

Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie
der Technischen Universität München
Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H. K. Höfler)

**Risikofaktoren der Restenoseformierung
nach Thrombendarteriektomie
der Arteria carotis -
eine klinisch - pathologische Analyse**

THOMAS NAGEL

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.Univ.-Prof.Dr.H.K.Höfler
2.Univ.-Prof.Dr.H.Berger

Die Dissertation wurde am 22.08.2003 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.02.2004 angenommen.

*Gewidmet meinen lieben Eltern
für unendliche Geduld und aufopfernde Unterstützung*

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Patientengruppen und Methodik	13
2.1.	Untersuchungsgut	13
2.1.1.	Ein- und Ausschlusskriterien	13
2.2.	Klinische Daten	14
2.2.1.	Patientengruppe mit Restenoseausbildung nach TEA (CPR)	14
2.2.2.	Patientenkontrollgruppe ohne Restenoseausbildung nach TEA (CP)	15
2.3.	Histomorphologie	18
2.3.1.	Histomorphologische Klassifizierung der Plauegewebe	18
2.3.2.	Definition der histomorphologischen Charakteristika	19
2.4.	Immunhistochemie	20
2.4.1.	Immunhistochemische Detektionsverfahren	20
2.4.2.	Zellspezifische Antigene als Konjugationsstelle der verwendeten primären Antikörper	21
2.4.3.	Vorgehensweise bei den immunhistochemischen Färbungen	22
2.4.3.1.	MIB-DAB Färbung	23
2.4.3.2.	SM-(alpha)Actin-APAAP Färbung	24
2.4.3.3.	CD3-DAB Färbung	24
2.4.3.4.	CD68-DAB Färbung	25
2.4.3.5.	Faktor VIII-APAAP Färbung	26
2.5.	Statistik	28
3.	Ergebnisse	29
3.1	Ergebnisse aus der Gruppe CPR	29
3.1.1.	Zelluläre Komponenten der Gruppe CPR	29
3.1.2.	Proliferative Aktivität in der Gruppe CPR	30
3.1.3.	Beziehung des Proliferationsindex zu klinischen Parametern der Gruppe CPR	31

3.1.4.	Morphologische Klassifizierung der Plauegewebe und Korrelationen des Proliferationsindex zu morphologischen Parametern in der Gruppe CPR	31
3.1.5.	Korrelationen des Proliferationsindex zu zellulären Parametern der Gruppe CPR	32
3.1.6.	Koexpression zellspezifischer immunhistochemischer Marker in der Gruppe CPR	34
3.2.	Vergleich der zellulären Parameter der 9 Primärstenosen mit den zugehörigen Restenosen	36
3.3.	Ergebnisse aus der Kontrollgruppe CP	37
3.3.1.	Zelluläre Komponenten der Kontrollgruppe CP	37
3.4.	Vergleich der Patientengruppe CPR mit CP	37
3.4.1.	Vergleich der Risikofaktoren und der klinischen Charakteristika der Gruppen CPR und CP	37
3.4.2.	Vergleich der Gruppen CPR und CP in Bezug auf intimale zelluläre Parameter	38
3.4.3.	Vergleich der Gruppen CPR und CP in Bezug auf Zellularität und Proliferation in medialen Gefäßwandanteilen	40
3.4.4.	Plaquemorphologische Unterschiede zwischen den Gruppen CPR und CP	41
4.	Diskussion	43
5.	Zusammenfassung	50
6.	Literatur	53

Folgende Abkürzungen werden in der Arbeit häufig verwendet:

TEA: Thrombendarteriektomie

CPR: Patientengruppe mit einer Primärstenose der Arteria carotis,
gefolgt von einer Restenose nach TEA

CP: Patientengruppe mit einer Primärstenose der Arteria carotis,
jedoch ohne Restenose nach TEA

RF: Risikofaktoren der Arteriosklerose

SMC: glatte Muskelzelle (smooth muscle cell)

PI: Proliferationsindex

GF: mikroskopisches Gesichtsfeld (400-fache Vergrößerung)

1. Einleitung

Arteriosklerose ist die häufigste Ursache für Morbidität und Mortalität in den westlichen Industrieländern und damit von herausragender epidemiologischer Bedeutung.

Nach der Definition der World Health Organization handelt es sich bei der Arteriosklerose um „eine variable Kombination von Veränderungen der Gefäßintima, bestehend aus einer herdförmigen Ansammlung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia“ (47,131).

Tierexperimentelle Arteriosklerosemodelle und in vitro Versuche haben in den letzten Jahren wesentlich zu einem besseren Verständnis grundlegender Pathomechanismen der Atherogenese beigetragen.

Auf Grund der dabei gewonnenen Erkenntnisse gilt in jüngerer Zeit besonderes Interesse inflammatorischen und proliferativen Ereignissen bei der Pathogenese arteriosklerotischer Gefäßwandveränderungen. Die Übertragbarkeit auf humanpathologische Abläufe und damit die klinische Relevanz für die Behandlung der Arteriosklerose ist derzeit jedoch in vielen Punkten noch in Frage gestellt (9,56,78,114).

Angiologische Studien an humanem Gewebe beschränkten sich bisher auf die Betrachtung von primär-arteriosklerotischen Arterienverengungen oder von sekundären, d.h. postoperativ oder postinterventionell rezidierten Gefäßstenosierungen. Untersuchungen zur Frage, ob Pathomechanismen der primären Arteriosklerose für die Restenoseformierung verantwortlich sind, fehlen zur Zeit jedoch weitgehend.

Derzeit sind die Voraussetzungen unklar, unter denen eine operative, traumatisierende Maßnahme auf dem Wege einer Wundheilungsantwort der Gefäßwand zu einer Restenose führt. Spekulativ könnten bereits im primären arteriosklerotischen Gewebe ablaufende inflammatorische und immunologische Prozesse die Grundlage für eine restenosewirksame Matrixvermehrung und Zellreduplikationen in der Intima bieten.

In der vorliegenden Arbeit wurden Operationspräparate der A. carotis aus Primärstenoseläsionen, die einer Restenosierung vorausgegangen waren, histomorphologisch und immunhistochemisch untersucht. Anhand der Analyse zellulärer Merkmale sowie histomorphologischer und insbesondere proliferationsassoziierter Charakteristika sollten im Vergleich zu einer restenosefreien Kontrollgruppe mögliche Faktoren einer späteren Restenosierung in Risikoläsionen gesucht werden.

Grundlagen über pathophysiologische und ätiologische Mechanismen der Arteriosklerose und Restenosierung werden im folgenden dargestellt, soweit sie für das Verständnis des methodischen Ansatzes erforderlich sind.

Aktuelle Vorstellungen zur Pathogenese der primären Arteriosklerose

Als initiale Ursache der arteriosklerotischen Läsion wird eine Endothelverletzung verantwortlich gemacht. Bereits 1973 formulierte Ross den Begriff der "Response to Injury Hypothese" (101). Damals noch beschränkt auf mechanisch/physikalische Verletzungsmechanismen, wie sie z.B. in Form von Endotheldenudierung und Intima/Media-Freilegung im Rahmen der TEA-Operation vorkommen, werden heute auch toxische und biologische Einflüsse, die im weitesten Sinne zu einer Mikrotraumatisierung und damit zu einer Funktionseinschränkung des Endothels führen, zu den Initiatoren der Arterioskleroseausbildung gezählt (17,90,102,103,109,123,126,129).

Nach neueren Erkenntnissen können zahlreiche, bei der Arterioskleroseentstehung und Arterioskleroseprogression bedeutsame zelluläre Mechanismen im Sinne einer chronischen Entzündungsreaktion der Gefäßwand verstanden werden (66,69,104,109,119,130).

Wie aus Untersuchungen anderer Gewebeverbände bekannt, ist eine chronisch-floride Entzündung mikropathologisch und histologisch wesentlich durch die Transmigration von Blutzellen in das betroffene Gewebe, die Ausbildung von Adhäsionsmolekülen, die Ausschüttung von Zellmediatoren und die Proliferation ortsständiger und immigrierter Zellen charakterisiert.

Hinzu kommen strukturelle Veränderungen wie Neovaskularisierung (Abb. 1), Ausbildung von Granulationsgewebe sowie atrophisch-nekrotische, andererseits aber auch hyperthrophisch-hyperplastische Gewebsumformierungen.

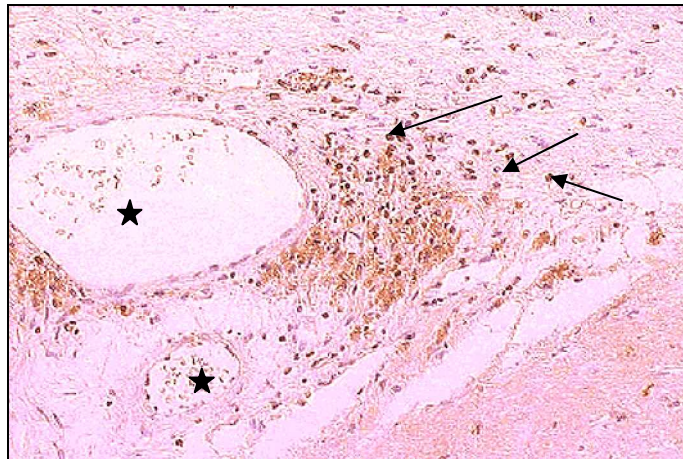


Abbildung 1:

In dem mikroskopischen Abschnitt der fortgeschritten arteriosklerotisch veränderten Intima (A. carotis interna) kommen Neovaskularisationen zur Darstellung (Sterne). In ihrer unmittelbaren Umgebung fallen multiple proliferierende Zellen auf, welche durch die immunhistochemische MIB-DAB-Färbung braun imponieren (Pfeile). (Vergrößerung 100-fach).

Endotheltoxische Einflüsse, allen voran das pathologische Einwirken eines übermäßigen Angebotes an oxidierten Lipoprotein (oxLDL) (72), vermitteln die Aktivierung einer Reaktionskette mit inflammatorischen/immunologischen Merkmalen und den Charakteristika einer chronischen Entzündung (13).

Durch Freisetzung chemotaktischer und chemokinetischer Mediatoren wird eine Immigration von Lymphozyten, Makrophagen, sowie von glatten Muskelzellen initiiert (99), wobei letztere ihren Phänotyp von einem kontraktiven Zelltyp zu einem sekretorischen und/oder phagozytosefähigen Zelltyp ändern (24,95,124). Daneben werden reduplikative Ereignisse, vor allem unter der glatten Muskelzellpopulation, aber auch unter den Makrophagen beobachtet (4,5,77,86,98,128). Die Anzahl der Schaumzellen, die aus Makrophagen und zu einem geringeren Teil aus glatten Muskelzellen hervorgehen, nimmt im Rahmen des Lipidabräumungsprozesses in der intimalen Gefäßwand ebenfalls zu (69,128) (Abb. 2).

Im fortgeschrittenen Stadium der Arteriosklerosemanifestation (Abb. 3, Abb. 4) werden neben herdförmigen Ansammlungen inflammatorischer Zellen vermehrt nekrotische und apoptotische Ereignisse beobachtet, welche im verstärkten Maße mit einer weiteren Ausschüttung von Zellmediatoren aus Endothelzellen, Lymphozyten, Makrophagen und glatten Muskelzellen verbunden sind (12,14,53,64).

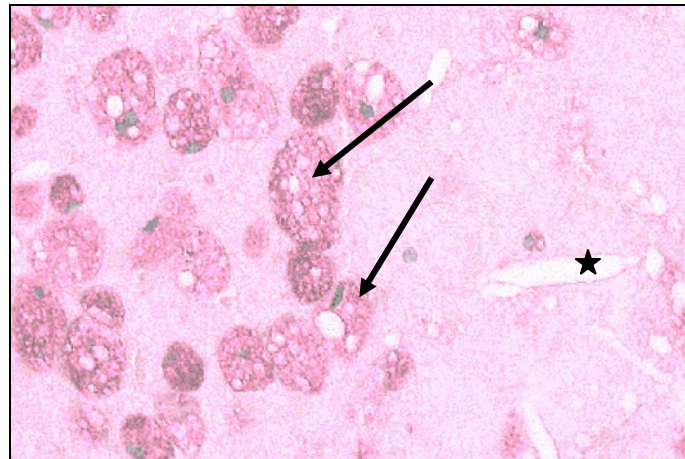


Abbildung 2:

Schaumzellen (Pfeile) aus Makrophagen am Randbereich einer cholesterinreichen Region der arteriosklerotisch veränderten Carotis-Intima. Deutlich erkennbar sind intrazellulär gelegene Lipidgranula sowie extrazelluläre, wetzsteinförmige Cholesterinkristalle (Stern). (Vergrößerung 400-fach).

Konsekutiv entstehen Läsionen mit ausgeprägtem avitalem Atheromkern (lipid core) (Abb. 3). Diese sind zur Plaqueinstabilität prädisponiert. Überproportional häufig kommt es im peripheren Bereich der fibrösen Kappe, der sog. Plaqueschulter, zur Ruptur mit der Folge einer Plaquehämorrhagie und sekundärem Plaqueumbau. Eine ursächliche Rolle wird bei derartigen Ereignissen einer Reduktion glatter Muskelzellen und mechanisch stabilisierendem Kollagen, einem hohen Anteil an lockerem Schaumzellgewebeverband sowie der Präsenz inflammatorischer Zellen zugeordnet (16,25,26,43,125). Zusätzlich beeinträchtigen die oben erwähnte Apoptose (14,64) und von Makrophagen synthetisierte proteolytische Enzyme (Metalloproteinasen) die Festigkeit des Gewebes. An derartig disponierten Regionen gibt es zudem Hinweise auf eine lokalisierte entzündliche Mitreaktion tiefer Gefäßwandschichten (Lamina elastica interna, Media, Adventitia) durch aktivierte Entzündungszellen (16,121).

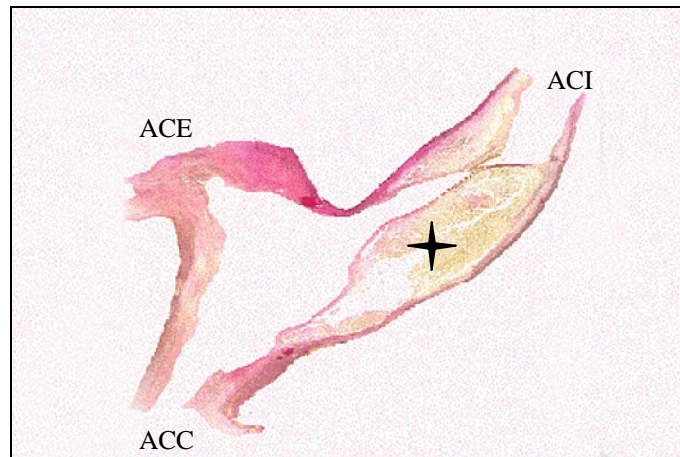


Abbildung 3:

Mikroskopischer Aspekt einer hochgradig arteriosklerotischen Läsion an der Carotisgabel (Operationspräparat nach TEA). Am Abgang der A. carotis interna (ACI) befindet sich ein ausgeprägter arteriosklerotischer Plaquebezirk, welcher zu einer filiformen Stenose führte. Dieser Plaque zeichnet sich durch einen ausgedehnten Nekrosebezirk (Stern) unter einer membranartig ausgedünnten fibrösen Kappe aus. Derartige Areale sind prädisponiert für Plaqueinstabilität und Ruptur. (HE Färbung, Vergrößerung 10-fach)

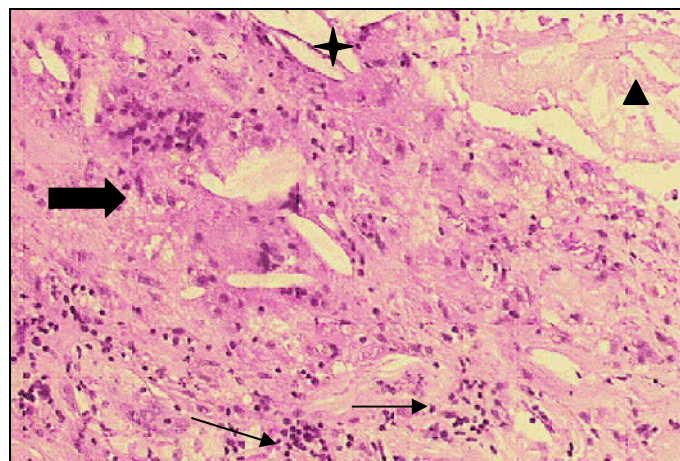


Abbildung 4:

Typische Merkmale fortgeschrittener arteriosklerotischer Veränderungen der Carotis-Intima. Zu erkennen sind extrazelluläre Lipidansammlungen (Stern), Cholesterinkristalle (Wetzsteinform, Dreieckpfeil), Makrophagen (dicker Pfeil), lymphozytäre Infiltrate (dünner Pfeil) und die inhomogene Zellanordnung. Eine chronische Entzündungsreaktion der intimalen Gefäßwand wird, wie in diesem Beispiel durch die Präsenz der genannten inflammatorischen Zellen repräsentiert, unter anderem durch eine übermäßige Anreicherung toxischer Lipide (Cholesterin) getriggert. (HE Färbung, Vergrößerung 200-fach).

Die Restenose nach arterieller Desobliteration

Im Jahr 1954 wurde erstmals die gelungene Operation einer Carotisstenose durch Thrombendarterektomie von Eastcott beschrieben (38). Seit den 70er Jahren hat sich allgemein die TEA als rekonstruktives Verfahren zur Sanierung arterieller Stenosen an mittel- und großlumigen Gefäßen, wie der A. carotis, der A. femoralis, der A. iliaca oder der infrarenalen Aorta etabliert. Derzeit gilt diese Operationsmethode als Goldstandard bei symptomatischen Patienten mit mittelgradigen bis hochgradigen Stenosen der A. carotis.

Wie aus der Literatur zu entnehmen ist, entwickeln nach einem derartigen Eingriff an der A. carotis 0.5% bis 19% der Patienten unabhängig von direkten operationstechnischen Einflüssen eine erneute Gefäßeinengung (23,30,134).

Bei einem Wiederauftreten von carotidalen Gefäßverengungen wird die späte Restenose von einer sogenannten frühen Restenose unterschieden. Vielfach entspricht dabei die späte Restenose morphologisch einer erneuten Manifestation der Arteriosklerose des entsprechenden Gefäßabschnitts. Die frühe Restenose ist hingegen in aller Regel durch eine neointimale Hyperplasie gekennzeichnet. Diese zeigt histologisch eine charakteristische myxomatös-retikuläre und homogene Zellanordnung, überwiegend bestehend aus stilettförmigen glatten Muskelzellen (Abb. 5, Abb. 6). Aus experimentellen und klinischen Daten ist bekannt, daß sich diese Form meist bereits innerhalb der ersten beiden Jahre nach dem Eingriff entwickelt (22,23,32,75,120,122).

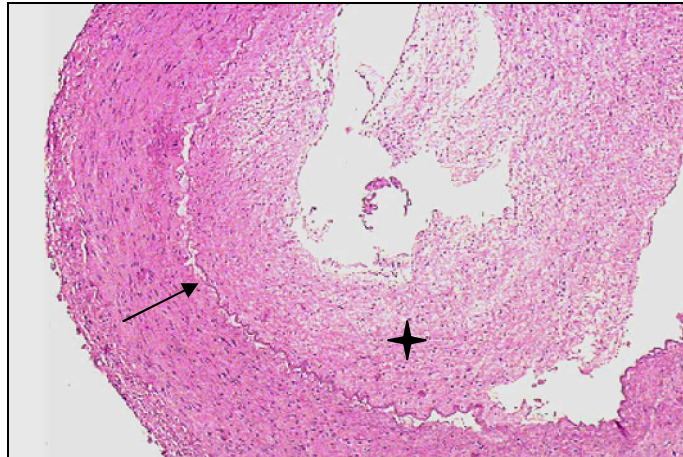


Abbildung 5:

Typisches Bild einer frühen Restenose der A. carotis interna nach erfolgter TEA.

Deutlich erkennbar die Lamina elastica interna (Pfeil) als Trennschicht der Media zur Neointima (Stern). Diese imponiert durch eine homogene, kompakte Zellanordnung. (HE-Färbung, Vergrößerung 25-fach).

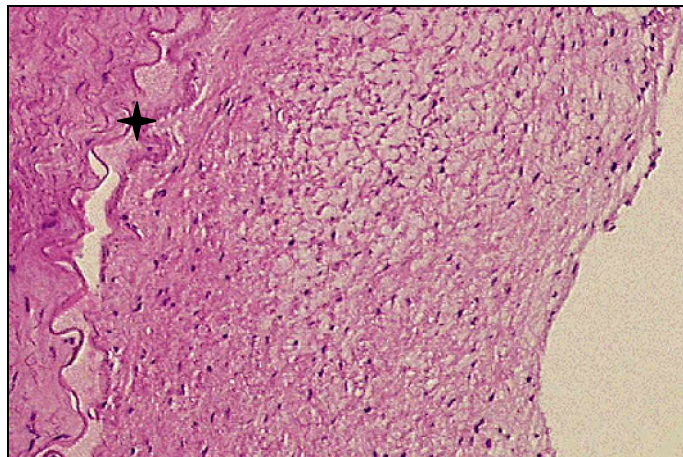


Abbildung 6:

Intimale Neoplasie der frühzeitig restenosierten A. carotis interna.

Deutlich erkennbar die Lamina elastica interna (Stern) und die myxomatös-retikulär imponierende Zellanordnung der Neointima. (HE-Färbung, Vergrößerung 100-fach).

Aktuelle Vorstellungen zur Ätiologie der Restenose

Jede lumeneröffnende Maßnahme an einem arteriellen Blutgefäß geht zwangsläufig mit Endothelverletzung und Lumenexposition tiefer Gefäßwandschichten einher. Subendotheliale und extrazelluläre Strukturen, wie Kollagene oder Gewebefaktoren, kommen dabei in Kontakt mit Blut. Eine lokale Plättchenaggregation formiert sich, chemotaktische und mitogene Faktoren werden ausgeschüttet (45,79).

Nach Erkenntnissen aus Tiermodellen ist dies der erste Schritt eines kaskadenartig verlaufenden Wundheilungsprozesses, bei dem eingewanderten Zellen und insbesondere auch den ortsständigen glatten Muskelzellen der Intima und Media eine spezifische Rolle zukommt. Im wesentlichen lassen sich hierbei drei überlappende Phasen mit komplexen Zellinteraktionen differenzieren (11,45,84):

1. Eine Entzündungsphase mit umschriebener Thrombusformation und Anlagerung bzw. Einwanderung von Leukozyten und Monozyten in die Gefäßwand.
2. Eine Granulationsphase mit Migration und Proliferation phänotypisch veränderter glatter Muskelzellen (24,29) und beginnenden Plaque-Umbauvorgängen.
3. Eine Phase der Matrixbildung mit Synthese von Kollagenen, Proteoglykanen u.a., hauptsächlich durch glatte Muskelzellen. Das Plaquevolumen nimmt zu.

Nach Abschluß dieses Wundheilungsprozesses entsteht letztlich eine Narbe in dem betroffenen Gefäßwandbezirk. Dabei findet sich in den meisten Fällen zunächst eine geringgradige, hämodynamisch irrelevante Stenosierung. Regressions-/Remodelingvorgänge (73), reaktive Erweiterung (compensatory enlargement) (49) und apoptotische Ereignisse (29,10,57,92) ermöglichen zudem die Selbstlimitation der stenosierenden Vorgänge bis zur Reversibilität der Lumeneinengung (108).

Bei bis zu über 9% der Patienten wird jedoch eine akzelerierte Form der Restenosebildung mit der Gefahr des Auftretens ischämischer Symptome und der Notwendigkeit einer erneuten Operation beobachtet (22,80).

Hierfür werden in der Literatur folgende Gründe diskutiert:

1. Zunächst gibt es Hinweise auf operationstechnisch bedingte Ursachen einer Restenosierung. So werden verbleibende Intimastufen, Gefäßkinking und Klemmtraumata mit resultierenden Blutflußanomalien sowie pathologischen Wandspannungen in Einzelfällen für ein Wiederauftreten der Gefäßeinengung verantwortlich gemacht (46,63,107).
2. Einige Autoren sehen in weiterhin einwirkenden systemischen Risikofaktoren die Hauptursache für Restenosierungen. Insbesondere Rauchen, arterielle Hypertonie, erhöhte Blutfettwerte, weibliches Geschlecht und jüngeres Alter konnten als restenoseförderliche Faktoren statistisch nachgewiesen werden (8,31,35,70,89,96,97). Tabelle 1 zeigt eine Zusammenfassung der in der Literatur aufgeführten Risikofaktoren für eine frühzeitige Restenoseausbildung nach operativer Sanierung der arteriosklerotisch veränderten A. carotis.
3. Das Verletzungsausmaß am Gefäß wird als weiterer Faktor in der Pathogenese der Restenosierung insbesondere nach Ballondilatation diskutiert. In mehreren tierexperimentellen Studien und durch Beobachtungen nach perkutaner transluminaler Angioplastie konnte eine Assoziation der Restenoserate mit dem Ausmaß der Mediaverletzung bzw. der Größe des Endothelschadens nachgewiesen werden (24,45,60,97).
4. Bei der operativen Sanierung eines atheromatösen Gefäßes werden entzündlich veränderte Gewebeareale im OP-Gebiet freigelegt, sei es aus tiefegelegenen Gefäßwandschichten (Media/Adventitia) oder aus angrenzenden Plaquarealen. Dabei wäre eine zusätzliche Freisetzung proliferativ und inflammatorisch wirksamer Zellmediatoren (Zytokine/Interleukine) denkbar, die den oben beschriebenen Wundheilungsprozeß pathologisch verstärken (115).

5. In jüngerer Zeit wird aufgrund von Beobachtungen vor allem am Koronarsystem ein Zusammenhang mit infektiösen Agentien (z.B. Zytomegalieviren, Herpesviren, Chlamydien) und Restenoseausbildung diskutiert. Derzeit fehlen jedoch noch gesicherte Ergebnisse (15,54,71,117,132).

6. Als letzter Punkt sei auf die Möglichkeit einer genetisch bedingten Wundheilungsstörung oder Bindegewebsstörung als Ursache einer Restenosierung hingewiesen. So wurde vereinzelt Keloidbildung nach TEA bei Restenosepatienten beobachtet (32). Daneben kann möglicherweise die Gefäßrestenose nach mechanischer Manipulation auch in Analogie zu einer hypertrophen Narbenbildung gesehen werden, da diese ebenfalls mikropathologisch durch eine persistierende, immunhistochemisch SM-(alpha)Actin-positive Myofibroblastenanhäufung gekennzeichnet ist (36,37,40). Ursächlich dafür soll unter anderem eine Dysregulation apoptotischer Regelmechanismen und eine unkoordinierte Einflußnahme bestimmter, bei Gefäßläsionen ebenfalls involvierter Mediatoren sein (1,51). Untersuchungen über eine derartige überschießende Narbenbildung auch an Gefäßstrukturen existieren bisher jedoch nicht.

All diesen Mechanismen gemein ist eine initiale Traumatisierung des arteriellen Abschnitts, welcher einer TEA unterzogen wird. Die Folge ist ein Wundheilungsprozeß, der in seinem Ausmaß möglicherweise durch eine Aktivierung in der Gefäßwand vorhandener inflammatorischer Potentiale und eine konsekutive Steigerung der Zellreduplikationsrate geprägt wird.

Tabelle 1: Literaturzusammenstellung der signifikanten Risikofaktoren einer Restenosierung der A. carotis nach TEA.

Autoren	Risikofaktoren	Studiendesign
Maki H. S. (74)	Alter >70Jahre, weibliches Geschlecht, Plaqueluzeration	unizentrisch, retrospektiv, unabhängige Risikofaktoren
Reilly L. M. (97)	intraoperative Defektgröße, arterielle Hypertonie, Rauchen, Hypercholesterinämie	prospektiv
Avramovic J. R. (8)	arterielle Hypertonie	multivariate Analyse, Kollektiv aus frühen und späten Rezidivstenosen, retrospektiv, unizentrisch
Pedrini L. (89)	Rauchen kombiniert mit geringem Alter	retrospektiv
Cosman A. D. (32)	arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie,	follow-up Studie
Colyvas N. (31)	LDL-Erhöhung, HDL-Erniedrigung	unabhängige Risikofaktoren, multivariate Analyse,
Rapp J. H. (96)	arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie	retrospektiv
Healy D. A. (52)	weibliches Geschlecht	life table Analyse (Restenosezeitraum bis 7 Jahre, Mittel 13 Monate) prospektiv, multizentrisch
Clagett G. P. (28)	Rauchen, geringes Alter, weibliches Geschlecht	Fall-Kontroll Studie, Kollektiv aus frühen und späten Restenosen (restenosefreies Intervall von 6 bis 180 Monate)
Nicholls S. C. (83)	weibliches Geschlecht	prospektiv
Anderson A. (2)	weibliches Geschlecht	prospektiv, Primärverschuß der Arteriotomie
Johnson C. A. (58)	weibliches Geschlecht	prospektiv, unizentrisch
Cuming R. (33)	Rauchen, weibliches Geschlecht kombiniert mit Hypercholesterinämie	prospektiv, follow up-Studie
Dempsey R. J. (35)	Rauchen	unabhängiger Risikofaktoren, prospektiv

Fragestellungen

Ziel dieser explorativen Arbeit ist es, prognostische Faktoren für eine frühe Restenosierung der A. carotis nach erfolgter TEA zu eruieren.

Dazu wurden retrospektiv histomorphologische und immunhistochemische Charakteristika sowie insbesondere das Proliferationsgeschehen in Operationspräparaten arteriosklerotischer Primärläsionen die von einer Restenose gefolgt waren erfaßt (dieses Kollektiv wird mit CPR bezeichnet). Als Kontrollgruppe dienten Desobliterationspräparate primärarteriosklerotischer Läsionen der A. carotis von Patienten ohne Ausbildung einer Restenose (bezeichnet mit CP).

Folgende Fragestellungen fanden bei der statistischen Auswertung Berücksichtigung:

1. Häufigkeit und Kolokalisationen der wesentlichen im Plaquegewebe repräsentierten Zellpopulationen?
2. Gibt es zelluläre und histomorphologische Charakteristika in definierten Plaqueregionen, die mit zellulärer Proliferation vergesellschaftet sind?
3. Bestehen Beziehungen der klinischen Parameter zum Proliferationsindex?
4. Finden sich Anhaltspunkte für eine unterschiedliche zelluläre und histomorphologische Plaquezusammensetzung im Vergleich zur Kontrollgruppe?
5. Lassen sich Unterschiede in den klinischen Charakteristika und in der Risikofaktorverteilung der Untersuchungsgruppen aufzeigen?
6. Gibt es Hinweise auf unterschiedliche proliferative Aktivität im Vergleich zur Kontrollgruppe?

2. Patientengruppen und Methodik

2.1. Untersuchungsgut

In einer retrospektiven Analyse wurde archiviertes, in Paraffin eingebettetes Plaquegewebe von insgesamt 25 Patienten des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München und des Städtischen Krankenhauses Neuperlach München untersucht, bei denen in den Jahren 1990-1997 eine Carotis-Desobliteration durchgeführt wurde. Die Entnahme der Gefäßzylinder war jeweils im Rahmen einer Routineoperation (TEA mit Patcherweiterungsplastik) erfolgt.

Das Studienkollektiv wird im folgenden mit CPR (Carotisstenose primär mit früher Restenose) bezeichnet.

2.1.1. Ein- und Ausschlußkriterien

In die Studie wurde TEA-Operationsmaterial der A. carotis aufgenommen, wenn der Patient zwischen 3 und 24 Monaten nach dem Primäreingriff eine erneute TEA wegen einer Restenose erhalten hatte. Zusätzlich mußten die Diagnosesicherung und der klinische Verlauf zweifelsfrei anhand von Operationsbüchern, Krankenakten und Pathologieberichten nachvollziehbar sein.

Ausschlusskriterium war ein restenosefreies Intervall von mehr als 24 Monaten bzw. eine frühzeitige Restenoseentwicklung innerhalb von 3 Monaten postoperativ.

Bei Hinweis auf hämatologische Erkrankungen oder Bindegewebsstörungen erfolgte ebenfalls keine Aufnahme in die Studie.

Zum Ausschluß einer operationstechnisch bedingten Stenoseformierung wurden die postoperativen Angiographiebefunde und duplexsonographischen Befunde der Patienten herangezogen. Dabei stellte sich bei 10 Patienten des Kollektivs eindeutig eine neointimale Hyperplasie als Ursache der Restenosierung heraus. Bei 15 Patienten konnte anhand der Angiographiebilder eine Residualstenose oder ein operationstechnischer Mangel als Restenoseursache nicht zweifelsfrei widerlegt werden.

Aus diesen Gründen erfolgte eine Zuordnung des Kollektivs in folgende ätiologische Gruppen:

CPR-1: sicher neointimal bedingte Restenoseformierung (n=10).

CPR-2: neointimale Ursache der Restenoseformierung wahrscheinlich, ein operations-technischer Einfluß jedoch nicht sicher auszuschließen (n=15).

Bei der Auswertung erfolgte außerdem eine Unterteilung des Kollektivs CPR in die postoperativ restenosefreien Zeiträume <12 Monate und >12 Monate, um Unterschiede in Plaqueaufbau und Proliferationverhalten im Zeitverlauf explorativ erfassen zu können.

Von 9 der 25 Patienten konnten die Plauegewebe der operierten Restenosen zusätzlich ausgewertet werden (im folgenden als "Stenosepaare", bestehend aus Primärstenose- und Restenosedesobliterat bezeichnet). Von 16 der insgesamt 25 Patienten waren keine Restenosepräparate vorhanden.

2.2. Klinische Daten

2.2.1. Patientengruppe mit Restenoseausbildung nach TEA (CPR)

Die Patientencharakteristika der Gruppe CPR wurden retrospektiv anhand der Krankenakten ermittelt (Tabelle 2).

Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 64.1 Jahre, die Geschlechterverteilung männlich/weiblich 13:12. Die Beurteilung der Risikofaktoren ergab einen Anteil an Zigarettenrauchern von 48%. 60% der Patienten hatten erhöhte Cholesterinwerte, bei 44% wurde eine arterielle Hypertonie nachgewiesen und 20% litten an Diabetes mellitus.

Der Stenosegrad der primären Carotisverengungen konnte anhand duplexsonographischer bzw. angiographischer Befunde ermittelt werden.

Sämtliche Patienten hatten innerhalb von 24 Monaten eine hochgradige, erneut interventionsbedürftige Restenose entwickelt. Die Bestimmung des jeweiligen restenosefreien Intervalls erfolgte anhand duplexsonographischer Befunde von Routine-nachsorgeuntersuchungen.

2.2.2. Patientenkontrollgruppe ohne Restenoseausbildung nach TEA (CP)

Als Kontrolle wurden 22 Desobliterate der A. carotis von insgesamt 22 Patienten herangezogen, welche keine frühe Restenosierung nach TEA entwickelt hatten (Tabelle 3). Dieses Vergleichskollektiv wird im folgenden mit CP (Carotisstenosen primär) bezeichnet. Der Stenosegrad wurde jeweils dopplersonographisch und angiographisch bestimmt. Eine Restenoseausbildung konnte anhand duplexsonographischer Routinenachsorgeuntersuchungen ausgeschlossen werden.

Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 68,9 Jahre, die Geschlechterverteilung männlich/weiblich 13:9. 55% der Individuen waren Raucher, 82% litten an Hypercholesterinämie, 77% an arterieller Hypertonie und 32% an Diabetes mellitus.

Tabelle 2: Charakteristika des Patientenkollektivs CPR.

Patienten-initialen	Alter in Jahren	Geschlecht	Risiko-faktoren	Symptome Primär-stenose	Symptome Rezidiv-stenose	Stenose-grad in %	Stenosefreies Intervall in Monaten
V.P.	61	m	L,N	TIA	-	95	12.0
A.B.	43	w	D,N	-	-	80	12.0
E.K.	71	m	H,L,N	k.A.	k.A.	70	5.0
E.N.	73	w	L	TIA	-	50	7.0
T.R.	77	w	H	-	TIA	80	18.0
M.E.	68	m	N	Apoplex	Apoplex	80	6.0
R.B.	76	m	-	TIA	TIA	80	22.0
E.B.	69	w	D,H,L	-	-	80	15.0
H.S.	74	m	H,L,N	Apoplex	Am. fugax	90	18.0
D.G.	63	m	H,L,N	Apoplex	-	95	9.0
H.B.	76	w	H	-	-	80	16.5
A.C.	52	w	L	-	-	80	18.0
A.H.	62	w	L,N	k.A.	k.A.	80	11.5
H.K.	75	w	H,L	k.A.	TIA	70	8.0
R.A.	48	m	H,L	Apoplex	-	75	14.0
E.S.	66	w	H,L	Am. fugax	-	80	5.0
E.F.	65	m	N	TIA	Am. fugax	85	14.5
I.S.	61	w	H,N	-	-	40	12.0
G.K.	54	m	D,L	TIA	-	90	8.5
K-W.B.	62	m	D,N	-	-	80	19.0
J.P.	64	m	N	TIA	-	80	4.0
A.H.	78	w	L	-	-	95	7.0
F.K.	60	m	D,H,L,N	TIA	-	90	16.0
G.L.	63	m	-	Am. fugax	-	90	14.0
M.T.	41	w	-	Am. fugax	-	95	8.0

Am. fugax: Amaurosis fugax, D: Diabetes mellitus, H: arterielle Hypertonie, L: Hyperlipidämie, N: Nikotinabusus, TIA: transitorische ischämische Attacke, k.A.: keine Angaben

Tabelle 3: Charakteristika des Patientenkollektivs CP.

Patienteninitialen	Alter in Jahren	Geschlecht	Risiko- faktoren	Symptome	Stenosegrad in %
S.J.	71	m	H,L, N	-	80
B.X.	54	m	H,L,N	TIA	80
H.R.	80	w	D,H,L	-	80
B.F.	68	w	D,H,L	-	90
H.A.	61	m	L	TIA	80
A.K.	69	m	L	-	80
P.J.	71	m	L,N	-	80
M.G.	52	m	D,N	TIA	60
K.E.	64	m	H,L,N	Apoplex	90
E.V.	84	w	H	-	95
S.E.	70	w	D,H,L	TIA	95
S.P.	70	w	H	TIA	80
S.P.	75	m	H,L	TIA	80
M.J.	65	w	H,L,N	TIA	90
K.F.	65	m	D,H,L,N	-	80
R.J.	61	m	D,H,L,N	TIA	80
P.J.	71	m	H,L,N	TIA	80
G.W.	80	m	H,L,N	TIA	95
G.B.	76	w	L	TIA	80
D.C.	71	w	H,L,N	TIA	80
M.E.	59	m	H,N	-	95
Z.E.	78	w	D,H,L	TIA	95

D: Diabetes mellitus, H: arterielle Hypertonie, L: Hyperlipidämie, N: Nikotinabusus,

TIA: transitorische ischämische Attacke

2.3. Histomorphologie

Es standen insgesamt 34 formalinfixierte und in Paraffin eingebettete Desobliterate der A. carotis zur Verfügung, geeignet zur Anfertigung histologischer Präparate in sagittalen Serienschnitten. HE (Hämatoxylin-Eosin) und Elastika/van Gieson Färbungen dienten zur histomorphologischen Beurteilung. Jeweils 10 intimale Areale mit vitalen Gewebeanteilen wurden bei 400-facher Vergrößerung ausgewertet. Dabei wurde versucht, durch repräsentative Auswahl morphologisch und zellkompositorisch unterschiedlicher Gesichtsfelder das Desobliterat zu charakterisieren.

Die Abgrenzung der Gefäßintima zur Media erfolgte anhand der in der Elastika/van Gieson Färbung darstellbaren Lamina elastica interna bzw. durch ihr arteriosklerotisch verändertes aufgesplittertes Korrelat.

2.3.1. Histomorphologische Klassifizierung der Plaquegewebe

Die histomorphologische Klassifizierung der arteriosklerotischen Läsionen in die Typen I-VI erfolgte nach den Kriterien der American Heart Association (118).

Dabei wird Läsionstyp I als Initialveränderung mit isoliert im Gewebe eingelagerten Makrophagen und Schaumzellen bezeichnet. Bei Typ II lassen sich, wenngleich auch nur intrazellulär gelegen, Lipidansammlungen (sog. fatty streaks) feststellen, die sich beim Läsionstyp III zusätzlich auch extrazellulär manifestieren. Typ IV stellt den Übergang zum klassischen Atherom mit Ausbildung einer atheromatösen Kernregion dar (sog. lipid core). Die Typ V Läsion zeichnet sich durch eine deutliche Lumeneinengung aus. Dabei werden aufgrund unterschiedlicher Plaquezusammensetzung drei Subtypen unterschieden: Typ Va, das sog. Fibroatherom mit einem hohen Lipidanteil und großem lipid core, Typ Vb mit kalzifizierten Plaqueanteilen und Typ Vc, charakteristischerweise ohne lipid core, jedoch mit stark fibrotisch durchbautem Plaquegefüge. Bei der Typ VI Läsion kompliziert sich der Plaqueaufbau zusätzlich noch durch Oberflächendefekte (Typ VIa), Einblutungen (Typ VIb), oder Thrombusformierung (Typ VIc).

2.3.2. Definition der histomorphologischen Charakteristika

Arteriosklerotische Gefäßwandveränderungen unterliegen in ihrem Fortschreiten zellulären und morphologischen Veränderungen. Zudem zeigt die histomorphologische Momentaufnahme bei mikroskopischer Betrachtung paraffineingebetteter Läsionspräparate deutlich die Komplexität und Heterogenität im Plaqueaufbau. So können nahezu avitale kollagen-, fibrin-, kalk- oder cholesterinreiche Bezirke von reaktiven, zellreichen Arealen mit Reparatur-, Umbau- und Entzündungsprozessen unterschieden werden.

In dieser Studie wurde eine Beurteilung der untersuchten Desobliterate durch Auswahl repräsentativer Gesichtsfelder im Sinne einer Charakterisierung angestrebt.

Schaumzellen, Lymphozyten und Siderophagen wurden als vorhanden gewertet, wenn pro Gesichtsfeld mehr als 5 Zellen des jeweiligen Typs identifizierbar waren.

Ein lymphozytäres Infiltrat wurde als dichte fokale Ansammlung von wenigstens 50 Lymphozyten pro Gesichtsfeld definiert.

Die Zellverteilung wurde als homogen beurteilt, wenn in allen Arealen eines Gesichtsfelds die Zellzahl annähernd identisch war und ein einheitlicher Zelltypus vorherrschte.

Die Zellausrichtung galt als laminär, wenn länglich-spindelförmige Zellkerne überwiegend in gerichteter Anordnung parallel zur luminalen Oberfläche anzutreffen waren.

Kriterium für einen intramuralen Thrombus war eine Ablagerung von Erythrozyten, Fibrin sowie Organisationszeichen wie Siderophagen oder einsproßende Gefäße. Kriterium für eine intramurale Einblutung (Plauehämorrhagie) stellten ins Gewebe eingelagerte Erythrozyten und zur Abgrenzung einer operationsbedingten Einblutung, Phagozytoseereignisse durch Makrophagen (Siderophagen) dar.

Extrazelluläres Cholesterin wurde dokumentiert, wenn entweder eine charakteristische Spaltbildung in der Gewebefaserstruktur oder wetzsteinförmige Cholesterinkristalle zu erkennen waren.

Als Verkalkung wurde eine entweder feingranulär-dissiminierte oder grobschollig-fokale Kalkablagerung definiert.

Neovaskularisationen wurden anhand des Anschnitts einer Kapillare in Kombination mit wenigstens einer Faktor VIII-positiven Endothelzelle identifiziert.

Mediaanteile bzw. mediaintimaler Übergang wurden ausgewertet, wenn ein mindestens semizirkulärer Anschnitt in Elastika/van Gieson Färbung zweifelsfrei identifizierbar war.

In diesen medialen Arealen wurde die Zellzahl pro Gesichtsfeld und die Summe der proliferierenden Zellen pro Gesamtpräparat ausgewertet.

2.4. Immunhistochemie

Immunhistochemische Nachweisverfahren über monoklonale Primär- und Sekundärantikörper dienten in Serienschnitten zur Zelldifferenzierung (Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Lymphozyten und Makrophagen) und zum Nachweis proliferationsassoziiierter Antigene. Dabei hatten sich alle verwendeten Reagenzien, Detektions- und Färbemethoden bereits in der klinischen Routineanwendung bewährt.

2.4.1. Immunhistochemische Detektionsverfahren

Als immunhistochemisches Detektionsverfahren der Antigen-Antikörperbindungen bei dem Nachweis von Endothelzellen und glatten Muskelzellen wurde die APAAP-Methode (**A**lkalische **P**hosphatase-**A**nti **A**lkalische **P**hosphatase) verwandt. Die EPOS-Methode (**E**nhanced **P**olymer **O**ne **S**tep **S**taining) wurde bei der Identifizierung von Makrophagen eingesetzt. Lymphozyten konnten mit Hilfe des LSAB-Detektionsverfahrens (**L**abeled **S**trept **A**vidin **B**iotin Methode) dargestellt werden. Der Nachweis proliferierender Zellen gelang mit Hilfe des ABC-Verfahrens (**A**vidin **B**iotin **C**omplex).

Im Folgenden werden die einzelnen Methoden deskriptiv aufgezeigt.

APAAP-Nachweismethode:

Bei dieser Methode bindet ein Primärantikörper an das entsprechende Antigen der zu identifizierenden Zelle. Ein daran koppelnder Brückenantikörper kann nun durch den zugegebenen APAAP-Komplex erkannt werden. Letzterer besteht aus monoklonalen Maus-IgG-Antikörpern gegen alkalische Phosphatase, wobei es zu einer

spezifischen Konjugation kommt. Eine Reaktionsverstärkung kann durch Mehrfachbindung des APAAP-Komplexes erzielt werden.

EPOS-Nachweismethode:

Bei diesem Verfahren wird bereits an den spezifischen Primärantikörper ein mit multiplen Peroxidaseenzymen besetztes Dextranpolymer direkt gebunden. Dadurch wird eine Reaktionsverstärkung erreicht, der methodische Arbeitsaufwand bleibt verhältnismäßig gering.

ABC-Nachweismethode:

Bei dieser Methode bindet an den Primärantikörper ein biotinylierter Brückenantikörper. Auf der Basis der hohen Affinität von Avidin zu Biotin koppelt im nächsten Schritt der zugegebene Avidin-Biotin-Komplex (drei von vier möglichen Biotinbindungsstellen am Avidin sind besetzt) an den genannten biotinylierten Brückenantikörper (die freie vierte Biotinbindungsstelle am Komplex wird besetzt).

LSAB-Nachweismethode:

Bei dieser Methode nutzt man, nach erfolgter Bindung des Primärantikörpers an das Antigen, ebenfalls die Affinität eines biotinylierten Brückenantikörpers zu einem zugesetzten Avidin-Enzymkonjugat. Da dieses, im Gegensatz zur ABC-Methode, nicht bereits primär partiell biotinyliert ist, stehen mehrere Bindungsstellen für eine Reaktionsverstärkung zur Verfügung.

2.4.2. Zellspezifische Antigene als Konjugationsstelle der verwendeten primären Antikörper

Für den Nachweis proliferativer Aktivität unter den Zellen der arteriosklerotischen Plaques dienten spezifische Antikörper gegen das Antigen Ki-67. Die Expression dieses Antigens ist mit allen aktiven Phasen des Zellzyklus assoziiert und gilt als spezifisch für reduplikative DNS-

Syntheseaktivität. Ki-67 ist ein Kernantigen mit einem Molekulargewicht von 345 kD, welches als Hilfsenzym der DNS-Polymerase in der späten G1-, S-, G2- und Metaphase exprimiert wird. Es läßt sich am formalinfixierten Präparat durch den monoklonalen Antikörper MIB1 nach entsprechender Vorbehandlung nachweisen (27,48).

Zur Identifizierung von Makrophagen wurde ein Antikörper gegen CD68 verwendet. Dieses Antigen ist Bestandteil eines für humane Makrophagen, Kupferzellen und Langerhanszellen charakteristischen Glykoproteins mit einem Molekulargewicht von ca. 110 kD. Die Expression dieses Moleküls erfolgt überwiegend intrazytoplasmatisch (93,94,106).

T-Lymphozyten ließen sich mit einem höchst spezifischen Antikörper gegen den intrazytoplasmatischen Anteil des CD3 Antigens nachweisen. Dieses Protein besteht aus fünf Polypeptidketten (gamma, delta, epsilon, zeta und eta) mit einem Molekulargewicht zwischen 16 kD und 28 kD (41).

Neovaskularisationen wurden durch Antikörper gegen Faktor VIII, ein subendothelial gelegenes oligomeres Glykoprotein, zur Darstellung gebracht (82).

Der Nachweis glatter Muskelzellen konnte mit Hilfe von Antikörpern gegen einen 42 kD schweren Proteinanteil des Actinmoleküls erreicht werden (50,59,91).

Bei der Identifizierung von Plasmazellen kam keine immunhistochemische Färbemethode zur Anwendung. Diese Zellform konnte anhand der in der HE-Färbung gut zu erkennenden charakteristischen Merkmale wie Zellform, dezentraler Zellkern, Chromatinstruktur (Radspeichenanordnung) und perinukleärer Hof bestimmt werden.

2.4.3. Vorgehensweise bei den immunhistochemischen Färbungen

Bei der Anfertigung der immunhistochemischen Färbungen wurden jeweils 3µm dicke Schnitte über Nacht im Brutschrank bei 60° C getrocknet, anschließend entparaffiniert und mit Trispuffer gewaschen.

Im Anschluß an jeden der nachfolgend aufgeführten Schritte der einzelnen Färbungen erfolgte jeweils für 5 Minuten eine Behandlung mit Trispuffer.

Einen zusammenfassenden Überblick der verwendeten immunhistochemischen Marker zeigt nachfolgend Tabelle 4.

2.4.3.1. MIB-DAB Färbung

Für diese immunhistochemische Färbung wurde das Vectastain ABC Elitekit Pk 6102 Maus IgG (Dianova, Hamburg) verwendet (s. Kontrollfärbung Abb. 7).

Zunächst erfolgte die Vorbehandlung der entparaffinierten Schnitte für insgesamt 20 min. mit Xylol und für jeweils 5 min. mit Isopropanol 100%, Alkohol 96% und Alkohol 70%. An diesen Vorgang schloß sich die Andauung des Präparates in der Mikrowelle durch Kochen in Citratpuffer an. Nun erfolgte die Blockung der endogenen Peroxidase mit 3% H₂O₂-Lösung und die Inkubation in der feuchten Kammer mit dem Primärantikörper gegen KI-67 bei Raumtemperatur für 2 Stunden. Nach Applikation des biotinylierten Zweitantikörpers wurden die Schnitte für 30 min. in der feuchten Kammer inkubiert. Die anschließende Entwicklung erfolgte mit 0.1% 3'3'-Diaminobenzidin (DAB)-Lösung unter Zusatz des Streptavidin-Enzymkomplexes (Peroxidase). Die Gegenfärbung erfolgte mit Hämalaun. Nach der Behandlung mit einer aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol wurde das Präparat abschließend mit Eukitt eingedeckt.

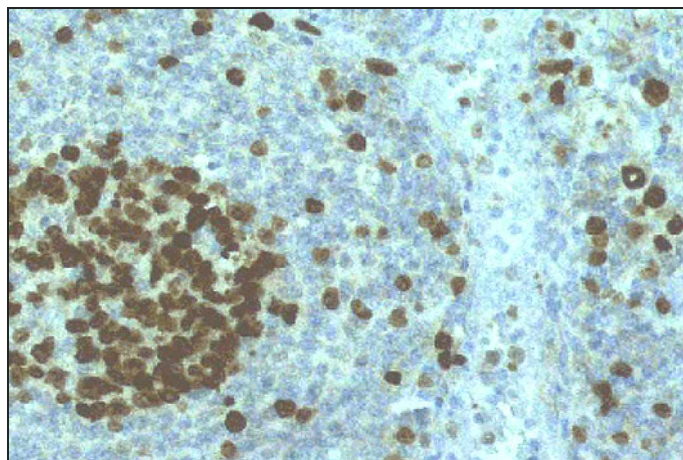


Abbildung 7:

Nachweis von KI-67 positiven Zellkernen (Dunkelfärbung) in einem Lymphknoten. (Vergrößerung 400-fach).

2.4.3.2. SM-(alpha)ACTIN-APAAP Färbung

Verwendet wurde das Dako ChemMate Detection Kit, APAAP, Maus (Dako, Hamburg) (s. Kontrollfärbung Abb. 8).

Die immunhistochemische Färbung glatter Muskelzellen (SMC) erfolgte nach entsprechender Vorbehandlung (siehe MIB-DAB Färbung) zunächst mit der Applikation des monoklonalen Primärantikörper gegen SM-(alpha)Actin und einer Inkubation in der feuchten Kammer für 2 Stunden. Nach Zugabe des Brückenantikörpers und erneuter Inkubation für 30 min. wurde der APAAP-Komplex zugesetzt und erneut inkubiert. Abschließend folgte die Entwicklung mit Fast Red und eine Gegenfärbung mit Hämalaun. Diese Präparate wurden mit Glyceringelatine eingedeckt.

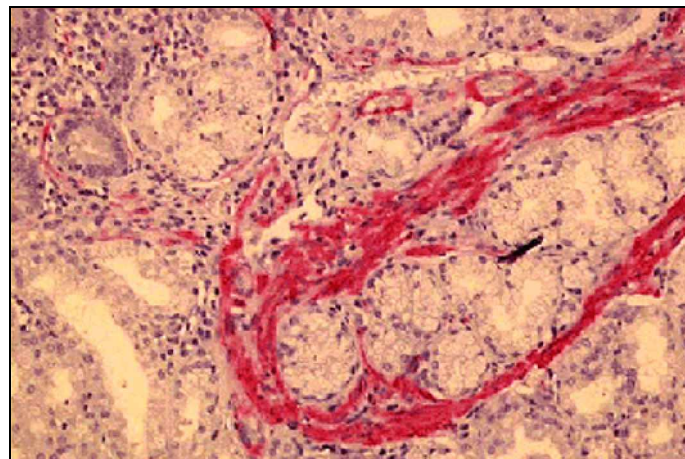


Abbildung 8:

Nachweis glatter Muskelzellen im Stroma eines Jejunumabschnitts über die rote Anfärbung des intrazellulären SM-(alpha)Actin Proteins. (Vergrößerung 400-fach).

2.4.3.3. CD3-DAB Färbung

Verwendet wurde das Dako ChemMate Detection Kit, Peroxidase/DAB, Kaninchen/Maus (Dako, Hamburg) (s. Kontrollfärbung Abb. 9).

Zur Identifizierung von Lymphozyten wurde das T-Zell-spezifische Antigen CD3 mit einem polyklonalen Antikörper immunhistochemisch dargestellt. Hierfür wurden die entparaffinierten Schnitte durch Kochen in Citratpuffer für 4 min. vorbehandelt, mit 3% H₂O₂ für 15 min.

geblockt und mit dem primären Antikörper bei Raumtemperatur für 60 min. inkubiert. Anschließend erfolgte die Inkubation mit dem biotinylierten Zweitantikörper für 30 min. Danach wurde Streptavidinperoxidase zugegeben und über DAB entwickelt. Die Eindeckung des Präparates erfolgte abschließend mit Eukitt.

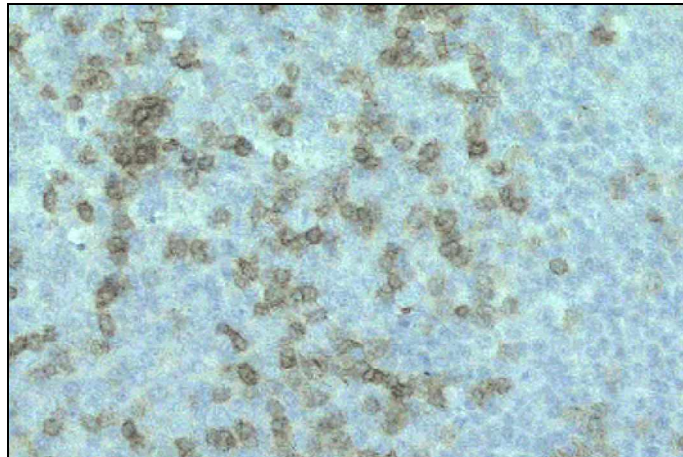


Abbildung 9:

Immunhistochemischer Nachweis von CD3- positiven Lymphozyten in einem Lymphknoten durch Braunfärbung. (Vergrößerung 400-fach).

2.4.3.4. CD68-DAB Färbung

Verwendet wurde das Dako Epos System, DAB, Maus (Dako, Hamburg)
(s. Kontrollfärbung Abb. 10).

An die entsprechende Vorbehandlung schloß sich eine Andauung mit Pronase (0.1%) für 7 min. an. Nach dem Blocken mit 3% H₂O₂ wurde der primäre Antikörper (AK CD68) aufgetragen und anschließend eine Stunde in der feuchten Kammer inkubiert. Die Entwicklung erfolgte mit DAB. Nach der Neutralisation mit 0.05% Natriumhydrochloridlösung wurde mit Hämalaun gegengefärbt. Die Eindeckung des Präparates mit Eukitt erfolgte nach vorangegangener Behandlung mit einer aufsteigenden Alkoholreihe und Xylol.

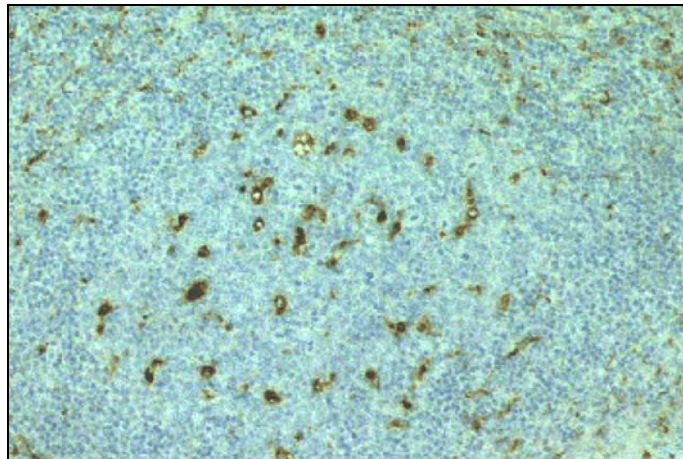


Abbildung 10:

Nachweis von CD68 positiven Makrophagen in einem Lymphknoten durch die dunkelbraune zytoplasmatische Anfärbung . (Vergrößerung 100-fach).

2.4.3.5. FAKTOR VIII-APAAP Färbung

Verwendet wurde das Dako ChemMate Detection Kit, APAAP, Maus (Dako, Hamburg) (s. Kontrollfärbung Abb. 11).

Nach entsprechender Vorbehandlung erfolgte eine 7-minütige Andauung mit Pronase (0.1%) und die anschließende Inkubation mit dem primären Antikörper für 2 Stunden in der feuchten Kammer. Im Anschluß daran wurde die Inkubation mit dem Brückenantikörper für 30 min. durchgeführt. Nach Zusatz des APAAP Komplexes für ebenfalls 30 min. erfolgte die Entwicklung mit Fast Red. Für die Gegenfärbung kam Hämalaun zur Anwendung. Die Einbettung erfolgte mit Glyceringelatine.



Abbildung 11:

Darstellung der Kapillarisierung in einem plazentalen Gewebeschnitt über die immunhistochemische Anfärbung des endothelialen Faktor VIII Antigens (Pfeile, deutliche Rotfärbung). (Vergrößerung 100-fach).

Tabelle 4: *Zusammenfassung der zellspezifischen Antigene, der Antikörperklone, der immunhistochemischen Detektionsmethoden und der Entwicklungsart.*

Antigen	Spezifität	Antikörperklon	Detektionsverfahren	Entwicklung
Faktor VIII	Endothelzellen	F8/86 (Dako) Maus	APAAP	Fast Red
SM-(alpha)Actin	glatte Muskelzellen	KHF 35 (Dako) Maus	APAAP	Fast red
CD68	Makrophagen	TG-M1 (Dako) Maus	EPOS	DAB
CD3	T-Zellen	polyklonal (Dako) Kaninchen/Maus	LSAB	DAB
Ki-67	proliferierende Zellen	MIB 1 (Dianova) Maus	ABC	DAB

2.5. Statistik

Die bei der oben beschriebenen mikroskopischen Auswertung der Carotisplaquegewebe und die bei der Analyse des Risikoprofils der Patientenkollektive gewonnenen Daten wurden in dieser Arbeit statistisch in Beziehung gesetzt. Alle Berechnungen erfolgten dabei auf der Basis des Datenverarbeitungsprogramms SAS Release 8 (Dec/Linux) (Firma SAS).

Als mathematisch-statistisches Testverfahren wurde bei der Gegenüberstellung der Plauekomponenten innerhalb einer Gruppe der Spearman Koeffizient zugrunde gelegt. Dieses Verfahren eignet sich für quantitative Untersuchungen nicht-normalverteilter Beobachtungsparameter.

Bei dem Vergleich der beiden Gruppen CP und CPR bezüglich des Risikoprofils der Patienten wurde der exakte Test nach Fisher verwandt. Dieser Test zeigt qualitative Zusammenhänge bei kleiner Beobachtungszahl auf.

Bei größeren Beobachtungszahlen, wie sie bei Vergleich der Plauekomponenten zwischen den Gruppen CP und CPR vorliegen, erfolgten die statistischen Berechnungen anhand des χ^2 -Tests.

Die Signifikanzgrenze beträgt bei den Tests nach Fisher und Spearman $p \leq 0.05$, beim χ^2 -Test $p \leq 0.001$.

Wegen der geringen Fallzahl wurde auf eine gesonderte Signifikanzprüfung der zellulären Merkmale eines Präparates in Bezug auf Stenosegrad (Klassifikation nach der American Heart Association), diverse Gefäßwandschichtung (lumennahe Intima, tiefe Intima) und Morphologie (homogene, inhomogene, laminäre Zellverteilung) verzichtet.

3. Ergebnisse

3.1. Ergebnisse aus der Gruppe CPR

3.1.1. Zelluläre Komponenten der Gruppe CPR

Das Patientenkollektiv CPR wies eine mittlere intimale Zelldichte von 238 ± 186 Zellen pro Gesichtsfeld auf.

Nach entsprechender immunhistochemischer Behandlung zeigten 39.3% der untersuchten Gesichtsfelder CD68-Positivität als Indiz für das Vorkommen von Makrophagen auf.

Anti-CD3 als Marker für T-Lymphozyten konnte in 67.9% der Gesichtsfelder, SM-(alpha)Actin als Marker für glatte Muskelzellen in 40.1% der Gesichtsfelder nachgewiesen werden.

Nebenbefundlich ließen sich durch morphologische Charakterisierung in 18 der 25 untersuchten Desobliterate Plasmazellen identifizieren.

Bei Durchsicht aller 34 carotidaler Stenosepräparate konnten bis auf ein Rezidivstenosepräparat Lymphozyten in intimalen Gefäßwandarealen nachgewiesen werden. Lymphozytäre Infiltrate wurden dabei in 17 der Primärstenosepräparate und in 4 der Rezidivstenosepräparate gefunden.

Schaumzellen waren in 23 aus 25 Primärstenosepräparate und in 5 aus 9 untersuchten Restenosepräparaten enthalten.

Siderophagen wiesen 21 der 25 Primärstenosen auf. In den Rezidivstenosen war dieser Zelltypus nicht präsent.

Kapitel 3.1.6. zeigt darüber hinaus die Koexpressionen der zellspezifischen immunhistochemischen Marker in Gruppe CPR auf.

3.1.2. Proliferative Aktivität in Gruppe CPR

In der Gruppe CPR fand sich eine Immunreaktivität für Ki-67 in der Gefäßintima in 14 der 25 untersuchten Präparate (Abb. 12, Abb. 13).

Der mittlere PI betrug dabei $1.5 \pm 4.7\%$. Die proliferativ aktiven Zellarten waren überwiegend Makrophagen und glatten Muskelzellen zuzuordnen.

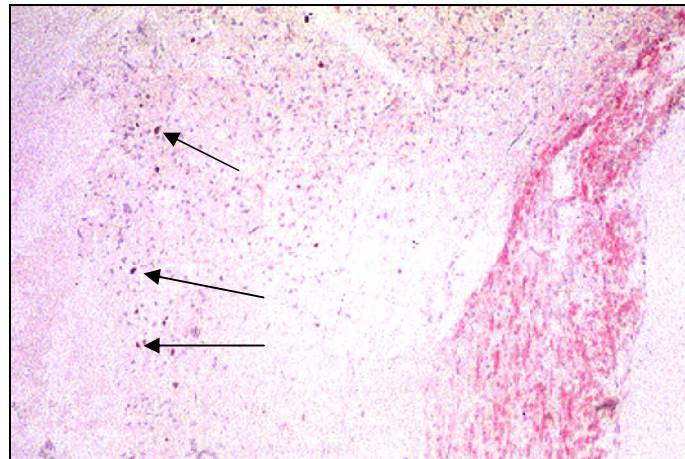


Abbildung 12:

Immunhistochemische Doppelfärbung der arteriosklerotisch veränderten A. carotis interna (alpha-Actin und MIB-DAB). Gut zu erkennen die rotgefärbte muskellreiche Media.

In der tiefen Intima lassen sich via nukleärer Braunfärbung mehrere proliferierende Zellen nachweisen (Pfeile). (Vergrößerung 100-fach).

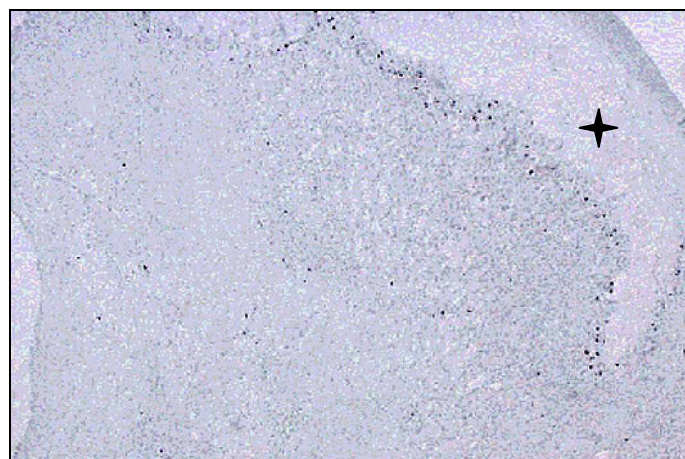


Abbildung 13:

Gehäuftes Auftreten proliferativer Aktivität (KI-67 positive dunkle Zellkerne) im Randbereich einer lipidreichen Plaqueregion (lipid core, Stern) in der Intima der A. carotis interna. (MIB-DAB-Färbung, Vergrößerung 25-fach).

Korrelationen des Proliferationsindex zu den zellulären Parameter der Gruppe CPR finden sich nachfolgend in Kapitel 3.1.5..

3.1.3. Beziehung des Proliferationsindex zu klinischen Parametern der Gruppe CPR

Bei Rauchern zeigte sich im Vergleich zu Nichtrauchern ein höherer Anteil an proliferierenden Zellen im Plauegewebe (PI: $1.2 \pm 1.1\%$ vs. $0.9 \pm 1.4\%$, Spearman $p < 0.005$).

Diabetiker wiesen einen niedrigeren PI gegenüber Nicht-Diabetikern auf (PI: $0.4 \pm 0.5\%$ vs. $1.2 \pm 1.3\%$, Spearman $p < 0.03$).

Bei Korrelation der intimalen Ki-67 Expression mit dem numerischen Alter der Patienten zeigte sich eine nicht signifikant erhöhte Proliferation bei jüngeren Patienten ($p = 0.12$).

Bei Untersuchung des Restenose-Risikofaktors Geschlecht konnte tendenziell ein höherer PI bei Frauen als bei Männern beobachtet werden (PI: $1.2 \pm 1.4\%$ vs. $0.9 \pm 1.1\%$, $p = 0.12$).

Für die Risikofaktoren Hyperlipidämie und Hypertonie fand sich keine relevante Korrelation zum PI.

3.1.4. Morphologische Klassifizierung der Plauegewebe und Korrelationen des Proliferationsindex zu morphologischen Parametern in Gruppe CPR

Insgesamt wiesen die 25 untersuchten Plauegewebe der Gruppe CPR Merkmale einer fortgeschrittenen Arteriosklerose auf. Dabei konnten acht der Präparate nach der Klassifikation der American Heart Association unter Läsionstyp VI, fünf unter Typus Vb und sieben unter Typus Va eingeteilt werden. Drei der Präparate zeigten Charakteristika des Läsionstyps IV, zwei des Läsionstyp III. Eine eindeutige Zuordnung der proliferativen Aktivität zu histomorphologischen Charakteristika wie Thrombusformierung, laminäre oder homogene Zellanordnung war nicht nachweisbar.

3.1.5. Korrelationen des Proliferationsindex zu zellulären Parametern der Gruppe CPR

Im nun folgenden Abschnitt werden Beziehungen des PI zu den einzelnen zellulären Parametern der untersuchten Plaques aus Gruppe CPR, sowie aus den Untergruppierungen (CPR-1, CPR-2 und restenosefreie Intervalle >12 Mo, <12 Mo) vorgestellt. Die Werte geben den Korrelationskoeffizienten nach Spearman wieder.

1. Es fand sich eine enge Korrelation des PI zur **Zellzahl**. Diese Beziehung war sowohl in Gesamtkollektiv CPR ($p=0.0001$) wie auch in sämtlichen Untergruppen zu beobachten (CPR-1 $p=0.0026$, CPR-2 $p=0.0024$, <12 Mo $p=0.0029$, >12 Mo $p=0.0005$).
2. Der PI zeigte eine signifikante Korrelation zur **CD68**-Positivität in der Gruppe CPR ($p=0.0013$), sowie in den Untergruppen CPR-1 ($p=0.0323$), CPR-2 ($p=0.0196$) und >12 Mo ($p=0.0002$) (Abb. 14). Eine Ausnahme bildete die Untergruppe <12 Mo mit einer nicht-signifikanten Korrelation dieses Parameters ($p=0.4699$).
3. Der PI korrelierte ferner signifikant positiv mit dem T-Lymphozytenmarker **CD3** in dem Gesamtkollektiv CPR ($p=0.0354$) und in der Untergruppe <12 Mo ($p=0.0029$) (Abb. 15). In CPR-1 ($p=0.1225$), CPR-2 ($p=0.4122$) und in der Untergruppe >12 Mo ($p=0.6755$) ergaben sich keine signifikanten Abhängigkeiten.
4. Weder im Gesamtkollektiv CPR ($p=0.8534$), noch in einer Untergruppe ergab sich eine signifikante Korrelation des Proliferationsindex zu **SM-(alpha)Actin**, dem Marker glatter Muskelzellen. Die gesonderte Betrachtung dieses Parameters in der Untergruppe CPR-2 zeigte dabei eine positive Korrelation ($p=0.1829$); in der Untergruppe CPR-1 ergab sich hingegen eine negative Korrelation ($p=0.1451$).
Ähnlich verhielten sich die Beziehungen in den nach restenosefreiem Intervall eingeteilten Untergruppen. In der Gruppe >12 Monate korrelierte der Proliferationsindex positiv mit dem SM-(alpha)Actin-Vorkommen im Plaquetgewebe ($p=0.8775$), in der Gruppe <12 Monate jedoch negativ ($p=0.9350$).

5. Bei 20 der 25 Desobliterationspräparate konnten für eine Auswertung ausreichend große Areale mit eindeutig zu erkennenden Mediaanteilen verwendet werden. Dabei wiesen 10/20 Präparaten **Ki-67** positive Zellen in medialen Schichten auf. Die Zelldichte, die Präsenz von Makrophagen und T-Lymphozyten und die morphologischen Parameter spielten in diesen Mediaarealen keine signifikante Rolle in Bezug auf die Ausprägung der Ki-67 Expression. Bei den proliferierenden Zellen handelte es sich überwiegend um glatte Muskelzellen.

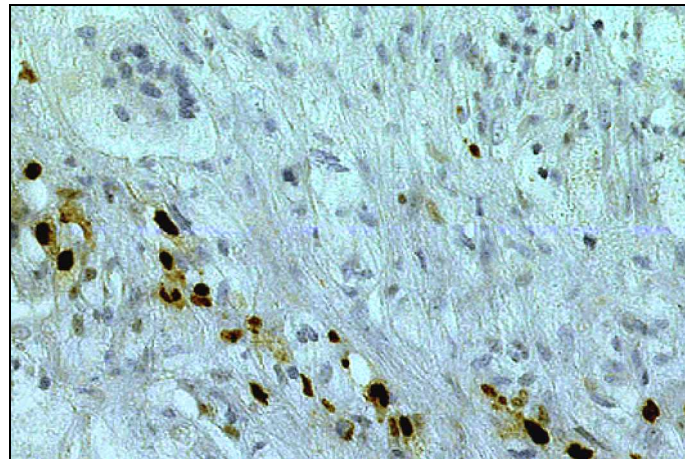


Abbildung 14:

Nachweis proliferierender Makrophagen in einer intimalen arteriosklerotischen Läsion der A. carotis interna durch MIB-DAB-Färbung (nukleäre Braunfärbung). Die hellbraunen feinen Granula entsprechen intrazellulärem, phagozytiertem Material (z.B. Siderin). (Vergrößerung 400-fach).

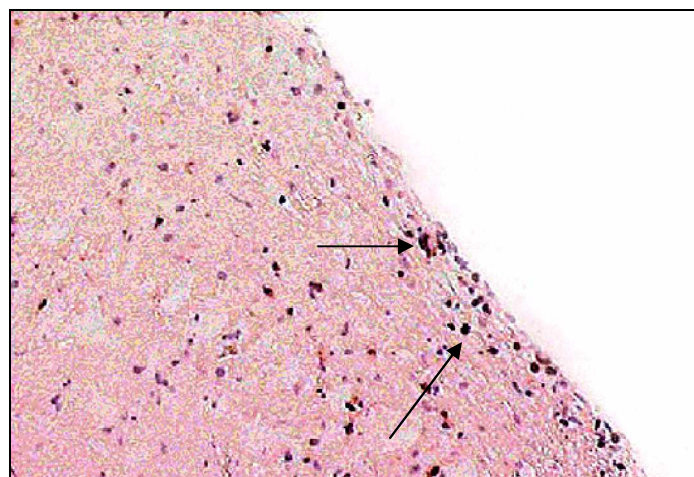


Abbildung 15:

CD3-positive Lymphozyten in der subendothelialen und lumennahen Intima einer arteriosklerotischen Läsion der A. carotis interna (Braunfärbung rundlicher Zellkerne, Pfeile). (Vergrößerung 400-fach).

3.1.6. Koexpression zellspezifischer immunohistochemischer Marker in der Gruppe CPR

Die Auswertung der zellspezifischen Parameter ergab folgende Korrelationen (berechnet wurde der Spearman Korrelationskoeffizient; signifikante Werte ≤ 0.05):

1. Das Makrophagenvorkommen (CD68-Positivität) zeigte in CPR eine signifikante Korrelation zur Zellzahl ($p=0.0261$). Keine Signifikanz erreichten die Werte in den jeweiligen Untergruppen (CPR-1, $p=0.3089$; CPR-2, $p=0.0596$; <12 Mo, $p=0.1427$; >12 Mo, $p=0.0612$).

Ferner wurde innerhalb der Gruppe CPR für die mit CD68 als Makrophagen identifizierten Zellen eine signifikant negative Korrelation mit dem Vorkommen SM-(alpha)Actin-positiver glatter Muskelzellen ermittelt ($p=0.0001$). Ebenso verhielten sich die Beziehungen dieser Parameter in den Untergruppen CPR-1, CPR-2, <12 Mo und >12 Mo (für alle Subkollektive gilt $p=0.0001$).

In keinem untersuchten Kollektiv konnte zu dem mit Hilfe des CD3-Antigens nachgewiesenem Lymphozytenvorkommen eine signifikante Beziehung zur CD68-Positivität nachgewiesen werden (CPR, $p=0.8012$; CPR-1, $p=0.1619$; CPR-2, $p=0.1456$).

2. In dem Kollektiv CPR konnte eine signifikante Beziehung der SM-(alpha)Actin-positiven Zellen mit CD3 positiven Lymphozyten nachgewiesen werden ($p=0.0377$). In den Untergruppen ergaben sich jedoch nur nicht-signifikante Beziehungen dieser Parameter (CPR-1, $p=0.1689$; CPR-2, $p=0.1675$; <12 Mo, $p=0.1182$; >12 Mo, $p=0.3982$).

Das Vorkommen SM-(alpha)Actin-positiver Zellen zeigte keine Abhängigkeit von der Zelldichte (CPR, $p=0.4240$; CPR-1, $p=0.8609$; CPR-2, $p=0.4603$; <12 Mo, $p=0.3881$; >12 Mo, $p=0.8845$).

3. Bei Betrachtung der Beziehungen zwischen der CD3-Positivität und der Zellzahl zeigte sich eine positive signifikante Korrelation in der Gesamtgruppe CPR ($p=0.0006$), der Untergruppe CPR-1 ($p=0.0004$) und <12 Mo ($p=0.0032$). Nicht-signifikant war die Korrelation jedoch in der Untergruppe CPR-2 ($p=0.2101$) und der Untergruppe >12 Mo ($p=0.1021$).

Tabelle 5 gibt einen Überblick über alle ermittelten Korrelationen bzw. Kollokationen in der Gruppe CPR. Dabei wurde auch die Unterteilung in die durch Ätiologie und Restenosezeit definierten Subkollektive berücksichtigt.

Tabelle 5: *Korrelationen der Plaquezellen aus der Gruppe CPR, differenziert nach dem Gesamtkollektiv sowie nach restenosefreiem Intervall und Ätiologie. (Korrelationskoeffizient nach Spearman, Signifikanzgrenze ≤ 0.05). Die Angaben beziehen sich auf das Vorkommen in den untersuchten Gesichtsfeldern.*

Parameter	Bezug	Gesamt (CPR)	CPR-1	CPR-2	stenosefreies Intervall <12 Mo	stenosefreies Intervall >12 Mo
%CD68	Ki-67	0.0013	0.0323	0.0196	0.4699	0.0002
%CD3	Ki-67	0.0354	0.1225	0.4122	0.0029	0.6755
%SM-Actin	Ki-67	0.8534	0.1451 (-)	0.1829	0.9350 (-)	0.8775
Zellzahl	Ki-67	0.0001	0.0026	0.0024	0.0029	0.0005
%CD3	%CD68	0.8012	0.1619	0.1456	0.7680 (-)	0.4365
%SM-Actin	%CD68	0.0001 (-)	0.0001 (-)	0.0001 (-)	0.0001 (-)	0.0001 (-)
Zellzahl	%CD68	0.0261	0.3089	0.0596	0.1427	0.0612
%CD3	%SM-Actin	0.0377	0.1689	0.1675	0.1182	0.3982
Zellzahl	%SM-Actin	0.4240	0.8609	0.4603	0.3881	0.8845
Zellzahl	%CD3	0.0006	0.0004	0.2101	0.0032	0.1021

3.2. Vergleich der zellulären Parameter der 9 Primärstenosen mit den zugehörigen Restenosen

Bei 9 Patienten der Gruppe CPR stand sowohl das bei der Carotisrevision gewonnene Primärpräparat wie auch das dazugehörige Restenosedesobliterat für eine Untersuchung und Analyse zellulärer und proliferativer Merkmale zur Verfügung ("Stenosepaare"). In fünf aus neun untersuchten Stenosepaaren konnten proliferierende Zellen sowohl im Primärpräparat wie auch im Plaque der Restenose nachgewiesen werden; drei der Stenosepaare zeigten weder im Primärpräparat noch im Restenosepräparat Zeichen von Proliferation. Bei einem Patienten waren nur im Restenosedesobliterat Ki-67-positive Zellen nachzuweisen; im zugehörigen Primärstenosengewebe zeigten sich hingegen keine Zeichen von Zellproliferation.

Die Auswertung der zellulären Parameter Zellzahl, T-Lymphozytenzahl, Dichte der glatten Muskelzellen, Häufigkeit der Makrophagen sowie des Proliferationsindex ergab folgendes:

Als einziger zellulärer Parameter korrelierte die Höhe der Zellzahl der Restenose signifikant mit der Zellzahl im Primärpräparat (Spearman $p=0.0125$).

Für die Untersuchungsgrößen CD3-Positivität ($p=0.2351$), SM-(alpha)Actin-Positivität ($p=0.6044$) und CD68-Positivität ($p=0.9743$) ergaben sich im Vergleich der Primär- und Restenosepräparate keine signifikanten Abhängigkeiten. Gleiches galt auch für den Proliferationsindex der untersuchten intimalen Gefäßwandbezirke ($p=0.3628$).

Tabelle 6 zeigt eine Übersicht der zellulären Parameter der Primär- und Restenosen im Vergleich.

Tabelle 6: *Korrelationen der zellulären Parameter bei 9 Patienten aus dem Kollektiv CPR mit Primärstenose und Restenose der Arteria carotis. Die p-Werte basieren auf dem Spearman Korrelationskoeffizienten. Die Signifikanzgrenze liegt bei ≤ 0.05 .*

Parameter	Primärstenose (n=9)	Restenose (n=9)	p
Zellzahl	233.2±58.4	243.3±92.7	0.0125
% CD3	3.4±4.6	0.8±0.8	0.2351
% CD68	34.0±17.0	5.4±4.3	0.9743
% SM-Actin	42.2±16.3	76.8±17.0	0.6044
% Ki-67	1.6±1.5	1.9±0.6	0.3628

3.3. Ergebnisse aus der Kontrollgruppe CP

3.3.1. Zelluläre Komponenten der Kontrollgruppe CP

Das Patientenkollektiv CP wies eine mittlere Zelldichte von 162 ± 127 Zellen pro Gesichtsfeld auf. In 23% der untersuchten Gesichtsfeldern konnten Makrophagen, in 46.9% der Gesichtsfelder Lymphozyten identifiziert werden.

Der proliferative Index betrug $0.5\% \pm 1.1\%$.

In 13 der 22 Desobliterate fanden sich repräsentative Mediaareale; davon wies lediglich ein Areal eine einzige proliferierende, Ki-67 positive Zelle auf.

3.4. Vergleich der Patientengruppe CPR mit CP

Im nun folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse des explorativen Vergleichs der Kollektive CPR und CP dargestellt (Kollektiv ohne Restenoseentwicklung vs. Kollektiv mit Restenoseentwicklung). Dabei wird das Risikoprofil der beiden Patientengruppen wie auch die Plaquemorphologie und die zelluläre Komposition der arteriosklerotischen Plaques berücksichtigt.

3.4.1. Vergleich der Risikofaktoren und der klinischen Charakteristika der Gruppen CPR und CP

Den Signifikanzwerten (p) bei Vergleich der Kollektive CPR und CP in Bezug auf Risikofaktoren der Arterioskleroseausbildung liegt der exakte Test nach Fisher zugrunde. Werte ≤ 0.05 gelten als signifikant.

Die Gesamtzahl der Risikofaktoren war in CP verglichen mit CPR erhöht (2.64 ± 0.85 vs. 1.84 ± 1.18 , $p=0.011$), vornehmlich wegen einer vermehrten Rate an Hypertension ($p=0.036$) und Hyperlipidämie ($p=0.029$).

Bei Betrachtung der Risikofaktoren Nikotinabusus ($p=0.381$) und Diabetes mellitus ($p=0.328$) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Das Vorkommen der klinischen Charakteristika Alter ($p=0.37$) und Geschlecht ($p=1.0$) zeigte ebenfalls keinen signifikanten Unterschied. Die Anzahl symptomatischer Läsionen wies hingegen einen deutlicheren Unterschied auf (CP 31.8% symptomatische Läsionen vs. CPR 60.0% symptomatische Läsionen, $p=0.015$).

Tabelle 7: Vergleich der klinischen Charakteristika der Gruppen CP und CPR.

	CP	CPR	p
Anzahl der Patienten	22	25	
Symptomatische Läsion	7 (31.8%)	15 (60.0%)	0.015
Anzahl der Risikofaktoren	2.64±0.85	1.84±1.18	0.011
Alter (Jahre)	66.7±9.3	64.1±10.3	0.37
Geschlecht (männlich/weiblich)	1.33	1.08	1.0
Hypertonus	17 (77.3%)	11 (44.0%)	0.036
Hyperlipidämie	19 (86.4%)	15 (60.0%)	0.029
Nikotinabusus	14 (63.6%)	12 (48.0%)	0.381
Diabetes mellitus	8 (36.4%)	5 (20.0%)	0.328

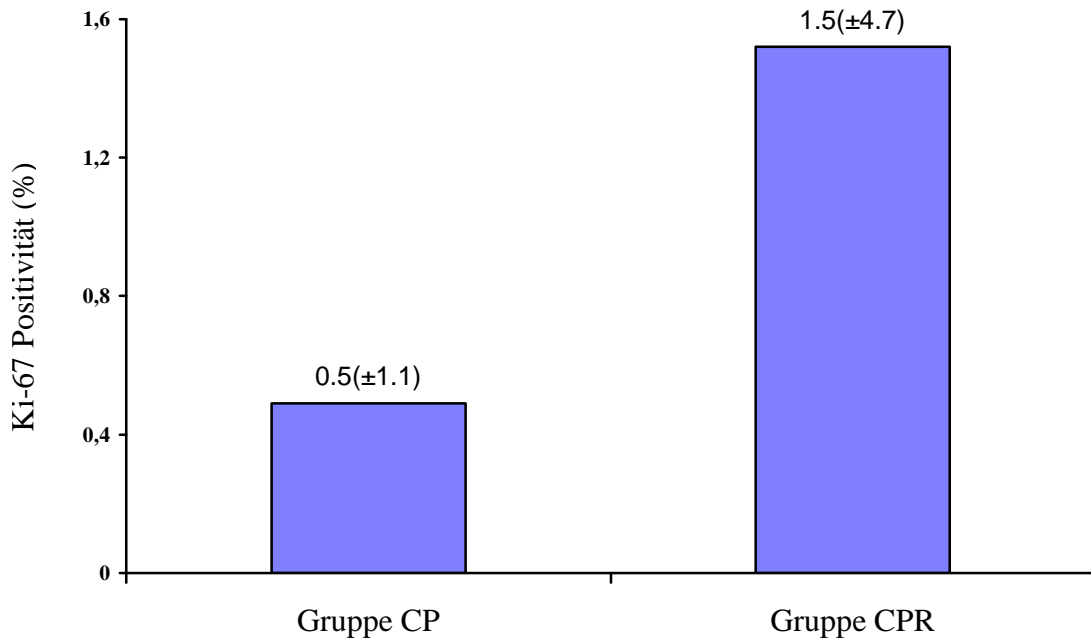
3.4.2. Vergleich der Gruppen CPR und CP in Bezug auf intimale zelluläre Parameter

Für die Parameter Zelldichte und Proliferationsgeschehen der arteriosklerotischen Plaques ergab sich folgendes Bild bei Gegenüberstellung der beiden Gruppen (χ^2 -Test):

Die Zellzahl in der Patientengruppe CPR war mit 238 ± 186 Zellen pro Gesichtsfeld verglichen mit CP (162 ± 127 Zellen pro Gesichtsfeld) signifikant erhöht ($p=0.001$).

Ebenfalls erhöht in CPR gegenüber CP erwies sich die Zahl der Ki-67 positiven Zellen der Intima (PI CPR $1.5 \pm 4.7\%$ vs. PI CP $0.5 \pm 1.1\%$, $p=0.007$) (Abb. 16).

Abbildung 16: Vergleich des PI in CP und CPR ($p=0.007$).



Dabei waren in 11 der 25 Primärstenosedesobliterate aus der Patientengruppe CPR keine proliferierenden Zellen nachweisbar; in der Gruppe CP war dies hingegen nur in 1 aus 22 Desobliteraten der Fall.

Weiterhin ergaben sich für die untersuchten zellulären Bestandteile in der Gruppe CPR signifikant erhöhte Werte gegenüber der Gruppe CP für das Vorkommen von Lymphozyten ($p=0.001$) und glatten Muskelzellen ($p=0.001$). Die untersuchten GF in der Gruppe CPR wiesen zudem signifikant häufiger CD68 positive Makrophagen auf (39.9% der GF in CPR vs. 23.0% der GF in CP; $p=0.0001$).

Eine multivariate Analyse, korrigiert für Zelldichte und Makrophagenpopulation ergab für Ki-67 keinen signifikanten Unterschied im intimalen Plauegewebe von CPR und CP.

3.4.3. Vergleich der Gruppen CPR und CP in Bezug auf Zellularität und Proliferation in medialen Gefäßwandanteilen

Bei Untersuchungen der Patientenkollektive CP und CPR bezüglich der Mediaanteile ergab sich folgendes Bild:

Bei gleicher Zellverteilung und Zelldichte zeigte CPR eine signifikant erhöhte Proliferationsrate gegenüber CP ($6.8 \pm 15.0\%$ vs. 0.001% , $p=0.0001$). Ki-67 positive Zellen fanden sich dabei in zehn der zwanzig Präparate mit Mediaanteilen des Kollektivs CPR (Abb. 17). In Kollektiv CP enthielt hingegen nur eines aus dreizehn Präparaten mit Mediaanteilen Ki-67 positive Zellen.

Anzumerken ist, daß sich in allen Fällen fehlender Ki-67-Positivität in der Gefäßintima der Plaques aus der Gruppe CPR auch niemals Proliferationszeichen in den angrenzenden Mediaanteilen nachweisen ließen.

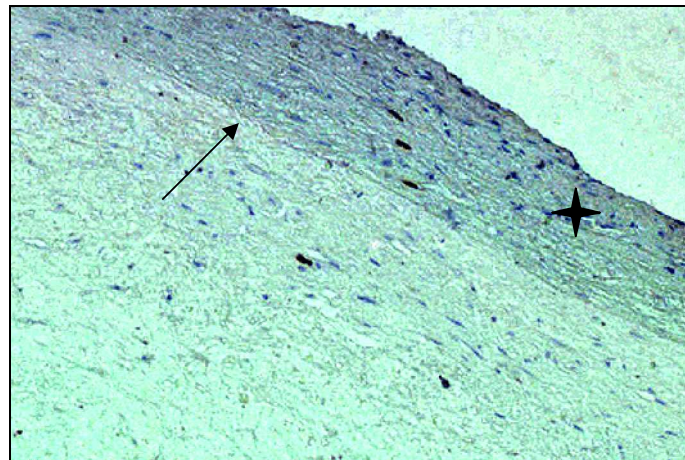


Abbildung 17:

Nachweis proliferativer Zellaktivität in der tiefen Intima und Media der arteriosklerotisch veränderten A. carotis interna durch nukleäre Braunfärbung. Zu erkennen ist die Grenzstruktur der Lamina elastica interna (Pfeil) und der dunkler gefärbte Mediaanteil (Stern). (MIB-DAB-Färbung, Vergrößerung 100-fach).

3.4.4. Plaquemorphologische Unterschiede zwischen den Gruppen CPR und CP

Bei der Untersuchung plaquemorphologischer Unterschiede wurde der χ^2 -Test verwandt (signifikant $p \leq 0.001$). Dabei stellten sich in der Gruppe CPR gegenüber der Gruppe CP die via Antikörper gegen den endothelzellständigen Faktor VIII dargestellten Neovaskularisationen ($p=0.001$) sowie das Cholesterinvorkommen als signifikant häufiger heraus ($p=0.001$).

Das Kollektiv CP war hingegen gegenüber dem Kollektiv CPR durch eine signifikant vermehrt auftretende homogene Zellverteilung ($p=0.001$) gekennzeichnet.

Die Parameter Siderophagenvorkommen ($p=0.002$) und Verkalkung ($p=0.004$) waren in CPR im Vergleich zu CP häufiger nachweisbar.

Dagegen fanden sich für die Parameter Einblutung ($p=0.004$) und laminäre Zellschichtung ($p=0.006$) erhöhte Werte in dem Kollektiv CP gegenüber CPR.

Thrombusvorkommen ($p=0.073$), Schaumzellenvorkommen ($p=0.013$), und lymphozytäre Infiltrate ($p=0.101$) zeigten im Vergleich der beiden Kollektive jedoch keine eindeutig signifikanten Unterschiede (Tabelle 8).

Tabelle 8: Vergleich der Gruppen CP und CPR hinsichtlich Zellularität und Morphologie.
Es wurde der X^2 Test verwandt.

Parameter	Kollektiv CP (% Vorkommen bezogen auf die untersuchten GF)	Kollektiv CPR (% Vorkommen bezogen auf die untersuchten GF)	p
Zellanzahl (*)	162.0±127.4	238.4±186.2	0.001
Proliferationsindex (*)	0.5±1.1	1.5±4.7	0.007
CD68-Positivität	23.0±26.9	39.3±35.1	0.001
Lymphozyten	46.9±50.0	67.9±46.8	0.001
homogene Zellverteilung	48.4±50.06	12.8±33.5	-0.001
Neovaskularisationen	21.3±41.0	43.0±49.6	0.001
Cholesterineinlagerung	8.8±28.4	18.5±38.9	0.001
Schaumzellen	24.9±43.3	34.7±47.7	0.013
Siderophagen	15.8±36.5	26.4±44.2	0.002
Lymphozyteninfiltrat	8.8±28.4	13.2±33.9	0.101
Kalkeinlagerung	9.52±29.4	18.1±38.6	0.004
Thrombus	1.8±13.4	4.6±20.9	0.073
Plauehämorrhagie	12.8±33.5	5.7±23.2	-0.004
laminäre Schichtung	9.2±28.9	3.4±18.2	-0.006

(*) Angaben der Absolutwerte, gemittelt über die untersuchten Gesichtsfelder

4. Diskussion

Die Suche nach ätiologischen Faktoren der primären arteriosklerotischen Gefäßverengung und der Restenose stützte sich bisher im wesentlichen auf Tierversuche und klinische Studien am Koronarsystem. Dabei wurde die glatte Muskelzelle als Schlüsselzelle derartiger Ereignisse beschrieben (29,102). Entzündungszellen galten bisher lediglich als frühe Initiatoren oder „Bystander“ eines gefäßstenotischen Geschehens.

Neuere Beobachtungen, unter anderem an humanen carotidalen Geweben, messen hingegen immunologischen, inflammatorischen und proliferativen Ereignissen in der arteriosklerotischen Plaqueentstehung einen höheren Stellenwert bei (18,67,98). Dabei kommt der Arterioskleroseforschung an der A. carotis besondere klinische Relevanz zu, denn Plaquebildung an dieser Prädilektionsstelle birgt nicht nur die Gefahr cerebraler Insulte, sondern signalisiert auch ein um den Faktor zwei erhöhtes Herzinfarktrisiko (34,44).

Die Forderung nach weitgehend standardisierten Rahmenbedingungen für vergleichende Beobachtungen sind überdies am Strombahngebiet der A. carotis gegeben. So beschränkt sich die Gefäßwandläsion der A. carotis in ihrer topographischen Längenausdehnung regelhaft auf den Bereich der Bifurkationszone. Unmittelbar an den umschriebenen pathologisch veränderten Gefäßwandbezirk schließt sich gesunde, plaquefreie Intima an.

Durch die oberflächennahe Lage des Gefäßes ist eine gute Beurteilung durch das nicht-invasive Verfahren der Duplexsonographie möglich .

Zudem ermöglicht die etablierte und standardisierte TEA-Operationstechnik die Gewinnung eines weitgehend anatomisch-topographisch intakten Operationspräparates (18).

Im Gegensatz zu anderen Lokalisationen, wie z.B. die A. femoralis, spielen im Strombahngebiet der cervikalen Gefäße Lebensgewohnheiten, Flussanomalien durch vor- und nachgeschaltete Strömungshindernisse sowie Blutdruck- und Blutflußschwankungen durch veränderten peripheren Widerstand als mögliche Einflußgrößen einer Restenosierung nach operativer Manipulation eine untergeordnete oder keine Rolle.

Die Restenosierungsrate nach zunächst erfolgreicher Gefäßsanierung der Arteria carotis durch TEA wird, je nach Erfassungsmethode, zwischen 0.5% und 19% angegeben (23,30,74,80). Meistens sind derartige postoperativ auftretende Reduzierungen des Lumendurchmessers

jedoch durch zeitlich limitierte Anpassungs- und Remodelingvorgänge reversibel und damit klinisch nicht relevant (108,131,134).

Ca. 1.5-4% der Restenosen führen zu einer erneuten Symptomatik (32,39,120,122) und/oder wiederum zu einer hochgradigen Lumeneinengung welche unter Umständen eine Zweitoperation erforderlich macht. Patienten mit operierter Restenose haben ein mehr als 20% erhöhtes Risiko einer erneuten Gefäßeinengung (100).

Für diese Phänomene ließen sich bisher keine sicheren prognostischen Indikatoren finden. Als systemische Einflußgrößen werden vor allem jüngeres Lebensalter sowie das weibliche Geschlecht diskutiert. Zusätzlich zählen operationstechnische Mängel, welche zu hämodynamischen Veränderungen führen, zu den exogenen Faktoren einer Restenoseausbildung.

In vorliegender Studie wurden mögliche operativ bedingte Restenosefaktoren, beispielsweise eine zu enge Direktnaht oder ausgeprägte Intimastufen, durch den Ausschluß von Patienten mit Direktnaht der A. carotis oder mit auffälligen Angiographiebefunden minimiert.

Zudem waren systemisch wirksame Risikofaktoren bei Vergleich der Gruppen CPR und CP zu Gunsten des Kollektivs ohne Restenoseausbildung verteilt und entfallen daher als primärer ätiologischer Faktor der Restenoseformierung.

Aus diesen Gründen ist eine Einflussnahme weiterer, in der Gefäßwand lokalisierter Faktoren denkbar, welche zur Ausbildung einer Restenose der A. carotis beitragen.

Vermehrt auftretende zytokinetisch und humoral-parakrin gesteuerte zelluläre Interaktionen unter gefäßwandständigen Entzündungszellen, wie sie bereits bei primär-arteriosklerotischen Veränderungen beschrieben wurden (17), könnten dabei hypothetisch für stenosewirksame strukturelle und morphologische Veränderung an der manipulierten Gefäßwand verantwortlich gemacht werden.

In der vorliegenden Studie war als wesentlicher Leitbefund in den atheromatösen Plaques des Patientenkollektivs mit Restenoseausbildung nach TEA eine ausgeprägte Prävalenz inflammatorischer Zellen als Ausdruck eines zellulären Entzündungspotentials nachzuweisen. Dies spiegelte sich im hohen prozentualen Anteil der Makrophagen (39% Vorkommen bezogen auf die untersuchten GF) und der signifikanten Assoziation der CD68-Positivität zum Proliferationsindex und zur Zellzahl wieder.

Darüber hinaus ließ sich eine signifikante Zuordnung der CD3-Positivität (T-Lymphozyten) ebenfalls zur Zellzahl und zum Proliferationsindex nachweisen. Die nebenbefundlich registrierte relativ hohe Präsenz an Plasmazellen in den untersuchten arteriosklerotischen Desobliteraten (18 der 25 Gesamtpräparate wiesen diesen Zelltyp auf) deutet möglicherweise ebenfalls auf ein entzündlich/immunologisches Geschehen bei der Plaquentstehung hin. Bisher läßt sich in der Literatur jedoch keine Zuordnung der Plasmazelle zu bestimmten atherogenen Mechanismen in Erfahrung bringen. Im Zusammenhang mit virologisch/bakteriologischen Untersuchungen könnte dieser Befund jedoch von Interesse sein, denn kürzlich gelang der Nachweis von inhärenten Chlamydien aber auch Zytomegalie- und Herpesviren in der arteriosklerotischen Gefäßwand (54,71,126).

Im Gegensatz zu den genannten Beziehungen der Makrophagen zeigte die SM-(alpha)Actin-Positivität als Indikator glatter Muskelzellen im Patientenkollektiv mit Restenose weder eine signifikante Korrelation zur Zellzahl noch zur CD68-Positivität oder zum Proliferationsindex.

Die erwähnte Schlüsselrolle der glatten Muskelzelle als Hauptinitiator und Promotor der Arteriosklerose, wie in Tierversuchen beschrieben, scheint somit beim Menschen einer entzündungsassoziierten Ursache untergeordnet zu sein.

Die Übertragbarkeit tierexperimentell gewonnener Ergebnisse bei der Untersuchung gefäßstenotischer Veränderungen muß wegen mikroanatomisch divergentem Gefäßwandaufbau des Tiers gegenüber dem des Menschen ohnehin kritisch betrachtet werden (55,78,113,114,127).

Eine (prä)inflammatorische „Ausgangssituation“ in den primären Plauegeweben des Kollektivs CPR könnte ursächlich für eine ausgeprägtere Neigung zur Restenosierung verantwortlich sein.

In Untersuchungen an humanem koronararteriosklerotischem Plauegewebe konnte eine deutliche transmurale Entzündung beobachtet werden (121). Bei postulierter Übertragbarkeit dieser Erkenntnisse auch auf die carotidale Strombahn wäre nach der Durchführung einer Thrombendariektomie ein Verbleiben entzündlich veränderter Plauegerandbezirke und adventitieller oder adventitianaher Gefäßwandschichten im Operationsgebiet denkbar, wodurch eine „Matrix“ für neuerliche immunologische Zellinteraktionen geschaffen würde.

In diesem Zusammenhang sei auf Ergebnisse von Studien ebenfalls am Koronarsystem hingewiesen, welche eine annähernd komplette Remission entzündlich-arteriosklerotischer Stenosen durch eine Behandlung mit Lipidsenkern (Statine) nachweisen konnten. Es wurden dabei die lipidüberladene Gefäßwand bzw. deren Zellen (Schaumzellen) entspeichert und damit eine deutliche Reduktion der Entzündungszellen erreicht (20,62).

Antiinflammatorischen und lipidsenkenden Therapiemodalitäten könnte, neben einer Reduktion systemischer Risikofaktoren (31,97), somit ein gewisser therapeutischer Stellenwert bei der lokalen Prävention einer Restenoseentwicklung nach TEA an der Arteria carotis zukommen.

Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung weisen auf Unterschiede in der zellulären Zusammensetzung primärer intimaler Plauegewebe von Patienten mit unterschiedlichen restenosefreien Zeiträumen hin. In dem restenosefreien Zeitraum >12 Mo zeigte sich eine gesteigerte Proliferation der Makrophagen. Im restenosefreien Intervall <12 Mo war dies nicht nachzuweisen; hier ergab sich eine signifikante Korrelation des CD3-positiven Lymphozytenvorkommens zum PI. Zusätzlich war in Intervall <12 Mo das SMC-Vorkommen positiv mit dem Proliferationsindex korreliert, in >12 Mo jedoch negativ.

Diese Beobachtungen lassen noch keine schlüssige Interpretation bezüglich ihrer Bedeutung zu. Sie weisen jedoch darauf hin, daß möglicherweise unterschiedliche Pathomechanismen mit unterschiedlichem Zeitgang zum pathologischen Ergebnis der neointimalen Restenose führen können.

Als ein weiteres Indiz für die ursächliche Einflußnahme entzündlicher gefäßwandständiger Faktoren auf Proliferation und Restenoseausbildung konnte eine tendenziell höhere Ki-67 Expression der Media und Intima in der Untergruppe mit rein neointimaler Restenose verglichen zu der Untergruppe mit potenziell op-technischer Einflussnahme beobachtet werden. Dieser Befund war dabei unabhängig von Zellzahl und Makrophagenanzahl.

Klinische Beobachtungen weisen darauf hin, daß weibliches Geschlecht den Risikofaktoren einer Restenosierung zugeordnet werden kann (52,58). Ursächlich dafür soll ein geringerer Gefäßdurchmesser, einhergehend mit höheren Scherkräften, sowie eine unterschiedliche Plättchenreaktivität im Vergleich zum männlichen Geschlecht sein (2,51,87,122).

Ergänzend dazu wurde von manchen Autoren der postmenopausale Östrogenrückgang als restenosefördernde Einflußgröße erkannt. In Studien, vor allem am Koronarsystem, hat sich

Östrogen als protektiver Faktor im Hinblick auf arteriosklerotische Veränderungen herausgestellt. Verantwortlich dafür sollen eine Anhebung des HDL-Spiegels, antithrombotische und antioxidative Effekte sowie die Unterstützung der vasomotorischen Endothelfunktion sein (76).

Eine erhöhte Restenoserate unter den weiblichen Patienten dieser Studie konnte zwar nicht direkt nachgewiesen werden, es ließ sich jedoch eine Tendenz zu vermehrter intimaler Ki-67 Expression in der Untersuchungsgruppe CPR feststellen.

Diese höhere reduplikative Aktivität im primären arteriosklerotischem Gewebe ist möglicherweise als ein physiologischer Ausdruck der genannten geschlechtspezifischen Einflußgrößen zu werten und könnte im Falle einer Gefäßverletzung auf eine Restenoseformierung unterstützend einwirken.

Das etwas jüngere Alter der Patienten in der Gruppe CPR (14 aus 25 Individuen ≤ 65 Jahre) erscheint vor dem Hintergrund von Untersuchungsergebnissen aus der Literatur bedeutsam, wonach das Patientenalter invers mit dem Restenoserisiko korreliert ist (65). Genaue Gründe dafür sind bis dato nicht bekannt. Es gibt jedoch Hinweise auf Unterschiede in der Immunantwort und Entzündungsreaktion zwischen jüngeren und älteren Individuen. So konnte in Tierversuchen an der Ratte eine reduzierte "response to injury" seneszenten vaskulärer glatter Muskelzellen aus arteriosklerotischen Plauegeweben gezeigt werden. Dabei waren Adhäsion, Migration und Proliferation dieser Zellen im Vergleich zu juvenilen SMCs signifikant vermindert. In Bezug auf die Apoptoserate wurde ein gegenteiliges Ergebnis erhalten (133).

Eine Tendenz zu verzögerten Wundheilungsvorgängen durch eine verspätet einsetzende Makrophagen- und Lymphozyteneinwanderung unter älteren Individuen konnte ferner anhand humaner Hautbiopsien beobachtet werden (6). Dies ist unter Umständen mit einer altersassoziierten Dysregulation in der Produktion und Interaktion von Zytokinen vereinbar, welche in arteriosklerotischen und inflammatorischen Vorgängen involviert sind (105).

Anhand dieser Erkenntnisse ist möglicherweise die bevorzugte Ausbildung einer relevanten frühen Restenose nach Gefäßoperation unter jüngeren Patienten mit einem höheren Wundheilungspotential, einhergehend mit verstärkter Entzündungsantwort und proliferativen Heilungsvorgängen erklärbar.

Die ausgeprägte Präsenz entzündlicher Elemente in den arteriosklerotischen Plaques der Patienten mit Restenoseausbildung nach TEA gewinnt bei explorativem Vergleich mit dem Kontrollkollektiv ohne Restenose zusätzlich an Bedeutung.

Zunächst fällt ein vermehrtes Vorkommen der inflammatorischen Zellarten Makrophagen (CD68-Positivität bezogen auf die untersuchten GF: CPR 39% vs. CP 23%) und T-Lymphozyten (CD3-Positivität bezogen auf die untersuchten GF: CPR 68% vs. CP 47%) in der Gruppe der Patienten mit Restenoseausbildung auf. Dies kann möglicherweise als Ausdruck eines erhöhten Entzündungspotentiales in der arteriosklerotischen Gefäßwand gewertet werden.

Als Hauptbefund war eine signifikant höhere Proliferationsrate in sowohl intimalen als auch medialen Gefäßwandschichten im Kollektiv CPR im Vergleich zu CP festzustellen. Diese Beobachtung unterstreicht die Bedeutung eines erhöhten Entzündungsgrads im Plaquetgewebe der Patientengruppe mit Restenoseausbildung gegenüber der Patientengruppe ohne dieses Ereignis für den Anstieg der Zellreduplikation, da durch Interaktionen von inflammatorischen Zellen proliferative Aktivität initiiert werden kann. Die Beobachtungen zytokinetischer Wechselwirkungen (via Interleukine, Wachstumsfaktoren), ausgehend insbesondere von Makrophagen, bestätigen dies (17,98).

Mediale Wandanteile weisen in gesunden Blutgefäßen nur geringe Proliferationsraten als physiologische Reaktion auf Änderungen der Gefäßwandspannung auf. Bei höhergradigen arteriosklerotischen Veränderungen, wie in beiden klinischen Gruppen in vergleichbarer Weise gegeben, ist hingegen durch die Versteifung der Intima und die damit verbundene Verhinderung einer Druck- und Spannungsanpassung tiefer Wandschichten auch ein reduziertes Proliferationsverhalten in der Media denkbar. In der vorliegenden Untersuchung zeigten die Mediaanteile der Gruppe CPR hingegen einen erhöhten PI. Vor dem Hintergrund fehlender biomechanischer Einflußfaktoren kann dies als Indiz für vermehrt ablaufende Entzündungs- und Reparaturvorgänge gewertet werden. Eine raschere und progrediente Restenosierung nach TEA wäre damit vereinbar.

Die Bedeutung einer erhöhten Proliferationsrate im medialen Resektionsrand von Läsionen, die von einer Restenose gefolgt sind, gewinnt zusätzlich an Bedeutung durch den Befund aus Zellkulturen humaner Plaquemyozyten. SMCs, die aus der Media von Carotisläsionen isoliert wurden, zeigten im Vergleich zu SMCs aus der Intima eine signifikant erhöhte Proliferationsrate in vitro (42).

Als klinische Konsequenz wäre ein aggressiveres operatives Vorgehen mit dem Ziel, verbliebene Entzündungspotentiale an den Resektionsgrenzen zu entfernen, denkbar. Tierversuche zeigten andererseits, daß neben dem Ausmaß der Endothelschädigung gerade die Verletzung medialer Strukturen, der Lamina elastica interna und glatter Muskelzellen im Sinne der „response to injury Hypothese“ restenoseförderlich sein kann (11,21,79,81,97, 110,111,134).

Die Zelldichte der Läsionen ist vor dem Hintergrund der genannten inflammatorischen und mitotischen Merkmale zu betrachten. Die Gesamtzellzahl im intimalen Plaquegewebe des Kollektivs mit Restenoseausbildung (241 ± 89.0) war gegenüber dem Kollektiv ohne Restenoseausbildung (162 ± 55.7) nach Carotis-TEA signifikant erhöht. Dies kann im Zusammenhang mit einer ausgeprägten Reaktion des Gewebes auf entzündliche Stimuli (z.B. vermehrte Zytokin- und Chemokinausschüttung) gewertet werden (68).

In der Gruppe CPR versus CP signifikant vermehrte Cholesterineinlagerungen und Neovaskularisationen sowie das häufigere Vorkommen an Siderophagen und Verkalkungen als Parameter indirekter inflammatorischer und postinflammatorischer Mechanismen können als weiterer Anhaltspunkt für eine entzündlich/immunologisch geprägte Pathogenese der Plaquentstehung im Untersuchungskollektiv mit Ausbildung einer Restenose nach Carotis-TEA gewertet werden. Neovaskularisationen gelten dabei als „Quelle“ systemischer Faktoren und als „Eintrittspforte“ für weitere inflammatorische Zellen, die zur Unterhaltung atherogener Mechanismen führen (85,98,113).

Diese unterschiedlichen pathophysiologischen Grundbedingungen in den Untersuchungsgruppen kommen auch durch eine homogenere Zellverteilung und die vermehrte laminäre Zellanordnung in dem Kollektiv ohne Restenoseausbildung zum Ausdruck.

Ein laminär geschichteter und homogener Gewebeaufbau ist dabei als morphologischer Ausdruck einer chronischen Adaptation an hämodynamische Einflüsse wie Scherkräfte, Druckkräfte und Flußanomalien zu sehen und entspricht einem Surrogatparameter „ruhender“ Zellen. Im Gegensatz dazu sind ungeordnete Zellanordnungen, wie in der Gruppe CPR häufig zu beobachten war, durch reparative und inflammatorische/immunologische Vorgänge bedingt.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, prognostische Faktoren einer frühen Restenosierung der Arteria carotis nach TEA explorativ zu eruieren.

Dazu wurden retrospektiv Desobliterate aus Primär- und Restenosegewebe in Bezug auf histomorphologische Merkmale, zelluläre Zusammensetzung und proliferative Aktivität histologisch und immunhistochemisch untersucht. Daneben fand auch das Risikoprofil der Patienten Beachtung.

Zur Identifikation pathophysiologisch bedeutsamer Parameter erfolgte eine explorative Gegenüberstellung mit den Ergebnissen der Plaqueanalyse eines Kontrollkollektivs, welches keine Restenoseausbildung der Arteria carotis nach TEA aufwies.

Die Fragestellungen lassen sich wie folgt beantworten:

1. Frage:

Das untersuchte Patientenkollektiv mit Ausbildung einer frühen Restenose nach Endarteriektomie der A. carotis war durch eine hohe Prävalenz inflammatorischer Merkmale in den Desobliteraten der Primärläsionen gekennzeichnet. Dies spiegelt sich im vermehrten Vorkommen von Makrophagen aber auch in der signifikanten Korrelation des T-Lymphozytenvorkommens mit der Zellzahl wieder.

2. Frage:

Das Vorkommen der inflammatorisch/immunologischen Zellarten Makrophagen und Lymphozyten war signifikant mit dem Proliferationsgeschehen im primären Plaquegewebe assoziiert. Dieses hat sich hingegen nicht für die glatten Muskelzellen bestätigt, welche in Tierversuchen mit mitotischen Ereignissen bei der Plaqueformierung häufig in Verbindung gebracht wurden.

Histomorphologische Merkmale waren nicht mit erhöhter proliferativer Aktivität in arteriosklerotischem Gewebe vergesellschaftet.

3. *Frage:*

Unter den klinischen Charakteristika und Arterioskleroserisikofaktoren zeigte sich keine einheitlich zuordenbare Korrelation zur zellulären Proliferation in den untersuchten Gewebeproben. Lediglich der Nikotinabusus war signifikant mit einer vermehrten Zellteilungsaktivität korreliert. Ein erniedrigter Proliferationsindex in den untersuchten Desobliteraten zeigte sich jedoch bei Diabetikern. Patienten jüngeren Alters und weiblichen Geschlechts wiesen in den arteriosklerotischen Gewebeschnitten der A. carotis eine Tendenz zu vermehrten Zellteilungsvorgängen auf.

4. *Frage:*

Die inflammatorischen Zellen Makrophagen und Lymphozyten erwiesen sich in der Gruppe mit konsekutiver Restenose nach Carotis TEA gegenüber der Gruppe ohne Restenose signifikant überrepräsentiert. Gleiches konnte auch für die entzündungsassoziierten histomorphologischen Parameter Neovaskularisationen und Cholesterineinlagerungen bestätigt werden.

5. *Frage:*

Bei Vergleich der klinischen Charakteristika und Risikofaktoren der Gruppe mit Ausbildung einer frühen Restenose nach TEA und der Kontrollgruppe ohne diese Komplikation wiesen Nikotinabusus, Diabetes mellitus, Alter und Geschlecht keinen relevanten Unterschied in der Häufigkeitsverteilung auf. Eine erhöhte Gesamtzahl der Risikofaktoren in der Kontrollgruppe ist insbesondere auf das Hypertonie- und Hyperlipidämievorkommen zurückzuführen.

Der Aussagewert dieser Ergebnisse muß in Anbetracht der geringen Fallzahl jedoch kritisch betrachtet werden.

6. *Frage:*

Anhand des Vergleichs von Patientenkollektiven mit Restenosierung nach Carotis-TEA vs. ohne Restenosierung nach Carotis-TEA hat sich der Proliferationsindex in der Arterienmedia als ein möglicher prognostischer Hinweis für eine erneute Gefäßeinengung herausgestellt.

Für Zellreduplikationen in der Media konnte unabhängig von arteriosklerotischen Risikofaktoren, der histologischen Zelldichte und der Makrophagenanzahl eine mögliche prognostische Relevanz hinsichtlich einer Restenoseformierung aufgezeigt werden.

Dem gegenüber war in den Desobliterationsgeweben von Läsionen ohne frühe Restenoseformierung im Anschluß an die Gefäßsanierung die Ki-67 Expression in medialen Schichten ein seltenes Einzelereignis.

Zusammenfassend könnten ein hoher Anteil an immunologischen/inflammatorischen Zellen im primären Plauegewebe sowie der Nachweis proliferativer Aktivität unter diesen Zellpopulationen in Verbindung mit entzündungsassoziierten histomorphologischen Merkmalen auf ein erhöhtes Risiko einer frühen Restenoseausbildung der A. carotis nach TEA hinweisen.

Die Ergebnisse dieser retrospektiven Arbeit bieten die Grundlage für weiterführende prospektive Untersuchungen zur Restenoseformierung.

6. Literatur

- (1) Akimoto S, Ishikawa O, Lijima C, Miyachi Y.
Expression of basic fibroblast growth factor and its receptors by fibroblasts, macrophages and mast cells in hypertrophic scar.
Europ J Dermatol 1999; 9:357-362
- (2) Anderson A, Padayachee T S, Sandison A J, Modaresi K B, Taylor P R.
The results of routine primary closure in carotid endarterectomy.
Cardiovasc Surg 1999; 7:50-55
- (3) Anderson P G.
Restenosis: animal models and morphometric techniques in studies of the vascular response to injury.
Cardiovasc Pathol 1992; 1:263-278
- (4) Andres V.
Control of vascular smooth muscle cell growth and its implications in atherosclerosis and restenosis.
Int J Mol Med 1998; 2:81-89
- (5) Aoyagi M, Yamamoto M, Azuma H, Niimi Y, Tajima S, Hirakawa K, Yamamoto K.
Smooth muscle cell proliferation, elastin formation, and tropoelastin transcripts during the development of intimal thickening in rabbit carotid arteries after endothelial denudation.
Histochem Cell Biol 1997; 107:11-17
- (6) Ashcroft G S, Horan M A, Ferguson M W.
Aging alters the inflammatory and endothelial cell adhesion molecule profiles during human cutaneous wound healing.
Lab Invest 1998; 78:47-58

- (7) Aviram M.
Interaction of oxidized low density lipoprotein with macrophages in atherosclerosis, and the antiatherogenicity of antioxidants.
Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996; 34:599-608
- (8) Avramovic J R, Fletcher J P.
The incidence of recurrent carotid stenosis after carotid endarterectomy and its relationship to neurological events.
J Cardiovasc Surg 1992; 33:54-58
- (9) Badimon J J, Ortiz A F, Meyer B, Mailhac A, Fallon J T, Falk E, Badimon L, Chesebro J H, Fuster V.
Different response to balloon angioplasty of carotid and coronary arteries: effects on acute platelet deposition and intimal thickening.
Atherosclerosis 1998; 140:307-314
- (10) Bauriedel G; Schluckebier S, Hutter R, Welsch U, Kandolf R, Lüderitz B, Prescott M F.
Apoptosis in restenosis versus stable-angina atherosclerosis: implications for the pathogenesis of restenosis.
Arterioscl Thromb Vasc Biol 1998; 18: 1132-1139
- (11) Bauriedel G, Kandolf R, Welsch U, Höfling B.
Mechanismen der Re-Stenosierung nach Angioplastie.
Z Kardiol 1994; 83:31-41
- (12) Bennett M R.
Apoptosis of vascular smooth muscle cells in vascular remodelling and atherosclerotic plaque rupture.
Cardiovasc Res 1999; 41:361-368

- (13) Berliner J A, Navab M, Fogelman A M, Frank J S, Demer L L, Edwards P E, Watson A D, Lusis A J.
Atherosclerosis: basic mechanisms. Oxidation, inflammation, and genetics.
Circulation 1995; 91:2488-2496
- (14) Björkerud S, Björkerud B.
Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability.
Am J Pathol 1996; 149:367-380
- (15) Blum A, Giladi M, Weinberg M, Kaplan G, Pasternack H, Laniado S, Miller H.
High anti-cytomegalovirus (CMV) IgG antibody titer is associated with coronary artery disease and may predict post-coronary balloon angioplasty restenosis.
Am J Cardiol 1998; 81:866-868
- (16) Boyle J J.
Association of coronary plaque rupture and atherosclerotic inflammation.
J Pathol 1997; 181:93-99
- (17) Bräsen J H, Niendorf A.
Atherosklerose: Formale Pathogenese, Klassifikation und funktionelle Bedeutung.
Pathologe 1997; 18:218-227
- (18) Brandl R, Richter T, Haug K, Wilhelm M G, Maurer P C, Nathrath W.
Topographic analysis of proliferative activity in carotid endarterectomy specimens by immunocytochemical detection of the cell cycle-related antigen Ki-67.
Circulation 1997; 96:3360-3368

- (19) Brandl R.
Das proliferations-assoziierte Antigen Ki-67 in arteriosklerotischen
Läsionen-topographische Analyse und Implikationen für den klinischen
Verlauf nach operativer Behandlung.
Habilitationsschrift, München, 1997
- (20) Brown B G, Zhao X Q, Sacco D E, Albers J J.
Lipid lowering and plaque regression. New insights into prevention of
plaque disruption and clinical events in coronary heart disease.
Circulation 1993; 87:1781-1791
- (21) Bürrig K F.
The morphology of the carotid artery after uncomplicated
endarterectomy.
J Cardiovasc Surg 1994; 35:413-418
- (22) Callow A D.
Recurrent stenosis after carotid endarterectomy.
Arch Surg 1982; 117:1082-1085
- (23) Callow A D.
Restenosis after carotid artery surgery.
Int Surg 1984; 69:247-255
- (24) Campbell G R, Campbell J H, Manderson J A, Horrigan S, Rennick R E.
Arterial smooth muscle. A multifunctional mesenchymal cell.
Arch Pathol Lab Med 1988; 112:977-986
- (25) Carr S C, Farb A, Pearce W H., Viramni R, Yao J S.
Activated inflammatory cells are associated with plaque rupture in
carotid artery stenosis.
Surgery 1997; 122:757-764

- (26) Carr S C, Farb A, Pearce W H, Virmani R, Yao J S.
Atherosclerotic plaque rupture in symptomatic carotid artery stenosis.
J Vasc Surg 1996; 23:755-765
- (27) Cattoretti G, Becker M H, Key G, Duchrow M, Schluter C, Galle J, Gerdes J.
Monoclonal antibodies against recombinant parts of the Ki-67 antigen
(MIB1 and MIB3) detect proliferating cells in microwave processed
formalin-fixed paraffin sections.
J Pathol 1992; 168:357-363
- (28) Clagett G P, Rich N M, McDonalds P T, Salander J M, Youkey J R,
Olson D W, Hutton J E.
Etiologic factors for recurrent carotid artery stenosis.
Surgery 1983; 93: 313-318
- (29) Clowes A W, Reidy M A, Clowes M.
Kinetics of cellular proliferation after arterial injury.
I.: Smooth muscle growth in the absence of endothelium.
Lab Invest 1983; 49:327-333
- (30) Colgan M P, Kingston V, Shanik G.
Stenosis following carotid endarterectomy. Its implication in management
of asymptomatic carotid stenosis.
Arch Surg 1984; 119:1033-1035
- (31) Colyvas N, Rapp J H, Phillips N R, Stoney R, Perez S, Kane J P,
Havel R J.
Relation of plasma lipid and apoprotein levels to progressive intimal
hyperplasia after arterial endarterectomy.
Circulation 1992; 85:1286-1292

- (32) Cossmann D, Callow A D, Stein A, Matsumoto G.
Early restenosis after carotid endarterectomy.
Arch Surg 1978; 113:275-278
- (33) Cuming R, Worrell P, Woolcock N E, Franks P J, Greenhalgh R M, Powell J T.
The influence of smoking and lipids on restenosis after carotid endarterectomy.
Eur J Vasc Surg 1993; 7:572-576
- (34) del Sol A I, Hollander M, Hofman A, Koudstaal P J, Grobbee D E,
Wittman J C, Bots M L.
Is carotid intima-media thickness useful in cardiovascular disease risk assesment?:
the rotterdam study.
Stroke 2001; 32:1532-1538
- (35) Dempsey R J, Moore R W, Cordero S.
Factors leading to early recurrence of carotid plaque after carotid endarterectomy.
Surg Neurol 1995; 43:278-283
- (36) Desmouliere A.
Factors influencing myofibroblast differentiation during wound healing and fibrosis.
Cell Biol Int 1995; 19:471-476
- (37) Desmouliere A, Badid C, Bochaton-Pillat M L.
Apoptosis during wound healing, fibrocontractive disease and vascular wall injury.
Int J Biochem Cell Biol 1997; 29:19-30
- (38) Eastcott H H G.
Reconstruction of internal carotid artery in a patient with intermittent attacks
of hemiplegia.
Lancet 1954; 2:994-996

- (39) Edwards W, Mulherin J, Martin R.
Recurrent carotid artery stenosis. Resection with autogenous vein replacement.
Ann Surg 1989; 209:662-668
- (40) Ehrlich H P, Desmouliere A, Diegelmann R F, Cohen I K, Compton C C, Garner W L, Kapanci Y, Gabbiani G.
Morphological and immunohistochemical differences between keloid and hypertrophic scar.
Am J Pathol 1994;145:105-113
- (41) Erb W N.
Immunocytochemical detection of T-cell and B-cell populations in routine blood smear.
Lancet 1984; 1:1042-1045
- (42) Erl W, Brandl R.
Differential proliferative activity of intimal and medial vascular smooth muscle cells originating from surgical endarterectomy specimens.
In Vorbereitung
- (43) Falk E.
Why do plaques rupture ?
Circulation 1992; 86:30-42
- (44) Falke P, Stavenow L.
Advanced carotid stenosis in TIA and minor stroke as a predictor of coronary heart disease: a 3-year follow-up.
Inter Angio 1989; 8:175-178
- (45) Forrester J S, Fishbein M, Helfant R, Fagin J.
A paradigm for restenosis based on cell biology: clues for the development of new preventive therapies.
JACC 1991; 17:758-769

- (46) French B N, Rewcastle N B.
Recurrent stenosis at site of carotid endarterectomy.
Stroke 1977; 8:597-605
- (47) Garcia J H, Khang-Loon H.
Carotid atherosclerosis. Definition, pathogenesis, and clinical significance.
Neuroimaging Clin N Am 1996; 6:801-810
- (48) Gerdes J, Li L, Schlueter C, Duchrow M, Wohlenberg C, Gerlach C,
Stahmer I, Kloth S, Brandt E, Flad H D.
Immunobiochemical and molecular biologic characterization of the
cell proliferation-associated nuclear antigen that is defined by monoclonal
anibody Ki-67.
Am J Pathol 1991; 138:867-873
- (49) Glagov S, Weisenberg E, Zarins C K, Stankunavicius R, Kolettis G J.
Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries.
N Eng J Med 1987; 316:1371-1375
- (50) Gown A M, Tsukada T, Ross R.
Human atherosclerosis. II. Immunocytochemical analysis of the cellular
composition of human atherosclerotic lesions.
Am J Pathol 1986; 125:191-207
- (51) Greenhalgh D G.
The role of apoptosis in wound healing .
Int J Biochem Cell Biol 1998; 30:1019-1030
- (52) Healy A D Zierler E, Nicholls S C, Clowes A, Primozich J F,
Bergelin R O, Strandness D E.
Long-term follow-up and clinical outcome of carotid restenosis.
J Vasc Surg 1989; 10:662-669

- (53) Hegyi L, Skepper J N, Cary R B, Mitchinson M J.
Foam cell apoptosis and the development of the lipid core of human atherosclerosis.
J Pathol 1996; 180:423-429
- (54) Herzum M, Schaefer J R, Hufnagel G, Maisch B.
Cytomegalovirus and herpes simplex virus in pathogenesis and progression of native arteriosclerosis and recurrent stenosis after intervention.
Herz 1998; 23:193-196
- (55) Holm J, Hansson G K.
Cellular and immunologic features of carotid disease in man and experimental animal models.
Eur J Vasc Surg 1990; 4:49-55
- (56) Hunter G C.
The clinical and pathological spectrum of recurrent carotid stenosis.
Am J Surg 1997; 174:583-588
- (57) Isner J M, Kearney M, Bortman S, Passeri J.
Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis.
Circulation 1995; 91:2703-2711
- (58) Johnson C A, Tollefson D F, Olsen S B, Andersen C A, McKee-Johnson J.
The natural history of early recurrent carotid artery stenosis.
Am J Surg 1999; 177:433-436
- (59) Kacemi A, Vervelle C, Uzan S, Challier J C.
Immunostaining of vascular, perivascular cells and stromal components in human placental villi.
Cell Mol Biol (Noisy le Grand) 1999; 45:101-113

- (60) Kastrati A, Elezi S, Dirschinger J, Hadamitzky M, Neumann F J, Schomig A.
Influence of lesion length on restenosis after coronary stent placement.
Am J Cardiol 1999; 83:1617-1622
- (61) Katsuda S, Coltrera M D, Ross R, Gown A M.
Human atherosclerosis: IV. Immunocytochemical analysis of cell
activation and proliferation in lesions of young adults.
Am J Pathol 1993; 142:1787-1793
- (62) Kempen H J, Vermeer M, de Wit E, Havekes L M.
Vastatins inhibit cholesterol ester accumulation in human monocyte-derived
macrophages.
Arterioscler Thromb 1991; 11:146-153
- (63) Kinney E V, Seabrook G R, Kinney L J, Bandyk D F, Towne J B.
The importance of intraoperative detection of residual flow abnormalities
after carotid artery endarterectomy.
J Vasc Surg 1993; 17:912-923
- (64) Kockx M M, de Meyer G R, Muhring J, Bult H, Bultinck J, Herman A G.
Distribution of cell replication and apoptosis in atherosclerotic plaques of
cholesterol-fed rabbits.
Atherosclerosis 1996; 120:115-124
- (65) Levy P J, Olin J W, Piedmonte M R, Young J R, Hertzner N R.
Carotid endarterectomy in adults 50 years of age and younger: a retrospective
comparative study.
J Vasc Surg 1997; 25:326-331
- (66) Libby P.
Inflammatory and immune mechanisms in atherogenesis.
Atherosclerosis 1990; 21:79-88

- (67) Libby P, Hansson G K.
Biology of disease. Involvement of the immune system in human atherogenesis: current knowledge and unanswered questions.
Lab Invest 1991; 64:5-15
- (68) Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton S K.
A cascade model for restenosis A special case of atherosclerosis progression.
Circulation 1992; 86:47-52
- (69) Libby P, Sukhova G, Lee R T, Liao J K.
Molecular biology of atherosclerosis.
Int J Cardiol 1997; 62:23-29
- (70) Liu A C, Lawn R M.
Vascular interactions of lipoprotein(a).
Curr Opin Lipidol 1994; 5:269-273
- (71) Lozinguez O, Arnaud E, Velut J G, Tiev K P, Fiessinger J N, Emmerich J.
Cytomegalovirus and arterial disease. Current aspects.
Arch Mal Coeur Vaiss 1999; 92:1205-1212
- (72) Lundberg B.
Chemical composition and physical state of lipid deposits in atherosclerosis.
Atherosclerosis 1985; 56:93-110
- (73) Madrid A, Gil P, Gonzales M, Otero A, Crespo P.
Restenosis and remodeling after percutaneous transluminal carotid angioplasty.
Rev Neurol 1998; 27:649-652
- (74) Maki H S, Kruger R A, Kuehner M E.
The problem of recurrent stenosis following carotid endarterectomy.
Wis Med J 1991; 90:583-585

- (75) Marek J M, Koehler C, Aguiere M L, Westerband A, Gentile A T, Mills J L, Hunter G C.
The histologic characteristics of primary and restenotic carotid plaque.
J Surg Res 1998; 74:27-33
- (76) Maxwell S R.
Women and heart disease.
Basic Res Cardiol 1998; 93:79-84
- (77) Mc Namara C A, Sarembock I J, Bachhuber B G, Stouffer G A, Ragosta M, Barry W, Gimple L W, Powers E R, Owens G K.
Thrombin and vascular smooth muscle cell proliferation: implication for atherosclerosis and restenosis.
Semin Thromb Hemost 1996; 22:139-144
- (78) Mehta D, Angelini G D, Bryan A J.
Experimental models of accelerated atherosclerosis syndroms.
Int J Cardiol 1996; 56:235-257
- (79) Ming W L.
Restenosis after coronary angioplasty. Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia.
Circulation 1989; 79:1374-1387
- (80) Moore W S, Kempczinski R F, Nelson J J, Toole J F.
Recurrent carotid stenosis: results of the asymptomatic carotid atherosclerosis study.
Stroke 1998; 29:2018-2025
- (81) Muller D, Ellis S, Topol E.
Experimental Models of Coronary Artery Restenosis.
J Am Coll Cardiol, 19:418-432, 1992

- (82) Naiem M, Gerdes J, Abdulaziz Z, Sunderland C A, Allington M J, Stein H, Mason D Y.
The value of immunohistological screening in the production of monoclonal antibodies.
J Immunol Meth 1982; 50:145-160
- (83) Nicholls S C, Phillips D J, Bergelin R O, Beach K W, Primozich J F, Strandness D E.
Carotid endarterectomy. Relationship of outcome to early restenosis.
J Vasc Surg 1985; 2:375-381
- (84) Nikol S, Huens T Y, Höfling B.
Molecular biology and post-angioplasty restenosis.
Atherosclerosis 1996; 123:17-31
- (85) O'Brien E R, Garvin M R, Dev R, Steward D K, Hinohara T, Simpson J B, Schwartz S M.
Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques.
Am J Pathol 1994; 145:883-894
- (86) Orekhov A N, Andreeva E R, Mikhailova I A, Gordon D.
Cell proliferation in normal and atherosclerotic human aorta. Proliferative splash in lipid-rich lesions.
Atherosclerosis 1998; 139:41-48
- (87) Ouriel K, Green R M.
Clinical and technical factors influencing recurrent carotid stenosis and occlusion after endarterectomy.
J Vasc Surg 1987; 5:702-706

- (88) Pasterkamp G, Schoneveld A H, Hillen B, Banga J D, Haudenschild C C, Borst C.
Is plaque formation in the common carotid artery representative for plaque formation and luminal stenosis in other atherosclerotic peripheral arteries?
A post mortem study.
Atherosclerosis 1998; 137:205-210
- (89) Pedrini L, Pisano E, Sacca A, Magnoni F, Addato M.
Carotid endarterectomy in young adults.
Int Angiol 1991; 10:220-223
- (90) Peter W F.
Cumulative effects of high cholesterol levels, high blood pressure, and cigarette smoking on carotid stenosis.
N Engl J Med 1997; 337:516-522
- (91) Price R J, Owens G K, Skalak T C.
Immunohistochemical identification of arteriolar development using markers of smooth muscle differentiation. Evidence that capillary arterIALIZATION proceeds from terminal arterioles.
Circ Res 1994; 75:520-527
- (92) Pollman M J, Hall J L, Mann M J.
Inhibition of neointimal cell bcl-x expression induces apoptosis and regression of vascular disease.
Nature Medicine 1998; 4:222-228
- (93) Pulford K A, Sipos A, Cordell J L, Stross W P, Mason D Y.
Distribution of the CD68 macrophage/myeloid associated antigen.
Int Immunol 1990; 2:973-980

- (94) Pulford K A F, Mason D Y, Rigney E M, Micklem K J, Jones M, Stross W P, Gatter K C.
KP1: a new monoclonal antibody that detects a monocyte/macrophage associated antigen in routinely processed tissue sections.
J Clin Pathol 1989; 42:414-421
- (95) Raines E W, Ross R.
Smooth muscle cells and the pathogenesis of the lesions of atherosclerosis.
Br Heart J 1993; 69:30-37
- (96) Rapp J H, Qvarfordt P, Krupski W C, Ehrenfeld W K, Stoney R J.
Hypercholesterolemia and early restenosis after carotid endarterectomy.
Surgery 1987; 101:277-282
- (97) Reilly L M, Okuhn S P, Rapp J H, Bennett J B, Ehrenfeld W K, Goldstone J, Stoney R J.
Recurrent carotid stenosis: A consequence of local or systemic factors?
The influence of unrepaired technical defects.
J Vasc Surg 1990; 11:448-60
- (98) Rekhter M D, Gordon D.
Active proliferation of different cell types, including lymphocytes, in human atherosclerotic plaques.
Am J Pathol 1995; 147:668-677
- (99) Romanic A M, Graesser D, Baron J L, Visintin I, Janeway C A, Madri J A.
T Cell adhesion to endothelial cells and extracellular matrix is modulated upon transendothelial cell migration.
Lab Invest 1997; 76:11-23

- (100) Rosenthal D, Archie J P, Avila M H, Bandyk D F, Carmichael J D, Hamman J L, Lee H M, Clagett G P, Liebmann P R, Mills L, Minken S L, Plonk G W, Posner M P, Smith R S, String S T.
Secondary recurrent carotid stenosis.
J Vasc Surg 1996; 24:424-429
- (101) Ross R, Glomset J.
Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the gene of the lesions of atherosclerosis.
Science 1973; 180:1332-1339
- (102) Ross R.
The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s.
Nature 1993; 362:801-809
- (103) Ross R.
Cell biology of atherosclerosis.
Annu Rev Physiol 1995; 57:791-804
- (104) Ross R.
Atherosclerosis-an inflammatory disease.
New Engl J Med 1999; 340:115-126
- (105) Roubenoff R, Harris T B, Abad L W, Wilson P W, Dallal G E, Dinarello C A.
Monocyte cytokine production in an elderly population. Effect of age and inflammation.
J Gerontol A Biol Sci Med Sci 1998; 53:20-26
- (106) Saito N, Pulford K A, Breton-Gorius J, Masse J M., Mason D Y, Cramer E M.
Ultrasructural localization of the CD68 macrophage-associated antigen in human blood neutrophils and monocytes.
Am J Pathol 1991; 139:1053-1059

- (107) Salvian A, Baker J D, Machleder H I, Busuttill R W, Barker W F, Moore W S.
Cause and noninvasive detection of restenosis after carotid endarterectomy.
Am J Surg 1983; 146:29-31
- (108) Samson R H, Showalter D P, Yunis J P, Dorsay D A, Kultman H I, Silverman S A.
Hemodynamically significant early recurrent carotid stenosis:
an often self-limiting and self-reversing condition.
J Vasc Surg 1999; 30:446-452
- (109) Schachter M.
The pathogenesis of atherosclerosis.
Int J Cardiol 1997; 62:3-7
- (110) Schwartz R S, Murphy J G, Edwards W D, Camrud A R, Vlietstra R E, Holmes D R.
Restenosis after balloon angioplasty. A practical proliferative model in porcine coronary arteries.
Circulation 1990; 82:2190-2200
- (111) Schwartz R S, Huber K C, Murphy J G, Edwards W D, Camrud A R, Vlietstra R E, Holmes D R.
Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model.
JACC 1992; 19:267-274
- (112) Schwartz R S, Chu A, Edwards W D, Srivatsa S S, Simari R D, Isner J M, Holmes D R.
A proliferation analysis of arterial neointimal hyperplasia:
lessons for antiproliferative restenosis therapies.
Int J Cardiol 1996; 53:71-80

- (113) Schwartz S M, deBlois D, O'Brien E R.
The intima: Soil for atherosclerosis and restenosis.
Circ Res 1995; 77:445-465
- (114) Schwartz S M, Reidy M A, O'Brien E R.
Assessment of factors important in atherosclerotic occlusion and restenosis.
Thromb Haemostasis 1995; 74:541-551
- (115) Shi Y, Pieniek M, Fard A, O'Brien J, Mannion J D, Zalewski A.
Adventitial remodeling after coronary arterial injury.
Circulation 1996; 93:340-348
- (116) Shimokama T, Haraoka S, Watanabe T.
Immunohistochemical and ultrastructural demonstration of the lymphocyte-macrophage interaction in human aortic intima.
Mod Pathol 1991; 4:101-107
- (117) Speir E, Modali R, Huang E S, Leon M B, Shawl F, Finkel T, Epstein S E.
Potential role of human cytomegalovirus and p53 interaction in coronary restenosis.
Science 1994; 265:391-394
- (118) Stary H C, Chandler A B, Dinsmore R E, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfeld M E, Schwartz C J, Wagner W D, Wissler R W.
A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis.
A report from the committee on vascular lesions of the council on atherosclerosis, American Heart Association.
Circulation 1995; 92:1355-1374

- (119) Stemme S, Hansson G K.
Immune mechanisms in atherogenesis.
Ann Med 1994; 26:141-146
- (120) Stoney R J, String S T.
Recurrent carotid stenosis.
Surgery 1976; 80:705-710
- (121) Stratford N, Britten K, Gallagher P.
Inflammatory infiltrates in human coronary atherosclerosis.
Atherosclerosis 1986; 59:271-276
- (122) Thomas M, Otis S M, Rush M, Zyroff J, Dilley R B, Bernstein E F.
Recurrent carotid artery stenosis following endarterectomy.
Ann Surg 1984; 200:74-79
- (123) Thomas M, Wong Y, Thomas D, Ajaz M, Tsang V, Gallagher P J,
Ward M E.
Relation between direct detection of chlamydia pneumoniae DNA in human
coronary arteries at post mortem examination and histological severity
(Stary grading) of associated atherosclerotic plaque.
Circulation 1999; 99:2733-2736
- (124) Thyberg J.
Phenotypic modulation of smooth muscle cells during formation of
neointimal thickenings following vascular injury.
Histol Histopathol 1998; 13:871-891
- (125) van der Wal A C, Becker A E, van der Loos C M, Das P K.
Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic
plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the
dominant plaque morphology.
Circulation 1994; 89:36-44

- (126) Vercellotti G.
Infectious agents that play a role in atherosclerosis and vasculopathies.
What are they? What can we do about them?
Can J Cardiol 1999; 15:13-15
- (127) Vesselinovitch D.
Animal models and the study of atherosclerosis.
Arch Pathol Lab Med 1988; 112:1011-1017
- (128) Villaschi S, Spagnoli L G.
Autoradiographic and ultrastructural studies on the human fibro-
atheromatous plaque.
Atherosclerosis 1983; 48:95-100
- (129) Visseren F L, Erkelens D W.
Atherosclerosis as an infectious disease.
Ned Tijdschr Geneeskd 1999; 143:291-295
- (130) Watanabe T, Haraoka S, Shimokama T.
Inflammatory and immunological nature of atherosclerosis.
Int J Cardiol 1996; 54:25-34
- (131) World Health Organisation technical report series (1958).
The classification of atherosclerotic lesions. Report of a study group.
WHO Tech Rep Ser 1958; 143:1-20
- (132) Yi Fu Z.
Association between prior cytomegalovirus infection and the risk of restenosis
after coronary atherectomy.
N Engl J Med 1996; 335:624-630

- (133) Yosuke U.
Vascular smooth muscle cell outgrowth, proliferation, and apoptosis in young and old rats.
Atherosclerosis 1999; 146:101-105
- (134) Zierler R E, Bandyk D F, Thiele B L, Strandness D E.
Carotid artery stenosis following endarterectomy.
Arch Surg 1982; 117:1408-1412

Mein Dank für die Unterstützung und Ermöglichung dieser Arbeit richtet sich an

Herrn PD Dr. med. R. Brandl
Chefarzt der Gefäßchirurgie
Krankenhaus München Schwabing

Herrn Prof. Dr. med. H. K. Höfler
Direktor des Instituts für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie
Klinikum rechts der Isar der TU München

Herrn Dr. med. T. Richter
Institut für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie
Klinikum rechts der Isar der TU München

Frau R. Hegenloh, MTA
Interdisziplinäres chirurgisch-pathologisches Forschungslabor
Klinikum rechts der Isar der TU München

Herrn Prof. Dr. med. H. M. Becker (+)
Chefarzt der Abteilung für Gefäßchirurgie
Städtisches Krankenhaus München Neuperlach

Herrn Prof. Dr. med. W. Theiss
Oberarzt 1. Med. Angiologie
Klinikum rechts der Isar der TU München

Herrn Dipl. Mathematiker M. Scholz
IMSE
Klinikum rechts der Isar der TU München

Herrn Dr. med. H. Seibt
Chefarzt Pathologie
Städtisches Krankenhaus München Neuperlach