

**Immunhistochemische Untersuchungen der Restenoserate
von Koronarien und Femoralarterien nach Implantation
antiproliferativ und antithrombotisch beschichteter Stents
am Schweinemodell**

Philipp Hempen

Aus der
1. Medizinischen Klinik und Poliklinik
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Schömig)
und dem
Institut für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. B. Gänsbacher)
der Technischen Universität München

**Immunhistochemische Untersuchungen der Restenoserate von
Koronarien und Femoralarterien nach Implantation antiproliferativ
und antithrombotisch beschichteter Stents am Schweinemodell**

Philipp Hempen

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Medizin
genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ. Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation: 1. apl. Prof. Dr. E. Alt
2. Univ. Prof. Dr. J. Schlegel

Die Dissertation wurde am 04.01.2007 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.09.2007 angenommen.

Meinen Eltern

0 Inhaltsverzeichnis

1 Einleitung.....	1
2 Schrifttum	2
2.1 Das Schwein als Tiermodell in der kardiovaskulären Forschung	2
2.2 Das Gefäßsystem	2
2.2.1 Anatomie der Koronararterien	2
2.2.2 Anatomie der peripheren Arterien.....	3
2.2.3 Histologie.....	3
2.3 Atherosklerose	5
2.3.1 Definition und Epidemiologie der KHK.....	5
2.3.2 Pathogenese der Atherosklerose	5
2.3.3 Klinische Manifestationen.....	6
2.4 Therapie der KHK und pAVK	8
2.4.1 Interventionelle Verfahren	8
2.4.1.1 Perkutane transluminale Angioplastie (PTA, PTCA).....	8
2.5 Stent.....	12
2.5.1 Selbstexpandierbare Stents	14
2.5.2 Ballonexpandierbare Stents	14
2.5.3 Andere Typen.....	15
2.5.4 Komplikationen nach Stentimplantation.....	15
2.5.4.1 In-Stent-Restenose (ISR)	15
2.6 Therapeutische Ansätze zur Reduktion der ISR	16
2.6.1 Mechanische Verfahren.....	16
2.6.2 Medikamentöse Therapie	17
2.6.3 Brachytherapie	18
2.6.4 Gen-Therapie	19
2.6.5 Drug-eluting Stents (DES)	19
3 Material und Methoden.....	21
3.1 Zielsetzung.....	21
3.2 Modell und Versuchstiere.....	21
3.3 Versuchsplan	21

3.4 Versuchsdurchführung	23
3.4.1 Stentbeschichtung	23
3.4.2 Operationsvorbereitung, Anästhesie	24
3.4.3 Operatives Vorgehen.....	25
3.4.4 Sektion und Probenentnahme	26
3.5 Histologie	27
3.5.1 Probenaufbereitung für Gefrierschnitte.....	27
3.5.2 Anfertigung von Gefrierschnitten	28
3.5.3 HE-Färbung.....	28
3.5.4 Immunhistologie	29
3.6 Histomorphologie und Auswertung	31
3.6.1 Immunhistologie	31
3.6.2 Statistik.....	35
3.6.2.1 Bestimmung 95%-Konfidenzintervall.....	35
3.6.2.2 Bestimmung Korrelation Druck zu Gewebsschädigung und Restenose.....	35
3.6.2.3 Bestimmung Korrelation mNID zu Zellverteilung	35
4 Ergebnisse	36
4.1 Überlebensrate	36
4.2 Auswertung und Statistik.....	37
4.2.1 95%-Konfidenzintervall der Zellzahl (Nuclei) und der gefärbten Zellen im Bereich verletzter zu unverletzter Media	48
4.2.2 95%-Konfidenzintervall der Färbungen Desmin vs. Smoothelin, Zelldifferenzierung.....	57
4.2.3 Korrelation Druck zu verletzter Media und Restenose.....	64
4.2.4 Korrelation quantitative Restenose (= mittlere neointimale Fläche, mNID) zu qualitativer Zellverteilung.....	68
5 Diskussion	74
5.1 Material und Methoden	74
5.1.1 Wahl des Tiermodells.....	74
5.1.2 Restenose und Stent.....	75
5.1.3 Stentbeschichtungen.....	75
5.1.3.1 Polylaktid Resomer®, R203	76
5.1.3.2 Iloprost, Hirudin	76

5.1.3.3 Dexamethasonacetat-Dexamethason	77
5.1.4 Auswertungstechniken	78
5.1.4.1 Histologie.....	78
5.2 Ergebnisse	78
5.2.1 Implantationsrelevante Daten.....	78
5.2.1.1 Tiergewicht.....	78
5.2.2 Immunhistologie	79
5.3 Statistik	80
5.3.1 Konfidenzintervalle verletzte vs. unverletzte Media.....	80
5.3.2 Konfidenzintervalle Desmin vs. Smoothelin, Zelldifferenzierung	81
5.3.3 Korrelationen	83
5.3.4 Korrelation quantitative Restenose (= mittlere neointimale Fläche, mNID) zu qualitativer Zellverteilung.....	84
5.4 Schlussfolgerung und Ausblick	85
6 Zusammenfassung.....	86
7 Summary	88
8 Literaturverzeichnis	90
9 Abbildungsverzeichnis.....	108
10 Tabellenverzeichnis.....	112
11 Abkürzungsverzeichnis.....	116
Danksagung	119
Lebenslauf.....	121

1 Einleitung

Stenosierende Arteriosklerose der großen epikardialen Koronararterien führt zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot am Herzmuskel, was dem pathophysiologischen Mechanismus der Koronarinsuffizienz entspricht. Die daraus resultierende ischämische Herzerkrankung, auch Koronare Herzkrankheit (KHK) genannt, stellt in den Industrieländern die häufigste Todesursache dar (Herold 2006). Daher sind neben der Prävention Bemühungen zur Entwicklung effizienter Therapiemaßnahmen außerordentlich groß.

Neben der medikamentösen Therapie zur Verbesserung der myokardialen Sauerstoffbilanz werden vor allem mechanische Massnahmen zur Beseitigung von Koronargefäßstenosen eingesetzt. So ist das nichtoperative Verfahren der Perkutanen Transluminalen Coronarangioplastie (PTCA) heute die Methode der Wahl zur Behandlung von Gefäßengstellen. Die hohe Akuterfolgsrate von über 90% wird geschmälert durch das Auftreten komplikationsbehafteter Stenoserezidive. Durch die Implantation von Stents sollen Gefäßstenosen und –verschlüsse beseitigt, die Gefäßdurchgängigkeit nach unzureichendem PTCA-Ergebnis verbessert und die Rezidivrate im Vergleich zur PTCA vermindert werden. Allerdings bleibt auch hier das Problem der Re-Stenosierung bestehen. Die Überdehnung des arteriellen Lumens und die Stentstreben stimulieren die Proliferation glatter Muskelzellen und führen zur Entwicklung der Restenose. Dies betrifft 20-30% aller Patienten, die sich einer koronaren Stentimplantation unterziehen (De Scheerder, 1999; Fischman, 1994, Serruys, 1994).

In letzter Zeit wurden Stents mit antiproliferativ wirkenden Beschichtungen zur Verminderung der Restenosierungsrate entwickelt. Die lokale Arzneistoff-Freisetzung am Ort der Schädigung soll das initiale Entzündungsgeschehen in der Gefäßwand unterdrücken und die für den Lumenverlust verantwortliche Proliferation glatter Muskelzellen hemmen.

Gegenstand dieser Arbeit ist es, mittels eines overstretch Modells am Schwein die Auswirkung verschiedener Stent-Beschichtungen auf die Gefäßwand und Restenose-Entstehung von Arterien des Herzens und der Beckenregion immunhistologisch zu untersuchen.

2 Schrifttum

2.1 Das Schwein als Tiermodell in der kardiovaskulären Forschung

Aufgrund der anatomischen Ähnlichkeiten zwischen porzinen und humanen Arterien besteht ein weit verbreiteter Einsatz von Schweinen in der Restenoseforschung (Karas, 1992; Ferrell, 1992). So wurden in der Vergangenheit Schweine zur Erforschung kardiovaskulärer Krankheiten und Gerinnungsparametern, zur Untersuchung lokaler intravaskulärer Medikamentenfreisetzung sowie Erprobung neu entwickelter Stents herangezogen (Swindle, 1992; Feletou, 1992; Rasheed, 1994; Van der Giessen, 1991).

2.2 Das Gefäßsystem

2.2.1 Anatomie der Koronararterien

Bei Mensch und Schwein erfolgt die arterielle Blutversorgung des Herzens durch die beiden subepikardial verlaufenden Koronararterien (Allwork, 1987). Unmittelbar oberhalb der Aortenklappe entspringen einander gegenüberliegend die Aa. coronariae dextra et sinistra und bilden die einzigen Abgänge der Aorta ascendens. Die linke Kranzarterie teilt sich nach wenigen Millimetern in den Ramus interventricularis anterior (RIVA, LAD) und den Ramus circumflexus (RCX, LCX). Durch den niedrigen Elastin-Gehalt sind bei Mensch und Schwein die Koronarien als Arterien vom muskulären Typ definiert (Muller, 1992). Die physiologischen Daten beider Spezies unterscheiden sich ebenfalls nur marginal: Herzfrequenz 80/min (Schwein) und 60/min (Mensch), Versorgung des porzinen Herzens mit 8% des HZV bzw. des humanen mit 5% des HZV (Antoni, 2000; Engelhardt, 2000).

Das Vorkommen von Kollateralen im Herz ist in den einzelnen Spezies unterschiedlich. Kollateralen unterscheiden sich von Anastomosen dadurch, dass sie eine Verbindung zweier Äste derselben Arterie darstellen, während bei einer Anastomose zwei unterschiedliche Gefäße miteinander verbunden sind (Schaper, 1995). Sowohl beim Mensch als auch beim Schwein liegt eine äußerst variable Anzahl von Kollateralen am Herz vor, die zwischen 6 und 100% angegeben wird. Die Bildung neuer Kollateralen lässt sich durch körperliches Training physiologisch bzw.

durch rezidivierende Ischämien erhöhen (Meyer, 1994). Auch Pharmaka, wie z. B. Dipyridamid, tragen zur Ausbildung funktionell wirksamer Kollateralen bei. Die Ausbildung der Kollateralen dauert bei entsprechendem Stimulus je nach Größe eine Woche bis mehrere Monate (Meyer, 2000). In pathologischen Zuständen, wie bei chronischer Hypoxie i.R. einer KHK, ist das Wachstum neuer Gefäßverbindungen gesteigert, wobei die maximale Neubildung bei einer mindestens 60%igen Stenosierung stattfindet. Die Kollateralentwicklung ist dabei dem Grad der Lumeneinengung direkt proportional. In diesem Prozess spielen Gewebshormone, die die Angiogenese außerhalb des ischämischen Areals steuern, eine entscheidende Rolle (Meyer, 2000). Diese führen dazu, dass sowohl Endothel- als auch glatte Muskelzellen der Media neu gebildet werden, um ein Überleben des infarzierten Gewebes zu gewährleisten (Schaper, 1972).

2.2.2 Anatomie der peripheren Arterien

Die anatomischen Verhältnisse des peripheren Gefäßsystems sind bei Mensch und Schwein vergleichbar. Die aus der Aorta abdominalis entspringende A. iliaca communis teilt sich nach einigen Zentimetern in einen äußeren und inneren Ast (A. iliaca int. und ext.). Die A. iliaca externa gewährleistet die arterielle Blutversorgung des Beines. Nach Durchtritt durch die Lacuna vasorum verläuft das Gefäß nunmehr als A. femoralis unter Abgabe mehrerer Äste und Aufzweigungen weiter nach distal (Nickel, 1984; Moll, 2002).

2.2.3 Histologie

Arterien weisen einen dreischichtigen Wandbau auf. Die innerste Schicht ist die Tunica intima (Intima), nach außen folgt die Tunica media (Media) und die Tunica adventitia (Adventitia) (Liebich, 1993).

Die Tunica intima setzt sich zusammen aus dem das Lumen auskleidenden einschichtigen Endothel, einem bindegewebigen Stratum subendotheliale und der Lamina elastica interna. Die Endothelschicht bildet durch basale Ausläufer, die die Elastica interna durchdringen, mit glatten Muskelzellen der Media Kontakte. Die einzelnen Zellen sind durch Zonae occludentes fest miteinander verbunden, wodurch die Zellintegrität garantiert wird. Das subendotheliale Bindegewebe enthält kollagene

Fasern, Fibroblasten und Längszüge glatter Muskelzellen. Die Grenze zur Media wird durch die Lamina elastica interna gebildet, einer fenestrierten Membran, die aus elastischen Fasern besteht (Drenckhahn, 2004). Die Endothelzellen erfüllen in ihrer Lage zwischen Blutstrom und glatten Gefäßmuskelzellen eine Reihe von hochdifferenzierten Aufgaben (Kroll, 2000). Sie können in ihrer Gesamtheit als das größte Organ des Körpers mit endokrinen und parakrinen Funktionen aufgefasst werden. Wichtige Aufgaben des Endothels sind (Pepine, 1996):

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

Die Tunica media muskulärer Arterien umfasst 5 - 20 konzentrische Lagen glatter Muskelzellen (smooth muscle cells, SMC) und stellt die kräftigste Schicht der Gefäßwand dar. Die Muskelzellen liegen dabei eingebettet in eine Glykoproteinmatrix. Außerdem finden sich je nach Gefäßtyp eine variable Zahl von Elastin- und Kollagenfasern zwischen den zirkulär gerichteten Muskelzellen. Durch den Kontakt zwischen Muskulatur und dem Fasernetzwerk werden Kontraktionen gleichmäßig auf die gesamte Gefäßwand verteilt. Bei den Zellen handelt es sich zum größten Teil um Muskelzellen vom kontraktilen Typ, die eine geringe Mitoseaktivität aufweisen und gut differenziert sind. Der proliferative oder sekretorische Typ findet sich physiologisch vor allem in jungen, sich entwickelnden Gefäßen. Diese Zellen sind dadurch gekennzeichnet, dass sie mitotisch aktiv sind und große Mengen an Kollagen, Elastin und Proteoglykanen sezernieren können (Forrester, 1991).

Den Übergang in die Adventitia bildet in größeren Arterien eine Membrana elastica externa, die jedoch in kleineren Gefäßen unvollständig bleibt oder ganz fehlt. Die kräftige Adventitia muskulärer Gefäße übertrifft in einigen Fällen sogar die Media an Dicke. Sie wird von einem lockeren Bindegewebe mit vorwiegend längsorientierten Kollagen- und Elastinfasern geformt und weist außerdem Vasa vasorum,

Lymphgefäße sowie zahlreiche Nerven auf, die sich bis zum Außenrand der Media erstrecken (Drenckhahn, 2004; Nickel, 1984; Hees, 1992).

Der Elastingehalt ist bei herznahen Gefäßen wie der Aorta und den Carotiden entsprechend ihrer mechanischen Beanspruchung („Windkesselfunktion“) am höchsten und nimmt in Richtung Peripherie mehr und mehr ab. Koronarien und Femoralarterien gehören beide dem muskulären Typ an. Durch ihre Fähigkeit der Kontraktion tragen Arterien muskulären Bautyps in der Peripherie zur Blutdruckregulation bei.

2.3 Atherosklerose

2.3.1 Definition und Epidemiologie der KHK

Die koronare Herzkrankheit ist derzeit in den industrialisierten Ländern die häufigste Todesursache. Sie manifestiert sich bei etwa jedem fünften Erwachsenen, wobei Männer dreimal häufiger betroffen sind als Frauen. Unter koronarer Herzkrankheit versteht man eine stenosierende Koronarsklerose, die zur Verminderung der Durchblutung und damit zur Beeinträchtigung der Versorgung des Herzmuskels mit Sauerstoff und Energie liefernden Substraten führt (Herold, 2006).

2.3.2 Pathogenese der Atherosklerose

Die WHO definiert die Atherosklerose als eine variable Kombination von Intimaveränderungen, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Tunica Media. Als Risikofaktoren gelten Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus und eine familiäre Disposition. Die Atherosklerose ist eine Systemerkrankung, von der besonders große und mittelgroße Arterien betroffen sind (Nickenig, 2004).

Eine zentrale Position in der Pathogenese nimmt auf molekularer Ebene der oxidative Stress durch verminderte Bildung von NO und vermehrte Freisetzung freier Sauerstoffradikale ein. Nach dem „response-to-injury“-Modell bildet eine Endothelläsion, begünstigt durch die genannten Risikofaktoren, den initialen Faktor

arteriosklerotischer Umbauvorgänge. Lipideinlagerungen in der Intima quellen diese ödematös auf. Die endotheliale Dysfunktion bewirkt eine Adhäsion von Blutplättchen und Leukozyten sowie Migration und Proliferation wandständiger SMC's. Durch Chemotaxis können nun ebenfalls Makrophagen und Monozyten in die Intima einwandern, wo sie zusammen mit glatten Muskelzellen die vorhandenen Fettpartikel phagozytieren, wodurch sie als sog. Schaumzellen imponieren. Durch die übermäßige, ebenfalls Zytokin-vermittelte Proliferation glatter Muskelzellen entsteht die Neointima. Nicht zuletzt führt die Produktion extrazellulärer Matrixproteine durch die SMC's zu einem weiteren Anwachsen der Neointimadicke und stenostiert zunehmend das Gefäßlumen. Schließlich kommt es zu einer irreversiblen Verhärtung des Gefäßes in Gestalt fibröser Plaques, die zudem verkalken können. Der entstandene Plaque wird von der weiterhin vorhandenen Endothelzellschicht bedeckt, wodurch die Aktivierung der Gerinnungskaskade verhindert wird. Bei Ruptur der Läsion werden jedoch thrombogene Strukturen präsentiert, die eine rasche Thrombosebildung nach sich ziehen. Die Folge ist eine akute Infarzierung des entsprechenden Gewebes (Ross, 1999; Nickenig, 2004; Bühling, 2004).

Abweichend von der „response-to-injury“-Hypothese gibt es die Annahme, dass verschiedene Infektionen einer Atherosklerose-Entwicklung Vorschub leisten. So verursachen u.a. Chlamydien (*C. pneumoniae*) und Herpesviren (HSV 1) eine chronische Infektion und entsprechende Entzündungsreaktion. *C. pneumoniae* wurde in Plaques nachgewiesen, außerdem konnte eine entsprechende Immunantwort mit der Atherosklerose-Bildung assoziiert werden (Dalhoff, 1998; Muhlestein, 1996). Welchen Wert eine antimikrobiologische Behandlung auf die Inzidenz der Atherosklerose hat und ob eine Elimination einen günstigen Verlauf nach sich zieht, ist noch nicht abschließend geklärt.

2.3.3 Klinische Manifestationen

Klinisch äußern sich die beschriebenen Gefäßwandveränderungen je nach Lokalisation und Patient unterschiedlich. Pathophysiologisch kommt es am Herzen durch die eingeschränkte Sauerstoffzufuhr zu einem Missverhältnis zwischen koronarem Sauerstoffangebot und myokardialen Sauerstoffbedarf. Bedingt durch eine begrenzte anaerobe Kapazität manifestiert sich dieses Ungleichgewicht in

milder Form als Angina pectoris und in schwerer Form als Myokardinfarkt (Schächinger, 2004). Als weitere Auswirkungen der koronaren Herzerkrankung kommen außerdem Herzrhythmusstörungen, Herzinsuffizienz und plötzlicher Herztod vor. Pathologisch-anatomisch imponiert eine ischämische Koagulationsnekrose eines größeren Myokardbezirkes. Meist ist die Ursache der Gefäßstenosierung eine Koronarsklerose, die bei Plaqueruptur durch eine Koronarthrombose verstärkt wird (Strauer, 1991).

Beim Menschen sind Myokardinfarkte zum größten Teil im linken Ventrikel lokalisiert. Sind nur die subendokardialen Schichten betroffen, spricht man von einem Innenschichtinfarkt und analog von einem transmuralen Infarkt, wenn alle Wandschichten affektiert sind. Bei letzterem sind eines oder mehrere Koronarien verschlossen (Bültmann, 2004). Makroskopisch ist am Herzen ein charakteristischer Ablauf eines Myokardinfarktes zu beobachten. Frühestens nach vier Stunden ist als Ausdruck der Koagulationsnekrose ein Erblassen der Muskulatur erkennbar. Nach weiteren vier bis acht Stunden färbt sich das betroffene Areal lehmgelb, es kommt zum Einwandern von Entzündungszellen aus dem hyperämischen Randsaum. Im weiteren Verlauf bauen Makrophagen des Granulationsgewebes die nekrotischen Bezirke ab, Fibroblasten synthetisieren zunehmend Kollagenfasern. Zudem sprießen Kapillaren in die Nekrose ein. So entsteht innerhalb von 6 Wochen kollagenes Bindegewebe, das als grauweiße Schwiele imponiert (Bültmann, 2004).

Mikroskopisch sind erste Veränderungen im Myokard nach frühestens 3 Stunden zu erkennen. So sind schon frühzeitig ein Verlust der Querstreifung, Kondensation des Zytoplasmas und Zellkernveränderungen erkennbar. Im weiteren Verlauf zwischen ein und drei Tagen verschwinden im Nekrosezentrum die Muskelzellkerne, das Zytoplasma wird homogen und die Kardiocyten nehmen ein welliges Aussehen an. Im Randbereich der Nekrose finden sich vakuolisierte und verfettete Muskelfasern, dilatierte Kapillaren und als Ausdruck des inflammatorischen Geschehens eine granulozytäre Infiltration (Wheather, 1987; Thomas, 1992).

Die Periphere arterielle Verschlusskrankheit pAVK wird unterteilt in die häufigere asymptomatische und die symptomatische Form. Bis zu einem Stenosegrad von ca. 80% greifen Kompensationsmechanismen, die eine klinische Manifestation relativ lange verhindern. Bei einer weiteren Zunahme der Stenosierung kommt es ab Stadium II zur Claudicatio intermittens. Betroffene Patienten müssen „intermittierend“

Ruhephasen einlegen, um eine Reoxygenierung der unterversorgten Bezirke zu ermöglichen. Kompensatorisch wird die Kollateralisierung in der Peripherie initiiert. Im Spätstadium der Erkrankung kann es zur Ausbildung von Nekrosen oder zur Gangrän kommen. Diese treten häufig an druckexponierten Stellen (z.B. Großzehenballen) auf (Creutzig, 2004).

Im Tierreich spielt die Atherosklerose und ihre klinischen Manifestationen nur eine untergeordnete Rolle. So treten sklerotische Veränderungen der Gefäßwand meist als unkomplizierte Randphänomene in Erscheinung ohne die Gewebsversorgung grundlegend zu beeinträchtigen (Dahme, 1965; Drommer, 1991). Zwar sind dem Menschen vergleichbare atherosklerotische Veränderungen beim Schwein beschrieben, jedoch werden diese erst nach vier bis acht Jahren manifest und sind aufgrund der landwirtschaftlichen Nutzung dieser Tiere praktisch nicht relevant (Muller, 1992). Die Atherosklerose-Entwicklung läßt sich experimentell bei Kaninchen, Primaten und Schweinen durch Verabreichung cholesterinreicher Diät induzieren (Muller, 1992; Verhamme, 2002).

2.4 Therapie der KHK und pAVK

Es existieren vier therapeutische Säulen:

- Prävention, Behandlung von Risikofaktoren, Prophylaxe, Ergotherapie etc.
- Medikamentöse Therapie
- Interventionelle Therapieverfahren: perkutane transluminale Angioplastie (PTCA), Stentimplantation, Rotationsangioplastie, Laserablationsangioplastie, direktionale Atherektomie u.a.
- Bypassoperation

2.4.1 Interventionelle Verfahren

2.4.1.1 Perkutane transluminale Angioplastie (PTA, PTCA)

Die perkutane transluminale (Koronar)-Angioplastie (PTA, PTCA) stellt durch ihre relativ schonende Technik eine attraktive Alternative zur Bypassoperation dar. Zum ersten Mal wurde diese Methode an peripheren Arterien und Nierengefäßen

angewandt (Gruntzig, 1979). Das Prinzip der PTA besteht in der Aufdehnung stenosierender Gefäßabschnitte mittels eines Ballons zur Verbesserung und Wiederherstellung der myokardialen bzw. peripheren Perfusion. Über einen peripheren Zugang wird in Seldinger-Technik unter Durchleuchtung der Ballonkatheter in das betroffene Gefäß vorgeschoben. Am Ort der Stenose wird anschließend das Plaquematerial druckkontrolliert dilatiert. Indikationen zur PTCA sind der Nachweis kritischer Gefäßverengungen (>70%) und Akutinterventionen bei instabiler Angina pectoris oder Myokardinfarkt (Schächinger, 2004; van de Loo, 2004). Anfangs ging man davon aus, dass eine dauerhafte Gefäßdilataion allein durch die Kompression des Plaquematerials zu erreichen wäre. Allerdings fanden sich in dilatierten Gefäßen obduzierter Patienten häufig Einrisse in der Plauekontinuität, die teilweise bis in die Gefäßwand reichten und zu Verletzungen und Dissektionen subintimaler bzw. submedialer Strukturen führten (Gravanis, 1989). Heute ist erwiesen, dass Einrisse der Gefäßwand einerseits zum normalen Wirkungsmechanismus der PTA gehören, andererseits werden dadurch die meisten Komplikationen provoziert (Strauer, 1999).

In der Peripherie kommt die Angioplastie ab pAVK-Stadium II zur Anwendung. Entscheidend für eine erfolgreiche Intervention ist die Ausdehnung der Läsion, da sich bei längeren Okklusionen die PTA allein als unzulänglich herausstellt. In letzterem Fall kommen alternative Methoden wie die Laser- und Rotationsangioplastie zur Anwendung (Gray, 2000).

2.4.1.2 Komplikationen nach PTA

In der Peripherie durchgeführte Angioplastien sind mit einem relativ geringen Komplikationsrisiko von <3% behaftet, nur in Einzelfällen ist eine chirurgische Intervention nötig (Creutzig, 2004). Dagegen ergab die DANAMI-2-Studie ein 8%iges Risiko für das Eintreten des kombinierten Endpunktes Tod und Reinfarkt 30 Tage nach PTCA (Sejersten, 2006). Pathophysiologisch zeigt sich folgender Ablauf:

Akuter thrombotischer Verschluss

Durch Dissektion des Plaue werden thrombogene Strukturen lumenwärts exponiert, die eine Aktivierung der Gerinnungskaskade und rasche Thrombusbildung mit Ausbildung eines akuten Verschlusses nach sich ziehen (Bittl, 1996).

Remodeling, Restenose

Die als „remodeling“ bezeichnete Gefäßumstrukturierung nach PTA besteht aus einer schnellen Rückstell-Reaktion des Gewebes (= elastic recoil) und eines länger dauernden Umbaus von Strukturen aus Adventitia und Media, die sich als Lumenverlust in Form der Restenose äußern. Der elastic recoil spielt vor allem während der ersten 24 Stunden eine Rolle und trägt in dieser Zeit entscheidend zum frühen Lumenverlust bei. Unterstützt wird diese Gefäßreaktion durch die Freisetzung vasoaktiver Stoffe, z. B. Endothelin, Angiotensin II und Thromboxan A (Hanet, 1991; Kirchengast, 2001).

Bei der Restenose handelt es sich um eine Kombination aus proliferierenden Zellen (= Neointima) und einer Gefäßkontraktion nach Gewebsreizung. Man unterscheidet eine angiographische Restenose (Lumeneinengung >50 % ab 6 Monate post operationem) von einer klinischen (normal ab >70 % Lumenverlust) (Höfling, 1997). Die meisten Restenosen entwickeln sich innerhalb der ersten 6 Monate nach Intervention (Schwartz, 1997). Von einer Restenose nach PTCA, sind ca. 30 – 45 % aller Patienten betroffen (Badimon, 1998).

Der Ablauf der Restenoseentstehung entspricht einer generalisierten Wundheilungsreaktion nach Gewebsverletzung (Forrester, 1991). Die Angioplastie verursacht unterschiedliche Gewebsirritationen. So werden nach Dilatation endotheliale und subendotheliale Strukturen geschädigt, die, analog der Freilegung thrombogener Strukturen in der Atheroskleroseentstehung, eine rasche Thrombusbildung nach sich ziehen. Dabei erfolgt die Entstehung des muralen Thrombus in drei Phasen. Zunächst kommt es im *thrombotic stage* in den Tagen 0 – 3 zur Thrombozytenaggregation mit Fibrin- und Erythrozyteneinschlüssen am Ort der Schädigung. Zwischen Tag 3 und 8 erfolgt die Einwanderung von Entzündungszellen, hauptsächlich bestehend aus Monozyten, neutrophilen Granulozyten und T-Lymphozyten. Außerdem werden Endothelzellen stimuliert, die den Thrombus luminal mit einem Monolayer begrenzen (= *cellular recruitment*). Im *proliferative stage* führen ab dem 9. Tag Zytokine (u.a. PDGF, Endothelin, bFGF, IGF-1) zur Aktivierung und Migration glatter Muskelzellen von der Media in den Thrombus (Forrester, 1991; Gordon, 2000; Kirchengast, 2001). Wahrscheinlich werden vor allem solche Zellen stimuliert, die sich im benachbarten unverletzten Teil der Media befinden, aber auch von in der Adventitia befindlichen Myofibroblasten und

deren Modulation in SMC's wird berichtet (Schwartz, 1993; Faggin, 1999). VEGF als Wachstumsfaktor neuer Gefäße sowie MAPK (Mitogen-aktivierte Protein-Kinasen) und deren Stimulation nach Angioplastie scheinen ebenfalls maßgeblich zur Restenoseentwicklung beizutragen (Hausner, 1999; Pyles, 1997). Nach Einwanderung in das thrombotische Gewebe bilden die aktivierten Zellen an der Innenseite einen sog. luminal cap, eine Formation glatter Muskulatur, die zusammen mit Makrophagen und anderen inflammatorischen Zellen das thrombotische Material sukzessive umorganisieren. Die Muskelzellen sind vom kontraktilen Status in den sekretorischen Zustand übergegangen, aus dem heraus eine übermäßige Gewebsneubildung hervorgeht (Schwartz, 1997; Badimon, 1998). Die Proliferation glatter Muskelzellen ist dabei dem Ausmaß der Verletzung direkt proportional (Schwartz, 1997; Gonschior, 2000; Carter, 1994). In histologischen Untersuchungen bildet die glatte Muskelzelle den zellulären Hauptbestandteil des neointimalen Gewebes (Christen, 2001). Dagegen gelangen andere Forschungsgruppen zu der Ansicht, dass der Myofibroblast den vorherrschenden Zelltyp darstellt (Gonschior, 1994; König, 2002). Parallel zu der Proliferation glatter Muskelzellen kommt es zu gesteigerter Synthese extrazellulärer Matrix, anfangs Glykoproteine und Glykosaminoglykane, später Kollagene und Proteoglykane, die, vermittelt u.a. durch das Zytokin TNF- β 1, ebenfalls zur Volumenzunahme der neu gebildeten Intima beitragen (Forrester, 1991; Gordon, 1993; Riessen, 1996).

Die Rolle des Thrombus in der Genese der Neointima ist umstritten. Es gibt widersprüchliche Angaben darüber, ob eine anfängliche Thrombusbildung lediglich passiv am Beginn des Restenoseprozesses steht oder ob dadurch erst die neointimale Gewebsproliferation initiiert wird. Lowe untersuchte am Schweinemodell die In-Stent-Restenose an Koronarien und beobachtete eine entsprechend stärkere Neointima-Entwicklung nach Thrombusformation um die implantierten Stentstreben, wogegen ohne vorhergehende Thrombosierung der Struts die nachfolgende Zellproliferation glatter Muskulatur geringer ausfiel (Lowe, 2001). Diese Ergebnisse decken sich mit Untersuchungen von Schwartz, wonach der nach PTCA sich bildende Thrombus die Dicke der Neointima determiniert indem er als Matrix fungiert, in die glatte Muskelzellen einwachsen können (Schwartz, 1993). Die meisten Autoren folgen der Theorie, nach der die zelluläre Sekretion von Wachstumsfaktoren und Zytokinen im Rahmen einer allgemeinen Entzündungsreaktion als Antwort auf eine

Gefäßwandläsion eine unkontrollierte Migration und Proliferation der lokal ansässigen glatten Muskelzellen stimuliert (Liu, 1989; Carter, 1994; Bilder, 1999). Dementsprechend ist auch das Ausmaß der Gewebsneubildung größer als der anfängliche Thrombus alleine (Schwartz, 2002).

2.5 Stent

Während die PTA schonend eingesetzt werden kann, führen Stent-Implantationen immer zu tieferen Wandläsionen. Schwartz berichtet von Untersuchungen am Schweinmodell, bei denen nach koronarer Stentimplantation in der Folge die Restenose zu einer Lumeneinengung von über 50% führte (Schwartz, 1990).

Die Implantation eines Stents verfolgt drei Ziele: Beseitigung akuter Gefäßverschlüsse nach PTA, Verbesserung der Gefäßdurchgängigkeit nach unzureichendem PTA-Ergebnis, Reduktion der Rezidivrate im Vergleich zu alleiniger PTA (Herold, 2006). Den Begriff hat Charles Stent (1845-1901) geprägt, der Stützmaterialien zur Stabilisierung u.a. nach Hautverletzungen entwickelte. Diese Gerüstfunktion ist mit dem heutigen Terminus gleich geblieben (Sigwart, 1997). Die ersten Experimente mit implantierbaren Stents wurden 1969 von Dotter durchgeführt. Er platzierte Metallspiralen an Beinarterien von Hunden und beschrieb als erster eine Gewebsneubildung, die nach einigen Wochen in den verletzten Bereichen um die Metallstreben herum entstanden war (Dotter, 1964). Im Jahr 1984 wurde der erste koronar implantierbare Stent von Palmaz entwickelt (Palmaz, 1987). Dieses Implantat aus chirurgischem Edelstahl wurde 1986 in humane Koronarien implantiert (Sigwart, 1987). Heutzutage werden ca. 70% aller PTCA's mit einer Stentimplantation kombiniert, die Indikation richtet sich dabei nach Morphologie und Erreichbarkeit der Läsion (Schanzenbächer, 2004). In peripheren Arterien muss besonders auf die Lokalisation geachtet werden, da eine Platzierung in der Nähe von Gelenken zu einer Beeinträchtigung der Stentstruktur führen kann (Bauersachs, 2003).

Die Stentimplantation erfolgt mittels Katheter in Seldinger-Technik. Man unterscheidet zwischen selbstexpandierbaren und ballonexpandierbaren Stents. Der selbstexpandierbare Typ entfaltet sich nach Entfernung einer Schutzhülle durch seine Eigenspannung zu einem vorgegebenen Durchmesser. Ballonexpandierbare Stents

müssen vor Einbringen in das Gefäß auf dem Katheter montiert sein. Nach Ausdehnung über seine elastische Grenze hinaus bleibt die Gefäßstütze formstabil.

Ein idealer Stent sollte folgende Eigenschaften besitzen (McLean, 2002):

- Flexibilität: Um an den Ort der Implantation zu gelangen, muss sich der kathetergeführte Stent dem Gefäßverlauf anpassen und etwaige Engstellen passieren können.
- Stabilität: Nach Aufdehnung sollte das Implantat sowohl longitudinal als auch radial eine gewisse Starrheit aufweisen und nur geringfügig seinen Durchmesser verringern (geringer recoil). Gute Gerüsteigenschaften garantieren eine dauerhafte Gefäßdilatation.
- radiologische Sichtbarkeit: Um eine exakte Lokalisierung und Platzierung des Stents zu erreichen ist eine ausreichende röntgenologische Sichtbarkeit nötig. Die meisten Materialien, die in der Stentfertigung zum Einsatz kommen, besitzen aufgrund der dünnen Streben eine schwache röntgenologische Dichte, was den Implantationsprozess erschwert. Stentbeschichtungen mit Gold oder Platin erhöhen zwar die Darstellbarkeit, ebenso provozieren sie jedoch eine vermehrte Neointimabildung und sind in ihrer Elastizität eingeschränkt (Kastrati, 2000; Hoffmann, 2002).
- Design/Profil: Die Dicke der einzelnen Metallstreben beeinflusst in hohem Maß die spätere In-Stent-Restenose. Allerdings gehen dünnere Struts auf Kosten der radiologischen Sichtbarkeit. Insgesamt ist eine geringe Gefäßtraumatisierung durch optimierte Designeigenschaften (Material, Geometrie) wichtig, um eine rasche Wundheilung und Reendothelialisierung zu ermöglichen (Palmaz, 2002; König, 2002; Hehrlein, 2002)
- Biokompatibilität: Um eine hohe Gewebsverträglichkeit zu erzielen, muss die Thrombogenität und der chronische Entzündungsstimulus durch den Stent so gering wie möglich gehalten werden. Dabei spielt die Oberfläche der Implantate eine maßgebliche Rolle. Die meisten Metalle sind an der Außenseite elektropositiv geladen. Dadurch wird die Thrombogenität erhöht, denn die Gerinnungsfaktoren besitzen eine positive Ladung. Eine Verwendung von Materialien mit negativem Potenzial verbietet sich wegen der fehlenden Korrosionsbeständigkeit. Glatte und elektrisch neutrale Oberflächen wie

elektropolierter Edelstahl, aus dem die meisten Gefäßstützen hergestellt sind, hat ein geringes thrombogenes Potenzial (Hoffmann, 2002).

2.5.1 Selbstexpandierbare Stents

Mesh-Stents

Der Wallstent ist selbstexpandierbar und unter diesen Typen der am häufigsten angewandte. Er kam als erstes Implantat am Menschen zur Anwendung und erhielt über die Jahre zahlreiche Modifikationen. Der heute gebräuchliche Magic Wallstent ist aus einer Kobalt-Metall-Mischung mit Platinium-Kern gefertigt. Er zeichnet sich durch eine hohe Flexibilität aus, wodurch das Erreichen auch schwer zugänglicher Implantationsorte ermöglicht wird. Unterschiedlich große Durchmesser erlauben eine universelle Anwendung von Wallstents in Gefäßen, aber auch in Ösophagus, Trachea, Gallenwegen und ableitenden Harnwegen. Bei vaskulärer Implantation muss damit gerechnet werden, dass sich der Stent bei seiner Entfaltung um bis zu 20% verkürzt und somit schlechter steuerbar ist als ballonexpandierbare Implantate (Sigwart, 1990).

2.5.2 Ballonexpandierbare Stents

Tubular Stents

Implantate dieser Art werden aus Edelstahl-Metallröhrchen geätzt oder in Laserschnitttechnik geschnitten, wodurch eine multizelluläre Struktur mit guter Stabilität geschaffen wird. Der Palmaz-Schatz-Stent als einer ihrer Vertreter ist heute weit verbreitet und wurde in verschiedenen Studien mit anderen Modellen verglichen. Seine eingeschränkte Flexibilität erschwert eine Implantation in gewundenen und kurvenreichen Gefäßen. Andererseits besitzt er eine hohe radiale Stabilität und ist deshalb besonders gut zur Implantation in verkalkten und fibrosierten Gefäßen geeignet. Diese Stabilität wird durch die rektanguläre Konstruktion der Struts zueinander erreicht, die im aufgedehnten Zustand eine Rautenform annehmen. Neuere abgeänderte Modelle mit besserer Flexibilität und dünneren Streben (Crown/Mini-Crown) erlauben einen Einsatz auch in kleineren und schwer zugänglichen Gefäßen.

Sebstexpandierbare Stents zeigen trotz einer vermehrten Intima-Hyperplasie klinisch und angiographisch im Vergleich mit ballonexpandierbaren Stents gleich gute Eigenschaften (Han, 2001/SCORES).

2.5.3 Andere Typen

Coil Stents bestehen aus einem durchgehenden einzelnen Draht, der unterschiedlich gestaltet ist, weshalb dieser Typ äußerst flexibel ist. Hauptkomplikation ist die relative Instabilität mit entsprechend hohem elastic recoil, weshalb sie heute weitgehend aus dem klinischen Gebrauch verschwunden sind (Cutlip, 2003; Dean, 1997).

Das Prinzip der *Ring-Stents* zeigt sich am Beispiel des AVE Micro Stent II. Er besteht aus kurzen Segmenten, die an einer oder mehreren Stellen miteinander verbunden sind.

Der wichtigste Vertreter der *multidesign- Stents* ist der NIR-Stent. Sein multizelluläres Design bedingt ein hohes Maß an Flexibilität, im expandierten Zustand dagegen steifen die Zellen aus und stabilisieren die Zellwand. Ein mit einer Goldbeschichtung zur besseren radiologischen Sichtbarkeit versehenes Modell (NIR Royale) zieht eine stärkere Restenose nach sich (Cutlip, 2003).

2.5.4 Komplikationen nach Stentimplantation

Zu den Problemen, die mit der Stentimplantation assoziiert sind, zählen Gefäßrupturen, akute und subakute Stentthrombosen sowie die In-Stent-Restenose (Hombach, 1995).

2.5.4.1 In-Stent-Restenose (ISR)

Die Restenose stellt nach Stent-Implantation die häufigste Komplikation dar. Im Langzeit-follow-up liegt die Restenoserate von Stents nur um etwa 10% unter der nach PTCA und beträgt noch 20-30% (Serruys, 1994/BENESTENT; Fischman, 1994/STRESS; Schwartz, 2002). Neuere Studien berichten allerdings, dass abhängig von Risikofaktoren wie Diabetes mellitus 10-50% der Fälle mit einer ISR einhergehen und damit nur einen geringen Häufigkeitsunterschied zur PTCA aufweisen (Lowe, 2002; Virmani, 2003; Hehrlein, 2002). Bis auf den sog. elastic recoil ist der

pathophysiologische Ablauf der ISR im Prinzip mit dem der Restenose nach alleiniger PTA vergleichbar. Durch die mechanischen Stützeigenschaften der Implantate werden die elastischen Rückstellkräfte der Adventitia und Media überwunden, wodurch ein früher Lumenzuwachs erreicht wird (Schwartz, 1997; Christen, 2001; Lowe, 2002). Um die ISR-Stimulation durch hohe Dilatationsdrücke einzudämmen formulierte Lepor eine Abkehr von „bigger is better“ zu „the more you gain, the more you lose“ (Lepor, 2002). Neben dem Dilatationsdruck hängt die Ausprägung der Restenose wesentlich von den Stenteigenschaften (Strutdicke, Geometrie etc.) ab (McClean, 2002; Rodgers, 2002; Sick, 2003; Yorozuya, 2002). Die Metallstreben verursachen durch den chronischen Entzündungsreiz im Gewebe eine Fremdkörperreaktion mit starker intimaler Hyperplasie. Dementsprechend werden viele Entzündungszellen histologisch in Nachbarschaft der Stentstruts beobachtet, während die inflammatorische Reaktion nach alleiniger PTCA weit harmloser ausfällt (Karas, 1992; Hiatt, 2001). Bedeutsam scheint in Iliakalarterien die Verletzung der Lamina elastica interna zu sein, da ihre Unversehrtheit nach Stentimplantation unabhängig vom Stentdesign eine geringere reaktive Gewebsbildung nach sich zieht (Sullivan, 2002).

2.6 Therapeutische Ansätze zur Reduktion der ISR

2.6.1 Mechanische Verfahren

Die herkömmliche Angioplastie kommt dort zum Einsatz, wo die Gefäße noch nicht verkalkt sind und eine Passage des Ballonkatheters noch möglich ist. Der Lumenzuwachs setzt sich zusammen aus Nachdehnung und weiterer Stentaufdehnung, allerdings ist die Rekurrenz bei dieser Methode hoch. Die excimer Laser Angioplastie, die direktionale Atherektomie und high speed rotational atherectomy (HRSA) sind alternative Therapieverfahren in großen (>3 mm) Gefäßen. Bei letzteren wird über ein Bohrkopf bzw. rotierende Messer stenosierendes Material abgetragen. Es besteht jedoch die Gefahr der Zerstörung einzelner Stentstreben mit nachfolgender Gefäßruptur. Über eine Restenosierung von 28% nach HRSA wird berichtet (Lowe, 2002; Mintz, 1998).

2.6.2 Medikamentöse Therapie

Der wichtigste Wirkstoff der *Cyclooxygenase-Hemmer* ist die Acetylsalicylsäure. Durch die Blockierung des Enzyms Cyclooxygenase wird die Prostaglandin- und Thromboxansynthese gehemmt, wodurch die Thrombozytenaggregation vermindert wird. Clopidogrel und Ticlopidin sind Thrombozytenaggregationshemmer der Wirkstoffgruppe *Thienopyridinderivate* mit Wirkung über die ADP-Rezeptoren. Die ADP-vermittelte Expression der GP IIb/IIIa-Rezeptoren auf den Blutplättchen kann über diese Arzneimittel effektiv gehemmt werden. Aspirin in Kombination mit Clopidogrel wird zur ISR-Prävention empfohlen, da es bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität senkt (Mehta, 2001/CURE). In der Therapie der pAVK wird ASS und bei Unverträglichkeit Clopidogrel bzw. Ticlopidin für jeden Patienten empfohlen (Duprez, 2003).

Der Wirkungsmechanismus der *GP IIb/IIIa-Hemmer* besteht in einer Blockade des Glykoprotein-IIb/IIIa-Rezeptors auf den Thrombozyten, wodurch die Anlagerung und Vernetzung von Fibrinogen an die Plättchen verhindert wird. Durch eine Verbesserung der Mikrozirkulation wird nach STEMI die Gabe von GP IIb/IIIa-Hemmern in der DANAMI-2-Studie empfohlen (Sejersten, 2006/DANAMI-2).

Heparin ist als *Thrombin-Antagonist* ein bewährtes Antikoagulans, das ebenso wie ASS und Clopidogrel als Therapie erster Wahl bei Koronarinterventionen gilt (Herold, 2006). Es wirkt als Kofaktor für das Antithrombin III (AT III) und beschleunigt dessen Bindung an den Blutgerinnungsfaktor X und Thrombin. Mit letzterem entsteht ein Thrombin-Antithrombin III-Komplex (TAT), der die Thrombin vermittelte Fibrin-Bildung verhindert. Bivalirudin ist ein direkter Thrombininhibitor und stellt ein Derivat des *Hirudins* dar. Vor allem das heute gebräuchliche halbsynthetische PEG-Hirudin ist ein potentes antithrombotisches Arzneimittel. Es benötigt im Gegensatz zu Heparin keinen Kofaktor, denn es besitzt eine hohe Affinität zu Thrombin, das es durch direkte Bindung inaktiviert.

Iloprost besitzt als ein *Prostazyklin-Analogen* vasodilatierende und thrombozytenaggregationshemmende Wirkung. Sowohl kardial als auch in peripheren Arterien weist Iloprost in atherosklerotischen Gefäßen eine niedrigere Verschlussrate auf. Eine Beeinflussung der Restenoserate ist jedoch fraglich (Knutson, 1990; Blardi, 2006).

Systemisch verabreichte *Steroide* sind zur Prophylaxe der ISR und Restenose nach PTCA nur bedingt geeignet. Zwar konnten externe Dexamethason-Gaben (von der Adventitia-Seite her) und hohe systemische Dosierungen am Modell von Ratte und Kaninchen die neointimale Proliferation reduzieren, jedoch ließen sich diese Beobachtungen aufgrund limitierter Wirkstoffspiegel nicht auf den Menschen übertragen (Lincoff, 1997). Der antiproliferative Effekt zeigt sich *in vitro* durch verminderte PDGF- und IL-1 β -Spiegel und in einer Reduktion der Entzündungszellen und Kollagensynthese (Villa, 1994). *Trapidil* als Antagonist des platelet derived growth factor (PDGF) wurde vor einigen Jahren eine antiproliferative Wirkung auf die Restenose nach PTCA beim Kaninchen zugesprochen (Liu, 1990; Fuster, 1995). Ein neuer Inhibitor mit der Bezeichnung RPR101511a verhindert die PDGF-Autophosphorylierung und konnte am Schweinemodell die Restenose nach PTCA komplett unterdrücken bei einem Lumenverlust von 50% in der Kontrollgruppe (Bilder, 1999).

Die der Atherosklerose häufig zugrunde liegende Hyperlipidämie wird mit *HMG-CoA-Reduktase-Hemmern* erfolgreich behandelt. In mehreren Studie konnte die Inzidenz von Myokardinfarkt und kardiovaskulären Komplikationen unabhängig von Serum-Cholesterin-Spiegeln gesenkt werden (Shepherd, 1995/WOS; HPS-Studie, 2002).

Angiotensin-II-Rezeptor-Antagonisten konnten in einem *in vitro* Schweinemodell signifikant die neointimale Proliferation nach Angioplastie hemmen (Wilson, 1999).

2.6.3 Brachytherapie

Die intrakoronare Radiotherapie mit β - und γ -Strahlung ist seit einigen Jahren eine Option zur Therapie der In-Stent-Restenose. Über einen Katheter gelangt der Strahlungsträger (Draht, Ballon, spezielle Bänder) an den Ort der Schädigung. Radioaktive Strahlung verzögert jedoch die Reendothelialisierung des zuvor implantierten Stents, wodurch es häufiger zu späten Thrombosen (> 30 Tage) kommt (Kay, 2000; Salame, 2000). Diese unerwünschte Wirkung wird durch eine verlängerte Thromboseprophylaxe mit Aspirin und Clopidogrel über mindestens 12 Monate nach Bestrahlung angegangen (Waksman, 2002). Eine weitere wichtige Nebenwirkung dieser Methode ist der sogenannte edge effect. Besonders an den Stentbegrenzungen kommt es hierbei zu einer Verengung des Gefäßdurchmessers.

Durch eine Verlängerung des bestrahlten Areals um mindestens 10 mm über das okkludierte Segment hinaus kann dieser Effekt jedoch vermieden werden (Waksman, 2002). Inzwischen hat die klinische Erfahrung gezeigt, dass vaskuläre Stenosen bzw. die ISR nur noch in Ausnahmefällen mit Brachytherapie behandelt werden.

2.6.4 Gen-Therapie

Zur Behandlung post-interventioneller Gefäßverengungen begann man in letzter Zeit, Methoden aus der Gentherapie zu nutzen. Prinzipiell versucht man, durch einen Vektor – z.B. Adeno- oder Retroviren – die SMC-Proliferation über Aktivierung bestimmter antiproliferativer Gene zu unterdrücken (Lowe, 2002). Über die Effektivität dieser Therapiemethode zur Prävention der ISR und PTA-assoziiierter Veränderungen wird in der Literatur konträr berichtet (Rutanen, 2002; Wu, 2001).

2.6.5 Drug Eluting Stents (DES)

Die Idee, am Ort des Geschehens eine lokale Medikamenten-Applikation zu installieren, hat unterschiedliche Ausführungen nach sich gezogen (Elkins, 2002). Experimentiert wurde mit Doppellumen-, Transport-, Nadel-, Iontophorese- und Dispatchkathetern sowie Hydrogel-, Channel- und Mikroporousballonen. Der Nachteil bestand allerdings in den meisten Fällen in der kurzen Einwirkzeit der jeweiligen Stoffe durch rasche Ausschwemmung aus dem Zielgebiet (Riessen, 1996). Stents mit Arzneistoff tragenden Manschetten sind mit einer erhöhten Thromboserate vergesellschaftet und somit zur Prophylaxe der ISR ungeeignet (Grube, 2002b).

Polylaktide (z.B. PLA) stellen ein hochvisköses Polymer mit plastischer Verformbarkeit dar. Dadurch ist nach Beschichtung eine Expansion des Stents ohne Schädigung des PLA-Mantels möglich (Firmeninformation). PLA als Matrix verursacht nur eine schwach ausgeprägte Entzündungsreaktion des benachbarten Gewebes und ist gut biokompatibel (Alt, 2000). Zur Untersuchung der Biokompatibilität an Mäusen dominierten außer einigen Fremdkörperriesenzellen im histologischen Bild Makrophagen und Fibroblasten als Ausdruck einer milden Fremdkörperreaktion (Gogolewski, 1993).

In den vergangenen Jahren haben sich zwei Wirkstoffe durch ihre ISR-präventive Potenz etabliert: Sirolimus (Rapamune®) und Paclitaxel (Taxol®).

Sirolimus ist ein lipophiles Makrolid-Lakton, das primär antimykotisch, besonders gegen Hefe wirkt (Marks, 2003). Den zunächst unerwünschten immunsuppressiven Effekt machte man sich in der Folge zur Prophylaxe einer Organabstoßung nach Nierentransplantation zunutze (Vasquez, 2000). Der Wirkmechanismus besteht aus einer Blockade des Übergangs der G1- in die S-Phase des Zellzyklus durch Bindung an das intrazelluläre Protein FKBP12. Auf diesem Weg unterdrückt es die Interleukin-gesteuerte T-Zell-Proliferation (Kelly, 1997). In mehreren klinischen Studien konnte ein inhibierender Effekt von Sirolimus beschichteten Stents auf die Neointima-Bildung nachgewiesen werden (Moses, 2003/SIRIUS).

Paclitaxel bindet an Mikrotubuli und verhindert dadurch deren Depolymerisierung zu Tubulin. Als Folge können Mitosespindeln nicht abgebaut werden, was eine Hemmung der Zellteilung nach sich zieht. Paclitaxel reduzierte in einem in vivo-Modell am Kaninchen durch Hemmung der glatten Muskelzellen die Neointima-Bildung (Axel, 1997; Drachman, 2000; Grube, 2002). In mehreren groß angelegten klinischen Studien wurde die Praxistauglichkeit und Effektivität dieser Stent-Beschichtung bewiesen (Grube, 2003; Colombo, 2003; Tanabe, 2003; Moses, 2005/TAXUS I-IV).

Obwohl Sirolimus eine geringere Restenoserate und late lumen loss aufweist sprechen letzte Studienergebnisse beiden Beschichtungstypen eine vergleichbare klinische Langzeitwirkung zu (Sidhu, 2006; Han, 2006). Jedoch führt die lokale Freisetzung der antiproliferativen Substanzen zu einer verspäteten Wundheilung und verzögerten Endothelialisierung, weshalb eine langfristige antithrombotische Therapie empfohlen wird, um eine späte Stent-Thrombose (>30 d nach Implantation) abzuwenden (Kandzari, 2006; Wernick, 2006).

3 Material und Methoden

3.1 Zielsetzung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, mit Hilfe immunhistologischer Methoden zu untersuchen, welchen Einfluss antiinflammatorische, antiproliferative und antithrombogene Stent-Beschichtungen auf glatte Muskelzellen der Gefäßwand und die Restenoseentwicklung am Schweinemodell haben. Zu diesem Zweck wurden die verwendeten Stents mit unterschiedlichen biodegradierbaren Beschichtungen und in diese eingebrachte Arzneistoffe versehen.

3.2 Modell und Versuchstiere

Für die Versuche stehen 19 klinisch gesunde Schweine zur Verfügung. Die Tiere der Landrasse Hybrid besitzen ein Gewicht zwischen 22-35 kg. Die Schweine stammen aus einem staatlich anerkannten Zuchtbetrieb, ihre Haltung erfolgt in Gruppen variabler Größe auf Vollspaltenböden. Gefüttert werden die Tiere zweimal täglich (TREFF-Haltungsfutter eiweißarm, Fa. Hausladen, Heimstetten), Wasser steht frei zur Verfügung. Einige Tage vor Versuchsbeginn erfolgt die Überstellung aus dem Zuchtbetrieb in den Tierbereich des Instituts. Dort sind die Tiere in Einzelboxen (Größe ca. 3 qm) auf einstreulosen, planbefestigten Kunststoffböden untergebracht. Die Schweine haben Geruchs- und Sichtkontakt zu ihren Artgenossen. Die Raumtemperatur liegt bei Belüftung zwischen 18-21°C, die relative Luftfeuchtigkeit beträgt ca. 60%. Die letzte Fütterung erfolgt 24 Stunden vor der geplanten Operation. Zur Überwachung verbleiben die Tiere am ersten postoperativen Tag im Institut, um anschließend zurück in den Zuchtbetrieb verbracht zu werden. Vier Wochen nach Stentimplantation wird jedes Tier erneut in den Tierbereich des Instituts transportiert. Nach einer angiographischen Kontrolluntersuchung erfolgt die Opferung.

3.3 Versuchsplan

Es werden pro Tier insgesamt vier Stents implantiert. Je zwei werden koronar in die beiden Äste Ramus interventricularis anterior (RIVA, LAD) und Ramus circumflexus (RCX, LCX) der linken Koronararterie eingebracht. Die anderen beiden Stents werden beidseits in die Beckengefäße (Aa. iliaca profunda dextra et sinistra = FRE,

FLI) implantiert. Es kommen Flex-Stents (Fa. InFlow Dynamics AG, München), am Herzen mit der Länge von 12 mm, an den iliakalen Gefäßen mit 30 mm, zum Einsatz. Die Summe der implantierten Stents beträgt 76, woraus vier Gruppen unterschiedlicher Beschichtungen und eine Gruppe unbeschichteter Stents gebildet werden.

Tabelle 1: Versuchsplan; DD = Dexamethasonacetat/Dexamethason, IH = Illoprost/PEG-Hirudin, IHD = Illoprost/PEG-Hirudin/Dexamethasonacetat, PLA = Polylaktid, Unc. = uncoated, unbeschichtet

Versuch	Stent in LAD	Stent in LCX	Stent in re. A. fem., (FRE)	Stent in li. A. fem. (FLI)
15	IH	DD	IHD	Unc.
16	IHD	Unc.	DD	PLA
17	DD	PLA	Unc.	IH
18	PLA	IHD	Unc.	IH
19	IH	DD	PLA	IHD
20	IHD	Unc.	IH	DD
21	DD	PLA	IHD	Unc.
22	Unc.	IH	DD	PLA
23	IHD	Unc.	IH	PLA
24	DD	PLA	IHD	IH
25	Unc.	IH	DD	IHD
26	PLA	IHD	Unc.	DD
27	IH	DD	PLA	Unc.
28	IH	PLA	IHD	Unc.
29	DD	IHD	Unc.	IH
30	PLA	Unc.	IH	DD
31	Unc.	DD	Unc.	IHD
32	PLA	DD	Unc.	Unc.
33	IHD	Unc.	Unc.	Unc.

Nach einer Implantationsdauer von 28-30 Tagen wird bei jedem Tier eine abschließende Kontrollangiographie der Koronarien und der Beckengefäße mit Bilddokumentation vorgenommen. Nach Gefäßpräparation in Höhe des proximalen Stentdrittels und Entfernung der Metallstreben aus der arteriellen Wand wird jedes Gefäß in Tissue Tek (Fa. DAKO, Denmark) unter Anwendung von flüssigem Stickstoff eingebettet und für Kryostatschnitte vorbereitet. Nach Anfertigung immunhistologischer Färbungen werden die Gefäßabschnitte histologisch beurteilt und semiquantitativ ausgewertet.

3.4 Versuchsdurchführung

3.4.1 Stentbeschichtung

Der Beschichtungsvorgang erfolgt unter sterilen Bedingungen in Form von Dipcoating unter Laminar-Air-Flow. Um eine elastische und dauerhafte Beschichtung der Stents mit den gewünschten Substanzen sicherzustellen bedarf es zunächst einer Trägermasse, an die Medikamente gekoppelt werden können. Als Trägermaterial wird PLA-Poly D,L-Lactid (Resomer® R 203, Fa. Böhlinger, Ingelheim), als organisches Lösungsmittel Ethylacetat verwendet. Anschließend werden die beiden antikoagulatorischen Substanzen Iloprost und Hirudin der Lösung zugegeben. Iloprost (Ilomedin®, Fa. Schering AG, Berlin) ist eine unsterile, ölige Substanz, die sich gut in R 203/Ethylacetat löst, sie wird in einer Konzentration von 1% verwendet. Hirudin kommt als pegyliertes Hirudin (PEG-Hirudin, Fa. Knoll AG, Ludwigshafen) in 5%iger Konzentration zur Anwendung. PEG-Hirudin (PEG = Polyethylenglycol) besitzt eine längere Halbwertszeit als reines Hirudin. Die unsterile Suspension R 203/Ethylacetat/Iloprost wird durch einen Sterilfilter der Porengröße 0,2 µm (Minisart SRP 25, Fa. Sartorius, Göttingen) zu Keimfreiheit gebracht, bevor das bereits sterile PEG-Hirudin zugegeben wird. Hieraus entsteht die Beschichtung R 203/Iloprost 1%/PEG-Hirudin 5% (= IH).

Dexamethasonacetat (DA) liegt in Form eines wasserfreien Pulvers vor (Fa. Synopharm GmbH, Pharmazeutische Feinchemikalien, Barsbüttel). Es wird in 5%iger Konzentration der IH-Lösung zugegeben, woraus die Beschichtung R 203/DA 5%, Iloprost 1%, PEG-Hirudin 5% (= IHD) entsteht.

Zur Herstellung der Beschichtungslösung Dexamethason 15%/Dexamethasonacetat 5% werden beide Substanzen nach Sterilfiltration mit R 203 und Ethylacetat in Lösung gebracht.

Somit liegen folgende Stentbeschichtungen vor:

- | | |
|--|------------|
| > Dexamethasonacetat (5%)/Dexamethason (15%) | = DD, DEXA |
| > Iloprost (1%)/PEG-Hirudin (5%)/Dexamethasonacetat (5%) | = IHD |
| > Iloprost (1%)/PEG-Hirudin (5%) | = IH |
| > Polylaktid (Resomer® R203) | = PLA |
| > uncoated (unbeschichtete Stents) | = unc. |

Die Beschichtung der sterilen Stents erfolgt durch Aufnahme des Stents auf einen dünnen, sterilisierten Edelstahldraht und Eintauchen in die Beschichtungslösung. Durch Schwenken des Stents an der Luft verdunstet das Ethylacetat, und die R 203-Lösung verteilt sich gleichmäßig auf die Metallstreben. Nun wird der Stent einige Minuten am Metalldraht ausgehängt, bevor zur Gewährleistung einer kompletten Beschichtung der Stent vom anderen Ende her nochmals in die Lösung getaucht wird. Nach Abschluss dieses Vorgangs beträgt die Beschichtungsdicke 10-20 μm . Nach dem Trocknen werden die Stents doppelt steril verpackt.

3.4.2 Operationsvorbereitung, Anästhesie

Nach Untersuchung und Wiegen der Tiere erfolgt die präoperative Sedierung intramuskulär mit Azaperon 2 mg/kg KG (Stresnil®, Fa. Janssen-Cilag GmbH, Neuss), Ketamin 10 mg/kg KG (Narketan®, Fa. Chassot AG, Ravensburg) und Atropinsulfat 0,02 mg/kg KG (Eifelfango Chem. pharm. Werke GmbH & Co. KG, Bad Neuenahr-Ahrweiler). Über eine Venenverweilkanüle in die V. auricularis lateralis erfolgt nun die Vertiefung und Aufrechterhaltung der Narkose mit Eunarcon® 10-15 mg/kg KG (Pharmacia & Upjohn GmbH, Erlangen). Danach wird eine endotracheale Intubation (Kf. 6,5 – 8,0, Fa. Rüschi) durchgeführt. Zur Infektionsprophylaxe erhalten die Schweine präoperativ 400.000 IE Longicillin® (Fa. Chassot GmbH, Ravensburg). Im Operationssaal werden die Tiere in Rückenlage fixiert. Die Beatmung erfolgt volumenkontrolliert über einen automatischen Respirator (Elvira, Fa. Hoyer-Engström, Achim, Schweden). Die Narkose wird mit einem Lachgas-Sauerstoffgemisch im Verhältnis 2:1 sowie Isofluran 1% (Fa. Abbott GmbH, Wiesbaden) aufrechterhalten, zur Analgesie wird über den venösen Zugang fraktioniert Fentanyl 0,025 mg/kg KG (Fentanyl Janssen®) verabreicht. Zur Flüssigkeitssubstitution kommt Ringerlactat (Sterofundin®, Fa. Braun AG, Melsungen) in einer Dosis von ca. 10 ml/kg/KG zum Einsatz. Das intraoperative Monitoring wichtiger Vitalparameter umfasst EKG- und arterielle Blutdruckmessung (HBV20, Fa. Biotronic, Berlin), Pulsoxymetrie (Lifestat 1600, Fa. PhysioControl, Redmond, USA) sowie kontinuierliche Erfassung der Atemgase (Capnomac Ultima, Fa. Datex, Helsinki, Finnland).

Nach Abschluss der operativen Maßnahmen und Ausschwemmung der Narkosegase erfolgt bei positivem Schluckreflex die Extubation. Postoperativ in der Aufwachphase erhalten die Tiere zur Schmerzlinderung Metamizol 20-50 mg/kg KG i.v. (Novalgin®, Fa. Hoechst, Bad Soden). Die Tiere werden anschließend zurück in die Einzelboxen verlegt und mindestens 24 Stunden überwacht. Bei komplikationslosem Verlauf und guter Erholung folgt danach der Rücktransport in den Zuchtbetrieb.

3.4.3 Operatives Vorgehen

Der bei humanen Stentimplantationen übliche Zugangsweg über die Arteria femoralis in Form perkutaner Punktion ist am Schweinmodell wegen der tiefen Lage der Gefäße technisch schwierig. Dagegen bietet sich die Arteria carotis communis durch seine herznahe Lage und leichte präparatorische Darstellung als arterieller Zugangsweg an. Ein zentraler Venenkatheter kann außerdem am selben Operationssitus in die Vena jugularis interna platziert werden.

Im OP wird nach Lagerung der Tiere auf den Rücken die linke Halsseite durch Rasur, Desinfektion mit Kodan®-Lösung und steriler Abdeckung zum Eingriff vorbereitet. Nach Hautinzision erfolgt die stumpfe Präparation von A. carotis com. und V. jugularis sinistra. Zunächst wird ein zentraler Venenkatheter (ZVK) zur intra- und postoperativen Flüssigkeitssubstitution und Analgesie angelegt. Dazu wird die V. jugularis ligiert (Vicryl®, 3-0 USP, Fa. Ethikon GmbH, Norderstedt), kaudal der Ligatur mit einer Gefäßschere inzidiert und ein Zentralvenenkatheter (ZVK/Cavatheter® Safe, Fa. Fresenius AG, Bad Homburg) eingeführt, dessen Spitze auf Höhe der Vena cava superior positioniert wird. Zur Antikoagulation wird Heparin 200 IE/kg KG (Heparin-Natrium 25000, Fa. Ratiopharm) sowie Acetylsalicylsäure 250 mg (Aspisol®, Bayer Vital GmbH & Co. KG, Leverkusen) verabreicht. Zur Vorbeugung etwaiger Rhythmusstörungen kommt Amiodaron 300 mg (Cordarex®, Sanofi Winthrop GmbH, München) zum Einsatz.

Anschließend wird die Arteria carotis communis chirurgisch versorgt. Nach sorgfältiger Präparation des Gefäßes wird in Seldinger-Technik eine 7-French-Gefäßschleuse (Cordis®, Fa. Johnson&Johnson, Roden, Niederlande) eingebracht und fixiert. Durch die Schleuse wird ein Judkins-Left-3,5-Führungskatheter (Fa. Cordis, Haan) vorgeschoben. Die Koronarien werden unter Zuhilfenahme eines

Führungsdrahtes im Bulbus Aortae unter Röntgendurchleuchtung (Exposcop 7000, Fa. Ziehm GmbH, Nürnberg) dargestellt. Nach Identifizierung der linken Koronararterie erfolgt eine Bolusgabe Glycerolnitrat (Nitrolingual®) zur Prophylaxe eines Koronarspasmus. Durch Kontrastmittelgabe (Imeron® 350) und Durchleuchtungskontrolle kann der Gefäßverlauf und die Katheterposition einfach und sicher bestimmt werden. Die Sondierung von LAD bzw. LCX gelingt mit Hilfe des Führungsdrahtes problemlos. Nach Bestimmung eines geeigneten Lokalisationsortes für die Stentimplantation und Wahl eines dem Gefäßdurchmesser entsprechenden Ballonkatheters wird der zu implantierende Stent auf den Ballon aufgebracht. Der Implantationsort sollte einen Gefäßdurchmesser zwischen 2-3 mm aufweisen und frei von Gefäßabgängen sein. Über den Führungsdraht wird nun der Ballonkatheter (Typ Worldpass bzw. Tacker, Fa. Cordis Medizinische Apparate GmbH, Haan) unter Röntgenkontrolle eingeführt und in der gewünschten Position platziert. Zur Aufdehnung wird ein Drehinflator (Intellsystem R25, Merit Medical, Ireland) mit manometrischer Kontrolle verwendet. Der Dilatationsdruck variiert dabei von 8-18 atm. und wird über 20 sec. aufrecht erhalten. Die Gefäßwand wird, bedingt durch die Ballongröße, um den Faktor 1,25 überdehnt, was die Restenosebildung provozieren soll. Eine angiographische Kontrolle dokumentiert den korrekten Sitz des Stents und die Durchgängigkeit der Arterie. Jedem Tier werden koronar in den Gefäßen LAD und LCX sowie peripher im Bereich der re. und li. Femoralarterie auf Höhe des Beckens Stents implantiert.

Nach erfolgreicher Implantation werden Schleuse und ZVK aus dem jeweiligen Gefäß entfernt und die Punktionsstellen verschlossen. Die Wunde wird fortlaufend mit Vicryl® 3-0 USP genäht, die Haut anschließend mit Prolene® 2-0 Einzelknopfnähten versorgt.

3.4.4 Sektion und Probenentnahme

Jedes Versuchstier wird nach 28-30 Tagen post implantationem erneut in die Institutsstallungen gebracht. Die präoperativen und invasiven Maßnahmen entsprechen in weiten Teilen denen bei Stentimplantation. Nach Präparation und Schleusenanlage in die Arteria carotis communis der nicht-operierten Seite wird eine Angiographie der betroffenen Gefäße zur Feststellung der Lumenweite durchgeführt.

Im Anschluss erfolgt die Opferung der Tiere. Dazu werden Pentobarbital-Natrium 50-60 mg/kg KG (Narcoren® Merial GmbH, Hallbergmoos) und 20 ml einer 1-molaren Kaliumchloridlösung (Fa. Delta Pharma GmbH, Pfullingen) über den im Ohrbereich platzierten Venenverweilkatheter verabreicht.

Nach Eröffnung des Thorax durch Abtrennung des Sternums an der Knorpel-Knochen-Grenze werden die Brusthöhlenorgane zunächst makroskopisch untersucht. Das Perikard wird eröffnet und das Herz vorsichtig nach Abtrennung der großen Gefäße herausgelöst. Nach Säuberung des Organs erfolgt eine Perfusion mit 0,9%iger Kochsalzlösung. Die Stent-tragenden Arteriae femorales werden aufgesucht und makroskopisch identifiziert. Danach wird an allen zu untersuchenden Gefäße ca. 2 cm proximal und distal des Stents die Gefäßkontinuität unterbrochen und der entsprechende Arterien-Abschnitt entnommen. Im Anschluss werden die implantierten Gefäße separat mit NaCl gespült, um restliches Blut auszuschwemmen. Die gewonnenen Objekte werden markiert und in einer NaCl-Petrischale für einige Minuten zwischengelagert.

3.5 Histologie

3.5.1 Probenaufbereitung für Gefrierschnitte

Der Stent aus den gewonnenen Gefäßpräparaten wird zunächst gedrittelt. Nun erfolgt an der Grenze von proximalem und mittlerem Drittel mit einer feinen Schere die senkrechte Eröffnung der Gefäßwand und anschließend die behutsame Durchtrennung der einzelnen Metallstreben. Nach kompletter Trennung aller Stent-Struts erhält man zwei separate Gefäßabschnitte. Die distalen zwei Drittel werden der Hartschnitthistologie zugeführt und in 6 %igem Formalin fixiert (Konrad, 2002; Rihm, 2005).

Um die Präparate des proximalen Drittels für Kryostatschnitte nutzbar zu machen, ist eine Entfernung der Stentstreben aus dem Gefäßverbund erforderlich. Dafür wird das Präparat von der durchtrennten distalen Seite her in Längsrichtung eröffnet, wobei die Streben des verbliebenen Stentdrittels ebenfalls zerschnitten werden. Mit einer feinen Pinzette wird der längs eröffnete Rest des Implantats von distal vorsichtig gefasst, mobilisiert und schließlich aus dem Gefäßverband entfernt.

Das Präparat wird nun für Gefrierschnitte vorbereitet. Zunächst wird auf einem Stück Filterpapier eine Portion Einbettmedium (Tissue Tek, Fa. DAKO, Denmark) aufgetropft und durch flüssigen Stickstoff in den festen Gefrierzustand überführt. Auf diesen fingernagelgrossen Sockel wird das Präparat in aufrechter Lage positioniert und zirkulär ein erster Ring Medium aufgebracht. Mit Hilfe des Stickstoffs wird das Objekt zum Gefrieren gebracht und so das Präparat stabilisiert. Dieser Vorgang wird solange wiederholt, bis das Gefäß in gesamter Länge mit Einbettmedium bedeckt ist, wobei in der Regel nach vier Ringen die gewünschte Höhe erreicht ist. Das fertig vorbereitete Präparat wird auf dem Filterpapier beschriftet, in Aluminiumfolie zu Isolationszwecken eingerollt und bei -20°C im Gefrierschrank eingelagert.

Zu jedem implantierten Gefäß wird als Kontrolle ein nicht verletzter Arterienabschnitt proximal des Stents eingefroren.

3.5.2 Anfertigung von Gefrierschnitten

Es werden je Präparat 10 - 15 Kryostatschnitte im Gefrierschnittmikrotom bei -20°C angefertigt. Nach Montage und Abkühlung des Messers im Kryostat wird das Filterpapier mit dem darauf befindlichen Präparat auf den mobilen Schneide-Schlitten platziert und befestigt. Nach Abtragung der oberen Millimeter und Erreichen einer den Gefäßquerschnitt komplett erfassenden Schnittebene erfolgt die eigentliche Herstellung der Kryostatschnitte. Dazu wird eine Schnittdicke von $3\ \mu\text{m}$ gewählt. Auf jeden Objektträger werden zwei Schnitte platziert und anschließend für 10 Minuten in Aceton fixiert. Bis zur immunhistologischen Weiterverarbeitung werden die Objektträger im Gefrierschrank bei -20°C in speziellen Kästen zwischengelagert.

3.5.3 HE-Färbung

Für alle Gefrierschnitte wird eine Hämatoxylin-Eosin-Färbung durchgeführt. Sie dient der Orientierung im Gefäß und Vergleichbarkeit von immunhistologischen Färbungen mit dieser Standardfärbung. Als Chemikalien kommen hauseigene Substanzen (Apotheke des Klinikums Rechts der Isar, TU München) zum Einsatz. Nach Trocknung der Präparate erfolgt die Konservierung durch Eindeckelung mit Eukitt (Fa. Sigma, USA) und Beschriftung.

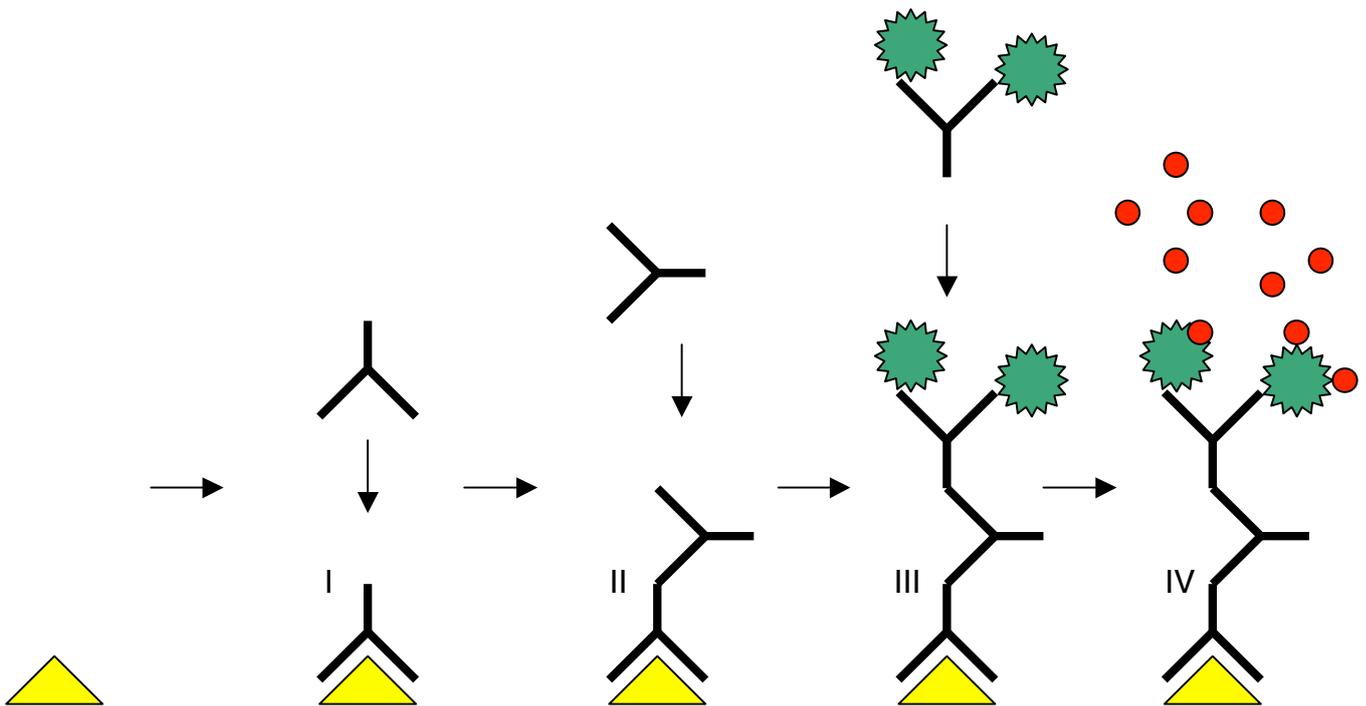
3.5.4 Immunhistologie

Zum Nachweis proliferierender Zellen werden die Schnitte nach immunhistochemischen Verfahren bearbeitet. Da die meisten erhältlichen Antikörper gegen humanes Gewebe gerichtet sind, ist es vor den eigentlichen Färbungen notwendig, eine Kreuzreaktion gegen Schweinegewebe zu sichern. Dies erfolgt anhand dafür vorgesehener Schnitte von Gefäßen, Lunge und Niere der geopfert Tiere. Auf diese Weise werden zwei Antikörper identifiziert, die gegen glatte Muskelzellen gerichtet sind:

Der *Desmin*-Antikörper (Mouse anti-human Desmin, Clone D33, Fa. DAKO, Denmark) detektiert ein Protein, das von allen Zellen der glatten, der Skelett- und der Herzmuskulatur exprimiert wird, es bindet also sowohl an den differenzierten kontraktile, als auch an den undifferenzierten proliferativen Typ. In Vorversuchen konnte ein identisches Färbeverhalten der beiden Antikörper α -Aktin und Desmin nachgewiesen werden. Da Aktin auch in Myofibroblasten vorkommt, wird aufgrund der besseren Selektivität Desmin als Antikörper gegen alle glatten Muskelzellen verwendet (Gonschior, 1994).

Smoothelin (Mouse anti-Smoothelin, MAB 3242, Fa. Chemicon Int., USA) als zweiter verwendeter Antikörper erkennt spezifisch Muskelzellen vom differenzierten kontraktile Typ (Chemicon, Firmenangabe; van der Loop, 1996). Anders als die spezifischen Proteine glatter Muskulatur wie Calponin, SM-22, h-Caldesmon und Metavinculin, die alle mit Aktin und Myosin verbunden sind, ist Smoothelin ein eigenständiges Strukturprotein.

Zur Anfärbung der Präparate wird die APAAP-Methode (Alkalische Phosphatase Anti-Alkalische Phosphatase) verwendet. Dabei wird nach Bindung des Primärantikörpers (Desmin bzw. Smoothelin) als zweiter Schritt ein Brückenantikörper (Rabbit anti-Mouse, Z 259, Fa. Dako, Denmark) zugegeben, der gegen den Fc-Teil des ersten Immunglobulins gerichtet ist. Um die Antigen enthaltenden Zellen zu identifizieren wird als nächstes ein gegen das Markerenzym (Alkalische Phosphatase) gerichteter Antikörper (APAAP Mouse, D 651, Fa. Dako, Denmark) appliziert, der von der gleichen Spezies wie der Primärantikörper abstammt und über sein Fc-Fragment an den Brückenantikörper gebunden wird. Abschließend detektiert Enzymsubstrat-Zugabe (Fast Red®, Fa. Sigma, USA) durch Reaktion mit der alkalischen Phosphatase die Antigen-positiven Zellen.

Graphik: APAAP-Färbung**Versuchsdurchführung APAAP:**

Auftauen		30 min. bei RT
Fixierung	Aceton	10 min.
Spülen	PBS-Puffer	3x2 min.
Inkubation Primär-AK (I)	Verdünnung 1:50 mit PBS	60 min. bei RT
Spülen	PBS-Puffer	3x2 min.
Inkubation Sekundär-AK (II)	Verdünnung 1:40 mit PBS	60 min. bei RT
Spülen	PBS-Puffer	3x2 min.
Inkubation mit Tertiär-AK (III)	Verdünnung 1:50 mit PBS	60 min. bei RT
Spülen	PBS-Puffer	3x2 min.
Färbung (IV)	Enzymsubstrat in Aqua	10 min.
Spülen	PBS-Puffer	3x2 min.
Gegenfärbung	Hämalaun	3 min.
Nachbläuen	Wasserbad	2 min.
Eindeckeln	Kaysers Glycerol-Gelatine	

Reagenzien:

PBS-Puffer:	10 mM Phosphat, 0,15 M NaCl, pH 7,5
Primär-AK:	Desmin, Mouse (Fa. DAKO, Clone D33) Smoothelin, Mouse (Fa. Chemicon, MAB3242)
Sekundär-AK:	Anti-Mouse-IgG (Fa. DAKO, Z 259)
Tertiär-AK:	APAAP, Mouse (Fa. DAKO, D 651)
Enzymsubstrat	Fast Red® (Sigma Fast)
Hämalaun	
Kaysers Glycerol-Gelatine (Merck)	

3.6 Histomorphologie und Auswertung

3.6.1 Immunhistologie

Die gefärbten Gefrierschnitte werden unter dem Lichtmikroskop (Modell Axiolab E, Fa. Zeiss, Wetzlar) bei 20-, 50- und 200-facher Vergrößerung betrachtet. Um die immunhistologischen Präparate quantitativ zu verwerten, werden die Schnitte mit einem digitalen Kamerasystem für Mikroskope (Olympus® DP11, Olympus Optical CO., GmbH, Hamburg) fotografiert. Die Bilder werden auf einen Apple Macintosh-Rechner eingelesen und mit Hilfe eines Bildanalyseprogrammes (NIH-Image, Version Beta 4.02, Scion Image, National Institutes of Health, USA) bearbeitet. Die erhobenen Daten werden in ein Tabellenkalkulationsprogramm (Excel 4.0, Microsoft Corporation) übertragen und verwertet. Bei der Bearbeitung des Bildmaterials wird für jedes Foto nach Vorschaltung bestimmter Filter je nach Morphologie 1 bis 3 zur Auswertung geeignete Gesichtsfelder ausgewählt. Für die beiden verwendeten Färbungen werden jeweils identische Bildausschnitte verwendet. Die Datenerhebung erfolgt bei 200-facher Vergrößerung.

Zur Ermittlung der *Zellzahlen* werden die in der Hämalaun-Gegenfärbung blau dargestellten Zellkerne (Nuclei) herangezogen. Für jedes untersuchte Präparat wird in den Bereichen verletzte Media (i.e. der Bereich des Gefäßes, an dem eine Stentstrebe zum Liegen kommt), unverletzte Media und Neointima (Restenose) die Zellzahl bestimmt. Für die Bestimmung der *immunhistologisch angefärbten Zellen* werden die identischen Bereiche verwendet, die für die Zellzahl-Erhebung ausgewählt wurden, um eine direkte Abhängigkeit der Werte zu sichern.

Beispiele histomorphologische Auswertung

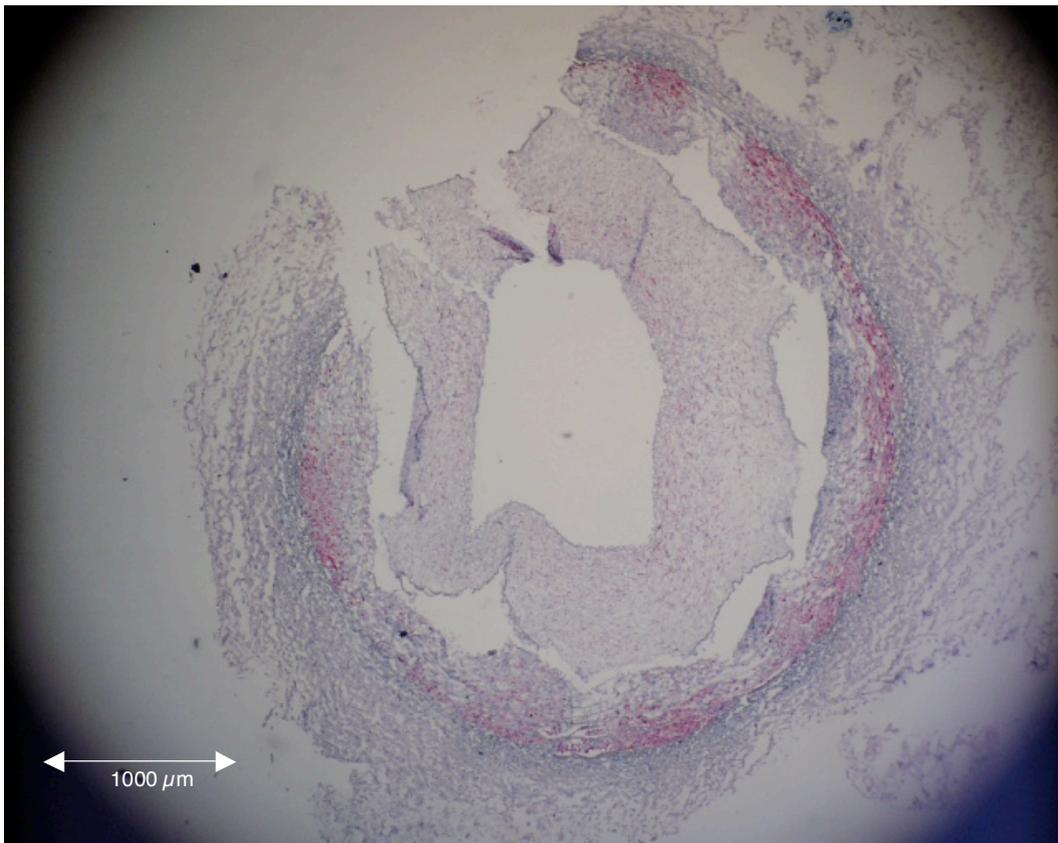


Abbildung 1: 27 LAD Desmin Übersicht, Vergrößerung 20x

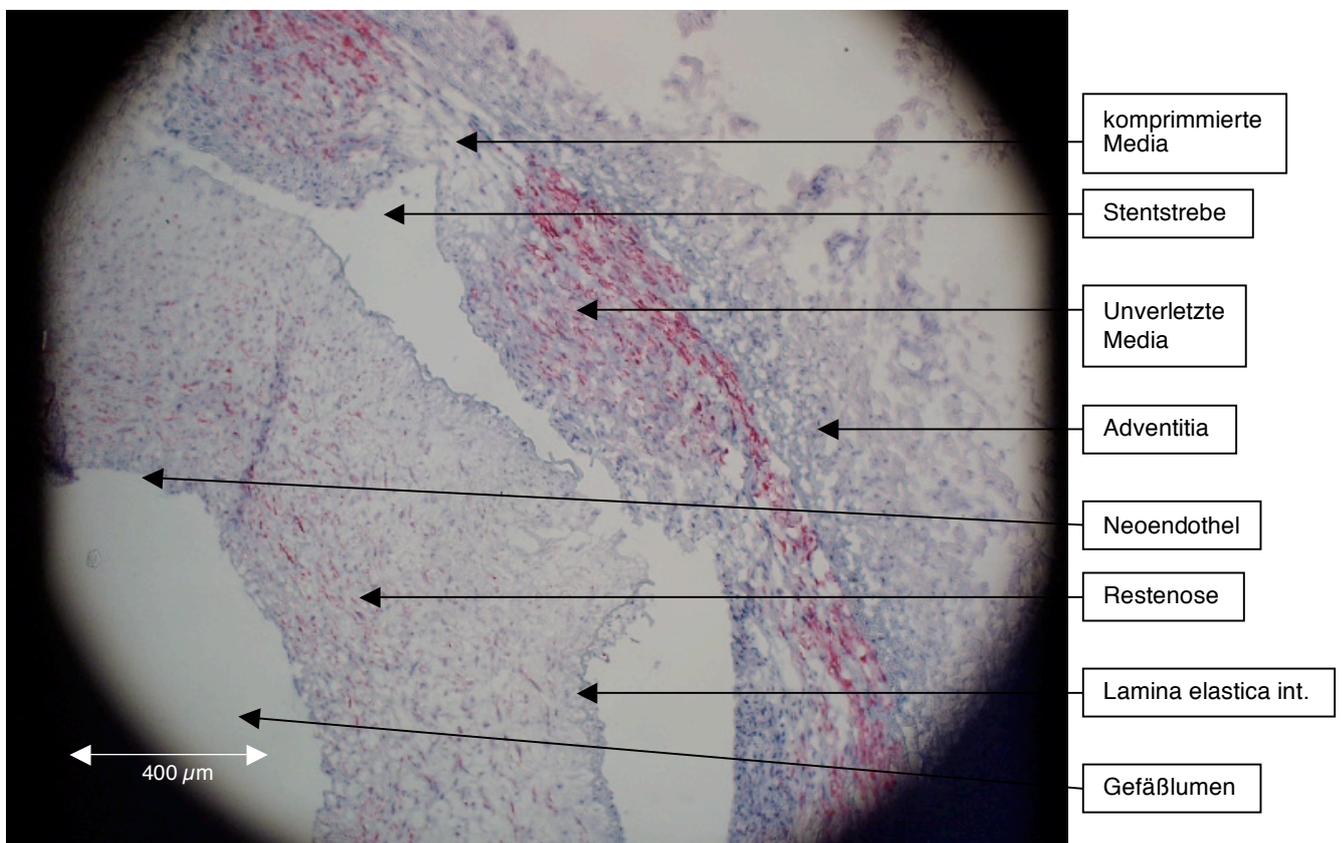


Abbildung 2: 27 LAD Desmin Detail1, Vergrößerung 50x

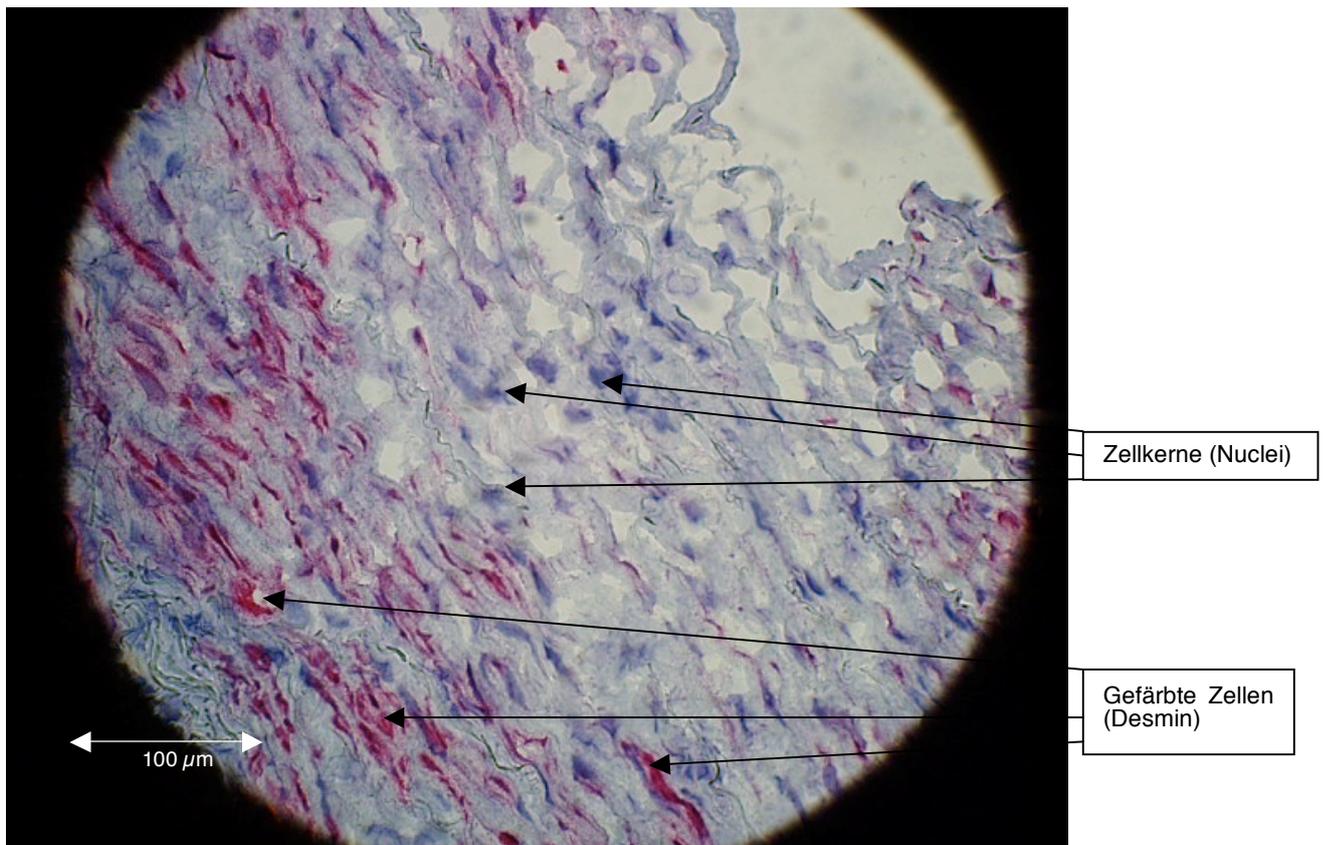


Abbildung 3: 28 FLI Desmin Makro3, Vergrößerung 200x

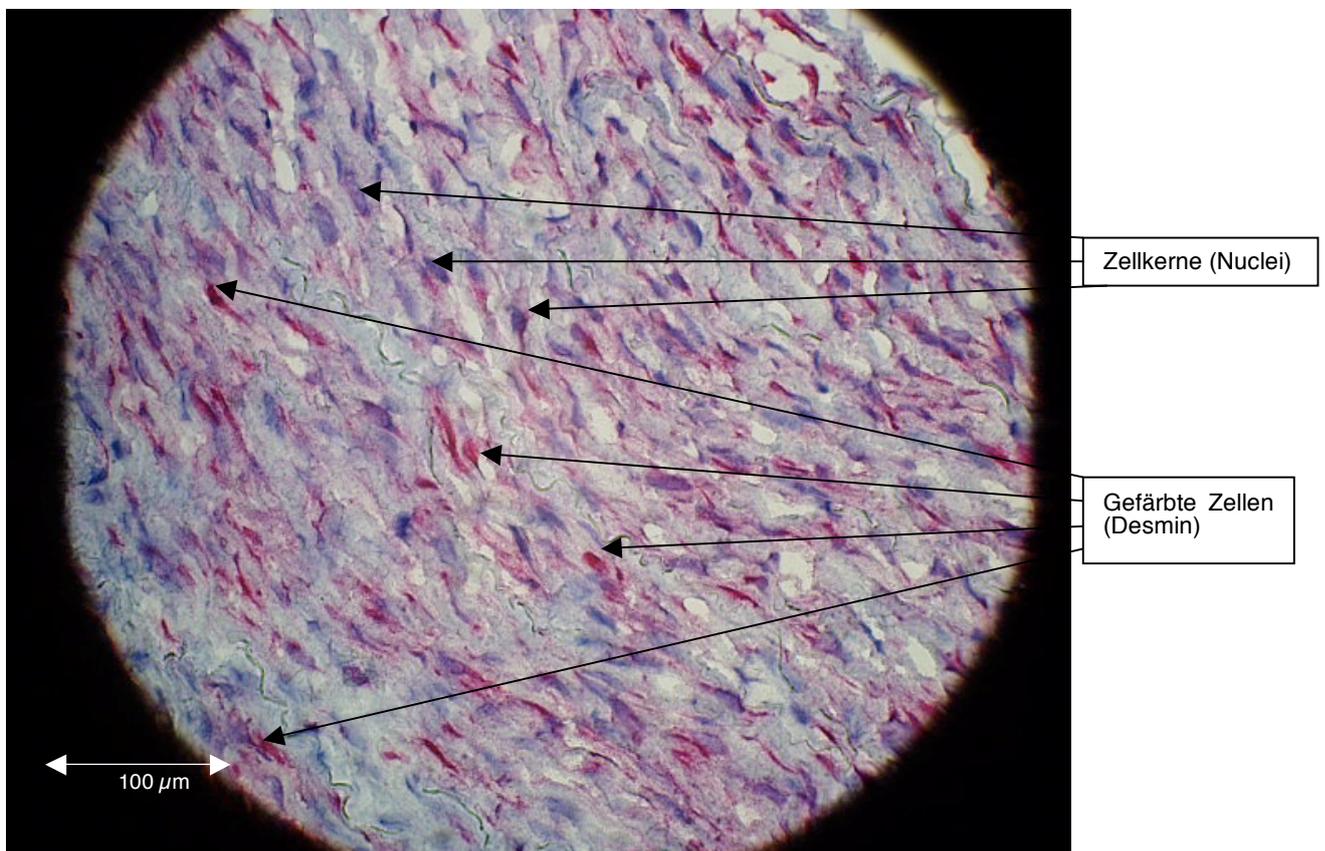


Abbildung 4: 28 FLI Desmin Makro4, Vergrößerung 200x

Beispiel Restenose

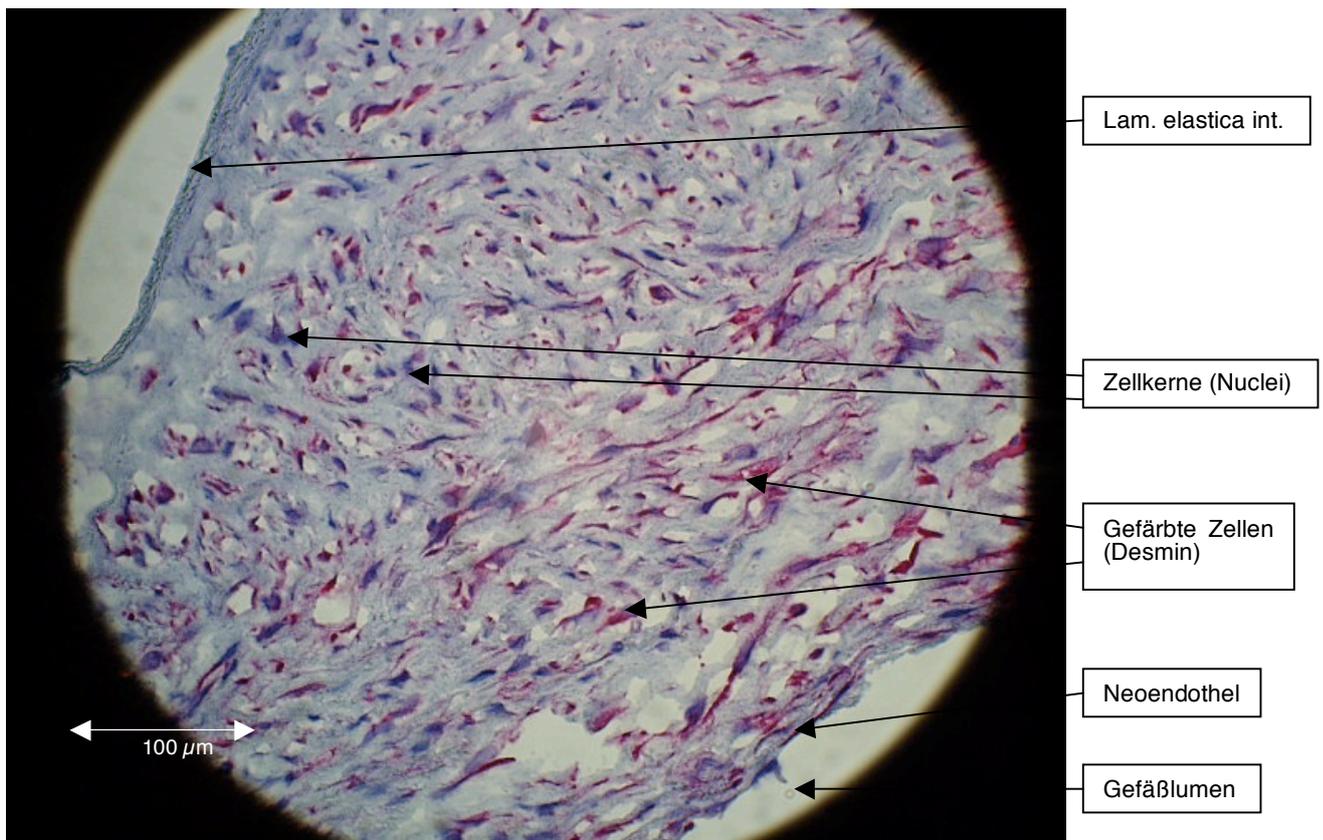


Abbildung 5: 28 FLI Desmin Restenose1, Vergrößerung 200x

Da die Zellen sowohl unterschiedlich kräftig als auch unterschiedlich ausgedehnt gefärbt sind – dies erklärt sich durch längs geschnittene Zellen – erfolgt die Datenerhebung mittels eines Score-Systems.

Tabelle 2: Färbecharakteristika

Score	Färbecharakteristika
1	punktueller Färbung, jede Stärke
2	ausgedehnte Färbung, Stärke schwach bis mittel
3	ausgedehnte Färbung, Stärke kräftig bis sehr kräftig

3.6.2 Statistik

3.6.2.1 Bestimmung 95%-Konfidenzintervall

Das Konfidenzintervall ist der Bereich, der sich links und rechts des jeweiligen Stichprobenmittels erstreckt. Bei einem eingesetzten α -Wert von 0,05 kann mit einer 95%igen Sicherheit (= Konfidenzniveau) der Erwartungswert der Variablen ober- und unterhalb des Stichprobenmittels (= Konfidenzintervall) vorhergesagt werden.

Bestimmt werden Konfidenzintervalle für:

- Zellzahlen und gefärbte Zellen im Bereich verletzte vs. unverletzte Media
 - Aussage über Gewebsschädigung durch Stent
- Desmin vs. Smoothelin
 - Aussage über Zelldifferenzierung

3.6.2.2 Bestimmung Korrelation Druck zu Gewebsschädigung und Restenose

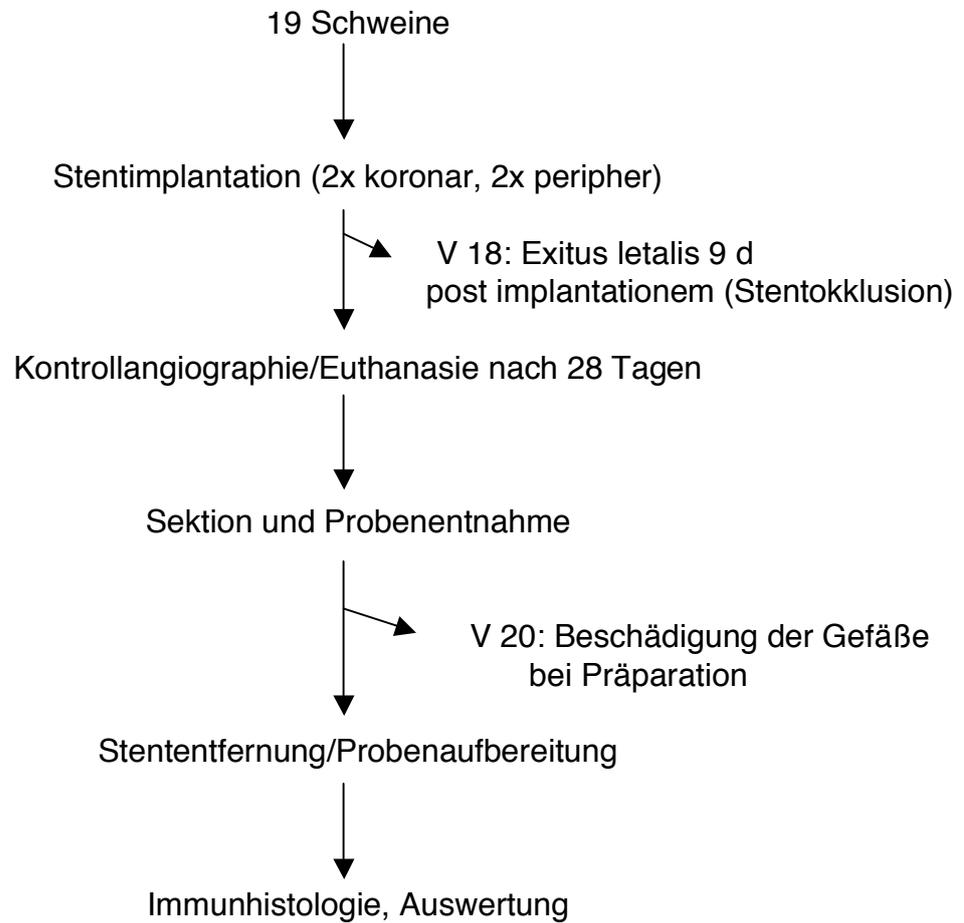
Die ermittelten Werte der Zellzahl und gefärbten Zellen im Bereich verletzter und unverletzter Media sowie Restenose werden mit dem Dilatationsdruck in Beziehung gesetzt, um eine mögliche Korrelation dieser beiden Größen zu untersuchen.

3.6.2.3 Bestimmung Korrelation mNID zu Zellverteilung

Die in der Hartschnitt-Histologie histomorphometrisch verarbeiteten Präparate (Konrad, 2002; Rihm, 2005) lieferten quantitativ Werte der Restenosedicke in μm (= mittlere neointimale Dicke, mNID). Diese werden in Beziehung gesetzt zu den Zahlen gefärbter Zellen (Quotient-Bildung aus Restenose/unverletzte Media), um den vorherrschenden Zelltyp in Abhängigkeit der Restenosedicke zu untersuchen.

4 Ergebnisse

4.1 Überlebensrate



4.2 Auswertung und Statistik

Tabelle 3: Übersicht statistische Auswertung; Primär Aufteilung der Datenreihen in Koronar und Femoral

95%-Konfidenzintervall verletzte vs. unverletzte Media					
Zellzahl (=Nuclei)			spezifisch gefärbte Zellen		
Koronar		Femoral	Koronar		Femoral
95%-Konfidenzintervall Desmin vs. Smoothelin					
Verletzte Media		Unverletzte Media		Restenose	
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral
Korrelationen Dilatationsdruck zu					
verletzte Media			Restenose		
Zellzahl		Gefärbte Zellen	Zellzahl		Gefärbte Zellen
Korrelation neointimale Dicke (mNID) zu Zellverteilung (Quotient SmoRes/DesMed)					
Koronar		Femoral	Koronar		Femoral

Tabelle 4: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 LAD I Des Mak1/2	28	75		13	67		DD	3,0 CWP	12	20
17 LAD I Des Mak3/4	70	85	82	10	43	68	DD	3,0 CWP	12	20
19 LCX I Des Mak3/4	35	97	60	27	76	81	DD	3,0 CWP	10	20
19 LCX I Des Mak5/6	33	115	58	48	110	56	DD	3,0 CWP	10	20
19 LCX I Des Mak7/8	55	74		44	72		DD	3,0 CWP	10	20
27 LCX I Des Mak1/2	44	116		20	86		DD	3,0 CWP	6	20
27 LCX I Des Mak3/4	60	68		23	73		DD	3,0 CWP	6	20
31 LCX I Des Mak1/2	42	88		45	72		DD	2,5 CWP	16	20
31 LCX I Des Mak3/4	38	84	55	50	111	120	DD	2,5 CWP	16	20
32 LCX I Des Mak1/2	49	97	57	44	80	65	DD	2,5 CWP	8	20
32 LCX I Des Mak3/4	46	78	67	35	83	60	DD	2,5 CWP	8	20

Tabelle 5: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
22 FRE I Des Mak1/2	44	67	86	40	107	67	DD	4,5 CT	8	20
22 FRE I Des Mak3/4	49	61		7	102		DD	4,5 CT	8	20
22 FRE I Des Mak5/6	52	54		0	78		DD	4,5 CT	8	20
22 FRE I Des Mak7/8	45	85	66	0	87	54	DD	4,5 CT	8	20
25 FRE I Des Mak1/2	58	108	71	28	98	85	DD	4,5 CT	18	20
25 FRE I Des Mak5/6	56	71	92	26	64	45	DD	4,5 CT	18	20
26 FLI I Des Mak1/2	34	67	79	8	88	27	DD	5,0 CT	16	20
26 FLI I Des Mak3/4	60	66		23	77		DD	5,0 CT	16	20
26 FLI I Des Mak5/6	24	62		0	84		DD	5,0 CT	16	20
26 FLI I Des Mak7/8	66	73	120	26	78	45	DD	5,0 CT	16	20
30 FLI I Des Mak1/2	32	55	77	5	65	70	DD	5,0 CT	18	20

Tabelle 6: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletztter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 LAD I Smo Mak1/2	22	68		2	38		DD	3,0 CWP	12	20
17 LAD I Smo Mak3/4	45	80	85	4	32	13	DD	3,0 CWP	12	20
19 LCX I Smo Mak3/4	31	66	70	35	75	64	DD	3,0 CWP	10	20
19 LCX I Smo Mak5/6	63	102	65	19	59	28	DD	3,0 CWP	10	20
27 LCX I Smo Mak1/2	45	130		16	95		DD	3,0 CWP	6	20
27 LCX I Smo Mak3/4	46	52		24	50		DD	3,0 CWP	6	20
31 LCX I Smo Mak1/2	43	80		15	60		DD	2,5 CWP	16	20
31 LCX I Smo Mak3/4	45	82	55	34	80	58	DD	2,5 CWP	16	20
32 LCX I Smo Mak1/2	48	78	45	18	59	31	DD	2,5 CWP	8	20
32 LCX I Smo Mak3/4	43	66	58	12	69	39	DD	2,5 CWP	8	20

Tabelle 7: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletztter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
22 FRE I Smo Mak1/2	55	70	73	34	85	75	DD	4,5 CT	8	20
22 FRE I Smo Mak3/4	51	65		5	63		DD	4,5 CT	8	20
22 FRE I Smo Mak5/6	54	59		0	55		DD	4,5 CT	8	20
22 FRE I Smo Mak7/8	52	91	78	0	90	70	DD	4,5 CT	8	20
25 FRE I Smo Mak1/2	73	140	78	0	35	32	DD	4,5 CT	18	20
25 FRE I Smo Mak5/6	89	94	95	0	25	16	DD	4,5 CT	18	20
26 FLI I Smo Mak1/2	31	44	65	6	76	42	DD	5,0 CT	16	20
26 FLI I Smo Mak3/4	30	73		9	51		DD	5,0 CT	16	20
26 FLI I Smo Mak5/6	30	76		2	83		DD	5,0 CT	16	20
26 FLI I Smo Mak7/8	60	74	110	21	72	50	DD	5,0 CT	16	20
30 FLI I Smo Mak1/2	37	64	56	5	63	39	DD	5,0 CT	18	20

Tabelle 8: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
15 LAD I Des Mak1/2	24	55		10	23		IH	3,0 CWP	8	20
15 LAD I Des Mak5/6	36	42	72	11	31	71	IH	3,0 CWP	8	20
19 LAD I Des Mak1/2	40	52	26	11	55	20	IH	3,0 CWP	10	20
19 LAD I Des Mak3/4	65	85	37	41	50	28	IH	3,0 CWP	10	20
22 LCX I Des Mak1/2	39	127	80	34	39	44	IH	3,0 Viva	8	30
22 LCX I Des Mak3/4	61	83	107	13	34	69	IH	3,0 Viva	8	30
25 LCX I Des Mak1/2	59	68		35	62		IH	2,5 CWP	14	20
25 LCX I Des Mak3/4	62	98		35	81		IH	2,5 CWP	14	20
25 LCX I Des Mak5/6	55	108		35	85		IH	2,5 CWP	14	20
27 LAD I Des Mak1/2	49	104		1	102		IH	3,0 CWP	12	20
27 LAD I Des Mak3/4	62	108	66	10	95	25	IH	3,0 CWP	12	20
27 LAD I Des Mak5/6	70	100	75	38	102	46	IH	3,0 CWP	12	20
28 LAD I Des Mak1/2	43	86	71	44	78	100	IH	3,0 CWP	10	20
28 LAD I Des Mak5/6	46	104	73	37	94	86	IH	3,0 CWP	10	20

Tabelle 9: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 FLI I Des Mak1/2	8	46	65	0	95	68	IH	4,5 SCI	16	20
17 FLI I Des Mak5/6	31	44	58	0	75	70	IH	4,5 SCI	16	20
17 FLI I Des Mak9/10	8	52		0	79		IH	4,5 SCI	16	20
24 FLI I Des Mak1/2	43	93		4	86		IH	4,5 CT	15	20
24 FLI I Des Mak3/4	58	95		13	79		IH	4,5 CT	15	20
24 FLI I Des Mak5/6	59	92		10	72		IH	4,5 CT	15	20
24 FLI I Des Mak7/8	63	78	67	23	70	53	IH	4,5 CT	15	20
29 FLI I Des Mak1/2	46	81	64	14	72	10	IH	4,5 CT	22	20
30 FRE I Des Mak1/2	73	104	84	34	60	46	IH	5,0 CT	20	20
30 FRE I Des Mak5/6	61	78	90	29	86	70	IH	5,0 CT	20	20

Tabelle 10: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
15 LAD I Smo Mak1/2	22	31		5	35		IH	3,0 CWP	8	20
15 LAD I Smo Mak5/6	24	39	75	0	45	40	IH	3,0 CWP	8	20
19 LAD I Smo Mak1/2	48	80	65	0	9	7	IH	3,0 CWP	10	20
19 LAD I Smo Mak3/4	72	75	45	0	0	0	IH	3,0 CWP	10	20
22 LCX I Smo Mak1/2	71	102		11	28		IH	3,0 Viva	8	30
22 LCX I Smo Mak3/4	70	90		12	17		IH	3,0 Viva	8	30
25 LCX I Smo Mak1/2	41	72		16	36		IH	2,5 CWP	14	20
25 LCX I Smo Mak3/4	52	105		9	60		IH	2,5 CWP	14	20
25 LCX I Smo Mak5/6	70	101		18	57		IH	2,5 CWP	14	20
27 LAD I Smo Mak1/2	66	92		2	40		IH	3,0 CWP	12	20
27 LAD I Smo Mak3/4	39	100	69	9	75	40	IH	3,0 CWP	12	20
27 LAD I Smo Mak5/6	64	105	80	33	89	40	IH	3,0 CWP	12	20
28 LAD I Smo Mak1/2	47	80	87	40	80	109	IH	3,0 CWP	10	20
28 LAD I Smo Mak5/6	60	75	75	35	80	91	IH	3,0 CWP	10	20

Tabelle 11: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 FLI I Smo Mak1/2	5	53	65	0	37	65	IH	4,5 SCI	16	20
17 FLI I Smo Mak5/6	30	41	55	0	69	59	IH	4,5 SCI	16	20
17 FLI I Smo Mak9/10	6	48		0	75		IH	4,5 SCI	16	20
24 FLI I Smo Mak1/2	54	84		0	80		IH	4,5 CT	15	20
24 FLI I Smo Mak3/4	57	95		8	55		IH	4,5 CT	15	20
24 FLI I Smo Mak5/6	48	85		2	41		IH	4,5 CT	15	20
24 FLI I Smo Mak7/8	60	90	51	20	80	41	IH	4,5 CT	15	20
29 FLI I Smo Mak1/2	40	68	57	3	60	17	IH	4,5 CT	22	20
30 FRE I Smo Mak1/2	79	93		10	42		IH	5,0 CT	20	20
30 FRE I Smo Mak5/6	55	75	82	7	77	65	IH	5,0 CT	20	20

Tabelle 12: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
23 LAD I Des Mak1/2	53	102		24	85		IHD	3,0 CWP	10	20
23 LAD I Des Mak3/4	50	96	45	17	85	31	IHD	3,0 CWP	10	20
26 LCX I Des Mak1/2	50	68		13	97		IHD	3,0 CWP	18	20
26 LCX I Des Mak5/6	65	86	72	35	90	55	IHD	3,0 CWP	18	20
29 LCX I Des Mak1/2	19	68		4	80		IHD	3,0 CWP	6	20
29 LCX I Des Mak3/4	64	104	54	72	115	72	IHD	3,0 CWP	6	20
33 LAD I Des Mak1/2	26	66	89	29	82	100	IHD	2,5 CWP	12	20
33 LAD I Des Mak3/4	62	70	86	36	85	79	IHD	2,5 CWP	12	20

Tabelle 13: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
15 FRE I Des Mak5/6	71	80	125	12	65	82	IHD	4,5 CT	20	20
15 FRE I Des Mak9/10	51	95		11	70		IHD	4,5 CT	20	20
21 FRE I Des Mak1/2	110	133	72	14	59	30	IHD	5,0 CT	10	20
21 FRE I Des Mak5/6	56	69		25	76		IHD	5,0 CT	10	20
21 FRE I Des Mak7/8	40	66		6	29		IHD	5,0 CT	10	20
21 FRE I Des Mak9/10	55	95		5	52		IHD	5,0 CT	10	20
24 FRE I Des Mak1/2	47	66		20	62		IHD	4,5 CT	18	20
24 FRE I Des Mak3/4	42	77		13	69		IHD	4,5 CT	18	20
24 FRE I Des Mak5/6	43	93		12	66		IHD	4,5 CT	18	20
24 FRE I Des Mak7/8	65	90	38	75	115	65	IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI I Des Mak1/2	66	91	80	47	69	36	IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI I Des Mak3/4	72	78		22	46		IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI I Des Mak5/6	56	106		26	60		IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI I Des Mak7/8	47	93	60	18	63	76	IHD	4,5 CT	18	20
28 FRE I Des Mak1/2	75	86		1	66		IHD	5,0 SCI	16	20
28 FRE I Des Mak3/4	59	100		4	55		IHD	5,0 SCI	16	20
28 FRE I Des Mak5/6	95	97	62	5	120	67	IHD	5,0 SCI	16	20
31 FLI I Des Mak1/2	34	59	30	8	105	60	IHD	5,0 CT	20	20
31 FLI I Des Mak3/4	48	60	41	41	95	120	IHD	5,0 CT	20	20

Tabelle 14: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/ unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
23 LAD Smo Mak1/2	45	91		3	65		IHD	3,0 CWP	10	20
23 LAD Smo Mak3/4	35	85	60	5	64	23	IHD	3,0 CWP	10	20
26 LCX Smo Mak5/6	56	75	80	30	65	70	IHD	3,0 CWP	18	20
29 LCX Smo Mak1/2	23	72		7	63		IHD	3,0 CWP	6	20
29 LCX Smo Mak3/4	48	85	60	60	100	70	IHD	3,0 CWP	6	20
33 LAD Smo Mak1/2	30	61	93	32	58	40	IHD	2,5 CWP	12	20
33 LAD Smo Mak3/4	65	87	100	20	64	45	IHD	2,5 CWP	12	20

Tabelle 15: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/ unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
15 FRE Smo Mak5/6	68	72	120	0	44	80	IHD	4,5 CT	20	20
15 FRE Smo Mak9/10	69	79		18	95		IHD	4,5 CT	20	20
21 FRE Smo Mak1/2	90	95	80	15	65	35	IHD	5,0 CT	10	20
21 FRE Smo Mak5/6	39	70		21	56		IHD	5,0 CT	10	20
21 FRE Smo Mak7/8	68	73		3	65		IHD	5,0 CT	10	20
21 FRE Smo Mak9/10	59	84		3	60		IHD	5,0 CT	10	20
24 FRE Smo Mak1/2	49	62		11	55		IHD	4,5 CT	18	20
24 FRE Smo Mak3/4	49	88	86	0	65	62	IHD	4,5 CT	18	20
24 FRE Smo Mak5/6	59	87		0	58		IHD	4,5 CT	18	20
24 FRE Smo Mak7/8	76	106	85	46	100	59	IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI Smo Mak3/4	65	90	75	34	48	65	IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI Smo Mak5/6	56	95		23	52		IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI Smo Mak7/8	49	95		13	48		IHD	4,5 CT	18	20
25 FLI Smo Mak9/10	50	86	65	7	43	23	IHD	4,5 CT	18	20
28 FRE Smo Mak1/2	50	94		1	70		IHD	5,0 SCI	16	20
28 FRE Smo Mak3/4	76	86		8	62		IHD	5,0 SCI	16	20
28 FRE Smo Mak5/6	82	85	65	5	110	49	IHD	5,0 SCI	16	20
31 FLI Smo Mak1/2	55	80	48	2	60	32	IHD	5,0 CT	20	20
31 FLI Smo Mak3/4	55	74	45	40	81	55	IHD	5,0 CT	20	20

Tabelle 16: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 LCX I Des Mak1/2	68	75	53	32	150	117	PLA	3,0 CWP	6	20
17 LCX I Des Mak3/4	39	52		34	100		PLA	3,0 CWP	6	20
26 LAD I Des Mak1/2	33	75		28	110		PLA	3,0 CWP	8	20
26 LAD I Des Mak3/4	63	100	60	19	99	69	PLA	3,0 CWP	8	20
26 LAD I Des Mak5/6	12	56		3	54		PLA	3,0 CWP	8	20
30 LAD I Des Mak1/2	58	85		25	65		PLA	3,0 CWP	6	20
30 LAD I Des Mak3/4	23	89	56	22	88	54	PLA	3,0 CWP	6	20

Tabelle 17: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
22 FLI I Des Mak1/2	66	90	70	3	69	76	PLA	4,5 CT	8	20
22 FLI I Des Mak5/6	59	69		3	54		PLA	4,5 CT	8	20
23 FLI I Des Mak1/2	69	125		4	96		PLA	5,0 SCI	22	20
23 FLI I Des Mak3/4	52	82		19	84		PLA	5,0 SCI	22	20
23 FLI I Des Mak5/6	60	78		8	72		PLA	5,0 SCI	22	20
27 FRE I Des Mak1/2	71	75		6	85		PLA	4,5 CT	10	20
27 FRE I Des Mak3/4	54	66		5	48		PLA	4,5 CT	10	20
27 FRE I Des Mak5/6	74	109	59	35	85	17	PLA	4,5 CT	10	20

Tabelle 18: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 LCX I Smo Mak1/2	66	106	60	0	140	90	PLA	3,0 CWP	6	20
17 LCX I Smo Mak3/4	48	82		33	123		PLA	3,0 CWP	6	20
26 LAD I Smo Mak1/2	24	71		20	105		PLA	3,0 CWP	8	20
26 LAD I Smo Mak3/4	58	85	63	20	100	75	PLA	3,0 CWP	8	20
26 LAD I Smo Mak5/6	23	55		4	54		PLA	3,0 CWP	8	20
30 LAD I Smo Mak1/2	56	95		7	50		PLA	3,0 CWP	6	20
30 LAD I Smo Mak4/5	27	92	90	6	70	55	PLA	3,0 CWP	6	20

Tabelle 19: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
22 FLI I Smo Mak1/2	60	95	78	0	47	60	PLA	4,5 CT	8	20
23 FLI I Smo Mak1/2	53	123		1	78		PLA	5,0 SCI	22	20
23 FLI I Smo Mak3/4	63	100		14	53		PLA	5,0 SCI	22	20
23 FLI I Smo Mak5/6	85	95		0	61		PLA	5,0 SCI	22	20
27 FRE I Smo Mak1/2	62	68		3	76		PLA	4,5 CT	10	20
27 FRE I Smo Mak3/4	47	77		5	61		PLA	4,5 CT	10	20
27 FRE I Smo Mak5/6	78	95	63	40	80	13	PLA	4,5 CT	10	20

Tabelle 20: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; uncoated

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
22 LAD I Des Mak1/2	48	86	67	2	33	28	unc.	2,5 Viva	10	30
22 LAD I Des Mak3/4	61	87		5	32		unc.	2,5 Viva	10	30
22 LAD I Des Mak5/6	68	75	80	30	54	51	unc.	2,5 Viva	10	30
25 LAD I Des Mak1/2	59	93	81	15	63	46	unc.	2,5 CWP	14	25
25 LAD I Des Mak3/4	30	77		6	45		unc.	2,5 CWP	14	25
25 LAD I Des Mak5/6	56	65		18	65		unc.	2,5 CWP	14	25
30 LCX I Des Mak1/2	59	67		15	92		unc.	3,0 CWP	6	20
33 LCX I Des Mak1/2	87	100		61	115		unc.	2,5 CWP	14	20

Tabelle 21: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; uncoated

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 FRE I Des Mak1/2	46	86		6	32		unc.	4,5 SCI	16	20
17 FRE I Des Mak5/6	49	68		19	52		unc.	4,5 SCI	16	20
17 FRE I Des Mak9/10	45	59	93	0	53	64	unc.	4,5 SCI	16	20
21 FLI I Des Mak1/2	56	71		24	57		unc.	5,0 CT	12	20
21 FLI I Des Mak3/4	43	78		7	56		unc.	5,0 CT	12	20
26 FRE I Des Mak1/2	16	54		0	88		unc.	5,0 CT	16	20
26 FRE I Des Mak3/4	34	55	61	0	56	82	unc.	5,0 CT	16	20
26 FRE I Des Mak5/6	30	51		2	72		unc.	5,0 CT	16	20
26 FRE I Des Mak7/8	22	72	52	0	99	23	unc.	5,0 CT	16	20
27 FLI I Des Mak1/2	38	88	77	5	81	67	unc.	4,5 CT	10	20
27 FLI I Des Mak3/4	70	86	50	30	69	36	unc.	4,5 CT	10	20
28 FLI I Des Mak1/2	70	115	83	15	86	74	unc.	5,0 SCI	16	20
29 FRE I Des Mak1/2	105	110	80	0	80	46	unc.	4,5 CT	22	20
31 FRE I Des Mak1/2	53	96		10	80		unc.	5,0 CT	20	20
32 FRE I Des Mak2/3	115	130	55	30	60	33	unc.	5,0 CT	16	20
32 FLI I Des Mak1/2	38	80		8	67		unc.	5,0 CT	16	20
32 FLI I Des Mak3/4	50	71		32	65		unc.	5,0 CT	16	20
33 FRE I Des Mak1/2	63	79	92	31	59	79	unc.	4,5 CT	14	20
33 FRE I Des Mak3/4	57	82	81	32	80	85	unc.	4,5 CT	14	20

Tabelle 22: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; uncoated

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
22 LAD I Smo Mak1/2	55	85	78	0	53	38	unc.	2,5 Viva	10	30
22 LAD I Smo Mak3/4	59	95		5	25		unc.	2,5 Viva	10	30
22 LAD I Smo Mak5/6	77	97	84	28	60	40	unc.	2,5 Viva	10	30
25 LAD I Smo Mak1/2	37	98	78	14	49	60	unc.	2,5 CWP	14	25
25 LAD I Smo Mak3/4	40	70		0	49		unc.	2,5 CWP	14	25
25 LAD I Smo Mak5/6	52	57		9	47		unc.	2,5 CWP	14	25
30 LCX I Smo Mak1/2	33	58		6	72		unc.	3,0 CWP	6	20
33 LCX I Smo Mak1/2	83	95		46	66		unc.	2,5 CWP	14	20

Tabelle 23: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; uncoated

Bildbezeichnung	Zellzahl (Nuclei)			gefärbte Zellen			Beschichtung	Ballondilatation		
	Strutnähe	Media	Res	Strutnähe	Media	Res		Ballon	Druck (atm.)	Zeit (sec.)
17 FRE I Smo Mak1/2	42	60		5	59		unc.	4,5 SCI	16	20
17 FRE I Smo Mak5/6	37	55	60	26	51	80	unc.	4,5 SCI	16	20
17 FRE I Smo Mak9/10	33	53	81	0	55	50	unc.	4,5 SCI	16	20
21 FLI I Smo Mak1/2	60	69		11	55		unc.	5,0 CT	12	20
21 FLI I Smo Mak3/4	39	75		6	62		unc.	5,0 CT	12	20
26 FRE I Smo Mak1/2	21	55		0	83		unc.	5,0 CT	16	20
26 FRE I Smo Mak3/4	32	65	50	0	58	80	unc.	5,0 CT	16	20
26 FRE I Smo Mak5/6	35	68		2	69		unc.	5,0 CT	16	20
26 FRE I Smo Mak7/8	25	46	48	0	95	50	unc.	5,0 CT	16	20
27 FLI I Smo Mak1/2	80	120		6	80		unc.	4,5 CT	10	20
27 FLI I Smo Mak3/4	46	85	90	5	60	25	unc.	4,5 CT	10	20
28 FLI I Smo Mak1/2	63	112	60	18	90	10	unc.	5,0 SCI	16	20
29 FRE I Smo Mak3/4	71	90	55	33	85	40	unc.	4,5 CT	22	20
32 FRE I Smo Mak2/3	114	128	45	20	75	8	unc.	5,0 CT	16	20
32 FLI I Smo Mak1/2	33	66		6	65		unc.	5,0 CT	16	20
32 FLI I Smo Mak3/4	34	64		26	60		unc.	5,0 CT	16	20
33 FRE I Smo Mak1/2	53	75	85	30	52	62	unc.	4,5 CT	14	20
33 FRE I Smo Mak3/4	39	80	67	12	55	34	unc.	4,5 CT	14	20

4.2.1 95%-Konfidenzintervall der Zellzahl (Nuclei) und der gefärbten Zellen im Bereich verletzter zu unverletzter Media

95%-Konfidenzintervall verletzte vs. unverletzte Media					
Zellzahl (=Nuclei)			spezifisch gefärbte Zellen		
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral
95%-Konfidenzintervall Desmin vs. Smoothelin					
Verletzte Media		Unverletzte Media		Restenose	
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral
Korrelationen Dilatationsdruck zu					
verletzte Media			Restenose		
Zellzahl	Gefärbte Zellen	Zellzahl	Gefärbte Zellen	Zellzahl	Gefärbte Zellen
Korrelation neointimale Dicke (mNID) zu Zellverteilung (Quotient SmoRes/DesMed)					
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral

Die Zellzahlen (Nuclei) und die gefärbten Zellen werden in den Bereichen der verletzten (i.e. der Bereich des Gefäßes, an dem eine Stentstrebe zum Liegen kommt) und unverletzten Media mittels Konfidenzintervallen untersucht. Es wird zudem eine Aufteilung in die verwendeten Antikörper Desmin und Smoothelin vorgenommen. In allen Konfidenzintervallen wird ein α -Wert von 0,05 eingesetzt, das Konfidenzniveau liegt damit bei 95%. In allen Gruppen liegen die Datenbereiche auf einer Seite der Nulllinie, d.h. sowohl die Zellzahlen als auch die spezifisch gefärbten Zellen der unverletzten Mediaregion sind immer größer als die der Media im verletzten Strutbereich.

Abbildung 6: 95%-Konfidenzintervalle Zellzahl (Nuclei) Koronar, Desmin und Smoothelin

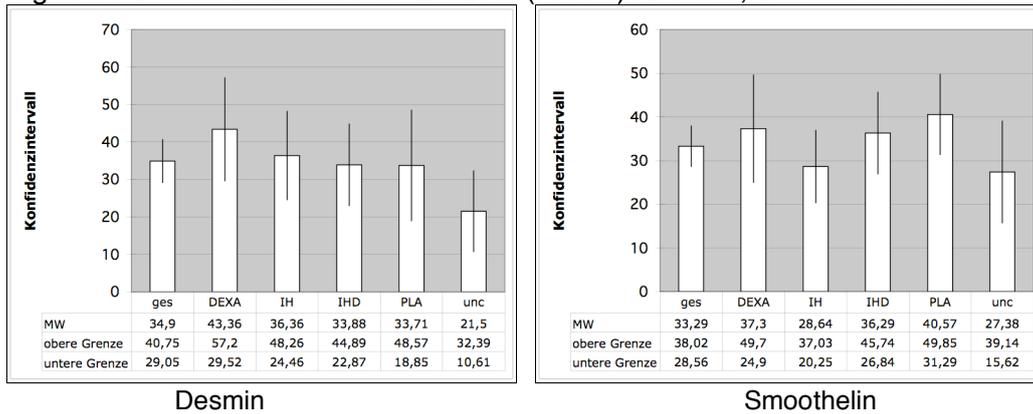


Abbildung 7: 95%-Konfidenzintervalle Zellzahl (Nuclei) Femoral, Desmin und Smoothelin

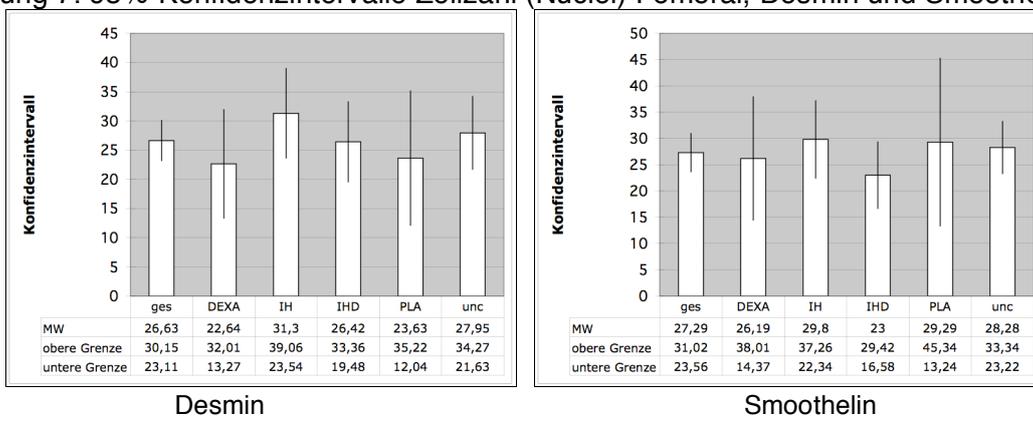


Abbildung 8: 95%-Konfidenzintervalle Zellfärbung Koronar, Desmin und Smoothelin

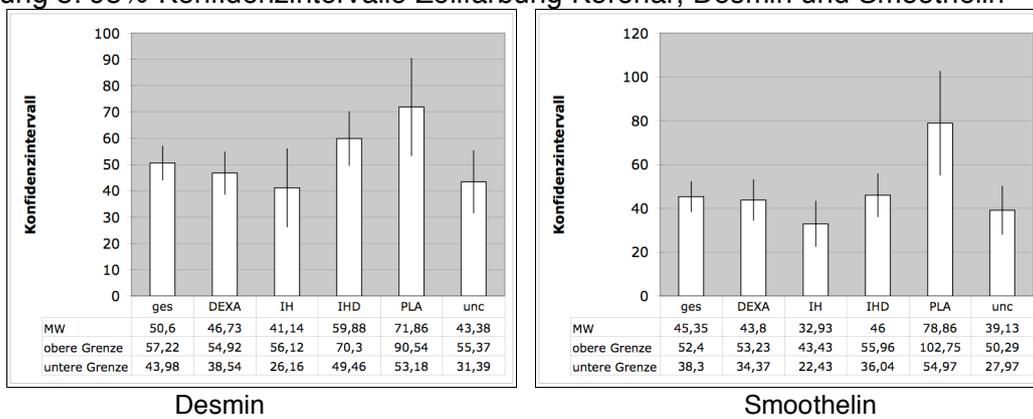
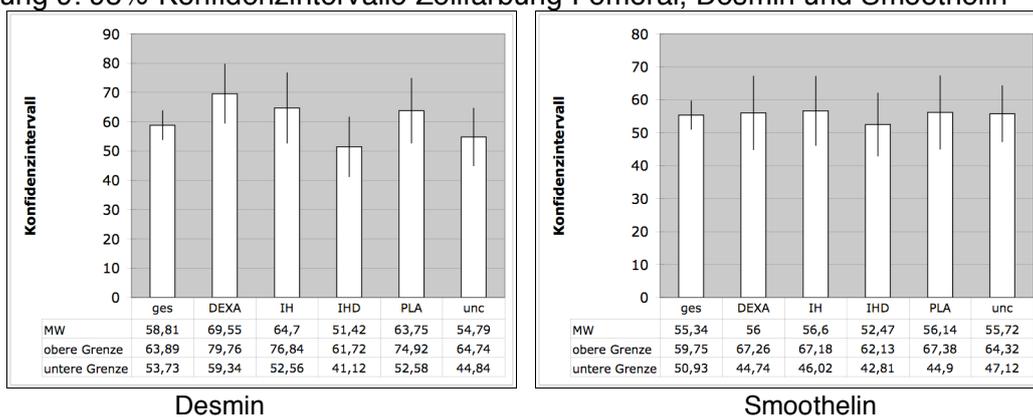


Abbildung 9: 95%-Konfidenzintervalle Zellfärbung Femoral, Desmin und Smoothelin



Zellzahlen (Nuclei):

In den Koronargefäßen ergibt die Auszählung der Nuclei in den Desmin und Smoothelin gefärbten Schnitten in der Gruppe der unbeschichteten Stents (=uncoated) die geringsten Werte. Durch die große Streubreite zwischen Desmin und Smoothelin in den Gruppen der beschichteten Stents lässt sich kein gültiges Ergebnis ableiten.

Die untersuchten Femoralarterien ergeben sowohl in der Desmin- als auch in der Smoothelin-Gruppe Werte für die unbeschichteten Implantate etwas oberhalb des Gesamtmittelwertes, entsprechend einer größeren Gewebsschädigung. Das gleiche gilt für die Gruppe der IH-Beschichtungen. Die mit Dexamethason versehenen Stents weisen in beiden Färbungen Berechnungen unterhalb des Gesamtmittels auf.

Gefärbte Zellen:

In den Koronargefäßen weisen sowohl bei der Desmin- als auch bei der Smoothelin-Färbung die PLA-tragenden Stents die höchste Zellschädigung auf. Unbeschichtete Stents zeigen eine geringe Zelltoxizität, ebenso die IH-Beschichtung.

Die Schwankungen der Beschichtungsgruppen untereinander fallen in den Femoralgefäßen geringer aus. So weisen die Werte der Gruppen DEXA, IH und PLA in beiden Färbungen jeweils auf eine eher größere Schädlichkeit hin. Dagegen wirken die IHD-Stents an peripheren Arterien offenbar weniger toxisch. In der Gruppe unbeschichteter Stents kann keine eindeutige Tendenz festgestellt werden.

Tabelle 24: Überblick über die Gewebsverträglichkeit der unterschiedlichen Stentbeschichtungen anhand der Auszählung von unspezifisch gefärbten Nuclei und spezifisch gefärbten Zellen für koronare und femorale Gefäße

NUCLEI				
	Koronar		Femoral	
	Desmin	Smoothelin	Desmin	Smoothelin
positiver benefit	uncoated PLA, IHD	uncoated IH	IHD DEXA, PLA	IHD DEXA
negativer benefit	DEXA, IH	PLA, DEXA, IHD	IH uncoated	IH PLA, uncoated
GEFÄRBTE ZELLEN				
	Koronar		Femoral	
	Desmin	Smoothelin	Desmin	Smoothelin
positiver benefit	uncoated DEXA, IH	uncoated DEXA, IH	IHD uncoated	IHD
negativer benefit	PLA, IHD	PLA, IHD	IH DEXA, PLA	IH PLA, DEXA, unc

Beispiele immunhistologischer Färbungen, koronar

Dexamethasonacetat-Dexamethason (DD, DEXA)

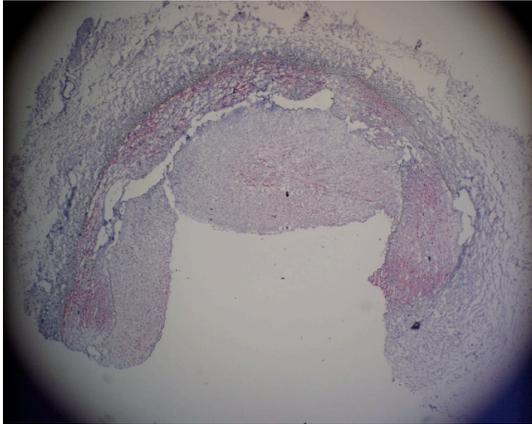


Abbildung 10: 17 LAD Desmin Übersicht, DD; Vergrößerung 20x

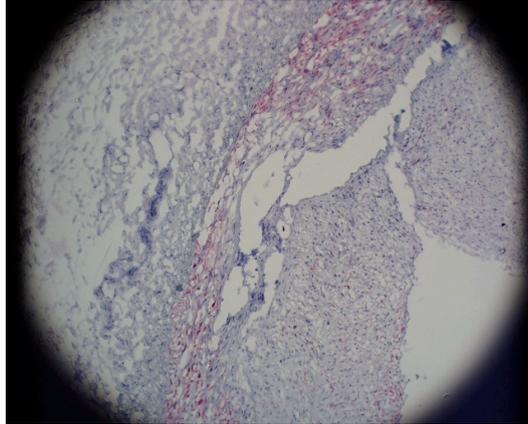


Abbildung 11: 17 LAD Desmin Detail1, DD; Vergrößerung 50x

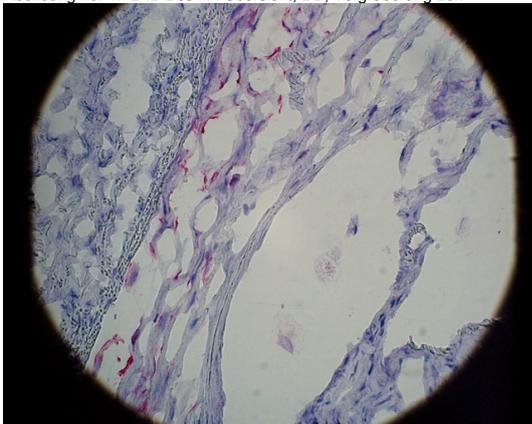


Abbildung 12: 17 LAD Desmin Makro1, DD; Vergrößerung 200x

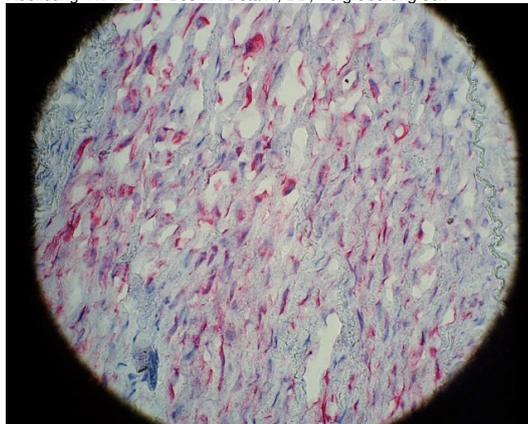


Abbildung 13: 17 LAD Desmin Makro2, DD; Vergrößerung 200x

Iloprost-Hirudin-Dexamethason (IHD)

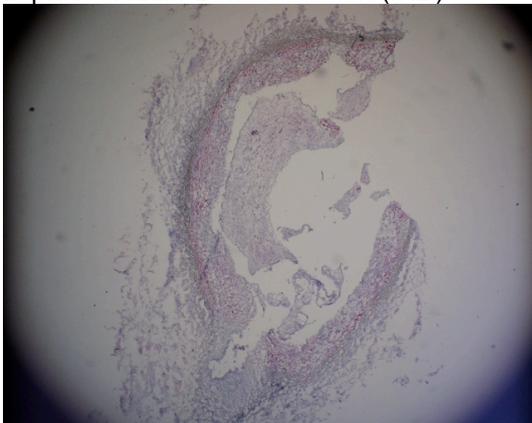


Abbildung 14: 23 LAD Desmin Übersicht, IHD; Vergrößerung 20x

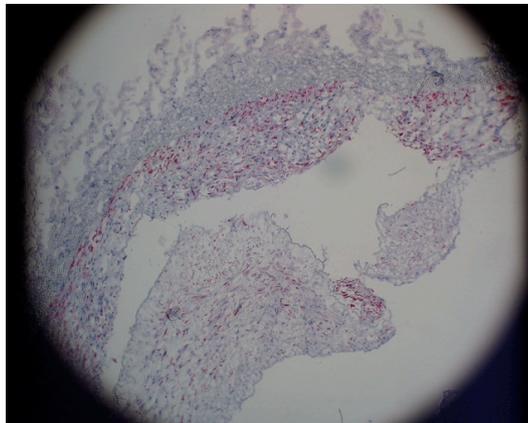


Abbildung 15: 23 LAD Desmin Detail1, IHD; Vergrößerung 50x

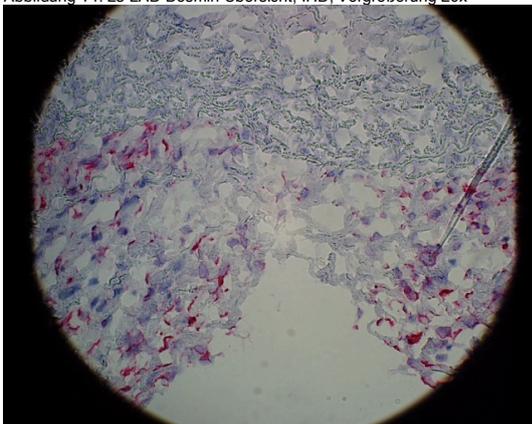


Abbildung 16: 23 LAD Desmin Makro1, IHD; Vergrößerung 200x

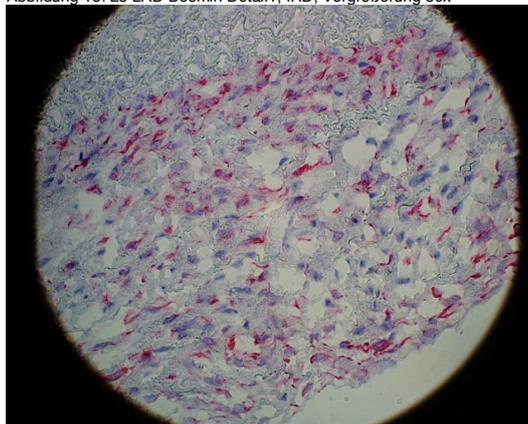


Abbildung 17: 23 LAD Desmin Makro2, IHD; Vergrößerung 200x

Iloprost-Hirudin (IH)

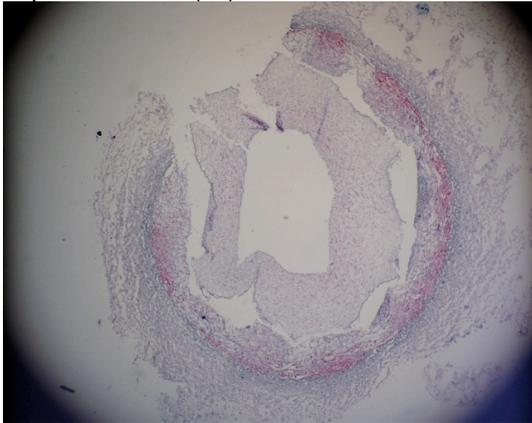


Abbildung 18: 27 LAD Desmin Übersicht; IH; Vergrößerung 20x

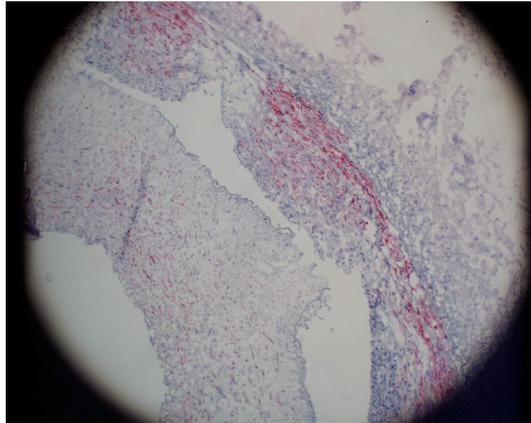


Abbildung 19: 27 LAD Desmin Detail1, IH; Vergrößerung 50x

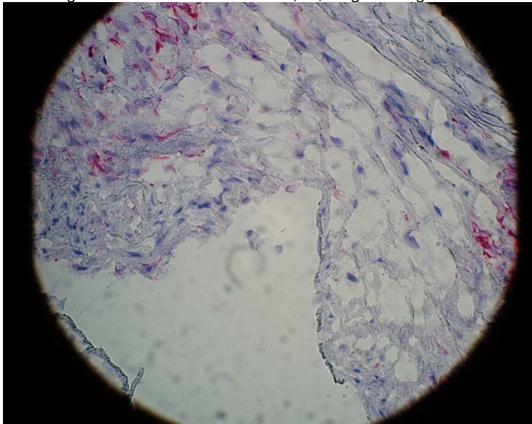


Abbildung 20: 27 LAD Desmin Makro1, IH; Vergrößerung 200x

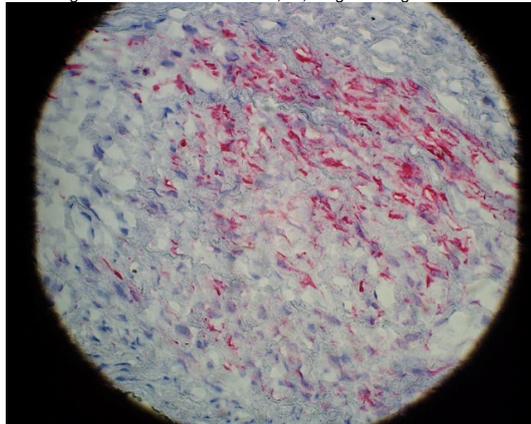


Abbildung 21: 27 LAD Desmin Makro2, IH; Vergrößerung 200x

Polylaktid (PLA)

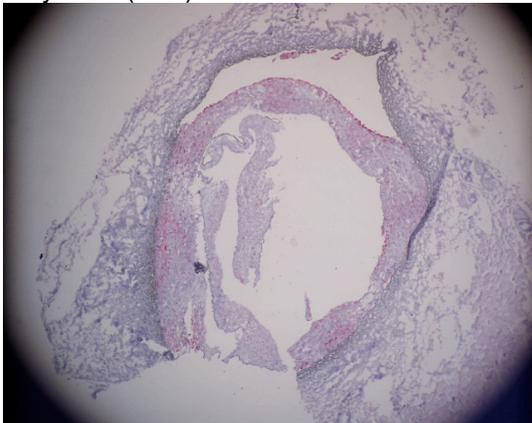


Abbildung 22: 30 LAD Desmin Übersicht, PLA; Vergrößerung 20x

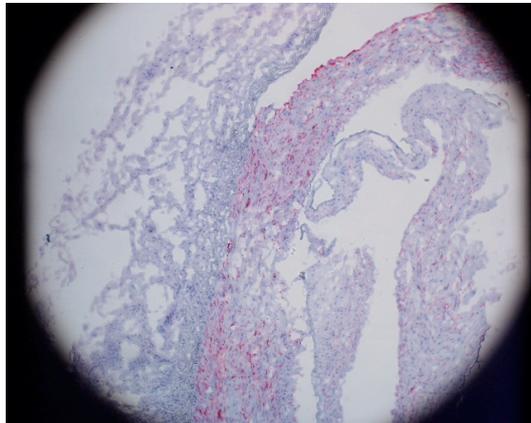


Abbildung 23: 30 LAD Desmin Detail1, PLA; Vergrößerung 50x

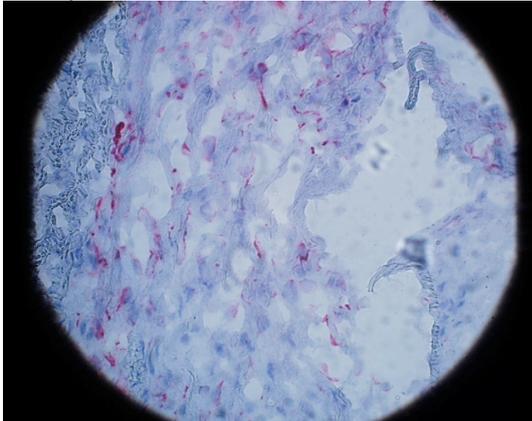


Abbildung 24: 30 LAD Desmin Makro1, PLA; Vergrößerung 200x

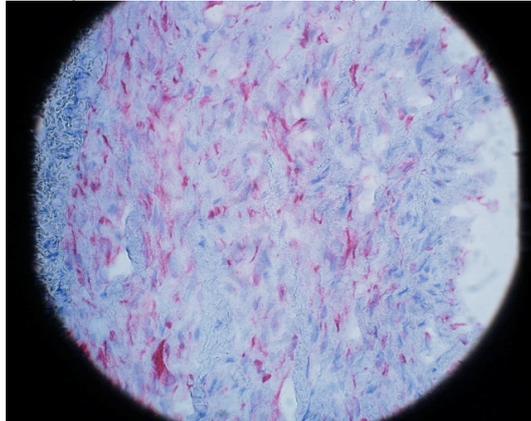


Abbildung 25: 30 LAD Desmin Makro2, PLA; Vergrößerung 200x

Unbeschichtet (unc.)

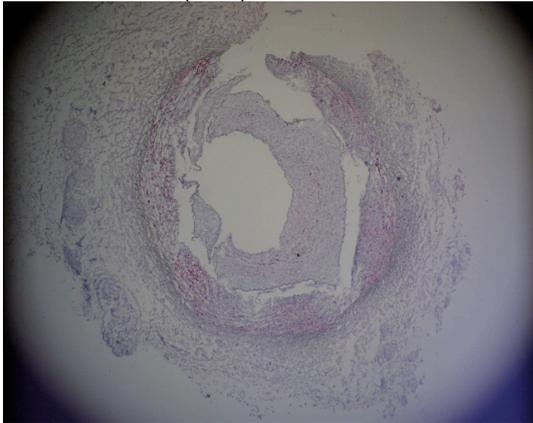


Abbildung 26: 25 LAD Desmin Übersicht, unc.; Vergrößerung 20x

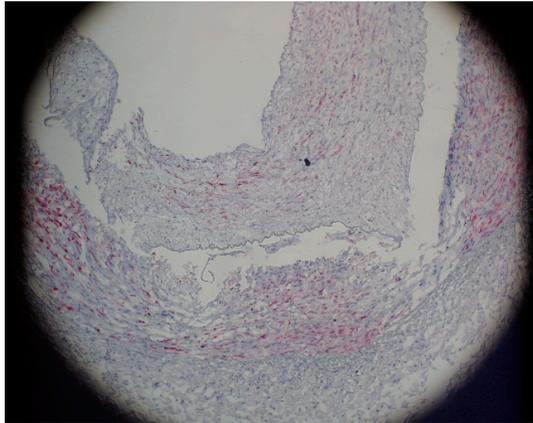


Abbildung 27: 25 LAD Desmin Detail2, unc.; Vergrößerung 50x

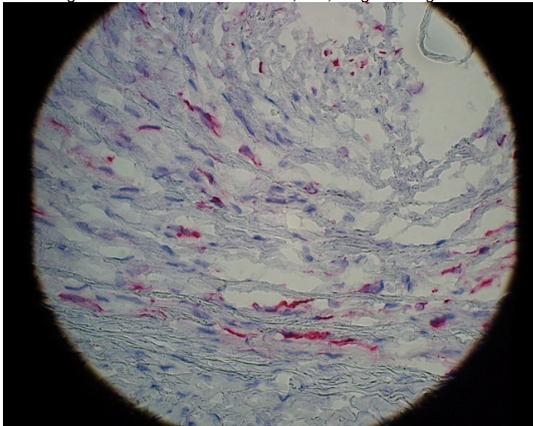


Abbildung 28: 25 LAD Desmin Makro5, unc.; Vergrößerung 200x

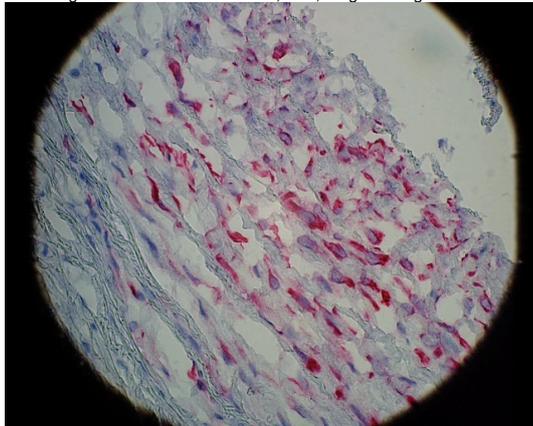


Abbildung 29: 25 LAD Desmin Makro6, unc.; Vergrößerung 200x

Beispiele immunhistologischer Färbungen, femoral

Dexamethasonacetat-Dexamethason (DD, DEXA)

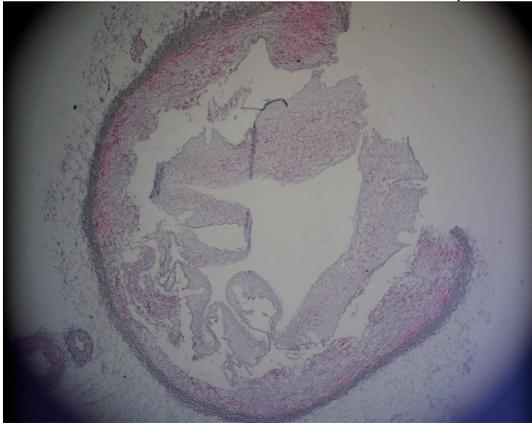


Abbildung 30: 25 FRE Desmin Übersicht2, DD; Vergrößerung 20x

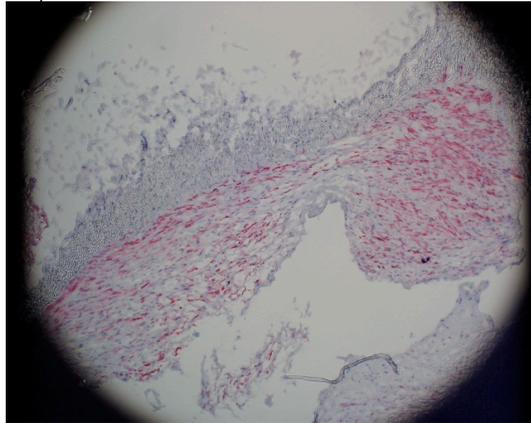


Abbildung 31: 25 FRE Desmin Detail1, DD; Vergrößerung 50x

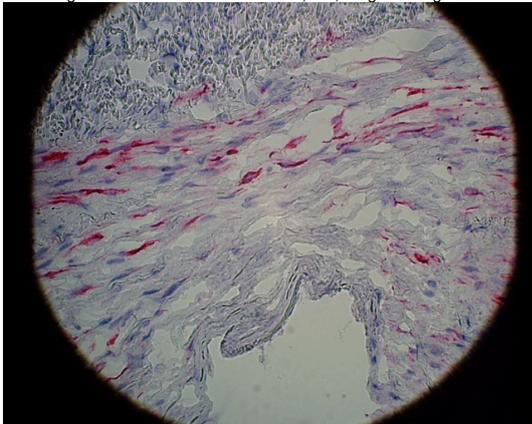


Abbildung 32: 25 FRE Desmin Makro1, DD; Vergrößerung 200x

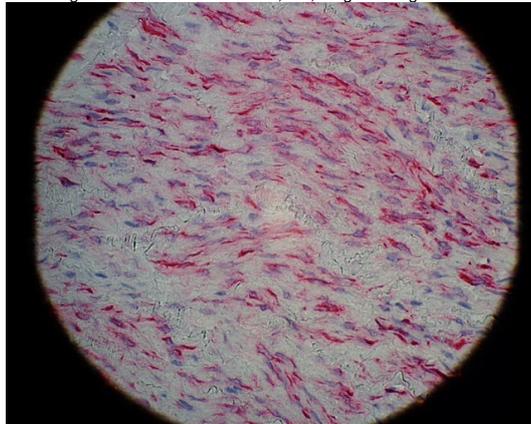


Abbildung 33: 25 FRE Desmin Makro2, DD; Vergrößerung 200x

Iloprost-Hirudin-Dexamethason (IHD)

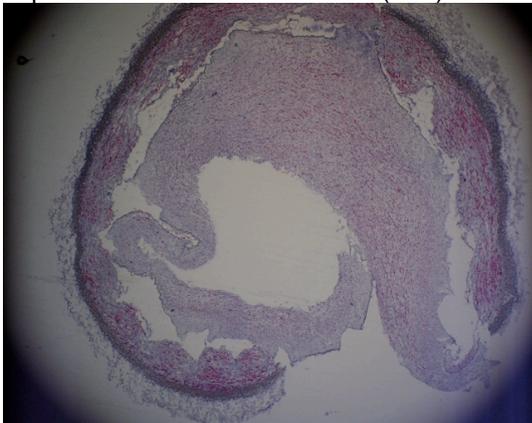


Abbildung 34: 25 FLI Desmin Übersicht2, IHD; Vergrößerung 20x

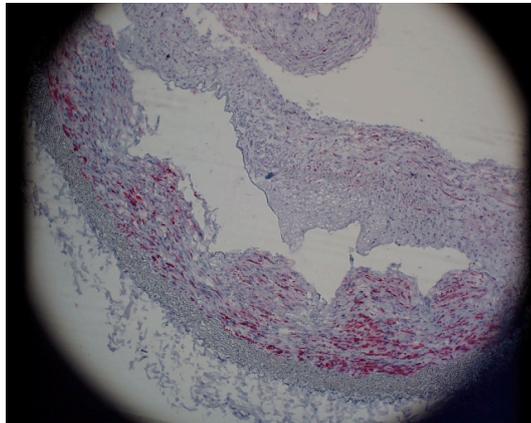


Abbildung 35: 25 FLI Desmin Detail1, IHD; Vergrößerung 50x

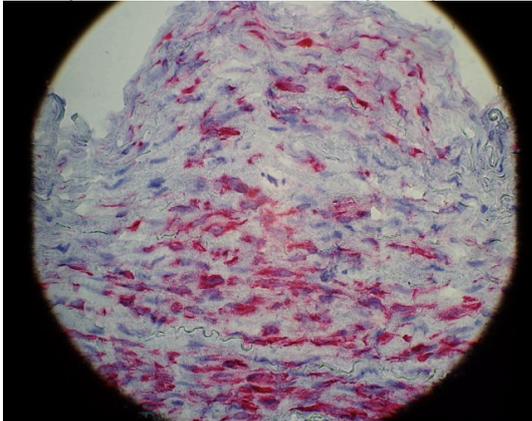


Abbildung 36: 25 FLI Desmin Makro2, IHD; Vergrößerung 200x

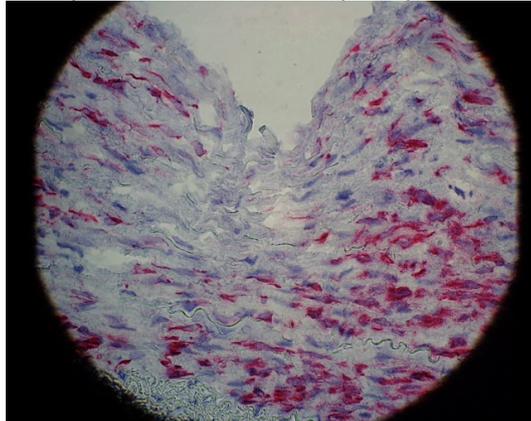


Abbildung 37: 25 FLI Desmin Makro1, IHD; Vergrößerung 200x

Iloprost-Hirudin (IH)

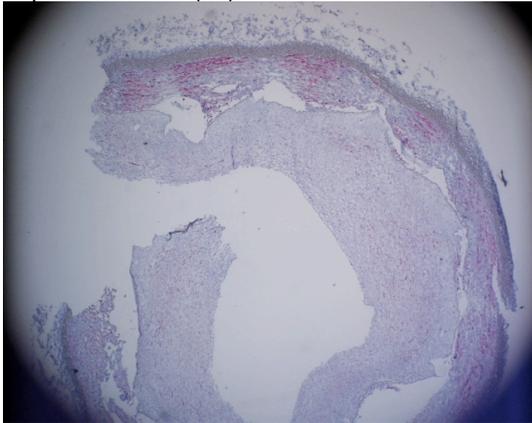


Abbildung 38: 29 FLI Desmin Übersicht2, IH; Vergrößerung 20x

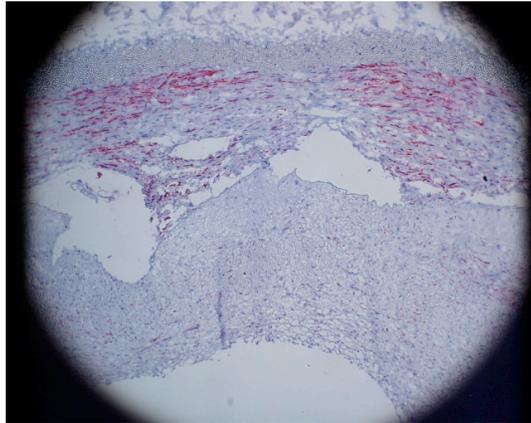


Abbildung 39: 29 FLI Desmin Detail, IH; Vergrößerung 50x

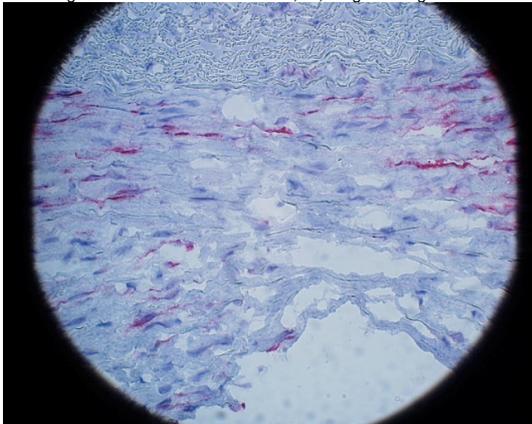


Abbildung 40: 29 FLI Desmin Makro1, IH; Vergrößerung 200x

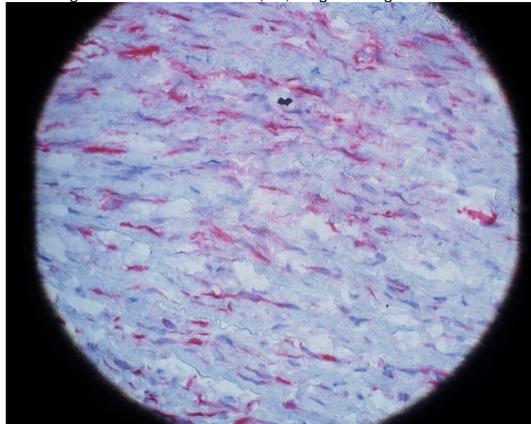


Abbildung 41: 29 FLI Desmin Makro2, IH; Vergrößerung 200x

Polylaktid (PLA)

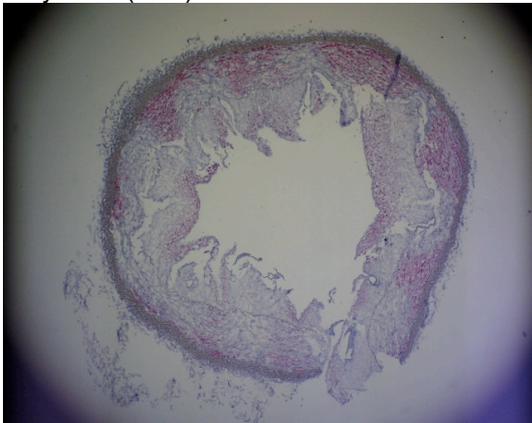


Abbildung 42: 22 FLI Desmin Übersicht, PLA; Vergrößerung 20x

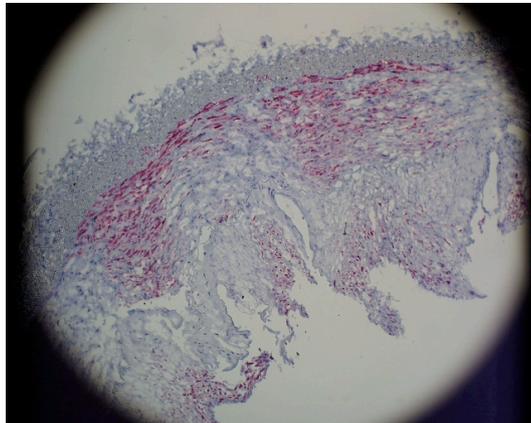


Abbildung 43: 22 FLI Desmin Detail1, PLA; Vergrößerung 50x

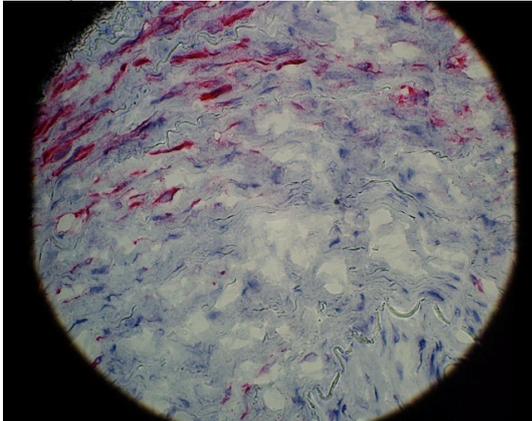


Abbildung 44: 22 FLI Desmin Makro3, PLA; Vergrößerung 200x

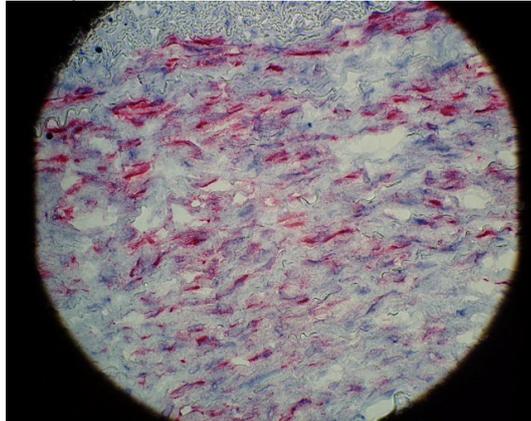


Abbildung 45: 22 FLI Desmin Makro4, PLA; Vergrößerung 200x

Unbeschichtet (unc.)

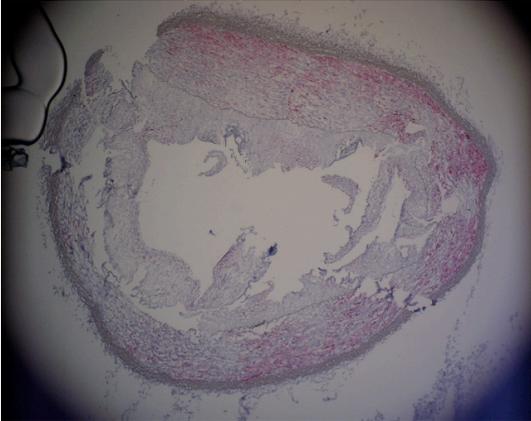


Abbildung 46: 21 FLI Desmin Übersicht, unc.; Vergrößerung 20x

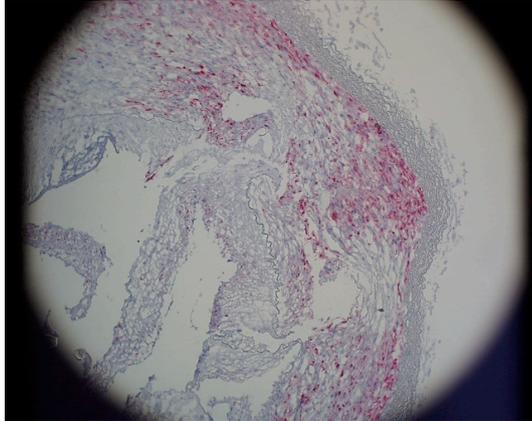


Abbildung 47: 21 FLI Desmin Detail1, unc.; Vergrößerung 50x

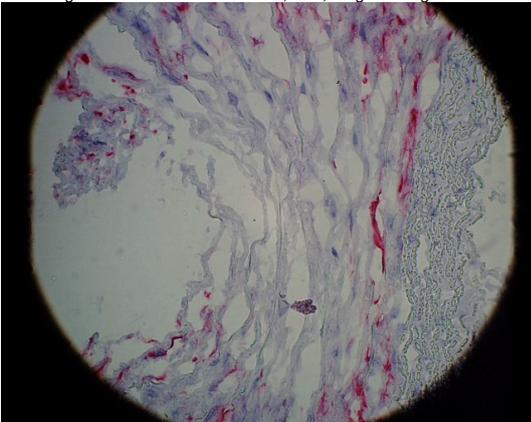


Abbildung 48: 21 FLI Desmin Makro3, unc.; Vergrößerung 200x

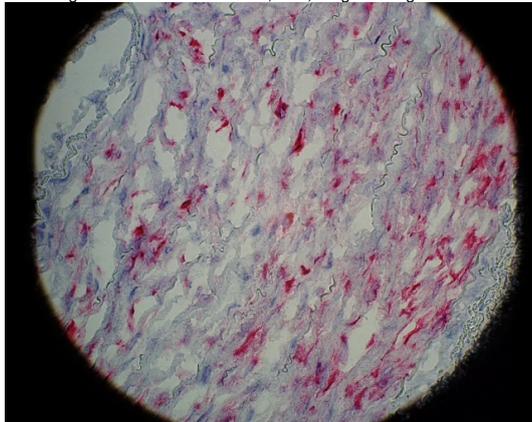


Abbildung 49: 21 FLI Desmin Makro4, unc.; Vergrößerung 200x

4.2.2 95%-Konfidenzintervall der Färbungen Desmin vs. Smoothelin, Zelldifferenzierung

95%-Konfidenzintervall verletzte vs. unverletzte Media					
Zellzahl (=Nuclei)			spezifisch gefärbte Zellen		
Koronar		Femoral	Koronar		Femoral
95%-Konfidenzintervall Desmin vs. Smoothelin					
Verletzte Media		Unverletzte Media		Restenose	
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral
Korrelationen Dilatationsdruck zu					
verletzte Media			Restenose		
Zellzahl	Gefärbte Zellen		Zellzahl	Gefärbte Zellen	
Korrelation neointimale Dicke (mNID) zu Zellverteilung (Quotient SmoRes/DesMed)					
Koronar		Femoral	Koronar		Femoral

Die verwendeten Antikörper Desmin und Smoothelin haben unterschiedliche Zielzellen, die sie spezifisch anfärben. Während Desmin alle glatten Muskelzellen detektiert, erkennt Smoothelin spezifisch nur die ausdifferenzierten kontraktiven glatten Muskelzellen (SMC's). Um eine Differenzierung über den Proliferationszustand der glatten Muskulatur in der verletzten und unverletzten Media sowie der Restenose zu erhalten, werden für Desmin zu Smoothelin Konfidenzintervalle bestimmt. Die Errechnung des Differenzierungsgrades wird anhand dessen vorgenommen.

Abbildung 50: 95%-Konfidenzintervalle Desmin zu Smoothelin, koronar; Bereiche verletzte, unverletzte Media und Restenose

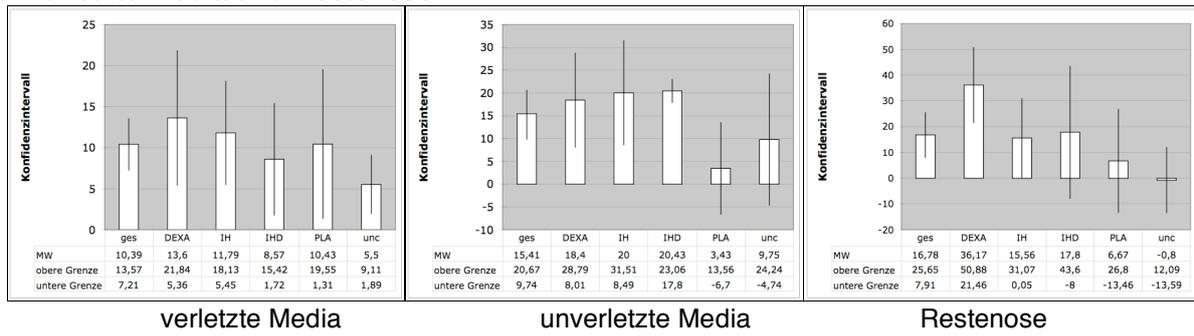
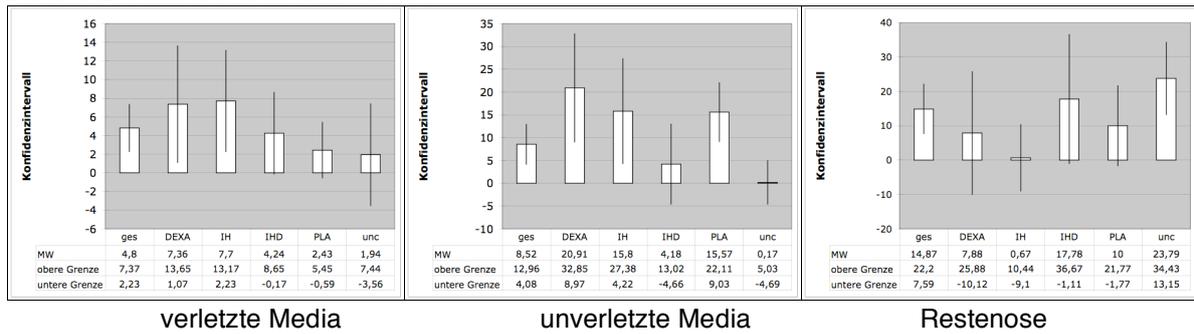


Abbildung 51: 95%-Konfidenzintervalle Desmin zu Smoothelin, femoral; Bereiche verletzte, unverletzte Media und Restenose



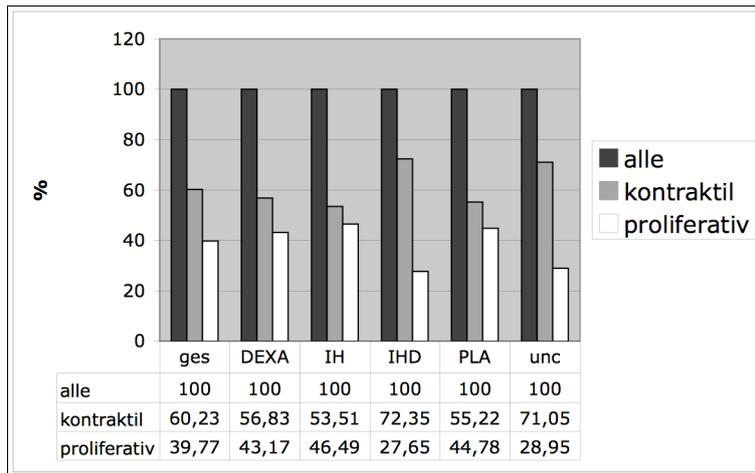


Abbildung 52: Zelldifferenzierung der koronaren Muskelzellen in gesamt-, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der verletzten Media (i.e. ehemalige Stentstruts); Angaben in Prozent

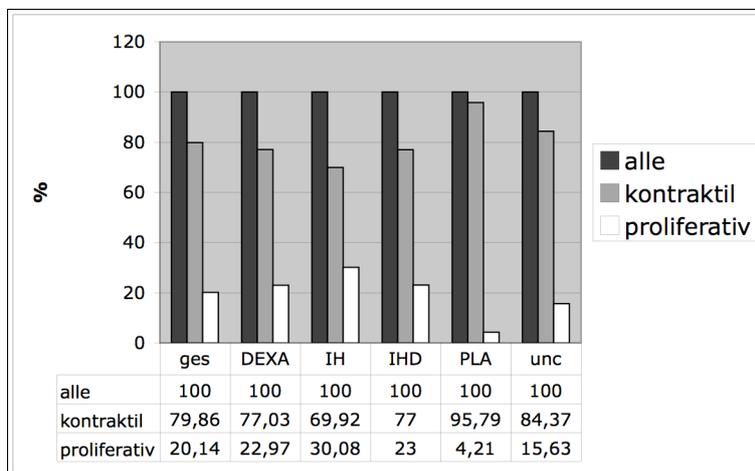


Abbildung 53: Zelldifferenzierung der koronaren Muskelzellen in gesamt-, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der unverletzten Media; Angaben in Prozent

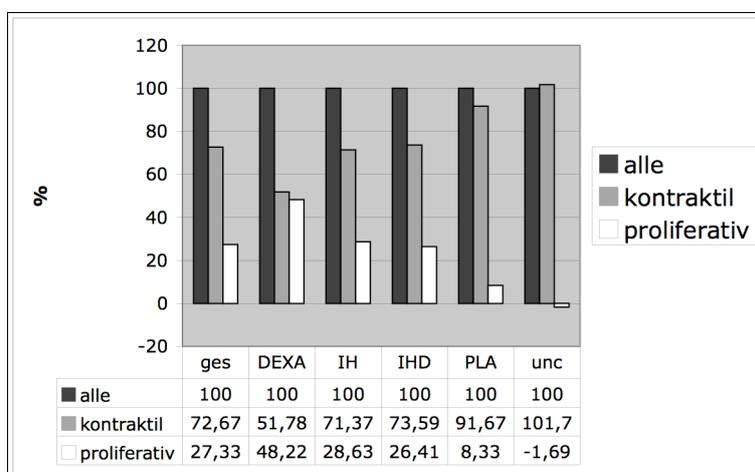


Abbildung 54: Zelldifferenzierung der koronaren Muskelzellen in gesamt-, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der Restenose; Angaben in Prozent

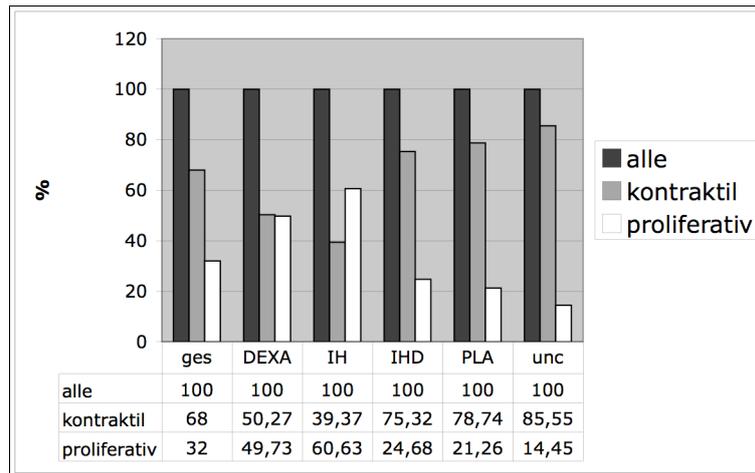


Abbildung 55: Zelldifferenzierung der femoralen Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der verletzten Media (i.e. ehemalige Stentstruts); Angaben in Prozent

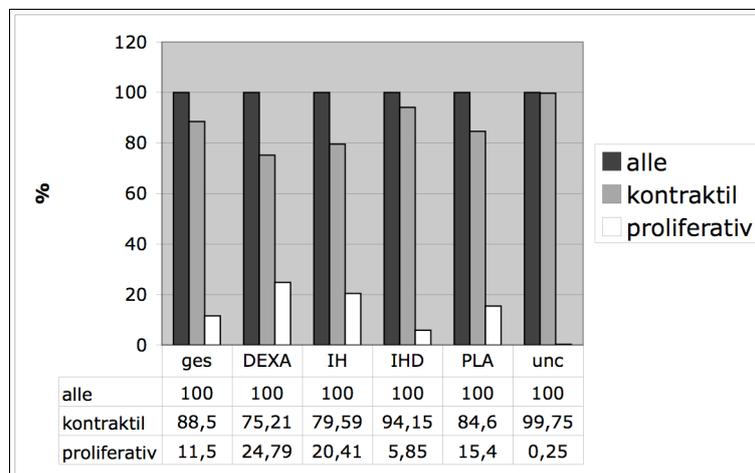


Abbildung 56: Zelldifferenzierung der femoralen Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der unverletzten Media; Angaben in Prozent

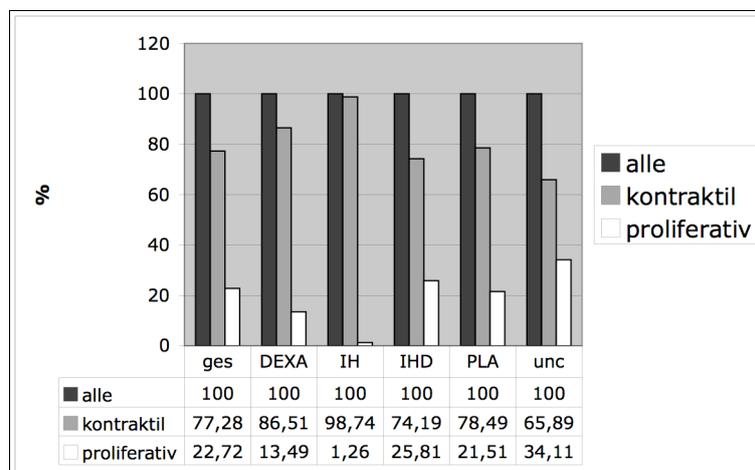


Abbildung 57: Zelldifferenzierung der femoralen Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der Restenose; Angaben in Prozent

Die Graphiken lassen einen hohen Anteil differenzierter, Smoothelin-positiver Zellen am gesamten Bestand glatter muskulärer Zellen erkennen (Desmin-positiv). Nur in der verletzten Tunica media der Koronarien ist das Konfidenzintervall für alle Beschichtungen valide, d.h. hier liegt mit 95%iger Sicherheit der Anteil differenzierter glatter Muskelzellen unter dem der gesamten SMC's. In allen anderen Untersuchungsgruppen unterschreitet das Konfidenzintervall in mindestens einer Beschichtungsgruppe die Nulllinie. Die Summe der Beschichtungen zeigt in allen Gruppen valide Ergebnisse.

Tabelle 25: Überblick über die Gewebsverträglichkeit der unterschiedlichen Stentbeschichtungen anhand der SMC-Differenzierung für koronare und femorale Gefäße unterteilt in die untersuchten Gefäßbezirke

STRUTBEREICH		
	Koronar	Femoral
positiver benefit	uncoated IHD	uncoated PLA, IHD
negativer benefit	IH, DEXA PLA	IH, DEXA
MEDIABEREICH		
	Koronar	Femoral
positiver benefit	uncoated PLA	uncoated IHD
negativer benefit	IH, DEXA IHD	IH, DEXA PLA
RESTENOSE		
	Koronar	Femoral
positiver benefit	uncoated IHD, PLA	IH, DEXA, PLA
negativer benefit	IH, DEXA	uncoated, IHD

Beispiele für Desmin- und Smoothelin-Färbung; jeweils identische Bereiche für verletzte und unverletzte Media sowie Restenose

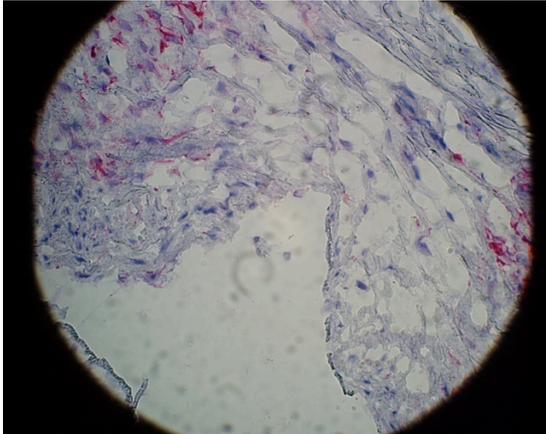


Abbildung 58: 27 LAD Desmin Makro1; Vergrößerung 200x

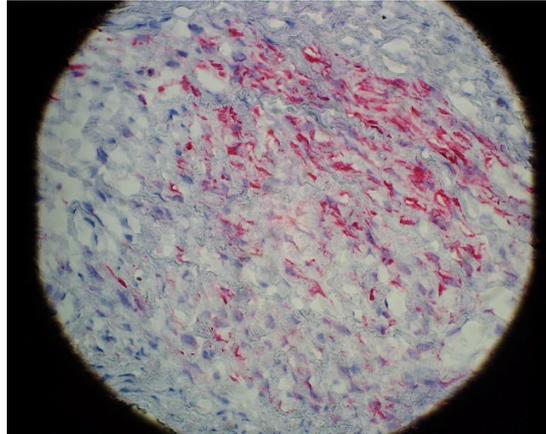


Abbildung 59: 27 LAD Desmin Makro2; Vergrößerung 200x

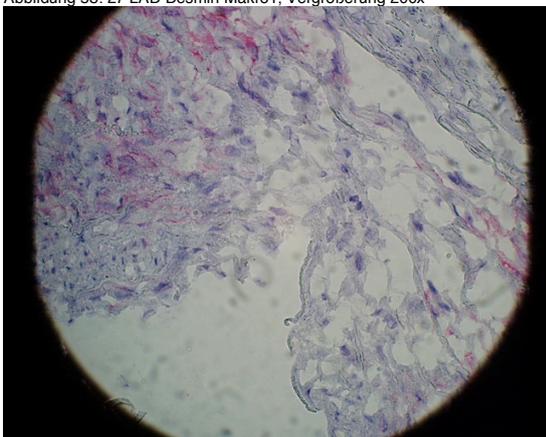


Abbildung 60: 27 LAD Smoothelin Makro1; Vergrößerung 200x

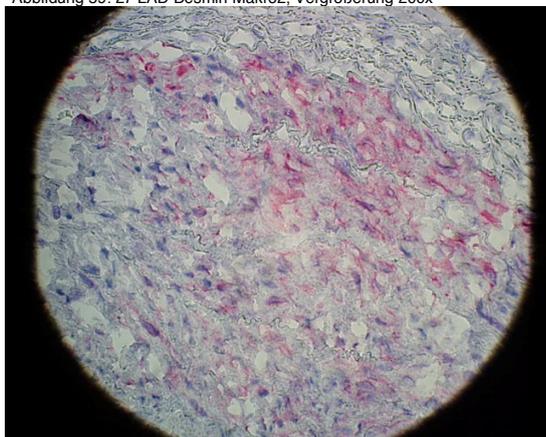


Abbildung 61: 27 LAD Smoothelin Makro2; Vergrößerung 200x

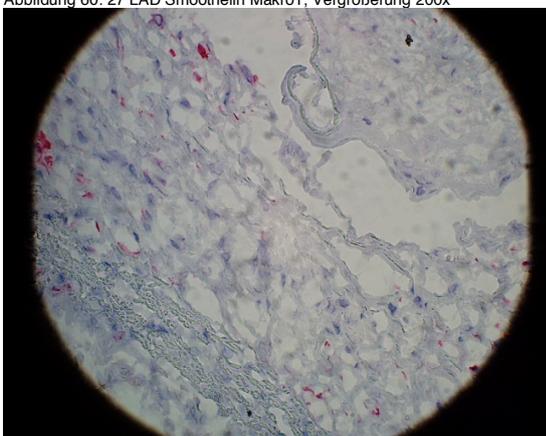


Abbildung 62: 27 FLI Desmin Makro1; Vergrößerung 200x

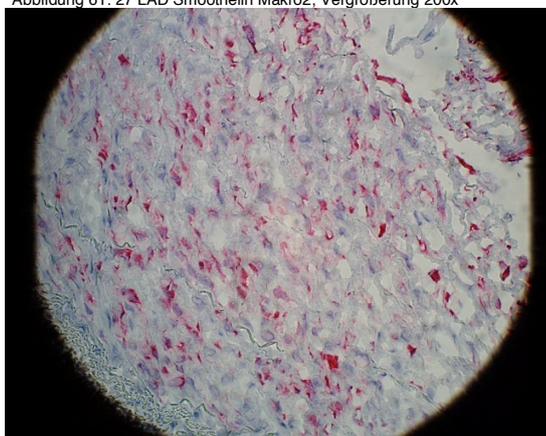


Abbildung 63: 27 FLI Desmin Makro2; Vergrößerung 200x



Abbildung 64: 27 FLI Smoothelin Makro1; Vergrößerung 200x

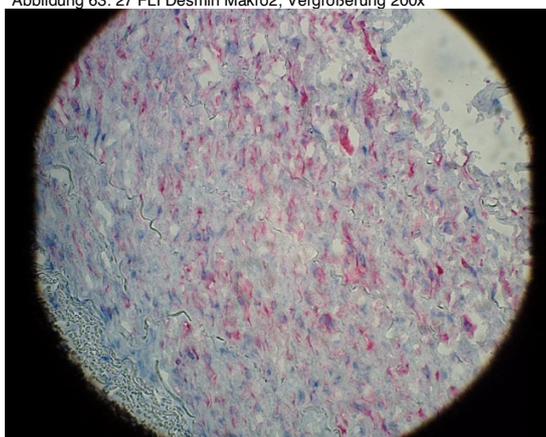


Abbildung 65: 27 FLI Smoothelin Makro2; Vergrößerung 200x

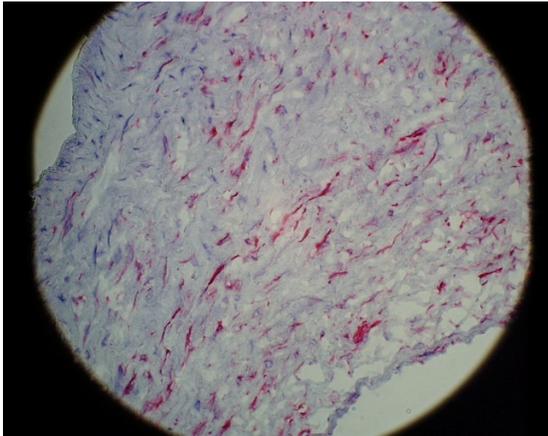


Abbildung 66: 19 LCX Desmin Restenose1; Vergrößerung 200x

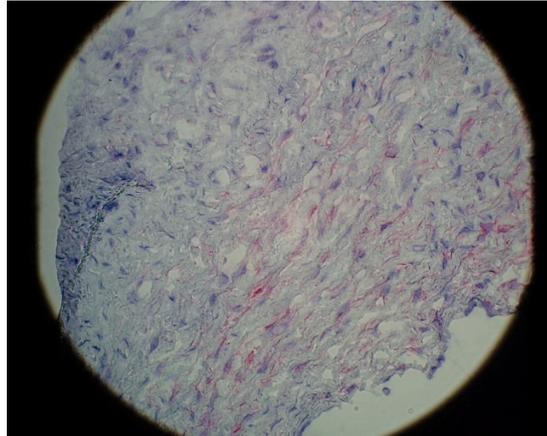


Abbildung 67: 19 LCX Smoothelin Restenose1; Vergrößerung 200x

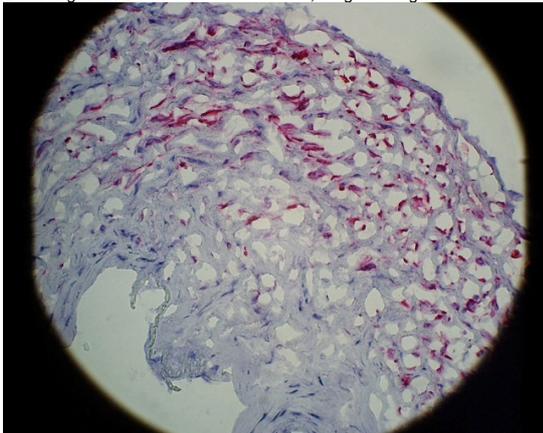


Abbildung 68: 17 FRE Desmin Restenose1; Vergrößerung 200x

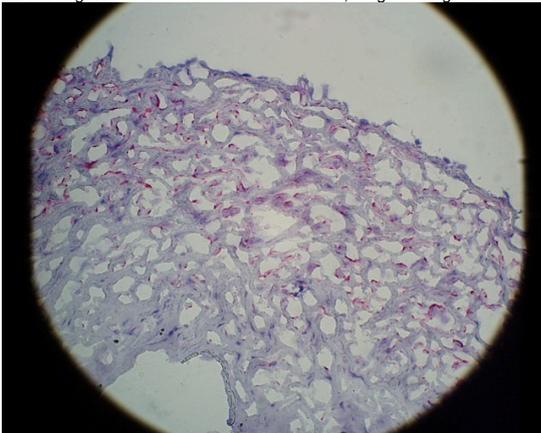


Abbildung 69: 17 FRE Smoothelin Restenose1; Vergrößerung 200x

4.2.3 Korrelation Druck zu verletzter Media und Restenose

95%-Konfidenzintervall verletzte vs. unverletzte Media					
Zellzahl (=Nuclei)			spezifisch gefärbte Zellen		
Koronar	Femoral		Koronar	Femoral	
95%-Konfidenzintervall Desmin vs. Smoothelin					
Verletzte Media		Unverletzte Media		Restenose	
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral
Korrelationen Dilatationsdruck zu					
verletzte Media			Restenose		
Zellzahl	Gefärbte Zellen		Zellzahl	Gefärbte Zellen	
Korrelation neointimale Dicke (mNID) zu Zellverteilung (Quotient SmoRes/DesMed)					
Koronar	Femoral		Koronar	Femoral	

Der bei der Implantation wirksame Dilatationsdruck wird mit den Ergebnissen der Nuclei und gefärbten Zellen für die Bereiche der verletzten Media in Beziehung gesetzt. Die errechneten t-Werte der Regressionsgeraden führen zu p-Werten, die größer sind als 0,05. Dies entspricht einer Aussage, die mit weniger als 95%iger Wahrscheinlichkeit gültig ist. Außerdem kann in keinem Fall ein eindeutiger Trend im Sinne von erhöhtem Inflationdruck = zunehmender Zellschaden nachgewiesen werden. Aufgrund der großen Streuung der Daten ist keine Korrelation zu erkennen.

Tabelle 26: Angabe von t- und p-Werten zur Bestimmung der Korrelation von Druck zu Zellzahl (Nuclei) und gefärbten Zellen im Bereich verletzter Media (i.e. Stentstruts); Koronar und Femoral

		Desmin	Smoothelin	Desmin	Smoothelin
Gesamt		Koronar		Femoral	
Druck vs. Zellzahl/Strut	t = 1,46 p = <0,2	t = 1,21 p = >0,2	nicht bestimmbar	nicht bestimmbar	
Druck vs. Färbung/Strut	t = 0,67 p = >0,5	t = 0,73 p = <0,5	t = 1,07 p = <0,3	t = 0,56 p = <0,6	
DEXA					
Druck vs. Zellzahl/Strut	t = -0,81 p = >0,4	t = -0,46 p = <0,7	nicht bestimmbar	t = 0,12 p = >0,9	
Druck vs. Färbung/Strut	t = 0,98 p = >0,3	t = 0,11 p = >0,9	t = 0,61 p = <0,6	t = -0,68 p = >0,5	
IH					
Druck vs. Zellzahl/Strut	t = 2,6 p = <0,05	t = 0,56 p = >0,6	t = 0,76 p = <0,5	t = 0,64 p = >0,5	
Druck vs. Färbung/Strut	t = 1,04 p = >0,3	t = 0,6 p = <0,6	t = 1,82 p = >0,1	t = 0,11 p = >0,9	
IHD					
Druck vs. Zellzahl/Strut	t = 0,83 p = >0,4	t = 1,29 p = <0,3	t = -1,2 p = <0,3	t = -0,63 p = >0,5	
Druck vs. Färbung/Strut	t = -0,5 p = >0,6	t = 0,07 p = >0,9	t = 1,07 p = 0,3	t = 0,67 p = >0,5	
PLA					
Druck vs. Zellzahl/Strut	t = -0,65 p = <0,6	t = -1,04 p = <0,4	t = -0,66 p = >0,5	t = 0,5 p = >0,6	
Druck vs. Färbung/Strut	t = -1,67 p = <0,2	t = 0,32 p = <0,8	t = 0,12 p = <0,9	t = -0,5 p = >0,6	
Uncoated					
Druck vs. Zellzahl/Strut	t = -0,07 p = >0,9	t = 0,4 p = >0,7	t = 0,97 p = >0,3	t = -0,65 P = >0,5	
Druck vs. Färbung/Strut	t = 0,71 p = >0,5	t = 0,69 p = >0,5	t = -1,54 p = >0,1	t = 2,02 p = >0,05	

Abbildung 70 und 71: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Koronar Desmin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut

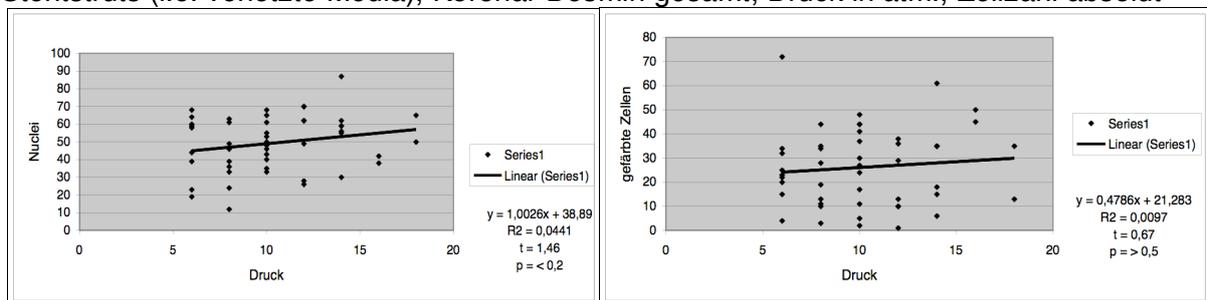


Abbildung 72 und 73: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Koronar Smoothelin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut

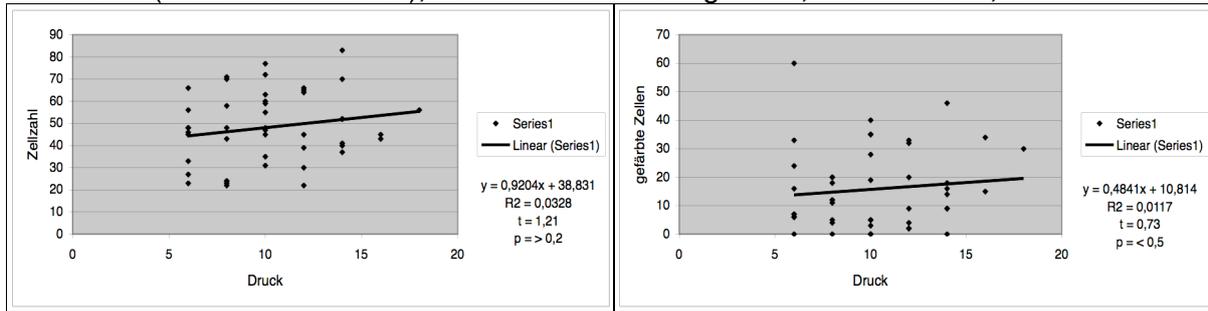


Abbildung 74 und 75: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Femoral Desmin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut

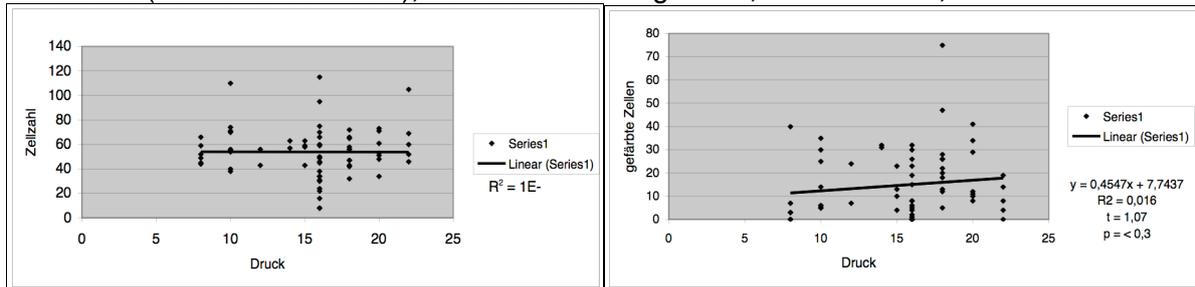
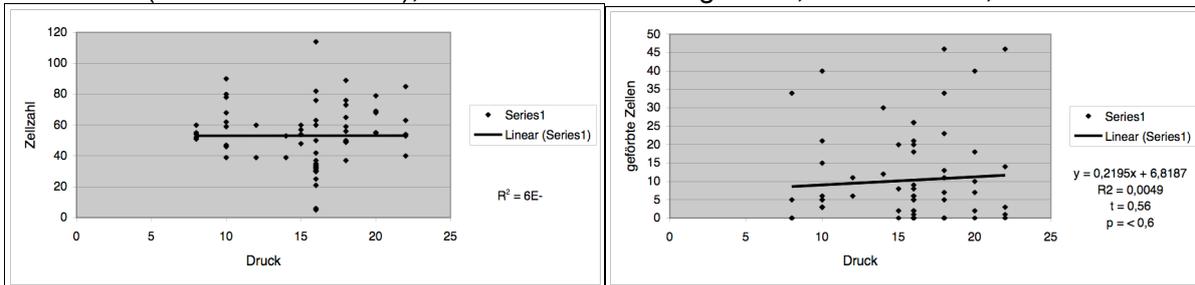


Abbildung 76 und 77: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Femoral Smoothelin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut



Analog wird für die Restenose ein Zusammenhang zwischen Inflationsdruck und Restenose untersucht. Auch hier liefert die Korrelation von Druck zu Zellzahl (Nuclei) bzw. gefärbten Zellen keine signifikanten Ergebnisse, die p-Werte sind überall größer als 0,05. Somit kann eine Abhängigkeit zwischen Druck und Neointimabildung nicht nachgewiesen werden.

Tabelle 27: Angabe von t- und p-Werten zur Bestimmung der Korrelation von Druck zu Zellzahl (Nuclei) und gefärbten Zellen im Bereich Restenose;

	Desmin	Smoothelin
Restenose ges.		
Druck vs. Zellzahl/Res	t = 1,05 p = <0,3	t = -0,48 p = >0,6
Druck vs. Färbung/Res	nicht bestimmbar	t = 0,24 p = >0,8
DEXA		
Druck vs. Zellzahl/Res	t = 1,17 p = <0,3	t = 0,74 p = <0,5
Druck vs. Färbung/Res	t = 0,29 p = <0,8	t = -0,49 p = >0,6
IH		
Druck vs. Zellzahl/Res	t = 0,29 p = <0,8	t = -0,62 p = >0,5
Druck vs. Färbung/Res	t = -8,1 p = >0,4	t = 0,74 p = <0,5
IHD		
Druck vs. Zellzahl/Res	nicht bestimmbar	t = 0,03 p = >0,9
Druck vs. Färbung/Res	t = 1.01 p = >0,3	t = 0,82 p = >0,4
PLA		
Druck vs. Zellzahl/Res	t = 0,87 p = <0,5	t = -0,71 p = >0,5
Druck vs. Färbung/Res	t = -1,8 p = <0,2	t = -1,98 p = >0,1
Uncoated		
Druck vs. Zellzahl/Res	t = 0,2 p = >0,8	t = -1,96 p = >0,05
Druck vs. Färbung/Res	nicht bestimmbar	t = 0,73 p = <0,5

Abbildung 78 und 79: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Restenose, Desmin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut

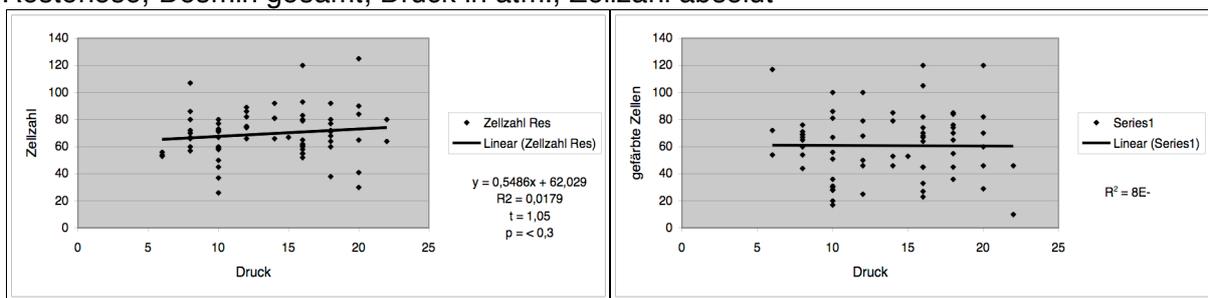
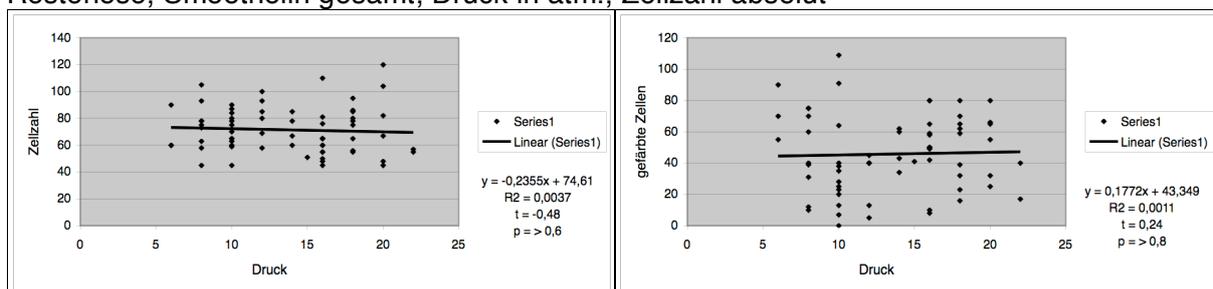


Abbildung 80 und 81: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Restenose, Smoothelin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut



4.2.4 Korrelation quantitative Restenose (= mittlere neointimale Fläche, mNID) zu qualitativer Zellverteilung

95%-Konfidenzintervall verletzte vs. unverletzte Media					
Zellzahl (=Nuclei)		spezifisch gefärbte Zellen			
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral		
95%-Konfidenzintervall Desmin vs. Smoothelin					
Verletzte Media		Unverletzte Media		Restenose	
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral
Korrelationen Dilatationsdruck zu					
verletzte Media			Restenose		
Zellzahl	Gefärbte Zellen	Zellzahl	Gefärbte Zellen	Zellzahl	Gefärbte Zellen
Korrelation neointimale Dicke (mNID) zu Zellverteilung (Quotient SmoRes/DesMed)					
Koronar	Femoral	Koronar	Femoral	Koronar	Femoral

Nach histomorphometrischer Auswertung der mittels Hartschnitt-Technik bearbeiteten Gefäße wurden Daten gewonnen, die das absolute Ausmaß der Restenose und den prozentualen Anteil der Neointima am Gesamtlumen beschreiben (Konrad, 2002; Rihm 2005). Diese Werte werden verwendet, um einen Zusammenhang zwischen quantitativer mittlerer Neointimadicke (mNID) und immunhistochemisch detektierten Zellvorkommen in diesem Bereich herzustellen. Dabei erfolgt in graphischer Darstellung am Punktediagramm die Korrelationsuntersuchung der mittleren Neointimadicke (mNID) vs. dem Quotienten aus den ausdifferenzierten kontraktile Zellen der Restenose (i.e. Smoothelin, SmoRes) und aller Zellen der unverletzten Media (i.e. Desmin, DesMed).

Tabelle 28: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, alle Beschichtungen

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin Restenose	Desmin unverl. Media
LAD	0,47	0,3	13	43
LCX	0,5	0,25	28	110
LCX	0,5	0,84	64	76
FRE	0,15	0,8	70	87
FRE	0,15	0,7	75	107
FRE	0,2	0,25	16	64
FRE	0,2	0,33	32	98
FLI	0,36	0,64	50	78
FLI	0,36	0,48	42	88
FLI	0,12	1,31	80	61
FLI	0,12	0,55	39	71
LCX	0,15	0,52	58	111
LCX	0,17	0,39	31	80
LCX	0,17	0,47	39	83
LAD	0,43	1,29	40	31
FLI	0,34	0,68	65	95
FLI	0,34	0,79	59	75
LAD	0,56	0	0	50
LAD	0,56	0,13	7	55
LCX	0,4	0,26	10	39
LCX	0,4	0,35	12	34
FLI	0,09	0,59	41	70
LAD	0,36	0,42	40	95
LAD	0,36	0,39	40	102
LAD	0,26	0,97	91	94
LAD	0,26	1,4	109	78

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin Restenose	Desmin unverl. Media
FLI	0,28	0,24	17	72
FRE	0,22	0,76	65	86
FRE	0,22	1,1	66	60
FRE	0,16	1,23	80	65
FRE	0,14	0,59	35	59
LAD	0,18	0,27	23	85
FRE	0,11	0,51	59	115
FRE	0,11	0,9	62	69
FLI	0,21	0,37	23	63
LCX	0,42	0,78	70	90
FRE	0,12	0,41	49	120
LCX	0,47	0,61	70	115
FLI	0,2	0,58	55	95
FLI	0,2	0,3	32	105
LAD	0,17	0,49	40	82
LAD	0,17	0,53	45	85
LCX	0,37	0,6	90	150
FLI	0,15	0,87	60	69
LAD	0,44	0,76	75	99
FRE	0,24	0,15	13	85
LAD	0,22	0,63	55	88
FLI	0,37	0,53	25	47
FRE	0,18	0,94	50	53
FRE	0,18	0,48	50	104
FRE	0,18	1,54	80	52
FLI	0,13	0,05	5	92

Tabelle 29: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar, alle Beschichtungen

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
LAD	0,47	0,3	13	43
LCX	0,5	0,25	28	110
LCX	0,5	0,84	64	76
LCX	0,15	0,52	58	111
LCX	0,17	0,39	31	80
LCX	0,17	0,47	39	83
LAD	0,43	1,29	40	31
LAD	0,56	0	0	50
LAD	0,56	0,13	7	55
LCX	0,4	0,26	10	39
LCX	0,4	0,35	12	34
LAD	0,36	0,42	40	95
LAD	0,36	0,39	40	102
LAD	0,26	0,97	91	94
LAD	0,26	1,4	109	78
LAD	0,18	0,27	23	85
LCX	0,42	0,78	70	90
LCX	0,47	0,61	70	115
LAD	0,17	0,49	40	82
LAD	0,17	0,53	45	85
LCX	0,37	0,6	90	150
LAD	0,44	0,76	75	99
LAD	0,22	0,63	55	88
LAD	0,17	1,15	38	33
LAD	0,17	0,74	40	54
LAD	0,35	0,96	43	45
LAD	0,35	0,95	60	63

Tabelle 30: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; femoral, alle Beschichtungen

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
FRE	0,15	0,8	70	87
FRE	0,15	0,7	75	107
FRE	0,2	0,25	16	64
FRE	0,2	0,33	32	98
FLI	0,36	0,64	50	78
FLI	0,36	0,48	42	88
FLI	0,12	1,31	80	61
FLI	0,12	0,55	39	71
FLI	0,34	0,68	65	95
FLI	0,34	0,79	59	75
FLI	0,09	0,59	41	70
FLI	0,28	0,24	17	72
FRE	0,22	0,76	65	86
FRE	0,22	1,1	66	60
FRE	0,16	1,23	80	65
FRE	0,14	0,59	35	59
FRE	0,11	0,51	59	115
FRE	0,11	0,9	62	69
FLI	0,21	0,37	23	63
FRE	0,12	0,41	49	120
FLI	0,2	0,58	55	95
FLI	0,2	0,3	32	105
FLI	0,15	0,87	60	69
FRE	0,24	0,15	13	85
FLI	0,37	0,53	25	47
FRE	0,18	0,94	50	53
FRE	0,18	0,48	50	104
FRE	0,18	1,54	80	52
FLI	0,13	0,05	5	92
FRE	0,2	1,43	80	56
FRE	0,2	0,51	50	99
FLI	0,21	0,31	25	81
FLI	0,21	0,29	20	69
FLI	0,23	0,12	10	86
FRE	0,49	0,5	40	80
FRE	0,2	0,09	8	91
FRE	0,14	1,05	62	59
FRE	0,14	0,43	34	80

Tabelle 31: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, DEXA-Beschichtung

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
LAD	0,47	0,3	13	43
LCX	0,5	0,25	28	110
LCX	0,5	0,84	64	76
FRE	0,15	0,8	70	87
FRE	0,15	0,7	75	107
FRE	0,2	0,25	16	64
FRE	0,2	0,33	32	98
FLI	0,36	0,64	50	78
FLI	0,36	0,48	42	88
FLI	0,12	1,31	80	61
FLI	0,12	0,55	39	71
LCX	0,15	0,52	58	111
LCX	0,17	0,39	31	80
LCX	0,17	0,47	39	83

Tabelle 32: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, IH-Beschichtung

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
LAD	0,43	1,29	40	31
FLI	0,34	0,68	65	95
FLI	0,34	0,79	59	75
LAD	0,56	0	0	50
LAD	0,56	0,13	7	55
LCX	0,4	0,26	10	39
LCX	0,4	0,35	12	34
FLI	0,09	0,59	41	70
LAD	0,36	0,42	40	95
LAD	0,36	0,39	40	102
LAD	0,26	0,97	91	94
LAD	0,26	1,4	109	78
FLI	0,28	0,24	17	72
FRE	0,22	0,76	65	86
FRE	0,22	1,1	66	60

Tabelle 33: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, PLA-Beschichtung

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
LCX	0,37	0,6	90	150
FLI	0,15	0,87	60	69
LAD	0,44	0,76	75	99
FRE	0,24	0,15	13	85
LAD	0,22	0,63	55	88

Tabelle 34: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, IHD-Beschichtung

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
FRE	0,16	1,23	80	65
FRE	0,14	0,59	35	59
LAD	0,18	0,27	23	85
FRE	0,11	0,51	59	115
FRE	0,11	0,9	62	69
FLI	0,21	0,37	23	63
LCX	0,42	0,78	70	90
FRE	0,12	0,41	49	120
LCX	0,47	0,61	70	115
FLI	0,2	0,58	55	95
FLI	0,2	0,3	32	105
LAD	0,17	0,49	40	82
LAD	0,17	0,53	45	85

Tabelle 35: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, unbeschichtet

Gefäß	m NID	Quotient	Smoothelin	Desmin
			Restenose	unverl. Media
FLI	0,37	0,53	25	47
FRE	0,18	0,94	50	53
FRE	0,18	0,48	50	104
FRE	0,18	1,54	80	52
FLI	0,13	0,05	5	92
LAD	0,17	1,15	38	33
LAD	0,17	0,74	40	54
LAD	0,35	0,96	43	45
LAD	0,35	0,95	60	63
FRE	0,2	1,43	80	56
FRE	0,2	0,51	50	99
FLI	0,21	0,31	25	81
FLI	0,21	0,29	20	69
FLI	0,23	0,12	10	86
FRE	0,49	0,5	40	80
FRE	0,2	0,09	8	91
FRE	0,14	1,05	62	59
FRE	0,14	0,43	34	80

Tabelle 36: Angabe von t- und p-Werten zur Bestimmung der Korrelation und Zellverteilung mittlere neointimale Dicke (mNID) vs. Quotient aus Smoothelin-gefärbten Zellen Bereich Restenose (SmoRes) und Desmin-gefärbten Zellen Bereich unverletzte Media (DesMed)

	t-Wert	p-Wert
gesamt	-1,37	<0,2
DEXA	-0,97	>0,3
IH	-2,02	>0,05
IHD	0,23	>0,8
PLA	0,09	>0,9
uncoated	-0,08	>0,9

Abbildung 82: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, alle Beschichtungen; koronar und femoral

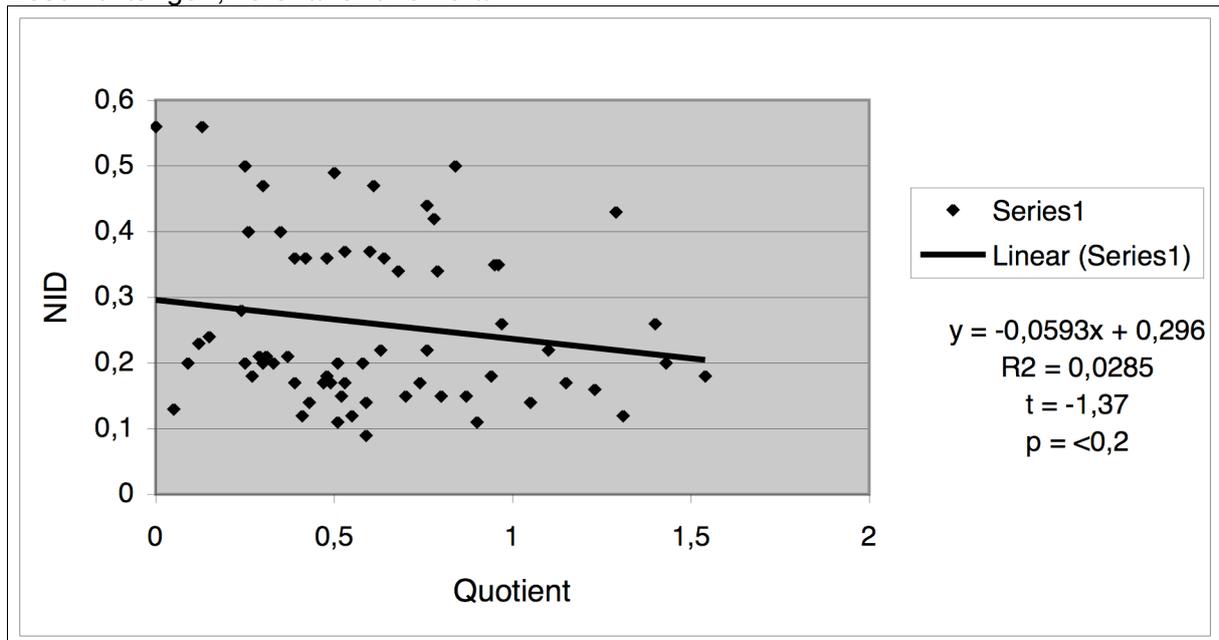


Abbildung 83 und 84: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, alle Beschichtungen; koronar bzw. femoral

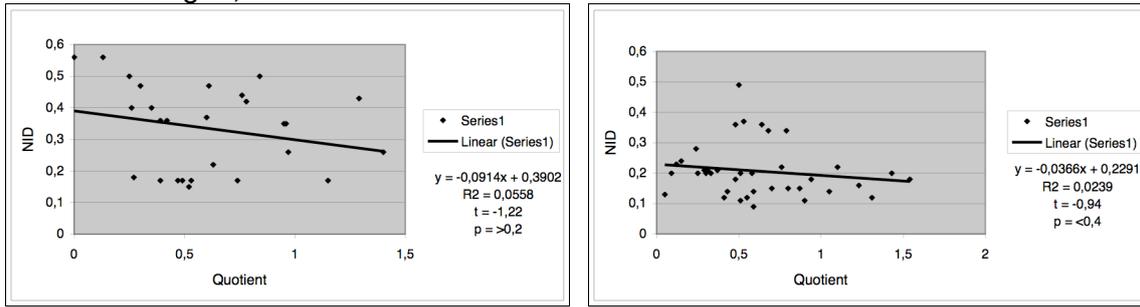


Abbildung 85 und 86: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, Beschichtung DEXA bzw. IHD; koronar und femoral

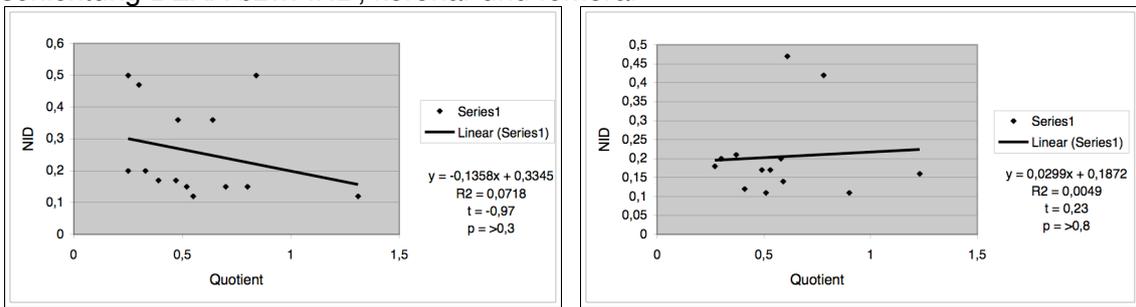


Abbildung 87 und 88: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, Beschichtung IH bzw. PLA; koronar und femoral

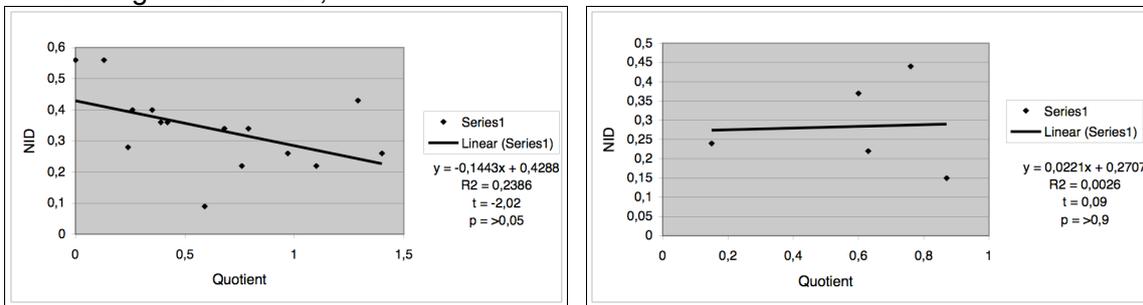
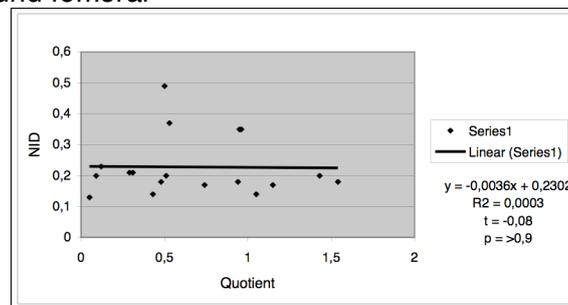


Abbildung 89: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, unbeschichtet; koronar und femoral



5 Diskussion

5.1 Material und Methoden

5.1.1 Wahl des Tiermodells

Zur experimentellen Untersuchung kardiologischer und vaskulärer Fragestellungen zum Thema Restenose nach Angioplastie und Stentimplantation wurden in der Vergangenheit verschiedene Tierspezies verwendet. Ein ideales Tiermodell sollte leicht verfügbar und billig in der Anschaffung sein, die gewünschten Läsionen sollten sich in kurzer Zeit entwickeln, und die Übertragbarkeit auf humane Verhältnisse sollte gewährleistet sein (Karas, 1992). Neben kleineren Tierarten wie Ratte und Kaninchen, die hinsichtlich der Restenose-Entwicklung am besten untersucht sind, wurden auch größere Tiere wie Hund, Schwein, Schaf und Affe eingesetzt (Christen, 1999). Die Wahl der Versuchstierspezies ist im Einzelfall abhängig von der zu beantwortenden Fragestellung und vom Versuchsprotokoll.

Unter den Modellen, die größere Tiere verwenden, hat sich das Schwein als Versuchsobjekt durchgesetzt (Fuster, 1991). Hunde scheinen wegen des Vorhandenseins zahlreicher Kollateralen für die Koronarforschung weniger geeignet als Schweine oder Schafe (Allwork, 1987). Primaten sind in ihrer Anschaffung und Haltung zu teuer und konnten sich deshalb trotz ihrer großen Ähnlichkeit mit menschlichen Gefäßen als Versuchstiere nicht durchsetzen. Unter den Schweinen gilt aufgrund des limitierten Wachstums die Zuchtrasse der sog. Minipigs mit einem adulten Gewicht von 60-80 kg als besonders geeignet für die Gefäßforschung. Sowohl die Größe und Anatomie der Koronarien, die Differenzierung glatter Muskulatur als auch das Gerinnungssystem sind bei diesen Tieren mit humanen Bedingungen vergleichbar (Schwartz, 1990). Der menschlichen Atherosklerose ähnliche Veränderungen kommen beim Schwein auch spontan vor bzw. sind durch cholesterinreiche Diät induzierbar (Karas, 1992; Christen, 1999). Durch die vergleichbaren Verhältnisse zum Mensch können bei dieser Spezies Operationsgeräte aus dem humanmedizinischen Bereich wie Stents, Katheter, Operationsbesteck und angiographische Anlagen verwendet werden (Lowe, 2002; Ferns, 2000). Die zur Restenose führenden Veränderungen sind zudem beim Minipig

im Mittel vier Wochen nach Stentimplantation abgeschlossen, was sich wiederum günstig auf Kosten und zügige Versuchsdurchführung auswirkt (Carter, 1994). Für die deutlich spätere Restenose-Bildung im humanen Gewebe (6-12 vs. 1 Monat) gibt es mehrere Erklärungsversuche: die meist vorhandene Atherosklerose als Ursache koronarer Gefäßveränderungen verzögert beim Mensch den Entzündungs- und Heilungsablauf, der Heilungsprozess in Beziehung gesetzt zum maximalen Alter (16 vs. >70 Jahre) erklärt zudem eine schnellere Wundheilung beim Schwein (Virmani, 2003). Eine geringe Sterblichkeitsrate, größere Resistenz gegenüber Krankheiten in Gefangenschaft verglichen zu Primaten sowie ein hoher prediktiver Wert in der Übertragbarkeit der Ergebnisse auf den Menschen zeigen, dass Schweine als Tiermodell in der Restenoseforschung sinnvoll und effizient eingesetzt werden können (Johnson, 1999; Muller, 1992).

5.1.2 Restenose und Stent

Die verwendeten Flex-Stents aus medizinischem Edelstahl sind seit 1996 im täglichen medizinischen Gebrauch, sowohl therapeutisch in Humankliniken als auch im Forschungsbereich mit Versuchstieren. Bereits im ersten Jahr bis 1997 erfolgten über 10.000 Implantationen (Alt, 1998). Die einfache Handhabung, eine leichte Platzierung auch in anatomisch schwer zugänglichen Gefäßabschnitten und eine geringe intraoperative Gefäßwandverletzung stellen Vorteile dieses Typs der 2. Generation gegenüber der 1. Generation von Palmaz-Schatz-Stents dar (Fliedner, 1998).

5.1.3 Stentbeschichtungen

Ein in den Organismus eingebrachtes Polymer sollte eine möglichst große Gewebsverträglichkeit aufweisen. Polyester auf Milchsäurebasis und deren Abbauprodukte erfüllen dieses Kriterium und sind zudem untoxisch und immunologisch inaktiv (Lincoff, 1997; Alt, 2000). Trotz seiner Elastizität und plastischen Verformbarkeit ist das verwendete Resomer® R203 nicht vollständig biokompatibel, eine geringe thrombogene Wirkung besteht weiterhin. In das bestehende Polylaktid-Gerüst können Substanzen eingebracht werden, die antithrombogene und entzündungshemmende Wirkungen aufweisen (Tanguay, 1994). Folgende positive Eigenschaften beschichteter Stents sind wünschenswert:

- Herabsetzung der Thrombogenität des Metalls und dadurch bewirkte Verminderung der stentbedingten Thrombosen.
- Lokale Freisetzung der gerinnungshemmenden Arzneien und damit effektive Wirkspiegel am Implantationsort sowie geringe Belastung des Gesamtorganismus.
- Hemmung der Gerinnung/Entzündung durch verzögerte Freisetzung aus der Polymermatrix bis zur Reendothelialisierung des Stents.

5.1.3.1 Polylaktid Resomer®, R203

Das Polylaktid R203 wurde als Arzneistoffcarrier gewählt, da bei ihm die zu erwartende Abbauzeit im Bereich von Monaten liegt. Dadurch wird die Abgabe der inkorporierten Pharmaka bis zum Abschluss der Reendothelialisierung des Stents sichergestellt, die beim Schwein zwar nur vier Wochen, beim Mensch hingegen bis zu drei oder mehr Monate in Anspruch nimmt (Ueda, 1993). Die Biokompatibilität wurde auch am Mensch sichergestellt (Tamai, 2000).

5.1.3.2 Iloprost, Hirudin

Iloprost ist als Prostazyklin-Analogon ein Plättchenaggregationshemmer hoher Potenz. Daneben besteht eine antiproliferative Wirkung durch Hemmung von glatte Muskelzellen stimulierenden Wachstumsfaktoren (Tanguay, 1994; Willis, 1986). Da Iloprost homogen in Resomer 203 verteilt ist, kann davon ausgegangen werden, dass seine Freisetzung der Abbaurate des Carriers entspricht. Im *in vitro* Elutionsversuch nahm die Beschichtung R 203 plus Iloprost innerhalb sechs Wochen um 10% ab (Schmidmaier 1997).

Hirudin ist der wirksamste in der Natur vorkommende Thrombin-Hemmer mit einer zweifach höheren antithrombotischen Potenz im Vergleich zu Heparin (Fischer, 2004). Die Herstellung erfolgt halbsynthetisch als rekombinantes pegyliertes (PEG-) Hirudin. Es benötigt im Gegensatz zu Heparin keinen Kofaktor, denn es besitzt eine hohe Affinität zu Thrombin, das es durch direkte Bindung inaktiviert. Zudem werden auch Thrombinkomplexe innerhalb eines Thrombus durch die kleine Molekülgröße des Hirudins problemlos erreicht (Barry, 1994). Ein weiterer Vorteil gegenüber anderen gerinnungshemmenden Medikamenten ist das seltene Vorkommen allergischer und immunologischer Reaktionen sowie eine weitaus geringere Blutungsneigung.

Eine Stentbeschichtung mit Iloprost-Hirudin konnte in einem ex-vivo Stasemodell die in-stent-Thrombusbildung effektiv unterdrücken (Herrmann, 1999). In einer experimentellen Arbeit wurde dieser hemmende Effekt auf die koronare Restenosebildung am Schweine- und Schafmodell bestätigt (Alt, 2000).

5.1.3.3 Dexamethasonacetat-Dexamethason

Die Muttersubstanz stellt das körpereigene Cortisol dar, ein Stresshormon, das bei entsprechendem Stimulus aus der Nebennierenrinde sezerniert wird. Die entzündungshemmende Wirkungsweise wird anhand des Transkriptionsfaktors NF- κ B deutlich. Nach Aktivierung und Abspaltung eines Inhibitorproteins kann NF- κ B in den Zellkern gelangen, wo die Transkription proinflammatorischer Proteine stimuliert wird. Zusätzlich werden Adhäsionsmoleküle exprimiert, die den Austritt von Entzündungszellen aus der Gefäßbahn vermitteln. Glucocorticoide binden an zytosolische Glucocorticoid-Rezeptoren, wodurch freies aktives NF- κ B abgefangen wird. Gleichzeitig wird die Produktion antiinflammatorischer Proteine gefördert. Als antiinflammatorische und immunsuppressive Substanz haben Kortikosteroide hemmende Effekte auf die Akkumulation von Entzündungszellen und führen zu Lymphozyto-, Monozyto- und Eosinopenie. Außerdem hemmen sie die Chemotaxis der Monozyten und der neutrophilen Granulozyten (Lüllmann, 2003; McDonald, 1987).

Aufgrund der Entzündungsreaktion als ein zentraler pathophysiologischer Faktor in der Restenoseentstehung wurden in letzter Zeit vermehrt mit Steroiden beschichtete Stents auf ihre Potenz in der Hemmung der Neointimabildung untersucht (Radke, 2004; De Scheerder, 1996). Bei *in vitro*-Experimenten gelang in der Zellkultur eine Hemmung boviner und humaner glatter Muskelzellen (Voisard, 1994; Strecker, 1998). Villa berichtet über einen inhibierenden Einfluss auf die neointimale Proliferation von die A. carotis com. umgebenden Dexamethason-beschichteten Polymeren nach Angioplastie am Ratte-Modell (Villa, 1994). Die bisherigen klinischen Ergebnisse sprechen nach initialen Erfolgen aber vermehrt von einer fehlenden signifikanten Hemmung der Neointimaproliferation (Liu, 2003; Hoffmann, 2004; Muller, 1994; Park, 1998; Lincoff, 1994). Möglicherweise ist eine lokale Resistenz des Gewebes auf Steroide verantwortlich für die höhere Restenoserate dieses Stent-Typs im Vergleich zu Sirolimus- und Paclitaxel-Beschichtungen (Gaspardone, 2006).

5.1.4 Auswertungstechniken

5.1.4.1 Histologie

Zur Präparation der Stent-tragenden Gefäße für die Immunhistologie war eine Entfernung der Stentstreben nötig. Dieses Manöver zog zwangsläufig eine Veränderung der Morphologie der Arterien nach sich. Jedoch ist bei der Immunhistologie nicht zwingend eine einwandfreie Gewebsstruktur erforderlich, weil vor allem qualitative Merkmale untersucht werden. Die Gefäßarchitektur blieb zudem so weit erhalten, dass eine Rekonstruktion des vormaligen Gefäß-Stent-situs problemlos nachvollziehbar war. Dies ist wichtig zur differenzierten und selektiven Betrachtung bestimmter Schnittbereiche, wie die zur Auswertung herangezogenen Regionen verletzte und unverletzte Media sowie Restenose.

Einschränkend muß erwähnt werden, dass besonders die neu gebildete Intima bei der Stententfernung in ihrer Struktur und Intaktheit verändert wurde, weshalb nicht bei allen Präparaten eine einwandfreie Untersuchung der Restenose möglich war.

5.2 Ergebnisse

5.2.1 Implantationsrelevante Daten

Um eine Vergleichbarkeit der gemessenen Daten zu gewährleisten, sind gleiche Versuchsbedingungen in allen Gruppen erforderlich.

5.2.1.1 Tiergewicht

Bei der Versuchsgruppe, an denen IH beschichtete Stents zum Einsatz kamen, lag das Gewicht zum Zeitpunkt der Operation im Durchschnitt bei 27 kg und damit um 1,5 kg unter dem Mittel der anderen Gruppen. Durch die Wahl eines entsprechend größeren Koronarienabschnittes bei der Implantation blieb dieser Gewichtsunterschied jedoch ohne Auswirkung auf die Ergebnisse, denn der Diameter am Implantationsort war damit in allen Versuchen vergleichbar.

5.2.2 Immunhistologie

Die Untersuchung der Stent-tragenden Gefäße erfolgte mit immunhistochemischen Färbungen. Es wurden zwei Antikörper gegen glatte Muskelzellen verwendet, wodurch sich diese spezifisch identifizieren ließen.

Der *Desmin*-Antikörper detektiert ein Protein, das von allen Zellen der glatten, der Skelett- und der Herzmuskulatur exprimiert wird. Es handelt sich um ein intermediäres Klasse-III-Filament, das in glatter Muskulatur zytoplasmatische Zellbestandteile (Myofibrillen) mit membrangebundenen Strukturen verbindet und dabei ein filamentöses Netzwerk bildet (DAKO, Firmenangabe). Desmin bindet an alle glatten Muskelzellen der Tunica media, also sowohl an den differenzierten kontraktile, als auch an den undifferenzierten proliferativen Typ. In Vorversuchen konnte ein identisches Färbeverhalten der beiden Antikörper α -Aktin und Desmin nachgewiesen werden. Aktin kommt zudem auch in Myofibroblasten vor, sie sind u.a. Bestandteil der Restenose (Gonschior, 1994). Deshalb ist eine singuläre Detektion von glatten Muskelzellen mit α -Aktin nicht möglich. Derzeit ist unklar, ob Myofibroblasten als myointimale Zellen vor Verletzung sich bereits in der Intima befinden, aus der Media bzw. Adventitia einwandern oder ob Myofibroblasten in der Neointimabildung überhaupt eine Rolle spielen (Christen, 2001). Aufgrund der besseren Selektivität wurde deshalb Desmin als Antikörper gegen alle glatten Muskelzellen verwendet.

Smoothelin als zweiter verwendeter Antikörper erkennt spezifisch Muskelzellen vom differenzierten kontraktile Typ (Chemicon, Firmenangabe). Das Protein wurde vor einigen Jahren entdeckt (Van der Loop, 1996; Van Eys, 1997). Dabei handelt es sich um ein Strukturprotein glatter Muskelzellen, das intrazellulär ähnlich wie Desmin ein filamentöses Netzwerk bildet. Von Smoothelin sind mittlerweile drei Isoformen identifiziert, die von einem Gen ausgehen und anschließend durch Spleissen moduliert werden (Rensen, 2002; Kramer, 1999; Kramer, 2001). Anders als die spezifischen Proteine glatter Muskulatur wie Calponin, SM-22, h-Caldesmon und Metavinculin, die alle mit Aktin und Myosin verbunden sind, ist Smoothelin ein eigenständiges Strukturprotein. Als Gegenpart zu Smoothelin, das eine hohe Differenzierungsrate glatter Muskelzellen widerspiegelt, kann das Aktin-bindende Protein Moesin gelten. Dieses triggert wahrscheinlich das Verhalten glatter Muskelzellen nach Proliferationsreiz und ist als Marker undifferenzierter

proliferierender Zellen vermehrt in der Phase der Migration vorhanden (Doevendans, 2002; Bar, 2002).

Zur Identifizierung des kontraktilen differenzierten Teils (Smoothelin) aus der Gesamtheit aller glatten Muskelzellen (Desmin) in Media und Neointima wurden alle Präparate mit beiden Antikörpern gefärbt. Desmin zeigte dabei ein sternförmiges Färbeverhalten im Gegensatz zu Smoothelin, das ein eher paralleles Färbemuster aufwies. Gleiche Beobachtungen wurden von anderen Autoren beschrieben (Christen, 1999).

5.3 Statistik

Nach Auswertung der Daten im Excel-Tabellenkalkulationsprogramm wurden Konfidenzintervalle und Korrelationen bestimmt. Bei einigen Bestimmungen ist die Aussagekraft aufgrund der geringen Datenmenge limitiert. Trotz der teils deutlichen Schwankungsbreite sind Trends und Tendenzen jedoch eindeutig nachweisbar.

5.3.1 Konfidenzintervalle verletzte vs. unverletzte Media

Die ausgewerteten Nuclei sind die mit Hämatoxylin unspezifisch gegengefärbten Zellkerne. Deswegen haben diese Ergebnisse keine direkte immunhistologische Aussagekraft. Trotzdem gelingt bei der Analyse eine Einschätzung über den Zustand des untersuchten Gewebes, weil die unterschiedlichen Zellkernzahlen vitales bzw. nekrotisches Gewebe widerspiegeln. Außerdem kann nachgewiesen werden, dass die semiquantitative Auszählung der Nuclei, die wegen der unspezifischen Reaktion des Zellkerns mit Hämatoxylin am Ende eines immunhistologischen Protokolls in beiden Färbungen (gleiche Schnitte) gleich sein sollte, tatsächlich in den Gesamtmittelwerten bei der Desmin- und der Smoothelin-Färbung praktisch identische Resultat liefert (Koronar $\Delta = 1,6$; Femoral $\Delta = 0,7$).

Bei der Betrachtung der Konfidenzintervalle fällt auf, dass für alle Beschichtungen die Mittelwerte mit ihren dazugehörigen oberen und unteren Grenzen im positiven Bereich liegen. Damit ist statistisch signifikant nachgewiesen, dass die Regionen der vormaligen Stentstreben weniger Zellen aufweisen, als die unversehrte Media. Für diesen Zelluntergang in Bereichen großer Stresseinwirkung gibt es drei denkbare Erklärungen:

1) Die unterschiedlichen Stent-Beschichtungen haben einen Einfluss auf den Zustand des angrenzenden Gewebes. Dagegen spricht allerdings, dass die einzelnen Beschichtungsgruppen keine in allen Untersuchungsblöcken erkennbare Tendenz hinsichtlich ihrer Gewebsverträglichkeit zeigen. Die unbeschichteten Stents stellen unter den koronar implantierten die einzige Gruppe dar, die sowohl bei der Auswertung der Nuclei als auch der gefärbten Zellen in beiden Färbungen die geringste Zellabnahme im Bereich der verletzten Media und somit die geringste Gewebsschädigung verursacht. Unter den femoral implantierten Stents zeigt die IHD-Beschichtung sowohl in der Auswertung der Zellzahl, als auch der Zellfärbung die geringste Toxizität, während die IH-Implantate am schlechtesten toleriert werden.

2) Durch den Dilatationsdruck kommt es bei der Implantation durch physikalischen overstretch zu einer Zellschädigung. So konnten Malik et al. nach PTCA an einem Schweinemodell einen hohen Anteil apoptotischer Zellen in allen Gefäßwandschichten außer der Neointima nachweisen (Malik, 1998).

3) Der chronische Entzündungsreiz der Stent-Stützen auf die Gefäßwand könnte unabhängig von der Stent-Beschichtung zu der Integrationsstörung des Gewebes in diesen Bereichen geführt haben.

5.3.2 Konfidenzintervalle Desmin vs. Smoothelin, Zelldifferenzierung

Die Neointimabildung wird wesentlich verursacht durch Proliferation und Migration undifferenzierter glatter Muskelzellen (Forrester, 1991). Entsprechend liegen in den verletzten Gefäßbereichen der ehemaligen Stentstreben anteilmäßig deutlich mehr proliferierende Zellen vor, als in den unverletzten Bezirken der Tunica media (koronar 40%, femoral 32% undifferenzierte SMC's). Obwohl die Hauptschädigung in der Gefäßwand wahrscheinlich durch die Stentstreben hervorgerufen wird, besteht auch in der unverletzten Media ein erhöhter Anteil proliferierender Zellen (koronar 20%, femoral 10% undifferenzierte SMC's). Möglicherweise kommt es dort zu einer Mitreaktion des Gewebes als Antwort auf die benachbart liegenden Stentstruts. Allgemein scheinen periphere Arterien weniger stark auf Verletzungen zu reagieren, da sowohl in der unverletzten als auch in der verletzten Tunica media die

Transformation der Muskelzellen in den proliferierenden Typ geringer ausfällt, als in den Koronarien. Zudem ist die neointimale Proliferation am Herzen ausgeprägter und besteht zu einem größeren Prozentsatz aus undifferenzierten Zellen. Die Tatsache, dass Koronarien auf Stresseinwirkung (PTCA, Stent) offenbar stärker reagieren als periphere Gefäße, wurde von anderen Autoren ebenfalls beschrieben und hängt möglicherweise mit einem unterschiedlichen Elastingehalt in der Tunica media zusammen (Badimon, 1998).

Glatte Muskelzellen bilden in der Neointima den Hauptanteil zellulärer Strukturen (Lowe, 2002; Karas, 1992). Bei mikroskopischer Betrachtung der Restenose liegt die Vermutung nahe, dass die Muskelzellen nach erfolgter Dedifferenzierung in Richtung Gefäßlumen proliferieren. So wurden in den immunhistologischen Färbungen mit Abstand die meisten positiv gefärbten Zellen in den inneren, lumennahen Regionen gefunden. Die an die native Gefäßwand grenzenden Neointimabereiche sind dagegen reich an extrazellulärer Matrix, die von den proliferierenden Zellen während ihrer Migration gebildet wird (Bilder, 1999; Forrester, 1991; Fuster, 1995; Riessen, 1996). Morphologie und Antikörperreaktion der neointimalen Zellen weisen eine große Ähnlichkeit mit den wandständigen Zellcharakteristika glatter Muskulatur auf. Ob die Aktivierung, Transformation, Migration und anschließende Proliferation dieser Zellen von der direkt betroffenen medialen Gefäßwand am Ort der Verletzung oder von weiter entfernt gelegenen unverletzten Bereichen ausgeht, ist nicht geklärt. Wenn man annimmt, dass undifferenzierte proliferierende Muskelzellen als treibende Kraft in der Neointima-Entstehung wirken, würde man eigentlich einen höheren Anteil dieses Zelltyps in der Restenose erwarten. Die vorliegenden Ergebnisse spiegeln jedoch den Zustand vier Wochen nach Einbringen der Stents wider. Es ist vorstellbar, dass die Zusammensetzung zellulärer Elemente zu einem früheren Zeitpunkt eine andere ist. Zudem spielen wohl auch Myofibroblasten bei der Restenosebildung eine Rolle, die unter entsprechenden Konditionen in Muskelzellen differenzieren können (Gonschior, 1994; Maeng, 2003). Da sich die meisten Gewebsreaktionen innerhalb der ersten zwei Wochen post implantationem ereignen, könnten frühzeitigere immunhistologische Untersuchungen über das reaktive Geschehen nach Stentimplantation Aufschluss geben (Schwartz, 1997; Lowe, 2001; Virmani, 2003).

Die Ergebnisse der einzelnen Stentbeschichtungen weisen den unbeschichteten Kontrollstents bei eingeschränkten Signifikanzen tendenziell sowohl in der Gefäßwand, als auch der Neointima die wenigsten proliferierenden glatten Muskelzellen zu und ergeben damit die beste Gewebsverträglichkeit. Unter den mit Dexamethason versehenen Implantaten verursacht die IHD-Beschichtung einen schwachen Gewebsschaden. Gleichzeitig bewirken aber die DEXA-Stents koronar und femoral einen deutlichen Proliferationsreiz für glatte Muskelzellen. Die relativ schlechte Toleranz dieser Steroid-beschichteten Stents deckt sich mit Beobachtungen anderer Autoren (Hoffmann, 2004; Park, 1998). Möglicherweise wirken bei der IHD-Beschichtung Iloprost und Hirudin protektiv, wobei widersprüchlich dazu und entgegen anderer Studienergebnisse die IH-Stents in allen Untersuchungen einen deutlichen Proliferationsreiz auf das Gewebe ausüben (Schmidmaier, 1997; Alt, 2000). Das verwendete Polylaktid zeigt eine relativ gute Gewebsverträglichkeit, die jedoch nicht durchwegs vorhanden ist.

5.3.3 Korrelationen

Bei der Untersuchung des Druckeinflusses auf das benachbarte Gewebe ergab der Vergleich von Dilatationsdruck vs. der unspezifisch (Nuclei) und spezifisch angefärbten Zellen keine korrelierenden Ergebnisse. Der Dilatationsdruck nimmt während der PTCA durch die Schädigung der Gefäßwand mit anschließender Proliferation glatter Muskelzellen eine Schlüsselstellung ein. Dies wird von vielen Studien bestätigt, die Schweinearterien in der Genese der Restenose untersucht haben (Bilder, 1999; Post, 1994; Schwartz, 2002; Christen, 2001). Das Druckausmaß spielt dabei offenbar nicht die entscheidende Rolle, weil keine direkte Abhängigkeit der beiden Größen Druck und Zellschaden besteht. Wahrscheinlich genügen Druckwerte zwischen 8 und 13 atm. um das umliegende Gewebe soweit zu schädigen, dass Zellen absterben und die Neointima-Hyperplasie initiiert wird (Dirschinger, 1999).

Auch bei der Untersuchung des Inflationsdrucks auf die Neointimabildung konnte kein eindeutiger Zusammenhang zwischen hohem Dilatationsdruck mit entsprechend gesteigerten Zellzahlen der Restenose nachgewiesen werden. Gleiche Beobachtungen machte Schwartz bei Hunden, bei denen sich, anders als bei

Schweinen, die neointimale Dicke unabhängig vom Verletzungsgrad entwickelte (Schwartz, 1997; Badimon, 1998; Schwartz, 1994).

5.3.4 Korrelation quantitative Restenose (= mittlere neointimale Fläche, mNID) zu qualitativer Zellverteilung

Der Vergleich zwischen der histomorphometrisch vermessenen neointimalen Dicke (Konrad, 2002; Rihm, 2005) und ihrer qualitativen zellulären Zusammensetzung zeigt, dass bei geringer neointimaler Gewebsneubildung die beteiligten Zellen vermehrt differenziert vorliegen, der Quotient aus ausgereiften Zellen in der Restenose und der gesamten SMC's der unverletzten Media (SmoRes/DesMed) also größer wird. Diese Beobachtung bestätigt die Vermutung, dass das proliferative Wachstum besonders bei geringen Neointimadicken frühzeitig zum Stillstand kommt und daher nach einem Monat Entwicklungszeit der differenzierte kontraktile Muskelzelltyp in der Neointima vorherrscht. Umgekehrt besteht die in weiterer Zunahme befindliche Restenose vermehrt aus proliferierenden Zellen, der Quotient SmoRes/DesMed nimmt bei großer Neointima-Dicke entsprechend ab. Dieses Phänomen ist in den Beschichtungen DEXA und IH besonders gut ausgeprägt.

5.4 Schlussfolgerung und Ausblick

Die immunhistologischen Färbungen offenbaren in allen Beschichtungen eine deutlich sichtbare Schädigung der Gefäßwand durch die einzelnen Stentstreben. Dieser Stimulus führt zu einem proliferativen Wachstum glatter Muskelzellen mit Ausbildung der Restenose. Periphere Arteriae femorales reagieren dabei weniger stark auf Verletzungsreize als Koronararterien. Die verwendeten antithrombogenen und antiproliferativen Stent-Beschichtungen und deren lokale Freisetzung aus einem biodegradierbaren Polymer führen nicht zu einer verringerten oder ganz ausbleibenden Restenoseentwicklung. Die limitierten Versuchszahlen lassen bei selektiver Betrachtung der einzelnen Stentbeschichtungen aufgrund starker Streuungen jedoch lediglich Tendenzen hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Gefäßwand erkennen. Erstaunlicherweise besitzen bei den Steroid-Beschichtungen die IHD-Stents eine relativ gute, dagegen die DEXA-Implantate eine eher schlechte Gewebsverträglichkeit, da hier proliferierende glatte Muskelzellen vermehrt vorliegen. Möglicherweise wirken bei der IHD-Beschichtung Iloprost und Hirudin protektiv, wobei widersprüchlich dazu die IH-Stents in allen Untersuchungen einen deutlichen Proliferationsreiz auf das Gewebe ausüben. Subsummierend provozieren die unbeschichteten Stahlstents die geringsten Gewebsreaktionen, sowohl in den verletzten Gefäßwandbezirken der Tunica media, als auch in der Restenose und führen auch quantitativ zu einer vergleichsweise geringen Neointimabildung (Konrad, 2002; Rihm, 2005).

Für die inkonstanten Ergebnisse ist ursächlich eine ungleichmäßige Stentbeschichtung zu diskutieren, da der Prozess der Beschichtung komplett von Hand erfolgte. Die Frage, welche Mechanismen an der Neointimaentstehung nach Stentimplantation neben der Proliferation glatter Muskelzellen bedeutsam sind, müssten weiterführende immunhistologische Untersuchungen beantworten. Vorliegende Ergebnisse weisen dem undifferenzierten, Smoothelin-negativen glatten Muskelzelltyp eine zentrale Rolle zu und bestätigen die in der Literatur erhobenen Befunde.

6 Zusammenfassung

Hintergrund: Das Problem der Restenose limitiert nach wie vor den Langzeiterfolg arterieller Stentimplantationen. Thrombozytenaggregation, Thrombusbildung und die unkontrollierte Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen, aber auch Stenteigenschaften werden als maßgebliche Mechanismen der Restenoseentstehung angesehen. Ziel dieser Arbeit ist es, verschiedene antithrombogene und antiproliferative Stentbeschichtungen mit verzögerter Wirkstofffreigabe hinsichtlich ihrer Gewebsverträglichkeit und Einfluss auf die Restenosebildung zu untersuchen.

Methoden: In 5 Gruppen wurden Stentbeschichtungen verschiedener Substanzen analysiert. Dabei kamen folgende Beschichtungen zum Einsatz: Polylaktid als biodegradierbares Polymer und Carrier [PLA; 13 Stents] sowie die darin inkorporierten Wirkstoffe Dexamethasonacetat (5%)/Dexamethason (15%) [DEXA, DD; 15 Stents], Dexamethasonacetat (5%)/Iloprost (1%)/PEG-Hirudin (5%) [IHD; 14 Stents] und Iloprost (1%)/PEG-Hirudin (5%) [IH; 13 Stents]. Als Kontrolle dienten 21 unbeschichtete Stahlstents [unc.]. Am Schweinmodell wurden randomisiert je zwei Stents koronar in die beiden Hauptäste der A. coronaria sinistra (LAD, LCX) sowie peripher in die re. und li. Femoralarterie (FRE, FLI) eingebracht. Nach 28 Tagen erfolgte die Präparation der betroffenen Gefäße und immunhistochemische Färbung glatter Muskelzellen mittels spezifischer Antikörper (Desmin = alle SMC's; Smoothelin = nur differenzierte SMC's). Analysiert wurden Gefäßregionen der verletzten und unverletzten sowie der Neointima. Mittels Konfidenzintervallen und Korrelationen wurden die Parameter Verletzungsausmaß, Zelldifferenzierung, Einfluss des Aufdehnungsdruckes und der Vergleich quantitaiv-histomorphometrischer vs. qualitativ-immunhistologischer Ausmessung statistisch ausgewertet.

Ergebnisse: Den gesamten Versuchszeitraum überlebten 18 von 19 Tieren. Die verletzten Regionen der vormaligen Stentstreben wiesen statistisch signifikant weniger Zellen und gesundes Gewebe auf, als die unverletzte Gefäßwand. Generell reagierten Koronarien im Vergleich zu Femoralarterien stärker auf Verletzungen in Form gesteigerten Vorkommens proliferierender Muskelzellen in Gefäßwand und Neointima. Womöglich hängt die differierende Gefäßreaktion nach Verletzung mit einem variablen Elastingehalt der beiden Gefäßtypen zusammen. In der Restenose

fanden sich die meisten proliferierenden SMC's in lumennahen Bereichen, wohingegen an die native Gefäßwand grenzende Bezirke viel extrazelluläre Matrix aufwiesen. Möglicherweise trugen Myofibroblasten durch Transformation in glatte Muskelzellen mit zur Restenosebildung bei. Die Ergebnisse der einzelnen Stentbeschichtungen zeigten für die unbeschichteten Stents die beste Gewebsverträglichkeit. Die Steroid-Beschichtungen ließen tendenziell für IHD-Stents einen schwachen, für DEXA-Stents jedoch einen starken Gewebsschaden erkennen. IH-Stents übten einen deutlichen Proliferationsreiz auf das Gewebe aus, das verwendete Polylaktid zeigte eine relativ gute Gewebsverträglichkeit, die jedoch nicht durchwegs vorhanden war. Ein Zusammenhang zwischen erhöhtem Aufdehnungsdruck mit entsprechend erhöhter Gewebsschädigung bzw. erhöhter reaktiver Gewebsneubildung (Neointima-Entstehung) konnte nicht nachgewiesen werden. Die Verknüpfung der quantitativ vermessenen mittleren neointimalen Dicke (mNID) mit der qualitativen Zellzusammensetzung der Restenose und der Tunica media zeigte, dass das neointimale Wachstum durch proliferierende Muskelzellen in Gefäßwand und Restenose bedingt ist. Dieses Phänomen war in den Gruppen DEXA und IH besonders gut ausgeprägt, jedoch zeigte die Unterteilung in die einzelnen Beschichtungsgruppen keine signifikanten Ergebnisse.

Schlussfolgerung: Die immunhistologischen Färbungen zeigten in allen Beschichtungen eine deutlich sichtbare Schädigung der Gefäßwand durch die Stentstreben. Dadurch entdifferenzieren und proliferieren glatte Muskelzellen und treiben die Neointimabildung voran. Die verwendeten antiinflammatorischen, antithrombogenen und antiproliferativen Stent-Beschichtungen und deren lokale Freisetzung aus einem biodegradierbaren Polymer führten nicht zu einer verringerten oder ganz ausbleibenden Restenoseentwicklung. Die limitierten Versuchszahlen ließen bei selektiver Betrachtung der einzelnen Stentbeschichtungen aufgrund starker Streuungen lediglich Tendenzen hinsichtlich ihrer Wirkung auf die Gefäßwand erkennen, allein die unbeschichteten Stahlstents zeigten eine durchwegs gute Gewebsverträglichkeit. Welche anderen Mechanismen im Restenosegeschehen eine Rolle spielen, müssten weiterführende immunhistologische Untersuchungen klären.

7 Summary

Background: The problem of restenosis still limits long term success after arterial stent implantation. Aggregation of platelets, thrombus formation and exuberant proliferation of smooth muscle cells (SMC) as well as stent properties are deemed to be significant mechanisms of restenosis development. It is the objective of this study to investigate different antithrombotic and antiproliferative stent coatings with delayed substance release and its influence on tissue compatibility and prevention of restenosis.

Methods: In five groups different stent coatings were analyzed. The following coatings were used: Polylactic acid as a biodegradable polymer and carrier [PLA; 13 stents] with the incorporated components dexamethasoneacetate (5%)/dexamethasone (15%) [DEXA, DD; 15 stents], dexamethasoneacetate (5%)/iloprost (1%)/PEG-hirudin (5%) [IHD; 14 stents] and iloprost (1%)/PEG-hirudin (5%) [IH; 13 stents]. 21 uncoated stents were used as control [unc.]. On a porcine model two stents were implanted in a random manner into the main branches of the left coronary artery (LAD, LCX) and two peripheral into the right and left femoral artery (FRE, FLI), respectively. After 28 days the vessels were dissected, and smooth muscle cells were stained by immunohistological means using specific antibodies (Desmin = all SMC's; Smoothelin = differentiated SMC's only). The regions of injured and healthy tunica media as well as the neointima were analyzed. Different parameters such as degree of injury, cell differentiation, impact of dilatation pressure and comparison of quantitative-histomorphometric vs. qualitative-immunohistological measuring were determined.

Results: Eighteen out of 19 animals survived the study period. The former stent-struts showed statistically significant less cells and healthy tissue compared to the uninjured vessel wall. Generally coronary arteries showed a higher amount of undifferentiated secretoric SMC's in the vessel wall and restenosis after injury than femoral arteries. The varied vessel reaction to injury may possibly due to mutable concentration of elastic fibers in coronary and femoral arteries. In restenosis, most of the proliferative SMC's could be found towards the lumen while extracellular matrix dominated in areas bordering on the native vessel wall. Myofibroblasts potentially contribute to the formation of restenosis by transforming into smooth muscle cells.

The results of the particular stent coatings showed best tissue compatibility for uncoated stents. The steroid-coatings revealed for IHD-stents small, for DEXA-stents great tissue damage, respectively. IH-coating stimulated SMC-proliferation, whereas Polylactid showed a relatively good tissue tolerance. A distinct correlation between high dilatation pressure and increased tissue injury and neointima growth respectively could not be verified. The relation between quantitative measured middle neointimal thickness and its qualitative content demonstrated that neointimal growth is determined by proliferation of smc's in vessel wall and restenosis. This phenomenon is best developed in the DEXA- and IH-coated stents although division into the separate coatings did not produce significant results.

Conclusion: The immunohistological stainings presented in all stent coatings a clear visible lesion of the vessel wall caused by the particular stentstruts. Thus smooth muscle cells dedifferentiate, proliferate and create neointimal growth. The used antithrombogenic and antiproliferative stents coatings and their local release from a biodegradable polymer did not decrease neointimal development. When analyzing the different stent coatings, the study design with a restricted quantity of animals only displayed tendencies regarding its impact on the vessel wall. Only the uncoated bare metal stents indicated a consistently good tissue tolerance. Further immunohistological studies might show the influence of other cellular mechanisms in the development of restenosis.

8 Literaturverzeichnis

Allwork SP.

The applied anatomy of the arterial blood supply to the heart in man.
J Anat. 1987 Aug;153:1-16.

Alt E, Schömig A.

The InFlow Flex coronary Stent.
In: Serruys PW, Kuryk MJB (Hrsg.): Handbook of Coronary Stents.
Martin Dunitz, London, 1998:266-73.

Alt E, Haehnel I, Beilharz C, Prietzel K, Preter D, Stemberger A, Fliedner T, Erhardt W, Schomig A.

Inhibition of neointima formation after experimental coronary artery stenting.
Circulation. 2000 Mar 28;101(12):1453-8.

Antoni H.

Energetik der Herzaktion.
in: Schmidt RF, Thews G, Lang F: Physiologie des Menschen.
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 28. Auflage, 2000:468.

Axel DI, Kunert W, Goggelmann C, Oberhoff M, Herdeg C, Kuttner A, Wild DH, Brehm BR, Riessen R, Koveker G, Karsch KR.

Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery.
Circulation. 1997 Jul 15;96(2):636-45.

Badimon JJ, Ortiz AF, Meyer B, Mailhac A, Fallon JT, Falk E, Badimon L, Chesebro JH, Fuster V.

Different response to balloon angioplasty of carotid and coronary arteries: effects on acute platelet deposition and intimal thickening.
Atherosclerosis. 1998 Oct;140(2):307-14.

Bar H, Wende P, Watson L, Denger S, van Eys G, Kreuzer J, Jahn L.

Smoothelin is an indicator of reversible phenotype modulation of smooth muscle cells in balloon-injured rat carotid arteries.
Basic Res Cardiol. 2002 Jan;97(1):9-16.

Barry WL, Sarembock IJ.

Antiplatelet and anticoagulant therapy in patients undergoing percutaneous transluminal coronary angioplasty.
Cardiol Clin. 1994 Aug;12(3):517-35.

Bauersachs RM.

Stenting of the femoral artery: the angiologist's perspective.
Hamostaseologie. 2003 May;23(2):71-3.

Bilder G, Wentz T, Leadley R, Amin D, Byan L, O'Conner B, Needle S, Galczenski H, Bostwick J, Kasiewski C, Myers M, Spada A, Merkel L, Ly C, Persons P, Page K, Perrone M, Dunwiddie C.

Restenosis following angioplasty in the swine coronary artery is inhibited by an orally active PDGF-receptor tyrosine kinase inhibitor, RPR101511A.
Circulation. 1999 Jun 29;99(25):3292-9.

Bittl JA.

Advances in coronary angioplasty.
N Engl J Med. 1996 Oct 24;335(17):1290-302.

Blardi P, de Lalla A, Pieragalli D, De Franco V, Meini S, Ceccatelli L, Auteri A.

Effect of iloprost on plasma asymmetric dimethylarginine and plasma and platelet serotonin in patients with peripheral arterial occlusive disease.
Prostaglandins Other Lipid Mediat. 2006 Sep;80(3-4):175-82.

Bühling KJ.

Arteriosklerose, Atherosklerose.
in: Bühling KJ, Lepenies J, Witt K: Allgemeine und Spezielle Pathologie.
Urban & Fischer, München, Jena, 3. Auflage, 2004:145-49.

Bültmann BD, Kirkpatrick CJ, Baba HA.

Myokardinfarkt.
in: Böcker, Denk, Heitz: Pathologie.
Urban & Fischer, München, Jena, 3. Auflage, 2004:465-69.

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 Nov 1;24(5):1398-405.

Christen T, Bochaton-Piallat ML, Neuville P, Rensen S, Redard M, van Eys G, Gabbiani G.

Cultured porcine coronary artery smooth muscle cells. A new model with advanced differentiation.
Circ Res. 1999 Jul 9;85(1):99-107.

Christen T, Verin V, Bochaton-Piallat M, Popowski Y, Ramaekers F, Debruyne P, Camenzind E, van Eys G, Gabbiani G.

Mechanisms of neointima formation and remodeling in the porcine coronary artery.
Circulation. 2001 Feb 13;103(6):882-8.

Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, Dudek D, Fort S, Schiele F, Zmudka K, Guagliumi G, Russell ME; TAXUS II Study Group.

Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions.
Circulation. 2003 Aug 19;108(7):788-94.

Creutzig A.

Krankheiten der Arterien, chronische arterielle Verschlusskrankheit der Extremitäten (AVK).

in: Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin.

Urban & Fischer, München, Jena, 5. Auflage, 2004:384-97.

Cutlip DE, Ho KK, Kuntz RE, Baim DS.

Risk assessment for percutaneous coronary intervention: our version of the weather report?

J Am Coll Cardiol. 2003 Dec 3;42(11):1896-9.

Dahme E.

Atherosclerosis and arteriosclerosis in domestic animals.

Ann NY Acad Sci, 1965;127:657-70.

Dalhoff K.

Koronare Herzkrankheit - Entzündung und Plaque-Stabilität, infektiöse Agentien.

Klinik & Forschung, 1998:suppl 8:11-14.

De Scheerder I, Wang K, Zhou XR, Verbeken E, Ping QB, Yanming H, Jianhua H, Szilard M, Van de Werf F.

Neointimal hyperplasia and late pathologic remodeling in a porcine coronary stent model.

J Invasive Cardiol. 1999 Jan;11(1):9-12.

De Scheerder I, Wang K, Wilczek K, van Dorpe J, Verbeken E, Desmet W, Schacht E, Piessens J.

Local methylprednisolone inhibition of foreign body response to coated intracoronary stents.

Coron Artery Dis. 1996 Feb;7(2):161-6.

Dean I, Roubin G, O'Shaugnessy C

Elective stenting of de-novo lesions: Randomized multicentre trial comparing two stent designs.

European Heart Journal, 1997; 18 (supp): 349.

Dirschinger J, Kastrati A, Neumann FJ, Boekstegers P, Elezi S, Mehilli J, Schühlen H, Pache J, Alt E, Blasini R, Steinbeck G, Schomig A.

Influence of balloon pressure during stent placement in native coronary arteries on early and late angiographic and clinical outcome: A randomized evaluation of high-pressure inflation.

Circulation. 1999 Aug 31;100(9):918-23.

Doevendans PA, van Eys G.

Smooth muscle cells on the move: the battle for actin.

Cardiovasc Res. 2002 Jun;54(3):499-502.

Dotter CT, Judkins MP.

Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction. Description of a new technic and a preliminary report of its application.
Circulation. 1964 Nov;30:654-70.

Drachman DE.

Clinical experience with drug-eluting stents.
Rev Cardiovasc Med. 2002;3 Suppl 5:S31-7.

Drachman DE, Edelman ER, Seifert P, Groothuis AR, Bornstein DA, Kamath KR, Palasis M, Yang D, Nott SH, Rogers C.

Neointimal thickening after stent delivery of paclitaxel: change in composition and arrest of growth over six months.
J Am Coll Cardiol. 2000 Dec;36(7):2325-32.

Drenckhahn D.

Blutgefäße, Arterien.

in: Benninghoff A, Drenckhahn D (Hrsg.): Anatomie, Makroskopische Anatomie, Embryologie und Histologie des Menschen; Band 2.
Urban & Fischer, München, Jena, 16. Auflage, 2004:71-85, 122.

Drommer W.

Kreislauforgane.

in: Schulz LC (Hrsg.): Pathologie der Haustiere, Organveränderungen. Gustav Fischer, Jena, 1991:67-73.

Duprez DA, De Buyzere ML, Hirsch AT.

Developing pharmaceutical treatments for peripheral artery disease.
Expert Opin Investig Drugs. 2003 Jan;12(1):101-8.

Elkins CJ, Waugh JM, Amabile PG, Minamiguchi H, Uy M, Sugimoto K, Do YS, Ganaha F, Razavi MK, Dake MD.

Development of a platform to evaluate and limit in-stent restenosis.
Tissue Eng. 2002 Jul;8(3):395-407.

Engelhardt W, Breves G.

Physiologie der Haustiere.

Enke-Verlag, Stuttgart, 2000:137, 283.

Faggini E, Puato M, Zardo L, Franch R, Millino C, Sarinella F, Pauletto P, Sartore S, Chiavegato A.

Smooth muscle-specific SM22 protein is expressed in the adventitial cells of balloon-injured rabbit carotid artery.
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1999 Jun;19(6):1393-404.

Feletou M, Germain M, Teisseire B.

Converting-enzyme inhibitors potentiate bradykinin-induced relaxation in vitro.
Am J Physiol. 1992 Mar;262(3 Pt 2):H839-45.

Ferns GA, Avades TY.

The mechanisms of coronary restenosis: insights from experimental models.
Int J Exp Pathol. 2000 Apr;81(2):63-88.

Ferrell M, Fuster V, Gold HK, Chesebro JH.

A dilemma for the 1990s. Choosing appropriate experimental animal model for the prevention of restenosis.
Circulation. 1992 Apr;85(4):1630-1.

Fischer KG.

The role of recombinant hirudins in the management of thrombotic disorders.
BioDrugs. 2004;18(4):235-68.

Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M.

A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators.
N Engl J Med. 1994 Aug 25;331(8):496-501.

Fliedner T.

Einfluss verschiedener Stenteigenschaften auf die Entwicklung koronarer Restenose nach Stentimplantation, technische und tierexperimentelle Untersuchungen.
Med. Diss. TU München, 1998.

Forrester JS, Fishbein M, Helfant R, Fagin J.

A paradigm for restenosis based on cell biology: clues for the development of new preventive therapies.
J Am Coll Cardiol. 1991 Mar 1;17(3):758-69.

Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Ip JH, Chesebro JH.

The porcine model for the understanding of thrombogenesis and atherogenesis.
Mayo Clin Proc. 1991 Aug;66(8):818-31.

Fuster V, Falk E, Fallon JT, Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ.

The three processes leading to post PTCA restenosis: dependence on the lesion substrate.
Thromb Haemost. 1995 Jul;74(1):552-9.

Gaspardone A, Versaci F, Tomai F, Citone C, Proietti I, Gioffre G, Skossyeva O.

C-Reactive protein, clinical outcome, and restenosis rates after implantation of different drug-eluting stents.
Am J Cardiol. 2006 May 1;97(9):1311-6.

Gogolewski S, Jovanovic M, Perren SM, Dillon JG, Hughes MK.

Tissue response and in vivo degradation of selected polyhydroxyacids: polylactides (PLA), poly(3-hydroxybutyrate) (PHB), and poly(3-hydroxybutyrate-co-3-hydroxyvalerate) (PHB/VA).
J Biomed Mater Res. 1993 Sep;27(9):1135-48.

Gonschior P, Nerlich A, Mack B, Wiest IR, Hofling B.

Immunohistologic cell characterization of tissue of primary and re-stenoses.
Vasa. 1994;23(1):15-22.

Gonschior P, Christian V, Berthold H, Franz-Josef N.

Rupture of an angioplasty balloon after treatment of a recurrent in-stent restenosis-
lesion of the LAD coronary artery with directional coronary atherectomy.
J Invasive Cardiol. 2000 Feb;12(2):105-8.

Gordon PC, Gibson CM, Cohen DJ, Carrozza JP, Kuntz RE, Baim DS.

Mechanisms of restenosis and redilation within coronary stents - quantitative
angiographic assessment.
J Am Coll Cardiol. 1993 Apr;21(5):1166-74.

Gravanis MB, Roubin GS.

Histopathologic phenomena at the site of percutaneous transluminal coronary
angioplasty: the problem of restenosis.
Hum Pathol. 1989 May;20(5):477-85.

Gray BH.

Endovascular treatment of peripheral arterial disease.
J Am Osteopath Assoc. 2000 Oct;100(10 Su Pt 2):S15-20.

Grube E, Bullesfeld L.

Initial experience with paclitaxel-coated stents.
J Interv Cardiol. 2002 Dec;15(6):471-5.

Grube E, Gerckens U, Muller R, Bullesfeld L.

Drug eluting stents: initial experiences.
Z Kardiol. 2002b;91 Suppl 3:44-8.

**Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U,
Russell ME.**

TAXUS I: six- and twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a
slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions.
Circulation. 2003 Jan 7;107(1):38-42.

Gruntzig A, Kumpe DA.

Technique of percutaneous transluminal angioplasty with the Gruntzig balloon
catheter.
AJR Am J Roentgenol. 1979 Apr;132(4):547-52.

**Han RO, Schwartz RS, Kobayashi Y, Wilson SH, Mann JT, Sketch MH, Safian
RD, Lansky A, Popma J, Fitzgerald PJ, Palacios IF, Chazin-Caldie M, Goldberg
S; Stent Comparative Restenosis (SCORES) Trial Investigators.**

Comparison of self-expanding and balloon-expandable stents for the reduction of
restenosis.
Am J Cardiol. 2001 Aug 1;88(3):253-9.

Hanet C, Wijns W, Michel X, Schroeder E.

Influence of balloon size and stenosis morphology on immediate and delayed elastic recoil after percutaneous transluminal coronary angioplasty.
J Am Coll Cardiol. 1991 Aug;18(2):506-11.

Hausner EA, Orsini JA, Foster LL, Modzelewski TC, Merrill JJ, Perkowski SZ, Slee A.

Vascular endothelial growth factor in porcine coronary arteries following balloon angioplasty.
J Invest Surg. 1999 Jan-Feb;12(1):15-23.

Hees H, Sinowatz F.

in: Histologie. Kurzlehrbuch der Zytologie und mikroskopischen Anatomie.
Deutscher Ärzte-Verlag, Köln, 2. Auflage, 1992:166 – 172.

Hehrlein C, Arab A, Bode C.

Drug-eluting stent: the "magic bullet" for prevention of restenosis?
Basic Res Cardiol. 2002 Nov;97(6):417-23.

Herold G.

Koronare Herzerkrankung.

in: Herold G und Mitarbeiter: Innere Medizin, eine vorlesungsorientierte Darstellung,
2006:202-24.

Herrmann R, Schmidmaier G, Markl B, Resch A, Hahnel I, Stemberger A, Alt E.

Antithrombogenic coating of stents using a biodegradable drug delivery technology.
Thromb Haemost. 1999 Jul;82(1):51-7.

Hiatt BL, Carter AJ, Yeung AC.

The drug-eluting stent: is it the Holy Grail?
Rev Cardiovasc Med. 2001 Fall;2(4):190-6.

Höfling B, Gonschior P, Esin S, Nikol S.

Das Problem der Restenose nach Angioplastie Klinische Bedeutung, Pathobiologie, zukünftige Entwicklung zur Suppression der Rezidivstenose.
Der Internist, 1997, 38: 31-43.

Hoffmann R, Mintz GS, Haager PK, Bozoglu T, Grube E, Gross M, Beythien C, Mudra H, vom Dahl J, Hanrath P.

Relation of stent design and stent surface material to subsequent in-stent intimal hyperplasia in coronary arteries determined by intravascular ultrasound.
Am J Cardiol. 2002 Jun 15;89(12):1360-4.

Hoffmann R, Langenberg R, Radke P, Franke A, Blindt R, Ortlepp J, Popma JJ, Weber C, Hanrath P.

Evaluation of a high-dose dexamethasone-eluting stent.
Am J Cardiol. 2004 Jul 15;94(2):193-5.

Hombach V, Waltenberger J, Voisard R, Hoher M.

Recurrent stenosis following coronary angioplasty. Clinical, cell biological and molecular aspects.

Z Kardiol. 1995 Jan;84(1):5-21.

Heart Protection Study Collaborative Group.

MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial.

Lancet. 2002 Jul 6;360(9326):7-22.

Johnson GJ, Griggs TR, Badimon L.

The utility of animal models in the preclinical study of interventions to prevent human coronary artery restenosis: analysis and recommendations. On behalf of the Subcommittee on Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.

Thromb Haemost. 1999 May;81(5):835-43.

Kandzari DE.

Drug-eluting stent thrombosis: it's never too late.

Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2006 Dec;3(12):638-9.

Karas SP, Gravanis MB, Santoian EC, Robinson KA, Anderberg KA, King SB.

Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine: an animal model of restenosis.

J Am Coll Cardiol. 1992 Aug;20(2):467-74.

Kastrati A, Schomig A, Dirschinger J, Mehilli J, von Welsch N, Pache J, Schühlen H, Schilling T, Schmitt C, Neumann FJ.

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 May 30;101(21):2478-83.

Kay IP, Sabate M, Van Langenhove G, Costa MA, Wardeh AJ, Gijzel AL, Deshpande NV, Carlier SG, Coen VL, Levendag PC, Van der Giessen W, de Feyter PJ, Serruys PW.

Outcome from balloon induced coronary artery dissection after intracoronary beta radiation.

Heart. 2000 Mar;83(3):332-7.

Kelly PA, Gruber SA, Behbod F, Kahan BD.

Sirolimus, a new, potent immunosuppressive agent.

Pharmacotherapy. 1997 Nov-Dec;17(6):1148-56.

Kirchengast M.

Endothelin receptor blockade and in-stent restenosis.

J Cardiovasc Pharmacol. 2001 Nov;38 Suppl 2:S31-4.

Knudtson ML, Flintoft VF, Roth DL, Hansen JL, Duff HJ.

Effect of short-term prostacyclin administration on restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty.

J Am Coll Cardiol. 1990 Mar 1;15(3):691-7.

König A, Schiele TM, Rieber J, Theisen K, Mudra H, Klauss V.

Influence of stent design and deployment technique on neointima formation and vascular remodeling.

Z Kardiol. 2002;91 Suppl 3:98-102.

Konrad I.

Untersuchungen zum Einfluss der Koronar-Stent-Beschichtung mit Dexamethasonacetat-Dexamethason auf die Restenoserate nach Stentimplantation beim Schwein.

Vet. Med. Diss. TU München, 2002.

Kramer J, Aguirre-Arteta AM, Thiel C, Gross CM, Dietz R, Cardoso MC, Leonhardt H.

A novel isoform of the smooth muscle cell differentiation marker smoothelin.

J Mol Med. 1999 Feb;77(2):294-8.

Kramer J, Quensel C, Meding J, Cardoso MC, Leonhardt H.

Identification and characterization of novel smoothelin isoforms in vascular smooth muscle.

J Vasc Res. 2001 Mar-Apr;38(2):120-32.

Kroll J, Waltenberger J.

Regulation der Endothelfunktion und der Angiogenese durch den Vaskulären Endothelialen Wachstumsfaktor-A (VEGF-A).

Z Kardiol, 2000; 89:206-218.

Lepor NE, Madyoon H, Kereiakes D.

Effective and efficient strategies for coronary revascularization in the des era.

Rev Cardiovasc Med. 2002;3 Suppl 5:38-50.

Li S, Sims S, Jiao Y, Chow LH, Pickering JG.

Evidence from a novel human cell clone that adult vascular smooth muscle cells can convert reversibly between noncontractile and contractile phenotypes.

Circ Res. 1999 Aug 20;85(4):338-48.

Liebich HG.

in: Liebich HG: Funktionelle Histologie der Haustiere.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 2. Auflage, 1993:102-11.

Lincoff AM, Topol EJ, Ellis SG.

Local drug delivery for the prevention of restenosis. Fact, fancy, and future.

Circulation. 1994 Oct;90(4):2070-84.

Lincoff AM, Furst JG, Ellis SG, Tuch RJ, Topol EJ.

Sustained local delivery of dexamethasone by a novel intravascular eluting stent to prevent restenosis in the porcine coronary injury model.
J Am Coll Cardiol. 1997 Mar 15;29(4):808-16.

Liu MW, Roubin GS, King SB 3rd.

Restenosis after coronary angioplasty. Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia.
Circulation. 1989 Jun;79(6):1374-87.

Liu X, Huang Y, Hanet C, Vandormael M, Legrand V, Dens J, Vandebossche JL, Missault L, Vrints C, De Scheerder I.

Study of antirestenosis with the BiodivYsio dexamethasone-eluting stent (STRIDE): a first-in-human multicenter pilot trial.
Catheter Cardiovasc Interv. 2003 Oct;60(2):172-8.

Lowe HC, Chesterman CN, Khachigian LM.

Does thrombus contribute to in-stent restenosis in the porcine coronary stent model?
Thromb Haemost. 2001 Jun;85(6):1117-8.

Lowe HC, Oesterle SN, Khachigian LM.

Coronary in-stent restenosis: current status and future strategies.
J Am Coll Cardiol. 2002 Jan 16;39(2):183-93.

Lüllmann H.

Glucocorticoide.

in: Lüllmann H, Mohr K, Wehling M: Pharmakologie und Toxikologie,
Thieme, Stuttgart, New York, 16. Auflage, 2006:381-88.

Maeng M, Mertz H, Nielsen S, van Eys GJ, Rasmussen K, Espersen GT.

Adventitial myofibroblasts play no major role in neointima formation after angioplasty.
Scand Cardiovasc J. 2003;37(1):34-42.

Malik N, Francis SE, Holt CM, Gunn J, Thomas GL, Shepherd L, Chamberlain J, Newman CM, Cumberland DC, Crossman DC.

Apoptosis and cell proliferation after porcine coronary angioplasty.
Circulation. 1998 Oct 20;98(16):1657-65.

Marks AR.

Sirolimus for the prevention of in-stent restenosis in a coronary artery.
N Engl J Med. 2003 Oct 2;349(14):1307-9.

McDonald AR, Maddux BA, Okabayashi Y, Wong KY, Hawley DM, Logsdon CD, Goldfine ID.

Regulation of insulin-receptor mRNA levels by glucocorticoids.
Diabetes. 1987 Jun;36(6):779-81.

McLean DR, Eiger NL.

Stent design: implications for restenosis.
Rev Cardiovasc Med. 2002;3 Suppl 5:S16-22.

Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators.

Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study.
Lancet. 2001 Aug 18;358(9281):527-33.

Meyer J, Gross R, Schölmerich P, Gerok W.

Koronargefäßerkrankungen.
In: Schölmerich P, Gross R, Gerok W., Meyer J: Die Innere Medizin.
Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 1994:205-30.

Meyer J, Bokisch A, Darius H, Heusch G, Hort W, Mohr-Kahaly S, Rupprecht HJ, Voigtländer T.

Anatomie und Pathologie des Koronargefäßsystems, Physiologie und Pathophysiologie der Koronardurchblutung, Pathogenese der Atherosklerose.
in: Erdmann E: Klinische Kardiologie.
Springer, Berlin, Heidelberg, New York, 5. Auflage, 2000:298-376.

Mintz GS, Hoffmann R, Mehran R, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Popma JJ, Leon MB.

In-stent restenosis: the Washington Hospital Center experience.
Am J Cardiol. 1998 Apr 9;81(7A):7E-13E.

Moll, KJ, Moll M.

Arterien der unteren Extremität.
in: Moll, KJ, Moll M: Anatomie,
Urban & Fischer, München, Jena, 17. Auflage, 2002:270.

Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, Caputo RP, Kereiakes DJ, Williams DO, Teirstein PS, Jaeger JL, Kuntz RE; SIRIUS Investigators.

Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery.
N Engl J Med. 2003 Oct 2;349(14):1315-23.

Moses JW, Mehran R, Nikolsky E, Lasala JM, Corey W, Albin G, Hirsch C, Leon MB, Russell ME, Ellis SG, Stone GW.

Outcomes with the paclitaxel-eluting stent in patients with acute coronary syndromes: analysis from the TAXUS-IV trial.
J Am Coll Cardiol. 2005 Apr 19;45(8):1165-71.

Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Thomson MJ, Karagounis LA, Woods ML, Anderson JL.

Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease.

J Am Coll Cardiol. 1996 Jun;27(7):1555-61.

Muller DWM, Ellis SG, Topol EJ.

Experimental models of coronary artery restenosis.

J Am Coll Cardiol, 1992;19:418-32.

Muller DW, Golomb G, Gordon D, Levy RJ.

Site-specific dexamethasone delivery for the prevention of neointimal thickening after vascular stent implantation.

Coron Artery Dis. 1994 May;5(5):435-42.

Nickenig G, Böhm M.

Atherosklerose.

in: Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin.

Urban & Fischer, München, Jena, 5. Auflage, 2004:221-27.

Nickel R, Schummer A, Seiferle E.

Kreislaufsystem, Haut und Hautorgane.

in: Lehrbuch der Anatomie der Haustiere.

Verlag Paul Parey, Berlin, Hamburg, Band 3, 2. Auflage, 1984:135–56.

Palmaz JC, Richter GM, Noldge G, Kauffmann GW, Wenz W.

Intraluminal Palmaz stent implantation. The first clinical case report on a balloon-expanded vascular prosthesis.

Radiologe. 1987 Dec;27(12):560-3.

Palmaz JC, Bailey S, Marton D, Sprague E.

Influence of stent design and material composition on procedure outcome.

J Vasc Surg. 2002 Nov;36(5):1031-9.

Park SH, Lincoff AM.

Anti-inflammatory stent coatings: dexamethasone and related compounds.

Semin Interv Cardiol. 1998 Sep-Dec;3(3-4):191-5.

Pepine CJ, Drexler H, Dzau VJ.

Endothelial function in cardiovascular health and disease.

University of Florida Press, Office of Continuing Medical Education, College of Medicine, 1996;1-33.

Post MJ, Borst C, Kuntz RE.

The relative importance of arterial remodeling compared with intimal hyperplasia in lumen renarrowing after balloon angioplasty. A study in the normal rabbit and the hypercholesterolemic Yucatan micropig.

Circulation. 1994 Jun;89(6):2816-21.

Pyles JM, March KL, Franklin M, Mehdi K, Wilensky RL, Adam LP.

Activation of MAP kinase in vivo follows balloon overstretch injury of porcine coronary and carotid arteries.

Circ Res. 1997 Dec;81(6):904-10.

Radke PW, Weber C, Kaiser A, Schober A, Hoffmann R.

Dexamethasone and restenosis after coronary stent implantation: new indication for an old drug?

Curr Pharm Des. 2004;10(4):349-55.

Rasheed Q, Cacchione JG, Berry J, Richards F, Bryant L, Strony J, Enger C, Hodgson JM.

Local intramural drug delivery using an infusion balloon following angioplasty in normal and atherosclerotic vessels.

Cathet Cardiovasc Diagn. 1994 Mar;31(3):240-5.

Rensen SS, Thijssen VL, De Vries CJ, Doevendans PA, Detera-Wadleigh SD, Van Eys GJ.

Expression of the smoothelin gene is mediated by alternative promoters.

Cardiovasc Res. 2002 Sep;55(4):850-63.

Riessen R, Oberhoff M, Karsch KR.

Konzepte zur lokalen Therapie der Restenose.

Z Kardiol, 1996; 85: 455-467.

Rihm M.

Vergleichsuntersuchungen zur Restenoserate nach Implantation von antithrombotisch (Hirudin, Iloprost) und/oder antiproliferativ (Dexamethason) beschichteten Stents in der Femoralarterie des Schweines.

Vet. Med. Diss. TU München, 2005.

Rodgers CD.

Drug-eluting stents: role of stent design, delivery vehicle, and drug selection.

Rev Cardiovasc Med. 2002;3 Suppl 5:10-5.

Russel R.

Atherosclerosis – an inflammatory disease.

N Engl J Med, 1999;340,115-26.

Rutanen J, Puhakka H, Yla-Herttuala S.

Post-intervention vessel remodeling.

Gene Ther. 2002 Nov;9(22):1487-91.

Salame MY, Verheye S, Mulkey SP, Chronos NA, King SB 3rd, Crocker IR, Robinson KA.

The effect of endovascular irradiation on platelet recruitment at sites of balloon angioplasty in pig coronary arteries.

Circulation. 2000 Mar 14;101(10):1087-90.

Schächinger V, Zeiher AM.

Koronare Herzerkrankung.

in: Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin.

Urban & Fischer, München, Jena, 5. Auflage, 2004:227-41.

Schanzenbäcker P.

Angiologische und kardiologische Therapie.

in: Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin.

Urban & Fischer, München, Jena, 5. Auflage, 2004:162.

Schaper W, Flameng W, De Brabander M.

Comparative aspects of coronary collateral circulation.

Adv Exp Med Biol, 1972;22:267-76.

Schaper W.

Control of coronary angiogenesis.

Eur Heart J. 1995 May;16 Suppl C:66-8.

Schmidmaier G.

Eine neue biodegradierbare, antithrombogene Beschichtung für Biomaterialien (Polylaktid/PEG-Hirudin/Illoprost).

Med. Diss. TU München, 1997.

Schwartz RS, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vliestra RE, Holmes DR.

Restenosis after balloon angioplasty. A practical proliferative model in porcine coronary arteries.

Circulation. 1990 Dec;82(6):2190-200.

Schwartz RS, Edwards WD, Huber KC, Antoniades LC, Bailey KR, Camrud AR, Jorgenson MA, Holmes DR Jr.

Coronary restenosis: prospects for solution and new perspectives from a porcine model.

Mayo Clin Proc. 1993 Jan;68(1):54-62.

Schwartz RS, Edwards WD, Bailey KR, Camrud AR, Jorgenson MA, Holmes DR Jr.

Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs. Implications for restenosis models.

Arterioscler Thromb. 1994 Mar;14(3):395-400.

Schwartz RS.

The vessel wall reaction in restenosis.

Semin Interv Cardiol. 1997 Jun;2(2):83-8.

Schwartz RS, Henry TD.

Pathophysiology of coronary artery restenosis.

Rev Cardiovasc Med. 2002;3 Suppl 5:S4-9.

Sejersten M, Maynard C, Clemmensen P; DANAMI-2 Investigators.

Effects of abciximab as adjunctive therapy in primary percutaneous coronary intervention patients (results from the DANAMI-2 trial).

Acute Card Care. 2006;8(2):75-82.

Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P.

A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group.

N Engl J Med. 1994 Aug 25;331(8):489-95.

Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, McKillop JH, Packard CJ.

Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group.

N Engl J Med. 1995 Nov 16;333(20):1301-7.

Sick PB, Thiele H, Brosteanu O, Hentschel B, Lauer B, Niebauer J, Hambrecht R, Schuler G.

Prospective randomized comparison of early and late results of 4 different stent designs.

Am Heart J. 2003 Jul;146(1):134-41.

Sidhu S, Shafiq N, Malhotra S, Pandhi P, Grover A.

A meta-analysis of trials comparing Cypher and Taxus stents in patients with obstructive coronary artery disease.

Br J Clin Pharmacol. 2006 Jun;61(6):720-6.

Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L.

Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty.

N Engl J Med. 1987 Mar 19;316(12):701-6.

Sigwart U.

Coronary endoprostheses (stents)

Herz. 1990 Oct;15(5):319-28.

Sigwart U.

The 1996 Gruntzig Lecture. Stents: a mechanical solution for a biological problem?

Eur Heart J. 1997 Jul;18(7):1068-72.

Strauer BE.

Koronare Herzkrankheit.

in: Riecker G (Hrsg.): Klinische Kardiologie.

Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, 3. Auflage, 1991:357-471.

Strecker EP, Gabelmann A, Boos I, Lucas C, Xu Z, Haberstroh J, Freudenberg N, Stricker H, Langer M, Betz E.

Effect on intimal hyperplasia of dexamethasone released from coated metal stents compared with non-coated stents in canine femoral arteries.

Cardiovasc Intervent Radiol. 1998 Nov-Dec;21(6):487-96.

Sullivan TM, Ainsworth SD, Langan EM, Taylor S, Snyder B, Cull D, Youkey J, Laberge M.

Effect of endovascular stent strut geometry on vascular injury, myointimal hyperplasia, and restenosis.

J Vasc Surg. 2002 Jul;36(1):143-9.

Swindle M, Thompson RT, Carabello BA, Smith AC, Green TC, Gillette PC

Congenital cardiovascular disease.

in: Swindle M (Hrsg.): Swine as a model in biochemical research.

Iowa State University Press, Ames, USA, 1992:176-184.

Tamai H, Igaki K, Kyo E, Kosuga K, Kawashima A, Matsui S, Komori H, Tsuji T, Motohara S, Uehata H.

Initial and 6-month results of biodegradable poly-L-lactic acid coronary stents in humans.

Circulation. 2000 Jul 25;102(4):399-404.

Tanabe K, Serruys PW, Grube E, Smits PC, Selbach G, van der Giessen WJ, Staberock M, de Feyter P, Muller R, Regar E, Degertekin M, Ligthart JM, Disco C, Backx B, Russell ME.

TAXUS III Trial: in-stent restenosis treated with stent-based delivery of paclitaxel incorporated in a slow-release polymer formulation.

Circulation. 2003 Feb 4;107(4):559-64.

Tanguay JF, Zidar JP, Phillips HR 3rd, Stack RS.

Current status of biodegradable stents.

Cardiol Clin. 1994 Nov;12(4):699-713.

Thomas C.

Koronare Herzerkrankung.

in: Thomas C (Hrsg.): Pathologie, Histopathologie.

Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 11. Auflage, 1992:56-90.

Ueda Y, Hirayama A, Adachi T, Nantos S, Kodaama K.

Neointimal coverage of the stents in human coronary arteries observed by angiography.

J Am Coll Cardiol, 1993;21:483A.

Van der Giessen WJ, Serruys PW, van Beusekom HM, van Woerkens LJ, van Loon H, Soei LK, Strauss BH, Beatt KJ, Verdouw PD.

Coronary stenting with a new, radiopaque, balloon-expandable endoprosthesis in pigs.

Circulation. 1991 May;83(5):1788-98.

Van de Loo A, Bode C.

Akute koronare Syndrome.

in: Classen, Diehl, Kochsiek: Innere Medizin.

Urban & Fischer, München, Jena, 5. Auflage, 2004:242-52.

Van der Loop FT, Schaart G, Timmer ED, Ramaekers FC, van Eys GJ.

Smoothelin, a novel cytoskeletal protein specific for smooth muscle cells.

J Cell Biol. 1996 Jul;134(2):401-11.

Van Eys GJ, Voller MC, Timmer ED, Wehrens XH, Small JV, Schalken JA, Ramaekers FC, van der Loop FT.

Smoothelin expression characteristics: development of a smooth muscle cell in vitro system and identification of a vascular variant.

Cell Struct Funct. 1997 Feb;22(1):65-72.

Vasquez EM.

Sirolimus: a new agent for prevention of renal allograft rejection.

Am J Health Syst Pharm. 2000 Mar 1;57(5):437-48.

Verhamme P, Quarck R, Hao H, Knaapen M, Dymarkowski S, Bernar H, Van Cleemput J, Janssens S, Vermynen J, Gabbiani G, Kockx M, Holvoet P.

Dietary cholesterol withdrawal reduces vascular inflammation and induces coronary plaque stabilization in miniature pigs.

Cardiovasc Res. 2002 Oct;56(1):135-44.

Villa AE, Guzman LA, Chen W, Golomb G, Levy RJ, Topol EJ.

Local delivery of dexamethasone for prevention of neointimal proliferation in a rat model of balloon angioplasty.

J Clin Invest. 1994 Mar;93(3):1243-9.

Virmani R, Kolodgie FD, Farb A, Lafont A.

Drug eluting stents: are human and animal studies comparable?

Heart. 2003 Feb;89(2):133-8.

Voisard R, Seitzer U, Baur R, Dartsch PC, Osterhues H, Hoher M, Hombach V.

Corticosteroid agents inhibit proliferation of smooth muscle cells from human atherosclerotic arteries in vitro.

Int J Cardiol. 1994 Mar 1;43(3):257-67.

Waksman R.

Vascular brachytherapy: applications in the era of drug-eluting stents.

Rev Cardiovasc Med. 2002;3 Suppl 5:S23-30.

Wernick MH, Jeremias A, Carrozza JP.

Drug-eluting stents and stent thrombosis: a cause for concern?

Coron Artery Dis. 2006 Dec;17(8):661-5.

Wheather PR, Burkitt HG, Stevens A, Lowe JS.

Der Infarkt.

in: Wheather PR, Burkitt HG, Stevens A, Lowe JS (Hrsg.): Grundlagen der Histopathologie.

Enke-Verlag, Stuttgart, 1987:70-76.

Willis AL, Smith DL, Vigo C, Kluge AF.

Effects of prostacyclin and orally active stable mimetic agent RS-93427-007 on basic mechanisms of atherogenesis.

Lancet. 1986 Sep 20;2(8508):682-3.

Wilson DP, Saward L, Zahradka P, Cheung PK.

Angiotensin II receptor antagonists prevent neointimal proliferation in a porcine coronary artery organ culture model.

Cardiovasc Res. 1999 Jun;42(3):761-72.

Wu CH, Lin CS, Hung JS, Wu CJ, Lo PH, Jin G, Shyy YJ, Mao SJ, Chien S.

Inhibition of neointimal formation in porcine coronary artery by a Ras mutant.

J Surg Res. 2001 Jul;99(1):100-6.

Yorozuya M, Suzuki H, Iso Y, Shibata M, Nakatani M, Koba S, Murakami M, Katagiri T, Takeyama Y.

Comparison of the morphological changes of restenosis after the implantation of various types of stents in a swine model.

Coron Artery Dis. 2002 Sep;13(6):305-12.

9 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	27 LAD Desmin Übersicht, Vergrößerung 4x.....	32
Abbildung 2:	27 LAD Desmin Detail1, Vergrößerung 10x.....	32
Abbildung 3:	28 FLI Desmin Makro3, Vergrößerung 40x.....	33
Abbildung 4:	28 FLI Desmin Makro4, Vergrößerung 40x.....	33
Abbildung 5:	28 FLI Desmin Restenose1, 40x.....	34
Abbildung 6:	95%-Konfidenzintervalle Zellzahl (Nuclei) Koronar, Desmin und Smoothelin.....	49
Abbildung 7:	95%-Konfidenzintervalle Zellzahl (Nuclei) Femoral, Desmin und Smoothelin.....	49
Abbildung 8:	95%-Konfidenzintervalle Zellfärbung Koronar, Desmin und Smoothelin.....	49
Abbildung 9:	95%-Konfidenzintervalle Zellfärbung Femoral, Desmin und Smoothelin.....	49
Abbildung 10:	17 LAD Desmin Übersicht, DD; Vergrößerung 4x.....	51
Abbildung 11:	17 LAD Desmin Detail1, DD; Vergrößerung 10x.....	51
Abbildung 12:	17 LAD Desmin Makro1, DD; Vergrößerung 40x.....	51
Abbildung 13:	17 LAD Desmin Makro2, DD; Vergrößerung 40x.....	51
Abbildung 14:	23 LAD Desmin Übersicht, IHD; Vergrößerung 4x.....	51
Abbildung 15:	23 LAD Desmin Detail1, IHD; Vergrößerung 10x.....	51
Abbildung 16:	23 LAD Desmin Makro1, IHD; Vergrößerung 40x.....	51
Abbildung 17:	23 LAD Desmin Makro2, IHD; Vergrößerung 40x.....	51
Abbildung 18:	27 LAD Desmin Übersicht; IH; Vergrößerung 4x.....	52
Abbildung 19:	27 LAD Desmin Detail1, IH; Vergrößerung 10x.....	52
Abbildung 20:	27 LAD Desmin Makro1, IH; Vergrößerung 40x.....	52
Abbildung 21:	27 LAD Desmin Makro2, IH; Vergrößerung 40x.....	52
Abbildung 22:	30 LAD Desmin Übersicht, PLA; Vergrößerung 4x.....	52
Abbildung 23:	30 LAD Desmin Detail1, PLA; Vergrößerung 10x.....	52
Abbildung 24:	30 LAD Desmin Makro1, PLA; Vergrößerung 40x.....	52
Abbildung 25:	30 LAD Desmin Makro2, PLA; Vergrößerung 40x.....	52
Abbildung 26:	25 LAD Desmin Übersicht, unc; Vergrößerung 4x.....	53

Abbildung 27:	25 LAD Desmin Detail2, unc.; Vergrößerung 10x.....	53
Abbildung 28:	25 LAD Desmin Makro5, unc.; Vergrößerung 40x.....	53
Abbildung 29:	25 LAD Desmin Makro6, unc.; Vergrößerung 40x.....	53
Abbildung 30:	25 FRE Desmin Übersicht2, DD; Vergrößerung 4x.....	54
Abbildung 31:	25 FRE Desmin Detail1, DD; Vergrößerung 10x.....	54
Abbildung 32:	25 FRE Desmin Makro1, DD; Vergrößerung 40x.....	54
Abbildung 33:	25 FRE Desmin Makro2, DD; Vergrößerung 40x.....	54
Abbildung 34:	25 FLI Desmin Übersicht2, IHD; Vergrößerung 4x.....	54
Abbildung 35:	25 FLI Desmin Detail1, IHD; Vergrößerung 10x.....	54
Abbildung 36:	25 FLI Desmin Makro2, IHD; Vergrößerung 40x.....	54
Abbildung 37:	25 FLI Desmin Makro1, IHD; Vergrößerung 40x.....	54
Abbildung 38:	29 FLI Desmin Übersicht2, IH; Vergrößerung 4x.....	55
Abbildung 39:	29 FLI Desmin Detail, IH; Vergrößerung 10x.....	55
Abbildung 40:	29 FLI Desmin Makro1, IH; Vergrößerung 40x.....	55
Abbildung 41:	29 FLI Desmin Makro2, IH; Vergrößerung 40x.....	55
Abbildung 42:	22 FLI Desmin Übersicht, PLA; Vergrößerung 4x.....	55
Abbildung 43:	22 FLI Desmin Detail1, PLA; Vergrößerung 10x.....	55
Abbildung 44:	22 FLI Desmin Makro3, PLA; Vergrößerung 40x.....	55
Abbildung 45:	22 FLI Desmin Makro4, PLA; Vergrößerung 40x.....	55
Abbildung 46:	21 FLI Desmin Übersicht, unc.; Vergrößerung 4x.....	56
Abbildung 47:	21 FLI Desmin Detail1, unc.; Vergrößerung 10x.....	56
Abbildung 48:	21 FLI Desmin Makro3, unc.; Vergrößerung 40x.....	56
Abbildung 49:	21 FLI Desmin Makro4, unc.; Vergrößerung 40x.....	56
Abbildung 50:	95%-Konfidenzintervalle Desmin zu Smoothelin, koronar; Bereiche verletzte, unverletzte Media und Restenose.....	58
Abbildung 51:	95%-Konfidenzintervalle Desmin zu Smoothelin, femoral; Bereiche verletzte, unverletzte Media und Restenose.....	58
Abbildung 52:	Zelldifferenzierung der koronaren Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC's für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der verletzten Media (i.e. ehemalige Stentstruts); Angaben in Prozent.....	59

Abbildung 53: Zelldifferenzierung der koronaren Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC´s für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der unverletzten Media; Angaben in Prozent	59
Abbildung 54: Zelldifferenzierung der koronaren Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC´s für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der Restenose; Angaben in Prozent.....	59
Abbildung 55: Zelldifferenzierung der femoralen Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC´s für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der verletzten Media (i.e. ehemalige Stentstruts); Angaben in Prozent.....	60
Abbildung 56: Zelldifferenzierung der femoralen Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC´s für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der unverletzten Media; Angaben in Prozent.....	60
Abbildung 57: Zelldifferenzierung der femoralen Muskelzellen in gesamte, kontraktile und proliferative SMC´s für die verschiedenen Beschichtungsgruppen im Bereich der Restenose; Angaben in Prozent	60
Abbildung 58: 27 LAD Desmin Makro1; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 59: 27 LAD Desmin Makro2; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 60: 27 LAD Smoothelin Makro1; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 61: 27 LAD Smoothelin Makro2; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 62: 27 FLI Desmin Makro1; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 63: 27 FLI Desmin Makro2; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 64: 27 FLI Smoothelin Makro1; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 65: 27 FLI Smoothelin Makro2; Vergrößerung 40x.....	62
Abbildung 66: 19 LCX Desmin Restenose1; Vergrößerung 40x.....	63
Abbildung 67: 19 LCX Smoothelin Restenose1; Vergrößerung 40x.....	63
Abbildung 68: 17 FRE Desmin Restenose1; Vergrößerung 40x.....	63
Abbildung 69: 17 FRE Smoothelin Restenose1; Vergrößerung 40x.....	63

Abbildung 70/71: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Koronar Desmin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut.....	65
Abbildung 72/73: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Koronar Smoothelin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut.....	66
Abbildung 74/75: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Femoral Desmin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut.....	66
Abbildung 76/77: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Stentstruts (i.e. verletzte Media), Femoral Smoothelin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut.....	66
Abbildung 78/79: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Restenose, Desmin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut.....	67
Abbildung 80/81: Korrelation Druck vs. Zellzahl bzw. gefärbte Zellen im Bereich Restenose, Smoothelin gesamt; Druck in atm., Zellzahl absolut.....	67
Abbildung 82: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, alle Beschichtungen; koronar und femoral.....	72
Abbildung 83/84: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, alle Beschichtungen; koronar bzw. femoral.....	73
Abbildung 85/86: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, Beschichtung DEXA bzw. IHD; koronar und femoral.....	73
Abbildung 87/88: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, Beschichtung IH bzw. PLA; koronar und femoral.....	73
Abbildung 89: Korrelation mittlere neointimale Dicke vs. Quotient SmoRes/DesMed, unbeschichtet; koronar und femoral.....	73

10 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Versuchsplan; DD = Dexamethasonacetat/Dexamethason, IH = Illoprost/PEG-Hirudin, IHD = Illoprost/PEG-Hirudin/Dexamethasonacetat, PLA = Polylaktid, Unc. = uncoated, unbeschichtet.....	22
Tabelle 2:	Färbecharakteristika.....	34
Tabelle 3:	Übersicht statistische Auswertung; Primär Aufteilung der Datenreihen in Koronar und Femoral.....	37
Tabelle 4:	Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason.....	38
Tabelle 5:	Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason.....	38
Tabelle 6:	Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason.....	39
Tabelle 7:	Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Dexamethasonacetat/Dexamethason.....	39
Tabelle 8:	Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Illoprost-Hirudin.....	40
Tabelle 9:	Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Illoprost-Hirudin.....	40
Tabelle 10:	Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Illoprost-Hirudin.....	41
Tabelle 11:	Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Illoprost-Hirudin.....	41

Tabelle 12: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason.....	42
Tabelle 13: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason.....	42
Tabelle 14: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason.....	43
Tabelle 15: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Iloprost-Hirudin-Dexamethason.....	43
Tabelle 16: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA....	44
Tabelle 17: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA....	44
Tabelle 18: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA....	45
Tabelle 19: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; PLA.....	45
Tabelle 20: Ergebnisse Koronar Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Uncoated.....	46
Tabelle 21: Ergebnisse Femoral Desmin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Uncoated.....	46
Tabelle 22: Ergebnisse Koronar Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Uncoated.....	47
Tabelle 23: Ergebnisse Femoral Smoothelin Zellzahl, gefärbte Zellen von verletzter/unverletzter Media und Restenose mit Dilatationsdruck; Uncoated.....	47

Tabelle 24: Überblick über die Gewebsverträglichkeit der unterschiedlichen Stentbeschichtungen anhand der Auszählung von unspezifisch gefärbten Nuclei und spezifisch gefärbten Zellen für koronare und femorale Gefäße.....	50
Tabelle 25: Überblick über die Gewebsverträglichkeit der unterschiedlichen Stentbeschichtungen anhand der SMC-Differenzierung für koronare und femorale Gefäße unterteilt in die untersuchten Gefäßbezirke.....	61
Tabelle 26: Angabe von t- und p-Werten zur Bestimmung der Korrelation von Druck zu Zellzahl (Nuclei) und gefärbten Zellen im Bereich verletzter Media (i.e. Stentstruts); Koronar und Femoral.....	65
Tabelle 27: Angabe von t- und p-Werten zur Bestimmung der Korrelation von Druck zu Zellzahl (Nuclei) und gefärbten Zellen im Bereich Restenose.....	67
Tabelle 28: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, alle Beschichtungen.....	69
Tabelle 29: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar, alle Beschichtungen....	70
Tabelle 30: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; femoral, alle Beschichtungen....	70
Tabelle 31: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, DEXA-Beschichtung.....	71
Tabelle 32: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, IH-Beschichtung.....	71
Tabelle 33: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, PLA-Beschichtung.....	71
Tabelle 34: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, IHD-Beschichtung.....	71

- Tabelle 35: Ergebnisse mNID und gefärbte Zellen (SmoRestenose, DesMedia) sowie Quotient SmoRes/DesMed; koronar und femoral, unbeschichtet..... 71
- Tabelle 36: Angabe von t- und p-Werten zur Bestimmung der Korrelation und Zellverteilung mittlere neointimale Dicke (mNID) vs. Quotient aus Smoothelin-gefärbten Zellen Bereich Restenose (SmoRes) und Desmin-gefärbten Zellen Bereich unverletzte Media (DesMed)..... 72

11 Abkürzungsverzeichnis

Aa.	Arteriae, Arterien
A.	Arterie
ADP	Adenosindiphosphat
AK	Antikörper
APAAP	Alkalische Phosphatase anti Alkalische Phosphatase
ASS	Acetylsalicylsäure
AT III	Antithrombin III
atm.	Atmosphäre
bFGF	basic fibroblast growth factor
C.	Chlamydien
com.	communis
DD	Dexamethasonacetat/Dexamethason
Des	Desmin
DES	Drug Eluting Stent
Det	Detail
DEXA	Dexamethasonacetat/Dexamethason
Diss	Dissertation
Ext.	externa
Fc	Fragment crystalisable
FLI	Arteria femoralis links
FRE	Arteria femoralis rechts
GP IIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
HE	Hämatoxylin-Eosin
HMG-CoA	Hydroxy-Methylglutaryl-Coenzym-A
HSV 1	Herpes simplex Virus 1
HZV	Herzzeitvolumen
IGF-1	Insulin like growth factor
i.e.	id est
i.v.	intravenös
IH	Iloprost-Hirudin
IHD	Iloprost-Hirudin- Dexamethasonacetat
IL	Interleukin
Int.	interna
ISR	In-Stent-Restenose
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	left anterior descendend (RIVA)
Lam.	Lamina
LCX	left circumflex
li.	links
Mak	Makro
MAPK	Mitogen-aktivierte Protein-Kinase
Med	Media
min.	Minute

mNID	mittlere neointimale Fläche
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid, Kochsalz
NO	Stickstoffmonoxyd
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS	Phosphat buffered saline
PDGF	platelet derived growth factor
PEG	Poly-Ethylen-Glykol
PLA	Polylaktid
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
RCX	Ramus circumflexus
re.	rechts
Res	Restenose
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RT	Raumtemperatur
sec.	Sekunde
SMC	smooth muscle cell, glatte Muskelzelle
Smo	Smoothelin
STEMI	ST-Hebungs-Myokardinfarkt
TAT	Thrombin-Antithrombin III
TNF	Tumornekrosefaktor
Üb	Übersicht
Unc.	uncoated, unbeschichtet
V.	Vena
vs.	versus
VEGF	vascular endothelial growth factor
ZVK	Zentraler Venenkatheter
>	größer als
<	kleiner als

Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Alt möchte ich herzlich für die Überlassung des Themas, die freundliche und großzügige Unterstützung der Arbeit sowie die Durchführung der Stentimplantationen danken.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Dr. med. vet. Ildiko Konrad und Frau Dr. med. vet. Munhie Rihm, ohne deren Unterstützung und fachliche Kompetenz die vorliegende Arbeit nicht zustande gekommen wäre.

Sehr herzlich möchte ich Dr. med. Alexander Crispin für die Geduld und freundliche Beratung bei der Erstellung der Statistik danken.

Bei Herrn Dr. med. Ansgar Resch möchte ich mich für die Einweisung in immunhistologische Techniken und deren Auswertung bedanken.

Frau Anna Schubert möchte ich für ihren Einsatz und ihre Hilfsbereitschaft in allen organisatorischen Belangen im Zusammenhang der Fertigstellung dieser Arbeit danken.

Allen Mitarbeitern des Instituts für Experimentelle Onkologie und Therapieforschung der TU München sei an dieser Stelle für ihre Hilfe gedankt.

Lebenslauf

Philipp Hempten, geb. am 27. Juli 1975 in München

Eltern: Felicitas Hempten, geb. Korn
Dr. med. Carl-Hermann Hempten

1982 – 1995 Rudolf-Steiner-Schule München-Schwabing
30. Juni 1995 Abitur

1996 – 2003 Studium der Medizin an der Ludwig-Maximilians-Universität
München
28. April 2003 Abschluß des Medizinstudiums, 3. Staatsexamen
1. Oktober 2004 Approbation

Mai 2000 Beginn der vorliegenden Dissertation