

Aus der chirurgischen Klinik und Poliklinik der Universität Rostock  
Abteilung für Allgemein-, Gefäß-, Thorax- und Transplantationschirurgie  
Direktor: Prof. Dr. Clemens Schafmayer

**Vergleichende Untersuchung von biodegradierbaren PLLA/P4HB-Polymerstents mit und  
ohne SIR-eluierender Beschichtung und unter der Gabe einer oralen Hochdosistherapie  
Atorvastatin im peripheren arteriellen Gefäßsystem des Landschweins**

**INAUGURALDISSERTATION**

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

der Medizinischen Fakultät

der Universität Rostock

vorgelegt von Felix Moreth geboren am 03.05.1986 in Darmstadt  
Hamburg, den 03.11.2020

## **GUTACHTER**

**Prof. Dr. med. Carsten Bünger**

Klinik für Chirurgie, Visceral- und Gefaschirurgie  
Vivantes-Humbold Klinikum Berlin

**Prof. Dr. ing. Niels Grabow**

Institut für Biomedizinische Technik  
Universitätsmedizin Rostock

**Prof. Dr. med. Andreas Hoene**

Klinik für Allgemein-, Viszeral-, Gefäß- und Thoraxchirurgie  
Universtatsmedizin Greifswald

Jahr der Einreichung und Verteidigung

2021

# INHALTSVERZEICHNIS

1.	EINLEITUNG .....	1
2.	ZIELSETZUNG .....	12
3.	MATERIAL UND METHODEN .....	13
3.1	Stents .....	13
3.1.1	Metall-Stents .....	13
3.1.2	Polymer-Stents .....	13
3.2	Tiermodell .....	15
3.2.1.	Versuchsserie A .....	16
3.2.2	Versuchsserie B .....	16
3.2.3	Versuchsserie C .....	16
3.3	Versuchsaufbau .....	17
3.3.1	Vorbereitung der Operation .....	17
3.3.2	Durchführung der Operation .....	18
3.4	Peri- und postoperative Untersuchungen .....	23
3.4.1	Basisparameter .....	23
3.4.2	Bildgebende Verfahren .....	24
3.4.3	Histologische Untersuchungen .....	26
3.5	Statistische Auswertung .....	30
4.	ERGEBNISSE .....	31
4.1	Versuchsaufbau und Tiermodell .....	31
4.1.1	Modifikation der Implantations-Einschränkung für Zielgefäße .....	33
4.2	Stents .....	34
4.3	Peri- und postoperative Untersuchungen .....	34
4.3.1	Körpergewicht .....	34
4.3.2	Basisparameter .....	35
4.3.3	Radiologische Verfahren .....	39
4.3.4	Histologische Untersuchungen .....	43

5.	DISKUSSION .....	53
6.	ZUSAMMENFASSUNG .....	66
7.	THESEN .....	68
8.	LITERATURVERZEICHNIS .....	69
9.	ABKÜRZUNGEN .....	78
10.	TABELLENVERZEICHNIS .....	80
11.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	81
12.	LEBENS LAUF .....	82
13.	SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....	83
14.	DANKSAGUNG .....	84

## 1. EINLEITUNG

Laut einer durch das statistische Bundesamt in der zwölften koordinierten Bevölkerungsvorausberechnung durchgeführten Untersuchung wird darauf hingewiesen, dass, je nach Annahme-Variante, im Jahre 2060 zwischen 30-38 % der deutschen Bevölkerung das 65. Lebensjahr erreicht haben werden. Auf die anzunehmende Population Deutschlands bezogen sind das in Zahlen 22,9-24,2 Mio. Personen (1). Das mit höherem Alter konsekutiv erhöhte Morbiditätsrisiko ist in unserer Kultur, aufgrund häufig vorherrschender Überernährung und mangelnde Bewegung, eng verknüpft mit dem Überbegriff des metabolischen Syndroms. Die Diagnose Metabolisches Syndrom wird gestellt, wenn 3 der 5 folgenden Kriterien auf einen Patienten zutreffen (2):

Blutdruck (systolisch/diastolisch)		≥ 130 mmHg und/oder ≥85 mmHg
Triglyzeride		≥ 150 mg/dl (1,7 mmol/l)
HDL-Cholesterin	Männer	< 40 mg/dl (1,03 mmol/l)
	Frauen	< 50 mg/dl (1,29 mmol/l)
Nüchternblutglukose		≥ 100 mg/dl (5,6 mmol/l)
Taillenumfang	Männer	≥ 94 cm (IDF)/ ≥ 100 cm (AHA/NHLBI)
	Frauen	≥ 80 cm (IDF)/ ≥ 88 cm (AHA/NHLBI)

Das Profil der Komorbiditäten des Metabolischen Syndroms beinhaltet neben erhöhter Inzidenzzahlen des Typ 2 Diabetes mellitus (3) auch Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System, in besonderem Maße die arterielle Gefäßwand (4). Auf zellulärer Ebene führen genannte Normabweichungen zu einem erhöhten „oxidativen Stress“ welcher, unter anderem zu einer erhöhten Ausschüttung zahlreicher proinflammatorischer Zytokine (*TNF $\alpha$* , *IL-6*, *IL-8*) und damit zu einem proinflammatorischen, systemischen Zustand (5) führen. Die ausgeschütteten Zytokine führen vaskulär zu einer entzündlichen Aktivierung des Endothels und fördern damit die Entstehung arteriosklerotischer Veränderungen (6). Insbesondere die dem Metabolischen Syndrom teils inhärente, meist viszerale Adipositas nimmt offenbar eine Schlüsselrolle ein. Henrichot et al. zeigten, dass vermehrtes perivaskuläres weißes Fettgewebe durch Sekretion unterschiedlicher chemotaktischer

## EINLEITUNG

Zytokine die Akkumulation von Makrophagen und T-lymphozyten in der arteriellen Gefäßwand induziert und damit mutmaßlich einen entscheidender Faktor für die Entwicklung der Arteriosklerose darstellt (7). Neben Alter, dem Metabolischen Syndrom und der meist parallel dazu auftretenden Insulinresistenz gibt es weitere wichtige Risikofaktoren der Arteriosklerose. Relevant sind dabei insbesondere das Rauchen, die Dyslipidämie und ein erhöhter Blutdruck (8).

Eine bedeutsame klinische Manifestation der Artriosklerose ist, neben Koronarer Herzkrankheit und zerebrovaskulärer Erkrankung, die der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK; PAD, engl. Peripheral artery disease). Diese Erkrankung beschreibt eine Einschränkung der Perfusion der unteren Extremität und betrifft fast ausschließlich Arterien distal der Aorta abdominalis. Es wird eine akute und chronische Form unterschieden, wobei insbesondere der chronischen Form in etwa 95% der Fälle atherosklerotische Veränderungen zugrunde liegen. Diese Perfusionsminderung kann sich über einen längeren Zeitraum von nur teilweisen Gefäßverengungen (Stenosen) zu kompletten Gefäßverschlüssen (Okklusion) entwickeln (9).

Im deutschsprachigen Raum wird die pAVK nach Fontaine in 4 Stadien (siehe Tabelle 1) unterteilt, wobei im 2. Stadium zwischen zwei Untergruppen differenziert wird (10). Diese Klassifikation basiert auf der klinischen Symptomatik des Patienten. Die im Stadium II auftretende „Claudicatio intermittens“ („dazwischenliegendes Hinken“, „Schaufensterkrankheit“) gilt als klassisches Beschwerdebild der pAVK und basiert auf einer Unterversorgung der unteren Extremität mit Sauerstoff und Glucose. Dies führt zur Akkumulation von Metaboliten anaerober Stoffwechselfvorgänge, welche zu Muskelschmerzen und Müdigkeit durch Belastung führen (11).

**Tabelle 1:** Klassifikation der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Fontaine [10]:

Stadium	Klinisches Bild
I	asymptomatisch
IIa	Gehstrecke > 200 m (leichte CI)
IIb	Gehstrecke < 200 m (mäßige – schwere CI)
III	ischämischer Ruheschmerz
IV	Ulkus, Gangrän (CLI)

(CI = Claudicatio intermittens; CLI = critical limb ischaemia)

## EINLEITUNG

Neben einer erniedrigten Lebensqualität führen Spätstadien des Krankheitsbildes außerdem zu einer deutlich erhöhten Mortalität. In Stadien der kritischen Ischämie (Stadium III + IV) steigt das sogenannte Kreuzrisiko der Atherothrombosemanifestationen was zu einer erhöhten Sterblichkeitsrate aufgrund kardialer oder zerebraler Infarktgeschehen führt (12).

Therapeutisch stehen je nach klinischem Stadium, Lokalisation und Ausdehnung der Gefäßpathologie verschiedene Ansätze zur Verfügung. Sofern möglich, ist ein leitliniengerechtes Vorgehen bei der Behandlung zu verfolgen. Dieses sollte sowohl konservative als auch, wenn indiziert, interventionelle Schritte beinhalten (12).

Je nach Progredienz der Erkrankung verfolgen operative Eingriffe unterschiedliche therapeutische Ziele. Während im Stadium II mit dem Leitsymptom Claudicatio intermittens durch eine operative Revaskularisierung Wiederherstellung von Lebensqualität erreicht wird, steht im Stadium III + IV Wiedererlangung von Schmerzfreiheit und der Erhalt der Extremität im Vordergrund.

Etabliert haben sich im operativen Bereich offenchirurgische Methoden, z.B. durch Ausschälung des Gefäßes (Atherotomie) oder Umgehung der Engstelle (Bypass), als auch die minimalinvasiv endovaskuläre Erweiterung des Gefäßes (perkutane transluminale Angioplastie, PTA). In Abhängigkeit des Schweregrades der pAVK, der vorhandenen Komobiditäten sowie der Lokalisation und Ausdehnung der arteriosklerotischen Läsion ist zunehmend die PTA die bevorzugte Interventionsmethode. Aufgrund der geringeren Belastung für den Patienten bietet diese gegenüber den maximalinvasiven operativen Techniken eine vergleichbare symptomatische Verbesserung der pAVK.

Diese Technik zur Erweiterung eines stenosierten, peripheren arteriellen Gefäßabschnittes wurde Mitte der 60er Jahre durch Charles Dotter, damals noch mit Hilfe eines sich verjüngenden koaxialen Kathetersystems, erstmals erfolgreich angewandt (13). Dieser konnte, um murale Gefäßverletzung durch die stark bougierenden Katheter zu verhindern, Mitte der 70er Jahre, durch einen mittels Luftinsufflation am Ort der Stenose dilatierbaren Ballonkatheter ersetzt werden (14, 15). Über einen Führungsdraht bis in den Bereich der Stenose vorgeschoben, verdrängt dieser aufgedehnte Ballon die das Gefäßlumen

## EINLEITUNG

verengenden Ablagerungen in die Gefäßwand (16) und ermöglicht dadurch eine relevante Erweiterung des Lumens.

Ob des, im Vergleich zu offenchirurgischen Methoden, geringen operativen Aufwandes und des klinisch vergleichbaren Resultates wurde die perkutane Angioplastie ein zunehmend durchgeführter Eingriff.

Ein gravierender Nachteil wurde jedoch alsbald auffällig. So waren kurzfristige Ergebnisse der PTA vielversprechend, dennoch zeigte sich in Langzeitstudien bei bis zu 60% der Patienten eine Restenose in den ersten 12 Monaten nach Intervention (17, 18).

Dieser späte Lumenverlust (eng. late lumen loss) wird ausgelöst durch einen Umbauprozess, der bereits 24h nach Intervention durch unterschiedliche Mechanismen initiiert wird (19, 20, 21). Zusammen mit einer reflektorischen Rückstellung der arteriellen Gefäßwand (22) (eng. Recoil) entwickelt sich im affektierten Bereich eine inflammatorische Reaktion (23, 24). Abhängig von der Schwere der Endothelverletzung führt diese zu einem Verlust der antithrombotischen Faktoren und Freisetzung prothrombotischen Fibrins. Es entsteht ein Abscheidungsthrombus (25) und in der Folge kommt es zu einem Umbauprozess der Gefäßwand, dem sogenannten Remodeling. Hierbei entsteht durch Proliferation glatter Muskelzellen und deren Migration in die Gefäßintima, zusammen mit ebenfalls proliferierender Extrazellulärer Matrix (26, 27), eine neointimale Hyperplasie (NIH) (28) welche sich zu einer Neointima (NI) formiert (29).

Reagiert der Organismus auf diesen zunächst stenosierenden Prozess durch eine kompensatorische Gefäßweitstellung, wird dieser Prozess positives Remodeling genannt. Dieses ist jedoch in der Folge einer Angioplastie selten zu beobachten. Intravaskuläre Ultraschalluntersuchungen zeigen vielmehr einen rein stenosierenden Prozess durch die NIH, das sogenannte negative Remodeling (19).

Der Lösungsansatz zur Durchbrechung dieser, langfristig erneut zur Okklusion führenden, Kaskade von Umbauprozessen des Körpers, schien die endoluminale Implantation einer Gefäßstütze, eines Stents zu sein. Eingebracht im Bereich des ballonexpandierten Gefäßabschnittes sollte dieser insbesondere die Rückstellmechanismen der Gefäßwand unterbinden. Schon früher am Tiermodell erprobt, gelang Palmaz und Schatz erstmals 1987 die Implantation eines ballonexpandierten Metallstents in die stenosierte A. iliaca eines an Claudicatio leidenden Patienten (30).

## EINLEITUNG

Es konnte nachgewiesen werden, dass durch Implantation eines Stents, im Vergleich zur konventionellen PTA, Recoil und frühe postinterventionelle Restenoseraten signifikant gesenkt werden konnten (31, 32, 33). Diese Stents der ersten Generation wurden im Laufe der 1990er Jahre vermehrt Gegenstand umfangreicher Forschungen und zunehmend zur Behandlung peripher arterieller und koronarer Gefäßstenosen eingesetzt (34).

Gefertigt aus unbeschichteten rostfreien Metall (eng. bare metal stent, BMS) zeigte sich aufgrund der thrombogenität metallischer Oberflächen eine erhöhte Rate subakuter in-Stent-Thrombosen (ST). Auch eine, im Vergleich zur PTA zwar reduzierten, jedoch weiterhin hohen Rate von in-Stent-Restenosen (ISR) (35) wurde auffällig. Thromboprophylaktisch wurde daraufhin eine duale Thrombozytenaggregationshemmung mittels Acetylsalicylsäure (ASS) und Ticlopidin oder Clopidogrel eingeführt, was in der Folge zu einer deutlichen Abnahme der ST führte (36).

Eine signifikante Reduzierung der ISR konnte jedoch, trotz Änderung im Design oder der Materialzusammensetzung der BMS nicht erreicht werden. Im Wesentlichen aufgrund einer hyperplastischen Neointima (29) traten bei 15-40% der erfolgreich mittels Stent-PTA operierten Patienten nach 6 Monaten Restenosen im Bereich der gestenteten Gefäßabschnitte auf (19, 37).

Eine Weiterentwicklung klassischer BMS sind Arzneimittel freisetzende Stents (engl. drug eluting stent, DES). Erste Generationen bestanden aus einem permanenten Stützgerüst, z.B. aus Edelstahl (316L) oder Nitinol (Nickel-Titanium-Legierung) und einer Trägerschicht aus nicht-degradierbarem Polymer. In diese Schicht wurde ein immunsupprimierender oder antiproliferativer Stoff eingearbeitet, welcher nach Implantation kontinuierlich und in kontrollierten Mengen freigesetzt wurde (38). Die hierdurch erfolgte Suppression der durch den Stent evozierten inflammatorischen Reaktion führte konsekutiv zur gewünschten Reduzierung der neointimalen Hyperplasie (39). Für den ersten, in der klinischen Praxis zugelassenen DES verwendete man das Immunsuppressivum Sirolimus (CYPHER, Fa. Cordis), was eine signifikante Reduktion der ISR (40, 41) erbrachte und in der Folge zu einer raschen Verbreitung der DES in der klinischen Anwendung führte.

Sirolimus (Rapamycin) bewirkt mittels Komplexbildung mit der Kinase mTOR eine Unterbrechung des Zellzyklus von T-Lymphozyten und inhibiert damit die Proliferation vaskulärer glatter Muskelzellen (42). Das neben Sirolimus ebenfalls häufig verwendete

## EINLEITUNG

Zytostatikum Paclitaxel verhindert hingegen die Zellproliferation und –migration jener Zellen, indem es den für die Mitose essenziellen Abbau von Mikrotubuli stört (43). Hierdurch konnte insbesondere bei Einsatz koronarer Stenosen, sowohl für mit Sirolimus beladene DES (40, 41, 44), als auch mit Paclitaxel beladene DES (45, 46), ein deutlicher Rückgang der ISR aufgezeigt werden (47).

Nach rascher klinischen Verbreitung blieb indes in Langzeitstudien der erwartete Rückgang der Mortalität und der Inzidenz von Myokardinfarkten gegenüber klassischen BMS aus. Ursächlich hierfür zeigten sich überraschenderweise späte (bis 1 Jahr postimplantär) und sehr späte (nach 1 Jahr postimplantär) Stent-Thrombosen (48). Eine Erklärung hierfür fand man einerseits in der permanenten Polymer-Trägerschicht, welche nach Abgabe ihres antiproliferativen Agens eigens durch ihre Struktur die Induktion einer NIH lancierte (49).

Desweiteren fand man heraus, dass durch die unspezifische Hemmwirkung der Antiproliferativa, neben der gewünschten Reduktion der NIH, auch die Einheilung (Endothelialisierung) der Stents im umgebenden Gefäß entscheidend negativ beeinflusst wird. Deren Thrombogenität bleibt in der Folge über einen deutlich längeren Zeitraum aufrechterhalten (50, 51). Im Fokus heutiger Forschungen sind deshalb sowohl die Auswahl des freigesetzten Arzneimittels als auch die Optimierung von Stentmaterial und -design.

Im Hinblick auf das inkorporierte Agens zeigen sich, neben vielen anderen getesteten Stoffen, in erster Linie einige Sirolimusderivate als vielversprechend. Everolimus (52), ein Hydroxybutylderivat, welches vorwiegend im Bereich der Onkologie und Transplantationschirurgie Anwendung findet, verfügt ebenso wie die eigens für die Anwendung bei Stents entwickelten Sirolimus-Analoga Zotarolimus (53) und Biolimus (54) über die gewünschten Eigenschaften.

Hinsichtlich der dauerhaften inflammatorischen und thrombogenen Wirkung permanenter Trägerschichten wurden diese in der zweiten Generation DES aus biodegradierbaren Polymerverbindungen gefertigt. Diese Trägerschicht kann durch den Organismus nach Abgabe des Arzneimittels biologisch abgebaut werden (55) wodurch einer Thrombosierung sowohl durch die Arzneimittelfreisetzung in der Frühphase, als auch durch Abbau der thrombogenen Trägerschicht in der Spätphase entgegnet wird (56).

Ein ähnliches Ziel verfolgt der Forschungsansatz das Pharmakon, ohne polymere Trägerschicht, in die Stützstruktur des Stents zu verpflanzen. Durch eine strukturelle

## EINLEITUNG

Modifikation der Stentoberfläche kann das Agens dort in Mikroporen verankert werden wodurch sowohl der negative Stimulus einer polymeren Trägerschicht vermieden wird als auch gleichzeitig die Fähigkeit der Arzneimittelfreisetzung erhalten bleibt (57).

Eine weitere Möglichkeit permanente Irritationen der Gefäßwand und damit In-Stent-Restenosen sowie Stent-Thrombosen zu verhindern, stellt der Ansatz eines biodegradierbaren, also vollständig vom Körper abbaubaren Stents dar. Das Grundprinzip besteht darin, einerseits die Gefäßstruktur postinterventionell zu stützen und insbesondere die Gefäßrückstellung zu verhindern, andererseits nach Degradation des Stents die Organisation der Gefäßstruktur zur Wiederherstellung ihrer ursprünglichen Funktion ohne irritierenden Fremdkörper zu ermöglichen. Dies stellt gewisse Anforderungen sowohl an Material als auch Design des Stents. Dieser muss für die gewünschte Zeit die mechanischen Eigenschaften für eine ausreichende Stützfunktion besitzen. Gleichzeitig muss er so beschaffen sein, dass er durch den Organismus nach gewünschter Zeit vollständig absorbierbar und durch seine Abbauprodukte weder toxisch noch inflammatorisch wirksam ist. Biodegradierbare Stents können, entsprechend der verwendeten Materialien, in Polymer- oder Metallstents unterteilt werden.

Zur Fertigung biodegradierbare Metall-Stents können Eisen-, Magnesium- und neuerdings Zinkverbindungen verwendet werden. Allen gemein ist der Abbau in vom Körper absorbierbare Moleküle mittels Korrosion (58). Biodegradierbare Metall-Stents auf Basis korrodierbaren Eisens besitzen durch die vom Körper hohe Abbaukapazität (bis zu 40mg/d) geringe systemische Toxizität (59) und zeigten im Tierversuch eine niedrige Stenose- und Thromboserate sowie unbeträchtlicher Entzündungsreaktion (60). Zwar konnte eine, dem BMS vergleichbare Härte und Stabilität bewiesen werden, gilt jedoch die Degradationsrate des Stents als zu gering (61) und ist damit weiterhin Gegenstand aktueller Forschung.

Magnesium ist ebenso gut verträglich (62), besitzt im Vergleich zu Eisen alleinig jedoch eine geringere mechanische Stabilität und eine hohe chemische Reaktivität. Daher werden Stents aus Magnesium meist im Verbund mit Kalzium, Zink, Strontium, Zirkonium, Aluminium oder seltenen Erden gefertigt, wodurch eine deutliche Verbesserung der Korrosionsrate und der Stabilität erreicht werden konnte (63). Klinische Studien zeichnen zwar ein positives Bild, zeigen jedoch die dringliche Notwendigkeit einer längeren Degradationszeit auf (64).

## EINLEITUNG

In jüngerer Vergangenheit rücken zudem biodegradierbare Stents auf Zinkbasis mit in den Fokus. Das für verschiedene Stoffwechselfvorgänge essentielles Element Zink wäre als mögliches Abbauprodukt nicht nur ein vom Körper verwertbares Element, es besitzt zudem antiatherogenen Eigenschaften (65). Forschungsergebnisse zeigen, dass wichtige Anforderungen bezüglich Korrosionsrate, Gewebeverträglichkeit und Degradationszeit erfüllt werden. Die zu geringe mechanische Stabilität von Stents auf Zinkbasis verhindert aktuell jedoch die klinische Anwendbarkeit und ist Gegenstand aktueller Forschung (66, 67).

Das Grundgerüst biodegradierbarer Polymer-Stents besteht, der Wortbedeutung nach, aus einer Aneinanderkettung monomerer Strukturen zu einem Polymerkonstrukt. Häufig verwendet werden hierbei Verbindungen aus Polylactidsäure (eng. Poly-lactid-acid, PLA). PLA, ein synthetisches Polymer aus aneinandergereihten Milchsäuremonomeren, ist ein in der Industrie häufig verwendeter Werkstoff, welcher sich insbesondere aufgrund seiner Abbaubarkeit und Bioverträglichkeit in der medizinischen Anwendung etablieren konnte. In Abhängigkeit der anteiligen Zusammensetzung aus D- und L-Isomeren der Polylactidsäure ergeben sich Strukturen unterschiedlicher Elastizität und Bruchfestigkeit. Ein aus lediglich L-Isomeren zusammengesetztes PLA-Molekül (PLLA) zeigt eine größere Tendenz Stützstrukturen zwischen den einzelnen Molekülen auszubauen als Polymere aus D-Isomeren (PDLA) oder D- und L-Isomeren (PDLLA) und erreicht dadurch eine höher kristalline Struktur. Diese bedeutet wiederum zwar eine geringere Viskoelastizität, ermöglicht jedoch eine bessere mechanische Stabilität und Zugfestigkeit sowie ein vielseitigeres Verarbeitungsprofil als die weniger kristallinen Strukturen der PDLA- und PDLLA-Polymere (68).

Dennoch ist die mechanische Stabilität von Polymeren im Vergleich zu Metallverbindungen deutlich geringer, was im Vergleich zu einem BMS bei vergleichbarer Wandstärke eine geringere radiale Tragfähigkeit der Polymerstents bedeutet. Um dennoch eine ausreichende Rigidität und gleichzeitig eine zeitgerechte, und in jeder Phase biokompatible Degradation zu erreichen, wird eine hohe Anforderung an Design, Zusammensetzung und Verarbeitung der Stents gestellt.

Erste klinische Versuche erfolgten 1998 durch Tamai et al. Insgesamt 15 Personen konnten erfolgreich monofilamentäre PLLA-Stents (Igaki-Tamai®, Igaki Medical Planning Company,

## EINLEITUNG

Kyoto, Japan) in die Koronararterien implantiert werden. Ein am Folgetag durchgeführter intravaskulärer Ultraschall zeigte das Ausbleiben eines relevanten Recoils, Folgeuntersuchungen eine Restenoserate von 21% nach 6 Monaten und 19% nach 12 Monaten, sowie das vollständige Auflösen des Stents nach 3 Jahren (69, 70). Trotz vielversprechendem Ansatz erfolgte, vorwiegend aufgrund von Gefäßwandverletzungen beim Implantationsprozess keine Weiterentwicklung dieser Stent-Generation (63).

Abbott Vascular (Santa Clara; CA, USA) entwickelte mit dem BVS-Stent (Revision 1.0) einen biodegradierbaren DES bestehend aus einem semikristallinen PLLA-Grundgerüst und einer mit Everolimus beladenen PDLA-Trägerschicht (71). Bei guter Bioverträglichkeit und einer erfolgreichen Degradationszeit von 2-3 Jahren zeigte sich im Zuge der ABSORB Cohort A Studie in der 6 Monatskontrolle eine relevante Lumenminderung (72), woraufhin eine zweite Generation mit verändertem Design und chemischer Struktur (Revision 1.1) entwickelt wurde. Dieser konnte in der ABSORB Cohort B Studie eine verbesserte Tragfähigkeit und damit verminderte Lumenminderung aufzeigen (73).

Die Entwicklung bewährter sowie neuer Stenttechnologien ist, wie oben dargestellt, derzeit Gegenstand intensiver Forschung und Entwicklung. Gemeinsam mit der Abteilung für Gefäßchirurgie betreibt auch das Institut für biomedizinische Technik der Universität Rostock Untersuchungen im Bereich biodegradierbarer Stents auf PLLA-Basis (74). Themenschwerpunkte hierbei sind die Zusammensetzung und Architektur von ballondilatierbarer Stents auf PLLA Basis und deren Verhalten in-vivo und in-vitro. Zunächst wurden hierfür Materialeigenschaften von Stents auf poly(L-lactide)Basis in der Festkörpersimulation untersucht (75), Effekte des Sterilisationsprozesses oder die Zugabe des Weichmachers Triethylcitrat auf die mechanische Stabilität analysiert sowie die Einflüsse eines CO<sub>2</sub>-Lasers im Fertigungsprozess dargelegt (76). In der Folge wurde ein Tierversuch durchgeführt, in welchem sowohl reine PLLA- als auch Mischpolymerstents (PLLA + 10% Poly-ε-Caprolacton) mit handelsüblichen BMS im speziellen Versuchsaufbau einer Anastomosenüberbrückung verglichen wurden (77). Beide hatten sich zuvor in-vitro bezüglich mechanischer Eigenschaften einem Edelstahlstent (316L) als vergleichbar gezeigt (78).

Insgesamt 10 Schweinen wurde im ersten Schritt eine aortobiliacale γ-Prothese aus Polytetrafluoroethylen eingesetzt, welche beidseits im Bereich der iliacalen Anastomose

## EINLEITUNG

invertiert eingenäht wurde, um dort eine Strömungsirregularität zu erwirken. Im nächsten Schritt wurde in diesem Bereich, mittels Inzision der distalen Prothese, lokal ein Stent eingebracht und mittels Ballonexpansion unter Sicht arretiert. Um Brüche der PLLA-Stents zu vermeiden und deren viskoelastischen Eigenschaften zu erhalten (78) wurden diese langsam (1 bar/min) expandiert. Insgesamt konnten auf diese Weise sechs Edelstahl-, sechs PLLA- sowie vier Mischpolymerstents erfolgreich implantiert werden. Unter dualer Thrombozytenaggregationshemmung mittels ASS/Clopidogrel wurde in einer zwei Wochen postoperativ durchgeführten CT-Kontrolle eine vollständige Okklusion der Mischpolymerstents auffällig (77). Edelstahl- und PLLA-Stents waren zwar nach 6-wöchiger Kontrolle durchgängig, jedoch zeigte sich ein geringerer luminaler Durchmesser der PLLA-Stents aufgrund deutlicher neointimalen Hyperplasie und signifikanter Entzündungsreaktion (79). Für eine Folgestudie wurden daraufhin Sirolimus-eluierende(SIR) PLLA-Stents entwickelt. Im gleichen Versuchsaufbau zeigten diese eine deutliche Reduktion der inflammatorischen- und neointimalen Reaktion (80), welche durch eine weitere Studie am Schweinmodell untermauert werden konnte (81). Durch Kombination mit Poly-4-Hydroxybutyrat (P4HB) konnte zudem die Stentexpansionszeit der PLLA-Stents deutlich reduziert werden, sodass eine vollständige Dilatation eines PLLA/P4HB-Stents unter einem Druck von 8 bar innerhalb von 2 Minuten sowohl in-vitro (82) als auch im Schweinmodell (83) durchführbar wurde. Da die Positionierung und Implantation der Polymerstents bis zu diesem Zeitpunkt nur durch einen offenchirurgischen, lokalen Zugang zum jeweiligen Gefäß erprobt wurde, wurde ein neues Tierversuchsmodell etabliert, in welchem die endovaskuläre Anwendbarkeit der Polymerstents untersucht wurde.

In der ersten Versuchsreihe dieses Modells wurde der bisher verwendete PLLA/P4HB-Stent für die periphere Applikation modifiziert, mit Artikulationsmodulen versehen und sowohl eine Akut- als auch eine 4-Wochen-Versuchsreihe beschlossen. In der Akut-Versuchsreihe mit einzeitiger Implantation und Explantation der Stents, wurden mögliche Zugangs- und Zielgefäße erprobt und das Optimalgewicht der Versuchstiere für eine permanente Stentapplikation ermittelt.

Der modifizierte PLLA/P4HB-Stent zeigte beim Implantationsvorgang die gewünschten mechanischen Eigenschaften und bewies seine Anwendbarkeit zur endovaskulären Applikation (74). Die anschließend erfolgte bilddiagnostische und

## EINLEITUNG

histologische/planimetrische Auswertung zeigte zwar alle gestenteten Gefäße durchgängig, im Vergleich zum Edelstahl-Stent den Polymerstent jedoch mit einer höheren Entzündungsreaktion. Hierdurch entwickelte sich eine ausgeprägte neointimaler Hyperplasie mit hierdurch konsekutiv höherer Stenoserate.

Diese Studie konnte damit einerseits die endovaskuläre Applizierbarkeit des modifizierten PLLA/P4HB-Stents beweisen, zeigte jedoch andererseits, dass es insbesondere einer deutlichen Senkung der Stenoserate bedarf. Da diesbezüglich oben genannte, offenchirurgische Studien (80, 81) durch Büniger et al. an einem Sirolimus-freisetzenden PLLA/P4HB-Stents-Prototyp bereits vielversprechende Ergebnisse zeigten, erschienen Folgeuntersuchungen in diesem Tiermodell offenkundig.

## 2. ZIELSETZUNG

Diese wissenschaftliche Arbeit soll mithilfe eines zuvor etablierten Versuchsaufbaus herkömmliche permanente 316L-Metallstents mit bioabbaubaren Polymerstents auf Poly-L-Lactid und Poly-4-Hydroxybuttersäure (PLLA/P4HB) - Basis auf verschiedene Gesichtspunkte untersuchen. Die Anwendung einer parallelen oralen Medikation mit einer Hochdosis Atorvastatin (60 mg/d) einerseits sowie die Verwendung einer mit Sirolimus beladenen Trägerschicht andererseits und deren Auswirkungen auf die untersuchten Parameter sind hierbei von besonderem Interesse. Ziel ist es jeweils die unterschiedlichen Stent-Typen als auch die Stents gleichen Typs miteinander zu vergleichen.

Bei dem etablierten Versuchsaufbau handelt es sich um ein Tierversuchsmodell am Landschwein. Die Stentapplikation erfolgt ausschließlich im peripheren arteriellen Gefäßsystem.

Folgende Fragen sind hierbei von Interesse:

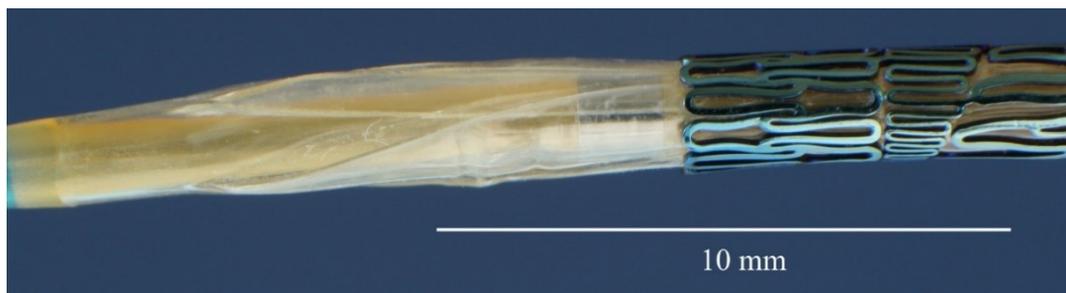
1. Wie verhalten sich die neuartigen biodegradierbaren Polymerstents (mit und ohne Sirolimus-Beschichtung) bezüglich der muralen Verletzungen, Inflammation, Stenosierung der Gefäßlumina/Offenheitsrate und neointimalen Hyperplasie gegenüber der permanenten Metallstents nach 4 Wochen?
2. Wie wirkt sich die 33-tägige orale Applikation einer Hochdosis Atorvastatin (60 mg/d) auf die untersuchten Parameter (Inflammation, In-Stent-Stenose, murale Verletzung, intimale Hyperplasie) aus?
3. Können computertomographisch signifikante Unterschiede bezüglich der In-Stent-Stenose mit und ohne Hochdosis Atorvastatin beobachtet werden?
4. Sind Unterschiede in den verwendeten Zielgefäßen (ACC vs. A. renalis) bezüglich Verletzung, Inflammation und konsekutiv in der Ausprägung einer neointimalen Hyperplasie auffällig?

### 3. MATERIAL UND METHODEN

#### 3.1 Stents

##### 3.1.1 Metall-Stents

Für alle Versuche wurden ballonexpandierbare rostfreie Edelstahl-Stents (316L) mit Siliziumkarbid-Beschichtung (Dynamic®, Biotronik; Berlin, Deutschland) verwendet. Diese sind auf einem Over-the-Wire-PTA-Katheter-Einführungssystem (Abb. 1) vormontiert, sterilisiert und werden mit 9 bar dilatiert. Nach vollständiger Entfaltung besitzen sie eine Expansionslänge von 25 mm und einen Durchmesser von 5 mm. Die Strutdicke beträgt 160 µm.

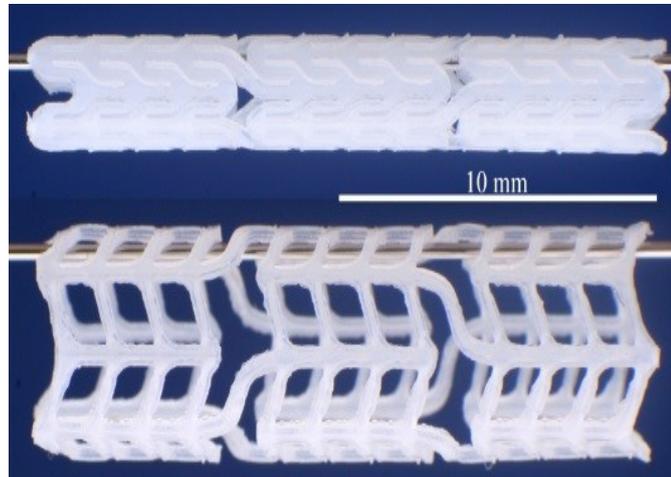


**Abbildung 1:** 316L-Stent auf OTW-PTA-System (Quelle: Grabow et al. 2013; doi: 10.1515/bmt-2012-0050, Abb. 2b)

##### 3.1.2 Polymer-Stents

Die eingesetzten Polymer-Stents wurden vom Institut für Biomedizinische Technik, Universitätsmedizin Rostock, entwickelt. Ihre chemische Grundsubstanz besteht aus einer Mischung aus Poly-L-Lactid-Säure (PLLA; Resomer® L214; Mw = 640.000 g/mol, Boehringer, Ingelheim, Deutschland) und Poly-4-Hydroxybuttersäure (P4HB; TephafLEX®, Tepha, Inc., Cambridge, MA, USA), in einem Verhältnis von 78/22%. Mittels Laser-Schnitt aus einer PLLA/P4HB-Röhre gefertigt, haben die Stents nach der Ballondilatation mit 8 bar eine nominale Größe von 5 mm Durchmesser und 20 mm Expansionslänge bei einer Strutdicke

von 250  $\mu\text{m}$ . Im unexpandierten Zustand beträgt der Innendurchmesser 2,2 mm und der Außendurchmesser 2,7 mm. (Abb. 2)



**Abbildung 2:** PLLA/P4HB-Polymer-Stent in unexpandiertem (oben) und expandiertem (unten) Zustand (Quelle: Kischkel et al. 2016, Gefäßchirurgie Suppl 1, S31)

### 3.1.2.1 Polymerstent mit Röntgenmarkierung

Mithilfe von feindispersierten Wolfram-Mikropartikeln (Tepha Inc., Lexington/MA, USA), welche an beiden Enden des Stent-Polymergerüsts aufgebracht wurden und röntgendicht sind, konnte das Institut für Biomedizinische Technik den Polymer-Stent modifizieren. Durch diese Röntgenmarker am proximalen und distalen Ende ist eine radiologische Lokalisationskontrolle des PLLA/P4HB-Stents in-vivo möglich, was wiederum die endovaskuläre Implantation im Zielgefäß sicherer macht. (Abb. 3)



**Abbildung 3:** Röntgenmarkierter PLLA/P4HB-Stent auf mit 0,8 bar vordilatierendem PTA-Ballon

### 3.1.2.2 Polymerstent mit SIR-Beschichtung

Diese Polymerstents wurden ebenfalls mittels Laser-Schnitt aus einer PLLA/P4HB-Röhre gefertigt und zusätzlich mit einer PLLA/P4HB/SIR-Lösung ummantelt. Diese Lösung wurde aus einer Matrix aus Poly-D,L-lactide (PDLLA; Resomer R207, Boehringer Ingelheim Pharma, Ingelheim, Germany) und P4HB mit einem Verhältnis von 75/25% und dem Immunsuppressivum Sirolimus (SIR, Cfm Oskar Tropitzsch, Marktredwitz, Germany) in einem Polymer-SIR-Massenverhältnis von 80/20% zusammengesetzt. Die Suspension wurde mittels spezieller Zerstäubertechnik auf den Polymerstent appliziert, in-vacuo bei Raumtemperatur getrocknet und mittels beta-Strahlung (25 kGy) bei 25° sterilisiert (84).

## 3.2 Tiermodell

Der Versuch wurde unter dem Aktenzeichen LALLF M-V/TSD/7221.3-1.2-016/10 und 3-1.1-027/12 geführt. Im Landesamt für Landwirtschaft, Lebensmittelsicherheit und Fischerei Mecklenburg-Vorpommern wurde der Versuch gemäß § 8 Abs. 1 des Tierschutzgesetzes in der Fassung vom 18. Mai 2006 sowie gemäß EU-Richtlinie 2010/63/EU genehmigt. Als Versuchstiere dienten 24 weibliche und 1 männliches Hausschwein (Deutsche Landrasse, *Sus scrofa domestica*) mit einem Körpergewicht zwischen  $25 \pm 2$  kg. Die Tiere wurden von Johannes Wübbel Laboratories (Schweineaufzucht Parkentin GbR, Am Stegebach 34a, 18209 Bartenshagen, Deutschland) bezogen und waren klinisch gesund.

Die Tiere wurden jeweils 7 Tage vor der Operation in die Zentrale Versuchstierhaltung des Instituts für experimentelle Chirurgie, Universitätsmedizin Rostock, geliefert und konnten sich an die Stallung adaptieren. Die Einzelboxen hatten eine konstante Raumtemperatur von 18 – 21°C, eine relative Luftfeuchtigkeit von 60% und an den Tagesrhythmus angepasste Lichtverhältnisse.

Während der Versuchszeit wurden die Tieren mit Alleinfuttermittel für Schweinehaltung (ssniff® MPig-H, Ssniff Spezialdiäten, Soest, Deutschland) gefüttert und hatten jederzeit freien Zugang zu Trinkwasser. Zur Durchführung einer komplikationslosen Allgemeinanästhesie wurde die Fütterung präoperativ für 12 Stunden pausiert. Insgesamt

23 Tiere wurden in drei Versuchsserien (A, B und C) aufgeteilt, wobei für alle Serien der gleiche Versuchsaufbau galt in welchem als Zugangsgefäß die Arteria iliaca communis und als mögliche Zielgefäße sowohl die Arteria carotis communis als auch die Arteria renalis mit der Bedingung eines Abgangswinkels von  $>70^\circ$  festgelegt wurden. Alle Tiere verbrachten vom Implantations- bis zum Explantationsdatum 4 Wochen (28 Tage) in der Stallung.

### 3.2.1. Versuchsserie A

Diese Versuchsreihe wurde mit 8 weiblichen und 1 männlichen Schwein durchgeführt (A/A – A/I). Versuchstier (A/E) verstarb während der Implantations-Operation aufgrund eines Gefäßtraumas beim Schleusenwechsel, welcher daraufhin nachfolgend nur noch unter Sicht vorgenommen wurde. Serie A beinhaltete somit  $n=8$  Versuchstiere für die Ergebnissuche. In den Versuchen der Serie A wurden herkömmliche permanente 316L Metallstents mit den neuartigen biodegradierbaren PLLA/P4HB -Stents verglichen. Ab dem Versuchstier A/H wurden diese durch modifizierte röntgenmarkierte PLLA/P4HB-Polymer-Stents ersetzt welche in Serie B weiterverwendet wurden.

### 3.2.2 Versuchsserie B

Die zweite Versuchsreihe wurde mit 6 weiblichen Schweinen durchgeführt (B/A – B/F). Mit gleichem Versuchsaufbaus wie in Serie A wurden den Tieren herkömmliche permanente 316L Metallstents endovaskulär implantiert. Diese wurden mit den modifizierten röntgenmarkierten PLLA/P4HB-Stents verglichen. Weiterhin erhielten die Tiere ab Versuchstier B/C eine orale Hochdosis-Therapie Atorvastatin (60 mg/d; Sortis®, Pfizer Pharma, Karlsruhe, Deutschland). Diese wurde 5 Tage vor Stent-Implantation begonnen und bis zum Tag der Stent-Explantation fortgeführt.

### 3.2.3 Versuchsserie C

Die dritte Versuchsreihe wurde mit 9 weiblichen Schweinen durchgeführt (C/A – C/J). In gleicher Weise wie in den ersten beiden Versuchsreihen wurden im direkten Vergleich 316L

Stents und SIR-beschichtete PLLA/P4HB-Stents implantiert. Die in Serie C verwendeten Polymer-Stents enthielten eine Sirolimus eluierende Trägerschicht, im Gegensatz zu Serie B jedoch keine Röntgenmarkierung. Zwei Versuchstiere verstarben, C/C post-implantationem vermutlich aufgrund innerer Blutung, C/I im Zuge der Implantationsoperation aufgrund einer disseminierten intravasalen Koagulopathie. Serie C beinhaltete damit n=7 Versuchstiere zur Auswertung.

### 3.3 Versuchsaufbau

#### 3.3.1 Vorbereitung der Operation

Nach Akklimatisierung der Tiere an die Stallungen wurde 3 Tage präoperativ mit einer dualen Thrombozytenaggregationshemmung begonnen. Diese bestand aus einer täglichen oralen Gabe von 75 mg Clopidogrel (Plavix® 75 mg, Sanofi–Synthlabo, Berlin, Deutschland) sowie 250 mg Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®Kautabletten, 500 mg; Bayer, Leverkusen, Deutschland) und wurde bis zum Explantations-Termin verabreicht. 12 Stunden vor der Operation wurde strikte Nahrungskarenz eingehalten. Trinkwasser stand ad libitum zu Verfügung.

Am Operationstag erfolgte 45 min präoperativ eine gewichtsadaptierte intramuskuläre Prämedikation mithilfe eines Gemisches aus Ketamin (15 mg/kg KG i.m. Ketamin 10 %, Bela-Pharm, Vechta) und Azaperon (2-4 mg/kg KG i.m. Stresnil®, Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland). Zur weiteren Sedierung erfolgte 10 min später die gewichtsadaptierte Gabe von Ketamin (20 mg/kg KG i.m.), Midazolam (0,2 mg/kg KG i.m. Midazolam-ratiopharm®, Ratiopharm, Ulm, Deutschland) und Atropin (0,1 mg/kg KG i.m.). Es folgte das Waschen der Versuchstiere. Nach Transport in den Operationssaal wurden die Tiere in Rückenlage auf dem Operationstisch gelagert und fixiert.

Initial erfolgte das Anschließen eines Pulsoxymeters am Schwanz des Tieres mit dessen Hilfe eine kontinuierliche Kontrolle der arteriellen O<sub>2</sub>-Sättigung und der Herzfrequenz erfolgte. Eine venöse Verweilkanüle zur Medikamentenapplikation wurde in eine Ohrvene platziert (20 Gauge, Vasofix®, B. Braun, Melsungen, Deutschland). Über diese wurde eine Muskelrelaxation mit Pancuronium (10 mg/h i.v., Pancuronium Hikma®, Hikma Pharma, Klein-Winternheim, Deutschland) und eine Vertiefung der Analgosedierung mit Fentanyl

(0,25 mg/h i.v. Fentanyl®-Janssen, Janssen-Cilag, Neuss, Deutschland) begonnen, welche über den operativen Eingriff beibehalten wurden.

Nach dreiminütiger manueller Präoxygenierung mit 100 % O<sub>2</sub> erfolgte die endotracheale Intubation mithilfe eines Laryngoskops und eines Endotrachealtubus (7,0 mm ID, Mallinckrodt, Athlone, Irland).

Über die Dauer der Operation erfolgte eine maschinelle Beatmung (Ventilog 2, Dräger, Lübeck, Deutschland) mit folgenden Parametern:

Positiver endexpiratorischer Druck	3-4 mmHg
Atemfrequenz	17-18/min
Atemhubvolumen	260 – 320 ml
Inspiratorische Frischgaszufuhr	14 – 17 L/min
Endtidaler CO <sub>2</sub> -Partialdruck	4 – 4,9 kPa

Das Atemgasgemisch enthielt 0,7 – 1,2 Vol. % Isofluran (Isofluran Deltaselect, Avtavis Dtl., Langenfeld, Deutschland) und ein O<sub>2</sub>-Anteil von 40 %.

Die prä- und intraoperative Flüssigkeitssubstitution erfolgte mit isotoner Kochsalzlösung (NaCl 0.9 %, Fresenius, Bad Homburg, Deutschland) und Ringer-Lactat-Lösung (Sterofundin®, B. Braun, Melsungen, Deutschland) über die liegende Venenverweilkanüle.

Die Antikoagulation wurde durch die Gabe von Heparin (2.000 IU/h, max. 10.000 IU; Liquemin®, Hoffmann La Roche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) mittels Perfusor gewährleistet.

### 3.3.2 Durchführung der Operation

#### 3.3.2.1 Implantation

Initial wurde der Operationsbereich dreimalig großflächig desinfiziert (Braunoderm®, B. Braun, Melsungen, Deutschland) und mit einem sterilen Lochtuch (Angiokard Medizintechnik, Friedeburg, Deutschland) abgedeckt. Es folgte die Durchführung eines 5 – 7 cm langen Hautschnittes in der linken Leistengegend um das Zugangsgefäß zu erreichen. Durch stumpfe manuelle Präparation nach dorsomedial konnte die linke Arteria iliaca

communis freigelegt werden. Diese wurde bei allen Versuchen als Zugangsgefäß genutzt. Als Zielgefäße für die Stent-Implantation nutzte man die Aa. carotides communes und die Aa. renales, wobei bei Letzteren zur Vermeidung einer Gefäßverletzung ein Abgangswinkel  $>70^\circ$  von der abdominalen Aorta als Richtwert galt. Die endovaskulären Schritte des Eingriffes wurden stets unter Durchleuchtungskontrolle mit einem C-Bogen (Ziehm Vario 3D, Ziehm Imaging GmbH, Nürnberg, Deutschland) durchgeführt. Nach Freilegung der Arterie wurde diese mithilfe eines Vessel Loops angeschlungen, um bei akzidenteller Verletzung eine rasche Unterbindung der Perfusion zu gewährleisten. Die angeschlungene Arteria iliaca communis sinistra wurde nun mit einer Kanüle punktiert und mittels Seldinger-Technik eine Schleuse eingeführt. Dafür wurde der zum Seldinger-Punktionsset gehörende Introducer-Draht durch einen Führungsdraht (PTFE-coated Guide Wire, 150 cm, Optimed, Ettlingen, Deutschland) ersetzt und über den Führungsdraht, welcher bis in die Aorta abdominalis vorgeschoben wurde, die Schleuse in das Gefäß eingebracht. Die 6F-Schleuse (Radiofocus® Introducer II 6F, 45 cm, Terumo Europe, Leuven, Belgien) wurde zur Bougierung der Punktionsstelle genutzt. Weiterhin konnectierte man eine Hahnbankgruppe (Angiodyn Half Body Hahnbank, B. Braun, Melsungen, Deutschland) mit der 6F-Schleuse. Über die Hahnbankgruppe konnte im Operationsverlauf die Heparin-, NaCl- und Kontrastmittelgabe (Visipaque 270 mg, GE Healthcare, Cork, Irland; Solustrast® 300, Bracco Imaging, Konstanz, Deutschland) erfolgen.

Der liegende Führungsdraht wurde durch einen längeren Draht (Radiofocus® Guide Wire M, 260 cm, Terumo Europe, Leuven, Belgien) ersetzt, über welchen man nun einen Pigtail-Katheter (Tempo 5®, Cordis, Miami/FL, USA) bis distal der Nierenarterienabgänge vorschob. Nach Entfernung des liegenden Drahtes erfolgte über den Katheter eine digitale Subtraktionsangiographie (DSA) der Nierenarterien. Um möglichst hochqualitative radiologische Aufnahmen zu bekommen und alle relevanten Gefäßbereiche mit Kontrastmittel zu perfundieren setzte man einen Hochdruckinjektomat (Stellant® Sx CT Injektionssystem, Medrad, Volkach, Deutschland) ein.

Über den liegenden Pigtail-Katheter wurde nun ein etwas steiferer Draht (Rosen Wire®, Cook Inc., Bloomington/IN, USA) eingeführt. Die noch liegende 6F-Schleuse wurde nach Dekonnectierung der Hahnbankgruppe entfernt und durch eine 8F-Schleuse ersetzt. In den Versuchreihen A und B kam eine 8F-Schleuse (Flexor® Tuohy-Borst Sidearm Introducer, 90 cm, 8F, Cook Inc., Bloomington/IN, USA) zum Einsatz, welche zuvor manuell auf 35cm

gekürzt und händisch geglättet wurde um eine Gefäßwandtraumatisierung zu vermeiden. Nach Verlust eines Versuchstieres (C/C) durch vermutete traumatische Gefäßwandruptur während des Implantationsvorganges konnte ab Versuchstier E der Serie C eine bereits kürzere 8F-Schleuse (Flexor® Check-Flow® Introducer, 55cm, 8F, Cook Inc., Bloomington/IN, USA) erfolgreich etabliert werden. Heparin wurde nun intraarteriell appliziert und nicht mehr über die Ohrvene (intravenös) gegeben. Im Folgenden wurden je nach Entfernung des Zielgefäßes von der Punktionsstelle unterschiedliche Angiographie-Katheter (MP A1, Super Torque® Angiographic Catheter, 125 cm, 4F, Cordis, Miami/FL, USA; Pigtail, Tempo 5®, Cordis, Miami/FL, USA; Van Schie Beacon®, Cook Medical, USA) verwendet und über Führungsdrähte an die gewünschte Lokalisation platziert. Dies erfolgte unter angiographischer Durchleuchtungskontrolle. Vor definitiver Implantation der Stents wurde mithilfe des Hochdruck-Injektomats eine DSA-Aufnahme des jeweiligen Gefäßabschnittes durchgeführt, um sich ein exaktes Bild der Anatomie zu verschaffen.

Über das liegende 8F-Schleusensystem wurden die Stent-Ballon-Systeme unter radiologischer Kontrolle in die Zielgefäße vorgeschoben um in der Folge dort platziert zu werden.

Die permanenten 316L-Metall-Stents lagen in einem vormontierten Stent-Ballonkatheter-Set (ACC: Dynamic®5/25/130, A. renalis: Dynamic® 5/25/80; Biotronik, Berlin, Deutschland) vor. Sie wurden an die festgelegte Stelle vorgeschoben und der Ballonkatheter mit 9 bar dilatiert (Inflationsspritze, Basix® Kompak Inflationsspritze, Merit Medical, Irland). Unter Durchleuchtung wurde die Expansion der Metall-Stents kontrolliert. Nach vollständiger Expansion wurde der Ballonkatheter deflatiert und entfernt.

Die bereits sterilisierten (SIR-)PLLA/P4HB- Stents wurden mithilfe eines Ballonkatheters (Pheron 5/40/130, Biotronik GmbH & Co. KG, Berlin) für die perkutane transluminale Ballonangioplastie (PTA) implantiert. Vor der Implantation wurden die bereitgestellten Polymer-Stents in einer 70 %-igen Ethanol-Lösung für 1 Minute desinfiziert und 5 Minuten in 37°C warmen Kochsalz präkonditioniert. Nachfolgend erfolgte das manuelle Aufbringen des Stents auf den deflatierten PTA-Ballon. Dieser wurde nun mithilfe der kontrastmittelgefüllten Inflationsspritze extrakorporal auf 0,5 – 0,7 bar vordilatiert. Nach endoluminaler Platzierung im Zielgefäß erfolgte unter radiologischer Kontrolle schrittweise die Dilatation des Ballons auf 8-9 bar. Um die vollständige Expansion des Polymer-Stents zu kontrollieren half jeweils die Kontrastmittelfüllung der Inflationsspritze. Obwohl in

Versuchsserie B mit den aufgebrauchten Röntgenmarkern eine suffiziente Expansions- und Lagekontrolle möglich war nutze man weiterhin eine kontrastmittelgefüllte Inflationsspritze. Auch bei den (SIR-)PLLA/P4HB-Polymer-Stents wurde nach vollständiger Expansion der Ballon deflatiert und entfernt.

Nach abgeschlossener Stent-Implantation wurde von dem jeweiligen Gefäßbereich mithilfe des Hochdruck-Injektomats eine DSA-Übersichtsaufnahme gefertigt. Zum Ende des operativen Eingriffes wurden alle endovaskulär platzierten Drähte und Katheter entfernt und das Zugangsgefäß mittels einer Gefäßklemme ausgeklemmt. Zeitnah erfolgte der Gefäßverschluss mit einer Gefäßnaht. Alle Muskel- und Faszien-schichten wurden dicht abgeschlossen. Um regionale Infektionen zu vermeiden wurden lokal 2 ml Gentamicin (80 mg, Gentamicin-ratiopharm®, Ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) appliziert. Die Haut wurde mit einer fortlaufenden Naht verschlossen.

### 3.3.2.2 Postoperative Nachbehandlung

Für die peri- und postoperativen Antibiotikaprophylaxe wurden den Tieren bis zum 4 postoperativen Tag 4 ml Strepdipen i.m. (100000 I.E. Benzylpenicillin-Benzathin 83,33 mg, Serumwerk-Bernburg, Deutschland) verabreicht. Um regionalen Weichteilinfektionen und Hämatomen vorzubeugen wurden der Wundbereich bei Bedarf mit Gentamycin (Gentamycin Salbe 0,1 %, Medphano, Rüdersdorf, Deutschland), Bromovidon (Braunovidon® Salbe, B. Braun, Melsungen, Deutschland) und Heparin-Salbe (Thrombocutan® 30.000 Salbe N, Mibe, Brehna, Deutschland) behandelt.

Vor der Extubation wurde zur Schmerzprophylaxe 2,5 ml Novalgin (Novaminsulfon-ratiopharm® 2,5g/5ml Injektionslösung, Ratiopharm, Ulm, Deutschland) intravenös verabreicht. Bei stabilen Vitalparametern und einsetzender Spontanatmung konnten die Tiere extubiert und nachfolgend 15 mg Mucosolvan® (Boehringer, Ingelheim, Deutschland) zur Schleimlösung peroral verabreicht werden. Anschließend wurden sie in die Stallung transportiert. Über die ersten 4 postoperativen Tage wurden jeweils dreimal täglich 20 Tropfen Novamin (Novaminsulfon-ratiopharm® 500mg/ml Tropfen, Ratiopharm, Ulm, Deutschland) zum Futter addiert.

Die dem Implantationsdatum folgenden 28 Tage verbrachten die Schweine unter täglicher Beobachtung und Einhaltung der Medikation in der Zentralen Versuchstierhaltung der Universitätsmedizin Rostock.

### 3.3.2.3 Explantation

Vier Wochen nach der Stent-Implantation wurden die Versuchstiere analog zur Implantationsoperation vorbereitet und prämediziert. Es folgte das Waschen und Wiegen der Tiere. Nachdem sowohl an einem Ohr als auch an einer großlumigen Bauchvene eine venöse Verweilkanüle eingebracht wurde, konnten die Tiere in das Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsmedizin Rostock, transportiert werden. Dort führte man eine kontrastmittelunterstützte Computertomographie durch. Nach Rücktransport und erneuter Lagerung des Tieres erfolgte in Analogie zur Implantationsoperation die Allgemeinanästhesie. Unter maschineller Beatmung und suffizienter Analgosedierung wurden die radiologisch sichtbaren Stents mit dem C-Bogen lokalisiert. Im Halsbereich wurde die Lage auf der Haut markiert um später eine zielgenaue Hautinzision durchführen zu können.

Durch eine mediane Laparotomie verschaffte man sich Zugang zur Aorta abdominalis. Diese wurde punktiert und mit einer 6F-Schleuse versehen. Parallel wurden beidseits die gestenteten Bereiche der Halsschlagadern möglichst atraumatisch freigelegt.

Über einen Führungsdraht wurde ein Katheter in die Bereiche der Zielgefäße platziert und von diesen vor der Stent-Explantation eine digitale Subtraktionsangiographie zu Beurteilung der in-situ-Restenose und der Lage der Stents durchgeführt. Nach Entfernung der endovaskulär platzierten Instrumente applizierte man einen 5000 IE Heparin Bolus intravenös um einer In-Stent-Thrombose vorzubeugen. Mit einem Abstand von ca. 1,5 cm zum proximalen und distalen Stent-Ende wurden die Gefäße abgeklemmt, ligiert und exzidiert. Ohne zeitlichen Verzug erfolgte die Euthanisierung des Versuchstieres mittels einer letalen Dosis Kaliumchlorid (60 mmol, Versuchsreihe A + B) oder T61 (Kombinationspräparat aus Embutramid, Mebezonium und Tetracain; Versuchsreihe C). Die Tiere kamen anschließend in spezielle Entsorgungsbehältnisse. Die explantierten Gefäßabschnitte markierte man am distalen Gefäßende mit einem Faden und säuberte sie in NaCl 0,9 % von makroskopisch sichtbarem Fremdmaterial. Nach Beurteilung auf

Offenheit und äußerliche Traumatisierung erfolgte die Fixierung und Konservierung in Formaldehyd (Formaldehydlösung, neutral gepuffert, 3,5 – 3,7 %, Firma Fischer, Saarbrücken, Deutschland) für weitere histologische Untersuchungen.

### 3.4 Peri- und postoperative Untersuchungen

#### 3.4.1 Basisparameter

Während der Implantation wurden prä- und postoperativ venöse Blutentnahmen durchgeführt. Bei der Explantation erfolgte dies lediglich präoperativ. Von diesen Blutproben wurde eine Blutgasanalyse (Rapidlab™, Bayer, Eastwalprode, USA) erstellt. Dabei wurden folgende Parameter kontrolliert: pH, pCO<sub>2</sub>, pO<sub>2</sub>, HCO<sup>3-</sup>, BE, O<sub>2</sub>-Sättigung, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>2+</sup>. Die genannten Parameter wurden zusätzlich auch aus intraoperativ entnommenem arteriellem Blut bestimmt.

Perioperativ wurden arterielle Sauerstoffsättigung und Herzfrequenz gemessen und dokumentiert. Intraoperativ, während Implantation und Explantation, entnahm man einmalig arterielles Blut über die liegende 6F-Schleuse und führte eine arterielle Blutdruckmessung (arter. RR<sub>systolisch</sub>/arter. RR<sub>diastolisch</sub>) durch. Die Messung des arteriellen Blutdruckes erfolgte jedoch erst ab Versuchsreihe B. Im Zentrallabor der Universitätsmedizin Rostock bestimmte man folgende Parameter des arteriellen Blutes: Hämoglobin (Hb), Hämatokrit (Hkt), Erythrozytenzahl, mittleres korpuskuläres Volumen (MCV), mittleres korpuskuläres Hämoglobin (MCH), mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC), Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl, Prothrombinzeit (Quick), International Normalized Ratio (INR), Thromboplastinzeit (aPTT), C-reaktives Protein (CRP), Glucose.

Für Versuchsreihe B erweiterte man diese Werte um Folgende:

Aspartat-Aminotransferase (ASAT), Alanin-Aminotransferase (ALAT),  $\gamma$ -Glutamyltransferase ( $\gamma$ -GT), Alkalische Phosphatase (AP), Lactat-Dehydrogenase (LDH), Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride (TG), Kreatinin.

### 3.4.2 Bildgebende Verfahren

Während intraoperativ sowohl radiologische Durchleuchtungsverfahren als auch angiografische Visualisierungsmethoden zur Positionierung und Kontrolle der Lage der Stents im Gefäßsystem zum Einsatz kamen, erfolgte post implantationem eine dimensionale Messung der implantierten Stents mittels Computertomographie.

#### 3.4.2.1 Angiographie

Unter Zuhilfenahme intravasal liegender Katheter und intraluminal appliziertem Kontrastmittel konnte die Anatomie der Gefäße in vivo dargestellt werden. Dafür durchleuchtete man den Zielbereich mit dem C-Bogen. Die dadurch erlangten Informationen halfen bei den endovaskulären Arbeitsschritten und der Platzierung der Stents. Vor der Stent-Im- und Explantation wurde eine DSA des Gefäßbereiches durchgeführt. Hierbei wird ein zuvor angefertigtes konventionelles Röntgenbild von einem anschließend durchgeführten Kontrastbild abgezogen, sodass schließlich nur die kontrastmittelgefüllten Gefäße zu sehen und damit sehr genau abgrenzbar sind (Abbildung 4).



**Abbildung 4:** Repräsentative digitale Subtraktionsangiographie der Aa. carotides communes

### 3.4.2.2 Computertomographie

Bei 7 Versuchstieren aus Serie A und bei 4 Tieren aus Serie B wurden im Institut für Diagnostische und Interventionelle Radiologie, Universitätsmedizin Rostock, kontrastmittelunterstützte Schnittbilder der Stents in-vivo aufgenommen. Für die Untersuchungen nutzte man ein 64-Zeilen-Computertomographie-Gerät (Aquilion 64, Toshiba Medical Systems, Neuss, Deutschland), mit welchem native und kontrastierte arterielle Aufnahmen getätigt wurden. Die aus den Bildern abgeleiteten Messungen beinhalteten die Expansionslänge der Stents in der Längsachse des Gefäßes. Weiterhin wurde bei jedem Stent im distalen, medialen und proximalen Anteil der lumenale Querdurchmesser in zwei 90° zueinanderstehenden Achsen ( $d_1$ ,  $d_2$ ) ermittelt (Abbildung 5). Die 6 gemessenen Werte wurden gemittelt um den durchschnittlichen intraluminalen Durchmesser ( $MW ID_{S1/2}$ ) zu errechnen. Gleiches Verfahren wurde im nativen Gefäßbereich distal und proximal des Stents eingesetzt um den normalen Gefäßlumendurchmesser ( $MW ID_{G1/2}$ ) bestimmen zu können (Abbildung 6).

Der Innendurchmesser ( $ID_{G/S}$ ) wurde dann für die vermessenen Stents und Nativgefäße mit  $ID_{G/S} [mm] = (MW ID_1 + MW ID_2)/2$  berechnet.

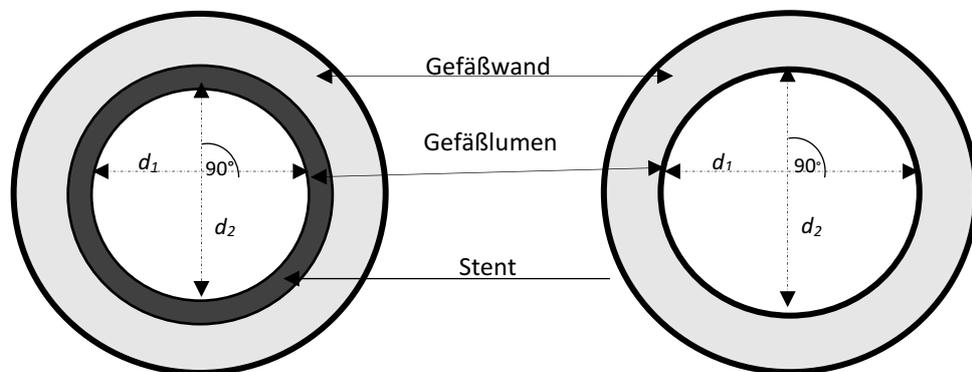


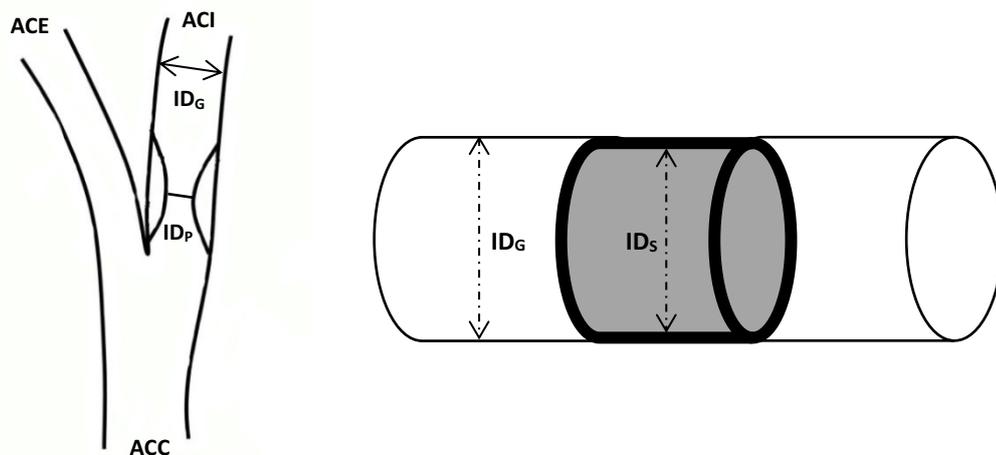
Abbildung 5: CT-Messung der Innendurchmesser; Stent (links), Gefäß (rechts)

Zum direkten Vergleich der Fläche ( $A_L$ ) der durchflossenen Restlumina bei Metall- und Polymerstent nutzte man die berechneten Mittelwerte wie folgt:

$A_L [mm^2] = \pi r^2$ , wobei man davon ausging, dass das Restlumen einem idealen Kreis entspricht und für  $\pi r^2 = (ID_{G/S}/2)$  gilt.

Mithilfe einer Formel der NASCET-Studie (North American Surgical Carotid Endarterectomy Trial) konnten die Werte der Durchmesser ( $ID_{G/S}$ ) auch zur Bestimmung des distalen Stenosegrades genutzt werden:  $NASCET [\%] = (ID_G - ID_S) / ID_G * 100$ .

Dieser vergleicht das Restlumen des nativen Gefäßes ( $ID_G$ ) mit dem mit einem Stent versehenen Bereiches ( $ID_S$ ) miteinander. In der NASCET-Studie bestimmte man den distalen Stenosegrad bei karotidalen Stenosierungen durch arteriosklerotische Plaques ( $ID_P$ ).

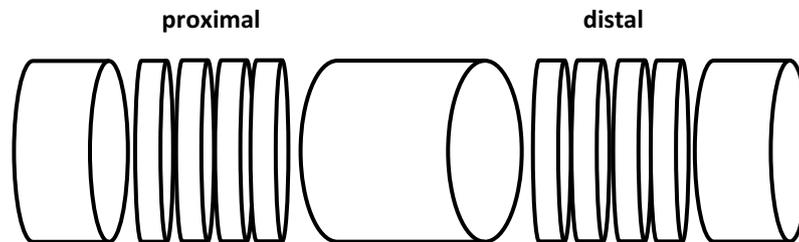


**Abbildung 6:** Parameter des distalen Stenosegrades im Stent ( $ID_S$ ) abgeleitet von arteriosklerotischen Plaques-Stenosen ( $ID_P$ ) in Bezug auf den karotidalen (AC) Gefäßwand diameter ( $ID_G$ ) (NASCET)

### 3.4.3 Histologische Untersuchungen

Alle exziierten Stent-tragenden Gefäße ( $n = 65$ ; 30 316L-Metall-Stents, 35 PLLA/P4HB-Polymerstents, davon 26 röntgenmarkierte PLLA/P4HB-Polymerstents, 12 SIR-PLLA/P4HB-Stents) wurden postoperativ in Formalin fixiert. An der Medizinischen Hochschule Hannover wurden histologische Präparate angefertigt. Dafür dehydrierte man das Material in einer aufsteigenden Alkoholreihe, bettete es in Kunststoff (Technovit 9100, Heraeus Kulzer, Wehrheim, Deutschland) ein um es nachfolgend mit einem Mikrotom (HM 355 S, Mikrom International, Walldorf, Deutschland) zu schneiden. Die Schnittebenen der 5  $\mu$ m dicken Scheiben befanden sich im proximalen und distalen Stent-Segment. Es wurden jeweils 4 Dünnschnitte pro Segment erstellt. Abbildung 7 zeigt die Schnitfführung. Bevor

eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE) durchgeführt wurde, brachte man die Schnitte auf jeweils einen Objektträger auf. Abschließend versiegelte man die Präparate mittels eines Deckblättchens und Klebstoff.



**Abbildung 7:** Schematische Darstellung der Schnittführung zur Präparate-Herstellung

Alle nach dem zuvor beschriebenen Verfahren erhaltenen Schnitte wurden nun digitalisiert (Mikroskopkamera, Axioskop 40, Axio Cam MRc5, Carl Zeiss, Hamburg). Anschließend wurden die histologischen Präparate durch drei unabhängige Untersucher morphologisch nach festgelegten Punktzahlen (engl. Score) (Injury- und Inflammatory-Score) analysiert und den entsprechenden numerischen Vergleichswerten zugeordnet.

Weiterhin wurden die digitalisierten histologischen Präparate mithilfe eines Computerprogrammes (ImageJ Software, Version 1.42q, U.S. National Institutes of Health, Bethesda/ML, USA, <http://imagej.nih.gov/ij/>) morpho- und planimetrisch vermessen.

### 3.4.3.1 Inflammatory-Score (Entzündungs-Score)

Um den mittleren Inflammatory-Score eines Stents zu erhalten wurde das die Stent-Struts (engl. Strebe) umliegende Gewebe mit dem Inflammatory-Score nach Karnowski (12) bewertet (Tabelle 2) und durch die Gesamtzahl der bewerteten Struts geteilt. Dabei wurde das Vorhandensein lymphohistiozytärer Infiltrate und deren Dichte und Lage zur jeweiligen Stent-Strebe beurteilt.

**Tabelle 2:** *Inflammatory-Score nach Karnowski*

**Inflammatory-Score**

---

- 0 keine inflammatorische Reaktion
  - 1 leichte, nicht zirkumferente lymphohistiozytäre Infiltrate in der Strut-Umgebung
  - 2 lokalisierte mäßige bis dichte Infiltration in der Strut-Umgebung, nicht zirkumferent
  - 3 dichte, zirkumferente lymphohistiozytäre Zellinfiltration
- 

3.4.3.2 Injury-Score (Verletzungs-Score)

Um den Injury-Score nach Schwartz (14) zu erhalten wurde jeder Stent-Strut semiquantitativ einem Verletzungs-Punktwert (Tabelle 3) zugeordnet und nachfolgend das arithmetische Mittel der erfassten Werte erstellt. Im Fokus standen die verschiedenen mikroskopischen Schichten der Gefäßwand. Dabei besonders die Membrana elastica interna (engl. Internal Elastic Membrane), die Tunica media, die Membrana elastica externa (engl. External Elastic Membrane) und die Tunica adventitia.

**Tabelle 3:** *Injury-Score nach Schwartz*

**Injury-Score**

---

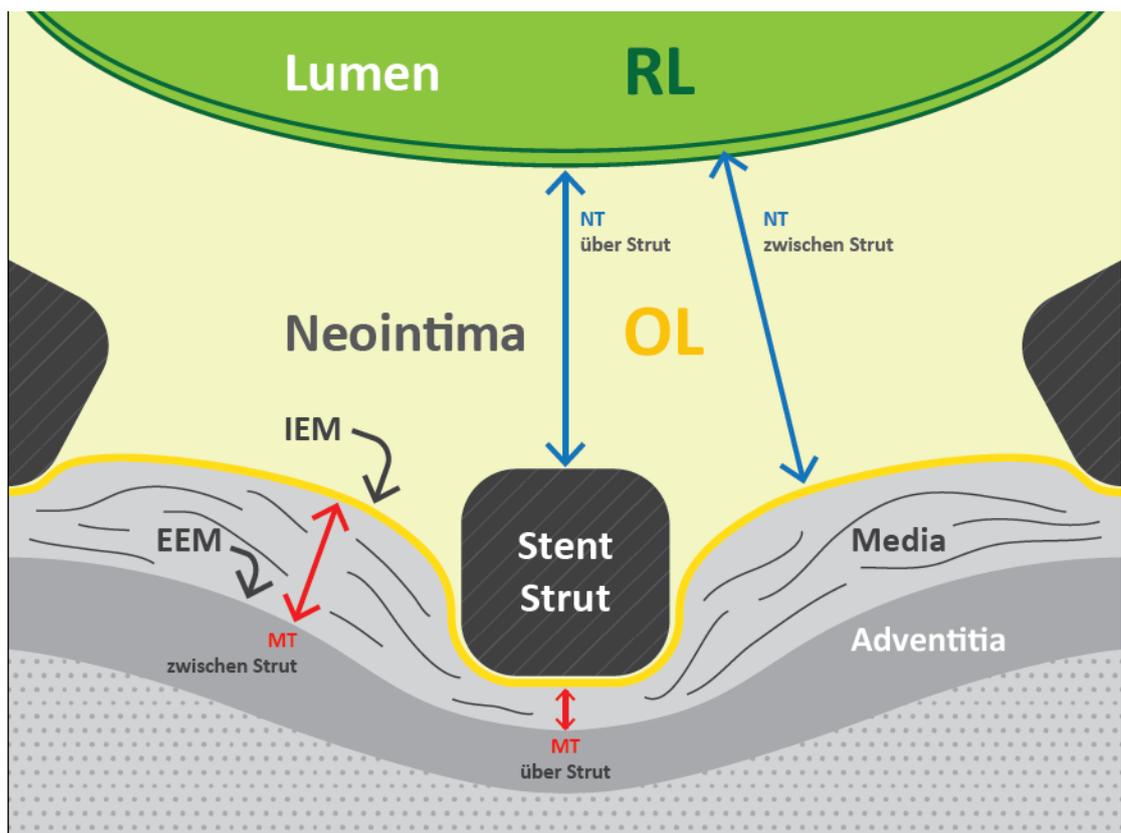
- 0 IEM intakt; TM nicht komprimiert
  - 1 IEM intakt oder gering lazeriert; TM komprimiert, nicht lazeriert
  - 2 IEM und TM lazeriert; EEM und TA intakt
  - 3 EEM und TA lazeriert oder perforiert
- 

*(IEM = Internal elastic membrane; EEM = external elastic membrane; TM = Tunica media; TA = Tunica adventitia)*

### 3.4.3.3 Morphometrie

Um die neointimale Hyperplasie (Neointima) und die Dicke der Tunica media (TM) in den gestenteten Gefäßabschnitten zu bestimmen nutzte man die digitalisierten histologischen Präparate.

Die Strecke zwischen der Lamina elastica interna und dem Lumen wurde als neointimale Dicke (NT) definiert. Diese wurde an vier verschiedenen Punkten (Endpunkte zweier in etwa orthogonal aufeinander stehenden Diameterachsen) jeweils über den Stent-Streben und zwischen den Struts gemessen und dieser Wert gemittelt. So erhielt man für jeden histologischen Schnitt einen Mittelwert der neointimalen Hyperplasie. Analog ging man vor um das arithmetische Mittel der Mediadicke (MT) zu erhalten. Hier wurde jedoch die Strecke zwischen Lamina elastica interna (IEM) und Lamina elastica externa (EEM) jeweils abluminal der Stent-Struts und zwischen den Stent-Streben vermessen (Abbildung 8).



**Abbildung 8:** Schema der morphometrischen und planimetrischen Messungen (Modifiziert nach Kornowski)

#### 3.4.3.4 Planimetrie

Planimetrische Untersuchungen erfolgten ebenfalls an den digitalisierten Aufnahmen der histologischen Präparate. Abbildung 8 stellt die relevanten Flächen dar. Ermittelt wurden die Fläche der neointimalen Hyperplasie (NF, gelb) sowie die auf die Fläche des Original-Lumens (OL, Residual-Lumen + Neointima-Fläche) bezogene prozentuale Restenoserate (RF). Dafür wurde initial die Fläche zwischen der Lamina elastica interna (IEM) und der luminalen Neointima-Grenze mithilfe des ImageJ-Programms berechnet. Das Residual-Lumen (RL) stellt die luminalen Neointima-Grenze dar. Die IEM definiert die äußere Grenze der Neointima und gleichzeitig die luminalen Grenze des Original-Lumens. Daraus ergibt sich für die neointimale Fläche die Formel  $NF [mm^2] = OL - RL$ .

Der prozentuale Grad der Stenose durch die neointimale Hyperplasie, welcher von Neointima-Fläche und Original-Lumen abhängt, wurde daraufhin wie folgt berechnet:

$$\text{Prozentuale Restenoserate } RF [\%] = 100 \times \left(1 - \frac{RL}{OL}\right).$$

### 3.5 Statistische Auswertung

Mithilfe einer LEONARDO Workstation (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Deutschland) wurden Messungen an den computertomographischen Aufnahmen der karotidalen Stents durchgeführt. Für die statistischen Auswertungen und Berechnungen wurde das Statistikprogramm SigmaPlot® 11.0 (Systat Software Inc., Erkrath, Deutschland) verwendet. Der Vergleich zweier unabhängiger normalverteilter Gruppen erfolgte mit dem einfachen t-Test. Für den Vergleich von mehr als zwei Gruppen nutzte man die einfache ANOVA (Abk.; engl., analysis of variance). Bei nicht normalverteilten Kollektiven wurde der Mann – Whitney Rank Sum – Test eingesetzt. Es werden jeweils Mittelwert (MW) ± Standardabweichung (SD) angegeben. Ein p-Wert von  $p < 0.05$  wurde als statistisch signifikant festgelegt.

## 4. ERGEBNISSE

### 4.1 Versuchsaufbau und Tiermodell

Die Versuchsreihen beinhalteten initial 25 Versuchstiere. Da die Schweine A/E, C/C, C/I verstarben und Schwein C/A aus oben genannten Gründen aus der Versuchsreihe exkludiert wurde, standen für die Erstellung und Auswertung der Ergebnisse eine Anzahl von n = 21 Schweinen zur Verfügung.

Während der Versuchsserie A wurden insgesamt 16 Stents (7 permanente Metall-Stents, 9 PLLA/P4HB-Polymer-Stents) implantiert. Tabelle 4 zeigt die Stent-Lokalisation bei den verschiedenen Versuchstieren.

**Tabelle 4:** Stent-Lokalisation Versuchsreihe A

Zielgefäß	ACC rechts	ACC links	AR rechts	AR links
<b>Schwein</b>				
<b>A/A</b>	316L	PLLA/P4HB	-	-
<b>A/B</b>	PLLA/P4HB	316L	-	PLLA/P4HB
<b>A/C</b>	316L	PLLA/P4HB	PLLA/P4HB	316L
<b>A/D</b>	PLLA/P4HB	316L	-	-
<b>A/F</b>	316L	PLLA/P4HB	-	-
<b>A/G</b>	PLLA/P4HB	316L	-	PLLA/P4HB

*(ACC = Arteria carotis communis; AR = Arteria renalis; PLLA/P4HB = Polymer-Stent; PLLA/P4HB rm = röntgenmarkierter Polymer-Stent; 316L = Metall-Stent)*

Über den Verlauf der Versuchsreihe B konnten insgesamt 26 Stents (14 röntgenmarkierte PLLA/P4HB-Polymer-Stents; 12 permanente Metall-Stents) erfolgreich implantiert werden. Tabelle 5 zeigt die Implantationsstellen in den 4-Wochen-Versuchen der Versuchsserie B.

## ERGEBNISSE

**Tabelle 5: Stent-Lokalisation Versuchsreihe B**

Zielgefäß	ACC rechts	ACC links	AR rechts	AR links
<b>Schwein</b>				
<b>B/A</b>	PLLA/P4HB rm	-	316L	316L
<b>B/B</b>	PLLA/P4HB rm	316L	316L	PLLA/P4HB rm
<b>B/C</b>	PLLA/P4HB rm	316L	316L	PLLA/P4HB rm
<b>B/D</b>	PLLA/P4HB rm	316L	PLLA/P4HB rm	-
<b>B/E</b>	316L	PLLA/P4HB rm	-	-
<b>B/F</b>	316L	PLLA/P4HB rm	PLLA/P4HB rm	PLLA/P4HB rm
<b>B/G</b>	PLLA/P4HB rm	316L	-	-
<b>B/H</b>	PLLA/P4HB rm	316L	316L	PLLA/P4HB rm

*(ACC = Arteria carotis communis; AR = Arteria renalis; PLLA/P4HB rm = röntgenmarkierter Polymer-Stent; 316L = Metall-Stent)*

In der Versuchsreihe C gelang es insgesamt 22 Stents (12 Sirolimus-beschichtete PLLA/P4HB-Stents; 10 permanente Metall-Stents) erfolgreich zu implantieren. Tabelle 6 zeigt die Implantationsstellen in den 4-Wochen-Versuchen der Versuchsserie C.

**Tabelle 6: Stent-Lokalisation Versuchsreihe C**

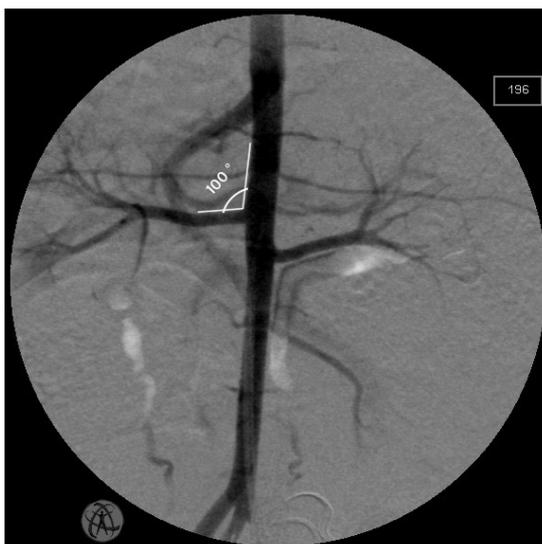
Zielgefäß	ACC rechts	ACC links	AR rechts	AR links
<b>Schwein</b>				
<b>C/B</b>	SIR-PLLA/P4HB	316L	316L	SIR-PLLA/P4HB
<b>C/D</b>	SIR-PLLA/P4HB	316L	-	-
<b>C/E</b>	SIR-PLLA/P4HB	316L	SIR-PLLA/P4HB	316L
<b>C/F</b>	316L	SIR-PLLA/P4HB	SIR-PLLA/P4HB	316L
<b>C/G</b>	SIR-PLLA/P4HB	316L	SIR-PLLA/P4HB	-
<b>C/H</b>	316L	SIR-PLLA/P4HB		
<b>C/J</b>	316L	SIR-PLLA/P4HB	SIR-PLLA/P4HB	-

*(ACC = Arteria carotis communis; AR = Arteria renalis; PLLA/P4HB rm = röntgenmarkierter Polymer-Stent; 316L = Metall-Stent)*

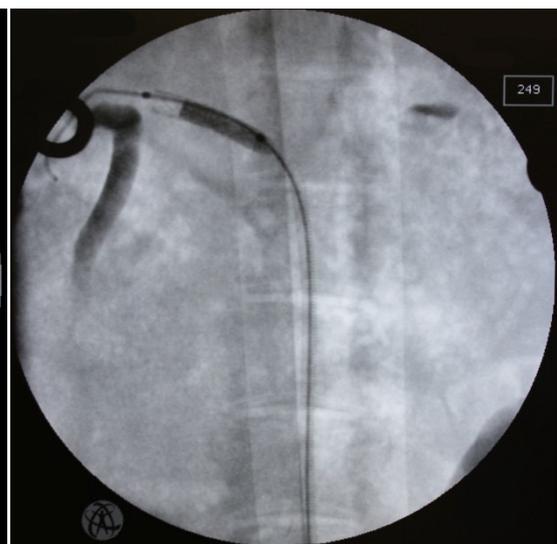
Diese Versuchstiere zeigten in allen drei Versuchsreihen weder in der Adaptationsphase noch zwischen den operativen Eingriffen Auffälligkeiten bezüglich Schmerzen, minderperfundierten oder ischämischen Extremitäten. Es konnten keine Veränderungen im Nahrungs- oder Sozialverhalten beobachtet werden. Es kam bei keinem der Versuchstiere zu postoperativen Komplikationen (Wunddehiszenz, Hämatom- oder Serombildung, Inflammation der Wunde, Infektion).

#### 4.1.1 Modifikation der Implantations-Einschränkung für Zielgefäße

Der in der vorherigen Versuchsreihe, aufgrund erhöhter Komplikationsgefahr, festgelegte Abgangswinkel von maximal  $70^\circ$  zum Stenten der A. renalis, wurde unter Zuhilfenahme eines rigideren Angiographie-Drahtes (Rosen-Wire) im Verlauf des hier beschriebenen Projektes modifiziert sodass zunächst auch das Platzieren von Stents in den Nierenarterien mit einem Abgangswinkel  $> 70^\circ$  möglich wurde. Abbildung 9 zeigt eine Übersichts-DSA-Aufnahme der Nierenarterien in-vivo. Rechtsseitig ist hier ein Abgangswinkel von  $> 70^\circ$  zu erkennen. Abbildung 10 zeigt die Nierenarterien des gleichen Tieres. Der rechtsseitige Abgangswinkel ist durch den Angiographie-Draht aufgespannt und somit verringert.



**Abbildung 9:** DSA-Übersichtsaufnahme Aa. renales; Abgangswinkel rechts  $> 90^\circ$



**Abbildung 10:** Implantation Metall-Stent rechte A. renalis; Abgangswinkel durch liegenden Rosen-Wire verringert

In Versuchsreihe A und B konnten daraufhin 12 Stents (6 PLLA/P4HB, 6 316L) bei 9 verschiedenen Tieren trotz eines Winkels  $> 70^\circ$  komplikationslos implantiert werden.

Die Anwendung dieses Verfahrens wurde jedoch nach einem Blutungsereignis in Versuchsreihe C wieder deutlich kritischer gesehen. Nach Implantation eines SIR-PLLA/P4HB Stents in die A. renalis mit einem Abgangswinkel von  $> 90^\circ$  verstarb das Versuchstier C/C in der 1. postoperativen Nacht an einer intraabdominellen Blutung. In der nachfolgend durchgeführten Obduktion konnte eine Dissektion des gestenteten Nierengefäßes ausgemacht werden. Obgleich ein direkter Zusammenhang mit der modifizierten Positionierungsmethode bei steilem Nierenarterienabgangswinkels nicht zweifelsfrei herzustellen war wurde diese Technik in Versuchsreihe C nur noch einmalig vorgenommen (Versuchstier C/G,  $90^\circ$  Abgangswinkel).

### 4.2 Stents

Insgesamt konnten 65 Stents in die Zielgefäße implantiert werden. Während der Implantations-Operation A/G verlor man aufgrund eines beschädigten PTA-Ballon-Katheters einen PLLA/P4HB-Polymer-Stent. Während der Explantation konnte dieser Stent nicht lokalisiert und explantiert werden.

Alle weiteren Stents ließen sich während der Implantationsoperation komplikationslos platzieren und expandieren und konnten im Zuge der Explantationsoperation problemlos lokalisiert und geborgen werden. Makroskopisch stellten sich die geborgenen Stents als nicht destruiert und durchgängig offen dar.

### 4.3 Peri- und postoperative Untersuchungen

#### 4.3.1 Körpergewicht

Um ein vergleichbares Versuchssetting bezüglich der anatomischen Gegebenheiten zu erreichen wurde ein Körpergewicht von 25 kg als Richtwert zur Implantation angestrebt welches bei allen Tieren annähernd erreicht wurde (Versuchsreihe A:  $25,6 \pm 1,5$  kg;

## ERGEBNISSE

Versuchsreihe B:  $26,2 \pm 2$  kg; Versuchsreihe C:  $24,7 \pm 2,7$ kg). Auch für das Durchschnittsgewicht bei Explantation zeigte sich eine vergleichbare Situation (Serie A:  $37,9 \pm 2,3$  kg, für Serie B:  $39,1 \pm 3,2$  kg und für Serie C:  $37,3 \pm 3,3$  kg).

### 4.3.2 Basisparameter

Die gemessenen Basisparameter (Vitalparameter, Elektrolyte, kleines Blutbild, Gerinnungsparameter, CRP, Glucose) zeigten im Vergleich zwischen den Versuchsserien keine relevanten Unterschiede. Gleichmaßen zeigt sich der Vergleich zwischen Versuchstieren mit und ohne Sirolimus Beschichtung oder systemischer Statin-Applikation in den Basisparametern unauffällig. Auch die Kontrolle der Parameter von Implantations- und Explantations-Eingriff für das jeweilige Versuchstier wiesen keine auffälligen Differenzen auf. Die Werte der intraoperativ bestimmten Parameter bei Implantation zeigt Tabelle 7, die der Explantation Tabelle 8. Im Verlauf der Versuchsreihe A gehörte die Ermittlung des arteriellen Blutdruckes nicht zum standardisierten Versuchsaufbau.

ERGEBNISSE

*Tabelle 7: Basisparameter; intraoperative Blutwerte bei Implantations-Eingriff*

Versuchsserie	A	B	C
<b><u>Basisparameter</u></b>			
<b>Herzfrequenz</b> [min <sup>-1</sup> ]	80,5 ± 7,14	79,13 ± 4,73	82,6 ± 17,14
<b>O<sub>2</sub>-Sättigung</b> [%]	99,75 ± 0,5	100	-
<b>art. RR<sub>systol</sub></b> [mmHg]	92,5 ± 10,61	83,5 ± 11,67	84,6 ± 13,25
<b>art. RR<sub>diastol</sub></b> [mmHg]	64,5 ± 0,71	50,63 ± 6,72	51,7 ± 11,13
<b><u>Blutwerte</u></b>			
<b>pH</b>	7,5 ± 0,07	7,55 ± 0,06	7,56 ± 0,03
<b>pCO<sub>2</sub></b> [mmHg]	32,84 ± 0,9	33,69 ± 4,22	33,49 ± 2,65
<b>pO<sub>2</sub></b> [mmHg]	318,14 ± 35,44	272,78 ± 96,07	294,6 ± 29,6
<b>Na<sup>+</sup></b> [mmol/l]	137 ± 1,79	139 ± 1,85	137,6 ± 3,24
<b>K<sup>+</sup></b> [mmol/l]	4,34 ± 0,88	3,88 ± 0,3	3,67 ± 0,52
<b>Ca<sup>++</sup></b> [mmol/l]	1,05 ± 0,27	1,3 ± 0,05	1,89 ± 0,63
<b>Hb</b> [mmol/l]	5,9 ± 1,27	5,4 ± 0,54	5,7 ± 0,52
<b>Hkt</b> [%]	33 ± 0,07	30,3 ± 0,02	28,8 ± 0,03
<b>Erythrozyten</b> [x10 <sup>12</sup> /l]	5,85 ± 0,92	5,33 ± 0,58	5,23 ± 0,53
<b>Leukozyten</b> [x10 <sup>9</sup> /l]	17,55 ± 0,9	14,87 ± 2,76	16,14 ± 5,25
<b>Thrombozyten</b> [x10 <sup>9</sup> /l]	354 ± 36,7	279,57 ± 126,31	308,6 ± 64,52
<b>INR</b>	0,89 ± 0,07	0,95 ± 0,38	0,93 ± 0,05
<b>aPTT</b> [sek]	68,25 ± 17,46	92,45 ± 69,749	71,2 ± 39,6
<b>Glucose</b> [mmol/l]	2,7 ± 3,253	3,8 ± 1,32	4,19 ± 1,89

## ERGEBNISSE

**Tabelle 8:** Basisparameter; intraoperative Blutwerte bei Explantations-Eingriff

Versuchsserie	A	B	C
<b><u>Basisparameter</u></b>			
<b>Herzfrequenz</b> [min <sup>-1</sup> ]	79,4 (± 11,72)	86,67 (± 12,63)	77,57 (± 17,15)
<b>O<sub>2</sub>-Sättigung</b> [%]	98,74 (± 1,1)	99,33 (± 1,03)	98,8 (± 1,09)
<b>art. RR<sub>systol</sub></b> [mmHg]	-	75,2 (± 7,92)	78,17 (± 5,77)
<b>art. RR<sub>diastol</sub></b> [mmHg]	-	46,6 (± 6,99)	46,83 (± 4,16)
<b><u>Blutwerte</u></b>			
<b>pH</b>	7,49 (± 0,03)	7,55 (± 0,04)	7,51 (± 0,05)
<b>pCO<sub>2</sub></b> [mmHg]	34,05 (± 2,61)	33,33 (± 6,63)	38,16 (± 2,78)
<b>pO<sub>2</sub></b> [mmHg]	298,3 (± 26,5)	281,3 (± 48,5)	294,2 (± 34)
<b>Na<sup>+</sup></b> [mmol/l]	132 (± 4,36)	139,8 (± 7,54)	133,9 (± 5,93)
<b>K<sup>+</sup></b> [mmol/l]	4,28 (± 0,14)	4,22 (± 0,46)	4,12 (± 0,89)
<b>Ca<sup>++</sup></b> [mmol/l]	1,32 (± 0,06)	1,39 (± 0,14)	1,92 (± 0,77)
<b>Hb</b> [mmol/l]	5,4 (± 0,45)	5,76 (± 0,47)	5,59 (± 0,52)
<b>Hkt</b> [%]	29,1 (± 2,7)	31,2 (± 2,8)	28 (± 3,1)
<b>Erythrozyten</b> [x10 <sup>12</sup> /l]	5,26 (± 0,5)	5,67 (± 0,53)	5,12 (± 0,54)
<b>Leukozyten</b> [x10 <sup>9</sup> /l]	14,8 (± 3)	13,27 (± 3,5)	16,02 (± 5,8)
<b>Thrombozyten</b> [x10 <sup>9</sup> /l]	308,7 (± 55,2)	326,4 (± 101,6)	286,4 (± 48,5)
<b>INR</b>	0,98 (± 0,1)	0,9 (± 0,07)	0,95 (± 0,04)
<b>aPTT</b> [sek]	121 (± 75,22)	134,5 (± 105,6)	139,4 (± 103,8)
<b>Glucose</b> [mmol/l]	5,48 (± 1,25)	6,3 (± 1,58)	5,79 (± 1,89)

## ERGEBNISSE

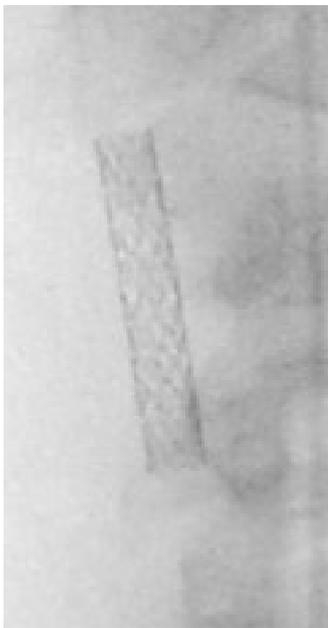
Der Wert des C-reaktiven Proteins (CRP) befand sich stets unter der laborchemischen Nachweisgrenze von < 1 mg/l, sodass eine statistische Auswertung nicht erfolgen konnte. Die für Versuchsserie B zusätzlich ermittelten Basisparameter, welche hauptsächlich zur Kontrolle des Nebenwirkungsprofils der systemischen Statin-Gabe dienen zeigten sich insgesamt unauffällig. So zeigten sich bei ASAT, HDL und LDL zwar signifikante, jedoch im Normbereich befindliche Differenzen in den Messergebnissen beider operativer Eingriffe. Auch Triglyzeride, bei Implantation noch im nicht nachweisbaren Bereich, konnten im Unterschied zur Implantation bei Explantation im niedrigen Normbereich nachgewiesen werden. Tabelle 9 gibt eine Übersicht.

**Tabelle 9:** Zusätzliche Statingabe-assoziierte Laborparameter Implantation und Explantation Versuchssreihe B

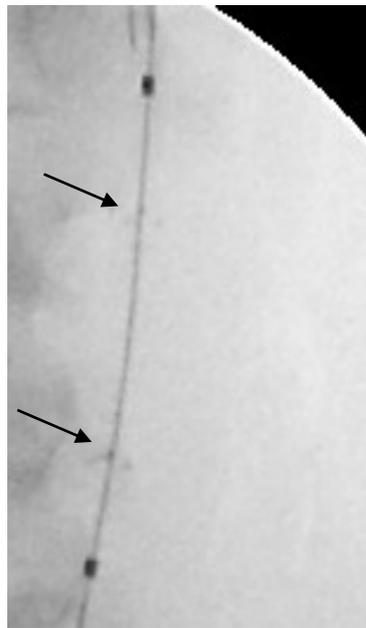
	<b>Implantation</b>	<b>Explantation</b>	<b>p-Wert</b>
<b>ASAT</b> [U/l]	53,7 (± 16,31)	38,5 (± 10,6)	0,029
<b>ALAT</b> [U/l]	52,17 (± 14,6)	53,33 (± 10,53)	0,916
<b>γ –GT</b> [U/l]	28 (± 8,76)	26,33 (± 8,74)	0,813
<b>AP</b> [U/l]	102,25 (± 11,44)	107 (± 22,11)	0,723
<b>LDH</b> [U/l]	638,75 (± 160,79)	617,67 (± 199,79)	0,882
<b>Cholesterol</b> [mmol/l]	1,15 (± 0,07)	1,67 (± 0,5)	0,264
<b>HDL-Cholesterin</b> [mmol/l]	0,55 (± 0,05)	0,67 (± 0,12)	0,018
<b>LDL-Cholesterin</b> [mmol/l]	0,55 (± 0,09)	0,73 (± 0,33)	0,031
<b>Triglyzeride</b> [mmol/l]	< 0,1	1,03 (± 0,321)	-
<b>Kreatinin</b> [µmol/l]	106,78 (± 14,59)	103,33 (± 28,64)	0,8

#### 4.3.3 Radiologische Verfahren

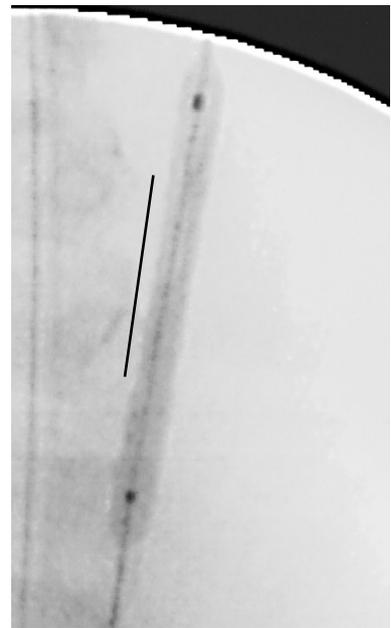
Mithilfe des radiologischen Durchleuchtungsverfahrens konnten insbesondere 316L-Stents unter Sicht positioniert und expandiert werden. Aufgrund der röntgendichten Markierungen der Dilatationskatheter konnte in diesem Verfahren ebenso Polymer-Stents mit als auch ohne Röntgenmarkierung positioniert werden. Abbildungen 11 – 13 zeigen repräsentative radiologische Aufnahmen expandierter Stents in-vivo.



**Abbildung 11:** ACC rechts mit expandierten 316L-Metall-Stent (Vergrößerung)



**Abbildung 12:** ACC links mit expandierten röntgenmarkierten (Pfeile) PLLA/P4HB-Polymer-Stent



**Abbildung 13:** ACC links, Expansion eines PLLA/P4HB-Polymer-Stents (Markierung) mittels PTA-Ballon

##### 4.3.3.1 Angiographie

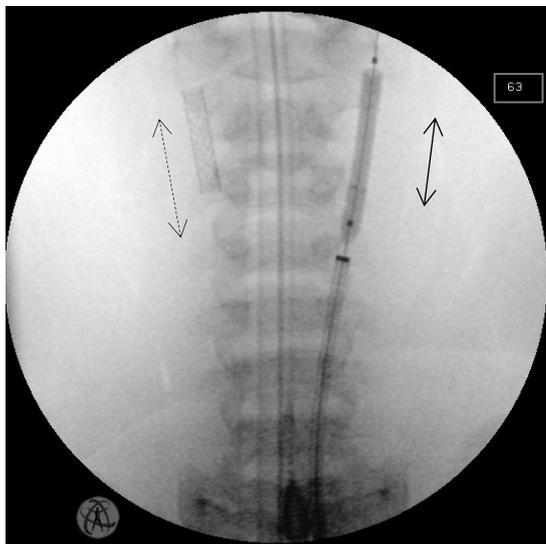
Mithilfe der kontrastmittelunterstützten Angiographie-Aufnahmen konnten das Vorschieben der Stent-PTA-Ballon-Systeme, insbesondere die Expansion der (SIR)PLLA/P4HB-Stents mit dem kontrastmittelgefüllten Ballon und zuletzt das Entfernen der endovaskulären Instrumente sehr gut visualisiert werden. Bei dem Versuchstier A/G kam es beim Stenten der linken Nierenarterien aufgrund eines defekten PTA-Ballon-

## ERGEBNISSE

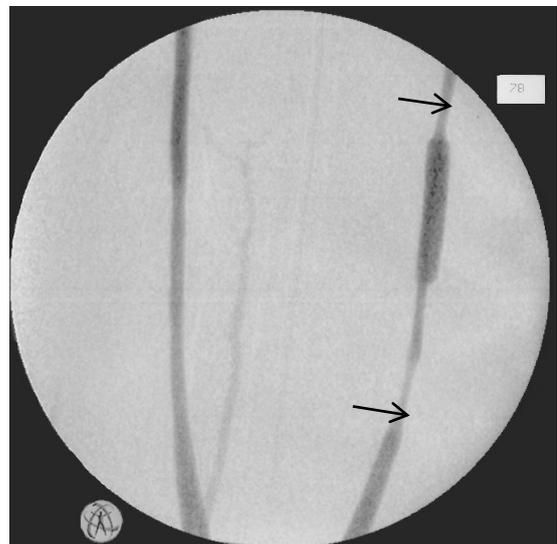
Katheters zur Stent-Dislokation eines Polymer-Stents. Dieser konnte auch mittels angiographischer Kontrollaufnahmen nicht wieder lokalisiert werden. Während des Expansionsvorgangs eines Polymer-Stents bei Versuchstier B/H in die linke A. renalis und bei Versuchstier C/D in die rechte A. carotis communis wurde bilddiagnostisch zudem auffällig, dass die Stents, durch zu geringe Vordilatation, beim Vorschieben ihre Position auf dem Ballon geändert hatten und wieder repositioniert werden mussten.

Alle erfolgreich implantierten Stents zeigten in der DSA welche post implantationem durchgeführt wurde, eine vollständige Durchgängigkeit und keine Anzeichen für Destruktion. Besonders eindrücklich stellten sich die bei Schweinen vermehrt auftretenden Gefäßspasmen in Folge intravasaler Manipulation dar. Diese traten proximal und distal des expandierten Stents auf und halfen bei der Lokalisation der nicht röntgenmarkierten PLLA/P4HB-Stents.

Sowohl die 316L-Metall-Stents als auch die mit Röntgenmarkern versehenen Polymer-Stents konnten mit der normalen Durchleuchtung sichtbar gemacht werden. Abbildungen 14 und 15 zeigen Kontroll-Aufnahmen nach Stent-Expansion.



**Abbildung 14:** Stents in expandiertem Zustand; ACC rechts 316L-Stent (gestrichelter Pfeil), ACC links röntgenmarkierter PLLA/P4HB-Stent (durchgängiger Pfeil)

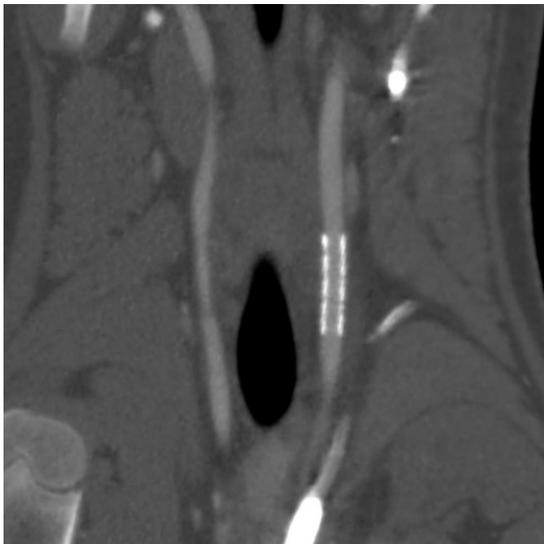


**Abbildung 15:** DSA-Aufnahme der ACC; typischer Gefäßspasmus (Pfeile) nach Stent-Implantation auf der linken Seite

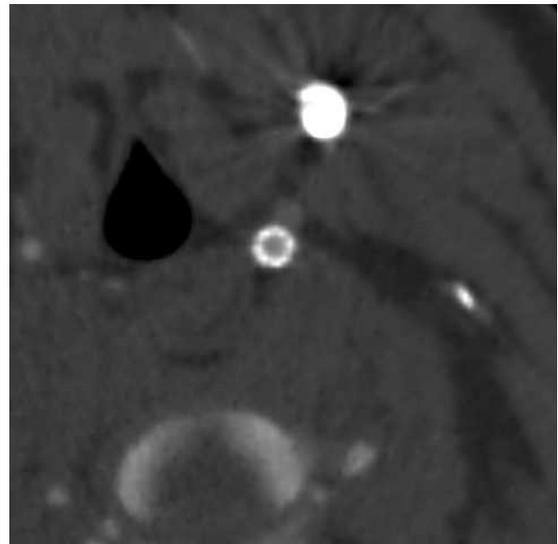
#### 4.3.3.2 Computertomographie

13 Versuchstiere der Versuchsreihe A + B wurden vor der Explantations-Operation computertomographisch untersucht. Dies erfolgte sowohl mit nativen als auch mit kontrastmittelunterstützten Aufnahmen in der arteriellen Phase. Die CT-Bilder zeigten sich insgesamt aufgrund von Strahlungsartefakten nur näherungsweise auswertbar, zwei Versuchstiere konnten aufgrund zu großer Strahlungsartefakte nicht ausgewertet werden, sodass letztendlich für die Auswertung 21 karotidale Stents (7 PLLA/P4HB ohne Statin, 4 PLLA/P4HB mit Statin, 6 316L ohne Statin, 4 316L mit Statin) sowie 12 renale Stents (4 PLLA/P4HB ohne Statin, 3 PLLA/P4HB mit Statin, 3 316L ohne Statin, 2 316L mit Statin) zur Verfügung standen. Alle Stents stellten sich durchgängig und nicht deformiert dar. Intravasal zeigten die 316L-Stents eine größere Expansionslänge (PLLA/P4HB:  $2,02 \pm 0,1$  cm; 316L:  $2,45 \pm 0,08$  cm).

Abbildung 16 und 17 zeigen repräsentative computertomographische Aufnahmen der verschiedenen Stent-Typen.



**Abbildung 16:** kontrastmittelgestützte CT-Aufnahme, rechte ACC mit einliegenden PLLA/P4HB-Stent, linke ACC mit einliegenden 316L-Stent in expandiertem Zustand



**Abbildung 17:** kontrastmittelgestützte CT-Querschnittsaufnahme, linke ACC mit einliegenden 316L-Stent in expandiertem Zustand

## ERGEBNISSE

Gruppiert nach Lokalisation, Typ und systemischer Atorvastatingaben wurden die Stents über gemittelte Werte hinsichtlich des Innendurchmessers, der Fläche der durchflossenen Rest-Lumina und der damit in Bezug stehenden Ergebnisse der Berechnungen des distalen Stenosegrades (NASCET) verglichen. Tabelle 10 führt die ermittelten Werte auf.

**Tabelle 10:** Messwerte der CT-Untersuchungen Serie A + B

	n	ID <sub>S</sub> [mm]	A <sub>L</sub> [mm <sup>2</sup> ]
<b>316L</b> [ACC]	6	3,21 ± 0,15	8,28 ± 0,83
<b>316L + ATOR</b> [ACC]	4	3,11 ± 0,14	7,89 ± 1,17
<b>316L</b> [A. renalis]	3	2,93 ± 0,33	6,33 ± 1,12
<b>316L + ATOR</b> [A. renalis]	2	3,1 ± 0,2	7,33 ± 1,41
<b>PLLA/P4HB</b> [ACC]	7	3,16 ± 0,88	8,95 ± 5,44
<b>PLLA/P4HB + ATOR</b> [ACC]	4	3,55 ± 0,48	10,33 ± 2,03
<b>PLLA/P4HB</b> [A. renalis]	4	2,81 ± 0,6	6,66 ± 2,92
<b>PLLA/P4HB + ATOR</b> [A. renalis]	3	2,75 ± 0,54	5,83 ± 2,12

*(ID<sub>S</sub> = Innendurchmesser Stent, A<sub>L</sub> = Fläche Restlumen)*

Insgesamt zeigt die Gruppe der A. renalis-Stents im Vergleich zur Gruppe der ACC-Stents sowohl einen geringeren Innendurchmesser, mit konsekutiv reduzierte Fläche der durchflossenen Rest-Lumina, als auch einen erhöhten NASCET Wert. Da hierüber zudem der Durchmesser des nativen Gefäßes ins Verhältnis gesetzt wird, geben diese Werte Aufschluss über die tatsächliche Stenose. Bei insgesamt größerem Gefäßdiameter (ID<sub>G</sub> ACC: 5,29 ± 0,44 mm, ID<sub>G</sub> A. renalis: 6,12 ± 0,59 mm) zeigt sich gruppenübergreifend auch im Verhältnis eine höhergradige Stenose der A. renalis – Stents (Abb. 18).

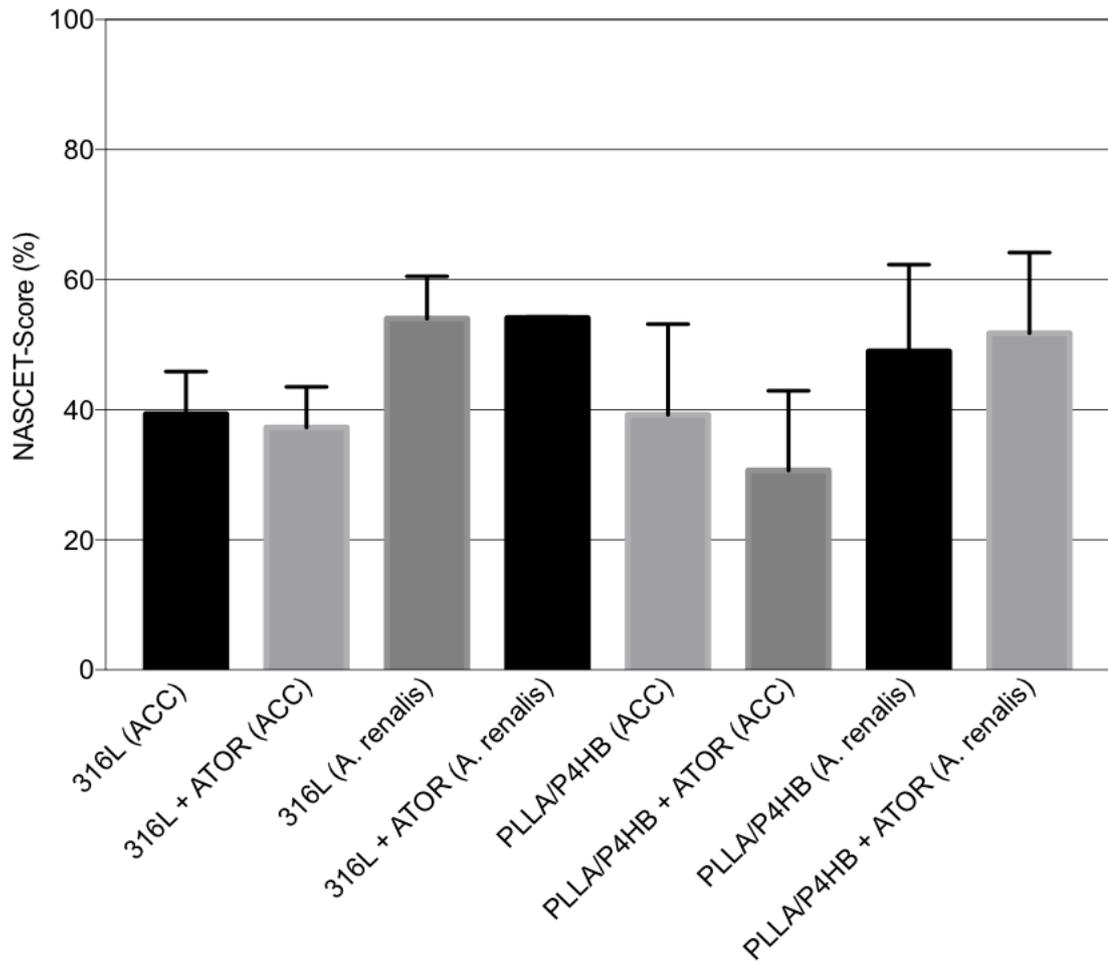


Abbildung 18: NASCET-Score

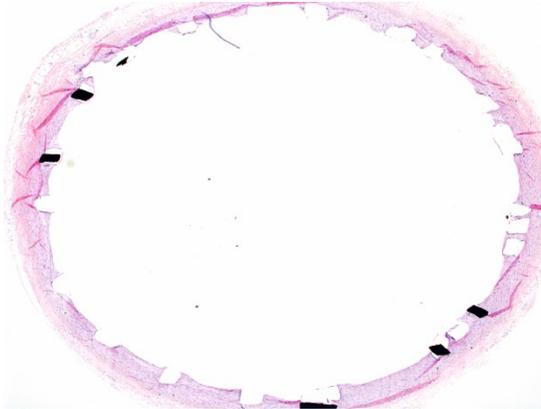
Einen positiven Effekt bezüglich der systemisch applizierten Statingabe zeigt sich lediglich in der Gruppe der in die ACC implantierten PLLA/P4HB-Stents (PPLA/P4HB:  $39,21 \pm 13,98$  %; PLLA/P4HB + ATOR:  $30,68 \pm 12,26$  %, p-Wert 0,01). Diese jedoch vergesellschaftet mit einer hohen Standardabweichung.

#### 4.3.4 Histologische Untersuchungen

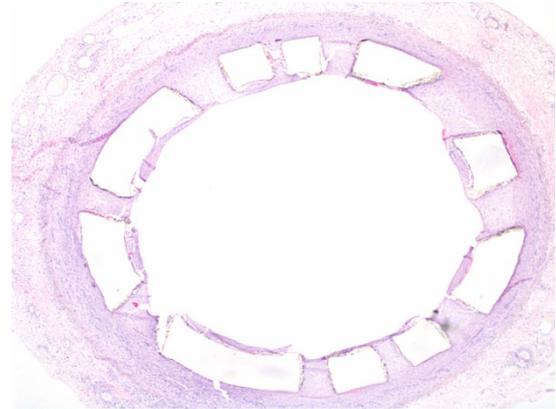
Insgesamt stellten sich alle beurteilten Stents als intakt und durchgängig dar. Aufgrund schnittbedingter Artefakte kam es vorwiegend in Serie A + B in geringer Zahl zur Destruktion der histologischen Präparate. In Serie C konnte dies durch Umstellung der

## ERGEBNISSE

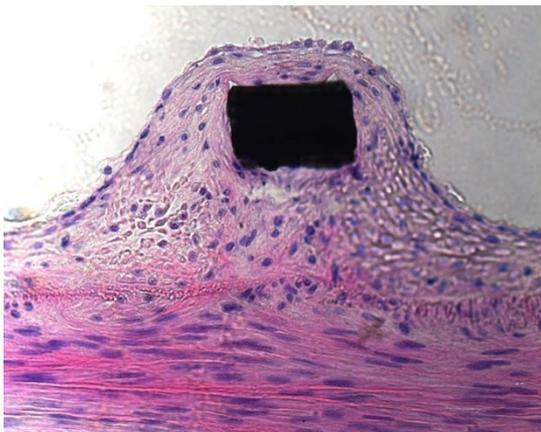
Schnitttechnik verbessert werden. Abbildungen 19 bis 22 zeigen typische histologische Präparate.



**Abbildung 19:** ACC; Histologischer Querschnitt eines 316L-Metall-Stents



**Abbildung 20:** ACC; Histologischer Querschnitt eines PLLA/P4HB-Polymer-Stents



**Abbildung 21:** ACC; Histologischer Querschnitt eines 316L-Metall-Struts



**Abbildung 22:** ACC; Histologischer Querschnitt eines PLLA/P4HB-Polymer-Struts

Die Stent-Streben wurden außerdem in den Schnittebenen (proximal und distal) beurteilt. Da sich weder in der Gruppe der Polymerstents im Injury-Score (PLLA/P4HB prox:  $0,65 \pm 0,61$ , dist:  $0,67 \pm 0,93$ ,  $p = 0,63$ ) oder im Inflammatory-Score (PLLA/P4HB prox:  $1,02 \pm 0,61$ , dist:  $0,98 \pm 0,6$ ,  $p = 0,26$ ) noch in der Gruppe der Metallstents im Injury-Score (316L prox:  $1,03 \pm 0,67$ , dist:  $0,99 \pm 0,69$ ,  $p = 0,32$ ) oder Inflammatory-Score (316L prox:  $0,6 \pm 0,49$ , dist:

0,64 ± 0,48, p= 0,16) signifikante Differenzen zeigten wurden diese in der Folge zusammengefasst.

#### 4.3.4.1 Inflammatory – und Injury-Score

Sowohl Entzündungs- als auch Verletzungs-Score wurde für alle Stents im niedrigen Bereich eingestuft. Gruppen- und Serienübergreifend zeigen sich die Ergebnisse der A. renalis-Stents im Vergleich zu den ACC-Stents leicht erhöht. Tabelle 11 und 12 zeigt die ermittelten Werte.

**Tabelle 11:** IFS-Score nach Karnowski

	<b>316L</b>		<b>PLLA/P4HB</b>		<b>SIR-PLLA/P4HB</b>	
	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis
<b>Serie A</b>	0,62 ± 0,5 [6]	0,94 ± 0,24 [1]	1,09 ± 0,52 [6]	1,19 ± 0,42 [3]	---	---
<b>Serie B</b>	0,57 ± 0,49 [7]	0,65 ± 0,50 [5]	1,07 ± 0,40 [8]	1,08 ± 0,57 [6]	---	---
<b>Serie C</b>	0,60 ± 0,70 [7]	0,67 ± 0,70 [3]	---	---	0,89 ± 0,71 [7]	0,91 ± 0,79 [5]

[n] = Anzahl Stents

**Tabelle 12:** IJS-Score nach Schwartz

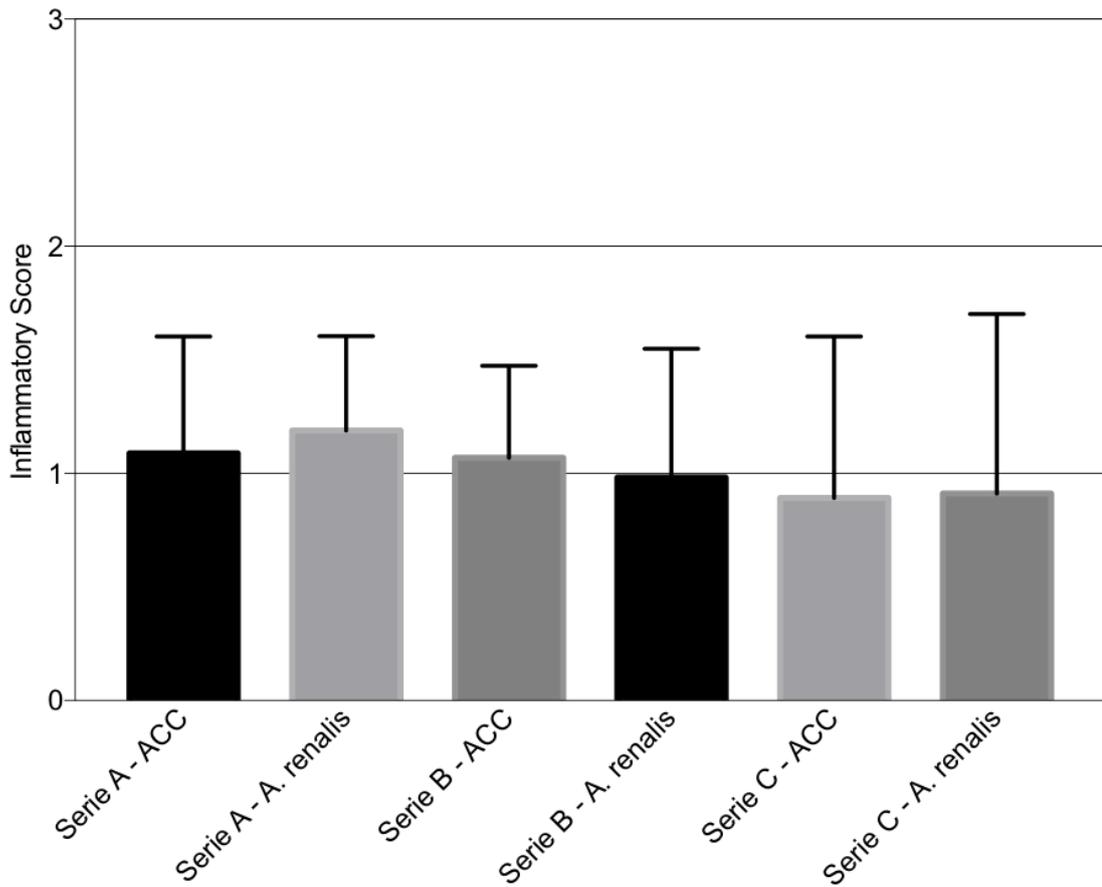
	316L		PLLA/P4HB		SIR-PLLA/P4HB	
	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis
<b>Serie A</b>	0,98 ± 0,76 [6]	1,29 ± 0,45 [1]	0,53 ± 0,59 [6]	0,70 ± 0,51 [3]	---	---
<b>Serie B</b>	1,09 ± 0,62 [7]	1,09 ± 0,54 [5]	0,71 ± 0,72 [8]	0,8 ± 0,45 [6]	---	---
<b>Serie C</b>	0,91 ± 0,43 [7]	0,96 ± 0,53 [3]	---	---	0,67 ± 0,67 [7]	0,72 ± 0,64 [5]

[n] = Anzahl Stents

Während serienübergreifend auffällig ist, dass die Gruppe der Metallstents im Injuryscore höhere Werte aufzeigt, ergibt die Auswertung der Polymerstents eine größere inflammatorische Reaktion.

Diese zeigt sich im Vergleich der Versuchsserien untereinander durch die Inkorporation von Sirolimus positiv beeinflusst. Eine Reduktion der Entzündungsreaktion ist in Serie C auffällig, was Abbildung 23 verdeutlicht.

## ERGEBNISSE



**Abbildung 23:** Inflammatory - Score nach Karnowski der PLLA/P4HB-Stents

Einen Einfluss auf die Gefäßverletzung zeigt sich hingegen nicht. Im ausgewerteten Injury-Score zeigen sich keine signifikanten Unterschiede durch die Beladung der Polymerstents mit dem Immunsuppressivum (PLLA/P4HB:  $0,71 \pm 0,61$ , SIR-PLLA/P4HB:  $0,70 \pm 0,65$ , p-Wert 0,82),

Während Abbildung 23 ebenso eine Reduktion der Entzündungsparameter durch das in Serie B applizierte Atorvastatin suggeriert, zeigt die exakte Auswertung der in Serie B mit Atorvastatin versorgten Schweine (Versuchstiere B/C bis B/H) im Vergleich zu den übrigen Tieren in Serie A und B keine Suppression der Entzündungsreaktion. Diesbezüglich ausgewertet zeigt die systemische Statingabe ebenfalls keinen weitreichenden Einfluss auf die Gefäßverletzung weder der Metall- noch der Polymerstents (s. Tab 13).

**Tabelle 13:** IfS-/IJS-Score Serie A und B in Bezug auf systemische Statingabe

	n	IfS	IJS
<b>316L</b>	11	0,62 ± 0,49	1,03 ± 0,69
<b>316L + ATOR</b>	8	0,59 ± 0,52	1,06 ± 0,58
<b>PLLA/P4HB</b>	12	1,09 ± 0,46	0,67 ± 0,62
<b>PLLA/P4HB + ATOR</b>	11	1,07 ± 0,51	0,69 ± 0,58

(n = Anzahl Stents)

#### 4.3.4.2 Morphometrie und Planimetrie

Die Ergebnisse der Morphometrie zeigen sich im Ergebnis analog zu den Ergebnissen des IfS-Scores. Die verwendeten biodegradierbaren Stents zeigen, insbesondere im Bereich zwischen den Struts, über alle Serien hinweg ein großes Neointima-Wachstum. Dies zeigt sich insbesondere in Serie A im Vergleich mit der Gruppe der Metallstents (PLLA:  $0,22 \pm 0,12$  mm, 316L:  $0,12 \pm 0,25$  mm, p-Wert < 0,05). Auch das Wachstum der Tunica media ist in dieser Gruppe im Vergleich erhöht (PLLA:  $0,27 \pm 0,11$  mm, 316L:  $0,14 \pm 0,06$  mm, p-Wert < 0,05).

Ein positiver Einfluss auf diese Parameter durch systemische Gabe von Atorvastatin in Serie B (Versuchsschweine B/C - B/H) konnte nicht nachgewiesen werden. Es zeigt sich insgesamt kein signifikant positiver Einfluss auf die ermittelten Messwerte (Neointimadicke: PLLA/P4HB  $0,21 \pm 0,14$  mm, p=0.98 vs. Serie A; 316L  $0,13 \pm 0,07$  mm, p=0.10 vs. Serie A; Mediadicke: PLLA/P4HB  $0,28 \pm 0,13$  mm, p=0.23 vs. Serie A, 316L  $0,15 \pm 0,07$  mm, p=0.96 vs. Serie A). Die beladenen Polymerstents der Serie C hingegen zeigen durch Elution von Sirolimus eine signifikant geringere Hyperplasie der Neointima ( $0,14 \pm 0,07$  mm, p<0,05 vs. Serie A) und der Tunica media ( $0,23 \pm 0,02$  mm, p<0,05 vs. Serie A).

Auch diese Messungen verdeutlichen einen signifikanten Unterschied in Bezug auf die Stentlokalisation. Nach Implantation in die A. renalis zeigen vorwiegend die Polymerstents

## ERGEBNISSE

serienübergreifend deutlich höhere Messwerte. Die Tabellen 14 bis 16 veranschaulichen die unterschiedlichen Serien bezüglich ihrer durchschnittlichen Neointima- und Mediadicke.

**Tabelle 14:** Morphometrie Versuchsserie A

	n	Neointimadicke [mm]	Mediadicke [mm]
<b>316L</b> [ACC]	6	0,12 ± 0,05	0,14 ± 0,05
<b>316L</b> [A. renalis]	1	0,14 ± 0,46*	0,12 ± 0,07*
<b>PLLA/P4HB</b> [ACC]	6	0,2 ± 0,12	0,25 ± 0,11
<b>PLLA/P4HB</b> [A. renalis]	3	0,27 ± 0,11*	0,31 ± 0,11*

(n = Anzahl Stents, \*p<0,05 vs. ACC)

**Tabelle 15:** Morphometrie Versuchsserie B (ab B/C oral mit ATOR behandelte Tiere)

	n	Neointimadicke [mm]	Mediadicke [mm]
<b>316L</b> [ACC]	7	0,11 ± 0,02	0,14 ± 0,07
<b>316L</b> [A. renalis]	5	0,13 ± 0,19*	0,16 ± 0,09*
<b>PLLA/P4HB</b> [ACC]	8	0,17 ± 0,11	0,25 ± 0,11
<b>PLLA/P4HB</b> [A. renalis]	6	0,26 ± 0,19*	0,33 ± 0,12*

(n = Anzahl Stents, \*p<0,05 vs. ACC)

**Tabelle 16:** Morphometrie Versuchsserie C (SIR-PLLA/P4HB-Stents)

	n	Neointimadicke [mm]	Mediadicke [mm]
<b>316L</b> [ACC]	7	0,09 ± 0,04	0,16 ± 0,07
<b>316L</b> [A. renalis]	3	0,14 ± 0,09*	0,16 ± 0,08
<b>SIR-PLLA/P4HB</b> [ACC]	7	0,13 ± 0,11	0,21 ± 0,06
<b>SIR-PLLA/P4HB</b> [A. renalis]	5	0,15 ± 0,11*	0,24 ± 0,16*

(n = Anzahl Stents, \*p<0,05 vs. ACC)

## ERGEBNISSE

Planimetrisch werden das ursprüngliche Lumen und das verbleibende Lumen der histologischen Präparate gemessen. Aus der Differenz dieser Werte ergibt sich die neointimale Fläche und es kann der Einfluss dieser auf das Restlumen in Form der Restenoserate berechnet werden.

Analog zu den morphologischen Parametern belegen auch die planimetrischen Messungen deutliche Unterschiede sowohl zwischen Metall- und PLLA/P4HB-Stents als auch im Vergleich zwischen Sirolimus beladenen und unbeladenen Polymerstents (Tab. 17 und 18).

**Tabelle 17:** Neointima-Fläche [mm<sup>2</sup>]

Serie	316L		PLLA/P4HB		SIR-PLLA/P4HB	
	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis
<b>A</b>	1,29 ± 0,29 [6]	3,2 ± 0,21* [1]	4,19 ± 0,74 [6]	5,41 ± 0,45* [3]	---	---
<b>B</b>	1,27 ± 0,19 [7]	1,95 ± 0,87* [5]	4,25 ± 0,88 [8]	4,92 ± 0,98* [6]	---	---
<b>C</b>	1,23 ± 0,32 [7]	2,85 ± 0,57* [3]	---	---	3,97 ± 0,38 [7]	4,08 ± 0,63* [5]

(n = Anzahl Stents, \*p<0,05 vs. ACC)

ERGEBNISSE

**Tabelle 18:** Restenoserate [%]

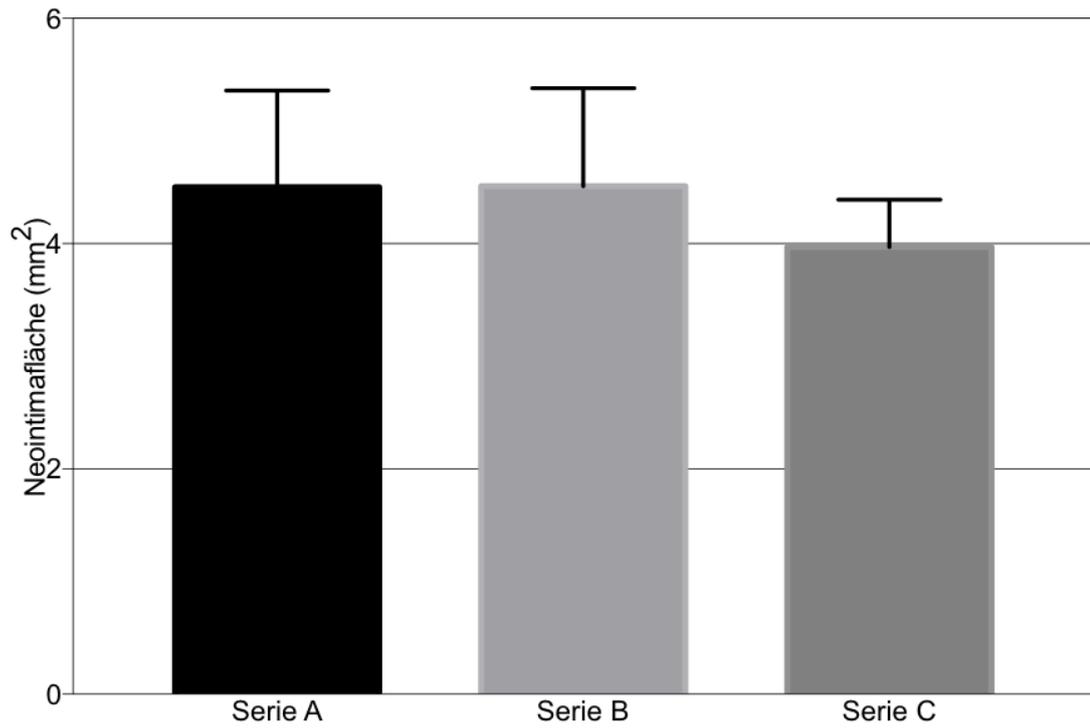
Serie	316L		PLLA/P4HB		SIR-PLLA/P4HB	
	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis	ACC	A. renalis
<b>A</b>	8,09 ± 2,28	31,26 ± 1,7*	38,86 ± 4,73	46,98 ± 3,71*	---	---
	[6]	[1]	[6]	[3]		
<b>B</b>	7,78 ± 1,17	15,57 ± 13,29*	39,34 ± 5,9	42,34 ± 8,63*	---	---
	[7]	[5]	[8]	[6]		
<b>C</b>	1,23 ± 0,32	2,85 ± 0,57*	---	---	32,47 ± 4,91	34,84 ± 4,26*
	[7]	[3]			[7]	[5]

(n = Anzahl Stents, \*p<0,05 vs. ACC)

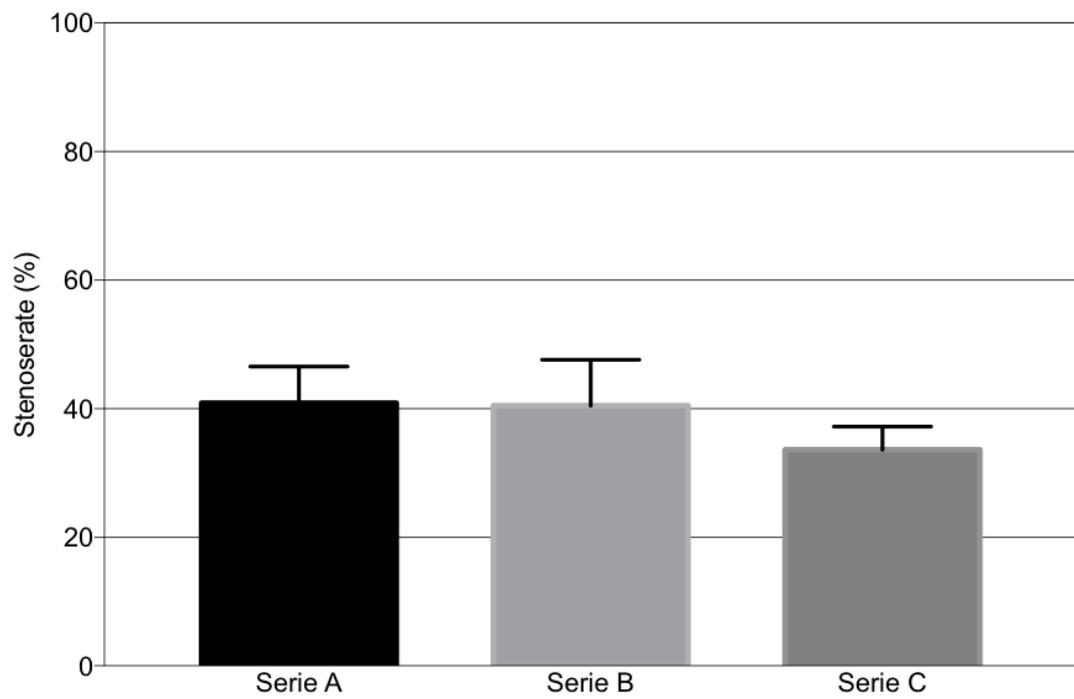
Ein signifikanter Einfluss durch die systemische Applikation von Atorvastatin (Versuchstiere B/C - B/H) zeigt sich entsprechend der morphologischen Untersuchungen weder in den Werten der Neointimafläche (PLLA/P4HB: 4,52 ± 0,82 mm<sup>2</sup>, p=0,89 vs. Serie A; 316L: 1,41 ± 0,58 mm<sup>2</sup>, p= 0,30 vs. Serie A) noch der Restenoserate (PLLA/P4HB: 40,79 ± 6,9 %, p=0.91 vs. Serie A; 316L: 12,2 ± 4,86 %, p=0,66 vs. Serie A).

Unabhängig des Implantationsortes zeigen die PLLA/P4HB-Stents die Bildung einer großen Neointimafläche mit konsekutiv höherer Restenoserate auf. Dies lässt sich zwar auch in der Gruppe der Sirolimus-beladenen Polymer-Stents nachweisen, gegenüber den unbeladenen Gefäßstützen ist hier jedoch ein Rückgang der Parameter auffällig. Abbildung 24 und 25 verdeutlichen die ermittelten Daten in Bezug auf die einzelnen Serien.

## ERGEBNISSE



*Abbildung 24: Neointimafläche der PLLA/P4HB-Stents*



*Abbildung 25: Flächenbezogene Stenoserate der PLLA/P4HB-Stents*

## 5. DISKUSSION

Diese Studie ist Teil einer Versuchsreihe in welcher die experimentelle Untersuchung von neuartigen, biodegradierbaren Polymer-Stents auf Poly-L-Lactid- und Poly-4-Hydroxybuttersäure-Basis im Vergleich zu handelsüblichen 316L-Metall-Stents erfolgte. In zuvor durchgeführten Studien wurde zunächst ein Versuchstiermodell für die sichere endovaskuläre Applikation oben genannter Polymerstents etabliert und es erfolgte die Untersuchung der mechanischen Stabilität und Biokompatibilität dieser Stents in-vivo. In dieser Studie wurde im ersten Schritt zunächst die orale Gabe eines Statins, und im folgenden Schritt die Verwendung eines weiterentwickelten, Sirolimus besetzten Polymer-Stents auf ihre vaskuläre Auswirkung vergleichend im etablierten Studiendesign untersucht.

Im Vergleich zu offen chirurgischen Interventionen zeigt sich in den letzten Jahren ein deutlicher Trend zum Einsatz endovaskulärer Interventionen im Bereich der Revaskularisationstherapie der unteren Extremitäten (85). Neben statistisch geringerer Mortalitäts- und Komplikationsraten ist es insbesondere für ältere, multimorbide Patienten aufgrund der Durchführbarkeit in Lokalanästhesie und der minimalinvasiven Vorgehensweise eine inzwischen etablierte Therapie (86, 87, 88). So wird in den Leitlinien zur Behandlung der pAVK bei Notwendigkeit einer Revaskularisation distal der Femoralisgabel zunächst eine endovaskuläre Versorgung mit Durchführung einer perkutanen transluminalen Angioplastie und gegebenenfalls zusätzlichen Stenting empfohlen. Obwohl mit guten Ergebnissen bezüglich der Revaskularisationsraten, werden jedoch Stents im Bereich der unteren Extremitäten, im Vergleich zum Einsatz bei koronaren Gefäßerkrankungen, trotz vielversprechender Ergebnisse zurückhaltend eingesetzt (89, 90). Gründe hierfür sind vorwiegend stentbedingte, erhöhte Restenoseraten (91). Aber auch die deutlich erhöhte Schwierigkeit eines Revisionseingriffes, sowie die in gelenknähe erhöhte Raten von Materialbrüchen verhindern den unbedingten Einsatz (92, 93).

Als pathomorphologisch ursächlich für die erhöhten Restenoseraten konnte eine Hyperproliferation der glatten Muskelzellen und der Gefäßintima ausgemacht werden. Diese werden multifaktoriell durch Endothelverletzung, hämodynamische Faktoren und

kontinuierlich evozierte lokale immunologische Reizung der Gefäßwand durch den intravaskulären Fremdkörper verursacht (94).

Eine Lösung für oben genannte Einschränkungen bei der endovaskulären Stentanwendung könnte der Einsatz resorbierbarer Stents darstellen. Durch ihre temporäre Präsenz ist nicht nur ein Revisionseingriff bei Re-Stenosen möglich, vielmehr ermöglicht sie der Gefäßwand durch positives Remodeling und Wiedererlangen der Vasomotion ein restitio ad integrum (95, 96). Da außerdem in Folge der Degradation des Stents die permanente lokale immunologische Reizung entfällt, könnte hierdurch das Risiko der Entstehung von In-Stent-Restenosen deutlich gesenkt werden (97).

Neben unterschiedlichen Ansätzen werden in den aktuellen Studien vorwiegend Magnesium oder PLLA als Grundsubstanz für resorbierbare Gefäßstützen eingesetzt.

### **Stents**

Stents aus biodegradierbaren Polymeren entwickeln sich in vielen Bereichen als bevorzugte Alternative zu den derzeit vorwiegend verwendeten, konventionellen permanenten Metallstents. Bestehende Defizite von Stents mit permanenten Grundgerüst (i.e. persistierende Entzündungsreaktionen, erhöhtes Restenoserisiko) können durch die Degradation verbessert werden. Zusätzlich wird es dem Organismus nach Abbau der Gefäßstütze ermöglicht durch körpereigene Reparaturmechanismen (i.e. late luminal gain durch spätes expansives remodelling) ein restitio ad integrum zu erreichen (98).

Da biodegradierbare Stents jedoch bis heute bei vergleichbarer Materialstärke eine geringere Stabilität als Metall-Stents aufweisen, liegt die Herausforderungen darin durch Optimierungen in Stentdesign und Substanzzusammensetzung eine ausreichende Rigidität über die Dauer des Heilungsprozesses bei gleichzeitiger zeitgerechter Degradation zu erreichen (99).

Eine hierfür vielversprechende Grundsubstanz ist das Poly-L-Lactid (PLLA), welche auch bei den Polymer-Stents in dieser Arbeit verwendeten wurde. Dies ist ein Polymer aus L-Isomeren der Polyactidsäure welches durch seine kristalline Struktur und starken

## DISKUSSION

intermolekularen Wechselwirkungen große mechanische Stabilität besitzt. Gleichzeitig zeichnet es sich durch gute Biodegradabilität und Biokompatibilität aus.

Bereits schon frühzeitig für Stents verwendet und bis heute in klinischer Anwendung (z.B. als Igaki-Tamai-Stent bei Koronarinterventionen) zeigt sich reines PLLA allerdings aufgrund viskoelastischer Eigenschaften bei Körpertemperatur brüchig und lässt sich daher nur sehr langsam aufdehnen. Diesem Problem begegnet man im Falle des Igaki-Tamai-Stents mittels Erhitzung des Flüssigkeits-Kontrastmittel-Gemisches des Stent-Ballonkatheters auf 50°C. Hierdurch wird eine Autoexpansion und eine erleichterte Aufdehnbarkeit des Stents erreicht.

Einen weiteren Lösungsansatz stellt die Beimischung von Poly-4-Hydroxybuttersäure (P4HB) zur Grundsubstanz dar. Dieses thermoplastische Biopolymer, in einem rekombinanten Fermentationsprozess mittels *E.coli* gewonnenen, rückt zunehmend in den Fokus medizinischer Anwendungen (100). Es besitzt selbst eine sehr hohe Verformbarkeit und bewirkt im Substanzgemisch mit PLLA eine größere Flexibilität bei gleichzeitig erhaltener Stabilität. Grabow et al. konnten 2007 in-vitro aufzeigen, dass ein Substanzgemisch mit einem P4HB-Anteil von 22 % zu einer größeren Belastbarkeit führt, was eine Dilatation des Stents mit einer Dilatationsgeschwindigkeit von 8 bar/min ohne Stentruptur ermöglicht.

Der in analogem Substanzverhältnis gefertigte und in diese Studie verwendete PLLA/P4HB-Stent konnte diese Annahme in vivo bestätigen. In keinem der versorgten Versuchstiere zeigte sich unter der geforderten Dilatationsgeschwindigkeit ein Hinweis auf eine Stentruptur. Ähnlich dem Igaki-Tamai-Stents wurden die für diese Arbeit verwendeten PLLA/P4HB-Stents in Serie B mit einer Röntgenmarkierung versehen. Hierfür wurden Wolframmikropartikel jeweils am proximalen und distalen Ende der Stents in die Stentmatrix eingearbeitet, sodass zunächst die korrekte Position und in der Folge die korrekte Dilatation des sonst röntgendurchlässigen Stents unter dem Bildwandler visualisiert werden konnte.

Im Vergleich zu herkömmlichen Metallstents verursachen resorbierbare Polymerstents im Zuge des Heilungsprozesses eine deutlich vermehrte Hyperplasie der Gefäßintima. Diese ist damit vorwiegend ursächlich für die aktuell bestehende Grundproblematik der postinterventionell erhöhten Stenosierung des durch einen Polymerstent versorgten Gefäßabschnitts. Einen Lösungsansatz scheinen Drug-eluting stents (DES) darzustellen (80).

Hierbei wird auf die Stentmatrix eine Lösung appliziert welche am vorgesehenen Wirkungsort kontinuierlich einen gewünschten Stoff freisetzt. Da es hierbei möglich ist den gewünschten Stoff gezielt lokal freizusetzen kann dies auch in sehr hoher Konzentration geschehen. Eine signifikante Reduktion sowohl der postinterventionellen Entzündungsreaktion als auch der neointimalen Hyperplasie konnte bereits in Vorstudien durch einen mit einem Immunsuppressivum beladenen PLLA-Stent in-vivo demonstriert werden (81, 101).

Analog zu diesem Ansatz wurden die in unserer Serie C verwendeten PLLA/P4HB-Stents mit dem Immunsuppressivum Sirolimus beladen und konnten im Vergleich zu unbeladenen Stents einen Rückgang der Stenose herbeiführen. Dieses Ergebnis untermauert somit die in der Literatur aufgezeigten Erkenntnisse der Effektivität mit Immunsuppressiva beladener DES in Bezug auf den vaskulären Heilprozess (102).

Zur Erprobung der eingesetzten biodegradierbaren Polymerstents wurde als Kontrollgruppe ein 316L-Metall-Stent mit einer amorphen Siliziumkarbid-Beschichtung verwendet. Dieser Stent ist im klinischen Alltag etabliert und wird aufgrund der guten Vergleichsbasis gerne als Kontrollgruppe eingesetzt (103). Die aufgebrauchte Siliziumkarbid-Beschichtung wirkt als Barriere gegen Ionenefreisetzung, verhindert eine Thrombozytenaggregation und fördert die Endothelialisierung (104, 105).

### **Versuchsaufbau**

Das Ziel dieser Studie war es die Beurteilung der Gefäßreaktion auf biodegradierbare Polymerstents mit und ohne SIR-Beschichtung im Vergleich zu permanenten 316L-Metallstents und die postoperativen Auswirkungen einer oralen Statintherapie auf diese Prozesse zu untersuchen. Hierfür wurde ein etabliertes Studienmodell mit Schweinen als Versuchstieren verwendet, welches sich durch dem menschlichen Organismus vergleichbarer anatomischer, physiologischer und pathogenetischer Anlagen, insbesondere in Bezug auf vaskuläre Prozesse auszeichnet (106). Durch vergleichbare Verhältnissen des kardiovaskulären Systems in Größe und Beschaffenheit ist diesbezüglich eine Übertragbarkeit auf den menschlichen Organismus gegeben.

## DISKUSSION

Different zeigt sich indessen der zeitliche Ablauf des vaskulären Heilungsprozesses. So wird angenommen, dass die neointimale Hyperplasie im Schweineorganismus bereits nach 28 Tagen ihr Maximum erreicht, während diese beim Menschen postinterventionell erst im 6. Monat beobachtet wird. Zudem zeigen diese Prozesse in Abhängigkeit von Ort und Länge der Läsion sowie vom verwendeten Material eine gewisse zeitliche Variabilität. Es darf jedoch davon ausgegangen werden, dass das in dieser Studie angewandte Zeitfenster von 4 Wochen zwischen Im- und Explantation, dem Menschen vergleichbarer Heilungsdauer nach einer Dauer von 5 bis 6 Monaten entspricht (107).

Ein anderes Vorgehen musste hingegen sowohl in der Art des operativen Zugangs als auch in dem für die Stentapplikation ausgewählten Zugangsgefäß gewählt werden. So wird beim Menschen, je nach Läsionsort, der Gefäßzugang perkutan über die A. femoralis oder A. brachialis gewählt. Dies stellte sich jedoch im gewählten Tiermodell als wenig praktikabel heraus. Einerseits aufgrund eines zu geringen Diameters der Gefäße zum Einbringen der notwendigen Zugangsschleuse, andererseits wegen einer für den Zugang ungünstigeren Lage der A. femoralis beim Schwein entschied man sich für die A. iliaca communis als Zugangsgefäß. Lagebedingt und aufgrund einer beim Versuchsschwein beobachteten erhöhten vasospastischen Anfälligkeit für Manipulation wurde das Einbringen eines Schleusensystems nicht perkutan durchgeführt, sondern nach operativer Freilegung des Zugangsgefäßes. Eine Auswirkung auf die Vergleichbarkeit zwischen den verschiedenen Stentgruppen als auch zum menschlichen Organismus konnte hierdurch jedoch nicht abgeleitet werden.

Als optimale Zielgefäße wurden A. carotis communis und A. renalis ermittelt, letztere mit der Voraussetzung eines Abgangswinkels von  $< 70^\circ$  um eine komplikationslose Positionierung über den Führungsdraht zu gewährleisten. Zwar wurde diese Einschränkung nach Verwendung eines rigideren Führungsdrahtes zunächst aufgehoben, aufgrund des erhöhten vaskulären Verletzungsrisikos letztendlich jedoch wiederaufgenommen.

Auswirkungen zeigten sich hingegen durch das verwendete Transportsystem zur endoluminalen Positionierung der jeweiligen Stents. Während die 316L-Metallstents mittels eines vorgefertigten Stent-Ballonkatheter-Set sicher endoluminal in unterschiedliche Gefäßabschnitte vorgeschoben und an festgelegter Stelle problemlos dilatiert werden

konnten, mussten die PLLA/P4HB-Stents vor Implantation extrakorporal desinfiziert, in erwärmten Kochsalz präkonditioniert und in der Folge manuell auf einen Ballonkatheter aufgebracht werden bevor sie bis an die gewünschte Position vorgeschoben werden konnten. Auch mussten mangels vorgefertigter Systeme Schleusen zur Positionierung der PLLA/P4HB-Stents gekürzt und an den Schnittkanten manuell geglättet werden um diese sicher an gewünschter Stelle zu positionieren. Eine Entwicklung stellten diesbezüglich die Polymerstents der Serie C dar, welche bereits sterilisiert geliefert wurden und dadurch zu einer deutlichen Erleichterung des Implantationsprozesses führten. Dass es im Zuge der Positionierung zum intravasalen Verlust eines Polymerstents und postoperativ zum Tod eines Versuchstiers kam ist jedoch mit hoher Wahrscheinlichkeit auf das mangels industrieller Alternativen notwendige oben genannte Vorgehen zurück zu führen.

### **Peri- und Postoperative Untersuchungen**

Die laborchemisch ermittelten Blutparameter zeigten sich sowohl bei Implantation als auch bei Explantation insgesamt unauffällig. Durch Verwendung des insgesamt wenig traumatischen operativen Zuganges wurde kein erhöhter Blutverlust auffällig, was sich laborchemisch durch stabile Hämatokrit- und Hämoglobinwerten zeigte. Die bei Implantation und Explantation ermittelten Blutgase, Elektrolyt- und Gerinnungsparameter zeigten keine relevanten Auffälligkeiten woraus sich ein vergleichbarer Operationsstress der Versuchstiere ableiten lässt. Auch die ermittelten Entzündungsparameter blieben in allen Versuchsreihen unterhalb der Nachweisgrenze. Zwar werden den Entzündungsparametern in der Literatur eine prädiktive Rolle bei Entwicklung einer ISR zugeschrieben (108), da aber insgesamt keine höhergradige Stenose auftrat und diese daher in allen Versuchsreihen unterhalb der Nachweisgrenze blieben konnte diesbezüglich keine Aussage getroffen werden.

Entsprechend der Vorgehensweise beim Menschen (109) erhielten die Versuchstiere bereits präoperativ eine duale Antikoagulation mittels ASS und Clopidogrel. Wenngleich die Studienlage bezüglich der Wirksamkeit antithrombozytärer Therapie bei peripheren endovaskulären Eingriffen zur Risikoreduzierung von Stenoseereignissen bis heute

## DISKUSSION

unzureichend ist (110), konnte unter dieser Therapie auch in unserer Versuchsreihe bei keinem der Versuchstiere ein Gefäßverschluss im gestenteten Areal festgestellt werden.

Eine deutliche Reduktion von kardiovaskulären Folgeereignissen kann in der Humanmedizin hingegen bei pAVK-Patienten die systemische Therapie mit Statinen aufweisen (111). Dieser Arzneigruppe wird eine unterstützende Wirkung auf die Re-Endothelialisierung und Reduktion der neointimalen Hyperplasie zugeschrieben. Um den Effekt einer solchen Therapie auf histomorphologischer Ebene für postinterventionelle, vaskuläre Remodelierungseffekte zu ermitteln erhielten die Versuchstiere der Serie B perioperativ Atorvastatin. Hierfür erfolgte zusätzlich die Bestimmung der Leberparameter und Cholesterinwerte, welche sich sowohl bei Implantation als auch bei Explantation unauffällig zeigten.

Zur Lagebestimmung, Expansionsverhalten und vergleichenden Auswertung der vaskulären Auswirkungen wurden in dieser Arbeit direkte und indirekt Visualisierungsmethoden gewählt. Intraoperativ konnten die röntgendichten 316L-Stent mittels Durchleuchtung in jeder Phase des Eingriffes sichtbar gemacht werden, wodurch sich Position und Expansionsverhalten sicher kontrollieren ließ. Auf diese Verfahren konnte bei Darstellung der röntgendurchlässigen PLLA/P4HB-Stents nicht zurückgegriffen werden. Hier nutze man zur Lagekontrolle nach Implantation die vasokonstriktive Gefäßreaktion proximal und distal der PLLA/P4HB-Stents als indirektes Zeichen welche mittels Durchführung einer DSA dargestellt werden konnte. Durch die in das Material der PLLA/P4HB-Stents integrierte Röntgenmarkierungen der Serie B wurde diese Methode jedoch überflüssig. So konnte im Vergleich zu vorangegangenen Studien hierdurch erstmals die Position der PLLA/P4HB-Stents radiologisch im Gefäß dargestellt werden. Eine sichere Überwachung des Dilatationsvorganges war durch die Markierung selbst jedoch nicht möglich. Durch Verwendung von Röntgenkontrastmittel zur Inflation des Ballonkatheters konnte das sonst nicht sichtbare Entfaltungsverhalten der PLLA/P4HB-Stent in der röntgenologischen Durchleuchtung erneut indirekt dargestellt werden. Zwar stellt die Angiografie im Sinne einer DSA bei arteriellen Verschlusskrankheiten bis heute das Standardverfahren zur Darstellung des Gefäßsystems dar, da hierfür allerdings ein in das Gefäßsystem vorgeschobener Katheter notwendig ist, ist dieses Verfahren postoperativ letztlich nur mit größerem Mehraufwand realisierbar.

## DISKUSSION

Zur postoperativen Darstellung des Stenosegrades der Stents wurde daher in den Serie A und B vor Explantation ein Kontrastmittel-CT durchgeführt. Während dieses Vorgehen im Vergleich zur Angiografie zwar ein weniger invasives Verfahren darstellt, ist der Organismus durch die systemische Applikation von Röntgenkontrastmittel jedoch einer deutlich höheren Strahlenbelastung ausgesetzt. In der Auswertung des angefertigten Bildmaterials zeigte sich außerdem, dass eine differenzierte Darstellung der Stents im Gefäßverbund indes nicht zweifelsfrei möglich. Einerseits ließ sich eine genaue Differenzierung der metallischen 316L-Stents vom angrenzenden Weichteilgewebe aufgrund einer durch Überlagerungseffekte verursachten Unschärfe nicht treffen, andererseits war auch eine exakte Abgrenzung von Polymer zu Gefäßwand nicht eindeutig differenzierbar, weshalb der Außendurchmesser sowohl der Metall- als auch der Polymerstents nicht berechnet werden konnte. Zur Bestimmung des lokalen Stenosegrades nach Definition der ECST (European Carotid Surgery Trial) wird dieser jedoch vorausgesetzt (112), weshalb zur vergleichenden Analyse der distale Stenosegrad nach NASCET (113) bestimmt wurde. Laut dieser Definition erfolgt die Berechnung des Stenosegrades ausschließlich durch den Innendurchmesser, welcher mittels Kontrastmittelsäule sowohl bei Metall- als auch Polymerstents in der angefertigten Bilddiagnostik dargestellt und berechnet werden konnte.

Hier zeigte der Vergleich zwischen Polymer- und Metallstents ähnliche Werte, während Auffälligkeiten insbesondere zwischen den versorgten Gefäßen bestanden. So wurde in der Gruppe der Nierenstents sowohl bei Metall- als auch Polymerstents ein signifikant höherer Stenosegrad als in der Gruppe der in die Halsschlagader implantierten Stents auffällig. Auswirkung bezüglich der systemische Applikation von Atorvastatin zeigten sich ausschließlich in der Gruppe der ACC-Polymerstents, welche im Gruppenvergleich eine durchschnittlich geringere Stenose ergaben. Auffällig wurde jedoch eine beträchtliche Varianz der Ergebnisse. In Zusammenschau mit der Tatsache, dass die 1,6-fach dickere Wandstärke der PLLA/P4HB-Stents (316L: 160  $\mu\text{m}$  vs. PLLA/P4HB: 250  $\mu\text{m}$ ) in der Berechnung der NASCET-Formel außer Acht gelassen wird, sind diese Ergebnisse in Anbetracht der nur ungenauen Festlegung von Gewebegrenzen daher nur eingeschränkt auswertbar und finden sich in den exakteren histologischen Untersuchungen nur zum Teil wieder.

Neben Darstellung des Stenosegrades konnten die histologischen Untersuchungen Aufschluss über die Genese der postinterventionellen Stenosierung geben. Bekannt ist, dass

## DISKUSSION

als Folge eines endovaskulären Traumas die Bildung einer neointimalen Hyperplasie vom Organismus initiiert wird. Diese wird ihrerseits mit einem erhöhten Risiko einer Thrombusbildung assoziiert und ist damit ein entscheidender Faktor im Mechanismus der Gefäßstenosierung. Wenn auch in zeitlich kürzerer Abfolge als beim menschlichen Organismus zeigt sich diese Reaktion in vergleichbarer Weise beim Schwein (114). Die Ausbildung der neointimalen Hyperplasie wird dabei einerseits durch den Grad der Verletzung, andererseits durch die daraufhin einsetzende inflammatorische Reparationsreaktion entscheidend beeinflusst (115, 116).

Die histologischen Untersuchungen zeigen sich in Bezug auf Verletzung und Entzündungsreaktion der Gefäßwand durch die applizierten Stents heterogen. Während die 316L-Stents durchschnittlich eine größere Verletzung der Gefäßwand verursachen, teilweise mit Lazeration der Tunica media, weisen sie eine niedrige Entzündungsreaktion auf. In der Gruppe der Polymerstents zeigt sich hingegen ein signifikant geringerer Injury-Score bei deutlich höherer Entzündungsreaktion.

Die unterschiedlich ausgeprägte Gefäßaffektion ist allem Anschein nach auf das jeweilige Vorgehen bei der Positionierung der Stents im Gefäß zurück zu führen. So wurde das intravase Applizieren der Polymerstents mit niedrigerem Dilatationsdruck und langsamerer Expansionsgeschwindigkeit vorgenommen. Gleichzeitig schneiden die Polymerstents durch ihre breiteren Streben insgesamt weniger in die Tunica media der Gefäßwand ein, was insgesamt zu einer geringeren Gefäßverletzung führte. Der Implantationsvorgang ist vermutlich auch Grundlage für die gruppenübergreifend auffällig erhöhten histologischen Ergebnisse der A. renalis-Stents. Durch den steilen Abgangswinkel der Nierenarterien aus der Aorta entstehen bei Verschieben des Stents über den Führungsdraht Scherkräfte, welche mutmaßlich eine größere Verletzung der Gefäßwand und konsekutiv eine stärkere Reparationsreaktion als bei Implantation in die ACC hervorrufen. So zeigen sich bei den in die Nierenarterien implantierten Stents sowohl die Entzündungs- und Verletzungsscores als auch die planimetrischen und morphologischen Ergebnisse im Vergleich zu den in die A. carotis communis implantierten Stents durchgehend erhöht.

Die serienübergreifend hohen Entzündungszeichen der Polymerstents sind hingegen auf deren Bioresorbierbarkeit zurückzuführen. In der Literatur zwar kontrovers diskutiert, könnte im Zuge der ablaufenden Degradationreaktion vermehrt die Entzündungskaskade aktiviert werden. Zwar wird dem Degradationsprodukt der Polylactide, dem L-Lactat,

## DISKUSSION

theoretisch keine inflammatorische Wirkung zugesprochen, da es im Citratzyklus zu Kohlendioxid und Wasser umgewandelt wird (117, 118). Abhängig von Geschwindigkeit der Degradation und Konzentration der Umwandlungsprodukte konnte jedoch aufgezeigt werden, dass diese in-vivo sowohl eine erneute Inflammationsreaktion hervorrufen als auch bestehende Reaktionen aufrechterhalten können (119, 120).

Es zeigen sich in beiden Stent-Gruppen demnach unterschiedliche Vorgänge für die entstandene residuelle Gefäßverengung. Diese lassen sich in den morphologischen Untersuchungen noch detaillierter nachvollziehen. So findet sich in der Gruppe der 316L-Stents nach Implantation in die ACC durch die mechanische Beanspruchung der Gefäßwand bei der Stentexpansion vorwiegend eine Hyperproliferation der Tunica media. Die in das gleiche Gefäß eingebrachten PLLA/P4HB-Stents zeigen hier hingegen als Folge einer gesteigerten Entzündungsreaktion eine im Verhältnis deutlich größere intimale Hyperproliferation.

In der Auswertung kann diesbezüglich auch der Einfluss des antiproliferativen Stoffes Sirolimus nachvollzogen werden. So kann im Vergleich zu den unbeladenen Polymerstents sowohl eine geringere intimale (PLLA/P4HB:  $0,22 \pm 0,12$  mm; SIR-PLLA/P4HB:  $0,14 \pm 0,07$  mm) als auch mediale Hyperplasie (PLLA/P4HB:  $0,27 \pm 0,11$  mm; SIR-PLLA/P4HB:  $0,23 \pm 0,02$  mm) in der Gruppe der SIR-PLLA/P4HB-Stents nachgewiesen werden.

Dieser Effekt zeigt sich, wenngleich in geringerer Ausprägung, analog auch in den planimetrischen Messungen der Neointimafläche und der Stenoserate. Insbesondere in der berechneten Stenoserate muss jedoch berücksichtigt werden, dass lediglich die intimale Hyperplasie in das Verhältnis zum Originallumen gesetzt wird, weshalb weder die Effekte auf die Tunica media noch die größere Wandstärke der Polymerstents in die Messungen einbezogen werden.

Insgesamt keinen signifikanten Unterschied in der histomorphologischen Analyse erbrachte die systemische Behandlung der Versuchstiere mit Atorvastatin. Trotz der in der Literatur beschriebenen antiproliferativen Effekte auf endotheliale Hyperplasie (121) konnte weder in der Gruppe der 316L-Stents noch in der Gruppe der PLLA/P4HB-Stents ein positiver Einfluss auf die postinterventionelle Neointimabildung und Restenoseraten beobachtet werden. Im Vergleich zu der Anwendung im Bereich der Humanmedizin muss jedoch festgehalten werden, dass in dieser Studie gesunde Schweine ohne artherosklerotische Vorerkrankung Anwendung fanden.

### **Ausblick**

Insgesamt zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit einen vielversprechenden Ansatz bestehende Einschränkungen von Metallstents durch den Einsatz degradierbarer Polymerstents zu überwinden. Die prinzipielle Übertragbarkeit des verwendeten Schweine-Modells auf eine klinische Anwendung konnte dargelegt werden. Um eine bessere Vergleichbarkeit zwischen den unterschiedlichen Stentgruppen zu erreichen und sich der klinischen Anwendbarkeit weiter anzunähern sind jedoch einige Optimierungen in Ablauf unerlässlich.

Im Vergleich zu den industriell vorgefertigten Schleusen-Systemen der Metall-Stents musste für die Platzierung der Polymerstents auf manuell gekürzte Schleusen zurückgegriffen werden. Die hierbei meist nicht optimal verbliebenen Schnittflächen stellten bei jedem Implantationsvorgang ein nicht unbeträchtliches Risiko einer Gefäßwandverletzung dar. Auch die Notwendigkeit die Stents zur sicheren Verankerung vor Implantation vorexpandieren zu müssen verursachte im Zuge des Implantationsvorganges zusätzliche Friktion auf die Gefäßwand. Durch Etablierung eines vorgefertigten Systems könnte man dieses Risiko deutlich verringern.

Ebenso der bereits in Vorstudien postulierte maximale Abgangswinkel der A. renalis von 70° als Kriterium einer Stentversorgung zeigte sich in dieser Arbeit als sinnvoll. Zwar konnte durch Verwendung eines rigideren Drahtes eine Verbesserung dieses Winkels prä-implantationem erreicht werden, es zeigte sich jedoch im Vergleich zu den Stents der ACC eine erhöhte reaktive Entzündungsreaktion, was mutmaßlich auf die hierdurch entstehenden größeren Traktionskräfte zurück zu führen ist. Ob diese zudem ein erhöhtes Risiko für eine Gefäßverletzung darstellen, kann zudem nicht sicher ausgeschlossen werden.

Auch die in dieser Studie verwendeten Röntgenmarkierungen mit Wolframmikropartikeln zeigten sich als sinnvolle Ergänzung um die Stentposition in der röntgenologischen Durchleuchtung zu visualisieren und sollten regelhaft verwendet werden. Um neben der Position eine den Metallstents vergleichbare Darstellung des vollständigen Expansionsvorganges zu erreichen, wäre eine erweiterte Besetzung des Stentgerüsts mit Röntgenpartikeln denkbar. Während die in dieser Studie verwendeten Röntgenmarkierungen keinen Einfluss auf die Biokompatibilität und Stabilität der

## DISKUSSION

PLLA/P4HB-Stents zeigten, bleibt zu beantworten wie weit und ob Wolframmikropartikel in größerer Anzahl hierauf Einfluss hätten.

Auffällig bleibt die durch Neointimahyperplasie deutlich erhöhte Stenoserate der PLLA/P4HB-Stents im Vergleich zu den Metallstents. Da diese Ergebnisse jedoch lediglich eine zeitlich punktuelle Abbildung nach 4 Wochen darstellen bleibt die Aussagekraft eingeschränkt. Denn ob diese Werte im Sinne eines kontinuierlichen Prozesses zu verstehen sind oder eine vorübergehende Initialreaktion auf den implantierten Fremdkörper darstellen bleibt unklar. Wie weit ein mögliches positives Remodeling langfristig Auswirkung zeigt sollte untersucht und Gegenstand weiterer Forschung sein.

Insgesamt unstrittig bleibt jedoch, dass bezüglich der vermehrten Stenosierung Optimierungsbedarf besteht. Ein Ansatz mit positiver Auswirkung auf die beobachtete Stenose zeigt die in dieser Studie angewendete Inkorporation von Sirolimus in den PLLA/P4HB-Stent. Als antiproliferativer Stoff zeigt er eine suppressive Wirkung auf die Inflammationsreaktion, führt hierdurch zu einer Reduktion der Neointimahyperplasie und damit konsekutiv zu einer Reduktion der Stenoserate. Die Inkorporation eines Stoffes in ein Stentgerüst welcher gezielt freigesetzt werden kann eröffnet in vielerlei Hinsicht weitreichend neue Möglichkeiten. Es würde hierdurch beispielsweise eine Reduktion von Komplikationen aufgrund Patienten-Noncompliance oder falscher Medikamenteneinnahme erreicht. Es wäre zudem möglich durch die lokale Freisetzung Stoffe in deutlich höherer Konzentration einzusetzen als das in systemischer Applikation möglich wäre. Vielversprechend zeigte sich hier beispielsweise eine in-vitro-Studie von Petersen et al. in welcher PLLA-Stents abluminal mit Sirolimus und luminalen mit einem Atorvastatin besetzt wurden. Während in unserer Studie die systemische Gabe von ATOR bei den Versuchstieren zu keiner signifikanten Reduktion der Neointimahyperplasie führte, zeigte Petersen et al. dass die lokale Freisetzung des Statins sowohl einen stabilisierenden Effekt auf artherosklerotische Plaques als auch eine stimulierenden Wirkung auf die endotheliale Funktion hat (122). Auch die Studiengruppe um Lee et al. konnte diesen Effekt sowohl in-vitro als auch in-vivo nachweisen (123). Huang et al. wiederum verwendeten erfolgreich einen Thrombozytenaggregationshemmer als eluierendes Agens und konnten auch hierüber eine Reduktion der Restenoserate erreichen (124).

Um die bestehenden Einschränkungen bioabbaubarer Stentsysteme zu bewältigen stehen dementsprechend noch eine große Zahl zu erforschender Möglichkeiten zur Verfügung. Der

## DISKUSSION

in dieser Arbeit verwendete neuartige PLLA/P4HB-Stent konnte einen vielversprechenden Ansatz aufzeigen und stellt damit einen weiteren Schritt zum Erreichen der klinischen Anwendbarkeit am Menschen dar.

### 6. ZUSAMMENFASSUNG

Die in dieser Studie dargelegten Ergebnisse dokumentieren einen weiteren Schritt in der Entwicklung bioresorbierbarer PLLA/P4HB-Stents als Alternative zu herkömmlichen permanenten 316L-Metallstents. Bekannte Defizite, wie die im Vergleich zu permanenten Stents vermehrt beobachtete reaktive inflammatorische Reaktion oder die im Applikationsprozess lediglich indirekte Visualisierung der Stents, konnten durch Inkorporation eines antiproliferativen Agens und einer Röntgenmarkierung verbessert und das etablierte Tiermodell zur transluminalen Applizierung neuer PLLA/P4HB-Stents optimiert werden.

Bestandteil der Studie waren insgesamt 25 Landschweine mit vergleichbarem Körpergewicht ( $25 \pm 2$  kg) in welchen Stents und vaskuläre Reaktion bei Implantation und Explantation nach 4 Wochen bildmorphologisch (Angiografie, CT) und histologisch untersucht wurden. Verteilt wurden die Tiere auf 3 Versuchsreihen, bei welchen 1 Tier in Versuchsreihe A und 3 Tiere in Versuchsreihe C als Drop-out gewertet wurden.

Alle Tiere erhielten präoperativ und bis zur Explantation eine duale systemische Antikoagulationstherapie mit Clopidogrel und ASS und eine peri- und postoperative Antibiotikaphylaxe für 4 Tage.

Die erste Versuchsreihe bestand aus 6 Versuchstieren. Es wurden 7 Metallstents und 9 unbeladenen Polymerstents in 2 Zielgefäße (ACC, A. renalis) implantiert. Die implantierten Stents der letzten zwei Versuchstiere konnten bereits röntgenmarkiert werden.

In gleichem Versuchsaufbau wurden in der zweiten Versuchsreihe 12 Metallstents und 14 unbeladene, röntgenmarkierte Polymerstents in 9 Versuchstiere implantiert. Zusätzlich erhielten die Tiere eine systemische orale Statin-Therapie (ATOR).

Die dritte Versuchsreihe wurde äquivalent mit 7 Versuchstieren durchgeführt. Es erfolgte die erfolgreiche Implantation von insgesamt 10 Metallstents und 12 Polymerstents ohne Röntgenmarkierung. Die in dieser Studie verwendeten PLLA/P4HB-Stents enthielten zudem eine Sirolimus eluierende Trägerschicht.

Der neue PLLA/P4HB-Stent konnte erfolgreich und sicher transluminal appliziert werden, erfüllte die erforderlichen mechanischen Eigenschaften und zeigte sich nach 4 Wochen

## ZUSAMMENFASSUNG

ausreichend durchgängig. Die in Versuchsreihe B eingeführte Röntgenmarkierung erwies sich im Implantationsprozess als hilfreich und sollte obligatorisch Verwendung finden.

Auffällig erhöht zeigte sich die im Vergleich zur Kontrollgruppe der Metallstents die vaskuläre Entzündungsrate und die damit verbundene Stenoserate. Zwar zeigte die Inkorporation von sich lokal freisetzenden Antiproliferativa eine Reduktion der neointimalen Hyperplasie, den Vergleich zum etablierten Metallstents konnte der neue PLLA/P4HB-Stent hierbei jedoch nicht standhalten. Eine in experimentellen Studien bereits vielversprechende Weiterentwicklung könnte diesbezüglich die zusätzliche Inkorporation eines sich freisetzenden Statins darstellen und sollte Gegenstand weiterer Studien sein.

## 7. THESEN

1. Diese Arbeit optimiert die endoluminale Applikation eines neuartigen, biodegradierbaren Polymer-Stents in einem porcinen Tiermodell und zeigt erfolgreich die vergleichende Testung mit einem klinisch etablierten Metallstent.
2. Als optimales Zugangsgefäß zeigt sich beim Versuchsschwein die A. Iliaca communis, als optimale Zielgefäße die Aa. carotides communes und Aa. renales.
3. Für das Einbringen des Schleusensystems ist die operative Freilegung des Zugangsgefäßes obligat, da die Versuchstiere eine vermehrte vasospastische Anfälligkeit für Manipulation zeigen.
4. Die entsprechend der Vorgehensweise beim Menschen perioperativ durchgeführte duale Antikoagulationstherapie mit ASS und Clopidogrel ist zur Risikoreduzierung von Stenoseereignissen im porcinen Tierversuch empfehlenswert.
5. Die Inkorporation einer Röntgenmarkierung ermöglicht die verbesserte intraoperative Darstellung des Applikationsprozesses der Polymerstents.
6. Die neuen PLLA/P4HB-Stents erfüllten die erforderlichen mechanischen Eigenschaften und zeigten sich nach 4 Wochen ausreichend durchgängig.
7. Trotz der im Vergleich zu den Metallstents erniedrigten Gefäßwandverletzung führt der verwendete Polymerstent aufgrund seiner vermehrten Entzündungsreaktion zu einer höheren Stenoserate.
8. Die vermehrt beobachtete inflammatorische Reaktion der bioresorbierbaren Polymerstents ist zu großen Teilen auf die Degradationsreaktion zurück zu führen und kann durch die Inkorporation eines antiproliferativen Agens reduziert werden.
9. Die perioperative, systemische Behandlung mit Atorvastatin hat im porcinen Tiermodell keinen positiven Einfluss auf die postinterventionelle Neointimabildung und Stenoserate.
10. Das in dieser Arbeit optimierte Versuchsmodell am Landschwein eignet sich für die weitere Forschung zur vergleichenden Untersuchung von biodegradierbaren PLLA/P4HB-Polymerstents im peripheren arteriellen Gefäßsystems

## 8. LITERATURVERZEICHNIS

1. Bundesamt S. Bevölkerung Deutschlands bis 2060 - Begleitheft zur Pressekonferenz am 18. November 2009.
2. Alberti KGMM, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, u. a. Harmonizing the Metabolic Syndrome. *Circulation*. 20. Oktober 2009;120(16):1640–5.
3. Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*. 14. Dezember 2006;444(7121):840–6.
4. Won K-B, Chang H-J, Kim H-C, Jeon K, Lee H, Shin S, u. a. Differential impact of metabolic syndrome on subclinical atherosclerosis according to the presence of diabetes. *Cardiovasc Diabetol*. 4. März 2013;12:41.
5. Andersson CX, Gustafson B, Hammarstedt A, Hedjazifar S, Smith U. Inflamed adipose tissue, insulin resistance and vascular injury. *Diabetes Metab Res Rev*. 1. November 2008;24(8):595–603.
6. Brede S, Serfling G, Klement J, Schmid SM, Lehnert H. Clinical Scenario of the Metabolic Syndrome. *Visc Med*. 19. September 2016;32(5):336–41.
7. Henrichot E, Juge-Aubry CE, Pernin A, Pache J-C, Velebit V, Dayer J-M, u. a. Production of chemokines by perivascular adipose tissue: a role in the pathogenesis of atherosclerosis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. Dezember 2005;25(12):2594–9.
8. Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FGR. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *J Vasc Surg*. 1. Januar 2007;45(1):S5–67.
9. Diehm C, Schuster A, Allenberg JR, Darius H, Haberl R, Lange S, u. a. High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. *Atherosclerosis*. Januar 2004;172(1):95–105.
10. Fontaine R, Kim M, Kieny R. [Surgical treatment of peripheral circulation disorders]. *Helv Chir Acta*. Dezember 1954;21(5–6):499–533.
11. Carman TL, Fernandez BB. Contemporary management of peripheral arterial disease: II. Improving walking distance and quality of life. *Cleve Clin J Med*. Oktober 2006;73 Suppl 4:S38-44.
12. Huppert P, Tacke J, Lawall H. S3-Leitlinien zur Diagnostik und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. *Radiol*. Januar 2010;50(1):7–15.
13. Dotter CT, Judkins MP. TRANSLUMINAL TREATMENT OF ARTERIOSCLEROTIC OBSTRUCTION. DESCRIPTION OF A NEW TECHNIC AND A PRELIMINARY REPORT OF ITS APPLICATION. *Circulation*. November 1964;30:654–70.
14. Grüntzig A, Mahler F, Kumpe D, Brunner U, Meier W. [Experiences with Dotter's percutaneous recanalization of chronic arterial occlusions]. *Schweiz Med Wochenschr*. 20. März 1976;106(12):422–4.

## LITERATURVERZEICHNIS

15. Grüntzig A, Schneider HJ. [The percutaneous dilatation of chronic coronary stenoses--experiments and morphology]. *Schweiz Med Wochenschr.* 5. November 1977;107(44):1588.
16. Nikol S. Perkutane transluminale Angioplastie (PTA) der Arteria femoralis superficialis. *Phlebologie.* 2011;40(5):257–266.
17. Cejna M, Thurnher S, Illiasch H, Horvath W, Waldenberger P, Hornik K, u. a. PTA versus Palmaz stent placement in femoropopliteal artery obstructions: a multicenter prospective randomized study. *J Vasc Interv Radiol JVIR.* Januar 2001;12(1):23–31.
18. Schillinger M, Haumer M, Schlerka G, Mlekusch W, Exner M, Ahmadi R, u. a. Restenosis after percutaneous transluminal angioplasty in the femoropopliteal segment: the role of inflammation. *J Endovasc Ther Off J Int Soc Endovasc Spec.* Oktober 2001;8(5):477–83.
19. Mintz GS, Kent KM, Pichard AD, Popma JJ, Satler LF, Leon MB. Intravascular ultrasound insights into mechanisms of stenosis formation and restenosis. *Cardiol Clin.* Februar 1997;15(1):17–29.
20. Lowe HC, Oesterle SN, Khachigian LM. Coronary in-stent restenosis: current status and future strategies. *J Am Coll Cardiol.* 16. Januar 2002;39(2):183–93.
21. Schwartz RS, Topol EJ, Serruys PW, Sangiorgi G, Holmes DR. Artery size, neointima, and remodeling: time for some standards. *J Am Coll Cardiol.* Dezember 1998;32(7):2087–94.
22. Bermejo J, Botas J, García E, Elízaga J, Osende J, Soriano J, u. a. Mechanisms of residual lumen stenosis after high-pressure stent implantation: a quantitative coronary angiography and intravascular ultrasound study. *Circulation.* 14. Juli 1998;98(2):112–8.
23. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation.* 5. März 2002;105(9):1135–43.
24. Schillinger M, Exner M, Mlekusch W, Rumpold H, Ahmadi R, Sabeti S, u. a. Vascular inflammation and percutaneous transluminal angioplasty of the femoropopliteal artery: association with restenosis. *Radiology.* Oktober 2002;225(1):21–6.
25. Scott NA, Cipolla GD, Ross CE, Dunn B, Martin FH, Simonet L, u. a. Identification of a potential role for the adventitia in vascular lesion formation after balloon overstretch injury of porcine coronary arteries. *Circulation.* 15. Juni 1996;93(12):2178–87.
26. Orford JL, Selwyn AP, Ganz P, Popma JJ, Rogers C. The comparative pathobiology of atherosclerosis and restenosis. *Am J Cardiol.* 24. August 2000;86(4B):6H-11H.
27. Casscells W. Migration of smooth muscle and endothelial cells. Critical events in restenosis. *Circulation.* September 1992;86(3):723–9.
28. Ip JH, Fuster V, Badimon L, Badimon J, Taubman MB, Chesebro JH. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J Am Coll Cardiol.* Juni 1990;15(7):1667–87.
29. Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, u. a. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation.* 5. Januar 1999;99(1):44–52.
30. Erbel R, Schatz R, Dietz U, Nixdorff U, Haude M, Aichinger S, u. a. [Balloon dilatation and coronary vascular stent implantation]. *Versicherungsmedizin.* 1. Mai 1989;41(3):82–4.

## LITERATURVERZEICHNIS

31. Haude M, Erbel R, Issa H, Meyer J. Quantitative analysis of elastic recoil after balloon angioplasty and after intracoronary implantation of balloon-expandable Palmaz-Schatz stents. *J Am Coll Cardiol*. Januar 1993;21(1):26–34.
32. de Feyter PJ, de Jaegere PP, Serruys PW. Incidence, predictors, and management of acute coronary occlusion after coronary angioplasty. *Am Heart J*. März 1994;127(3):643–51.
33. Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, u. a. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med*. 25. August 1994;331(8):496–501.
34. Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, u. a. A Comparison of Balloon-Expandable-Stent Implantation with Balloon Angioplasty in Patients with Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*. 25. August 1994;331(8):489–95.
35. Serruys PW, Strauss BH, Beatt KJ, Bertrand ME, Puel J, Rickards AF, u. a. Angiographic Follow-up after Placement of a Self-Expanding Coronary-Artery Stent. *N Engl J Med*. 3. Januar 1991;324(1):13–7.
36. Schömig A, Neumann F-J, Kastrati A, Schühlen H, Blasini R, Hadamitzky M, u. a. A Randomized Comparison of Antiplatelet and Anticoagulant Therapy after the Placement of Coronary-Artery Stents. *N Engl J Med*. 25. April 1996;334(17):1084–9.
37. Brophy JM, Belisle P, Joseph L. Evidence for use of coronary stents. A hierarchical bayesian meta-analysis. *Ann Intern Med*. 20. Mai 2003;138(10):777–86.
38. Sousa JE, Serruys PW, Costa MA. New Frontiers in Cardiology. *Circulation*. 6. Mai 2003;107(17):2274–9.
39. Kraitzer A, Kloog Y, Zilberman M. Approaches for prevention of restenosis. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. Mai 2008;85(2):583–603.
40. Morice M-C, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, u. a. A Randomized Comparison of a Sirolimus-Eluting Stent with a Standard Stent for Coronary Revascularization. *N Engl J Med*. 6. Juni 2002;346(23):1773–80.
41. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O’Shaughnessy C, u. a. Sirolimus-Eluting Stents versus Standard Stents in Patients with Stenosis in a Native Coronary Artery. *N Engl J Med*. 2. Oktober 2003;349(14):1315–23.
42. Poon M, Marx SO, Gallo R, Badimon JJ, Taubman MB, Marks AR. Rapamycin inhibits vascular smooth muscle cell migration. *J Clin Invest*. 15. November 1996;98(10):2277–83.
43. Axel DI, Kunert W, Göggelmann C, Oberhoff M, Herdeg C, Küttner A, u. a. Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery. *Circulation*. 15. Juli 1997;96(2):636–45.
44. Abizaid A. Sirolimus-eluting coronary stents: a review. *Vasc Health Risk Manag*. April 2007;3(2):191–201.

## LITERATURVERZEICHNIS

45. Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, u. a. A Polymer-Based, Paclitaxel-Eluting Stent in Patients with Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*. 15. Januar 2004;350(3):221–31.
46. Lasala JM, Stone GW, Dawkins KD, Serruys PW, Colombo A, Grube E, u. a. An overview of the TAXUS Express, paclitaxel-eluting stent clinical trial program. *J Intervent Cardiol*. Oktober 2006;19(5):422–31.
47. Birkmeier KA, Kastrati A, Byrne RA, Holle H, Schulz S, Tiroch K, u. a. Five-year clinical outcomes of sirolimus-eluting versus paclitaxel-eluting stents in high-risk patients. *Catheter Cardiovasc Interv Off J Soc Card Angiogr Interv*. 1. März 2011;77(4):494–501.
48. Stettler C, Wandel S, Allemann S, Kastrati A, Morice MC, Schömig A, u. a. Outcomes associated with drug-eluting and bare-metal stents: a collaborative network meta-analysis. *Lancet Lond Engl*. 15. September 2007;370(9591):937–48.
49. van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR, u. a. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation*. 1. Oktober 1996;94(7):1690–7.
50. Finn AV, Joner M, Nakazawa G, Kolodgie F, Newell J, John MC, u. a. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization. *Circulation*. 8. Mai 2007;115(18):2435–41.
51. Kotani J, Awata M, Nanto S, Uematsu M, Oshima F, Minamiguchi H, u. a. Incomplete neointimal coverage of sirolimus-eluting stents: angioscopic findings. *J Am Coll Cardiol*. 16. Mai 2006;47(10):2108–11.
52. Stone GW, Rizvi A, Newman W, Mastali K, Wang JC, Caputo R, u. a. Everolimus-Eluting versus Paclitaxel-Eluting Stents in Coronary Artery Disease. *N Engl J Med*. 6. Mai 2010;362(18):1663–74.
53. Serruys PW, Silber S, Garg S, van Geuns RJ, Richardt G, Buszman PE, u. a. Comparison of Zotarolimus-Eluting and Everolimus-Eluting Coronary Stents. *N Engl J Med*. 8. Juli 2010;363(2):136–46.
54. Windecker S, Serruys PW, Wandel S, Buszman P, Trznadel S, Linke A, u. a. Biolimus-eluting stent with biodegradable polymer versus sirolimus-eluting stent with durable polymer for coronary revascularisation (LEADERS): a randomised non-inferiority trial. *Lancet Lond Engl*. 27. September 2008;372(9644):1163–73.
55. Niemelä KO. Biodegradable coating for drug-eluting stents—more than a facelift? *Eur Heart J*. 1. August 2008;29(16):1930–1.
56. Garg S, Bourantas C, Serruys PW. New concepts in the design of drug-eluting coronary stents. *Nat Rev Cardiol*. Mai 2013;10(5):248–60.
57. Abizaid A, Costa JR. New drug-eluting stents: an overview on biodegradable and polymer-free next-generation stent systems. *Circ Cardiovasc Interv*. August 2010;3(4):384–93.
58. Zheng YF, Gu XN, Witte F. Biodegradable metals. *Mater Sci Eng R Rep*. März 2014;77:1–34.

## LITERATURVERZEICHNIS

59. Peuster M, Hesse C, Schloo T, Fink C, Beerbaum P, von Schnakenburg C. Long-term biocompatibility of a corrodible peripheral iron stent in the porcine descending aorta. *Biomaterials*. Oktober 2006;27(28):4955–62.
60. Hermawan H, Dube D, Mantovani D. Patents on Metallic Biodegradable Stents. *Recent Pat Mater Sci*. 1. Juni 2010;3(2):140–5.
61. Drynda A, Hassel T, Bach FW, Peuster M. In vitro and in vivo corrosion properties of new iron-manganese alloys designed for cardiovascular applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. April 2015;103(3):649–60.
62. Vormann J. Magnesium: nutrition and metabolism. *Mol Aspects Med*. 6. Februar 2003;24(1–3):27–37.
63. Heublein B, Rohde R, Kaese V, Niemeyer M, Hartung W, Haverich A. Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology? *Heart Br Card Soc*. Juni 2003;89(6):651–6.
64. Erbel R, Di Mario C, Bartunek J, Bonnier J, de Bruyne B, Eberli FR, u. a. Temporary scaffolding of coronary arteries with bioabsorbable magnesium stents: a prospective, non-randomised multicentre trial. *Lancet Lond Engl*. 2. Juni 2007;369(9576):1869–75.
65. Hennig B, Toborek M, McClain CJ. Antiatherogenic properties of zinc: implications in endothelial cell metabolism. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. Oktober 1996;12(10):711–7.
66. Bowen PK, Drelich J, Goldman J. Zinc exhibits ideal physiological corrosion behavior for bioabsorbable stents. *Adv Mater Deerfield Beach Fla*. 14. Mai 2013;25(18):2577–82.
67. Mostaed E, Sikora-Jasinska M, Drelich JW, Vedani M. Zinc-based alloys for degradable vascular stent applications. *Acta Biomater*. 15. April 2018;71:1–23.
68. Brown DA, Lee EW, Loh CT, Kee ST. A New Wave in Treatment of Vascular Occlusive Disease: Biodegradable Stents—Clinical Experience and Scientific Principles. *J Vasc Interv Radiol*. 1. März 2009;20(3):315–24.
69. Tamai H. Biodegradable stents four year follow-up. Present TCT [Internet]. 2004 [zitiert 9. Februar 2017]; Verfügbar unter: [http://www.summitmd.com/pdf/pdf/050204\\_lecture4.pdf](http://www.summitmd.com/pdf/pdf/050204_lecture4.pdf)
70. Tamai H, Igaki K, Kyo E, Kosuga K, Kawashima A, Matsui S, u. a. Initial and 6-month results of biodegradable poly-L-lactic acid coronary stents in humans. *Circulation*. 25. Juli 2000;102(4):399–404.
71. Ormiston JA, Webster MWI, Armstrong G. First-in-human implantation of a fully bioabsorbable drug-eluting stent: the BVS poly-L-lactic acid everolimus-eluting coronary stent. *Catheter Cardiovasc Interv Off J Soc Card Angiogr Interv*. Januar 2007;69(1):128–31.
72. Serruys PW, Ormiston JA, Onuma Y, Regar E, Gonzalo N, Garcia-Garcia HM, u. a. A bioabsorbable everolimus-eluting coronary stent system (ABSORB): 2-year outcomes and results from multiple imaging methods. *The Lancet*. 14. März 2009;373(9667):897–910.

## LITERATURVERZEICHNIS

73. Serruys PW, Onuma Y, Ormiston JA, de Bruyne B, Regar E, Dudek D, u. a. Evaluation of the second generation of a bioresorbable everolimus drug-eluting vascular scaffold for treatment of de novo coronary artery stenosis: six-month clinical and imaging outcomes. *Circulation*. 30. November 2010;122(22):2301–12.
74. Kischkel S, Grabow N, Püschel A, Erdle B, Kabelitz M, Martin DP, u. a. Biodegradable polymeric stents for vascular application in a porcine carotid artery model: English version. *Gefasschirurgie Z Vaskulare Endovaskulare Chir Organ Dtsch Osterreichischen Ges Gefasschirurgie Unter Mitarbeit Schweiz Ges Gefasschirurgie*. 2016;21:30–6.
75. Grabow N, Martin H, Schmitz KP. The impact of material characteristics on the mechanical properties of a poly(L-lactide) coronary stent. *Biomed Tech (Berl)*. 2002;47 Suppl 1 Pt 1:503–5.
76. Grabow N, Schlun M, Sternberg K, Hakansson N, Kramer S, Schmitz K-P. Mechanical properties of laser cut poly(L-lactide) micro-specimens: implications for stent design, manufacture, and sterilization. *J Biomech Eng*. Februar 2005;127(1):25–31.
77. Büniger CM, Grabow N, Hauenstein K, Ketner L, Kröger C, Sternberg K, u. a. Anastomotic stenting in a porcine aortoiliac graft model. *Lab Anim*. Januar 2007;41(1):71–9.
78. Grabow N, Büniger CM, Sternberg K, Mews S, Schmohl K, Schmitz K-P. Mechanical Properties of a Biodegradable Balloon-expandable Stent From Poly(L-lactide) for Peripheral Vascular Applications. *J Med Devices*. 10. August 2006;1(1):84–8.
79. Büniger CM, Grabow N, Sternberg K, Ketner L, Kröger C, Lorenzen B, u. a. Iliac anastomotic stenting with a biodegradable poly-L-lactide stent: a preliminary study after 1 and 6 weeks. *J Endovasc Ther Off J Int Soc Endovasc Spec*. August 2006;13(4):539–48.
80. Büniger CM, Grabow N, Kröger C, Lorenzen B, Hauenstein K, Goosmann M, u. a. Iliac anastomotic stenting with a sirolimus-eluting biodegradable poly-L-lactide stent: a preliminary study after 6 weeks. *J Endovasc Ther Off J Int Soc Endovasc Spec*. Oktober 2006;13(5):630–9.
81. Büniger CM, Grabow N, Sternberg K, Kröger C, Ketner L, Schmitz K-P, u. a. Sirolimus-Eluting Biodegradable Poly-L-Lactide Stent for Peripheral Vascular Application: A Preliminary Study in Porcine Carotid Arteries. *J Surg Res*. 1. Mai 2007;139(1):77–82.
82. Grabow N, Büniger CM, Schultze C, Schmohl K, Martin DP, Williams SF, u. a. A biodegradable slotted tube stent based on poly(L-lactide) and poly(4-hydroxybutyrate) for rapid balloon-expansion. *Ann Biomed Eng*. Dezember 2007;35(12):2031–8.
83. Büniger CM, Grabow N, Sternberg K, Goosmann M, Schmitz K-P, Kreutzer HJ, u. a. A biodegradable stent based on poly(L-lactide) and poly(4-hydroxybutyrate) for peripheral vascular application: preliminary experience in the pig. *J Endovasc Ther Off J Int Soc Endovasc Spec*. Oktober 2007;14(5):725–33.
84. Grabow N, Büniger CM, Kischkel S, Timmermann JH, Reske T, Martin DP, u. a. Development of a sirolimus-eluting poly (L-lactide)/poly(4-hydroxybutyrate) absorbable stent for peripheral vascular intervention. *Biomed Tech (Berl)*. Oktober 2013;58(5):429–37.
85. Trends, complications, and mortality in peripheral vascular surgery. *J Vasc Surg*. 1. Februar 2006;43(2):205–16.

## LITERATURVERZEICHNIS

86. A systematic review of lower extremity arterial revascularization economic analyses. *J Vasc Surg.* 1. Oktober 2011;54(4):1131-1144.e1.
87. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzner NR, Bakal CW, Creager MA, Halperin JL, u. a. ACC/AHA Guidelines for the Management of Patients with Peripheral Arterial Disease (Lower Extremity, Renal, Mesenteric, and Abdominal Aortic). *J Vasc Interv Radiol.* September 2006;17(9):1383–98.
88. White CJ, Gray WA. Endovascular Therapies for Peripheral Arterial Disease: An Evidence-Based Review. *Circulation.* 6. November 2007;116(19):2203–15.
89. Endovascular Interventions for Femoropopliteal Peripheral Artery Disease: A Network Meta-Analysis of Current Technologies. *J Vasc Interv Radiol.* 1. Dezember 2017;28(12):1617-1627.e1.
90. National trends in lower extremity bypass surgery, endovascular interventions, and major amputations. *J Vasc Surg.* 1. Juli 2009;50(1):54–60.
91. TASC Steering Committee, Jaff MR, White CJ, Hiatt WR, Fowkes GR, Dormandy J, u. a. An Update on Methods for Revascularization and Expansion of the TASC Lesion Classification to Include Below-the-Knee Arteries: A Supplement to the Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). *Vasc Med Lond Engl.* Oktober 2015;20(5):465–78.
92. Peeters P, Bosiers M, Verbist J, Deloose K, Heublein B. Preliminary results after application of absorbable metal stents in patients with critical limb ischemia. *J Endovasc Ther Off J Int Soc Endovasc Spec.* Februar 2005;12(1):1–5.
93. Hoffmann R, Mintz GS, Haager PK, Bozoglu T, Grube E, Gross M, u. a. Relation of stent design and stent surface material to subsequent in-stent intimal hyperplasia in coronary arteries determined by intravascular ultrasound. *Am J Cardiol.* 15. Juni 2002;89(12):1360–4.
94. Chaabane C, Otsuka F, Virmani R, Bochaton-Piallat M-L. Biological responses in stented arteries. *Cardiovasc Res.* 15. Juli 2013;99(2):353–63.
95. Grabow Niels, Martin David P., Schmitz Klaus-Peter, Sternberg Katrin. Absorbable polymer stent technologies for vascular regeneration. *J Chem Technol Biotechnol.* 26. Oktober 2009;85(6):744–51.
96. Strandberg E, Zeltinger J, Schulz DG, Kaluza GL. Late positive remodeling and late lumen gain contribute to vascular restoration by a non-drug eluting bioresorbable scaffold: a four-year intravascular ultrasound study in normal porcine coronary arteries. *Circ Cardiovasc Interv.* 1. Februar 2012;5(1):39–46.
97. Rechavia E, Fishbien MC, DeFrance T, Nakamura M, Parikh A, Litvack F, u. a. Temporary arterial stenting: comparison to permanent stenting and conventional balloon injury in a rabbit carotid artery model. *Cathet Cardiovasc Diagn.* Mai 1997;41(1):85–92.
98. Serruys PW, Garcia-Garcia HM, Onuma Y. From metallic cages to transient bioresorbable scaffolds: change in paradigm of coronary revascularization in the upcoming decade? *Eur Heart J.* 1. Januar 2012;33(1):16–25.
99. Soares JS, Moore JE. Biomechanical Challenges to Polymeric Biodegradable Stents. *Ann Biomed Eng.* Februar 2016;44(2):560–79.

## LITERATURVERZEICHNIS

100. Williams SF, Rizk S, Martin DP. Poly-4-hydroxybutyrate (P4HB): a new generation of resorbable medical devices for tissue repair and regeneration. *Biomed Tech (Berl)*. Oktober 2013;58(5):439–52.
101. Vermassen F, Bouckenoghe I, Moreels N, Goverde P, Schroe H. Role of bioresorbable stents in the superficial femoral artery. *J Cardiovasc Surg (Torino)*. April 2013;54(2):225–34.
102. Local drug delivery for percutaneous coronary intervention. *Pharmacol Ther*. 1. März 2011;129(3):260–6.
103. Vogt F, Stein A, Rettemeier G, Krott N, Hoffmann R, vom Dahl J, u. a. Long-term assessment of a novel biodegradable paclitaxel-eluting coronary polylactide stent. *Eur Heart J*. August 2004;25(15):1330–40.
104. Heublein B, Ozbek C, Pethig K. Silicon carbide-coated stents: clinical experience in coronary lesions with increased thrombotic risk. *J Endovasc Surg Off J Int Soc Endovasc Surg*. Februar 1998;5(1):32–6.
105. Dahm JB, Willems T, Wolpers HG, Nordbeck H, Becker J, Ruppert J. Clinical investigation into the observation that silicon carbide coating on cobalt chromium stents leads to early differentiating functional endothelial layer, increased safety and DES-like recurrent stenosis rates: results of the PRO-Heal Registry (PRO-Kinetic enhancing rapid in-stent endothelialisation). *EuroIntervention J Eur Collab Work Group Interv Cardiol Eur Soc Cardiol*. Januar 2009;4(4):502–8.
106. Iqbal J, Chamberlain J, Francis SE, Gunn J. Role of Animal Models in Coronary Stenting. *Ann Biomed Eng*. 1. Februar 2016;44(2):453–65.
107. Virmani R, Kolodgie FD, Farb A, Lafont A. Drug eluting stents: are human and animal studies comparable? *Heart*. Februar 2003;89(2):133.
108. Toutouzas K, Colombo A, Stefanadis C. Inflammation and restenosis after percutaneous coronary interventions. *Eur Heart J*. 1. Oktober 2004;25(19):1679–87.
109. Tan J-Y, Shi W-H, He J, Zhu L, Wang T-P, Yu B. [A clinical trial of using antiplatelet therapy to prevent restenosis following peripheral artery angioplasty and stenting]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. 25. März 2008;88(12):812–5.
110. Singh P, Harper Y, Oliphant CS, Morsy M, Skelton M, Askari R, u. a. Peripheral interventions and antiplatelet therapy: Role in current practice. *World J Cardiol*. 26. Juli 2017;9(7):583.
111. Hiatt WR. Pharmacologic therapy for peripheral arterial disease and claudication. *J Vasc Surg*. Dezember 2002;36(6):1283–91.
112. Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). *Lancet Lond Engl*. 9. Mai 1998;351(9113):1379–87.
113. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators, Barnett HJM, Taylor DW, Haynes RB, Sackett DL, Peerless SJ, u. a. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med*. 15. 1991;325(7):445–53.

## LITERATURVERZEICHNIS

114. Schwartz RS, Edwards WD, Bailey KR, Camrud AR, Jorgenson MA, Holmes DR. Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs. Implications for restenosis models. *Arterioscler Thromb J Vasc Biol.* März 1994;14(3):395–400.
115. Rogers C, Edelman ER. Endovascular stent design dictates experimental restenosis and thrombosis. *Circulation.* 15. Juni 1995;91(12):2995–3001.
116. Carter AJ, Laird JR, Kufs WM, Bailey L, Hoopes TG, Reeves T, u. a. Coronary stenting with a novel stainless steel balloon-expandable stent: determinants of neointimal formation and changes in arterial geometry after placement in an atherosclerotic model. *J Am Coll Cardiol.* April 1996;27(5):1270–7.
117. Saino E, Focarete ML, Gualandi C, Emanuele E, Cornaglia AI, Imbriani M, u. a. Effect of electrospun fiber diameter and alignment on macrophage activation and secretion of proinflammatory cytokines and chemokines. *Biomacromolecules.* 9. Mai 2011;12(5):1900–11.
118. Sangsanoh P, Waleetorncheepsawat S, Suwantong O, Wutticharoenmongkol P, Weeranantanapan O, Chuenjitbuntaworn B, u. a. In vitro biocompatibility of schwann cells on surfaces of biocompatible polymeric electrospun fibrous and solution-cast film scaffolds. *Biomacromolecules.* Mai 2007;8(5):1587–94.
119. Guo Q, Lu Z, Zhang Y, Li S, Yang J. In vivo study on the histocompatibility and degradation behavior of biodegradable poly(trimethylene carbonate-co-d,l-lactide). *Acta Biochim Biophys Sin.* 1. Juni 2011;43(6):433–40.
120. Chen D, Su Z, Weng L, Cao L, Chen C, Zeng S, u. a. Effect of inflammation on endothelial cells induced by poly-L-lactic acid degradation in vitro and in vivo. *J Biomater Sci Polym Ed.* 13. Oktober 2018;29(15):1909–19.
121. Corsini A, Pazzucconi F, Arnaboldi L, Pfister P, Fumagalli R, Paoletti R, u. a. Direct effects of statins on the vascular wall. *J Cardiovasc Pharmacol.* Mai 1998;31(5):773–8.
122. Petersen S, Hussner J, Reske T, Grabow N, Senz V, Begunk R, u. a. In vitro study of dual drug-eluting stents with locally focused sirolimus and atorvastatin release. *J Mater Sci Mater Med.* November 2013;24(11):2589–600.
123. Lee C-H, Chang S-H, Lin Y-H, Liu S-J, Wang C-J, Hsu M-Y, u. a. Acceleration of re-endothelialization and inhibition of neointimal formation using hybrid biodegradable nanofibrous rosuvastatin-loaded stents. *Biomaterials.* Mai 2014;35(15):4417–27.
124. Huang Y, Venkatraman SS, Boey FYC, Lahti EM, Umashankar PR, Mohanty M, u. a. In vitro and in vivo performance of a dual drug-eluting stent (DDES). *Biomaterials.* Mai 2010;31(15):4382–91.

## 9. ABKÜRZUNGEN

316L	_____	Medizinischer Edelstahl
ACC	_____	Arteria carotis communis
AHA	_____	American Heart Association
AL	_____	Fläche Restlumen
ALAT	_____	Alanin-Aminotransferase
AP	_____	Alkalische Phosphatase
aPTT	_____	Activated partial thromboplastin time
AR	_____	Arteria renalis
ASAT	_____	Aspartat-Aminotransferase
ASS	_____	Acetylsalicylsäure
BMS	_____	bare metal stent
BVS	_____	Bioresorbable Vascular Scaffold
CI	_____	Claudicatio intermittens
CLI	_____	Critical limb ischaemia
CRP	_____	C-reaktives Protein
CT	_____	Computertomographie
DES	_____	Drug eluting stent
DSA	_____	Digitale Subtraktionsangiographie
EEM	_____	Membrana elastica externa
Hb	_____	Hämoglobin
HDL	_____	High density Lipoprotein
Hkt	_____	Hämatokrit
i.m.	_____	Intramuskulär
IDF	_____	International Diabetes Federation
IDS	_____	Innendurchmesser Stent
IEM	_____	Membrana elastica interna
INR	_____	International Normalized Ratio
ISR	_____	in-Stent-Restenosen
IU	_____	International Unit

## ABKÜRZUNGEN

LDH	Lactat-Dehydrogenase
LDL	Low density Lipoprotein
MCH	Mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	Mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	Mittleres korpuskuläres Volumen
MT	Mediadicke
NaCl	Natriumchlorid
NASCET	North American Surgical Carotid Endarterectomy Trial
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
NI	Neointima
NIH	Neointimale Hyperplasie
NT	Neointimale Dicke
OL	Originallumen
P4HB	Poly-4-Hydroxybuttersäure
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDLA	Poly-D-Lactid-Acid
PDLLA	Poly-D-L-Lactid-Acid
PLA	Poly-Lactid-Acid
PLLA	Poly-L-Lactid-Acid
PTA	Perkutane transluminale Angioplastie
RF	Prozentuale flächenbezogene Restenose
RL	Residuallumen
SIR	Sirolimus
ST	in-Stent-Thrombose
TA	Tunica adventitia
TG	Triglyceride
TM	Tunica media
γ-GT	γ-Glutamyltransferase

## 10. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Klassifikation der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Fontaine _____	2
Tabelle 2: Inflammatory-Score nach Karnowski _____	28
Tabelle 3: Injury-Score nach Schwartz _____	28
Tabelle 4: Stent-Lokalisation Versuchsreihe A _____	31
Tabelle 5: Stent-Lokalisation Versuchsreihe B _____	32
Tabelle 6: Stent-Lokalisation Versuchsreihe C _____	32
Tabelle 7: Basisparameter; intraoperative Blutwerte bei Implantations-Eingriff _____	36
Tabelle 8: Basisparameter; intraoperative Blutwerte bei Explantations-Eingriff _____	37
Tabelle 9: Statingabe-assoziierte Laborparameter Implantation und Explantation _____	38
Tabelle 10: Messwerte der CT-Untersuchungen Serie A + B _____	42
Tabelle 11: IfS-Score nach Karnowski _____	45
Tabelle 12: IjS-Score nach Schwartz _____	46
Tabelle 13: IfS-/IjS-Score Serie A und B in Bezug auf systemische Statingabe _____	48
Tabelle 14: Morphometrie Versuchsserie A _____	49
Tabelle 15: Morphometrie Versuchsserie B _____	49
Tabelle 16: Morphometrie Versuchsserie C _____	49
Tabelle 17: Neointima-Fläche _____	50
Tabelle 18: Restenoserate _____	51

## 11. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: 316L-Stent auf OTW-PTA-System _____	13
Abbildung 2: PLLA/P4HB-Polymer-Stent _____	14
Abbildung 3: Röntgenmarkierter PLLA/P4HB-Stent _____	14
Abbildung 4: Repräsentative DSA der Aa. carotides communes _____	24
Abbildung 5: CT-Messung der Innendurchmesser; Stent (links), Gefäß (rechts) _____	25
Abbildung 6: Schematische Darstellung zur Ableitung NASCET-Score _____	26
Abbildung 7: Schematische Darstellung der Schnittführung zur Präparate-Herstellung ____	27
Abbildung 8: Schema der morphometrischen und planimetrischen Messungen _____	29
Abbildung 9: DSA-Übersichtsaufnahme Aa. renales; Abgangswinkel rechts > 90° _____	33
Abbildung 10: Implantation Metall-Stent rechte A. renalis _____	33
Abbildung 11: ACC rechts mit expandierten 316L-Metall-Stent (Vergrößerung) _____	39
Abbildung 12: ACC links mit expandierten röntgenmarkierten PLLA/P4HB-Polymer-Stent _	39
Abbildung 13: ACC links, Expansion eines PLLA/P4HB-Polymer-Stents mittels PTA-Ballon _	39
Abbildung 14: Stents in expandiertem Zustand _____	40
Abbildung 15: DSA-Aufnahme der ACC _____	40
Abbildung 16: kontrastmittelgestützte CT-Aufnahme _____	41
Abbildung 17: kontrastmittelgestützte CT-Querschnittsaufnahme _____	41
Abbildung 18: NASCET-Score _____	43
Abbildung 19: ACC; Histologischer Querschnitt eines 316L-Metall-Stents _____	44
Abbildung 20: ACC; Histologischer Querschnitt eines PLLA/P4HB-Polymer-Stents _____	44
Abbildung 21: ACC; Histologischer Querschnitt eines 316L-Metall-Struts _____	44
Abbildung 22: ACC; Histologischer Querschnitt eines PLLA/P4HB-Polymer-Struts _____	44
Abbildung 23: Inflammatory - Score nach Karnowski der PLLA/P4HB-Stents _____	47
Abbildung 24: Neointimafläche _____	52
Abbildung 25: Flächenbezogene Stenoserate _____	52

## 12. LEBENS LAUF

### Persönliche Daten

Geburtsdatum und -ort: 03.05.1986, Darmstadt

Staatsangehörigkeit: Deutsch

Familienstand: Verheiratet

### Berufstätigkeit

Arzt in Weiterbildung (Orthopädie und Unfallchirurgie)

Seit 05/2019 Abteilung für Allgemeine Orthopädie und Endoprothetik

Schön Klinik Hamburg Eilbek

Dehnhaiide 120

22081 Hamburg

03/2017 – 05/2019

Klinik für Orthopädie und Unfallchirurgie

Elbe Kliniken Stade

Okt 2014 – Feb 2017

Oberlinklinik

Orthopädische Fachklinik Potsdam

### Studium

Studium der Humanmedizin

2009 – 2014

Universität Rostock

05/2014

2. Staatsexamen

2007 – 2009

Universität Leipzig

05/2009

1. Staatsexamen

### Praktisches Jahr

09/2013 – 01/2014

Helios Kliniken Schwerin

Klinik für Gastroenterologie, Klinik für Nephrologie

06/2013 – 09/2013

Klinikum Südstadt, Rostock;

Abteilung für Unfallchirurgie und Orthopädie

02/2013 – 06/2013

Universitätsklinikum Rostock;

Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivtherapie

### Schulbildung

1996 – 2005

Viktoriaschule Darmstadt, Abschluss mit Abitur

### 13. SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Ich erkläre hiermit, dass ich die eingereichte Dissertation selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt sowie die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Des Weiteren versichere ich, dass diese Dissertation noch keiner anderen Fakultät oder Universität zur Prüfung vorgelegen hat, sie noch nicht veröffentlicht ist sowie dass ich mich noch nicht anderweitig um einen Doktorgrad beworben habe bzw. einen solchen bereits besitze.

Felix Moreth

Hamburg, 03. November 2020

## 14. DANKSAGUNG

An dieser Stelle möchte ich einen herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. med. Carsten Bürger für die Überlassung des Themas und Unterstützung bei der Durchführung aussprechen.

Besonderer Dank gilt auch Frau Dr. rer. hum. Sabine Kischkel ohne deren Hilfe und Ideen die Anfertigung dieser Promotionsschrift niemals zustande gekommen wäre.

Des Weiteren bedanke ich mich bei Frau Dr. rer. nat. Kathrin Reißig für die Hilfe bei der Ausarbeitung der statistischen Berechnungen.

Zuletzt möchte ich mich ganz herzlich bei meiner Frau Cora Moreth für die Unterstützung und Geduld bedanken, mit der sie mir bei der Ausarbeitung immer zur Seite gestanden hat.