

Aus der Klinik und Poliklinik für Allgemeine,
Thorax-, Gefäß- und Transplantationschirurgie
der Medizinischen Universität Rostock

Direktor: Prof. Dr. med. E. Klar

**Biodegradierbarer Polymerstent aus Polylactid für die Applikation im
peripheren Gefäßsystem- Untersuchung der Inflammation und
Thrombogenität in einem Schweinemodell**

Inauguraldissertation
zur
Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
der Medizinischen Fakultät

der Universität Rostock
vorgelegt von
Lisa Scherf, geboren in Rostock

Rostock, August 2008

Dekan: Prof. Dr. med. E. Ch. Reisinger

urn:nbn:de:gbv:28-diss2009-0124-4

Dekan: Prof. Dr. med. W. Schareck

1. Gutachter: PD Dr. med. C. Bünger

2. Gutachter: Prof Dr.-Ing. K.-P. Schmitz

3. Gutachter: Prof. Dr. med. E. S. Debus

INHALTSVERZEICHNIS

1. Einleitung.....	1
Arteriosklerose.....	1
Periphere arterielle Verschlusskrankheit.....	1
Perkutane transluminale Angioplastie.....	2
Permanente vaskuläre Stents.....	2
Folgen der Gefäßwandverletzung.....	3
Beeinflussung der Thrombogenese.....	4
Beeinflussung der neointimalen Hyperplasie.....	5
Textile Blutleiter als Gefäßersatz.....	6
2. Zielsetzung.....	8
3. Methoden.....	9
3.1. Stents.....	9
3.1.1. Metall-Stents aus Nitinol.....	9
3.1.2. Metall-Stents aus Edelstahl.....	9
3.1.3. Polymer-Stents aus PLLA und PLLA/PCL.....	9
Herstellung.....	10
Desinfektion.....	10
3.2. Versuchstiere.....	11
3.2.1. OP-Vorbereitung.....	11
3.2.2. Antikoagulation und Thrombozytenaggregationshemmung.....	12
3.2.3. OP-Ende.....	13
3.2.4. Postoperative Versorgung.....	13
3.3. Schweine-Modell: Stenting im iliakalen Anastomosenbereich.....	14
3.3.1. Operatives Vorgehen.....	14
Implantation einer PTFE-Y-Prothese aorto-bi-iliakal.....	14
Stenting der iliakalen Anastomose.....	15
Versuchsende.....	17
3.3.2. Peri- und postoperative Untersuchungen.....	18
3.3.2.1. Dopplersonographie.....	18
3.3.2.2. Computertomographie.....	18
3.3.3.2. Histologie.....	19
Probenaufbereitung.....	19
Morphologie.....	19

Semiquantitative Auswertung.....	19
Morphometrie.....	20
3.3.3. Versuchsgruppen.....	21
Gruppe A: Nitinol- ASS.....	21
Gruppe B: PLLA- ASS.....	22
Gruppe C: PLLA- ASS + CLOP.....	22
Gruppe D: PLLA/PCL- ASS + CLOP.....	22
3.4. Schweinemodell: PLLA-Stent in der A. carotis communis.....	23
3.4.1. Operatives Vorgehen.....	23
3.4.2. Thrombozytenaggregationshemmung.....	23
3.4.3. Histologische Auswertung.....	23
3.5. Statistik.....	24
4. Ergebnisse.....	25
4.1. Gruppe A: Nitinol- ASS.....	25
4.1.1. Operatives Vorgehen.....	25
4.1.2. Dopplersonographie.....	25
4.1.3. Computertomographie.....	26
4.2. Gruppe B: PLLA- ASS.....	27
4.2.1. Operatives Vorgehen.....	27
4.2.2. Dopplersonographie.....	28
4.2.3. Computertomographie.....	29
4.2.4. Histologie.....	29
4.2.4.1. Morphologie.....	29
Semiquantitative Auswertung.....	30
Morphometrie.....	32
4.3. Gruppe C: PLLA- ASS + CLOP.....	33
4.3.1. Operatives Vorgehen.....	33
4.3.2. Dopplersonographie.....	34
4.3.3. Computertomographie.....	34
4.3.4. Histologie.....	36
4.3.4.1. Morphologie.....	36
4.3.4.2. Semiquantitative Auswertung.....	37
4.3.4.3. Morphometrie.....	38
4.4. Gruppe D: PLLA/PCL- ASS + CLOP.....	39

4.4.1. Operatives Vorgehen.....	39
4.4.2. Dopplersonographie.....	39
4.4.3. Computertomographie.....	41
4.4.4. Histologie.....	41
4.4.4.1. Morphologie.....	42
4.5. Stenting der A. carotis communis.....	44
4.5.1. Operatives Vorgehen.....	44
4.5.2. Histologie.....	44
4.5.2.1. Morphologie.....	44
4.5.2.2. Semiquantitative Auswertung.....	44
4.5.2.3. Morphometrie.....	45
5. Diskussion.....	47
6. Zusammenfassung.....	53
7. Literaturverzeichnis.....	55
8. Abkürzungsverzeichnis.....	62
9. Abbildungsverzeichnis.....	64
10. Tabellenverzeichnis.....	66
Wissenschaftliche Leistungen.....	67
Lebenslauf.....	69
Selbstständigkeitserklärung.....	70
Danksagung.....	71
Thesen.....	73

1 EINLEITUNG

Arteriosklerose

Arteriosklerose ist laut WHO-Definition „eine variable Kombination von Veränderungen der Intima, bestehend aus einer herdförmigen Ansammlung von Fettsubstanzen, komplexen Kohlenhydraten, Blut- und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia“. Es kommt zu einer Verdickung und Verkalkung der Arterienwand, die mit Elastizitätsverlust einhergeht. Wichtige Risikofaktoren sind: arterielle Hypertonie, die mit Endothelschäden einhergeht, Hyperlipidämie, welche zu Plaqueablagerungen im Gefäßsystem führt, Nikotinabusus und Diabetes mellitus. Weiterhin spielen Adipositas, Hyperurikämie, Stress, Bewegungsmangel und hormonelle Einflüsse eine Rolle [1].

Die häufigsten Manifestationen der Arteriosklerose sind die koronare Herzkrankheit, die arterielle Verschlusskrankheit der Hirnarterien, der Viszeralarterien und die periphere arterielle Verschlusskrankheit.

Periphere arterielle Verschlusskrankheit

Die Periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) betrifft bis zu 10% der männlichen Bevölkerung über 50 Jahren. Hier ist das Rauchen der wichtigste Risikofaktor [2].

Es kommt zu einem Verschluss der extremitätenversorgenden Arterien. Dabei hängt die Größe der Restdurchblutung der Gefäße von der Länge des Verschlusses, Stenosegrad, Anzahl der betroffenen Gefäßetagen, Ausmaß der Kollateralkreisläufe und dem Versorgungsbedarf der abhängigen Gefäßregion ab. Je nach Lokalisation der Stenose kann man verschiedene Typen unterscheiden: den aortoiliakalen Typ, den Oberschenkeltyp und den peripheren Typ.

Das Leitsymptom ist der belastungsabhängige ischämische Schmerz, der sich distal der Stenose projiziert. Klinisch unterscheidet man vier Stadien nach Fontaine/ Ratschow:

- I- Beschwerdefreiheit
- II- Belastungsschmerz = Claudicatio intermittens
 - a) schmerzfreie Gehstrecke > 200m
 - b) schmerzfreie Gehstrecke < 200m
- III- Ischämischer Ruheschmerz der Muskulatur
- IV- Zusätzlich Nekrose/Gangrän

Therapeutisch steht eine Verbesserung der Vaskularisation im Vordergrund. Neben lokalen Anwendungen und medikamentösen Maßnahmen stehen vor allem chirurgische und interventionelle Verfahren zur Verfügung.

Bei der Thrombendarterektomie (TEA) wird die Gefäßintima z.B. mittels eines Ringstrippers ausgeschält und somit eine vorhandene Stenose beseitigt.

Bei Bypassoperationen handelt es sich um Umleitungsoperationen, wobei das Gefäß durch körpereigenes Material, z.B. eine autologe Vena saphena oder durch körperfremde Materialien z.B. Polytetrafluoroethylen (PTFE) ersetzt werden kann.

Die perkutane transluminale Angioplastie ist ein interventionelles Verfahren, wobei über einen Gefäßzugang ein Ballonkatheter in das betroffene Gefäß eingeführt werden kann. Mit Hilfe dieses Ballonkatheters können Gefäßstenosen aufgeweitet werden. Um einem elastischen Recoil (Rückstellkraft) des Gefäßes nach einer Angioplastie entgegen zu wirken, können Gefäßstützen, Stents, implantiert werden [3].

Viele Läsionen werden heutzutage primär endovaskulär versorgt und erst nach Versagen der Primärtherapie einer operativen Therapie zugeführt [2,4].

Perkutane transluminale Angioplastie (PTA)

Die perkutane transluminale Angioplastie ist ein interventionelles Verfahren. Dabei wird die A. femoralis punktiert und unter Röntgendurchleuchtung ein Führungsdraht vorgeschoben, über den der Ballonkatheter die aufzuweitende Gefäßläsion erreicht.

Erstmalig wurde dieses Verfahren 1964 von DOTTER und JUDKINS beschrieben, die arteriosklerotische Aa. femorales mittels eines Teflonkatheters aufdehnten [5]. Die PTA ist vor allem für kurzstreckige, wenig verkalkte Stenosen und Verschlüsse < 10 cm Länge geeignet [2]. Problematisch erweist sich dabei das Auftreten von Restenosen im aufgeweiteten Gefäß, die nach einer Angioplastie in 40-60 % der Fälle nach einem Jahr im behandelten Gefäßsegment auftreten [6-8].

Permanente vaskuläre Stents

Stents sind transluminal applizierbare Gefäßprothesen. Nach einer Angioplastie verhindern sie den elastischen Recoil des Gefäßes und können somit die Gefahr eines neuen Verschlusses des aufgeweiteten Gefäßes vermindern. Außerdem glätten sie nach Angioplastie entstandene Dissektionen der Gefäßwand. Diese Dissektionen können sich flussvermindernd auswirken und exponieren subendotheliales Gewebe und Arterienmedia dem zirkulierenden Blut und

Promotoren, was zur intimalen Hyperplasie oder einer Aktivierung der Gerinnungskaskade führen kann [4,9].

Stents können verschieden klassifiziert werden: meistens nach dem Mechanismus der Entfaltung, in selbstexpandierend und ballonexpandierbar, aber auch nach ihrem Material, Flexibilität vor und nach Aufweitung und nach Verkürzung des Stents während der Implantation.

Die erste Anwendung von vaskulären Stents im Menschen wird von SIGWART et al. beschrieben, die Stents aus chirurgischem Stahl in koronare und periphere Gefäße implantierten [10].

Das Material der Wahl ist rostfreier Stahl (316L), heutzutage allerdings gewinnt das Gedächtnismetall Nitinol, eine Nickel-Titanium-Legierung, immer mehr an Bedeutung [4]. Nitinol-Stents verfügen über eine höhere radiale Beanspruchbarkeit, die Fähigkeit nach einer Verformung in ihre alte Form zurückzufinden und eine verminderte Verkürzung. Erste Versuche zeigten eine signifikant bessere primäre Durchgängigkeit von Nitinol-Stents im Vergleich mit Stahlstents im Bereich der Femoralarterien [11].

Stents können für lange und komplexe Läsionen, auch in stark verkalkten Arterien, genutzt werden. Initiale Studien über Stenting in der A. femoralis superficialis erbrachten vielversprechende Ergebnisse mit Durchgängigkeitsraten von mehr als 85% nach 18 Monaten [9].

Folgen der Gefäßwandverletzung

Neben der akuten Stenthrombose ist vor allem die In-Stent-Restenose ein großes klinisches Problem. Bei der Entstehung einer Restenose sind Prozesse der Thrombogenese, Proliferation und Inflammation mit nachfolgender Ausbildung einer neointimalen Hyperplasie beteiligt [12-20].

Thrombose

Nach einer Verletzung der Gefäßwand kommen Bestandteile des Subendotheliums und der Arterienmedia mit dem Blutstrom in Kontakt. Es kommt zu einer Thrombozytenadhäsion. Der Ligand für die Adhäsion, der von-Willebrand-Faktor (vWF), bindet an spezifische Thrombozytenrezeptoren im Membranglycoprotein Ib (GP Ib). Zahlreiche andere

Plättchenstimuli wie Thrombin, Kollagen, Thromboxan (TXA₂) und ADP können an spezifische Rezeptoren an der Plättchenoberfläche binden und setzen eine Aktivierungskaskade in Gang. Mechanische Scherkräfte fördern außerdem die Plättchenaktivierung. Aktivierte Thrombozyten degranulieren und setzen ADP und TXA₂ frei, die wiederum an ihre Plättchenrezeptoren binden und die Thrombozytenaktivierung verstärken. Zuletzt haften die aktivierten und degranulierten Thrombozyten aneinander und bilden einen okkludierenden Thrombus an der Endothelläsion [21].

Proliferation

Bei einer Gefäßwandverletzung kommt es zur Produktion und Freisetzung von wachstumsstimulierenden Faktoren wie PDGF (platelet derived growth factor), EGF (epidermal growth factor) und TGF- β (β -transforming growth factor) und chemotaktischen Faktoren, wie Serotonin, Histamin und Noradrenalin. Unter dem Einfluss dieser Faktoren und dem Verlust der endothelialen inhibitorischen Einflüsse beginnen glatte Muskelzellen zu proliferieren. Sie wandern aus der Arterienmedia in die Intima ein [22].

Da Endothel nicht auf blankem Metall wachsen kann, sich aber auf einer dünnen Schicht aus Fibrin und Thrombus entwickeln kann, ist die Thrombose essentiell für den Heilungsprozess, muss aber kontrolliert werden. Der Erfolg eines vaskulären Stents ist abhängig von schneller Endothelialisierung und minimaler Thrombose [23].

Inflammation

Die Verletzung der Gefäßwand löst auch eine Entzündungsreaktion aus. Die inflammatorische Reaktion besteht vor allem aus Histiozyten, Lymphozyten, Granulomen und neutrophilen Granulozyten. Sowohl die Entzündungsreaktion als auch die Gefäßwandverletzung können, unabhängig voneinander und auch in Abwesenheit des anderen Faktors, eine Neointimaformation auslösen [24]. Es besteht eine positive Korrelation zwischen Schwere der Gefäßwandverletzung, Thrombusbildung und neointimaler Proliferation nach Stentimplantation im Schweinemodell [24-26].

Beeinflussung der Thrombogenese

Ein Ansatz zur Verminderung der neointimalen Hyperplasie ist die Hemmung der Thrombogenese. Derzeit stehen verschiedene Medikamente zur Hemmung der Thrombozytenaggregation zur Verfügung. Diese unterscheiden sich bezüglich ihren Wirkmechanismen und Wirkungsdauer. Als orale Medikation sind derzeit Cyclooxygenasehemmer und Hemmer der ADP-abhängigen Thrombozytenaggregation

verfügbar. Desweiteren werden Antagonisten des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptors parenteral angewendet.

Acetylsalicylsäure (ASS) ist der Thrombozytenaggregationshemmer der ersten Wahl und bewirkt eine irreversible Hemmung der Cyclooxygenase. Das führt wiederum zu einer Hemmung der thrombozytären Thromboxan (TXA₂)- Synthese. TXA₂ kann an spezifische Rezeptoren an der Plättchenoberfläche binden und eine Aktivierungskaskade in Gang setzen. Allerdings kommt es zu keiner Beeinflussung der thrombozytären Aktivierung z.B. über Kollagen oder Thrombin [21].

Die derzeitige Standardtherapie nach koronarer Stentimplantation zur Reokklusionsprophylaxe ist die Kombination von ASS und Clopidogrel. In mehreren Studien sind synergistische Effekte dieser beiden Medikamente beschrieben [27-29].

Clopidogrel hemmt effektiv und spezifisch die ADP-induzierte Thrombozytenaggregation. Nach metabolischer Aktivierung bindet der aktive Clopidogrelmetabolit, ein Thiolderivat, irreversibel an den humanen P2Y₁₂-ADP-Rezeptor und führt so zu einer Hemmung der Thrombozytenaggregation [21,30].

Zusätzlich wurden antiinflammatorische Effekte durch eine Reduktion von vaskulären Entzündungsmediatoren in der zerebrovaskulären, koronaren und peripheren Zirkulation gezeigt. Clopidogrel reduziert außerdem die intimale Hyperplasie und die Thrombozytenadhesion bei exponiertem subendothelialen Gewebe nach Gefäßwandverletzung [22].

In der CAPRIE-Studie zeigte sich die Überlegenheit von Clopidogrel gegenüber ASS bei der Risikoreduktion für das Wiederauftreten von ischämischen Ereignissen bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit, pAVK, oder Schlaganfall. Die Verträglichkeit von Clopidogrel ist ähnlich gut wie bei ASS [31].

Gegenstand früherer Studien war die Anwendung von Ticlopidin, ein weiterer Hemmstoff der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation. Unter der Anwendung von Ticlopidin sind jedoch in bis zu 1% der Fälle Neutropenien und in einigen Fällen sogar irreversible Knochenmarksschädigungen beschrieben [32]. Aufgrund eines günstigeren Nebenwirkungsprofils und einer einfacheren Dosierung hat Clopidogrel Ticlopidin ersetzt [33-34].

Die Antagonisten des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptors binden an den Rezeptor und verhindern die Bindung von Fibrinogen. Damit hemmen sie unabhängig vom Aktivierungsreiz die Thrombozytenaggregation. Sie werden vor allem in der Kardiologie bei instabiler Angina

pectoris und akutem Koronarsyndrom eingesetzt. Wirksame orale GP IIa/IIIb-Antagonisten sind derzeit nicht verfügbar [21].

Beeinflussung der neointimalen Hyperplasie

Ein weiterer Ansatz zur Beeinflussung der neointimalen Hyperplasie ist die Beschichtung von Stents mit immunsuppressiven Substanzen. Derzeit werden Sirolimus (Rapamycin), Paclitaxel und Everolimus klinisch angewendet. Diese Substanzen führen zur Hemmung des Zellzyklus und verhindern somit die Proliferation und überschießende Bildung einer Neointima, die zur Ausbildung von Restenosen führen kann. Als kritisch wird angesehen, dass nach Freisetzung des Pharmakons der Stent im Gefäß verbleibt und die Epithelialisierung aufgrund der Immunsuppression noch nicht abgeschlossen ist. Das kann zu späten Stenthrombosen führen [35].

Als ein weiterer Faktor für die Ausbildung einer Neointimahyperplasie wird der permanente Kontakt des Stents zu der Gefäßwand gesehen. Ein nur temporäres Stenting hätte den Vorteil der geschädigten Gefäßwand nur solange Stabilität zu gewähren, bis die Umbauvorgänge in der Gefäßwand abgeschlossen sind. In einer Studie von RECHAVIA et al. [36] ist die Neointimabildung nach nur temporärem Stenting vermindert im Gegensatz zu Gefäßen mit permanentem Stent. Sie gehen davon aus, dass temporäres Stenting die Gefäßwandverletzung reduziert und den Heilungsprozess fördert. Die meisten In-Stent-Restenosen treten im Zeitraum von 3-6 Monaten nach Intervention auf, selten später [37-49]. Daher erscheint es sinnvoll, wenn der Stent mindestens 6 Monate im Gefäß verbleibt, um einem späten Remodeling entgegenzuwirken.

PLLA könnte ein geeignetes Material für bioresorbierbare Stents sein und scheint bezüglich der Biokompatibilität nach verschiedenen in vivo und in vitro Untersuchungen Vorteile zu besitzen [43-44]. TAMAI et al. [45] wendeten erstmals PLLA-Stents in einer klinischen Studie am Menschen an. Dabei zeigten sich weder eine ausgeprägte Rückstellkraft (Recoil), noch eine Stentthrombose. Der PLLA-Stent war in dieser Studie auch nach 6 Monaten noch im Gefäß vorhanden. Bezüglich der Anwendbarkeit, Sicherheit und Effizienz war dieser PLLA-Stent durchaus mit den Metallstents im angegebenen Zeitraum von 6 Monaten vergleichbar. Andere Autoren beobachteten schlechtere mechanische Eigenschaften und höheres inflammatorisches Potential mit vermehrter intimaler Hyperplasie der Polymer-Stents gegenüber den Metallstents [46-48].

Textile Blutleiter als Gefäßersatz

In den 50er Jahren wurden die ersten künstlichen textilen Blutleiter entwickelt und stellten einen wesentlichen Fortschritt in der rekonstruktiven Gefäßchirurgie dar. Verwendet wurden drei verschiedene Materialien: Dacron (Polyethylentereftalat), Nylon und Teflon (PTFE, Polytetrafluorethylen). In einer vergleichenden Studie von HARISSON, SWANSON und LINCOLN 1957 wurde die Gewebereaktion dieser drei Materialien miteinander verglichen und es zeigte sich, dass Nylon die stärkste und Teflon die geringste Reaktion zeigte [49-50]. Die Gefäßneubildung nach Implantation von alloplastischen Gefäßprothesen untersuchten PETRY und HEBERER 1957. Sie beschrieben eine Organneubildung auf Grundlage einer einfachen Kunststoffprothese. Dabei entwickelte sich eine Dreischichtung, ähnlich dem Bau nativer Gefäße, wobei die Prothese in die Arterienmedia eingeschlossen wird und von adventitieller Seite neue Blutgefäße einsprossen [50].

Häufig werden PTFE-Prothesen für aortofemorale Bypässe genutzt. Dabei ist PTFE das Mittel der Wahl, wenn autologe Materialien nicht zur Verfügung stehen [51]. Desweiteren finden sie Anwendung als Venenersatz und Dialyseshunt.

Als Komplikation können Aneurysmata und Stenosierungen in der Anastomosenregion durch Inkongruenzen der Prothese und des nativen Gefäßes, sowie die traumatische Schädigung des Gefäßes durch die Operation, auftreten [52]. Durch die Implantation eines Stents in dieser Anastomosenregion könnten die Übergänge von der Prothese zum nativen Gefäß geglättet und die Ausbildung von Restenosen vermindert werden.

2 ZIELSETZUNG

Ziel dieser Arbeit ist die experimentelle Untersuchung eines neuen bioresorbierbaren Poly-L-lactid-Stents im Schweinemodell. Die mechanischen Eigenschaften in vitro wurden zuvor durch das Institut für Biomedizinische Technik in Rostock erprobt. Untersucht wurden die Dilatierbarkeit, elastische Rückfederung (Recoil), Verkürzung, Kollapsstabilität, Kriechverhalten und Degradation.

Der Stent wird peripher in der A. iliaca communis und der A. carotis communis angewendet. Um Aussagen über die Anwendbarkeit und Biokompatibilität zu treffen, werden die Experimente im Vergleich zu gängigen 316 L Metallstents aus rostfreiem medizinischem Stahl durchgeführt. Die Praktikabilität und Anwendbarkeit des Stents ist eine wichtige Grundlage für die spätere klinische Anwendung. Es erfolgen dopplersonographische und computertomographische Untersuchungen. Ziel hierbei ist es, Aussagen über die Durchgängigkeit der Stents und die Beeinflussung des Flusses distal der überstenteten Region zu treffen.

Bei der histologischen Untersuchung steht die Reaktion des Organismus im Vordergrund. Der Stent wird bezüglich der Thrombogenität, Entzündungsreaktion, Neointimabildung und Verletzung der Gefäßwand im Vergleich zu Metallstents untersucht. Dazu werden quantitative und semiquantitative Verfahren angewendet. Desweiteren wird ein Stenosemodell entwickelt, um den Stent in einer Umgebung zu untersuchen die häufigen klinischen Gegebenheiten entspricht. Um die Anwendbarkeit des Stenosemodells zu überprüfen, werden zunächst Versuche mit selbstexpandierenden Nitinol-Stents durchgeführt.

3 MATERIAL UND METHODEN

1. Stents

1.1. Metall- Stents aus Nitinol

Für die Versuche werden selbstexpandierende Nitinol-Stents (Prototyp einer Nickel-Titan-Legierung/Cortronik) genutzt. Sie werden mit Hilfe eines speziellen Trägersystems implantiert und entfalten nach Freisetzung aktiv ihre Eigenspannung.

1.2. Metall-Stents aus Edelstahl (316 L)

Für die Versuche werden ballonexpandierbare Metallstents (PHAINON 6,0 x 26mm) aus medizinischem rostfreiem Stahl (316) mit einer Siliziumkarbidbeschichtung genutzt. Das Stentdesign entspricht dem PEIRON System (BIOTRONIK / Berlin, Deutschland), welches kommerziell zur Verfügung steht. Die Stents werden gassterilisiert.

1.3. Polymerstents aus PLLA und PLLA/PCL

Die Entwicklung und Fertigung der expandierbaren röhrenförmigen Polymerstents erfolgt am Institut für Biomedizinische Technik der Universität Rostock. Zur Herstellung dienen ein teilautomatisiertes, PC-gesteuertes Tauchverfahren und ein CO₂-Laser [53-54] zum Schneiden der Laserstrukturierung der Stents. Als Material dienen reines Poly-L-Lactid (PLLA; Resomer® L214, Mw = 640.000 g/mol, Boehringer, Ingelheim, Deutschland) und für die Herstellung von PLLA-Blends 80% Poly-L-Lactid mit 10% Polycaprolacton (PCL; Mw = 130.000 g/mol, Birmingham Polymers, Birmingham, AL, USA) und 10% Triethylcitrat (TEC / Aldrich, Deisenhofen, Deutschland) aus einer 1,6%igen Lösung in Chloroform.

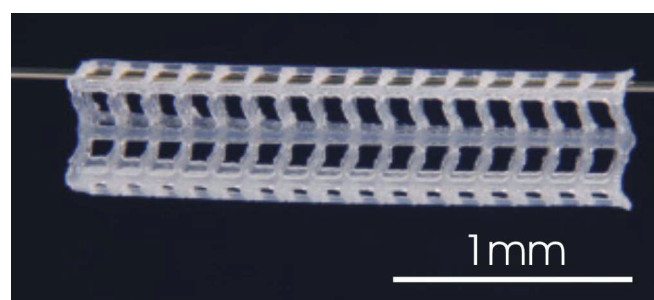


Abbildung 1: Polymerstent aus Poly-L-Lactid

Im Institut für Biomedizinische Technik werden die mechanischen Eigenschaften der Stents mittels etablierter Methoden untersucht. Im Mittelpunkt steht dabei das Verhalten der Stents bezüglich Recoil, Verkürzung, Kollapsstabilität, Kriechverhalten und Degradation.

Herstellung

Die Polymerröhrchen werden mit Hilfe eines Tauchroboters hergestellt. Dieser Tauchroboter ist mit 15 Halterungen ausgestattet, welche die sogenannten Tauchkerne magnetisch festhalten. Diese Tauchkerne sind Dornen aus Edelstahl, die durch ihren vorgegebenen Durchmesser von 2,8 mm den späteren Innendurchmesser der Stents bestimmen.

Mit Hilfe eines Manipulators werden die Tauchkerne in die Polymerlösung (PLLA bzw. PLLA/PCL/TEC) getaucht, abhängig von der gewünschten Stentdicke (270 µm) werden unterschiedlich viele Tauchgänge durchgeführt.

Durch Rollen der Tauchkerne zwischen zwei Kunststoffplatten können die Polymerröhrchen schließlich gelöst und abgezogen werden. Daraufhin werden sie in einem Vakuumschrank bei 40° C getrocknet. Anschließend erfolgt eine Waschung mit Wasser und Methanol, um die Chloroformanteile der Polymerröhrchen zu beseitigen.

Zur Laserstrukturierung wird mit einem CO₂-Laser (Wild Emco Lasertec, Hallein, Österreich) das vom Institut für Biomedizinische Technik entwickelte Design in die Polymerröhrchen geschnitten. Der Schneidprozess läuft CNC-gesteuert ab.

Bis zur Verwendung werden die Stents bei -20° C trocken gelagert um eine möglichst lange Haltbarkeit zu erzielen.

Desinfektion

Die Desinfektion der PLLA- und PLLA-Blend-Stents erfolgt mit 70%igem Ethanol direkt vor der Applikation, die Einwirkzeit beträgt eine Minute. Da eine Sterilisation mit einem Verlust der mechanischen Eigenschaften der Polymer-Stents einhergeht [44,53,55] wird darauf verzichtet.

Die Aufbewahrung bis zur definitiven Verwendung der Polymer-Stents erfolgt in 37° C warmer NaCl-Lösung.

2. Versuchstiere

Die Genehmigung zur Durchführung des Tierversuchsvorhabens wurde gemäß §8 Abs. 1 des Deutschen Tierschutzgesetzes vom 25. Mai 1998 durch das Landesveterinär- und Lebensmitteluntersuchungsamt Mecklenburg-Vorpommern (Az: LVL M-V/ 310-4/ 7221.3-1.1-017/02) in den Jahren 2002 (Erstantrag) für 2002 und 2003, in 2004 durch Folgeantrag erteilt.

Als Versuchstiere dienen klinisch gesunde, weibliche Landschweine vom Gut Rövershagen (Johannes Wübbel Laboratories). Das Körpergewicht der Tiere beträgt 35 bis 40 kg.

Fünf Tage vor der Operation werden die Tiere zur Adaptation in Einzelboxen des Großtierhauses des Experimentellen Forschungszentrums der Universität Rostock untergebracht. Die Tiere verbleiben dort während des gesamten Studienzeitraums. Die Raumtemperatur beträgt 18 - 21°C, die relative Raumfeuchte 60 %. Die Raumbelichtung wird dem Tagesrhythmus angeglichen.

Die Tiere erhalten freien Zugang zu Trinkwasser. Die Fütterung erfolgt mit einer natürlichen Getreide-Diät, die vor allem Rohproteine, aber wenig Fett und Cholesterin enthält.

2.1. OP- Vorbereitung

Am präoperativen Tag erfolgt eine zweimalige Gabe von Simeticon (Lefax®, 42 mg, Bayer, Leverkusen), sowie die Waschung des Schweins. Dies regt die Darmtätigkeit an, es kommt zur Stuhlentleerung, was am darauffolgenden OP-Tag die Freilegung des OP-Gebietes und den abschließenden Verschluss des Bauches erheblich erleichtert.

Die Nahrungskarenz beginnt spätestens 12 Stunden vor OP, freier Zugang zu Trinkwasser besteht aber zu jeder Zeit.

Die Prämedikation der Versuchstiere erfolgt 45 Minuten vor OP-Beginn gewichtsadaptiert mit der Gabe von Azaperon s.c. (Stresnil®, 10 mg/kg KG; Janssen, Neuss, Deutschland), Ketamin i.m. (2 mg/kg KG; Belapharm, Vechta, Deutschland) und Midazolam i.m. (Dormicum®, 0,1 mg/kg KG; Hoffmann La Roche, Grenzach/Wyhlen, Deutschland).

Im Operationssaal des Experimentellen Forschungszentrums der Universität Rostock wird das Tier in Rückenlage positioniert. Sonographisch wird der maximale Durchmesser der A. iliaca communis bzw. A. carotis communis beidseits während der Systole ermittelt.

Im Ohr wird eine 20 G Venenverweilkanüle (Vasofix®, Braun-Melsungen, Deutschland) platziert. Hierüber erfolgt die Blutentnahme zur Bestimmung von Hämoglobin (Hb),

Hämatokrit (Hk) und partieller Thromboplastinzeit (PTT). Die Intubation wird mittels eines geraden Spatels durchgeführt, ein Endotrachealtubus (7,0 mm ID, Mallinckrodt, Athione, Irland) wird platziert. Die Beatmung erfolgt volumenkontrolliert (Ventilog 2, Dräger, Lübeck, Deutschland). Der FiO₂ beträgt 40%. Dem Atemgas wird außerdem Isofluran (Abbott GmbH & Co KG, Wiesbaden, Deutschland) mit einer Konzentration von 0,8-1,2 Vol % beigemischt. Ein positiver endexpiratorischer Druck (PEEP) von 2 mmHg wird zur Verhinderung von Atelektasen und Verminderung des Risikos einer Pneumonie aufrechterhalten.

Während der Operation wird kontinuierlich Ketamin i.v. (1 mg/kg KG/h) und Flunitrazepam i.v. (Rohypnol®, 0,05 mg/kg KG/ h; Hoffmann La Roche, Grenzach/Wyhlen, Deutschland) gegeben.

Die Flüssigkeitssubstitution erfolgt gemäß ZVD mit Ringer-Lactat-Lösung (Sterofundin®, Braun-Melsungen, Deutschland) und isotoner NaCl-Lösung (Fresenius, Bad Homburg, Deutschland). Ein zentralvenöser Zugang wird über die V. jugularis externa geschaffen (Intrafix Air®, Braun-Melsungen, Deutschland).

Ein arterieller Zugang (Arrow, Quick Flash® Radial Artery Catheterisation Set, Reading, USA) erfolgt über die infrarenale Bauchorta. Dieser dient der direkten Blutdruckmessung und der Entnahme von arteriellem Blut für Blutgasanalysen (Rapidlab™, Bayer, Eastwalprode, USA), die zur Überprüfung und Korrektur der Beatmungsparameter wie pH, pO₂ und pCO₂ wiederholt durchgeführt werden. Außerdem wird die Oxygenierung über einen transkutanen Sensor überprüft.

Alle 30 Minuten erfolgt die Protokollierung von EKG, Herzfrequenz, Blutdruck, mittlerem arteriellen Druck, Sauerstoffsättigung, Urinausscheidung und Körpertemperatur.

Eine Antibiotikaphylaxe mit Ampicillin/Sulbactam (Unacid®, 1,5g; Pfizer, Karlsruhe, Deutschland) wird 30 Minuten vor Schnitt verabreicht. Der Durchmesser der Iliakalarterien wurde mittels farbcodierter Duplexsonografie ermittelt. Die Möglichkeit, eine Angiographie durchzuführen, bestand nicht.

2.2. Antikoagulation und Thrombozytenaggregationshemmung

Intraoperativ erfolgt die kontinuierliche Gabe von Heparin i.v. (50 I.E./kg KG/h; Liquemin®, Hoffmann La Roche, Grenzach/Wyhlen, Deutschland) über einen Perfusor. Am Vortag der OP sowie zwei Tage postoperativ erfolgt die Gabe von Enoxaparin s.c. (Clexane®, 40mg; Sanofi-Synthelabo, Berlin, Deutschland).

Die antithrombozytäre Therapie mit ASS (Aspirin®, 500 mg; Bayer, Leverkusen, Deutschland) und Clopidogrelsulfat (Plavix®, 75mg; Sanofi-Synthelabo, Berlin,

Deutschland) erfolgt für die einzelnen Versuchsgruppen verschieden und wird dort ausführlich beschrieben.

2.3. OP-Ende

Zum Versuchsende wird die kontinuierliche Gabe von Ketamin, Flunitrazepam und Isofluran beendet. Bei ausreichender Spontanatmung und einer Sauerstoffsättigung von über 90% wird das Versuchstier extubiert. Zur Vermeidung von postoperativen Schmerzen wird unmittelbar mit der Infusion von Ringerlactat-Lösung mit Zugabe von 1,25 g Metamizol und 200 mg Tramadol über 6 Stunden zur Schmerztherapie begonnen. Zusätzlich erhalten die Tiere Metamizol oral als Tropfen zum Futter.

2.4. Postoperative Versorgung

In der folgenden Nacht verbleibt das Tier im Operationssaal und wird kontinuierlich überwacht. Erst am nächsten Morgen erfolgt der Rücktransport in das Tierhaus (Abb. 2) des Experimentellen Forschungszentrums, wo das Tier bis zum Versuchsende verbleibt.



Abbildung 2: Versuchstier im Tierhaus des Experimentellen Forschungszentrums

3. Schweine-Modell: Stenting im iliakalen Anastomosenbereich

3.1. Operatives Vorgehen

Zur Standardisierung des Operationsverfahrens werden alle OP-Schritte von einem Gefäßchirurgen der Klinik und Poliklinik für Chirurgie der Universität Rostock durchgeführt. Nach Desinfektion und Abdeckung der Haut im Operationsgebiet erfolgt eine mediane Längslaparotomie mit Linksumschneidung des Bauchnabels unter sterilen Bedingungen. Nach Eröffnung des Peritoneums wird ein suprapubischer Blasenkatheter zur Urinableitung angelegt. Die Darmschlingen des Dick- und Dünndarms, sowie das Gekröse werden in ein feuchtes Tuch eingeschlagen und mit Hilfe von Haken beiseite gehalten. Es folgt die Eröffnung des Retroperitoneums mit Präparation der infrarenalen Aorta unter Schonung des Ductus lymphaticus und der A. mesenterica inferior. Beide Aa. iliacae communes werden freigelegt und mit Hilfe von Vesselloops angeschlossen.

Implantation einer PTFE-Y-Prothese aorto-bi-iliakal

Nach Verschluss der infrarenalen Aorta mit einer Satinski-Klemme wird diese um ca. 2 cm längsinzidiert. Nach einer Spülung mit Heparinkochsalzlösung wird eine Y-Prothese 12/ 6 mm aus Polytetrafluorethylen (PTFE, Goretex®, W.L.Gore and Associates, Flagstaff, USA) auf die inzidierte Aorta fortlaufend End-zu-Seit mit Polypropylen 6/0 (Prolene®, Ethicon, Norderstedt, Deutschland) genäht. Es erfolgt das Ausklemmen im Prothesenhosenbereich und die Entfernung der Satinski-Klemme. Dabei auftretende Blutungen werden mit Prolene® umstochen. Die A. iliaca communis wird proximal und distal ausgeklemmt, durchtrennt, abgangsnah umstochen und mit einer Ligatur versorgt. Die mit Heparinkochsalzlösung gespülte distale A. iliaca communis wird mit der Y-Prothese mit Nähung einer 1-2 mm großen Inversion anastomosiert (Abb.3). Dies geschieht unter Zuhilfenahme einer Lupenbrille mit 2,5-facher Vergrößerung. Die Inversion dient der Erzeugung einer Stenose im Anastomosenbereich. Nach Überprüfung auf Einstrom des Blutes aus dem Prothesenschenkel und Rückstrom aus der Iliakalarterie erfolgt das gleiche operative Vorgehen auf der Gegenseite.

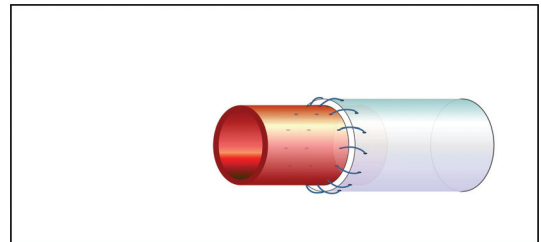
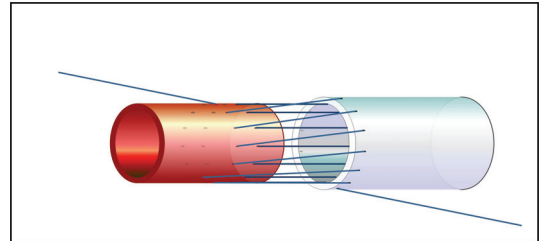
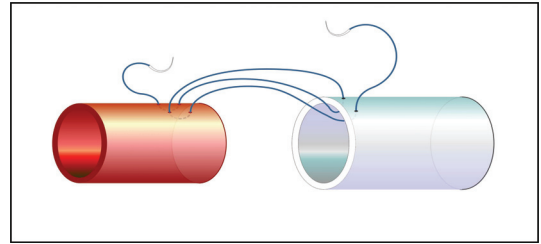
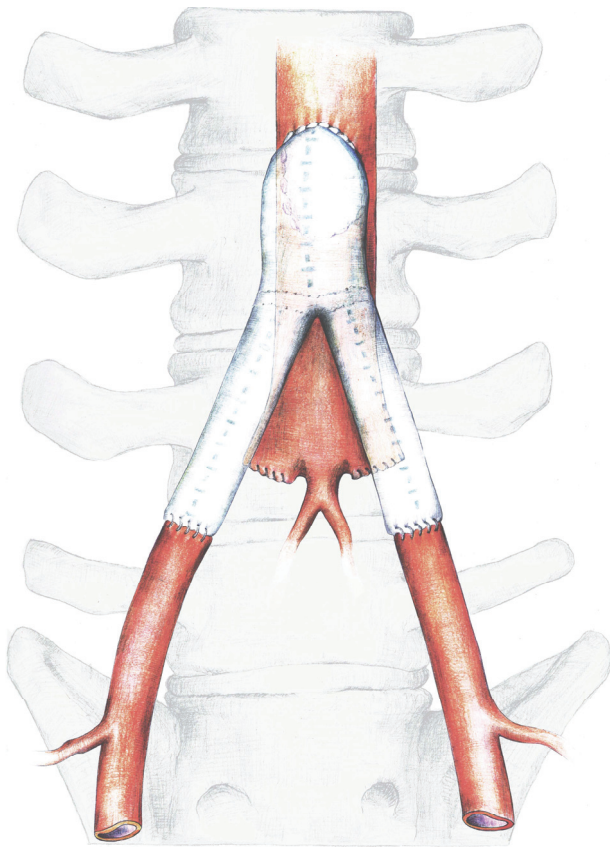


Abbildung 3: A: Implantation der Y- Prothese, B: Inversionsnaht im Bereich der iliakalen Anastomose

Stenting der iliakalen Anastomose

Zur Stentimplantation wird der Prothesenschenkel proximal der Iliakalanastomose ausgeklemmt. Es folgt eine Quersinzision der Prothese proximal der Anastomose, über die der Stent implantiert wird. Der Nitinolstent ist in ein spezielles Applikationssystem eingefasst und ist nach Freisetzung selbstexpandierend (Abb.4).

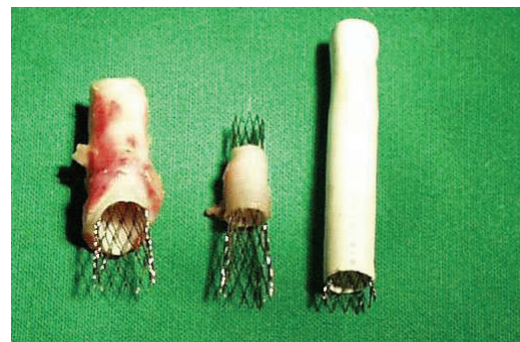
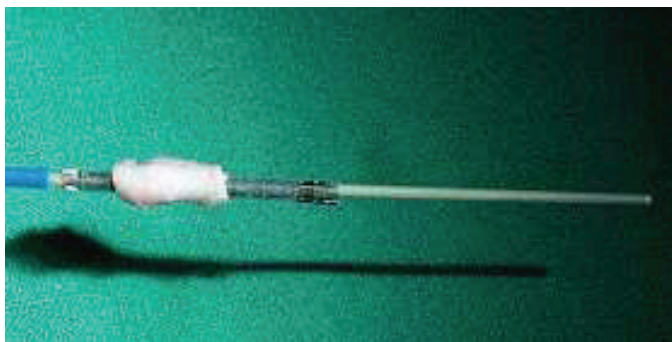


Abbildung 4: Nitinolstent in vitro

Die Implantation der Metall- und Polylactid-Stents geschieht mit Hilfe eines 6/40 mm Ballonkatheters (PHERON, BIOTRONIK, Berlin, Deutschland) der mittig über den Anastomosenbereich platziert wird. Die Überprüfung der korrekten Lage erfolgt über das Ertasten der Spitze des Ballonkatheters, sowie über das Visualisieren des Stents durch das Gefäß hindurch (Abb.5).

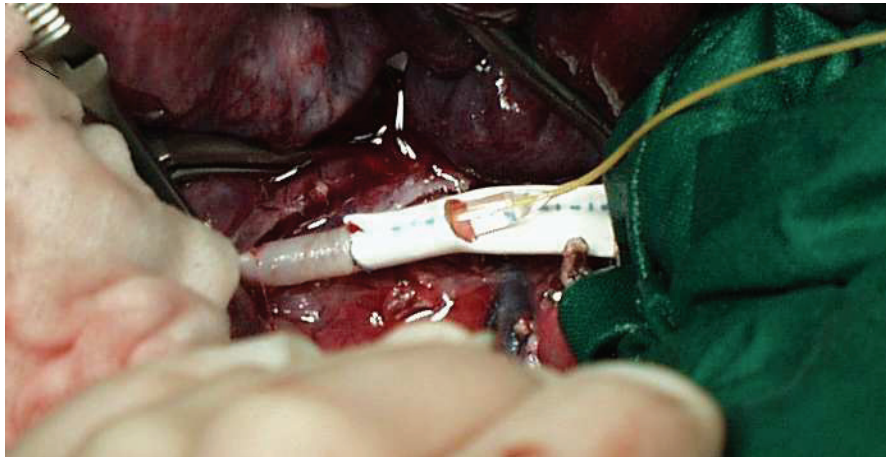


Abbildung 5: Stentimplantation mittels Ballonkatheter

Die Dilatation des 316 L-, PLLA- und PLLA-Blend-Stents erfolgt mittels Aufdehnung des Ballonkatheters auf 8 bar (Abb.6). Die Dilatation des 316L-Stents erfolgt innerhalb von Sekunden. Um eine Ruptur der Polymerstents zu vermeiden werden diese mit 1 bar/min aufgedehnt, die Aufdehnung der PLLA/PCL-Stents erfolgt mit 3 bar/min.

Der deflatierte Ballonkatheter wird entfernt, nach kurzem Flushen der Anastomose mit Heparinkochsalzlösung gespült und die Inzision durch Einzelknopfnähte (Prolene®) verschlossen. Dazu wird die A. iliaca communis distal des Stents kurzfristig durch einen Vesselloop verschlossen. Die proximale Klemme des Prothesenschenkels wird entfernt. Je nach Versuchsanordnung verbleibt die Gegenseite unbehandelt oder es erfolgt das gleiche operative Vorgehen.

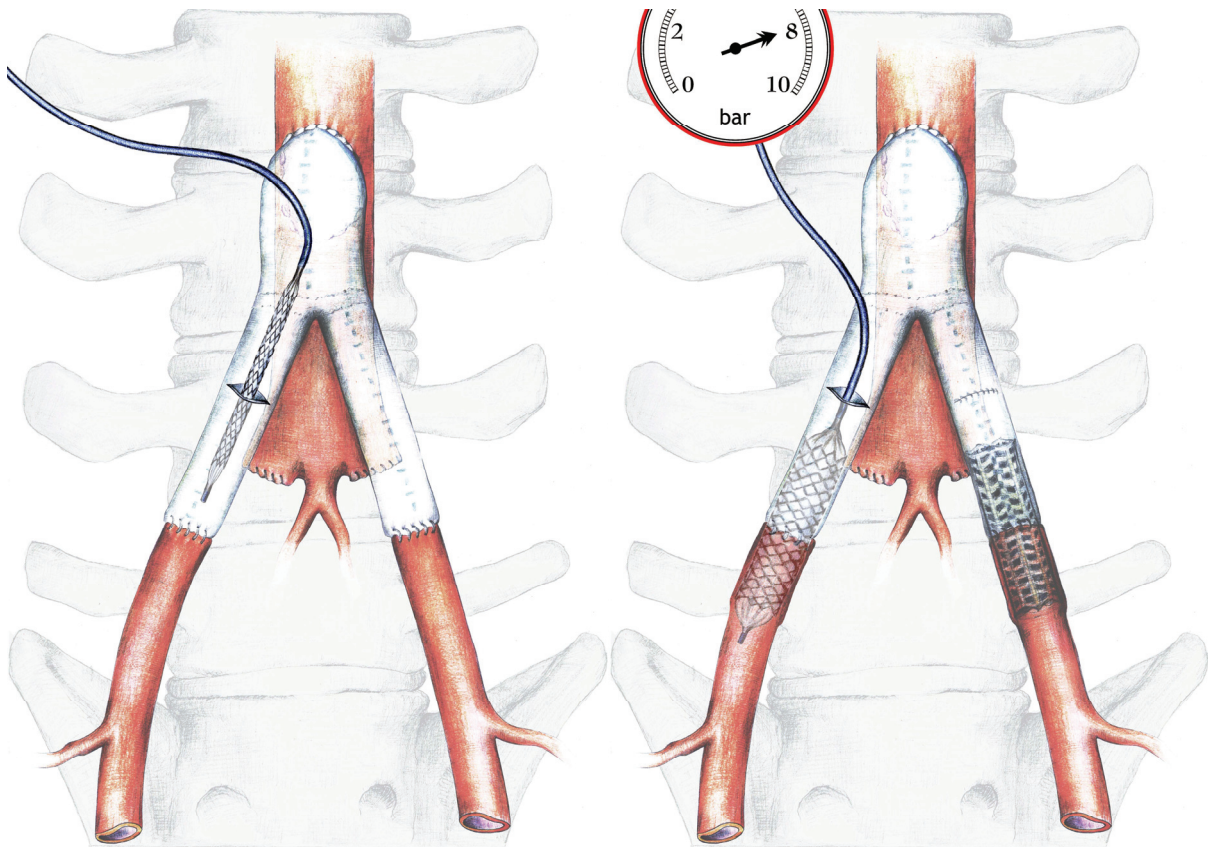


Abbildung 6: Skizze der Stentimplantation mit Hilfe eines Ballonkatheters mit anschließender Aufdehnung auf 8 bar

Abschließend erfolgen eine Blutentnahme zur Bestimmung von Hb, Hkt und PTT sowie eine Blutgasanalyse. Das Retroperitoneums wird mit einer fortlaufenden Naht (Vicryl® 3,0 SH; Ethicon, Norderstedt, Deutschland) verschlossen. Der suprapubische Blasenkatheter wird entfernt, die Eintrittsöffnung durch eine Z-Naht (Vicryl®, 3,0 SH) verschlossen. Nach Reposition der Darmschlingen wird die Linea alba einschichtig durch eine fortlaufende Naht (Mersilene®, Ethicon, Norderstedt, Deutschland) verschlossen. Nach erneuter Hautdesinfektion erfolgt der Verschluss der Haut durch eine fortlaufende Naht mit resorbierbarem Faden. Ein Sprühpflasterverband wird angelegt.

Versuchsende

Zum Studienende werden die Tiere erneut prämediziert und narkotisiert. Die Intubation erfolgt wie oben beschrieben. Nach Eingehen in das Abdomen und Freilegung der Aorta und der Iliakalgefäße in oben beschriebener Weise erfolgt die Explantation der Stent-tragenden Gefäßsegmente, einschließlich der angrenzenden proximalen (Prothese) und distalen (Gefäß)

Segmente, nach einer intravenösen Bolusheparinisierung (10.000 I.E.). Die Narkose wird vertieft und die Versuchstiere mit einer Überdosis Kaliumchlorid i.v. (60mval) euthanasiert.

3.2. Peri- und postoperative Untersuchungen

3.2.1. Dopplersonographie

Um die arteriellen Flusseigenschaften in der A. femoralis distal der iliakalen Anastomose zu beurteilen, wird dopplersonographisch (HiDop®300, 4 MHz Sonde, Regensdorf, Schweiz) die maximale systolische Frequenz (Fmax; kHz) bestimmt. Die Messungen erfolgten präoperativ, intraoperativ nach Prothesenimplantation und Anastomosenstenting sowie postoperativ am Versuchsende (Abb. 7).

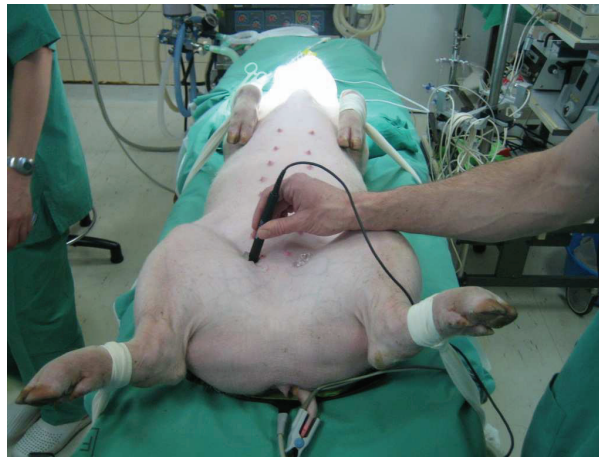


Abbildung 5: Dopplersonographische Messung unmittelbar präoperativ

3.2.2. Computertomographie

Zur Erfassung der Durchgängigkeit der Stents am Versuchs- und Studienende werden kontrastmittelverstärkte computertomographische Untersuchungen (CT; bis 31.12.2004: Tomoscan AV, Philips, Deutschland; seit 01.01.2005: Aquileon TSX-101A, Toshiba, Deutschland) der aortoiliakalen Gefäße unter Sedierung der Versuchstiere durchgeführt. Die primär axial akquirierten Bilddaten werden in 3-D-Rekonstruktionen als „Volume Rendering Technique“ (VRT) formatiert, um eine Analyse von Oberflächen und Strukturen zu ermöglichen. Zusätzlich werden „Maximal Intensity Projektionen“ (MIPs) zur volumetrischen Visualisierung angefertigt.

3.2.3. Histologie

Probenaufbereitung

Die fixierten (Formalin 10%, gepuffert) Proben der Stent-tragenden Gefäßsegmente werden im Leibnitz-Forschungslaboratorium der Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie der Medizinischen Hochschule Hannover weiter verarbeitet. Die Proben werden in einer Reihe ansteigender Alkoholgradienten dehydriert, in Kunststoff eingebettet (Technovit 9100, Kulzer, Deutschland) und in eine Schichtdicke von 10µm geschnitten. Die alkoholische Dehydratation löst die Polymerstents komplett auf.

Es werden drei Stentregionen unterschieden (Abb. 8):

- 1 - proximal der Anastomose
- 2 - Anastomosenbereich
- 3 - distal der Anastomose

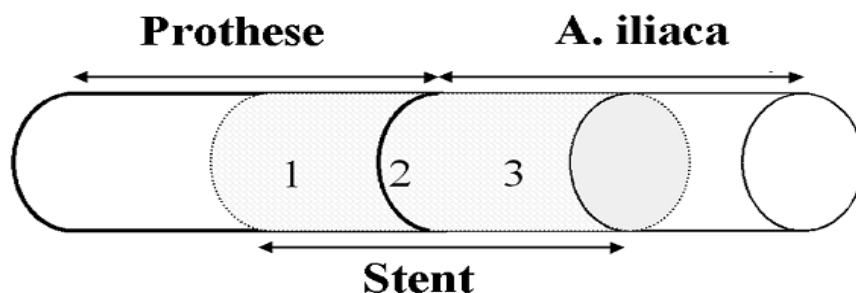


Abbildung 6: histologische Schnittebenen der einzelnen Stentregionen

Je 6 Schnitte der jeweiligen Stentregion werden mittels Haematoxylin und Eosin (HE) gefärbt und von zwei unabhängigen Untersuchern, die bezüglich der antithrombotischen Therapie geblindet sind, histologisch ausgewertet.

Morphologie

Die strukturellen Veränderungen der Gefäßwand werden morphologisch beschrieben. Dabei stehen Veränderungen der Gefäßarchitektur, Ödeme, Nekrosen und Umbauvorgänge im Vordergrund.

Semiquantitative Auswertung

In der semiquantitativen Auswertung werden der Inflammatory-Score und der Injury-Score durch Betrachtung der einzelnen Stent-Struts ermittelt:

1. Der Inflammatory-Score (IF) dient als Maß für die Entzündungsreaktion der Gefäßwand im Bereich der Stentstreben und wird wie folgt bewertet:
 - 0 - keine inflammatorische Reaktion
 - 1 - leichte, nicht zirkumferente lymphohistiozytäre Infiltrate in der Strutumgebung
 - 2 - mäßig bis dichte, lokalisierte, nicht zirkumferente zelluläre Aggregate in der Strutumgebung
 - 3 - dichte, zirkumferente lymphohistiozytäre Zellinfiltration um den gesamten Strut

Der durchschnittliche Inflammatory-Score wird mittels Division aller Punktwerte durch die Anzahl der untersuchten Stent-Struts einer Schnittebene berechnet [24].

2. Der Injury-Score (IJ) ist ein Maß für die Verletzung der Gefäßwand durch den Stent:
 - 0 – keine Verletzung der Gefäßwand
 - 1 – Unterbrechung der Lamina elastica interna (IEL)
 - 2 – Perforation der Tunica media
 - 3 – Perforation der Lamina elastica externa (EEL)

Bestimmt werden die Injury-Scores der histologischen Schnittebene 3.

Morphometrie

Zunächst werden die histologischen Schnitte mittels eines digitalen Kamerasystems für Mikroskope (Axioskop 40, Axio Cam MRC, Carl Zeiss, Hamburg, Deutschland) abfotografiert und auf einen PC übertragen. Die Bilder werden nach vorangegangener Kalibrierung mit der Software Image J (Version 1.32j) vermessen (Abb.9). Die ermittelten Werte werden in ein Tabellenkalkulationsprogramm (Excel 2000, Microsoft Corporation) überführt und verarbeitet.

Die ermittelten Werte sind:

1. das Residuallumen (RL; mm) errechnet sich aus dem arithmetischen Mittel der Messungen von 6 Innenlumen- Durchmessern, die in einem Winkel von 30° zueinander stehen.
2. die Neointimadicke (ND; mm) errechnet sich aus dem arithmetischen Mittel der Messungen von Intima-Dicke über den Stent-Streben (Struts)

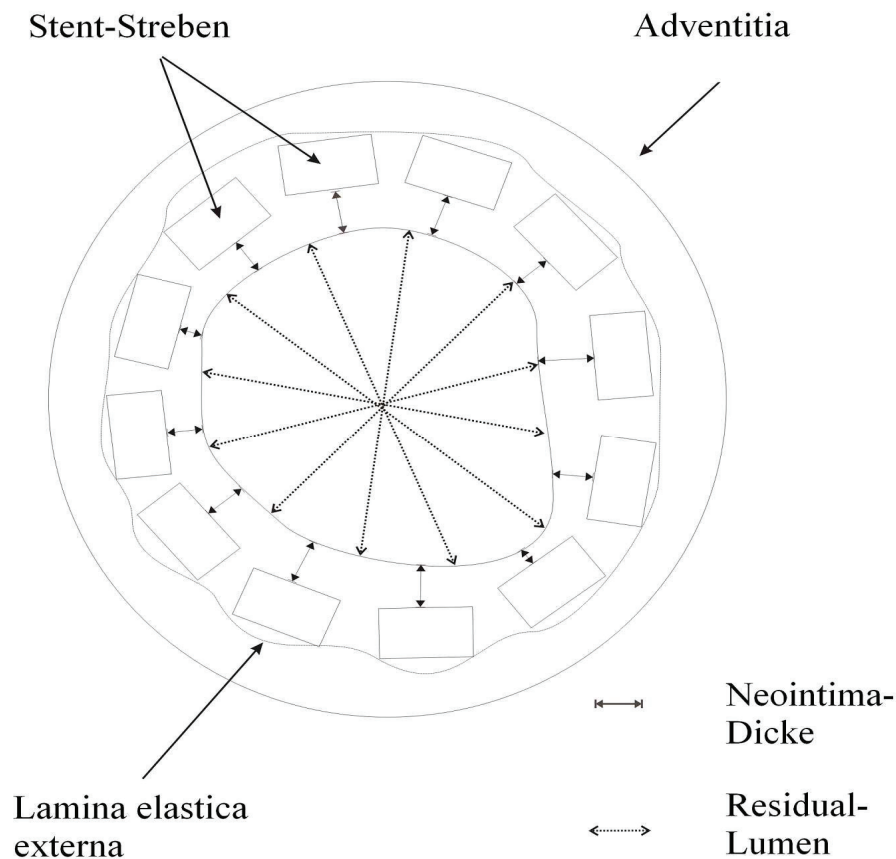


Abbildung 7: Messung der Residuallumina und Intimadicke

3.3. Versuchsgruppen

Es werden vier Versuchsgruppen gebildet, die sich jeweils bezüglich der verwendeten Stents, sowie der thrombozytenaggregationshemmenden Therapie unterscheiden (Tab.1).

Tabelle 1: Iliakales Schweinemodell: Versuchsgruppen A bis D

Gruppe	N	Stent	Thrombozytenaggregationshemmung
A	4	Nitinol	ASS
B	6	PLLA vs. Metall	ASS
C	7	PLLA vs. Metall	ASS + CLOP
D	4	PLLA/PCL vs. kein Stent	ASS + CLOP

Gruppe A: Nitinol- ASS

Bei 2 Schweinen erfolgte die Implantation von je einem selbstexpandierenden Nitinolstent über beide iliakalen Anastomosen. Zur oralen Thrombozytenaggregationshemmung erhielten die Tiere 100 mg ASS einen Tag präoperativ und täglich bis zum Studienende. Die

Auswertung erfolgte mittels CT nach einer Woche. Auf eine histologische Untersuchung wurde verzichtet.

Gruppe B: PLLA -ASS

Bei insgesamt 6 Versuchstieren werden im Anastomosenbereich randomisiert jeweils ein PLLA- und auf der Gegenseite ein Metallstent implantiert. Die trombozytenaggregationshemmende Therapie mit ASS 100 mg beginnt einen Tag vor Versuchsbeginn und wird bis zum Studienende fortgesetzt.

Gruppe C: PLLA – ASS + CLOP

Der Versuchsaufbau entspricht dem in Gruppe B. Die antithrombozytäre Therapie wird mit ASS 100 mg in Kombination mit Clopidogrel 75 mg durchgeführt.

Gruppe D: PLLA/PCL- ASS + CLOP

In der Gruppe D wird ein iliakaler Anastomosenbereich mit einem PLLA/PCL- Stent versorgt, die Gegenseite verbleibt ungestentet. Die orale Thrombozytenaggregationshemmung erfolgt wie in Gruppe C mit ASS 100 mg und Clopidogrel 75 mg.

4. Schweinemodell: PLLA-Stent in der A. carotis communis

In einem Stent-Modell für die A. carotis communis wird jeweils ein PLLA-Stent auf der einen und ein Metallstent auf der gegenüberliegenden Seite direkt in das native Gefäß, ohne das vorherige Erzeugen einer Stenose, implantiert. Der Versuchszeitraum beträgt eine Woche. Die Thrombozytenaggregationshemmung erfolgt mit ASS und Clopidogrel (Tab.2).

Tabelle 2: Schweinemodell PLLA-Stent in der A. carotis communis: Versuchsgruppe E

Gruppe	N	Stents	Orale Antikoagulation
E	5	PLLA vs. Metall	ASS + CLOP

4.1. Operatives Vorgehen

Nach Desinfektion und steriler Abdeckung der Haut in der Halsregion erfolgt die operative Freilegung mit beidseitiger Präparation der A. carotis communis mit anschließender Anschlingung.

Die A. carotis communis wird ausgeklemmt, es folgt eine quere Arteriotomie. Vor Stentimplantation wird das Gefäß mittels eines 6 mm Ballonkatheters auf 8 bar vordilatiert. Die Stentimplantation erfolgt über Einführen des Katheters in das Gefäß und einer Aufdehnung von 1 bar/min auf 8 bar. Nach Entfernen des Katheters und Spülung mit Heparinkochsalzlösung (10.000 I.E.) erfolgt der Verschluss der Arteriotomie und Freigabe des Blutstroms. Die Wunde wird schichtgerecht verschlossen und mit einem Sprühpflasterverband versorgt.

4.2. Thrombozytenaggregationshemmung

Alle Tiere erhalten eine orale Kombinationstherapie aus 75 mg Clopidogrelsulfat und 100 mg ASS. Die orale Therapie beginnt einen Tag präoperativ und wird bis zum Versuchsende fortgesetzt.

4.3. Histologische Auswertung

Nach Abschluss der Studie werden die Tiere narkotisiert. Es erfolgt eine operative Freilegung der Aa. carotis communes und die chirurgische Entfernung der Stent-tragenen Gefäßsegmente. Die Proben werden wie in 3.2.3. beschrieben fixiert und histologisch ausgewertet.

Nach Explantation wird die Narkose vertieft und die Versuchstiere mit einer Überdosis Kaliumchlorid i.v. (60mval) euthanasiert.

5. Statistik

Die operativen Basisparameter und histologischen Daten werden durch Mittelwert und Standardabweichung präsentiert. Unterschiede zwischen zwei Gruppen werden statistisch durch den unpaarigen t-Test angegeben. Die Daten der Doppler-Ultraschalluntersuchungen werden als Medianwerte dargestellt. Ein p-Wert < 0.05 wird als statistisch signifikant festgelegt.

4 ERGEBNISSE

1. Gruppe A: Nitinol- ASS

1.1. Operatives Vorgehen

Intraoperativ traten keine Komplikationen auf. Die Implantation der Nitinolstents erfolgte ohne technische Probleme. Es kam zu keiner Ruptur der Anastomosennähte. Es traten keine Wundinfektionen auf. Die intraoperativen Basisparameter sind in Tabelle 3 dargestellt.

Tabelle 3: Intraoperative Basisparameter der Gruppe A (Mittelwert \pm Standardabweichung)

Basisparameter	Gruppe A		
	NITINOL		
KG (kg)	38.0	\pm	1.0
pH	7.43	\pm	0.03
pCO ₂ (kPa)	4.9	\pm	0.1
pO ₂ (kPa)	26.2	\pm	0.5
HF (min ⁻¹)	97	\pm	17
RR _{syst} (mm Hg)	89	\pm	8
RR _{diast} (mm Hg)	59	\pm	9
MAP (mm Hg)	74	\pm	10
Hb (μ mol/ l)	4.9	\pm	0.8
Hkt	0.30	\pm	0.02
PTT (Sek.)	14	\pm	2

Gegen Ende der Operation kam es zu einem Abfall des Hämoglobins (Hb) von $4,9 \mu\text{mol/ l} \pm 0,8$ auf $3,7 \mu\text{mol/ l} \pm 0,2$ und einem Abfall des Hämotokrit (Hk) von $0,30 \pm 0,02$ auf $0,22 \pm 0,01$. Dies ist einerseits durch den Blutverlust, andererseits durch die perioperative Substitution von Infusionen bedingt.

1.2. Dopplersonographie

Bei der Dopplersonographie zeigte sich ein deutlicher Abfall der maximalen systolischen Frequenz (Fmax, kHz) nach Implantation der PTFE- Prothese und Nähung der Inversion im

Anastomososenbereich. Nach Stentimplantation kam es zu einer deutlichen Verbesserung des femoralen Durchflusses (Abb.10).

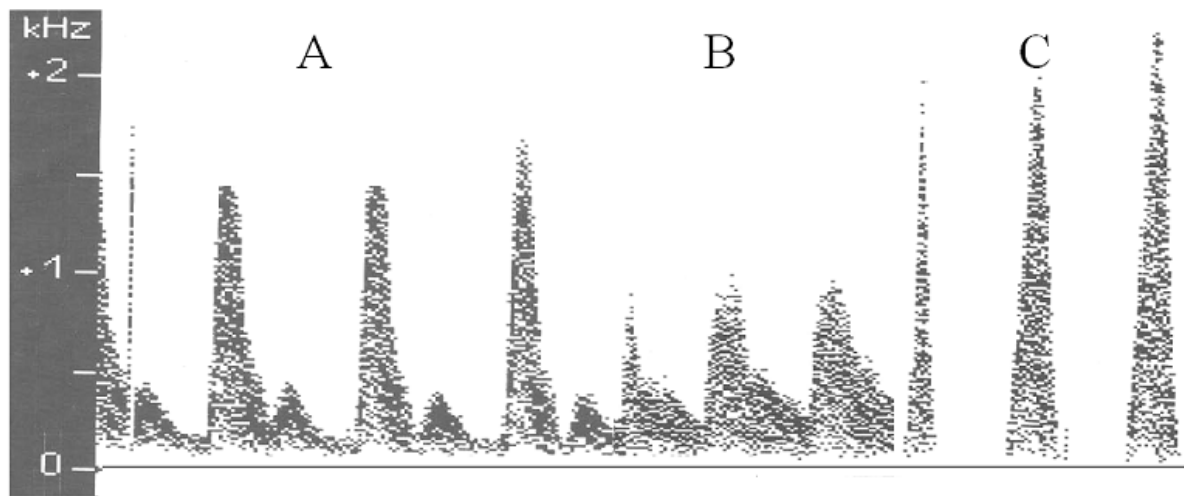


Abbildung 10: Flussprofil der A. femoralis: A: präoperativ, B: nach Implantation der PTFE-Prothese und Herstellung einer Stenose im iliakalen Anastomososenbereich, C: nach Stentimplantation im Bereich der iliakalen Anastomose

1.3. Computertomographie

Die kontrastmittelverstärkte Computertomographie zeigte nach einer Woche die Erhaltung des arteriellen Flusses distal der Stents (Abb.11). Die konkrete Durchlässigkeit im Bereich der Stents ist aufgrund der Artefaktbildung durch die Nitinol-Stents nicht zu beurteilen.

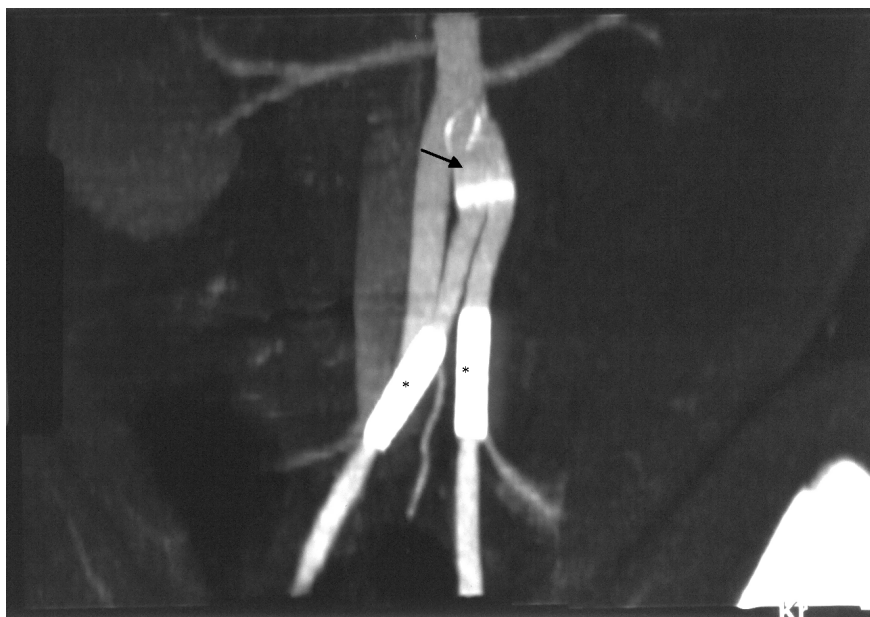


Abbildung 11: Computertomographie mit Kontrastmittel nach 1 Woche: → PTFE-Prothese, * Nitinol-Stents im iliakalen Anastomososenbereich, der Fluss distal der Stents ist erhalten

2. Gruppe B: PLLA- ASS

2.1. Operatives Vorgehen

Es traten keine intraoperativen Komplikationen auf. Ein Tier mußte nach initialer Erholung am dritten postoperativen Tag relaparotomiert werden. Der intraoperative Befund ergab eine Gangrän des Kolons aufgrund eines Volvulus. Aus ethischen Gründen wurde das Tier geopfert. Es wurde aus der statistischen Auswertung ausgeschlossen, da Follow-up Daten nach einer Woche fehlen. Die intraoperativen Basisparameter sind in Tabelle 4 dargestellt:

Tabelle 4: Intraoperative Basisparameter der Versuchstiere in Gruppe B

Gruppe B			
Basisparameter	PLLA vs. METALL		
KG (kg)	38.5	±	1.9
DM _{iliakal}	5.8	±	0.1
pH	7.45	±	0.07
pCO ₂ (kPa)	5.2	±	5.9
pO ₂ (kPa)	20.6	±	8.7
HF (min ⁻¹)	97	±	17
RR _{syst} (mm Hg)	92	±	8
RR _{diast} (mm Hg)	62	±	5
MAP (mm Hg)	70	±	19
Hb (µmol/ l)	5.7	±	0.4
Hkt (%)	29	±	1
PTT (Sek.)	25	±	9

Am Ende der Operation war ein Abfall des Hämoglobins ($5,7 \mu\text{mol/ l} \pm 0,4$ auf $3,9 \mu\text{mol/ l} \pm 1,1$; $p < 0,001$) und des Hämatokrits ($0,29 \pm 0,01$ auf $0,21 \pm 0,07$; $p < 0,001$) zu verzeichnen. Beim Einbringen in das Gefäß zeigten sowohl die PLLA- als auch der Metall-Stent gute Flexibilität, das Dilatieren erfolgte ohne Probleme. Ein adäquater Kontakt zwischen Stent und Gefäßwand lag in allen Fällen vor und wurde makroskopisch überprüft. Keine Anastomosennaht rupturierte. Es traten keine Wundinfektionen auf.

2.2. Dopplersonographie

Die Ergebnisse der femoralen Dopplersonografie sind in Abbildung 12 zusammengefasst. Es zeigte sich ein deutlicher Abfall von F_{\max} nach Nähung der Anastomose mit Inversion. Nach Stentimplantation relativierte sich dieser Abfall. Unter Monotherapie mit ASS zeigte sich nach einer Woche wieder ein deutlicher Abfall von F_{\max} . Bei den Metallstents blieb der Durchfluss uneingeschränkt erhalten.

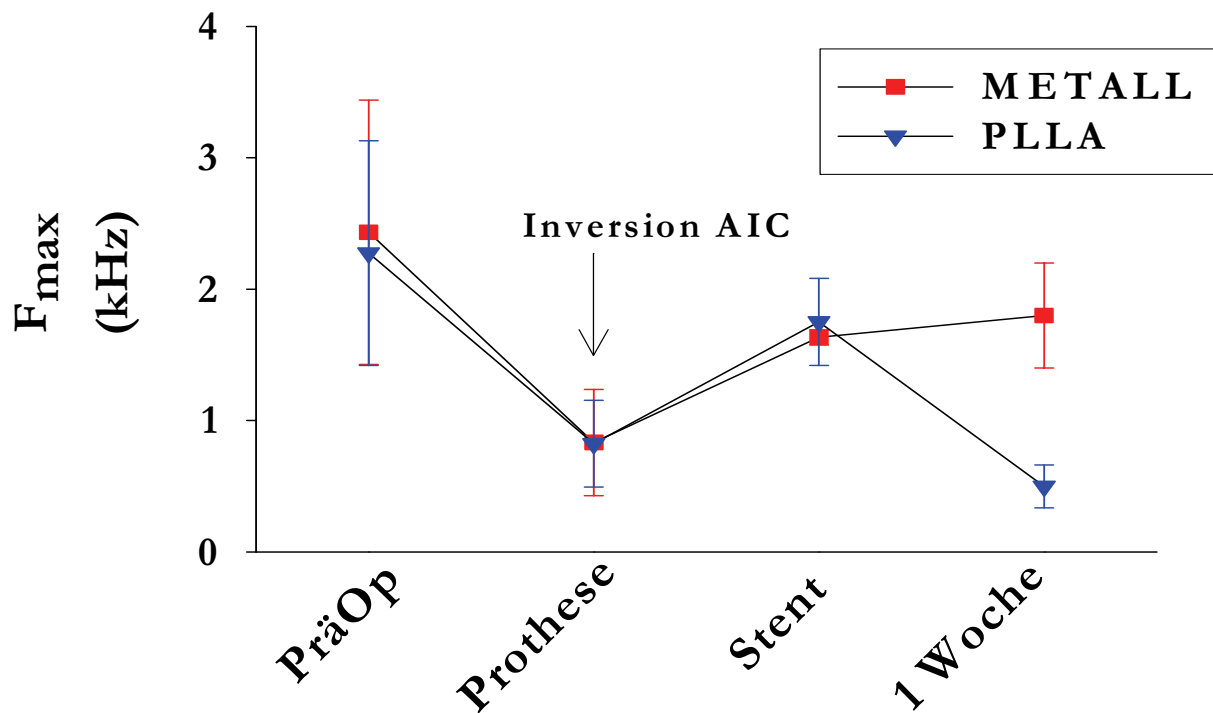


Abbildung 12: Darstellung der maximalen systolischen Frequenz F_{\max} der Gruppe B

2.3. Computertomografie

In der kontrastmittelverstärkten Computertomografie zeigten sich alle PLLA-Stents unter ASS Monotherapie im Follow-up nach einer Woche verschlossen.

Alle Metallstents waren nach einer Woche offen.



Abbildung 13: Computertomographie nach einer Woche: rechts: verschlossener PLLA-Stent unter ASS- Monotherapie, links: offener Metallstent mit erhaltenem Durchfluss distal der Anastomose unter ASS-Monotherapie

2.4. Histologie

Weder bei den PLLA- noch bei den Metallstents zeigte sich ein ausgeprägter Recoil oder Kollaps. Alle Stents waren intakt.

2.4.1. Morphologie

Die PLLA-Stents zeigten nach einer Woche einen thrombotischen Verschluss unter ASS-Monotherapie (Abb.14). Durch die alkoholische Dehydratation bei der histologischen Aufbereitung der PLLA-Stents lösen sich die Polymere auf. Im histologischen Schnittbild verbleiben Lücken in der Gefäßwand an den Stellen, wo sich vorher die einzelnen Struts, die Streben des PLLA-Stents, befanden.

Alle Metallstents blieben nach einer Woche offen.

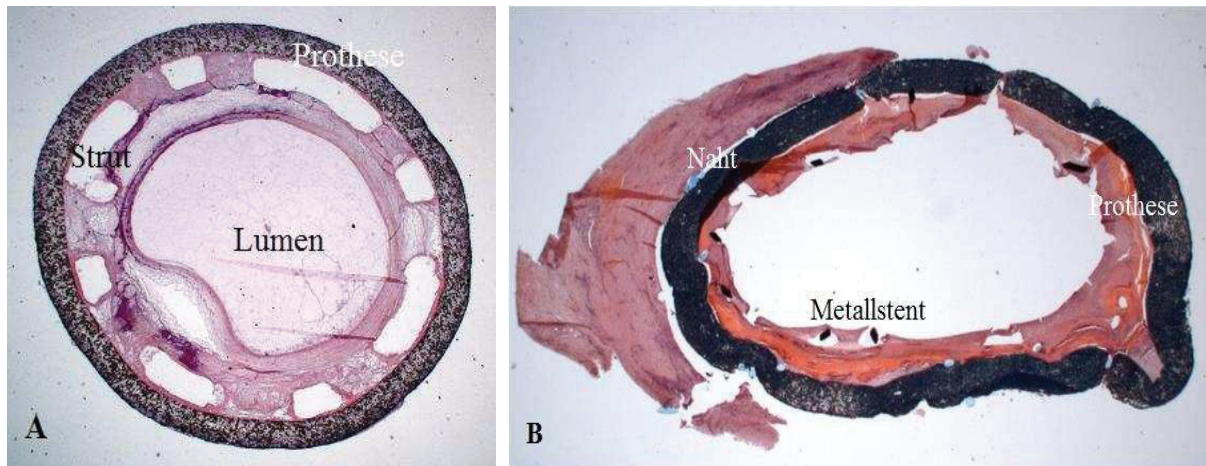


Abbildung 14: Histologische Schnittbilder: A: thrombotisch verschlossener PLLA- Stent, B: offener Metall-Stent

Eine Organisation des Thrombus durch Lymphozyten, Histiozyten und Fibrozyten war zu beobachten. Es kam zur Einsprossung von neuen Gefäßen.

In vielen Bereichen der Gefäßwand waren Ödeme und Nekrosen zu beobachten. Das Gefäßlumen wies subintimale Fibrosierungen auf. Diese Veränderungen sind auf permanente Druckschädigungen durch die Stentstruts zurückzuführen. Im Bereich der Anastomose war die Gefäßarchitektur subtotal zerstört. Die Abheilung erfolgte unter Narbenbildung.

Semiquantitative Auswertung

Die Auswertung des Inflammatory-Scores ist in Abbildung 15 dargestellt. Die PLLA- Stents induzierten eine etwas stärkere Entzündungsreaktion als die Metallstents (PLLA: 1.06 ± 0.67 ; Metall: 0.76 ± 0.77 ; $p = 0,001$).

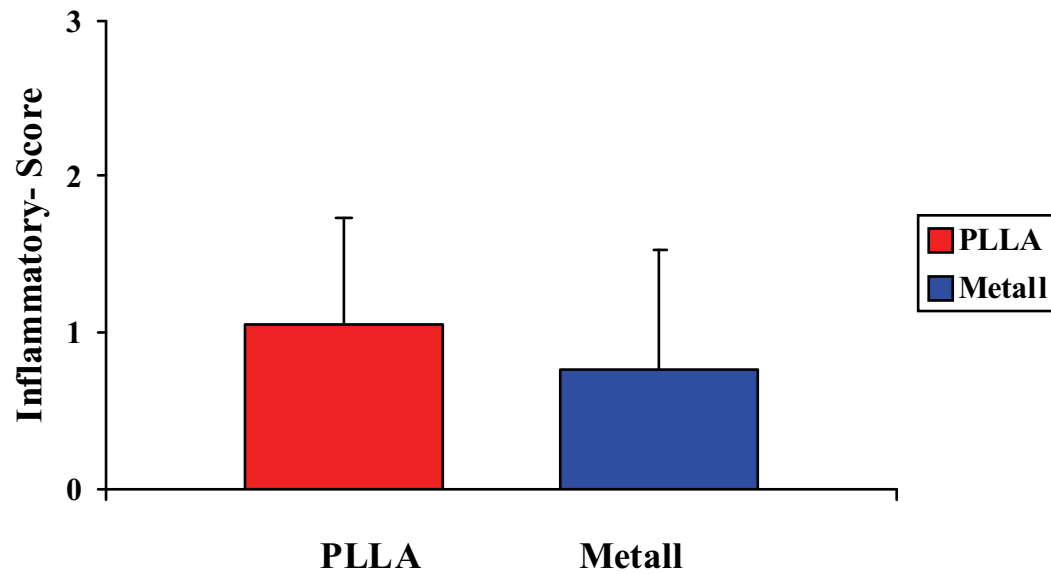


Abbildung 15: Inflammatory- Score als Maß für die Entzündungsreaktion um die Stentstreben

Der Injury- Score nach einer Woche war niedrig und zeigt kaum Unterschiede zwischen dem PLLA- und Metallstent (PLLA: 0.20 ± 0.49 ; Metall: 0.24 ± 0.52 ; $p = 0.53$). Die Darstellung erfolgt in Abbildung 16.

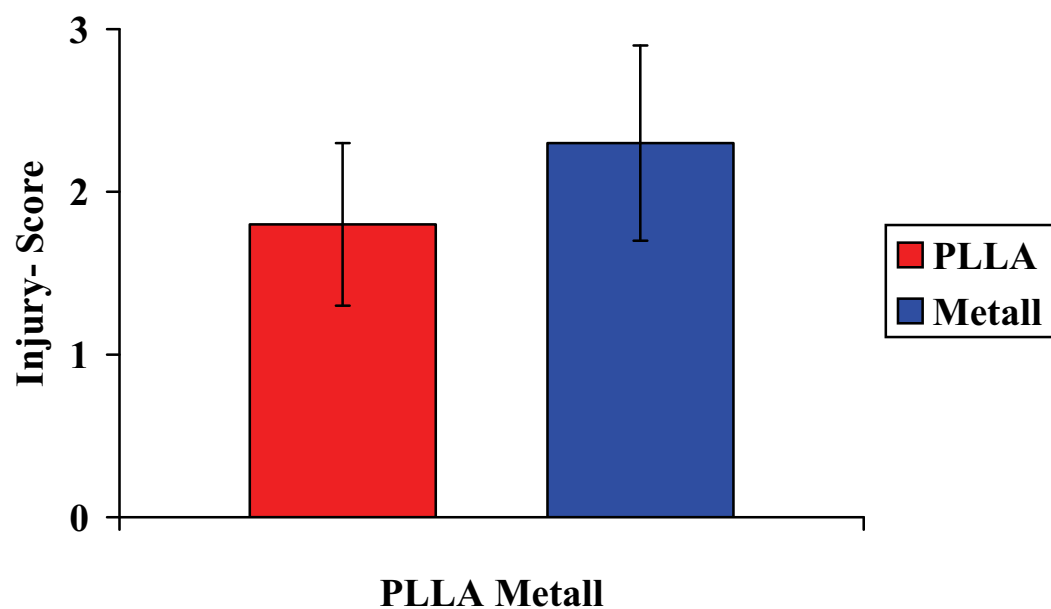


Abbildung 16: Injury-Score als Maß für die Verletzung der Gefäßwand für Gruppe B

Morphometrie

Die Residuallumina der Stents in Gruppe B nach einer Woche sind i Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Residuallumina der Stents in Gruppe B

Gruppe B		
Histologische Schnittebene	RL _{PLLA}	RL _{METALL}
1	Verschlossen	4.23 ± 0.53
2	Verschlossen	4.15 ± 0.24
3	Verschlossen	4.10 ± 0.13

3. Gruppe C: PLLA- ASS + CLOP

3.1. Operatives Vorgehen

Es traten keine intraoperativen Komplikationen auf. Auch in dieser Gruppe erlitt ein Tier eine Gangrän des Kolons aufgrund eines Volvolus und musste am dritten postoperativen Tag relaparotomiert werden. Das Tier wurde aus ethischen Gründen geopfert. Es wurde aus der statistischen Auswertung ausgeschlossen. Bei einem Tier trat ein Platzbauch auf, dieser konnte am zweiten postoperativen Tag erfolgreich chirurgisch revidiert werden, sodass kein Datenverlust auftrat.

Die intraoperativen Basisparameter sind für die Gruppe C in Tabelle 6 dargestellt und zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tabelle 6: Intraoperative Basisparameter der Gruppe C

Gruppe C			
Basisparameter	PLLA vs. METALL		
KG (kg)	36.3	±	1.8
DM _{iliakal}	5.7	±	0.1
pH	7.43	±	0.04
pCO ₂ (kPa)	5.9	±	0.7
pO ₂ (kPa)	18.1	±	9.7
HF (min ⁻¹)	76	±	16
RR _{syst} (mm Hg)	81	±	10
RR _{diast} (mm Hg)	48	±	8
MAP (mm Hg)	64	±	8
Hb (μmol/ l)	5.6	±	0.5
Hkt (%)	28	±	2
PTT (Sek.)	31	±	9

3.2. Dopplersonografie

In der femoralen Dopplersonografie zeigte sich zunächst ein Abfall von Fmax nach Nähung der iliakalen Anastomose mit Inversion. Nach Stentimplantation kam es wieder zu einer Erhöhung von Fmax vergleichbar mit den Werten präoperativ. Unter Kombinationstherapie von ASS und Clopidogrel bleibt der Durchfluss nach einer Woche sowohl bei dem PLLA- als auch bei dem Metallstent erhalten (Abb.17).

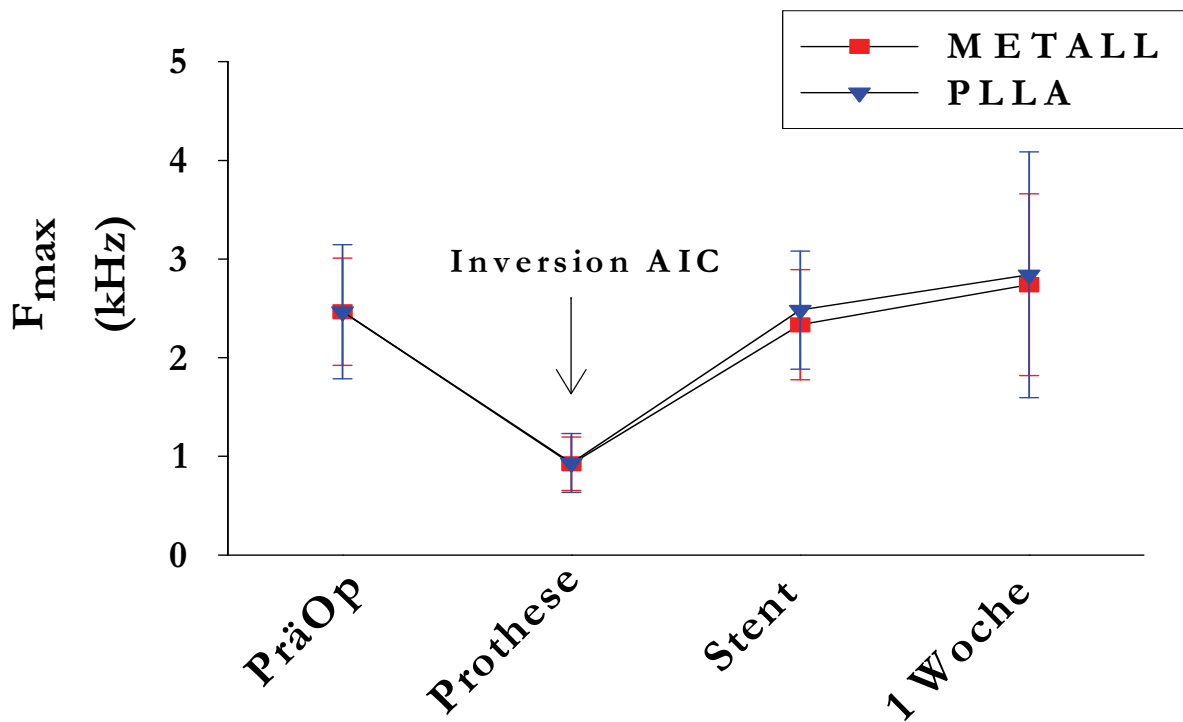


Abbildung 17: Verlauf von Fmax für die Gruppe C

3.3. Computertomographie

In der Computertomographie zeigten sich der PLLA- und der Metall-Stent nach einer Woche offen (Abb.18).

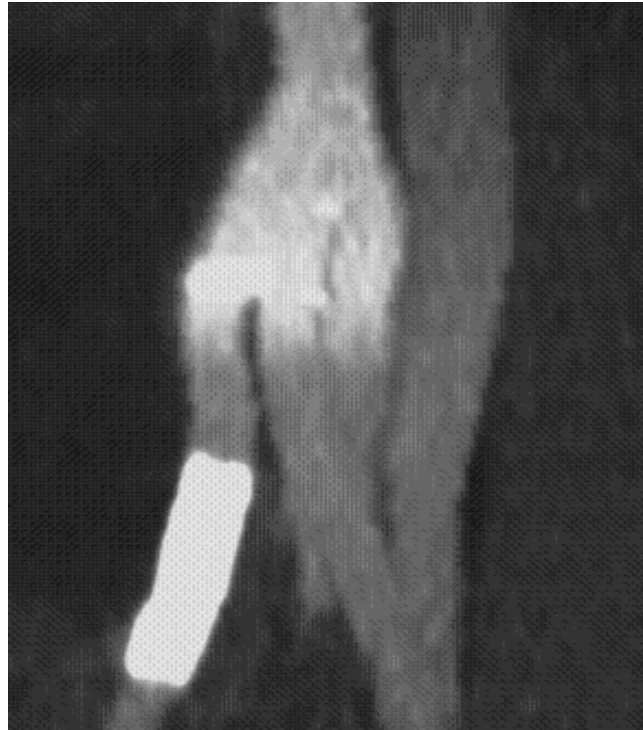


Abbildung 18: Computertomographie nach einer Woche: links: offener PLLA-Stent unter Kombinationstherapie aus ASS und Clopidogrel; rechts: offener Metallstent unter Kombinationstherapie

3.4. Histologie

3.4.1. Morphologie

Weder bei den PLLA- noch bei den Metallstents zeigte sich ein ausgeprägter Recoil oder Kollaps. Alle Stents waren intakt. Alle PLLA- und Metall-Stents blieben offen (Abb.19).

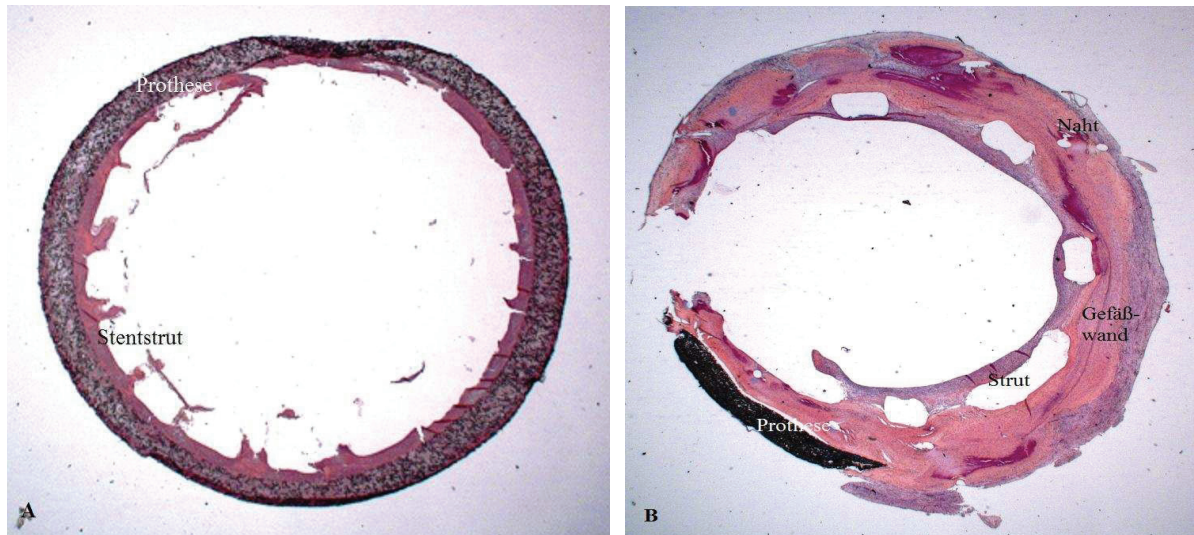


Abbildung 19: Histologische Schnitte des PLLA- Stents A: proximal der Anastomose, B: distal der Anastomose mit Anschnitt der Prothese und des nativen Gefäßes

Das Gewebe um die Stentstruts begann sich zu organisieren. Die Struts waren von einer dünnen Schicht aus Fibrin, Lymphozyten, Thrombozyten und Histiozyten umgeben (Abb.20A, B).

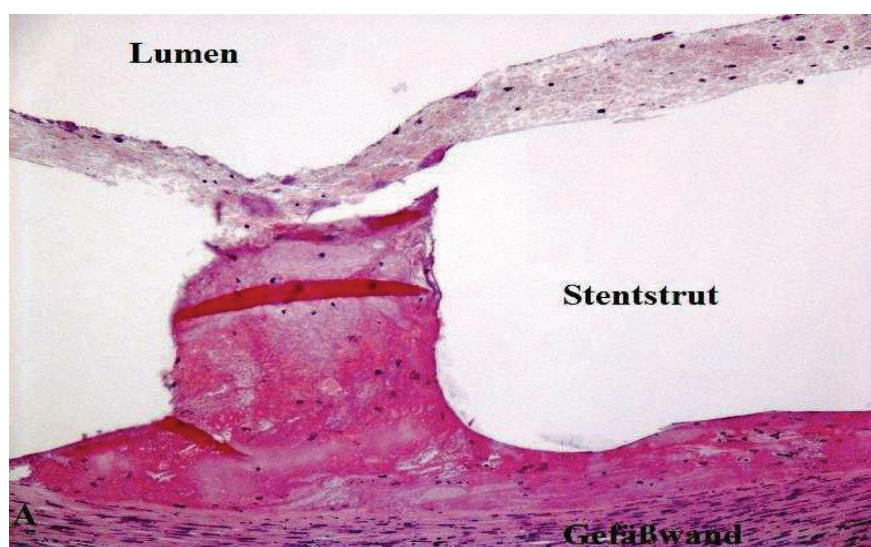


Abbildung 20 A: Histologischer Schnitt eines offenen PLLA-Stents unter ASS/ CLOP (Gruppe C) mit einer dünnen Schicht über den Stent-Streben, bestehend aus Thrombozyten und Fibrin; HE-Färbung, Vergrößerung 100 x

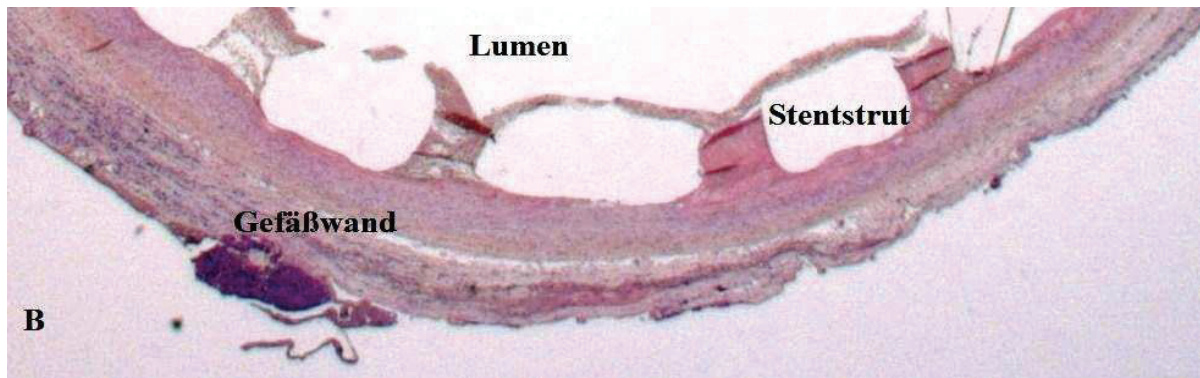


Abbildung 20 B: Histologischer Schnitt eines offenen PLLA-Stents unter ASS/ CLOP (Gruppe C) mit einer dünnen Schicht über den Stent-Streben bestehend aus Thrombozyten und Fibrin, HE-Färbung, Vergrößerung 12.5 x

3.4.2. Semiquantitative Auswertung

Der Inflammatory- Score ist für die PLLA- und Metall-Stents der Gruppe C war gering (PLLA $0,67 \pm 0,48$; Metall: $0,56 \pm 0,55$; $p = 0,001$). Es bestand kaum ein Unterschied zwischen den beiden Stents. Der Inflammatory- Score ist in Abbildung 21 dargestellt.

Auch der Injury- Score als Maß für die Verletzung der Gefäßwand durch die Stentstreben fiel in Gruppe C gering aus (PLLA: $0,20 \pm 0,49$; Metall: $0,24 \pm 0,52$; $p = 0,53$). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

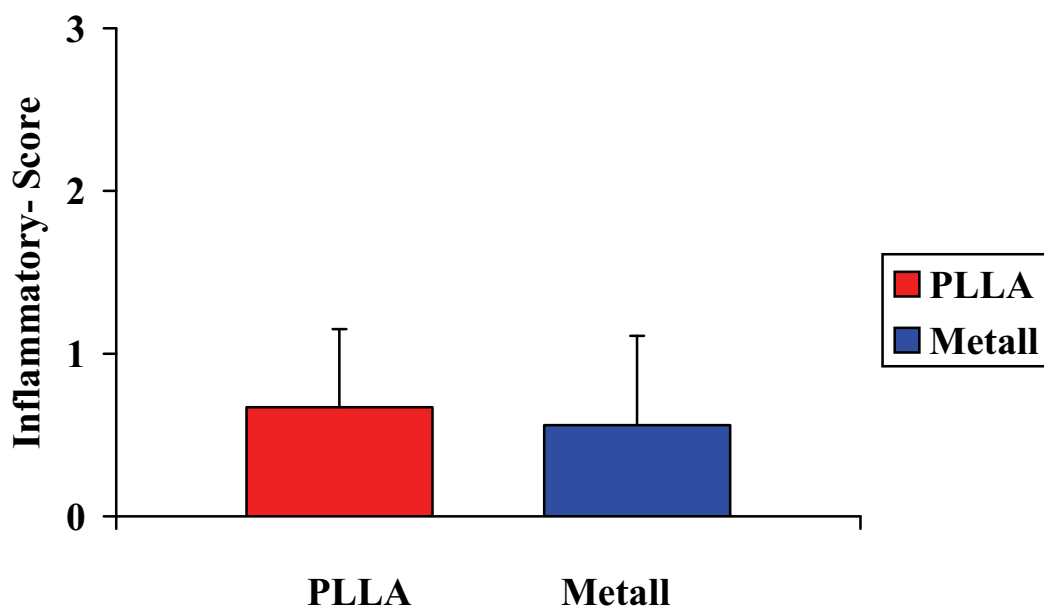


Abbildung 21: Graphische Darstellung des Inflammatory- Score für die Gruppe C

3.4.3. Morphometrie

Die Residuallumina der Stents in Gruppe C nach einer Woche sind in Tabelle 7 dargestellt. Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den PLLA- und Metall- Stents.

Tabelle 7: Residuallumina der Gefäße in Gruppe C

Gruppe C			
Histologische Schnittebene	RL _{PLLA}	RL _{METALL}	p
1	4.34 ± 0.17*	4.52 ± 0.19*	*0.07
2	4.20 ± 0.29*	4.34 ± 0.24*	*0.23
3	4.13 ± 0.17*	4.27 ± 0.35*	*0.78

Die Neointima-Dicke ist in Abbildung 22 dargestellt. Die PLLA- Stents induzierten im Vergleich zu den Metallstents eine stärkere Intimahyperplasie nach einer Woche (PLLA: 0.09 mm ± 0.03, Metall: 0.05 mm ± 0.01; p = 0.04).

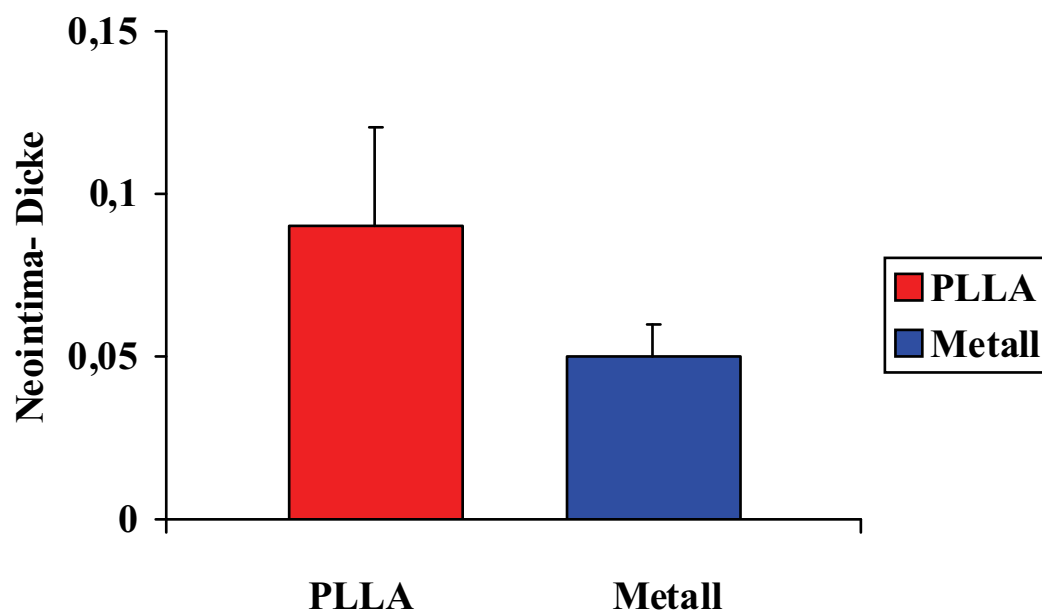


Abbildung 22: Neointima-Dicke der Gruppe C

4. Gruppe D: PLLA/PCL- ASS + CLOP

4. 1. Operatives Vorgehen

Es traten keine intraoperativen Komplikationen auf. Die intraoperativen Basisparameter sind für die Gruppe D sind in Tabelle 8 dargestellt.

Tabelle 8: Intraoperative Basisparameter für Gruppe D

Gruppe D			
Basisparameter	PLLA- Blend		
KG (kg)	39	±	2
DM _{iliakal}	5.6	±	0.2
pH	7.47	±	0.15
pCO ₂ (kPa)	4.6	±	0.2
pO ₂ (kPa)	22.4	±	1.1
HF (min ⁻¹)	87	±	11
RR _{syst} (mm Hg)	95	±	9
RR _{diast} (mm Hg)	66	±	26
MAP (mm Hg)	78	±	24
Hb (μmol/ l)	5.4	±	1.6
Hkt	0.26	±	0.4
PTT (Sek.)	15.6	±	0.6

Beim Einbringen in das Gefäß zeigte er PLLA/ PCL-Stent eine gute Flexibilität, das Dilatieren erfolgte ohne Probleme. Das Anliegen des Stents an die Gefäßwand wurde makroskopisch überprüft und als zufriedenstellend eingeschätzt. Es kam zu keiner Ruptur von Anastomosennähten. Es traten keine Wundinfektionen auf.

4.2. Dopplersonografie

Die Ergebnisse der femoralen Dopplersonografie sind in Abbildung 23 dargestellt. Dabei zeigte sich eine Verminderung des Durchflusses nach Nähung der Anastomose mit Inversion, dargestellt durch Fmax. Unmittelbar nach Stentimplantation kam es zu einer Erhöhung von

F_{max} und zu einer Verbesserung des Durchflusses durch den Stent. Nach einer Woche verschlechterte sich der Durchfluss auf der mit einem PLLA/PCL-Stent versorgten Seite (0,7 kHz; 0,6 - 0,8; $p < 0,001$) im Gegensatz zu der Seite mit der ungestenteten Anastomose (1,1 kHz; 1,0 - 1,4; $p < 0,001$) deutlich.

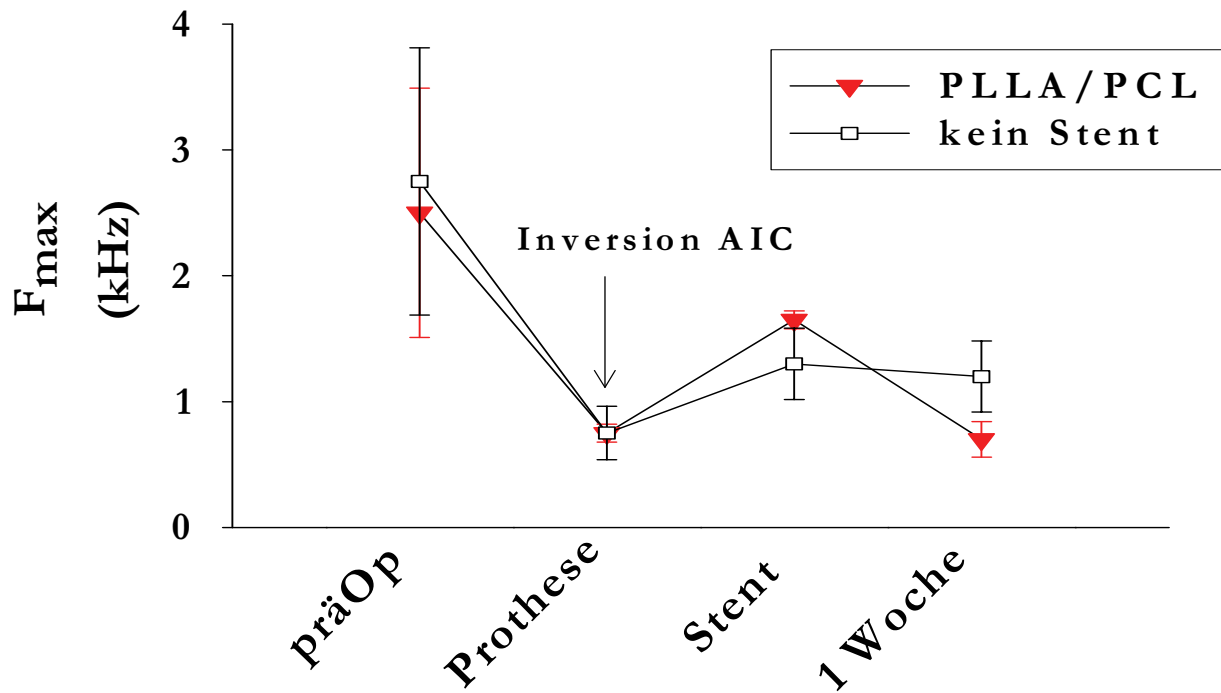


Abbildung 23: F_{max} im Bereich der A. femoralis superficialis der Gruppe D

4.3. Computertomografie

In der aortoiliakalen kontrastmittelverstärkten Computertomografie zeigte sich bei allen PLLA/ PCL- Stents ein Verschluss (Abb.24). Im Bereich der nicht gestenteten Anastomose zeigte sich im Verhältnis des Lumens prästenotisch zu poststenotisch eine Stenose von 50 – 70%.

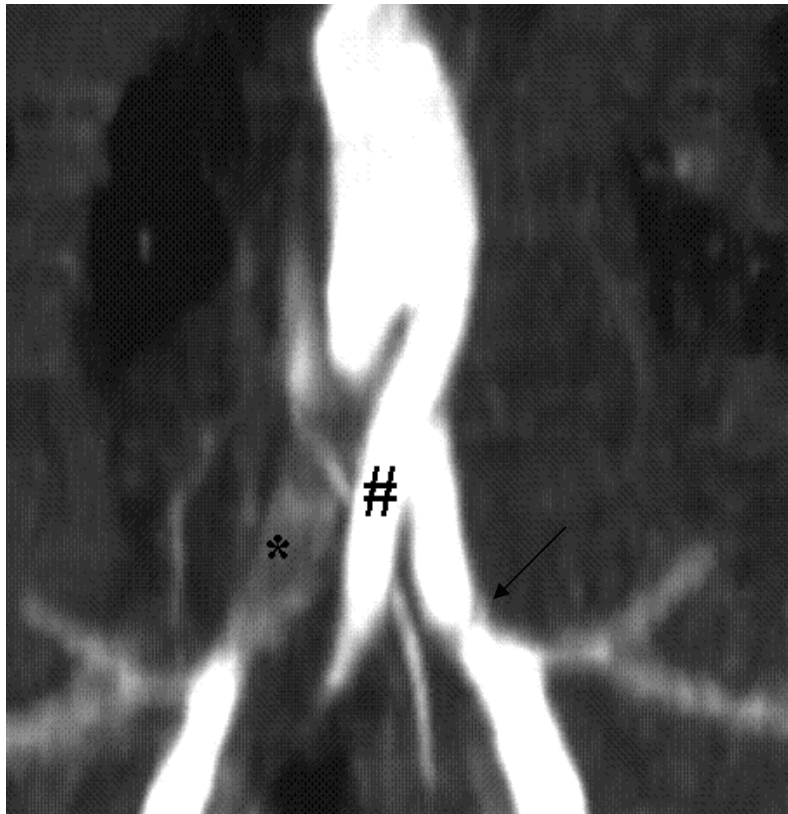


Abbildung 24: Computertomographie aortoiliakal in Gruppe D. Rechts zeigt sich ein Verschluss des PLLA/ PCL-Stents (*). Der nicht gestentete Prothesenschenkel links ist offen mit einer Stenosierung von 70 % im Anastomosenbereich (→). Offener 3. Prothesenschenkel (#).

4.4. Histologie

Die entnommenen Proben zeigten makroskopisch einen kompletten thrombotischen Verschluss des Stentlumens (Abb. 25). Der Stent lag nicht mehr der Gefäßwand an. Ursächlich war hier ein Recoil des Stents.

Im Bereich der ungestenteten Anastomose war makroskopisch eine Einengung des Gefäßlumens sichtbar.



Abbildung 85: Thrombotischer Verschluss des PLLA/PCL-Stents. Auf der Gegenseite: Offenheit des ungestenteten Prothesenschenkels

4.4.1. Morphologie

Bei den ungestenteten Anastomosen zeigte sich eine Stenoserate von 55 – 70%. Diese ergab sich aus dem profundiertem Durchmesser im Verhältnis der Prothese auf Höhe der Anastomose (Abb. 26, 27 B).

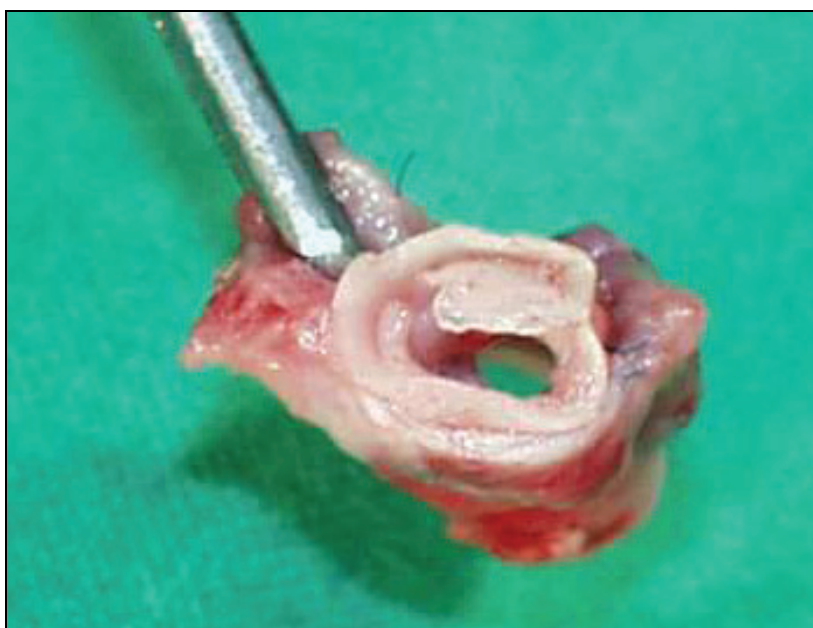


Abbildung 26: Explantierte Iliakalanastomose mit deutlicher Lumeneinengung durch Inversionsnaht

Die histologische Auswertung bestätigte einen thrombotischen Verschluss des PLLA/PCL-Stents. Im ursprünglichen Gefäßlumen kam es zu einer Organisation des Thrombus durch Granulationsgewebe mit Kapillareinsprossungen.

Ein ausgeprägter Recoil war zu beobachten, kein Stentstrut lag der Gefäßwand an (Abb.25A).

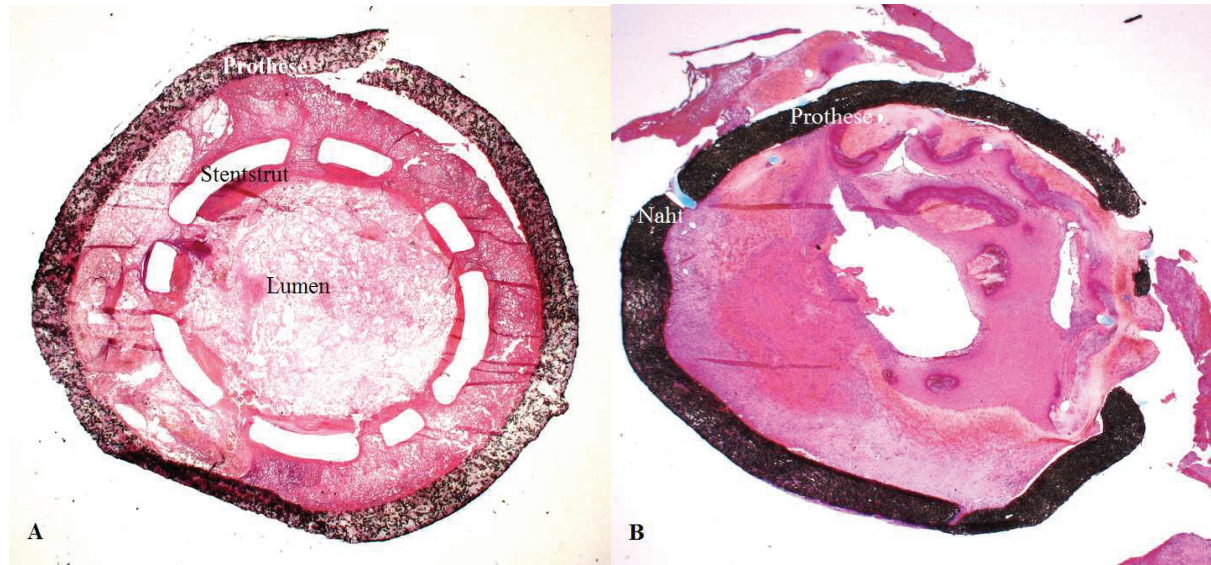


Abbildung 27: A: Thrombotischer Verschluss des PLLA/ PCL- Stents mit deutlichem Recoil; B: Stenose an der ungestenteten Seite

5. Stenting der A. carotis communis

5.1. Operatives Vorgehen

Die präoperative sonografische Bestimmung des Gefäßdurchmessers der ACC ergab $5,2 \text{ mm} \pm 0,2$ rechts und $4,9 \text{ mm} \pm 0,3$ links.

Es traten keine intra- oder postoperativen Komplikationen auf. Alle Stents ließen sich ohne technische Probleme in die A. carotis communis implantieren. Die Dilatation des Stent führte zu einer sichtbaren Aufweitung des Gefäßes (sog. Oversizing). Der genaue Grad der Aufdehnung konnte nicht bestimmt werden, da die Möglichkeit zur Angiographie fehlte.

5.2. Histologie

5.2.1. Morphologie

Alle PLLA- und Metall-Stents bleiben nach einer Woche offen. Es konnte kein übermäßiger Recoil oder Kollaps festgestellt werden. In der histologischen Auswertung waren alle Stents intakt. Das Gewebe um die Stentstruts organisierte sich. Vereinzelt waren Ödeme und kleine Nekrosen der Gefäßwand sichtbar.

5.2.2. Semiquantitative Auswertung

Der durchschnittliche Inflammatory-Score betrug für die PLLA-Stents $0,94 \pm 0,34$ und $0,98 \pm 0,11$ für die Metall-Stents (Abb.28).

Insgesamt war die Entzündungsreaktion als gering zu bewerten.

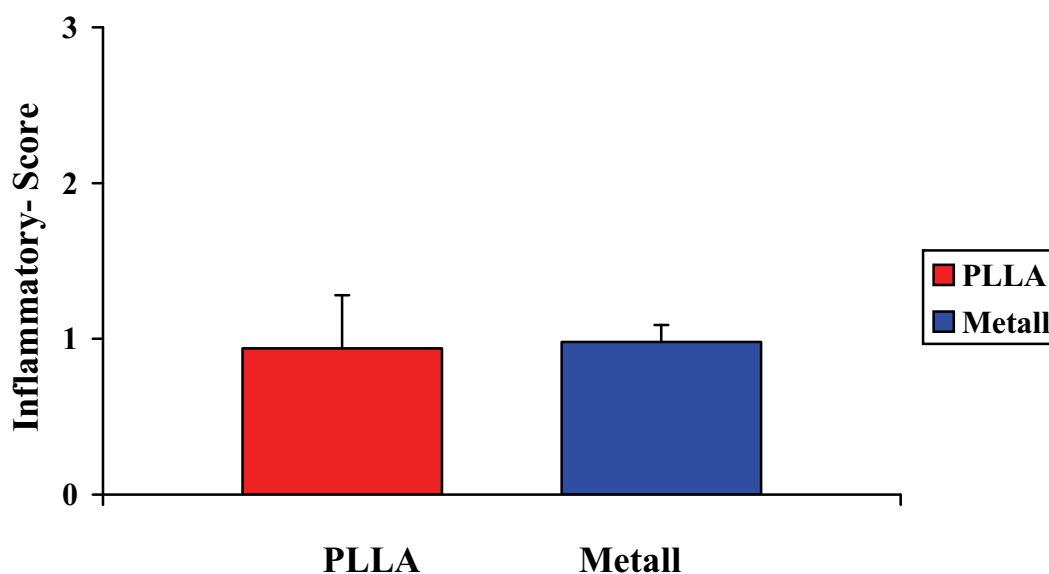


Abbildung 28: Inflammatory- Score für die Stents in der A. carotis communis (Gruppe E)

Die Injury-Scores als Maß für die Schädigung der Gefäßwand ergaben für die PLLA-Stents $0,22 \pm 0,35$ und für die Metall-Stents $0,26 \pm 0,42$ (Abb.29). Die Schädigung war gering und zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

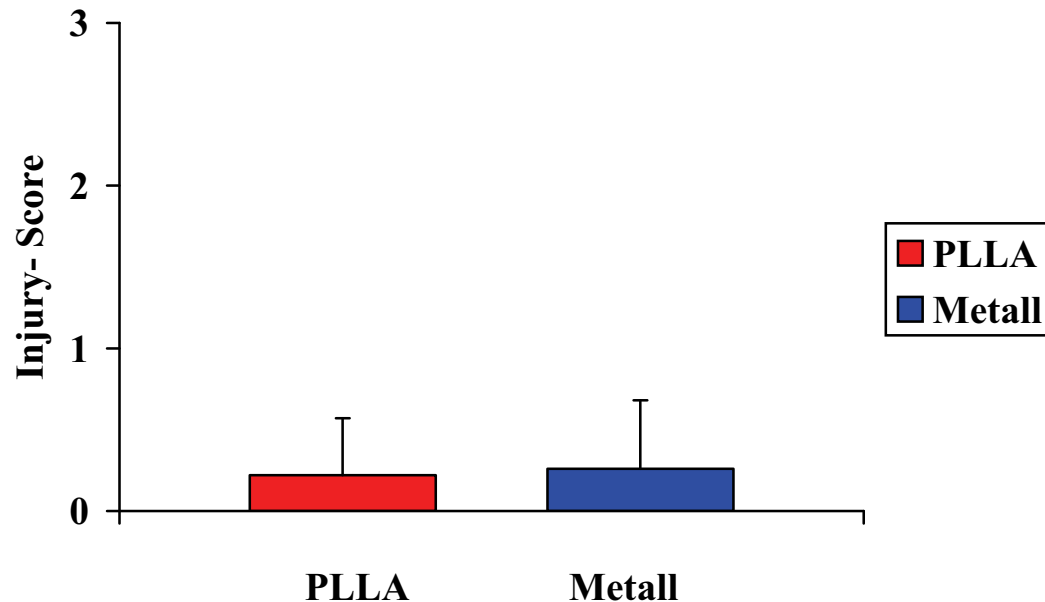


Abbildung 29: Injury- Score für Gruppe E

5.2.3. Morphometrie

Die Residuallumina und die Intimadicke sind in Tabelle 9 dargestellt.

Tabelle 9: Residuallumina (RL; mm) und neointimale Dicke (ND; mm) nach 1 Woche (Gruppe E) für die A. carotis communis

Gruppe E			
	PLLA	METALL	p
RL	4.08 ± 0.09	4.43 ± 0.04	< 0.001
ND	0.06 ± 0.02	0.04 ± 0.01	0.054

Die Residuallumina der PLLA-Stents ($4,08 \text{ mm} \pm 0,09$; $p < 0,001$) waren im Vergleich zu den Metallstents ($4,43 \text{ mm} \pm 0,04$; $p < 0,001$) vermindert.

Die Neointimadicke beträgt $0,06 \text{ mm} \pm 0,02$ für die PLLA-Stents und $0,04 \text{ mm} \pm 0,01$ für die Metall-Stents (Abb.30).

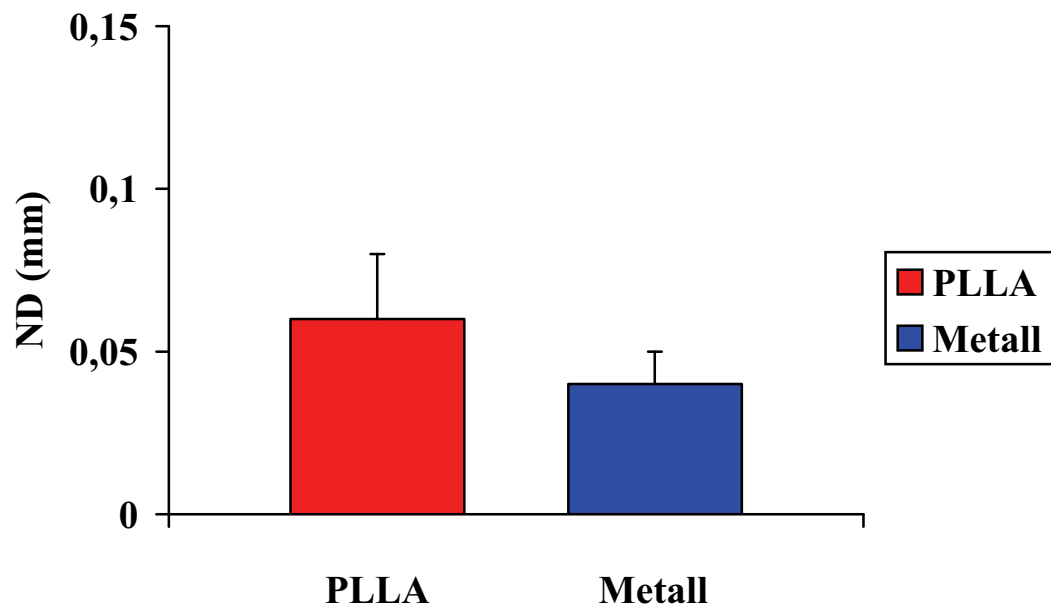


Abbildung 30: Neointima- Dicke der Gruppe E

5 DISKUSSION

In den letzten Jahren haben interventionelle Verfahren immer mehr an Bedeutung gewonnen. Der Vorteil gegenüber den chirurgischen Verfahren ist das geringe Zugangstrauma, da einzig eine Gefäßpunktion als Zugangsweg zum Gefäß genügt und somit der chirurgische Hautschnitt umgangen wird. Das senkt die Gefahr des Auftretens von Infektionen, begrenzt die äußerliche traumatische Schädigung des Gewebes und hält die OP-Zeiten kurz. Außerdem ist häufig keine Intubationsnarkose notwendig, so dass auch Patienten mit komplexeren Erkrankungen, die aufgrund ihrer Vorgeschichte nicht für eine Narkose geeignet sind, behandelt werden können.

Stents dienen als Platzhalter nach Aufweitung eines Gefäßes mittels Ballonkatheter. Dabei kommt es zu einer Überdehnung des Gefäßes und absichtlicher Traumatisierung der Gefäßwand bis in die Tunica media. Posttraumatisch kommt es zu Umbauvorgängen in der Gefäßwand, dem sogenannten Remodeling. Dieses Remodeling wird genutzt, um eine dauerhafte Erweiterung des Gefäßes zu erreichen.

Ein großes Problem nach Stentimplantation ist nach wie vor die Restenose [12-15]. Verschiedene Faktoren werden dafür verantwortlich gemacht: Thrombose, Entzündungsreaktion und eine Hyperplasie der Gefäßintima.

Bei der Implantation eines Stents kommt es zu einer Verletzung der Gefäßwand in deren Folge subendotheliales Gewebe dem Blutstrom ausgesetzt wird und die Gerinnungskaskade aktiviert. Die Folge ist eine Thrombose mit Verschluss des betroffenen Gefäßes. Eine thrombozytenaggregationshemmende Therapie nach Stentimplantation ist daher unerlässlich. Bei koronarer Stentimplantation hat sich eine Kombinationstherapie mit ASS und Clopidogrel als Standardverfahren durchgesetzt. Dies senkte die akuten und subakuten Stentverschlüsse nach Koronarintervention drastisch [56-57]. Bei Stentimplantation in peripheren Gefäßen fehlen bisher validierte Studien, so dass nicht sicher ist, ob diese Daten sich direkt auf Stentapplikation im peripheren Gefäßsystem übertragen lassen. Die heutzutage gängigen Stents sind aus Metall, ein Material das gute mechanische Eigenschaften aufweist, aber als thrombogen eingeschätzt wird. Eine Polylactidbeschichtung soll die Hämkompatibilität von Metall-Stents steigern [43]. Dagegen existieren widersprüchliche Daten über die thrombogenen Eigenschaften bioresorbierbarer Polylactid-Stents [43-45,58-59].

In unserem Modell verglichen wir zunächst einen PLLA-Stent mit einem Metall-Stent unter ASS-Monotherapie. Als Ergebnis erhielten wir einen kompletten Verschluss der PLLA-Stents und offene Metall-Stents nach einer Woche.

Der Zeitpunkt des Stentverschlusses ließ sich klinisch nicht nachvollziehen. Die dopplersonographischen Messungen wurden direkt nach Stentimplantation und 7 Tage postoperativ durchgeführt. Ebenso die computertomographische Untersuchung wurde eine Woche nach Implantation durchgeführt. Im histologischen Bild zeigte sich allerdings eine bereits eingesetzte Organisation des Thrombus mit der Einwanderung von Lymphozyten, Histiozyten, Fibrozyten und der Einsprossung von neuen Gefäßen. Diese Organisationsprozesse beginnen um den 5. Tag [1] und sprechen am ehesten für einen akuten oder subakuten Prozess. Bei keinem Versuchstier traten motorische oder neurologische Defizite auf. Daher ist davon auszugehen, dass beim Schwein gute Kollateralkreisläufe vorhanden sind.

Die Hauptursachen für den Verschluss der PLLA-Stents sehen wir in der vermehrten Strutdicke und der erhöhten inflammatorischen Reaktion der Gefäße.

Die Strutdicke betrug 270 μm beim PLLA und 155 μm beim Metall-Stent, bei einer Stent/Gefäß-Oberflächenratio des PLLA-Stents von ca. 40 % und ca. 10 % beim Metall-Stent. Einerseits war wesentlich mehr Stentoberfläche dem Blutstrom im Gefäß und somit der Thrombozytenaggregation ausgesetzt, andererseits war die Kontaktfläche des PLLA-Stents mit der Gefäßwand, im Gegensatz zum Metall-Stent, größer.

Im Bereich der Stent-Struts stellten wir, sowohl für die PLLA- als auch für die Metall-Stents, ausgeprägte Medianekrosen fest. Diese sind als Folge der Gefäßwandschädigung entstanden [19]. Dabei kommt es durch Druck und Ischämie zunächst zu Ödemen und Einzelzellnekrosen. Später werden diese Defekte in narbiges Bindegewebe, einhergehend mit Elastizitätsverlust des Gefäßes, umgewandelt. Aufgrund der größeren Kontaktfläche der PLLA-Stents, waren die Schäden an den betroffenen Gefäßsegmenten ausgeprägter. Diese beschriebenen Nekrosen standen nicht in direktem Zusammenhang mit dem von uns erhobenen Injury-Score, der die Intaktheit der Gefäßschichten beschreibt. Bezüglich des Injury-Scores war das Ausmaß der Gefäßwandverletzung für PLLA- und Metall-Stent vergleichbar. Damit führt die größere Strutdicke nicht zu einer tieferen Schädigung der Gefäßwand, aber zu einer ausgeprägteren Schädigung im Bereich der inneren Gefäßwandschichten.

Eine höhere Strutdicke hat also mehrere Effekte: es kommt zu einer vermehrten Einengung des Gefäßlumens, das Ausmaß der Gefäßwandschädigung ist höher und mehr körperfremdes Material ist dem Blutstrom ausgesetzt und damit auch der Aggregation der Thrombozyten.

Die inflammatorische Reaktion bei den PLLA-Stents ist vermehrt. Diese Beobachtung wurde auch in anderen Studien gemacht [46-48] und ist ein wichtiger thrombogener Faktor. Die vermehrte inflammatorische Reaktion ist einerseits auf die ausgeprägtere Schädigung der Gefäßwand zurückzuführen, andererseits ist auch eine Hypersensitivität des Gefäßes auf das Polymer möglich [60].

Bei den folgenden Versuchen gelang es uns durch die Kombination von ASS mit einem weiteren Thrombozytenaggregationshemmer, Clopidogrel, einen thrombotischen Verschluss zu vermeiden. Clopidogrel hemmt die Thrombozytenaggregation, ausserdem sind antiinflammatorische Effekte beschrieben [22]. Diese Ergebnisse bestätigten die Erfahrungen aus der koronaren Stentimplantation, dort ist die Kombination vom ASS und Clopidogrel die medikamentöse Standardtherapie nach Stentimplantation [56-57]. In verschiedenen Studien sind synergistische Effekte dieser beiden Medikamente bestätigt worden [27-29].

Da die maximale Wirkung von Clopidogrel erst nach 7- 10 Tagen eintritt [21], begannen wir in dem Versuch die Thromboseneigung noch weiter zu beeinflussen, bei einem Versuchstier die duale thrombozytenaggregationshemmende Therapie bereits 5 Tage vor der Operation. Aufgrund einer unstillbaren retroperitonealen Blutung kam es zu einem intraoperativen letalen Ausgang. Die erste Gabe der Thrombozytenaggregationshemmer erfolgte daher am unmittelbaren präoperativen Tag mit guten Ergebnissen.

An der Reduktion der Entzündungsreaktion sollte weiter gearbeitet werden. Eine Möglichkeit wäre die Inkorporation von entzündungshemmenden Pharmaka. Klinisch werden derzeit Metallstents, die mit Sirolimus (CYPHER™), Paclitaxel (TAXUS™), Zotarolimus (ENDEAVOR™) oder Everolimus (PROMUS™) beschichtet sind, eingesetzt. Sie sind sehr effektiv in der Verminderung von Restenosen nach Koronarintervention [61-63]. Durch ihre immunsuppressive Wirkung vermindern sie die Inflammation und somit auch eine überschießende Neointimabildung. Das führt allerdings auch zu einer verzögerten Heilungsprozess der Intima, es folgt eine verzögerte Reendothelialisierung der Stents [35,63]. Das birgt die Gefahr von späten Stentthrombosen, was eine längere Thrombozytenaggregationshemmung notwendig macht.

Da sich in unseren Versuchen eine erhöhte inflammatorische Reaktion der Gefäßwand zeigte, wäre dies eine gute Therapieoption. Ein Stent komplett aus PLLA könnte wesentlich mehr Pharmakon speichern und so effektiver eine Restenose vermeiden [20].

In weiteren Versuchen implantierten wir Polylactid-Stents mit einem 10% igen PCL-Anteil. Ziel dieses Stentdesigns war es, verbesserte mechanische Eigenschaften und damit vor allem eine geringere Aufdehnungszeit der Stents zu gewährleisten. Die Stents aus PLLA wurden mit 1 bar/min aufgedehnt, die PLLA/PCL- Stents mit 3 bar/min.

Allerdings kam es nach Stentimplantation trotz dualer Thrombozytenaggregationshemmung zu einem thrombotischen Verschluss der Stents. Die Gründe hierfür lagen in der ausgeprägten Rückstellkraft (Recoil) des Stents, die zu einer ausgeprägten Einengung des Gefäßlumens führte. Schon makroskopisch zeigte sich, dass kein Stent nach einer Woche der Gefäßwand anlag.

Das iliakale Anastomosenmodell hatte zum Ziel, die Sicherheit des Überstentens einer neu genähten Anastomose zu überprüfen, den Einfluss des Stentings auf die Wundheilung und die Beeinflussung des Flussprofils durch Glättung der neu genähten Intimastufe zu eruieren.

Dabei konnten wir zeigen, dass es zu keiner Ruptur einer Anastomosennaht durch die Druckerhöhung im Anastomosenbereich bei Stentimplantation kam und auch keine Anastomosenblutungen auftraten.

Die Glättung der Intimastufe gelang problemlos. Wurde auf ein Überstenten im iliakalen Anastomosenbereich verzichtet, so wurde histologisch eine Stenosierung von 50 - 70 % nachgewiesen. Das ist eine interessante Therapieoption, da ein häufiger Grund für den akuten Prothesenverschluss eine dissezierende Intima nach lokaler Endarteriektomie ist [68,69].

Allerdings führten wir durch die Implantation einer PTFE-Prothese mit Nähung einer Intimainversion und zusätzlicher Stenose eine erhebliche Schädigung der Gefäßwand herbei. Histologisch zeigte sich dabei eine subtotale Zerstörung der Gefäßarchitektur. Sicherlich spielt diese zusätzliche Traumatisierung auch eine wichtige Rolle als Trigger bei der Entstehung der Thrombose. Allerdings kam es zu keiner Thrombose, wenn Metallstents zum Glätten der Anastomose verwandt wurden.

Eine Stenose der A. carotis ist einer der wichtigsten Risikofaktoren für die Ausbildung einer zerebralen vaskulären Insuffizienz, die sich als TIA (transitorisch ischämische Attacke), PRIND (prolongiertes reversibles ischämisches neurologisches Defizit) oder manifesten Schlaganfall äußern kann. 85% der Fälle sind ischämisch bedingt, durch eine Stenose der Hirnarterien oder der Arteria carotis communis, 15% werden durch eine Massenblutung verursacht [4]. Derzeit ist die Carotidendarterektomie (CEA) mit Ausschälung des thrombotischen Materials die Standardbehandlung bei Patienten mit symptomatischen Stenosen >70% [64-70].

Auch bei Stenosen der A. carotis ist die Aufdehnung des Gefäßes mit der anschließenden Implantation eines Platzhalters sinnvoll. Sie hätte den Vorteil eine Vollnarkose und eine eventuelle Verletzung der Hirnnerven und eine kraniale Neuropathie zu vermeiden [71-72]. Im Vergleich der CEA mit endovaskulären Therapien scheinen beide ein ähnliches Risikoprofil bezüglich frühem Tod oder Schlaganfall zu besitzen und die Langzeitergebnisse sind ähnlich gut [72]. Allerdings ist auch hier wieder die Restenosierung nach PTA und Stentimplantation ein Problem. Ein nur temporär bis zum Abschluss des Gefäß-Remodelings im Gefäß verbleibender Stent verringert die Gefahr thrombotischer Abgänge. Außerdem erschwert ein dauerhaft im Gefäß verbleibender Stent eine erneute Intervention.

Wir implantierten PLLA-Stents ohne vorherigen Gefäßersatz und unter dualer Thrombozytenaggregationshemmung mit ASS und Clopidogrel in die A. carotis communis. Nach einer Woche war der Durchfluss gut erhalten, es kam zu keinen thrombotischen Verschlüssen. Allerdings sind die Ischämiezeiten für die zerebrale Durchblutung sehr gering, sodass die lange Aufdehnungszeit des PLLA-Stents ein Problem ist und ungewollt Schlaganfälle provozieren kann. Für diese Anwendung ist ein Stent mit geringeren Aufdehnungszeiten indiziert.

Die makro- und mikroskopische Anatomie des Hausschweins ist der des Menschen recht ähnlich, die Größenverhältnisse stimmen weitestgehend überein. So entspricht der Durchmesser der A. iliaca communis etwa dem der menschlichen A. femoralis superficialis. Das hat zum Vorteil, dass medizinische Gerätschaften und Materialien (Prothesen, Katheter, Tuben etc.) die für den Gebrauch am Menschen hergestellt wurden für diesen Versuch genutzt werden konnten.

Die A. iliaca communis und die A. carotis communis sind leicht zugänglich. Die Physiologie und das Gerinnungssystem des Schweines sind dem Menschen ähnlich [73-78].

Als schwierig erwies sich die Intubation der Schweine. Dies ist bedingt durch die lange Epiglottis und kann häufiger zu Fehlintubationen in den Ösophagus führen [79]. Schweine neigen zu einer starken pulmonalen Hypersekretion, was sich als risikoreich erweisen kann, wenn bei einem langen Versuch Atelektasen zu einer Pneumonie führen [80].

Der Versuch wurde bei 2 Schweinen aufgrund eines Coecal-Volvulus mit anschließender Gangrän und Durchwanderungsperitonitis frühzeitig beendet. Die locker aufgehängten Dünndarmschlingen und insbesondere das mobile, im linken Unterbauch liegende Coecum sind prädisponiert für derartige Komplikationen [81]. Zur Vermeidung dieser Komplikationen wurde der Versuch einer Reposition der Darmschlingen am Ende der Operation unternommen. Intestinale Komplikationen treten beim Schwein häufig auf. Torsionen und Invaginationen stellen in fast 50 % die Ursache für einen plötzlichen Tod nichtoperierter Schweine dar [82].

Bei zwei Schweinen machte das Ausreißen der Bauchnaht eine Revision erforderlich. Es ist aber auch ersichtlich geworden, dass eine Reintervention chirurgischer Art sehr wohl zu einem erfolgreichen Abschluss des Tierversuchsvorhabens führen kann.

Für die Zukunft sollte ein Stent entwickelt werden, der eine geringere Strutdicke hat, aber mindestens genauso gute mechanische Eigenschaften wie der derzeitig von uns angewendete Stent. Eine Möglichkeit ist, den PLLA-Stent mit Pharmaka zu beschichten, welche die Inflammation beeinflussen.

Die Beibehaltung der doppelten Thrombozytenaggregationshemmung ist unabdingbar für die Vermeidung von Stentthrombosen.

Langzeitversuche sind notwendig, um Aussagen über den Zeitraum der Biodegradation treffen zu können und eventuelle Risiken abzuschätzen. Notwendig ist das Wissen, ob eine ausreichende Endothelialisierung der Stents stattfindet und in wiefern es zur Auflösung des Grundgerüsts kommt. Sollte in der Degradationsphase zu einem Verlust des Grundgerüsts und zu einer unzureichenden Endothelialisierung kommen, besteht die Gefahr der Dislokation verbleibender Stentabschnitte, was embolische Ereignisse zur Folge haben könnte. Dies spielt insbesondere für die Anwendung im Bereich der A. carotis communis eine wichtige Rolle, da die Gefahr eines Schlaganfalls gegeben ist.

Ein wichtiger Kritikpunkt ist sicherlich die fehlende Möglichkeit zur Angiographie. Angiographisch ließe sich die Position der Stents kontrollieren und man könnte in den

Nachkontrollen Aussagen über die Stentposition geben. Ausserdem erlaubt es genauere Aussagen über das Ausmaß der Restenose. Das offene Operationsverfahren erlaubt zwar eine gute visuelle Kontrolle der Stentposition bei der Implantation, allerdings birgt dieses Verfahren auch höhere Komplikationen durch die Notwendigkeit der Intubationsnarkose, lange OP-Zeiten und die erhöhte Gefahr der Infektion. Eine interventionelle Anwendbarkeit des bioresorbierbaren Stents wäre auch für die klinische Anwendbarkeit von Vorteil.

ZUSAMMENFASSUNG

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden:

Unter ASS-Monotherapie kam es zu einem Verschluss der bioresorbierbaren Stents, alle Metallstents blieben unter Monotherapie offen. Die Ergänzung der antithrombozytären Therapie um Clopidogrel führte auch bei den PLLA-Stents zu einer Verhinderung des thrombotischen Verschlusses.

Als ursächlich für den erhöhten thrombotischen Verschluss sehen wir die vermehrte Strutdicke der PLLA-Stents und die höhere Entzündungsreaktion des Gefäßes auf PLLA. Die Residuallumina zeigten keine signifikanten Unterschiede, allerdings kam es zu einer vermehrten Neointimabildung bei den PLLA-Stents. Die Verletzung der Gefäßwand ist bei Metall- und PLLA-Stents vergleichbar.

Die Aufdehnungszeit der PLLA-Stents ist im Vergleich zu den Metall-Stents wesentlich länger.

Die Hinzunahme vom PCL zu PLLA führt zu einer geringeren Aufdehnungszeit der Stents, allerdings zeigte sich bei allen Versuchstieren auch unter doppelter Thrombozytenaggregationshemmung ein thrombotischer Verschluss der Stents. Die verbesserten mechanischen Eigenschaften während der Aufdehnung gehen im Gefäß mit einem vermehrten Recoil der PLLA/PCL-Stents einher.

Die neu genähte Anastomose zwischen Gefäßprothese eignet sich als Stenosemodell.

Dopplersonographisch sahen wir nach Nähung der iliakalen Anastomose einen deutlichen Abfall der Fmax. Bei nicht überstenteten Anastomosen zeigt sich makroskopisch eine Einengung des Gefäßlumens um 55-70%.

Die Anwendung der PLLA-Stents im Bereich der A. carotis communis gelang komplikationslos, allerdings besteht aufgrund der langen Aufdehnungszeit die Gefahr zerebraler Ischämien.

Weitere Untersuchungen sind notwendig:

An den mechanischen Eigenschaften in Hinblick auf kürzere Aufdehnungszeiten der Stents und damit Verringerung der Ischämiezeiten, vor allem in Hinblick auf die Anwendbarkeit im Bereich der A. carotis communis, sollte weiter gearbeitet werden.

Da die überschießende Entzündungsreaktion der Gefäßwand einer der Hauptursachen für einen vermehrten thrombotischen Verschluss der PLLA-Stents ist, sollte an einem Konzept zur Verminderung der Inflammation gearbeitet werden. Eine Möglichkeit wäre die Beschichtung der PLLA-Stents mit antiinflammatorischen Substanzen wie zum Beispiel Sirolimus, Paclitaxel, Everolimus oder Zotarolimus. Medikamente-freisetzende-Stents (Drug-eluting-Stents) aus Metall werden derzeit klinisch eingesetzt.

Desweiteren ist die Verringerung der Strutdicke und damit die Verminderung der traumatischen Schädigung der Gefäßwand bei Erhalt der mechanischen Eigenschaften notwendig.

Langzeitversuche bezüglich der Bioresorbierbarkeit stehen noch aus. Aussagen über die Dauer der Degradation sind derzeit nicht möglich. Da sich bereits nach einer Woche mikroskopisch eine Endothelialisierung der Stentstruts nachweisen ließ, erscheint die Gefahr einer Embolisation durch verbleibende Stentreste eher unwahrscheinlich.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Roessner A, Kirkpatrick CJ, Scheider J. Gefäße. Aus Böcker, Denk, Heitz. Pathologie. *Urban und Fischer Verlag* 2001
2. Herold G et al. Innere Medizin 2001
3. Hood DB, Hodgson KF. Percutaneous arterial dilation for arteriosclerotic aortoiliac occlusive disease. aus Ernst, Stanley. *Current Therapy in Vascular Surgery*. Fourth Edition, Mosby 2001;pp 384-390
4. Müller M et al. Chirurgie 2004/05. *Medizinische Verlags und Informationsdienste Breisach*
5. Dotter CT, Judkins MP. Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction. Description of a new technic and a preliminary report of application. *Circulation*. 1964, 30:654-670
6. Dormandy JA, Rutherford B. Management of peripheral arterial disease (PAD). *J Vasc Surg* 2000;31:S1-S296
7. Johnston KW. Femoral and popliteal arteries: reanalysis of results of balloon angioplasty. *Radiology* 1992;183:767-71
8. Minar E, Pokrajac B, Maca T, et al. Endovascular brachytherapy for prophylaxis of restenosis after femoropopliteal angioplasty: results of a prospective randomized study. *Circulation* 2000;102:2694-9
9. Henry M, Amor M, Beyar I, et al. Clinical experience with a new nitinol self-expanding stent in peripheral artery disease. *J Endovasc Surg* 1996;3:369-79
10. Sigwart U, Puel J, Mirkowitch V, Joffe F, Kappenberg L. Intravascular Stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med* 1987;316:701-706
11. Sabeti S, Schillinger M, Amighi J, et al. Patency of femoropopliteal arteries treated with nitinol versus stainless steel self-expanding stents: propensity score-adjusted analysis. *Radiology* 2004;232:516-21
12. Ellis SG, Savage M, Fishman D. Restenosis after placement of Palmaz-Schatz in native coronary arteries: initial results of a multicenter experience. *Circulation* 1992;86:1836-44

13. Foley JB, Penn IM, Brown RIG. Safety, success and restenosis after elective coronary implantation of the Palmaz-Schatz stent in 100 patients at a single center. *Am Heart J* 1992;125:686-94
14. Kastrati A, Schomig A, Dietz R, Neumann FK, Richardt G. Time course of restenosis during the first year after emergency coronary stenting. *Circulation* 1993;87:1498-505
15. Ikari Y, Hara K, Tamura T, Saeki F, Yamaguchi T. Luminal loss and site of restenosis after Palmaz-Schatz coronary stent implantation. *Am J Cardiol* 1995;76:117-20
16. Virmani R, Farb A. Pathology of In-Stent Restenosis. *Curr opin Lipidol* 1999;10:499-506
17. Edelman ER, Rogers C. Pathobiologic responses to stenting. *Am J Cardiol* 1998;81:4E-6E
18. Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis: a special case of arteriosclerosis progression. *Circulation* 1992;86:III-47-III-52
19. Bräsen JH, Kivelä A, Röser K, Rissanen TT, Niemi M, Luft FC, Donath K, Ylä-Herttuala. Angiogenesis, Vascular Endothelial Growth Factor and Platelet-Derived Growth Factor BB-Expresion, Iron Deposition and Oxidation-Specific Epitopes in Stent Human Coronary Arteries. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2001;21:1720-1726
20. Costa MA, Simon DI. Molecular Basis of Restenosis and Drug-Eluting Stents. *Circulation* 2005;111;2257-2273
21. Karow, Lang. Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie. 2006
22. Schatz RA. A View of Vascular Stents. *Circulation* 1989;79:445-457
23. Herbert JM, Tissinier A, Defreyn G, Maffrand JP “Inhibitory effect of Clopidogrel on platelet adhesion and intimal proliferation after arterial injury in rabbits” *Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.* 1993;13;1171-1179

24. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. In-Stent-Restenosis: Contributions of Inflammatory Responses and Arterial Injury to Neointimal Hyperplasia. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:224-230
25. Carter AJ, Laird JR, Farb A, Kufs W, Wortham DC, Virmani R. Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1398-1405
26. Ellis SG, Muller DW. Arterial injury and the enigma of coronary restenosis. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19:275-277
27. Harker LA, Boissel JP, Pilgrim AJ, Gent M. Comparative safety and tolerability of clopidogrel and aspirin : results from CAPRIE. *Drug Saf* 1999;21:325-335
28. Leon MB, Baim DS, Popma JJ, Gordon PC, Cutlip DE, Ho KK, Giambartolomei A, Diver DJ, Lasorda DM, Williams DO, Pocock SJ, Kuntz RE. A Clinical Trial Comparing Three Antithrombotic Drug Regimens after Coronary-Artery Stenting. Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med* 1998;339:1665-1671
29. Herbert J, Dol F, Bernat A, Falotico R, Lale A, Savi P. The Aggregating and Antithrombotic of Clopidogrel is potentiated by Aspirin in Several Experimental Models in a Rabbit. *Thromb Haemost* 1998;80:512-518
30. Grossman R, Sokolova O, Schnurr A, Bonz A, Porsche C, Obergfell A, Lengenfelder B, Walter U, Eigenthaler M. Variable extent of clopidogrel responsiveness in patients after coronary stenting. *Thrombosis and Haemostasis* 1992;6:1170-1456
31. CAPRI Steering Committee and Investigators. A randomized, blinded, trial of clopidogrel versus Aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). *The Lancet* 1996; 348: 1329-1339
32. Gent M, Blakely JA, Easton JD, Ellis DJ, Hachinski VC, Harbison JW, Panak E, Roberts RS, Sicurella J, Turpie AG. The Canadian American Ticlopidine Study (CATS) in thromboembolic stroke. *Lancet*. 1989;1:1215-1220
33. Moussa I, Oetgen M, Roubin G, Colombo A, Wang X, Iyer S, Maida R, Collins M, Kreps E, Moses JW. Effectiveness of Clopidogrel and Aspirin Versus Ticlopidine and Aspirin in Preventing Stent Thrombosis After Coronary Stent Implantation. *Circulation* 1999;99; 2364-2366

34. Bhatt DL, Bertrand ME, Berger PB, L'Allier PL, Moussa I, Moses JW, Dangas G, Taniuchi M, Lasala JM, Holmes DR, Ellis SG, Topol EJ. Meta-Analysis of Randomized and Registry Comparison of Ticlopidine with Clopidogrel After Stenting. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:9-14
35. Joner M, Finn AV, Farb A, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol* 2006;48:193-202.
36. Rechavia E, Fishbien MC, DeFrance T, Nakamura M, Parikh A, Litvack F, Eigler N. Temporary arterial stenting: Comparison to permanent stenting and conventional balloon injury in a rabbit carotid artery model. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1997;41:85-92
37. Currier JW, Faxon DP. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: have we been aiming at the wrong target? *J Am Coll Cardiol* 1995;25:516-520
38. Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Wong SC, Hong MK, Kovach JA, Leon MB. Arterial remodeling after coronary angioplasty: a serial intravascular ultrasound study. *Circulation* 1996;94:35-43
39. Lansky AJ, Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Baim DS, Kuntz RE, Simonton C, Bersin RM, Hinohara T, Fitzgerald PJ, Leon MB. Remodeling after directional coronary arterectomy (with and without adjunct percutaneous transluminal coronary angioplasty): a seerial angiographic and intravascular ultrasound analysis from the Optimal Arterectomy Restenosis Study. *J Am Coll Cardiol* 1998;32:329-337
40. Nobuyoshi M, Kimura T, Ohishi H, Horiuchi H, Nosaka H, Hamasaki N, Yokoi H, Kim K. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: pathologic observations in 20 patients. *J Am Coll Cardiol* 1988;12:616-623
41. Serruys PW, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ, van den Brand M, Reiber JH, ten Katen HJ, van Es GA, Hugenholtz PG. Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: A quantitative angiographic study in 342 consecutive patients at 1,2,3 and 4 month. *Circulation* 1988;77:361-371
42. Kimura T, Abe K, Shizuta S, Odashiro K, Yoshida Y, Sakai K, Kaitani K, Inoue Kn Nakagawa Y, Yokoi H, Iwabuchi M, Hamasaki M, Nosaka H, Nabuyoshi M. Long-Term Clinical and Angiographic Follow-Up After Coronary Stent Placement in Native Coronary Arteries. *Circulation* 2002;105:2986-2991

43. Agrawal CM, Haas KF, Leopold DA, Clark HG. Evaluation of poly-L-lactic acid as a material for intravascular polymeric stents. *Biomaterials* 1992; 13:176-182
44. Schellhammer F, Berlis A, Bloss H, Pagenstecher A, Schumacher M. Poly-lactic-acid coating for endovascular stents. Preliminary results in canine experimental arteriovenous fistulae. *Invest Radiol* 1997; 32:180-186
45. Tamai H, Igaki K, Kyo E, Kosuga K, Kawashima A, Matsui S, Komori H, Tsuji T, Motohara S, Uehata H. Initial and 6-Month Results of Biodegradable Poly-L-Lactic Acid Coronary Stents in Humans. *Circulation*. 2000;102:399-404
46. van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR, Ellis SG, Topol EJ. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation* 1996;94:1690-1697
47. Su SH, Chao RY, Landau CL, Nelson KD, Timmons RB, Meidell RS, Eberhart RC. Expandable bioresorbable endovascular Stent. I. Fabrication and properties. *Ann Biomed Eng* 2003;31:667-677
48. Uurto I, Juuti H, Parkkinen J, Kellomäki M, Keski-Nisula L, Nevalainen T, Törmälä P, Salenius J-P. Biodegradable Self-Expanding Poly-L/D-Lactic Acid Vascular Stent: A Pilot Study in Canine and Porcine Iliac Arteries. *Journal of Endovascular Therapy* 11(6):712–718
49. Harisson, Swanson, Lincoln. Gewebereaktionen auf plastische Kunststoffe. *Arch. Surg.* 1957;74, 139
50. Petry G, Heberer G. Die Neubildung der Gefäßwand auf Grundlage synthetischer Arterienprothesen. *Langenbecks Arch. u. Dtsch. Z. Chir.* 1957;286:249-290
51. Campbell CD, Brooks DH, Webster Mw, Bahnson HT. The use of microporous polytetrafluoroethylene for limb salvage: a preliminary report. *Surgery* 1976 May;79(5):485-91
52. Hepp, Kogel. Gefäßchirurgie. *Urban und Fischer Verlag* 2002
53. Grabow N, Schlun M, Sternberg K, Hakansson N, Kramer S, Schmitz KP. Mechanical properties of laser cut poly(L-lactide) microspecimens: implications for stent design, manufacture and sterilisation. *J Biomech Eng* 2005; 127:25-31
54. Schmitz KP, Behrend D. Method for the Manufacture of Intraluminal Stents of Bioresorbable Polymeric Material. US Patent No. 5935506. 1999

55. 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 1:503-505.
56. Furman MI, Frelinger III AL, Michelson AD. Antithrombotic therapy in the cardiac catheterization laboratory: focus on antiplatelet agents. *Curr Cardiol Rep* 2000;2:386-394
57. Schomig A, Neumann FJ, Kastrati A, Schuhlen H, Blasini R, Hadamitzky M, Walter H, Zitzmann-Roth EM, Richardt G, Alt E, Schmitt C, Ulm K. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med* 1996;334:1084-1089
58. Hietala EM, Maasilta P, Valimaa T, Harjula AL, Tormala P, Salminen US, Lassila R. Platelet Responses and coagulation activation on polylactide and heparin-polycaprolactone-L-lactide-coated polylactide stent struts. *J Biomed Mater Res A* 2003;67:785-791
59. Tanguay JF, Zidar JP, Phillips III HR, Stacks RS. Current status of biodegradable stents. *Cardiol Clin* 1994;12:669-713
60. Virmani R, Guagliumi G, Farb A, et al. Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious? *Circulation* 2004;109:701-705
61. Iijima R, Mehilli J, Schomig A, Kastrati A. Clinical evidence on polymer-based sirolimus and paclitaxel eluting stents. *Minerva Cardioangiol* 2006;54:539-55.
62. Adnan Kastrati, M.D., Julinda Mehilli, M.D., Jürgen Pache, M.D., Christoph Kaiser, M.D., Marco Valgimigli, M.D., Ph.D., Henning Kelbæk, M.D., Maurizio Menichelli, M.D., Manel Sabaté, M.D., Maarten J. Suttorp, M.D., Ph.D., Dietrich Baumgart, M.D., Melchior Seyfarth, M.D., Matthias E. Pfisterer, M.D., and Albert Schömig, M.D. Analysis of 14 Trials Comparing Sirolimus-Eluting Stents with Bare-Metal Stents. *N Eng J Med* 2007, March 8, 356;10
63. Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, Bailey L, Llanos G, Wilensky R, Klugherz B, Papandreou G, Narayan P, Leon M, Yeung A, Tio F, Tsao P, Falotico R, Carter A. Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. *Circulation*. 2001;104:1188–1193.]
64. Van Damme H, Limet R. Analysis of the results of the main randomized trials on carotid endarterectomy for asymptomatic internal carotid stenosis. *Rev Med Liege*. 2005;60:811-813
65. Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med*. 1991;325:445-453.

66. MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) carotid stenosis. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. *Lancet*. 1991;337:1235-1243.
67. Carotid endarterectomy for patients with asymptomatic internal carotid artery stenosis. National Institute of Neurological Disorders and Stroke. *J Neurol Sci*. 1995;129:76-77
68. Halliday A, Mansfield A, Marro J, Peto C, Peto R, Potter J, Thomas D. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomised controlled trial. *Lancet*. 2004;363:1491-1502
69. Halliday AW, Thomas DJ, Mansfield AO. The asymptomatic carotid surgery trial (ACST). *Int Angiol*. 1995;14:18-20
70. Mohammed N, Anand SS. Prevention of disabling and fatal strokes by successful carotid endarterectomy in patients without recent neurological symptoms: randomized controlled trial. MRC asymptomatic carotid surgery trial (ACST) collaborative group. *Lancet* 2004; 363: 1491-502. *Vasc Med*. 2005;10:77-78
71. Brown MM. Carotid angioplasty and stenting: are they therapeutic alternatives? *Cerebrovasc Dis* 2001;11:112-118
72. Coward LJ, Featherstone RL, Brown MM. Percutaneous transluminal angioplasty and stenting for carotid artery stenosis. *Cochrane Database Syst Rev* 2004;2:CD000515
73. Andre P, Bal dit Sollier C, Bonneau M, Pignaud G, Hainaud P, Azzam K, Drouet L. Which experimental model to choose to study arterial thrombosis and evaluate potentially useful therapeutics? *Haemostasis*. 1996 Oct;26 Suppl 4:55-69.
74. Badimon L, Badimon JJ, Turitto VT, Vallabhajosula S, Fuster V. Platelet thrombus formation on collagen type I. A model of deep vessel injury. Influence of blood rheology, von Willebrand factor, and blood coagulation. *Circulation*. 1988 Dec; 78(6):1431-42.
75. Fuster V, Fass DN, Kaye MP, Josa M, Zinsmeister AR, Bowie EJ. Arteriosclerosis in normal and von Willebrand pigs: long-term prospective study and aortic transplantation study. *Circ Res*. 1982 Nov; 51(5):587-93.

76. Kantor B, Ashai K, Holmes DR Jr, Schwartz RS. The experimental animal models for assessing treatment of restenosis. *Cardiovasc Radiat Med.* 1999 Jan-Mar; 1(1):48-54.
77. Lam JY, Chesebro JH, Steele PM, Badimon L, Fuster V. Is vasospasm related to platelet deposition? Relationship in a porcine preparation of arterial injury in vivo. *Circulation.* 1987 Jan;75(1):243-8.
78. Bowie EJ, Owen CA Jr, Zollman PE, Thompson JH Jr, Fass DN. Tests of hemostasis in swine: normal values and values in pigs affected with von Willebrand's disease. *Am J Vet Res.* 1973 Nov;34(11):1405-7.
79. Steffey EP. Some characteristics of ruminants and swine that complicate management of general anesthesia. *Vet Clin North Am Food Anim Pract.* 1986 Nov;2(3):507-16.
80. Hsu TH, Gill IS, Sung GT, Meraney A, McMahon JT, Novick AC. Laparoscopic aortorenal bypass. *J Endourol.* 2000 Mar;14(2):123-31.
81. Dyce KM, Sack, WensingCJG. The Abdomen of the pig. 3rd Edition, Phiol WB Company, Philadelphia 2002; 36:776-857
82. Sanford SE, Josephson GK, Rehmtulla AJ. Sudden death in sows. *Can Vet J.* 1994 Jun;35(6):388
83. Samama CM, Bonnin P, Bonneau M, Pignaud G, Mazoyer E, Bailliant O, Maffrant JP, Viars P, Caen JP, Drouet LO. Comparative arterial antithrombotic activity of clopidogrel and acetyl salicylic acid in the pig. *Thromb Haemost* 1992;68:500-505

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

WHO	World Health Organization
pAVK	periphere arterielle Verschußkrankheit
TEA	Thrombendarterektomie
PTFE	Polytetrafluoroethylen
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
VWF	von Willebrand Faktor
GP	Glykoprotein
TXA	Thromboxan
ADP	Adenosindiphosphat
PDGF	platelet derived growth factor
EGF	epidermal growth factor
TGF- β	β -transforming growth factor
ASS	Acetylsalicylsäure
PLLA	Poly-L-Lactid-Acid
PCL	Polycaprolacton
TEC	Triethylcitrat
PEEP	positiver endexpiratorischer Druck
IF	Inflammatory-Score
IJ	Injury-Score
IEL	Lamina elastica interna
EEL	Lamina elastica externa
RL	Residuallumen
ND	Neointimadicke
CLOP	Clopidogrel
KG	Körpergewicht
pCO ₂	CO ₂ -Partialdruck

pO ₂	O ₂ -Partialdruck
HF	Herzfrequenz
RRsyst	systolischer Blutdruck
RRdiast	diastolischer Blutdruck
MAP	arterieller Mitteldruck
Hb	Hämoglobin
Hkt	Hämatokrit
pTT	partielle Thromboplastinzeit
DM	Diameter
ACC	Arteria carotis interna

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abb.1	Polymerstent aus Poly-L-Lactid	9
Abb.2	Versuchstier im Tierhaus des Experimentellen Forschungszentrums	13
Abb.3A	Implantation der Y- Prothese	15
Abb.3B	Inversionsnaht im Bereich der iliakalen Anastomose	15
Abb.4	Nitinolstent in vitro	15
Abb.5	Stentimplantation mittels Ballonkatheter	16
Abb.6	Skizze der Stentimplantation mit Hilfe eines Ballonkatheters mit anschließender Aufdehnung auf 8 bar	17
Abb.7	Dopplersonographische Messung unmittelbar präoperativ	18
Abb.8	histologische Schnittebenen der einzelnen Stentregionen	19
Abb.9	Messung der Residuallumina und Intimadicke	21
Abb.10A	Flussprofil der A. femoralis präoperativ	25
Abb.10B	Flussprofil der A. femoralis nach Implantation der PTFE-Prothese und Herstellung einer Stenose im ilikalen Anastomosenbereich	25
Abb.10C	Flussprofil der A. femoralis nach Stentimplantation im Bereich der iliakalen Anastomose	25
Abb.11	Computertomographie mit Kontrastmittel nach 1 Woche	25
Abb.12	Darstellung der maximalen systolischen Frequenz Fmax der Gruppe B	27
Abb.13	Computertomographie nach einer Woche	28
Abb.14A	Histologisches Schnittbild des thrombotisch verschlossenen PLLA-Stents	29
Abb.14B	Histologisches Schnittbild des offenen Metall-Stents	29
Abb.15	Inflammatory- Score als Maß für die Entzündungsreaktion um die Stentstreben	30
Abb.16	Injury-Score als Maß für die Verletzung der Gefäßwand für Gruppe B	30
Abb.17	Verlauf von Fmax für die Gruppe C	33
Abb.18	Computertomographie nach einer Woche	34
Abb.19A	Histologischer Schnitt des PLLA-Stents proximal der Anastomose	35
Abb.19B	Histologischer Schnitt des PLLA-Stents distal der Anastomose mit Anschnitt der Prothese und des nativen Gefäßes	35
Abb.20A	Histologischer Schnitt eines offenen PLLA-Stents unter ASS/ CLOP (Gruppe C) mit einer dünnen Schicht über den Stent-Streben, bestehend	35

aus Thrombozyten und Fibrin; HE-Färbung, Vergrößerung 100 x

Abb.20B	Histologischer Schnitt eines offenen PLLA-Stents unter ASS/ CLOP (Gruppe C) mit einer dünnen Schicht über den Stent-Streben bestehend aus Thrombozyten und Fibrin, HE-Färbung, Vergrößerung 12.5 x	36
Abb.21	Graphische Darstellung des Inflammatory- Score für die Gruppe C	36
Abb.22	Neointima-Dicke der Gruppe C	37
Abb.23	Fmax im Bereich der A. femoralis superficialis der Gruppe D	39
Abb.24	Computertomographie aortoiliakal in Gruppe D	40
Abb.25	Thrombotischer Verschluss des PLLA/PCL-Stents. Auf der Gegenseite: Offenheit des ungestenteten Prothesenschenkels	41
Abb.26	Explantierte Iliakalanastomose mit deutlicher Lumeneinengung durch Inversionsnaht	41
Abb.27A	Thrombotischer Verschluss des PLLA/ PCL- Stents mit deutlichem Recoil	42
Abb.27B	Stenose an der ungestenteten Seite	42
Abb.28	Inflammatory- Score für die Stents in der A. carotis communis (Gruppe E)	43
Abb.29	Injury- Score für Gruppe E	44
Abb.30	Neointima- Dicke der Gruppe E	45

TABELLENVERZEICHNIS

Tab. 1	Iliakales Schweinemodell: Versuchsgruppen A bis D	21
Tab. 2	Schweinemodell PLLA-Stent in der A. carotis communis: Versuchsgruppe E	22
Tab. 3	Intraoperative Basisparameter der Gruppe A	24
Tab. 4	Intraoperative Basisparameter der Versuchstiere in Gruppe B	26
Tab. 5	Residuallumina der Stents in Gruppe B	31
Tab. 6	Intraoperative Basisparameter der Gruppe C	32
Tab. 7	Residuallumina der gefäße in Gruppe C	37
Tab. 8	Intraoperative Basisparameter für Gruppe D	38
Tab. 9	Residuallumina (RL; mm) und neointimale Dicke (ND; mm) nach 1 Woche (Gruppe E) für die A. carotis communis	44

DANKSAGUNG

Hiermit möchte ich allen den Menschen danken, ohne die diese Arbeit nie zustande gekommen wäre.

Allen voran den größten Dank meinem Betreuer PD Dr. med. habil. Carsten Büniger der dieses Projekt ins Leben gerufen hat und mir die Möglichkeit geschaffen hat im Rahmen dieser Doktorarbeit wissenschaftlich zu arbeiten. Auch hat er mich in der langen Entstehungszeit dieser Arbeit immer wieder motiviert und stand mir jederzeit mit gutem Rat und aller Unterstützung zur Seite. Auch seine Geduld und überaus freundliche Umgangsweise mit allen Mitarbeitern und Doktoranden sei zu erwähnen.

Auch möchte ich mich bei Frau Prof. Dr. Brigitte Vollmar, Leiterin der Abteilung für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock, für die uneingeschränkte Unterstützung zur Durchführung der Experimente und der Bereitstellung der Mikroskope zur Auswertung der histologischen Schnitte bedanken.

Ich danke Herrn Dr. Hans Jürgen Kreutzer, ärztlicher Mitarbeiter am Institut für Pathologie der Universität Rostock, für die Hilfestellung bei der histologischen Auswertung.

Für die Durchführung der Computertomografie möchte ich mich bedanken bei Herrn Prof. Dr. med. Karlheinz Hauenstein, Direktor des Instituts für Diagnostische und Interventionelle Radiologie der Universität Rostock, seinen ärztlichen Mitarbeitern Dr. Björn Lorenzen und Dr. Udo Raab sowie den medizinisch technischen Assistenten.

Ich danke Prof. Dr.-Ing. Klaus-Peter Schmitz sowie seinen Mitarbeitern, Frau Dr. rer. nat. Katrin Sternberg und Dr.-Ing. Niels Grabow, für Entwicklung und die in-vitro Testung der biogradierbaren Stents.

Mein Dank gilt Frau Maren Nerowski und Dorothea Frenz, medizinisch-technisches Personal der Abteilung für Experimentelle Chirurgie der Universität Rostock, und Frau Kathrin Sievert und Karin Gerber sowie Herrn Reinhard Schwärmer, Mitarbeiter der zentralen Tierhaltung der Universität Rostock für ihre Mitarbeit bei der praktischen Durchführung der Versuche sowie der anschließenden Aufarbeitung der Gewebeproben.

Frau Anne-Marie Beck, Leibniz-Forschungslaboratorien der Klinik für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie der Medizinischen Hochschule Hannover, verdanke ich die Einbettung und das Schneiden der stenttragenden Gewebeproben.

Für die exzellenten grafischen Darstellungen des Anastomosen-Modells danke ich Herrn Thomas Wodetzki.

Am Ende möchte ich meinen Eltern, Marianne Ketner und Frank Scherf, danken, dass sie mich immer in allen meinen Plänen unterstützt haben und mir zu jeder Zeit mit Rat und Tat zur Seite standen.