

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

UHZ, Klinik und Poliklinik für Gefäßmedizin
-Gefäßchirurgie - Endovaskuläre Therapie - Angiologie-

Direktor: Professor Dr. med. E. S. Debus

Die multifunktionelle Gefäßprothese – Ergebnisse nach Implantation im Schweinemodell

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Axel Pflugradt aus Wolgast

Hamburg, 2013

**Angenommen von der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 05.08.2013**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.**

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: PD A. Larena-Avellaneda

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. med. C. Detter

Prüfungsausschuss, dritte/r Gutachter/in: Prof. Dr. med. E. S. Debus

Gewidmet meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung und Fragestellung	1
1.1. Autologer Gefäßersatz	1
1.2. Xenogener Gefäßersatz	2
1.3. Allogener Gefäßersatz	2
1.4. Alloplastischer Gefäßersatz – Geschichte und Materialkunde	3
1.5. Alloplastischer Gefäßersatz – das Ideal	8
1.6. Alloplastischer Gefäßersatz – die Wirklichkeit	10
1.6.1. Dichtigkeit	10
1.6.2. Thrombogenität	12
1.6.3. Infektion	13
1.6.4. Flexibilität und Degradation	14
1.6.5. Intimahyperplasie	15
1.6.6. Einheilung / Inkorporation	19
1.7. Unser Ansatz: Eine „multifunktionelle“ Gefäßprothese	20
1.8. Ziel der Arbeit	21
2. Material und Methoden	22
2.1. Aufbau der „multifunktionellen Gefäßprothese“	22
2.2. Wahl des Immunsuppressivums	24
2.3. Tiermodell	25
2.3.1. Vorversuch	26
2.3.2. Hauptversuch	26
2.4. Histologische Aufarbeitung der Gefäßabschnitte	29
2.4.1. Zuschneidung und Einbettung in Paraffin	29
2.4.2. HE-Färbung	29
2.4.3. E-v-G-Färbung.....	30
2.5. Auswertung	30
2.5.1. Beurteilung der Offenheitsrate.....	30

2.5.2. Semiquantitative Einschätzung der Einheilung.....	30
2.5.3. Semiquantitative Einschätzung der Entzündungsreaktion.....	31
2.5.4. Morphometrische Messung der Intimahyperplasie	32
2.6. Statistische Auswertung	33
3. Ergebnisse	34
3.1. Tiermodell.....	34
3.1.1. Vorversuch	34
3.1.2.. Hauptversuch	36
3.2. Makroskopische Beurteilung der Offenheitsrate	38
3.3. Histopathologische Auswertung.....	39
3.3.1. Inkorporation	39
3.3.2. Entzündungsreaktion.....	40
3.3.3. Morphometrie der Intimahyperplasie	41
3.4. Statistische Auswertung	46
4. Diskussion	48
4.1. Verwendete Materialien	49
4.2. Medikamentenfreisetzung-„drug eluting“.....	53
4.3. Tiermodell und OP-Handhabbarkeit.....	57
4.4. Intimahyperplasie.....	58
4.5. Schlussfolgerung.....	66
4.6. Ausblick/ Weiterentwicklung	67
5. Zusammenfassung.....	69
6. Abkürzungsverzeichnis	71
7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	72
8. Literaturverzeichnis	75
9. Anhang.....	102
10. Danksagungen.....	104
11. Lebenslauf.....	105

12. Eidesstattliche Versicherung107

1. Einleitung und Fragestellung

Der demographische Wandel verursacht eine starke Zunahme der Inzidenz von Aneurysmen, akuten oder chronischen peripheren Durchblutungsstörungen und besonders atherosklerotischen Veränderungen von Aorta, Hals-, Viszeral- und Extremitätengefäßen. Die Behandlung dieser hauptsächlich alters- und auch konsumbedingten Degenerationsprozesse ist eines der Hauptgebiete der Gefäßchirurgie. Die Prävalenz der peripheren arteriellen Verschlusskrankung (pAVK) in Deutschland wird mit bis zu 1,8 Millionen Menschen angegeben, davon entwickeln pro Jahr 50000-80000 eine kritische Extremitätenischämie¹. Zur Behandlung stehen aktuell zahlreiche Möglichkeiten zur Verfügung. An erster Stelle sollte bei der Diagnostik und Therapie der pAVK, welche die häufigste Behandlungsindikation in der Gefäßchirurgie darstellt, immer das Risikoprofil des Patienten beachtet werden. Der Vermeidung bzw. Behandlung der entsprechenden Risikofaktoren (hauptsächlich: arterieller Hypertonus, Nikotinabusus, Diabetes mellitus und Hyperlipoproteinämie) sollte oberste Priorität eingeräumt werden. Es stehen dann zunächst im unkritischen Stadium der Erkrankung die konservativen Optionen, wie zum Beispiel die Verabreichung von Medikamenten und das strukturierte Gehtraining zur Verfügung. Ist eine konservative Behandlung unzureichend oder handelt es sich um ein kritisches Stadium, so rücken interventionelle Maßnahmen wie zum Beispiel Angioplastie oder das „*stenting*“ betroffener Gefäßabschnitte in den Vordergrund. Sollte auch damit der gewünschte Behandlungserfolg nicht erzielbar sein, oder war die vorliegende Erkrankung nicht anders behandelbar, kommen dann die operativen Maßnahmen zur Geltung. Lange Zeit war die Amputation die einzige Behandlungsoption. Mit der Entwicklung der modernen Gefäßchirurgie sind heutzutage glücklicherweise funktions- und Gliedmaßen erhaltende Rekonstruktionen möglich und werden bevorzugt angewendet. Dazu stehen dem Gefäßchirurgen generell autologe, alloplastische, allogene oder auch xenogene Materialien zur Verfügung.

1.1. Autologer Gefäßersatz

Seit Kunlin 1949 den ersten Venenbypass bei einer pAVK einsetzte, stellen autologe Transplantate das Mittel der Wahl dar. Hierbei können sowohl körpereigene Venen als auch Arterien Verwendung finden. Sie sind biologisch sehr gut verträglich, keinerlei Ab-

stoßungsreaktionen sind zu erwarten und es werden insbesondere bei Venenbypässen mit der V. saphena magna die längeren Offenheitsraten beobachtet ^{2,3}. Einige Autoren befürworten den Einsatz alternativer Venen anderer Ursprungsorte (z.B. Armvenen) oder gar zusammengesetzter Venensegmente als Bypassmaterial der 2. Wahl ⁴. Nachteilig können eventuell der größere Aufwand und das operative Trauma bei der Entnahme sowie das bestehende Missverhältnis der Diameter zu dem zu ersetzenden Gefäß (so genanntes „mismatch“) sein. Besonders bei dem Ersatz oder der Rekonstruktion der großen Gefäße (z.B. Aorta) ist der Einsatz limitiert. Außerdem stehen autologe Transplantate naturgemäß nur begrenzt zur Verfügung. Eine Herstellung maßgeschneiderter Gefäße aus den eigenen Zellen des Patienten –und damit die unbegrenzte Verfügbarkeit autologen Gefäßersatzes– dürfte trotz erster Ergebnisse ⁵ in absehbarer Zukunft Fiktion bleiben.

1.2. Xenogener Gefäßersatz

Der Einsatz von xenogenen Transplantaten, d.h. biologischen Materialien einer anderen Art (z.B. Schwein oder Rind) in der Gefäßchirurgie wurde zunächst bei hoffnungsvollen Ansätzen im Tierversuch vorangetrieben ⁶. Die unbegrenzte Verfügbarkeit war hier das Hauptargument. Es handelte sich hierbei z.B. um aufbereitete Halsschlagadern von Rindern. In der klinischen Praxis zeigten sich jedoch bei passablen Offenheitsraten eine inakzeptabel hohe Rate von Aneurysmabildungen ⁷. Außerdem ist die Frage der immunologischen Interaktion noch nicht eindeutig geklärt. Eine andere Prothesenart ist die Omiflow®-Prothese (*Biograft, Biovascular, St. Paul, MN, USA*), welche durch Biosynthese (Kollagenummantelung) einer in Schafen eingesetzten Kunststoffprothese (Polyester-Mesh) hergestellt wird. Dadurch soll der Prothese zusätzliche Stabilität zur Verhinderung der befürchteten Aneurysmabildung gegeben werden. Auch hier zeigten sich in ersten Studien gute Offenheitsraten ⁸ und gute Einheilungen ⁹, weitere Ergebnisse stehen aber noch aus.

1.3. Allogener Gefäßersatz

Auf der Suche nach immer neuen Möglichkeiten sind auch allogene Transplantate ins Blickfeld der Forscher gerückt. Hierbei handelt es sich um postmortale Spendergefäße

der gleichen Art, so genannte Homografts. Ein Beispiel ist die humane Umbilikalvene, die industriell hergestellt (Dardik Biograft, Meadox Medicals, Inc., Oakland, N.J), in klinischen Versuchen eingesetzt wurde und hier in ersten Studien teils gute^{10,11}, teils indifferente¹² Ergebnisse zeigte. Der anfänglichen Euphorie folgten dann Berichte über eine Neigung zur vermehrten Neointima-Bildung in Tierexperimenten¹³ sowie in weiteren klinischen Studien, ebenso die Tendenz zur Frühthrombose und Aneurysmabildung im Verlauf^{14,15}. Insgesamt konnte sich auch nach Modifikation (externe Verstärkung durch Polyester-Mesh) der originalen „Dardik-Prothese“ und weiteren guten Ergebnissen^{16,17} die routinemäßige Verwendung, auch wegen der schwierigen Herstellung und Aufbereitung, bei gleichzeitig hohen Kosten und der Nicht-Überlegenheit gegenüber anderen Materialien nicht durchsetzen. Sie wird heute nur noch als Transplantat der 2. oder 3. Wahl empfohlen¹⁸. Üblicherweise werden heute Homografts nur in Infektsituationen - mit teils guten Ergebnissen in der Aorten Chirurgie^{19,20} - verwendet, wenn sich der Einsatz von Kunststoffmaterialien verbietet. Hierbei handelt es sich dann um aufbereitete, kryokonservierte Leichenarterien und -venen von Transplantatbanken. Wegen der hohen Kosten und der begrenzten Verfügbarkeit findet jedoch auch hier kein routinemäßiger Einsatz statt. Zusätzlich sind noch Fragen der Immunreaktion bei nicht ABO-kompatiblen Transplantaten ungeklärt.

1.4. Alloplastischer Gefäßersatz – Geschichte und Materialkunde

Die ersten Versuche, blutende Gefäße zu behandeln, sind historisch bereits in der Antike belegt (Hanf-Ligaturen blutender Gefäße durch Sushruta²¹) und markieren somit gewissermaßen die Anfänge der Gefäßchirurgie. Während man durch Amputationen, Ligaturen oder Styptika in der Lage war, das Leben der Verletzten zu retten, war es oftmals nicht möglich, den Blutfluss aufrechtzuerhalten und damit funktionserhaltend zu behandeln. Als nachweislich Erster experimentierte im Jahre 1543 Vesal mit alloplastischen Materialien, er verwendete bei Experimenten zur Weiterleitung der Pulswelle Strohhalm²². Dies lässt erkennen wie weit er seiner Zeit voraus war, denn erst 1894 wurde ähnliches versucht: Abbe interponierte ein sanduhrförmiges Glasröhrchen in eine Katzenaorta (s. Abb. 1.1 auf nächster Seite)²³.

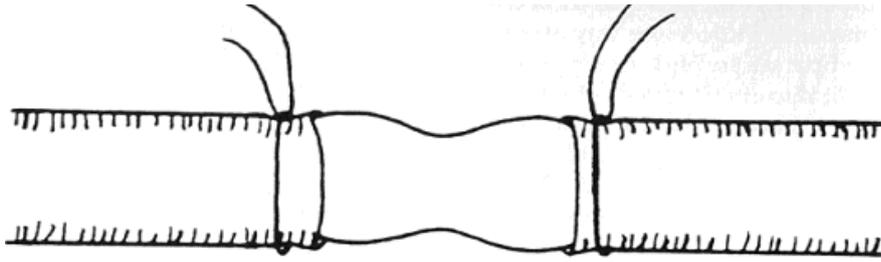


Abbildung 1.1:

Zeichnung des von Abbe verwendete Glasröhrchens. Quelle:²³

Während Goyanes schon 1906 erfolgreich Venen zur Rekonstruktion einsetzte, blieben Experimente mit alloplastischen Materialien zunächst ohne Erfolg: Nitze verwendete 1897 Elfenbeinröhrchen und 1900 versuchte sich Payr mit Magnesium an einer resorbierbaren, nahtlosen Anastomose zur Überbrückung eines resezierten Gefäßabschnitts (s. Abb. 1.2)²⁴.

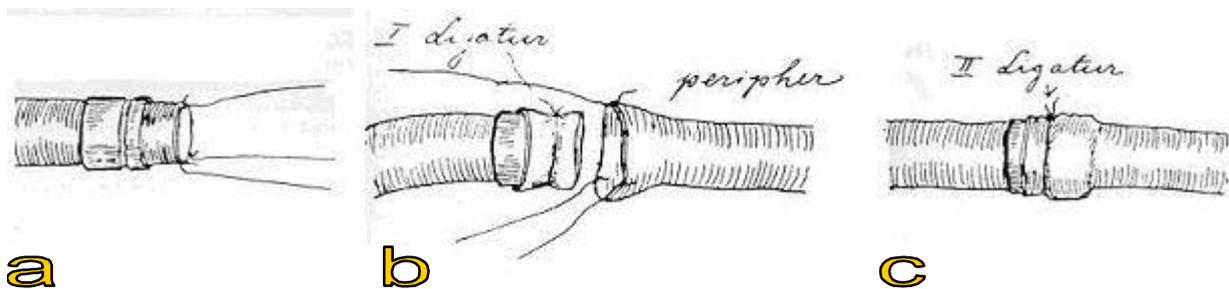


Abbildung 1.2:

Payrs Magnesiumzylinder von 1900: Der Magnesiumzylinder wird über das Gefäß geschoben (a), invaginiert und ligiert (b). Das zu verbindende Gefäß wird über der so geschaffenen Stulpe positioniert und mit einer zweiten Ligatur fixiert (c). Durch eine Rille im Zylinder sind die Ligaturen gegen Verrutschen gesichert. Quelle:²⁴

Auch verschiedenste Materialien wie Karamell (Carell,1903), Gummi (Ward,1908), paraffiniertes Silber (Tuffier,1917), Vitallium (Blakemore,1942), Methylmethacrylat (Hufnagel,1947)²⁵ und Polyethylen (Donovan,1949)²⁶ wurden erfolglos getestet²⁷.

Während homologe Materialien bereits erfolgreich eingesetzt wurden, fehlte es auf dem Gebiet der alloplastischen Materialien an einer Initialzündung für den entscheidenden

Durchbruch. Schon 1899 hatte Dörfler „*Verdickungen [...] und flache, weissgraue Auflagerungen*“ auf der luminalen Seite seiner Seidennaht beschrieben, ohne jedoch weiter darauf einzugehen ²⁸. Auch Carell und Guthrie beschreiben 1906 die Nahtreihe ihrer Anastomosen von einer „*glänzendem, im Aussehen dem Endothel ähnlichen*“ Schicht überzogen ²⁹. Doch erst 1949 erkannte A. Vorhees nach eigener, ähnlicher Erfahrung die große Bedeutung dieser Beobachtungen. Vorhees musste bei Versuchen mit künstlichen Herzklappen am Hund eine falsch angelegte Seidennaht im Ventrikel belassen. Bei der Explantation einige Monate später hatte Vorhees Probleme eben jene Seidennaht wiederzufinden, sie „*erschien makroskopisch von Endokard*“ umhüllt. Vorhees vermutete daraufhin „*dass eine Stoffröhre als Gefäßprothese dienen könnte*“ ³⁰. Durch Versuche mit entsprechenden Prothesen –zuerst aus Taschentuch-, später aus Fallschirmseide – erprobte er seine Hypothese. Im Lauf der Experimente stellte Vorhees auch eine Liste erwünschter Eigenschaften für seine Prothese zusammen. Der Hinweis eines Kollegen, Dr. Blunt, ließ ihn zum Vinyon-N greifen ³¹. Das neue Material sollte sogleich einen Härte-test bestehen, denn bei einem notfallmäßig zu operierendem Aortenaneurysma am Menschen war kein Homograft als Prothesenmaterial verfügbar. Während sein Chef Blakemore die Aorta abgeklemmt hielt, eilte Vorhees ins Labor und nähte aus dem Material für den Tierversuch eine Prothese ³² (dargestellt in Abbildung 1.3).

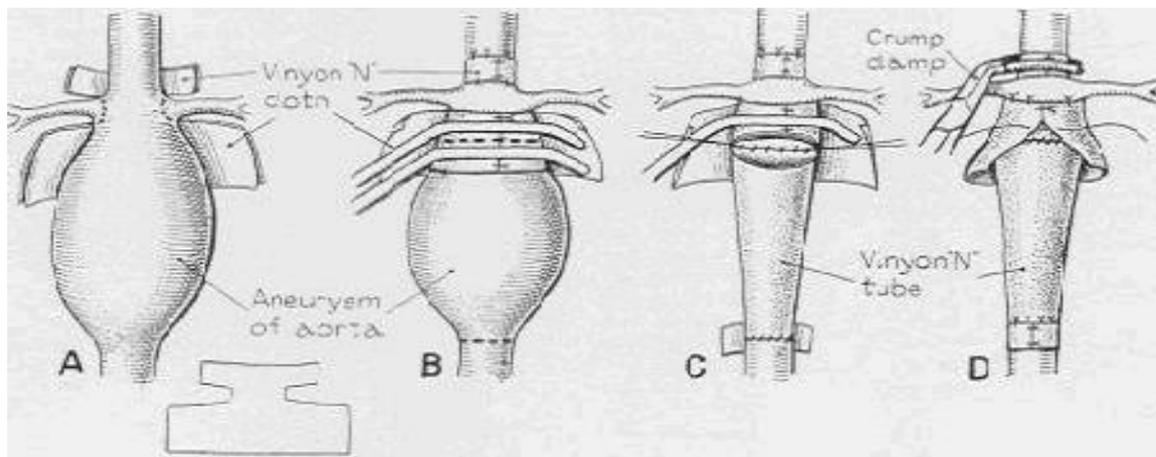


Abbildung 1.3:

Skizze aus Vorhees Publikation zur Verwendung einer aortalen Gefäßprothese aus Vinyon-N. Über die proximale und distale Nahtreihe werden zusätzlich noch Verstärkungsmanschetten vernäht. Aus:³³.

Im Zuge dieser bahnbrechenden Neuerung eröffneten sich der Gefäßchirurgie unzählige Möglichkeiten und durch weitere Forschung war im Polyester, genauer Polyethylen-

terephthalat (=PET) rasch ein vielversprechendes Material für Gefäßprothesen gefunden (s. Abb. 1.4). Schon seit 1958 werden Prothesen aus Dacron® und anderen PET-Fäden regelmäßig für alloplastischen Gefäßersatz verwendet und gelten noch heute als Goldstandard.

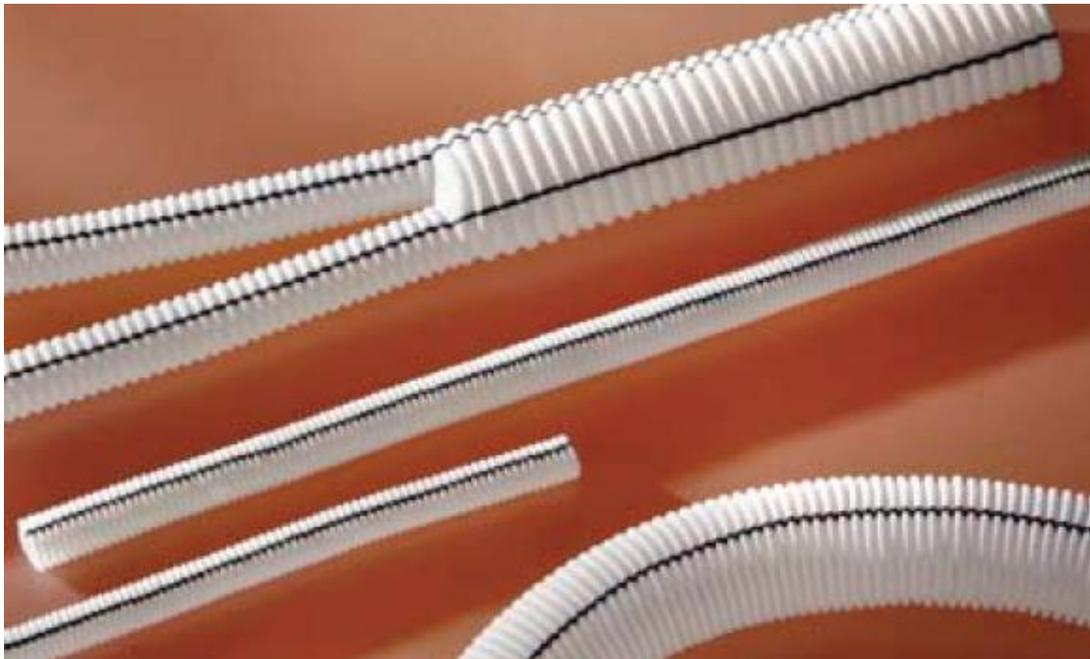


Abbildung 1.4:

Gängige PET-Prothesen unterschiedlicher Form und Durchmesser mit der für sie typischen, formgebenden Plissierung ("crimping") für erhöhte Knickstabilität. Die eingearbeiteten schwarzen Streifen (sog. "guidelines") dienen der Lagekontrolle und der Vermeidung axialer Verdrehung [Bildmaterial Fa. Jotec].

PET-Prothesen können je nach Herstellungsprozess gewebt, gestrickt oder gewirkt sein. Während bei Webware Schuss- und Kettfäden ohne Maschenbildung rechtwinklig verkreuzt werden, bestehen Gewirke und Strickwaren aus unterschiedlich ineinander verlaufenden Maschen (vgl. Abb. 1.5a-c; 1.6a-c, nächste Seite)^{34,35}. Durch Variation von Färendurchmesser und -querschnittprofil, Anzahl der verwendeten Fäden, Strick-, Web- oder Wirkmustern sowie Besatz mit Einfach- oder Doppelvelours (siehe Abb. 1.7a,b, nächste Seite) ändern sich Dichtigkeit, Elastizität und Stabilität der fertigen Prothesen. Die Wahl dieser Parameter stellt eine Wissenschaft für sich dar und ist ein gut behütetes Produktionsgeheimnis jedes Prothesenherstellers. Eine Objektivierung der Protheseneigenschaften ist daher für Nicht-Textiltechniker schwierig und viele Chirurgen verlassen sich bei der Prothesenwahl auf ihr Gefühl.

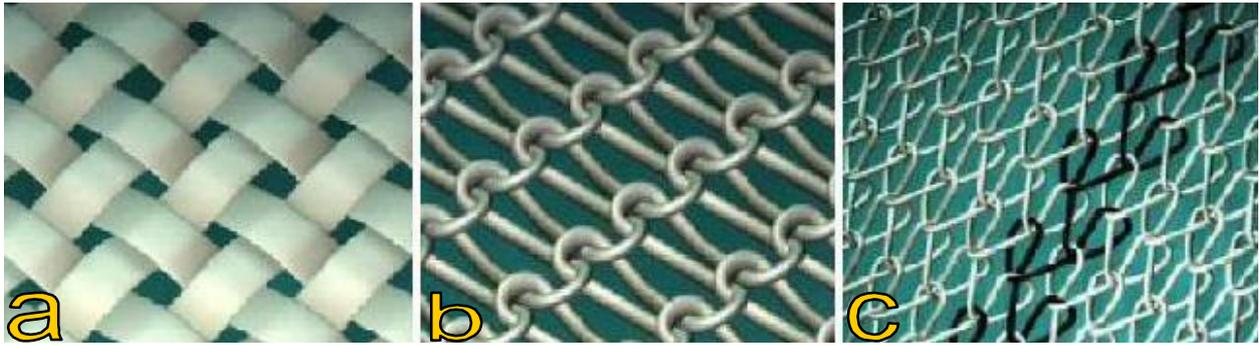


Abbildung 1.5 a-c:

Schematische Darstellung von Gewebe (a), Gestrick (b) und Gewirk (c),Bildquelle ³⁶



Abbildung 1.6 a,b und c:

Elektronenmikroskopische Darstellung von Gewebe (a), Gestrick (b) und Gewirk (c): Bilder a und b zeigen eine Dacron®-Prothese bei 50x Vergrößerung, Bild c zeigt aus Gründen der Übersichtlichkeit ein Einzelfaser Marlex® -Mesh bei 60x Vergrößerung.

Bilder von Durmuş TD, Ankara (a,b); Dr. Höfling HM, Düren (c)



Abbildung 1.7 a,b:

Veloursbesatz im Schema a) und bei 60-facher Vergrößerung b) soll durch seine Schlaufen die Dichtigkeit erhöhen und durch die vergrößerte Oberfläche ein leichteres Einwachsen ermöglichen. Bild (a) aus ³⁶; (b) Eigenmaterial

Auch Polytetrafluorethylen (PTFE, Teflon®) hat in seiner gereckten (*“expanded”*) Form als ePTFE (Goretex®) seit über 30 Jahren einen großen Stellenwert in der Gefäßchirurgie. Es wird zumeist als Bypassmaterial im Bereich schmallumiger Gefäße verwendet.

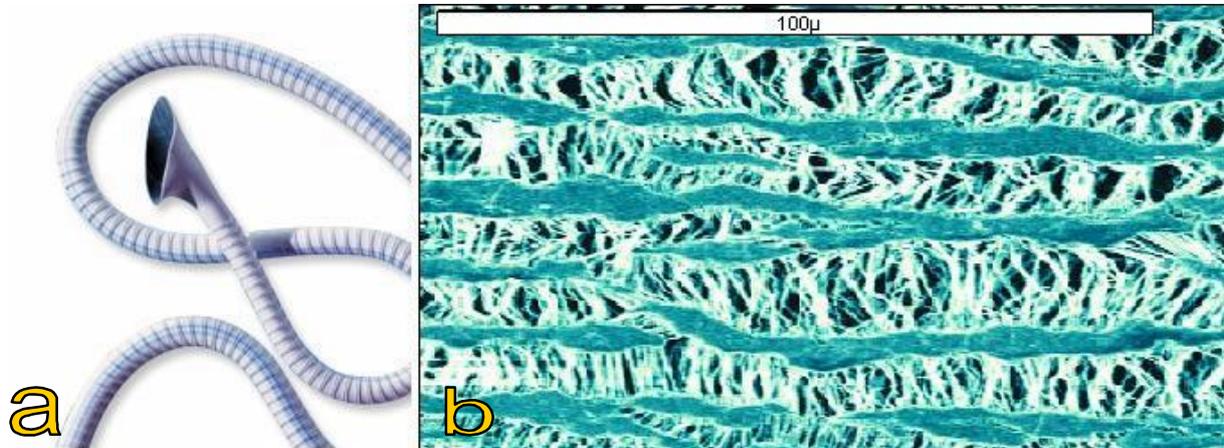


Abbildung 1.8:

Glattwandige, primär dichte ePTFE-Prothese mit vorgeformter Anastomose und Spiralverstärkung in Übersichtsaufnahme. Bild (a) zeigt eine Distaflo®-Prothese der Fa. Jotec.

In der rasterelektronenmikroskopischen Darstellung (b) lässt sich die typische Knoten-Fibrillenstruktur gut erkennen. Bilder mit freundlicher Genehmigung (a) der Fa. Jotec und (b) der Fa. Vascutek.

Im Gegensatz zu PET wird PTFE nicht zu einer Faser verarbeitet und versponnen, sondern direkt aus pulverisiertem Polymer in Stabform gepresst. Diese Form wird dann hochdruckextrudiert, auf den gewünschten Durchmesser gestreckt und zur Härtung gesintert. Die Fibrillenlänge und damit die Porosität lässt sich von 1µm bis über 60µm variieren⁽¹⁾. Bei beiden Materialien stellt die Wahl des Porositätsgrades einen wichtigen Kompromiss zwischen ausreichender Blutdichtigkeit und zufriedenstellender Einheilung der Prothese dar³⁷.

1.5. Alloplastischer Gefäßersatz – das Ideal

Es war auch Vorhees Arbeitsgruppe, in der die meisten, heute noch gültigen Anforderungen an eine „ideale Gefäßprothese“ (siehe Tab.1.1, nächste Seite) postuliert wurden: Die Erfolgsaussichten der Anastomosenbildung hängen demzufolge von Bearbeitbarkeit

⁽¹⁾ Information von Fa. Vascutek, Deutschland

und Wahl des geeigneten Nahtmaterials ab. Eine Prothese sollte gleichermaßen primär dicht und porös genug für die Einsprossung des umliegenden Gewebes (Fibroblasteninvasion) sein. Sie muss sich den Gewebeverhältnissen anpassen, ohne abzuknicken und darüber hinaus dauerhaft haltbar und biologisch möglichst inert sein. Dabei muss sie stets den chirurgischen Anforderungen genügen: Sie darf nicht ausfransen, nicht leicht verheddern und muss nährbar bleiben, ohne dabei Nadeln zu beschädigen oder bereits gelegte Nähte zu verziehen.

- Unbegrenzte Verfügbarkeit in standardisierter Qualität, Dimension und Konfiguration
- Optimale Lagerfähigkeit und Sterilisierbarkeit im Routinebetrieb
- Langfristige Zuverlässigkeit trotz hoher mechanischer Beanspruchung
- Biokompatibilität durch biochemische Inertheit und ablastogene Eigenschaften
- Einheilung ohne Fremdkörperreaktion
- Thromboseresistenz auch bei Minimal- und Niederdruckbedingungen
- Sicheres und unkompliziertes operationstechnisches Handling durch geringe Stichresistenz, sowie Schmiegsamkeit, Nahhaltigkeit, Blutdichtigkeit, Torsions- und Knickstabilität, ferner Servicefreundlichkeit bei Rezidiveingriffen
- Ökonomie durch geringe Herstellungskosten, Resterilisierbarkeit und geringen Verschnitt

Tabelle 1.1:

Grundlegende Anforderungen an die „ideale Gefäßprothese“; zitiert nach ^{31,38}

1.6. Alloplastischer Gefäßersatz – die Wirklichkeit

Herkömmliche PET und auch ePTFE-Prothesen sind entweder thrombogen, undicht oder anfällig für Degradation und Intimahyperplasie. Das führt zu Frühverschlüssen, verminderten Langzeit-Offenheitsraten und Infektionsanfälligkeit. Trotz aller Anstrengungen gelang es bisher nicht, alle Ansprüche in einer einzelnen Prothese zu vereinen. Zudem verläuft die Versorgung von Gefäßen mit einem Durchmesser <6mm nicht zufriedenstellend³⁹. Da das zugrunde liegende Kunststoffmaterial seit Jahrzehnten unverändert war, wurde an den unterschiedlichsten Beschichtungen und Modifikationen für die Prothesen geforscht, um diese Probleme zu lösen. Es mangelt jedoch, wie bereits zu Vorhees` Zeiten, an einem Quantensprung, der den technischen und wissenschaftlichen Fortschritt der letzten Jahrzehnte für die Gefäßchirurgie nutzbar macht.

1.6.1. Dichtigkeit

Prinzipiell gibt es, wie schon erwähnt, einen schwer lösbaren Konflikt zwischen Dichtigkeit und Einheilung einer Gefäßprothese, bedingt durch die dazu notwendige Porosität des Materials. Gewebte Prothesen sind zwar primär dicht, werden aber aufgrund der schwierigen Handhabung beim Zuschnitt („ausfransen“) sowie der fehlenden Eignung für kleinere Gefäße in der Gefäßchirurgie nur beim Aortenersatz verwendet. Gestrickte und gewirkte Prothesen sind aufgrund ihrer Textur primär undicht und mussten früher vor Implantation mittels „*pre-clotting*“ abgedichtet werden, damit ein gerichteter und verlustfreier Blutstrom durch die Prothese gewährleistet ist. Dazu wird die Prothese mit Blut getränkt, durch die Bildung von Fibrinnetzen in den Maschen werden diese abgedichtet. Nach kurzer Wartezeit wird die Prothese mit heparinisiertem Blut durchspült, um eine möglichst athrombogene Oberfläche zu erhalten⁴⁰. Um diesen zeitaufwändigen und nicht standardisierbaren Vorgang zu vermeiden, werden seit langem mit Albumin, Gelatine oder Kollagen⁴¹⁻⁴⁵ maschinell beschichtete und primär dichte Prothesen eingesetzt. Die hierzu verwendeten Substanzen wie Kollagen oder Gelatine sind jedoch biochemisch nicht inert und werden im Zeitraum von 2-6 Wochen durch körpereigene Enzyme vollständig abgebaut. Mit zunehmender Verweildauer verliert die Prothese selbst somit kontinuierlich an Dichtigkeit. Wird das Maschenwerk der Prothese bei mangelhafter Einheilung nicht ausreichend durch körpereigenes Gewebe abgedichtet ist der Operationserfolg

gefährdet. Neben Unverträglichkeiten und Allergien sind diese tierischen Materialien auch mit dem Risiko der Infektiosität behaftet. Da sie meist boviner Herkunft sind, besteht auch zumindest theoretisch das Risiko einer Ansteckung mit boviner spongiformer Enzephalitis (BSE). Es ist zwar kein gesicherter Fall einer BSE-Infektion durch eine derartig beschichtete Prothese bekannt, die Industrie versucht jedoch schon länger, durch Versuche mit Polyurethan ⁴⁶ oder anderen Elastomeren ⁴⁷ ein günstiges und leicht verfügbares Ersatzmaterial zu finden. Zudem darf bekannter Weise kein tierisches Biomaterial nicht-amerikanischer Herkunft auf den dortigen Markt importiert werden, dies stellt marktwirtschaftlich eine große Hürde dar. Die Beschichtung und die Prothese selbst kann (s. Abb. 1.9) beim Nähen Schaden nehmen, was sich besonderes bei Prothesen aus PTFE als Stichkanalblutung bemerkbar macht. Deren Stillung erfordert intraoperativ zusätzliche Zeit, postoperativ kann eine Revision erforderlich werden. Zur Minimierung dieser Risiken sind von fast allen Herstellern auch mit tierischen Substanzen beschichtete PTFE-Prothesen verfügbar, allerdings erkaufte man sich hierdurch ebenfalls die oben beschriebenen Nachteile. Auch die Manipulation mit OP-Instrumentarium, hier seien besonders Klemmen genannt, kann eine Prothese nachhaltig beschädigen und so die Prädilektionsstelle einer Degradation darstellen ⁴⁸.

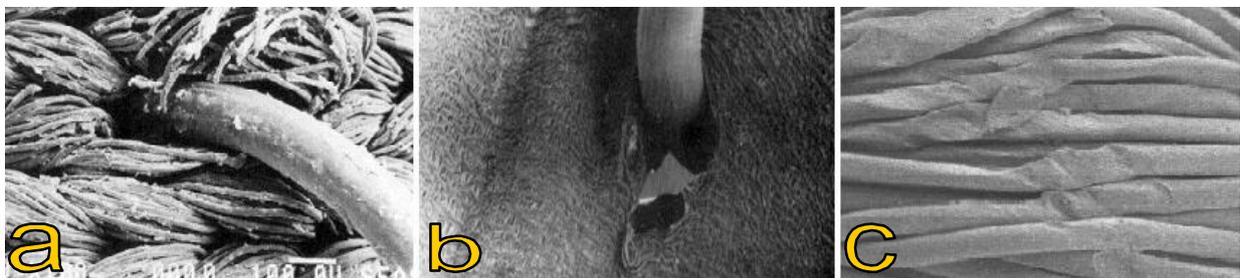


Abbildung 1.9a-c:

Typische nahtbedingte Prothesenschäden in (a) PET und (b) PTFE. Man erkennt die von der Nadelspitze zerschnittenen Fasern, bzw. das eingerissene PTFE Gewebe. In (c) ist die Beschädigung von PET-Fasern durch wiederholtes Klemmen dargestellt.

Bilder: Dr. Meincke J, Flensburg]

Um gerade die Stichkanalblutungen zu minimieren, sind alternativ auch Prothesen mit einer Mehrfach-PTFE-Schichtung entwickelt worden (z.B. Flixene [™] der Firma Atrium®) oder einer Sandwich- Schichtung mit 2-lagiger PTFE-Schicht und dazwischen liegendem Elastomer (Rapidax[™] der Firma Vascutek®). Der Vorteil der Dichtigkeit der Prothesen geht hier aber auf Kosten der Flexibilität, was mit einer vermehrten Wandsteifigkeit ver-

bunden ist. Ebenso sind bei zunehmender Wanddicke Probleme bei der Einheilung vorhanden. So werden diese Prothesen vornehmlich zur Implantation als Dialyseshunt genutzt.

1.6.2. Thrombogenität

Die Implantation von Fremdmaterial in die Blutbahn führt primär immer zur Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems und damit zu einer erhöhten Thrombogenität. Die Entstehung von Thromben beruht dabei auf der Bildung von Thrombin und Fibrin sowie der Aggregation von Thrombozyten an das körperfremde Material. Im Gegensatz zu autologen Venentransplantaten weist eine handelsübliche PET-Gefäßprothese ein erhöhtes Risiko für Thrombenbildung⁴⁹ und akute Verschlüsse auf^{50,51}. Dies wird auf die vermehrte Thrombozytenadhäsion an Kunststoffoberflächen zurückgeführt^{52,53}.

Auch die für eine primäre Dichtigkeit verwendeten Beschichtungsmaterialien können thrombogene Eigenschaften besitzen. Während sich gezeigt hat, dass eine Beschichtung mit Albumin oder Kollagen die Thrombogenität nicht entscheidend beeinflusst⁵⁴, wird sie durch Heparinisierung deutlich reduziert⁵³ und liefert in Studien zumindest mittelfristig annehmbare Ergebnisse^{13,55}. Hier scheint jedoch auch die Art der Heparin-Bindung eine entscheidende Rolle zu spielen. Mit einer kovalenten Bindung, im Gegensatz zur reinen Beschichtung, an einer PTFE-Prothese (Gore® Propaten®) scheint man nun, wenn man die ersten kurzfristigen Ergebnisse betrachtet, einen enormen Schritt zur Minimierung der Thrombogenität vorangekommen zu sein. Insbesondere im Bereich der infragenaalen Bypassrekonstruktionen gibt es nach 1 und 2 Jahren deutliche Vorteile gegenüber herkömmlichen Prothesen^{56,57}. Die Indikationsstellung ist jedoch hier bei bekannter HIT 2-Reaktion eingeschränkt, obwohl es diesbezüglich in der Literatur keine eindeutigen Hinweise auf Auslösung einer HIT durch die Prothese gibt. Auch karbonbeschichtete Prothesen wurden getestet. Lieferten sie in Tierversuchen noch hoffnungsvolle Resultate⁵⁸, waren diese dann jedoch klinisch eher widersprüchlicher Natur und zeigten letztlich keine Vorteile⁵⁹. Eine Prothese mit permanenter Unterdrückung der Thrombenbildung konnte also bis dato nicht verwirklicht werden.

1.6.3. Infektion

Eines der Hauptprobleme im Zusammenhang mit Gefäßersatzoperationen stellt die bakterielle Infektion dar ^{60,61}. Das Risiko einer tiefen Protheseninfektion nach Implantation eines Gefäßersatzes wird mit bis zu 5% ⁶² angegeben. Dieses gering erscheinende Risiko bewirkt jedoch eine um 12-22% erhöhte Letalität sowie eine um 17-79% erhöhte Amputationsrate ⁶³⁻⁶⁸ und wird daher zu Recht gefürchtet. Die Inzidenz ist dabei abhängig vom Ort der Implantation, so sind insbesondere Dialyseshuntis und Bypässe mit Beteiligung der Leistenregion gefährdet. Es gibt in der Literatur mehrere Klassifikationen. Die gebräuchlichste klinische Einteilung der Bypassinfektion wird auch heute noch nach Szilagyi vorgenommen. Hier wird nach der Tiefe der infizierten Gewebsschichten unterteilt: Grad I- oberflächlich, auf die Haut begrenzt; Grad II- oberflächlich, mit Beteiligung der Subkutis und Grad III- tiefe Infektion mit Beteiligung der Prothese. Eine andere Form der Einteilung findet sich nach Zühlke/ Harnoss, wo der reine Protheseninfekt allein oder mit Beteiligung der Anastomosenregion und eventuell dazu bestehenden Blutungskomplikationen in 3 Grade untergliedert wird. Zusätzlich wird in Frühinfekt (innerhalb der ersten 4 Wochen) und in Spätinfekt (später als 4 Wochen nach Implantation) unterteilt. Dieser Unterschied hat sich in der Klinik hinsichtlich der Prognose und der Behandlungskonsequenz bewährt. Im Falle einer Infektion gilt, neben der obligaten antibiotischen Therapie, die Entfernung der Prothese, und damit des Erregerreservoirs, als Goldstandard. Bei nur partieller Entfernung muss bis zu 41%⁽¹⁾ mit einem Rezidiv der Infektion gerechnet werden. Selbst bei optimaler Therapie kann die oben beschriebene hohe Mortalität und Amputationsrate kaum vermieden werden. Mittlerweile weiß man aber auch, dass es bei der Virulenz der Keime bedeutende Unterschiede gibt. Bei Infektionen mit Staph. epidermidis z.B., sind der „in situ repair“, sprich der Prothesenaustausch an gleicher Stelle, mit einer Antibiotika- oder Silber- imprägnierten Prothese zulässig, wobei eine eindeutige Evidenz diesbezüglich fehlt. Tierexperimentell zeigte jedenfalls der in situ-Ersatz mit Rifampicin gebundener Prothese sehr gute Ergebnisse ⁶⁹. Hingegen sollte bei Infektionen mit Staph. aureus, incl. MRSA oder gramnegativen Keimen wegen der schlechteren Prognose ein „ex situ repair“, also eine extraanatomische Bypassneuanlage mit kompletter Entfernung der alten Prothese, oder der Einsatz mit Homografts erfolgen ^{70,71}. Eine andere, eben-

(¹) Untersuchungen von Zegemann und Günther veröffentlicht auf www.graftinfections.de

falls erfolgreich angewendete Methode bei nicht komplettem Protheseninfekt ist die Belassung des Implantates und das ausgiebige Debridement sowie die Deckung mit Muskellappen⁷². Prophylaktisch ließen sich durch einen primär infektionsresistenten Gefäßersatz diese Risiken und die damit verbundenen Auswirkungen für den Patienten nahezu ausschließen. Experimentelle Studien mit Rifampicin- imprägnierten Prothesen verliefen vielversprechend. Große klinische Studien konnten dies jedoch nicht bestätigen⁷³. Weiterhin wird versucht, die bekannten anti-infektiösen Eigenschaften von Silber und seinen Salzen mittels Imprägnierung auf Gefäßprothesen zu übertragen. Diese silberbeschichteten Prothesen besitzen anti-infektiöses Potential und beeinträchtigen die Einheilung nicht wesentlich⁷⁴, sind jedoch einer direkten lokalen Antibiose unterlegen⁷⁵. Eine Kombination von Silber und Antibiotika, so wird geschlussfolgert, böte sich an⁷⁶. Auch eine Kombination mit anderen antiseptischen Stoffen, wie Triclosan wird diskutiert⁷⁷. Hierzu gibt es bereits eine neue Prothese auf dem Markt (Intergard Synergy von Maquet®). Allerdings wird sogar schon von einer Infektresistenz gegenüber Silber berichtet⁷⁸. Doch auch zu diesem Thema gibt es wegen der geringen Fallzahlen der Protheseninfekte immer noch keine wegweisenden klinischen Studien, so dass die Wahl der Prothesenart im einzelnen Fall dem Chirurgen vorbehalten ist. Eine generelle Empfehlung zur Verwendung einer bestimmten Prothese als Infektionsprophylaxe gibt es somit nicht.

1.6.4. Flexibilität und Degradation

Eine Gefäßprothese wird im Körper nicht nur mechanischen Belastungen, wie der Puls- welle oder einem Beugungs-, Stauchungs- und Scherstress, sondern auch chemischen Prozessen ausgesetzt. Dennoch muss sie ihre Funktionsfähigkeit möglichst lange, eventuell sogar über Jahrzehnte hinweg, behalten. Es hat sich jedoch gezeigt, dass mit zunehmender Verweildauer im Organismus die Gefahr von Prothesenrupturen und der Ausbildung von Aneurysmen ansteigt⁷⁹, so finden sich daher viele Fallberichte von „*spontanem und unerwartetem*“ Prothesenversagen^{80,81}. Besonders bei PET-Prothesen und deren fortschreitender Degradation durch Hydrolyse an Esterbindungen durch körpereigene Enzyme⁸² lassen sich Haltbarkeit und somit Zuverlässigkeit kaum vorhersagen⁸³. Untersuchungen an Dacron®-Prothesen zeigten einen Verlust von 60% der Be-

lastbarkeit bereits nach 5 Jahren Implantationsdauer⁸⁴, wiederum abhängig von der Textur des Kunststoffes.

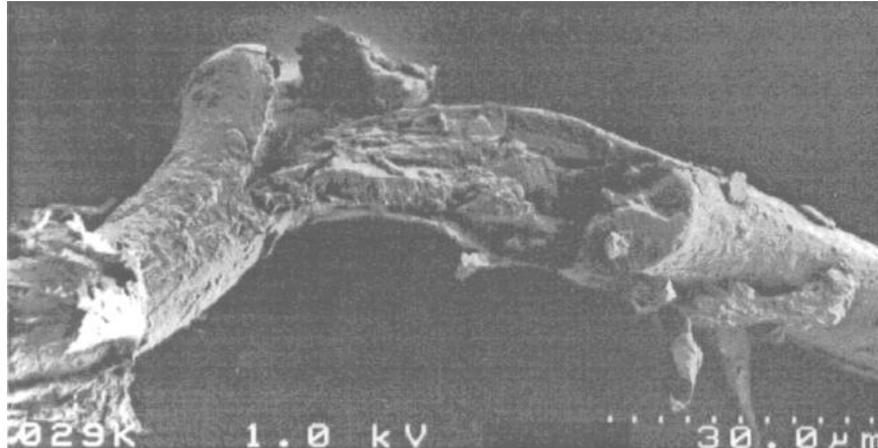


Abbildung 1.10:

Faser einer nach 13 Jahren explantierten PET-Prothese. Die Beschädigungen sind deutlich erkennbar.

Bildquelle⁸³

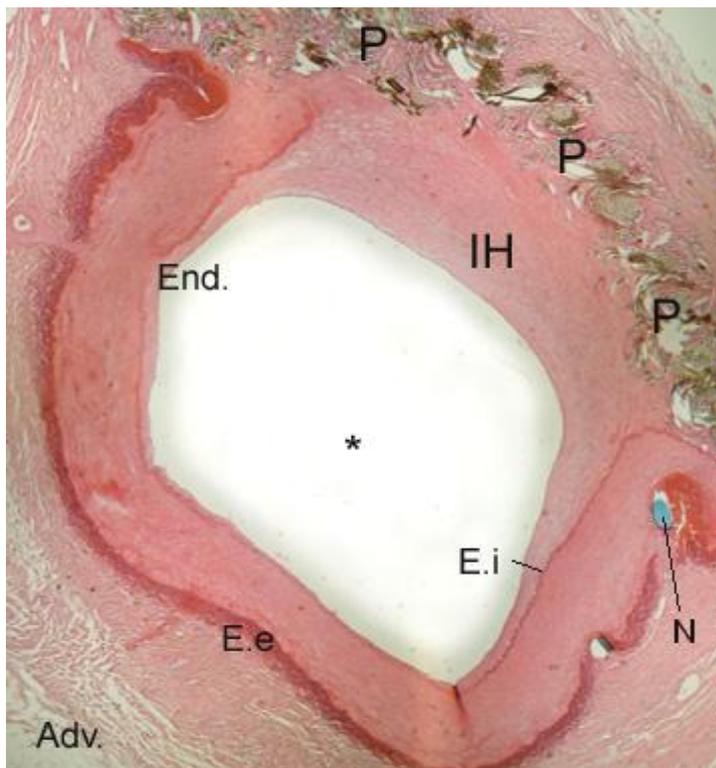
Mit dem Versagen einer Prothese muss also eigentlich gerechnet werden, die dauerhafte Heilung einer Gefäßerkrankung mit nur einem einzigen operativen Eingriff kann de facto nicht garantiert werden. Der (irgendwann) zwingend erforderliche und mit hohen Kosten verbundene Folgeeingriff stellt mit 2-3facher Mortalitätsrate⁸⁵ ein nicht zu unterschätzendes Risiko für Leib und Leben des Patienten dar. Der Haltbarkeitsverbesserung durch Optimierung vorhandener sowie die Erforschung neuartiger Materialien kommt somit zentrale Bedeutung zu.

1.6.5. Intimahyperplasie

Carrell und Guthrie sahen 1906 bei der histologischen Auswertung ihrer Versuche eine Gewebsveränderung, die sie „...hauptsächlich in einer markanten Verdickung von Bindegewebe in Adventitia und Media...“ beschrieben²⁹. Dies war die erste Beschreibung dessen, was später als Intimahyperplasie (IH) (s. Abb. 1.11 auf nächster Seite) bekannt und gefürchtet werden sollte. Diese pathologische Besonderheit wurde in der Literatur ausführlich beschrieben und u.a. „intimale faserige Proliferation“ (1971)⁸⁶ oder „intimale Verdickung“ (1975)⁸⁷ genannt. Aber erst mit der Einführung der Transmissionselektronenmikroskopie (TEM) wurden dort neben Fibroblasten auch glatte Muskelzellen identifiziert,

weshalb man den etwas weitläufigeren Begriff Intimahyperplasie wählte ⁸⁸, der seither geläufig ist.

Die Intimahyperplasie (IH) (auch als myointimale Hyperplasie, neointimale oder subendotheliale Hyperplasie bezeichnet) wird oft als das wichtigste, jedoch immer noch ungelöste Problem ⁸⁹ der Gefäßchirurgie bezeichnet: *“... intimal hyperplasia is a devastating clinical problem and may be the most significant unresolved problem in the field of vascular surgery. It is very complicated and has defied simple solutions.”* ⁹⁰



P	Prothese
IH	Intimahyperplasie
End	Endothel = Intima
E.i	membrana elastica interna
E.e	membrana elastica externa
Adv.	Adventitia
N	Nahtmaterial (5/0 Prolene©)

Abbildung 1.11:

Histologie der Intimahyperplasie: Querschnitt durch einen mit Patchplastik versorgten Gefäßabschnitt (HE-Färbung; Vergrößerung 4fach). Der Stern markiert das Gefäßlumen. Die überschießende Gewebsproliferation im Bereich des Patches ist deutlich erkennbar. Bild: Eigenmaterial

Die Intimahyperplasie (IH) ist hierbei von der erwünschten Bildung funktionsfähiger Neointima mit Neoendothel abzugrenzen. Sie wird im Allgemeinen als *“response to injury”* -Reaktion eines Gefäßes mit Proliferation glatter Muskelzellen (GM) der Media verstanden. Diese migrieren innerhalb von etwa 6 Tagen in eine Masse aus gemischten Thrombus, der sich unmittelbar nach Verletzung der Elastica interna gebildet hat und nach 3-4 Tagen bereits mit Endothel überdeckt ist. Es kommt weiterhin zu einer Einwan-

derung von Monozyten, Makrophagen und Lymphozyten⁹¹ und zu einer Umbildung der GM vom ruhenden in den synthetisierenden Typ und der Produktion von extrazellulärer Matrix (Elastin, Kollagen) und Bindegewebe⁹². Der Thrombus degeneriert und die glatte Muskulatur bildet förmlich eine darüber liegende Kappe. Die Neointima ist dann mit 21 Tagen voll ausgebildet, durch weitere Synthese extrazellulärer Matrix kommt es dann zur Hyperplasie. Vorhandenes Endothel wirkt im gesunden Gefäß durch Hemmwirkung regulierend auf diesen Prozess ein⁹³. Zudem verhindert gesundes Endothel die Thrombenbildung. Nachweislich findet sich jedoch nur eine inkomplette Endothelauskleidung in Gefäßprothesen, wobei der eigentliche Mechanismus der Ansiedlung nicht genau bekannt ist und wohl multifaktoriell bedingt ist. Es wurden daher bereits Versuche unternommen, die Endothelansiedelung in Prothesen aktiv zu betreiben⁹⁴. Das sogenannte ECS (endothelial cell seeding) ist eine Form dessen, wobei durch aufwendige Verfahren gewonnenes autologes Endothel an der unterschiedlich beschichteten Prothese haftbar gemacht wird und dabei die Neo-Endothelbildung nach Implantation zusätzlich induziert wird. Auch dieses Verfahren konnte sich trotz ermutigender Ergebnisse wegen des hohen Aufwandes in der breiten Anwendung bisher nicht durchsetzen. Die Ausschüttung von PDGF (*platelet derived growth factor*) durch vermehrt an der Kunststoffoberfläche adhärente Thrombozyten hält die Proliferation der IH innerhalb der nächsten Wochen aufrecht^{95,96}, was schlussendlich zur Beeinträchtigung des Lumens führt. Besonders im Bereich kleinerer Arterien können daraus leicht Stenosen oder sogar Totalverschlüsse resultieren. Die Mehrzahl aller Verschlüsse nach peripherer Gefäßoperation darf der IH angelastet werden^{97,98}. In der Unterdrückung oder zumindest der Verringerung von IH liegt somit großes Potential. Der *“compliance mismatch“*, also die Diskrepanz in der Dehnbarkeit zwischen Prothese und Arterienwand an der Anastomosenstelle und Strömungsverhältnisse im betroffenen Bereich, sog. *“shear-stress“* gelten als sehr wesentlich. Das relativ rigide Material der Anfangsära wurde in der Neuzeit immer wieder modifiziert und es entstanden z.B. sogenannte „thin-wall“-Prothesen. In zahlreichen Studien⁹⁹⁻¹⁰⁴ wurden die Strömungsverhältnisse im Anastomosenbereich und ihre Auswirkung auf die Ausbildung der IH beschrieben (siehe hierzu Abb. 1.12 auf der nächsten Seite). Die darin enthaltenen Ansätze zur Strömungsoptimierung wurden von der Industrie bereits aufgegriffen und in strömungsoptimierten Gefäßprothesen, wie zum Beispiel der Distaflo®-Prothese der Firma Bard verwirklicht¹⁰⁵. Jedoch ist ein der Arterienwand vergleichsweise elastischer Kunststoff nur im Polyurethan gefunden worden, der aufgrund seiner ver-

minderten Biostabilität und damit erhöhten Degradationsneigung nur noch vereinzelt bei Dialyseseshunts Verwendung findet.

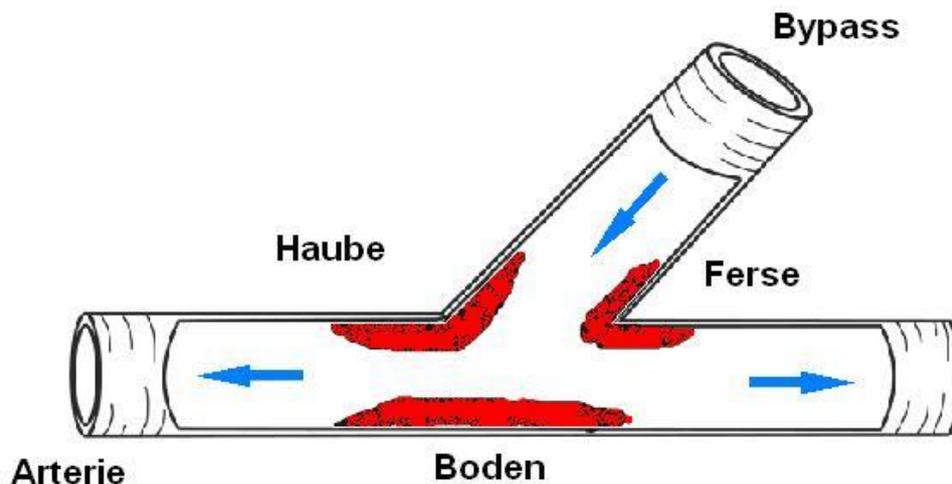


Abbildung 1.12:

Prädilektionsstellen (rot dargestellt) der Intimahyperplasie nach Bypassoperation. Typischerweise betroffen sind die Hauben und Fersenregion sowie der Boden der Empfängerarterie, da dort besonders häufig Verwirbelungen auftreten. Die Pfeile geben die Flussrichtung des Blutstroms an [nach: Rösler SK, Die Hämodynamik von femoro-cruralen Bypassanastomosen – *in vitro* Untersuchung mittels Particle Image Velocimetry, Dissertation HU Berlin, 2006].

Seit dem erste Tiermodelle entwickelt wurden, wo der Einfluss von Koronar-Stents im Gefäßsystem untersucht werden konnte, zeigte sich eine korrelierende Beziehung der Intimahyperplasie mit dem Grad der Verletzung¹⁰⁶. Auch inflammatorische Zellen sollen bei der Bildung von Intimahyperplasie eine Schlüsselrolle spielen¹⁰⁷. Es konnte ebenso tierexperimentell gezeigt werden, dass auch unabhängig vom Verletzungsgrad der Arterienwand eine auftretende Entzündungsreaktion eine vermehrte Intimahyperplasie bedingt¹⁰⁸. Die hierbei ablaufenden Prozesse ähneln im Wesentlichen denen der als "*allograft vasculopathy*" beschriebenen Transplantatabstoßung und lassen sich demnach durch Immunsuppressiva günstig beeinflussen¹⁰⁹. Dieser Ansatz nun wurde intensiv beforscht. In der Kardiologie wurden erstmals mit Immunsuppressiva beschichtete, sogenannte "*drug-eluting*" Stents wie z.B. Cypher® oder XIENCE V® eingesetzt. Die anfängliche Euphorie hat sich nach Auftreten von vermehrten Stentthrombosen¹¹⁰⁻¹¹⁴ aufgrund fehlender Bildung von Neointima und ungenügender Behandlung mit Antiaggregations-

hemmern jedoch gelegt und die Indikation zur Verwendung wird nun zurückhaltender gestellt. Zusätzlich nachteilig wirkt sich die jetzt notwendige doppelte Thrombozytenaggregationshemmung für bis zu 1 Jahr aus.

1.6.6. Einheilung / Inkorporation

Die Einheilung von Kunststoffprothesen ist ein langfristiger Prozess, der mit Gewebereaktionen ähnlich denen bei der Einheilung aseptischer Fremdkörper einhergeht⁸⁴ und daher von Wesolowski zuerst als „Fremdkörpereinkapselung“ mit Bildung einer inneren und äußeren Kapsel gedeutet wurde¹¹⁵. Die ablaufenden Gewebsreaktionen lassen sich histologisch und mikroskopisch in vier Stadien (dargestellt in Abb. 1.13) aufgliedern⁸⁴:

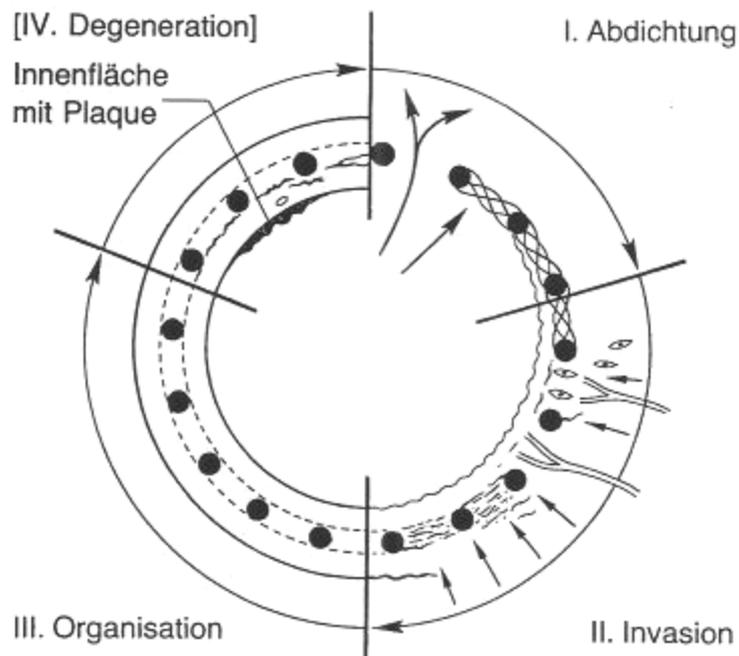


Abbildung 1.13:

Zeitlicher Ablauf der Gewebereaktionen bei der Einheilung einer alloplastischen Gefäßprothese.

Entnommen aus⁸⁴

Unmittelbar nach Freigabe des Blutstroms kommt es innerhalb der ersten Minuten zur Abdichtung des Maschenwerks durch Ausbildung eines Fibringerüsts, der sogenannten thrombogenen Matrix. Dadurch übernimmt die Prothese ihre Funktion als neuer Blutleiter (Stadium I). Diesem Stadium der Abdichtung folgt innerhalb der nächsten drei Wochen das Stadium der Gewebsinvasion. Hierbei sprossen Neo-Gefäße und juvenile Bindegewe-

webszellen aus der Umgebung in die Prothesenmatrix ein. Die luminale Seite bleibt währenddessen von einer Fibrinschicht ausgekleidet (Stadium II). Ab der vierten Woche beginnt sich eine bindegewebige Ersatzwand auszubilden. Dies geht mit Kapselbildung um den Kunststoff herum einher und kann zwischen sechs und zwölf Monaten andauern. Dabei bilden sich Inseln von Neointima und Neoendothelmanschetten (Pannusbildung) an den Anastomosen aus. Diesem Stadium der Organisation (III) folgt ab etwa dem zwölften Monat das Stadium der Degeneration (IV). Es kommt zu subintimalen Veränderungen und Schrumpfungen des umliegenden Gewebes, die mit Verkalkungen einhergehen können. Die möglichst kurzfristige Ausbildung einer Neointima mit geschlossener Endotheldecke gilt als wünschenswert, deshalb wurden insbesondere dünnwandige ePTFE-Prothesen zur schnelleren Inkorporation entwickelt. Eine seltene, aber komplikationsreiche unerwünschte Nebenwirkung der Implantation von Kunststoffprothesen jeder Art ist die so genannte Perigrafitreaktion, deren Ursache noch nicht ganz geklärt ist. Dabei handelt es sich um eine aseptische Flüssigkeitsansammlung um die Prothese herum, mit einer fibrinösen Pseudomembran begrenzt, möglicherweise als Folge einer Filtration durch eine zu poröse Prothese mit ungenügender Abdichtung oder einer immunologischen Reaktion. Auch die Existenz eines transienten humoralen Fibroblasteninhibitors als Ursache wird diskutiert ¹¹⁶.

1.7. Unser Ansatz: Eine „multifunktionelle“ Gefäßprothese

Seit Jahrzehnten hat es trotz aller Anstrengungen auf dem Gebiet des alloplastischen Gefäßersatzes keinen entscheidenden Fortschritt mehr gegeben, die weitere Forschung zur Verbesserung der aktuell verfügbaren Prothesen wird als dringlich und lohnend angesehen ¹¹⁷. Denn momentan erfüllt keine der verfügbaren Prothesen alle Anforderungen an eine „ideale Gefäßprothese“. Unsere Arbeitsgruppe verfolgt nun mit der Entwicklung der „multifunktionellen Gefäßprothese“ einen neuen Ansatz, um möglichst vielen der oben gelisteten Anforderungen gerecht zu werden:

Eine handelsübliche PET-Prothese wird mit einer Hülle aus *“medical grade“*-Polydimethylsiloxan (=PDMS), einem üblichen Implantat-Silikon, ummantelt. Silikone sind biologisch inert und damit auch im Körpermilieu lange haltbar. Sie sind leicht verfügbar und dabei sehr preiswert. Im klinischen Alltag werden Silikone seit langem in vielen anderen Anwendungsbereichen verwendet und sind nicht mehr wegzudenken. Durch die Ver-

wendung von PDMS in der Herstellung einer Gefäßprothese ergeben sich auf einen Schlag mehrere gewichtige Vorteile:

Die entstandene Prothese ist primär dicht und kann ohne weitere Vorbereitung direkt implantiert werden. Durch ein spezielles Veredelungsverfahren z.B. mit Polyvinylalkohol ist es möglich, der Silikonoberfläche dauerhaft athrombogene Eigenschaften zu verleihen.

Gleichzeitig kann die Silikonmatrix mit beliebigen, pharmakologisch nutzbaren Molekülen zur späteren Freisetzung (*“drug-elution“*) versehen werden. Hierbei ist in erster Linie an Medikamente zur Unterdrückung der Intimahyperplasie zu denken, was unserem ersten Versuchsansatz entsprach, aber auch die Einbringung von Antibiotika oder Wachstumsfaktoren sind zukünftig denkbar.

1.8. Ziel der Arbeit

Nachdem bereits durch unsere Arbeitsgruppe u.a. mittels physikalischer Tests und Untersuchungen am Rasterelektronenmikroskop nachgewiesen werden konnte, dass die neue Prothese hinsichtlich der Stabilität und Elastizität sowie bei der Handhabung, insbesondere bei der Nähbarkeit, herkömmlichen Prothesen ebenbürtig ist und in der Dichtigkeit überlegen ist, sind auch Versuche zur Medikamentenfreisetzung erfolgreich verlaufen¹¹⁸. Die vorliegende Arbeit widmet sich nun der Auswertung der im Tiermodell gewonnenen Daten bezüglich folgender Fragestellungen:

- Gelingt im Tiermodell die Unterdrückung der Intimahyperplasie?
- Wie ist die Offenheitsrate im Vergleich zu handelsüblichen Prothesen?
- Wie verhält sich die Prothese im Tier bezüglich der Inkorporation?
- Lässt sich eine lokale Entzündungsreaktion unterdrücken?

2. Material und Methoden

2.1. Aufbau der „multifunktionellen Gefäßprothese“

Verwendet wurde eine handelsübliche, gewirkte PET-Prothese, die sich den, im Folgenden geschilderten, durch unsere Arbeitsgruppe entwickelten, speziellen Beschichtungsverfahren unterzog. Durch maschinelles Beschichten mit PDMS soll primäre Dichtigkeit erreicht werden. Durch anschließende nasschemische Oberflächenmodifikation erhalten die Prothesen athrombogene Eigenschaften. Zusätzlich kann die PDMS-Matrix der Prothese mit beliebigen Substanzen wie z.B. Antibiotika oder Immunsuppressiva beladen werden, welche dann maßgeschneidert ins umliegende Gewebe abgegeben werden sollen. Damit ließen sich rein lokal Entzündungen, Infektionen und die Intimahyperplasie verhindern oder unterdrücken. Als Trägermaterial für die Beschichtung mittels einer selbsthergestellten Emulsion aus Polydimethylsiloxan MED 4211 mit einem Härtegrad von 30 Shore (Fa. NuSil) und Ethylacetat (=EtAc) (Stoffnummer 1173, R 11-36-66-67; S 16-23-29-33) dienten in diesem Versuch unbeschichtete 6mm durchmessende PET-Prothesen der Firma Edwards (Albograft®).

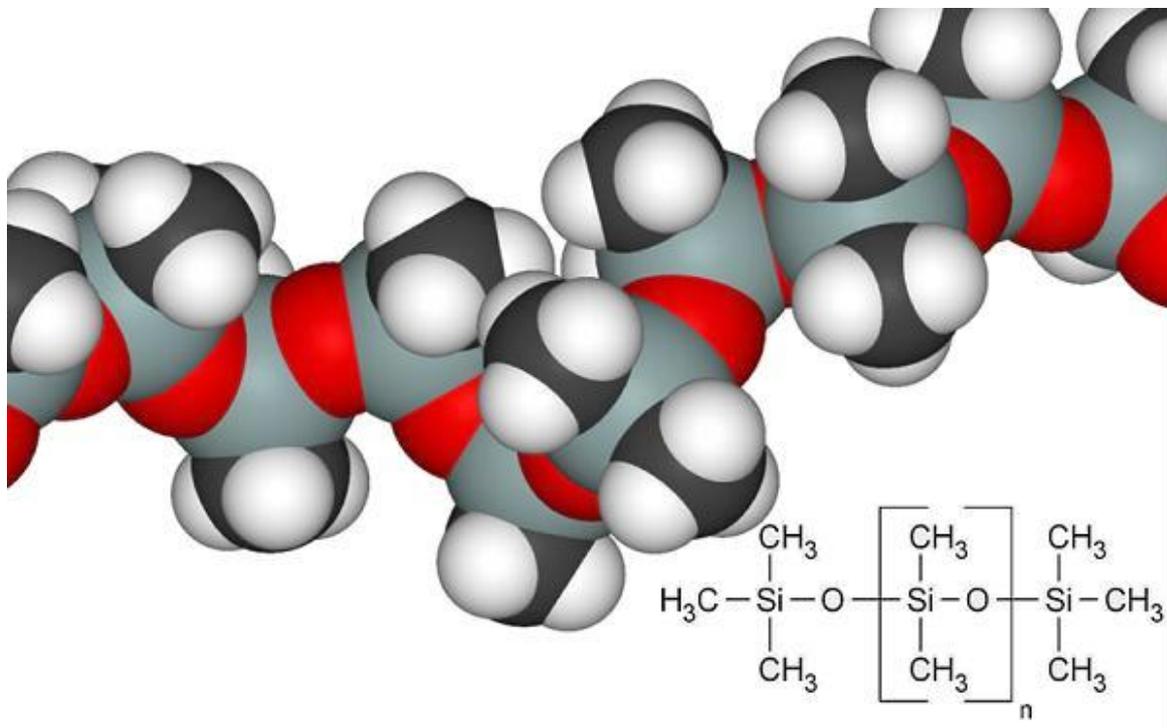


Abbildung 2.1:

Räumliches und strukturelles Modell von PDMS (laut Nomenklatur: catena-Poly[(dimethylsilicium)-m-oxo])

In mehreren Beschichtungsvorgängen mit jeweils anschließender Trocknung unter Abdampfen des Ethylacetats bei 70°C im Wärmeschrank wird die Prothese bis zur gewünschten Dichtigkeit beschichtet (Abbildung 2.2).

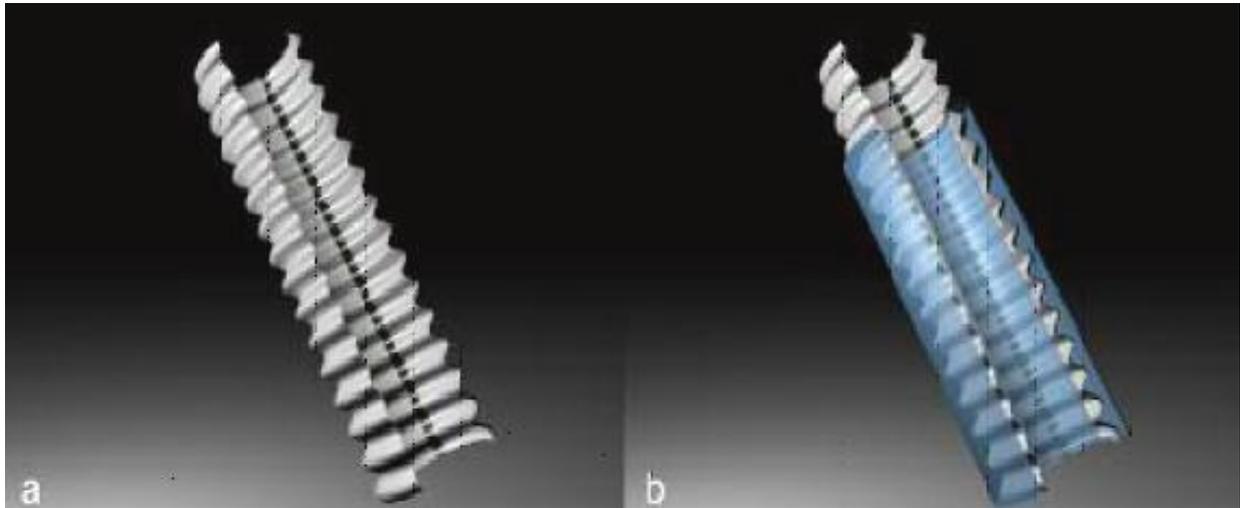


Abbildung 2.2:

Die native Prothese (a) wird durch die Beschichtung auf Innen- und Außenseite mit einem Silikonmantel (b) versehen. Bild mit freundlicher Genehmigung von A. Larena-Avellaneda, Hamburg

Durch einen nass-chemischen Bearbeitungsschritt erhalten die so hergestellten Prothesen eine athrombogene Oberflächenmodifizierung. Hierzu werden geeignete Moleküle durch kovalente Bindung an die Außenseiten der PDMS Matrix gebunden (siehe Abbildung 2.3). Nach Vorstudien¹¹⁹ erfolgte die Festlegung auf Polyvinylalkohol.

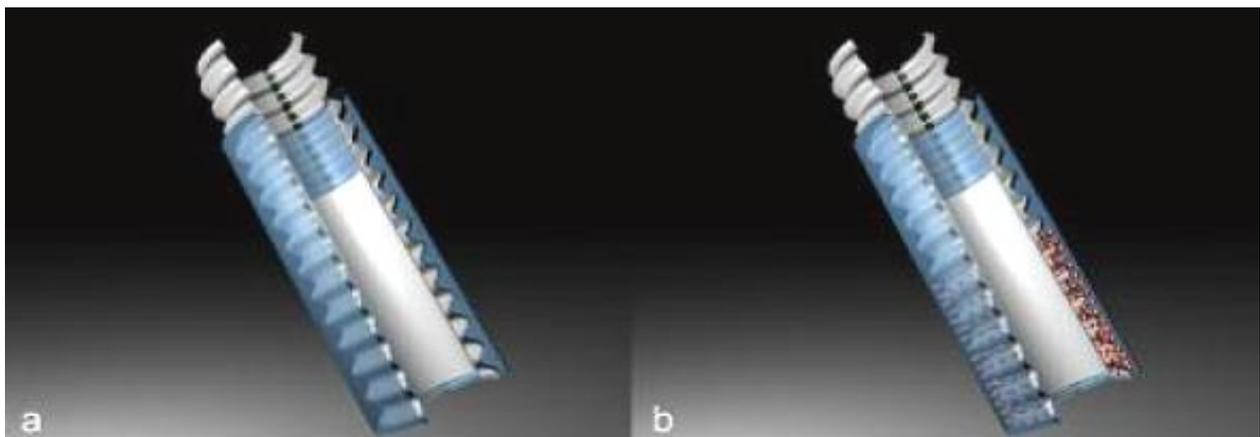


Abbildung 2.3:

Die Oberfläche der Prothese kann nun eine Oberflächenmodifizierung erhalten (a). Zusätzlich können beliebige Moleküle zur späteren Elution in die Silikonmatrix eingebracht werden (b).

Bild mit freundlicher Genehmigung von A. Larena-Avellaneda, Hamburg

Durch einen weiteren nass-chemischen Prozess ist es jetzt möglich, Moleküle (Immunsuppressiva, Wachstumsfaktoren oder Antibiotika) zur späteren Freisetzung (*“elution“*) in die Silikonmatrix einzubringen.

2.2. Wahl des Immunsuppressivums

Neben Paclitaxel (PAX) stand auch Sirolimus (SRL) zur Wahl. Da für PAX kein gewerblicher Assay verfügbar war, erfolgte die Festlegung auf Sirolimus (Rapamune®, s. Abb. 2.4) der Fa. Wyeth, welches neben dem neueren Everolimus (Certican®) zur Senkung der Restenoserate geeignet erschien ¹⁰⁹.

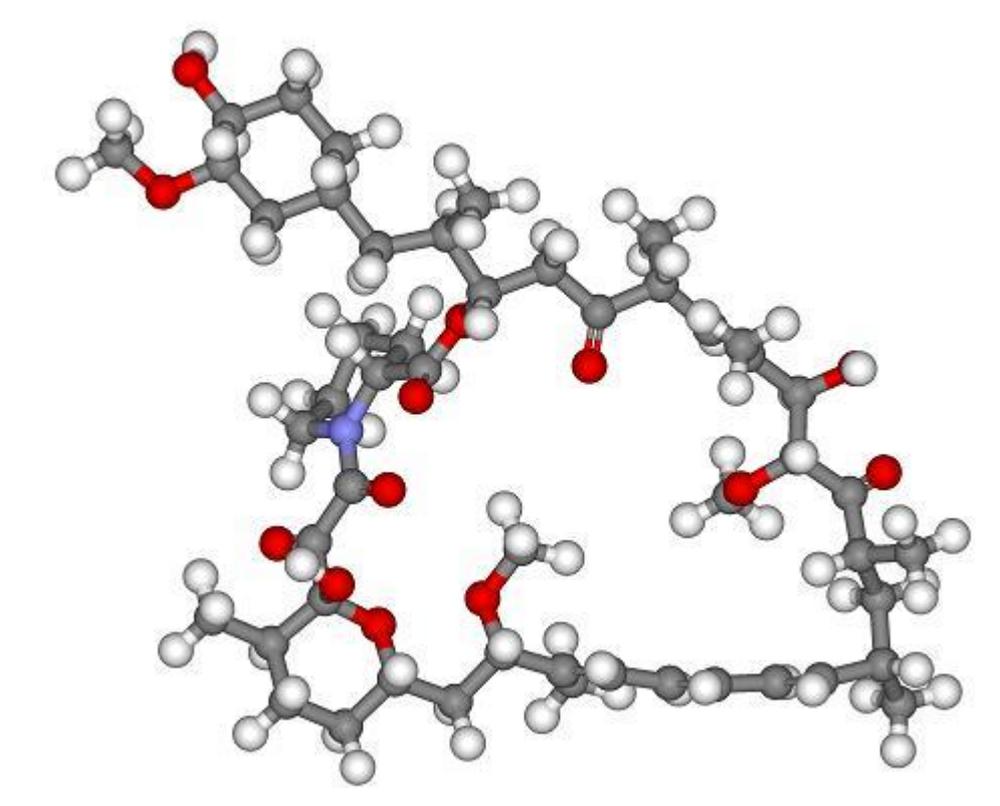


Abbildung 2.4:

Stäbchenmodell von Sirolimus. Bildquelle: <http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Sirolimus3d.png>

(08.05.2012)

Sirolimus (SRL, Rapamycin) ist ein makrozyklisches Immunsuppressivum aus *streptomyces hygroscopicus*. Dieser Bakterienstamm wurde erstmals im Boden der Insel Rapa Nui, auch bekannt als Osterinsel, gefunden. Daher auch der Name RapaMycin.

SRL inhibiert eine Reihe von cytokinvermittelten Signaltransduktionswegen durch Komplexbildung mit dem Protein mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*). Dieses hat zur Folge, dass das Voranschreiten der T-Zellen von der G1-Phase in die S-Phase des Zellzyklus verhindert wird¹²⁰. SRL ist im Gegensatz zu Tacrolimus oder Cyclosporin, welche die Interleukin 2 (IL-2) Produktion hemmen, kein Calcineurininhibitor, sondern hemmt direkt die Wirkung von IL-2. Nach Gabe von Rapamycin verringert sich die Proteinsynthese glatter Muskelzellen um 40-60%, gleichzeitig werden kontraktile Proteine exprimiert¹²¹. Ein starker anti-proliferativer Effekt auf glatte Muskelzellen konnte nachgewiesen werden¹²⁰⁻¹²², eine Verwendung in *“drug-eluting stents“* lag somit nahe. Durch Langzeitergebnisse zeigte sich jedoch, dass ein besseres Verständnis der zugrundeliegenden Mechanismen nötig ist, um spezifische Therapien gegen IH zu entwickeln.

Aufgrund der Thermolabilität von Sirolimus wurden die Prothesen abschließend im Plasmasterilisator (Sterrad®-System, Fa. Johnson&Johnson) sterilisiert.

2.3. Tiermodell

Die Wahl des Versuchstiers wurde nach Literaturrecherche getroffen. Die Mehrzahl ähnlicher Versuchsreihen wurde entweder mit Hunden diverser Art oder am Minischwein durchgeführt. Aufgrund der leichteren Handhabung und Verfügbarkeit entschieden wir uns für das Minischwein.



Abbildung 2.5:

Göttinger Minischwein ID# 421; ♂ (=kastriert) Körpermasse 60,4kg – ein typischer Vertreter für die im Versuch verwendeten Tiere

2.3.1. Vorversuch

Nach Vorversuchen mit 46 Hunden ¹²³, folgte eine Versuchsreihe an 6 Göttinger Minischweinen, sogenannten "*mini-pigs*" zur Ermittlung des zu verwendenden Immunsuppressivums. Das OP-Team bestand aus einem am Klinikum tätigen Facharzt für Gefäßchirurgie, einem chirurgischen Assistenten, einem Anästhesisten und einem Tierpfleger. Alle Operationen wurden im Tier-OP der experimentellen Chirurgie der Universität Würzburg durchgeführt. Präoperativ wurde ein Langzeitantibiotikum (Ampicillin) und ein Sedativum (Stresnil-Janssen®) verabreicht. Nach Intubationsnarkose erfolgte unter sterilen Bedingungen eine Medianlaparatomie in Rückenlage. Je zwei Tieren wurde entweder mit Sirolimus, Paclitaxel oder IS (aus patentrechtlichen Gründen darf der Name des weiteren Immunsuppressivums nicht genannt werden)... beladenes und freisetzendes (vgl. Kap. 2.1.) Prothesenmaterial in die Iliakalgabel eingesetzt. Auf der Gegenseite wurde als Kontrolle jeweils ein herkömmlicher kollagenisierter Prothesenstreifen, sog. "*patch*" in die eröffnete Gefäßwand eingenäht. Die Implantation erfolgte beidseits in gegenläufiger 4 Punkt-Technik mit 5/0 USP (Prolene®). Zur Antikoagulation wurden 3000 IE Heparin verabreicht. Das Retroperitoneum wurde mit resorbierbarem Nahtmaterial (Maxon® 4/0) vernäht, die Bauchdecke mittels PDS II® -Schlingennaht verschlossen. Die Hautnaht nach Donati erfolgte mit 2/0 Prolene® und wurde zusätzlich mit Sprühpflaster versorgt. Nach beendeter Operation verblieben die Tiere über Nacht in Intensivüberwachung und erhielten Tramal und Novalgin® s.c. zur Schmerzstillung, die anschließende Betreuung erfolgte im Tierhaus der Universität. Postoperativ wurde täglich 100mg ASS zur Antikoagulation verabreicht. Nach 6 Wochen wurden die Tiere eingeschläfert und die Iliakalgabeln zur histologischen Aufarbeitung explantiert.

2.3.2. Hauptversuch

Die abschließende Tierstudie mit 24 Tieren gliederte sich in Bypass- und Patch-OPs. Als Versuchsspezies dienten wiederum Göttinger Minischweine. Die Tiere wurden in vier Gruppen zu je sechs Tieren randomisiert, in jeder Gruppe erfolgte bei je 3 Tieren beidseits die Implantation eines ca. 8 cm langen Prothesenstücks, beziehungsweise das Einnähen eines ca. 3x1cm messenden Patches im Gebiet der Iliakalgabeln. In der Kontrollgruppe fand handelsübliches, kollagenisiertes Prothesenmaterial (Albograft® Ø6mm, Fa.

Edwards) Verwendung. Für die drei anderen Gruppen wurden native Ø 6mm PET-Prothesen der Fa. Edwards mit dem in Kapitel 2.1. beschriebenen Verfahren silikonisiert. Das Silikon der ersten Gruppe erhielt eine Oberflächenmodifikation mit PVA, bei dem der zweiten Gruppe wurde Sirolimus zur späteren Freisetzung eingebracht. Das Silikon der dritten Gruppe enthielt Sirolimus und wurde zusätzlich mit PVA oberflächenmodifiziert (siehe hierzu Tabelle 2.1 auf nächster Seite). Das OP-Team bestand aus einem Facharzt für Gefäßchirurgie, einem chirurgischen Assistenten, sowie einem Anästhesisten und einem Tierpfleger. Alle Operationen wurden im Tier-OP der experimentellen Chirurgie der Universität Würzburg durchgeführt. Präoperativ wurde ein Langzeitantibiotikum (Ampicillin) und ein Sedativum (Stresnil-Janssen®) verabreicht. Nach Intubationsnarkose erfolgte unter sterilen Bedingungen eine mediane Laparatomie in Rückenlage. Der Anatomie männlicher Versuchstiere musste beim Zugang zusätzlich Rechnung getragen werden. Der Harnröhrenausgang liegt, optisch einem menschlichen Nabel ähnlich, median im Unterbauch, und somit direkt im Bereich unserer Laparatomie. Wir passten die Schnittführung in diesem Bereich ähnlich einem Nabelschnitt halbkreisförmig an, um diese anatomischen Strukturen zu schonen. Um das Eindringen von möglicherweise keimbelastetem Harn in die Bauchhöhle zu verhindern, punktierten wir intraoperativ mehrmals die Harnblase und leiteten den Harn steril ab. Unter zu Hilfenahme eines Selbsthalters (Omni-tract®, Fa. Medino) erfolgte die Darstellung der Iliakalgabeln beidseits. Unter Antikoagulation mit 3000 IE Heparin. erfolgte die Implantation des jeweiligen Prothesenmaterials in gegenläufiger 4 Punkt-Technik mit 5/0 Prolene® im Gebiet der Iliakalgabeln. Nach Freigabe der Strombahn erfolgte zum Nachweis der SRL-Elution *in vivo* nach 5, 15, 30 und 60 min eine Blutentnahme. Das Retroperitoneum wurde mit resorbierbarem Nahtmaterial (Maxon® 4/0) vernäht, die Bauchdecke mittels PDS II® Schlingennaht verschlossen. Die Hautnaht nach Donati mit 2/0 Prolene® wurde zusätzlich mit Sprühpflaster versorgt. Nach beendeter Operation verblieben die Tiere über Nacht in Intensivüberwachung und erhielten Tramal® und Novalgin® als s.c. Depot zur Schmerzstillung, die anschließende Betreuung erfolgte im Tierhaus der Universität. Postoperativ wurde täglich 100mg ASS p.o. zur Antikoagulation verabreicht. Die überlebenden Tiere der Bypassgruppe wurden nach 6 Monaten eingeschläfert und die Anastomosenregion zur Bestimmung der Offenheitsrate explantiert. Die Tiere mit Patchplastik wurden zum Zeitpunkt der theoretisch größten Ausprägung der IH (nach ca. 6 Wochen) eingeschläfert und der gepatchte Gefäßabschnitt zur Auswertung der Intimahyperplasie explantiert.

ID	m	♀ / ♂-	Geplante OP	Prothesentyp
421	60,4	♂-	Bypass bds.	Edwards kollag. = Kontrolle.
46	66,8	♀	Bypass bds.	
418	55,0	♀	Bypass bds.	
7	55,0	♂-	Patch bds.	
48	56,7	♂-	Patch bds.	
378	41,0	♀	Patch bds.	
407	53,1	♂-	Bypass bds.	Edwards nativ, silikonisiert +PVA
409	67,8	♂-	Bypass bds.	
414	52,0	♀	Bypass bds.	
399	61,8	♀	Patch bds.	
196	66,0	♀	Patch bds.	
227	n/a	♂-	Patch bds.	
4	60,3	♀	Bypass bds.	Edwards nativ, silikonisiert+ SRL
415	69,2	♀	Bypass bds.	
402	58,5	♂-	Bypass bds.	
34	56,8	♂-	Patch bds.	
42	62,0	♂-	Patch bds.	
22	71,0	♂-	Patch bds.	
72	59,7	♂-	Bypass bds.	Edwards nativ, silikonisiert+SRL+PVA
74	72,0	♂-	Bypass bds.	
79	58,7	♀	Bypass bds.	
77	70,0	♂-	Patch bds.	
422	58,5	♂-	Patch bds.	
71	50,9	♂-	Patch bds.	
82	58,7	♂-	Patch re.	Edwards nativ, silikonisiert+PAX (Vorversuch)
111	60,1	♀	Patch re.	

Tabelle 2.1:

Aufgliederung des Tierversuches. Einer Kontrollgruppe von 6 Tieren wurde das Kollagenprothesenmaterial von Edwards eingesetzt, die anderen gleich starken Gruppen erhielten entweder oberflächenmodifizierte (PVA), immunsupprimierende (SRL) oder kombinierte Beschichtungen (SRL+PVA). mit einer nativen, silikonisierten PET-Prothese als Grundlage. Zusätzlich die Gruppe mit Paclitaxel beschichteter Prothesen aus dem Vorversuch.

2.4. Histologische Aufarbeitung der Gefäßabschnitte

2.4.1. Zuschneidung und Einbettung in Paraffin

Die in Formalin fixierten Gefäße wurden in standardisierter Weise zurechtgeschnitten sowie proximal und distal markiert. Anschließend erfolgte die Entwässerung in einer aufsteigenden Alkoholreihe (40%-70%-90%) für je 24 Stunden. Der Alkohol wurde dann durch Einlegen in Xylol entfernt. Nachfolgend sind die Gefäßsegmente in Paraffin gesättigtes Xylol übertragen und dann in reines Paraffin gelegt worden, welches dann nochmals gewechselt wurde, wo sie dann 5 Stunden verblieben. Diese Prozeduren verliefen im Brutschrank. Es erfolgte schließlich die Einschmelzung eines frischen Paraffinblocks und das Übertragen der Präparate in eine Einbettkassette. Das anschließende Schneiden der Gewebsblöcke wurde mit dem Mikrotom mit einer Schichtdicke von 5 µm durchgeführt. Hierbei zeigte sich, dass insbesondere im Anastomosenbereich doch häufig das Prothesenmaterial und die Neointima ausrissen. Die Schnitte wurden auf dem Objektträger platziert und dann entparaffiniert. Dieses geschah nun wieder durch Bedeckung mit Xylol für kurze Zeit im Thermostat. Zur Vorbereitung der Färbung erfolgte das Einlegen der Schnitte in einer absteigende Alkoholreihe (90%-60%).

2.4.2. HE-Färbung

Zur morphologischen Untersuchung wurde eine Standard-Färbung mit Hämatoxylin und Eosin (HE) durchgeführt. Dabei zeigen sich die Zellkerne blau und das Zytoplasma und die Interzellulärsubstanz rosa bis pinkfarben. Die Schnitte wurden 5 min zur Kernfärbung in Mayers Hämalaun Lösung (Fa. Merck, Darmstadt) und nach anschließendem Spülen mit Wasser für weitere 5 min in die Eosin-G-Lösung (Fa. Merck, Darmstadt) zur Gegenfärbung gelegt. Nach dem erneuten Spülen mit Leitungswasser erfolgte wieder die Entwässerung in einer ansteigenden Alkoholreihe und schließlich die Einbettung in Neomount®

2.4.3. E-v-G-Färbung

Zur Differenzierung von Zellkernen, Muskulatur, Bindegewebe und elastischen Fasern wurde nun eine zweite Färbemethode verwendet. Im Ergebnis zeigen sich hier die Zellkerne braun bis schwarz, die elastischen Fasern schwarz und die Muskulatur gelb sowie das Kollagen rot. Die Elastica-van Gieson-Färbung wird ebenfalls mit einer gewerblich vertriebenen Lösung der Fa. Merck nach standardisiertem Prozedere vollzogen.

Dabei werden die Schnitte in typischer Weise wieder entparaffiniert und rehydratisiert. Es erfolgt zuerst die Elastin-Färbung nach Weigert für 10 min, nach Spülen in fließendem Leitungswasser wird Weigerts Lösung A und B 1:1 gemischt und 5 min angewendet. Nachfolgend dann erneutes Spülen mit Leitungswasser und Baden in Pikrofuchsin-Lösung für 2 min sowie die Fixierung mit 70% Ethanol für 1 min. Die Entwässerung erfolgt wieder in aufsteigender Alkoholreihe. Schließlich werden die Präparate wiederum mit Neo-Mount® eingedeckt.

2.5. Auswertung

2.5.1. Beurteilung der Offenheitsrate

Direkt nach Explantation wurde die Offenheitsrate durch einen Spülversuch mit Wasser ermittelt. Im Falle eines Verschlusses wurde längs eröffnet und der Befund makroskopisch verifiziert. Die Auswertung erfolgt anhand der Tierversuchsprotokolle. Anschließend wurde die Fixierung in Formalin vorgenommen. Die so fixierten Präparate wurden dann weiter bearbeitet und in Paraffin eingebettet. Die Färbung erfolgte, wie oben beschrieben, in HE (Hämatoxilin-Eosin) und EvG (Elastica nach van Gieson) in unserem gefäßmedizinischen Forschungslabor am UKE Hamburg.....

2.5.2. Semiquantitative Einschätzung der Einheilung

Die Auswertung und Beurteilung der Schnitte hinsichtlich Entzündungsreaktion und Einheilungsmuster wurde am Institut für Anatomie und Experimentelle Morphologie des UKE vorgenommen und semiquantitativ unter dem Lichtmikroskop eingeschätzt. Die Quer-

schnitte auf dem Objektträger variierten in der Anzahl von 1-4, die sämtlich befundet wurden.

Die Inkorporation wurde ähnlich, wie McGee et al. ¹²⁴ und Kang et al. ¹²⁵ es beschrieben, graduell aufsteigend, von keine bis komplette Einheilung, eingeschätzt (s. Tabelle 2.2).

0	= keine Einheilung
1	= minimale Einheilung
2	= moderate Einheilung
3	= komplette Einheilung

Tabelle 2.2 Graduierung der Inkorporation ähnlich McGee und Kang

2.5.3. Semiquantitative Einschätzung der Entzündungsreaktion

Die Entzündungsreaktion wurde ebenfalls unter dem Lichtmikroskop entsprechend des von Hofma ¹²⁶ aufgestellten Scores in 4 Ausprägungsgrade (0-3) eingeteilt (s. Tabelle 2.3): Präparate in denen keine Entzündungszellen (Neutrophile Granulozyten oder Fremdkörper-Riesenzellen) zu sehen waren, wurden in Kategorie 0 eingestuft. Die Präparate mit nur sehr wenigen Entzündungszellen wurden in Kategorie 1 eingeordnet. In Kategorie 2 fielen diese mit gering bis mittelgradiger Anhäufung. Alle Präparate bei denen schon in der Übersichtsvergrößerung massive Ansammlungen von Entzündungszellen erkennbar waren, wurden in Kategorie 3 eingestuft.

0	= keine Entzündungsreaktion
1	= Entzündung infiltriert die Adventitia
2	= diffuse, klar sichtbare Entzündung infiltriert die Adventitia
3	= schwere, oft granulomatöse Entzündungsreaktion in der Adventitia, teilweise bis in die Intima ausgedehnt

Tabelle 2.3: „inflammatory response“ n. Hofma et al.

2.5.4. Morphometrische Messung der Intimahyperplasie

Zusätzlich zu einer auch durchgeführten semiquantitativen Einschätzung sollte besonderes Augenmerk auf die Quantifizierung der Intimahyperplasie an den Präparaten der Patch-Serie gelegt werden. Neben einer Ausmessung der Intimahyperplasie in genau festgelegten Abständen und Errechnung eines Mittelwerts stand auch die Methode der „IH-ratio“¹²⁷ zur Auswahl (siehe Abbildung 2.6). Diese Methode erbrachte zwar in Studien von Terry et al. verlässliche Ergebnisse¹²⁸, aber war für unsere Arbeitsgruppe in dieser Form nicht praktikabel.

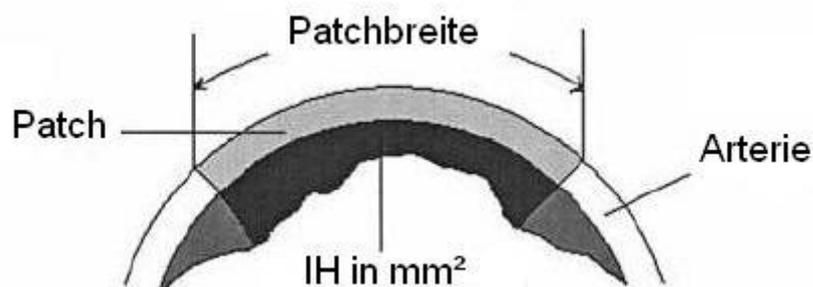


Abbildung 2.6:

Methode der „IH-ratio“: Die Fläche der IH auf der Lumenseite wird optometrisch ermittelt und mit der Breite des Patches ins Verhältnis gesetzt. Bild aus¹²⁷

Daher erschien eine Kombination dieser beiden Methoden als gute Alternative. Die Messung erfolgte an den HE-gefärbten Schnitten. Durch das Digitalisieren der Schnitte mit der Okularkamera und Verarbeitung mittels Software zur histomorphometrischen Auswertung (Pannoramic Viewer, Fa. 3DHISTECH Ltd.), musste noch das Fällen des Lots zur augenscheinlichen Verlaufsrichtung der Intimahyperplasie manuell erfolgen. Die Längenmessung des Lotes erfolgte per Auswertungssoftware und wurde direkt in die Datenverarbeitung eingespeist. Dadurch kann die Messarbeit exakt und trotzdem schnell erfolgen. Durch die entfernungsunabhängige Messpunktauswahl unter einem Winkel von 20° wird die Wahrscheinlichkeit einer schnittechnisch bedingten Fehlmessung sowie die Einflussnahme des Anwenders auf die Wahl der Messpunkte stark vermindert. Alle Schnitte wurden zur späteren Auswertung unter Verwendung einer digitalen Mikroskopkamera

(Auflösung 1,2 Megapixel) und eines Objektmikrometers fotografiert und archiviert. Mittels Auswertungssoftware erfolgte die Vermessung der Intimahyperplasie. An jeweils drei durch die Schablone (s. Abbildung 2.7) definierten Punkten wurde die Dicke der Intima durch Mittelwertbildung bestimmt.

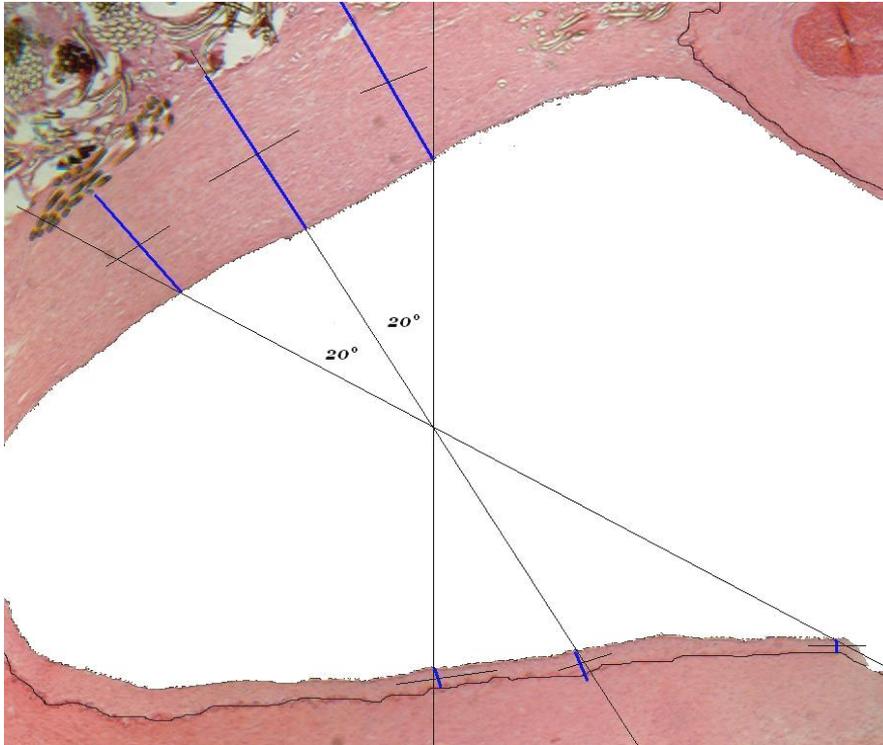


Abbildung 2.7:

verwendetes Schema zur Quantifizierung der IH:

durch Verwendung eines 20° Rasters wurden pro Seite 3 Schnittpunkte mit der Intima bestimmt. Durch Fällen eines Lots (blau) zur augenscheinlichen Verlaufsrichtung der Elastica Interna (schwarz unterlegt) oder der Intima wurde die Dicke der Schicht an diesen 3 Punkten bestimmt und die erhaltenen Werte gemittelt.

2.6. Statistische Auswertung

Alle im Tiermodell gewonnenen Daten wurden mit den Programmen MS-Excel® und SPSS® v18 weiterverarbeitet. Eine Untersuchung auf statistisch signifikante Abweichungen erfolgte mit dem t-Test für unabhängige Stichproben (metrische Parameter). Mittelwertbildung und Standardabweichung sowie der Kruskal-Wallis-Test wurden für eine beschreibende Statistik herangezogen, das Signifikanzniveau wird einseitig mit 0,05 festgesetzt.

3. Ergebnisse

3.1. Tiermodell

3.1.1. Vorversuch

Bei der Implantation der medikamentenfreisetzenden Silikonpatches (2x SRL, 2x PAX, sowie 2x IS) sowie der kollagenisierten Kontrollpatches in die Iliakalarterien der Mischweine hatten sich intraoperativ keine Besonderheiten ergeben. Alle Materialien erwiesen sich als ausreichend dicht (s. Abb. 3.1b). Die Handhabbarkeit der Prothesen wurde vom Operateur als ordentlich beschrieben. Vermehrte Stichkanalblutungen traten nicht auf.

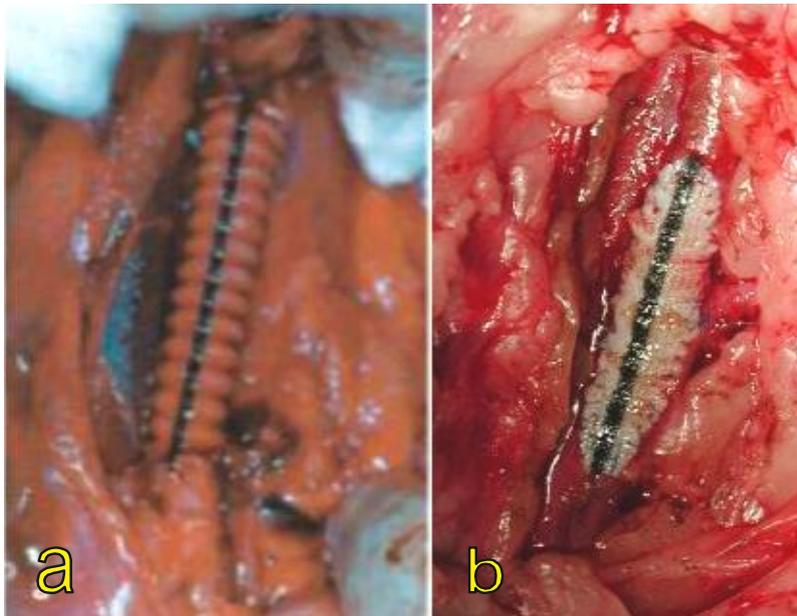


Abbildung 3.1:

Kollagenisiertes (a) und silikonisiertes Prothesenmaterial (b) nach Freigabe des Blutstroms. Während bei Kollagenprothesen ein Blutverlust durch das Maschenwerk feststellbar ist, imponiert die Wand silikonisierter Patches blutdicht. (a) zeigt eine Microvel®-Prothese (Fa. Boston Scientific) aus den Hundevorversuchen¹²³

Bei einem Tier kam es nach vier Wochen zu einer Bauchdeckennekrose aufgrund eines infizierten Hämatoms. Es fand sich jedoch kein Kontakt zum retroperitonealen Situs. Zwei der Tiere hatten geringfügig an Gewicht verloren, die andern hatten zugenommen. Es wurden zu keiner Zeit klinische Zeichen für eine Ischämie der Hinterläufe festgestellt.

Unabhängig vom verwendeten Material waren alle Prothesen gleich gut eingeehlt, das Retroperitoneum imponierte reizlos. Bei Explantation nach 6 Wochen fiel bei zwei Tieren (1x Kontrolle, 1x IS-Silikon) ein Verschluss der Iliakalgefäße auf.

Mit den medikamentenfreisetzenden Prothesen konnte eine bereits makroskopisch erkennbare Reduktion der Intimahyperplasie erzielt werden, wie in den Bildern von Abbildung 3.2 ersichtlich ist.

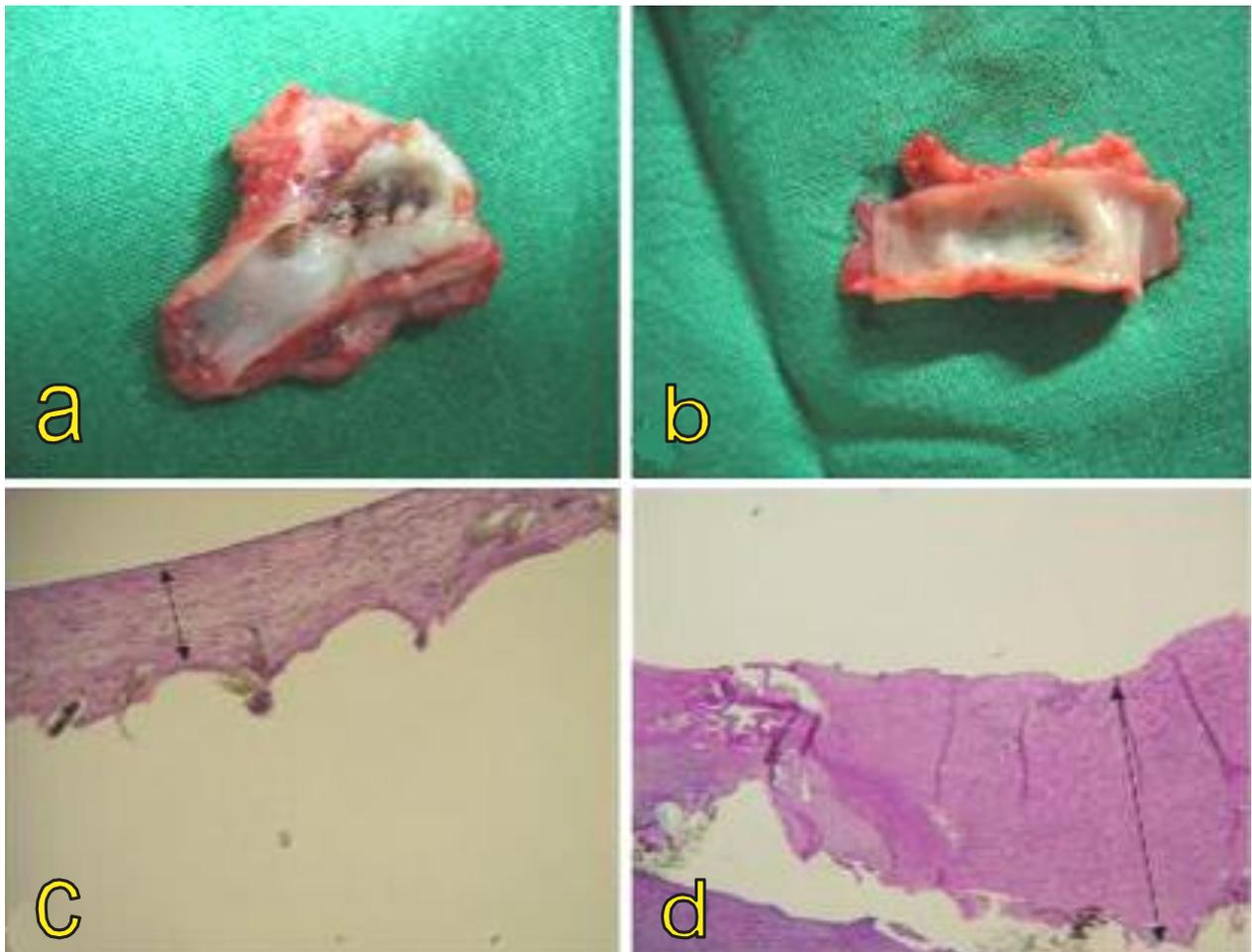


Abbildung 3.2 a-d:

Intimahyperplasie in makroskopischer und mikroskopischer Darstellung. In (a) ist die luminalen Seite des PAX-enthaltenden Patches zu sehen. Im Gegensatz zur Kontrolle (b) findet sich eine deutliche Zellreduktion. Dies zeigt sich auch in (c) durch eine diskrete Zellauflagerung, während in (d) eine deutliche Verdickung zu erkennen ist. (Pfeile). (a,b) aus ¹²³ c,d aus ¹¹⁹

3.1.2.. Hauptversuch

Die Darstellung der Iliakalgabeln erwies sich aufgrund der Situsverhältnisse, trotz des verwendeten Selbsthalters, als unerwartet schwierig und zeitaufwendig (Darstellung der OP in Abb. 3.3). Durch erhöhte Vulnerabilität der porzinen Blutgefäße gegenüber gefäßchirurgischen Manipulationen musste besonders sorgfältig und vorsichtig operiert werden, der Zeitbedarf der OPs stieg hierdurch zusätzlich an. Das silikonisierte Prothesenmaterial von Edwards imponierte steifer als das silikonisierte Material der Vorversuche; hier war Prothesenmaterial der Firma Intergard verwendet worden. Das verwendete Prothesenmaterial erwies sich als primär dicht, Stichkanalblutungen wurden nicht beobachtet.

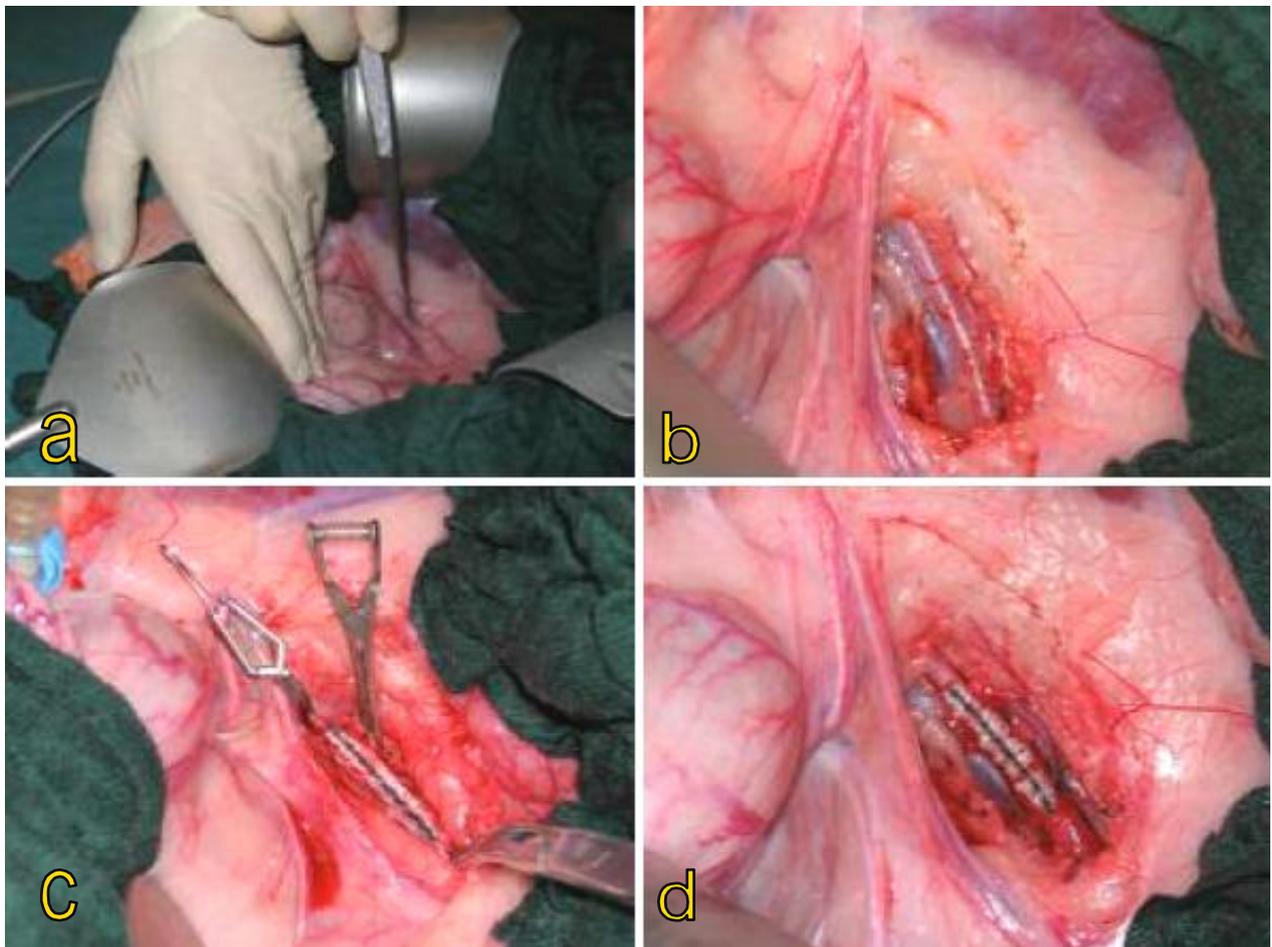


Abbildung 3.3, a-d:

Darstellung der OP-Vorgehensweise anhand einer Patchplastik:

- a) Aufsuchen der Iliakalgabel b) Darstellung der Iliakalgefäße nach Eröffnen des Retroperitoneums
c) Abklemmen der Gefäße und Einnähen des Prothesenmaterials d) nach Entfernung der Klemmen.

In keiner der Operationen kam es zu nennenswerten Komplikationen, alle Tiere überlebten den Eingriff. Bei den Tieren der Patchgruppe war der Puls der Hinterläufe postoperativ bei jedem Tier gut zu tasten; Ischämiezeichen wurden nicht festgestellt. Bei zwei Drittel aller Kollagen-Bypässe traten intraoperative Frühverschlüsse auf, es wurde in diesen Fällen beidseitig thrombektomiert. Bei silikonisiertem Material war dies nur bei einem einzelnen Bypass erforderlich. Die Bypass-OP erwies sich aufgrund ihrer längeren OP-Dauer im Vergleich zur Patch-OP als kräftezehrender. Während die Patch-Tiere sich schnell vom Eingriff erholten und bereits nach wenigen Stunden wieder auf ihren Beinen standen, brauchten die Bypass-Tiere eine 2-3h längere Erholungsphase. Die Gewichtsveränderung der bis zum Versuchsende verbleibenden Tiere betrug im Schnitt (Mittelwert \pm SD) 2,5 \pm 3,7kg (n=23); in Patch- und Bypassgruppe (n=11 bzw. n=12) ergaben sich Werte von 0,6 \pm 1,5kg respektive 3,9 \pm 4,2kg. Postoperativ trat bei einem Tier nach Dehiscenz eine Bauchdeckeninfektion auf, vermutlich wurde die Bauchnaht durch ein anderes Tier manipuliert. Der Infektherd wurde reseziert und die Wunde neu vernäht, worauf sich das Tier rasch erholte. Drei andere Tiere (alle mit Bypässen versorgt) verweigerten nach wenigen Tagen die Nahrungsaufnahme oder fielen durch Funktionsverlust der Hinterbeine auf. Bei einem dieser Tiere (SRL-Bypass) fand sich ein vollständiger Verschluss der Aortenstrombahn. Es fand sich kein operationstechnischer Fehler, die Ursache blieb ungeklärt. Ein weiteres Tier (PVA-Bypass) zeigte ein massives, infiziertes Bauchdeckenhämatom, es fand sich zudem eine Unterbauchperitonitis sowie ausgeprägte Darmverwachsungen unklarer Genese. Das dritte Tier (SRL+PVA-Bypass) litt an einem Verwachsungsbauch sowie an einem epifaszialen Bauchdeckeninfekt. Hierfür ist unseres Erachtens eine im Situs gelandete Fliege verantwortlich zu machen. Diesen drei Tieren konnte trotz Re-OP nicht geholfen werden, sie mussten schon nach sieben, neun, beziehungsweise zwölf Tagen vorzeitig eingeschläfert werden. Die verbleibenden Tiere waren bis zum Versuchsende alle gesund, keines hatte Verhaltensauffälligkeiten oder Ischämiezeichen gezeigt. In den intraoperativ abgenommenen Blutproben ließ sich bereits in der nach fünf Minuten abgenommenen Probe ein Sirolimus-Spiegel von 1,5 ng/ml = μ g/l nachweisen. Nach 15 Minuten wurde < 0,5ng/ml, nach 30 bzw. 60 Minuten ein Wert von 0,5 ng/ml bzw. 1,0 ng/ml ermittelt. Bei der Explantation der Patches (n=22) fand sich makroskopisch nur ein SRL+PVA Patch nicht ausreichend inkorporiert, alle anderen waren reizlos eingeeilt und gut inkorporiert (siehe Abbildung 3.4 auf nächster Seite).

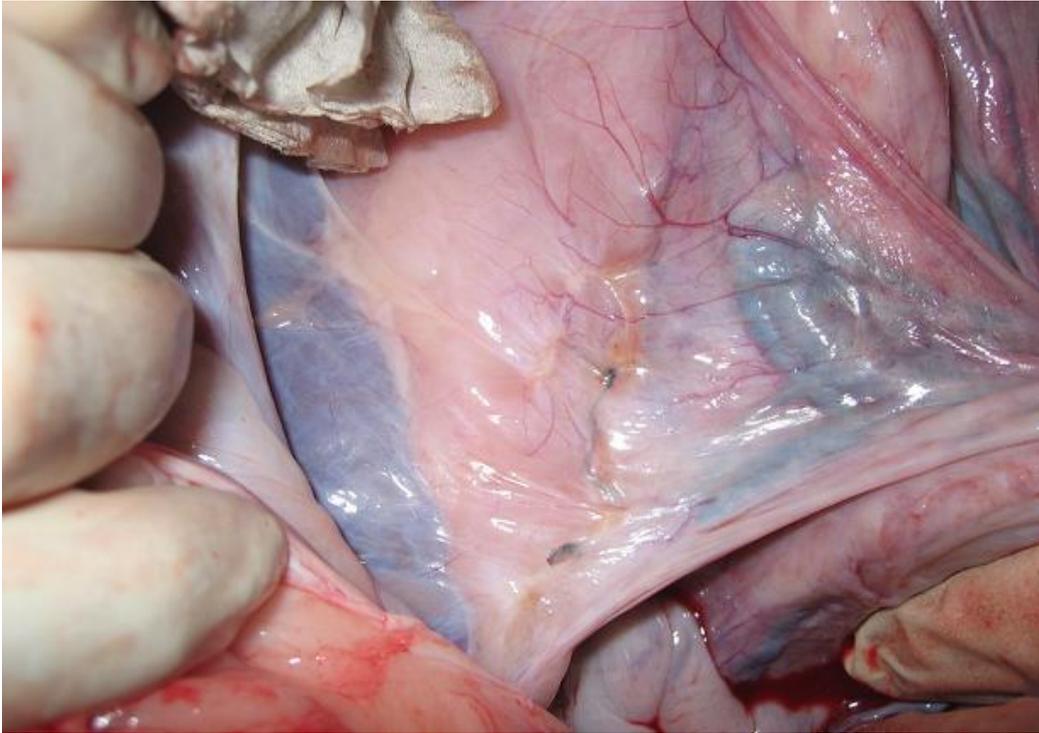


Abbildung 3.4:

Typischer Situs bei Explantation: Es findet sich ein reizloses Retroperitoneum.

Bei einem der Kontrollbypässe (n=6) fiel eine Entzündung sowie fehlende Endothelialisierung auf. Bei einem Tier der SRL-Gruppe war nur noch ein schmallumiger, aber blutdurchströmter Prothesenrest auffindbar, das Prothesenmaterial zeigte schwerste Anzeichen von Prothesendegeneration. In der PVA-Gruppe zeigte ein Bypass fehlende Inkorporation, die restlichen Prothesen waren makroskopisch gut eingeeilt. Alle PVA+SRL-Prothesen waren ebenfalls gut eingeeilt, in einem Fall fiel jedoch eine ausgeprägte Verdickung der Gefäßwand auf.

3.2. Makroskopische Beurteilung der Offenheitsrate

In den mit Wasser durchgeführten Spülungen der Explantate erwiesen sich in der Bypass-Gruppe nach 6 Monaten alle die mit nativer Kollagenprothese (n=6) als verschlossen. Bei den Bypässen mit Silikonmaterial waren 7 von 12 verschlossen. In der Gruppe der 11 Tiere, die mit einem Patch versorgt wurden, waren sämtliche Rekonstruktionen (n=22) zum Zeitpunkt der Explantation nach 6 Wochen offen.

3.3. Histopathologische Auswertung

Bei der Beurteilung konzentrierten wir uns aufgrund der hohen Verschlussrate der Bypassgruppe ausschließlich auf die bei den 11 Tieren beidseits explantierten Patches (n=22). Zusätzlich wurden die aus dem Vorversuch gewonnenen Daten der mit Paclitaxel beschichteten Patches mit in die Analyse einbezogen. Zum Vergleich wurden die Präparate, den o.a. Scores entsprechend, mit einem Punktwert versehen, der erreichte Gesamtwert durch die Anzahl der Präparate dividiert, um einen Mittelwert zu erhalten.

3.3.1. Inkorporation

Die Einheilung verlief bei den Kollagenpatches der Kontrollgruppe (x) in allen Präparaten komplett (Graduierung 3,0). Die zusätzlich mit Sirolimus (SRL) beschichteten Patches zeigten mit einem durchschnittlichen Wert von 1,81 die vergleichsweise schlechteste, aber immer noch eine befriedigende Inkorporation. Nur unwesentlich besser war das Ergebnis mit Sirolimus und Polyvinylalkohol (SRL+PVA) bei einem Wert von 1,87. Paclitaxel (PAX) und die rein mit Polyvinylalkohol (PVA) oberflächenbehandelten Patches zeigten mit 2,6 und 2,2 eine etwas stärkere und damit ebenfalls eine gute Einheilung (siehe dazu Abb. 3.5).

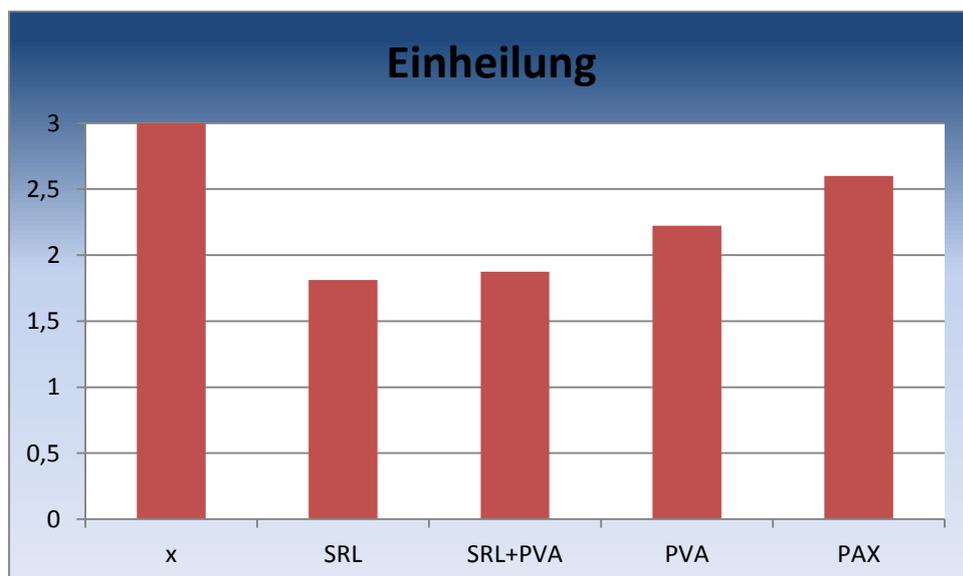


Abbildung 3.5:

Diagramm zur Darstellung der semiquantitativen Auswertung der Einheilung. Der Ausprägungsgrad 3 entspricht dabei der kompletten Einheilung.

3.3.2. Entzündungsreaktion

Unter lichtmikroskopischer Betrachtung bei bis zu 40 facher Vergrößerung, waren die Schnittserien hinsichtlich einer bestehenden Entzündungsreaktion um das eingebrachte Fremdmaterial gut zu beurteilen. Die Anwesenheit von neutrophilen Granulozyten, Lymphozyten und Fremdkörperriesenzellen galt als Kriterium und wurde entsprechend dem in Kap. 2.5.3 beschriebenen Score von 0-3 graduiert. Insgesamt war die Entzündungsreaktion bei den beschichteten Silikonprothesen deutlich stärker ausgeprägt als in der Kontrollgruppe (s. Abb.3.6), sie war meist schon in Übersichtsvergrößerung als Ansammlung von neutrophilen Zellen erkennbar. Die stärkste Reaktion war bei den mit SRL+PVA beschichteten Patches zu beobachten (2,5). Etwas weniger stark war die Infiltration mit Entzündungszellen bei den nur mit SRL beschichteten Implantaten zu verzeichnen (2,4). Eine ebenfalls vermehrte Inflammation zeigten sich bei der PAX-Gruppe aus den Vorversuchen (1,6) und nur unwesentlich weniger bei den PVA-beschichteten Prothesen (1,5). Im histologischen Bild der Kontrollgruppe hingegen fanden sich kaum Entzündungszeichen (0,6).

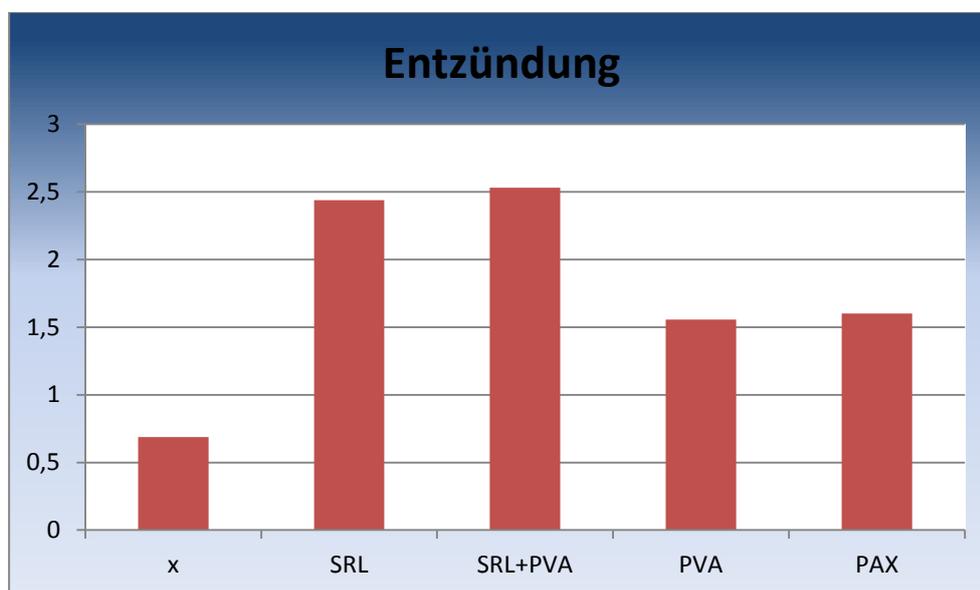


Abbildung 3.6: Diagramm zur Darstellung der semiquantitativen Auswertung der Entzündungsreaktion. Der Ausprägungsgrad 3 entspricht dabei dem Maximum.

3.3.3. Morphometrie der Intimahyperplasie

Bei mikroskopischer Begutachtung der HE-gefärbten Präparate war dem Verlauf der Lamina elastica interna problemlos zu folgen. In allen Präparaten war es problemlos möglich, die Intimahyperplasie vom gesundem Gewebe abzugrenzen. Eine auffällig verdickte Intima im Patchbereich zeigte sich bei allen Prothesen (s. nachfolgende Abb. 3.7-3.11)

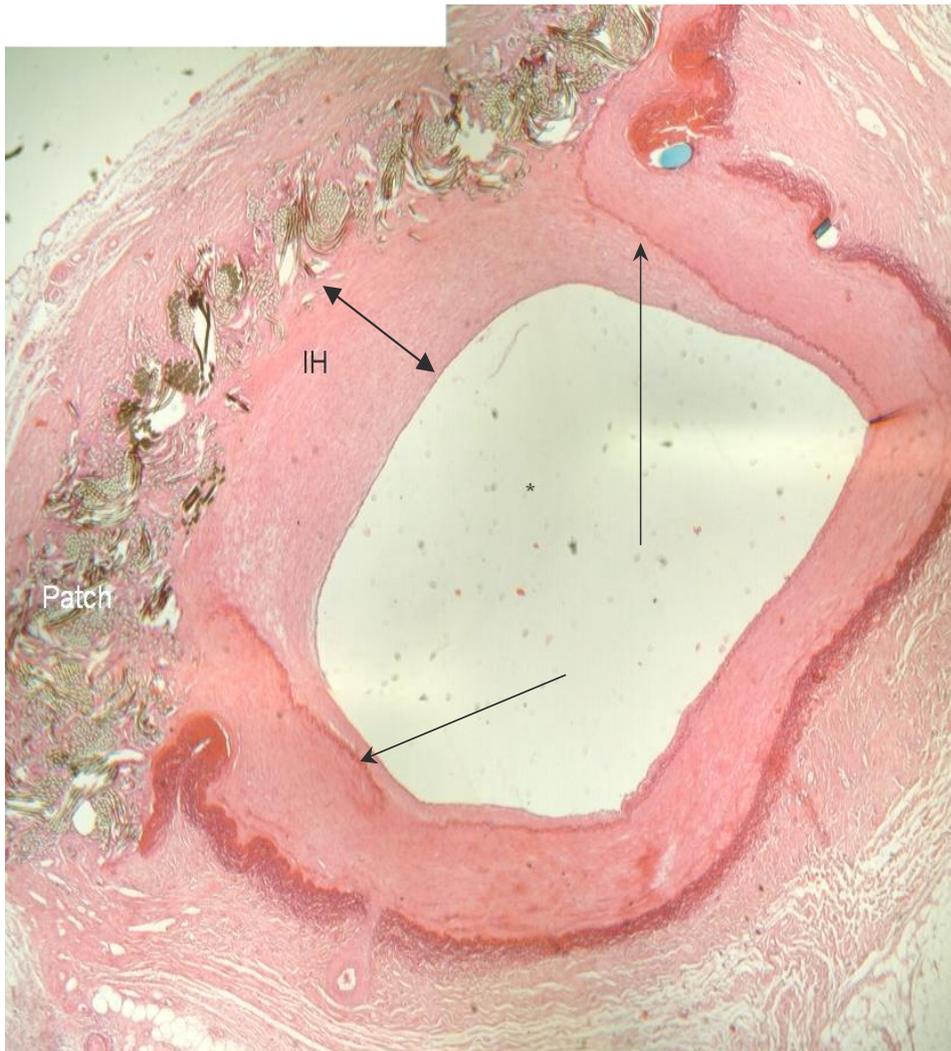


Abbildung 3.7:

Digitales Photomerge eines Präparats aus Tier 7 (Kontrollgruppe):

Hier hat sich eine deutliche Intimahyperplasie (Doppelpfeil) entwickelt. Die Elastica interna (einfache Pfeile) ist leicht auszumachen. Kaum Entzündungszeichen.

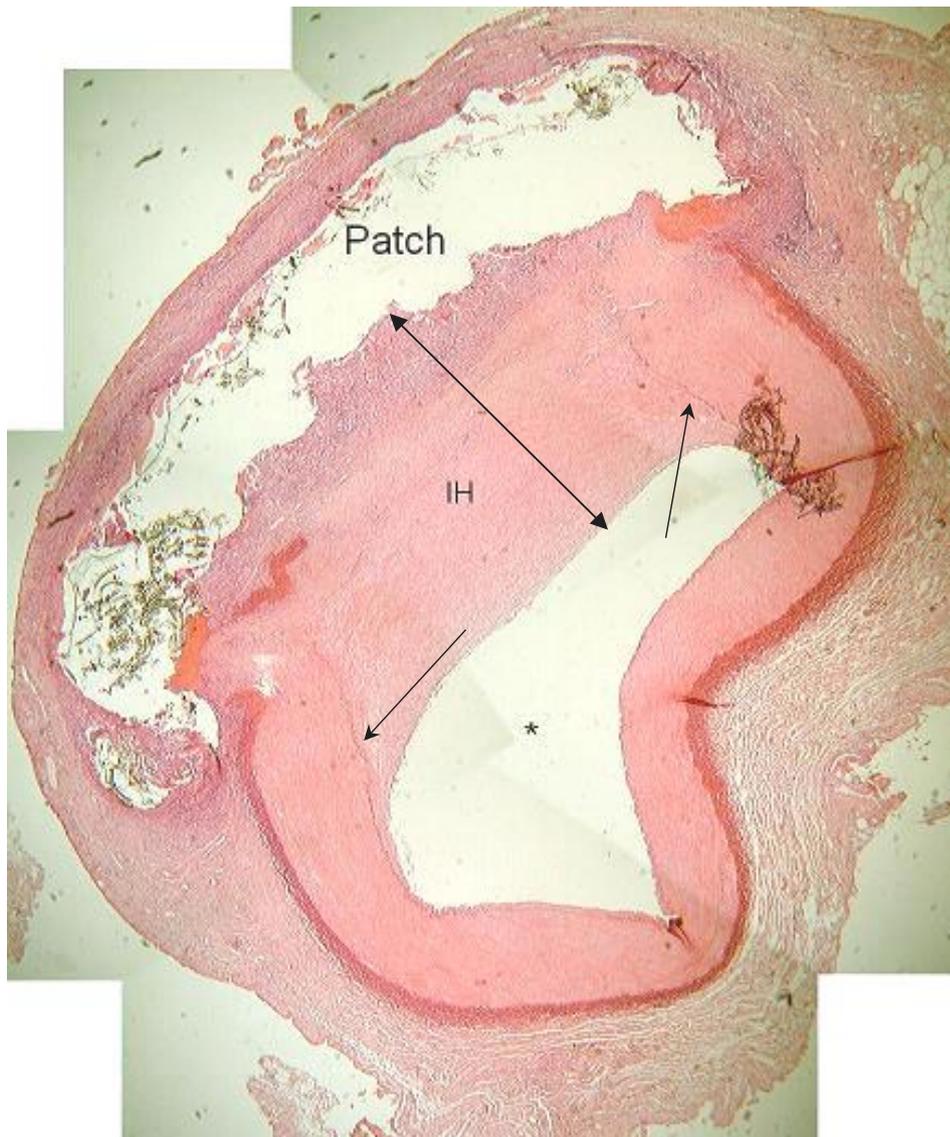


Abbildung 3.8:

Digitales Photomerge von Präparat 34 (Sirolimuselution) bei Übersichtsvergrößerung:

zwischen Lumen (*) und silikonisiertem Patch hat sich Intimahyperplasie (Doppelfeil) entwickelt. Man erkennt zudem einen neutrophilen Zellsaum im Gewebe um den Patch herum, der für ein entzündliches Geschehen spricht. Die Lamina elastica interna ist durch einfache Pfeile markiert. Das Patchmaterial wurde beim Schneiden akzidentell entfernt, es sind nur noch vereinzelte Fasern erkennbar.

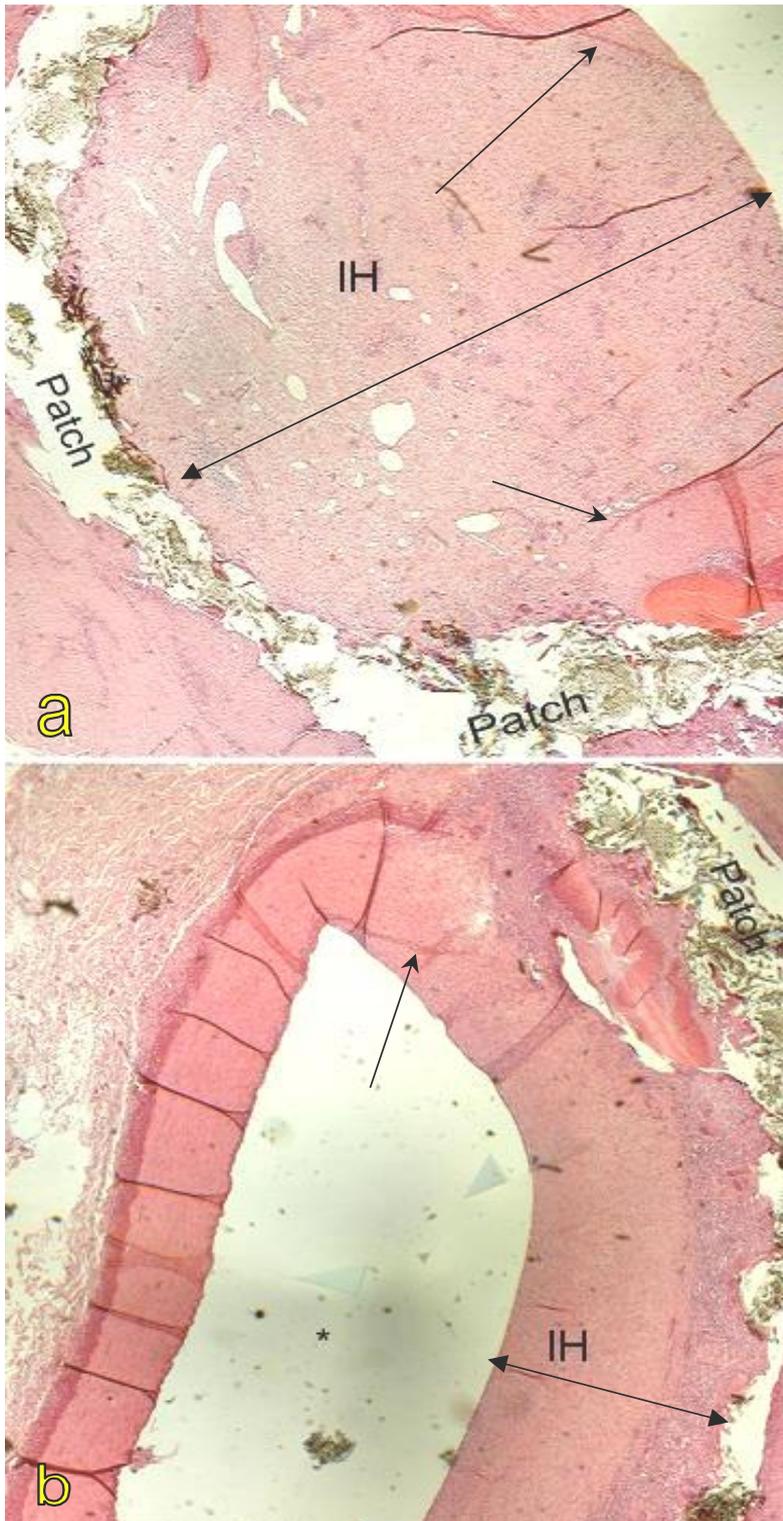


Abbildung 3.9 a&b:

Digitales Photomerge von Präparaten aus Tier 22 (Sirolimuselution + PVA Modifikation):

Zugleich Beispiel für Variabilität innerhalb eines Tieres. a) Iliakalgefäß auf linker Seite: subtotaler Verschluss durch IH (Doppelfeile) b) Iliakalgefäß auf rechter Seite: Auch hier hat sich Intimahyperplasie (Doppelfeile) entwickelt. Deutliche Ausprägung eines neutrophilen Saums zwischen IH-Zone und Patchmaterial.

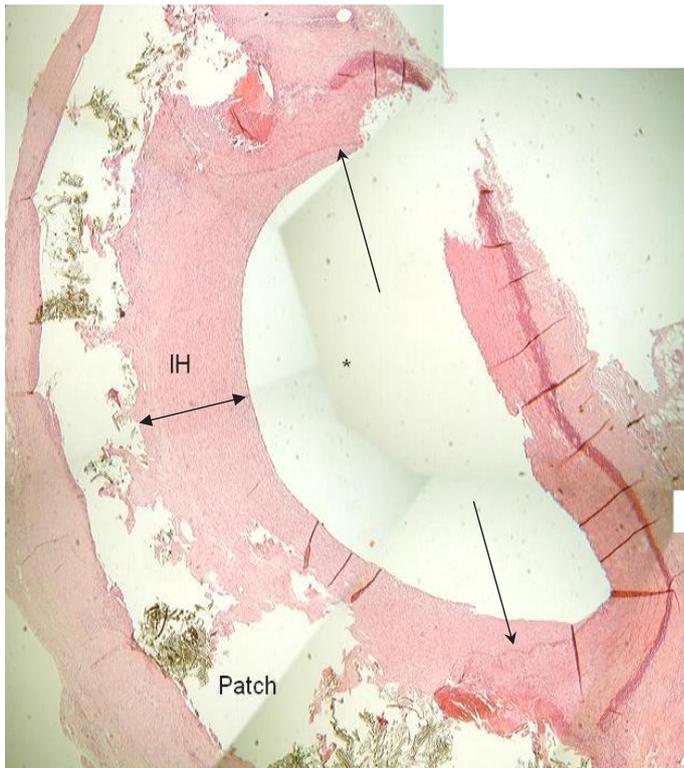


Abbildung 3.10:

Digitales Photomerge von Präparat aus Tier 399 (PVA-Modifikation): Es zeigen sich IH und diskrete Entzündungszeichen

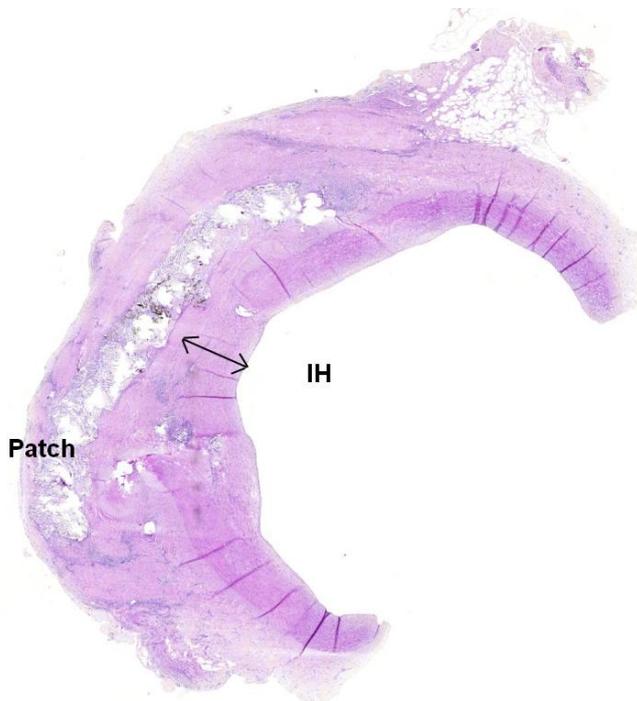


Abbildung 3.11:

Digitales Photo eines Präparats aus Tier 111 (Paclitaxel): Auch hier hat sich eine Intimahyperplasie (Pfeil) entwickelt, die vergleichsweise jedoch geringer ausgeprägt ist. Die Elastica interna ist leicht auszumachen. Auch in der Übersichtsaufnahme sind Entzündungszellen zu sehen.

Nach im Kap. 2.5.4. beschriebenem Schema erfolgte nun die Ausmessung der Intima anhand der digitalisierten Schnittbilder mittels Auswertungssoftware. Dabei wurde auch die dem Patch gegenüber befindliche, also die gesunde Seite untersucht. Hierbei zeigten sich in den Messungen keinerlei Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Wie in Kap. 2.5.2. bereits erwähnt wurden alle Schnitte (1-4 pro Objektträger) beurteilt, daher ergeben sich folgende Werte. Bei insgesamt 180 ausgewerteten Messungen betrug die Intimadicke im Mittel $0,0293 \pm 0,012$ mm, für die Kollagenkontrolle (n=57) $0,032 \pm 0,014$ mm, für SRL+PVA (n=45) $0,028 \pm 0,005$ mm, für SRL (n=33) $0,027 \pm 0,007$ mm und für PVA (n=27) $0,029 \pm 0,006$ mm sowie für PAX (n=18) $0,030 \pm 0,003$ mm. Bei der Messung der Intimahyperplasie im Patchbereich wurden insgesamt und in den einzelnen Gruppen gleich viele Werte gemessen. Hier variierte die Intimadicke teilweise inter- und intraindividuell beträchtlich. Es zeigten sich hier erwartungsgemäß deutlich höhere Messwerte im Vergleich zu den gesunden Gefäßabschnitten. Überraschender Weise war jedoch bei den beschichteten Prothesen, mit Ausnahme der Paclitaxel-Gruppe aus den Vorversuchen, eine deutlichere Intimahyperplasie als in der Kontrollgruppe zu messen. Für Kollagen wurde sie mit $0,783 \pm 0,408$ mm, für SRL mit $1,567 \pm 0,523$ mm, für PVA mit $1,308 \pm 0,441$ mm und für die Kombination von SRL+PVA mit $1,564 \pm 0,421$ mm ermittelt. Bei PAX fand sich eine mittlere Dicke der IH von $0,421 \pm 0,168$ mm. Eine zusammenfassende graphische Darstellung dessen findet sich in Abb. 3.12.

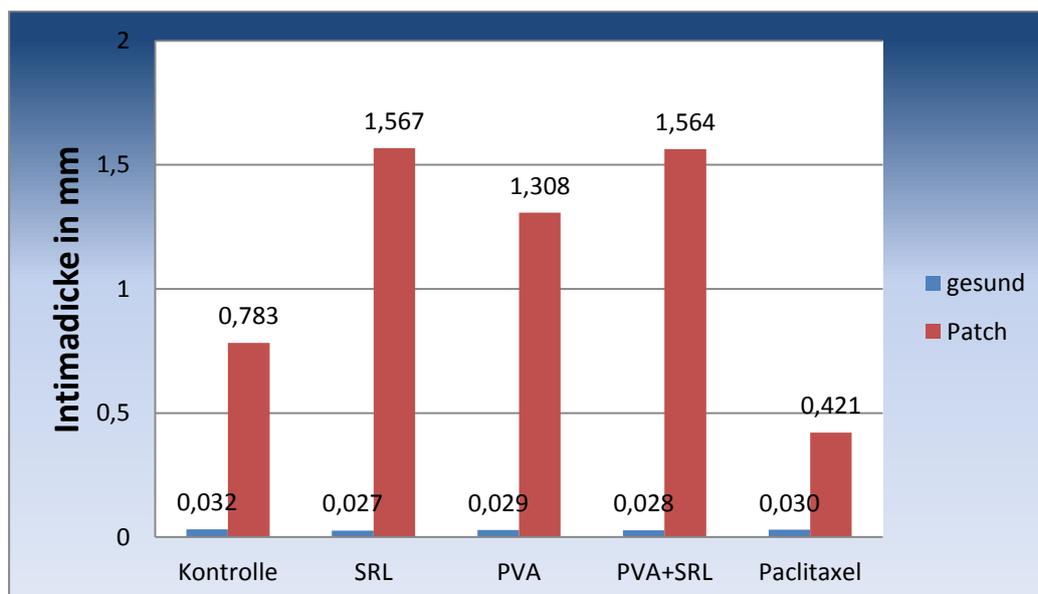


Abbildung 3.12:

Mittlere Intimadicke der gesunden Gefäßwand sowie mittlere Dicke der Intimahyperplasie auf Patchseite in Übersicht.

3.4. Statistische Auswertung

. Die Art der Prothese hatte keinen signifikanten ($p < 0,05$) Einfluss auf die Dicke der Intima der gegenüberliegenden Gefäßwand.. Die Varianz der Messwerte war in der Kollagengruppe am größten, die Mittelwerte unterschieden sich nicht signifikant. Die Dicke der Intimahyperplasie auf Patchseite hingegen war signifikant ($p < 0,05$) von der Anwesenheit von Fremdmaterial abhängig. Die Varianzen der Messwerte unterschieden sich bis auf die PAX-Gruppe nicht wesentlich (siehe Abbildung 3.13). Daraus errechnet sich ein IH-Faktor (durchschnittliche Dicke der Intimahyperplasie zur Dicke der gesunden Gefäßwand) von 24,6 für die Kollagen Kontrollgruppe, von 58,1 für SRL, von 44,8 für PVA und von 56,2 für die Kombination von SRL+PVA sowie von nur 12,6 für Pax. Im Durchschnitt fand sich die Intimahyperplasie in der Pax-gruppe also am geringsten ausgeprägt (siehe Abbildung 3.13).

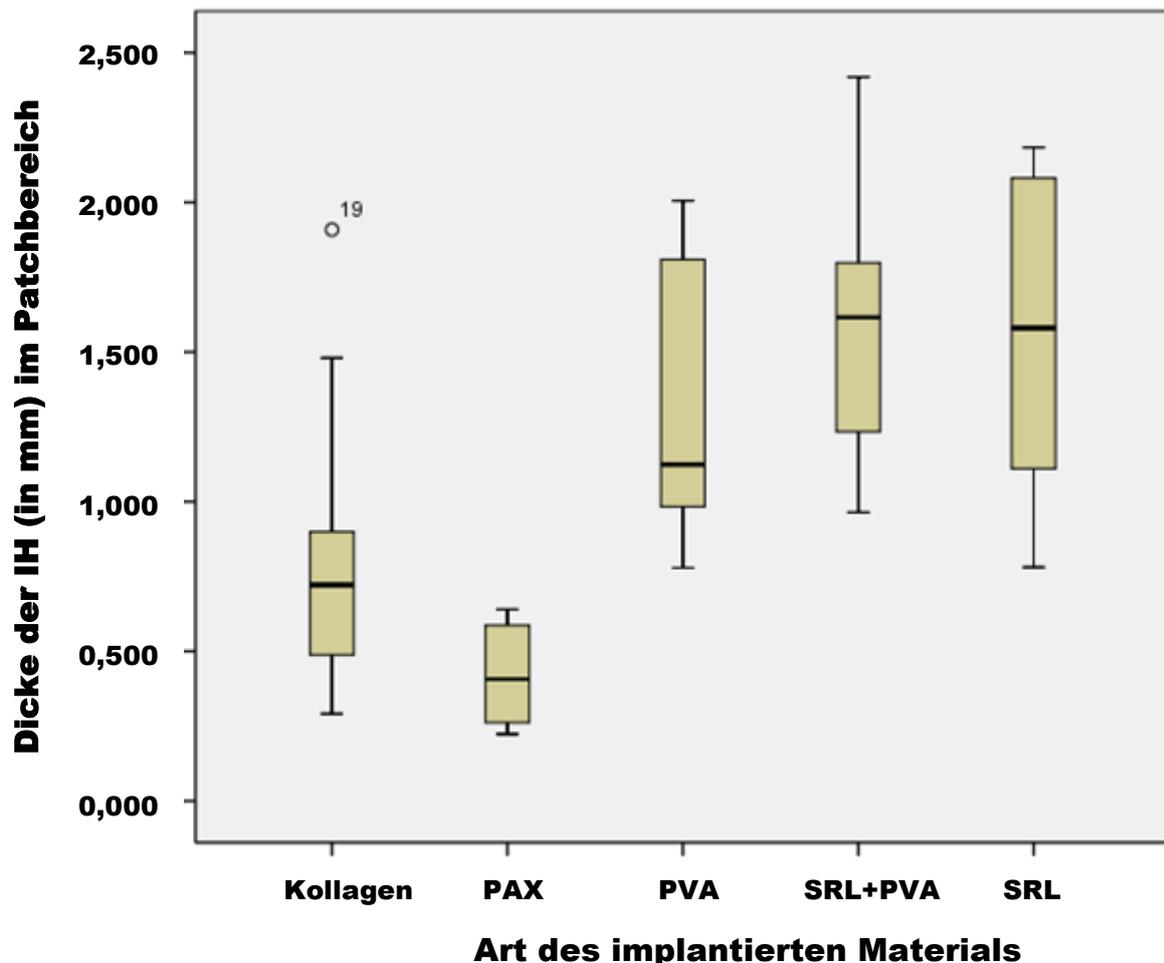


Abbildung 3.13:

Boxplot, Ordinate – Dicke der Intimahyperplasie auf der Patchseite in mm (Balken symbolisiert Mittelwert u. Standardabweichung); Abszisse – Prothesentypen.

Sowohl die Kontrollgruppe (Kollagen), als auch die Pax-Gruppe hatten eine signifikant verminderte Ausbildung der IH gegenüber SRL, PVA und SRL+PVA zu verzeichnen. Bei Pax fand sich kein signifikanter Unterschied, hingegen aber eine Tendenz zur geringeren Ausbildung der IH gegenüber Kollagen (s. Tab. 3.1).

	Kolla- gen	PVA	SRL + PVA	SRL	PAX	p-Wert, Kollagen vs. PVA	p-Wert Kollagen vs. SRL+ PVA	p-Wert Kollagen vs. SRL	p-Wert Kollagen vs. Pax
Dicke der IH auf Patchseite in mm	0,783 ± 0,408	1,308 ± 0,441	1,564 ± 0,421	1,567 ± 0,523	0,421 ± 0,168	0,005	<0,001	<0,001	0,051
Inflammations- Score	0,687 ± 0,814	1,555 ± 0,289	2,529 ± 0,488	2,437 ± 0,422	1,666 ± 0,118	0,098	0,001	0,002	0,234

Tabelle 3.1: Übersicht Meßwerte Intimadicke und Inflammationsscore, Signifikanzen. Die Werte sind Mittelwert und ± Standardabweichung, ein p-Wert < 0,05 zeigt einen signifikanten Unterschied (t-Test) an

Es fand sich ebenso eine unterschiedliche Ausprägung der Entzündungsreaktion in den einzelnen Gruppen (s. auch Tab. 3.1), wobei die Kollagen-Gruppe im Mittel ($0,687 \pm 0,814$) den niedrigsten Inflammations-Score und die mit Sirolimus + PVA beschichteten Prothesen ($2,529 \pm 0,488$) den höchsten Wert aufwiesen. Kollagen zeigte dabei eine signifikant niedrigere Reaktion, als die mit Sirolimus beschichteten Prothesen. Die Mittelwerte und Varianzen der einzelnen Gruppen sind in Abb. 3.14 auf der nächsten Seite dargestellt.

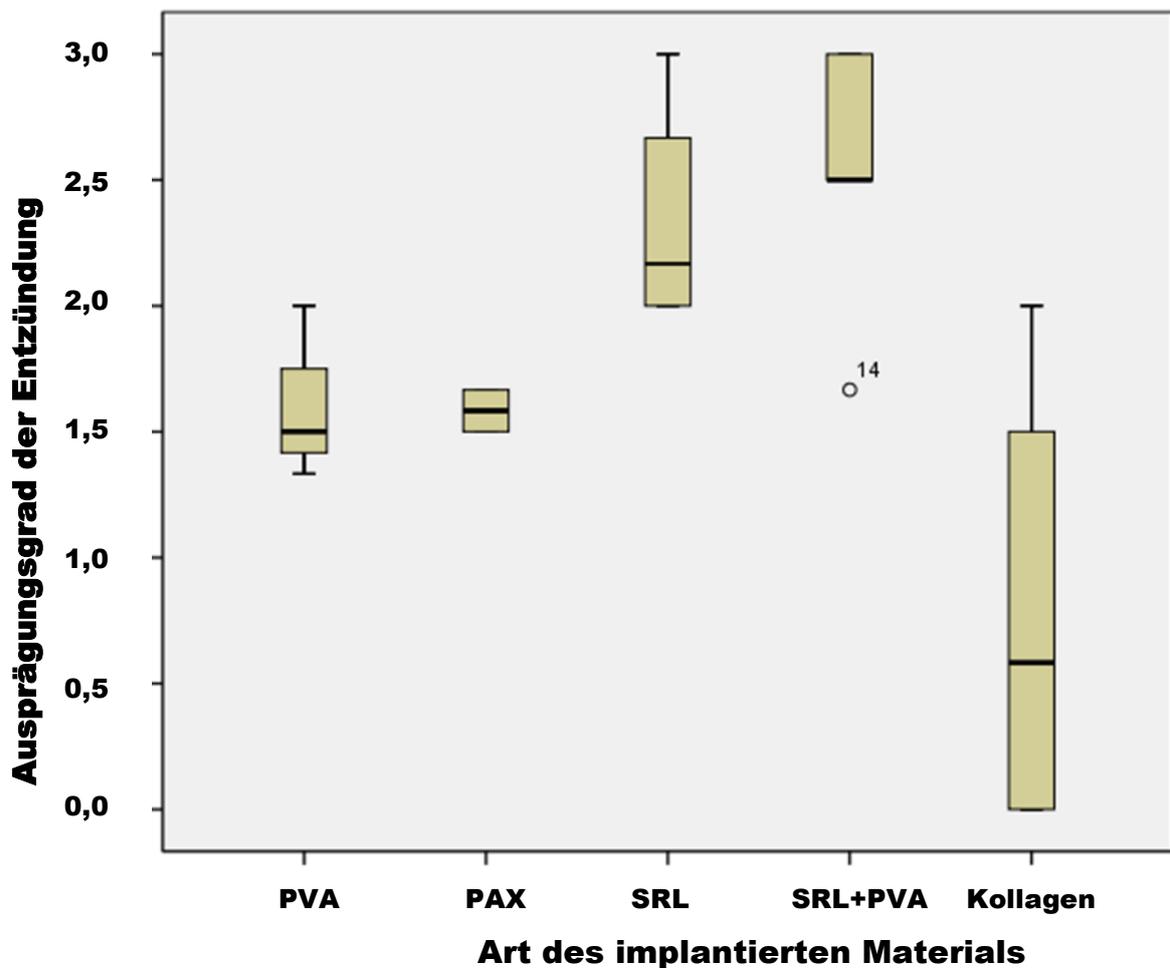


Abbildung 3.14:

Boxplot, Ordinate – semiquantitativ bestimmter Ausprägungsgrad der Entzündungsreaktion
 Abszisse – eingesetzte Prothesentypen. Balken symbolisiert Mittelwert und Standardabweichung

4. Diskussion

Wenn man den individuellen Gefäßstatus des Patienten außer Acht lässt, hängt der Erfolg einer Revaskularisierung neben den technischen Möglichkeiten und Fertigkeiten des Operateurs maßgeblich von den verwendeten Materialien ab. Primäre und sekundäre Offenheitsraten gefäßerhaltender Operationen werden in entscheidendem Maße dadurch bestimmt. In Ermangelung autologer Transplantate, die eindeutig die besten Ergebnisse liefern, ist die moderne Gefäßchirurgie auf Kunststoffe zum Ersatz von Blutleitern angewiesen, die sich im Wesentlichen seit Jahrzehnten nicht veränderten. Die bisher verfügbaren alloplastischen Ersatzmaterialien weisen in einem oder mehreren Problemfeldern trotz umfangreicher Forschung und Entwicklung immer neuer Beschichtungen immer noch teils gravierende Schwächen auf, die jedoch mangels Alternativen toleriert werden

müssen. Es ist folglich nötig, diesen inakzeptablen Zustand durch weitere Intensivierung dieser Forschungen zu beheben. Viele Gruppen arbeiten an der Verbesserung vorhandener Prothesen. Diese Arbeit beschäftigt sich im Wesentlichen mit der Reaktion der Gefäßwand im Tiermodell auf die Implantation von Fremdmaterialien, wie sie heutzutage üblicherweise bei gefäßchirurgischen Eingriffen eingesetzt werden und einer von unserer Arbeitsgruppe neu entwickelten, unterschiedlich beschichteten Prothese. Dabei wurde in der histopathologischen Untersuchung der gewonnenen Präparate das Hauptaugenmerk auf die Einheilung, die entzündliche Reaktion und das Entstehen einer Intimahyperplasie gelegt und diese miteinander verglichen.

4.1. Verwendete Materialien

Die hier im Tierversuch verwendeten Kunststoffprothesen waren zum einen eine handelsübliche, Kollagen-beschichtete PET-Prothese, die als Vergleich diente sowie eine neuartige, von unserer Arbeitsgruppe entwickelte, mehrfach beschichtete Prothese, deren Trägermaterial ebenfalls Polyethylenterephthalat (PET) darstellte. Die zur Herstellung der multifunktionalen Prothese verwendeten Materialien sind synthetischer Herkunft und stellen für den menschlichen Körper Fremdstoffe dar. Sie sind jedoch in unterschiedlicher Form bereits klinisch getestet worden.

Polyethylenterephthalat (PET) ist ein durch Polykondensation hergestellter thermoplastischer Kunststoff aus der Familie der Polyester. In England 1939 eingeführt und weiterentwickelt, wurde es 1950 von DuPont als Dacron® patentiert. Es weist eine hohe chemische Beständigkeit auf und ist hygienisch einwandfrei - dennoch in der Produktion sehr günstig. Vornehmliche Anwendungszwecke in der Medizin sind chirurgische Nähfäden, Blut- und Infusionsfilter oder Ballons zur Blutgefäßerweiterung sowie Gefäßprothesen.

Die PET-Prothese hat sich neben der PTFE-Prothese in der Gefäßmedizin als Standard-Prothese etabliert und stellt hier vor allem im Versorgungsbereich der größeren Gefäße auch den Goldstandard dar ¹²⁹. Ein großer Nachteil besteht jedoch in der im Organismus vorhandenen Biodegradation des Kunststoffes. Die Esterbindungen des PET unterliegen im Organismus der Hydrolyse. Innerhalb von 10 Jahren verliert eine derartige Gefäßprothese auf diese Weise im Mittel 31,4% ihrer strukturellen Integrität ⁸². Durch diesen kontinuierlichen Abbau wird folglich die Wahrscheinlichkeit eines Prothesenversagens mit fortschreitender Zeit nach Implantation zunehmend größer. Durch die gestiegene Le-

benserwartung der Patienten ist somit allein schon aufgrund dieses Merkmals die Revisionswahrscheinlichkeit nach Erstimplantation einer solchen Prothese erhöht. Bezüglich der Inkorporation löst die PET-Prothese im Organismus gleichartige Reaktionen wie ein normaler antiseptischer Fremdkörper aus. Es kommt hier zu der schon im Kap. 1.6.6 beschriebenen mehrstufigen Gewebereaktion mit einer umgebenden Fibrinmatrix, die sekundär durch einwandernde Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen sowie Granulationsgewebe infiltriert wird ¹³⁰. An der blutdurchflossenen Oberfläche finden unmittelbar nach Implantation Plasmaprotein-Adsorptionsprozesse ¹³¹, gefolgt von fibrinvernetzten Ablagerungen von Thrombozyten, Leukozyten und Erythrozyten statt. Es bildet sich eine azelluläre, kompakte Fibrinschicht über einen Zeitraum von bis zu 18 Monaten aus. Im Gegensatz zum Tierversuch tritt beim Menschen eine gewünschte Endothelialisierung eigentlich nur im Anastomosenbereich auf. Nur spärliche Endothelinseln finden sich im weiteren Graftverlauf ¹³² durch Kapillareinsprossung und Einwanderung von Fibroblasten ¹³³. Durch die als Barriere funktionierende Fibrinschicht wird verhindert, dass die Kapillaren eine Verbindung mit der inneren Prothesenoberfläche eingehen können ¹³⁴, wodurch eine transmural getriggerte Endothelbildung größtenteils unterbleibt. Das Material verhält sich seitens der Inkorporation gleichartig wie PTFE. Eine Metaanalyse hinsichtlich des Vergleichs der beiden Kunststoffe ergab keinen Vorteil für das eine oder andere Material ¹³⁵.

Bei dem von uns in der Multifunktionellen Prothese verwendeten Silikon handelt es sich um ein bereits zertifiziertes Medizinprodukt (ISO 9001), welches breite Anwendung bei Wundaufgaben, Kathetern, Herzklappen und Herzschrittmachern sowie in der plastischen Chirurgie findet. Silikone besitzen ein typisches anorganisches Gerüst und organische Reste, daher nehmen sie eine Zwischenstellung zwischen anorganischen und organischen Verbindungen ein. Silikone sind wärmebeständig, hydrophob, dielektrisch und gelten in der Regel als physiologisch verträglich und nicht gesundheitsschädlich. Sie sind ohne Beeinträchtigung mechanischer Parameter einfach sterilisierbar ¹³⁶ und bieten aufgrund ihrer Inertheit körpereigenen Prozessen wie Glyko- oder Hydrolyse keinen Angriffspunkt ¹³⁷. Zusätzlich sind sie hinsichtlich Biokompatibilität, Toxizität und Kanzerogenität bestens untersucht. Insbesondere bei Brustimplantaten liegen hier gute Langzeitergebnisse vor ¹³⁸. In Kohortenstudien von Mellemkjaer et al. ¹³⁹ und Brinton et al. ¹⁴⁰ wurde für Trägerinnen von Silikonimplantaten kein erhöhtes Risiko für eine Krebserkrankung festgestellt. Auch die unabhängige Untersuchungsgruppe der Regierung aus Großbritan-

nien und der Bericht des National Academy Institute of Medicine aus den USA sahen keinen wissenschaftlichen Beweis für derartige Vermutungen ¹⁴¹. Für die Migration von Silikonpartikeln findet sich bei festen Implantaten kein Anhalt, dieses trifft offensichtlich nur für Silikonöle oder -gele zu. Neuere Untersuchungen zeigen sogar einen positiven Einfluss von PDMS auf die Hämostase von Gefäßprothesen: Die Plättchenadhäsion nahm mit steigendem Silikongehalt ab, wodurch eine geringere Thromboseneigung von Gefäßprothesen aus Silikon gegenüber anderen Prothesen vermutet werden darf ¹⁴². Ebenso ist im Tiermodell auch ein gewisser hemmender Einfluss auf die Entwicklung der Intimahyperplasie beobachtet worden ¹⁴³. Während PET offenbar gute Ansiedlungsmöglichkeiten für Bakterien bietet ¹⁴⁴, zeigte Silikon eine verminderte Adhärenz gegenüber Bakterien ¹⁴⁵, daher dürfte auch über eine erfolgsversprechende Verwendung im Infektgebiet nachgedacht werden. Silikon besitzt im Gegensatz zu anderen Kunststoffen ¹⁴⁶ ausgezeichnete Ergebnisse in punkto Langzeitstabilität und -elastizität ^{147,148}, so lassen sich Arterienmodelle zur Testung von Medizinprodukten problemlos bis zu 400 Millionen Belastungszyklen unterwerfen, ohne dass sich die mechanischen Eigenschaften ändern ¹⁴⁹. Prothesen aus Silikon sind darüber hinaus deutlich preiswerter als solche aus PTFE, ohne dabei auf zusätzliche, eventuell nachteilige Beschichtungen zum Erreichen guten Nahtverhaltens (Stichkanalblutungen traten bei uns nicht auf) angewiesen zu sein. Insbesondere xenogene Gelatine- und Kollagenbeschichtungen können so vermieden werden. Unsere mit 15-20 mg/cm² beschichtete Prothese wurde bereits in Vorversuchen getestet und hatte gleichartige physikalische Eigenschaften wie eine herkömmliche PET-Prothese aufzuweisen ¹¹⁸. Die Einheilung von Gefäßprothesen aus Silikon verlief in den Tierversuchen von Whalen et al. regelhaft ¹⁴⁷, auch Stimpson et al. berichten von guter Einheilung ¹⁵⁰. Sank et al. sahen eine verminderte Anlagerung von Fibroblasten und Makrophagen an Oberflächen aus Silikon, die Proliferationsrate auf diesen Flächen fand sich verringert ¹⁵¹. Im Gegensatz hierzu wiesen Versuche von Schmidbauer ¹⁵² bei plasmasterilisierten im Vergleich zu autoklavierten Silikonoberflächen eine um 20% erhöhte Proliferationsrate auf. Demnach scheint sich auch die Wahl der Sterilisationsmethode signifikant auf die Stoffwechselaktivität des angrenzenden Gewebes und damit auf das Inkorporationsverhalten der Prothesen und möglicherweise auch auf die Ausbildung von Intimahyperplasie auszuwirken. Der Ausprägungsgrad der nach Implantation von Silikonmaterial folgenden Gewebsreaktion ist generell mit der von Implantaten aus Titan vergleichbar ¹⁵³. Die beobachteten Entzündungsreaktionen gehen stets mit Kapselbildung und Makrophageninva-

sion einher. Ursächlich ist hierbei jedoch nicht das Silikon selbst, sondern die Ablagerung von Proteinen wie z.B. Fibrinogen auf der Silikonmatrix^{154,155}. Damit ließe sich auch eine Verbindung zwischen Thrombogenität und Entzündungsreaktion herstellen. Aufgrund der Athrombogenität der Oberfläche der multifunktionellen Prothese wäre daraus folgend eine verringerte Entzündungsreaktion zu erwarten gewesen, was jedoch nicht der Fall war. Möglicherweise fällt hier der proinflammatorische Einfluß der anderen, mit Immunsuppressiva versehenen Beschichtungen stärker ins Gewicht.

Zur Herstellung der PDMS-Emulsion wurde Ethylacetat verwendet. EtAc (Stoffnummer 1173, R 11-36-66-67; S 16-23-29-33) ist ein nach Klebstoff riechendes, vielseitig einsetzbares Lösungsmittel. Es ist leichtentzündlich und reizt Haut und Augen. Trotz seines Gefahrenpotentials für den menschlichen Organismus wird es zur Extraktion von Antibiotika und zur Aromatisierung von Limonaden, Bonbons und Arzneimitteln verwendet. Die enterale Resorption geringer Mengen ist daher offensichtlich unproblematisch und scheint ohne Folgen zu verlaufen. Die akute dermale Toxizität beim Kaninchen wird laut EG-Sicherheitsdatenblatt mit 18000 mg/kg, die orale LD₅₀ (Ratte) mit 5620 mg/kg angegeben. In nach unserem Verfahren hergestellten Prothesen waren mittels Headspace-Gaschromatographie nach 30 Tagen Lagerdauer durchschnittlich nur 400 µg EtAc je kg Prothesenmaterial gemessen worden⁽¹⁾. Die Rückstände liegen damit weit unter den vorgeschriebenen Werten und sollten demnach gesundheitlich keinerlei Auswirkungen besitzen.

Um eine zusätzliche Herabsetzung der primären Thrombogenität der Kunststoffprothese zu erreichen, erfolgte eine Modifizierung der Prothesenoberfläche mit PVA. Polyvinylalkohol wird ebenfalls breit bei der Herstellung von Medizinprodukten eingesetzt, so z.B. bei Schwämmen für die Vakuumversiegelung. In Versuchen von Wu et al. zeigte sich für PVA-beschichtete Silikonprothesen eine verminderte Proteinbindung¹⁵⁶. Zusätzlich ist für PVA eine verminderte Thrombozytenadhärenz bei *in vitro* Versuchen nachgewiesen worden^{157,158}. Da eine lokale Thrombose eine wichtige Rolle in der Pathogenese der IH spielt¹⁵⁹, würde hier somit auch ein weiterer hemmender Faktor auf die IH zur Anwendung gelangen.

(¹) Persönliche Mitteilung von Diener H., UHZ, Klinik f. Gefäßmedizin

Die Kombination der vorgestellten Materialien stellt einen praktikablen und gut handhabbaren Ansatz auf der Suche nach der idealen Gefäßprothese dar. Silikon gilt als erstklassiges Material für Implantate, Nebenwirkungen sind bei sachgerechtem Gebrauch eher nicht zu erwarten. Bei der multifunktionellen Prothese wird das PET durch die Verwendung von inertem Silikon von körpereigenen Prozessen abgeschirmt und so vor Andauung zuverlässig geschützt. Die Verwendung von Silikon für unsere multifunktionelle Gefäßprothese (MFP) erscheint deshalb nicht nur unbedenklich, sondern unabhängig von einer eventuellen Oberflächenmodifizierung in Hinsicht auf die Hämokompatibilität und möglicherweise auch auf die Ausbildung einer IH sogar vorteilhaft. Warum die theoretischen Vorteile der MFP im Experiment, insbesondere bei der Hemmung der IH nicht zum Ausdruck kamen, bleibt unklar. Denn auch die Gruppe der nur mit PVA behandelten Prothesen konnte keine Unterdrückung der IH zeigen, stattdessen zeigte sich ein signifikant vermehrtes Auftreten der IH gegenüber der Kontrollgruppe und in Kombination mit SRL auch eine vermehrte inflammatorische Reaktion.

4.2. Medikamentenfreisetzung-„drug eluting“

Die ersten klinischen Versuche zur Medikamentenfreisetzung fanden in der Kardiologie beim Einsatz sogenannter „drug eluting stents“ (DES) statt. So konnten im Vergleich zu den üblichen „bare metal stents“ (BMS) bessere Ergebnisse erzielt werden ¹¹⁰. Während in der Kardiologie die Verwendung von DES bereits eine gängige Behandlungsoption darstellt, sind die Anwendungsgebiete bereits auch auf das periphere Gefäßsystem erweitert worden. Wegen der *in vitro* nachweisbaren Wirksamkeit von Stoffen wie Sirolimus (Rapamycin), Tacrolimus, Everolimus und Paclitaxel sind neue beschichtete Stents und auch Ballons entwickelt und auch im peripherem Gefäßsystem getestet worden. Wurden im koronarem System vorwiegend gleichartige Ergebnisse mit Sirolimus und Paclitaxel erreicht ^{160,161}, so fehlt einerseits beim Sirolimus-eluting-Stent bei aktuell differenter Datenlage der Wirksamkeits-Nachweis im peripherem Gefäßsystem ^{162,163}, andererseits gibt es auch hier in neueren Studien Hinweise der Überlegenheit gegenüber dem BMS, insbesondere bei kurzstreckigen Stenosen im Unterschenkelbereich ^{164,165}. Als aussichtsreiche Art der Beschichtung scheint sich hier in 2 großen Multicenter-Studien (THUNDER und ZILVER PTX-Trial) das Paclitaxel heraus zu kristallisieren ^{166,167}, wo sich ein Vorteil gegenüber „bare metal“ Stents im femoro-poplitealem Bereich zeigte. Infragenaal schei-

nen auch Everolimus-beschichtete Stents einen Vorteil gegenüber dem „bare metal“ Stent ¹⁶⁸ zu erzielen. In der neueren PACIFIER-Studie gibt es auch für „drug eluting balloons“ einen Vorteil gegenüber der gewöhnlichen Ballonangioplastie hinsichtlich des „late lumen loss“ (LLL), also der Restenoserate ¹⁶⁹. Gleichwohl sind allgemein- und endgültige Aussagen, was die bestmögliche Elution aus den verschiedenen Implantaten im peripheren Gefäßsystem betrifft, noch nicht zu treffen. Hier ist noch einiger Forschungsbedarf gegeben, zumal auch teilweise widersprüchliche Ergebnisse, was „drug eluting stents“, „drug eluting balloons“ und andere Implantate betrifft, auftreten. Ein Vergleich innerhalb der Gruppen ist bei der Vielzahl der verschiedenen Implantate, was Stentdesign, Oberflächenbeschichtung und auch Dosierung der Immunsuppressiva angeht, relativ schwierig zu treffen.

Bisher hat das Prinzip der Pharmakoelution bei Gefäßprothesen noch keinen breiten Eingang in die klinische Praxis gefunden, obgleich es auch hierzu schon ermutigende Studien, wie z.B. der Einsatz Sirolimus-beschichteter ePTFE-Prothesen in der Femoralarterie gibt ¹⁷⁰, hier mit Nachweis der Reduzierung der IH im Anastomosenbereich. Auch in der Shuntchirurgie sind bereits erfolgreich, vorwiegend mit Paclitaxel beschichtete Prothesen getestet worden ^{171,172}. Mit der Verwendung unserer Gefäßprothese wird nun ein weiterer Ansatz verfolgt. Der Nachweis einer längerfristigen, kontinuierlichen und kontrollierten Medikamentenelution mittels Silikonmatrix konnte *in vitro* durch unsere Gruppe erbracht werden ¹⁷³. Auch *ex vivo* konnte durch Konzentrationsbestimmung von SRL, in einem mit der Prothese anastomosierten Gefäßabschnitt, eine Elution nachgewiesen werden. Direkt an der Anastomose wurden jeweils die höchsten Werte gemessen, mit zunehmender Entfernung zur Anastomose nahmen die Spiegel ab. Die Abgabe erfolgt durch Auswaschen direkt in die Blutbahn, in nicht systemisch wirksamer Konzentration, als auch lokal in das umliegende Gewebe. Das Ziel ist somit, die stärkste SRL-Konzentration dort vorliegen zu haben, wo auch die Ausprägung von Intimahyperplasie am wahrscheinlichsten zu erwarten ist, nämlich im Anastomosenbereich. So ließe sich beispielsweise die nur auf die Anastomosenregion beschränkte und auch nur dort benötigte Elution von Proliferationshemmern mit unserer Prothese in Zukunft leicht realisieren. Auch eine Kombination unterschiedlicher Substanzen mit synergistischer Wirkungsweise wie SRL und VEGF in unterschiedlichen Abschnitten der Prothese wäre denkbar. Bei der Verwendung von Immunsuppressiva spielt in erheblichem Maße die Dosierung eine wichtige Rolle, damit erwünschte Wirkungen nicht durch dosisabhängige Nebenwirkungen

zunichte gemacht werden. Insbesondere sind hier lokal toxische Effekte mit Medianekrose und Granulombildung sowie Fibrinablagerungen und anhaltende Inflammation in der Intima und Adventitia beobachtet worden ¹⁷⁴. Das führt dann einzeln oder auch in Summe zu einer verzögerten Intimaheilung nach Intervention, was dann die Ausbildung einer Intimahyperplasie zur Folge haben kann. Insbesondere die persistierende Inflammation soll dabei mit einer vermehrten IH einher gehen ¹⁷⁵. Eine erhöhte inflammatorische Reaktion trat in unserem Experiment vor allem in der SRL-Gruppe auf. Als weitere unerwünschte Nebeneffekte sind die Hemmung der Myofibroblasten-Proliferation im umgebenden Gewebe zu sehen ¹⁷⁶, was zu fehlender Integration der Prothese mit sekundären Komplikationen, wie Infektion und Graft-Thrombose führen kann. Dieses Phänomen konnte übrigens in der histopathologischen Auswertung der Tierversuche hier nicht beobachtet werden. Für Sirolimus wurde gezeigt, dass mit einer Dosierung von $130,1\mu\text{g}/\text{cm}^2$ die Intimahyperplasie effektiv unterdrückt werden kann. Eine deutliche Reduktion konnte aber auch schon mit $13\mu\text{g}/\text{cm}^2$, allerdings nur bei Arterien im Kaninchenmodell, erzielt werden ¹⁷⁷, was eine erhebliche Schwankungsbreite darstellt. Es ist gegenwärtig immer noch nicht klar, welches die optimale therapeutische Dosierung darstellt. Die in den Vorversuchen von unserer Arbeitsgruppe ermittelten Konzentrationen an der Anastomose der MFP liegen mit $18\mu\text{g}/\text{mg}$ demnach in einem Bereich, in dem die Intimahyperplasie wirkungsvoll unterdrückt werden kann ¹⁷⁶. Da die Intimahyperplasie kein Akutgeschehen ist, sondern einen über mehrere Monate hinweg andauernden Prozess darstellt, könnte neben der initialen Unterdrückung eine langfristige und kontinuierliche pharmakologische Behandlung von entscheidender Wichtigkeit sein. Es zeigte sich nach Stentimplantation, dass der unterdrückende Effekt auf die Intimahyperplasie anhaltend sein kann, was bereits über einen Zeitraum von bis zu einem Jahr beobachtet wurde ¹⁷⁸, obwohl der Stent selbst kein Medikament mehr abgibt. Das scheint die Annahme zu bestätigen, dass eine Ansammlung des Immunsuppressivums im Gewebe ursächlich dafür ist. Andererseits scheint eine einmalige lokale Applikation von Sirolimus mittels Durchtränken der Prothese im Tierversuch mit Ratten keinen Benefit bezüglich der Unterdrückung der IH zu erzielen. Vielmehr traten durch diese Hochdosisbehandlung Nebenwirkungen in den Vordergrund ¹⁷⁹. Dies unterstreicht die Wichtigkeit einer kontinuierlichen Therapie in möglichst effektiver Dosierung, was durch die Bindung und Freisetzung durch ein Polymer gelingt. Jedoch wie bei der Dosis gibt es auch bei der Länge der Applikationsdauer keine klaren Angaben über ein therapeutisches Fenster. Im Tiermodell ist der Zeitraum mit der größ-

ten Expansion der IH für 1-2 Wochen nach Intervention beschrieben, beim Menschen hingegen gibt es einen solchen Peak nicht ¹⁷⁵. Nach zwei Wochen im Kreislaufmodell hatte unsere Prothese etwa die Hälfte ihres Medikaments abgegeben (¹). Somit ist eine kontinuierliche Abgabe hier gewährleistet. Wie Silber in seinen Untersuchungen zum DES ¹⁸⁰ zeigte, hat die Anwesenheit einer polymeren Trägersubstanz eine Bedeutung für das klinische Ergebnis. Gleichzeitig wies er nach, dass bei polymeren Trägersubstanzen die lokale Medikamentendosierung um bis zu Zweidrittel gegenüber Nicht-Polymeren bei gleicher Effektivität reduziert werden kann. Das hat einen enormen Einfluss auf die lokal toxischen Wirkungen. Bei Paclitaxel ist zum einen eine deutliche Abhängigkeit des Grades der IH-Hemmung von der Höhe der Dosis beschrieben, andererseits führt eine höhere Dosis auch zur vermehrten Inflammation und zu lokal toxischen Effekten ¹⁷⁴. In Form des Taxus-Stents hat sich für Paclitaxel eine polymere Trägersubstanz als sicher und effektiv erwiesen ¹⁸¹. Im Gegensatz dazu existieren auch angesichts widersprüchlicher Ergebnisse nach DES Bedenken darüber, dass das Polymer an sich eine inflammatorische Reaktion verursacht und damit selbst zu einer vermehrten Intimahyperplasie oder Spätthrombose beiträgt ¹⁸². So lieferte der nicht polymer-basierte, mit 2%iger Sirolimus-Lösung beschichtete Yukon-Stent keine schlechteren Ergebnisse bezüglich der Restenoserate im Vergleich zum polymerhaltigem Taxus-Stent im Koronarsystem ¹⁶¹. Ein Vorteil einer Substanz kann derzeit nicht gesehen werden, da vergleichende Untersuchungen zwischen Paclitaxel- und Sirolimus-freisetzenden Stents oder Ballons im peripheren Gefäßsystem derzeit nicht existieren. Für unsere Prothese jedenfalls konnte in den Vorversuchen mit der reinen Silikonprothese eine vermehrte inflammatorische Reaktion durch die Trägersubstanz nicht beobachtet werden.

Die Herausforderung besteht also darin, die geeignete Dosierung zu finden, um eine optimale Hemmung der IH zu erreichen, aber verbunden mit minimalen lokal toxischen Effekten und einer langzeitigen, kontinuierlichen Freisetzung über geeignete Polymere. Das Elutionsverhalten der verwendeten Substanzen in diesem Versuch beruht auf ihrer Wechselwirkung mit der Silikonmatrix und den physiologischen Parametern (pH-Wert/Temperatur usw.) der Umgebung und beruht auf den Prinzipien der Diffusion und Konvektion, so werden hydrophile Substanzen schneller und vor allem ins Medium abgegeben, hydrophobe hingegen langsamer und eher ins Gewebe ¹⁸³. Diese Verteilungs-

(¹) Persönliche Mitteilung von Larena, A.; UHZ, Klinik f. Gefäßmedizin

prozesse werden für Paclitaxel (PAX) und Sirolimus (SRL) von intrazellulären Trägerproteinen vermittelt ^{184,185}, woraus sich jeweils eine spezifische Kinetik ergibt. Die Konzentration im Gewebe war in den dortigen Untersuchungen 30-40mal höher als im Stent selbst und erreichte für beide Substanzen nach zwei Tagen ein *“steady state“*, SRL fand sich gleichmässig in der gesamten Arterienwand verteilt, PAX hingegen subintimal konzentriert ¹⁸⁴.

4.3. Tiermodell und OP-Handhabbarkeit

Die Handhabung der multifunktionellen Prothese im OP war, abgesehen von der Gewöhnung an die leicht höhere Steifigkeit unkompliziert. Die Prothesen ließen sich problemlos auf die jeweils benötigte Konfiguration zurechtschneiden und ohne weitere Vorbereitung direkt implantieren. Selbst unübliches Instrumentarium führte im Raster-Elektronen-Mikroskop zu keinerlei sichtbaren Beschädigungen, eine ernsthafte Beschädigung der Prothese mit gängigem OP-Instrumentarium, der sogenannte Klemmschaden und seine verheerenden Auswirkungen ⁴⁸, scheint somit ausgeschlossen. Das Silikon ist selbst resistent gegen mechanische Beschädigung und wirkt wie ein Schutzmantel für das PET-Trägermaterial. Dadurch kann die Prothese gefahrlos mit Pinzetten gehandhabt oder mittels Bulldogklemmen okkludiert werden. Im Vergleich mit den bereits erhältlichen Prothesen setzt die multifunktionelle Prothese, wie bereits beschrieben punktueller, spitzer Krafteinwirkung beim Setzen der Naht vergleichbaren Widerstand entgegen, was die Eingewöhnung des Chirurgen an unsere Prothese unkompliziert gestaltet. Die geringere Fadenrückhaltekraft (leichteres Hindurchziehen des Fadens) erleichtert das Setzen der Naht zusätzlich. Alle unsere Prothesen imponierten ausnahmslos dicht, selbst bei Drücken höher als 120mmHg kam es zu keinem Durchtritt von Blut durch die Wand (das sogenannte „Schwitzen“) der Prothese,. Bei Implantation beobachteten wir keine Stichkanalblutungen. Hierfür ist nach unseren Erkenntnissen die Elastizität des verwendeten Silikons ursächlich, der dreidimensionale Formkörper versucht die ihm gegebene Form beizubehalten. Makroskopisch korreliert dies mit der als größer empfundenen Steifigkeit der Prothese und findet sich auch in den Messwerten der Tensiometerversuche aus den Vorversuchen bestätigt. Im mikroskopischen Bereich bedeutet dies, dass sich die Durchstichstelle (das iatrogen verursachte Loch) einer silikonisierten Prothese nach Durchtritt der Nadel zu schließen versucht. Diese hohe Selbstabdichtungstendenz der multifunkti-

onellen Gefäßprothese findet sich ansonsten nur bei neuentwickelten, mehrschichtigen Kompositprothesen^{186,187}. Während bei PET und PTFE-Prothesen zum Erreichen primärer Dichtigkeit die zusätzliche Verwendung von Kollagen oder anderen Substanzen nötig ist, entfällt dies bei unseren Prothesen. Im Rahmen gefäßchirurgischer Nadelgrößen darf die MFP also als primär dicht aufgrund selbst versiegelnder Eigenschaften gelten, weswegen wir hier von einer S³-Prothese (*“self sealing surface“*) sprechen können. Gerade deswegen finden silikonisierte Prothesen in der Shuntchirurgie Verwendung. Es kam im Tierversuch zu keinen Gerinnungsstörungen, auch Allergien konnten wir nicht beobachten. Die dem Patch gegenüberliegende Gefäßwand zeigte auch mikroskopisch keine Auffälligkeiten, alle beobachteten Gewebsreaktionen blieben lokal beschränkt und wurden erst unter dem Mikroskop auffällig. Im beobachteten Zeitraum wurde die textile Matrix durch das PDMS zuverlässig vor Abbau geschützt. Möglicherweise kann dadurch die Haltbarkeit der Prothese auf lange Sicht positiv beeinflusst werden.. Durch eine biologisch inerte Hülle aus Silikon umkapseltes PET sollte nur schwerlich biologisch aktiv wirken und so beispielsweise eine Ausschüttung von Zytokinen induzieren können. Die Inertheit des Materials prädispositioniert unsere Prothese geradezu auch für eine mögliche Anwendung in Infektgebieten.

4.4. Intimahyperplasie

Generell werden heute 2 Hauptgebiete der Intimahyperplasie beforscht, zum einen nach PTA einer Arterie und zum anderen nach Implantation eines vaskulären Graftes¹⁸⁸. Wie schon eingangs beschrieben, handelt es sich bei der Entstehung der IH um ein multifaktorielles Geschehen. Drei Hauptentstehungsmechanismen werden allgemein angeführt. Erstens, die Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen (GM) und die Umwandlung dieser vom ausgereiften, differenzierten in den undifferenzierten, synthetisierenden Typ mit erhöhter Zellmigration und Synthese von Proteinen, sog. extrazellulärer Matrix¹⁸⁹. Inflammatorische Zytokine (IL-6,IL-8) sowie Wachstumsfaktoren (PDGF, EGF und FGF) triggern diesen Prozess. Als zweite Hypothese gilt die Umwandlung von Fibroblasten aus der Adventitia in Myofibroblasten mit Migration durch die Media in die sich entwickelnde Neointima¹⁹⁰. Die dritte Theorie beschreibt, dass zirkulierende Progenitor-Zellen aus dem Knochenmark durch Endothelschäden in die Gefäßwand eindringen und dort zu Endothelzellen, Myofibroblasten oder synthetisierenden GM differenzieren¹⁹¹. Auf bio-

chemischer Ebene sind bereits umfassende Forschungen betrieben worden, um die einzelnen Signaltransduktionswege, die die Zellproliferation regulieren, zu entschlüsseln. Es sind dabei eine Vielzahl von Proteinkinasen enthaltenden Kaskaden entdeckt worden, wie z.B. auch Insulin sensitive. Die Zellmigration wiederum wird von verschiedensten Wachstumsfaktoren (z.B. VEGF, PDGF, bFGF etc.), Angiotensin-II, Thrombin und Endothelin-1 gesteuert. Zusätzlich zur Zellproliferation und -migration ist die Produktion extrazellulärer Matrix (EM) entscheidend für die Formierung der IH, auch hier besteht wieder der Einfluss verschiedener Wachstumsfaktoren und die Regulierung durch Matrix-Metalloproteinasen (MMP). Gibt nun der mechanische Reiz, die Stoffwechsellage oder das Trauma den Anstoß zur Auslösung dieser Kaskaden, oder alles zusammen? Hier besteht derzeit noch keine wirkliche Klarheit und intensive Forschungen sind diesbezüglich im Gange.

Maßgeblich wird als Hauptursache für die Entwicklung von Restenosen in den Gefäßen nach Manipulation die Intimahyperplasie verantwortlich gemacht⁹². Doch es bestehen wichtige Unterschiede in der Ausbildung der IH in Arterien, Grafts oder Transplantaten. So ist z.B. bei Venentransplantaten, im Gegensatz zur Arterie, auch zusätzlich zur IH eine Verdickung der Media beobachtet worden¹⁹². Des Weiteren wurden nach Explantation von PTFE-Prothesen Kalkeinlagerungen sowohl im Material, als auch in der Neointima vorgefunden, direkt proportional zum Alter der Implantation¹⁹³. Hier ergeben sich also auch histologische Unterschiede in der Ausprägung der IH. Ebenso bestehen möglicherweise auch unterschiedliche Auslösemechanismen. So bietet z.B. die externe Aufbereitung von Venentransplantaten davon eine Vielzahl. Lokales Trauma durch Instrumente oder hydrostatische Dilatation können ebenso dazu führen, wie durch Hypoxie freigesetzte Radikale mit der Hochregulierung von MMP. Durch Denervierung kommt es zum Vasospasmus und inflammatorischen Veränderungen, in deren Folge Zytokine freigesetzt werden¹⁹⁴. Andere Faktoren nun spielen in der Shuntchirurgie eine zusätzliche Rolle. Die Urämie bei der dialysepflichtigen Niereninsuffizienz bedingt ein höheres Niveau zirkulierender Zytokine und führt so zum Status einer chronischen Inflammation. Sie ist somit ein prädisponierender Faktor für endotheliale Zelldysfunktion und der Ausbildung von IH, sogar noch vor Anlage einer AV-Fistel oder Implantation eines Prothesenshunts¹⁹⁵. Laut Cenni et al.¹⁹⁶ kann durch Gefäßprothesen aus PET eine allgemein erhöhte Bildung von FGF (*“fibroblast growth factor“*) in Endothelzellen induziert werden. FGF begünstigt zwar einerseits die vom Chirurgen durchaus erwünschte Bildung einer Neointima¹⁹⁷, anderer-

seits natürlich auch die weniger erwünschte Bildung der Intimahyperplasie ¹⁹⁸. Zusätzlich bestehen hier wiederum die Einflussgrößen chirurgisches Trauma, unterschiedliche mechanische Kräfte im Anastomosenbereich und die Biokompatibilität. Speziell im Anastomosenbereich wirken turbulente Strömungen und es gibt Areale mit Auftreten geringerer Scherkräfte. Diese korrelieren nach Loth et al. ¹⁹⁹ im anastomosennahen Gebiet umgekehrt proportional mit der Menge der IH. Zugleich kommt es auch aufgrund des „compliance-mismatch“ (Elastizitätsunterschied zwischen Nativgefäß und Kunststoffprothese) zwischen Arterie und Prothese zum Anstieg der Wandspannung in bestimmten Regionen, was erneut zur Aktivierung der biochemischen Vorgänge und Signaltransduktionswege und einer daraus resultierenden Entstehung der IH führt ²⁰⁰. Und nicht zuletzt ist allein aufgrund der inflammatorischen Reaktion auf das implantierte Fremdmaterial mit einer Stimulation der Makrophagen zu rechnen, was zur Synthese und Sekretion von inflammatorischen Zytokinen und bFGF führt. Bei histologischen Untersuchungen sind eine Vielzahl solcher Entzündungszellen im Bereich von Prothesen nachgewiesen worden ²⁰¹: So konnten auch wir in den histologischen Auswertungen speziell Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen sowie neutrophile Granulozyten in der Umgebung des eingebrachten Fremdmaterials identifizieren, insbesondere bei den SRL- beschichteten Prothesen.

Für die Quantifizierung der Intimahyperplasie wurden in der Literatur unterschiedliche Methoden herangezogen: So kann die Messung nach der IH-Ratiomethode ¹²⁷ erfolgen, hier wird die gesamte Fläche der Intimahyperplasie unterhalb des Patches in Relation zur Breite des Patches gesetzt. Andere Gruppen setzen die im Querschnitt ermittelte Fläche von Intima zur gesamten Gefäßfläche in Relation ¹⁷⁷. Diese optometrischen Verfahren arbeiten computergesteuert oder erfordern das manuelle Markieren der zu messenden Flächen. Als andere Möglichkeiten standen sich nur unwesentlich voneinander unterscheidende Methoden, bei denen die Dicke der Intima an vorher festgelegten Punkten oder in definierten Abständen mehrfach visuell ermittelt und notiert wird ²⁰², zur Auswahl. Messungen die eine Ermittlung von Flächen beinhalten versprochen auf den ersten Blick eine schnelle und einfache Auswertung, allerdings hätte dies die Anschaffung eines computergestützten Auswertungssystems und erhebliche Einarbeitungszeit erfordert. Neben relativ gleichmäßigen Gefäßquerschnitten verlangt diese Methode auch einen glatten Übergang zwischen Patch und Gefäßwand. Überlappt z.B. der Patch die Gefäßwand, d.h. ist der Patch nicht genau auf „Stoß“ mit dem Gefäß vernäht, so wird die Breite

des Patches im Verhältnis zur IH-Fläche verfälscht wiedergegeben und erfordert manuelle Korrektur. Eine manuelle Korrektur stellt jedoch eine mögliche Fehlerquelle dar und kam für uns deshalb nicht in Frage. Die anderen Methoden sind ohne derartigen technischen Aufwand durchführbar, hier genügt ein Mikroskop mit Objekt- und Okularmikrometer. Der Arbeitsaufwand wäre jedoch aufgrund der fehlenden Computerisierung um ein Vielfaches unvermeidbar höher gewesen. Eine Ermittlung der Intimadicke in fest definierten Abständen kann jedoch bei stark gewundener oder gefalteter Intima zur Messung an fast identischen Stellen führen. Zudem können sich die Messwerte bei zu niedrig gewähltem Abstand zu sehr ähneln, dies kann zu einer nicht repräsentativen „Alles oder Nichts-Messung“ führen, da dann im gewählten Bereich für die jeweilige Studie entweder überwiegend vorteilhafte oder nachteilige Ergebnisse ermittelt werden könnten. Durch die Verwendung der in Kap. 2.5.4 beschriebenen Messmethode wurden diese Fehlerquellen weitestgehend eliminiert. In der Literatur wird die Dicke der gesunden Intima im Schwein unterschiedlich angegeben, so ermittelten Ducasse et al.²⁰³ einen Wert von bis zu $0,06 \pm 0,017\text{mm}$, wohingegen sich bei Kissin et al.²⁰⁴ Werte von $13 \pm 0,6\mu\text{m}$ finden lassen. Unsere Ergebnisse von $0,0293 \pm 0,012\text{mm}$ scheinen somit im üblichen Rahmen zu liegen. Auch die von uns bestimmten Werte für die Kollagenprothese lagen mit $0,78 \pm 0,41\text{mm}$ im vergleichbaren Bereich anderer Studien. Sun et al.²⁰⁵ etwa gaben für mit bovinen Substanzen beschichtete PET-Prothesen Werte von $0,57 \pm 0,15\text{mm}$ an. Die IH erreichte bei Untersuchungen von Heise et al.²⁰⁶ in ePTFE-Prothesen hingegen Werte von bis zu $0,48 \pm 0,1\text{mm}$.

Die Unterdrückung der Intimahyperplasie im Tierversuch gelang mit der Sirolimus- und PVA-beschichteten Silikon-Prothese nicht wie erhofft. Nach den bisher gemachten, ermutigenden Ergebnissen der Vorarbeiten war dies so nicht abzusehen und ist mit der momentanen Datenlage auch nicht unbedingt zu erklären. Eine retrospektive Analyse aller beteiligten und möglicherweise ursächlichen Parameter ist deshalb unabdingbar: Die Präparation der beim Schwein vom Durchmesser für unsere Zwecke geeigneten Gefäße erwies sich zeitaufwändiger als erwartet. Eine weitere Erschwernis bedeutete die im Gegensatz zum Menschen erhöhte Vulnerabilität der Schweinearterien gegenüber gefäßchirurgischen Manipulationen, welche extrem sorgfältiges und damit zeitintensives Operieren nötig machte, um ein Ausreißen der Naht und andere Beschädigungen der Gefäße

zu verhindern. Da jedoch die Ergebnisse der Kontrollgruppe wie erwartet ausfielen, können weder OP-Methode an sich, noch operative Fehler dafür verantwortlich sein.

Auch das Trägermaterial Silikon als Einflussgröße kann mit großer Sicherheit ausgeschlossen werden, da bei den Vorversuchen unserer Arbeitsgruppe mit Hunden^{119,123} eine derartig starke Ausbildung von Intimahyperplasie im Zusammenhang mit Silikon nicht beobachtet worden war. Ein Unterschied in der reaktiven Ausbildung der IH bei Hunden und Schweinen ist in der Literatur bisher nicht beschrieben worden. Daher kann auch nicht von einer Unverträglichkeit oder Verunreinigung des verwendeten Silikons ausgegangen werden. Die zugrundeliegende Theorie der in Gefäßprothesen auftretenden Flussphänomene erfährt zunehmende Bedeutung. Sie war jedoch aufgrund der positiven Ergebnisse der Vorversuche nicht als wesentlicher Bestandteil unserer Studie eingeplant, weshalb keine eingehende Untersuchung durchgeführt wurde. Daher kann über die Beteiligung dieses Faktors und seine Auswirkungen nur spekuliert werden. Es wird zwar gelegentlich von Unterschieden zwischen humanem und porzinem Gerinnungssystem berichtet, dennoch machten andere Arbeitsgruppen keine, mit der unseren vergleichbare Erfahrungen. So berichten Speck et al. von der Wirksamkeit des SRL bei der Unterdrückung der IH im Schweinmodell²⁰⁷. Auch Tepe et al.²⁰⁸, Rotmans et al.²⁰⁹ sowie Yu et al.²¹⁰ führten ihre Versuche am Schwein durch und sahen im SRL ein probates Mittel zur Unterdrückung der Intimahyperplasie. Allerdings wurden all diese Untersuchungen auf der Basis von DES durchgeführt, was sicherlich nicht so ohne weiteres auf die Implantation von Kunststoffprothesen übertragen werden kann. Hier sind in der Literatur insbesondere in der Shuntchirurgie Studien zu Paclitaxel beschichteten Prothesen vorhanden. Eine mit unserem Versuch vergleichbare Studie findet sich bei Cagiannos et al.¹⁷⁰, wobei hier andere Dosierungen des SRL und ein anderes Polymer vorlagen, ebenso wurde ein anderes Sterilisationsverfahren gewählt, was somit die Komparabilität möglicherweise erheblich einschränkt. Dort ist eine Unterdrückung der IH nach 28 Tagen beschrieben worden. Die Explantation unserer Prothesen erfolgte wie im Kap. 2.3.2. beschrieben erst nach 6 Wochen. Denkbar wäre, dass der hemmende Effekt des SRL zu diesem Zeitpunkt nicht mehr vorhanden gewesen ist. Solche Beobachtungen sind auch schon in anderen präklinischen Studien nach DES im Schweinmodell beschrieben worden. Nach initialer Unterdrückung der IH innerhalb eines Monats, fand sich nach 3 und 6 Monaten kein Benefit in der IH-Hemmung mehr gegenüber dem BMS¹⁷⁵. Die von uns verwendeten Tiere waren im Gegensatz zu den meisten Studien keine Jungtiere mehr,

sie hatten genug Zeit gehabt, sich eine Körpermasse von durchschnittlich 60kg anzueignen. Damit waren sie fast doppelt so schwer wie die Tiere anderer Arbeitsgruppen. Ob sich dies signifikant auf die Ausprägung von Intimahyperplasie auswirken könnte, bleibt Spekulation, obwohl es Hinweise in der Literatur gibt, dass das Alter bei Menschen einen unabhängigen Risikofaktor für In-Stent-Thrombosen nach DES darstellt²¹¹. Wir können allerdings beim Minischwein als verlässliches Modell ausgehen, da eine Inkompatibilität von Sirolimus und Minischwein aufgrund fehlender Beobachtungen der anderen Arbeitsgruppen von der Hand zu weisen ist. Sirolimus zeigte also wider Erwarten keinen mindernden Effekt auf den Ausprägungsgrad der Intimahyperplasie in unserer Studie, eher war eine vergleichsweise Zunahme zu beobachten. Die Ursache dafür lässt sich nicht eindeutig belegen. In unseren statischen *ex vivo* Versuchen (siehe Kap 4.2.) wurde ein ausreichend hoher SRL-Spiegel im Gewebe erreicht. Da der Sirolimusgehalt der im *in vivo* Versuch verwendeten Prothesen im Labor Limbach, Heidelberg nicht quantitativ bestimmt werden konnte und eine quantitative Bestimmung der Gewebsspiegel nicht erfolgen konnte, kann also zur Art und Dauer der Elution für den Tierversuch keine verlässliche Aussage getroffen werden, was sicherlich eine Limitation der Arbeit darstellt. Die perioperativ abgenommenen Blutproben zeigten Höchstwerte von bis zu 1,5 ng/ml, dies entspricht der bei Implantation von Sirolimus-Eluting-Stents zu erwartenden Konzentration von bis zu 2 ng/ml, wobei diese Konzentrationen auch interindividuell wohl verschieden ausfallen können, wie Otsuka et al. in einem Vergleich von amerikanischen und japanischen Patienten zeigte²¹². Da die Abgabe von Sirolimus ins lokal umgebende Gewebe stärker erfolgt, scheint eine Unterdosierung am Ort des Geschehens daher unwahrscheinlich. Jedoch ist eine lokale Überdosierung nicht sicher auszuschließen, wenn auch keines der Tiere klinische Anzeichen zeigte, die auf eine systemische Belastung hingedeutet hätten. Wenn man sich die Wirkungsweise von SRL anschaut, erfolgt durch Komplexbildung mit mTOR („mammalian target of rapamycin“) die Hochregulierung eines Cyclin abhängigen Kinase-Hemmers p27 (kip1), welcher den Zellzyklus beeinflusst und damit hemmend auf die Proliferation und Migration der GM wirkt. Ein Fehlen von p27 (kip1) führt zur Reduktion des SRL-Effektes auf die GM²¹³. Es gibt also SRL-resistente Zellen²¹⁴. Andererseits lässt sich vermuten, dass die IH stimulierenden Faktoren nicht durch den SRL-Effekt auf den Zellzyklus dauerhaft gehemmt werden. Diese These würden auch die Beobachtungen von Carter et al. erklären, wonach sich trotz anhaltend hoher Konzentration von SRL im Gewebe nach 90 Tagen, der hemmende Effekt auf die IH

schon nach 30 Tagen erschöpft hat ²¹⁵. Es ist völlig ungeklärt, ob nicht eine erhöhte lokale Dosis oder eine zu lange Einwirkungsdauer zu einer SRL-Resistenz führen kann. Die abgeleiteten Dosierungen für die SRL-Applikation rühren aus der Anwendung als Immunsuppressivum bei Nierentransplantationen her, wo SRL gegen eine Abstoßungsreaktion eingesetzt wird. Hier finden sich systemische Konzentrationen von 8-17 ng/ ml im therapeutischen Bereich. Doch Erfahrungen für die ideale therapeutische Dosierung und auch die Anwendungsdauer in Gefäßen sind sehr limitiert und leiten sich ausschließlich aus der Stenttherapie der Koronargefäße ab, die hier in Schweinemodellen untersucht wurden. Es ist jedoch bekannt, dass sich die Ergebnisse von Therapien des Koronarsystems nicht ohne weiteres auf das periphere Gefäßsystem im Schwein, wie auch beim Menschen, übertragen lassen ²¹⁶.

Bleibt noch der Einfluss der permanenten Inflammation zu klären. In Vergleichsstudien zwischen Taxus- (Paclitaxel) und Cypher- (Sirolimus) Stents im Schweinemodell konnte ein vermehrter Inflammations-Score bei den Cypher-Stents nach 90 und 180 Tagen, sowohl gegenüber dem Taxus- als auch gegenüber dem BMS, insbesondere mit der Ausbildung von Granulomen in bis zu 60%, nach 180 Tagen registriert werden ²¹⁷. Dieses deckt sich auch mit unseren Beobachtungen. Auch in Autopsiestudien beim Menschen konnte der Nachweis vermehrter Inflammation mit Auftreten von Riesenzellen, Lymphozyten und Makrophagen, gerade bei Cypher-Stents erbracht werden ²¹⁸. Es zeigte sich in Studien gerade auch ein zeitlicher Zusammenhang des Auftretens dieser Phänomene in Abhängigkeit von der Dauer der Implantation. So konnte gegenüber 14% nach 1 Monat fast eine Verdreifachung der inflammatorischen Reaktionen mit 43% nach 3 Monaten beobachtet werden ²¹⁹. Sowohl bei Cypher, als auch bei Taxus traten aber auch verspätete Endothelialisierung und Endotheldefekte auf, die als Ursache der verspäteten Stentthrombose gelten. Für Paclitaxel hat Farb et al. ¹⁷⁴ eindeutig eine Beziehung zwischen Dosis und Ausdehnung der Inflammation beschrieben. Eine Entzündungsreaktion wird nach Studien von Tang et al. ¹⁵⁴ durch die Anlagerung von Proteinen (Fibrin) an das implantierte Material und nachfolgende Phagozyteneinwanderung mitvermittelt, woraus sich eine Verbindung zwischen Gerinnung und Entzündung herstellen lässt. Aufgrund der Athrombogenität der Oberfläche der multifunktionellen Prothese wäre eine verringerte Adhäsion von Fibrin zu erwarten. Auch die Ausbildung eines Fibrinnetzwerks sollte, im Vergleich zu PET, weniger stark ausgeprägt auftreten, wonach in unserem Versuch eigentlich eine geringere Entzündungsreaktion zu erwarten gewesen wäre. Einen zusätzli-

chen prothrombogenen Faktor nach SRL-Applikation stellt auch die durch Inhibition von mTOR vermittelte Hochregulierung von Tumor Nekrose Faktor- α (TNF- α) - und Thrombin-induzierte Expression des endothelialen Gewebefaktors („tissue factor“, TF) dar, welches proportional zur Dosis erfolgt²²⁰.

Folgende Vermutungen können also zusammenfassend angestellt werden:

Limitierend wirkt sich aus, dass im Tierversuch keine exakte Angabe über Art und Dauer der SRL-Abgabe an das Gewebe gemacht werden konnte, wenngleich das ex vivo sowohl im statischen, als auch im Kreislaufmodell gezeigt werden konnte. Möglicherweise könnte eine lokale Überdosierung zur vermehrten Inflammation und verspäteten Endothelialisierung führen und damit die IH begünstigen oder es tritt dadurch eine SRL-Resistenz auf. Möglicherweise ist in der, durch die SRL-eluierenden Prothesen verursachte, persistierenden Inflammation ein Schlüsselpunkt für die vermehrte Entstehung der IH gegenüber der Kontrollgruppe zu sehen. Der Zeitpunkt der Explantation scheint ebenfalls mit 6 Wochen nicht optimal gewählt, da die meisten Studien von einem max. Effekt der SRL-Wirkung bei 30 Tagen ausgehen und somit die Vergleichbarkeit eingeschränkt ist.

Ebenso ist zur besseren Vergleichbarkeit mit anderen Studien sicherlich zukünftig darauf zu achten, dass eher Jungtiere für die Testung herangezogen werden sollten. Der Einfluss der Plasmasterilisation auf die Zellproliferation kann auch nicht gänzlich ausgeschlossen werden, wenngleich sich über vermutete Rückstände des Sterilisationsprozesses, sogenannte „Singulett“-Sauerstoffatome, die freie Radikale des H_2O_2 darstellen und über längere Zeit persistieren könnten, in wissenschaftlichen Untersuchungen kein Nachweis findet²²¹. Andererseits konnte in einem Versuch von Zhang et al. Durch eine Sterilisation mit Ethylenoxid (EO) eine verringerte Entzündungsreaktion erreicht werden²²². Die Anwesenheit eines geschlossenen Endothels wird aus Gründen der verringerten Thrombogenität und Immunreaktion gegenüber herkömmlichem Prothesenmaterial gewünscht. Die durch das Silikon quasi impermeable und athrombogene Oberfläche unserer Prothese könnte also nicht zwingend die Ausbildung eines Neoendothels fördern. Durch die Barrierefunktion des Silikons wird die oft spekulierte Zellmigration (abgesehen von Endothelzellansiedlung aus dem Blutstrom) und damit eine der vermuteten Ursachen der IH begrenzt, an den Nahtstellen wäre sie demnach nur vom gesunden Anastomosens stumpf aus möglich. Nicht zuletzt muss man sich die Frage stellen, ob SRL in der entsprechend untersuchten Gefäßprovinz überhaupt das richtige Immunsuppressivum zur

Hemmung der IH darstellt, denn wie schon erwähnt gibt es in den klinischen Studien mit DES durchaus indifferente Ergebnisse im peripheren Gefäßsystem.

Im Kontrast zu den Ergebnissen mit SRL in den Folgeversuchen zeigen die Ergebnisse der Paclitaxel-Gruppe aus den Vorversuchen eine signifikante Reduktion der IH gegenüber den mit SRL beschichteten Prothesen und eine tendenzielle Reduktion gegenüber der Kollagen-Gruppe. Auch bezüglich der Inflammation besteht hier ein deutlich weniger ausgeprägter Effekt gegenüber SRL. Einschränkend muss hier jedoch gesagt werden, dass es sich hier nur um die Untersuchung zweier unterschiedlicher Tiere handelte und somit die Aussagekraft erheblich eingeschränkt ist, immerhin lässt sich jedoch eine gewisse Tendenz ablesen. Möglicherweise ist sowohl bei der Art der Dosierung, als auch bei der Wahl der geeigneten Trägersubstanz die MFP für die Applikation von Paclitaxel besser geeignet.

4.5. Schlussfolgerung

Das Konzept der multifunktionalen Prothese beruht auf einem Zusammenspiel vieler einzelner Faktoren. Diese einzelnen Bestandteile konnten in den Vorversuchen ihre Eignung überzeugend bestätigen und die Möglichkeiten und Vorteile von Silikonen für die Gefäßchirurgie aufzeigen. Die Fokussierung liegt hier eindeutig auf die Verhinderung oder Minderung der Bildung von IH im Anastomosenbereich. *In vivo* erwiesen sich die Zusammenhänge jedoch weit komplizierter als vorhergesehen, die Entstehung und damit auch die Behandlung der Intimahyperplasie unterliegt weitaus komplexeren Mechanismen. Aufgrund des unterschiedlichen Auftretens der IH in den verschiedenen Gefäßprovinzen und verschiedenen Transplantaten sowie Implantaten, ist schwerlich davon auszugehen, dass nur ein klinischer Pfad und somit nur ein therapeutischer Ansatz zur Lösung des Problems führt. Die Aufgabe der Zukunft besteht also darin, möglichst viele Trigger für die Signaltransduktionswege, die zur IH führen zu erkennen und entsprechend beeinflussen zu können. Höchstwahrscheinlich gelang das im Tierversuch aufgrund fehlender Effektivität, nicht korrekter Dosierung oder gar Verwendung des falschen Immunsuppressivums nicht wie erwartet. Die Einflussgrößen aller beteiligten Faktoren gilt es durch weitere (möglichst *in vivo*) Versuche zu identifizieren, um die bestätigten Vorteile der multifunktionalen Prothese sicher nutzen zu können. Um es mit den Worten Abbotts auszudrücken: Die Intimahyperplasie hat sich wieder einmal „einer einfachen Lösungsmöglichkeit

entzogen“⁹⁰. Aufgrund der gemachten Erfahrungen im Schweinmodell bietet sich die Verwendung der MFP mit Sirolimus momentan nur für Standardeingriffe der Aorta und anderer großlumiger Gefäße an.

4.6. Ausblick/ Weiterentwicklung

Durch akribische Forschung zum Verständnis des Zusammenwirkens der ursächlichen Faktoren wird sich zukünftig bestimmt eine praktikable, wenn auch deutlich komplexere Lösung für englumige Gefäße finden lassen. Die vorgestellte multifunktionelle Gefäßprothese nähert sich in einigen Bereichen den Anforderungen eines „idealen künstlichen Gefäßersatzes“. Durch die Implementierung anderer Substanzen ließen sich zusätzliche Anwendungsmöglichkeiten eröffnen, z.B. die lokale Antibiose im Infektgebiet. Auch für Wachstumsfaktoren z.B. VEGF (*“vascular endothelial growth factor“*), der spezifisch an Endothelzellen bindet und so die Ausbildung eines funktionsfähigen Neoendothels beschleunigt²²³, oder für Stickstoff-monoxid²²⁴ wäre eine Verwendung denkbar. Die Möglichkeit gleichzeitig mehrere unterschiedliche Substanzen, wie beispielsweise eine als vorteilhaft erwiesene Kombination von Tacrolimus und Rapamycin²²⁵ oder VEGF und SRL einzubringen, besteht bei Verwendung der MFP ebenfalls. Die in Zukunft verwendeten Medikamente könnten auch nur aus Teilabschnitten der Prothese eluiert werden, so ließe sich beispielsweise die nur auf die Anastomosenregion beschränkte und auch nur dort benötigte Elution von Proliferationshemmern wie Paclitaxel realisieren. Der mediale Teil der Prothese könnte dann andere Substanzen tragen. Durch Einsatz gleichartiger und synergistisch wirkender Pharmaka, jedoch mit unterschiedlicher Freisetzungskinetik, lässt sich auch eine zeitliche Steuerung, gemäß den physiologischen Anforderungen implementieren. Hinsichtlich der *“drug-elution“* stellt die multifunktionelle Gefäßprothese somit eine, gemäß den pharmakologischen Anforderungen, flexible Basis für zukunftsweisende Behandlungsoptionen dar. Mittlerweile konnte durch die Realisierung einer Beschichtung von luminal die ungleichmäßige Verteilung der Silikonmatrix in Richtung Außenseite exakt umgekehrt werden. Die Prothese trägt jetzt auf der Innenseite mehr Silikon als außen. Dadurch behält die Prothese auf der Außenseite mehr textile Struktur zurück, was eine noch raschere Einheilung erwarten lässt. Die bei der Handhabung als nachteilig empfundene Steifigkeit der Prothese ließe sich durch die Verwendung eines weicheren Silikons vermindern, wenn nicht gar aufheben. Dennoch stellt die textile Trä-

germatrix biochemisch immer noch eine mögliche Schwachstelle dar, folgerichtig wäre langfristig über eine Alternative oder einen vollkommenen Verzicht der PET-Prothese nachzudenken. Als Zwischenschritt auf dem Weg zu einer derartigen „Voll-Silikonprothese“ wäre beispielsweise ein dünnes Silikongeflecht oder -gitter mit höherer Shorezahl möglich. Analog zu armierten PTFE-Prothesen böte sich auch die Verwendung einer Edelstahlspirale als Grundgerüst an. Bei beiden Methoden bestünde die Wirkmatrix hierbei wie gehabt aus einem weichen Silikon mit niedrigerem Shoregrad. Eine weitere Vereinfachung der Operationsmethode wird momentan durch Erprobung verschiedener nahtloser Anastomosenkonfigurationen von unserer Arbeitsgruppe versucht. Abgesehen von der vorgestellten Modifikation der Oberfläche durch unterschiedliche Moleküle lassen sich die Eigenschaften von Silikon durch vielfältige Methoden variieren, woraus sich ein großes Potential ergibt. Wie sich in der Untersuchung von Kim et al. herausstellte übt schon die Grundzusammensetzung des verwendeten Silikons einen signifikanten Einfluss auf den resultierenden *“shear-stress“* aus [_ENREF_226](#). Da der *“shear-stress“* an der Ausbildung der IH im Wesentlichen mitbeteiligt ist, kommt einer Optimierung der Strömungsverhältnisse besonders an der Anastomose eine wichtige Bedeutung zu. Durch eine unterschiedliche Modifizierung von innerer und äußerer Oberfläche der Gefäßprothese wäre eine weitere Optimierung denkbar. Die dem Blutstrom zugewandte Seite könnte wie gehabt mit PVA modifiziert werden, die Außenseite z.B. mit einem offenenporigen, geschäumten Zellkultursilikon (evtl. 3Si von Fa. bionic surfaces, Würzburg) versehen werden, das gewissermaßen als Gewebsanker fungiert.

Eine gewebskulturfreundliche Oberfläche oder Matrix würde auch das Verfolgen *“cell-seeding“* beinhaltender Ansätze erleichtern. Die Steuerung der Elution oder die Möglichkeit zur verzögerten zeitlichen Abgabe mehrerer unterschiedlicher Medikamente ist ein integraler Bestandteil unseres Konzepts. Weitere Untersuchungen hinsichtlich der Machbarkeit eines für den Einzelfall maßgeschneiderten „Medikamentencocktails“ sind geplant. Das perfekte Kunstgefäß, gewissermaßen der *„heilige Gral der Gefäßchirurgie“* ²²⁶, harrt weiterhin seiner Entdeckung. Es bleibt zu hoffen, dass eine geeignete Kombination aller bekannten Möglichkeiten in absehbarer Zeit zum Erfolg führt.

5. Zusammenfassung

Hintergrund:

Die vorliegende Arbeit beschreibt, nach erfolgreichen Vorversuchen, die *in vivo* Erprobung unserer silikonbeschichteten, oberflächenoptimierten und medikamentenfreisetzen- den (=multifunktionellen) Gefäßprothese im Tierversuch sowie die histologische Auswertung bezüglich Inkorporationsverhalten, inflammatorischer Reaktion und der Ausbildung einer Intimahyperplasie im Vergleich mit einer herkömmlichen PET-Prothese.

Material und Methoden:

Im Rahmen des Experiments wurde 24 Göttinger Minischweinen unterschiedlich beschichtetes Prothesenmaterial in die Beckengefäße implantiert. Die Tiere wurden in je 4 Gruppen eingeteilt. Die Gruppen bestanden dabei aus a) einer normalen, kollagenisierten PET-Prothese (Kontrollgruppe), b) einer Silikon-Polyesterprothese mit Polyvinylalkohol (PVA)-Beschichtung, c) einer Silikon-Polyesterprothese mit Sirolimus und d) einer Silikon-Polyesterprothese mit PVA-Beschichtung und Sirolimus. Die bei Beendigung des Versuchs nach 6 Wochen gewonnen Explantate wurden histologisch aufgearbeitet, es erfolgte die Einbettung in Paraffin und die Spezialfärbung mit Hämatoxylin und Eosin (HE) sowie mit Elastica-van Gieson (E-v-G). Die Schnittpräparate wurden bezüglich Einheilungsverhalten und Entzündungsreaktion untersucht und semiquantitativ ausgewertet. Die Intimahyperplasie im Patchbereich, als auch, auch die dem Patch gegenüberliegende, gesunde Gefäßwand wurden dabei photometrisch vermessen. Ein zusätzlicher Vergleich erfolgte mit implantierten Prothesenmaterial zweier Schweine aus den Vorversuchen unserer Gruppe, die aus Polyester-Silikon mit Paclitaxel bestanden. Anschließend wurden die Ergebnisse statistisch mit dem t-Test für unabhängige Stichproben (metrische Parameter) ausgewertet. Der Kruskal-Wallis-Test wurde für eine beschreibende Statistik herangezogen und das Signifikanzniveau einseitig mit 0,05 festgesetzt.

Ergebnisse:

Die Handhabung im OP verlief ohne größere Probleme. Von den 24 implantierten Patches konnten 22 ausgewertet werden. Makroskopisch heilten alle Prothesen reizlos ein. Hier zeigten sich bezüglich der einzelnen Gruppen keine Unterschiede. Bei allen beschichteten Prothesen zeigte sich in der semiquantitativen Einschätzung eine vermehrte

Inflammation gegenüber der Kontrollgruppe, wobei dies bei Sirolimus beschichteten Prothesen signifikant war. Die durchschnittliche Intimadicke der gesunden Gefäßwand betrug insgesamt im Mittel $0,0293 \pm 0,012$ mm, wobei es zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede gab. Erwartungsgemäß zeigte sich im Bereich des implantierten Prothesenmaterials in allen Gruppen eine Zunahme der Intimadicke. Überraschenderweise fand sich jedoch in der PVA-Gruppe ($1,308 \pm 0,441$ mm; $p=0,005$), in der SRL-Gruppe ($1,567 \pm 0,523$ mm, $p<0,001$) und in der Kombination von SRL+PVA ($1,564 \pm 0,421$ mm, $p<0,001$) eine signifikante Zunahme der IH gegenüber der Kollagen-Kontrollgruppe ($0,783 \pm 0,408$ mm). Für PAX ($0,421 \pm 0,168$ mm, $p=0,051$) hingegen zeigte sich ein tendenziell besseres Ergebnis.

Diskussion:

Die Unterdrückung der Intimahyperplasie mit der Sirolimus- und PVA-beschichteten Prothese in unserem Schweinmodell gelang nicht wie erhofft. Es konnten die Erwartungen hinsichtlich Hemmung der Intimahyperplasie mittels „drug eluting“ von Sirolimus nicht erfüllt werden. Doch zeigten sich jedoch ermutigende Ergebnisse bei Paclitaxel, was grundsätzlich die These untermauert, dass die multifunktionelle Prothese hinsichtlich physikalischer Parameter und biologischer Eigenschaften bestens für den Einsatz im Gefäßsystem geeignet scheint. Weitere Forschungen bezüglich anderer Immunsuppressiva, so z.B Paclitaxel und auch der Kombination mit anderen pharmakologischen Stoffen zur Hemmung der Intimahyperplasie, als Schlüssel für gute Langzeitergebnisse von Kunststoffprothesen, sind notwendig.

Schlüsselworte: Gefäßprothese, Silikon, Sirolimus, Schweinmodell

6. Abkürzungsverzeichnis

ASS	-	Acetylsalicylsäure
BMS	-	bare metal stent
BSE	-	Bovine Spongiforme Enzephalitis
DEB	-	drug eluting balloon
DES	-	drug eluting stent
ECS	-	endothelial cell seeding
EGF	-	endothelial growth factor
EM	-	extrazelluläre Matrix
ePTFE	-	expanded Polytetrafluorethylen
EtAc	-	Ethylacetat
EvG	-	Elastica-van Gieson
FGF	-	fibroblast growth factor
GM	-	glatte Muskelzellen
HIT 2	-	Heparin induzierte Thrombozytopenie, Typ 2
HE	-	Hämatoxylin/ Eosin
IH	-	Intimahyperplasie
IL-2,6,8	-	Interleukin-2,6,8
IS	-	Immunsuppressivum
LD50	-	mittlere lethale Dosis
LLL	-	late lumen loss
MFP	-	multifunktionelle Prothese
MMP	-	Matrix-Metalloproteasen
mTOR	-	mammalian Target of Rapamycin
PAX	-	Paclitaxel
PDGF	-	platelet derived growth factor
PDMS	-	Polydimethylsiloxan
pAVK	-	periphere arterielle Verschlusserkrankung
PET	-	Polyethylenterephthalat
PTA	-	perkutane transluminale Angioplastie
PTFE	-	Polytetrafluorethylen

PVA	-	Polyvinylalkohol
S³	-	self sealing surface
SD	-	standard deviation
SRL	-	Sirolimus
TAC	-	Tacrolimus
TEM	-	Transmissionselektronenmikroskopie
VEGF	-	vascular endothelial growth factor
X	-	Kontrollgruppe

7. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1.1	-	Grundlegende Anforderungen an die „ideale Gefäßprothese“
Tabelle 2.1	-	Aufgliederung des Tierversuches
Tabelle 2.2	-	Graduierung der Inkorporation, ähnlich McGee und Kang
Tabelle 2.3	-	„inflammatory response“ n. Hofma et al.
Tabelle 3.1	-	Übersicht Messwerte Intimadicke und Inflammationsscore, Signifikanzen
Abbildung 1.1	-	Zeichnung des von Abbe verwendete Glasröhrchens
Abbildung 1.2	-	Payrs Magnesiumzylinder von 1900
Abbildung 1.3	-	Skizze aus Vorhees Publikation zur Verwendung einer aortalen Gefäßprothese aus Vinyon-N
Abbildung 1.4	-	Gängige PET-Prothesen unterschiedlicher Form und Durchmesser
Abbildung 1.5 a-c	-	Schematische Darstellung von Gewebe (a), Gestrück (b) und Gewirk (c),
Abbildung 1.6 a-c	-	Elektronenmikroskopische Darstellung von Gewebe (a), Gestrück (b) und Gewirk (c)
Abbildung 1.7 a,b	-	Veloursbesatz im Schema a) und bei 60-facher Vergrößerung b)

- Abbildung 1.8 a,b - Glattwandige, primär dichte ePTFE-Prothese mit vorgeformter Anastomose und Spiralverstärkung in Übersichtsaufnahme. Bild (a) zeigt eine Distaflow®-Prothese der Fa. Jotec u. b) in der rasterelektronenmikroskopischen Darstellung
- Abbildung 1.9a-c - Typische nahtbedingte Prothesenschäden in (a) PET und (b) PTFE. In (c) ist die Beschädigung von PET-Fasern durch wiederholtes Klemmen dargestellt.
- Abbildung 1.10 - Faser einer nach 13 Jahren explantierten PET-Prothese
- Abbildung 1.11 - Histologie der Intimahyperplasie
- Abbildung 1.12 - Prädilektionsstellen (rot dargestellt) der Intimahyperplasie nach Bypassoperation
- Abbildung 1.13 - Zeitlicher Ablauf der Gewebereaktionen bei der Einheilung einer alloplastischen Gefäßprothese
- Abbildung 2.1 - Räumliches und strukturelles Modell von PDMS
- Abbildung 2.2 a,b - Die native Prothese (a) wird durch die Beschichtung auf Innen- und Außenseite mit einem Silikonmantel (b) versehen
- Abbildung 2.3 - Die Oberfläche der Prothese kann nun eine Oberflächenmodifizierung erhalten
- Abbildung 2.4 - Stäbchenmodell von Sirolimus
- Abbildung 2.5 - Göttinger Minischwein ID# 421
- Abbildung 2.6 - Methode der "IH-ratio"
- Abbildung 2.7 - verwendetes Schema zur Quantifizierung der IH
- Abbildung 3.1a,b - Kollagenisiertes (a) und silikonisiertes Prothesenmaterial (b) nach Freigabe des Blutstroms
- Abbildung 3.2 a-d - Intimahyperplasie in makroskopischer und mikroskopischer Darstellung
- Abbildung 3.3 a-d - Darstellung der OP-Vorgehensweise anhand einer Patchplastik
- Abbildung 3.4 - Typischer Situs bei Explantation
- Abbildung 3.5 - Diagramm zur Darstellung der semiquantitativen Auswertung der Einheilung
- Abbildung 3.6 - Diagramm zur Darstellung der semiquantitativen Auswertung der Entzündungsreaktion

- Abbildung 3.7 - Digitales Photomerge eines Präparats aus Tier 7 (Kontrollgruppe)
- Abbildung 3.8 - Digitales Photomerge von Präparat 34 (Sirolimuselution) bei Übersichtsvergrößerung
- Abbildung 3.9 a,b - Digitales Photomerge von Präparaten aus Tier 22 (Sirolimuselution + PVA Modifikation)
- Abbildung 3.10 - Digitales Photomerge von Präparat aus Tier 399 (PVA-Modifikation)
- Abbildung 3.11 - Digitales Photo eines Präparats aus Tier 111 (Paclitaxel)
- Abbildung 3.12 - Mittlere Intimadicke der gesunden Gefäßwand sowie mittlere Dicke der Intimahyperplasie auf Patchseite in Übersicht
- Abbildung 3.13 - Boxplot, Ordinate – Dicke der Intimahyperplasie auf der Patchseite in mm (Balken symbolisiert Mittelwert u. Standardabweichung); Abszisse – Prothesentypen
- Abbildung 3.14 - Boxplot, Ordinate – semiquantitativ bestimmter Ausprägungsgrad der Entzündungsreaktion
Abszisse – eingesetzte Prothesentypen. Balken symbolisiert Mittelwert und Standardabweichung

8. Literaturverzeichnis

1. Dohmen A, Eder S, Euringer W, Zeller T, Beyersdorf F. Chronic critical limb ischemia. *Deutsches Arzteblatt international* 2012;109:95-101.
2. Klinkert P, Schepers A, Burger DH, van Bockel JH, Breslau PJ. Vein versus polytetrafluoroethylene in above-knee femoropopliteal bypass grafting: five-year results of a randomized controlled trial. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2003;37:149-55.
3. Twine CP, McLain AD. Graft type for femoro-popliteal bypass surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2010:CD001487.
4. Gentile AT, Lee RW, Moneta GL, Taylor LM, Edwards JM, Porter JM. Results of bypass to the popliteal and tibial arteries with alternative sources of autogenous vein. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1996;23:272-9; discussion 9-80.
5. Aper T, Schmidt A, Duchrow M, Bruch HP. Autologous blood vessels engineered from peripheral blood sample. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2007;33:33-9.
6. Nemes A, Acsady G, Fraefel W, et al. Application of a vascular graft material (Solcograft-P) in experimental surgery. *Biomaterials* 1985;6:303-11.
7. Schroder A, Imig H, Peiper U, Neidel J, Petereit A. Results of a bovine collagen vascular graft (Solcograft-P) in infra-inguinal positions. *European journal of vascular surgery* 1988;2:315-21.
8. Yoshida H, Sasajima T, Goh K, Inaba M, Otani N, Kubo Y. Early results of a reinforced biosynthetic ovine collagen vascular prosthesis for small arterial reconstruction. *Surgery today* 1996;26:262-6.

9. Werkmeister JA, White JF, Edwards GA, Ramshaw JA. Early performance appraisal of the Omniflow II Vascular Prosthesis as an indicator of long-term function. *Journal of long-term effects of medical implants* 1995;5:1-10.
10. Raithel D, Schweiger H. The Dardik biograft in reconstructive arterial surgery: report on a five-year experience in 94 cases. *World journal of surgery* 1984;8:113-7.
11. Eickhoff JH, Broome A, Ericsson BF, et al. Four years' results of a prospective, randomized clinical trial comparing polytetrafluoroethylene and modified human umbilical vein for below-knee femoropopliteal bypass. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1987;6:506-11.
12. McCollum C, Kenchington G, Alexander C, Franks PJ, Greenhalgh RM. PTFE or HUV for femoro-popliteal bypass: a multi-centre trial. *European journal of vascular surgery* 1991;5:435-43.
13. Scharn DM, Oyen WJ, Klemm PL, Verhofstad AA, van der Vliet JA. Thrombogenicity and related biological properties of heparin bonded collagen coated polyester and human umbilical vein prosthetic vascular grafts. *The Journal of surgical research* 2006;134:182-9.
14. Sommeling CA, Buth J, Jakimowicz JJ. Long-term behaviour of modified human umbilical vein grafts; late aneurysmal degeneration established by colour-duplex scanning. *European journal of vascular surgery* 1990;4:89-94.
15. Strobel R, Boontje AH, Van Den Dungen JJ. Aneurysm formation in modified human umbilical vein grafts. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 1996;11:417-20.
16. Aalders GJ, van Vroonhoven TJ. Polytetrafluoroethylene versus human umbilical vein in above-knee femoropopliteal bypass: six-year results of a randomized clinical trial. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and]*

International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter 1992;16:816-23; discussion 23-4.

17. Neufang A, Espinola-Klein C, Dorweiler B, Messow CM, Schmiedt W, Vahl CF. Femoropopliteal prosthetic bypass with glutaraldehyde stabilized human umbilical vein (HUV). *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2007;46:280-8.

18. Sciacca V, Walter G, Becker HM. Biogenic grafts in arterial surgery--long-term results (I. The homologous vein--II. The modified heterologous bovine carotid artery--III. The human umbilical vein). *The Thoracic and cardiovascular surgeon* 1984;32:157-64.

19. Bisdas T, Bredt M, Pichlmaier M, et al. Eight-year experience with cryopreserved arterial homografts for the in situ reconstruction of abdominal aortic infections. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2010;52:323-30.

20. Bisdas T, Wilhelmi M, Haverich A, Teebken OE. Cryopreserved arterial homografts vs silver-coated Dacron grafts for abdominal aortic infections with intraoperative evidence of microorganisms. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2011;53:1274-81 e4.

21. Tillmanns H. *Lehrbuch der allgemeinen und speciellen Chirurgie, : einschliesslich der modernen Operations- und Verbandlehre*. 3. ver und verm. Aufl. ed. Leipzig: Veit; 1893.

22. Vesalius A. *De vivorum sectione nonnula. Caput XIX. In: De humani corporis fabrica liber VII. Erstauflage*, Basel; 1543.

23. Abbe R. *The surgery of the hand*. N Y Med J 1894;59:33ff.

24. Payr E. Beiträge zur Technik der Blutgefäß und Nervennaht nebst Mitteilung über die Verwendung eines resorbierbaren Metalles in der Chirurgie. Arch Klin Chir 1900;62:67ff.
25. Hufnagel CA. Permanent intubation of the aorta. Arch of Surg 1947;54:382f.
26. Donovan TJ. Use of plastic tubes in reparative surgery of battle injuries to arteries with and without intra-arterial heparin administration. Ann Surg 1949;130:1024ff.
27. Voorhees AB. How it all began. In: Sawyer PN, Kaplitt MJ, Hrsg. Vascular Grafts. Erstaufgabe, New York: Appleton-Century-Crofts; 1978.
28. Dörfler J. Über Arteriennaht. Beitr Klin Chir 1899;25:781ff.
29. Carrell A. Anastomosis of blood vessels by the patching method and transplantation of the kidney. JAMA : the journal of the American Medical Association 1906;47:1648ff.
30. Voorhees AB. The origin of the permeable arterial prosthesis: a personal reminiscence. Surg Rounds 1988;2:79ff.
31. Voorhees AB, Jr. The development of arterial prostheses - A personal view. ArchSurg 1985;120:289ff.
32. Levin SM. Reminiscences and ruminations: vascular surgery then and now. American journal of surgery 1987;154:158-62.
33. Voorhees AB. The use of tubes constructed from vinyon "N" cloth in bridging arterial defects - Experimental and clinical. Ann Surg 1954;140:324ff.
34. Walsh P. The yarn book - How to understand, design and use yarn. A&C Black, London; ,Erstaufgabe,2006.
35. Denninger F. Textil- und Modelexikon: Deutscher Fachverlag Frankfurt; 8. Auflage,2006.

36. Debus ES, Dietz UA, Franke S, Larena-Avellaneda A. Naht- und Anastomosentechniken in der Gefäßchirurgie. CD-ROM,. Springer-Verlag. Heidelberg; Berlin.; 2. Auflage, 2005.
37. Giessler RV. synthetischer Gefäßersatz, In: Heberer G, van Dongen RJAM (Hrsg.) Gefäßchirurgie. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York; ,Sonderausgabe 2004.
38. Müller-Wiefel H. Gefäßprothesen. Chirurg 1986;57:64ff.
39. How TV, Guidoin R, Young SK. Engineering design of vascular prostheses. Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers Part H, Journal of engineering in medicine 1992;206:61-71.
40. Yates SG, Barros D'Sa AA, Berger K, et al. The preclotting of porous arterial prostheses. Ann Surg 1978;188:611-22.
41. Guidoin R, Marceau D, Couture J, et al. Collagen coatings as biological sealants for textile arterial prostheses. Biomaterials 1989;10:156-65.
42. Humphries AW, Hawk WA, Cuthbertson AM. Arterial prosthesis of collagen-impregnated Dacron tulle. Surgery 1961;50:947-54.
43. Guidoin R, Snyder R, Martin L, et al. Albumin coating of a knitted polyester arterial prosthesis: an alternative to preclotting. The Annals of thoracic surgery 1984;37:457-65.
44. Ben Slimane S, Guidoin R, Mourad W, Hebert J, King MW, Sigot-Luizard MF. Polyester arterial grafts impregnated with cross-linked albumin: the rate of degradation of the coating in vivo. European surgical research Europäische chirurgische Forschung Recherches chirurgicales europeennes 1988;20:12-7.
45. Marois Y, Chakfe N, Guidoin R, et al. An albumin-coated polyester arterial graft: in vivo assessment of biocompatibility and healing characteristics. Biomaterials 1996;17:3-14.

46. Phaneuf MD, Dempsey DJ, Bide MJ, Quist WC, LoGerfo FW. Coating of Dacron vascular grafts with an ionic polyurethane: a novel sealant with protein binding properties. *Biomaterials* 2001;22:463-9.
47. Becquemin JP, Haiduc F, Cavillon A. Thrombogenicity of an elastomer-coated aortofemoral Dacron prosthetic graft in humans. *Annals of vascular surgery* 1994;8:443-51.
48. Riepe G, Meincke J, Nassut R, et al. Schädigung von Polyestergefäßprothesen durch Gefäßklemmen. *Zentralbl Chir* 2002;127:89ff.
49. Hanson SR, Kotze HF, Savage B, Harker LA. Platelet interactions with Dacron vascular grafts. A model of acute thrombosis in baboons. *Arteriosclerosis* 1985;5:595-603.
50. Goldman M, Norcott HC, Hawker RJ, Drolc Z, McCollum CN. Platelet accumulation on mature Dacron grafts in man. *The British journal of surgery* 1982;69 Suppl:S38-40.
51. Stratton JR, Thiele BL, Ritchie JL. Natural history of platelet deposition on Dacron aortic bifurcation grafts in the first year after implantation. *The American journal of cardiology* 1983;52:371-4.
52. Allen BT, Mathias CJ, Sicard GA, Welch MJ, Clark RE. Platelet deposition on vascular grafts. The accuracy of in vivo quantitation and the significance of in vivo platelet reactivity. *Ann Surg* 1986;203:318-28.
53. Mohamed MS, Mukherjee M, Kakkar VV. Thrombogenicity of heparin and non-heparin bound arterial prostheses: an in vitro evaluation. *Journal of the Royal College of Surgeons of Edinburgh* 1998;43:155-7.
54. Bearn PE, McCollum CN, Greenhalgh RM. The influence of collagen and albumen precoatants on knitted Dacron grafts. *European journal of vascular surgery* 1993;7:271-6.
55. Devine C, McCollum C. Heparin-bonded Dacron or polytetrafluorethylene for femoropopliteal bypass: five-year results of a prospective randomized multicenter clinical

trial. Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter 2004;40:924-31.

56. Daenens K, Schepers S, Fourneau I, Houthoofd S, Nevelsteen A. Heparin-bonded ePTFE grafts compared with vein grafts in femoropopliteal and femorocrural bypasses: 1- and 2-year results. Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter 2009;49:1210-6.

57. Hugl B, Nevelsteen A, Daenens K, et al. PEPE II--a multicenter study with an end-point heparin-bonded expanded polytetrafluoroethylene vascular graft for above and below knee bypass surgery: determinants of patency. The Journal of cardiovascular surgery 2009;50:195-203.

58. Babatasi G, Bara L, Massetti M, et al. [Value of carbon in the thrombogenicity of cardiovascular prostheses]. Annales de cardiologie et d'angiologie 1997;46:7-14.

59. Kapfer X, Meichelboeck W, Groegler FM. Comparison of carbon-impregnated and standard ePTFE prostheses in extra-anatomical anterior tibial artery bypass: a prospective randomized multicenter study. European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery 2006;32:155-68.

60. Brandyk DF. Infection in prosthetic vascular grafts. In: Rutherford RB, editor. Vascular surgery. Philadelphia: WB Saunders; ,5th edition,2000.

61. Piza F. Infektion in der Gefäßchirurgie. In: Heberer G, van Dongen RJAM (Hrsg.) Gefäßchirurgie. Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York; ,Sonderausgabe 2004.

62. Wilson SE. New alternatives in management of the infected vascular prosthesis. Surgical infections 2001;2:171-5; discussion 5-7.

63. Lorentzen JE, Nielsen OM, Arendrup H, et al. Vascular graft infection: an analysis of sixty-two graft infections in 2411 consecutively implanted synthetic vascular grafts. *Surgery* 1985;98:81-6.
64. Hennes N, Sandmann W, Torsello G, Kniemeyer HW, Grabitz K. Infection of a vascular prosthesis--a retrospective analysis of 99 cases; . *Chirurg* 1996;67:37ff.
65. Edwards WH, Jr., Martin RS, 3rd, Jenkins JM, Edwards WH, Sr., Mulherin JL, Jr. Primary graft infections. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1987;6:235-9.
66. Mertens RA, O'Hara PJ, Hertzner NR, Krajewski LP, Beven EG. Surgical management of infrainguinal arterial prosthetic graft infections: review of a thirty-five-year experience. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1995;21:782-90; discussion 90-1.
67. Kikta MJ, Goodson SF, Bishara RA, Meyer JP, Schuler JJ, Flanigan DP. Mortality and limb loss with infected infrainguinal bypass grafts. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1987;5:566-71.
68. Yeager RA, Moneta GL, Taylor LM, Jr., Harris EJ, Jr., McConnell DB, Porter JM. Improving survival and limb salvage in patients with aortic graft infection. *American journal of surgery* 1990;159:466-9.
69. Goeau-Brissonniere O, Mercier F, Nicolas MH, et al. Treatment of vascular graft infection by in situ replacement with a rifampin-bonded gelatin-sealed Dacron graft. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1994;19:739-41.

70. Calligaro KD, Veith FJ, Schwartz ML, Savarese RP, DeLaurentis DA. Are gram-negative bacteria a contraindication to selective preservation of infected prosthetic arterial grafts? *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1992;16:337-45; discussion 45-6.
71. Nasim A, Thompson MM, Naylor AR, Bell PR, London NJ. The impact of MRSA on vascular surgery. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2001;22:211-4.
72. Zetrenne E, McIntosh BC, McRae MH, Gusberg R, Evans GR, Narayan D. Prosthetic vascular graft infection: a multi-center review of surgical management. *The Yale journal of biology and medicine* 2007;80:113-21.
73. D'Addato M, Curti T, Freyrie A. Prophylaxis of graft infection with rifampicin-bonded Gelseal graft: 2-year follow-up of a prospective clinical trial. *Italian Investigators Group. Cardiovasc Surg* 1996;4:200-4.
74. Ueberreck T, Meyer L, Zippel R, Nestler G, Wahlers T, Gastinger I. Healing characteristics of a new silver-coated, gelatine impregnated vascular prosthesis in the porcine model. *Zentralbl Chir* 2005;130:71ff.
75. Hernandez-Richter T, Wittmann F, Mayr S, et al. Experimental examination concerning the efficacy of silver-coated Dacron prostheses in vascular graft infections following subcutaneous implantation in a standardized infection model. *Zentralbl Chir* 2003;128:244ff.
76. Schmach D, Armstrong P, Johnson B, et al. Graft infectivity of rifampin and silver-bonded polyester grafts to MRSA contamination. *Vascular and endovascular surgery* 2005;39:411-20.
77. Ricco JB, Assadian A, Schneider F, Assadian O. In vitro evaluation of the antimicrobial efficacy of a new silver-triclosan vs a silver collagen-coated polyester vascular graft against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Journal of vascular*

surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter 2012;55:823-9.

78. Kowalik Z, Kucharski A, Hobot J. Use of dacron vascular prosthesis impregnated with salts of silver, in treatment of extraanatomical axilla-femoral by-pass's infection.

Infections in vascular surgery. Polimery w medycynie 2002;32:80ff.

79. Guidoin R, Snyder R, Awad J, King M. Biostability of vascular prostheses. In: Hastings (ed): Cardiovascular Biomaterials. Springer, London, New York.; 1992.

80. Khaira HS, Vohra H. True aneurysm in a femoro-popliteal dacron graft -- a case report and literature review. Cardiovasc Surg 2002;10:644-6.

81. Shingu Y, Aoki H, Ebuoka N, Eya K, Takigami K, Oba J. Late rupture of knitted Dacron graft. Annals of thoracic and cardiovascular surgery : official journal of the Association of Thoracic and Cardiovascular Surgeons of Asia 2005;11:343-5.

82. Riepe G, Loos J, Imig H, et al. Long-term in vivo alterations of polyester vascular grafts in humans. European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery 1997;13:540-8.

83. Vinard E, Eloy R, Descotes J, et al. [The Dacron vascular prosthesis in men. Mechanical performance, lesions and molecular stability]. Presse Med 1990;19:709-14.

84. Vollmar J, Hrsg. Rekonstruktive Chirurgie der Arterien. Thieme Verlag, Stuttgart, New York; ,3.Auflage, 1982.

85. Balzer K. Grundlagen I: Historische Entwicklung und allgemeine Indikationsstellung. In: Luther B. Kompaktwissen Gefäßchirurgie : differenzierte Diagnostik und Therapie ; mit 370 Tabellen. Heidelberg: Springer; 2007.

86. Vlodayer Z, Edwards JE. Pathologic changes in aortic-coronary arterial saphenous vein grafts. Circulation 1971;44:719-28.

87. Iurukova T. [Reaction to injury and recovery in the arterial wall]. *Eksperimentalna meditsina i morfologija* 1975;14:75-83.
88. Fuchs JC, Mitchener JS, 3rd, Hagen PO. Postoperative changes in autologous vein grafts. *Ann Surg* 1978;188:1-15.
89. Wallitt EJ, Jevon M, Hornick PI. Therapeutics of vein graft intimal hyperplasia: 100 years on. *The Annals of thoracic surgery* 2007;84:317-23.
90. Abbott WC. Discussion of article by Bassiouny, HS, White S, Glagov S, Choi E, Giddens DP, Zarins CK. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1992;15:716f.
91. Schwartz RS, Holmes DR, Jr., Topol EJ. The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms. *Journal of the American College of Cardiology* 1992;20:1284-93.
92. Davies MG, Hagen PO. Pathobiology of intimal hyperplasia. *The British journal of surgery* 1994;81:1254-69.
93. Allaire E, Clowes AW. Endothelial cell injury in cardiovascular surgery: the intimal hyperplastic response. *The Annals of thoracic surgery* 1997;63:582-91.
94. Stanley JC, Burkel WE, Ford JW, et al. Enhanced patency of small-diameter, externally supported Dacron iliofemoral grafts seeded with endothelial cells. *Surgery* 1982;92:994-1005.
95. Chen C, Hughes JD, Mattar SG, Ku DN, Lumsden AB. Time-course study of intimal hyperplasia in the endarterectomized canine artery. *The Journal of surgical research* 1997;67:106-12.
96. Davies MG, Fulton GJ, Svendsen E, Hagen PO. Time course of the regression of intimal hyperplasia in experimental vein grafts. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 1999;8:161-8.

97. Parsons RE, Suggs WD, Veith FJ, et al. Polytetrafluoroethylene bypasses to infrapopliteal arteries without cuffs or patches: a better option than amputation in patients without autologous vein. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1996;23:347-54; discussion 55-6.
98. Rotmans JI, Velema E, Verhagen HJ, et al. Rapid, arteriovenous graft failure due to intimal hyperplasia: a porcine, bilateral, carotid arteriovenous graft model. *The Journal of surgical research* 2003;113:161-71.
99. Longest PW, Kleinstreuer C, Andreotti PJ. Computational analyses and design improvements of graft-to-vein anastomoses. *Critical reviews in biomedical engineering* 2000;28:141-7.
100. Keynton RS, Evancho MM, Sims RL, Rodway NV, Gobin A, Rittgers SE. Intimal hyperplasia and wall shear in arterial bypass graft distal anastomoses: an in vivo model study. *Journal of biomechanical engineering* 2001;123:464-73.
101. Heise M, Kruger U, Ruckert R, Pfitzner R, Neuhaus P, Settmacher U. Correlation of intimal hyperplasia development and shear stress distribution at the distal end-side-anastomosis, in vitro study using particle image velocimetry. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2003;26:357-66.
102. Oderich GS, Panneton JM, Yagubyan M, et al. Comparison of precuffed and vein-cuffed expanded polytetrafluoroethylene grafts for infragenicular arterial reconstructions: a case-matched study. *Annals of vascular surgery* 2005;19:49-55.
103. Frydrychowicz A, Weigang E, Langer M, Markl M. Flow-sensitive 3D magnetic resonance imaging reveals complex blood flow alterations in aortic Dacron graft repair. *Interactive cardiovascular and thoracic surgery* 2006;5:340-2.
104. Shaik E, Hoffmann KA, Dietiker JF. Numerical simulations of pulsatile flow in an end-to-side anastomosis model. *Molecular & cellular biomechanics : MCB* 2007;4:41-53.

105. Panneton JM, Hollier LH, Hofer JM. Multicenter randomized prospective trial comparing a pre-cuffed polytetrafluoroethylene graft to a vein cuffed polytetrafluoroethylene graft for infragenicular arterial bypass. *Annals of vascular surgery* 2004;18:199-206.
106. Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. *Journal of the American College of Cardiology* 1992;19:267-74.
107. Farb A, Weber DK, Kolodgie FD, Burke AP, Virmani R. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. *Circulation* 2002;105:2974-80.
108. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *Journal of the American College of Cardiology* 1998;31:224-30.
109. Waller JR, Brook NR, Bicknell GR, Nicholson ML. Differential effects of modern immunosuppressive agents on the development of intimal hyperplasia. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 2004;17:9-14.
110. Dibra A, Kastrati A, Alfonso F, et al. Effectiveness of drug-eluting stents in patients with bare-metal in-stent restenosis: meta-analysis of randomized trials. *Journal of the American College of Cardiology* 2007;49:616-23.
111. Bavry AA, Kumbhani DJ, Helton TJ, Borek PP, Mood GR, Bhatt DL. Late thrombosis of drug-eluting stents: a meta-analysis of randomized clinical trials. *The American journal of medicine* 2006;119:1056-61.
112. Lee CH, Lim J, Low A, et al. Sirolimus-eluting, bioabsorbable polymer-coated constant stent (Cura) in acute ST-elevation myocardial infarction: a clinical and angiographic study (CURAMI Registry). *The Journal of invasive cardiology* 2007;19:182-5.

113. Kastrati A, Mehilli J, Pache J, et al. Analysis of 14 trials comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *The New England journal of medicine* 2007;356:1030-9.
114. Kastrati A, Dibra A, Spaulding C, et al. Meta-analysis of randomized trials on drug-eluting stents vs. bare-metal stents in patients with acute myocardial infarction. *European heart journal* 2007;28:2706-13.
115. Wesolowski SA. The Healing of Vascular Prostheses. *Surgery* 1965;57:319-24.
116. Ahn SS, Williams DE, Thye DA, Cheng KQ, Lee DA. The isolation of a fibroblast growth inhibitor associated with perigraft seroma. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1994;20:202-8.
117. Imig H. Gefäßprothesen, wo geht es hin? . *Zentralbl Chir* 2000;125:298ff.
118. Larena-Avellaneda A, Dittmann G, Haacke C, et al. Silicone-based vascular prosthesis: assessment of the mechanical properties. *Annals of vascular surgery* 2008;22:106-14.
119. Larena-Avellaneda A, Debus ES, Siegel R, et al. Die Silikon-beschichtete Polyester-Prothese - Weiterführende Modifikationen und Vorstellung des „drug releasing graft“. *Gefässchirurgie* 2004;9:105ff.
120. Martin KA, Rzuclidlo EM, Merenick BL, et al. The mTOR/p70 S6K1 pathway regulates vascular smooth muscle cell differentiation. *American journal of physiology Cell physiology* 2004;286:C507-17.
121. Martin KA, Merenick BL, Ding M, et al. Rapamycin promotes vascular smooth muscle cell differentiation through insulin receptor substrate-1/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt2 feedback signaling. *The Journal of biological chemistry* 2007;282:36112-20.

122. Poon M, Marx SO, Gallo R, Badimon JJ, Taubman MB, Marks AR. Rapamycin inhibits vascular smooth muscle cell migration. *The Journal of clinical investigation* 1996;98:2277-83.
123. Debus ES, Larena-Avellaneda A, Dietz UA, Franke S, Thiede A. Die silikonbeschichtete Polyesterprothese - Ergebnisse nach subrenalen Aortenersatz im Hundemodell. *Gefässchirurgie* 2002;7:65ff.
124. McGee GS, Shuman TA, Atkinson JB, Weaver FA, Edwards WH. Long-term assessment of a damp-stored, albumin-coated, knitted vascular graft. *The American surgeon* 1989;55:174-6.
125. Kang SS, Petsikas D, Murchan P, et al. Effects of albumin coating of knitted Dacron grafts on transinterstitial blood loss and tissue ingrowth and incorporation. *Cardiovasc Surg* 1997;5:184-9.
126. Hofma SH, Whelan DM, van Beusekom HM, Verdouw PD, van der Giessen WJ. Increasing arterial wall injury after long-term implantation of two types of stent in a porcine coronary model. *European heart journal* 1998;19:601-9.
127. Ao PY, Hawthorne WJ, Vicaretti M, Fletcher JP. Development of intimal hyperplasia in six different vascular prostheses. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2000;20:241-9.
128. Terry CM, Blumenthal DK, Sikharam S, et al. Evaluation of histological techniques for quantifying haemodialysis arteriovenous (AV) graft hyperplasia. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2006;21:3172-9.
129. van Det RJ, Vriens BH, van der Palen J, Geelkerken RH. Dacron or ePTFE for femoro-popliteal above-knee bypass grafting: short- and long-term results of a multicentre randomised trial. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2009;37:457-63.

130. Rahlf G, Urban P, Bohle RM. Morphology of healing in vascular prostheses. *The Thoracic and cardiovascular surgeon* 1986;34:43-8.
131. Vroman L, Adams AL. Identification of rapid changes at plasma-solid interfaces. *Journal of biomedical materials research* 1969;3:43-67.
132. Wu MH, Kouchi Y, Onuki Y, et al. Effect of differential shear stress on platelet aggregation, surface thrombosis, and endothelialization of bilateral carotid-femoral grafts in the dog. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1995;22:382-90; discussion 90-2.
133. Stewart GJ, Essa N, Chang KH, Reichle FA. A scanning and transmission electron microscope study of the luminal coating on Dacron prostheses in the canine thoracic aorta. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1975;85:208-26.
134. Xue L, Greisler HP. Biomaterials in the development and future of vascular grafts. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2003;37:472-80.
135. Roll S, Muller-Nordhorn J, Keil T, et al. Dacron vs. PTFE as bypass materials in peripheral vascular surgery--systematic review and meta-analysis. *BMC surgery* 2008;8:22.
136. Simmons A, Hyvarinen J, Poole-Warren L. The effect of sterilisation on a poly(dimethylsiloxane)/poly(hexamethylene oxide) mixed macrodiol-based polyurethane elastomer. *Biomaterials* 2006;27:4484-97.
137. Bakker D, van Blitterswijk CA, Hesseling SC, Daems WT, Grote JJ. Tissue/biomaterial interface characteristics of four elastomers. A transmission electron microscopical study. *Journal of biomedical materials research* 1990;24:277-93.

138. Heden P, Bronz G, Elberg JJ, et al. Long-term safety and effectiveness of style 410 highly cohesive silicone breast implants. *Aesthetic plastic surgery* 2009;33:430-6; discussion 7-8.
139. Mellekjaer L, Kjoller K, Friis S, et al. Cancer occurrence after cosmetic breast implantation in Denmark. *International journal of cancer Journal international du cancer* 2000;88:301-6.
140. Brinton LA, Lubin JH, Burich MC, Colton T, Brown SL, Hoover RN. Breast cancer following augmentation mammoplasty (United States). *Cancer causes & control : CCC* 2000;11:819-27.
141. Bondurant S, Ernster V, Herdmann R, Hrsg. Safety of breast implants. In: press lomn, ed. Washington, D.C.; 1999.
142. Spiller D, Losi P, Briganti E, et al. PDMS content affects in vitro hemocompatibility of synthetic vascular grafts. *Journal of materials science Materials in medicine* 2007;18:1097-104.
143. Lumsden AB, Chen C, Coyle KA, et al. Nonporous silicone polymer coating of expanded polytetrafluoroethylene grafts reduces graft neointimal hyperplasia in dog and baboon models. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 1996;24:825-33.
144. Wang IW, Anderson JM, Jacobs MR, Marchant RE. Adhesion of *Staphylococcus epidermidis* to biomedical polymers: contributions of surface thermodynamics and hemodynamic shear conditions. *Journal of biomedical materials research* 1995;29:485-93.
145. Seare WJ, Jr., Pantalos GM, Burns GL, Burt WR, Olsen DB. Quantitative bacterial analysis of porous, fabric, and smooth non-blood contacting implant surfaces and their tissue interfaces in a 169 day pneumatic total artificial heart animal recipient. *ASAIO J* 1993;39:M668-74.

146. Izhar U, Schwalb H, Borman JB, et al. Novel synthetic selectively degradable vascular prostheses: a preliminary implantation study. *The Journal of surgical research* 2001;95:152-60.
147. Whalen RL, Cardona RR, Kantrowitz A. A new, all silicone rubber small vessel prosthesis. *ASAIO J* 1992;38:M207-12.
148. White RA, Klein SR, Shors EC. Preservation of compliance in a small diameter microporous, silicone rubber vascular prosthesis. *The Journal of cardiovascular surgery* 1987;28:485-90.
149. Conti JC, Strobe ER, Goldenberg LM, Price KS. The durability of silicone versus latex mock arteries. *Biomedical sciences instrumentation* 2001;37:305-12.
150. Stimpson C, White R, Klein S, Shors E. Patency and durability of small diameter silicone rubber vascular prostheses. *Biomaterials, artificial cells, and artificial organs* 1989;17:31-43.
151. Sank A, Chalabian-Baliozian J, Ertl D, Sherman R, Nimni M, Tuan TL. Cellular responses to silicone and polyurethane prosthetic surfaces. *The Journal of surgical research* 1993;54:12-20.
152. Schmidbauer M. Physikochemische und biologische Charakterisierung von texturiertem Silikon als Grundlage für die Entwicklung eines Retina-Patches. In.
153. Rosengren A, Wallman L, Danielsen N, Laurell T, Bjursten LM. Tissue reactions evoked by porous and plane surfaces made out of silicon and titanium. *IEEE transactions on bio-medical engineering* 2002;49:392-9.
154. Tang L, Eaton JW. Fibrin(ogen) mediates acute inflammatory responses to biomaterials. *The Journal of experimental medicine* 1993;178:2147-56.
155. Backovic A, Wolfram D, Del-Frari B, Piza H, Huber LA, Wick G. Simultaneous analysis of multiple serum proteins adhering to the surface of medical grade polydimethylsiloxane elastomers. *Journal of immunological methods* 2007;328:118-27.

156. Wu D, Zhao B, Dai Z, Qin J, Lin B. Grafting epoxy-modified hydrophilic polymers onto poly(dimethylsiloxane) microfluidic chip to resist nonspecific protein adsorption. *Lab on a chip* 2006;6:942-7.
157. Godo MN, Sefton MV. Characterization of transient platelet contacts on a polyvinyl alcohol hydrogel by video microscopy. *Biomaterials* 1999;20:1117-26.
158. Cholakis CH, Sefton MV. In vitro platelet interactions with a heparin-polyvinyl alcohol hydrogel. *Journal of biomedical materials research* 1989;23:399-415.
159. Sarembock IJ, Gertz SD, Gimple LW, Owen RM, Powers ER, Roberts WC. Effectiveness of recombinant desulphatothrombin in reducing restenosis after balloon angioplasty of atherosclerotic femoral arteries in rabbits. *Circulation* 1991;84:232-43.
160. Stone GW, Moses JW, Ellis SG, et al. Safety and efficacy of sirolimus- and paclitaxel-eluting coronary stents. *The New England journal of medicine* 2007;356:998-1008.
161. Mehilli J, Kastrati A, Wessely R, et al. Randomized trial of a nonpolymer-based rapamycin-eluting stent versus a polymer-based paclitaxel-eluting stent for the reduction of late lumen loss. *Circulation* 2006;113:273-9.
162. Duda SH, Bosiers M, Lammer J, et al. Drug-eluting and bare nitinol stents for the treatment of atherosclerotic lesions in the superficial femoral artery: long-term results from the SIROCCO trial. *Journal of endovascular therapy : an official journal of the International Society of Endovascular Specialists* 2006;13:701-10.
163. Duda SH, Pusich B, Richter G, et al. Sirolimus-eluting stents for the treatment of obstructive superficial femoral artery disease: six-month results. *Circulation* 2002;106:1505-9.
164. Bosiers M, Deloose K, Callaert J, Keirse K, Verbist J, Peeters P. Drug-eluting stents below the knee. *The Journal of cardiovascular surgery* 2011;52:231-4.

165. T. Z. The Yukon BTK study—final results of the randomized, double blind study of DES vs BMS.

. In. Presented at: LINC 2011 Annual Meeting. January 19, 2011. Leipzig, Germany.

<http://www.leipzig-interventional->

course.com//index.php?options=com_content&task=view&id=147&Itemid=248. Accessed

July 20, 2011.; 2011.

166. Two-Year ZILVER PTX Trial Results Show Drug-Coated Stents Keep Leg Arteries Open: Presented at ISET 2011. 2011. (Accessed at [www.ad-hoc-news.de/de/Wissenschaft-Technik/.](http://www.ad-hoc-news.de/de/Wissenschaft-Technik/))

167. Tepe G, Zeller T, Albrecht T, et al. Local delivery of paclitaxel to inhibit restenosis during angioplasty of the leg. *The New England journal of medicine* 2008;358:689-99.

168. Bosiers M, Scheinert D, Peeters P, et al. Randomized comparison of everolimus-eluting versus bare-metal stents in patients with critical limb ischemia and infrapopliteal arterial occlusive disease. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2012;55:390-8.

169. Werk M, Albrecht T, Meyer DR, et al. Paclitaxel-coated balloons reduce restenosis after femoro-popliteal angioplasty: evidence from the randomized PACIFIER trial. *Circulation Cardiovascular interventions* 2012;5:831-40.

170. Cagiannos C, Abul-Khoudoud OR, DeRijk W, et al. Rapamycin-coated expanded polytetrafluoroethylene bypass grafts exhibit decreased anastomotic neointimal hyperplasia in a porcine model. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2005;42:980-8.

171. Lee BH, Nam HY, Kwon T, et al. Paclitaxel-coated expanded polytetrafluoroethylene haemodialysis grafts inhibit neointimal hyperplasia in porcine

model of graft stenosis. *Nephrology, dialysis, transplantation* : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2006;21:2432-8.

172. Lee BH, Lee JE, Lee KW, et al. Coating with paclitaxel improves graft survival in a porcine model of haemodialysis graft stenosis. *Nephrology, dialysis, transplantation* : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2007;22:2800-4.

173. Haacke C. Die multifunktionelle Gefäßprothese- Weiterentwicklung und Optimierung. In: Universität Würzburg; 2009.

174. Farb A, Heller PF, Shroff S, et al. Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent. *Circulation* 2001;104:473-9.

175. Virmani R, Kolodgie FD, Farb A, Lafont A. Drug eluting stents: are human and animal studies comparable? *Heart* 2003;89:133-8.

176. Marx SO, Jayaraman T, Go LO, Marks AR. Rapamycin-FKBP inhibits cell cycle regulators of proliferation in vascular smooth muscle cells. *Circulation research* 1995;76:412-7.

177. Kawatsu S, Oda K, Saiki Y, Tabata Y, Tabayashi K. External application of rapamycin-eluting film at anastomotic sites inhibits neointimal hyperplasia in a canine model. *The Annals of thoracic surgery* 2007;84:560-7; discussion 7.

178. Sousa JE, Costa MA, Abizaid AC, et al. Sustained suppression of neointimal proliferation by sirolimus-eluting stents: one-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up. *Circulation* 2001;104:2007-11.

179. Walpoth BH, Pavlicek M, Celik B, et al. Prevention of neointimal proliferation by immunosuppression in synthetic vascular grafts. *European journal of cardio-thoracic surgery* : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery 2001;19:487-92.

180. Silber S. Paclitaxel-eluting stents: are they all equal? An analysis of six randomized controlled trials in de novo lesions of 3,319 patients. *Journal of interventional cardiology* 2003;16:485-90.
181. Waugh J, Wagstaff AJ. The paclitaxel (TAXUS)-eluting stent: a review of its use in the management of de novo coronary artery lesions. *American journal of cardiovascular drugs : drugs, devices, and other interventions* 2004;4:257-68.
182. van der Hoeven BL, Pires NM, Warda HM, et al. Drug-eluting stents: results, promises and problems. *International journal of cardiology* 2005;99:9-17.
183. Creel CJ, Lovich MA, Edelman ER. Arterial paclitaxel distribution and deposition. *Circulation research* 2000;86:879-84.
184. Levin AD, Vukmirovic N, Hwang CW, Edelman ER. Specific binding to intracellular proteins determines arterial transport properties for rapamycin and paclitaxel. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2004;101:9463-7.
185. Lovich MA, Creel C, Hong K, Hwang CW, Edelman ER. Carrier proteins determine local pharmacokinetics and arterial distribution of paclitaxel. *Journal of pharmaceutical sciences* 2001;90:1324-35.
186. Lau KK, Jones DP, Gaber O, Nezakatgoo N. Use of a "composite" vascular access graft in a young child on hemodialysis. *Hemodialysis international International Symposium on Home Hemodialysis* 2007;11:190-2.
187. Schanzer H, Martinelli G, Burrows L, Chiang K, Peirce EC, 2nd. Clinical trial of a self-sealing PTFE-silicone dialysis graft. *ASAIO transactions / American Society for Artificial Internal Organs* 1989;35:211-3.
188. Lemson MS, Tordoir JH, Daemen MJ, Kitslaar PJ. Intimal hyperplasia in vascular grafts. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2000;19:336-50.

189. Muto A, Fitzgerald TN, Pimiento JM, et al. Smooth muscle cell signal transduction: implications of vascular biology for vascular surgeons. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2007;45 Suppl A:A15-24.
190. Roy-Chaudhury P, Wang Y, Krishnamoorthy M, et al. Cellular phenotypes in human stenotic lesions from haemodialysis vascular access. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2009;24:2786-91.
191. Sata M, Saiura A, Kunisato A, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nature medicine* 2002;8:403-9.
192. Muto A, Model L, Ziegler K, Eghbalieh SD, Dardik A. Mechanisms of vein graft adaptation to the arterial circulation: insights into the neointimal algorithm and management strategies. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society* 2010;74:1501-12.
193. Mehta RI, Mukherjee AK, Patterson TD, Fishbein MC. Pathology of explanted polytetrafluoroethylene vascular grafts. *Cardiovascular pathology : the official journal of the Society for Cardiovascular Pathology* 2011;20:213-21.
194. McGeachie JK, Meagher S, Prendergast FJ. Vein-to-artery grafts: the long-term development of neo-intimal hyperplasia and its relationship to vasa vasorum and sympathetic innervation. *The Australian and New Zealand journal of surgery* 1989;59:59-65.
195. Roy-Chaudhury P, Sukhatme VP, Cheung AK. Hemodialysis vascular access dysfunction: a cellular and molecular viewpoint. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN* 2006;17:1112-27.

196. Cenni E, Verri E, Granchi D, et al. Influence of polyethylene terephthalate on the release of growth factors by human endothelial cells. *Journal of biomaterials science Polymer edition* 1999;10:891-900.
197. Myit S, Delafontaine P, Bochaton-Piallat ML, Giraud S, Gabbiani G, Brink M. Different growth properties of neointimal and medial smooth muscle cells in response to growth factors. *Journal of vascular research* 2003;40:97-104.
198. Losi P, Lombardi S, Briganti E, Soldani G. Luminal surface microgeometry affects platelet adhesion in small-diameter synthetic grafts. *Biomaterials* 2004;25:4447-55.
199. Loth F, Jones SA, Zarins CK, et al. Relative contribution of wall shear stress and injury in experimental intimal thickening at PTFE end-to-side arterial anastomoses. *Journal of biomechanical engineering* 2002;124:44-51.
200. Zhang BC, Zhou ZW, Li XK, Xu YW. PI-3K/AKT signal pathway modulates vascular smooth muscle cells migration under cyclic mechanical strain. *VASA Zeitschrift für Gefasskrankheiten Journal for vascular diseases* 2011;40:109-16.
201. Swedberg SH, Brown BG, Sigley R, Wight TN, Gordon D, Nicholls SC. Intimal fibromuscular hyperplasia at the venous anastomosis of PTFE grafts in hemodialysis patients. Clinical, immunocytochemical, light and electron microscopic assessment. *Circulation* 1989;80:1726-36.
202. Parsson H, Jundzill W, Johansson K, Jonung T, Norgren L. Healing characteristics of polymer-coated or collagen-treated Dacron grafts: an experimental porcine study. *Cardiovasc Surg* 1994;2:242-8.
203. Ducasse E, Cosset JM, Eschwege F, et al. [External ionizing radiation on the prosthesis-arterial anastomosis for the prevention of intimal hyperplasia and study of biomechanical resistance. Experiments and results]. *Annales de chirurgie* 2003;128:603-9.
204. Kissin M, Kansal N, Pappas PJ, DeFouw DO, Duran WN, Hobson RW, 2nd. Vein interposition cuffs decrease the intimal hyperplastic response of polytetrafluoroethylene

bypass grafts. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2000;31:69-83.

205. Sun LB, Utoh J, Moriyama S, Tagami H, Okamoto K, Kitamura N. Pretreatment of a Dacron graft with tissue factor pathway inhibitor decreases thrombogenicity and neointimal thickness: a preliminary animal study. *ASAIO J* 2001;47:325-8.

206. Heise M, Schmidmaier G, Husmann I, et al. PEG-hirudin/iloprost coating of small diameter ePTFE grafts effectively prevents pseudointima and intimal hyperplasia development. *European journal of vascular and endovascular surgery : the official journal of the European Society for Vascular Surgery* 2006;32:418-24.

207. Speck U, Scheller B, Abramjuk C, et al. Neointima inhibition: comparison of effectiveness of non-stent-based local drug delivery and a drug-eluting stent in porcine coronary arteries. *Radiology* 2006;240:411-8.

208. Tepe G, Muschick P, Laule M, et al. Prevention of carotid artery restenosis after sirolimus-coated stent implantation in pigs. *Stroke; a journal of cerebral circulation* 2006;37:492-4.

209. Rotmans JI, Pattynama PM, Verhagen HJ, et al. Sirolimus-eluting stents to abolish intimal hyperplasia and improve flow in porcine arteriovenous grafts: a 4-week follow-up study. *Circulation* 2005;111:1537-42.

210. Yu MY, Gao RL, Jiang J, et al. Pharmacokinetics of rapamycin-eluting stents in miniswine coronary model. *Chinese medical journal* 2004;117:1459-63.

211. Schuhlen H, Kastrati A, Dirschinger J, et al. Intracoronary stenting and risk for major adverse cardiac events during the first month. *Circulation* 1998;98:104-11.

212. Otsuka Y, Nakamura M, Yasuda S, et al. Comparison of pharmacokinetics of the sirolimus-eluting stent in Japanese patients with those in American patients. *Journal of cardiovascular pharmacology* 2005;46:468-73.

213. Sun J, Marx SO, Chen HJ, Poon M, Marks AR, Rabbani LE. Role for p27(Kip1) in Vascular Smooth Muscle Cell Migration. *Circulation* 2001;103:2967-72.
214. Braun-Dullaeus RC, Mann MJ, Seay U, et al. Cell cycle protein expression in vascular smooth muscle cells in vitro and in vivo is regulated through phosphatidylinositol 3-kinase and mammalian target of rapamycin. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2001;21:1152-8.
215. Carter AJ, Aggarwal M, Kopia GA, et al. Long-term effects of polymer-based, slow-release, sirolimus-eluting stents in a porcine coronary model. *Cardiovascular research* 2004;63:617-24.
216. Schwartz RS, Edelman ER, Carter A, et al. Preclinical evaluation of drug-eluting stents for peripheral applications: recommendations from an expert consensus group. *Circulation* 2004;110:2498-505.
217. Wilson GJ, Nakazawa G, Schwartz RS, et al. Comparison of inflammatory response after implantation of sirolimus- and paclitaxel-eluting stents in porcine coronary arteries. *Circulation* 2009;120:141-9, 1-2.
218. Finn AV, Nakazawa G, Joner M, et al. Vascular responses to drug eluting stents: importance of delayed healing. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2007;27:1500-10.
219. Luscher TF, Steffel J, Eberli FR, et al. Drug-eluting stent and coronary thrombosis: biological mechanisms and clinical implications. *Circulation* 2007;115:1051-8.
220. Steffel J, Latini RA, Akhmedov A, et al. Rapamycin, but not FK-506, increases endothelial tissue factor expression: implications for drug-eluting stent design. *Circulation* 2005;112:2002-11.
221. Lerouge S, Tabrizian M, Wertheimer MR, Marchand R, Yahia L. Safety of plasma-based sterilization: surface modifications of polymeric medical devices induced by Sterrad and Plazlyte processes. *Bio-medical materials and engineering* 2002;12:3-13.

222. Zhang YZ, Bjursten LM, Freij-Larsson C, Kober M, Wesslen B. Tissue response to commercial silicone and polyurethane elastomers after different sterilization procedures. *Biomaterials* 1996;17:2265-72.
223. Asahara T, Bauters C, Pastore C, et al. Local delivery of vascular endothelial growth factor accelerates reendothelialization and attenuates intimal hyperplasia in balloon-injured rat carotid artery. *Circulation* 1995;91:2793-801.
224. Yoon JH, Wu CJ, Homme J, et al. Local delivery of nitric oxide from an eluting stent to inhibit neointimal thickening in a porcine coronary injury model. *Yonsei medical journal* 2002;43:242-51.
225. Waller JR, Murphy GJ, Bicknell GR, Toomey D, Nicholson ML. Effects of the combination of rapamycin with tacrolimus or cyclosporin on experimental intimal hyperplasia. *The British journal of surgery* 2002;89:1390-5.
226. Kakisis JD, Liapis CD, Breuer C, Sumpio BE. Artificial blood vessel: the Holy Grail of peripheral vascular surgery. *Journal of vascular surgery : official publication, the Society for Vascular Surgery [and] International Society for Cardiovascular Surgery, North American Chapter* 2005;41:349-54.

9. Anhang

Rohdaten der computergestützten Auswertung

Tier L/R	Typ	IHPATCH1	IHPATCH2	IHPATCH3	GES1	GES2	GES3
7L	Kollagen	0,50557	0,54423	0,4608	0,06214	0,05413	0,04837
7L	Kollagen	0,28673	0,29209	0,29442	0,04024	0,03828	0,03077
7L	Kollagen	0,69236	0,72256	0,75123	0,05034	0,03077	0,02816
7L	Kollagen	0,51283	0,47341	0,4326	0,05524	0,04632	0,05866
48L	Kollagen	0,6574235	0,8274633	0,6568691	0,0512976	0,0624711	0,0314293
48L	Kollagen	0,4277793	0,610089	0,6885187	0,020519	0,0201206	0,0222239
378L	Kollagen	0,7546701	0,7608249	0,7187084	0,0359928	0,0346167	0,0364399
378L	Kollagen	0,6750754	0,7046808	0,7271587	0,0280247	0,0284548	0,0170729
378L	Kollagen	1,000397	1,05112	1,058091	0,0222239	0,0145091	0,0113819
378L	Kollagen	0,7509757	0,8277617	0,6970446	0,0207154	0,0234644	0,0173084
7R	Kollagen	1,1109	0,93825	0,86436	0,06882	0,04895	0,05761
7R	Kollagen	0,34673	0,31821	0,32843	0,03644	0,03219	0,0333
7R	Kollagen	1,5943	1,3915	1,4534	0,04552	0,07987	0,01707
48R	Kollagen	0,7822594	0,6935335	0,7482538	0,029296	0,0153233	0,0117322
48R	Kollagen	0,3943227	0,3889266	0,246902	0,0207154	0,0207154	0,0216705
48R	Kollagen	0,5163591	0,4342789	0,4049193	0,0160964	0,0160964	0,0201206
378R	Kollagen	0,7739713	0,8401454	0,8674943	0,0234644	0,020519	0,0254507
378R	Kollagen	1,352488	1,281731	1,245386	0,0160964	0,0127253	0,0127253
378R	Kollagen	1,782281	1,916808	2,027214	0,0290183	0,020519	0,0179964
22L	SRL	0,7406131	0,8077263	0,7925781	0,0387027	0,029296	0,0324435
22L	SRL	1,096899	1,078239	1,049216	0,0306467	0,0269946	0,0254507
22L	SRL	0,8031523	0,8166536	0,8379693	0,0257669	0,0201206	0,026234
42L	SRL	2,078909	2,092488	2,096602	0,0539892	0,0359928	0,0427769
42L	SRL	2,075643	2,024848	2,17698	0,0387027	0,0173084	0,0234644
42L	SRL	1,938148	2,185546	2,094059	0,0227638	0,0290183	0,020519
34L	SRL	1,513337	1,372246	1,391979	0,0268442	0,0145091	0,0297077
34L	SRL	1,014118	1,164029	1,261833	0,0222239	0,0324435	0,0324435
42R	SRL	1,989235	1,999603	1,912198	0,0170729	0,0170729	0,0227638
34R	SRL	1,458048	1,672556	1,611079	0,0284548	0,0173084	0,0222239
34R	SRL	2,243093	2,147395	2,160784	0,0227638	0,0227638	0,0207154
71L	SRL+PVA	1,630837	1,615152	1,697406	0,0227638	0,0179964	0,0254507
71L	SRL+PVA	1,879958	1,91685	1,818128	0,0402412	0,0306467	0,0290183
71L	SRL+PVA	0,9788626	1,046271	1,047416	0,0127253	0,0280247	0,0284548
77L	SRL+PVA	1,798926	1,722328	1,65064	0,0314293	0,0342641	0,0234644
77L	SRL+PVA	1,587081	1,687393	1,858403	0,0234644	0,0285967	0,0318134

77L	SRL+PVA	1,328795	1,320316	1,299049	0,0201206	0,0257669	0,0290183
422L	SRL+PVA	1,666996	1,584277	1,433005	0,0254507	0,0359928	0,0179964
422L	SRL+PVA	1,041385	1,095034	0,953725	0,0201206	0,0302479	0,0280247
71R	SRL+PVA	1,310313	1,139476	1,097936	0,0290183	0,026234	0,0227638
71R	SRL+PVA	1,980914	2,005258	1,95041	0,0269946	0,0254507	0,022941
71R	SRL+PVA	1,478304	1,671682	1,698389	0,0179964	0,0414308	0,0306467
77R	SRL+PVA	2,436032	2,363087	2,456032	0,0489555	0,0486236	0,0290183
422R	SRL+PVA	2,122692	2,227379	2,017437	0,0256093	0,0201206	0,0201206
422R	SRL+PVA	1,276604	1,25011	1,328484	0,0284548	0,0444478	0,0254507
422R	SRL+PVA	0,8686882	0,9964432	1,028401	0,0244777	0,0268442	0,0244777
196L	PVA	1,791507	1,977256	1,732467	0,0306467	0,0241447	0,0160964
196L	PVA	1,830236	2,155637	2,031428	0,0398367	0,0381761	0,0331837
399L	PVA	0,9741364	1,089118	1,255229	0,0113819	0,0290183	0,0341457
399L	PVA	1,327069	1,284003	1,158639	0,0234644	0,0254507	0,0254507
196R	PVA	0,8697362	0,7738458	0,6929204	0,042013	0,0407411	0,0318134
196R	PVA	1,182078	1,155939	1,033753	0,0234644	0,0234644	0,0306467
399R	PVA	1,833392	1,744121	1,849984	0,0160964	0,0234644	0,0364399
399R	PVA	0,9759633	0,8881554	1,086855	0,020519	0,0331837	0,0160964
399R	PVA	0,6820854	0,9680164	0,9606276	0,0612935	0,0364399	0,020519
82R	PAX	0,231725	0,30379	0,134689	0,0234566	0,0234557	0,025663
82R	PAX	0,342913	0,196317	0,245730	0,03423	0,031245	0,0332614
82R	PAX	0,360616	0,303448	0,498688	0,038555	0,029345	0,0375643
111R	PAX	0,447703	0,441146	0,389428	0,033156	0,02635	0,0231946
111R	PAX	0,627275	0,668578	0,463709	0,01937	0,04283	0,0283534
111R	PAX	0,628450	0,657539	0,634169	0,02636	0,029475	0,0319495

Tabelle 9.1:

Messergebnisse der Intimadicke für Patchseite und normale Gefäßwand in mm:

IHPATCH 1-3= Messwerte der Dicke der Intimahyperplasie auf Patchseite

GES 1-3= Messwerte der Dicke gesunder Intima

10. Danksagungen

Zunächst gilt mein aller herzlichster Dank meinem Doktorvater Herrn PD Dr. A. Larena-Avellaneda für die Überlassung des Themas und die tatkräftige Unterstützung sowie die unermüdliche Geduld und freundliche Hilfestellung bei der Bearbeitung dessen.

Besonderer Dank gilt:

Herrn Prof. Dr. U. Schumacher für die freundliche und komplikationslose Unterstützung bei der histologischen Auswertung.

Frau Susanne Feldhaus, die bei der Digitalisierung der Schnittpräparate äußerst hilfreich zur Seite stand.

Ein Dankeschön geht auch an:

Frau Astrid Becker die fachliche Beratung und Hilfestellung bei der Färbung der Schnittpräparate.

11. Lebenslauf

entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

entfällt aus datenschutzrechtlichen Gründen

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: