden die fotografierten Gefäßschnitte mit Hilfe eines fotografierten Lineals kalibriert, indem jeweils mit der identischen Lupenvergrößerung gearbeitet wird und die Bildgrößen sich bei der Ausmessung entsprechen. Das Bildanalyseprogramm ermittelt die Anzahl der Pixel, die 1mm entsprechen. Diese Skalierung wird auf die Gefäßschnitte übertragen.

#### 3.4.1 Neointimale Fläche (NF)

Ziel der Messung nach SCHWARTZ et al. [1992] ist es, die Fläche des Originallumens und die Fläche des Residuallumens nach 28 Tagen zu bestimmen. Das Originallumen (OL) wird über die Ausmessung des Umfangs der LEI bestimmt [CARTER et al., 1994], es entspricht dem Gefäßlumen unmittelbar nach der Stentimplantation. Das Residuallumen (RL) wird über die Ausmessung des Umfangs des Lumens, gebildet vom neointimalen Endothel, bestimmt.

Durch Subtraktion des Residuallumens vom Originallumen ergibt sich die neointimale Fläche in mm<sup>2</sup>.

$$NF = OL - RL$$

Um die Fläche (A) der Neointima zu ermitteln, wird die Formel für den Umfang (U) eines idealen Kreises nach dem Radius (r) aufgelöst und dieser in die Flächenformel für einen idealen Kreis eingesetzt:

$$U=2 \times \text{rad} \times \pi \quad \text{und} \quad A=\text{rad}^2 \times \pi \quad \rightarrow \quad A=\sqrt{\frac{\text{rad}^2}{4\pi}}$$

In den Ergebnissen wird für jeden Stent der Mittelwert der neointimalen Flächen (NF) aus den vier ausgemessenen Ebenen angegeben.

### 3.4.2 Mittlere berechnete Neointimadicke (mNID)

Die mittlere neointimale Dicke stellt ein Maß neointimaler Proliferation, gemessen in  $\mu\text{m}$ , dar. Zur Berechnung werden die Flächenformel für das Originallumen (OL) und das Restlumen (RL) nach dem Radius (rad) aufgelöst

$$\text{rad}=\sqrt{\frac{A}{\pi}} \quad \text{und voneinander subtrahiert:}$$

$$\text{NID}=\text{radOL} - \text{radRL}.$$

Im Schema in der Abbildung 11 ist die Länge für die NID eines Struts eingezeichnet.

### 3.4.3 Mittlere absolute Neointimadicke (mNIT)

Dieser Parameter gibt die mittlere Neointimadicke als absoluten Wert in  $\mu\text{m}$  an. Im Vergleich zur berechneten NID wird die Strutdicke bei der NIT nicht miteinbezogen, da die Messung direkt über den Struts erfolgt.

Ausgegangen wird vom Mittelpunkt des Gefäßlumens. Von dort werden Linien durch den Strut gezogen, die möglichst senkrecht auf der LEE stehen. Bei stark komprimierten Gefäßen dient der Mittelpunkt nicht als Hilfspunkt, um durch die Struts gehende, senkrecht auf der LEE stehende Linien zu ziehen. Es sinnvoller die Linie in diesem Fall direkt senkrecht auf die LEE zu setzen und den Mittelpunkt zu ignorieren. Gemessen wird die Länge von der endothelialen Neointima bis zur Strutinnenseite. Dieser Wert entspricht der ersten Messung bei der Distanzmessung (siehe Kap. 3.4.6). Die Werte werden addiert und durch ihre Anzahl geteilt. In Abbildung 11 ist die NIT für einen Strut schematisch dargestellt.

### 3.4.4 Relative Neointimafläche (RF)

Dieser Wert gibt die relative Restenosefläche nach 28 Tagen in Prozent an. Die Berechnung ergibt sich aus folgendem Verhältnis:

$$RF[\%]=100 - \left( \frac{RL}{OL} \right) \times 100$$

### 3.4.5 Relativer Restenosediameter (RD)

Dieser Wert gibt den relativen Restenosediameter nach 28 Tagen in Prozent an und wird wie folgt berechnet:

$$RD[\%]=\left( \frac{NID}{radOL} \right) \times 100.$$

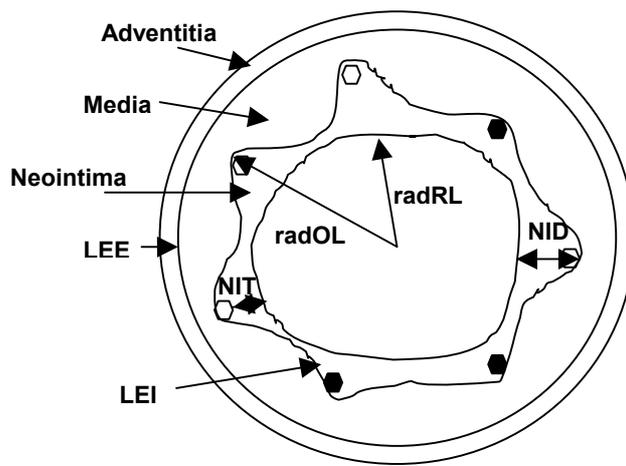


Abbildung 11: Schema zur Ausmessung der berechneten Neointimadicke (NID) und der absoluten Neointimadicke (NIT) (LEI=Lamina elastica interna, LEE=Lamina elastica externa, NID=berechnete Neointimadicke, NIT=absolute Neointimadicke, radOL=Radius des Originallumens, radRL=Radius des Restlumens)

### 3.4.6 Distanzmessung (D)

Diese Messung gibt die relative Dicke der Neointima direkt über dem Strut in Prozent an. In Relation steht dieser Wert zu der Strecke neointimales Endothel bis LEE, der hier 100% entspricht.

Hierzu werden die bei Ausmessung der NIT gezogenen Hilfslinien durch die Struts verwendet. Zwei Messungen sind nötig. Die erste entspricht der Messung der NIT, d.h. neointimales Endothel bis Strutinnenseite. Die zweite Strecke misst neointimales Endothel bis zur LEE. Die Ergebnisse werden als arithmetische Mittelwerte für die Ebenen bzw. für einzelne stenttragende Gefäße bzw. für die Stentgruppen angegeben.

### 3.5 Statistische Berechnungen und Tests zur Signifikanz

Die Ergebnisse werden im folgenden Teil der Arbeit als Mittelwerte für die jeweilige Gruppe mit der Standardabweichung genannt. Anschließend wird die Bewertung der statistischen Tests genannt.

Um die Tests durchführen zu können, wird eine Normalverteilung der Variablen der drei Gruppen angenommen. Das Signifikanzniveau wird bei 5% festgelegt. Der p-Wert steht für die Irrtumswahrscheinlichkeit die Hypothese fälschlicherweise zu verwerfen. Das bedeutet, dass die Werte unter der Hypothese mit einer Wahrscheinlichkeit von 5% außerhalb des Konfidenzbereichs liegen.

Zunächst wird im *One Way ANOVA-Test* die einfaktorielle Varianzanalyse auf Gruppenzugehörigkeit untersucht. Der p-Wert ist  $\leq 0,05$ , falls sich die drei Gruppen signifikant voneinander unterscheiden. Wenn  $0,05 < p \leq 0,10$ , besteht eine Tendenz zur Signifikanz.

Der sich anschließende *Post Hoc Test nach der Methode Scheffe* spezifiziert, welche der drei Gruppen sich voneinander signifikant oder mit einer Tendenz zur Signifikanz unterscheiden. Der p-Wert wird wie im ANOVA-Test beurteilt, d.h. das Signifikanzniveau liegt bei 5%.

Der in den Analysen angewendete Pearsonsche Maßkorrelationskoeffizient  $r$  (siehe Kap. 3.6.7) ist für kontinuierliche Daten definiert und stellt ein Maß dar für die Stärke des linearen Zusammenhangs zwischen zwei Variablen. Hat der Korrelationskoeffizient  $r$  den Wert 1, so liegt eine vollständige positive Korrelation der beiden Variablen vor, bei dem Wert -1 ist die Korrelation vollständig negativ. Hat der Korrelationskoeffizient den Wert 0, so bezeichnet man die beiden Merkmale als unkorreliert.

### 3.6 Ergebnisse

In den Ergebnissen werden 38 stenttragende Gefäße aus 20 Tieren berücksichtigt. 11 Stents sind aus Niobzirkonium (Gruppe I), 19 Stents sind aus Niobzirkonium+IrOx (Gruppe II) und 8 Stents sind aus medizinischem Edelstahl 316L (Kontrollgruppe III).

#### 3.6.1 Überlebensrate

Die Gesamtzahl der für den Versuch benötigten Tiere wird mit 23 angesetzt. Drei Schweine sterben, das entspricht einer Ausfallsrate von ca.13%. Bei den Tieren tritt der Exitus letalis jeweils in der bereits unbeobachteten, postoperativen Phase auf. Die Herzen dieser Tiere werden pathologisch-anatomisch beurteilt.

#### 3.6.2 Verlauf der Implantation

Eine Vergleichbarkeit der zu untersuchenden Parameter ist zwischen den Gruppen nur gegeben, wenn die Versuchsbedingungen übereinstimmen. In diesem Kapitel wird auf Probleme während der Implantation der Stents hingewiesen.

Bei folgenden Schweinen ergeben sich Komplikationen:

*I.2 Schwein 34:* Der Gefäßdurchmesser der LCX stellt sich angiographisch sehr klein dar. Die Implantation wird in die RCA vorgenommen.

*I.3 Schwein 37:* Keine Stentimplantation in die LCX, da sich das Gefäß angiographisch sehr klein darstellt.

*I.6 Schwein 42, LCX:* Der Ballon wird 3-mal nachgedehnt, um die sichere Implantation des Niobzirkonium-Stents zugewährleisten.

*I.7+I.8 Schwein 23099:* Bei der Implantation des Niobzirkonium-Stents in die LCX kann distal im Gefäß keine optimale Aufweitung des Stents erfolgen, da zunächst ein Ballonkatheter verwendet wird, dessen Durchmesser für den distalen Gefäßabschnitt zu stark erscheint. Der Katheter wird entfernt und die LCX wird mit einem zweiten, schmalereeren Ballonkatheter distal aufgedehnt. Das Schwein verstirbt 15 Minuten nach der Extubation in seiner Aufwachbox.

*I.9 Schwein 23141, LAD:* Bei der Implantation stellt sich angiographisch distal in der LAD ein Gefäßspasmus dar.

*I.11 Schwein 23170, LCX:* Der Niobzirkonium-Stent verrutscht nach der Aufdehnung nach proximal, es wird mehrmals erfolglos nachgedehnt. Da der Stent sich nicht implantieren lässt, wird er über den Führungskatheter aus dem Gefäßlumen entfernt, erneut aufgekrimpt und sodann implantiert.

Angiographisch werden Thromben am Implantationsort lokalisiert, die bei der anschließenden Implantation durch den Stent an die Wand gedrückt werden.

- I.13 Schwein 23197, LCX:* Der Niobzirkonium-Stent sitzt nach Inflation des Ballons auf 18 atm noch nicht fest an der Gefäßwand an, deshalb wird der Ballon auf 22 atm aufgedehnt. Das Tier stirbt bei der Operation nach Kammerflimmern.
- II.14+II.15 Schwein 23138:* Leichte Komplikationen während der Implantation, da die Niobzirkonium+IrOx-Stents zu wenig Elastizität beim Verschieben im Gefäßlumen zeigen. Die Narkose verläuft instabil: Es werden 115 mg Ketaminhydrochlorid i.v. (Narketan®10, Fa. Chassot GmbH, Ravensburg) verabreicht, da das Tier bradykard ist. Da Ketamin ohne Wirkung ist, werden 0,5 mg Atropinsulfat i.v. (Fa. Braun, Melsungen) appliziert. Das Schwein hat nach Operationsende einen Atemstillstand und muss mehrere Minuten beatmet werden. Das Schwein verstirbt post OP in seiner Aufwachbox.
- II.17 Schwein 23172, LCX:* Die LCX stellt sich angiographisch sehr klein dar und nach der Implantation des Niobzirkonium+IrOx-Stents werden proximal Gefäßdissektionen sichtbar.
- II.19 Schwein 23219, LCX:* Der Niobzirkonium+IrOx-Stent muss 3-mal bis auf 12 atm aufgedehnt werden, da er keinen festen Halt in der LCX zeigt. Nach der Implantation ist die LCX proximal und distal des Stents unter angiographischer Darstellung spastisch.
- II.20 Schwein 23220:* Der Eingang in das Gefäßlumen ist mit dem Floppy auch nach mehrmaligen Versuchen nicht sondierbar, in die LCX erfolgt keine Stentimplantation.
- II.23 Schwein 23929, LAD:* Der Niobzirkonium+IrOx-Stent wird vom Operateur auf Flexibilität und Beweglichkeit im Gefäßlumen getestet. Der Stent wird durch Balloninsufflation auf 14 atm überexpandiert, um das Stentmaterial zu testen. Anschließend stellt sich angiographisch ein Gefäßspasmus dar.
- II.25 Schwein 92, LAD:* Während der Implantation des Niobzirkonium+IrOx-Stents in die LAD sind im EKG während mehrerer Minuten hochgradige ST-Hebungen nachzuverfolgen. Im distalen Drittel der LAD fließt unter angiographischer Darstellung das Kontrastmittel nur noch verzögert ab. Die Beobachtungen weisen auf einen eventuellen Verschluss des Gefäßlumens und eine Myokardischämie hin. Das Tier ist vor der Euthanasie klinisch unauffällig.

- II.27 Schwein 24084, LAD:* Der Niobzirkonium+IrOx-Stent muss mehrfach mit sehr hohem Druck aufgedehnt werden, um seinen Halt im Gefäß angiographisch bestätigen zu können. Dazu muss der 2,5 mm große Ballonkatheter durch einen stärkeren Ballonkatheter ersetzt werden.
- II.30 Schwein 24151, LCX:* Der Niobzirkonium+IrOx-Stents kann nur nach wiederholtem Aufdehnen des Ballons implantiert werden. Der Ballonkatheter knickt aus ungeklärter Ursache ab.
- II.31 Schwein 24565, LAD:* Der Niobzirkonium+IrOx-Stent wird nach mehrmaliger Aufdehnung beim Zurückziehen des Ballonkatheters mit nach proximal verschoben, er scheint am Ballon festzuhängen. Der im Gefäßlumen verbleibende Stent muss mit einem zweiten Ballonkatheter nach distal vorgeschoben und nachgedehnt werden.
- II.32+III.42 Schwein 24566:* Zunächst werden Endothelläsionen und Thrombenbildung durch den in der LCX platzierten Floppy induziert. Im EKG zeigen sich deutliche ST-Hebungen. Die Thromben werden analog PTCA an die Gefäßwand gedrückt, daraufhin normalisiert sich das EKG. Ein zweiter Thrombus proximal in der LCX verursacht eine weitere ST-Hebungen. Der Thrombus wird diesmal beim Aufdehnen des Niobzirkonium+IrOx-Stents an die Gefäßwand gedrückt. Bei der folgenden Implantation des Stahl-Stents in die LAD ist das Gefäß unter Angiographiekontrolle zunächst hochgradig spastisch, es fließt kein Kontrastmittel hindurch. Undeutliche ST-Hebungen werden registriert. Die Implantation verläuft danach aber komplikationslos.
- II.33 Schwein 24567, LAD:* Der Niobzirkonium+IrOx-Stent bewegt sich beim Entfernen des Ballonkatheters nach proximal. Nach einer zweiten Stentaufdehnung auf 14 atm sitzt der Stent beim Zurückziehen des Ballonkatheters fest im Gefäß, er lässt sich aber durch den Guiding (der entfernt werden soll) wieder nach proximal bewegen. Der Stent wird mit dem Guiding nach distal ins Lumen zurückgeschoben. Er ist dann fest implantiert.
- II.34 Schwein 24568, LCX:* Der Ballon scheint defekt, da er nach Inflation schnell an Druck verliert. Er muss 2-mal aufgedehnt werden. Beim Entfernen des Ballonkatheters bewegt sich der Niobzirkonium+IrOx-Stent um ca. ½ Stentlänge nach proximal, er bleibt aber dort in stabiler Lage.

*II.35+II.36 Schwein 24728:* In der Narkose und bei der Implantation der Niobzirkonium+IrOx-Stents treten keine Komplikationen auf. Das Tier verstirbt vier Stunden post OP.

Einige implantationsrelevante Daten stehen in den Tabellen 5, 6 und 7. Die Parameter Ballongröße und Diameter des dilatierten Ballons (entnommen aus der Compliance-Tabelle des Herstellers, Fa. Cordis®, Medizinische Apparate GmbH, Haan) werden in die angiographischen Berechnungen (siehe Kap. 3.2.3.4) einbezogen. Der Verletzungsindex (IS) und die Aufdehnungssymmetrie (AD) werden bei der histologischen Untersuchung ermittelt (siehe Kap. 3.3.5 und 3.3.6).

Statistisch kann zwischen den drei Gruppen kein signifikanter Unterschied bezüglich Ballongröße ( $p=0,717$ , ANOVA), Inflationsdruck ( $p=0,190$ , ANOVA) und Durchmesser des dilatierten Ballons ( $p=0,569$ , ANOVA) festgestellt werden, siehe Tabelle 5, 6 und 7.

Tabelle 5: Implantationstabelle, Gruppe I/NbZr-Stents (AD=Aufdehnungssymmetrie; atm=Atmosphären; IS=Verletzungsindex; LAD=left anterior descending coronary artery; LCX=left circumflex coronary artery; Max=Maximum; Min=Minimum; mm=Millimeter; NbZr=Niobzirkonium; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

GRUPPE I NbZr		Ballon- größe	Inflations- Druck	Diameter dilatiertes Ballon	IS	AD
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm]	[atm]	[mm]		
I.1	LAD	3,00	9,00	3,12	1,13	1,50
I.2	RCA	3,00	20,00	3,54	1,00	1,30
I.3	LAD	2,50	5,00	2,47	1,00	1,66
I.4	LAD	2,50	8,00	2,56	1,40	1,37
I.5	LAD	3,00	8,00	3,08	1,63	1,10
I.6	LCX	3,00	18,00	3,30	1,24	1,00
I.9	LAD	3,00	10,00	3,15	0,98	2,25
I.10	LCX	3,00	6,00	3,00	0,82	1,95
I.11	LCX	2,50	8,00	2,82	2,23	1,40
I.12	LAD	2,50	16,00	2,80	0,62	1,48
I.13	LCX	2,50	22,00	2,98	0,59	1,33
<b>x</b>		2,77	11,82	2,98	1,15	1,48
<b>SD</b>		0,26	6,01	0,31	0,47	0,36
<b>Min</b>		2,50	5,00	2,47	0,59	1,00
<b>Max</b>		3,00	22,00	3,54	2,23	2,25
<b>Median</b>		3,00	9,00	3,00	1,00	1,40

Tabelle 6: Implantationstabelle, Gruppe II/NbZr+IrOx-Stents (AD=Aufdehnungssymmetrie; atm=Atmosphären; IS=Verletzungsindex; LAD=left anterior descending coronary artery; LCX= left circumflex coronary artery; Max=Maximum; Min=Minimum; mm=Milimeter; NbZr+IrOx=mit iridiumoxid beschichtete Niobzirkonium-Stents; SD=Stanardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

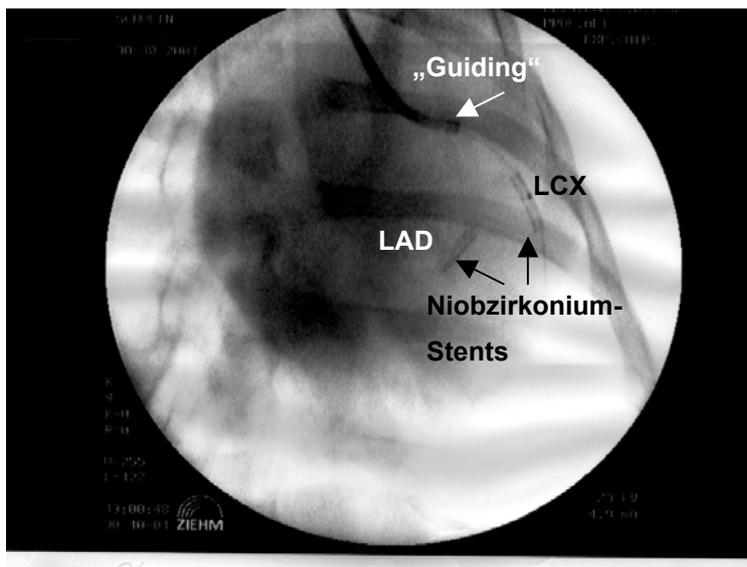
GRUPPE II NbZr+IrOx		Ballon- größe	Inflations- druck	Diameter dilatiertes Ballon	IS	AD
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm]	[atm]	[mm]		
II.16	LAD	3,00	6,50	3,02	1,15	1,08
II.17	LCX	2,50	6,00	2,50	1,78	1,48
II.18	LAD	2,50	12,00	2,68	1,30	1,95
II.19	LCX	2,50	8,00	2,56	1,16	1,28
II.20	LAD	2,50	9,00	2,59	1,35	1,75
II.21	LAD	2,50	8,00	2,56	1,02	1,48
II.22	LCX	2,50	8,00	2,56	1,18	1,95
II.23	LAD	3,00	8,00	3,00	1,72	1,70
II.24	RCA	3,50	8,00	3,50	1,32	1,83
II.25	LAD	3,50	6,50	3,43	1,34	1,33
II.26	LCX	3,00	8,00	3,00	2,31	1,42
II.27	LAD	3,00	8,00	3,00	1,63	1,25
II.28	LCX	3,00	10,00	3,07	1,42	1,38
II.29	LAD	3,00	10,00	3,07	1,71	1,88
II.30	LCX	2,50	12,00	2,62	1,86	2,13
II.31	LAD	3,00	14,00	3,17	1,54	1,00
II.32	LCX	3,00	12,00	3,11	1,00	1,83
II.33	LAD	2,50	14,00	2,68	1,07	1,00
II.34	LCX	3,00	7,50	2,97	1,00	1,00
<b>x</b>		2,84	9,24	2,90	1,41	1,51
<b>SD</b>		0,34	2,46	0,30	0,35	0,36
<b>Min</b>		2,50	6,00	2,50	1,00	1,00
<b>Max</b>		3,50	14,00	3,50	2,31	2,13
<b>Median</b>		3,00	8,00	3,00	1,34	1,48

**Tabelle 7:** Implantationstabelle, Gruppe III/Stahl-Stents (AD=Aufdehnungssymmetrie; atm=Atmosphären; IS=Verletzungsindex; LAD=left anterior descending coronary artery; LCX= left circumflex coronary artery; Max=Maximum; Min=Minimum; mm=Milimeter; SD=Stanardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

GRUPPE III Stahl		Ballon- größe	Inflations- druck	Diameter dilatiertes Ballon	IS	AD
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm]	[atm]	[mm]		
III.37	LAD	2,50	18,00	2,86	0,89	1,08
III.38	LCX	2,50	6,00	2,50	0,51	1,55
III.39	LAD	2,50	9,00	2,59	0,40	2,00
III.40	LCX	2,50	5,00	2,47	0,50	1,00
III.41	LCX	3,00	8,00	3,14	0,91	1,00
III.42	LAD	3,00	6,50	2,90	1,20	1,25
III.43	LCX	3,00	8,00	3,14	0,98	1,00
III.44	LAD	3,00	10,00	3,06	1,00	1,00
<b>x</b>		2,75	8,81	2,83	0,80	1,23
<b>SD</b>		0,27	4,05	0,28	0,29	0,36
<b>Min</b>		2,50	5,00	2,47	0,40	1,00
<b>Max</b>		3,00	18,00	3,14	1,20	2,00
<b>Median</b>		2,75	8,00	2,88	0,90	1,04

### 3.6.3 Angiographische Ergebnisse

Die radiologische Darstellbarkeit der unbeschichteten und der beschichteten Niobzirkonium-Stents ist sehr gut. Die Abbildung 12 zeigt die zwei implantierten Niobzirkonium-Stents unter Durchleuchtung.



**Abbildung 12:** Bei der Darstellung der Niobzirkonium-Stents in der LAD und der LCX unter Durchleuchtung ergibt sich eine optimale radiologische Sichtbarkeit. Schwein 23172.

Bei der Angiographie werden der Durchmesser des Gefäßes am Implantationsort vor der Implantation (nativ), der Durchmesser des maximal dilatierten Ballons während der Implantation, der Durchmesser des Gefäßes nach der Implantation und der Durchmesser des Gefäßes bei der Opferung gemessen. Daraus werden weitere Parameter berechnet. Die in den Tabellen 8, 9 und 10 aufgeführten Werte sind jeweils Mittelwerte, da immer in vier Ebenen ausgemessen wird.

**Tabelle 8:** Angiographieparameter, Gruppe I/NbZr-Stents (BTV=ballon-to-vessel-ratio; d=Tage; dB+S=Diameter des dilatierten Ballons mit Stent; Max=Maximum; Min=Minimum; NbZr=Niobzirkonium; p.i.=post implantationem; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

Gruppe I NbZr		Gefäß nativ	dB+S	Gefäß p.i.	Gefäß 28d	over-stretch	BTV	p.i./nativ	Re-stenose
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm]	[mm]	[mm]	[mm]				[%]
I.1	LAD	3,18	3,55	3,17	2,79	0,94	0,98	1,00	12,16
I.2	RCA	3,57	4,03	3,60	2,09	0,84	0,99	1,01	41,79
I.3	LAD	2,24	2,91	2,84	2,33	1,12	1,10	1,27	17,99
I.4	LAD	2,66	3,14	2,72	2,58	0,94	0,96	1,02	5,19
I.5	LAD	3,03	3,87	3,64	2,83	0,99	1,02	1,20	22,09
I.6	LCX	2,83	3,46	3,40	2,68	1,06	1,11	1,20	21,06
I.9	LAD	3,08	4,20	4,25	4,12	0,97	1,02	1,38	3,20
I.10	LCX	3,67	3,88	4,18	3,90	0,82	0,82	1,14	6,64
I.11	LCX	2,70	2,73	2,60	2,40	0,93	1,04	0,96	7,66
I.12	LAD	2,56	3,19	3,21	2,65	0,98	1,09	1,25	17,50
I.13	LCX	2,46	3,22	2,91	2,42	1,01	1,21	1,18	16,76
<b>x</b>		2,91	3,47	3,32	2,80	0,96	1,03	1,15	15,64
<b>SD</b>		0,43	0,46	0,53	0,61	0,08	0,10	0,13	10,38
<b>Min</b>		2,24	2,73	2,60	2,09	0,82	0,82	0,96	3,20
<b>Max</b>		3,67	4,20	4,25	4,12	1,12	1,21	1,38	41,79
<b>Median</b>		2,83	3,46	3,21	2,65	0,97	1,02	1,18	16,76

**Tabelle 9:** Angiographieparameter, Gruppe II/NbZr+IrOx-Stents (BTV=ballon-to-vessel-ratio; d=Tage; dB+S=Diameter des dilatierten Ballons mit Stent; Max=Maximum; Min=Minimum; NbZr+IrOx=mit Iridiumoxid beschichtetes Niobzirkonium; p.i.=post implantationem; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

Gruppe NbZr+IrOx	II	Gefäß ativ	dB+S	Gefäß p.i.	Gefäß 28d	over- stretch	BTV	p.i./ nativ	Re- stenose
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm]	[mm]	[mm]	[mm]				[%]
II.16	LAD	2,88	3,03	2,90	2,80	1,04	1,05	1,00	3,49
II.17	LCX	2,14	2,93	3,44	2,84	1,17	1,17	1,61	17,41
II.18	LAD	2,54	2,94	2,69	2,48	0,98	1,05	1,06	7,92
II.19	LCX	2,68	3,20	2,88	2,41	0,93	0,96	1,08	16,28
II.20	LAD	2,46	3,21	3,00	2,22	1,02	1,05	1,22	26,01
II.21	LAD	1,88	2,60	2,35	2,20	1,33	1,36	1,25	6,14
II.22	LCX	1,83	2,29	2,15	2,14	1,36	1,40	1,17	0,26
II.23	LAD	2,39	3,39	3,06	2,29	1,25	1,25	1,28	25,36
II.24	RCA	2,20	4,22	3,09	1,98	1,59	1,59	1,40	35,80
II.25	LAD	2,32	4,60	3,76	3,69	1,51	1,48	1,62	1,95
II.26	LCX	2,68	2,94	3,05	2,47	1,12	1,12	1,14	19,09
II.27	LAD	3,16	3,26	3,29	3,02	0,95	0,95	1,04	8,28
II.28	LCX	3,31	3,50	3,46	3,10	0,91	0,93	1,04	10,33
II.29	LAD	2,14	3,23	3,32	3,04	1,40	1,44	1,55	8,21
II.30	LCX	1,87	2,34	2,74	2,46	1,33	1,40	1,46	10,14
II.31	LAD	2,42	3,19	3,22	2,80	1,24	1,08	1,33	13,15
II.32	LCX	3,25	3,59	3,63	2,89	0,92	0,98	1,12	20,37
II.33	LAD	2,59	3,40	2,96	2,55	0,96	1,03	1,14	14,00
II.34	LCX	2,96	3,22	3,29	3,02	1,01	1,00	1,11	8,20
<b>x</b>		2,51	3,21	3,07	2,65	1,16	1,17	1,24	13,28
<b>SD</b>		0,45	0,55	0,41	0,42	0,21	0,21	0,20	9,11
<b>Min</b>		1,83	2,29	2,15	1,98	0,91	0,93	1,00	0,26
<b>Max</b>		3,31	4,60	3,76	3,69	1,59	1,59	1,62	35,80
<b>Median</b>		2,46	3,21	3,06	2,55	1,12	1,08	1,17	10,33

**Tabelle 10:** Angiographieparameter, Gruppe III/Stahl-Stents (BTV=ballon-to-vessel-ratio; d=Tage; dB+S=Diameter des dilatierten Ballons mit Stent; Max=Maximum; Min=Minimum; p.i.=post implantationem; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

Vers.-Nr.		Gefäß nativ		Gefäß p.i.	Gefäß 28d	stretch	BTV	p.i./ nativ	stenose
		[mm]	[mm]		[mm]				[%]
III.37	LAD	2,51	2,56	2,55	2,01	1,00	1,14	1,01	21,04
III.38	LCX	2,10	2,68	2,48	2,42	1,19	1,19	1,18	2,55
III.39	LAD	2,31	2,71	2,89	2,02	1,08	1,12	1,25	29,98
III.40	LCX	2,34	2,83	2,65	2,60	1,07	1,05	1,13	2,04
III.41	LCX	3,07	3,10	2,93	2,84	0,98	0,97	0,95	3,10
III.42	LAD	3,53	3,83	3,56	2,90	0,85	0,87	1,01	18,61
III.43	LCX	2,95	2,96	2,94	2,66	1,02	1,01	0,99	9,44
III.44	LAD	2,99	3,09	3,07	2,66	1,00	0,94	1,03	13,29
<b>x</b>		2,72	2,97	2,88	2,51	1,02	1,04	1,07	12,51
<b>SD</b>		0,45	0,37	0,32	0,32	0,09	0,10	0,10	9,50
<b>Min</b>		2,10	2,56	2,48	2,01	0,85	0,87	0,95	2,04
<b>Max</b>		3,53	3,83	3,56	2,90	1,19	1,19	1,25	29,98
<b>Median</b>		2,73	2,90	2,91	2,63	1,01	1,03	1,02	11,37

### 3.6.3.1 Gefäßdiameter

Vor der Implantation beträgt der angiographisch ermittelte native Gefäßdurchmesser (mm) in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $2,91 \pm 0,43$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $2,51 \pm 0,45$  und in der Gruppe der Stahl-Stents  $2,72 \pm 0,45$ . In der statistischen Auswertung kann kein Unterschied der Varianzen der drei Stentgruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,082$ ). Es besteht jedoch eine Tendenz zu Signifikanz. Der Post Hoc Test bestätigt diesen Trend mit  $p=0,087$  zwischen der Gruppe I der Niobzirkonium- und der Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents.

Post implantationem beträgt der Gefäßdurchmesser (mm) in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $3,32 \pm 0,53$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $3,07 \pm 0,41$  und in der Gruppe der Stahl-Stents  $2,88 \pm 0,32$ . In der statistischen Auswertung kann kein Unterschied im Niveau der Gruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,112$ ).

Nach 28 Tagen beträgt der Gefäßdurchmesser (mm) in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $2,80 \pm 0,61$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $2,65 \pm 0,42$  und in der Gruppe der Stahl-Stents  $2,51 \pm 0,32$ . In der statistischen Auswertung wird kein Unterschied der Gruppenvarianzen vermerkt (ANOVA,

p=0,445). In den Tabellen 8, 9 und 10 sind die Ergebnisse aufgeführt und in der Abbildung 13 graphisch dargestellt.

Das Verhältnis des Gefäßdurchmessers post implantationem zum nativen Gefäßdurchmesser (p.i./nativ) liegt in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents bei  $1,15 \pm 0,13$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents bei  $1,24 \pm 0,20$  und in der Gruppe der Stahl-Stents bei  $1,07 \pm 0,10$ . Im ANOVA Test ergibt sich ein signifikanter Unterschied mit p=0,047. Der Post Hoc Test lässt zwischen den Gruppen II und III der Niobzirkonium+IrOx- und der Stahl-Stents eine Tendenz zur Signifikanz erkennen, p=0,061. In den Tabellen 8, 9 und 10 sind die Ergebnisse aufgeführt und in der Abbildung 13 graphisch dargestellt.

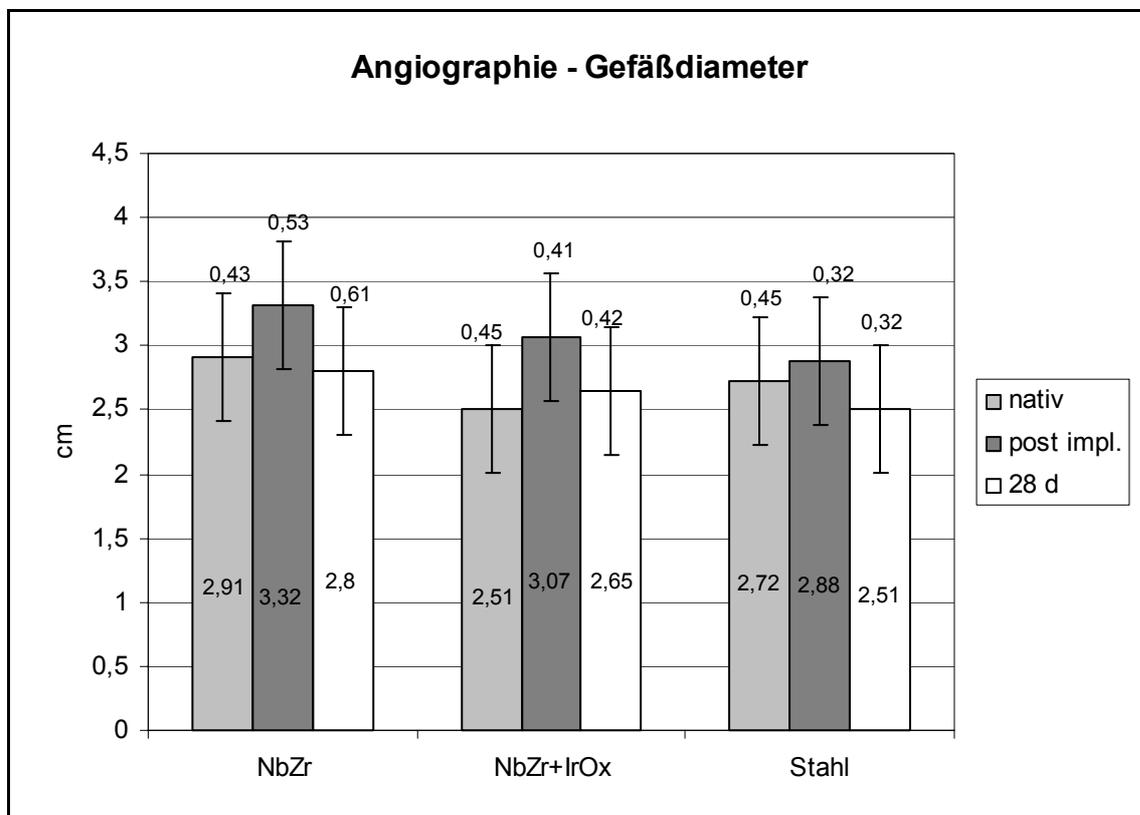


Abbildung 13: Mittlere angiographisch gemessene Gefäßdurchmesser der drei Gruppen: nativ, post implantationem und bei der Opferung nach 28 Tagen. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (d=Tage, post impl.=post implantationem, NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung)

### 3.6.3.2 Überdehnungsfaktor

Die errechnete Überdehnung (overstretch) ergibt für die Gruppe der Niobzirkonium-Stents den Faktor  $0,96 \pm 0,08$ , für die Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $1,16 \pm 0,21$  und für die Gruppe der Stahl-Stents  $1,02 \pm 0,09$ . Statistisch kann ein

signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,009$ ).

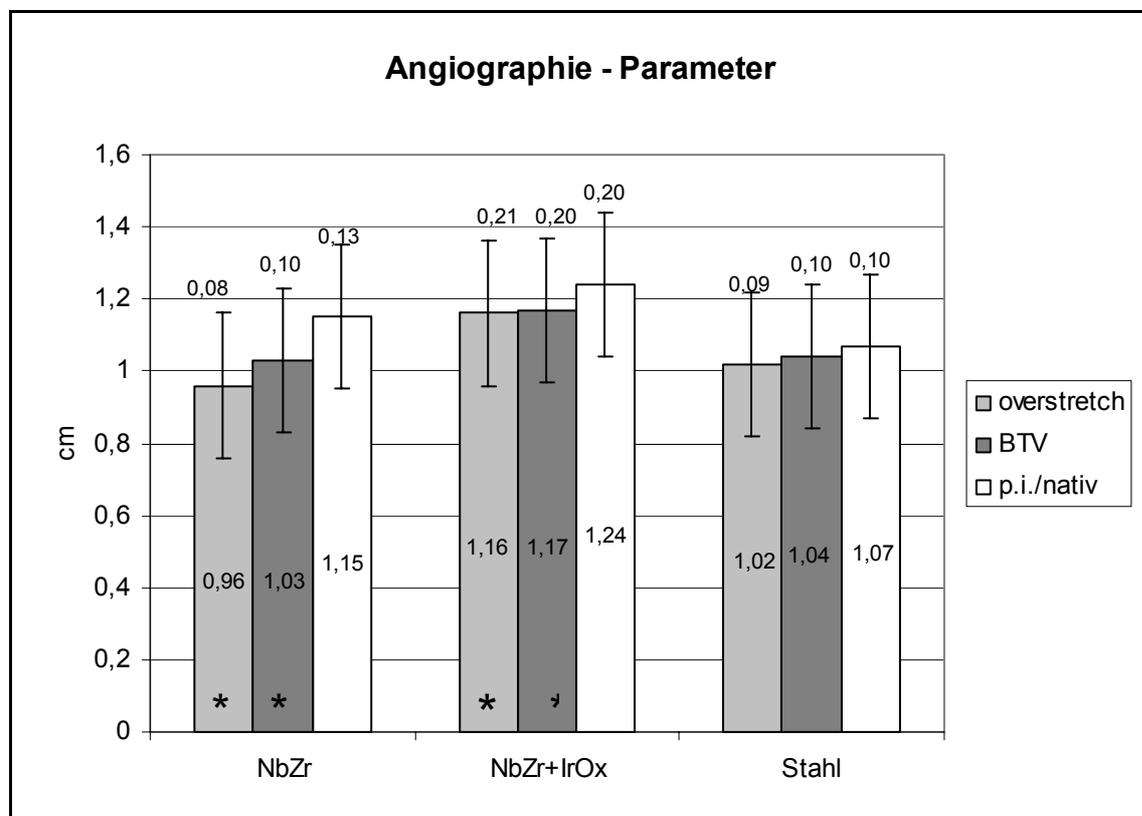
Der Post Hoc Test bestätigt die Signifikanz zwischen den Gruppen I und II der Niobzirkonium- und der Niobzirkonium+IrOx-Stents mit  $p=0,013$ .

In den Tabellen 8, 9 und 10 sind die Ergebnisse der einzelnen Gruppen aufgeführt. Das Diagramm 14 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse.

### 3.6.3.3 Ballon-to-vessel-ratio (BTV)

Das Verhältnis zwischen dem nativen Gefäßdurchmesser und der Ballongröße ergibt für die Gruppe der Niobzirkonium-Stents den Faktor  $1,03 \pm 0,10$ , für die Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $1,17 \pm 0,20$  und für die Gruppe der Stahl-Stents  $1,04 \pm 0,10$ . Bei der statistischen Auswertung kann innerhalb der drei Gruppen ein signifikanter Unterschied ermittelt werden (ANOVA,  $p=0,048$ ).

Der Post Hoc Test belegt zwischen der Gruppe I der Niobzirkonium- und der Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents für die BTV einen Trend zur Signifikanz,  $p=0,096$ . In den Tabellen 8, 9 und 10 sind die Ergebnisse aufgeführt und in der Abbildung 14 graphisch dargestellt.



**Abbildung 14:** Die Angiographie-Parameter overstretch (Überdehnungsfaktor), Ballon-to-vessel-Ratio (BTV) und der Gefäßdiameter post implantationem zum nativen Gefäßdiameter (p.i./nativ) für die drei Gruppen im Vergleich dargestellt. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den

Säulen. (d=Tage, post impl.=post implantationem, NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung, \*=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit  $p \leq 0,05$ )

#### **3.6.3.4 Angiographische Restenose**

Die angiographisch ermittelte Restenoserate (%) beträgt in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $15,64 \pm 10,38$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $13,28 \pm 9,11$  und in der Gruppe der Stahl-Stents  $12,51 \pm 9,50$ . In der statistischen Auswertung kann kein Unterschied der Varianzen der drei Stentgruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,753$ ). Die Werte sind in Tabelle 8, 9 und 10 aufgelistet und in Abbildung 29 graphisch dargestellt.

#### **3.6.4 Pathologisch-anatomische Befunde am Herz und an Koronargefäßen**

##### ***Gestorbene Versuchstiere***

*II.14+II.15 Schwein 23138:* Die Koronargefäße werden durch Kontrastmittelinjektion post OP angiographisch dargestellt: Die LAD wird distal durch einen Thrombus eingeengt, die LCX ist durch einen Thrombus verschlossen. Das helle thrombogene Material ist erkennbar. Die durchgeführte Sektion ergibt keine pathologisch-anatomischen Veränderungen am Herzen.

*I.7+I.8 Schwein 23099:* Die durchgeführte Sektion ergibt keine pathologisch-anatomischen Veränderungen am Herzen. In der LCX ist distal ein Thrombus erkennbar.

*II.35+II.36 Schwein 24728:* Die durchgeführte Sektion ergibt keine pathologisch-anatomischen Veränderungen am Herzen. Die Präparation der Koronargefäße zeigt einen deutlichen Unterschied bei den implantierten Stents: Der Niobzirkonium+IrOx-Stent in der LAD ist nur von wenigen Blutzellen bedeckt, der Niobzirkonium+IrOx-Stent in der LCX ist zuthrombosiert.

##### ***Euthanisierte Versuchstiere***

Von den 20 euthanisierten Versuchstieren zeigen 9 Schweine makroskopische Veränderungen am Herzen.

*I.9+I.10 Schwein 23141:* Insgesamt erscheint der rechte Ventrikel dünnwandig. 3 cm unter dem rechten Herzohr zeigt sich eine 1x1 cm große, lehmfarbene, leicht erhabene, rundliche Veränderung des Myokards im Versorgungsgebiet der rechten Koronararterie (RCA).

*II.16+II.17 Schwein 23172:* In der linken Ventrikelwand zeigt sich eine in Richtung Herzspitze ziehende, weißliche, 6x1 mm große, balkenförmige Verfärbung.

Sie verläuft rund um den distalen Diagonalast der LAD, 5 cm distal seines Abganges aus der LAD, in der Mitte ist das Gefäß deutlich sichtbar.

*I.13+III.39 Schwein 23197:* Unregelmäßige, dunkelrote Verfärbung des Myokards um die LAD auf Höhe des Septums. Vom linken Herzohr bis zur Herzspitze verläuft der 1 bis 3,5 cm breite Streifen, dessen Bereich dünnwandig und eingesunken ist. Der rechte Ventrikel ist dünnwandig. Die Venen des Herzens erscheinen gestaut.

*II.18+II.19 Schwein 23219:* Man erkennt zwei weißliche Myokardverfärbungen im rechten Ventrikel ca. 3 cm unter dem rechten Herzohr im Versorgungsgebiet der rechten Koronararterie (RCA). Sie sind inselförmig, 5x3 mm und 2x2 mm groß. Das gesamte Herz wirkt dünnwandig.

*II.25+II.26 Schwein 92:* Makroskopisch ist ein Myokardinfarkt im Versorgungsgebiet der LAD vom distalen Drittel der Interventrikulargrube bis zur Herzspitze erkennbar (Abb.15). Die rechte und die linke Ventrikelwand sind beidseits der LAD sektorförmig aufgehellt und verdünnt. Die linke Ventrikelwand im betroffenen Bezirk zeigt im Querschnitt durch das Myokard derbes gelbes, eierstichartiges Gewebe in der mittleren Schicht.

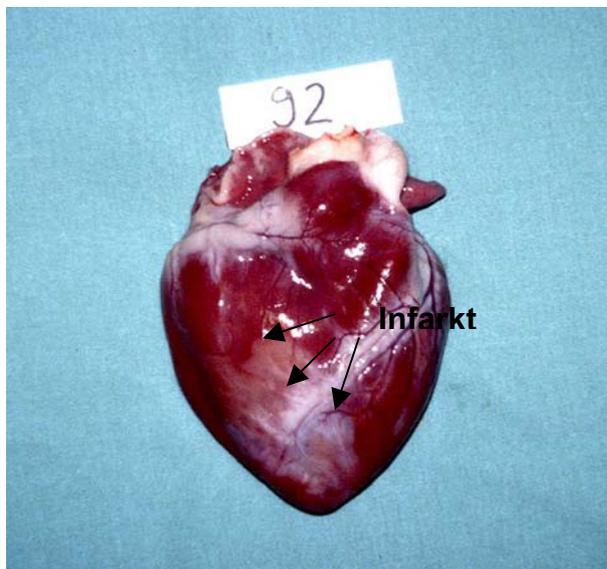


Abbildung 15: Herz mit Infarktgebiet im Versorgungsgebiet der LAD. Linker und rechter Ventrikel sind im Bereich proximal der Herzspitze aufgehellt, Versuchsnummern II.25 und II.26, Schwein 92.

*II.31+III.41 Schwein 24565:* Distal des Stents in der LAD zeigen sich Myokardaufhellungen, die Wand des linken Ventrikels erscheint dünnwandig. Weißliche Auflagerungen auf dem Epikard.

*II.32+III.42 Schwein 24566:* Das gesamte Herz erscheint dünnwandig.

*II.33+III.43 Schwein 24567:* Das gesamte Herz erscheint dünnwandig, v.a. der rechte Ventrikel ist dilatiert.

*II.34+III.44 Schwein 24568:* Weißliche, fadenförmige, eierkuchenartige Auflagerungen auf dem Epikard, die sich nur unter Substanzverlust ablösen lassen.

### **3.6.5 Ergebnisse der Histomorphologie**

#### **3.6.5.1 Histopathologische Befunde an Herzen**

*I.9+I.10 Schwein 23141:* Im Präparat werden Infiltrate von Lymphozyten und Granulozyten gefunden. Vereinzelt Myozyten sind vermehrt eosinophil angefärbt (siehe Abb. 16).

*II.18+II.19 Schwein 23219:* Die Paraffinschnitte zeigen Herzmuskelgewebe des rechten Ventrikels im Längsschnitt, das von einem degenerativ veränderten, schwach angefärbten Gewebereich durchzogen ist. In verschiedenen Ebenen werden unterschiedliche Stadien einer Myokardischämie in nur jeweils kleinen Bereichen deutlich. Das Zytoplasma der Myozyten ist stellenweise vermehrt eosinophil, in anderen Bereichen granuliert und schollig zerfallen. Die Zellkerne lassen sich nur als Schatten erkennen, teilweise sind sie pyknotisch oder sie fehlen. Ansammlungen von Erythrozyten sind selten. Vereinzelt Zellinfiltrate von Lymphozyten und Granulozyten kommen vor. Eine bindegewebige Narbe wird in keiner der geschnittenen Ebenen gefunden.

*II.25+II.26 Schwein 92:* Die histologischen Präparate zeigen das Herzmuskelgewebe im Längsschnitt und geben sehr deutlich ein Infarktgebiet sowohl im linken als auch im rechten Ventrikel und im Septum zu erkennen. Durch die gesamte Länge der Schnitte zieht ein vom gesunden Myokard deutlich abgegrenzter, schwach angefärbter, bindegewebiger Bereich (siehe Abb.17 und 18). Die Herzmuskelzellen sind untergegangen. Im Randsaum der Nekrosezone erscheint ein Granulationsgewebe sowie Fibroblasten und Makrophagen, die z.T. Lipofuszin speichern. Eine Neovaskularisation ist nur geringgradig ausgeprägt. Einblutungen in das Infarktgebiet sind häufig. Zum Lumen des Ventrikels hin sind die Myozyten in einer Grenzzone noch intakt.

*I.13+III.39 Schwein 23197:* Die Herzmuskelzellen sind stellenweise vermehrt eosinophil angefärbt (siehe Abb.19). Das Gewebe erscheint ödematös, Zellinfiltrate sind nicht erkennbar.

Bei den Myokardproben der Schweine 23172, 23197, 24565, 24566, 24567 und 24568 können histologisch keine Gewebeveränderungen gesehen werden, die auf einen Infarkt hindeuten.

Zusammenfassend wird bei Schwein 92 ein durch die Implantation bedingter Herzinfarkt festgestellt, der pathologisch-anatomisch und histopathologisch diagnostizierbar ist. Die histologischen Veränderungen bei Schwein 23141 und 23219 lassen infarziertes Gewebe erkennen, das als Mikroinfarkt diagnostiziert wird.

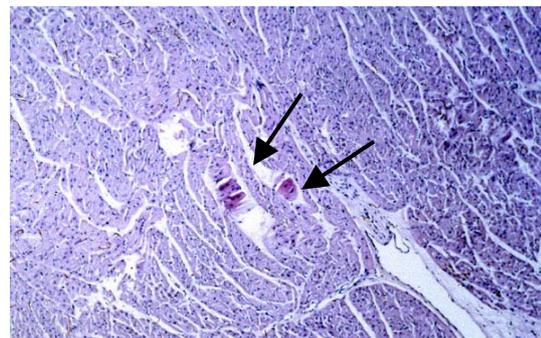
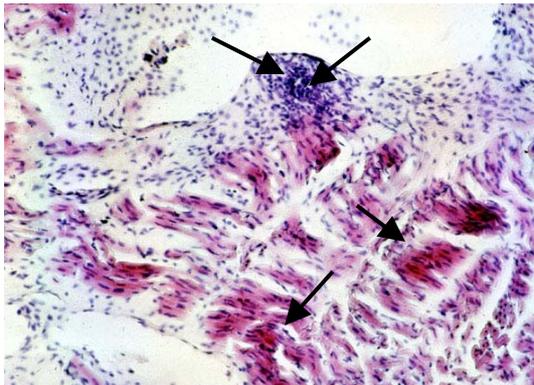


Abbildung 16: Schwein 23141. Lymphozytäre Infiltration (oberer Bildausschnitt) und einzelne verstärkt eosinophil anfärbbare Myozyten (im unteren Bildausschnitt). 40fache Vergrößerung, HE-Färbung.

Abbildung 17: Schwein 23197. Einzelne eosinophile Myozyten (Pfeile), keine Zellinfiltration. 10fache Vergrößerung, HE-Färbung.

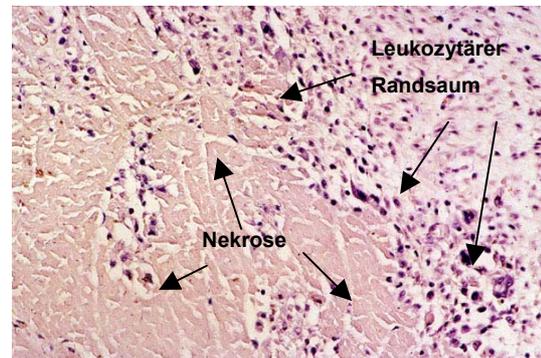
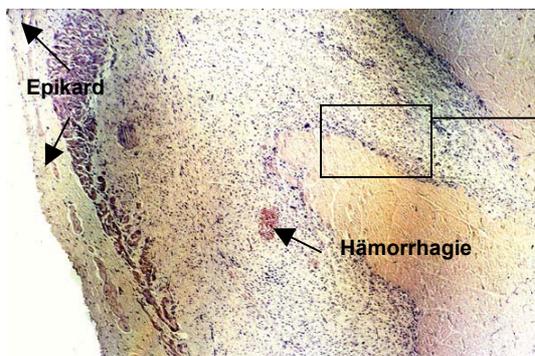


Abbildung 18 und 19: Infarkt des Schweines 92 in 10- (links) und in 40facher (rechts) Vergrößerung. HE-Färbung.

### 3.6.5.2 Histopathologische Befunde an stenttragenden Myokardproben

*I.9+I.10 Schwein 23141:* Das Myokard um die LAD und die LCX zeigt keine histopathologischen Veränderungen.

*II.18+II.19 Schwein 23219:* Das Myokard ist im Querschnitt getroffen. Um die Gefäßstütze der LAD und der LCX ist das Gewebe unverändert, die Myozyten um die LAD erscheinen geringgradig blass.



*II.25+II.26 Schwein 92*: Das Myokard um die Struts der LAD ist stellenweise durch kollagenes Bindegewebe ersetzt. Das Myokard um die LCX ist ohne Befund. Das Myokard aller anderen stenttragenden Gefäßsegmente der drei Gruppen ist histopathologisch nicht verändert.

### **3.6.5.3 Histopathologische Befunde an stenttragenden Gefäßsegmenten**

Die durch Ballondilatation und Stentimplantation bedingten Gewebeveränderungen der Arterienwand weisen nach 28 Tagen in den drei Versuchsgruppen ein einheitliches Reaktionsbild auf, das für alle Versuche zusammenfassend dargestellt wird. Abweichende Einzeltierbefunde werden im Anschluss beschrieben.

28 Tage nach der Implantation sind die Gefäßstützen aller drei Gruppen von neointimalem Gewebe umgeben, welches unter mäßiger Dehnung der LEI in den Bereichen direkt über dem Strut kräftiger ausgebildet ist als zwischen den Struts. Im Zellbild dominieren längliche, spindelförmige Zellen mit stäbchenförmigem Zellkern, die als glatte Muskelzellen und Fibroblasten/Fibrozyten anzusprechen sind. Eine eindeutige Differenzierung in glatte Muskelzellen und Fibroblasten/Fibrozyten erfolgt immunhistochemisch (FIRSOV, in Vorbereitung). Lichtmikroskopisch haben glatte Muskelzellen einen an den Enden stumpferen Kern als die mehr spitzkernigen Fibroblasten/Fibrozyten. Die Neointima wird zum Lumen hin regelmäßig von einem einschichtigen Neoendothel begrenzt. Die glatten Muskelzellen bzw. Fibrozyten der Neointima sind im Gefäßquerschnitt meist längs getroffen, sie ordnen sich um das Lumen zirkulär in parallelen Lagen an. Umgeben werden sie von extrazellulärer Matrix. Die lumennahe Neointima wirkt im Vergleich zu peripheren, strutnahen Bereichen durch die parallele Aneinanderlagerung der Zellen geordneter und ruhiger. Entzündungszellen kommen vor allem in der Umgebung der Struts vor, sie dominieren das Zellbild nicht. Sie werden umgeben von glatten Muskelzellen und Fibrozyten, die strutnah im Querschnitt getroffen sind. Die kollagenen Fasern erscheinen ungerichtet und die amorphe Matrix ist vermehrt. Die Entzündungsreaktion ist bei allen stenttragenden Gefäßsegmenten im chronisch-fibrotischen Stadium.

Struts, die wegen asymmetrischer oder unvollständiger Stentaufdehnung nicht in die Gefäßwand integriert werden konnten ( $IS=0$ ), stören als thrombogener Fremdkörper den Blutfluss und induzieren eine deutliche Neointimaproliferation.

Stents, die in die Tunica intima implantiert werden, verursachen eine unterschiedlich starke Dehnung der LEI und bedingen eine relativ moderate Neointimaproliferation

im Vergleich zu Stents, deren Implantation unter Ruptur der LEI in die Tunica media erfolgt. Die hochgradige Kompression der Media führt zu fokaler Medianekrose. Die glatten Gefäßmuskelzellen verlieren ihren Zellkern. Nach Gefäßwandverletzung entsprechend dem Grad 2 und 3 wird die Adventitia in diesem Bereich regelmäßig mit Rundzellen in unterschiedlichem Differenzierungsstadium infiltriert.

Die neointimalen Zellen, die Entzündungszellen und die Vitalität der glatten Muskelzellen der Media werden immunhistochemisch differenziert (FIRSOV, in Vorbereitung).

Erythrozytenansammlungen als Ausdruck von Hämorrhagien kommen häufig vor. Gelbbraun gefärbte Pigmente liegen fokal extrazellulär oder intrazellulär in Makrophagen. Es handelt sich um Hämoglobinabbauprodukte. Neovaskularisation kann in wenigen Fällen in Strutnähe beobachtet werden. Thrombenbildung im Gefäßlumen wird in keinem Versuch beobachtet. Stents, die über dem Abgang eines Seitenastes implantiert werden, verursachen in keinem Fall einen Verschluss des abgehenden Gefäßes.

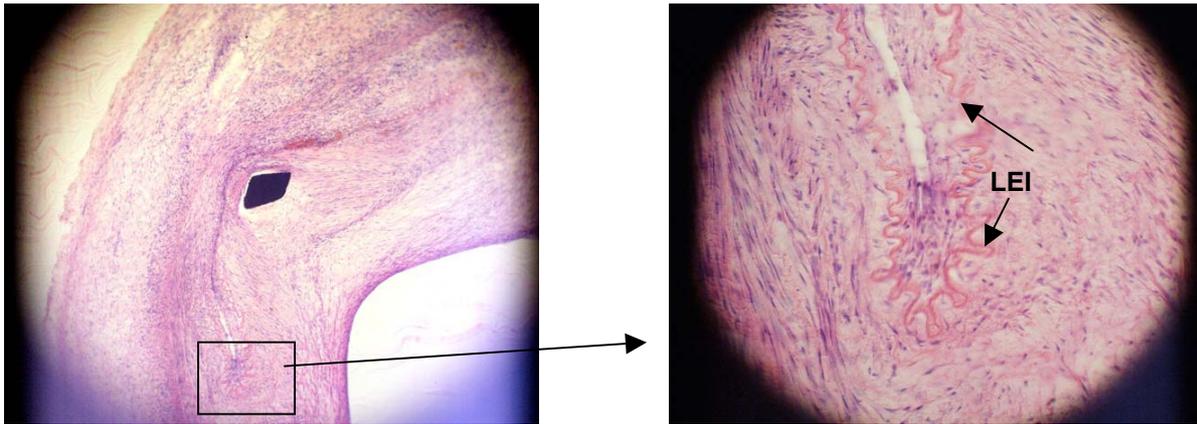
#### ***Einzelbefunde:***

*I.11 23170 LCX (NbZr):* Die LEI ist auf der gesamten Länge des Gefäßquerschnitts rupturiert. Die LEI wird um den Strut mit dem höchsten Verletzungsindex herumgewunden (siehe Abb.20 und 21). Sie liegt in diesem Bereich doppelt und fehlt im weiteren Gefäßwandabschnitt. Bei der semiquantitativen Untersuchung fallen im Bereich jeden Struts durchschnittlich mehr als zehn eosinophile Granulozyten auf.

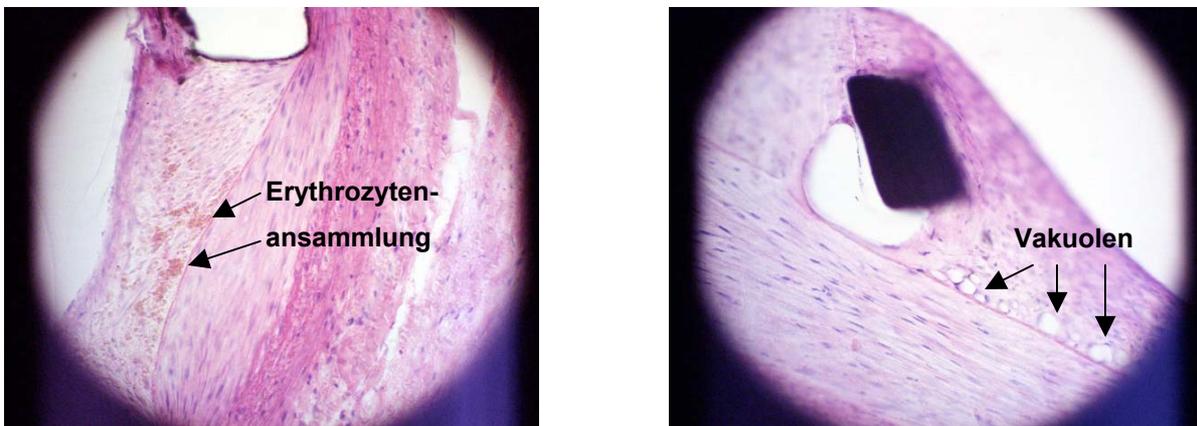
*II.17 23172 LCX (NbZr+IrOx):* Nach Ruptur der LEI treten vermehrt eosinophile Granulozyten (>10 pro Strut) auf.

Geringgradige Hämorrhagien im Bereich von 1-2 Struts treten bei folgenden fünf Gefäßen auf: *I.11 23170 LCX (NbZr), II.29 24151 LAD (NbZr+IrOx), III.43 24567 LCX (Stahl), III.42 24566 LAD (Stahl), III.48 24568 LAD (Stahl).*

Erythrozytenansammlungen im Bereich mehrerer Struts werden bei folgenden zehn Gefäßen beobachtet: *I.12 23179 LAD (NbZr), I.13 23197 LCX (NbZr), II.19 23219 LCX (NbZr+IrOx), II.20 23220 LAD (NbZr+IrOx) (siehe Abb.23), II.22 23221 LCX (NbZr+IrOx), II.26 92 LCX (NbZr+IrOx), II.27 24084 LAD (NbZr+IrOx), II.31 24565 LAD (NbZr+IrOx), II.33 24567 LAD (NbZr+IrOx), III.39 23197 LAD (Stahl).*

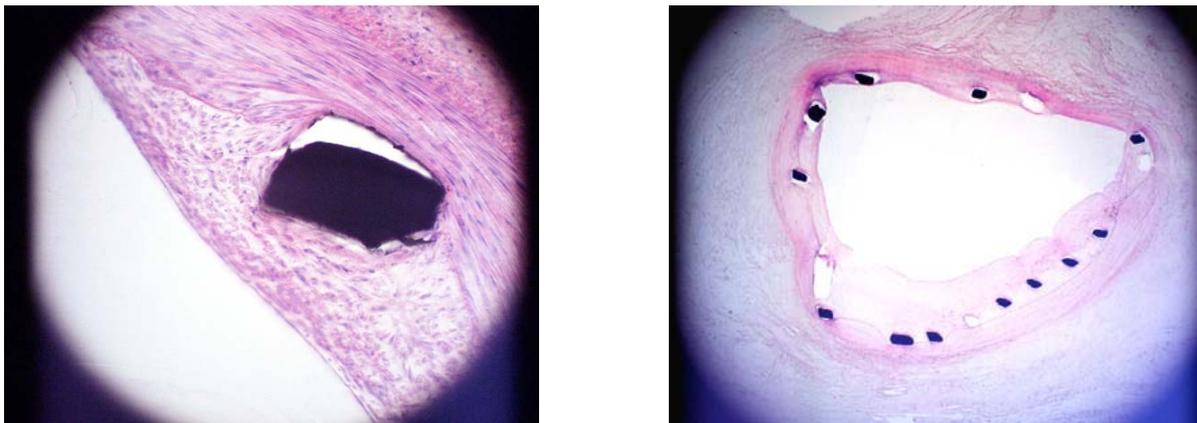


**Abbildung 20 und 21:** *I.11 23170 LCX (NbZr)*. Ruptur der LEI. Links 10-, rechts 40fache Vergrößerung. HE-Färbung. (LEI=Lamina elastica interna)



**Abbildung 22:** *II.20 23220 LAD (NbZr+IrOx)*. Erythrozytenansammlung (Pfeile) im Interstrutbereich. 40fache Vergrößerung. HE-Färbung.

**Abbildung 23:** *I.12 23179 LAD (NbZr)*. Vakuolen (Pfeile) entlang der LEI. 40fache Vergrößerung. HE-Färbung.



**Abbildung 24:** *II.19 23219 LCX (NbZr+IrOx)*. Unreife Neointima um den Strut. 40fache Vergrößerung. HE-Färbung.

**Abbildung 25:** *I.9 23141 LAD (NbZr)*. Das neointimale Gewebe im Bereich der Struts mit dem Verletzungsindex 0 ist vermehrt. 2,5fache Vergrößerung. HE-Färbung.

*I.12 23179 LAD (NbZr):*

Vakoulenbildung im Strutbereich (siehe Abb.24).

*II.19 23219 LCX (NbZr+IrOx):*

Die Neointima direkt über dem Strut erscheint nicht in geordneten Zellschichten, sie macht ein unreifes Erscheinungsbild (siehe Abb.25).

*II.25 92 LAD (NbZr+IrOx):*

Ausbildung von Kollateralgefäßen

*I.9 23141 LAD (NbZr):*

Strut mit IS 0 bzw. keiner Verletzung der Arterienwand zeigen dennoch eine deutliche Restenose (siehe Abb.26).

***Semiquantitative Bewertung der Histologieparameter:***

Für jedes Gefäß wird in einer Ebene eines HE-gefärbten Kunststoffschnittes das Zellbild lichtmikroskopisch mit einem 100er Objektiv in Ölimmersion ausgewertet. Um einen Strut herum werden jeweils vier Gesichtsfelder ausgezählt: 77 Struts in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents, 145 Struts in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents und 59 Struts in der Stahl-Gruppe. Generell treten in den drei Gruppen nur geringgradig Entzündungszellen auf, entsprechend einem Score 0 bis 1 (siehe Tab. 2. Kap. 3.3.3). Die Ergebnisse der semiquantitativen Auszählung stehen in Tab. 11. Die statistische Auswertung nach ANOVA ergibt für die Anzahl folgender Entzündungszellen einen signifikanten Unterschied: Neutrophile Granulozyten,  $p=0,002$  (ANOVA), Makrophagen,  $p=0,001$  (ANOVA), Fremdkörperriesenzellen,  $p=0,002$  (ANOVA). Für eosinophile Granulozyten ( $p=0,632$ , ANOVA) und für Lymphozyten ( $p=0,861$ , ANOVA) lässt sich kein signifikanter Unterschied nachweisen.

Der Post Hoc Test bestätigt die Signifikanz für das vermehrte Vorkommen der neutrophilen Granulozyten bei den Niobzirkonium-Stents im Vergleich zu den Niobzirkonium+IrOx-Stents einerseits ( $p=0,025$ ) und zu den Stahl-Stents ( $p=0,003$ ) andererseits. Für ein geringeres Vorkommen von Makrophagen in der Niobzirkonium+IrOx-Stentgruppe wird im Vergleich zu den Niobzirkonium-Stents ( $p=0,048$ ) sowie zu den Stahl-Stents ( $p=0,003$ ) die Signifikanz belegt. Die Signifikanz für ein geringeres Vorkommen von Fremdkörperriesenzellen bei den Niobzirkonium+IrOx-Stents bestätigt sich im Vergleich zu den Niobzirkonium-Stents ( $p=0,006$ ) und zu den Stahl-Stents ( $p=0,026$ ).

**Tabelle 11:** Ergebnisse der semiquantitativen Auszählung der Histologieparameter. Es wird die durchschnittliche Zellzahl pro Strut für jede Gruppe angegeben. (Eos.Gr.=eosinophile Granulozyten; FKRZ=Fremdkörperriesenzellen; Lyz.=Lymphozyten; MO=Makrophagen; p=Irrtumswahrscheinlichkeit; NbZr=Niobzirkonium; NbZr+IrOx=mit Iridiumoxid beschichtete Niobzirkonium-Stents, PMN=neutrophile Granulozyten; \*=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit  $p \leq 0,05$ )

Zellzahl/Strut	PMN	Eos. Gr.	MO	FKRZ	Lyz.
GRUPPE I NbZr	1,145*	1,038	0,708	0,318	1,030
GRUPPE II NbZr+IrOx	0,785	0,572	0,313*	0,039*	0,990
GRUPPE III Stahl	0,563	0,000	0,945	0,294	1,099

#### 3.6.5.4 Histopathologische Befunde an Referenzgefäßen

Die Kontrollgefäße weisen lichtmikroskopisch keine Veränderungen bzw. Abweichungen von dem in der Literatur beschriebenen histologischen Aufbau der Arterienwand auf.

#### 3.6.5.5 Ergebnisse des Verletzungsindex (IS)

Der mittlere Verletzungsindex einer Gruppe errechnet sich aus den Indices der jeweils vier beurteilten Ebenen aller Stents dieser Gruppe (siehe Kap. 3.3.5).

Der IS beträgt in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $1,15 \pm 0,47$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $1,41 \pm 0,35$  und in der Gruppe der Stahl-Stents  $0,80 \pm 0,29$ .

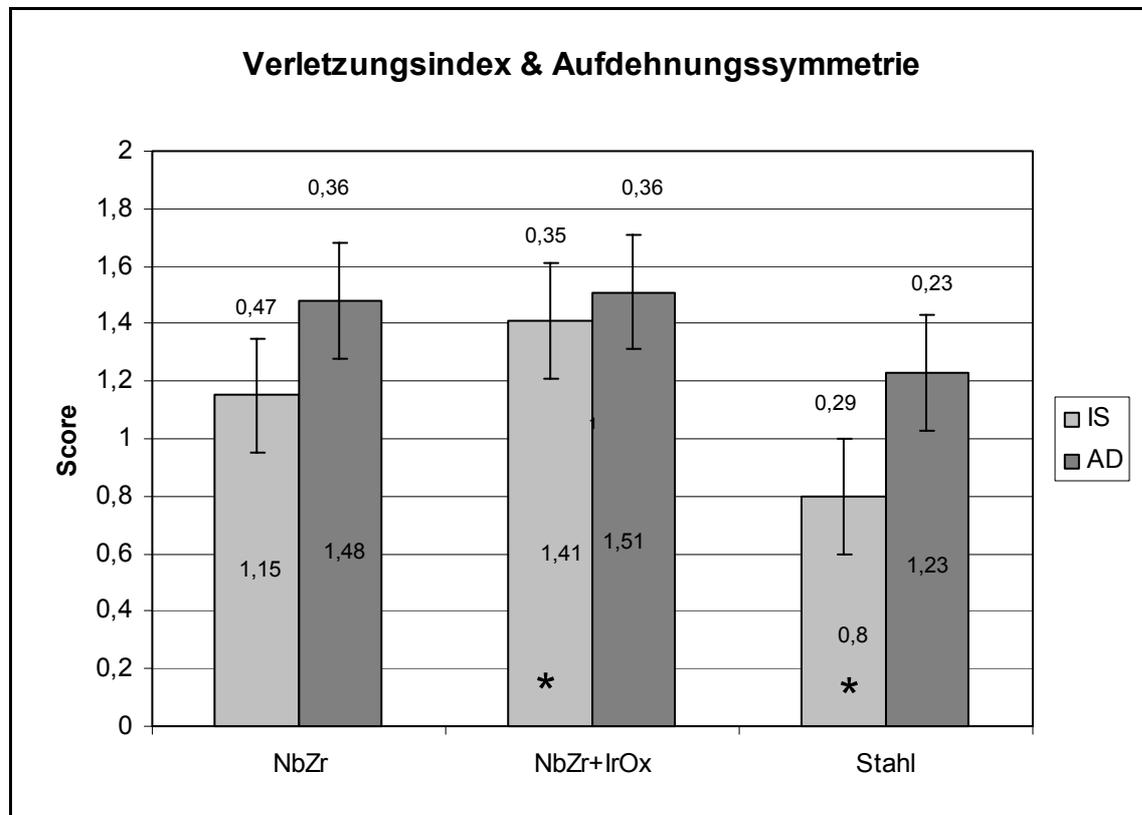
In der statistischen Auswertung wird ein signifikanter Unterschied der Varianzen der drei Stentgruppen nachgewiesen (ANOVA,  $p=0,002$ ). Der Post Hoc Test bestätigt die Signifikanz zwischen der Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents mit dem höchsten Verletzungsindex und der Gruppe III der Stahl-Stents mit  $p=0,002$ . Für die Gruppe I der Niobzirkonium-Stents und der Stahl-Stentgruppe III mit dem niedrigsten IS kann ein Trend zur Signifikanz ( $p=0,085$ ) festgestellt werden. In den Tabellen 5, 6 und 7 sind die Ergebnisse aufgeführt und in der Abbildung 26 graphisch dargestellt.

#### 3.6.5.6 Ergebnisse der Symmetrie der Stentaufdehnung (AD)

Der mittlere Wert der Stentaufdehnung einer Gruppe basiert auf den Indices der jeweils vier beurteilten Ebenen pro Stent.

Die Aufdehnungssymmetrie beträgt in der Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $1,48 \pm 0,36$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $1,51 \pm 0,36$  und in der Gruppe der Stahl-Stents  $1,23 \pm 0,36$ . Statistisch kann kein Unterschied zwischen den

Gruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,193$ ). In den Tabellen 5, 6 und 7 sind die Ergebnisse der einzelnen Gruppen aufgeführt. Das Diagramm in Abb.26 zeigt die graphische Darstellung der Ergebnisse.



**Abbildung 26:** Mittlerer Verletzungs- (IS) und mittlerer Aufdehnungsindex (AD) der drei Stentgruppen im Vergleich. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (AD=Aufdehnungssymmetrie, IS=Verletzungsindex, NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung; \*=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit  $p \leq 0,05$ )

### 3.6.6 Ergebnisse der Histomorphometrie

Die ausgemessenen Parameter, die das Originallumen bestimmen, zeigen Tendenzen zur Signifikanz. Der p-Wert (ANOVA) für den Mittelwert des Originallumens (MW OL) ist 0,066, der p-Wert (ANOVA) für den Durchmesser des Originallumens (Diameter OL) ist 0,076 und der p-Wert (ANOVA) für den Gefäßradius des Originallumens (radOL) ist 0,06.

Im Post Hoc Test bestätigen sich die Tendenzen zur Signifikanz zwischen der Gruppe I der Niobzirkonium-Stents und der Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents, die den Trend zu größerem Originallumen aufweist. Im Vergleich zur Kontrollgruppe III der Stahlstents sind keine signifikanten Unterschiede feststellbar. Die Abbildung 27 stellt das Original- und das Residullumen (OL und RL) graphisch dar.

Die Ergebnisse der histomorphometrischen Messungen werden jeweils als Mittelwert der vier ausgemessenen Ebenen angegeben. Sie sind in den folgenden drei Tabellen 12, 13 und 14 dargestellt.

**Tabelle 12:** Histomorphometrie-Ergebnisse, Gruppe I/NbZr-Stents (D=Distanz; Max=Maximum; Min=Minimum; mNIT=mittlere absolute Neointimadicke; mNID=mittlere berechnete Neointimadicke; MW RL=Mittelwert Residuallumen; MW OL=Mittelwert Originallumen; NbZr=Niobzirkonium; NF= neointimale Fläche; radOL=Radius Originallumen; radRL=Radius Residuallumen; RD=diameterbezogene Restenose; RF=flächenbezogene Restenose; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

Gruppe I NbZr		MW RL	MW OL	NF	mNID	rad OL	rad RL	mNIT	RF	RD	D
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm <sup>2</sup> ]	[mm <sup>2</sup> ]	[mm <sup>2</sup> ]	[µm]	[mm]	[mm]	[µm]	[%]	[%]	[%]
I.1	LAD	1,24	3,19	1,95	380,31	1,01	0,63	245,18	61,24	37,75	53,58
I.2	RCA	2,72	3,09	0,37	61,75	0,99	0,93	11,82	12,06	6,22	6,04
I.3	LAD	1,46	1,90	0,44	96,32	0,78	0,68	28,09	23,25	12,39	17,17
I.4	LAD	0,73	1,78	1,05	269,97	0,75	0,48	167,38	58,84	35,84	56,09
I.5	LAD	2,00	2,79	0,79	143,79	0,94	0,80	56,03	28,20	15,27	28,61
I.6	LCX	2,29	3,25	0,96	164,18	1,02	0,85	75,53	29,67	16,13	28,47
I.9	LAD	2,96	3,96	1,00	152,79	1,12	0,97	128,90	25,36	13,60	29,56
I.10	LCX	4,29	5,45	1,16	148,20	1,32	1,17	56,44	21,24	11,25	17,96
I.11	LCX	1,75	4,56	2,81	458,65	1,21	0,75	358,55	61,63	38,06	58,73
I.12	LAD	3,37	3,88	0,51	75,70	1,11	1,04	40,53	13,16	6,81	14,51
I.13	LCX	4,58	5,00	0,42	54,37	1,26	1,21	13,04	8,43	4,31	6,09
<b>x</b>		2,49	3,53	1,04	182,37	1,05	0,86	107,41	31,19	17,97	28,80
<b>SD</b>		1,23	1,18	0,74	132,95	0,18	0,23	110,08	20,03	12,92	19,35
<b>Min</b>		0,73	1,78	0,37	61,75	0,75	0,48	11,82	12,06	6,22	6,04
<b>Max</b>		4,58	5,45	2,81	458,65	1,32	1,21	358,55	61,63	38,06	58,73
<b>Median</b>		2,29	3,25	0,96	148,20	1,02	0,85	56,44	25,36	13,60	28,47

### 3.6.6.1 Neointimale Fläche (NF)

Bei der Flächenmessung wird die mittlere Fläche der Neointima für die einzelnen Stents über jeweils vier Ebenen bestimmt. Für die Gruppe der Niobzirkonium-Stents ergibt sich in mm<sup>2</sup> der Mittelwert von 1,04±0,74, für die Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents 1,90±0,92 und in der Gruppe der Stahl-Stents 1,15±0,41. Bezüglich der Varianzen kann ein signifikanter Unterschied in den drei Gruppen festgestellt werden (ANOVA, p=0,012).

Der Post Hoc Test bestätigt die signifikant größere NF für die Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents im Vergleich zur Gruppe I der Niobzirkonium-Stents, da p= 0,026. Zwischen der Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents und der Gruppe III der Stahl-Stents wird mit p= 0,096 ein Trend zur Signifikanz nachgewiesen.

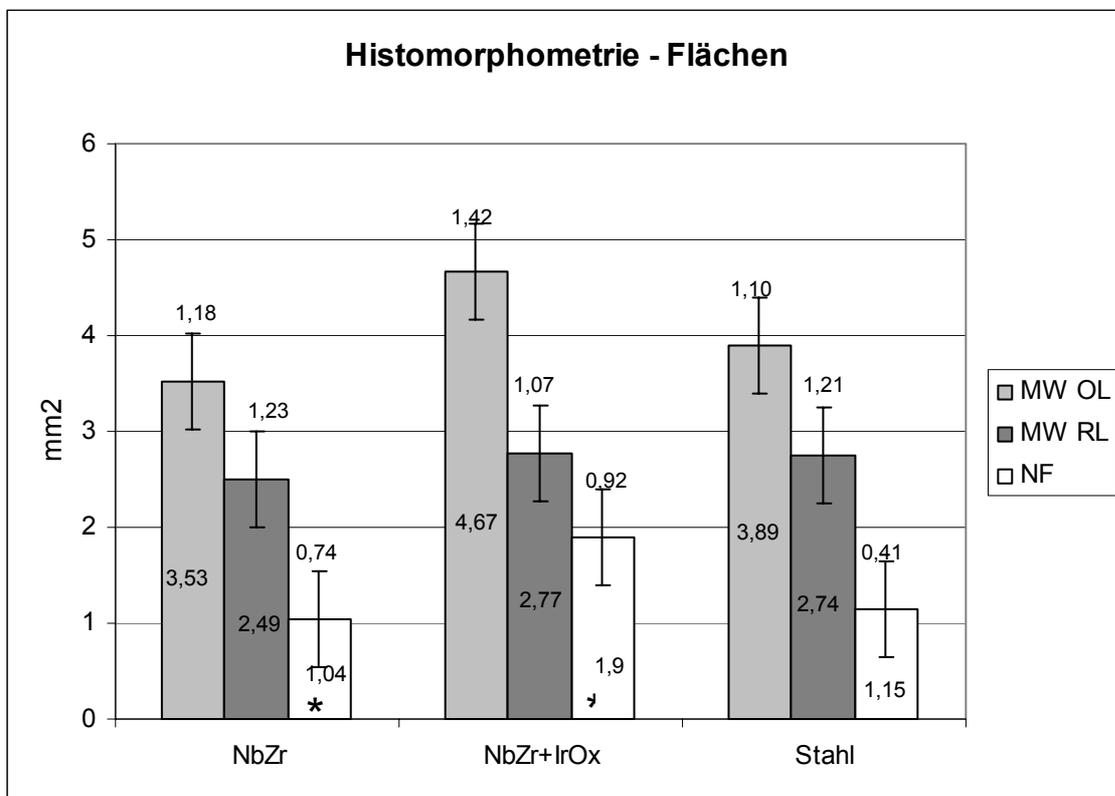
Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen sind in den Tabellen 12, 13 und 14 und in Abbildung 27 aufgeführt.

**Tabelle 13:** Histomorphometrie-Ergebnisse, Gruppe II/NbZr+IrOx-Stents (D=Distanz; Max=Maximum; Min=Minimum; mNIT=mittlere absolute Neointimadicke; mNID=mittlere berechnete Neointimadicke; MW RL=Mittelwert Residuallumen; MW OL=Mittelwert Originallumen; NbZr+IrOx=mit Iridiumoxid beschichtets Niobzirkonium; NF= neointimale Fläche; radOL=Radius Originallumen; radRL=Radius Residuallumen; RD=diameterbezogene Restenose; RF=flächenbezogene Restenose; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

Gruppe NbZr+IrOx	II	MW RL	MW OL	NF	mNID	rad OL	rad RL	mNIT	RF	RD	D
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm <sup>2</sup> ]	[mm <sup>2</sup> ]	[mm <sup>2</sup> ]	[µm]	[mm]	[mm]	[µm]	[%]	[%]	[%]
II.16	LAD	3,17	3,93	0,77	114,74	1,12	1,00	30,25	19,46	10,26	12,94
II.17	LCX	0,61	2,70	2,09	487,71	0,93	0,44	350,02	77,54	52,61	56,17
II.18	LAD	2,44	3,98	1,54	244,33	1,13	0,88	89,59	38,69	21,70	29,20
II.19	LCX	2,74	3,71	0,97	153,41	1,09	0,93	46,08	26,24	14,12	21,76
II.20	LAD	2,23	3,40	1,17	197,03	1,04	0,84	71,47	34,31	18,95	27,05
II.21	LAD	1,22	2,45	1,22	258,38	0,88	0,62	134,60	49,99	29,28	33,88
II.22	LCX	2,05	3,72	1,67	280,49	1,09	0,81	111,25	44,93	25,79	27,23
II.23	LAD	3,26	5,98	2,72	361,06	1,38	1,02	188,75	45,50	26,18	53,84
II.24	RCA	4,41	7,28	2,87	337,47	1,52	1,18	189,47	39,42	22,17	47,91
II.25	LAD	3,99	6,31	2,32	290,16	1,42	1,13	127,98	36,75	20,47	35,68
II.26	LCX	2,61	6,90	4,29	570,52	1,48	0,91	398,36	62,17	38,49	69,48
II.27	LAD	2,92	5,69	2,78	382,42	1,35	0,96	265,28	48,74	28,41	49,90
II.28	LCX	4,42	6,18	1,76	216,70	1,40	1,19	96,80	28,50	15,45	34,32
II.29	LAD	1,52	3,94	2,43	425,46	1,12	0,69	309,65	61,54	37,98	60,76
II.30	LCX	2,58	4,88	2,30	340,29	1,25	0,91	187,13	47,16	27,31	51,16
II.31	LAD	2,10	4,50	2,40	378,59	1,20	0,82	231,33	53,27	31,64	50,66
II.32	LCX	4,44	5,69	1,25	157,48	1,35	1,19	69,40	22,03	11,70	20,35
II.33	LAD	2,56	3,48	0,92	150,48	1,05	0,90	65,68	26,54	14,29	24,55
II.34	LCX	3,44	4,04	0,60	87,45	1,13	1,05	13,75	14,83	7,71	8,39
<b>x</b>		2,77	4,67	1,90	286,01	1,21	0,92	156,67	40,93	23,92	37,64
<b>SD</b>		1,07	1,42	0,92	130,53	0,19	0,20	111,27	16,21	11,22	17,11
<b>Min</b>		0,61	2,45	0,60	87,45	0,88	0,44	13,75	14,83	7,71	8,39
<b>Max</b>		4,44	7,28	4,29	570,52	1,52	1,19	398,36	77,54	52,61	69,48
<b>Median</b>		2,61	4,04	1,76	280,49	1,13	0,91	127,98	39,42	22,17	34,32

**Tabelle 14:** Histomorphometrie-Ergebnisse, Gruppe III/Stahl-Stents (D=Distanz; Max=Maximum; Min=Minimum; mNIT=mittlere absolute Neointimadicke; mNID=mittlere berechnete Neointimadicke; MW RL=Mittelwert Residuallumen; MW OL=Mittelwert Originallumen; NF= neointimale Fläche; radOL=Radius Originallumen; radRL=Radius Residuallumen; RD=diameterbezogene Restenose; RF=flächenbezogene Restenose; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert)

Gruppe III Stahl		MW RL	MW OL	NF	mNID	rad OL	rad RL	mNIT	RF	RD	D
Vers.-Nr.	Gefäß	[mm <sup>2</sup> ]	[mm <sup>2</sup> ]	[mm <sup>2</sup> ]	[µm]	[mm]	[mm]	[µm]	[%]	[%]	[%]
III.37	LAD	3,17	3,88	0,71	107,17	1,11	1,00	35,22	18,35	9,64	13,92
III.38	LCX	1,33	3,11	1,78	343,62	0,99	0,65	223,74	57,17	34,56	29,38
III.39	LAD	2,72	3,84	1,12	175,67	1,11	0,93	194,80	29,25	15,89	41,12
III.40	LCX	1,04	1,91	0,87	203,75	0,78	0,58	98,30	45,40	26,11	26,80
III.41	LCX	4,49	5,62	1,14	142,71	1,34	1,20	28,40	20,20	10,67	13,91
III.42	LAD	2,02	3,78	1,76	294,95	1,10	0,80	171,03	46,53	26,87	44,72
III.43	LCX	3,24	4,08	0,84	123,97	1,14	1,02	42,25	20,58	10,88	21,06
III.44	LAD	3,90	4,87	0,97	130,82	1,24	1,11	66,45	19,91	10,51	23,39
<b>x</b>		2,74	3,89	1,15	190,33	1,10	0,91	107,52	32,17	18,14	26,79
<b>SD</b>		1,21	1,10	0,41	86,16	0,17	0,22	78,08	15,28	9,66	11,40
<b>Min</b>		1,04	1,91	0,71	107,17	0,78	0,58	28,40	18,35	9,64	13,91
<b>Max</b>		4,49	5,62	1,78	343,62	1,34	1,20	223,74	57,17	34,56	44,72
<b>Median</b>		2,94	3,86	1,05	159,19	1,11	0,97	82,38	24,92	13,39	25,10



**Abbildung 27:** Mittelwerte von Originallumen (MW OL) und Residuallumen (MW RL) und die neointimalen Flächen (NF) der drei Gruppen im Vergleich dargestellt. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den

Säulen. (NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung; \*=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit  $p \leq 0,05$ )

### **3.6.6.2 Mittlere berechnete Neointimadicke (mNID)**

Die Dicke der Neointima über den einzelnen Stentstruts ergibt rechnerisch für die Gruppe der Niobzirkonium-Stents in  $\mu\text{m}$  einen Mittelwert von  $182,37 \pm 132,95$ , für die Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents einen Mittelwert von  $286,01 \pm 130,53$  und für die Gruppe der Stahl-Stents einen Mittelwert von  $190,33 \pm 86,16$ . In der statistischen Auswertung kann kein signifikanter Unterschied der Varianzen der drei Stentgruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,056$ ). Es besteht ein Trend zu Signifikanz, da  $0,05 < p < 0,10$ . Im Post Hoc Test kann dieser Trend zwischen der Gruppe I der Niobzirkonium-Stents und der Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents nicht aufrechterhalten werden. Der p-Wert ist  $\geq 0,100$  ( $p=0,101$ ).

In den Tabellen 12, 13 und 14 sind die Ergebnisse aufgeführt und in der Abbildung 28 graphisch dargestellt.

### **3.6.6.3 Mittlere absolute Neointimadicke (mNIT)**

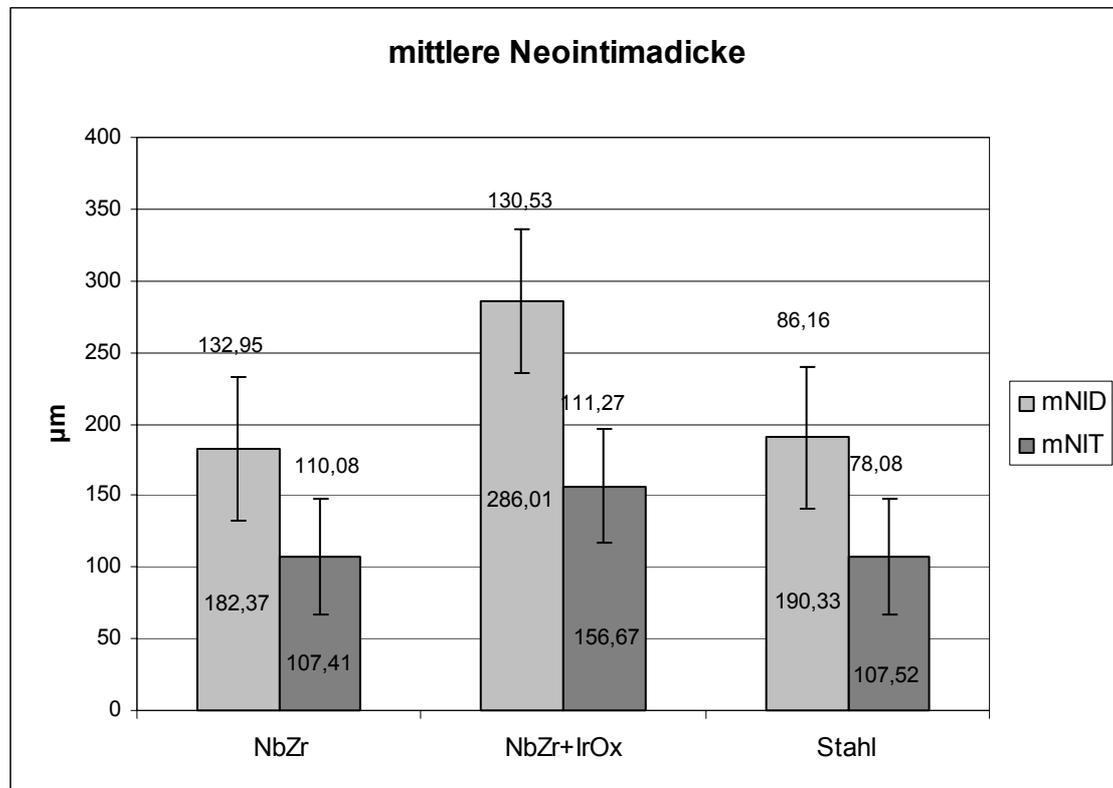
Mit der Methode der direkten Ausmessung der Neointimadicke über den Stentstreben erhält man folgende Werte ( $\mu\text{m}$ ): Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $107,41 \pm 110,08$ , Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $156,67 \pm 111,27$  und Gruppe der Stahl-Stents  $107,52 \pm 78,08$ . Bezüglich der Varianzen kann kein signifikanter Unterschied in den drei Gruppen festgestellt werden (ANOVA,  $p=0,364$ ).

Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen sind in den Tabellen 12, 13 und 14 und in Graphik 28 aufgeführt.

### **3.6.6.4 Relative Neointimafläche nach Schwartz (RF)**

Die Werte in Tabelle 12, 13 und 14 geben die flächenbezogene Reduktion des Gefäßlumens in % an. In der Gruppe der Niobzirkonium-Stents verringert sich die Gefäßlumenfläche um  $31,19 \pm 20,03\%$ , in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents um  $40,93 \pm 16,21\%$  und in der Gruppe der Stahl-Stents um  $32,17 \pm 15,28\%$ . Die Varianzen der drei Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (ANOVA,  $p=0,260$ ). Siehe Abbildung 29.

**Abbildung 28:** Mittlere berechnete Neointimadicke (mNID) und mittlere absolute NIT (mNIT) der drei Gruppen im Vergleich dargestellt. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung)

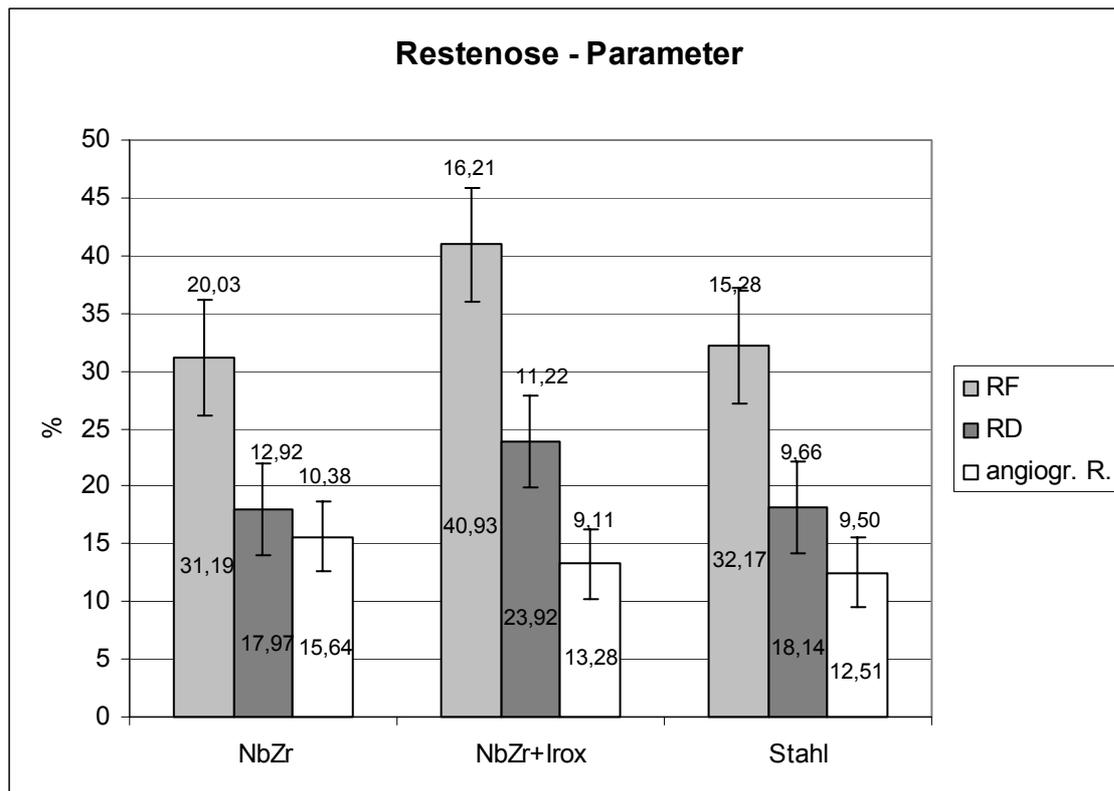


### 3.6.6.5 Relativer Restenosediameter (RD)

Die Neointimadicke bezogen auf den Gefäßdurchmesser ergibt in Prozent folgende Werte (siehe Tab. 12, 13 und 14): Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $17,97 \pm 12,92$ , Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $23,92 \pm 11,22$  und Gruppe der Stahl-Stents  $18,14 \pm 9,66$ . Die Varianzen der drei Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant voneinander (ANOVA,  $p=0,298$ ). Siehe Abbildung 29.

### 3.6.6.6 Distanzmessung (D)

In der Berechnung werden die Distanzen Intima zu Strutinnenseite und Intima zu LEE ins Verhältnis gesetzt. Der prozentuale Wert ergibt für die Gruppe der Niobzirkonium-Stents  $28,80 \pm 19,35$ , für die Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents  $37,64 \pm 17,11$  und für die Gruppe der Stahl-Stents einen Mittelwert von  $26,79 \pm 11,40$ . In der statistischen Auswertung kann kein Unterschied der Varianzen der drei Stentgruppen nachgewiesen werden (ANOVA,  $p=0,215$ ). Die Ergebnisse sind in den Tabellen 5, 6 und 7 dargestellt.



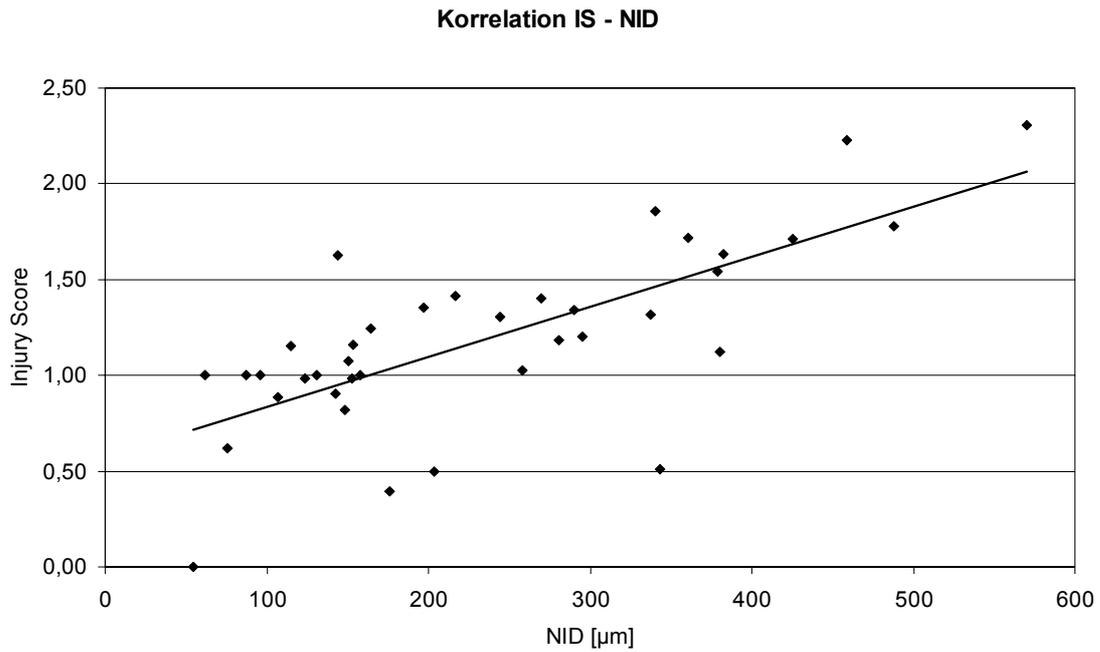
**Abbildung 29:** Mittlere relative Restenosefläche (RF), mittlerer relativer Restenosediometer (RD) und die angiographisch gemessene Restenose (angiogr. R.) der drei Gruppen im Vergleich (%). In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung)

### 3.6.7 Korrelationen

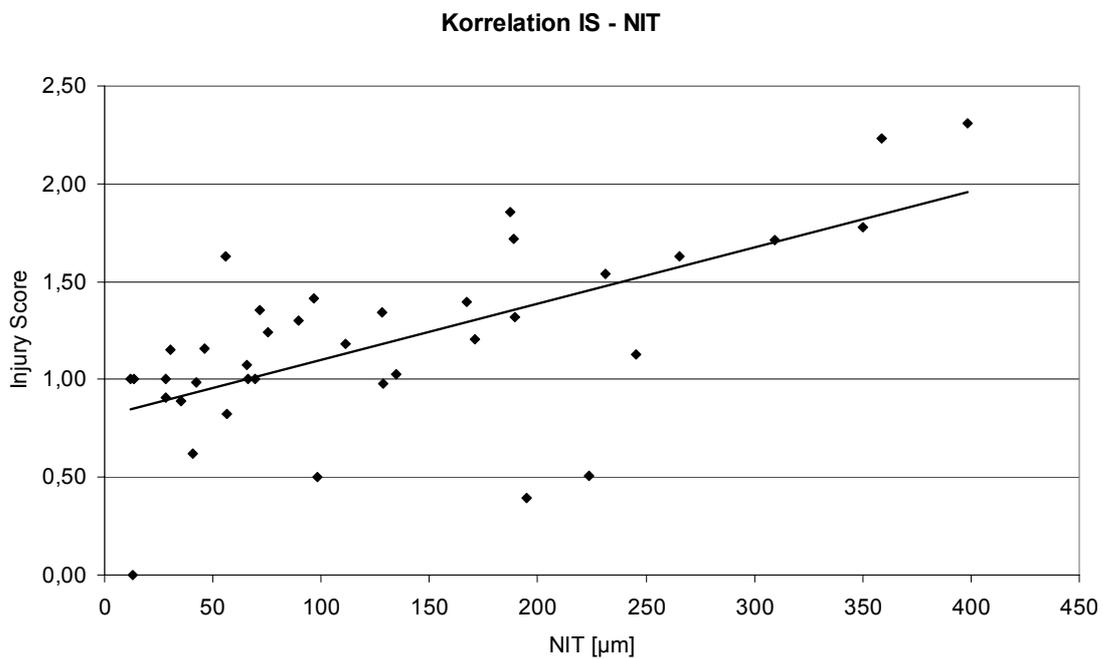
Für alle 38 implantierten Stents wird die lineare Abhängigkeit zwischen folgenden Parametern gezeigt: Verletzungsindex (IS) - berechnete mittlere Neointimadicke (mNID) sowie Verletzungsindex (IS) - absolute mittlere NIT (mNIT).

Die Korrelationen zwischen IS und mNID sowie zwischen IS und mNIT zeigen einen hochsignifikanten Zusammenhang, da jeweils  $p < 0,001$  ist. Der Pearsonsche Korrelationskoeffizient  $r$  hat in beiden Analysen einen positiven Wert. Für die lineare Abhängigkeit zwischen den Parametern IS – mNID wird er auf  $r = 0,705$  berechnet, für die lineare Abhängigkeit zwischen den Parametern IS – mNIT auf  $r = 0,627$ .

Die Ergebnisse der statistischen Analyse aller implantierten Stents bezüglich der Korrelationen Injury Score (IS) – berechnete Neointimadicke (NID) und Injury Score (IS) – absolute Neointimadicke sind in den Diagrammen der Abbildungen 30 und 31 als Punktwolke mit linearer Regressionsgerade dargestellt.



**Abbildung 30:** Graphische Darstellung der Korrelation zwischen dem Verletzungsindex (IS) und der berechneten Neointimadicke (NID). Jeder der 38 ausgewerteten Stents stellt einen Diagrammpunkt dar. Die Trendlinie ist linear.



**Abbildung 31:** Graphische Darstellung der Korrelation zwischen dem Verletzungsindex (IS) und der absoluten Neointimadicke (NIT). Jeder der 38 ausgewerteten Stents stellt einen Diagrammpunkt dar. Die Trendlinie ist linear.

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Material und Methoden

#### 4.1.1 Wahl der Versuchstierspezies

Es gibt eine Vielzahl von experimentellen Tiermodellen in der kardiologischen Forschung, deren Ziel es ist, die Übertragbarkeit der klinischen Verhältnisse beim Menschen auf die jeweilige Versuchstierspezies zu etablieren. In der Restenoseforschung sind Anatomie der Kollateralgefäße, Größe und Struktur der behandelten Arterien, Zusammensetzung der Blutbestandteile sowie die Empfänglichkeit der Spezies für spontane oder diätinduzierte Atherosklerose von Bedeutung.

Die Basis zum Verständnis der zellulären Interaktionen des alterierten Endothels wird experimentell an nichthumanen Primaten über chronische diätinduzierte Hypercholesterolämie und an chronisch mit dem Herzwurm *Dirofilaria immitis* infizierten Hunden gelegt [ROSS, 1986]. VESSELINOVITCH berichtet von Kaninchen, Schweinen und Hunden, sowie von verschiedenen Vogel- und Affenarten, die zum Studium der Atherosklerose eingesetzt werden [VESSELINOVITCH, 1988]. Es existiert kein Modell, das die humane Atherosklerose exakt nachahmen kann [BUCHWALD et al., 1992].

In der Restenoseforschung werden an Ratten [CLOWES et al., 1983], Kaninchen [HEHRLEIN et al., 1996][GOLINO et al., 1997], Hunden [DOTTER und JUDKINS, 1964][CRAGG et al., 1983][PALMAZ et al., 1985][SCHATZ et al., 1987], Kälbern [MAASS et al. 1984], Schweinen [BUCHWALD et al. 1992][BANNING et al., 1999] und Schafen [RIBIERO et al., 1993][ALT et al., 2000] nach Koronarangioplastie und nach Stentimplantation Tierversuche durchgeführt.

Alle Tiermodelle, die heute in der arteriellen interventionellen Forschung eingesetzt werden, sind in ihrer Eignung die menschlichen Bedingungen nachzuahmen und therapeutische Konzepte zur Prävention der Restenose zu finden, limitiert [MULLER et al., 1992][BONAN et al., 1993][CARTER et al., 1994][NEUMANN und SCHÖMIG, 1999][FARB et al., 2001]. Dies lässt auf grundsätzliche Unterschiede in der Neointimabildung zwischen Mensch und Tier schließen und zeigt die Wichtigkeit molekularer Studien auf [ZOHLNHÖFER et al., 2001].

Warum in der vorliegenden Arbeit das porcine „over-sized coronary stent“-Modell gewählt wurde, soll in den folgenden Punkten erläutert werden:

Im Gegensatz zu kleineren Versuchstierspezies wie Ratte und Kaninchen ist der Elastingehalt der Koronargefäße des Schweines mit dem menschlicher Gefäße vergleichbar. Bei kleinen Versuchstieren nutzt man die Aorta abdominalis, die A. carotis und die A. iliaca zur Ballondilatation und Stentimplantation. Die Hauptarterien des Körperstammes sind aber vom elastischen Bautyp und im Gefäßlumen herrschen andere rheologische Bedingungen vor. Es kann nicht mit äquivalenten Reaktionen der verletzten Gefäßwand gerechnet werden [SIGWART et al., 1987].

Beim Hund existieren reichlich kardiale Kollateralgefäße, sodass eine Myokardischämie nicht regelmässig nachweisbar ist [ALLWORK, 1987][MEYER et al., 2000]. Die LAD des Hundes ist für eine Stentimplantation zu klein [WHITE et al., 1992b] und die kaninen Gefäße reagieren infolge hoher fibrinolytischer Aktivität des Blutes weniger auf Wandverletzung [ANDERSON, 1992].

Obwohl die Aktivität des Blutgerinnungs- und des Fibrinolysesystems des Schafes mit dem des Menschen die meisten Gemeinsamkeiten aufweist, wird dieses Tiermodell kaum eingesetzt, da die ovine Neointima histologisch der humanen Gewebeproliferation nach Stentimplantation weniger ähnelt als die porcine Neointima [KARGES et al., 1994].

In Schweinearterien werden qualitativ ähnliche Reaktionen des Endothels auf Acetylcholin, auf von Blutplättchen abgegebene Substanzen (Serotonin, ADP, ATP) und auf einige Peptide (Bradykinin, Substanz P) beobachtet [FELETOU und TEISSEIRE, 1992]. Die LAD und die LCX sind etwa gleich kräftig ausgebildet, sodass in einem Tier zwei Stents implantiert werden können [WHITE et al., 1992b]. In der vorliegenden Arbeit wird vorausgesetzt, dass sich die Gewebereaktionen auf die Implantation in die LAD und die LCX nicht unterscheiden, und dass sich die unterschiedlichen Stentmaterialien nicht gegenseitig beeinflussen.

Die sich ausbildende Neointima nach Gefäßwandverletzung in porcinen Koronararterien ist histologisch dem Gewebe einer humanen Restenose ähnlich [BANNING et al., 1999]. Zur Restenose führende Veränderungen sind beim Schwein bereits vier Wochen nach Stentimplantation abgeschlossen [BUCHWALD et al., 1992][MULLER et al., 1992][CARTER et al., 1994]. Die komplette Endothelialisierung verläuft somit im Vergleich zum Menschen schneller [MULLER et al., 1992].

Im Versuchszeitraum von 28 Tagen nehmen die Läufer Schweine täglich ca. 0,5 kg an Körpermasse zu. Die Morphologie der Koronararterien bleibt erhalten. In der Literatur werden keine Angaben gemacht, inwieweit sich die Größe der Koronararterien innerhalb dieser Zeit verändert und sich auf Messergebnisse auswirken kann.

Für Langzeitversuche sollten Minipigs eingestetzt werden [MULLER et al., 1992], da das Handling mit ausgewachsenen Masthybriden schwierig ist.

Es gibt Versuchsmodelle, die vor interventionellen Eingriffen an den Gefäßen durch cholesterinreiche Diät, mechanische Gefäßwandverletzung oder genetische Manipulation atherosklerotische Läsionen in Arterien induzieren [BUCHWALD et al., 1992][MULLER et al., 1992]. Hypertension, Hypercholesterinämie, Atherosklerose und Diabetes mellitus können beim Schwein induziert werden [FELETOU und TEISSEIRE, 1992][WHITE et al., 1992b]. Andererseits ist intimale Hyperplasie eine generalisierte Reaktion des Gefäßes auf mechanische Wandverletzung, die unabhängig von Atherosklerose im porzinen Restenosemodell regelmäßig induziert werden kann [FORRESTER et al., 1991][BONAN et al., 1993].

Die pathohistologischen Mechanismen der Neointimaformation sind der Entstehung einer humanen atherosklerotischen Plaque sehr ähnlich [KARAS et al., 1992][MULLER et al., 1992][CARTER et al., 1994][BANNING et al., 1999]. Im Unterschied zu atherosklerotischen Plaques sind Restenosen fibröser und von geringerem Cholesterolgehalt [CALIFF et al., 1991].

Im porzinen „over-sized coronary stent“-Modell werden die gesunden, nicht-atherosklerotisch veränderten Koronargefäße bei der Stentimplantation um 30 bis 40% überdehnt. Die Freilegung thrombogener Gefäßwandbestandteile imitiert atherosklerotische Bedingungen [KARAS et al., 1992][SCHWARTZ et al., 1992][CARTER et al., 1994] und schafft vergleichbare Grundvoraussetzungen einer Intervention an stenosierten humanen Koronargefäßen.

Auch technische und wirtschaftliche Faktoren spielen eine Rolle. Die niedrigen Anschaffungskosten und die relativ einfachen Haltungsbedingungen des Schweines sind von Vorteil. Bei Läufer Schweinen mit 20 bis 30 kg Körpermasse, können humanmedizinische Stentmodelle und PTCA-Instrumente verwendet werden, sodass keine Neuanfertigung in anderen Größen nötig wird. Der Operateur kann die Stentimplantation entsprechend einer humanen Intervention vornehmen [WHITE et al., 1992b].

Leider sind Schweine wegen ihrer verminderten Anpassungsfähigkeit des Herz-Kreislaufsystems an physische und psychische Belastungen sehr stressempfindlich. Mit einer Ausfallsrate von 10% wird in der experimentellen, interventionellen Kardiologie erfahrungsgemäß gerechnet.

#### **4.1.2 Standardisierte postmortale humane Stentimplantation**

Eine Alternative zum Tierversuch ist die standardisierte postmortale humane Stentimplantation. Sie wird heute im Vergleich zu tierexperimentellen Studien eingesetzt. Denn neben den speziesspezifischen Besonderheiten muss auch der unterschiedliche Arterienwandaufbau der Gefäßprovinzen berücksichtigt werden. Bei dieser Form der Stentimplantation liegt ein großer Vorteil darin, dass die Implantationszonen schwergradige atherosklerotische Veränderungen aufweisen. Mechanische Komponenten können kliniknah beschrieben werden [GREWE et al., 2001][VIRMANI et al., 2001].

Nach postmortaler Implantation von Koronarstents in hochgradig arteriosklerotisch stenosierte Koronararterien von Verstorbenen können die gleichen pathomorphologischen Veränderungen der Koronararterienwand registriert werden, wie sie bei intravital implantierten Stents gefunden werden [KOMATSU et al., 1998][FARB et al., 1999].

#### **4.1.3 Stent**

##### **4.1.3.1 Design und Material**

Vom Hersteller wurde für das „Starflex“-Design ein Optimum an mechanisch stützenden Eigenschaften und an Flexibilität für die Platzierung und Gefäßanpassung des Stents gefunden. Ein Verkürzen des Stents beim Expandieren wird nur geringfügig beobachtet. Der Flächenanteil der durch die Stentstege verdeckten Gefäßinnenwand (Stent-to-Vessel-Ratio) ist möglichst gering [SCHEUERMANN, 2002].

Wegen der günstigen Kombination der mechanischen Eigenschaften Festigkeit und Zähigkeit sind Metalle grundsätzlich sehr gut für Implantate bzw. koronare Gefäßstützen geeignet, wenn sie nicht korrodieren und keine nachteilige Gewebereaktion hervorrufen [FISCHER et al., 2001].

Anfang des 20. Jahrhunderts werden verschiedene Stahllegierungen entwickelt, die ihren Einsatz in künstlichen Gelenken, Knochenplatten, sowie Abdeckungen für die

Neuro- und Kieferchirurgie finden [FISCHER et al., 2001]. Von RABENSEIFNER wird demonstriert, dass die genormten, austenitischen Chrom-Nickel-Molybdän-Stähle des Typs AISI 316L (medizinischer Edelstahl) nicht korrosionsbeständig sind. Sie bieten keinen Schutz vor Fremdkörperreaktion und Metallose. Bei einer Untersuchung im Implantatbett (Marknagel) wird nach 12 Monaten bei fast allen Implantaten Korrosion festgestellt. Histologisch ist das Gewebe hochgradig entzündet und zeigt vermehrte Fremdkörperreaktion. Das Problem ergibt sich bei Stahllegierungen durch den Aufbau eines korrosionsauslösenden, elektrochemischen Potentials, das zu Implantatversagen und sogar zu Implantatbruch führen kann [RABENSEIFNER, 1984].

Von RABENSEIFNER wird die Biokompatibilität des Reinformmetalls Niobium untersucht. 12 Monate nach Implantateinbettung (Marknagel) kann histologisch keine Fremdkörperreaktion und keine Korrosion festgestellt werden. Niobium scheint als Implantatwerkstoff sehr geeignet zu sein [RABENSEIFNER, 1984].

Vorteile der Legierung Nb-1%Zr gegenüber Stahl 316L [SCHEUERMANN, 2002]:

- **Geringere Korrosionsanfälligkeit**, d.h. die Menge an Metallionen, die durch chemische Reaktion mit dem Umgebungsmedium abgetragen werden, ist geringer. Die hohe Affinität des Nb-1%Zr zu Sauerstoff versiegelt den Werkstoff durch Selbstpassivierung. Auch die Berührung zu bereits implantierten Stahlstents führt zu keinerlei Korrosion, da ein Ionenaustausch durch die dichte Nb-Oxid Außenschicht verhindert wird.
- **Nb-1%Zr ist nickelfrei** und keine der bekannten allergie-auslösenden Metalle (z.B. Nickel, Molybdän, Chrom), die sich bei Korrosionsprozessen aus der Stahllegierung 316L nach der Implantation herauslösen können, sind enthalten. 316L-Stahl enthält ca. 12% Nickel, 17% Chrom und 2% Molybdän. Nickel- und Chromfreisetzung in 0,9%iger Kochsalzlösung wird mit einem hochempfindlichen Verfahren der analytischen Chemie zur qualitativen und quantitativen Spurenanalyse, der Neutronenaktivierungsanalyse, für 316L-Stahl-Stents nachgewiesen [LIN et al., 1999].
- **Bessere Biokompatibilität:** Die Biokompatibilität wurde mit Hämokompatibilitäts- und Zytotoxizitätstests nachgewiesen. Die Gewebefreundlichkeit wird in der vorliegenden Studie bei den histologischen Ergebnissen dokumentiert.

- **Kein Ferromagnetismus:** Die niedrige magnetische Suszeptibilität führt bei der Exposition in starken elektromagnetischen und magnetischen Feldern, wie z.B. der Magnetresonanztomographie (MRT), zu deutlich reduzierten Artefakten bei der Bildgebung.
- **Bessere Röntgensichtbarkeit:** Das Grundmaterial Nb-1%Zr weist eine exzellente angiographische Sichtbarkeit auf, da das Element Niob eine hohe Ordnungszahl hat und sich damit verbunden eine abschirmende Eigenschaft gegenüber Röntgenstrahlen ergibt.
- **Sehr gute Eignung für Beschichtungen:** Die Stentoberfläche kann durch Randschichtbeeinflussung oder Beschichtungen so modifiziert werden, dass sie biologisch aktiv ist.

In der vorliegenden Arbeit konnte eine exzellente radiologische Darstellbarkeit bestätigt werden. Insbesondere im direkten Vergleich zu den Stahl-Stents wurde eine Erleichterung bei der Positionierung im Gefäß deutlich (siehe Abb. 12).

Je nach Stenttyp müssen verschiedene mechanische Eigenschaften bereitgestellt werden [FISCHER et al., 2001], die nachfolgend kurz zu beurteilen sind:

- Die Fähigkeit zur elastischen (reversiblen) und/oder plastischen (irreversiblen) Verformung bei geringer Biegefestigkeit während der Implantation:
  - Die Verformungseigenschaften der unbeschichteten und mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents waren mangelhaft.
- Eine ausreichende mechanische Festigkeit zur Stützung des Gefäßes nach Implantation (Kaltverfestigung) muss gewährleistet sein:
  - Nach erfolgreicher Implantation war die mechanische Festigkeit in den hier dargestellten Untersuchungen gut.
- Eine ausreichende Dauerfestigkeit der Stentstruktur, damit durch den pulsierenden Blutstrom keine Ermüdungsbrüche oder -risse entstehen. Diese führen zu Schwingkorrosion, die durch Austritt von Metallionen in hoher Anzahl eine toxische Gewebewirkung entfalten und Blutplättchen aktivieren können.
  - Die Dauerfestigkeit konnte im Versuchszeitraum von nur 28 Tagen nicht beurteilt werden.

MAHR und Mitarbeiter [2000] machen vorwiegend das Stentmaterial für das Dilatationsverhalten verantwortlich, siehe Kap. 2.7.5.5. Zusammenfassend lieferte

das zu testende Grundmaterial Niobzirkonium in diesen Versuchen während der Implantation der Stent-Prototypen keine zufrieden stellenden Ergebnisse.

#### **4.1.3.2 Eigenschaften der Iridiumoxid-Oberfläche**

Die Iridiumoxid Oberfläche wird bereits mit Erfolg an Herzschrittmacherelektroden zur Einkoppelung der elektrischen Impulse verwendet [SELIGER et al., 2000], sodass diese Beschichtung auch einen Einsatz in der Stentimplantation rechtfertigt. Erste positive Ergebnisse aus Untersuchungen eines mit Iridiumoxid beschichteten Goldstents liegen vor [SCHWENNICKE, 2000].

Der Iridiumfilm zeigt im stabilen oxidierten Zustand eine wesentlich geringere Leitfähigkeit an Grenzflächen, als eine typische Metall-Salz-Oberfläche [GLARUM und MARSHALL, 1992]. Die geringere Leitfähigkeit des Oxids gewährleistet eine korrosionsstabile und effiziente Verbindung zwischen Gewebe und z.B. Herzschrittmacherelektrode. Bringt man die Iridiumoxidschicht direkt auf Stahl auf, löst der große elektrochemische Potentialunterschied zwischen Eisen und Iridium eine Kontakterrosion aus. Es muss zuvor eine Goldschicht auf den Stahlkern aufgezogen werden [SCHWENNICKE, 2000]. Auf Niobzirkonium kann die Iridiumoxidschicht elektrochemisch stabil aufgesputtert werden. Der Katalysator Iridiumoxid ist auf der Stentoberfläche beständig, er wird nach Implantation nicht vom Körper abgebaut.

Entzündungsmediatoren und aktivierte Sauerstoffmetabolite, die von aktivierten neutrophilen Granulozyten abgegeben werden, fördern die Zelladhäsion an die Gefäßwand. Eine akute Entzündungsreaktion mit gesteigerter Gefäßpermeabilität und Proteinverlust wird ausgelöst [PEPINE et al., 1996]. Diese entzündlichen Vorgänge können durch den Katalysator Iridiumoxid reduziert werden. Anhand der histologischen Ergebnisse bestätigte sich in dieser Arbeit die gute Biokompatibilität.

#### **4.1.4 Auswertungstechniken**

##### **4.1.4.1 Angiographie**

Die Angiographie ist in der Humanmedizin der Goldstandard für die Beurteilung des Stenosegrades und für die Entscheidung zu weiteren invasiven Maßnahmen.

Es bestehen aber Ungenauigkeiten, vor allem gegenüber der neueren bildgebenden Diagnostik des intravaskulären Ultraschalls (IVUS), denn aus einer flächigen Darstellung des mit Kontrastmittel dargestellten Gefäßlumens muss bei der

Angiographie ein dreidimensionaler Querschnitt der komplexen Gefäßanatomie abgeleitet werden. Aber nur die genaue Kenntnis der Stenoseanatomie kann Aussagen über das Gefäßlumen erlauben. In der Regel macht der mit IVUS gemessene Lumendurchmesser nur ca. 2/3 des angiographisch gemessenen Lumendurchmessers aus [SCHWARTZ, 1995]. Unter IVUS-Kontrolle kann der Stent kontrolliert im Lumen platziert werden [NAKAMURA et al., 1994].

Die Qualität der während der Durchleuchtung aufgenommenen Bilder variierte, da der Abstand zwischen Objekt und Strahlenquelle nicht konstant war. Zudem war das Gefäß nie mit der gleichen Menge Kontrastmittel gefüllt. Als Bezugspunkt musste der Führungskatheter in jedem Bild ausgemessen werden, sodass ein direkter Vergleich der Messungen möglich wurde.

Diese Einflüsse erklären auftretende Ungenauigkeiten in den Ergebnissen. So war für Gruppe II der native Gefäßdurchmesser angiographisch am kleinsten, aber histomorphometrisch ergab sich in dieser Gruppe der größte Wert für das Originallumen.

Da es zu einer Schrumpfung der Arterien während der Fixation und bei der Entwässerung kommt, ist ein direkter Vergleich der Angiographiewerte mit der Neointimazubildung aus den histomorphometrischen Ausmessungen nicht möglich [POST et al., 1994]. Diese Aussage konnte die Differenzen in den Ergebnissen der Originalgefäßgröße nicht erklären.

#### **4.1.4.2 Hartschliffhistologie**

Die stenttragenden Gefäßsegmente und die Gefäßreferenzen werden in Methylmetacrylat eingebettet. Diese Methode wurde von LEBEAU et al. [1995] für die histologische und immunhistochemische Untersuchung von Knochenmarksbiopsaten beschrieben und in vorausgehenden Studien erfolgreich für die Einbettung und das Schneiden von stententhaltenden Gefäßen verwendet [BUCHWALD et al., 1992][WHITE et al., 1992a][FARB et al., 1999].

Vorteile dieser Methode sind eine Aushärtungszeit von nur 24 bis 48 Stunden, die geringe Wärmeentwicklung des Verfahrens und die Stabilität des Polymers. Die beim Schneiden einwirkenden Kräfte führen nicht zum Verlust der morphologischen Struktur des Gewebes.

Die Methode stellt allerdings kein Standardverfahren dar. Das spezielle Mikrotom mit hartmetallbestückten Messern ist ein zusätzlicher Kostenfaktor. Das Schneiden erfordert Übung und relativ viel Zeit [CARTER et al., 1994]. Die Schnittführung

konnte das Gefäß nicht immer genau senkrecht erfassen, sodass bei der morphometrischen Vermessung für die Stent- und Gefäßlumenfläche z.T. größere Werte ermittelt wurden. Einzelne gefärbte, eingedeckelte Objektträgerpräparate waren noch mit feinem Metallstaub übersät, der vom Messer oder den Stentstruts (wahrscheinlicher) stammen konnte. Das Erkennen und Beurteilen von Zellen wurde dadurch erschwert. Die Schichtdicke der Schnitte von 10 bis 12 µm war zwar schon relativ dünn für Kunststoffpräparate, aber dennoch waren die Zellen nicht immer eindeutig zu identifizieren. Die Qualität der HE-Färbung variierte. Die Kernfärbung war oft nicht optimal und die Zellerkennung wurde erschwert. Eine genaue Differenzierung zwischen Monozyten, Makrophagen und Plasmazellen war lichtmikroskopisch nicht möglich. Zudem waren die Entzündungszellen in ihren unterschiedlichen Reifestadien lichtmikroskopisch nicht eindeutig zuzuordnen. Die Resorcinfuchsin-Färbung bietet im Vergleich zur HE-Färbung keine weiteren Vorteile.

Bei der paraffinhistologischen Präparation war Beurteilungsmöglichkeit zellulärer Reaktionen besser, da im Vergleich zur Hartschliffhistologie sehr viel dünnere Schnitte angefertigt werden konnten. Sie verursachten aber durch die Entfernung der Metallstruts Artefakte und machten die strutnahe histologische Auswertung unmöglich [WHITE et al., 1992a].

#### **4.1.4.3 Paraffinhistologie**

Die Paraffinhistologie ist ein Routineverfahren zur histologischen Beurteilung von Gewebe und eignete sich für die Untersuchung der entnommenen Myokardproben. Stenttragende Gefäßabschnitte konnten nicht geschnitten werden.

#### **4.1.4.4 Histomorphometrie**

Die Morphometrie ist die Standardmethode zur quantitativen Beurteilung der Neointimazubildung nach experimenteller Ballondilatation und Stentimplantation [BUCHWALD et al., 1992][MULLER et al., 1992][SCHWARTZ et al., 1994]. Leider werden zur Berechnung der Restenoserate in der Literatur verschiedene Möglichkeiten genannt.

## 4.2 Ergebnisse

### 4.2.1 Implantationsdaten

Der Implantationsverlauf liess vermuten, dass die Bedingungen nicht bei allen Tieren optimal waren. Materialbedingt konnte die Stentimplantation vor allem in Gruppe II der mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents nicht routinemässig und einheitlich ausgeführt werden. Die Schwierigkeiten mussten zum Verständnis der Ergebnisse berücksichtigt werden, da sie in der Regel verstärkte Endothelläsionen und vermehrtes Neointimawachstum bedingten.

Die mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents erschienen dem Operateur beim Aufkriechen weniger plastisch als die unbeschichteten Niobzirkonium-Stents. Sie saßen nicht fest auf dem Ballonkatheter und liessen sich dadurch nicht ohne Komplikationen implantieren. Post implantationem erschien das akute Recoil deutlich erhöht im Vergleich zu Stahl-Stents. Bei 3 von 11 (27,3%) der Niobzirkonium-Stents und 11 von 19 (57,9%) der Niobzirkonium+IrOx-Stents musste für einen sicheren Halt des Implantats mehrmals nachgedehnt werden (siehe Kap.3.6.2). Bei Schwein 23566 wurde in der LCX erfolgreich eine PTCA durchgeführt, histologisch wurden keine Anzeichen einer Myokardischämie gesehen.

### 4.2.2 Angiographische Untersuchungen

Bei den Messungen der Gefäßdiameter wich die Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents tendenziell in zwei Parametern von den anderen Gruppen ab. Der native Durchmesser war in dieser Gruppe im Mittel am größten, die Relation des Durchmessers nativ zu post implantationem war am höchsten. Dies deutete auf eine starke Gefäßwanddehnung hin.

Die statistische Auswertung der Berechnung der Gefäßüberdehnung, bzw. des overstretch bestätigte diese Annahme, da sich wiederum die Gruppe II der Niobzirkonium+IrOx-Stents von Gruppe I signifikant unterschied.

Eine BTV-Relation von 1,0/1,1 zu 1,0 ist bei der Stentimplantation in humane Koronararterien optimal. Eine höhere Relation bedingt Komplikationen, eine niedrigere Relation führt zu Restenose [POMPA und KUNTZ, 2001]. Diese BTV-Relation wurde in den Gruppen der Niobzirkonium- und der Stahl-Stents erreicht. Der Wert in Gruppe II lag mit 1,17 nicht im Optimum und bedingte einen Trend zur Signifikanz. Die Rolle der BTV wurde in der Literatur allerdings nicht einheitlich betrachtet:

Eine Relation zwischen BTV und subakuter Stentthrombose bzw. Restenose kann nicht festgestellt werden [KUTRYK und SERRUYS, 1999].

Die angiographisch ermittelten Restenosewerte zeigten keine signifikanten Unterschiede. Dieses Ergebnis entsprach den histomorphometrisch ausgemessenen Restenoseparametern.

#### **4.2.3 Pathologie der Herzen und der Myokardproben**

Bei den gestorbenen Versuchstieren 23138, 23099 und 24728 wurde das Myokard nicht histologisch aufbereitet. Das Herz wurde makroskopisch beurteilt, um nicht operationsbedingte Ausfälle auszuschließen. Für die Thrombogenität der Stents wurde in diesen Versuchen der unausgereifte Herstellungsprozess des Prototyps verantwortlich gemacht.

Die pathologisch-anatomischen Myokardveränderungen bei Schwein 23141 waren histologisch nicht eindeutig nachvollziehbar. Da es sich um Veränderungen im Versorgungsgebiet der rechten Koronararterie (RCA) handelte, war ein kausaler Zusammenhang zur Stentimplantation unwahrscheinlich. Ein stentnaher Myokardinfarkt um die LAD oder LCX war nicht erkennbar. Während der Implantation konnte man lediglich ein Gefäßspasmus in der LAD beobachten. Eventuell bestanden die Veränderungen bereits vor dem interventionellen Eingriff als Zeichen einer vorausgegangenen Erkrankung.

Beim Menschen findet man gelegentlich auf der Vorderseite der rechten Kammer eine umschriebene, weißliche Verdickung (Epikardsehnenfleck), die auf eine lokale, mechanische Reizung zurückzuführen ist [THOMAS et al., 1990]. Inwieweit solche Veränderungen beim Schwein vorkommen, ist unklar.

Bei Schwein 23219 lag der infarzierte Gewebereich pathologisch-anatomisch in einem sehr ähnlichen Bereich wie bei Tier 23141. Während der Implantation trat ein Spasmus in der LCX auf. Histologisch waren Veränderungen im Sinne eines Mikroinfarktes vorhanden, der sich in den verschiedenen Ebenen in seinem zentrifugalen Aufbau darstellte. Auch hier war das Versorgungsgebiet der rechten Koronararterie betroffen. Es konnte davon ausgegangen werden, dass die Veränderungen nicht in Zusammenhang mit der Stentimplantation standen.

Theoretisch könnten die Veränderungen der Herzen der Schweine 23141 und 23219 die Folgen einer Myokarditis gewesen sein. Interstitielle Myokarditis tritt bei Mastschweinen infolge sekundären Vitamin-E-Mangels bei der Maulbeerherzkrankheit (diätetische Mikroangiopathie) auf. Eine Infektion mit

Encephalomyocarditis(EMC)-Virus verursacht eine nichteitriges Herzmuskelentzündung, v.a. bei Schweinen bis 20 kg Gewicht. Nichteitriges Myokarditis wird weiterhin beobachtet bei Maul- und Klauenseuche (MKS) und beim Porzinen Reproduktiven und Respiratorischen Syndrom (PRRS) [BIRCKHARDT, 2001].

Während der Implantation des Niobzirkonium+IrOx-Stents in die LAD des Schweines 92 war elektrokardiographisch eine andauernde Ischämie nachvollziehbar, die sich bei pathologisch-anatomischen und histopathologischen Untersuchungen bestätigte. Auch das Myokard um die LAD war betroffen. Dies war das einzige Tier, das implantationsbedingt einen Herzinfarkt erlitt.

Direkt unter dem Endokard liegende Herzmuskelfasern können größtenteils durch Diffusion erhalten werden [THOMAS et al., 1990].

Bei Schwein 23172 konnten die makroskopisch um die LAD auftretenden Veränderungen histologisch nicht nachvollzogen werden. Eventuell war im Präparat nicht der richtige Bereich getroffen. Der Implantationsverlauf erklärte die Veränderungen nicht.

Schwein 23197 starb während der Euthanasie infolge Kammerflimmerns. Histologisch waren geringgradige Myokardveränderungen erkennbar, die einer beginnenden Veränderung der Stoffwechselfunktion zugrunde lagen.

Als Erreger der fibrinösen Perikardveränderungen der Schweine 24565 und 24568 kämen Streptococcus suis, Pasteurellen, Hämophilus, Actinobacilluspezies sowie Escherichia coli in Frage [BIRCKHARD, 2001]. Die Tiere wurden nicht weiter untersucht.

Dünnwandige und dilatierte Herzkammern deuteten auf eine Insuffizienz des Organs hin.

#### **4.2.4 Histomorphologie**

Alle Stents sind gut in das Gefäß eingewachsen. Ein ruhiges Zellbild längsparallel geordneter, spindelförmiger Zellen in der lumennahen Neointima deutet auf ein abgeschlossenes neointimales Wachstum hin. Im Bereich der Struts dauert die Entzündungsreaktion noch an.

In Gruppe I sind die polymorphkernigen neutrophilen Granulozyten am häufigsten vertreten. Eine Fremdkörperreaktion wird nicht festgestellt. Nach RABENSEIFNER [1984] äußert sich eine Gewebeunverträglichkeit als entzündliche Fremdkörperreaktion.

In Gruppe II wurden am wenigsten Zellen einer Fremdkörperreaktion gefunden. Die Stents in dieser Gruppe hatten den höchsten Verletzungsindex und die höchste Aufdehnungsasymmetrie und es bildete sich die stärkste Neointima aus, in die aber die wenigsten Entzündungszellen eingelagert waren. Diese Beobachtung legte nahe, dass die mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents sehr biokompatibel waren und die Einheilung in das Gewebe kaum Abwehrreaktion hervorrief.

Die minimale zelluläre Neointimareaktion in der Gruppe der Stahl-Stents wurde durch den niedrigen Verletzungsindex bedingt.

Nach VIRMANI und Mitarbeitern ist im porzinen „over-sized coronary stent“-Modell nach 28 Tagen der Grad lymphohistiozytärer Zellinfiltration mit der Stärke der Neointima assoziiert und unabhängig vom Verletzungsindex. Der Beitrag von Fremdkörperriesenzellen zum neointimalen Wachstum ist allerdings unsicher [VIRMANI et al., 2001]. In experimentellen und humanklinischen Studien wird mit ihrem Auftreten eine verlängerte Proliferation glatter Muskelzellen assoziiert [CARTER et al., 1994].

Entzündliche Zellinfiltration und Neovaskularisierung im Strutbereich wird bei allen Tierarten beschrieben [SCHATZ et al., 1987][KARAS et al., 1992][RIBIERO et al., 1993][SCHWARTZ et al., 1994].

Es konnte in der eigenen Studie nicht geklärt werden, ob die zelluläre Reaktion nur auf den implantierten Werkstoff oder auch auf den Grad der Gefäßwandverletzung zurückzuführen war. Aus den Ergebnissen dieser Versuche könnte allerdings gefolgert werden, dass die Neointimadiecke vom Grad der Gefäßwandverletzung und die entzündliche Zellinfiltration vom verwendeten Stentmaterial abhängig war.

Eosinophile Granulozyten wurden immer hochgradig vermehrt nach Ruptur der LEI im neointimalen Gewebe gefunden. Eine Parasitose konnte bei den Tieren 23170 (LCX) und 23172 (LCX) ausgeschlossen werden, da in der Arterienwand der Referenzgefäße keine eosinophilen Granulozyten gefunden wurden.

Nach Ruptur der LEI tritt das Gewebe der Tunica media mit dem Blut in Kontakt und induziert über vermehrte Plättchenanlagerung eine verstärkte Neointimabildung [SCHWARTZ et al., 1992].

Schwein 92 zeigte im Gewebebereich der LAD nur geringgradig vermehrt Neovaskularisation, obwohl ein hochgradiger Infarkt vorlag. Die LAD des Schweines 23141 war im Bereich einer asymmetrischen und unvollständigen Stentaufdehnung

vermehrt durch neointimales Gewebe eingeengt. Die Stentstruts lagen im Lumen und waren nicht in die Gefäßwand integriert.

Es wird postuliert, dass die Nekrose der Media nicht mechanisch durch Druckatrophie bedingt ist, sondern toxisch induziert wird. 316L-Stahl-Stents lassen Nickel-, Chrom- und Molybdän-Ionen frei. Inwieweit bei NbZr- und NbZr+IrOx-Stents bei moderatem Verletzungsindex keine Medianekrose eintritt, muss immunhistochemisch nachvollzogen werden.

Insgesamt erschien die semiquantitative Bewertung der stenttragenden Gefäßabschnitte unter Durchlichtmikroskopie in 100er Vergrößerung in Ölimmersion wenig aussagekräftig. Die Einteilung in andauernde, akut-entzündliche und chronische-fibroproliferative Entzündung sollte lichtmikroskopisch ausreichen. Eine qualitativ und quantitativ bessere Bewertung sollte immunhistochemischen Verfahren vorbehalten bleiben [FIRSOV, in Vorbereitung].

#### **4.2.4.1 Verletzungsgrad der Gefäßwand (IS)**

Eine moderate lokale Gefäßwandverletzung soll den pathologisch-anatomischen Reizungsgrad in humanen atherosklerotischen Veränderungen imitieren [SCHWARTZ et al., 1992][KARAS et al., 1992]. Da in allen Gruppen Stents des gleichen Designs implantiert wurden, wiesen die signifikanten Unterschiede im Verletzungsindex auf unterschiedliche Materialeigenschaften hin.

Der hohe Verletzungsgrad der Gefäßwand in der Gruppe der Niobzirkonium+IrOx-Stents entstand durch wiederholte Aufdehnungen des Gefäßes. Auch in Gruppe I verrutschten bei drei Implantationen die Stents, der Verletzungsindex blieb mit 1,20 aber dennoch im angestrebten Bereich. In der Stahl-Gruppe wurde die geplante Irritation nicht erreicht, d.h. die gemessene Neointimaprolieration sollte unter idealen Bedingungen in dieser Gruppe noch höher liegen, um als optimale Kontrollgruppe zu dienen.

#### **4.2.4.2 Aufdehnung der Stents (AD)**

Bezüglich der Aufdehnung konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den drei Gruppen gefunden werden. In Gruppe I und II war die Asymmetrie am stärksten. In Gruppe II resultierte bei gleichzeitig sehr hohem Verletzungsindex die markanteste Neointimaprolieration. Eine asymmetrische Expansion der Struts führte zu einer ungleichmäßigen Stützung der Gefäßwand und der Tendenz zum akuten Recoil nach Stentimplantation. Zu stark überdehnte Stentstreben verursachten

Gewebeverletzung und zu wenig expandierte Struts lagen im Lumen des Gefäßes. Beides führten durch vermehrte Thrombenanlagerung zu Neointimaprolieration.

Am coronary overstretch Modell wird beim Schaf eine positive Korrelation zwischen Restenose und dem Grad an Asymmetrie bei der Stentaufdehnung aufgestellt [SCHULZ et al., 2000]. NAKAMURA und Mitarbeiter zeigen mit intravaskulärem Ultraschall (IVUS) das häufige Auftreten inkomplett und asymmetrisch aufgedehnter Stents. Im gesunden Bereich ist die Expansion stärker als im Plaquebereich [NAKAMURA et al., 1994].

GREWE und Mitarbeiter [2001] untersuchen an humanen Autopsiepräparaten mit zu über 90% verkalkten Koronarstenosen die Aufdehnungssymmetrie von Koronarstents. Kein Stent weist nach der Ballonimplantation eine komplett homogene Entfaltung auf. Insbesondere im Bereich kalzifizierter oder stärker fibrös veränderter atheromatöser Plaques tragen dicht beieinander liegende Stentfilamente kaum zum Lumengewinn bei. In leichtgradig atherosklerotisch veränderten Zonen tritt dagegen eher eine Überexpansion mit tiefer Plaqueimpression der Stentfilamente auf. Zum Epikard hin fällt regelmäßig eine Überexpansion der Stentanteile auf. Dissektionen kommen meist in den Randzonen der Plaques am Übergang zum oft überdehnten, gesunden Gefäßwandabschnitt vor. Es zeigt sich, dass die Expansions-Morphologie bzw. die Veränderung der Stentgrundstruktur in erster Linie von der Ausprägung der zugrunde liegenden Koronarpathologie bestimmt wird und das Auftreten von thrombotischen und myofibroblastischen Stentverschlüssen entscheidend beeinflusst [GREWE et al., 2001].

Da in der eigenen Arbeit die Implantationen in gesunde Koronararterien vorgenommen wurden, waren asymmetrische Stentaufdehnungen auf das Stentdesign und vor allem auf das Überexpandieren der Stents zurückzuführen.

#### **4.2.5 Histomorphometrie**

Zusammenfassend war es sehr wichtig, die histomorphometrischen Ergebnisse und die Beurteilung der Restenose in Abhängigkeit vom Implantationsverlauf zu interpretieren. In den Gruppen der unbeschichteten und der mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents waren einzelne sehr gute Ergebnisse, die jedoch das Gesamtergebnis der Gruppe nicht aufwerten können.

So ergab sich z.B. für Versuch II.20, bei dem während der Implantation keine Komplikationen auftraten, ein überdurchschnittlich gutes Restenoseergebnis. In Versuch II.34 wurden die kleinsten Restenosewerte erreicht, obwohl bei der Implantation

Endothelläsionen gesetzt werden. Sehr gute Werte lieferte auch Versuch II.19, bei dem der Stent 3-mal nachgedehnt wurde.

Die in Versuch II.17 angiographisch darstellbare Gefäßdissektion wirkte sich in der zweitstärksten Neointimaprolieration aus.

Die stärkste und drittstärkste Neointimaprolieration in Versuch II.26 und II.29 resultierten nicht direkt aus Komplikationen während der Implantation. Beide Versuche waren die zweite Stentimplantation im Tier und es kam jeweils beim zuvor implantierten Stent (Versuch II.25 bzw. II.30) zu Komplikationen (Infarkt bzw. Abknicken des Ballonkatheters).

#### **4.2.5.1 Neointimale Fläche (NF)**

Die neointimale Fläche wurde in Abhängigkeit vom Gefäßdurchmesser berechnet.

Für die Berechnungen geht man vom nativen Zustand des Gefäßlumenquerschnitts aus, einer annähernd idealen Kreisform. Diese blieb durch Maßnahmen während der Präparation der Proben leider nicht immer erhalten. Die oben aufgeführten Umrechnungen führten über den Gefäßumfang zu einer idealen Kreisform zurück. Sie implizierten eine Ungenauigkeit bei den Ergebnissen. Das Bildanalyseprogramm konnte die Fläche auch direkt ermitteln, allerdings ging NIH nicht von der Grundform eines idealen Kreises aus.

Der Flächenunterschied war zwischen der Gruppe der mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents und der Gruppe der unbeschichteten Niobzirkonium-Stents signifikant. Obwohl histomorphometrisch in Gruppe II der kleinste native Gefäßdurchmesser bestimmt wurde, war NF dennoch am größten. Das Ergebnis war folglich in dieser Arbeit nicht von der Gefäßgröße abhängig, sondern es wurde vom Verletzungsindex beeinflusst.

In den Ergebnissen war NF der einzige die Neointimadicke quantifizierende Parameter, der einen signifikanten Unterschied aufwies.

#### **4.2.5.2 Mittlere berechnete Neointimafläche (mNID)**

Die mittlere Neointimadicke wurde in Abhängigkeit vom Gefäßradius errechnet, der wiederum vom Gefäßdurchmesser abhängig war. Histomorphometrisch wurden zunächst OL und RL bestimmt und auf die ideale Kreisform zurückgeführt, siehe Kap. 3.4.2. Es ergaben sich die Radien für die Formel der NID. Auch dieser Wert war folglich abhängig von der Gefäßgröße und wurde durch die Umrechnungen verändert.

Die NID bzw. die Ausmessung des Originallumens bezog die Dicke der Struts ein. Je nachdem wie genau senkrecht der Schnitt des Gefäßes getroffen wurde, konnte die in der NID gemessene Strutdicke variieren. Ein senkrecht getroffener Strut ist durchschnittlich 100 µm dick.

Die Niobzirkonium- und Stahlstents zeigten ein ähnliches Ergebnis und die mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents präsentierten die stärkste Neointima. Die Gruppenwerte unterschieden sich in der statistischen Auswertung nicht. Diese Ergebnisse stimmten mit den Daten der anderen Restenoseparameter (RD und RF) und der mittleren absoluten Neointimadicke (mNIT) überein.

#### **4.2.5.3 Mittlere absolute Neointimadicke (mNIT)**

Dieser Parameter wurde aufgeführt, um einen Wert für eine mittlere Neointimadicke zu erhalten, der vom Gefäßdurchmesser unabhängig war und zudem nicht die Dicke der Struts miteinbezog.

Eventuell bietet dieser Parameter eine alternative Bewertungsmöglichkeit für das Maß der Neointimaprolieration, wenn man die Implantation in Gefäße annähernd gleicher Größe voraussetzt.

#### **4.2.5.4 Restenoserate**

Die diameter- (RD) und flächenbezogene Restenose (RF) waren von der nativen Gefäßgröße abhängige Parameter. Die Ergebnisse der beiden Parameter unterschieden sich nicht signifikant, bei den Mittelwerten fiel jedoch eine in der Gruppe der mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents erhöhte Restenoserate auf. Dieses Ergebnis wurde im Zusammenhang mit Implantationsverlauf, Verletzungsindex und Aufdehnungssymmetrie der Gefäßwand gesehen.

#### **4.2.5.5 Distanzmessungen**

Diese Messung sollte eine Beurteilung der Gewebereaktion in der Media und der Adventitia erlauben. Es wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt. Je näher die Struttinnenseite an der LEE, desto höher die Gefäßwandverletzung und desto höher der Wert der Distanzmessung.

Eine entzündliche Reaktion bzw. Verdickung der Adventitia wurde nicht berücksichtigt.

Der Parameter erschien wenig aussagekräftig.

#### 4.2.5.6 Korrelationen

Experimentelle Untersuchungen am Schwein und klinische Studien am Menschen zeigen eine positive lineare Korrelation zwischen dem Ausmaß einer PTCA- oder stentinduzierten Verletzung der Arterienwand und dem Dickenwachstum der Neointima [IP et al., 1990][SCHWARTZ et al., 1992][BONAN et al., 1993][CARTER et al., 1994][SCHWARTZ et al., 1994][VIRMANI et al., 2001].

Für BONAN und Mitarbeiter resultiert hieraus, dass ein Trauma in einer kleineren Arterie zu einem vergleichsweise höheren Verletzungsindex führt als dasselbe Trauma in einer größeren Arterie [BONAN et al., 1993], was nicht nachvollzogen werden kann.

Für Hunde kann keine positive Korrelation der beiden Parameter gezeigt werden [SCHWARTZ et al., 1994].

Positive Korrelationen wurden jeweils beim Vergleich der mittleren berechneten NID (mNID) und der mittleren absoluten NIT (mNIT) mit dem Verletzungsindex (IS) gefunden. Da sich die lineare Abhängigkeit bestätigte, muss bei höherem Verletzungsindex mit stärkerer Neointimaproliferation gerechnet werden.

### 4.3 Schlussfolgerung und Ausblick

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, am Schwein als Tiermodell für unbeschichtete und mit Iridiumoxid beschichtete Koronarstents aus Niobzirkonium die In-Stent-Restenoserate zu ermitteln.

Bisherige Ergebnisse aus technischen und medizinischen Untersuchungen (In-vitro-Studien) lassen bei gleichen mechanischen Eigenschaften eine deutliche Senkung der In-Stent-Restenoserate gegenüber 316L-Stahl-Stents erwarten [SCHEUERMANN, 2002].

Die sehr gute Darstellung der Stents aus Niobzirkonium unter Durchleuchtung zur angiographischen Bildgebung ermöglichte eine optimale Platzierung der Gefäßendoprothese. Im klinischen Gebrauch kann der interventionelle Eingriff somit unter milderer systemischer Antikoagulation durchgeführt werden. Das Blutungsrisiko im Bereich der Einführungsstelle der Schleuse wird reduziert.

Die eigene Arbeit demonstrierte, dass die Restenoseentstehung multifaktorieller Ätiologie ist. Die Minimierung der Implantationsergebnisse auf eine Restenoserate erscheint nicht sinnvoll, denn eine wertvolle Aussage kann nur unter einheitlichen Implantationsbedingungen gemacht werden. In den drei Versuchsgruppen wurde

dieses Ziel nicht erreicht. Da in der Kontrollgruppe der niedrigste Verletzungsindex und implantationsbedingt die wenigsten Komplikationen auftraten, konnten die Restenoseparameter nicht direkt verglichen werden.

Der dokumentierte Implantationsverlauf legt nahe, dass der Prototyp des zu testenden Stentmaterials in seinen mechanischen Eigenschaften noch nicht ausgereift war. Die Legierung Niobzirkonium muss für ihre Funktion als Gefäßendoprothese in ihrer elastischen und plastischen Verformbarkeit verbessert werden. Komplikationen, die sich bei den mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents ergaben, wurden durch das Stentgrundmaterial verursacht. Die Iridiumoxid-Beschichtung konnte die mechanischen Stenteigenschaften nicht negativ beeinflussen.

Die Resultate der vorliegenden Arbeit sprechen nicht grundsätzlich gegen das Material Niobzirkonium. Unter Komplikationen während der Implantationen wurde statistisch kein signifikanter Unterschied sowohl in der histomorphometrisch als auch in der angiographisch ermittelten Restenoserate gefunden. Einzelne Ergebnisse waren sehr gut. Eine über 50%ige angiographisch messbare Stenose bzw. 75%ige Querschnittslumeneinengung des Stents gilt in der Humanmedizin als Restenose. Dieser Wert wurde in keinem der histomorphologischen und angiographischen Restenoseparameter gemessen.

Die histologischen Ergebnisse waren besonders im Zusammenhang mit der mechanischen Irritation der Gefäßwand zu interpretieren. Eine unvollständige Einheilung oder vermehrte zelluläre Abwehrreaktionen konnten in keiner der drei Gruppen gesehen werden. Die gute Gewebeerträglichkeit der Legierung Niobzirkonium und der Iridiumoxid-Beschichtung bestätigten sich in den vorliegenden Untersuchungen. Das neointimale Gewebe war nur geringgradig mit Entzündungszellen infiltriert. Die zelluläre Entzündungsreaktion und die Neointimadicke wurden neben dem Verletzungsindex auch vom Implantatwerkstoff beeinflusst. Die Parameter sind voneinander abhängig und liessen bei unterschiedlichen Implantationsbedingungen keine eindeutigen Rückschlüsse auf die Ätiologie der Gewebereaktion zu. Immunhistochemische Untersuchungen werden die zugrunde liegenden Zellreaktionen in ihrer Qualität besser beurteilen können.

Wenn die mechanischen Eigenschaften des Prototyps des Niobzirkonium-Stents optimiert werden können, sollte eine Studie mit längerer Überlebensdauer der

Versuchstiere geplant werden, um nach 6 bis 7 Monaten eine Eignung der Legierung als korrosionsbeständiges intravaskuläres Dauerimplantat zu bestätigen.

In einer 6-monatigen klinischen Studie am Menschen (LUSTY-Studie) werden seit Juni 2002 mit Iridiumoxid beschichtete Niobzirkonium-Stents auf ihre Restenoserate untersucht. Klinische Studien über Stahl-Stents, die mit Gold und Iridiumoxid beschichtet sind (MOONLIGHT-Studie) präsentieren nach 6 Monaten sehr gute Ergebnisse beim Menschen [HENNING, 2002].

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

**Hintergrund:** Die Therapie stenosierter Herzkranzgefäße mit ballonexpandierbaren Gefäßstützen (Stents) wird in der minimalinvasiven Kardiologie seit einigen Jahren mit Erfolg praktiziert. Die heute hauptsächlich zum Einsatz kommenden Stents sind aus dem Material 316L (medizinischer Edelstahl). Sie unterscheiden sich in ihrem Design und ihren Oberflächenbeschichtungen. Keinem interventionellen Verfahren ist es bisher gelungen, den Teufelskreis arterielle Stenose, Intervention und Restenose zu durchbrechen.

**Methoden:** 23 Schweinen (Deutsche Landrasse Hybrid) werden für den Versuchszeitraum von 28 Tagen jeweils in die LAD und LCX Stents des „Starflex“-Designs der Fa. Inflow Dynamics implantiert. Am porzinen „over-sized coronary stent“-Modell werden randomisiert in drei Gruppen unbeschichtete Niobzirkonium-Stents oder mit Iridiumoxid beschichtete Niobzirkon-Stents oder Stahl-Stents (Kontrolle) verglichen. Zur Beurteilung der In-Stent-Restenose werden der Implantationsverlauf und die Angiographie dokumentiert sowie histologische und histomorphometrische Untersuchungen durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgt mit dem One Way ANOVA-Test und wird mit dem Post Hoc Test spezifiziert.

**Ergebnisse:** Drei Tiere versterben post OP. 38 Stents werden ausgewertet. Die Implantationen der Stents aus Niobzirkonium können nur unter Komplikationen durchgeführt werden, da die elastische und plastische Verformbarkeit während der Dilatation nicht optimal sind. Für den Verletzungsindex (IS) und die ausgemessene neointimale Fläche (NF) ergeben sich in der Gruppe der mit Iridiumoxid beschichteten Niobzirkonium-Stents signifikant erhöhte Werte. Die histomorphometrisch und angiographisch ermittelten Restenoseparameter zeigen keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den drei Gruppen. Die histologische Reaktion der Gefäßwand auf die Stentimplantation liefert ein einheitliches Gewebebild, das geprägt ist vom Grad der Gefäßwandirritation.

**Schlussfolgerung:** Ein direkter Vergleich der Stents aus Niobzirkonium, mit Iridiumoxid beschichtetem Niobzirkonium und aus medizinischem Edelstahl ist nicht möglich. Die Ergebnisse zur In-Stent-Restenoserate der Kontrollstents ergeben keine neuen Erkenntnisse. Die Prototypen der Stents aus unbeschichtetem und mit Iridiumoxid beschichtetem Niobzirkonium müssen in ihren mechanischen Eigenschaften optimiert werden, um eine sichere Implantation zu gewährleisten. Die Legierung Niobzirkonium und die Iridiumoxid-Beschichtung sind sehr gut

gewebeverträglich. Auch nach starker Gefäßwandverletzung wachsen sie in eine Neointima ein, die nur eine geringgradige zelluläre Entzündungsreaktion zeigt.

## 6 SUMMARY

### **Experimental investigations at the porcine over-sized coronary stent-model for in-stent-restenosis rate after implantation of uncoated niob-zirkonium stents and niob-zirkonium stents coated with iridiumoxide.**

**Background:** The treatment of atherosclerotic stenosis in coronary artery disease with balloon expandable coronary stents has been successfully practised in minimal invasive cardiology in the last two decades. Today almost all commercially coronary stents are made of stainless steel (316L) and there is a great variety in design and coatings available. Until now no interventional procedure has been successful to stop the vicious circle of arterial stenosis, intervention and restenosis.

**Methods:** In 23 pigs (German land breed) Inflow Dynamics Starflex Design Stents were implanted into the LAD and LCX by random for 28 days. In the porcine over-sized coronary stent model three groups were compared: uncoated niob-zirkonium stents, niob-zirkonium stents coated with iridiumoxide and stainless steel stents (control group). The implantation procedure and angiography were documented and histological and histomorphometric studies were performed to interpret the in-stent-restenosis rate. The statistical evaluation of the differences between the test groups was done by the analysis of variance (One Way ANOVA-Test) and specified (Post Hoc-Test).

**Results:** Three animals died postoperatively. 38 stents were evaluated. The implantation procedure in the experimental groups was complicated due to the elastic and plastic properties of the niob-zirkonium stents. The injury score (IS) and the measured neointimal area (NF) were significantly higher in the group of niob-zirkonium stents coated with iridiumoxide. The histomorphometric and angiographic parameters of restenosis did not point out any significant difference between the test groups. The histological response of the arterial wall after stent implantation provided a homogenous appearance of tissue shaped by the score of vascular irritation.

**Conclusion:** A direct comparison in the stents of uncoated niob-zirkonium and niob-zirkonium stents coated with iridiumoxide with stainless steel stents was not possible. No new findings for the in-stent-restenosis rate were provided by the results of the control stents. The prototypes of the uncoated niob-zirkonium stents and the niob-zirkonium stents coated with iridiumoxide have to be optimized in their metallurgical characteristics to guarantee an implantation procedure without complications. The alloy niob-zirkonium and the iridiumoxide-coating are excellently biocompatible. Even

---

after a high vascular irritation the stents are embeded into a neointima with only a minimum of cellular response.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

ALBIERO R., ADAMIAN M., KOBAYASHI N., AMATO A., VAGHETTI M., DI MARIO C., COLOMBO A.

Short- and intermediate-term results of  $^{32}\text{P}$  radioactive  $\beta$ -emitting stent implantation in patients with coronary artery disease.

Circulation, 2000; 101: 18-26

ALLWORK S.P.

The applied anatomy of the arterial blood supply to the heart in man.

J Anat, 1987; 153: 1-16

ALT E., HAEHNEL I., BEILHARZ C., PRIETZEL K., PRETER D., STEMBERGER A., FLIEDNER T., ERHARDT W., SCHÖMIG A.

Inhibition of neointima formation after experimental coronary artery stenting. A new biodegradable stent coating releasing hirudin and the prostacyclin analogue iloprost.

Circulation, 2000; 28: 1453-1458

ALT E., SELIGER C.

Antithrombotic stent coatings: hirudin/iloprost combination.

Semin Intervent Cardiol, 1998; 3: 177-183

ANDERSON P.G.

Restenosis: animal models and morphometric techniques in studies of the vascular response to injury.

Cardiovasc Pathol, 1992; 1: 263-278

AXEL D., KUNERT W., GÖGGELMANN C., OBERHOFF M., HERDEG C., KÜTTNER A., WILD D., BREHM B., RIESSEN R., KÖVEKER G., KARSCH K.

Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery.

Circulation, 1997; 96: 636-645

BANNING A.P., GROVES P.H., BUTTERY L.D., WHARTON J., RUTHERFORD R.A., BLACK P., WINKLER F., POLAK J.M., LEWIS M.J., DREXLER H.

Reciprocal changes in endothelial and inducible nitric oxide synthase expression following carotid angioplasty in the pig.

Atherosclerosis, 1999; 145: 17-32

BAYES-GENIS A., CAMPBELL J.H., CARLSON P.J., HOLMES D.R.Jr., SCHWARTZ R.S.

Macrophages, myofibroblasts and neointimal hyperplasia after coronary artery injury and repair.

Atherosclerosis, 2002; 163: 89-98

BAYKAL D., SCHMEDTJE J.F., RUNGE M.S.

Role of the thrombin receptor in restenosis and atherosclerosis.

Am J Cardiol, 1995; 75: 82B-87B

BECKER B.F., HEINDL B., KUPATT C., ZAHLER S.  
Endothelial function and hemostasis.  
Z Kardiol, 2000; 89: 160-167

BERGER P.B., BELL M.R., RIHAL C.S., TING H., BARSNESS G., GARRATT K., BELLOT V., MATHEW V., MELBY S., HAMMES L., GRILL D., HOLMES D.R.Jr.  
Clopidogrel versus ticlopidine after intracoronary stent placement.  
J Am Coll Cardiol, 1999; 34: 1891-1894

BERTHO E.  
Anatomie comparée normale des artères et des veines coronaires du coeur de différentes espèces animales.  
Arch Anat Hist Embryol, 1964; 47: 283-309

BIRCKHARDT K.  
Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems.  
In: Waldmann K.-H., Wendt M. (Hrsg.), Lehrbuch der Schweinekrankheiten, 3. Auflage, Paul Parey, Berlin, Hamburg, 2001; 160-163

BONAN R., PAIEMENT P., SCORTICHINI D., CLOUTIER M.-J., LEUNG T.  
Coronary restenosis: evaluation of a restenosis injury index in a swine model.  
Am Heart J, 1993; 126: 1334-1340

BÖSING N., HORT W., LOSCH-COCHE U.  
Lokalisation und Ausdehnung der Arteriosklerose.  
Z Kardiol, 2001; 90: 327-338

BUCHWALD A.B.  
Gentherapie.  
Z Kardiol, 2001; 90: 202, Abstract

BUCHWALD A.B., UNTERBERG C., NEBENDAHL K., GRÖNE H.J., WIEGAND V.  
Low-molecular-weight heparin reduces neointimal proliferation after coronary stent implantation in hypercholesterolemic minipigs.  
Circulation, 1992; 86: 531-537

CALIFF R.M., FORTIN D.F., FRID D.J., HARLAN W.R., OHMAN E.M., BENGTONSON J.R., NELSON C.L., TCHENG J.E., MARK D.B., STACK R.S.  
Restenosis after coronary angioplasty: an overview.  
J Am Coll Cardiol, 1991; 17: 2B-13B

CARREL A.  
Results of the permanent intubation of the thoracic aorta.  
Surg Gyn Obst, 1912; 15: 245-248

CARTER A.J., LAIRD J.R., FARB A., KUFS W., WORTHAM D.C., VIRMANI R.  
Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model.  
J Am Coll Cardiol, 1994; 24: 1398-1405

CHESEBRO J.H., LAM J.Y.T., BADIMON L., FUSTER V.  
Restenosis after arterial angioplasty: a hemorrhagic response to injury.  
Am J Cardiol, 1987; 60: 10B-16B

CHOUSSAT R., KLERSY C., BLACK A., BOSSI I., LAURENT J.-P., JORDAN C., GUAGLIUMI G., FAJADET J., MARCO J.  
Long-term ( $\geq 8$  years) outcome after Palmaz-Schatz stent implantation.  
Am J Cardiol, 2001; 88: 10-16

CHRISTEN T., VERIN V., BOCHATON-PIALLAT M.-L., POPOWSKI Y., RAMAEKERS F., DEBRUYNE P., CAMENZIND E., VAN EYS G., GABBIANI G.  
Mechanisms of neointima formation and remodeling in the porcine coronary artery.  
Circulation, 2001; 103: 882-888

CLOWES A.W., REIDY M.A., CLOWES M.M.  
Mechanisms of stenosis after arterial injury.  
Lab Invest, 1983; 49: 208-215

COHEN M.V.  
Coronary collaterals. Clinical and experimental observations.  
Futura New York, 1985; 251-258

CRAGG A., LUND G., RYSAVY J., CASTENEDA F., CASTENEDA-ZUNIGA W., AMPLATZ K.  
Nonsurgical placement of arterial endoprotheses: a new technique using nitinol wire.  
Radiology, 1983; 147: 261-263

CURFMAN G.D.  
Sirolimus-eluting coronary stents.  
N Engl J Med, 2002; 346: 1770-1771

DAHME E.  
Blutgefäße.  
In: Dahme E., Weiss E. (Hrsg.), Grundriß der speziellen pathologischen Anatomie der Haustiere, 5. Auflage, Enke Verlag, Stuttgart, 1999; 5-35

DAHME E., SCHRÖDER B.  
Allgemeine Stoffwechselstörungen: Atherosklerose - Arteriosklerose.  
In: Kitt H. (Hrsg.), Lehrbuch der Allgemeinen Pathologie, 10. Auflage, Enke, Stuttgart, 1990; 191-193

DALHOFF K.

Infektiöse Agentien.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 11-14

DIRSCHINGER J., KASTRATI A., NEUMANN F.J., BOEKSTEGERS P., ELEZI S., MEHILLI J., SCHÜHLEN H., PACHE J., ALT E., BLASINI R., STEINBECK G., SCHÖMIG A.

Influence of balloon pressure during stent placement in native coronary arteries on early and late angiographic and clinical outcome.

Circulation, 1999; 100: 918-923

DOTTER C.T., BUSCHMANN R.W., MC KINNEY M.K., RÖSCH J.

Transluminal expandable nitinol coil stent grafting: preliminary report.

Radiology, 1983; 147: 259-260

DOTTER C.T., JUDKINS M.P.

Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: description of a new technique and a preliminary report transluminal angioplasty.

Circulation, 1964; 30: 654-670

DYCE K.M., SACK W.O., WENSING C.J.G.

Das Herz-Kreislaufsystem.

In: Budras K.-D., Goller H., Hofmann R.R., Hummel G., Weyrauch K.D. (Hrsg.), Anatomie der Haustiere, Enke Verlag, Stuttgart, 1991; 238-251

EDELMANN E.R., ROGERS C.

Hoop dreams – stents without restenosis.

Circulation, 1996; 94: 1199-1202

ERBEL R., GE J., HAUDE M., GÖRGE G.

Alternative Methoden in der interventionellen Therapie der koronaren Herzerkrankung.

Z Kardiol, 1995; 84: II/53-II/64

ERBEL R., O'NEILL W., AUTH D., HAUDE M., NIXDORFF U., DIETZ U., RUPPRECHT H.J., TSCHOLLAR W., MEYER J.

Hochfrequenz-Rotationsatherektomie bei koronarer Herzkrankheit.

Dtsch med Wschr, 1989; 114: 487-495

FARB A., HELLER P., SHROFF S., CHENG L., KOLODZIE F., CARTER A., SCOTT D., FROEHLICH J., VIRMANI R.

Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent.

Circulation, 2001; 104: 473-479

FARB A., SANGIORGI G., CARTER A.J., WALLEY V.M., EDWARDS W.D., SCHWARTZ R.S., VIRMANI R.

Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans.

Circulation, 1999; 99: 44-52

FAXON D.P., COATS W., CURRIER J.  
Remodeling of the coronary artery after vascular injury.  
Progr Cardiovasc Dis, 1997; 40: 129-140

FELETOU M., TEISSEIRE B.  
Vascular pharmacology of the micropig: importance of the endothelium.  
In: Swindle M.M., Moody D.C., Phillips L.D. (Hrsg.), Swine as models in biomedical research, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1992; 74-89

FICHTLSCHERER S., MÜGGE A., HANEFELD C., RUPPRECHT H.J., HORSTICK G., HAMM C., RAU M., VON DER LEYEN H.E., ZEIHNER A.  
REGENT1 (Restenosis Gene Therapy Trial-Pphase I Study): Erste klinische Ergebnisse über die intrakoronare Gabe von CAR-MP583 (iNOS-Lipoplex-Genprodukt) zur Reduktion der Restenose.  
Z Kardiol, 2002; 91: 195, Abstract

FIRSOV, D.  
Immunhistochemische Untersuchungen zu porzinen Koronarstents aus unbeschichtetem und mit Tacrolimus beschichtetem medizinischem Edelstahl, sowie zu Koronarstents aus unbeschichtetem und mit Iridiumoxid beschichtetem Niobzirkonium (Originaltitel noch nicht vorliegend).  
Med Diss, München, in Vorbereitung

FISCHER A., WIENEKE H., BRAUER H., ERBEL R.  
Metallische Biowerkstoffe für koronare Stents.  
Z Kardiol, 2001; 90: 251-262

FISCHMAN D., LEON M., BAIM D., SCHATZ R., SAVAGE M., PENN I., DETRE K., VELTRI L., RICCI D., NOBUYOSHI M., CLEMAN M., HEUSER R., ALMOND D., TEIRSTEIN P., FISH R., COLOMBO A., BRINKER J., MOSES J., SHAKNOVICH A., HIRSHFELD J., BAILEY J., ELLIS S., RAKE R., GOLDBERG S.  
A randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease.  
N Engl J Med, 1994; 331: 496-501

FORRESTER J.S., FISHBEIN M., HELFANT R., FAGIN J.  
A paradigm for restenosis based on cell biology: clues for the development of new preventive therapies.  
J Am Coll Cardiol, 1991; 17: 758-769

FÖRSTERMANN U.  
Pharmakologie des kardiovaskulären Systems: die Blutgefäße.  
In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Starke K. (Hrsg.), Allgemeine und spezielle Pharmakologie, 7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 1996; 407-425

FUSTER V., FALK E., FALLON J., BADIMON L., CHESEBRO J., BADIMON J.J.  
The three processes leading to post PTCA restenosis: dependance on the lesion substrate.

Thromb Haemost, 1995; 74: 552-559

GALLO R., PADUREAN A., TOSCHI V., BICHLER J., FALLON J., CHESEBRO J., FUSTER V., BADIMON J.

Prolonged thrombin inhibition reduces restenosis after balloon angioplasty in porcine coronary arteries.

Circulation, 1998; 97: 581-588

GARASIC J.M., EDELMANN J.R., SQIRE J.C., SEIFERT P., WILLIAMS M.S., ROGERS C.

Stent and artery geometry determine intimal thickening independent of arterial injury.

Circulation, 2000; 101: 812-818

GAWAZ M.

Aktivierung der Thrombozyten.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 32-35

GLAGOV S., WEISENBERG E., ZARINS Z.K., STANKUNAVICIUS R., KOLETTIS G.J.

Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries.

N Engl J Med, 1987; 316: 1371-1375

GLARUM S.H., MARSHALL J.H.

The A-C response of iridium oxide films.

Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 1992; 166-173

GLUSA E., WENZEL E., FORTH W., RUMMEL W.

Antikoagulantien, Aggregationshemmer, Fibrinolytika, Hemmstoffe der Fibrinolyse und Hämostyptika.

In: Forth W., Henschler D., Rummel W., Starke K. (Hrsg.), Allgemeine und spezielle Pharmakologie, 7. Auflage, Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg, Berlin, 1996; 473-501

GOGOLEWSKI S., JOVANOVIC M., PERREN S.M., DILLON J.G., HUGHES M.K.

Tissue response and in vivo degradation of selected polyhydroxyacids: polylactides (PLA), poly(3-hydroxybutyrate)(PHB), and poly(3-hydroxybutyrate-co-hydroxyvalerate)(PHB/VA).

J Biomed Mat Res, 1993; 27: 1135-1148

GOLINO P., AMBROSIO G., RAGNI M., CIRILLO P., ESPOSITO N., WILLERSON J.T., ROTHLEIN R., PETRUCCI L., CONDORELLI M., CHIARIELLO M., BUJA L.M.

Inhibition of leucocyte and platelet adhesion reduces neointimal hyperplasia after arterial injury.

Thromb Haemost, 1997; 77: 783-788

GREWE P.H., DENEKE T., HOLT S.K., MACHRAOUI A., BARMAYER J., MÜLLER K.-M.

Rasterelektronenmikroskopische Analyse der reaktiven und reparativen Veränderungen humaner Koronararterien nach Stentimplantation. Z Kardiol, 2000; 89: 21-27

GREWE P.H., DENEKE T., MÜLLER K.-M.

Stent bedingte Veränderungen der Koronarmorphologie – Pathologisch-anatomische und experimentelle Befunde nach Ballonexpansion. Z Kardiol, 2001, 90: 630-636

GROVES P.H., BANNING A.P., PENNY W.J., NEWBY A.C., CHEADLE H.A., LEWIS M.J.

The effects of exogenous nitric oxide on smooth muscle cell proliferation following porcine carotid angioplasty.

Cardiovasc Res, 1995; 30: 87-96

GRÜNTZIG A., KUMPE D.A.

Technique of percutaneous transluminal angioplasty with the Grüntzig balloon catheter.

Am J Roentgenology, 1979; 132: 547-552

GRÜNTZIG A., SENNING A., SIEGENTHALER W.

Nonproliferative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty.

N Engl J Med, 1979; 301: 61-68

HAMM C.

Neue Thrombozytenaggregationshemmer in der Therapie der instabilen Angina.

Z Kardiol, 2000; 89: 1053-1056

HARDHAMMAR P., VAN BEUSEKOM H., EMANUELLSON H., HOFMA S., ALBERTSSON P., VERDOUW P., BOERSMA E., SERRUYS P., VAN DER GIESSEN W.

Reduction in thrombotic events with heparin-coated palmaz-schatz stents in normal porcine coronary arteries.

Circulation, 1996; 93: 423-430

HARKER L.A., HANSON S.R., KELLY A.B.

Antithrombotic benefits and hemorrhagic risks of direct thrombin antagonists.

Thromb Haemost, 1995; 74: 464-472

HEBERLEIN C., BODE C.

Neue Stents überraschen.

Z Herz Heute, 2002; 2:14-17

HEES H.

Kreislaufsystem.

In: Hees H., Sinowatz F., Allgemeine und spezielle Pathologie, 3. Auflage, Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 1996; 141-164

HEHRLEIN C., STINTZ M., KINSCHER R., SCHLÖSSER K., HUTTEL E.,  
FRIEDRICH L., FEHSENFELD P., KÜBLER W.

Pure  $\beta$ -particle emitting stents inhibit neointima formation in rabbits.  
Circulation, 1996; 93: 641-645

HENNING, S.

Inflow Dynamics starts "LUSTY" Study. First clinical trial with Niobium stents.  
Press Release der Firma Inflow Dynamics AG, München, Juni 2002; 1-2

HERDEG C., OBERHOFF M., SIEGEL-AXEL D.I., BAUMBACH A., BLATTNER A.,  
KÜTTNER A., SCHRÖDER S., KARSCH K.R.

Paclitaxel: Ein Chemotherapeutikum zur Restenoseprophylaxe? Experimentelle  
Untersuchungen in vitro und in vivo.  
Z Kardiol, 2000; 89: 390-397

HERRMANN R., SCHMIDMAIER G., MÄRKL B., RESCH A., HÄHNEL I.,  
STEMBERGER A., ALT E.

Antithrombogenic coating of stents using a biodegradable drug delivery technology.  
Thromb Haemos, 1999; 82: 51-57

HOFFMANN R., MINTZ G.S., DUSSAILLANT R.G., POMPA J.J., PICHARD A.D.,  
SATLER L.F., KENT K.M., GRIFFIN J., LEON M.B.

Patterns and mechanisms of in-stent restenosis. A serial intravascular ultrasound  
study.  
Circulation, 1996; 94: 1247-1254

HOLLEMANN A.F., WIBERG N.

Elementares Niobium und Tantal, Elementares Zirkonium und Hafnium  
In: Hollemann A.F. (Hrsg.), Lehrbuch der Anorganischen Chemie, 101. Auflage, de  
Gruyter, Berlin, New York, 1995; 1411-1413, 1429-1431.

HOMBACH V., WALTENBERGER J., VOISARD J., HÖHER M.

Rezidivstenose nach Koronarangioplastie - klinische, zellbiologische und molekulare  
Aspekte.  
Z Kardiol, 1995; 84: 5-21

IKARI Y., HARA K., TAMURA T., SAEKI F., YAMAGUCHI T.

Luminal loss and site of restenosis after Palmaz-Schatz coronary stent implantation.  
Am J Cardiol, 1995; 76: 117-120

IP J., FUSTER V., BADIMON L., BADIMON J., TAUBMAN M., CHESEBRO J.

Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle  
cell proliferation.

J Am Coll Cardiol, 1990; 15: 1667-1687

JAX T.W., EICHSTAEDT H.C., SHELAT H.S., BARNHART M.K., LICHTENBERG M.W.K., WILLERSON J.T., ZOLDHELYI P.

Neue antithrombotische Therapieansätze bei koronarer Herzerkrankung – Perspektiven einer Gentherapie.

Z Kardiol, 2000; 89: 1072-1083

KAMENZ J., PLOETZ N., WOHLFROM M., LENZ C., KOTZERKE J., HÖHER M., HANKE H.

Apoptose und Zellproliferation in Media und Adventitia in der Frühphase nach Brachytherapie mit dem flüssigen  $\beta$ -Strahler Rhenium-188.

Z Kardiol, 2002; 91: 272, Abstract

KARAS S., GRAVANIS M., SANTOIAN E., ROBINSON K., ANDERBERG K., KING S.

Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine.

J Am Coll Cardiol, 1992; 20: 467-474

KARGES H.E., FUNK K.A., ROSENBERGER H.

Activity of coagulation and fibrinolysis parameters in animals.

Drug Res, 1994; 44: 793-797

KASTRATI A., MEHILLI J., DIRSCHINGER J., DOTZER F., SCHÜHLEN H., NEUMANN F.-J., FLECKENSTEIN M., PFAFFEROTT C., SEYFARTH M., SCHÖMIG A.

Intracoronary stenting and angiographic results – strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO) trial.

Circulation, 2001; 103: 2816-2821

KASTRATI A., SCHÖMIG A., DIRSCHINGER J., MEHILLI J., VON WELSER N., PACHE J., SCHÜHLEN H., SCHILLING T., SCHMITT C., NEUMANN F.-J.

Increased risk of restenosis after placement of gold-coated stents.

Circulation, 2000; 101: 2478-2483

KATUS H.A., KRONE W.

KHK - Entzündung und Plaquestabilität.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 6-7

KLUGHERZ B.D., SONG C., DE FELICE S., CUI X., LU Z., CONNOLLY J., HINSON J.T., WILENSKY R.L., LEVY R.J.

Gene delivery to pig coronary arteries from stents carrying antibody-tethered adenovirus.

Hum Gene Ther, 2002 13: 443-454, Abstract

KOMATSU R., UEDA M., NARUKO T., KOJIMA A., BECKER A.E.

Neointimal tissue response at sites of coronary stenting in humans.

Circulation, 1998; 98: 224-233

KÖSTER R., VIELUF D., KIEHN M., SOMMERAUER M., KÄHLER J., BALDUS S., MEINERTZ T., HAMM C.

Nickel and molybdenum contact allergies in patients with coronary in-stent restenosis.

The Lancet, 2000; 356: 1895-1897

KROLL J., WALTENBERGER J.

Regulation der Endothelfunktion und der Angiogenese durch den Vaskulären Endothelialen Wachstumsfaktor-A (VEGF-A).

Z Kardiol, 2000; 89: 206-218

KÜHLING M.C.

Lunar Coronary Stent SDS.

Produktinformation der Firma Inflow Dynamics AG, August 2000; 1-6

KUNTZ R.E., GIBSON C.M., NOBUYOSHI M., BAIM D.S.

Generalized model of restenosis after conventional balloon angioplasty, stenting and directional atherectomy.

J Am Coll Cardiol, 1993; 21: 15-25

KUNTZE A.

Schweine – Herz, Kreislaufsystem.

In: Göldenboth R., Klös H.-G., Krankheiten der Zoo- und Wildtiere, Blackwell Wissenschaftsverlag, Berlin, 1995; 240

KUTRYK M.J.B., SERRUYS P.W.

Stents: The Menue.

In: Topol E. (Hrsg.), Textbook of Interventional Cardiology, 3. Auflage, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999; 533-580

LEBEAU A., MUTHMANN H., SENDELHOFERT A., DIEBOLD J., LOHRS U.

Histochemistry and immunohistochemistry on bone marrow biopsies. A rapid procedure for methyl metacrylate embedding.

Pathol Res Pract, 1995; 191: 121-129

LEFKOVITS J., PLOW E.F., TOPOL E.J.

Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors in cardiovascular medicine.

N Engl J Med, 1995; 332: 1553-1559

LIBBY P., RIDKER P.M., MASERI A.

Inflammation and atherosclerosis.

Circulation, 2002; 105: 1135-1153

LIBBY P., SIMON D.I.

Inflammation and thrombosis – the clot thickens.  
Circulation, 2001; 103: 1718-1723

LIN X., PORTENLAENGER G., HENKELMANN R., SCHULZ C., ALT E.  
Nickel and chromium release from stents into isotonic NaCl solution investigated with the aid of neutron activation analysis.  
J Radioanalyt Nucl Chem, 1999; 242: 565-568

LINS M., FU G.S., EL-MOKHTARI N., KRÜGER D., TIROKE A., HERRMANN G., SIMON R.  
Pullback-Atherektomie: Ein alternatives Verfahren zur Behandlung von Koronarstenosen und in-Stent-Restenosen.  
Z Kardiol, 2002; 91: 40-48

LIU M.W., ROUBIN G.S., KING S.B.  
Restenosis after coronary angioplasty. Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia.  
Circulation, 1989; 79: 1374-1387

MAASS D., ZOLLIKOFER C.L., LARGIADER F., SENNING A.  
Radiological follow-up of transluminal inserted vascular endoprotheses: an experimental study using expanding spirals.  
Radiology, 1984; 152: 659-663

MAASS M., BARTELS C., ENGEL P., MAMAT U., SIEVERT H.-H.  
Endovascular presence of viable chlamydia pneumoniae is a common phenomenon in coronary artery disease.  
J Am Coll Cardiol, 1998; 31: 827-832

MAHR P., FISCHER A., BRAUER H., DENK A., HAUDE M., ERBEL R.  
Biophysikalische Prüfung koronarer Stents: Welche Faktoren beeinflussen das Dilatations- und Recoilverhalten?  
Z Kardiol, 2000; 89: 513-521

MATHES P.  
Hyperlipidämie: Lipidsenkung und Effekte der Statine  
Z Kardiol, 2002; 91: II/25-II/29

MEYER J., BOCKISCH A., DARIUS H., HEUSCH G., HORT W., MOHR-KAHALY S., RUPPRECHT H.J., VOIGTLÄNDER T.  
Anatomie und Pathologie des Koronargefäßsystems, Physiologie und Pathophysiologie der Koronardurchblutung, Pathogenese der Atherosklerose – Therapie der stabilen und instabilen Angina pectoris.  
In: Erdmann E. (Hrsg.), Klinische Kardiologie, 5. Auflage, Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 2000; 295-325, 355-386

MORICE M., SERRUYS P., SOUSA J., FAJADET J., BAN HAYASHI E., PERI M., COLOMBO A., SCHULER G., BARRAGAN P., GUAGLIUMI G., MOLNAR F., FALOTICO R.

A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularisation.

N Engl J Med, 2002; 346: 1773-1780, Abstract

MULLER D., ELLIS S., TOPOL E.

Experimental models of coronary artery restenosis.

J Am Coll Cardiol, 1992; 19: 418-432

NAKAMURA S., COLOMBO A., GAGLIONE A., ALMAGOR Y., GOLDBERG S.L., MAIELLO L., FINCI L., TOBIS J.M.

Intracoronary ultrasound observations during stent implantation.

Circulation, 1994; 89: 2026-2034

NEUMANN F.-J., BLASINI R., SCHMITT C., ALT E., DIRSCHINGER J., GAWAZ M., KASTRATI A., SCHÖMIG A.

Effect of glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade on recovery of coronary flow and left ventricular function after the placement of coronary-artery stents in acute myocardial infarction.

Circulation, 1998; 98: 2695-2701

NEUMANN F.-J., KASTRATI A., MIETHKE T., OTT I., POGATSA-MURRAY G., VALINA C., JOGETHAEI N., BRAUN S., SCHÖMIG A.

Unspezifische Entzündungsmarker und Risiko der Restenose nach koronarer Stent-Implantation: Beziehung zu vorausgegangener Infektion mit Chlamydia pneumoniae und Behandlungseffekt von Roxithromycin.

Z Kardiologie, 2002; 91: 195, Abstract

NEUMANN F.-J., SCHÖMIG A.

Stent anticoagulation and technique.

In: Topol E. (Hrsg.), Textbook of Interventional Cardiology, 3. Auflage, W.B. Saunders Company, Philadelphia, 1999; 587-597

NORDT T.K., BODE C.

Endothel und endogene Fibrinolyse.

Z Kardiologie, 2000; 89: 219-226

PALMAZ J.C., SIBBITT R.R., REUTER S.R., TIO F.O., RICE W.J.

Expandable intraluminal graft: a preliminary study.

Radiology, 1985; 156: 73-77

PEPINE C.J., DREXLER H., DZAU V.J.

Endothelial function in cardiovascular health and disease.

University of Florida Press, Office of Continuing Medical Education, College of Medicine, 1996; 1-33

PLENK H.

Binde- und Stützgewebe - Knochengewebe und Zähne.

In: Böck (Hrsg.), Romeis-Mikroskopische Technik, 17. Auflage, Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, 1989; 518-519, 540-542, 558

POMPA J.J., KUNTZ R.E.

Percutaneous coronary and valvular intervention.

In: Braunwald E., Zipes D.P., Libby P. (Hrsg.), Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine, W.B. Saunders Company, 6. Auflage, Philadelphia, 2001; 1364-1405

POST M.J., BORST C., KUNTZ R.E.

The relative importance of arterial remodeling compared with intimal hyperplasia in lumen renarrowing after balloon angioplasty.

Circulation, 1994; 89: 2816-2821

PUEL J., JOFFRE F., ROUSSEAU H., GUERMONPREZ G., LANCELIN B., MORICE M.C.

Endoprothèses coronariennes auto-expansives dans le prévention des restenoses après angioplastie transluminale.

Arch Mal Coer, 1987, 8: 1311-1312

RABENSEIFNER L.

Tantal und Niob als Implantatwerkstoff.

Habilitationsschrift, Julius-Maximilians-Universität, Würzburg, 1984

RADKE P.W., HANRATH P., VOM DAHL J.

Behandlung der Stent-Restenose durch Rotations-Atherektomie: Mechanismen und Ergebnisse.

Z Kardiologie, 2001; 90: 161-169

RECKER K.

Abciximab bei Katheterinterventionen und instabiler Angina pectoris - Mortalitätsrate auch langfristig gesenkt.

Beilage in Z Kardiologie, 2001; 90; Springer, Heidelberg

RIBEIRO P.A., GALLO R., ANTONIUS J., MIMISH L., SRIRAM R., BIANCHI S., DURAN C.

A new expandable intracoronary tantalum (Strecker) stent: early experimental results and follow-up to twelve month.

Am Heart J, 1993; 125: 501-510

ROGERS C., EDELMANN E.R.

Endovascular stent design dictates experimental restenosis and thrombosis.

Circulation, 1995; 91: 2995-3001

ROGERS C., PARIKH S., SEIFERT P., EDELMANN E.R.

Endogenous cell seeding. Remnant endothelium after stenting enhances vascular repair.

Circulation, 1996; 94: 2909-2914

ROSS R.

The pathogenesis of atherosclerosis – an update.

N Engl J Med, 1986; 314: 488-500

SCHAEFER H.E.

Faktoren der Plaque-Instabilität.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 9-11

SCHATZ R.A.

A view of vascular stents.

Circulation, 1989; 79: 445-457

SCHATZ R.A., PALMAZ J.C., TIO F.O., GARCIA F., GARCIA O., REUTER S.R.

Balloon-expandable intracoronary stents in the adult dog.

Circulation, 1987; 76: 450-457

SCHEUERMANN T.

Lunar Starflex Stent und SDS.

Produktinformation der Firma Inflow Dynamics AG, März 2002; 1-7

SCHMITZ G.

Evidenz systemischer inflammatorischer Reaktivität.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 14-22

SCHNEIDER J.E., BERK B.C., SANTOIAN E.C., GRAVANIS M.B., CIPOLLA G.D., TARAZONA N., KING III. S.B.

Oxidative stress in restenosis: reduction of neointimal formation by the antioxidant probucol in a swine model of restenosis.

Circulation, 1992; 86: 186, Abstract

SCHÖMIG A., NEUMANN F.J., KASTRATI A., SCHÜHLEN H., BLASINI R., HADAMITZKY M., WALTER H., ZITZMANN-ROTH E.-M., RICHART G., ALT E., SCHMITT C., ULM K.

A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulation therapy after the placement of coronary-artery stents.

N Engl J Med, 1996; 334: 1084-1089

SCHÜHLEN H., KASTRATI A., PACHE J., DIRSCHINGER J., SCHÖMIG A.

Sustained benefit over four years from an initial combined antiplatelet regimen after coronary stent placement in the ISAR trial.

Am J Cardiol, 2001; 87: 397-400

SCHULZ C., HERRMANN R.A., BEILHARZ C., PASQUANTINO J., ALT E.

Coronary stent symmetry and vascular injury determine experimental restenosis.  
Heart, 2000; 83: 462-467

SCHWARTZ R. S., HUBER K.C., MURPHY J.G., ESWARDS W.D., CAMRUD A.R.,  
VLIETSTRA R.E., HOLMES D.R.

Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results  
in a porcine model.

J Am Coll Cardiol, 1992; 19: 267-274

SCHWARTZ R.S.

Innovationen bei bildgebender Diagnostik.

Fibrinolyse 3/4, Kongressbericht vom Restenosis Summit VII, Cleveland, USA, 1995;  
18

SCHWARTZ R.S., EDWARDS W.D., BAILEY K.R., CAMRUD A.R., JORGENSON  
M.A., HOLMES D.R.

Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs.  
Implications for restenosis models.

Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1994; 14: 395-400

SCHWENNICKE K.

Experimentelle histomorphometrische, histomorphologische und  
immunhistochemische Untersuchungen von iridiumoxidbeschichteten InFlow-Flex-  
Stents beim Schwein.

Vet. Med. Diss. München, 2000

SCOTT N.A., ROBINSON K.A., NUNES G.L., THOMAS C.N., VIEL K., KING III S.B.,  
HARKER L.A., ROWLAND S.M., JUMAN I., CIPOLLA G.D., HANSON S.R.

Comparison of the thrombogenicity of stainless steel and tantalum coronary stents.

Am Heart J, 1995; 129: 866-872

SELIGER C., SCHWENNICKE K., SCHAFFAR C., WOLF W.P., ALT E.

Influence of a rough, ceramic-like stent surface made of iridium oxide on neointimal  
structure and thickening.

European Heart J, 2000; 21: 286, Abstract

SERRUYS P., DE JAEGERE P., KIEMENEIJ F., MACAYA C., RUTSCH W.,  
HEYNDRIKX G., EMANUELLSON H., MARCO J., LEGRAND V., MATERNE P.,  
BELARDI J., SIGWART U., COLOMBO A., GOY J., VAN DEN HEUVEL P., DELCAN  
J., MOREL M.

A comparison of balloon expandable stent implantation with balloon angioplasty in  
patients with coronary artery disease.

N Engl J Med, 1994; 331: 489-495

SERRUYS P.W., EMANUELSSON H., VAN DER GIESSEN W., LUNN A.C.,  
KIEMENEY F., MACAYA C., RUTSCH W., HEYNDRIKX G., SURYPRANATA H.,  
LEGRAND V., GOY J., MATERNE P., BONNIER H., MORICE M.-C., FAJADET J.,

BELARDI J., COLOMBO A., GARCIA E., RUYGROK P., DE JAGAERE P., MOREL M.-A.

Heparin coated Palmaz-Schatz stents in human coronary arteries.

Circulation, 1996; 93: 412-422

SIGWART U.

Koronare Endoprothesen (Stents).

Herz, 1990; 15: 319-328

SIGWART U.

Coronary stents.

Z Kardiol, 1995; 84: 65-77

SIGWART U., PUEL J., MIRKOVITCH V., JOFFRE F., KAPPENBERGER L.

Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty.

N Engl J Med, 1987; 316: 701-706

SKOWASCH D., SCHREMPF S., LENTINI S., WELSCH U., LIKUNGU J.A., PREUSSE C.J., WELZ A., LÜDERITZ B., BAURIEDEL G.

Chlamydia pneumoniae und Zytomegalie-Virus in degenerativen Aortenklappenstenosen.

Z Kardiol, 2002; 91: 290-296

SUZUKI T., KOPIA G., HAYASHI S., BAILEY L.R., LLANOS G., WILENSKY R., KLUGHERZ B.D., PAPANDREOU G., NARAYAN P., LEON M.B., YEUNG A.C., TIO F., TSAO P.S., FALOTICO R., CARTER A.J.

Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model.

Circulation, 2001; 104: 1188-1193

TANGUAY J.F., ZIDAR J.P., PHILLIPS H.R., STACK R.S.

Current status of biodegradable stents.

Clin Cardiol, 1994; 12: 699-713

TEIRSTEIN P.S., MASSULLO V., SHIRISH J., POMPA J.J., MINTZ G.S., RUSSO R., SCHATZ R.A., GUARNERI E., LEON M., TRIPURANENI P.

Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting.

N Engl J Med, 1997; 336: 1697-1703

THIERY J.

Oxidiertes LDL.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 22-25

THOMAS C., GEBERT G., HOMBACH V.

Herz und Gefäße.

In: Thomas C. (Hrsg.), Grundlagen der klinischen Medizin , Schattauer Verlag, Stuttgart, 1990; 2-18, 59-74

TOPOL E.J., MOLITERNO D.J., HERRMANN H.C., POWERS E., GRINES C., COHEN D., COHEN E., BERTRAND M., NEUMANN F.-J., STONE G., DIBATTISTE P., DEMOPOULOS L.

Comparison of two platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors, tirofiban and abciximab, for the prevention of ischemic events with percutaneous coronary revascularization.

N Engl J Med, 2001; 344: 1888-1894

TOPOL E.J., SERRUYS P.W.

Frontiers in interventional cardiology.

Circulation, 1998; 98: 1802-1820

VAN DER GIESSEN W.J., SERRUYS P.W., VAN BEUSEKOM H., VAN WOERKENS L., VAN LOON H., SOEI L.K., STRAUSS B.H., BEATT K.J., VERDOUW P.D.

Coronary stenting with a new radiopaque, balloon-expandable endoprosthesis in pigs.

Circulation, 1991; 83: 1788-1798

VAN DER GIESSEN W., LINCOFF M., SCHWARTZ R., VAN BEUSEKOM H., SERRUYS P., HOLMES D., ELLIS S., TOPOL E.J.

Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries.

Circulation, 1996; 94: 1690-1697

VAN DER LOOP F., GABBIANI G., KOHNEN G., RAMAEKERS F., VAN EYS G.

Differentiation of smooth muscle cells in human blood vessels as defined by smoothelin, a novel marker for the contractile phenotype.

Arterioscler Thromb Vasc Biol, 1997; 17: 665-671

VAN VLEET J.F., FERRANS V.J.

Pathology of the cardiovascular system.

In: Carlton W.W., McGavin M.D. (Hrsg.), Thomson's Special Veterinary Pathology, 2. Auflage, Mosby, St.Louis, Baltimore, 1995; 175-180, 198-203

VERIN V., POPOWSKI Y., DE BRUYNE B., BAUMGART D., SAUERWEIN W., LINS M., KOVACS G., THOMAS M., CALMAN F., DISCO C., SERRUYS P.W., WIJNS W., PIESSENS M., KURTZ J., SIMON R., DELAFONTAINE P., ERBEL R.

Endoluminal beta-radiation therapy for the prevention of coronary restenosis after balloon angioplasty.

N Engl J Med, 2001; 344: 243-249

VESSELINOVITCH D.

Animal models and the study of atherosclerosis.

Arch Pathol Lab Med, 1988; 112: 1011-1017

VIRMANI R., BURKE A., FARB A., ATKINSON J.B.  
Coronary heart disease and its syndromes - The pathology of vascular interventions.  
In: Virmani R., Burke A., Farb A., Atkinson J.B. (Hrsg.), Cardiovascular Pathology, 2.  
Auflage, W.B. Saunders Company, Philadelphia, London, 2001; 26-91

VON HODENBERG E., TOST B., SCHEFFOLD T.  
Neue Strategien zur Behandlung der Restenose.  
Z Kardiol, 2000; 89: VII/19-VII/22

VON SANDERSLEBEN J.  
Kreislauforgane.  
In: Von Sandersleben J., Dämmrich K., Dahme E. (Hrsg.), Pathologische Histologie  
der Haustiere, 3. Auflage, Fischer Verlag, Stuttgart, New York, 1989; 79-105

WAIBL H., WILKENS H.  
Arterien, Arteriae.  
In: Habermehl K.-H., Vollmerhaus B., Wilkens H., Waibl H. (Hrsg.), R. Nickel / A.  
Schummer / E. Seifele Lehrbuch der Anatomie der Haustiere, Bd. III: Kreislaufsystem,  
Haut und Hautorgane, 3. Auflage, Parey Buchverlag im Blackwell  
Wissenschaftsverlag, Berlin, 1996; 53-58

WAKSMAN R., ROBINSON K.A., CROCKER I.R., GRAVANIS M.B., CIPOLLA G.D.,  
KING III S.B.  
Endovascular low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery  
balloon injury in swine.  
Circulation, 1995; 91: 1533-1539

WALTENBERGER J.  
Zytokine und Wachstumsfaktoren.  
Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 25-29

WARD M.R., AGROTIS A., KANELAKIS P., HALL J., JENNINGS G., BOBIK A.  
Tranilast prevents activation of transforming growth factor- $\beta$  system, leukocyte  
accumulation, and neointimal growth in porcine coronary arteries after coronary  
stenting.  
Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002; 22: 940-948, Abstract

WHEATER P.R., BURKITT H.G., STEVENS A., LOVE J.S.  
Der Infarkt.  
In: Wheeler P.R., Burkitt H.G., Stevens A., Love J.S. (Hrsg.), Grundlagen der  
Histopathologie, Enke Verlag Stuttgart, 1987; 70-75

WHITE C.J., RAMEE S.R., BANKS A.K., MESA J.E., CHOKSHI S., ISNER J.M.  
A new balloon-expandable tantalum coil stent: angiographic patency and histologic  
findings in an atherogenic swine model.  
J Am Coll Cardiol, 1992a; 19: 870-876

WHITE C.J., RAMEE S.R., BANKS A.K., WIKTOR D., PRICE H.L.

The Yukutan Miniature Swine: an atherogenic model to assess the early patency rates of an endovascular stent.

In: Swindle M., Moody D.C., Phillips L.D. (Hrsg.), Swine as models in biomedical research, Iowa State University Press, Ames, Iowa, 1992b; 156-161

WOLF T.

Experimentelle histomorphometrische, histomorphologische und angiographische Untersuchungen zum Einfluss einer immunsuppressiven Koronarstentbeschichtung mit Tacrolimus beim Schwein.

Vet. Med. Diss. München (in Vorbereitung)

WRIGHT K.C., WALLACE S., CHARNSANGAVEJ C., CARRASCO C.H., GIANTURCO C.

Percutaneous endovascular stents: an experimental evaluation.

Radiology, 1985; 156: 69-72

ZEIHER A.

Apoptose.

Klin Forsch, 1998; Supplement 8, 29-32

ZIDAR J.P., GAMMON R.S., CHAPMAN C.D., CULP S., BROTT B., CLARK H., BAUMANN R., WALTER B., PHILLIPS H., STACK R.

Short and long-term vascular tissue response in the Duke bioabsorbable stent.

J Am Coll Cardiol, 1993; 21: 439, Abstract

ZOHLNHÖFER D., KLEIN C.A., RICHTER T., BRANDL R., MURR A., NÜHRENBERG T., SCHÖMIG A., BAEUERLE P.A., NEUMANN F.-J.

Gene expression profiling of human stent-induced neointima by cDNA array analysis of microscopic specimens retrieved by helix cutter atherectomy.

Circulation, 2001; 103: 1396-1402

## 8 TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Versuchsplan (NbZr=Niobium-1%Zirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung, Stahl=medizinischer Edelstahl 316L, LAD=left anterior descending coronary artery, LCX=left circumflex coronary artery, n=Anzahl, RCA=right coronary artery, Vers.-Nr.=Versuchsnummer; †=gestorbene Versuchstiere) .....	47
Tabelle 2: Semiquantitatives Scoresystem der Histologieparameter.....	60
Tabelle 3: Definition der Verletzungsgrade der Arterienwand im Strutbereich (IS=Verletzungsindex; LEE=Lamina elastica externa; LEI=Lamina elastica interna; ggr.=geringgradig) .....	61
Tabelle 4: Charakteristika der Stentaufdehnung.....	61
Tabelle 5: Implantationstabelle, Gruppe I/NbZr-Stents (AD=Aufdehnungssymmetrie; atm=Atmosphären; IS=Verletzungsindex; LAD=left anterior descending coronary artery; LCX=left circumflex coronary artery; Max=Maximum; Min=Minimum; mm=Milimeter; NbZr=Niobzirkonium; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert).....	69
Tabelle 6: Implantationstabelle, Gruppe II/NbZr+IrOx-Stents (AD=Aufdehnungssymmetrie; atm=Atmosphären; IS=Verletzungsindex; LAD=left anterior descending coronary artery; LCX= left circumflex coronary artery; Max=Maximum; Min=Minimum; mm=Milimeter; NbZr+IrOx=mit iridiumoxid beschichtete Niobzirkonium-Stents; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	70
Tabelle 7: Implantationstabelle, Gruppe III/Stahl-Stents (AD=Aufdehnungssymmetrie; atm=Atmosphären; IS=Verletzungsindex; LAD=left anterior descending coronary artery; LCX= left circumflex coronary artery; Max=Maximum; Min=Minimum; mm=Milimeter; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	71
Tabelle 8: Angiographieparameter, Gruppe I/NbZr-Stents (BTV=ballon-to-vessel-ratio; d=Tage; dB+S=Diameter des dilatierten Ballons mit Stent; Max=Maximum; Min=Minimum; NbZr=Niobzirkonium; p.i.=post implantationem; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	72
Tabelle 9: Angiographieparameter, Gruppe II/NbZr+IrOx-Stents (BTV=ballon-to-vessel-ratio; d=Tage; dB+S=Diameter des dilatierten Ballons mit Stent; Max=Maximum; Min=Minimum; NbZr+IrOx=mit iridiumoxid beschichtetes	

Niobzirkonium; p.i.=post implantationem; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	73
Tabelle 10: Angiographieparameter, Gruppe III/Stahl-Stents (BTV=ballon-to-vessel-ratio; d=Tage; dB+S=Diameter des dilatierten Ballons mit Stent; Max=Maximum; Min=Minimum; p.i.=post implantationem; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	74
Tabelle 11: Ergebnisse der semiquantitativen Auszählung der Histologieparameter. Es wird die durchschnittliche Zellzahl pro Strut für jede Gruppe angegeben. (Eos.Gr.=eosinophile Granulozyten; FKRZ=Fremdkörperriesenzellen; Lyz.=Lymphozyten; MO=Makrophagen; p=Irrtumswahrscheinlichkeit; NbZr=Niobzirkonium; NbZr+IrOx=mit Iridiumoxid beschichtete Niobzirkonium-Stents, PMN=neutrophile Granulozyten; *=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit $p \leq 0,05$ ).....	85
Tabelle 12: Histomorphometrie-Ergebnisse, Gruppe I/NbZr-Stents (D=Distanz; Max=Maximum; Min=Minimum; mNIT=mittlere absolute Neointimadicke; mNID=mittlere berechnete Neointimadicke; MW RL=Mittelwert Residuallumen; MW OL=Mittelwert Originallumen; NbZr=Niobzirkonium; NF= neointimale Fläche; radOL=Radius Originallumen; radRL=Radius Residuallumen; RD=diameterbezogene Restenose; RF=flächenbezogene Restenose; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	87
Tabelle 13: Histomorphometrie-Ergebnisse, Gruppe II/NbZr+IrOx-Stents (D=Distanz; Max=Maximum; Min=Minimum; mNIT=mittlere absolute Neointimadicke; mNID=mittlere berechnete Neointimadicke; MW RL=Mittelwert Residuallumen; MW OL=Mittelwert Originallumen; NbZr+IrOx=mit Iridiumoxid beschichtets Niobzirkonium; NF= neointimale Fläche; radOL=Radius Originallumen; radRL=Radius Residuallumen; RD=diameterbezogene Restenose; RF=flächenbezogene Restenose; SD=Standardabweichung; Vers.-Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	88
Tabelle 14: Histomorphometrie-Ergebnisse, Gruppe III/Stahl-Stents (D=Distanz; Max=Maximum; Min=Minimum; mNIT=mittlere absolute Neointimadicke; mNID=mittlere berechnete Neointimadicke; MW RL=Mittelwert Residuallumen; MW OL=Mittelwert Originallumen; NF= neointimale Fläche; radOL=Radius Originallumen; radRL=Radius Residuallumen; RD=diameterbezogene	

---

Restenose; RF=flächenbezogene Restenose; SD=Standardabweichung; Vers.- Nr.=Versuchsnummer; x=Mittelwert) .....	89
---	----

**9 ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1, links: Aufzweigungsmuster der linken Koronararterie des Schweines, Ansicht von links. Das linke Herzohr ist zum Teil entfernt. 1:Truncus pulmonalis, 2:A.coronaria sinistra, 2':R.interventricularis paraconalis, 2'':R.circumflexus, 3:V.cordis magna, 3':R.interventricularis paraconalis von 3, (aus DYCE et al., 1991). ..... 3

Abbildung 2, rechts: Muster der porcinen HerzkranzgefäÙe von rechts gesehen. Der rechte R. interventricularis subsinuosus (2') stellt die Fortsetzung der rechten Koronararterie dar. 2:rechte Koronararterie, 2':rechter R.interventricularis subsinuosus, 3:Sinus coronarius, 4:V.cordis magna, 5:V.cordis media, (aus DYCE et al., 1991)..... 3

Abbildung 3: Schematische Darstellung eines dilatierten Ballonkatheters und einer GefäÙstütze im stenosierten GefäÙlumen, (aus ERBEL et al., 1995, modifiziert). ..... 21

Abbildung 4: Stent im multi-zellulären „Starflex“-Design der Fa. Inflow Dynamics AG, München. Der nicht expandierte Stent ist 12 mm lang und hat einen Durchmesser von 2 mm. 100fache Vergrößerung. .... 48

Abbildung 5: Detailaufnahme aus Abb.4. Die Struts sind die einzelnen Stegelemente des Stents..... 48

Abbildung 6: Angiographische Darstellung der linken Koronararterie nach Kontrastmittelinjektion unter Durchleuchtung. .... 53

Abbildung 7: Der 12 mm lange Stent der Fa. Inflow Dynamics AG wird für die histomorphometrischen und die immunhistochemischen Untersuchungen in 2 Abschnitte geteilt. Nach der Kunststoffeinbettung des stenttragenden GefäÙanteils werden in den Schnittebenen der 4 dargestellten Ebenen die histomorphometrischen Messungen durchgeführt. .... 58

Abbildung 8: Schematische Darstellung der IS-Grade 0 bis 3 der GefäÙwandverletzung (IS=Injury-Score, LEI=Lamina elastica interna, LEE=Lamina elastica externa)..... 60

Abbildung 9 und 10: Beispiele für einen symmetrisch (links, Schwein 23929 LAD) und für einen asymmetrisch (rechts, 23179 LAD) aufgedehnten Stent. 2,5fache Vergrößerung. .... 62

Abbildung 11: Schema zur Ausmessung der berechneten Neointimadicke (NID) und der absoluten Neointimadicke (NIT) (LEI=Lamina elastica interna, LEE=Lamina

elastica interna, NID=berrechnete Neointimadicke, NIT=absolute Neointimadicke, radOL=Radius des Originallumens, radRL=Radius des Restlumens) .....	64
Abbildung 12: Bei der Darstellung der Niobzirkonium-Stents in der LAD und der LCX unter Durchleuchtung ergibt sich eine optimale radiologische Sichtbarkeit. Schwein 23172. ....	71
Abbildung 13: Mittlere angiographisch gemessene Gefäßdurchmesser der drei Gruppen: nativ, post implantationem und bei der Opferung nach 28 Tagen. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (d=Tage, post impl.=post implantationem, NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung).....	75
Abbildung 14: Die Angiographie-Parameter overstretch (Überdehnungsfaktor), Ballon-to-vessel-Ratio (BTV) und der Gefäßdiameter post implantationem zum nativen Gefäßdiameter (p.i./nativ) für die drei Gruppen im Vergleich dargestellt. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (d=Tage, post impl.=post implantationem, NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung, *=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit $p \leq 0,05$ ) .....	76
Abbildung 15: Herz mit Infarktgebiet im Versorgungsgebiet der LAD. Linker und rechter Ventrikel sind im Bereich proximal der Herzspitze aufgeheilt, Versuchsnummern II.25 und II.26, Schwein 92. ....	78
Abbildung 16: Schwein 23141. Lymphozytäre Infiltration (oberer Bildausschnitt) und einzelne verstärkt eosinophil anfärbbare Myozyten (im unteren Bildausschnitt). 40fache Vergrößerung, HE-Färbung. ....	80
Abbildung 17: Schwein 23197. Einzelne eosinophile Myozyten (Pfeile), keine Zellinfiltration. 10fache Vergrößerung, HE-Färbung. ....	80
Abbildung 18 und 19: Infarkt des Schweines 92 in 10- (links) und in 40facher (rechts) Vergrößerung. HE-Färbung. ....	80
Abbildung 20 und 21: <i>I.11 23170 LCX (NbZr)</i> . Ruptur der LEI. Links 10-, rechts 40fache Vergrößerung. HE-Färbung. (LEI=Lamina elastica interna).....	83
Abbildung 22: <i>II.20 23220 LAD (NbZr+IrOx)</i> . Erythrozytenansammlung (Pfeile) im Interstrutbereich. 40fache Vergrößerung. HE-Färbung.....	83
Abbildung 23: <i>I.12 23179 LAD (NbZr)</i> . Vakuolen (Pfeile) entlang der LEI. 40fache Vergrößerung. HE-Färbung. ....	83

Abbildung 24: *II.19 23219 LCX (NbZr+IrOx)*. Unreife Neointima um den Strut. 40fache Vergrößerung. HE-Färbung. .... 83

Abbildung 25: *I.9 23141 LAD (NbZr)*. Das neointimale Gewebe im Bereich der Struts mit dem Verletzungsindex 0 ist vermehrt. 2,5fache Vergrößerung. HE-Färbung.83

Abbildung 26: Mittlerer Verletzungs- (IS) und mittlerer Aufdehnungsindex (AD) der drei Stentgruppen im Vergleich. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (AD=Aufdehnungssymmetrie, IS=Verletzungsindex, NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung; \*=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit  $p \leq 0,05$ ) ..... 86

Abbildung 27: Mittelwerte von Originallumen (MW OL) und Residuallumen (MW RL) und die neointimalen Flächen (NF) der drei Gruppen im Vergleich dargestellt. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung; \*=signifikant unterschiedliches Ergebnis mit  $p \leq 0,05$ )..... 89

Abbildung 28: Mittlere berechnete Neointimadicke (mNID) und mittlere absolute NIT (mNIT) der drei Gruppen im Vergleich dargestellt. In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung)..... 91

Abbildung 29: Mittlere relative Restenosefläche (RF), mittlerer relativer Restenosediameter (RD) und die angiographisch gemessene Restenose (angiogr. R.) der drei Gruppen im Vergleich (%). In der Mitte der Säulen steht jeweils der Mittelwert, die Standardabweichung steht über den Säulen. (NbZr=Niobzirkonium, IrOx=Iridiumoxid-Beschichtung)..... 92

Abbildung 30: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen dem Verletzungsindex (IS) und der berechneten Neointimadicke (NID). Jeder der 38 ausgewerteten Stents stellt einen Diagrammpunkt dar. Die Trendlinie ist linear. 93

Abbildung 31: Graphische Darstellung der Korrelation zwischen dem Verletzungsindex (IS) und der absoluten Neointimadicke (NIT). Jeder der 38 ausgewerteten Stents stellt einen Diagrammpunkt dar. Die Trendlinie ist linear. 93

**10 ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

A	Fläche
A.	Arteria
Abb.	Abbildung
ACE	Angiotensin Converting Enzym
AD	Aufdehnungssymmetrie
ADP	Adenosindiphosphat
AISI	American Iron and Steel Institute
ASS	Acetylsalicylsäure
Atm	Atmosphären
ATP	Adenosintriphosphat
BTV	Ballon-to-vessel-ratio
Ca <sup>2+</sup>	Kalziumionen
CABG	Coronary Artery Bypass Grafting
cAMP	cyclisches Adenosinmonophosphat
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
cm	Zentimeter
CO <sub>2</sub>	Kohlendioxid
COX	Cyclooxygenase
CRP	C-reaktives Protein
CSG	Chondroitinsulfat-A/Gelatine
DCA	direktionale koronare Atherektomie
Diss.	Dissertation
dl	Deziliter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
ECM	Encephalomyokarditis
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
ENOS	endotheliale NO-Synthase
Eos.Gr.	Eosinophile Granulozyten
ET	Endothelin
F	French
Fa.	Firma

---

FGF	Fibroblast Growth Factor
FK 506	Tacrolimus
FKBP 12	Zellrezeptor für Sirolimus und Tacrolimus
FKRZ	Fremdkörperriesenzelle
GP	Glykoprotein
GTP	Guanosintriphosphat
Gy	Gray (Einheit der Energiedosis)
H <sub>2</sub> O	Wasser
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Wasserstoffperoxid
HDL	High Density Lipoprotein
HE	Hämatoxylin-Eosin
HMG-CoA	β-Hydroxy- β-Methylglutaryl-Coenzym-A
I.E.	Internationale Einheit
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
IL	Interleukin
INF	Interferon
IP <sub>3</sub>	Inositoltriphosphat
IrOx	Iridiumoxid
IS	Injury Score / Verletzungsindex
ISR	In-Stent-Restenose
IVUS	Intravaskulärerer Ultraschall
KCl	Kaliumchlorid
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	left anterior descending coronary artery
LCX	left circumflex coronary artery
LDL	Low Density Lipoprotein
LEE	Lamina elastica externa
LEI	Lamina elastica interna
LPS	Lipopolysaccharid
Lyz.	Lymphozyten
Max	Maximum

---

MCP	Monocyte Chemoattractant Protein
M-CSF	Monozyten/Makrophagen-Colony Stimulating Factor
mg	Milligramm
Min	Minimum
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm <sup>2</sup>	Quadratmillimeter
MMA	Methylmetacrylat
mNID	mittlere berechnete Neointimadicke
mNIT	mittlere absolute Neointimadicke
MO	Makrophagen
mRNA	massenger Ribonukleinsäure
MKS	Maul- und Klauenseuche
MW	Mittelwert
µm	Mikrometer
NaCl	Natriumchlorid
Nb	Niobium
NbZr / Nb-1%Zr	Niobzirkonium-Legierung
NF	Neointimafläche
NF-κB	Transskriptionsfaktor
NID	berechnete Neointimadicke
NIT	absolute Neointimadicke
nm	Nanometer
NO	Stickstoffmonoxid
O <sub>2</sub>	Sauerstoff
OH	Hydroxid
OL	Originallumen
OP	Operation
p	Irrtumswahrscheinlichkeit
P	Phosphor
p ≤ 0,05	Signifikanzniveau
P.	Pericarditis
p53	Apoptose-einleitendes Protein
Pa	Pascal (Druckeinheit)

---

PAI	Plasminogen Activator Inhibitor
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS	phosphatgepufferte Saline
PCL	Polycaprolacton
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PEG	Polyethylenglycol
PEO/PBTB	Polyethylenoxid/Polybutylen Terphthalat
PETP	Polyethylen-Terphthalat
PGA	Polyglykolsäure
PGEP	Prostaglandin-Endoperoxide
PGI <sub>2</sub>	Prostacyclin I <sub>2</sub>
PGLA	Polyglykolsäure/Polylactidsäure
pH	pH-Wert
PHBV	Polyhydroxybutyrat-Valerat
PLA	Polylactidsäure
PMN	Neutrophile Granulozyten
POE	Polyorthoester
PRRS	Porcines Reproduktives und Respiratorisches Syndrom
PTCA	Perkutane Transluminale Koronarangioplastie
PUR	Polyurethan
PVD	Physical Vapor Deposition
r	Pearsonscher Maßkorrelationskoeffizient
R.	Ramus
rad	Radius
rad OL	Radius des Originallumens
rad RL	Radius des Restlumens
RCA	rechte Koronararterie (right coronary artery)
RD	diameterbezogene Restenose
rec	rekombinant
RF	flächenbezogene Restenose
RL	Residuallumen
RT	Raumtemperatur
SD	Standardabweichung

---

SDS	Stent Delivery Systeme
SIL	Silikon
SMC	smooth muscle cell / glatte Muskelzelle
Std.	Stunde
Tab.	Tabelle
TF	Gewebe-Faktor/Thromboplastin
TFPI	Tissue Factor Pathway Inhibitor
TGF	Transforming Growth Factor
TIVA	Totale intravenöse Anästhesie
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$
t-PA	Gewebsplasminogenaktivator
TXA <sub>2</sub>	Thromboxan A <sub>2</sub>
U	Umfang
V.	Vena
VBT	Vaskuläre Brachytherapie
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VNR	Vibronektin-Rezeptor
VSMC	vascular smooth muscle cell
vWF	von Willebrand-Faktor
WBC	White Blood Cells/ Leukozyten
x	Mittelwert
Zr	Zirkonium
Ø	Durchmesser
$\pi$	Kreiszahl
<	Kleiner
>	größer
§	Paragraph
°C	Grad Celsius
*	signifikant unterschiedliches Ergebnis mit $p \leq 0,05$
†	gestorbene Versuchstiere

**11 DANKSAGUNG**

Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. vet. habil. W. Schmahl danke ich herzlich für die Übernahme dieser Arbeit an die Tierärztliche Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München.

Herrn Prof. Dr. med. E. Alt sei herzlich für die Überlassung des Themas, für die Durchführung der Stentimplantationen und für die freundliche Unterstützung bei der Arbeit gedankt.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. vet. Dr. med. habil. W. Erhardt für seinen allzeit freundlichen Beistand und seinen Einsatz während allen Phasen des Projekts sowie für die mehrmalige gründliche Durchsicht des Manuskripts.

Frau Dr. med. vet. J. Henke danke ich besonders für ihre Hilfe in der operativen Phase des Projekts.

Frau Dr. med. vet. M. Schmeller danke ich für die Unterstützung beim Auswerten der histologischen Präparate.

Herrn Dr. med. vet. C. Städele danke ich für das Korrekturlesen der Arbeit.

Lieben Dank für die erfolgreiche und nette Zusammenarbeit an die Betreuerin des Projekts Munhie Rihm und an die Mitdoktoranden Tanja Wolf und Denis Firsov.

Vielen Dank an Frau Dr. rer. nat. A. Schubert die mit Rat und Tat rund um das Projekt zur Seite stand.

Ein Dankeschön ist an alle Mitarbeiter des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung gerichtet für ihre Hilfsbereitschaft und für ihre freundliche Unterstützung.

## 12 LEBENS LAUF

Cornelia Reimer, geb. am 07. Januar 1973 in Mannheim-Neckarau

### Eltern:

Dipl. Ing. (TU) Kurt Reimer, Bauingenieur

Brunhilde Junghans, geb. Hantsch, Lehrerin

### Geschwister:

Bettina Reimer

### Schulbildung:

1979-1983            Grundschule in Ludwigshafen am Rhein

1983-1991            Theodor-Heuss-Gymnasium in Ludwigshafen am Rhein

1991-1993            Karl-Friedrich-Gymnasium in Mannheim

11.05.1993           Erlangen der Allgemeinen Hochschulreife

### Studium:

1993-1994            Biologie (Diplom), Eberhard-Karls-Universität, Tübingen

1994-1996            Biologie (Diplom), Ruprecht-Karls-Universität, Heidelberg

1996-2001            Tiermedizin, Ludwig-Maximilians-Universität, München

14.12.2001            Approbation als Tierärztin

### Promotion:

01.10.2001            Beginn der vorliegenden Dissertation am Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der Technischen Universität München

### Berufliche Tätigkeit:

24.02.2003            Assistenztierärztin an der Tierärztlichen Klinik in Opfenbach