

**Die Auswirkungen von ¹⁸⁸Rhenium-Stents auf Neointimadicke, Stenosegrad und
histologische Parameter in der Gefäßwand im Schafmodell**

Von der Medizinischen Fakultät
der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen
zur Erlangung des akademischen Grades
eines Doktors der Medizin
genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Klaus Ulrich Geiter
aus
Karlsruhe

Berichter: Frau Professorin
Dr. med. Benita Hermanns-Sachweh

Herr Universitätsprofessor
Dr. med. Jaime Vázquez-Jiménez

Tag der mündlichen Prüfung: 9. Februar 2009

Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Hochschulbibliothek online verfügbar

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung

1.1	Histologischer Aufbau der arteriellen Gefäßwand	4
1.2	Arteriosklerose	7
1.3	Restenose	8
1.3.1	Restenose durch Intimahyperplasie, „elastic recoil“ und „remodeling“	8
1.3.2	Ätiologie der Neointimahyperplasie	10
1.4	Stents	11
1.4.1	Komplikationen der Stentimplantation	13
1.5	Thrombose	14
1.5.1	Thrombusentstehung im Stent	15
1.5.2	Thrombogenität von Stents	16
1.6	Radioaktivität	18
1.7	Rhenium	20
1.8	Strahlenbiologische Wirkungskette	20
1.9	Ansätze der Prävention von Restenose	21
1.10	Radiolabeling	24
1.11	Problematik radioaktiver Stents	25
1.12	Klinische Studien zur Restenosevermeidung	26

2. Material und Methodik

2.1	Versuchstiere	29
2.2	Stentmaterial und Radiolabeling	29
2.3	Anästhesie	32
2.4	Stentimplantation	32
2.5	Probeentnahme und histologische Aufarbeitung	33
2.6	Histologie	36
2.7	Statistische und graphische Auswertung	38

3. Intention der Arbeit

4. Ergebnisse	40
4.1 Neointimabildung / Neointimadicke	40
4.2 Stenosegrad	43
4.3 (Neo-)Endothelialisierung	45
4.4 Ödembildung	47
4.5 Muskulatur	49
4.6 Apoptose	53
4.7 Thrombosierung	56
4.8 Entzündung	58
5. Diskussion	60
5.1 Radioaktive Stents im Tierversuch	60
5.2 Glatte Muskelzellen	62
5.3 Einfluß der Gefäßwandschädigung und der Entzündung auf die Restenose	64
5.4 Intimadicke und Stenosegrad	65
5.5 Endothelialisierung	68
5.6 Thrombose	69
5.7 Apoptose	71
6. Zusammenfassung	73
7. Literaturverzeichnis	75
8. Anhang	86
9. Danksagung	87
10. Erklärung zur Datenaufbewahrung	88
11. Lebenslauf	89

1. Einleitung

Das Herz-Kreislauf-System gewährleistet die Durchblutung und Versorgung aller Organe mit Sauerstoff und essentiellen Metaboliten. Voraussetzung hierfür ist die freie Durchgängigkeit der koronaren, cerebralen und peripheren Arterien. Stenosen, vor allem aufgrund arteriosklerotischer Gefäßwandveränderungen, führen zu einer Einschränkung der Durchblutung und in der Folge zu Ischämien.

Erkrankungen des kardiovaskulären Systems stellen ein großes klinisches und ökonomisches Problem dar und liegen in der Todesursachenstatistik der westlichen Industrienationen auf Platz eins.

Als chirurgische Therapiemöglichkeit können arterielle Gefäßstenosen durch die Anlagen von arteriellen, venösen oder synthetischen Bypässen überbrückt werden.

Perkutan können Katheter in das Gefäß eingeführt und die Durchgängigkeit der Gefäße z.B. mit Hilfe von Ballonsystemen, Stents oder Lasern wiederhergestellt werden. Zu den Vorteilen dieser Verfahren gehört, dass die Patienten keine Vollnarkose benötigen und im Falle von Koronarstenosen weder der Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine noch eine Eröffnung des Brustkorbs erforderlich ist.

Die Rezidivstenose erweist sich jedoch bisher als Hauptproblem bei der perkutanen Therapie und limitiert den Langzeiterfolg dieser minimal-invasiven Therapiemöglichkeit.

1.1 Histologischer Aufbau der arteriellen Gefäßwand

Arterien sind Blutgefäße des Hochdrucksystems und sind durch einen dreischichtigen Gefäßaufbau gekennzeichnet: Von innen nach außen wird sie gebildet durch die Intima (Tunica intima), die Media (Tunica media) und Adventitia (Tunica externa) (Abb. 1 und 2).

Die Intima besteht aus dem Endothel und einer subendothelialen Bindegewebslamelle (=Lamina propria intima). Das Endothel wird aus einem einschichtigen, flächenhaften Verband meist abgeflachter, rautenförmiger Zellen gebildet, welche durch Zellkontakte miteinander verbunden sind. Unter der Endothelzellschicht befindet sich die Lamina propria intima. Sie besteht aus Bindegewebe und enthält die Membrana elastica interna, eine 1-2µm dicke gefensterte Membran aus elastischen Fasern, die die Intima von der Media trennt und den Stofftransport zwischen beiden Schichten ermöglicht. Die Media enthält glatte Muskelzellen (Myozyten), die zirkulär spiralförmig angeordnet sind und zwischen denen sich in unterschiedlicher Menge Kollagen, Elastin und Proteoglykane befinden. Abhängig von der Zusammensetzung der Media, unterscheidet man Arterien vom elastischen und vom

muskulären Typ.

Die Arterien vom elastischen Typ sind große, herznahe Gefäße, die sich durch einen großen Anteil an elastischem Material auszeichnen und sich bis einschließlich der A. iliaca communis erstrecken. Die relativ dünne Schicht von Muskelzellen wird von zahlreichen elastischen Fasern umgeben, so dass die Gefäße schon makroskopisch ein gelbliches Aussehen aufweisen. Das in der Systole stoßweise aus dem Herzen in die Aorta ausgeworfene Blut wird mit Hilfe der Arterien vom elastischen Typ von einem rhythmischen Zustrom in einen gleichmäßigen Abstrom verwandelt (55). Aufgrund dieser Eigenschaft haben die Arterien vom elastischen Typ Windkesselfunktion.

Bei den herzfernen Arterien hingegen überwiegt der muskuläre Anteil, weswegen man von Arterien des muskulären Typs spricht und bei denen die Dreischichtung besonders gut zu erkennen ist. Sie fungieren als „Verteiler und Stellröhren“, d.h. als Regulatoren der Durchflussmenge des Blutes. Die Muskelzellen liegen hier bevorzugt in Querrichtung zur Gefäßachse und können je nachdem, ob sie kontrahiert oder gedehnt vorliegen, den Gefäßdurchmesser variieren. Die Gefäßabschnitte, die anatomisch zwischen den Arterien des elastischen und muskulären Typs liegen und nicht genau zugeordnet werden können, werden auch als Gefäße vom „hybriden Typ“ bezeichnet (31).

Die Media wird durch eine dünne Membran aus elastischen Fasern (Membrana elastica externa) von der Adventitia abgegrenzt.

Die Adventitia besteht aus lockerem Bindegewebe, welches das Gefäß in der Umgebung bzw. dem Organgewebe verankert und als Verbindungs- und Verschiebeschicht dient. Die Adventitia besitzt Ernährungsgefäße (Vasa vasorum = Gefäße der Gefäße), die bei dickeren Gefäßwänden auch in der Media vorkommen. Die Intima und die lumennahen Teile der Media hingegen sind gefäßlos; sie erhalten ihre Nährstoffe durch Diffusion aus dem Blut. Den Myozyten in der Media kommen in erster Linie mechanische (Halte- und Kontraktions-) Aufgaben zu. Die kontraktile Muskelzelle (= k-Myozyt) kann zu einer metabolischen Muskelzelle (= m-Myozyt) umgewandelt werden, die gekennzeichnet ist durch eine vermehrte Synthese- und Abbauleistung mit Hilfe spezieller Organellen (vor allem des rauen endoplasmatischen Retikulums, der Lysosomen und des Golgi-Apparates) und durch die Zunahme der energieliefernden Mitochondrien. Eine Zunahme der m-Myozyten wird bei Erkrankungen und Umbauvorgängen der Gefäßwand festgestellt. In diesem Fall kommen die m-Myozyten nicht nur im Bereich der Media vor, sondern können auch in der Intima

gefunden werden und führen dort zusammen mit anderen Zellen, die wahrscheinlich hämatogenen Ursprungs sind, durch gesteigerte Synthese- und Abbauleistungen zu einer charakteristischen Veränderung der Interzellulärsubstanz mit einer Bindegewebszunahme (31).

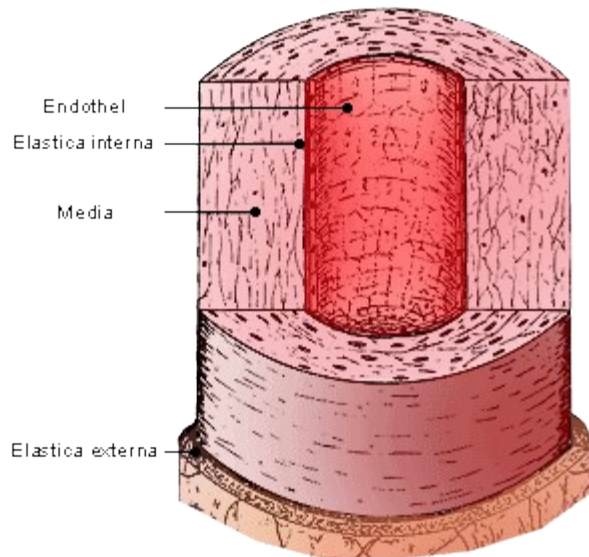


Abb.1. Gefäßlängsschnitt einer Arterie

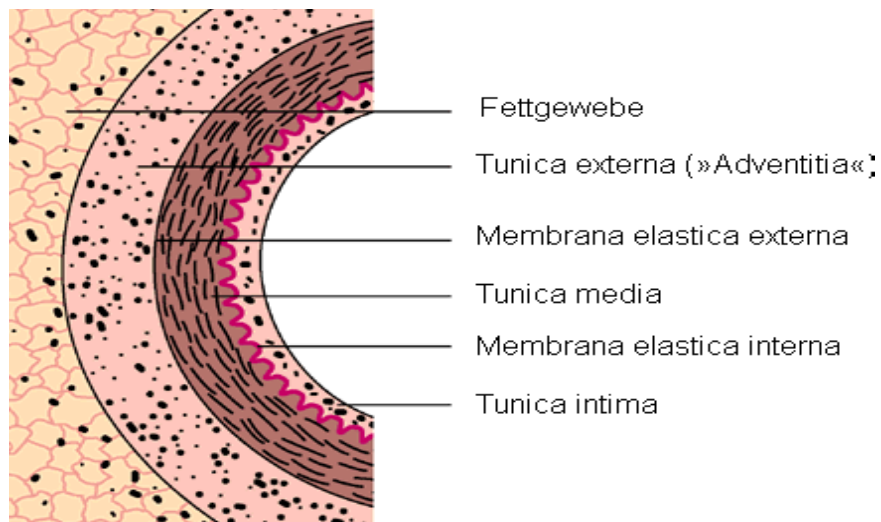


Abb. 2. Gefäßquerschnitt einer Arterie

1.2 Arteriosklerose

Der Begriff „Arteriosklerose“ wurde bereits im Jahre 1829 von dem Straßburger Pathologen Lobstein geprägt und beschreibt eine Erkrankung der größeren und mittleren muskulären und elastischen Arterien. Die Arteriosklerose ist die häufigste Ursache für Herz-Kreislaufkrankungen und nimmt in der Todesursachenstatistik des Statistischen Bundesamtes in Deutschland mit knapp 50% Platz eins ein (Pressemitteilung des Statistischen Bundesamtes vom 2. November 2005).

Laut der WHO handelt es sich bei der Arteriosklerose um „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“ .

Diese Veränderungen resultieren in einem strukturellen Umbau des Gefäßes (Plaquerbildung), der zu einer Verdickung, Verhärtung und einem Elastizitätsverlust der Gefäßwand führt.

Der Vorgang der Arteriosklerose entwickelt sich über Jahre und macht sich erst in einem fortgeschrittenen Stadium durch Durchblutungsstörungen bemerkbar.

Die langsam progrediente Größenzunahme der Plaque führt zu einer Stenosierung des Gefäßlumens, die zu einer Organ- bzw. Gewebshypoxie führt. Die häufigsten Herz- und Gefäßerkrankungen sind die koronare Herzerkrankung (KHK), zerebro-vaskuläre Erkrankungen und die peripher arterielle Verschlusskrankheit (pAVK). Klinisch macht sich diese Hypoxie als Angina pectoris-Beschwerden, transitorisch ischämische Attacken (TIA) oder Muskelschmerzen (Claudicatio intermittens) bemerkbar.

Dramatisch entwickelt sich die Klinik, wenn es im Rahmen der arteriosklerotischen Veränderungen zu einer Plaqueruptur oder einer kritischen Zunahme der Plaquegröße (subtotale Stenose oder thrombotischer Verschuß) kommt. Bei der Plaqueruptur entwickelt sich durch die Anlagerung von Thrombozyten eine plötzliche, mehr oder minder vollständigen Verlegung des Gefäßlumens mit der Folge einer Ischämie in den nachgeschalteten Gewebsabschnitten. Als Folge kommt es zu Organinfarkten (z.B. Myokardinfarkt, Schlaganfall) oder Nekrosen von Extremitäten.

Bei der Entstehung der Arteriosklerose werden zwei Gruppen von Risikofaktoren unterschieden. Zum einen die unbeeinflussbaren Risikofaktoren wie z.B. die familiäre Disposition, das Lebensalter oder das männliche Geschlecht. Andererseits sind beeinflussbare Risikofaktoren (z.B. Hypercholesterinämie, Nikotin, Bluthochdruck, Diabetes mellitus)

bekannt, die bei der Arterioskleroseprophylaxe eine wichtige Rolle spielen.

Zur Rekanalisation der stenotischen Gefäßabschnitte stehen verschiedene Therapieverfahren zur Verfügung. Zu den minimal invasiven Methoden gehören verschiedene angioplastische Verfahren. Dabei wird mit Hilfe eines perkutan eingebrachten Katheters das Gefäß entweder gedehnt (Ballondilatation, Stentimplantation) oder das Material, welches zur Stenosierung des Gefäßes führt, weggelasert (Laserangioplastie), weggeschnitten (Atherektomie) bzw. „weggefräßt“ (Rotablation).

Gefäßchirurgisch kann der arteriosklerotische Plaque mitsamt der Intima ausgeschält werden (Thrombendarteriektomie) oder aber der stenotische Gefäßabschnitt wird mit einer Umgehungsplastik (Bypass) überbrückt. Dieser künstliche Kollateralkreislauf kann entweder durch autologe (körpereigene) Gefäße oder durch alloplastisches Material hergestellt werden.

1.3 Restenose

Im Jahre 1964 publizierte Dotter erste Ergebnisse über den therapeutischen Nutzen von Ballondilatationen am peripheren Gefäßsystem arteriosklerotischer Läsionen. Grüntzig zeigte 1977, dass dieses Verfahren auch zur Wiedereröffnung verengter Koronararterien eingesetzt werden kann (20, 39).

Seit dieser Zeit sind die Percutane-Transluminale-Angioplastie (PTA) und die Percutane-Transluminale-Coronar-Angioplastie (PTCA) zu weit verbreiteten therapeutischen Verfahren in der Behandlung von obstruktiven Gefäßkrankheiten geworden.

Ein großes Problem dieser minimal invasiven Interventionen stellt aber die Wiederverengung des behandelten Gefäßabschnittes dar, was als Restenose oder im Falle einer Stentimplantation als In-Stent-Restenose bezeichnet wird. Die Restenose ist definiert als ein erneuter Verlust von mehr als 50% des erzielten Lumengewinns nach PT(C)A. Trotz der guten Primärergebnisse tritt die Restenose bei 20-50% der behandelten Patienten auf.

1.3.1 Restenose durch Intimahyperplasie, „elastic recoil“ und „remodeling“

Im Rahmen von therapeutischen Manipulationen an der Gefäßwand, wie Ballonangioplastie bzw. Stentimplantation kommt es zu Einrissen und Dehnungen der Gefäßwand. Als Reaktion auf diese Schäden setzen Heilungsprozesse, eine Art Narbenbildung, in der Gefäßwand ein. Es findet eine Proliferation von glatten Muskelzellen bzw. Myofibroblasten statt. Die Migration dieser Zellen in die Intima und die Produktion von extrazellulärer Matrix

manifestiert sich als Intimahyperplasie und führt zu einer Einengung des Lumens (56, 87). Die stenosierende Wirkung der Intimahyperplasie kann durch eine Gefäßerweiterung (kompensatorisches oder positives Remodeling) ausgeglichen werden. Das bietet dem Organismus im begrenzten Rahmen die Möglichkeit mit restenotischem Gewebe oder arteriosklerotischen Plaques fertig zu werden (37). Meist kommt es aber nach einer Angioplastie zu einem sog. negativen oder pathologischen Remodeling, bei dem eher ein Schrumpfen des Gefäßes zu beobachten ist (70). Dies geschieht wahrscheinlich aufgrund einer Proliferation von Myofibroblasten in der Adventitia und einer Fibrosierung im Bereich des dilatierten Gefäßabschnittes (88). Das Lumen des Gefäßes nimmt weiter ab, wenn neben der Intimahyperplasie zusätzlich ein pathologisches Remodeling besteht.

Ein weiterer Prozeß, der zu einer Verminderung des Gefäßlumens und des Gefäßumfangs führt, ist das „elastic recoil“. Darunter versteht man eine Verminderung des Gefäßlumens durch die elastischen Rückstellkräfte der Gefäßwand, die bereits wenige Minuten nach der Angioplastie einsetzt (10).

Andersen et al. und Waksman et al. machen vor allem das elastic recoil und das pathologische remodeling für die Lumenreduktion verantwortlich und nicht die Intimahyperplasie (4, 102).

Recoil bzw. pathologisches Remodeling und Intimahyperplasie sind zwar voneinander unabhängige Prozesse, ihre Auswirkungen auf das Gefäßlumen summieren sich aber. Durch den Einsatz von Stents kann das pathologische Remodeling und auch die elastischen Rückstellkräfte („elastic recoil“) in der Frühphase nach der Ballondilatation deutlich verringert werden und die Rate an Restenosen nimmt im Vergleich zur alleinigen Ballondilatation ab (90). Hehrlein et al. konnten am Kanninchenmodell zeigen, dass es nach Ballondilatation zu einer Reduktion des Gefäßumfangs von 20-30% kam. Nach Implantation eines Palmaz-Schatz-Stents betrug die Schrumpfung mit einer Reduktion des Gefäßumfangs lediglich 2-5% (42). Auch ein forciertes Aufdehnen des Gefäßes brachte kein besseres Ergebnis, sondern führte sogar zu einem vermehrten elastic recoil nach Ballonangioplastie im Vergleich zur Stentimplantation und zeigte keinen positiven Effekt auf die Restenoserate (41). Die Restenosen nach Ballonangioplastie werden sowohl durch pathologisches Remodeling und elastic recoil als auch durch die Intimahyperplasie verursacht. Bei der Stentimplantation kommt es fast ausschließlich zu einer Intimahyperplasie, die aber relativ stark ausfällt, da mit dem Stent ein Fremdkörper in den Organismus eingebracht wird.

Deshalb ist es das Ziel derzeitiger Bemühungen die Intimahyperplasie nach Stentimplantation zu verringern.

1.3.2 Ätiologie der Neointimahyperplasie

Durch die Ballonangioplastie bzw. Stentimplantation werden Schäden an der Gefäßwand verursacht. Die Restenose als Folge der Interventions-assoziierten Traumatisierung ist als eine Art segmental begrenzte Gewebeantwort auf die Gefäßschädigung zu sehen. Bei dem Mechanismus der Restenose handelt es sich um einen sehr komplexen Vorgang bei dem verschiedene Zelltypen, Wachstumsfaktoren, *second messengers* und Proto-Onkogene eine Rolle spielen.

Nach Bauriedel (8) durchläuft die Wundheilungsreaktion nach Angioplastie drei Phasen:

- 1)Entzündung
- 2)Granulationsgewebsbildung
- 3)Matrixbildung

In der ersten Phase kommt es durch die Angioplastie (a) zur Zerstörung endothelialer und subendothelialer Strukturen, (b) Traumatisierung der Media mit Ruptur der Lamina elastica interna (84), (c) Exposition thrombogener Faktoren wie Kollagen oder Gewebsfaktoren, (d) Thrombozytenaggregation, (e) Dehnung der glatten Muskelzellen und in der Folge zur Expression von Proto-Onkogenen (c-fos,c-myc,c-myb) und schließlich zur (f) Ausschüttung von Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten oder Makrophagen sowie aus Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Fibroblasten (8).

Die Bildung eines Granulationsgewebes setzt drei Tage nach der Angioplastie ein und überschneidet sich mit der Phase der Entzündung. Vermittelt durch Wachstumsfaktoren kommt es zur Proliferation vor allem von glatten Muskelzellen. Im Rahmen von Untersuchungen an humanen Gewebeschnitten wurde festgestellt, dass die Zellzahl in restenotischem Gewebe im Vergleich zu Primärstenosegewebe um den Faktor 2-3 erhöht ist (7). Wichtige Wachstumsfaktoren, die zur Proliferation der Zellen führen sind der plättchenabhängige Wachstumsfaktor *platelet-derived growth factor* (PDGF), der insulinähnliche Wachstumsfaktor *insulin-like growth factor* (ILGF), der Basisfibroblasten-Wachstumsfaktor *basic fibroblast growth factor* (bFGF), der transformierende Wachstumsfaktor β *transforming growth factor* β (TGF β), Angiotensin 2 sowie weitere „Botenstoffe“ (32, 76).

Es konnte gezeigt werden, dass es nach Ballonangioplastie oder Stentimplantation zu einer gesteigerten Expression von PDGF-Rezeptoren auf der Oberfläche von glatten Muskelzellen kommt. Der Einsatz von PDGF-Antikörpern, zur Abdeckung dieser Rezeptoren, führte zu einer deutlichen Reduktion der Intimadicke, weshalb in PDGF einer der Hauptfaktoren der

Intimaproliferation gesehen wird (79).

Weiterhin findet eine Migration der glatten Muskelzellen in die Intima statt, die über PDGF, Integrine, Fibrin und andere chemotaktisch wirkende Stoffe vermittelt wird (76, 32). Die Migration wird durch den Abbau der umgebenden Matrix durch Plasminogen-Aktivatoren (t-PA, urokinase-PA) sowie durch Kollagenasen erleichtert (76, 17). Durch Untersuchungen an Autopsiegewebe nach Angioplastie konnte gezeigt werden, dass glatte Muskelzellen der Media über Lücken in der Lamina elastica interna in die Intima einwandern und dort eine Konversion vom kontraktilen (k-Myozyten) zum organellreichen Phänotyp (m-Myozyten) stattfindet (74). Die Ultrastruktur der glatten Muskelzellen unterliegt einer Umdifferenzierung mit einer Reduktion der kontraktilen Aktin-/Myosinfilamente und Zunahme des endoplasmatischen Retikulums sowie des Golgiapparates (31). Diese phänotypische Umdifferenzierung der glatten Muskelzellen ist Voraussetzung für deren mitogene und migratorische Stimulierbarkeit (8).

Nach 1-2 Wochen kommt es überlappend mit der Phase der Granulationsgewebsbildung zur Matrixbildung. Glatte Muskelzellen produzieren und sezernieren, vermutlich durch TGF- β vermittelt, Matrixproteine wie Fibronectin, Kollagene und Proteoglykane, deren Akkumulierung zu einer deutlichen Zunahme des neointimalen Plaquesvolumens führt (8, 32). Die Neointimabildung ist als eine Art Wundheilung in Folge der Angioplastie zu sehen. Angiographische Verlaufskontrollen der Restenoseentstehung zeigten ein Maximum der Inzidenz 2-3 Monate nach der Intervention. 4 bis 6 Monate nach Angioplastie war in der Regel kein weiteres Fortschreiten der Restenoseentwicklung zu beobachten (72, 89).

1.4 Stents

Ein Stent ist eine Endoprothese, die der Offenhaltung von röhrenförmigen Strukturen dient. Stents können in periphere und koronare Gefäße, in Exkretiongänge (z.B. Gallengänge, Harnwege) oder in Hohlorgane wie zum Beispiel Ösophagus oder Trachea eingesetzt werden. Mit der Implantation konventioneller Stents im Rahmen der Angioplastie verbindet sich die Vorstellung, zwei Mechanismen der Restenoseentstehung, das „elastic recoil“ und das „remodeling“, zu hemmen. Hierzu werden die Stents mit Hilfe eines Katheters perkutan in das entsprechende Gefäß eingebracht und dienen als mechanische Stütze der Gefäßwand.

Die eigentliche Idee der Stentimplantation in arterielle Gefäße geht auf den Radiologen Charles Dotter zurück. Dotter stellte in einer 1964 veröffentlichten Arbeit das Konzept vor,

verengte Gefäße durch das Einbringen von Röhren zu dehnen und so den Blutfluß zu verbessern (20). Fünf Jahre später folgten die ersten Publikationen über seine ersten experimentellen Ergebnisse. Die verwendete Endoprothese war eine röhrenförmige Edelstahlspule, die mit Hilfe eines Führungsdrahtes in die Poplitealarterie eines Hundes eingeführt wurde. Die endgültige Position wurde durch koaxiales vorschieben des Katheters erreicht. Eine intravaskuläre Aufdehnung des Stents war nicht möglich, so dass die Größe des Zugangsgefäßes den Stentdurchmesser limitierte. Zudem kam es durch die verwendeten Prothesen häufig zu Thrombosen sowie durch Katheterkomplikationen zu traumatischen, hämorrhagischen und embolischen Gefäßereignissen, weshalb die Idee der Stentimplantation zunächst nicht weiterverfolgt wurde.

In den achtziger Jahren wurde die Idee erneut aufgegriffen und verschiedene Stentmodelle entwickelt. Unabhängig voneinander erschienen 1983 Publikationen von Dotter et al. (21) und Cragg et al. (18) über einen Nitinol-Stent. Beide Forschungsgruppen machten sich die Eigenschaften von Nitinol, einer Nickel-Titan-Legierung zu nutze, die bei hoher Temperaturexposition thermoplastische Eigenschaften besitzt. Die Stents aus Nitinol erhalten ihre Form im Gefäß unter Ausnutzung ihres „thermischen Gedächtnisses“ (18, 21).

1984 beschrieben Maass et al. (67) die Anwendung eines selbstexpandierenden Stents, der seine Form durch die Federkraft der verwendeten Drähte erreicht. Eine schützende äußere Plastikhülle hält den kollabierten Stent auf dem vormontierten System. Nach Positionierung im Gefäß, wird die Plastikhülle zurückgezogen und der Stent entfaltet sich bis zu dem Punkt, an dem der Druck des umliegenden Gewebes größer ist als das Ausdehnungsbestreben des Stents.

Palmaz und Schatz entwickelten Mitte der achtziger Jahre einen ballonexpandierbaren Stent, der heute das meisteingesetzte Stentmodell darstellt (75, 81). Der Stent besteht aus einem speziell gefalteten und tubulär angeordneten Draht. Durch den Ballon wird der Innendurchmesser des Gitters um ein vielfaches vergrößert und die Gefäßstütze der Gefäßwand anmodelliert. (Abb. 3)



Abb. 3. Schematische Darstellung der Stentimplantation

1.4.1 Komplikationen der Stentimplantation

Der hohe technische Erfolg der Stentimplantation kann durch verschiedene Komplikationen vermindert werden. Zu den häufigsten Komplikationen gehören die akute und vor allem die subakute Stentthrombose. Das Risiko für eine Stentthrombose wird von verschiedenen Faktoren beeinflusst. Es steigt mit der Anzahl und der Länge der implantierten Stents, sowie der Abnahme des Gefäßdurchmessers. Ebenso spielen die Stentoberfläche und das Stentdesign eine große Rolle für die Thrombogenität und damit für die Entstehung einer Stentthrombose. Durch frühe Endothelialisierung, Verwenden von glatten Oberflächen und Beschichtung der Gefäßprothesen mit inerten Polymeren wurde versucht, die Anlagerung und Aktivierung von Thrombozyten an der Stentoberfläche zu verringern. Da das Stentdesign die Blutflusscharakteristik beeinflusst, sollte der Stent möglichst so konstruiert sein, dass der Gefäßabschnitt frei von Turbulenzen und Arealen mit verlangsamtem Fluss ist. Als Faustregel gilt:

Je höher das „Covering“ (= prozentualer Anteil der von Stentmaterial bedeckten Arterienwandfläche eines Stents) und je dicker die Streben, desto höher das Thromboserisiko. Die früher durchgeführte aggressive Antikoagulation nach Stentimplantation konnte zwar die Anzahl der subakuten Thrombosen vermindern, aber nur auf Kosten häufiger Blutungskomplikationen. Die Entwicklung führte über die Medikation mit Marcumar, hochdosiertem

Heparin, Acetylsalicylsäure und weiteren Substanzen zu der heute gängigen Kombination von Acetylsalicylsäure und Ticlopidin (Tyklid®) bzw. Clopidogrel (Plavix®, Iscover®). Wegen des günstigeren Nebenwirkungsprofils bezüglich Leukopenie und gastrointestinaler Beschwerden wird heute fast ausschließlich Clopidogrel eingesetzt. Nach Stentimplantation in eine Koronararterie wird, je nachdem ob ein unbeschichteter oder ein beschichteter Stent verwendet wird, eine 2-9 monatige Kombinationstherapie mit Acetylsalicylsäure (Aspirin®) und Clopidogrel sowie eine lebenslange Einnahme von Acetylsalicylsäure empfohlen. Nach Stentimplantation in periphere Arterien reicht eine lebenslange antithrombotische Prophylaxe mit Acetylsalicylsäure aus.

Weitere Komplikationen werden verursacht durch Stentdislokation / Stentembolisation und Stentdestruktion. Sie werden verursacht durch Verschleppung und falsches Abwerfen der Gefäßprothesen im Rahmen der Implantation bzw. durch Zerstörung der Stentstruktur.

Bei Ballon-Oversizing (Verhältnis Ballon zu Gefäßdurchmesser $> 1,2:1$), sowie bei Verwendung zu hoher Drücke, wie sie z.B. bei kalzifizierten Stenosen leicht angewendet werden, kann es zu einer Perforation der behandelten Gefäßabschnitte kommen. Während Stentthrombosen u.a. durch die Hochdruckimplantation (Druck $>12\text{bar}$) verringert werden kann, steigt die Gefahr einer Zunahme von Perforationen auf 1-2,5% in Koronarien (78).

Vor allem bei Patienten, die sich zuvor einer Laser- oder Atherektomiebehandlung unterzogen, werden Perforationen häufiger beobachtet. Desweiteren kann es im Bereich des Gefäßzuganges zu Infektionen, Blutungen sowie Ausbildung von Aneurysmata und AV-Fisteln kommen.

Mit Hilfe der Stentimplantation kann die Restenoserate zwar gesenkt, aber nicht eliminiert werden. In 20 bis 30% der Stentimplantationen ist mit einer Restenose zu rechnen. Dies betrifft vor allem kleine Gefäße sowie Gefäße mit längerstreckigen Läsionen. Die Möglichkeiten der Therapie der In-Stent-Restenose gehen von erneuter Ballondilatation, Laserangioplastie, Atherektomie und Rotablationsverfahren bis zur Stent-in-Stent-Implantation.

1.5 Thrombose

Bei der Thrombose handelt es sich um eine intravasale, intravitale Blutgerinnung in einem Gefäß oder in einer Herzhöhle. Sie kann sowohl in arteriellen als auch in venösen Gefäßen auftreten. Die Pathogenese dieser abnormen Blutgerinnung wird durch die Virchow-Trias

zusammengefasst:

- 1) Gefäßwandveränderung
- 2) Störung der Hämodynamik
- 3) Veränderung der Blutzusammensetzung

Das ortsständig entstehende Blutgerinnsel wird als Thrombus bezeichnet und kann zu einem partiellen oder kompletten Verschluss des Gefäßlumens führen. Lösen sich Teile des Thrombus oder der Thrombus als Ganzes, kommt es zur Verschleppung des korpuskulären Materials und führt zu einem Verschluss nachgeschalteter Gefäße (Embolie).

1.5.1 Thrombusentstehung im Stent

Bei der Stentimplantation kommt es durch die Prothese selbst bzw. durch den Dilatationsballon zu Schäden in der Gefäßwand. Diese reichen von der Zerstörung der Intima bis hin zu tieferen Verletzungen mit Traumatisierung von Media und Adventitia.

Durch Verletzung der inneren Gefäßauskleidung, dem Endothel, kommt es zum Kontakt der Thrombozyten mit den freigelegten subendothelialen Strukturen (z.B. Kollagen, Thromboplastin). Die Adhäsion der Thrombozyten wird durch den von-Willebrand-Faktor (vWF), einem oligomeren Glykoprotein, vermittelt, der Brücken zwischen subendothelialen Strukturen und einem spezifischen Rezeptor der Thrombozytenmembran (Glykoprotein 1b) bildet. Die Adhäsion bewirkt eine Aktivierung der Thrombozyten und es kommt zur sog. viskösen Metamorphose, in deren Verlauf die Blutplättchen ihre diskoidale Form ablegen und eine kugelige Struktur mit Pseudopodien annehmen.

Es findet eine reversible Aggregation der Thrombozyten statt. Zu dem Formwandel kommt es durch die Aktivierung der Aktin- und Myosinfilamente des Zytoskeletts mittels Ca^{2+} -Ionen. Der Formwandel wird durch ADP und ATP aus verletzten Zellen ausgelöst, wobei die ADP-Wirkung durch Kollagen, Adrenalin und den plättchenaktivierenden Faktor verstärkt wird. Die stimulierten Blutplättchen sezernieren in einer Freisetzungsreaktion verschiedene Substanzen aus den thrombozytären Granula, die die Thrombozytenaggregation, die Vasokonstriktion und die plasmatische Gerinnung fördern: Faktor 5, ADP, Serotonin, Ca^{2+} , von-Willebrand-Faktor, Thromboxan A_2 , plättchenabhängiger Wachstumsfaktor PDGF (platelet-derived-growth factor) (17). Für Thromboxan A_2 , Serotonin und ADP besitzen die Thrombozyten selbst (Auto-) Rezeptoren, was zu einer weiteren Aggregation von Blutplättchen führt (= positive Rückkopplung). Zusätzlich zur Freisetzung der

Thrombozyteninhaltsstoffe, werden durch die Metamorphose der Thrombozytenmembran Phospholipide auf der Außenfläche freigelegt, an denen es zu einer Aktivierung von plasmatischen Gerinnungsfaktoren kommt. Zudem wird aus den Phospholipiden unter Mithilfe der Phospholipase A₂ Arachnidonsäure gebildet. Diese wird durch das Enzym Cyclooxygenase in Thromboxan A₂ und Prostaglandine umgewandelt. Dieser Vorgang kann durch Acetylsalicylsäure und andere nichtsteroidale Antiphlogistika gehemmt werden. Thromboxan A₂ bewirkt eine Gefäßkonstriktion und verstärkt zusammen mit Serotonin die irreversible Thrombozytenaggregation.

Zur irreversiblen Aggregation der Blutplättchen ist Fibrinogen erforderlich, welches mit spezifischen Rezeptoren (Glykoproteine GP IIb/IIIa) auf der Membranoberfläche aktivierter Plättchen reagiert und so die Thrombozyten untereinander verknüpft. Durch Glykoprotein IIb/IIIa-Antagonisten wie z.B. Abciximab kann eine Verhinderung der Bindung von Fibrinogen an den aktivierten GPIIb/IIIa-Rezeptor erreicht werden, was sich als temporärer Schutz bei der PTCA bzw. Stentimplantation zunutze gemacht wird.

Um das Stentlumen auch langfristig offenzuhalten sollte die Prothese der Gefäßwand komplett anliegen, damit keine Turbulenzen oder Areale mit reduzierter Fließgeschwindigkeit entstehen (68). Die herabgesetzte Fließgeschwindigkeit in Gefäßen mit Stents hebt die Orientierung der korpuskulären Blutbestandteile im zentralen Blutstrom auf; die Thrombozyten und Erythrozyten können leichter in Kontakt mit der Gefäßwand bzw. mit den Stentstreben treten, was, wie oben beschrieben, durch den Kontakt mit subendothelialen Strukturen zu einer Aktivierung der Thrombozyten führt.

1.5.2 Thrombogenität von Stents

Bei der Untersuchung von Metallen hinsichtlich ihrer Thrombogenität und Biokompatibilität zeigte sich, dass negativ geladene Metalloberflächen weniger thrombogen sind als positiv geladene. Der Grund hierfür ist die höhere Affinität der negativ geladenen Blutbestandteile wie z.B. Fibrinogen zu positiv geladenen Oberflächen. Da die meisten negativ geladenen Metalle aber nicht frei von Korrosion (= Abtrag durch chemische Reaktion mit dem Umgebungsmedium) sind, können ihre Metallionen in der Gewebsflüssigkeit in Lösung gehen. Durch die Abgabe von Elektronen an die Umgebung sind Metallatome ausschließlich positiv geladen. Die negativ geladenen Blutbestandteile treten in Kontakt mit dem Metall der Stentstreben, was zur Aktivierung des Gerinnungssystems führt (6). In Abhängigkeit ihrer Position in der elektrochemischen Spannungsreihe, zeigen alle elektrisch leitenden Werkstoffe eine mehr oder minder ausgeprägte Neigung zur Korrosion. Stabil sind besonders

Stoffe, die im positiven Bereich der elektrochemischen Spannungsreihe liegen, wie z.B. Kupfer oder Gold. Um Stoffe, die im negativen Bereich der elektrochemischen Spannungsreihe liegen, korrosionsbeständiger zu machen, können diese mit einer Deckschicht aus Keramik z.B. aus Aluminium oder Titan überzogen werden. Um die Thrombogenität der Gefäßprothesen gering zu halten, sollten möglichst nicht korrodierende Stoffe verwendet werden (68).

Neben den elektrochemischen Eigenschaften der Gefäßprothesen spielen auch die physikalischen Mechanismen bei der Thrombusentstehung eine wichtige Rolle. So ist die Beschaffenheit der Metalloberfläche an der Thrombogenität der Gefäßprothesen beteiligt. Rauigkeiten verursachen einerseits eine größere Kontaktfläche zwischen Fremdmaterial und Gewebe, andererseits sind sie prädisponierend für eine Adhärenz von Thrombozyten. Durch den Kontakt der Thrombozyten mit rauen Oberflächen kommt es im Rahmen der Aktivierung zur Freisetzung von Inhaltsstoffen (z.B. ADP, Serotonin, Ca^{2+}), was zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems und zur Entstehung eines Thrombus führt. Unregelmäßigkeiten auf der Stentoberflächen können durch Risse oder Ablagerungen verursacht sein. Um bei der Herstellung möglichst glatte Oberflächen zu erhalten, können die Gefäßprothesen poliert oder beschichtet werden. Es sollte aber generell darauf geachtet werden, dass bei Herstellung, Transport und Implantation die Stents nicht verunreinigt bzw. beschädigt werden.

Vor allem bei der Implantation werden an das Material hohe mechanische Anforderungen gestellt. Das Material sollte so stabil sein, dass es bei der Aufdehnung der Stents mit Hilfe eines Ballonkatheters nicht zu Einrissen auf der Oberfläche der Gefäßprothesen kommt (68, 54). Zudem sollte der Stent homogen expandieren, so dass es nicht zu einer Überdehnung einzelner Stentstreben kommt während andere Stentbereiche nur unzureichend entfaltet sind. Besonders an den Stentenden muß darauf geachtet werden, dass die Gefäßprothese der Gefäßwand eng anliegt, da sonst das Risiko der Thrombusentstehung durch Flußturbulenzen oder Todwasserzonen sehr hoch ist (68).

Trotz all dieser Anforderungen muß eine ausreichende Flexibilität gewährleistet sein, damit sich der Stent optimal dem Gefäßverlauf anpassen kann.

Da jedes Fremdmaterial potentiell thrombogen ist, sollte es nur in geringen Mengen eingebracht werden. Bei niedrigem Covering (= prozentualer Anteil der von Stentmaterial bedeckten Arterienwandfläche eines Stents), sollte größtmögliche Stabilität und Flexibilität angestrebt werden.

1.6 Radioaktivität

Radioaktive Atomkerne verfügen über potentielle Energie. Radioaktive Stoffe d.h. Stoffe mit instabilen Atomkernen (Radionuklide), senden bei ihrem Zerfall in einen stabilen Zustand hochenergetische Teilchen aus. Bei dieser sog. Teilchenstrahlung handelt es sich um ionisierende Strahlung, die so energiereich ist, dass beim Durchtritt durch Materie eine Ionisierung der Moleküle stattfindet.

Man unterscheidet nach der Eigenschaft der Teilchen α -, β - und γ -Strahlung. Bei α - und β -Strahlen handelt es sich um Korpuskularstrahlen, bestehend aus geladenen oder ungeladenen Materieteilchen. Da die α -Strahlung eine wesentlich höhere Ionisationsdichte und damit eine höhere relative biologische Wirksamkeit im Vergleich zur β - und γ -Strahlung aufweist, findet sie in der Therapie keine Verwendung und wird hier nicht weiter behandelt. γ -Strahlen sind wie Röntgenstrahlen Photonen. Es handelt sich bei γ -Strahlung ebenso wie bei Röntgenstrahlung um elektromagnetische Wellen, aber mit unterschiedlicher Wellenlänge bzw. Frequenz (22). β -Strahlen gehen intensive Wechselwirkungen mit ihrer Umgebung ein und besitzen deshalb im Gewebe nur eine Reichweite von Millimetern, so dass hier lokal hohe Strahlendosen auftreten. Aufgrund dieser Eigenschaft wird die β -Strahlung hauptsächlich in der Therapie eingesetzt (82). Der Nachteil reiner β -Strahler liegt darin, dass die Verteilung und Kinetik nach der Applikation nicht registriert werden kann (63). Photonen haben weder Masse noch elektrische Ladung, weshalb die Wechselwirkungen von γ -Strahlen mit der Umgebung viel seltener sind. In der Diagnostik werden, wenn möglich reine γ -Strahler verwendet, um bei minimaler Strahlenexposition eine maximale Impulsausbeute der gewebedurchdringenden γ -Strahlung von außen zu erhalten. Theoretisch wären auch die Eigenschaften der Röntgenstrahlung für die intravaskuläre Therapie geeignet. Da aber bisher kein ausreichend kleines Rohr, das Röntgenstrahlen erzeugen kann, entwickelt wurde, ist man auf radioaktive Stoffe als Strahlenquellen angewiesen. Diese sind auf Grund ihrer Größe geeignet, ein Blutgefäß von innen zu bestrahlen.

Je nach Herkunft unterscheidet man natürliche und künstliche Radionuklide. Die von instabilen Nukliden in der Natur freigesetzte Radioaktivität bezeichnet man als natürliche Radioaktivität. Bei fast allen in der Medizin verwendeten Radionukliden handelt es sich aber um künstliche. Die Herstellung künstlicher Radionuklide erfolgt durch Beschuss stabiler Atomkerne mit Neutronen oder geladenen Teilchen z.B. durch Teilchenbeschleuniger (Aktivierung) oder durch Kernspaltung. Der Zerfall der Atomkerne ist nicht beeinflussbar, d.h. eine radioaktive Quelle kann nicht ein- und ausgeschaltet werden. Daher ist beim

Umgang mit radioaktiven Stoffen Vorsicht geboten. Der Einsatz von ionisierender Strahlung in der Forschung ist durch die Strahlenschutzverordnung bzw. „strahlenden Medikamente“ durch das Medizinproduktegesetz geregelt. Ziel der Schutzmaßnahmen ist die Einhaltung bzw. Unterschreitung von Dosisgrenzwerten.

Die Intensität einer Strahlenquelle wird durch die Anzahl der Radionuklide bestimmt. Die Halbwertszeit (HWZ) gibt an, nach welcher Zeit eine vorgegebene Anzahl von Kernen eines Radionuklids durch die spontan ablaufenden radioaktiven Kernumwandlungen auf die Hälfte abgenommen hat (82). Die wichtigsten Größen der Strahlenphysik seien hier kurz erwähnt:

Elektronenvolt

Die Einheit der Energie in der Strahlenphysik ist das Elektronenvolt (eV). Das bedeutet, dass ein Elektron, welches mit 1 V elektrischer Spannung beschleunigt wird, die Energie von $1 \text{ eV} = 1,6 \times 10^{-19} \text{ Joule}$ besitzt.

Aktivität

Die Aktivität gibt an, wie viele Atomkerne sich in einem radioaktiven Stoff pro Zeiteinheit radioaktiv umwandeln. Sie ist proportional zur Anzahl der instabilen Kerne im Präparat. Die Einheit ist das Becquerel (Bq). Eine Quelle hat eine Aktivität von einem Bq, wenn 1 Kernzerfall pro Sekunde stattfindet.

Dosis

Durchläuft ionisierende Strahlung Materie, wird ein Teil der Energie absorbiert. Dosis wird definiert als die Energie, die von einem kg Materie aufgenommen wird. Die Einheit ist Gray (Gy), wobei $1 \text{ Gy} = 1 \text{ J} / \text{kg}$ ist. Obwohl die Energie von einem Joule nicht besonders hoch ist, kann sie im Organismus große biologische Wirkungen auslösen (22).

Um ein Blutgefäß von innen zu bestrahlen, kann man die Strahlungsquelle über den Katheter während der PTA befristet implantieren (63, 65) oder dauerhaft als radioaktiv veränderten Stent verwenden (28, 29). Je nachdem welches Verfahren angewendet wird, werden unterschiedliche Anforderungen an die Radionuklide gestellt. Für Katheterquellen sollten Nuklide verwendet werden die ihre effektive Dosis innerhalb weniger Minuten abgeben, da sie nur relativ kurz im Organismus verweilen. Bei radioaktiven Stents sollten Nuklide mit kurzer Halbwertszeit eingesetzt werden wie z.B. ^{32}P oder ^{188}Rh , um die Gesamtdosis möglichst gering zu halten.

1.7 Rhenium

Zielgebiet der Bestrahlung ist die vaskuläre Gefäßwand, hauptsächlich die Media und die Adventitia, da aus diesen Schichten die Migration der glatten Muskelzellen stattfindet und diese Zellen für die spätere Neointimabildung verantwortlich sind (76). Der Dosisabfall von Adventitia zur Intima sollte daher möglichst gering sein. Um alle Gefäßwandschichten zu erreichen, wäre am ehesten ein γ -Strahler geeignet. Ein alleiniger Einsatz eines γ -Strahlers würde aber eine zu große Exposition des perivaskulären Gewebes sowie außerhalb des Körpers des medizinischen Personals bedeuten (63). Ein Radionuklid mit hoher β -Energie zur Bestrahlung der lumennahen Gefäßwandschichten, sowie mit einem γ -Anteil zur Bestrahlung der tiefer gelegenen Wandanteile könnte zur Lösung dieses Problems beitragen. Zudem könnte anhand der γ -Strahlung, dessen Energiespektrum im szintigraphischen Bereich liegt, der Anteil der Radioaktivität bestimmt werden, der sich vom Stent löst („washout“).

Die Strahlendosis im Zielgebiet sollte innerhalb der ersten Tage erreicht werden, da eine zu einem späteren Zeitpunkt applizierte Strahlung nicht die gleiche Wirkung hinsichtlich der Verminderung der neointimalen Proliferation aufweist (69).

Daher sollte die Halbwertszeit des verwendeten Radionuklids möglichst kurz sein. $^{188}\text{Rhenium}$ (^{188}Rh) kommt diesen Anforderungen sehr nahe. Es besitzt eine physikalische Halbwertszeit von 16,98 Stunden. Verglichen mit Radioisotopen mit längerer Halbwertszeit wie zum Beispiel ^{32}P (HWZ: 14,2 Tage) oder ^{186}Rh (HWZ: 90,6 Stunden) resultiert beim Einsatz von ^{188}Rh durch die kürzere Halbwertszeit eine höhere initiale Dosisleistung bei gleicher kumulativer Dosis (49). Neben einer relativ hohen mittleren β -Energie besitzt ^{188}Rh einen γ -Anteil, der ca. 16% der Gesamtstrahlung ausmacht.

^{188}Rh entsteht beim Zerfall von $^{188}\text{Wolfram}$ (HWZ: 69,4 Tage) und ist über einen Wolfram / Rhenium- Generator jederzeit verfügbar. Es zerfällt zum stabilen $^{188}\text{Osmium}$.

1.8 Strahlenbiologische Wirkungskette

Trifft ionisierende Strahlung auf einen Organismus, treten in der Zelle physikalische, chemische und biologische Effekte auf (66). Die physikalische Primärwirkung führt zur Anregung und Ionisation von Atomen und Molekülen und bildet die Grundlage der chemischen Sekundärwirkung. Bei den chemischen Reaktionen spielen vor allem die Radikalbildung, das Zerschneiden von Molekülen und das Auftreten von neuen chemischen Verbindungen eine wichtige Rolle (83). Physikalische Primäreffekte und chemische Sekundäreffekte können zu tertiären biologischen Effekten führen. Die Zelle zeigt ein verändertes biologisches Verhalten oder stirbt ab.

Grundsätzlich kann zwischen einer direkten und indirekten Strahlenwirkung unterschieden werden. Bei der direkten Wirkung ist die primäre physikalische Wechselwirkung bereits mit dem biologischen Effekt identisch.

So kann eine Anregung oder Ionisation in einem Makromolekül zu einem biologischen Effekt z.B. einer Mutation führen. Werden biologische Änderungen durch Strahlungsprodukte, beispielsweise durch Radiolyseprodukte von Wasser (H, OH), ausgelöst, dann spricht man von indirekten Wirkungen (66, 34).

Eine Zelle reagiert umso empfindlicher auf ionisierende Strahlung, je höher ihre Mitoserate ist. Während der Mitose ist das genetische Material besonders strahlenempfindlich, weshalb hauptsächlich Zellen mit einer hohen Zellteilungsrate betroffen sind (12). Diese Tatsache wird sich bei der Therapie maligner Tumore und neuerdings auch bei der Restenosevermeidung nach Angioplastie zunutze gemacht. Beim erwünschten biologischen Effekt der Strahlentherapie handelt es sich um die Hemmung der Zellteilung sowie die Induktion des programmierten Zelltods (Apoptose).

1.9 Ansätze der Prävention von Restenosen

Beschichtete Stents

Metallegierungen, wie sie zur Herstellung von Stents verwendet werden, besitzen den Nachteil, dass es an der Stent-Oberfläche durch mechanische und physikochemische Reize zu einer Aktivierung von Thrombozyten kommt. Nachteilig wirkt sich auch eine ständige Schwermetallionen-Freisetzung aus, die ebenso zu einer Thrombozytenaktivierung führt. Dadurch erhöht sich die Gefahr einer subakuten Stentthrombose und führt über eine Ausschüttung von Wachstumsfaktoren (z.B. platelets-derived growth factor PDGF) zu einer Triggerung des Restenoseprozesses.

Deshalb wird versucht die thrombogene Stent-Oberfläche so zu beschichten, dass die Thrombozytenaktivierung und die Metallionen-Freisetzung so gering wie möglich ausfällt (54).

Die Hoffnungen, die zum Beispiel in Gold als inerte Substanz gelegt wurden, bestätigten sich nicht. Die gold-beschichteten Stents, führten im Gegenteil zu einer vermehrten Intimaproliferation und einem erhöhten Restenoserisiko (58, 19).

Auch eine Beschichtung mit Siliciumcarbid, das die Umwandlung von Fibrinogen in Fibrin verhindern soll, zeigte im Langzeitverlauf nach neun Monaten keinen sicheren Vorteil (92).

Eine Reihe weiterer Materialien wird im Hinblick auf die Oberflächenbeschichtung von

Stents erforscht, wie z.B. Carbon.

Medikamente freisetzende Stents

Ein neues Therapiekonzept zur Prävention der Restenose stellt der Einsatz von medikamentenfreisetzenden Stents, sog. „drug-eluting“-Stents (DE-Stents) dar. Hierfür ist das Metallgerüst der Stents mit einem medikamentenhaltigen Polymer beschichtet, das die Freisetzung der entsprechenden Substanz ermöglicht. Ein Vorteil der medikamentenfreisetzenden Stents gegenüber der systemischen Applikation von Medikamenten ist der höhere Wirkspiegel am Ort des Interesses. Während in den vergangenen Jahren durch systemische Applikation von Substanzen wie z.B. Kalziumantagonisten, Prostazyklinderivate, Lipidsenker oder Fischöl kein durchschlagender Erfolg erzielt werden konnte, wird jetzt die lokale Wirkung von immunsuppressiven bzw. antiproliferativen Substanzen erprobt.

Die größte Erfahrung liegt derzeit für Sirolimus (Rapamune®) und Paclitaxel (Taxol®) vor. Sirolimus ist ein Makrolidantibiotikum, das sowohl entzündungshemmende als auch antiproliferative Eigenschaften besitzt.

In der randomisierten, doppelblinden RAVEL-Studie wurde der Sirolimus-freisetzende Stent mit einem standardisierten unbeschichteten Stent verglichen. Als Restenose wurde eine angiographische Lumenverengung von mehr als 50% nach 6 Monaten angesehen. Das Ergebnis mit 0% Restenose im Vergleich zu 26,6% bei der Kontrollgruppe war vielversprechend (71). Auch der Einsatz von Paclitaxel, einem Zytostatikum, das durch Hemmung der Mikrotubuli antiproliferativ wirkt und in der Mitosephase die Zellteilung verhindert, brachte positive Ergebnisse, obwohl der therapeutische Bereich als gering angesehen wird (23).

Radioaktivität

a) Externe Bestrahlung

Die externe Bestrahlung kann zeitlich unabhängig von dem interventionell-radiologischen Eingriff durchgeführt werden, was eine Verlängerung der Angioplastie nicht notwendig macht. Durch eine fraktionierte Bestrahlung, wie sie auch bei malignen Prozessen angewandt wird, können die Nebenwirkungen reduziert werden.

Die Ergebnisse aus tierexperimentellen Studien sind zum Teil widersprüchlich. Die externe Bestrahlung sowohl von Schweinekoronarien (14 Gy) als auch von Iliakalgefäßen von Kanninchen (6-12 Gy) nach Ballonangioplastie, führte durch eine erfolgreiche Reduktion der

Neointimaproliferation zu einem positiven Ergebnis (1, 93).

Schwartz et al. hingegen berichten, dass es nach Stentimplantation und nachfolgender externer Bestrahlung von Schweinekoronarien (4 und 8Gy) zu einer signifikante Zunahme der Neointima kam im Vergleich zur Kontrollgruppe (85). Hehrlein et al. zeigten, dass es nach Stentimplantation und nachfolgender Bestrahlung (8 und 16 Gy) durch gesteigerte Proliferation der glatten Muskelzellen und Anhäufung extrazellulärer Matrix zu einer vermehrten Neointimahyperplasie kommt. Dies war nicht nur im Bereich des Stents zu beobachten, sondern auch in den angrenzenden Gefäßabschnitten (45). Die Forschungsgruppe vermutete, dass die durch extern applizierte Strahlendosis nach Stentimplantation zu gering gewählt wurde, da durch die Stentimplantation ein höherer Proliferationsreiz gesetzt wird als nach alleiniger Ballonangioplastie (86).

Prinzipiell als Nachteil erweist sich, dass ein relativ großes Volumen im Bereich des Zielvolumens mit bestrahlt wird. Vor allem bei der Bestrahlung von Koronararterien stellt dies durch die Kleinheit und die Bewegung des zu bestrahlenden Segmentes ein Problem dar. Die unnötige Bestrahlung von größeren Anteilen des Herzens ist problematisch und schließt hohe Einzeldosen wegen Gewebsschäden am Myokard aus (33).

b) Kathetergestützte, endovaskuläre Brachytherapie

Der Begriff „Brachytherapie“ ist vom Griechischen abgeleitet. „Brachy“ steht für kurz. Mit kurz ist dabei nicht nur die Dauer der Behandlung gemeint, sondern auch der Abstand der radioaktiven Quelle vom Zielgewebe. Die endovaskuläre Brachytherapie wird bei alleiniger Ballondilatation oder in Kombination mit einer Stentimplantation durchgeführt. Die Strahlenapplikation erfolgt durch das vorübergehende Einbringen einer Strahlenquelle über einen Spezialkatheter in die Zielregion.

Zur Strahlenbehandlung stehen unterschiedliche Systeme zur Verfügung; so zum Beispiel gas- oder flüssigkeitsgefüllte Ballonkatheter, Strahlendrähte oder Strahlenzüge, die in das Gefäß eingebracht werden. Nachteilig beim Einsatz von Strahlendrähten oder Strahlenzügen ist, dass die Strahlenquelle nicht zentriert im Gefäß liegt und so die Gefäßwand nicht gleichmäßig bestrahlt wird. Dies kann durch radioaktive Ballonsysteme gewährleistet werden, da sich die Ballons gleichmäßig der Gefäßwand anlegen und so eine optimale Dosisverteilung des umliegenden Gewebes ohne lokale Über- oder Unterdosierungen ermöglichen. Für die Brachytherapie stehen mit den β -Strahlern (z.B. ^{32}P) und den γ -Strahlern (z.B. ^{192}Ir) zwei Strahlenarten zur Verfügung, die in ihrer Wirkung auf die Restenose ähnlich effektiv sind. Sowohl β -Strahler als auch γ -Strahler führten in tierexperimentellen sowie in klinischen

Studien zu einer verringerten Restenoserate (77, 99, 101, 104, 105, 108).

Da die Verweildauer der Strahlenquelle aber, vor allem bei der Behandlung von Koronarstenosen aufgrund der Minderung der Perfusion, kurz sein sollte, ist ein Isotop zu wählen, dass seine Strahlendosis in möglichst kurzer Zeit abgibt. Unterschiede ergeben sich zudem im Hinblick auf die Eindringtiefe und die damit verbundenen Strahlenschutzvorkehrungen der verschiedenen Strahlenquellen. So handelt es sich bei β -Strahlen um Korpuskularstrahlen, die aus Elektronen bestehen und in Gewebe infolge von Wechselwirkungen schnell an Energie verlieren. γ -Strahlen hingegen, die eine Form von elektromagnetischen Wellen darstellen, besitzen eine relativ große Eindringtiefe. Dementsprechend sind die Strahlenschutzmassnahmen bei Einsatz von γ -Strahlen um ein Vielfaches aufwendiger.

c)Radioaktive Stents

Wie bereits erwähnt, können Stents sowohl dem akuten Rückstellmechanismus (elastic recoil) als auch den Umbauvorgängen (remodeling) in der Gefäßwand entgegenwirken. Somit ist die Intimahyperplasie der wichtigste Mechanismus der In-Stent Restenose.

In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass die Neointimabildung durch den Einsatz radioaktiver Stents wirksam gehemmt werden kann (64, 44). Waksman et al. fanden heraus, dass eine um zwei Tage verzögerte Applikation von radioaktiver Strahlung den inhibierenden Effekt verstärkte (100). Da ein radioaktiver Stent kontinuierlich strahlt, kann dieser Effekt zunutze gemacht werden, und eine einmalig hohe Strahlendosis wie bei der kathetergestützten, endovaskulären Brachytherapie vermieden werden. Durch die kontinuierliche Abgabe der Strahlendosis entspricht der radioaktive Stent somit dem Ideal der fraktionierten Strahlentherapie. Durch die Wahl des Isotops und dessen Halbwertszeit kann die Strahlenwirkung gesteuert und eine dauerhafte Hemmung der Zellproliferation gewährleistet werden.

1.10 Radiolabeling

Es existieren verschiedene Möglichkeiten, um konventionelle Stents in radioaktive Stents umzuwandeln.

- durch einen Beschuß mit geladenen Teilchen, z.B. Protonen oder Deuteronen wird in einem Metallstent ein Gemisch verschiedener Radionuklide erzeugt (^{55}Co , ^{51}Cr , ^{57}Ni)
- durch direkte Implantation von Radioisotopen z.B. ^{32}P auf die Stentoberfläche
- durch Aufbringen von ^{31}P auf die Stentoberfläche und anschließende Aktivierung

Diese Verfahren zur Stentaktivierung erfordern das Vorhanden sein von Reaktoren bzw. Cyclotronen, die jedoch nur in einigen Zentren verfügbar sind. Beim Transport zum Katheterlabor oder bei Implantationsverzug aufgrund klinischer Probleme besteht das Risiko des Aktivitätsverlustes. Zudem entstehen beim Aktivierungsvorgang zum Teil unerwünschte radioaktive Isotope (z.B. ^{55}Fe).

Das von uns eingesetzte radiochemische Verfahren zur Herstellung radioaktiver Stents hat den Vorteil, dass der Stent innerhalb von zwei Stunden vor der Stentimplantation in einem nuklearmedizinischen Labor mit Hilfe eines Wolfram/Rhenium-Generators aktiviert werden kann. Dies führt zu einer erhöhten Verfügbarkeit und kann einen Aktivitätsverlust durch logistische und klinische Probleme vermeiden. Zudem entstehen beim Aktivierungsvorgang keine unerwünschten radioaktiven Isotope.

1.11 Problematik radioaktiver Stents

Albiero et al. untersuchten die Restenoseraten im Hinblick auf die Aktivität. Dafür wurden ^{32}P -Stents mit einer Aktivität von 0,75-3,0 μCi (Gruppe 1), 3,0-6,0 μCi (Gruppe 2) und 6,0-12,0 μCi (Gruppe 3) in 82 Patienten implantiert. Innerhalb des Stents war die Restenoserate dosisabhängig vermindert (Gruppe 1:16%, Gruppe 2:3% und Gruppe 3:0%). Im Bereich der Stentenden, wurde allerdings eine Restenoserate von 41-52% beobachtet (2).

In einer weiteren Studie versuchte Albiero durch den Einsatz höherer Aktivität (12-21 μCi) und einer „nicht-aggressiven“ Stentimplantation die Restenose an den Stentenden zu vermeiden bzw. zu verringern, was aber zu keiner Lösung des Problems führte (3).

Das Phänomen, dass es proximal und distal des gestenteten Abschnittes zu einer Restenose kam, nannten Albiero et al. „edge effect“.

Andere Forschungsgruppen gaben dieser Beobachtung den bildlichen Namen „Candy wrapper“-Effekt. Im Stent liegt zwar keine Stenose vor und das Gefäßlumen ist frei („Candy“), aber dafür ist die Stenose an den Stentenden nachweisbar („Wrapper“). Im Deutschen werden oft die Begriffe „Kanteneffekt“ oder „Randeffekt“ gebraucht.

Van der Giessen et al. (36) machen für den „edge effect“ bei radioaktiven Stents eine Kombination aus chronischer Gefäßverletzung durch die Stentenden und den Dosisabfall der radioaktiven Strahlung über den Stentenden verantwortlich. An den beiden Stentenden kommt es – physikalisch unausweichlich- zu einem Abfall der Aktivität, so dass es immer einen

Bereich gibt, der mit niedrigerer Dosis bestrahlt wird. In tierexperimentellen Studien wurde gezeigt, dass es durch den Einsatz relativ geringer Strahlendosis (~10Gy) zu einer „paradoxen“ Proliferation der Neointima kommt, wohingegen höhere Aktivitäten antiproliferativ wirken (107).

Hehrlein et al. (47) untersuchten den Einsatz Gammastrahlen-freisetzender Stents (^{103}Pd), um durch die größere Reichweite der Gammastrahlen eine höhere Dosis in den Bereichen der Stentränder zu erreichen. Innerhalb der Stents kam es zwar zu einer dosisabhängigen Reduktion der Neointima, das Auftreten des Kanteneffekts konnte aber nicht verhindert werden.

1.12 Klinische Studien zur Restenosevermeidung

Die Restenose nach Ballonangioplastie stellt weiterhin ein großes Problem im klinischen Alltag dar. In 20-50% kommt es zu einer erneuten Einengung (Rezidiv- oder Restenose) des dilatierten Gefäßabschnittes (8). Diese Restenose wird definiert als ein Verlust von mehr als 50% des erzielten Lumengewinns nach Ballonangioplastie. Ursächlich hierfür sind zum einen die Neointimahyperplasie und zum anderen die elastischen Rückstellkräfte („elastic recoil“) sowie das pathologische Remodeling der Gefäßwand.

In zwei großen klinischen Studien konnte durch die Implantation einer Gefäßstütze (Stent) die Restenoserate verringert werden. Im „Stent Restenosis Study Trial“ (STRESS) konnte von Fischman et al. gezeigt werden, dass durch die Stentimplantation die Rate an erfolgreichen Interventionen erhöht und die Rate an angiographisch messbaren Restenosen im Vergleich zur Ballonangioplastie verringert werden kann. Allerdings war die Anzahl an klinischen Ereignissen (Tod, Myokardinfarkt, cerebrovaskuläre Ereignisse) bei beiden Verfahren vergleichbar (30).

Auch bei der Belgien Niederlanden Stent Studie (Benestent) war ein halbes Jahr nach der perkutanen koronaren Intervention die Restenoserate nach Stentimplantation signifikant niedriger als nach alleiniger Ballonangioplastie (90).

Obwohl der Stent eine Gefäßverengung durch pathologisches Remodeling und elastic recoil verhindert, zeigt sich in den gestenteten Gefäßabschnitten eine gesteigerte Neointimabildung im Vergleich zur alleinigen Ballonangioplastie (48). In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass durch radioaktive Strahlung eine Verhinderung bzw. Minderung der Neointimabildung nach Angioplastie erreicht werden kann (48).

Die SCRIPPS-Studie (Scripps Coronary Radiation to Inhibit Proliferation Post Stenting) von Teirstein et al. ist die erste randomisierte, klinische Studie, bei der die Restenoserate in Koronararterien nach endovaskulär applizierter Strahlentherapie mit den Ergebnissen einer Placebogruppe verglichen wurde. Als Strahlenquelle wurde das Radioisotop ^{192}Ir , ein Gamma-Strahler, verwendet und für 20-40 min nach der Stentimplantation im behandelten Gefäßabschnitt belassen. Die nach 6 Monaten durchgeführte Kontrollangiographie zeigte, dass die endovaskuläre Brachytherapie die Restenoserate signifikant senkte. Im Bereich der Stentimplantation und der angrenzenden Regionen verringerte sich die Restenoserate von 53,6% auf 16,7%. Im Stentinneren ging die Restenoserate von 35,75% auf 8,3% zurück. Auch nach 18 Monaten war die Überlebensrate in der ^{192}Ir -Gruppe noch signifikant höher als in der Placebogruppe (96).

Ähnliche Ergebnisse zeigte die WRIST-Studie (Washington Radiation for In-Stent Restenosis Trial) an der 130 Patienten teilnahmen. Diese Patienten wurden für eine Behandlung mit Placebo oder Strahlentherapie randomisiert. Als Strahlenquelle wurde ebenfalls ^{192}Ir verwendet und die Behandlungsdosis betrug 15 Gy in einem Abstand von 2mm von der Strahlenquelle. Die Restenoserate lag sechs Monate nach Intervention mit 19% in der bestrahlten Gruppe signifikant niedriger als in der Placebogruppe mit 58% (106).

Aufgrund der größeren Eindringtiefe der Strahlen in das umliegende Gewebe und wegen der homogenen Dosisverteilung in der Gefäßwand wurde zunächst der Einsatz von Gammastrahlung zur Behandlung der In-Stent Restenose favorisiert. Erst in späteren Studien zeigte sich, dass auch durch den Einsatz von Betastrahlung das Auftreten von Restenosen effektiv verhindert werden kann.

In der PREVENT-Studie (Proliferation Reduction with Vascular Energy Trial) wurden 105 Patienten mit dem Betastrahler ^{32}P bestrahlt. Die applizierte Dosis betrug 16, 20 und 24 Gy 1mm von der Strahlenquelle entfernt. Nach sechs Monaten war die angiographische Restenoserate in der bestrahlten Gruppe mit 8% signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe (39%). Die positiven Ergebnisse wurden jedoch durch ausgeprägte Kanteneffekte („edge effect“) geschmälert, was auf eine zu kurze Strahlenquelle zurückgeführt wurde (77).

Die ersten klinischen Erfahrungen mit der Implantation radioaktiver Koronarstents beim Menschen wurden 1996 im Rahmen der „Isosent for Restenosis Intervention Study“ (kurz

IRIS) gesammelt. In der IRIS-1A-Studie wurde 32 Patienten mit symptomatischer Koronarstenose ein Palmaz-Schatz-³²P-Stent im Aktivitätsbereich von 0,5-1,0 µCi implantiert. In der IRIS-1B-Studie wurde eine etwas höhere Aktivität getestet (0,75-1,5µCi, n=25 Patienten). Obwohl die klinischen Ergebnisse denen der konventionellen Stents entsprach, konnte durch die Versuche gezeigt werden, dass radioaktive Stents erfolgreich und sicher in humanen Koronarien implantiert werden können (16).

In den bereits erwähnten klinischen Studien von Albiero et al. mit ³²P-Stents kam es zu einer dosisabhängigen Reduktion der Restenoserate innerhalb des Stents von 0-16%. Dieses positive Ergebnis wurde allerdings durch die hohe Restenoserate von 42-52% an den Stentenden, den sogenannten „edge effect“, zunichte gemacht (2, 3).

2. Material und Methodik

2.1 Versuchstiere

Bei den Versuchen wurden Stents in Schafe (n=15) männlichen Geschlechts eingesetzt. Die Tiere wiesen zu Beginn der Versuche ein Durchschnittsgewicht von 42,4 kg auf (max.47 kg, min.35 kg, SD = 2,96), final betrug das Gewicht im Mittel 46,4 kg (max. 57 kg, min. 35 kg, SD = 4,67). Die Schafe erhielten eine artgerechte Mischkost ad libidum.

Die Stentimplantation erfolgte bei den Schafen im Bereich der Beckenarterien. Die A. iliaca externa weist bei einem Tier von circa 40 kg einen mittleren Durchmesser von ungefähr 5-8 mm und eine Länge von 8-10 cm auf. Da die Gefäßdurchmesser der Iliakalgefäße der Schafe denen von Menschen in etwa entsprechen, sind die Tiere für die Implantation von Gefäßprothesen sehr gut geeignet.

Die Gefäßprothesen wurden für einen Zeitraum von einem Monat den Tieren implantiert. Bei einem Teil der Tiere (n=4) wurde vor Implantation durch mehrmaliges hin- und herbewegen eines Fogarty- Katheters im Gefäßlumen eine Gefäßschädigung gesetzt.

Es fand eine Einteilung der Tiere in 4 Gruppen statt:

Gruppe 1: radioaktiver Stent ohne Gefäßwandschädigung

Gruppe 2: radioaktiver Stent mit Gefäßwandschädigung

Gruppe 3: Kontrollstent ohne Gefäßwandschädigung

Gruppe 4: Kontrolstent mit Gefäßwandschädigung

Den Tieren wurde je ein radioaktiver Stent und ein Kontrollstent implantiert; die Implantationsseite wurde von Versuchstier zu Versuchstier randomisiert.

2.2 Stentmaterial und Radiolabeling

Sowohl in der Gruppe mit radioaktivem Stent als auch in der Kontrollgruppe wurde ein Memotherm-Nitinol-Stent (Bard-Angiomed, Karlsruhe, Deutschland) verwendet, der die Vorteile aufweist

1)selbstexpandierend und

2)flexibel zu sein.

Nitinol ist eine Nickel-Titan-Legierung, welche die besondere Eigenschaft besitzt, in Abhängigkeit der Temperatur in zwei unterschiedlichen kristallinen Strukturen vorzuliegen. Schon relativ geringe Temperaturunterschiede (20-30°C) reichen aus, um Nitinol von einem flexiblen in einen stabilen Zustand zu überführen. Gibt man einem Nitinol-Stent eine bestimmte Form (z.B. eine Spirale) und erhitzt diesen auf eine Temperatur von 500°C, erhält der Draht eine Art „Thermisches Formgedächtnis“, den sog. Memory-Effekt. Kühlt der Nitinol-Stent unter seine Konversionstemperatur, welche von der jeweiligen Legierung abhängt, ab, so ist der Draht leicht verformbar. Bei Erwärmung (z.B. Körpertemperatur) wird er auf Grund des Memory-Effektes wieder die Spiralform annehmen (=Memotherm).

Die Gefäßprothese besteht aus einer röhrenförmigen Rautenkonstruktion und besitzt eine glatte Oberfläche. Die bei dem Versuch verwendeten Stents haben einen Durchmesser von 8mm sowie eine Länge von 30mm und sind bei Anlieferung auf einen 7F-Katheter vormontiert und von einer Schutzhülle umgeben. Sowohl auf der Hülle, als auch auf dem Katheter befinden sich röntgendichte Markierungen, um bei der Implantation mit Hilfe von Röntgendurchleuchtung die genaue Abwurflokalisierung zu kontrollieren.

Radiolabeling

Für die radioaktive Gruppe werden ebenso wie für die Kontrollgruppe die Memotherm-Nitinol-Stents der Firma Bard-Angiomed (Karlsruhe, Deutschland) verwendet.

Die Stents werden durch CVD-Polymerisation (Chemical Vapour Deposition-Polymerisation) beschichtet. Als Monomer dient 2-Amino[2.2]-paracyclophan. Danach ist die Metalloberfläche komplett mit einer Schicht aus Poly-2-aminoparaxylylen überzogen, auf die ein bifunktionaler HDI-Spacer aufgebracht wird. (Abb. 4)

Dieser Spacer stellt eine Verbindung zwischen Metallstent und dem nun aufgetragenen DTPA-Chelatkomplex dar. Der DTPA-Chelatkomplex ist mit Na-Ionen beladen, welche kurz vor der Implantation durch radioaktive Ionen ausgetauscht werden.

Das eigentliche Radiolabeling der Stents wird in einem verschließbaren Reaktionsrohr durchgeführt. Die Gefäßprothese wird mit 1ml des Reduktionsmittels $\text{SnCl}_2 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ und Natriumtartrat als Hilfschelator versetzt. Die Konzentration des Reduktionsmittels beträgt $c=80\text{mg/ml}$ und die des Hilfschelators $c=16\text{mg/ml}$. Hierzu werden nun 4ml $\text{Na}^{188}\text{RhO}_4$ in 0,9% NaCl, welches kurz zuvor aus dem Wolfram/Rhenium-Generator eluiert wird, und 50µl Natriumacetat mit einer Konzentration von $c=100\text{mg/ml}$ gegeben.

Das fest verschlossene Reaktionsrohr wird bei 85°C für 120 min inkubiert. Nach dem Abkühlen wird der Stent aus dem Rohr genommen und viermal mit jeweils 20ml 0,9% NaCl für jeweils 10min durch Schütteln gewaschen. Danach wird der Stent mit Hilfe eines Eisbades heruntergekühlt und mit einer 7F Schleuse auf ein Einführbesteck (Bard-Angiomed, Karlsruhe, Deutschland) aufgefädelt. Abschließend erfolgt eine Spülung und Resterilisierung des Einführbestecks.

Die Aktivität der verwendeten radioaktiven Stents lag zwischen 14,7 und 33,4 MBq mit einer durchschnittlichen Aktivität von 21,02 MBq (Tabelle 1).

Fig. 1

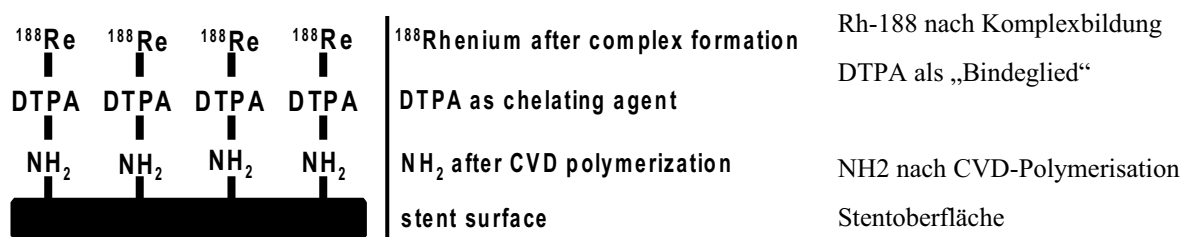


Abb. 4. Schematische Darstellung des Radiolabelings

Tabelle 1. Aktivität der radioaktiven Stents; durchschnittliche Aktivität: 21,02 MBq

Tier	Aktivität (MBq)	Tier	Aktivität (MBq)	Tier	Aktivität (MBq)
1	14,7	6	16,8	11	26,2
2	14,9	7	16,9	12	30,2
3	15	8	17	13	30,5
4	15	9	17,6	14	33
5	16,1	10	18	15	33,4

2.3 Anästhesie

Die Tiere wurden in nüchternem Zustand (24-stündige Nahrungskarenz) in Vollnarkose operiert. Nach intramuskulärer Gabe von 1mg Atropin wurden die Tiere über einen venösen Dauerzugang mit Barbiturat (Narcoren, Rhone Merieux, Laupheim, Deutschland) in einer Dosierung von 0,08 ml x kg Körpergewicht (verdünnt mit 0,9% NaCl auf 20 ml im Verhältnis 6: 14 (Narcoren : NaCl)) narkotisiert.

Danach erfolgte die Intubation mit einem Tubus der Größe 8,5 mm und das Einführen eines Magenschlauches. Die Leistenregion wurde beidseits rasiert und gesäubert. Im Operationssaal wurden die Tiere an den Vorder- und Hinterläufen fixiert, das Operationsgebiet wurde desinfiziert und das Tier steril abgedeckt. Die Beatmung erfolgte maschinell mit Halothan (Halothan Hoechst, Frankfurt a.M., Deutschland), Lachgas und Sauerstoff. Das Gemisch enthielt 0,8-1,0% Halothan, 25% Sauerstoff und ca.75% Lachgas.

Während des Eingriffes erfolgte eine Kontrolle der Herzfrequenz und der Sauerstoffsättigung mittels eines Pulsoxymeters.

2.4 Stentimplantation

Vor der Stentimplantation wurden die Versuchstiere mit jeweils 5000 I.E. Heparin (Liquemin N5000, Roche, Grenzach, Deutschland) antikoaguliert. Beide Leistenarterien wurden in Seldinger-Technik über einen bilateralen perkutanen Zugang punktiert, und eine 7F-Schleuse (Terumo, Frankfurt; Deutschland) eingeführt. Dafür wurde ein flexibler Führungsdraht als Gleitschiene für die Schleuse im Gefäß platziert.

Die Punktionsstellen wurde sowohl durch Palpation als auch dopplersonographisch bestimmt und lagen ungefähr 2-4 cm unterhalb der Gonadenfalte. Unter Durchleuchtungskontrolle wurde dann ein 7F-Pigtailkatheter bis kranial der Aortenbifurkation vorgeschoben, um mit Hilfe der digitalen Subtraktionsangiographie die passende Stelle für die Stentimplantation aufzusuchen.

Bei einem Teil der Tiere wurde ein sog. Fogarty-Manöver durchgeführt, um eine gezielte Gefäßwandschädigung im Bereich der späteren Stentimplantation hervorzurufen. Hierzu wurde ein 1,5 ml fassender Fogarty-Katheter benutzt, der jeweils viermal im Gefäß hin und her bewegt wurde. Dann wurden die Stents unter Durchleuchtungskontrolle implantiert, wobei alle Tiere je einen radioaktiven und einen Kontrollstent erhielten, wobei die Seite jeweils randomisiert wurde.

Um eine möglichst große Sicherheit über korrekte Lage und Durchgängigkeit der Prothesen zu haben, wurden Angiographien aus drei verschiedenen Winkeln angefertigt (plane Ansicht,

40°LAO und 25°RAO).

Nach Entfernung der Schleusen wurde die Blutstillung durch manuelle Kompression erreicht. Die Tiere wurden anschließend in einem separaten Aufwachstall überwacht, um etwaigen Komplikationen entgegenzuwirken.

2.5 Probenentnahme und histologische Aufarbeitung

Nach einem Monat wurden die Versuchstiere mit einer Überdosis Barbiturat (Narcoren, Rhone Merieux, Laupheim; Deutschland) in Kombination mit einer hyperosmolaren Kalium-Lösung euthanisiert.

Um die Bildung von postmortalen Blutgerinnseln in den Prothesen zu verhindern, wurden die iliakal platzierten Prothesen bereits während der Euthanisierung über die liegenden Schleusen mit heparinierter physiologischer Kochsalzlösung durchgespült. Anschließend wurden die beiden prothetisch versorgten Iliakalarterien einschließlich des distalen Abschnitts der Aorta en bloc reseziert. Dann wurden die entfernten Gefäßabschnitte nochmals mit physiologischer Kochsalzlösung gespült. Die Präparate wurden in 10- prozentiger Formalinlösung für mindestens 14 Tage fixiert. Mit Hilfe einer Diamantblattsäge (Exakt PSI, Grünwald, Deutschland) wurden 3-4 mm dicke Querschnitte aus den Präparaten herausgeschnitten. Pro Stent wurden vier Querschnitte innerhalb des Stents sowie jeweils zwei Gefäßquerschnitte distal bzw. proximal der Prothesen präpariert (Abb. 5) Die Präparate wurden in Paraffin eingebettet, nachdem die Stentstreben mittels Pinzetten und einer Miniaturschere entfernt worden waren. Mit einem Mikrotom (Reichert-Jung, Deutschland) wurden 4 µm dicke Schnitte angefertigt und anschließend mit Hämatoxylin-Eosin (H&E) gefärbt. Zur immunhistologischen Untersuchung wurden Präparate mit Antikörpern gegen SMA (smooth muscle antigen) angefertigt. Die Apoptoserate wurde mittels einer TUNEL-Reaktion beurteilt.

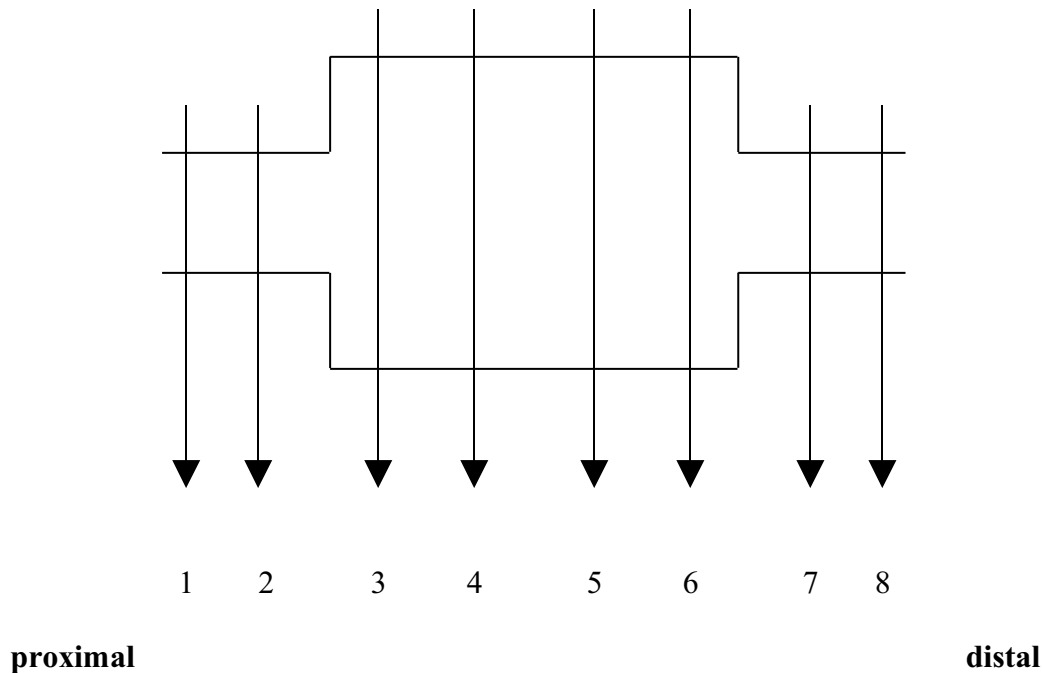


Abb. 5. Schematische Darstellung der Gefäßabschnitte

Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Zur Entparaffinierung wurden die Schnittpräparate nacheinander für jeweils 5 Minuten in zwei verschiedene Xylol-Lösungen (Baker, Deventer, Holland) eingebracht. Die Schnittpräparate wurden dann in einer absteigenden Alkoholreihe hydriert. Die Präparate durchliefen dabei für jeweils 3 Minuten zuerst 100%igen dann 96%, 80% und 70%igen Alkohol und wurden zum Schluß für 2 Minuten in Aqua destillata gespült.

Die entparaffinierten und hydrierten Schnittpräparate wurden dann für 2 Minuten in Hämatoxylin (Merk, Darmstadt, Deutschland) gefärbt und anschließend für 5 Minuten unter fließendem Leitungswasser gebläut. Die Präparate wurden danach in 0,1%igem Eosin (Merck, Darmstadt, Deutschland) für 30 Sekunden gegengefärbt und mit Aqua destillata gespült.

Abschließend wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70%, 80%, 96% und 100%iger Alkohol) entwässert und mit zwei verschiedenen Xylol-Lösungen (Baker, Deventer, Holland) entalkoholisiert.

Immunhistologie

Zur Darstellung der glatten Muskelzellen wurden immunhistochemische Färbungen nach der Avidin-Biotin-Komplex Methode vorgenommen. Das Ziel der Immunhistochemie war, α -Actin mit Hilfe von Immunglobulinen mikroskopisch sichtbar zu machen. Zuerst wurden die Präparate in Bädern mit Xylol und in absteigenden Alkoholreihen (s.o.) entparaffiniert

Nach Inkubation des Objektträgers mit dem spezifischen Primärantikörper (Monoclonal Anti-Smooth Muscle Actin Mouse Ascites Fluid (Sigma, St. Louis, USA) wurde der mit Biotin konjugierte Sekundärantikörper (Anti-Mouse-IgG, Vectastain, Vector Laboratories, Burlingame, USA) aufpipetiert. Das zweite biotinilierte Immunglobulin ist gegen das erste gerichtet und bindet an dieses.

Weiterhin folgte die Zugabe des Avidin-Biotin-Komplexes (Vector Laboratories, Burlingame, USA), welcher mit dem Biotin des Sekundärantikörpers spezifisch reagiert. Die Inkubationsdauer des zweiten Antikörpers und des ABC-Komplexes betrug 15 Minuten bei 37°C. Schließlich wurde die Anfärbung durch auftragen des AEC-Komplexes (Vector Laboratories, Burlingame, USA) erreicht. Dieser dient als Substrat für die mit dem Avidin-Biotin-Komplex konjugierte Peroxidase. Die Gegenfärbung der Schnitte wurde 10 Sekunden lang in Hämalun vorgenommen.

TUNEL-Färbung

Endogene Peroxidase wurde mit 0,3%igem Wasserstoffperoxid (H_2O_2 , 5 Minuten bei Raumtemperatur) blockiert. Die TUNEL-Reaktion wurde mit einem In Situ Cell Death Detection Kit, POD (Boehringer, Mannheim, Deutschland) durchgeführt. Folgende Reagenzien waren in dem Kit beinhaltet: (1) Enzymlösung (terminale deoxynucleotidyl-Transferase), (2) „Label“-Lösung (Fluorescein gekoppelte dUTP-Nukleotide in Reaktionspuffer) und (3) Converter-POD (Anti-Fluorescein-Antikörper gekoppelt mit POD) (Abb. 6). Die Schnitte wurden für die TUNEL-Reaktion mit einem Gemisch aus Enzym- und Label-Lösung (1:10, 60 Minuten, 37°C, feuchte Kammer) inkubiert. Dann wurden die fluorescein-gekoppelten Nukleotide mit dem Converter POD detektiert (30 Minuten, 37°C, feuchte Kammer) und mit DAB sichtbar gemacht. Abschließend wurden die Zellkerne mit Hämatoxylin gegengefärbt.

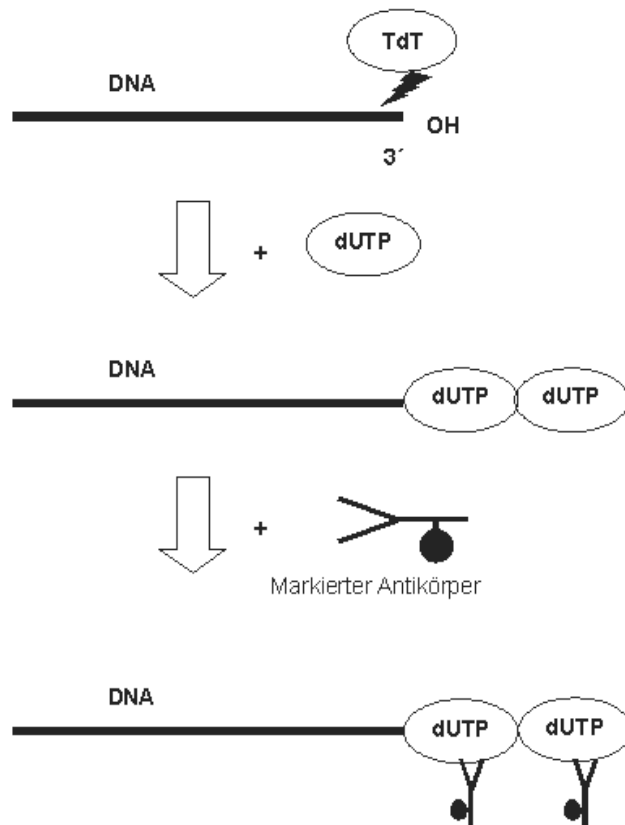


Abb. 6. Schematische Darstellung der Tunel-Reaktion

2.6 Histologie

Die Präparate wurden unter einem Lichtmikroskop (Leitz, SM-Lux, Wetzlar, Deutschland) mit 2,5, 10 oder 40-facher Vergrößerung ausgewertet. Für die Bewertung der Ausprägung von histologischen Parametern wurden score-Punkte vergeben. 0 Punkte bedeutet, dass keine Ausprägung des Merkmals feststellbar war; 6 score-Punkte stehen für maximale Ausprägung.

Anhand der HE-Färbung wurden die Parameter Ödem, Entzündungsreaktion in der Intima, Ausbildung von Thromben, die Neoendothelialisierung sowie die Bildung einer Neointima beurteilt. Immunhistochemisch wurde zudem die Ausprägung der Muskulatur und die Apoptose innerhalb der Neointima bewertet.

Die Messung der Neointimadicke innerhalb der Prothesen erfolgte an den H&E-Präparaten und wurde computergestützt (Quantimed 600, Leitz, Wetzlar, Deutschland) durchgeführt. Pro Präparat wurden 10 Messwerte ermittelt und der arithmetische Mittelwert gebildet. Insgesamt wurden 1200 Messungen zur Ermittlung der Neointimadicken herangezogen. Für die

Bestimmung des prozentualen Stenosegrades (Percent area stenosis) sind ebenfalls die H&E-Präparate verwendet worden. Mit Hilfe eines Computers (Quantimed, 600, Leitz, Wetzlar, Deutschland) wurde die Fläche zwischen der Membrana elastica interna und dem Lumen sowie die Fläche des freien Lumens bestimmt (Abb. 7). Die „percent area stenosis“ ist definiert als:

Fläche, die von der Membrana elastica interna umschlossen wird-freies Lumen X 100

Fläche , die von der Membrana elastica interna umschlossen wird

(14, 15)

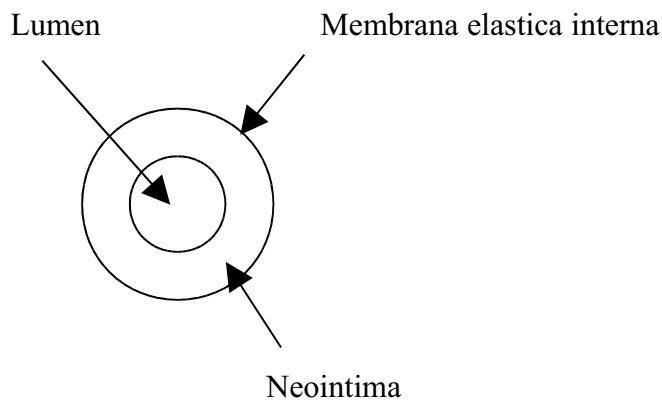


Abb. 7. Schematische Darstellung von Neointima und Lumen

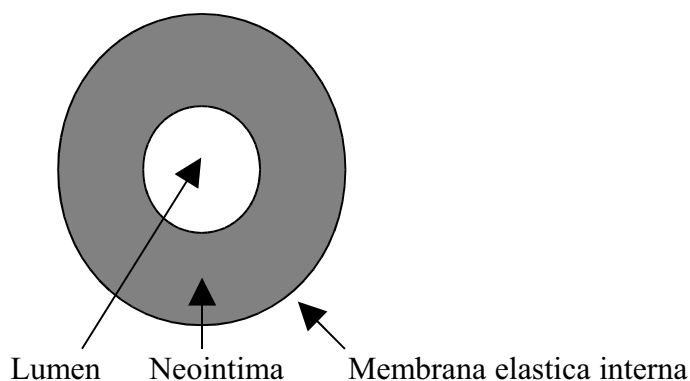


Abb.8. Fläche, die von der Membrana elastica interna umschlossen wird – freies Lumen

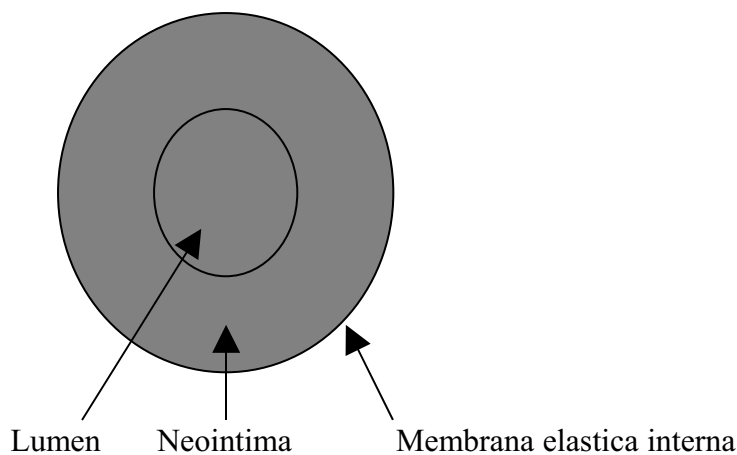


Abb.9. Fläche, die von der Membrana elastica interna umschlossen wird

Da die Einflussparameter bei jedem Tier für beide Aa. Iliacae, also links und rechts, bestimmt wurden, ist der Datensatz bei der statistischen Auswertung nach linker und rechter Seite getrennt ausgewertet worden.

2.7 Statistische und graphische Auswertung

Bei der Varianzanalyse (ANOVA= analysis of varianz) wurde der Signifikanztest der Varianzanalyse (F-Test) angewendet. Da die Ergebnisse explorativ ausgewertet wurden, ist keine Bonferroni-Korrektur durchgeführt worden. Das Signifikanzniveau wurde auf 5% festgesetzt. P-Werte unter 0,05 bedeuten, dass der Einfluss auf die Zielgröße statistisch auffällig ist. Es wurde eine mehrfaktorielle Varianzanalyse durchgeführt, um den Einfluss der Radioaktivität und der Gefäßwandschädigung auf histologische Parameter, auf den Grad der Stenose und die Intimadicke zu untersuchen. Zudem wurde durch eine einfaktorielle Varianzanalyse der Einfluss der Radioaktivität auf die histologischen Parameter Muskulatur, Neoendothelialisierung, Apoptose, Ödem und Entzündungsreaktion ermittelt.

Die graphische Auswertung erfolgte anhand von Kurvendiagrammen und Blockdiagrammen.

3. Intention der Studie

Restenoseraten von 20-50% nach Angioplastie stellen ein großes klinisches und volkswirtschaftliches Problem dar. Obwohl durch den gezielten Einsatz von Stents die Anzahl der Restenose verringert wird, bleibt das Auftreten von Restenosen trotzdem der limitierende Faktor nach Angioplastie.

In früheren Untersuchungen verschiedener Arbeitsgruppen konnte gezeigt werden, dass durch radioaktive Strahlung eine Hemmung der Intimahyperplasie erreicht werden kann.

Ziel dieser Studie war es, die Wirkung von radioaktiven ¹⁸⁸Rhenium Stents auf die arterielle Gefäßwand von Schafen zu untersuchen.

Dafür wurden selbstexpandierende Nitinolstents mittels eines neuen Radiolabelingverfahren mit dem gemischten β - und γ -Strahler ¹⁸⁸Rhenium aktiviert.

Von besonderem Interesse war, inwieweit die radioaktiven Stents das Ausmaß der Intimadicke sowie den Grad der Stenosierung im Vergleich zu Kontrollstents reduzieren können.

Weiterhin wurden die Auswirkungen der Radioaktivität auf die histologischen Parameter Apoptose, Entzündung, Ödem und Ausmaß glatter Muskelzellen in der Neointima sowie auf die (Neo)Endothelialisierung und die Thrombosierung untersucht.

Darüber hinaus wurde untersucht, welche Rolle eine zusätzliche Gefäßwandschädigung im Hinblick auf die Neointimadicke und den Grad der Stenosierung spielt und welche Auswirkungen sie auf die genannten histologischen Parameter hat.

4. Ergebnisse

Für die Beurteilung der Neointimabildung und des Stenosierungsgrades bzw. der Ausprägung der histologischen Parameter wurden die Versuchstiere vier verschiedenen Gruppen zugeteilt:

Gruppe 1: radioaktiver Stent ohne Gefäßwandschädigung

Gruppe 2: Kontrollstent ohne Gefäßwandschädigung

Gruppe 3: radioaktiver Stent mit Gefäßwandschädigung

Gruppe 4: Kontrollstent mit Gefäßwandschädigung

Im Folgenden wird von den Tieren mit radioaktiven Stents und ohne Gefäßschädigung als Gruppe mit radioaktiven Stents gesprochen bzw. von den Tieren mit Kontrollstent und ohne Gefäßschädigung als Kontrollgruppe. Wird auf die Tiere mit zusätzlicher Gefäßschädigung eingegangen, so wird dies im Text explizit erwähnt.

Der Einfluß der Radioaktivität auf die histologischen Parameter (Neo-)Endothelialisierung, Ödembildung, Muskulatur, Apoptose, Thrombosierung sowie Entzündung wurde mit Hilfe von score- Punkten beurteilt. 0 score- Punkte steht für eine nicht vorhandene Ausbildung, 6 score- Punkte steht für die maximale Ausprägung eines histologischen Parameters.

4.1 Neointimabildung/ Intimadicke

Tabelle 2. Neointimadicke (μm) der Gruppen 1-4

<u>Kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
467,85 $\pm$ 118,8	350,95 $\pm$ 101,67	386,32 $\pm$ 154,59	612,95 $\pm$ 138,82
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

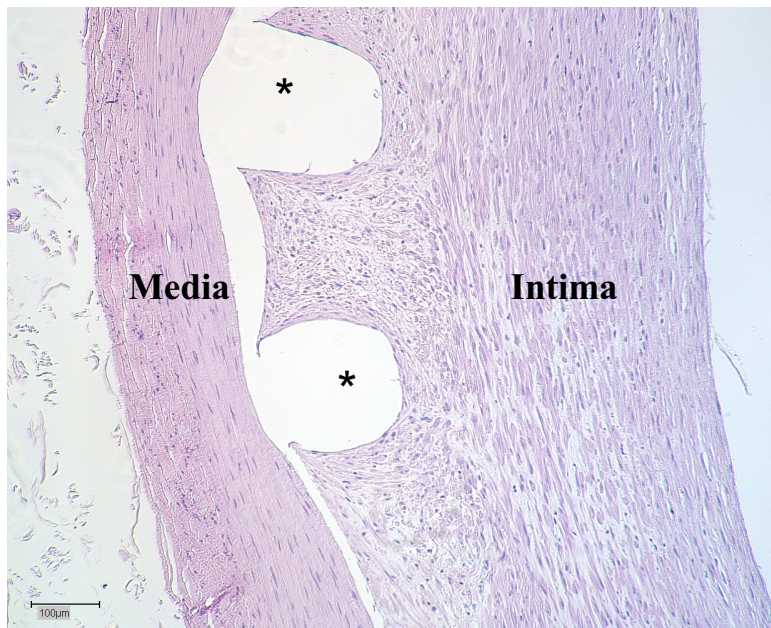


Abb. 10. HE-Färbung
100-fache Vergrößerung, *entfernte Stentstrebe



Abb. 11. HE-Färbung
250-fache Vergrößerung, * entfernte Stentstrebe

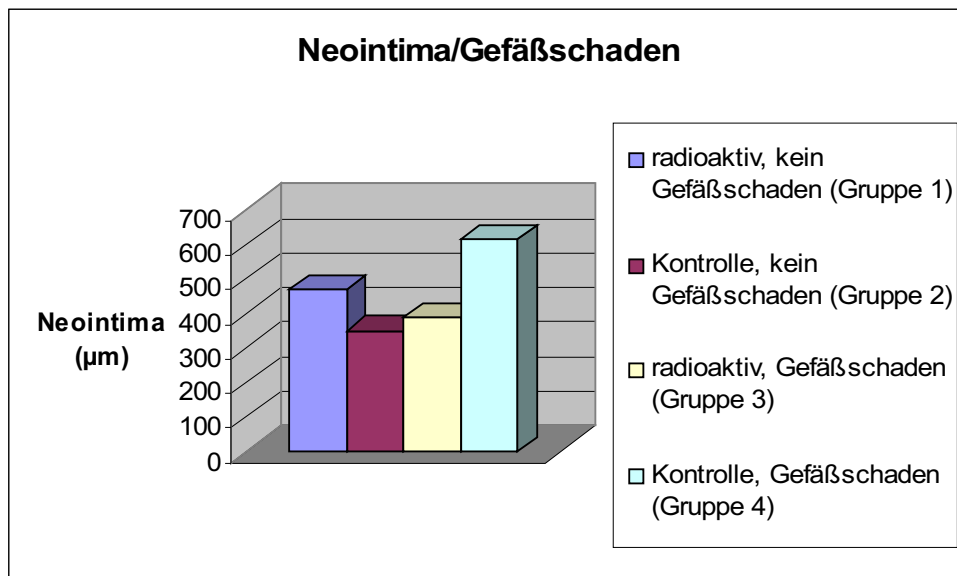


Abb. 12. Übersicht der Neointimadicke der Gruppen 1-4

Bei der morphometrischen Auswertung war bei der Gruppe mit radioaktiven Stents (Gruppe 1) ($MW\ 467,85\mu m \pm 118,8$) eine dickere Neointima nachweisbar als in der Kontrollgruppe (Gruppe 2) ($MW\ 350,95\ \mu m \pm 101,67$), wobei sich bei der mehrfaktoriellen Varianzanalyse auf der rechten Körperseite ein Einfluß der Radioaktivität auf die Neointimadicke zeigte ($p < 0,05$). Bei der Betrachtung der Gruppen hinsichtlich Radioaktivität und Gefäßschaden (Abb. 12) war die Neointima bei den Tieren mit Gefäßschaden und Kontrollstent (Gruppe 4) ($MW\ 612,95\ \mu m \pm 138,82$) am ausgeprägtesten, gefolgt von der Gruppe ohne Gefäßschaden und mit radioaktivem Stent (Gruppe 1). Die Gruppen ohne Gefäßschaden und mit Kontrollstent (Gruppe 2) bzw. mit Gefäßschaden und radioaktivem Stent (Gruppe 3) ($MW\ 386,32\ \mu m \pm 154,59$) unterschieden sich nicht wesentlich. Im Vergleich der Kontrollgruppen zeigte sich bei den Tieren mit Gefäßschaden (Gruppe 4) eine deutlich dickere Neointima als bei den Tieren ohne Gefäßschaden (Gruppe 2), jedoch ohne signifikanten Einfluß der Gefäßschädigung auf die Neointimadicke in der mehrfaktoriellen Varianzanalyse ($p > 0,05$). Im Gegensatz hierzu war bei den Tieren mit radioaktiven Stents die mittlere Neointimadicke bei der Gruppe mit Gefäßschädigung (Gruppe 3) geringer ausgeprägt als bei der Gruppe ohne Gefäßschädigung (Gruppe 1).

4.2 Stenosegrad

Tabelle 3. Stenosegrad (%) der Gruppen 1-4

<u>kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
25,09 ± 5,12	23,68 ± 4,52	22,52 ± 6,07	34,07 ± 5,29
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

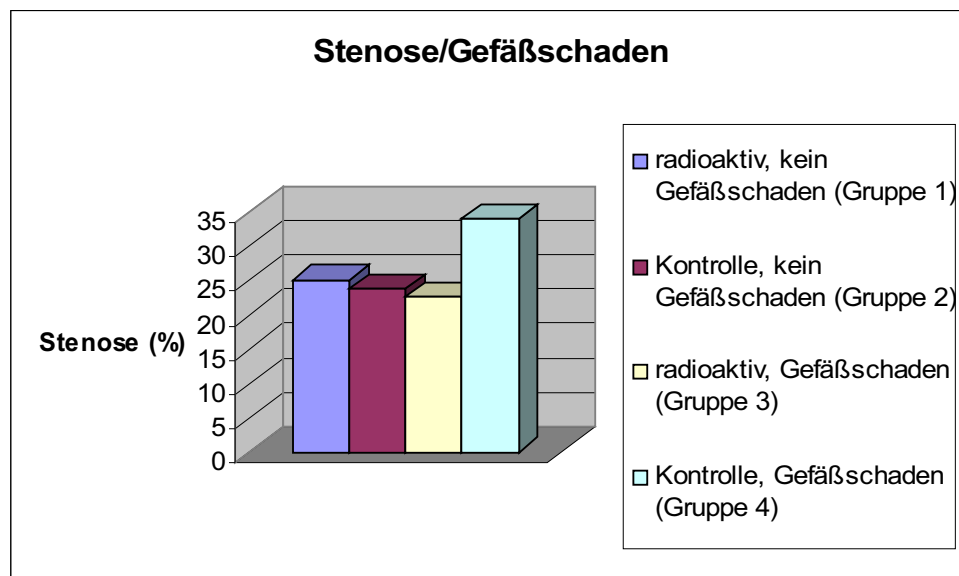


Abb. 13. Abbildung des Stenosegrades der Gruppen 1-4

Bei der Untersuchung des Stenosegrades ergaben sich ähnliche Ergebnisse wie bei der Neointimadicke (Abb 13). Die Gruppe mit radioaktiven Stents (Gruppe 1) (25,09% ± 5,12) wies einen höheren Stenosegrad als die Kontrollgruppe (Gruppe 2) (23,68% ± 4,52) auf, jedoch ohne dass sich in der mehrfaktoriellen Varianzanalyse ein signifikanter Einfluß der Radioaktivität auf den Stenosegrad zeigte ($p > 0,05$). Der Stenosegrad in der Gruppe mit Kontrollstent und mit Gefäßschädigung (Gruppe 4) war deutlich höher als in der Gruppe mit Kontrollstent und ohne Gefäßschädigung (Gruppe 2) (34,07% ± 5,29 vs. 23,68% ± 4,52), wobei der Unterschied aber nicht signifikant war ($p > 0,05$). Die Auswertung im Hinblick auf Gefäßschädigung und Radioaktivität ergab bei den Tieren mit Kontrollstent und mit

Gefäßschädigung (Gruppe 4) ($34,07\% \pm 5,29$) einen deutlich höheren Stenosegrad als in den Vergleichsgruppen. Der Grad der Stenosierung in den anderen Gruppen unterschied sich dagegen nur leicht (Gruppe mit radioaktivem Stent und mit Gefäßschädigung (Gruppe 3) $22,52\% \pm 6,07$, Gruppe mit Kontrollstent und ohne Gefäßschädigung (Gruppe 2) $23,68\% \pm 4,52$, Gruppe mit radioaktivem Stent und ohne Gefäßschädigung (Gruppe 1) $25,09\% \pm 5,12$).

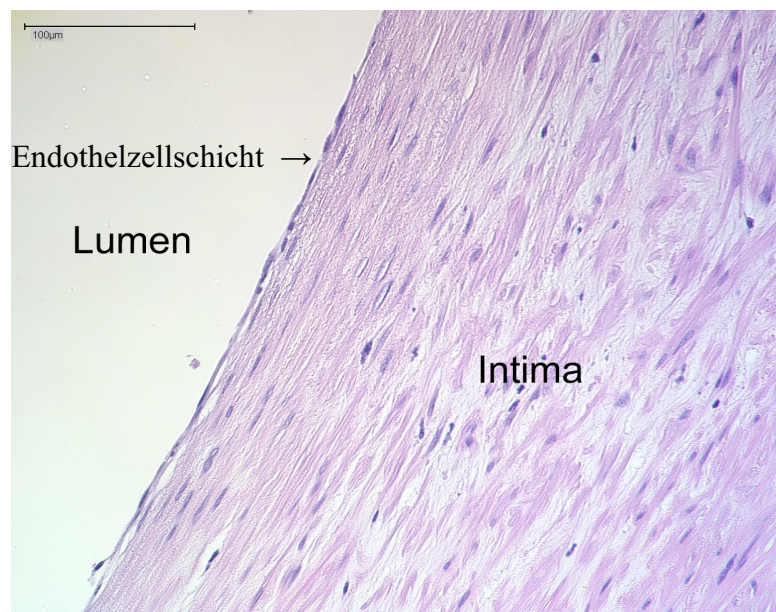


Abb.14. HE-Färbung
250-fache Vergrößerung

4.3 (Neo-)Endothelialisierung

Zur Beurteilung der (Neo-)Endothelialisierung wurde untersucht, inwieweit die Neointima von einer Endothelzellschicht bedeckt wird.

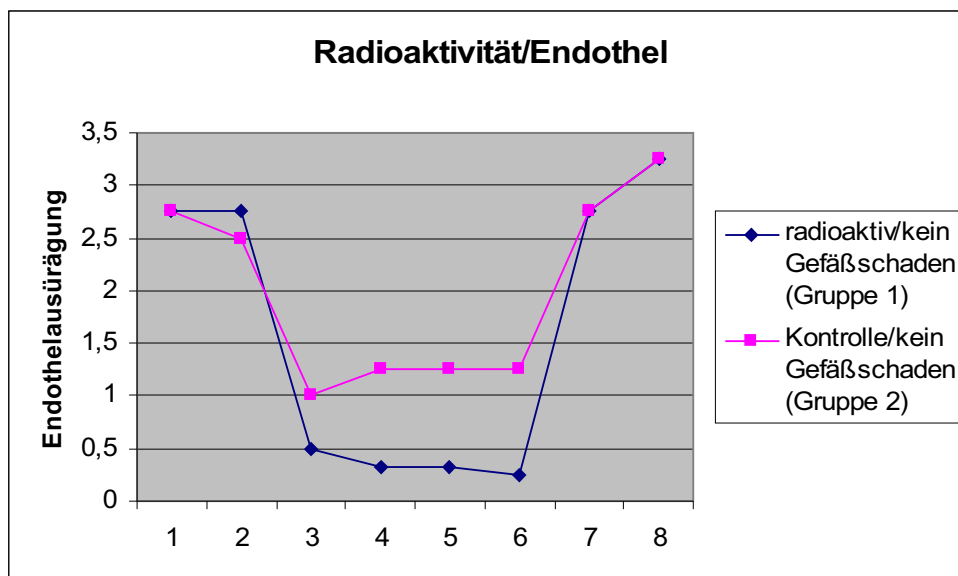
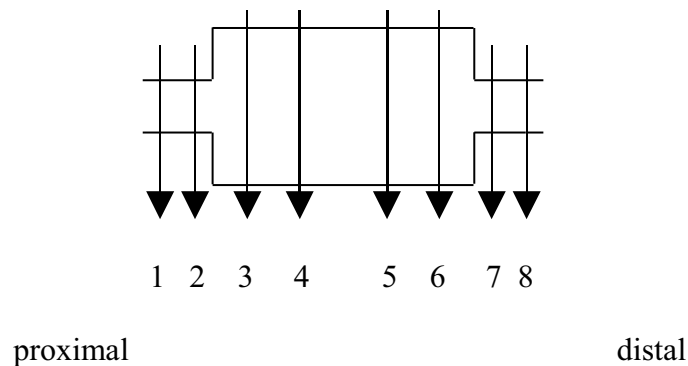


Abb. 15. Ausprägung der Endothelzellschicht in Abhängigkeit der Lokalisation: Radioaktiver Stent vs. Kontrollstent

Tabelle 4. (Neo-)Endothelialisierung: Punktescore der Gruppen 1-4

<u>Kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
1,7	1,88	1,53	1,45
Gruppe1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

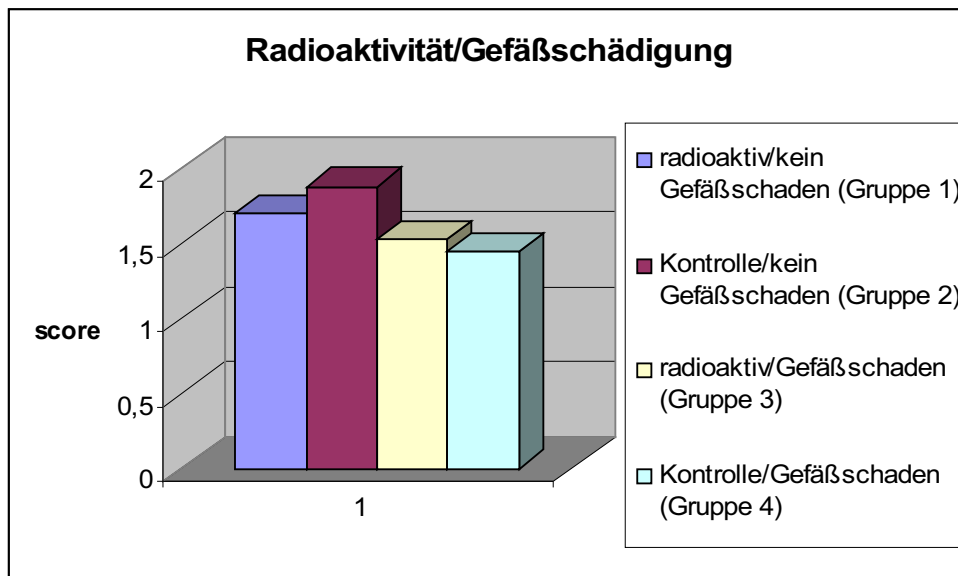


Abb. 16 Übersicht der mittleren Endothelschichtausprägung der Gruppen 1-4

Die Ausprägung der Endothelzellschicht zeigte bei der Gruppe mit radioaktiven Stents und bei der Kontrollgruppe einen ähnlichen Verlauf (Abb. 15). Die histologischen Schnitte proximal und distal des Stents wiesen ein gut ausgebildetes Endothel auf. Bei den radioaktiven Stents war proximal des Stents ein durchschnittlicher Punktescore von 2,75 Punkten und distal des Stents von 3,0 Punkten nachweisbar. Der durchschnittliche Punktescore der Kontrollgruppe lag proximal des Stents bei 2,63 Punkten und distal bei 3,0 Punkten. Im Stentinneren war die Neointima sowohl bei den radioaktiven Stents als auch bei den Kontrollstents nur vereinzelt von Endothelzellen bedeckt, wobei der Punktescore bei der Kontrollgruppe mit 1,18 Punkten gegenüber 0,36 Punkten in der Gruppe mit radioaktiven Stents höher lag. Insgesamt wiesen die Kontrollstents (Gruppe 1)(Abb. 16) ein besser ausgebildetes Endothel als die radioaktiven Stents (Gruppe 2) auf (mittlerer Punktescore 1,88 vs 1,7). Ein signifikanter Einfluß der Radioaktivität auf die Ausbildung der Endothelzellschicht zeigte sich nicht ($p>0,05$). Auf der rechten Seite war ein Einfluß der Endothelschichtausprägung auf die Neointimadicke feststellbar ($p<0,05$). Je dichter die Endothelzellschicht, desto geringer war die Neointimadicke. Der Einfluss der Endothelzellschicht auf den Grad der Stenosierung war hingegen statistisch nicht signifikant ($p>0,05$). In den Gruppen mit zusätzlicher Gefäßschädigung war das Endothel annähernd gleich ausgeprägt (Punktescore Gruppe 3 1,53 vs. Gruppe 4 1,45).

4.4 Ödembildung

Hinsichtlich der Ödembildung war zwischen der Gruppe mit radioaktiven Stents und der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied festzustellen ($p>0,05$). Der mittlere Punktescore der Ödemausprägung betrug bei den Tieren mit radioaktivem Stent (Gruppe 1) 1,37 gegenüber 1,33 bei der Kontrollgruppe (Gruppe 2).

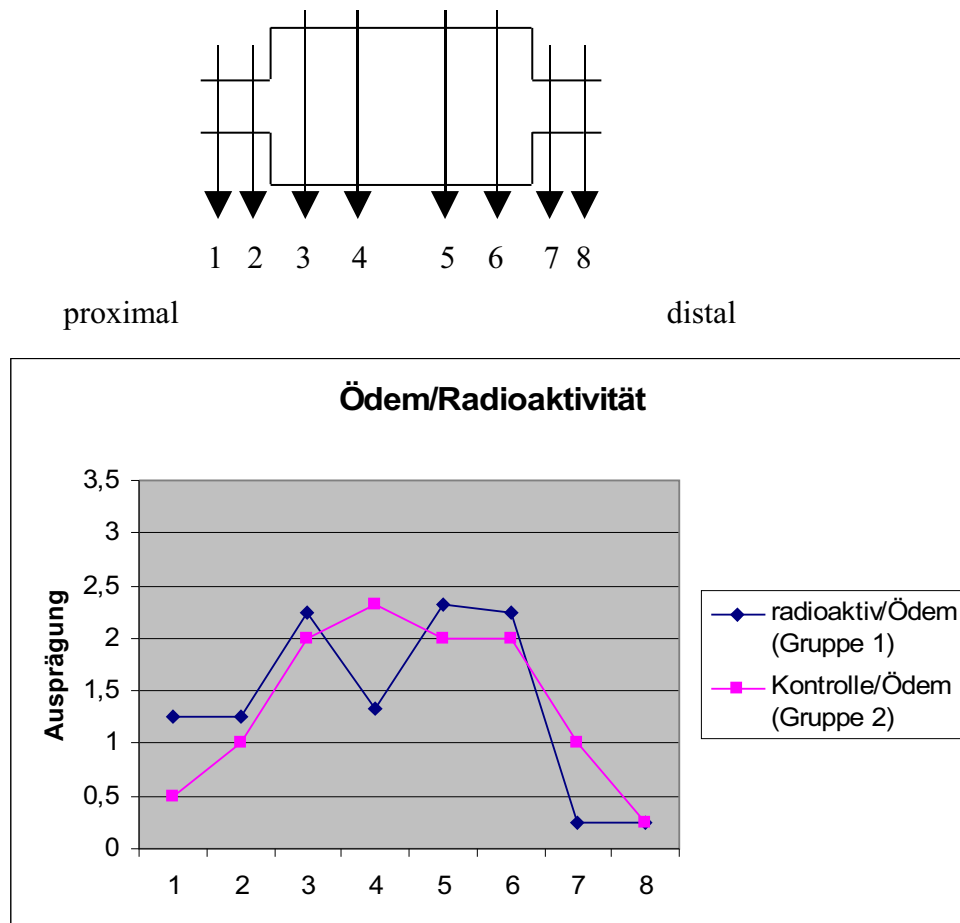


Abb. 17. Ausprägung der Ödembildung in Abhängigkeit der Lokalisation: radioaktiver Stent vs. Kontrollstent

In beiden Gruppen war die Ödembildung innerhalb des Stents annähernd gleich ausgeprägt (Abb. 17, durchschnittlicher Punktescore bei den radioaktiven Stents bzw. bei den Kontrollstents jeweils 2,07) und nahm proximal und distal der Gefäßprothese ab (proximal des radioaktiven Stents durchschnittlicher Punktescore von 1,25 Punkte und distal 0,25 Punkte bzw. proximal des Kontrollstents 0,75 Punkte und distal 0,63 Punkte).

Tabelle 5. Ödembildung: Punktescore der Gruppen 1-4

<u>Kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
1,37	1,33	1,47	1,59
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

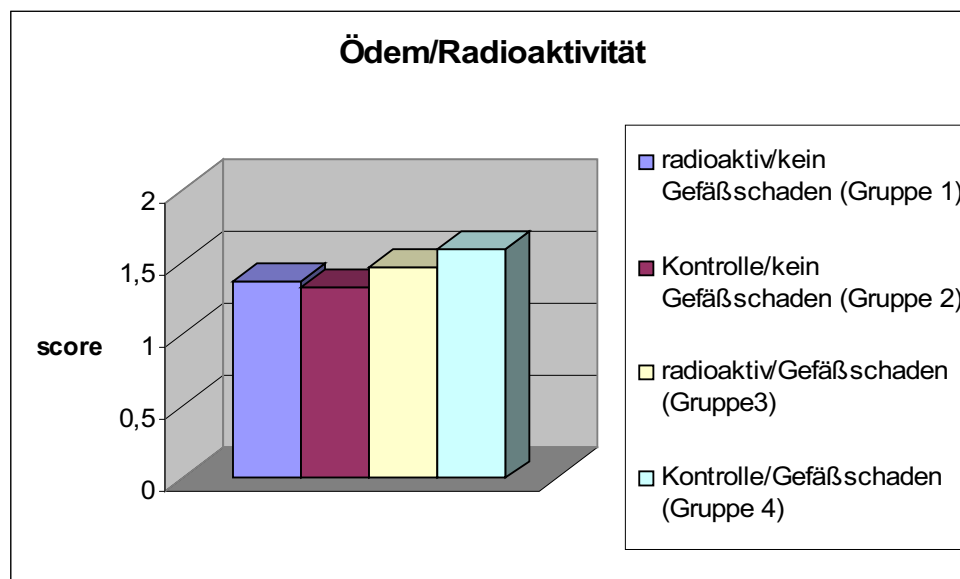


Abb.18. Übersicht der mittleren Ödemausprägung in den Gruppen 1-4

Auch bei den Tieren mit Gefäßschädigung zeigte sich sowohl bei der Gruppe mit radioaktivem Stent (Gruppe 3) als auch bei der Kontrollgruppe (Gruppe 4) kein Unterschied in der Ödembildung (Abb. 18). Die einfaktorielle Varianzanalyse ergab keinen signifikanten Einfluß der Radioaktivität auf die Ödembildung ($p > 0,05$). Der Einfluß der Ödembildung auf den Stenosegrad und die Neointimadicke war statistisch nicht signifikant ($p > 0,05$). Den höchsten Punktescore in Bezug auf die Ödembildung wiesen die Tiere mit Kontrollstent und Gefäßschädigung (Gruppe 4, Punktescore 1,59) auf, gefolgt von der Gruppe mit radioaktiven Stents und Gefäßschädigung (Gruppe 3, Punktescore 1,47).

4.5 Muskulatur

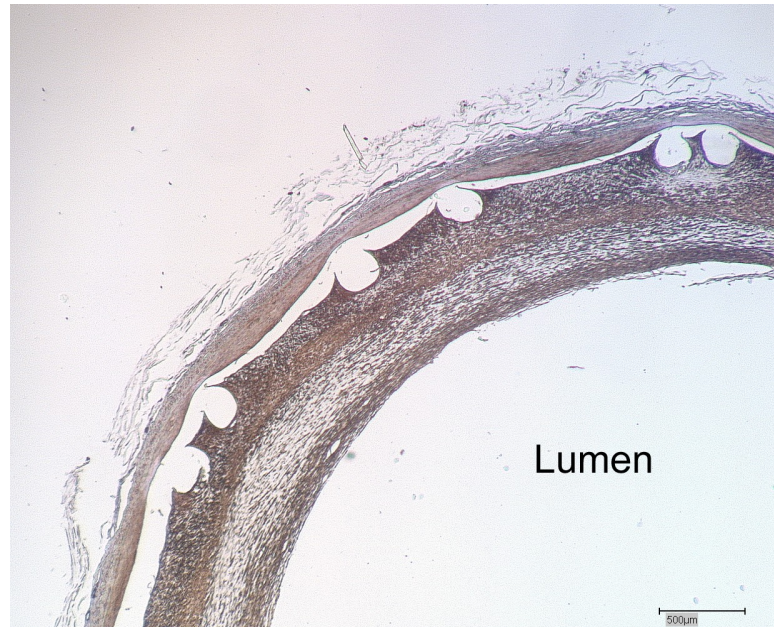


Abb.19. Immunshistochemie, Darstellung der glatten Muskelzellen
25-fache Vergrößerung



Abb 20. Immunhistologie; Darstellung der glatten Muskelzellen
100-fache Vergrößerung, * entfernte Stentstrebe

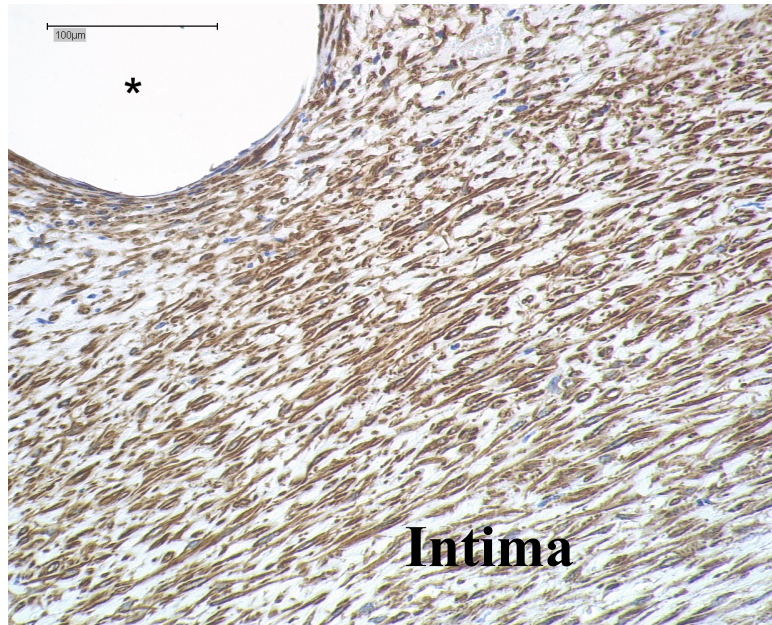


Abb. 21. Immunhistochemie, Darstellung der glatten Muskelzellen
250-fache Vergrößerung, * entfernte Stentstrebe

Der Anteil der Muskulatur an der Neointima war in der Gruppe mit den radioaktiven Stents (Gruppe 1, mittlerer Punktescore 2,38) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 2, mittlerer Punktescore 3,06) vermindert (Abb. 22/23).

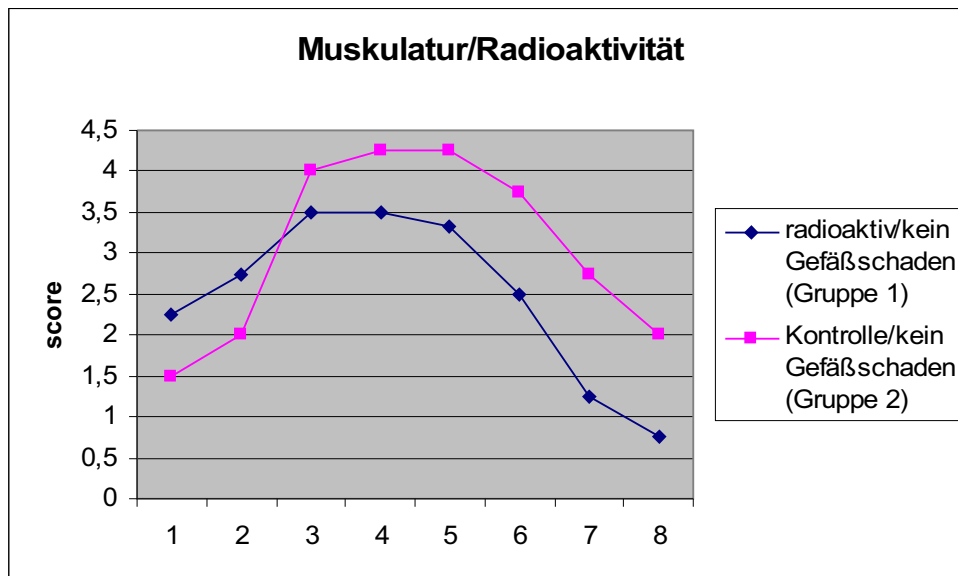
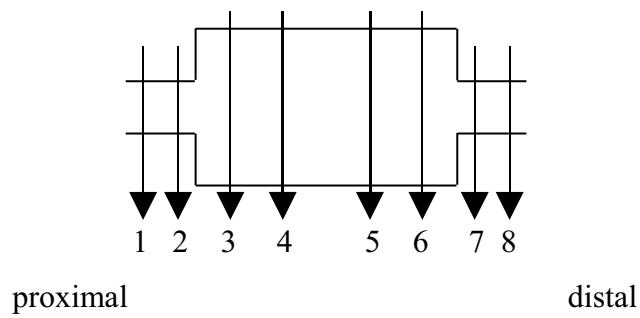


Abb. 22. Ausbildung der Muskulatur in Abhängigkeit der Lokalisation:
radioaktiver Stent vs. Kontrollstent

Tabelle 6. Muskulatur: Punktescore der Gruppen 1-4

<u>Kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
2,38	3,06	2,35	2,77
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

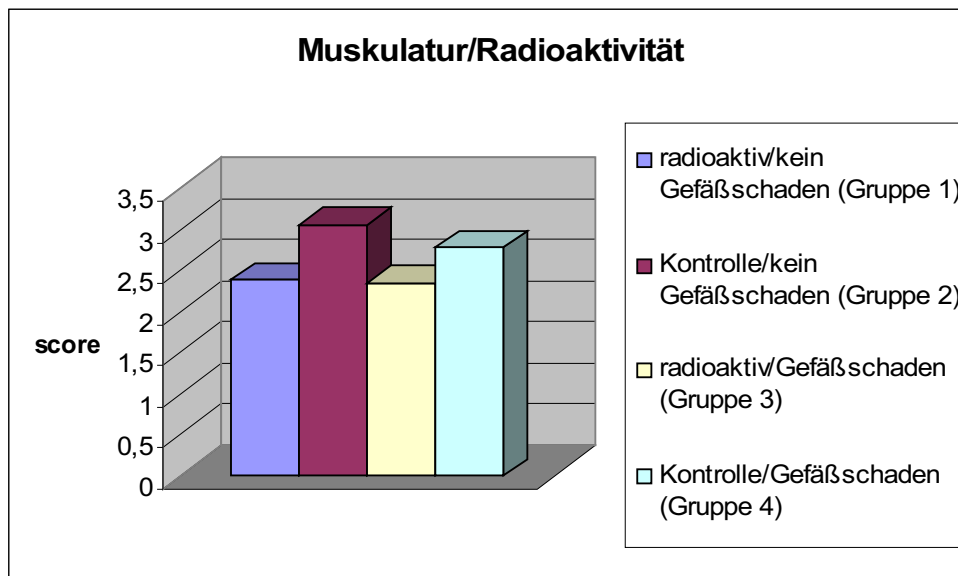


Abb. 23. Übersicht Myozytenausprägung in der Neointima der Gruppen 1-4

Proximal der radioaktiven Stents zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe zwar ein erhöhter Myozytenanteil, innerhalb und distal der Prothesen jedoch mit einem Punktescore von 3,15 vs. 4,06 bzw. 2,0 vs. 2,37 eine geringere Ausprägung. Auch nach Gefäßschädigung war die Muskulatur in der Neointima bei der Gruppe mit radioaktivem Stent (Gruppe 3) geringer ausgeprägt als in der Kontrollgruppe (Gruppe 4)(Abb. 23). Weder der Grad der Stenosierung noch die Dicke der Neointima wurden durch die Ausprägung der Muskulatur in der Neointima signifikant beeinflusst ($p > 0,05$).

4.6 Apoptose

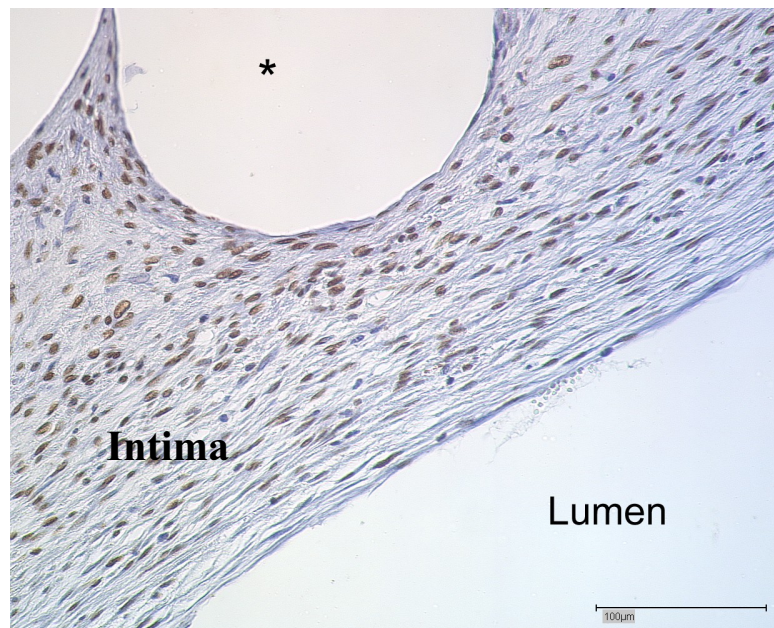


Abb. 24. TUNEL-Färbung, Darstellung der apoptotischen Zellen
100-fache Vergrößerung, * entfernte Stentstrebe

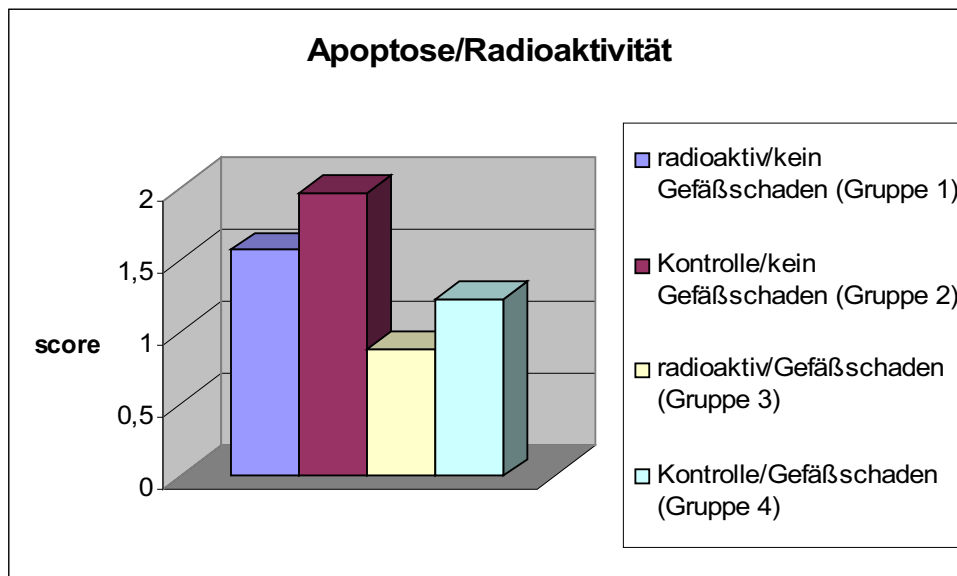


Abb. 26. Übersicht der Apoptose in den Gruppen 1-4

Bei der Gruppe mit den radioaktiven Stents war die Ausprägung der apoptotischen Zellen im Vergleich zur Kontrollgruppe verringert (mittlerer Punktescore 1,57 vs. 1,97) (Abb. 25/26). Dies zeigte sich sowohl im (mittlerer Punktescore 2,29 vs. 2,75) als auch proximal (1,0 vs. 1,38) und distal (0,88 vs. 1,0) des Stents. In den Gruppen mit Gefäßschädigung waren, unabhängig davon ob es sich um Tiere mit radioaktiven Stents (Gruppe 3) oder um die Kontrollgruppe (Gruppe 4) handelte, weniger apoptotische Zellen als bei den Tieren ohne Gefäßschädigung nachweisbar (Abb. 26).

Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse zeigte sich nur auf der linken Implantationsseite ein Einfluß der Radioaktivität auf die Apoptose ($p < 0,05$). Ein Einfluß der Apoptose auf die Stenosierung oder die Neointimadicke konnte statistisch nicht gezeigt werden ($p > 0,05$).

4.7 Thrombosierung

Eine komplette Thrombosierung des Gefäßlumens trat bei keinem der Tiere auf und thrombotische Auflagerungen waren auch nur vereinzelt zu beobachten.

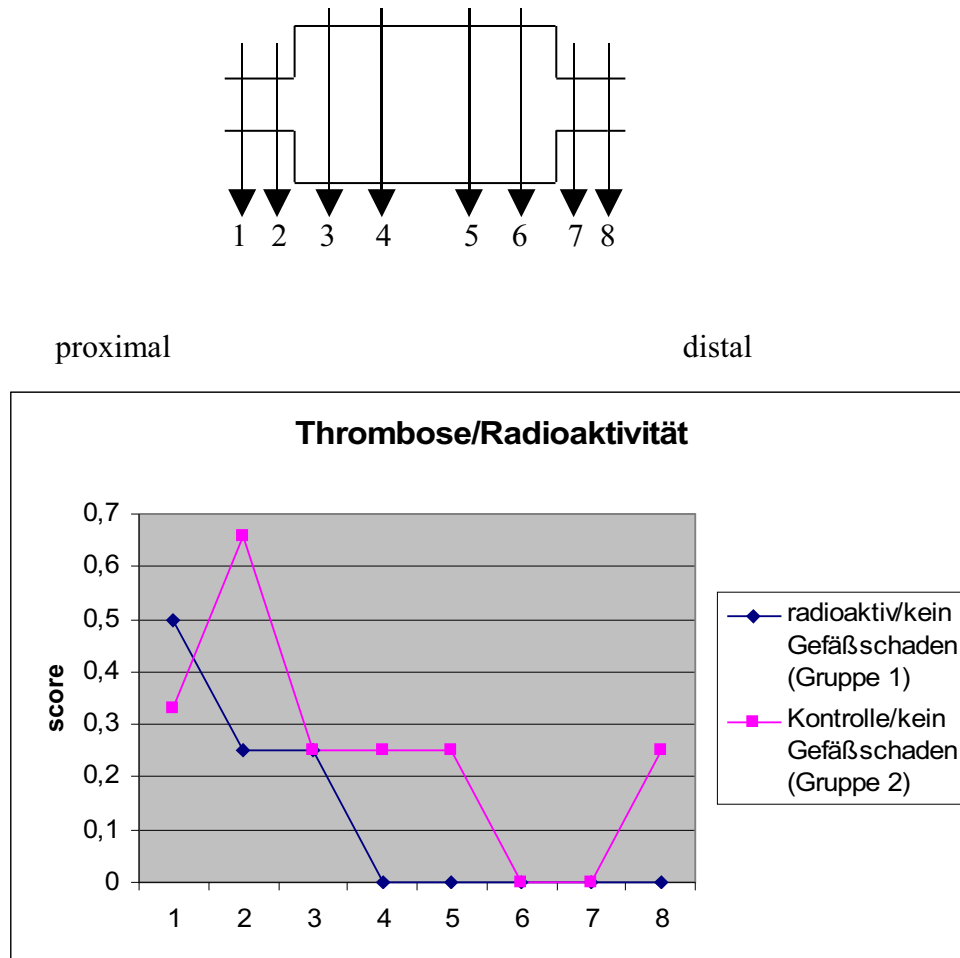


Abb. 27. Ausprägung thrombotischer Auflagerungen in Abhängigkeit der Lokalisation: Radioaktiver Stent vs. Kontrollstent

Tabelle 8. Thrombotische Auflagerungen: mittlerer Punktescore der Gruppen 1-4

<u>Kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
0,13	0,23	0,43	0,54
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

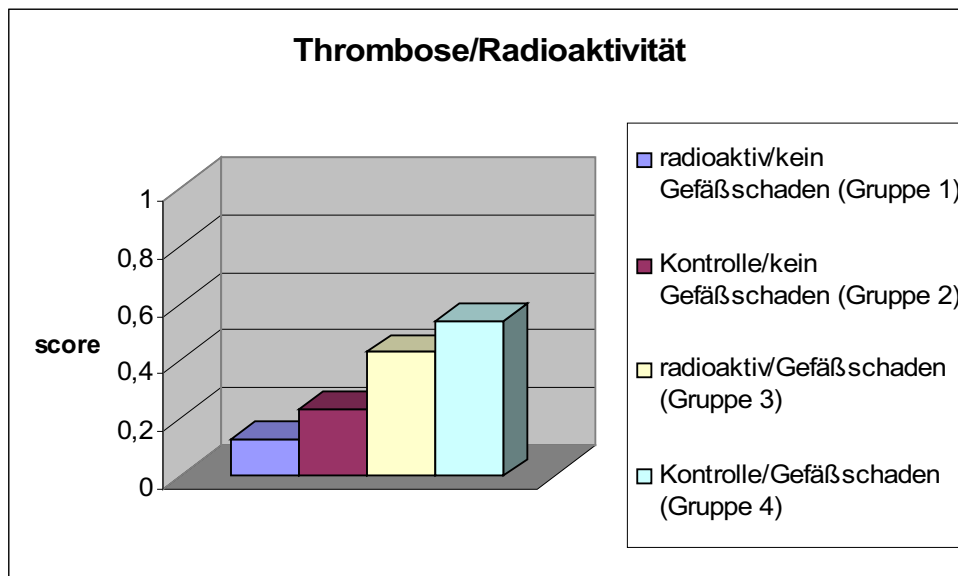


Abb.28. Übersicht thrombotischer Ablagerungen der Gruppen 1-4

Zwischen den Gruppen mit den radioaktiven Stents und den Kontrollgruppen lagen die Scorewerte in vergleichbarer Größenordnung (mittlerer Punktescore bei den radioaktiven Stents (Gruppe 1) 0,13 und bei den Kontrollstents (Gruppe 2) 0,23). Tendenziell zeigte sich bei beiden Gruppen proximal des Stents vermehrt thrombotische Ablagerungen, die nach distal hin seltener auftraten (Abb. 27). Bei den Gruppen mit zusätzlicher Gefäßschädigung waren sowohl bei den Tieren mit radioaktiven Stents (Gruppe 3) als auch in der Kontrollgruppe (Gruppe 4) vermehrt thrombotische Ereignisse nachweisbar als in der jeweiligen Vergleichsgruppe ohne Gefäßschaden (Abb. 28). Bei der mehrfaktoriellen Varianzanalyse zeigte sich auf der rechten Seite, dass die Thrombosierung Einfluß auf die Intimadicke hat ($p < 0,05$). Ein signifikanter Einfluß der Radioaktivität im Hinblick auf die Thrombosierung wurde nicht festgestellt ($p > 0,05$).

4.8 Entzündung

In der Neointima waren nur vereinzelt Entzündungszellen, hauptsächlich Granulozyten, anzutreffen. Eine ausgeprägte entzündliche Reaktion war bei keinem der histologischen Präparate sichtbar.

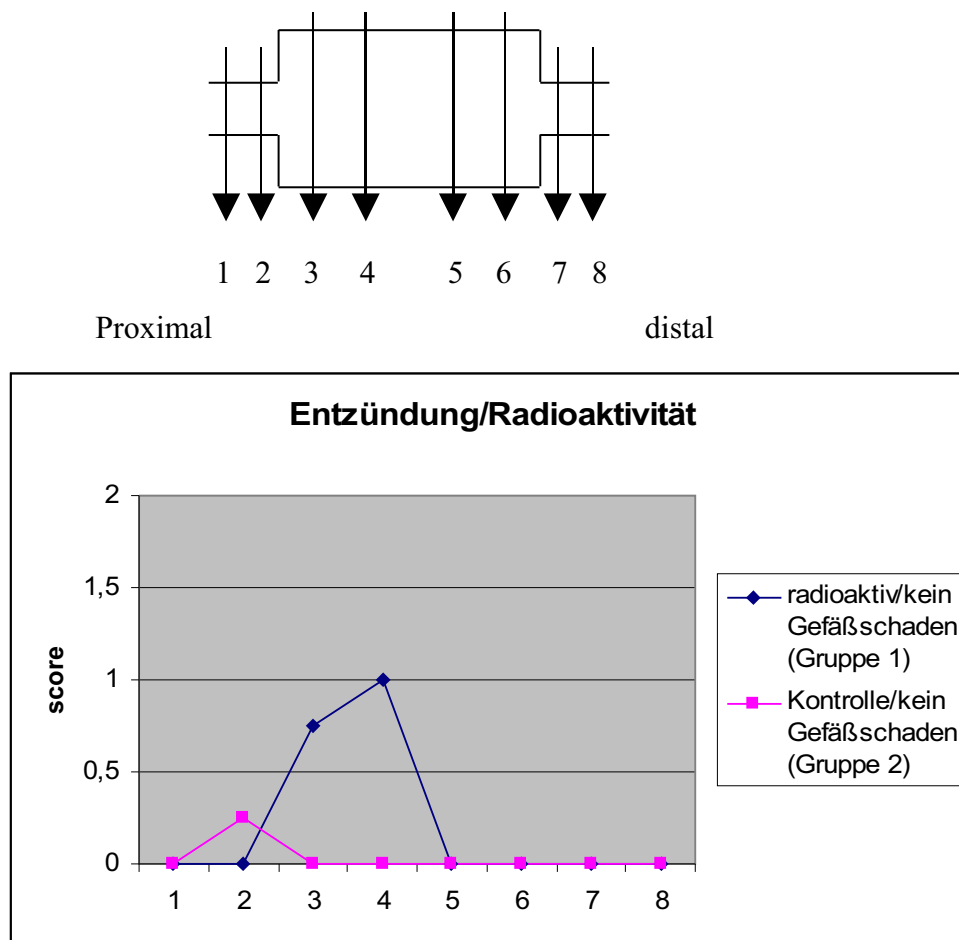


Abb. 29. Entzündungsreaktion in Abhängigkeit der Lokalisation:
radioaktiver Stent vs. Kontrollstent

Tabelle 9. Entzündung: mittlerer Punktescore der Gruppen 1-4

<u>Kein Gefäßschaden</u>		<u>Gefäßschaden</u>	
Radioaktiver Stent	Kontrollstent	Radioaktiver Stent	Kontrollstent
0,21	0,03	0,24	0,08
Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3	Gruppe 4

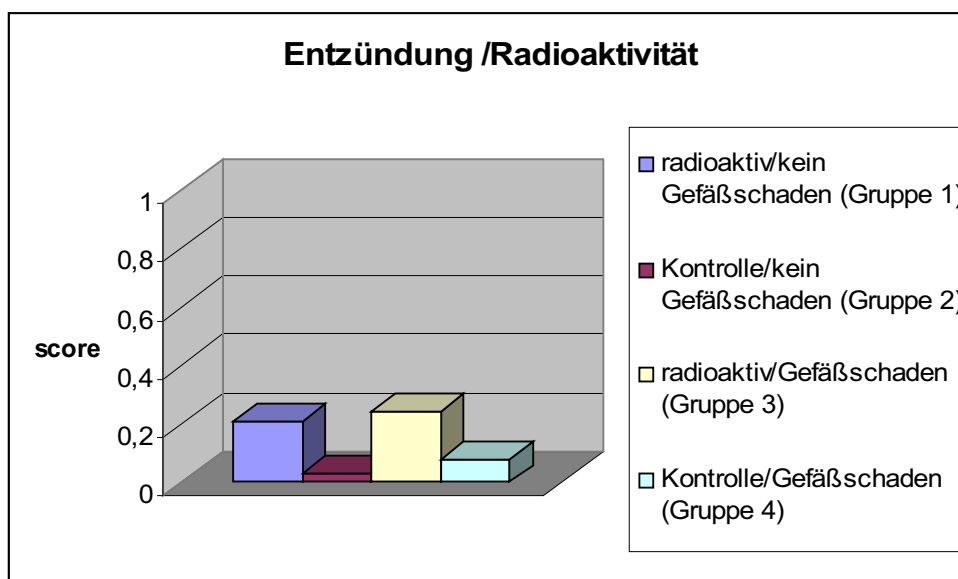


Abb. 30. Übersicht der Entzündungsreaktion in den Gruppen 1-4

In der Gruppe mit radioaktivem Stent (Gruppe 1) zeigte sich im Vergleich zur Kontrollgruppe (Gruppe 2) eine leicht vermehrte Anzahl an Entzündungszelle (Abb 29/30) (mittlerer Punktescore bei den radioaktiven Stents 0,21 gegenüber 0,03 bei den Kontrollstents). Auch bei den Tieren mit zusätzlicher Gefäßschädigung lag der Punktescore in der Gruppe mit radioaktiven Stents (Gruppe 3) mit 0,24 höher als in der Kontrolle (Gruppe 4, Punktescore 0,08). Bei der einfaktoriellen Varianzanalyse war auf der rechten Seite ein signifikanter Einfluß der Radioaktivität auf den Grad der Entzündung festzustellen ($p < 0,05$). Die Entzündung beeinflusste aber weder den Grad der Stenosierung noch die Neointimadicke signifikant ($p > 0,05$).

5. Diskussion

5.1 Radioaktive Stents im Tierversuch

Fischell et al. (27) untersuchten die Auswirkungen eines ^{32}P -markierten Titandrahts (0,002 bis 0,06 μCi) in Zellkulturen im Vergleich zu Kontrolldrähten. Dafür verwendeten sie sowohl glatte Muskelzellen vom Menschen und der Ratte als auch Endothelzellen vom Rind und untersuchten das Proliferationsverhalten der Zellen in der Nachbarschaft zu den Drähten. In beiden Zellkulturen (Mensch/Ratte) der glatten Muskelzellen zeigte sich ab einer Aktivität von 0,006 μCi eine komplette Hemmung der Zellproliferation. Die Endothelzellen erwiesen sich als strahlenresistenter und zeigten erst ab einer Aktivität von 0,019 μCi eine Proliferationshemmung. In den jeweiligen Kontrollgruppen zeigte sich kein Effekt.

Durch den Einsatz des gemischten Beta-/Gammastrahlers $^{188}\text{Rhenium}$ konnte der Anteil glatter Muskelzellen in unseren Untersuchungen in der Intima verringert werden. Die Kombination der zwei Strahlenarten soll eine adäquate Strahlendosis in den lumennahen Gefäßwandabschnitten (β -Strahlung) wie auch in den tiefer gelegenen Gefäßwandabschnitten bzw. im perivaskulären Gewebe (γ -Strahlung) gewährleisten. So kann die radioaktive Strahlung sowohl antimigratorisch auf die glatten Muskelzellen im Bereich der gesamten Gefäßwandtiefe als auch antiproliferativ im Bereich der Neointima wirken.

Ob die Reduktion der glatten Muskelzellen in der Neointima wie von Fischell (27) postuliert als Folge der Proliferationshemmung oder aufgrund einer verminderten Migration der glatten Muskelzellen in die Intima auftritt, ist letztendlich nicht sicher geklärt. Am ehesten ist eine Kombination aus beiden Vorgängen nach Implantation radioaktiver Stents als ursächlich anzunehmen.

Der Einsatz eines reinen Betastrahlers wie z.B. ^{32}P hätte im klinischen Gebrauch den Vorteil, dass die Ganzkörperbelastung des Patienten weniger als 1/10000 wäre im Vergleich zur Strahlenbelastung bei einer Herzkatheteruntersuchung. Zudem wäre durch den steilen Dosisabfall des Betastrahlers die Strahlenbelastung des Personals annähernd Null (27).

Verschiedene Arbeitsgruppen untersuchten daraufhin die Möglichkeit einer Implantation von ^{32}P markierten Stents in tierexperimentellen Studien.

Laird et al. (64) implantierten ^{32}P Stents (0,14 μCi) in die Iliakalgefäße von Schweinen und erreichten eine signifikante Reduktion der Neointimafläche und des Stenosegrades im Vergleich zur Kontrollgruppe. Auch in Koronarien von Schweinen konnte nach 28 Tagen eine

Reduktion der Neointimafläche erzielt werden. Allerdings zeigten sich hier Unterschiede in den verschiedenen Dosisgruppen. In der Niedrigdosisgruppe (0,15-0,5 μCi) und in der Hochdosisgruppe (3,0-23,0 μCi) war die Neointimafläche reduziert, aber in der mittleren Dosisgruppe entwickelte sich eine größere Intimafläche als in der Kontrollgruppe (14).

Die Arbeitsgruppe um Hehrlein implantierte ^{32}P -Stents mit Aktivitäten von 4 und 12 μCi in die Iliakalgefäße von Kaninchen und verglichen die Ergebnisse 4 und 12 Wochen nach Implantation. Nach 4 Wochen war die Intimafläche sowohl in der 4 μCi -Gruppe als auch in der 12 μCi -Gruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant vermindert. Nach 12 Wochen jedoch, war nur die Intimafläche in der 12 μCi -Gruppe signifikant vermindert. Die Arbeitsgruppe vermutete, dass für eine dauerhafte Reduktion der Intimafläche ein Schwellenwert an radioaktiver Strahlung notwendig ist (44).

Unsere Untersuchungen ergaben, dass es nach Implantation radioaktiver Stents (Gruppe 1) zu einem erhöhten Stenosegrad und zu einer größeren Neointimadicke kam als in der Kontrollgruppe (Gruppe 2). Eventuell ist die applizierte Strahlendosis zu gering gewählt worden, so dass kein positiver Effekt der radioaktiven Strahlung auf den Stenosegrad bzw. die Neointimadicke beobachtet werden konnte.

Taylor et al. (95) untersuchten die Auswirkungen von ^{32}P -Stents in Koronararterien von Hunden. Nach 15 Wochen zeigte sich eine dosisabhängige Wirkung, die sich jedoch von den vorherigen Studien unterschied: Die Tiere mit radioaktiven Stents wiesen eine größere Intimafläche auf als die Kontrollgruppe. Bei den Tieren mit radioaktiven Stents war die Intimafläche in der Hochdosisgruppe (6,6-14,4 μCi) im Vergleich zur Niedrigdosisgruppe (3,5-6,0 μCi) ausgeprägter entwickelt. Die Stenosierung des Gefäßlumens war bei den Tieren mit den radioaktiven Stents signifikant höher als in der Kontrollgruppe (44,6% versus 32,7%) und zeigte sich in der Hochdosisgruppe mit 45,5% am deutlichsten.

Auch eine Langzeitstudie von Carter et al. (15) konnte die Erfolge der zeitlich kürzeren Studien der ^{32}P -Stents nicht bestätigen. Die Implantation von ^{32}P -Stent in Schweinekoronarien führte zu einer Zunahme der Neointimafläche gegenüber der Kontrollgruppe. Auch hier war nach sechs Monaten ein dosisabhängiger Effekt festzustellen. Mit Zunahme der Aktivität kam es zu einem Ansteigen der Intimafläche (1 μCi :2,23/0,66 mm^2 , 3,0 μCi :3,39/1,1 mm^2 , 6 μCi : 3,37/1,02 mm^2 , 12 μCi :3,94/1,21 mm^2). Carter et al. diskutierten eine inadäquate kumulative Dosis oder Dosisleistung als mögliche Ursache der Ergebnisse.

5.2 Glatte Muskelzellen

Als Reaktion auf die Angioplastie setzten Prozesse ein, die wieder zu einer Restenosierung des behandelten Gefäßabschnittes führen können. Neben dem „elastic recoil“, dem negativen „remodeling“ und der Thrombenbildung, wird in der Intimahyperplasie eine der Hauptursachen der Restenose gesehen. Die Intimahyperplasie stellt eine Art überschießende Wundheilungsreaktion infolge der Gefäßverletzung dar, bei der die glatten Muskelzellen eine entscheidende Rolle spielen.

Für die Bildung einer Neointima und Entstehung einer Restenose nach Angioplastie werden drei Phasen unterschieden (49):

- 1)die Dedifferenzierung und vermehrte Proliferation glatter Muskelzellen in der Media und von Fibroblasten in der Adventitia
- 2)die anschließende Migration der Zellen in die Intima des Gefäßes
- 3)die vermehrte Synthese von Extrazellulärmatrix der Zellen im Bereich der Intima

„Elastic recoil“ und negatives „remodeling“ können durch die Implantation eines Stents effektiv verhindert werden, so dass die Neointimabildung der limitierende Faktor bleibt (41, 42, 50).

Postmortem Studien an Patienten, die nach einer Stentimplantation verstarben, zeigten dass die Stenosen innerhalb der Stents durch die Proliferation glatter Muskelzellen und die Bildung extrazellulärer Matrix verursacht waren. Die Stenosen der Patienten, die durch eine alleinige Ballondilatation behandelt wurden, waren hingegen durch eine Kombination aus negativem „remodeling“ und Intimahyperplasie entstanden (26, 38, 56).

Untersuchungen am Rattenmodell konnten eine positive Korrelation zwischen dem Ausmaß der Gefäßverletzung und der Proliferation glatter Muskelzellen feststellen. Der Proliferationsanstieg glatter Muskelzellen ist mit einem proportionalen Anstieg der Expression des c-fos Protoonkogen und in der Folge mit einer gesteigerten Neointimabildung assoziiert. Unverletzte Kontrollgefäße wiesen weder eine Expression des c-fos Protoonkogen noch die Bildung einer Neointima auf (52).

Verglichen mit der alleinigen Ballondilatation ist die Stentimplantation mit einer ausgeprägteren Gefäßverletzung verbunden (57). Die Implantation der Gefäßprothese führt zu einem chronischen Schaden der Gefäßwand im Vergleich zur akuten, zeitbegrenzten Verletzung im Rahmen der Ballonangioplastie (25).

Die Implantation radioaktiver Stents führte bei unseren Untersuchungen zu einer Verminderung glatter Muskelzellen in der Neointima verglichen mit der Kontrollgruppe. Bei der Betrachtung der Ergebnisse hinsichtlich der Gefäßschädigung zeigte sich, dass die Neointima der radioaktiven Stents sowohl ohne als auch mit zusätzlicher Gefäßschädigung einen geringeren Anteil an glatten Muskelzellen aufwiesen als die Kontrollgruppe (Gruppe 2). Innerhalb der Gruppe mit radioaktiven Stents war die Anzahl der glatten Muskelzellen, unabhängig ob mit oder ohne Gefäßschädigung annähernd gleich ausgeprägt.

Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass durch radioaktive Strahlung die Intimahyperplasie nach Stentimplantation vermindert werden kann (44, 108).

Die ionisierende Strahlung führt zu einer Hemmung der Proliferation glatter Muskelzellen und zu einer verminderten Matrixbildung (27, 43). Es ist ein bekannter strahlenbiologischer Effekt, dass Zellen während der (reparativen) Zellteilung in der Mitosephase stärker auf applizierte Strahlung reagieren, als ruhende Zellen. Gefäße, die durch eine Stentimplantation verletzt wurden, weisen eine höhere Rate an Reparationsvorgängen auf und sind demnach strahlenempfindlicher als unverletzte Gefäße. Der antiproliferative Effekt ionisierender Strahlung auf Zellen mit hoher Zellteilungsrate wird sich seit Jahren auch bei der Behandlung maligner Tumoren zu Nutze gemacht.

Nach Stentimplantation setzt bei den glatten Muskelzellen eine zweigestaffelte Proliferationskinetik ein. Das erste Teilungsmaximum glatter Mediamyozyten liegt am 2. Tag, und das neointimaler Myozyten zwischen dem 4.-7. Tag nach Intervention. Bis zum 14. Tag sind erhöhte Mitoseraten feststellbar, die nach vier Wochen wieder im Normbereich liegen (5, 13). Aufgrund dieser Proliferationskinetik nach Stentimplantation wäre ein Nuklid mit hoher Kurzzeitaktivität und einer schwach aktiven Dauerkomponente, die der chronischen Gewebsirritation durch den Stent entgegenwirkt, wünschenswert. Ein $^{188}\text{Rhenium}$ -Stent kann, verglichen mit einer ^{32}P - oder ^{186}Rh -Beschichtung, durch seine kürzere Halbwertszeit (Halbwertszeiten: $^{188}\text{Rh}=17\text{h}$; $^{186}\text{Rh}=90,6\text{h}$; $^{32}\text{P}=14,2\text{d}$) bei gleicher Kumulativer Dosis eine höhere initiale Dosisleistung abgeben (49). Dies hat den Vorteil, dass die Bestrahlungsdosis innerhalb weniger Tage nach Stentimplantation, also während des initialen Proliferationsreizes durch die Gefäßverletzung, appliziert wird.

Unsere Ergebnisse nach vier Wochen weisen darauf hin, dass die Implantation von $^{188}\text{Rhenium}$ -Stents zu einer Hemmung der Proliferation glatter Muskelzellen und in der Folge zu einer Reduktion glatter Muskelzellen in der Neointima führt.

5.3 Einfluß der Gefäßwandschädigung und der Entzündung auf die

Restenose

Im Rahmen der Ballonangioplastie und/oder Stentimplantation werden Schäden an der Gefäßwand verursacht. Dabei kommt es in Abhängigkeit des Ausmaßes der Traumatisierung zu einer Zerstörung von verschiedenen Gefäßwandstrukturen. Schwartz et al. (86) teilten diese Gefäßwandschädigung in vier Schweregrade ein:

Grad 0 = Kompression der Membrana elastica interna und der Media

Grad 1 = Zerstörung der Membrana elastica interna mit Kompression der Media

Grad 2 = Zerstörung der Membrana elastica interna und der Media,
Membrana elastica externa bleibt intakt

Grad 3 = Zerstörung der Membrana elastica interna, der Media und der
Membrana elastica externa

Vor allem die strukturelle Integrität der Membrana elastica interna scheint bei der Minimierung der Neointimaprolieration eine wichtige Rolle zu spielen. Im Falle der Ruptur der Membrana elastica interna kommt das Blut in Kontakt mit dem Mediagewebe, was zu einer Thrombozytenaggregation und in der Folge zu einer Gewebeproliferation führt. Die Ruptur der Membrana elastica interna ist zwar keine Voraussetzung für eine Proliferation, scheint aber diesen Prozeß entscheidend zu fördern (86, 94).

Unsere Ergebnisse zeigen, dass es durch die Gefäßwandschädigung bei den nicht radioaktiven Stents (Kontrollstents) sowohl zu einer Zunahme der Neointimadicke als auch zu einer Erhöhung des Stenosegrades kommt. Ein Unterschied hinsichtlich der Entzündungsreaktion zwischen der Gruppe mit Gefäßwandschädigung und ohne Gefäßwandschädigung war nicht nachweisbar. Weder die Neointimadicke noch der Grad der Stenosierung wurde durch die Entzündung signifikant beeinflusst.

Bei Untersuchungen an Schweinekoronarien stellten Schwartz et al. (86) fest, dass eine starke Korrelation zwischen der Schwere der Gefäßwandschädigung nach Stentimplantation und der Neointimadicke bzw. dem Stenosegrad besteht. Die proportionale Antwort auf die Gefäßschädigung ließ die Arbeitsgruppe vermuten, dass es sich bei der Neointimahyperplasie um mehr handelt als nur um eine einfache „Fremdkörperreaktion,, auf den Stent.

Kornowski et al. (61) konnten diese Ergebnisse bestätigen. Zudem zeigten sie, dass eine Korrelation zwischen Ausmaß der Gefäßverletzung und der Entzündungsreaktion bzw. zwischen der Entzündungsreaktion und der Neointimadicke, dem Stenosegrad und der Intimafläche besteht. Die Bildung der Neointima kann zwar unabhängig voneinander sowohl durch die Entzündungsreaktion als auch durch die Gefäßwandverletzung verursacht werden, erreicht aber ihr Maximum, wenn beide in Kombination auftreten.

Eine aggressive Stentimplantation z.B. durch einen hohen Inflationsdruck des Ballons führt zu einer Gewebeproliferation innerhalb des Stents und in den angrenzenden Bereichen (51). Durch den Einsatz selbstexpandierender Nitinol-Stents kann eine schonendere Stentimplantation durchgeführt werden mit einer Minderung der Gefäßwandschädigung. Unsere Untersuchungen zeigten, dass es nach Implantation von selbstexpandierenden Nitinolstents nach Gefäßschädigung zu einer deutlich dickeren Neointimabildung und Stenosierung kam als ohne Gefäßschädigung. Auffällig bei den Ergebnissen war, dass die Intimadicke in der Gruppe mit radioaktivem Stent (Gruppe 1) größer war als in der Gruppe mit Kontrollstent (Gruppe 2). Dies könnte darauf zurückzuführen sein, dass die radioaktiven Stents eine leicht erhöhte Entzündungsreaktion aufwiesen, was als Proliferationsreiz gewirkt haben könnte.

Die Minimierung des Gefäßwandschadens durch selbstexpandierende Nitinol-Stents in Kombination mit entzündungshemmenden Medikamenten könnte zur Prävention der Restenose beitragen.

5.4 Intimadicke und Stenosegrad

Verschiedene Studien wiesen nach, dass der Grad der Gefäßverletzung mit dem Ausmaß der Neointimadicke und dem Stenosegrad korreliert und somit Einfluß auf die Restenosierung nach Angioplastie nimmt (86, 13). Unsere Untersuchungen unterstützen diese Ergebnisse und zeigen, dass eine zusätzliche Gefäßverletzung durch ein Fogartymanöver nach Implantation eines nicht radioaktiven Stent (Kontrollstent) zu einer Steigerung der Neointimadicke und zu einer Erhöhung des Stenosegrades führt. Durch den Einsatz radioaktiver Stents konnte weder eine Reduktion der Neointimadicke noch eine Verminderung des Stenosegrades erreicht werden. Auffällig war jedoch, dass die Gruppe mit radioaktiven Stents und mit Gefäßwandschaden (Gruppe 3) eine geringere Neointimadicke und einen verminderten Stenosegrad aufwies als die Gruppe mit radioaktiven Stents und ohne Gefäßwandschaden (Gruppe 1). Dies könnte daraufhinweisen, dass der positive Effekt der radioaktiven Strahlung auf die Neointimabildung und den Stenosegrad besonders in geschädigten Gefäßabschnitten

zum Tragen kommt. Hier ist die Mitoserate der Zelle erhöht, was sie empfindlicher für die Wirkung der ionisierenden Strahlung macht (12).

Verschiedene Arbeitsgruppen versuchten durch den Einsatz endovaskulärer Bestrahlung mit ¹⁹²Iridium nach Gefäßverletzung positiven Einfluß auf die Neointimadicke und den Stenosegrad zu nehmen. Als Tiermodelle wurden Schweine verwendet, bei denen in den Koronararterien durch Ballonangioplastie ein Gefäßtrauma verursacht wurde. Waksman und Mitarbeiter (100) erreichten mit einer Strahlendosis von 7 bzw. 14 Gy nach zwei Wochen eine signifikante Reduktion der Neointimadicke. Durch eine um zwei Tage verzögerte Bestrahlung des verletzten Gefäßabschnitts mit 7 Gy konnte die Neointimadicke sogar weiter vermindert werden. Untersuchungen hinsichtlich der Stenosierung zeigten 30 Tage nach Bestrahlung (20 Gy) einen Stenosegrad von 17,6% verglichen mit 47,6% bei der Kontrollgruppe (108).

Karas et al. (57) verglichen den Stenosegrad und die Neointimadicke nach Ballondilatation und Stentimplantation. Nach Stentimplantation kam es sowohl zu einer Erhöhung der Gefäßwandverletzung als auch zu einer Steigerung der Neointimadicke im Vergleich zur Ballondilatation. Hinsichtlich des Stenosegrades ergaben sich nach Stentimplantation und Ballondilatation vergleichbare Ergebnisse (23% vs. 21%).

Die Stentimplantation war zwar mit einer gesteigerten Neointimabildung assoziiert, führte aber durch Verhinderung des „elastic recoil“ durch die Gefäßprothese zu einem größeren Gefäßlumen (3,1mm² vs. 2,2mm²).

Um sich sowohl den beschriebenen antiproliferativen Effekt (27) der radioaktiven Strahlung als auch die mechanische Stabilität der Gefäßprothesen hinsichtlich des „elastic recoil“ zunutze zu machen, besteht die Möglichkeit den Einsatz von Radioaktivität und Stents zu kombinieren.

Bei den Untersuchungen der Forschungsgruppe um Laird (64) konnte durch die Implantation von ³²P-Stents in die Femoralarterie von Schweinen nach 28 Tagen eine signifikante Reduktion sowohl des Stenosegrades (radioaktive Stents: 24,6%; Kontrollstents: 36,0%) als auch der Neointimadicke (radioaktive Stents: 0,26mm; Kontrollstents: 0,38mm) erreicht werden.

Bei unseren Untersuchungen konnte durch den Einsatz radioaktiver Stents weder eine Reduktion der Neointimadicke noch eine Verminderung des Stenosegrades erreicht werden, was eventuell auf eine inadäquate Strahlendosis zurückzuführen ist (mittlere applizierte Strahlendosis 21,55 Gy) mit der Folge einer vermehrten Matrixbildung.

Carter et al. (14) untersuchten den Stenosegrad in Abhängigkeit der applizierten Strahlendosis. Dafür wurden die Versuchstiere vier verschiedenen Gruppen zugeteilt (Niedrigdosisgruppe: <20Gy; Mitteldosisgruppe: 40Gy; Hochdosisgruppe: >100Gy; Kontrollgruppe) und die Ergebnisse 28 Tage nach Stentimplantation verglichen. In der Niedrigdosisgruppe und in der Hochdosisgruppe konnte eine Reduzierung des Stenosegrades erreicht werden, wohingegen es in der Mitteldosisgruppe zu einem Anstieg des Stenosegrades im Vergleich zur Kontrollgruppe kam. Die Neointima der Mitteldosisgruppe war durch eine proteoglykanreiche Matrix und glatte Muskelzellen gekennzeichnet. Die Arbeitsgruppe vermutete, dass die Dosis in der Mitteldosisgruppe nicht ausreichend hoch war um die Proliferation der glatten Muskelzellen zu inhibieren und so zu einer ausgeprägteren Gewebeantwort führte als die Hochdosisgruppe. Die im Vergleich zur Niedrigdosisgruppe verzögerte Endothelialisierung wurde als mögliche Ursache einer gesteigerten Thrombozytenaggregation und -aktivierung mit der Folge einer erhöhten Matrixproduktion diskutiert. Bei unseren Untersuchungen wiesen die radioaktiven Stents ein geringer ausgebildetes Endothel auf als die Kontrollstents, was zusammen mit einer inadäquaten Strahlendosis zu einer größeren Neointimadicke bzw. zu einem erhöhten Stenosegrad geführt haben könnte.

Die SCRIPPS-Studie (Scripps Coronary Radiation to Inhibit Proliferation Post Stenting) ist die erste randomisierte, klinische Studie, die die Effektivität und Sicherheit der endovaskulären Strahlentherapie nach Stentimplantation untersuchte. In dieser Studie wurden 55 Patienten nach Stentimplantation entweder einer Behandlung mit dem Gammastrahler ¹⁹²Iridium oder einer Placebothherapie zugeführt. Nach sechs Monaten betrug die angiographisch messbare Restenoserate 17% bei der ¹⁹²Iridiumgruppe und 54% bei der Placebogruppe (96).

5.5 Endothelialisierung und Thrombosierung

Das Gefäßendothel stellt ein multifunktionelles Gewebe dar, das alle luminalen Oberflächen von Herz, Blut- und Lymphgefäßen auskleidet. Die Endothelzellen erfüllen im Wesentlichen drei Hauptaufgaben (31):

1. Aufbau einer partiell durchlässigen Barriere zwischen Blut und Interstitium
2. Verhinderung der spontanen Blutgerinnung (antithrombogene Oberfläche)
3. Kontrolle des Tonus der Gefäßmuskulatur

Unter pathophysiologischen Bedingungen wie z.B. bei Entzündung oder mechanischer Gefäßverletzung fördert das Endothel die Blutgerinnung (prothrombogene Eigenschaften) und verliert seine Barrierefunktion gegenüber Blutproteinen und Blutflüssigkeiten (Permeabilitätssteigerung) (31).

Auch die Ballonangioplastie bzw. die Stentimplantation mit nachfolgender Bestrahlung führt zu einer Zerstörung bzw. verzögerten Regeneration des Endothels (80, 44).

Hehrlein und Mitarbeiter (44) untersuchten die Endothelialisierung von ^{32}P -Stents im Vergleich zu Kontrollstents in Kaninchenarterien. Nach vier Wochen war zwar in allen Gruppen eine Endothelregeneration festzustellen, die Endothelialisierung der radioaktiven Stents war jedoch schwächer ausgeprägt als in der Kontrollgruppe. Zudem zeigte sich eine dosisabhängige Abnahme der Endothelzelldichte: Die Endothelzellen in der Gruppe mit höherer Aktivität ($13\mu\text{Ci}$) waren weniger dicht als bei der Gruppe mit niedrigerer Aktivität ($4\mu\text{Ci}$). Im weiteren Verlauf (Beobachtungszeitraum: 4-12 Wochen) nahm die Endothelialisierung weiter zu und es kam zur Reendothelialisierung der radioaktiven Stents.

Unsere Ergebnisse zeigten nach vier Wochen sowohl in der Gruppe mit radioaktiven Stents als auch in der Kontrollgruppe eine nur schwach ausgebildete Endothelialisierung, wobei die Endothelzellschicht der Kontrollstents eine etwas höhere Dichte aufwies als die der radioaktiven Stents. Da der Beobachtungszeitraum nur auf vier Wochen ausgelegt war, müsste in weiteren Versuchen untersucht werden, ob die Radioaktivität nur zu einer verzögerten Reendothelialisierung führt oder es generell zu einer verminderten Endothelausbildung als Folge der radioaktiven Strahlung kommt.

Taylor et al. (95) implantierten radioaktive Stents ($6\mu\text{Ci}$) in Hundekoronarien und untersuchten inwieweit die Stents nach drei Monaten reendothelialisiert waren. Obwohl ebenfalls ^{32}P -Stents mit vergleichbarer Aktivität verwendet wurden, konnten die Ergebnisse

von Hehrlein et al. nicht bestätigt werden und es zeigte sich eine stark verzögerte Reendothelialisierung bei den radioaktiven Stents. Taylor machte die unterschiedlichen Tierspezies, das unterschiedliche Alter der Tiere sowie Unterschiede im Tiermodell (periphere Gefäße vs. Koronararterien) für die divergierenden Ergebnisse verantwortlich. Zudem könnte das Ausmaß der Endothelregeneration abhängig von den verschiedenen Materialeigenschaften der verwendeten Stents (Nitinol/Metall) sein (95). Auch die applizierte Strahlendosis bzw. die verwendete Strahlenart könnte eine Rolle für die Endothelialisierung spielen.

Bei den von uns verwendeten ^{188}Rh Stents kam es nach 4 Wochen sowohl zu einer geringer ausgeprägten Endothelzellschicht als auch zu einer Verminderung der glatten Muskelzellen in der Neointima im Vergleich zu den Kontrollstents. Im Idealfall sollte durch die applizierte Strahlendosis eine Hemmung der Proliferation der glatten Muskelzellen erreicht werden, ohne dauerhafte Beeinträchtigung der gefäßprotektiven Endothelzellschicht.

Henning et al. (49) untersuchten die dosisabhängigen Auswirkungen des kombinierten beta-gamma-Emitters $^{188}\text{Rhenium}$ auf humane Endothelzellen und humane glatte Muskelzellen in vitro. Die Bestrahlung führte in beiden Zelllinien zu einer dosisabhängigen Wachstumsinhibition und einer Abnahme der klonogenen Aktivität. Bei den Endothelzellen war 20 Tagen nach Bestrahlung bei einer Gesamtdosis von 4 Gy eine weitgehende, bei einer Gesamtdosis von 16 Gy eine teilweise Erholung der Endothelzellen zu beobachten. Die glatten Muskelzellen hingegen erwiesen sich als strahlensensibler. Bei einer Gesamtdosis von 4 Gy war eine starke Beeinträchtigung sowohl der Proliferation als auch der klonogenen Aktivität festzustellen. Die Applikation einer Gesamtdosis von 16 Gy führte in einem Beobachtungszeitraum von 30 Tagen zu einem vollkommenen Wachstumsstopp und einer maximal eingeschränkten klonogenen Aktivität. Die humanen glatten Muskelzellen erwiesen sich also als strahlensensibler als die humanen Endothelzellen. Diese Ergebnisse konnten von Kotzerke et al. bestätigt werden (62). Die Wahl der richtigen Aktivität könnte im optimalen Fall dazu führen, dass eine Hemmung der Proliferation der glatten Muskelzellen, die hauptsächlich für die Restenoseentstehung verantwortlich sind, ohne Beeinträchtigung der Reendothelialisierung erreicht wird.

5.6 Thrombose

Die Konsequenzen einer verzögerten Reendothelialisierung nach Stentimplantation bzw. nach Bestrahlung sind bisher noch nicht endgültig geklärt. Waksman vermutet, dass durch die Thrombogenität des Stentmaterials und aufgrund der verzögerten Reendothelialisierung

infolge der Radioaktivität die Thrombosegefahr nach Stentimplantation ansteigt.

Akute Thrombosen treten während oder kurz nach der Intervention auf. Kommt es innerhalb der nächsten 30 Tage zu einer Thrombose spricht man von einer subakuten Thrombose (103). Die Thromben entstehen durch Akkumulation von Thrombozyten, Fibrin und Erythrozyten (87). Durch Änderung der periinterventionellen Medikation und Entwicklung schonenderer Implantationstechniken konnte die Inzidenz kompletter subakuter Stentthrombosen auf unter 1% gesenkt werden (25). Trotzdem bleibt das Problem der potentiellen Thrombogenität von Stents und der Gefäßwand nach Angioplastie weiterhin bestehen.

Nach Waksman ist von einer späten Thrombose zu sprechen, wenn es ein bis sechs Monate nach Intervention zu einem angiographisch darstellbaren totalen Verschuß des Gefäßes kommt. Als mögliche Ursachen der späten Thrombose nach Bestrahlung diskutiert Waksman eine verspätete Endothelregeneration, nicht verheilte Dissektionen, Gewebserosionen im Bereich der Stentstreben, fibrinreiche und gering organisierte Thromben sowie Gefäßspasmus (103).

Salame und Mitarbeiter (80) stellten bei ihren Untersuchungen an Schweinekoronarien fest, dass es einen Monat nach Ballonangioplastie und Bestrahlung mit Hilfe eines Katheters in den behandelten Gefäßabschnitten zu einer dosisabhängigen (0Gy, 15Gy, 30Gy) Steigerung der Thrombozytenaktivierung und –adhäsion kam. Das Thrombenmaterial war fibrinreich und unorganisiert. Die verzögerte „Wundheilung“ und Reendothelialisierung nach der Bestrahlung wurde für die erhöhte Thrombogenität verantwortlich gemacht. Andere Studien konnten zwar die verzögerte Reendothelialisierung von radioaktiven Stents bestätigen, stellten aber keine erhöhte Thrombogenität der bestrahlten Gefäßabschnitte fest (43, 44). Auch bei unseren Untersuchungen kam es nach vier Wochen, trotz einer nur mäßig ausgebildeten Endothelzellschicht, weder bei den Tieren mit radioaktiven Stents noch bei der Kontrollgruppe zu einer kompletten Thrombosierung des Gefäßlumens und auch thrombotische Auflagerungen waren nur vereinzelt zu beobachten. Hierbei ist kritisch anzumerken, dass bei unserem Versuchsaufbau die iliakal platzierten Stents vor der Explantation über die liegenden Schleusen mit heparinisierter Kochsalzspülung durchgespült wurden, um so einer postmortalen Blutgerinnselbildung entgegenzuwirken. Dabei könnte es auch zu einer Auflösung der intravital entstandenen Thromben gekommen sein.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der Studien könnte auch dadurch erklärt werden, dass die Strahlendosis bei den radioaktiven Stents über einen längeren Zeitraum abgegeben wird,

wohingegen die endovaskuläre Brachytherapie durch eine hohe Strahlendosis über einen kurzen Zeitraum charakterisiert ist. Zudem könnte sich auf unsere Ergebnisse positiv ausgewirkt haben, dass sich in früheren Untersuchungen Nitinolstents weniger thrombogen darstellten als handelsübliche Stahlstents (91).

5.7 Apoptose

Die Gesamtzellzahl in jedem Gewebe ist sowohl von der Proliferationsrate als auch von der Rate des Zelltods (Absterberate) abhängig. Die Apoptose stellt eine Form des Zelltods dar und geht im Gegensatz zur Nekrose ohne Entzündungsreaktion einher.

Sie ist ein genetisch determiniertes Programm und führt zur Elimination von Zellen, ohne die strukturelle und funktionelle Einheit des Gewebes zu stören.

Im Rahmen der Embryogenese, bei Gewebsregeneration z.B. nach Sonnenbrand sowie bei Zellerneuerung, Atrophie oder Metamorphose lässt sich Apoptose nachweisen. Zudem kann sie durch Zytostatikabehandlung oder durch ionisierende Strahlung bei der Bekämpfung von Tumorgewebe induziert werden (12, 97). Auch in arteriosklerotischen oder restenotischen Geweben konnte Apoptose nachgewiesen werden, wo ihr wohl die Aufgabe zukommt, in „pathologischen“ Gefäßabschnitten die Zellzahl zu regulieren (53, 40).

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen, die keinen signifikanten Einfluß der Apoptose auf den Grad der Stenosierung und die Neointimadicke aufwiesen, zeigten Durand et al. in ihren Untersuchungen an Kaninchen, dass eine inverse Korrelation zwischen dem Grad der Apoptose und dem Ausmaß der Restenosierung nach Angioplastie besteht (24). Je höher der Anteil der apoptotischen Zellen, desto geringer das Ausmaß der Restenose. Zudem konnte eine inverse Korrelation zwischen dem Grad der Apoptose und der Zelldichte in humanen Atherektomieproben von Primär- und Restenoseläsionen nachgewiesen werden (9). Diese Ergebnisse legen nahe, dass neben der Migration und Proliferation glatter Muskelzelle, der Matrixbildung und den Remodellierungsprozessen auch der verminderte programmierte Zelltod (Apoptose) eine Rolle bei der Restenoseentstehung spielt.

Unsere Ergebnisse weisen nach alleiniger Stentimplantation eine erhöhte Apoptoserate auf im Vergleich zur Stentimplantation mit Gefäßverletzung durch ein Fogarty-Manöver. Dies weist daraufhin, dass durch die zusätzliche Gefäßschädigung eine Störung im zellulären Regulationsprozeß ausgelöst wird, die zu einer verminderten Apoptoserate führt. Ein vermindeter programmierter Zelltod (Apoptose) kann so durch eine verlängerte

Überlebenszeit glatter Muskelzellen zu einer Anhäufung von Zellen in der Gefäßwand führen und so zur Restenosierung nach Angioplastie beitragen.

In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass durch eine Ballonangioplastie Apoptose induziert werden kann (11, 40). Kollum et al. (59) stellten weiterhin fest, dass sowohl durch Ballonangioplastie als auch durch Stentimplantation direkt Apoptose von Zellen ausgelöst werden kann, aber die Apoptoserate nach Stentimplantation höher liegt. Dies könnte durch eine chronische Gefäßverletzung durch den Stent verursacht sein, denn auch Bauriedl und seine Mitarbeiter stellten fest, dass die Apoptoserate in chronischen Primärläsionen höher lag als bei akuten Restenosen (9).

Inwieweit der programmierte Zelltod durch radiogene Strahlung induziert werden kann ist bisher noch unklar. Verschiedene Studien berichten über eine strahleninduzierte Apoptose glatter Muskelzellen im Kaninchenmodell (99, 46). Gajdusek et al. (35) zeigten in vitro an glatten Muskelzellen, dass die Bestrahlung proliferierender Zellen zum klonalen Zelltod, nicht aber zur Apoptose führt. Auch Waksman et al. (103) konnten im Schweinemodell in-vivo bestätigen, dass eine Bestrahlung zu keiner gesteigerten Apoptose führt.

Unsere Untersuchungen zeigten, dass es nach Implantation radioaktiver Stents weder zu einer Verminderung der Neointimadicke noch zu einer Abnahme des Stenosegrades kam. Hierbei könnte eine Rolle gespielt haben, dass die Gruppe mit den radioaktiven Stents (Gruppe 1) eine geringere Apoptoserate aufwies als die Kontrollgruppe (Gruppe 2).

Im Gegensatz hierzu traten nach Implantation von ^{32}P -Stents in Kaninchenarterien gehäuft apoptotische Zellen auf und waren in Abhängigkeit von der Stentakivität vermehrt nachweisbar (46). Bei einer Aktivität von 6 μCi kam es zu einer signifikanten Vermehrung apoptotischer Zellen in der Neointima. Zudem korrelierte die Induktion der Apoptose mit der dosisabhängigen Verringerung der Zelldichte und der Schrumpfung der Neointima (46).

Dass es erst nach 4-12 Wochen nach Implantation der ^{32}P -Stents zu einer Vermehrung der apoptotischen Zellen kam und unser Untersuchungsendpunkt auf 4 Wochen festgelegt war sowie die Tatsache, dass unsere Untersuchung an einer anderen Tierspezies durchgeführt wurde, könnte die divergierenden Ergebnisse erklären.

6. Zusammenfassung

Die Restenose nach Angioplastie stellt ein großes klinisches und volkswirtschaftliches Problem dar. Durch den gezielten Einsatz von Stents konnte die Restenoserate zwar verringert werden, bleibt jedoch als limitierender Faktor bestehen. Verschiedene Arbeitsgruppen konnten zeigen, dass durch den Einsatz von Radioaktivität positiv Einfluß auf die Restenosierung nach Angioplastie genommen werden kann.

Der Schwerpunkt der Arbeit basiert auf der Untersuchung der Auswirkungen von ¹⁸⁸Rhenium-Stents auf die Neointimadicke sowie den Stenosegrad und die histologischen Parameter (Neo)Endothelialisierung, Ödembildung, Apoptose, Entzündung, Thrombosierung und den Anteil glatter Muskelzellen in der Neointima. Hierzu wurden ¹⁸⁸Rhenium Stents in Iliakalgefäße von 15 Schafen implantiert und die Ergebnisse mit denen von Kontrollstents verglichen. Zudem wurde untersucht, welche Auswirkungen ein zusätzlicher Gefäßschaden auf die Neointimadicke, den Stenosegrad und die benannten histologischen Parameter bei den radioaktiven Stents bzw. bei den Kontrollstents hat.

Durch das bei den Versuchen eingesetzte Radiolabeling-Verfahren können die Stents innerhalb von zwei Stunden radioaktiv aktiviert werden und ermöglichen so eine kurzfristige, unkomplizierte Aktivierung ohne den Einsatz von Reaktoren oder Zyklotronen.

Durch den Einsatz der radioaktiven ¹⁸⁸Rhenium Stents konnte im Vergleich zu den Kontrollstents weder die Neointimadicke noch der Stenosegrad reduziert werden. Es zeigte sich jedoch beim Vergleich der radioaktiven Stents mit und ohne Gefäßschädigung, dass bei einer zusätzlichen Gefäßläsion sowohl eine Reduktion der Neointimadicke als auch des Stenosegrades erreicht werden kann, was den Benefit des radioaktiven Labelings für diese Indikation belegt. Die (Neo)Endothelialisierung war bei den radioaktiven Stents ebenso wie bei den Kontrollstents nur schwach ausgeprägt, ohne dass jedoch gehäuft thrombotische Auflagerungen beobachtet wurden. Auch bei zusätzlicher Gefäßschädigung trat bei keinem der Tiere eine komplette Thrombosierung des Gefäßlumens auf.

Der Anteil der glatten Muskelzellen in der Neointima war bei den radioaktiven Stents im Vergleich zu den Kontrollstents vermindert, unabhängig davon, ob eine zusätzliche Gefäßschädigung gesetzt wurde. In weiteren Untersuchungen über eine längere Beobachtungszeit müsste untersucht werden, ob die Verminderung der glatten Muskulatur eventuell auch zu einer Reduktion des Stenosegrades sowie der Neointimadicke führt.

Die Anzahl apoptotischer Zellen in der Neointima war bei den radioaktiven Stents im Vergleich zu den Kontrollstents verringert. In den Gruppen mit Gefäßschädigung zeigten sich weniger apoptotische Zellen, unabhängig davon ob es sich um Tiere mit radioaktiven Stents oder um die Kontrollgruppe handelte, als bei den Tieren ohne Gefäßschädigung.

Im Hinblick auf die Ödembildung war bei den Versuchsgruppen kein Unterschied festzustellen. Entzündungszellen waren nur vereinzelt nachweisbar, eine ausgeprägte entzündliche Reaktion war bei keinem histologischen Präparat ersichtlich.

Durch den Einsatz von ¹⁸⁸Rhenium-Stents kam es zu einer Verminderung des Anteils glatter Muskelzellen, wobei jedoch keine signifikante Reduzierung der Neointimadicke oder des Stenosegrades erreicht werden konnte. Obwohl in der letzten Zeit durch den klinischen Einsatz medikamentenbeschichteter Stents („drug eluting stents“) positive Ergebnisse erzielt werden konnten, ist die Problematik der Restenose nach Stentimplantation nicht gelöst und bedarf weiterer Untersuchungen und Therapieansätze.

7. Literaturverzeichnis

- 1) Abbas MA, Afshari NA, Stadius ML, Kernoff RS, Fischell TA
External beam irradiation inhibits neointimal hyperplasia following ballon angioplasty
Int J Cardiol 1994; 44: 191-202
- 2) Albiero R, Adamian M, Kobayashi N, Amato A, Vagheti M, Mario DC, Colombo A
Short- and Intermediate Term results of P-32 Radioactive β -emmitting stent implantation
in Patients with coronary Artery disease
Circulation 2000; 101: 18-26
- 3) Albiero R, Nishida T, Adamian M, Amato A, Vagheti M, Corvaja N, Mario DC
Edge restenosis after Implantation of high activity p-32 radioactive β -Emitting Stents
Circulation 2000; 101: 2454-2457
- 4) Andersen RH, Maeng M, Thorwest M, Erling F
Remodeling rather than Neointimal formation explains luminal narrowing after deep
vessel wall injury
Circulation 1996; 93: 1716-1724
- 5) Bai HZ, Masuda J, Sawa Y, Nakano S, Shirakura R, Shimazaki Y, Ogata J, Matsuda H
Neointima formation after vascular stent implantation
Arterioscler Thromb 1994; 14: 1846-1853
- 6) Baier R, Dutton R
Initial events in interaction of blood with a foreign survice
J Biomed Mater Res 1969; 3: 191-206
- 7) Bauriedel G, Höfling B, Grünwaldt C, Beinert T, Welsch U
Zellularität und ultrastrukturelle Charakteristika humaner Atherektomiezyylinder:
Vergleich zwischen Restenose- und Primärstenosegewebe koronarer und peripherer
Läsionen
Z Kardiol 1993; 82: 485-493
- 8) Bauriedel G, Kandolf R, Welsch U, Höfling B
Mechanismen der Re-Stenosierung nach Angioplastie
Z Kardiol 1994; 83 Suppl. 4, 31-34
- 9) Bauriedel G, Hutter R, Schluckebier S, Welsch U, Forney PM, Kandolf R, Lüderitz B
Decreased apoptosis as pathogenetic factor of intimal hyperplasia in human
arteriosclerotic lesions
Z Kardiol 1997; 86: 572-580
- 10) Bermejo J, Botas J, Garcia E
Mechanism of residual lumen stenosis after high pressure stent implantation. A
quantitative coronary angiographic and intravascular ultrasound study
Circulation 1998; 98: 112-118

- 11) Bochaton-Pillat ML, Gabbiani F, Redard M, Desmoulière A, Gabbiani G
Apoptosis participates in cellularity regulation during rat aortic intimal thickening
Am J Pathol 1995; 146: 1059-1064
- 12) Bühling KJ, Lepenies J, Witt K
Allgemeine und spezielle Pathologie
Urban & Fischer München 3. Auflage 2004
- 13) 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: 1398-1945
- 14) Carter AJ, Laird JR, Bailey LR, Hoopes TG, Farb A, Fischell DR
Effects of Endovascular Radiation from a β -particle-Emitting Stent in a Porcine Coronary
Restenosis Model
Circulation 1996; 94: 2364-2368
- 15) Carter AJ, Scott D, Bailey L, Hoopes T, Jones R, Virmani R
Dose-Response Effects of P-32 Radioactive Stents in an Atherosclerotic Porcine
Coronary Model
Circulation 1999; 100: 1548-1554
- 16) Carter AJ, Fischell TA
Current status of radioactive stents for the prevention of in-stent restenosis
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998; 41: 127-33
- 17) Casscells W
Migration of Smooth Muscle and Endothelial Cells. Critical Events in Restenosis
Circulation 1992; 86: 723-729
- 18) Cragg A, Lund G, Rysavy J, Salomonowitz E, Canasteda A, Zuniga WR, Amplatz K
Nonsurgical placement of arterial endoprotheses: A new technique using nitinol wire
Radiology 1983; 147: 261-83
- 19) Dahl vJ, Haager PK, Grube E, Gross M, Beythien C, Kromer EP, Cattelaens N
Effects of gold coating coronary stents on neointimal proliferation following stent
implantation
Am J Cardiol 2002; 89: 801-805
- 20) Dotter CT, Judkins MP
Transluminal treatment of atherosclerotic obstruction; description of a new technique and
a preliminary report of its application
Circulation 1964; 30:654-670
- 21) Dotter CT, Buschmann RW, Mc Kinney MK, Rosch J
Transluminal expandable nitinol coil stent grafting: preliminary report
Radiology 1983; 147: 259-260

- 22) Dries W
Grundlagen der Strahlenphysik und Dosimetrie
In Kardiovaskuläre Strahlentherapie ein multidisziplinäres Lehrbuch
Hehrlein C (Hrsg.) Steinkopff Verlag Darmstadt 2. Auflage 2002, S. 33-49
- 23) Drachman DE, Rogers C
Stent-based release of paclitaxel to prevent restenosis
Z Kardiol 91: Suppl 3, III/42-III/43 (2002)
- 24) Durand E, Mallat Z, Addad F, Vilde F, Desnos M, Guerot C, Tedgui A, Lafont A
Time courses of apoptosis and cell proliferation and their relationship to arterial Remodelling and restenosis after angioplasty in an atherosclerotic rabbit model
J Am Coll Cardiol 2002; 39: 1680-1685
- 25) Edelman ER, Rogers C
Pathobiologic Response to Stenting
Am J Cardiol 1998; 81(7A): 4E-6E
- 26) Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, Virmani R
Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans
Circulation 1999; 99: 44-52
- 27) Fischell TA, Kharma BK, Fischell DR, Loges PG, Coffey II CW, Duggan DM, Naftilan J
Low-Dose β -Particle Emission from "stent" WireResults in Complete, localized Inhibition of Smooth Muscle Cell Proliferation
Circulation 1994; 90: 2956-2963
- 28) Fischell TA, Hehrlein C
The radioisotope stent for the prevention of restenosis
Herz 1998; 23(6): 373-379
- 29) Fischell TA, Hehrlein C, Fischell RE
The impact of the stent design and delivery upon the long-term efficacy of radioisotope stents
J Invasive Cardiol 2000; 12(3): 162-167
- 30) Fischman D, Leon M, Baim D, Schatz R, Savage M
A randomized Comparison of Coronary Stent Placement and Ballon Angioplasty in the treatment of coronary Artery disease
N Engl J Med 1994; 331: 496-501
- 31) Fleischhauer K, Staubesand J, Zenker W
Benninghoff, Makroskopische und mikroskopische Anatomie des Menschen 2.Band
Urban & Schwarzenberg München, Wien, Baltimore 14. Auflage 1985
- 32) Forrester JS, Fishbein M, Helfant R, Fagin J
A Paradigm for Restenosis Based in Cell Biology: Clues for the Development of New Preventive Therapies
J Am Coll Cardiol 1991; 17: 758-769

- 33) Fritz P, Stein U, Pritsch M
Perkutane Strahlenbehandlung zur Prophylaxe der frühen Restenose nach PTCA/Stent
In Kardiovaskuläre Strahlentherapie- ein multidisziplinäres Lehrbuch
Hehrlein C (Hrsg.) Steinkopff Verlag Darmstadt 2. Auflage 2002, S. 247-257
- 34) Fritz-Niggli H
Strahlengefährdung/Strahlenschutz. Ein Leitfaden für die Praxis
Hans Huber Verlag Bern 4. Auflage 1997
- 35) Gajdusek CM, Tian H, London S, Zhou S, Rasey J, Mayberg MR
Gamma-radiation effect on vascular smooth muscle cells in culture
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1996; 36: 821-828
- 36) Giessen v d WJ, Regar E, Harteveld M, Coen V, Bhagwandien R, Au A, Levendag PC
Edge effect of ³²P Radioactive stent injury is caused by the combination of chronic stent injury and Radioactive Dose falloff
Circulation 2001; 104: 2236-2241
- 37) Glagov S, Weisenberg E
Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries
N Engl J Med 1987; Volume 316: 1371-75
- 38) Grewe PH, Machraoui A, Deneke T, Barmeyer J, Müller KM
Pathogenesis of Neointima-Generation after Coronary Stentimplantation
Circulation 1997; 96: I-403
- 39) Grüntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE
Nonoperativ dilatation of coronary artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty
N Engl J Med 1979; 301: 61-68
- 40) Han DK, Haudenschild CC, Hong MK, Tinkle BT, Leon MB, Liao G
Evidence for apoptosis in human atherogenesis and in a rat vascular injury model
Am J Pathol 1995; 147: 267-277
- 41) Haude M, Erbel R, Issa H, Meyer J
Quantitative analysis of Elastic recoil after balloon angioplasty and after intracoronary Implantation of Balloon-Expandable Palmaz-Schatz-Stents
J Am Coll Cardiol 1993; 21: 26-34
- 42) Hehrlein C, Zimmermann M, Pill J, Metz J, Kübler W, Hodenberg vE
The role of elastic recoil after balloon angioplasty of rabbit arteries and its prevention by stent implantation
Eur Heart J 1994; 15: 277-280
- 43) Hehrlein C, Gollan C, Dönges K, Metz J, Riessen R, Fehsenfeld P, Hodenberg vE
Low-dose Radioactive Endovascular Stents Prevent Smooth Muscle Cell Proliferation And Neointimal Hyperplasia in Rabbits
Circulation 1995; 92: 1570-1575

- 44) Hehrlein C, Stintz M, Kinscherf R, Schlösser K, Huttel E, Friedrich L, Fehsenfeld P
Pure β -Particle Emitting Stents Inhibit Neointima Formation in Rabbits
Circulation 1996; 93: 641-645
- 45) Hehrlein C, Kaiser S, Riessen R, Metz J, Fritz P, Kiebler W
External beam radiation after stent Implantation increases Neointimal Hyperplasia by
Augmenting Smooth muscle cell Proliferation and Extracellular Matrix accumulation
J Am Coll Cardiol 1999; 34: 561-6
- 46) Hehrlein C, Kollum M, Arab A
Increased apoptotic cell death in the Neointima after stent-based vascular irradiation.
Role of radiation-induced apoptosis for restenosis reduction
J Intervent Cardiol 1999; 12: 299-304
- 47) Hehrlein C, Vries d JJ, Arab A, Haller SD, Schloesser K, Tio F, Fischell TA
Failure of a novel Ballon-Expandable Y-Emitting (103 Pd) Stent to prevent Edge Effects
Circulation 2001; 104: 2358-2362
- 48) Hehrlein C
Radioaktive Stents- Problematik und Lösungsmöglichkeiten
Herz 2002; 27: 17-22
- 49) Henning E, Dittmann H, Wiskirchen J, Bantleon R, Kehlbach R, Claussen CD, Duda SH
Dosisabhängige Auswirkungen des kombinierten beta-gamma-Emitters Rhenium-188 auf
humane Endothelzellen und humane glatte Muskelzellen
Fortschritt Röntgenstrhl. 2004; 176: 404-408
- 50) Hoffman R, Mintz GS, Dussaillant RG
Patterns and mechanism of in-stent restenosis: a serial ultravascular, ultrasound study
Circulation 1996;94: 1247-1254
- 51) Hoffmann R, Mintz GS, Mehran R, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Leon MB
Tissue Proliferation Within and Surrounding Palmaz-Schatz Stents is Dependent on the
Aggressiveness of Stent Implantation Technique
Am J Cardiol 1999; 83: 1170-1174
- 52) Indolfi C, Esposito G, Lorenzo dE, Rapacciuolo A, Feliciello A, Avvedimento VE
Smooth muscle cell proliferation is proportional to the Degree of ballon Injury in a Rat
Model of Angioplasty
Circulation 1995; 92: 1230-1235
- 53) Isner JM, Kearney M, Bortman S, Passeri J
Apoptosis in Human Atherosclerosis and Restenosis
Circulation 1995; 91: 2703-2711
- 54) Jung F, Bach R, Seyfert UT, Franke RP
Topographische und Element-Analyseendovaskulärer Stents
In Stent-Restenose: Mechanismen und therapeutische Strategien
Park JW, Jung F (Hrsg.) Pabst Science Publishers 2000

- 55) Kahle W, Leonhardt H, Platzer W
Taschenatlas der Anatomie; Innere Organe
Thieme Verlag Stuttgart 6. Auflage 1991
- 56) Komatsu R, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Becker AE
Neointimal Tissue response at sites of coronary Stenting in Humans.
Macroscopic, Histological and Immunohistochemical Analysis
Circulation 1998; 98: 224-233
- 57) Karas SP, Gravanis MB, Santoian EC, Robinson KA, Anderberg CA, King III SB
Coronary Intimal Proliferation after balloon Injury and Stenting in Swine: An Animal
Model of restenosis
J Am Coll Cardiol 1992; 20: 467-474
- 58) Kastrati A, Schönig A, Dirschinger J, Mehilli J, Welser vN, Pache J, Schühlen H
Increased risk of restenosis after placement of gold-coated stents. Results of a
Randomized trial comparing Gold-coated with uncoated steel stents in Patients with
coronary artery disease
Circulation 2000; 101: 2478-2485
- 59) Kollum M, Kaiser S, Kinscherf R, Metz J, Kübler W, Hehrlein C
Apoptosis after stent implantation compared with balloon angioplasty in rabbits
Arterioscler Thromb Vasc Biol 1997; 17: 2383-2388
- 60) Komatsu R, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Becker AE
Neointimal Tissue response at sites of coronary Stenting in Humans. Macroscopic,
Histological and Immunohistochemical Analyses
Circulation 1998; 98: 224-233
- 61) 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
- 62) Kotzerke J, Gertler R, Buchmann J, Baur R, Hombach V, Reske SN, Voisard R
Different radiosensitivity of smooth muscle cells and endothelial cells in vitro as
demonstrated by irradiation from a Re-188 filled balloon catheter
Atherosclerosis 2000; 152: 35-42
- 63) Kotzerke J, Hanke H, Hoher M
Endovascular brachytherapy for the prevention of restenosis after angioplasty
Eur J Nucl Med 2000; 27: 223-236
- 64) Laird JR, Carter AJ, Kufs WM, Hoopes TG, Farb A, Nott SH, Fischell RE, Fischell DR,
Virmani R, Fischell TA
Inhibition of neointimal Proliferation with low-Dose Irradiation from a β -Particle-
Emitting Stent
Circulation 1996; 93: 529-536

- 65) Lin WY, Tsai SC, Hsieh BT, Lee TW
Evaluation of three rhenium-188 candidates for intravascular radiation therapy with liquid-filled balloons to prevent restenosis
J Nucl Cardiol 2000; 7: 37-42
- 66) Lissner J, Fink U
Grundlagen der Strahlenbiologie
Radiologie Ferdinand Enke Verlag Stuttgart 4. Auflage 1992 S. 31-49
- 67) Maass D, Zollkofer CH, Largiader F, Senning A
Radiological follow-up of transluminally inserted vascular endoprosthesis: An experimental study using expanding spirals
Radiology 1984; 152: 659-63
- 68) Machraoui A, Grewe P, Fischer A
Pathogenese der Atherosklerose
Koronarstenting Steinkopff Verlag Darmstadt 2001 S. 49-84
- 69) Mayberg MR, Luo Z, London S
Radiation inhibition of intimal hyperplasia after arterial injury
Radiation research 1995; 142(2): 212-220
- 70) Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Wong SC, Hong MK, Kovack J
Arterial remodelling after coronary angioplasty. A serial intravascular ultrasound study
Circulation 1996; 94: 35-43
- 71) Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Hayashi EB, Perin M, Colombo A, Schuler G, Barragan P for the RAVEL Study Group
A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with A standard Stent for coronary revascularisation
N Engl J Med 2002; 346: 1773-80
- 72) Nobuyoshi M, Kimura T, Nosaka H, Mioka S, Ueno K, Yokoi H, Hamasaki N, Horiuchi H, Ohicks H
Restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty: serial angiographic follow-up of 229 patients
J Am Coll Cardiol 1988; 12: 616-622
- 73) Ohamoto E, Couse T, Leon dH, Vinten-Johansen J, Goodman RB, Scott NA, Wilcox JN
Perivascular Inflammation After Balloon Angioplasty of Porcine Coronary Arteries
Circulation 2001; 104: 2228-2235
- 74) Ohara T, Nanto S, Asada S, Komamura K, Wang DY
Ultrastructural study of proliferating and migrating smooth muscle cells at the site of PTCA as an explantation for restenosis
Circulation 1988; 78 (suppl II): II-290
- 75) Palmaz JC, Sibbit RR, Reuter SR, Tio FO, Rice WJ
Expandable intraluminal graft: Preliminary study
Radiology 1985; 156:73-76

- 76) Phillips-Hughes J, Kandarpa K
Restenosis: Pathophysiology and Preventive Strategies
JVIR 1996; 7: 321-333
- 77) Raizner AE, Oesterle SN, Waksman R, Serruys PW, Colombo A, Lim YL, Yeung AC
Inhibition of restenosis with beta-emitting radiotherapy: Report of the Proliferation
Reduction with Vascular Energy Trial (Prevent)
Circulation 2000; 102(9): 951-958
- 78) Reimers B, Birgelen v C, Giessen v d WJ, Serruys PW
A word of caution on optimizing stent deployment in calcified lesion: acute coronary
rupture with cardiac tamponade
Am Heart J 1996; 131: 192-194
- 79) Rutherford C, Martin W, Salame M
Substantial inhibition of neointimal response to balloon injury in the rat carotid artery
using a combination of antibodies to platelets-derived growth factor-BB and the basic
fibroblast growth factor
Atherosclerosis 1997; 130 (1-2): 45-51
- 80) Salame MY, Verheye S, Mulkey SP, Chronos NA, King III SB, Crocker IR, Robinson K
The effect of Endovascular Irradiation on Platelets Recruitment at sites of Balloon
Angioplasty in Pig Coronary Arteries
Circulation 2000; 101: 1087-1095
- 81) Schatz RA, Palmaz JC
New technology in angioplasty: Balloon-expandable intravascular stents
New Dev Med 1987; 2: 59-63
- 82) Schicha H, Schober O
Physikalische Grundlagen
Nuklearmedizin Schattauer Verlagsgesellschaft Stuttgart 3. Auflage 1997 S. 13-24
- 83) Schlunbaum W, Flesch U, Stabell U
Biologische Wirkung energiereicher Strahlen
Medizinische Strahlenkunde Walter de Gruyter Verlag Berlin 7. Auflage 1994 S. 221-233
- 84) Schwartz RS, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vliestra RE, Holmes DR
Restenosis after balloon angioplasty. A practical proliferativ Model in Porcine Coronary
Arteries
Circulation 1990; 82: 2190-2200
- 85) Schwartz RS, Koval TM, Edwards WD, Camrud AR, Bailey KR, Browne K, Vliestra
RE, Holmes DR
Effects of external beam Irradiation on Neointimal Hyperplasia after experimental
Coronary artery injury
J Am Coll Cardiol 1992; 19: 1106-13

- 86) Schwartz R, Huber K, Murphy J
Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model
J Am Coll Cardiol 1992; 19(2): 275-277
- 87) Schwartz RS, Robert S
Pathophysiology of restenosis: Interaction of Thrombosis, Hyperplasia and/or remodelling
Am J Cardiol 1998; 81(7A): 14E-17E
- 88) Scott NA, Ross CE, Dunn B, Martin FH, Simonet L, Wilcox JN
Identification of a potential role for the adventitia in vascular lesion formation after balloon overstretch injury of porcine coronary arteries
Circulation 1996; 93: 2178-2187
- 89) Serruys PW, Liujten HE, Beatt KJ, Geuschens R, de Feyter PJ, v d Brand M, Reiber JHC, Katen HJ, v Es GA, Hugenholtz PG
Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: a time-related phenomenon
Circulation 1988; 77: 361-371
- 90) Serruys PW, Jaegere dP, Kiemeneig F
A comparison of balloon-expandable Stent Implantation with balloon angioplasty in patients with coronary Artery disease
N Engl J Med 1994; 331: 489-495
- 91) Sheth S, Litvack F, Dev V, Fishbein MC, Forrester JS, Eigler N
Subacute thrombosis and vascular Injury Resulting from slotted-Tube Nitinol and Stainless Steel Stents in a Rabbit Carotid Artery Model
Circulation 1996; 94: 1733-1740
- 92) Sick P
Koronarangioplastie mit beschichteten Stents. Restenose-Problematik gelöst?
CardioVasc 2002;2: 25-29
- 93) Styles TJ, Majjianowski MMH, Robinson KA et al.
Effects of external irradiation of the heart on the coronary artery response to balloon angioplasty injury in pigs
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1997; 39 (Suppl 2): 2181
- 94) Sullivan TM, Ainsworth SD, Langan EM, Taylor S, Snyder B, Cull D, Youkey J
Effect of endovascular stent strut geometry on vascular injury, myointimal hyperplasia and restenosis
J Vasc Surg 2002; 36: 143-149
- 95) Taylor AJ, Gorman PD, Farb A, Hoopes T, Virmani R
Long-Term Coronary Vascular Response to P-32 β -Particle-Emitting Stents in a Canine Model
Circulation 1999; 100: 2366-2372

- 96) Teirstein PS, Manulo V, Jani S, Popma JJ, Mintz GS, Russo RJ, Schatz RA
Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting
N Engl J Med 1997; 336: 1697-1703
- 97) Thompson CB
Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease
Science 1995; 267: 223-254
- 98) Verin V, Popowski Y, Urban P, Belenger J, Redard M, Costa M, Widmer MC
Intra-arterial Beta Irradiation Prevents Neointimal Hyperplasia in a Hypercholesterolemic Rabbit Restenosis Model
Circulation 1995; 92: 2284-2290
- 99) Verin V, Popowski Y, Bochaton-Piallat ML, Belenger J, Urban P, Neuville P, Costa M
Intraarterial beta irradiation induces smooth muscle cell apoptosis and reduces medial cellularity in a hypercholesterolemic rabbit restenosis model
Int J Rad Oncol Biol Phys 46: 661-670
- 100) Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Gravanis MB, Cipolla GD, King III SB
Endovascular low-dose irradiation Inhibits Neointima formation after coronary Artery Ballon Injury in Swine
Circulation 1995; 91: 1533-1539
- 101) Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Wong C, Gravanis MB, Cipolla G, Hillstead R
Intracoronary low-dose β -Irradiation Inhibits Neointima formation after Coronary Artery Ballon Injury in the swine Restenosis Model
Circulation 1995; 92: 3025-3031
- 102) Waksman R, Rodriguez JC, Robinson KA, Cipolla GD, Crocker IR, Scott N, King III S
Effects of intravascular Irradiation on Cell Proliferation, Apoptosis, and Vascular Remodeling after Ballon Overstretch Injury of Procine Coronary Arteries
Circulation 1997; 96: 1944-1952
- 103) Waksman R
Late thrombosis After Radiation. Sitting on a time bomb
Circulation 1999; 100: 780-782
- 104) Waksman R, Bhargava B, White L, Chan RC, Mehran R, Lansky AJ, Mintz GS
Intracoronary β -radiation therapy inhibits recurrence of in-stent restenosis
Circulation 2000; 101: 1895-1898
- 105) Waksman R, White L, Chan RC, Bass BG, Geirlach L, Mintz GS, Satler LF, Mehran R
Intracoronary gamma-radiation therapy after angioplasty inhibits recurrence in patients with in-stent restenosis
Circulation 2000; 101: 2165-2171
- 106) Waksman R, Cheneau E, Ajani AE, White RL, Pinnow E, Torguson R, Deible R
Intracoronary Radiation Therapy improves the Clinical and Angiographic Outcomes of Diffuse In-Stent Restenosis Lesions. Whashington Radiation for In-Stent Restenosis Trial For long Lesion Studies
Circulation 2003; 107: 1744-58

- 107) Weinberger J, Amols H, Ennis RD
Intracoronary irradiation: dose response for the prevention of restenosis in swine
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1996; 36: 767-775
- 108) Wiedermann JG, Marboe C, Amols H, Schwartz A, Weinberger J
Intracoronary Irradiation Markedly Reduces Restenosis after ballon angioplasty in a
Procine Model
J Am Coll Cardiol 1994; 23: 1491-1498

8. Anhang

	Intimadicke		Stenose	
	rechts	links	rechts	links
Radioaktivität	0,0387	0,4432	0,0920	0,7961
Gefäßschädigung	0,9936	0,5229	0,9116	0,4796
Implantationsdauer	0,0206	0,4425	0,1227	0,5574
Muskulatur	0,9602	0,5682	0,2128	0,9175
Endothelzellschicht	0,0088	0,6003	0,0832	0,7116
Apoptose	0,1287	0,3613	0,9144	0,4695
Ödem	0,1192	0,6737	0,6075	0,6092
Entzündung	0,1545	0,2466	0,5336	0,8201
Thrombose	0,0073	0,7886	0,2122	0,7150
Gefäßneubildung	0,9231	0,1535	0,1742	0,3344

Mehrfaktorielle Varianzanalyse p-Werte, $p < 0,05$
getrennt für rechte/linke A. iliaca

Einflußgröße: Radioaktivität

Zielgrößen	rechts	links
Muskulatur	0,6849	0,0001
Endothelzellschicht	0,5474	0,0952
Apoptose	0,5692	0,0453
Ödem	0,9563	0,3942
Entzündung	0,0182	0,2675

Einfaktorielle Varianzanalyse p-Werte, $p < 0,05$
getrennt für rechte/linke A. iliaca

9. Danksagung

Frau Professor Dr. med. B. Hermanns-Sachweh, Professorin am Institut für Pathologie am Universitätsklinikum Aachen, danke ich herzlich für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie die Beratung und Betreuung und die jederzeit hilfreiche und freundliche Unterstützung.

Dem Direktor des Institutes für Versuchstierkunde der Medizinischen Einrichtung der RWTH Aachen, Herrn Professor Dr. med. vet. W. Küpper (+), und allen seinen Mitarbeitern danke ich für die tatkräftige Unterstützung im experimentellen Teil der Studie.

Herrn Sven Stanzel, Dipl.-Statistiker am Institut für Medizinische Statistik an der RWTH Aachen, danke ich für Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Ganz herzlich bedanken möchte ich mich auch bei meinen Eltern Frau Dr. Heide und Herrn Dr. Bernd Geiter für die Ermöglichung sowie die Motivation zur Umsetzung der Arbeit.

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Orginaldaten bei mir,
Klaus Ulrich Geiter, Aegidienbergerstraße 32 in 50939 Köln, hinterlegt sind.

Lebenslauf

Klaus Ulrich Geiter

Persönliche Daten: Geburtsdatum: 29.6.1977
 Geburtsort: Karlsruhe
 Familienstand: ledig
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Schulbildung: 1983-1987 Grundschule, Schloßschule Karlsruhe-Durlach
 1987.1996 Gymnasium, Markgrafengymnasium Karlsruhe-Durlach
 Abschluß: Abitur

Zivildienst: 1996-1997 Zivildienst am Städtischen Klinikum Karlsruhe

Hochschulbildung: 1997-2004 Studium der Humanmedizin an der Rheinisch-
 Westfälischen Technischen Hochschule Aachen

August 1999 Physikum (4. Semester)

August 2001 1. Staatsexamen (2. klin. Semester)

März 2003 2. Staatsexamen (8. klin. Semester)

Mai 2004 3. Staatsexamen (10. klin. Semester)

Seit Oktober 2004 Tätigkeit als Assistenzarzt in der internistischen Abteilung des St.
Antonius-Krankenhauses in Köln