

Aus der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie  
der Medizinischen Fakultät Charité - Universitätsmedizin Berlin

**DISSERTATION**

**2D-Korrelation von lokaler Hämodynamik im  
Modell und Histologie der Pseudointima der  
femorokruralen ePTFE-Bypassanastomose unter  
Verwendung der Particle Image Velocimetry**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité - Universitätsmedizin Berlin

von

Antonius R. Rabsch  
aus Berlin

Gutachter/in:

1. Priv.-Doz. Dr. med. M. Heise
2. Priv.-Doz. Dr. med. R. Pfitzmann
3. Prof. Dr. med. G. Schmidmaier

Datum der Promotion: 29.01.2010

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
1.1 Klinische Problematik und Stand der aktuellen Forschung	5
1.2 Fragestellung	10
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>12</b>
2.1 Tiermodell und -versuch	12
2.2 Histologische Aufarbeitung und Auswertung	12
2.3 Silikongefäßmodell	13
2.4 Particle Image Velocimetry	14
2.5 Modellkreislauf	15
2.6 Methodik der statistischen Auswertung	16
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>17</b>
3.1 Ergebnisse der in situ-Flussraten und der Pseudointimaausbildung	17
3.2 Ergebnisse der Particle Image Velocimetry und räumliche Korrelation mit der Pseudointimaausbreitung	18
3.2.1 Strömungsgeschwindigkeit	18
3.2.2 Vorticity	19
3.2.3 Scherstress	19
<b>4. Diskussion</b>	<b>21</b>
4.1 Tiermodell	21
4.2 Particle Image Velocimetry und Modellkreislauf	22
4.3 Messergebnisse und Pathophysiologie von Intimahyperplasie versus Pseudointima	23
4.4 Anwendungsmöglichkeiten für die klinische Praxis	27
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>29</b>

<b>6.</b>	<b>Anhang</b>	<b>31</b>
6.1	Tabellen- und Bildanhang	31
6.2	Formeln	66
6.3	Abkürzungen	67
6.4	Erklärung und Danksagung	68
6.5	Literaturverzeichnis	69

## 1. Einleitung

### 1.1 Klinische Problematik und Stand der aktuellen Forschung

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) ist eine in 95% der Fälle arteriosklerotisch bedingte Extremitätenerkrankung, die bei 1% aller über 40-Jährigen und bei mindestens 5% aller über 65-Jährigen vorliegt. Insgesamt sind dies über 3 Millionen Patienten in Deutschland. Die Therapiekosten liegen bei 2 Milliarden Euro jährlich <sup>1</sup>. Bei über 90% ist die untere Extremität betroffen. Die bei irreversiblen Gewebeuntergang oder unzureichender Wiederherstellung der Strombahn erforderlich werdende Amputation der unteren Extremität führt jährlich zu über 20.000 Eingriffen, bei denen in 90% eine pAVK ursächlich ist <sup>2</sup>. Bei über 30% der pAVK-Patienten findet sich eine koronare Herzerkrankung (KHK). Bei jedem vierten Patienten mit einer KHK besteht eine pAVK <sup>3</sup>. Die Inzidenz der KHK beträgt etwa 0,6% über alle Altersklassen hinweg mit Zunahme in den höheren Altersklassen <sup>4,5</sup>.

Die kompensierte Extremitätenischämie steht am Anfang des Erkrankungsbildes und präsentiert sich mit dem Leitsymptom der Claudicatio intermittens (CI). 30% der Patienten mit einer CI sind nach 5 Jahren verstorben <sup>6</sup>. Bei 40.000–80.000 Patienten tritt jährlich eine kritische Extremitätenischämie auf. Die Prognose für diese ist mit einer Mortalitätsrate von 25%, 45% und 55% nach 1, 3 und 5 Jahren behaftet. Nach einer Majoramputation verschlechtert sich diese Prognose mit einer Mortalitätsrate von 25–50% nach 2 Jahren. Die CI ist das häufigste Symptom der pAVK und entspricht dem Stadium II in der Einteilung nach Fontaine-Ratschow sowie den Stadien 1 bis 3 gemäss den Rutherford-Kategorien; die kritische Extremitätenischämie entspricht den Stadien III und IV, entsprechend Stadium 4-6 nach Rutherford <sup>7</sup>.

Ist eine invasive Therapie indiziert, erfolgt die bildgebende apparative Diagnostik <sup>8</sup>. Der Goldstandard ist die intraarterielle Katheterangiographie. Über die Durchblutungssituation gibt der Perfusionsverschlussdruckindex oder ankle-brachial-index (ABI) Auskunft, sofern keine Wandverkalkung vorliegt <sup>9,10</sup>. Ein ABI zwischen 0,5 und 0,8 entspricht einer CI und ein ABI kleiner 0,5 einer kritischen Extremitätenischämie <sup>11</sup>. Die Behandlungsindikation ist bei einer subjektiven und

objektiven Gehstreckenbehinderung gegeben sowie durch die Lokalisation des Verschlussprozesses bestimmt <sup>12</sup>. Seit dem Jahr 2000 liegen internationale Klassifikationen und Behandlungsempfehlungen zur pAVK vor, denen der TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) zugrundeliegt <sup>13,14</sup>. Die kritische Extremitätenischämie stellt eine absolute Indikation zur Behandlung dar: Operative (Thrombendarteriektomie [TEA], Bypass) und interventionelle (perkutane transluminale Angioplastie [PTA]) Behandlungsansätze ergänzen sich in Abhängigkeit von der jeweiligen Behandlungsempfehlung.

Die Arteria femoralis superficialis (AFS) ist das am häufigsten arteriosklerotisch erkrankte Gefäß. Singuläre Stenosen in der AFS und der Arteria poplitea mit einer Länge unter 3 cm können dilatiert werden. Allerdings beträgt die 5-Jahres-Offenheitsrate nur 40–60%. Langstreckige Verschlüsse der AFS sind eine Indikation für die Anlage eines femoropoplitealen Bypass. Bei Verwendung einer körpereigenen Vene beträgt die 5-Jahres-Offenheitsrate 60-80%, bei alloplastischem Material hingegen nur noch 40-60% <sup>21,15</sup>. Bei der kritischen Extremitätenischämie liegen sehr häufig langstreckige Stenosen zwischen der Leistenregion und dem Unterschenkel vor; man spricht dann von einer Mehretagen-pAVK. Hieraus ergibt sich die vorrangige Stellung der Bypasschirurgie als Behandlungsstrategie der kritischen Extremitätenischämie <sup>8</sup>. Die Ergebnisse der Bypasschirurgie am Unterschenkel sind ungünstiger als am Oberschenkel und liegen bei einer maximalen 3-bis-5-Jahres-Offenheitsrate von 50%. Bei der Mehretagen-pAVK von AFS, Arteria poplitea und den proximalen Unterschenkelarterien kommt der femorokrurale Bypass zum Einsatz <sup>15</sup>. Infolge der genannten Komorbidität einer KHK resultiert ein Mangel an autologem Material: Die Vena saphena magna (VSM) ist entweder für kardiale Revaskularisationen bereits entnommen oder aufgrund multipler Verzweigungen sowie variköser Veränderungen unbrauchbar <sup>16</sup>. Für den Extremitätenerhalt bleibt daher oft die Verwendung eines ePTFE-Grafts (expandiertes Polytetrafluorethylen) mit den damit verbundenen schlechten Offenheitsraten.

Das anatomisch-morphologische Substrat der pAVK ist die Stenose beziehungsweise die Obliteration des Arterienlumens. ePTFE-Grafts weisen eine hohe Thrombogenität auf: Nach Implantation kommt es zur Ausbildung einer Fibrinschicht; des Weiteren lagern sich Thrombozyten, Blutzellen und Zellfragmente

an <sup>17,18</sup>. Tierversuche zeigten die Migration mesenchymaler Zellen von extraluminal, die zur Ausbildung einer bindegewebigen Neointima führten <sup>74</sup>. Dies konnte jedoch in implantierten ePTFE-Prothesen beim Menschen nicht beobachtet werden. Hier fehlte eine intakte endotheliale Schicht <sup>19</sup>.

Die Endothelauskleidung synthetischer Grafts ist auf einige Zentimeter begrenzt: Im Bereich der distalen Bypassanastomose entsteht eine neointimale Verdickung, die aus Endothel, VSMCs und Zellmatrix besteht <sup>20</sup>. Man spricht von einer anastomotischen Pseudointima (PI), die schliesslich zum Verschluss des Bypass führt. In einer prospektiven, randomisierten Studie von Veith et al. wurden ePTFE- und venöse Grafts (VSM) bei gleicher klinischer Indikation als femoropopliteale Bypässe verwendet; in beiden Gruppen war die Offenheitsrate nach zwei Jahren annähernd gleich. Nach diesem Zeitraum nahm die Offenheitsrate in der PTFE-Gruppe ab <sup>21</sup>. Die Arbeitsgruppe um Veith war eine der ersten, die 1978 über klinische Ergebnisse mit ePTFE-Prothesen publizierte <sup>22</sup>.

Bereits zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurden durch Jeger und Carrel experimentelle und klinische Vorarbeiten auf dem Gebiet der Anastomosentechnik und des Gefässersatzes geleistet <sup>23</sup>. Carrel erhielt 1912 für seine Grundlagenforschung den Nobelpreis für Medizin <sup>24</sup>. Jeger publizierte 1913 sein Werk „Die Chirurgie der Blutgefässe und des Herzens“ <sup>25,26</sup>. Allerdings wurde erst 1946 die erste TEA durch Santos und 1948 der erste femoropopliteale Venenbypass durch Kunlin durchgeführt <sup>27</sup>. Die Etablierung der rekonstruktiven Gefässchirurgie wurde jedoch erst durch die angiographische Darstellung erkrankter Gefässe und die klinische Anwendung des Heparins ermöglicht. Die Entwicklung der Angiographie erfolgte zwischen 1927 und 1929 durch Moniz und Santos, die Entdeckung und klinische Anwendung des Heparins zwischen 1913 und 1935. Erst seit etwa 1960 wurden jedoch prothetische Gefässmaterialien (Dacron, ePTFE) entwickelt. Die moderne rekonstruktive Gefässchirurgie ist demnach kaum älter als ein halbes Jahrhundert.

Parallel hierzu fand eine umfangreiche physikalische und physiologische Grundlagenforschung in der Entwicklung synthetischer Bypässe statt. Dabei kristallisierte sich der Wandscherstress (WSS) – auch Schubspannung genannt – als diejenige physikalische Grösse heraus, mit der sich experimentelle und klinische

Messungen am besten vergleichen lassen <sup>28,29</sup>: Der Blutfluss verursacht einen Scherstress an der Grenzschicht zwischen Blut und Gefäßwand, wobei der Scherstress direkt proportional zum Blutfluss sowie zur Viskosität und umgekehrt proportional zur 3. Potenz des Gefäßradius ist (Gleichung 5) <sup>75</sup>.

Für das in dieser Arbeit durchgeführte Laborexperiment sind darüber hinaus folgende Zusammenhänge wichtig: Die Schergeschwindigkeit oder auch Scherrate wird aus dem Verhältnis zwischen dem Geschwindigkeitsunterschied zweier benachbarter Flüssigkeitsschichten und deren Abstand berechnet. Mathematisch ausgedrückt ist die Scherrate der Gradient (Gleichung 3) des Geschwindigkeitsvektorfeldes (Abbildung 11). Die Scherrate ergibt im Skalarprodukt mit der Viskosität den Scherstress. Für die x,y-Ebene berechnet sich der in Gleichung 4 angegebene mathematische Ausdruck als Absolutbetrag des Scherstress. Die sogenannte Vorticity wird als Rotationsvektoroperator aus dem 2-dimensionalen Geschwindigkeitsvektorfeld  $v(x,y)$  berechnet (Gleichung 2). Sie bezeichnet die Rotation eines Fluidvolumenlementes an der Stelle  $(x,y)$  in der x,y-Ebene. Sie wird hier als Betrag  $\omega_z$  angegeben und soll als Mass für lokale Turbulenzen in z-Richtung dienen.

Die erläuterten physikalischen Grössen sind von überragender Bedeutung in der Charakterisierung transienter, das bedeutet sich mit der Zeit verändernde, Strömungen. Sie wurden in der vorliegenden Arbeit aus laborexperimentell erfassten Geschwindigkeitsverteilungen abgeleitet, welche sich aus spezifischen Anfangsbedingungen ergaben.

Die Brücke zwischen Physik und Physiologie ist in der Erforschung neointimaler Formationen längst geschlagen: Arterien reagieren solange auf eine dauerhafte Erhöhung des Flusses und damit des Scherstress mit einer Lumenerweiterung, bis der WSS auf ein physiologisches Niveau von rund  $15 \text{ dynes/cm}^2$  zurückkehrt. Umgekehrt resultiert eine Reduktion des WSS und des Blutflusses in einer Lumenreduktion mit konsekutiver Normalisierung des WSS. Es bestehen Indizien dafür, dass die Lumenreduktion als Antwort auf Veränderungen des Blutflusses über einen längeren Zeitraum zumindest teilweise über die Ausbildung einer Intimahyperplasie (IH) erfolgt <sup>30</sup>. Die IH wird besonders distal von flusslimitierenden Stenosen gesehen <sup>31</sup>. Experimentelle Beobachtungen legen einen direkten

Zusammenhang zwischen der Dicke der IH und dem Absolutwert des WSS nahe. Es wird vermutet, dass ein niedrigerer (als physiologisch) WSS die IH initiiert <sup>32</sup>. Bestimmte Regionen im arteriellen Gefässbaum wie Bifurkationen, Biegungen und Anastomosen können Areale mit lokal erniedrigtem WSS erzeugen und damit die Ausbildung der IH anregen. Zu diesen Arealen zählen Flusseparationen wie Wirbel- und Totwasserzonen sowie Areale mit sekundärem Fluss wie Flussszillation und Strömungsumkehr <sup>33</sup>.

Die Langlebigkeit von kruralen ePTFE-Grafts mit einem Durchmesser kleiner als 6 mm und kleinen Flussraten ist durch die beschriebene anastomotische PI begrenzt <sup>34-35,36</sup>. Gemäss Gleichung 5 hat ein kleiner Gefässdurchmesser einen hohen lokalen Scherstress zur Folge. Heise verglich die Offenheitsraten von antithrombotisch beschichteten und unbeschichteten ePTFE-Grafts (als femoro-femorale Bypass) im Tiermodell <sup>37</sup>. Der Einsatz von Polylaktid-Säure (PLA) sowie PLA in Kombination mit inkorporiertem Hirudin und Iloprost zeigte dabei nach einem Untersuchungszeitraum von 6 Wochen die signifikante Erhöhung der Offenheitsrate von 67% beim unbeschichteten ePTFE-Graft auf 100%. Jedoch existieren bis heute kaum Daten darüber, wie und ob die räumliche Scherstressverteilung mit der Ausbreitung der anastomotischen PI korreliert und ob die für die IH bestehenden Erkenntnisse zur Lumenregulation gewissermassen auch auf synthetische Grafts übertragbar sind.

## 1.2 Fragestellung

In der vorliegenden Studie wurde die in dem durch Heise et al. verwendeten Tiermodell<sup>37</sup> histologisch untersuchte proximale und distale Bypassanastomose ohne Beschichtung im Silikonmodell unter Berücksichtigung der lokalen Hämodynamik ausgewertet: Ein Modellbypassdesign wurde hierfür auf die Geometrie der implantierten Bypässe abgestimmt. Zur optimalen Überlappung der Histologie aus den explantierten ePTFE-Grafts mit der Hämodynamik aus dem laborexperimentellen Modellversuch wurden 3 Silikonmodelle (Elastosilmodell A, B, C mit je proximaler und distaler Anastomose) erstellt, die sich lediglich in ihrem Abgangswinkel der distalen End-zu-Seit-Anastomose unterschieden (Abbildung 1). Die proximale Anastomose war für die 3 Silikonmodelle jeweils gleich. Des Weiteren sollte durch Vergleich der 3 Silikonmodelle die Invarianz der Messung gezeigt werden. Da der Scherstress von der Flussrate abhängt, wurde letztere als physikalische Anfangsbedingung festgelegt und von der tierexperimentellen Messung auf das Modellexperiment übertragen.

Der Tierversuch erfolgte primär zum Vergleich der Offenheitsraten zwischen 3 Gruppen: Zur Gruppe I zählten unbeschichtete ePTFE-Grafts, in Gruppe II und III solche mit PLA-Beschichtung beziehungsweise kombinierter PLA-Hirudin/Iloprost-Beschichtung.

Die in der Gruppe I entstandene PI wurde histologisch ausgewertet und in der vorliegenden Arbeit mit der entsprechenden, laborexperimentell erfassten Hämodynamik räumlich korreliert. Abschliessend erfolgte die statistische Auswertung der im Laborexperiment erfassten Messwerte.

- (1) Existiert eine räumliche Korrelation zwischen der maximalen PI-Ausbreitung und der lokalen Fluidynamik von kruralen Bypassanastomosen? Welche Rolle spielen dabei Scherstress-Gradienten auf die Limitierung der PI?
- (2) Lassen sich die Ergebnisse und Erkenntnisse in vorhandene Literaturdaten integrieren? Sind die gemachten Beobachtungen mit denen der IH

in Einklang zu bringen?

- (3) Verhindert umgekehrt die Unterdrückung der Flusseparationen die Ausbildung der PI?
- (4) Welche Konsequenzen ergeben sich daraus für das Design von synthetischen Gefäßprothesen und Anastomosen?

## **2. Material und Methoden**

### **2.1 Tiermodell und -versuch**

Die Tierversuche waren nach §8 des Tierschutzgesetzes (BG1.I) genehmigt. 9 femoro-popliteale native ePTFE-Grafts (mikroporöse Advanta®-Gefäßprothesen, Fa. Atrium, Hudson, NH, USA) mit einem Durchmesser von 4 mm wurden in 7 Hausschweinen (deutsche Landrasse, weiblich, Gewicht 25-30 kg, Alter 10-16 Wochen) implantiert (Abbildung 2). Die proximale Anastomose wurde als End-zu-End-Anastomose (Abbildung 4), die distale Bypassanastomose als gerade End-zu-Seit-Anastomose angelegt. Den Tieren wurde postoperativ täglich 100 mg Acetylsalicylsäure (Aspirin®, ratiopharm, Deutschland) appliziert. Die Offenheit der Bypässe wurde 6 Wochen postoperativ wöchentlich kontrolliert. Nach dieser Periode erfolgte die Bypassentnahme. Hierbei wurde zuvor über die distal geklemmte Aorta 4%-iges Formalin als Perfusionsfixierung der A. femoralis und des sich anschliessenden Bypass infundiert. Dann erfolgte die Entnahme der Bypässe mit der proximalen und distalen Anastomose.

### **2.2 Histologische Aufarbeitung und Auswertung**

Die Anastomosen wurden nach Entwässerung in Paraffin gelagert und dann geschnitten: Aus dem Paraffinblock wurden 5 µm dicke Schnitte mit einem Mikrotom (Leica® Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) gewonnen. Für die Auswertung in der vorliegenden Arbeit wurden Längsschnitte verwendet, da sie der Strömungsrichtung und der zu untersuchenden Hämodynamik in ihrer Orientierung entsprachen. Die Schnitte wurden auf warmem Wasser (47°C) geglättet und auf einem Objektträger fixiert, entparaffinisiert und dann HE-gefärbt (Hämatoxylin- und Eosin-Färbung) sowie anschliessend mit einem Deckglas versiegelt (Viro-Clud®). Die Digitalisierung erfolgte im Weiteren mit einem Scanner (Canon®, CanoScan 8000F).

### 2.3 Silikongefässmodell

Das Gefässmodell (Abbildung 1) als Nachbildung der oben genannten Bypassanastomose (Abbildung 2 und 4) befand sich als Negativ in einem transparenten Silikonquader aus Elastosil (Elastosil RT601, Fa. Wacker-Chemie GmbH, München). Zwecks Reproduzierbarkeit und geometrischer Präzision wurde zur Herstellung ein maschinengesteuertes Verfahren eingesetzt. Die zugrundeliegende Bypassanastomose wurde zunächst rechnergestützt (Abbildung 3) dem Vorbild nachempfunden (Software 3D Studio MAX®, Fa. Autodesk, USA). Das generierte, maschinenlesbare Format wurde durch eine CNC-Fräse (AutoGrav III®, Fa. Fischbach, Wesseling) real als Negativ zu je 2 kongruenten Hälften als Gusschalen (Abbildung 5) aus einem Kunststoffblock (Grünberg Kunststoffe GmbH, Berlin) gefräst. Die Nachbearbeitung bestand in der Gratentfernung, dem Einsetzen der Führungsringe und im Zusammensetzen beider Hälften mittels Schraubzwingen (Abbildung 6). Im folgenden Schritt wurde eine durch Erhitzen verflüssigte Wolframlegierung (Schmelzpunkt 47°C, MEK 70, Fa. HEK, Medizintechnik, Lübeck) in den Gusschalenkörper gegossen (Abbildung 6). Nach einer Aushärtungszeit von rund 10 Minuten und der Entnahme des Rohgusses aus der Gussvorrichtung wurde dieser von Grat befreit und mit einem wasserlöslichen Klebstoff durch Bestreichen beschichtet (Fa. Henkel®, Marke Pritt™). Hierdurch wurden Unebenheiten im Rohguss ausgeglichen. Der Rohguss wurde im Weiteren in einen Silikonblock eingegossen (Abbildung 8). Hierzu wurde das Zweikomponentensilikon Elastosil verwendet. Um eine exakt zentrierte und planparallele Ausrichtung des Wolfram-Gusses im Silikonblock zu ermöglichen, wurde der Wolfram-Guss auf einer zuvor präparierten Elastosil-Maske positioniert und dann mit Elastosil eingegossen (Abbildung 9). Da Elastosil ein Vulkanisat ist, verband es sich beim Härtingsprozess mechanisch und optisch grenzsichtfrei mit der Elastosil-Maske. Lufteinschlüsse wurden während der ersten 15 Minuten des Härtingsprozesses (Vulkanisationszeit 24 Stunden pro 1 cm Schichtdicke bei 23°C) mit einer Vakuumpumpe (Laboport, Fa. KNF Neuberger, Freiburg) abgesaugt. Aus der unterschiedlichen Dichte der Silikonkomponenten A und B und dem angegebenen Massenverhältnis ergab sich

mit den Dichtewerten  $1,04 \text{ g/cm}^3$  und  $0,96 \text{ g/cm}^3$  ein Volumenmischungsverhältnis von  $A:B = 1:8,3077$ . Die Berücksichtigung der unterschiedlichen Dichteigenschaften gewährleistete die im Datenblatt angegebenen physikalischen Eigenschaften von Elastosil, insbesondere seine hohe Transparenz. Das ausgehärtete Gefässmodell wurde dann in kochendem Wasser vom Wolfram-Guss befreit, die wasserlösliche Klebstoffbeschichtung löste sich dabei ebenfalls und lieferte eine glatte Oberfläche (Abbildung 1).

## 2.4 Particle Image Velocimetry

Die Industrie hat viele empirische Verfahren entwickelt, fluiddynamische Grössen zu messen. Die Particle Image Velocimetry (PIV, Abbildung 10) ermöglicht gegenüber bisherigen Verfahren wie der Laserdoppler-Anemometrie eine simultane Geschwindigkeitsmessung vieler bewegter Teilchen <sup>38</sup>: Mit dem vorgestellten Aufbau liessen sich Geschwindigkeitsvektoren eines definierten Areals erfassen <sup>39</sup> (Abbildung 11). Aus der Simultanität folgt die Möglichkeit, nicht nur statische, sondern auch dynamische, also transiente, wie turbulente und pulsatile Strömungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten zu erfassen. Deswegen bekam die PIV hier für die Untersuchung einer Modellflüssigkeit während einer Herzaktion den Vorzug. Die technisch sehr aufwendige PIV realisiert folgendes Prinzip: Ein bewegtes Teilchen (Glasmikrosphären  $9\text{-}13 \text{ }\mu\text{m}$  Durchmesser, Abbildung 12) wird während seiner Bewegung in seiner Position zu zwei Zeitpunkten  $t_1$  und  $t_2$  erfasst. Der Laser feuert dazu zweimal hintereinander; entsprechend macht die CCD-Kamera zwei Aufnahmen. Für jedes Teilchen werden so zwei Orte  $(x_1, y_1)$  und  $(x_2, y_2)$  mit ihren jeweiligen Aufnahmezeitpunkten  $(t_1, t_2)$  gespeichert (Abbildung 12).

Daraus liess sich die Geschwindigkeit eines Teilchens im Verband berechnen (Gleichung 1). Aus dem resultierenden 2-dimensionalen Geschwindigkeitsvektorfeld (Abbildung 11) leitete die Kamerasoftware über Formel 1 und 2 die Vorticity und schliesslich den Scherstress gemäss Formel 3 ab. Die graphische Visualisierung des Strömungsprofils und des Scherstress liess sich mit den Daten aus Kapitel 3.1 vergleichen.

## 2.5 Modellkreislauf

Das Messprinzip bestand in der Geschwindigkeitsmessung eines 2-dimensionalen Teilchenverbandes in einer Modellflüssigkeit. Als Teilchen dienten hierbei Glasmikrosphären (Durchmesser 9-13  $\mu\text{m}$ / Fa. LaVision GmbH, Göttingen, Abbildung 12). Die Modellanastomose wurde durch grosslumige Silikonschläuche (ID  $\frac{3}{8}$ " , Fa. Rüscher AG, Kernen) seriell in einen Modellkreislauf eingebaut, der durch ein pneumatisches Kunstherz (Fa. Berlin Heart, Berlin) mit einem Schlagvolumen von 50 ml angetrieben wurde (Abbildung 10). Als Modellflüssigkeit wurde ein Glycerin/Wasser-Gemisch im Verhältnis 52:48 verwendet. Letzteres wurde so gewählt, dass eine Viskosität von 4 mPa·s vorlag. Diese entspricht der Durchschnittsviskosität von Blut, wenn man Blut vereinfachend als newtonsches Fluid betrachtet<sup>40</sup>. Die Viskosität wurde mit Hilfe eines Kapillarviskosimeters (Cavis, Fa. Raczek, Wedemark) gemessen und das Mischungsverhältnis entsprechend angepasst. Die Konstanz der Viskosität wurde durch ein Badthermostat (Firma Haake, Modell C10, Thermo Electron GmbH Karlsruhe) gewährleistet. Es hielt die Temperatur und Durchmischung des Flüssigkeitsgemisches konstant. Der Brechungsindex von Elastosil RT601 war praktisch gleich dem Brechungsindex der Modellflüssigkeit (1,4095<sub>25°C</sub>). Das pneumatische Kunstherz wurde über eine Pumpe (Fa. AEG) betrieben. Hier wurden die Herzfrequenz auf 1 Hertz und die Systolendauer auf 45% einer Herzaktionsdauer festgelegt. Der Abstromwiderstand hinter der Modellanastomose wurde mit Hilfe von kleinlumigen Silikonabsaugkathetern (12 Charrière, 25 cm Länge, Fa. Maersk Medical, Lyngby, Dänemark) nachgebildet. Die CCD-Kamera konnte vertikal mittels ihres Stativs und optisch durch die Objektivblende und -brennweite eingestellt werden (Abbildung 10). Die eingelesenen Daten wurden von der Kamerasoftware Davis (Fa. LaVision GmbH, Göttingen) weiterverarbeitet und waren der mathematische Wertevorrat für den Algorithmus der PIV. Die Software Davis triggerte gleichzeitig einen Nd:YAG-Laser in seiner Intensität und Feuerdauer, wodurch die Messung zu jedem beliebigen Zeitpunkt der Herzaktion möglich wurde. Die Orientierung des Laserstrahls vor und des flachen Lichtkegels (light sheet) hinter der Zylinderlinse wurde durch Mikrometerschrauben-Vorrichtungen, seine Ausbreitung in der Ebene mit Hilfe der

Zylinderlinse bewerkstelligt. In den arteriellen Schenkel wurde eine Durchflussmesssonde (Cliniflow II, Fa. Carolina Medical Electronics, King, USA) sowie ein Luer-Konnektor (Fa. Jostra, Hirrlingen) zum Anschluss eines Druckwandlers (Transpac IV, Abbott Laboratories, Morgan-Hill, USA) zur Druckmessung (M 808, Fa. Lohmeier, München) integriert.

## **2.6 Methodik der statistischen Auswertung**

Untersucht wurden die in Tabelle 1 gezeigten 16 (aus 2· 8) Konfigurationen für die distale und proximale Anastomose. Die statistische Auswertung erfolgte unter Zuhilfenahme von OpenOffice.org Calc (Version 3.0.0, Sun Microsystems, Inc., USA) und dem Statistikprogramm MedCalc® (Version 10.4.6.0, MedCalc Software, Broekstraat 52, 9030 Mariakerke, Belgien).

Zugrundegelegt wurde eine gleiche Varianz der verglichenen Mengen (durch Software automatisch bestimmt). Messwertgruppen gleicher Mächtigkeit wurden untereinander mit dem Paar-t-Test verglichen. Messwertgruppen unterschiedlicher Mächtigkeit wurden mit dem t-Test für unabhängige Proben korreliert. Bei ungleicher Varianz wurde der Welch-Test verwendet. Ein P-Wert <0,05 wurde dabei als Signifikanz gewertet. In diesem Fall kann der Mittelwert der Differenzen zwischen den beobachteten 2 Gruppen als statistisch signifikant verschieden von Null angesehen werden. Der Balkenplot (Abbildungen 29-33) gibt das arithmetische Mittel an, der Fehlerbalken den Standardfehler des arithmetischen Mittels. Die Einzelproben wurden als Punkte aufgetragen, sich entsprechende Punkte aus den 2 verglichenen Gruppen wurden miteinander verbunden.

Alle Messwerte (Tabelle 2-6 und 9-11) stellen das arithmetische Mittel aus 10 Einzelmessungen mit der jeweiligen Standardabweichung als Fehlerangabe ( $\pm$  SD) dar. Die Einzelmessungen wurden zu den Zeitpunkten  $t_{1-10} = \{50; 150; \dots; 850; 950\}$  in Millisekunden einer Herzaktion vorgenommen. Die Herzaktionsdauer wurde pumpenseitig auf 1000 Millisekunden festgesetzt. Die softwaregesteuerte Ableitung des Scherstress und der Vorticity erfolgte beim Systolenmaximum zum Zeitpunkt  $t_3 = 250$  ms der Herzaktion (Abbildungen 25-28).

### **3. Ergebnisse**

#### **3.1 Ergebnisse der in situ-Flussraten und der Pseudointimaausbildung**

Bei 3 Versuchstieren kam es innerhalb des Beobachtungszeitraumes von 6 Wochen zum vollständigen Gefäßverschluss (Offenheitsrate 67%). Der postimplantative Flow im distalen Anastomosenbereich betrug  $100 \pm 19$  ml/min, die präexplantative dagegen nur noch  $32 \pm 22$  ml/min.

Die PI ist definiert als die pseudoneointimale Verdickung im synthetischen Graft (Abbildung 13). Es wurde lediglich die PI des nativen (unbeschichteten) ePTFE-Bypass betrachtet, da hier von einem alleinigen Einfluss der lokalen Hämodynamik und den Ausgangseigenschaften des Prothesenmaterials auf die Entstehung der PI ausgegangen werden konnte.

Die transversale Dicke der PI war in beiden Anastomosen im Nahtbereich am ausgeprägtesten und nahm prothesenwärts ab. In der distalen Anatomose zeigte sie auf Fersenseite ihre maximale Ausdehnung; auf Haubenseite bildete sich lediglich eine vergleichsweise dünne PI (Abbildung 13). In der proximalen Anastomose kam es auf der Konkavseite der Graft-Biegung zu einer fast das Lumen verlegenden PI, wohingegen sich auf der Konvexseite lediglich eine vergleichsweise dünne Schicht entwickelte (Abbildung 14). Die PI ging an der Nahtstelle beider Anatomosen kontinuierlich in die IH über.

Die rasterelektronenmikroskopische Aufnahme (Abbildung 15) der unbeschichteten ePTFE-Prothese zeigt die Unebenheit der Graft-Innenfläche. Diese führt zur erhöhten Thrombogenität mit konsekutiver Ab- und Anlagerung von Fibrin und Debridement. Die Aufnahme lässt unter dem Debridement die für ePTFE charakteristischen internodalen Abstände erkennen (Abbildung 16).

## **3.2 Ergebnisse der Particle Image Velocimetry und räumliche Korrelation mit der Pseudointimaausbreitung**

Die gemessene postimplantative Flussrate betrug in Gruppe I des Tiermodells (native ePTFE-Grafts)  $100 \pm 19$  ml/min und wurde im Laborexperiment als Anfangsbedingung zugrundegelegt. Es ergab sich für die Flussrate ein gemessener Mittelwert von  $105 \pm 6$  ml/min über alle Messungen. Tabelle 2 und 3 zeigen den gemessenen Modellkreislaufdruck sowie den Widerstand mit relativer Konstanz innerhalb einer Gruppe.

Alle Flussvisualisierungen zeigen das Strömungsbild zum Herzaktionszeitpunkt  $t_3 = 250$  ms. Das Strömungsbild zeigte dabei im distalen Bypassabschnitt einen sich von der Fersenregion ablösenden Zentralstrom, der sich im Falle eines offenen retrograden Abstromes homogen in den antegraden und retrograden Abstrom aufteilte (Abbildung 17). Hierdurch bildete sich auf dem Boden des Empfängergefäßes (der A. femoralis im Tierexperiment entsprechend) eine dreieckige Zone aus, in der es zur Strömungsstagnation kam. War der retrograde Abstrom – wie im Tierexperiment durch Ligatur – verschlossen, kam es zu einer Ausdehnung der Stagnationszone bis in den retrograden Schenkel. Grosse Wirbel bildeten sich augenscheinlich nicht.

Das Strömungsbild im proximalen Bypassabschnitt war von einem ausgeprägten Abriss des Zentralstroms von der konkavseitigen Biegung des Bypass geprägt (Abbildung 18). Diese Zone setzte sich über das erfasste Areal hinweg fort. Der Zentralstrom war auf die konvexseitige Biegung verlagert. Dadurch bildete sich eine relative Totwasser- oder Stagnationszone aus. Der Einstrombereich in den proximalen Bypass zeigte ein homogenes Strömungsmuster mit einem Zentralstrom in der Gefässmitte.

### **3.2.1 Strömungsgeschwindigkeit**

Die maximale Strömungsgeschwindigkeit in der distalen Anastomose wurde im Zentralstrom gemessen (Tabelle 4); in der proximalen Anastomose lag das Maximum

in der konvexseitigen Biegung gefolgt vom Zentralstrommaximum. Die niedrigsten Strömungsgeschwindigkeiten im distalen Abschnitt lagen in der Hauben- und Fersenregion (Tabelle 4). Im proximalen Bypass wurden diese an der konkavseitigen Biegung im Bereich der grossen Stagnationszone gemessen (Tabelle 9).

Die systolische Beschleunigung war in allen Modellen nach rund 250 ms abgeschlossen. In fast allen Modellen wurde zudem in der Diastole ein zweites Maximum erreicht, welches deutlich unter dem der Systole lag (Abbildungen 25-28).

Alle Kurvenverläufe für die herzaktionsabhängige Geschwindigkeit zeigten einen ähnlichen Verlauf. Die systolischen Maxima für die Durchschnittsgeschwindigkeit (über den Gefässquerschnitt) waren jedoch – proximal und distal vergleichend – signifikant ( $P < 0,0001$ ) verschieden (Abbildung 29).

### **3.2.2 Vorticity**

Die Vorticity als Grösse für lokale Turbulenzen war in der Fersenregion und der Übergangszone 1 der distalen Anastomose maximal. Beide Regionen lagen einander direkt an und bildeten den Wendepunkt der Strömung nach retrograd (Tabelle 6). Im Bodenbereich wurden ebenfalls – als Zeichen der lediglich randbeeinflussten Strömung – relativ hohe Werte erfasst. Im homogenen Zentralstrom und der anliegenden Haubenregion fanden sich die niedrigsten Werte. Dahingegen wurde die grösste Vorticity im proximalen Bypass in der Übergangszone gesehen (Tabelle 11). Diese Zone war für die Stagnationszone randbildend. Des Weiteren fanden sich grosse Vorticity-Werte im Stagnationsbereich (Tabelle 1 – Konkav 2).

### **3.2.3 Scherstress**

Der niedrigste Scherstress im distalen Bypass liess sich in Gefässmitte im Zentralstrom lokalisieren. Dem gegenüber stand ein Maximum in der Übergangszone 1, welche zum Lumen hin randbildend für die Stagnationszone im fersenseitigen Abrissbereich war. Ebenso war die Haubenregion durch grosse Scherkräfte

gekennzeichnet (Tabelle 5). Die Verteilung über einen Querschnitt zeigt Abbildung 30: Es liess sich ein maximaler Scherstress-Gradient jeweils beim Zonenübergang ausfindig machen (Abbildung 19). Die Unterschiede waren in 3 von 4 Fällen mit  $P < \{0,0001; 0,0001; 0,0031\}$  statistisch signifikant (Tabelle 7). Abbildung 31 stellt einen ebenfalls signifikanten ( $P=0,0244$ ) Scherstress-Gradienten zwischen der Bodenstagnationszone und dem auftreffenden Zentralstrom dar. Der Vergleich der wandnahen Scherstresswerte untereinander (Tabelle 8) lieferte dahingegen keine Signifikanzen. Lediglich die Scherstresswerte zwischen Ferse und Haube waren grundlegend und mit  $P=0,0009$  ebenfalls statistisch verschieden (Tabelle 8); beide Regionen hatten allerdings keine direkte räumliche Assoziation.

Der proximalseitige Scherstress hatte in der Übergangszone sein Maximum (Tabelle 10). Am Abriss der Strömung waren die Unterschiede (Abbildung 32) zwischen den benachbarten Strömungsschichten (Gefässquerschnitt 1) in 3 von 3 Fällen mit  $P=\{0,0022; 0,0275; 0,0193\}$  statistisch signifikant (Tabelle 13). Im Gefässquerschnitt 2 (Abbildung 20) zeigte sich diese Signifikanz (Abbildung 33) mit  $P=\{0,0055; 0,0327\}$  in lediglich 2 von 3 Fällen jeweils zum Zentralstrom 2 hin (Tabelle 14). Die Betrachtung über beide Gefässquerschnitte zeigte lediglich in einem von 2 Fällen zwischen dem konvexseitigen Strom und dem Zentralstrom mit  $P=0,0001$  eine Signifikanz (Tabelle 12).

Die mittels der PIV generierten Strömungsvisualisierungen ergaben bei kongruenter, graphischer Überlagerung mit der jeweiligen Histologie im distalen (Abbildung 21) und proximalen Bereich (Abbildung 22) folgende Feststellung: Die PI nahm fast den gesamten Stagnationsbereich ein. Sie begann dabei am Abrisspunkt der Strömung und erstreckte sich über alle Bereiche der Sekundärströmung. In den Stagnationszonen fand sich für beide Anastomosenbereiche eine minimale Flussgeschwindigkeit mit einer maximalen Vorticity. Randbildend für diese bezeichneten Zonen waren Übergänge mit signifikanten Änderungen im Scherstress. Die Überlagerung von Histologie und Visualisierung der Hämodynamik zeigte für beide Bypasspole eine Ausbreitung der PI im Bereich der Stagnationszone.

## 4. Diskussion

### 4.1 Tiermodell

Das verwendete Schweinmodell weist eine vergleichbare Übereinstimmung mit dem humanen auf. Dies gilt insbesondere auch für beide Gerinnungssysteme. Hyperkoagulationszustände, wie sie bei Hunden beobachtet werden, treten nicht auf<sup>41,42</sup>. Auch die Wandschichteneinteilung in Intima, Media und Externa ist beim Menschen mit dem des Schweins weitgehend kongruent.

Die vorzugsweise Verwendung und Betrachtung insbesondere der End-zu-Seit-Anastomose ergab sich aus dem Strömungsbild, welches ursächlich für neointimale Hyperplasien ist. Die bypassbedingte IH und anastomotische PI waren ebenso in beiden Gruppen ähnlich<sup>43</sup>. Des Weiteren war die Flussrate im ePTFE-Bybass von durchschnittlich 100 ml/min und der Durchmesser des Bypasssegmentes von 4 mm in beiden Gruppen identisch<sup>44</sup>. Das Tiermodell ist diesbezüglich auf den Menschen übertragbar.

Die Etablierung dieses Modells diene der Betrachtung einer realen, klinischen Ausgangssituation im Experiment für ein synthetisches Graft-Implantat aus ePTFE. Dabei wurde eine Bypasssituation geschaffen, die der postinterventionellen beim Patienten nach kritischer Extremitätenischämie mit der Indikation zur femorokruralen Bypassanlage entsprach.

Das verwendete Tiermodell eignete sich nicht zur Evaluation der Plaquetentstehung, da die pAVK beim Hausschwein nicht auftritt<sup>45</sup>; jedoch liegt der pAVK die Plaquebildung als morphologisch-anatomisches Substrat zugrunde<sup>46-48</sup>. Allerdings wird davon ausgegangen, dass die VSMC-Proliferation beim Schwein ähnlichen Mechanismen, die für die IH- und PI-Entstehung beim Menschen ursächlich sind, folgt<sup>49</sup>. Aus diesem Grund eignete sich das Schweinmodell vor dem Hintergrund der Grunderkrankung der pAVK als Ansatz zur Untersuchung der neointimalen Formation.

Zur standardisierten Nachuntersuchung der implantierten Grafts durch Explantation existiert zum Tierversuch keine Alternative. Zudem sind die Abstromverhältnisse in ihrer Komplexität des distalen Gefäßbaumes in vitro primär – zumindest mit den zur

Verfügung stehenden Facilitäten - nicht simulierbar <sup>50</sup>. Die Betrachtung des nativen, unbeschichteten ePTFE-Grafts rechtfertigt die Übertragung der PI-Entstehungsursachen auf den Menschen. Die postoperative Applikation von Acetylsalicylsäure diene dabei lediglich der Prävention des akuten thrombotischen Gefäßverschlusses. Die Untersuchung der amorphen PI ist zudem nicht in Zellkulturen evaluierbar, da es sich bei ihr nicht um einen Zellverband handelt <sup>51</sup>.

## 4.2 Particle Image Velocimetry und Modellkreislauf

Die PIV stellt in der Untersuchung newtonscher Fluide ein etabliertes Verfahren dar <sup>52-5354</sup>. Sie ist dabei der ebenso häufig angewandten Laserdoppleranemometrie überlegen <sup>55-5657</sup>. Diese Überlegenheit spiegelt sich in der Visualisierung transienter Strömungen zu einem definierten Zeitpunkt (hier 250 ms) – wie im Falle des herzyklusabhängigen Blutflusses - wider.

Blut zeigt hinsichtlich seiner Viskositätseigenschaften ein nicht-newtonsches Verhalten <sup>58,59</sup>. Das bedeutet, dass zwischen dem Scherstress und der Blutviskosität kein linearer Zusammenhang besteht. Bei kleinen Scherraten ist die Viskosität maximal, bei steigender Scherrate nähert sie sich einem Grenzwert von rund 4 mPa·s auf ungefähr logarithmischer Kurve (Carreau-Yasuda-Modell <sup>60</sup>). Diese Eigenschaft wird in der Physikochemie und in der korrekten Beschreibung der viskoelastischen Eigenschaften des Blutes auch als Thixotropie bezeichnet <sup>61,62</sup>. Die vereinfachende Betrachtung des Blutes als newtonsches Fluid – wie im vorliegenden Fall durch das Glycerin/Wasser-Gemisch – ist unter Berücksichtigung der hohen Scherraten in den Übergangszonen gerechtfertigt. Verwendet wurde daher für die Modellflüssigkeit der Näherungswert von 4 mPa·s durch ein entsprechendes Mischungsverhältnis.

Mit dem Schlagvolumen des verwendeten Kinderkunstherzens konnte die erforderliche Flussrate von 100 ml/min erzeugt werden <sup>63</sup>. Die pulsatilen Strömungseigenschaften mit Unterscheidung in Systole und Diastole waren gegeben und erlaubten so den Vergleich der lokalen Hämodynamik im Tiermodell.

Im Hinblick auf die verglichenen Kreislaufmodelle bestanden folgende Unterschiede:

Beim verwendeten experimentellen Kreislaufmodell handelte es sich um ein offenes System. Des Weiteren hatten die verwendeten Verbindungsschläuche andere Elastizitätseigenschaften als Arterien. Ebenso konnten Pulsreflexionen im natürlichen Kreislauf unmöglich auf das Laborexperiment dieser Arbeit übertragen werden. Die gemessenen Widerstands- und Druckwerte im Modellkreislauf bei festgelegtem Ausgangsfluss von 100 ml/min spiegelten jedoch realistische Verhältnisse wider. Ebenso zeigten die zeitabhängigen Parameter-Visualisierungen in den Abbildungen 25-28 physiologische Rahmenbedingungen.

### **4.3 Messergebnisse und Pathophysiologie von Intimahyperplasie versus Pseudointima**

Abbildung 29 zeigt bei den systolischen Flussgeschwindigkeiten einen signifikanten Unterschied der transienten Strömungseigenschaften zwischen der distalen und proximalen Bypassanastomose. Dennoch waren für alle Silikonmodelle die Signifikanzen zwischen kommunizierenden Arealen an beiden Bypasspolen eindeutig: Die Abbildungen 30-33 zeigen jeweils zum Zentralstrom einen grossen, statistisch signifikanten Scherstressgradienten. Randbildend für den Zentralstrom waren die Übergangszonen. Damit war die Anfangsbedingungsinvarianz hinsichtlich der Messungen gezeigt: Änderungen der fluiddynamischen Umgebungsvariablen wie Eingangsfluss und –druck spielten in der Ausbildung der beschriebenen Zonen eine untergeordnete Rolle. Das bedeutet, dass die gemachten Beobachtungen – trotz in gewissen Grenzen variabler hämodynamischer Kreisläufe – auf das humane Modell übertragen werden können.

Markant bei der graphischen Überlagerung mit der Histologie war, dass die PI die Übergangszonen nicht überschritt. Sie blieb auf die Stagnationszonen begrenzt.

Letztere stellen eine so genannte Sekundärflusszone dar, in der es zu einer verlängerten Kontaktzeit des Strömungsmediums mit der Wand kommt<sup>64</sup>. Hierdurch wird die Wahrscheinlichkeit der Graftwandbesiedlung mit PI-bildenden Blutbestandteilen erhöht. Ihre weitere Ausdehnung wird dabei durch einen hohen Scherkraftgradienten im Übergangsbereich (Abbildungen 30, 32, 33)

unterdrückt <sup>65</sup>: Hier halten sich Debridementablagerung und Materialabscherung die Waage. Des Weiteren zeigt sich eine weitere Komponente des Sekundärflusses in den Abbildungen 25-28: Die diastolische Beschleunigung stellt eine Rezirkulation im Sinne einer Flussumkehr dar <sup>66</sup>. Auch diese führt zu einer verlängerten Kontaktzeit zwischen Fluid und Wand <sup>67</sup>.

Die formelle Sequenz der morphologischen PI-Entstehung in synthetischen Gefäßprothesen wurde von Watase et al. <sup>68</sup> wie folgt beschrieben:

- (1) frühe Thrombose
- (2) Phagozytose des Thrombus
- (3) Fibroblastenproliferation in der PI
- (4) Endothelzellausbreitung
- (5) Einwanderung von VSMC
- (6) IH durch Fibroblastenproliferation und Kollagenfibrillen

ePTFE-Grafts können dabei die Produktion von Wachstumsfaktoren der VSMC auf verschiedene Weise anregen:

- (1) Aktivierung von Makrophagen durch Fremdkörperreaktion
- (2) Unbeschichtetes ePTFE induziert die Thrombozytenaktivierung.
- (3) Ein Compliance-Mismatch an der Anastomose kann zur übermäßigen mechanischen Beanspruchung der VSMC führen, wodurch diese proliferieren.
- (4) Lokale Turbulenzen führen zum Endothelzellschaden und zur konsekutiven Ausschüttung von Wachstumsfaktoren.
- (5) Bereiche mit niedrigem Scherstress und Flusseparationen im Anastomosenbereich induzieren die Thrombozytenadhäsion und Aktivierung von Wachstumsfaktoren.

Lemson et al. <sup>123</sup> setzte die Implantation eines synthetischen Grafts mit der eines nativen, venösen Gefäßes teilweise gleich (Abbildung 23): Die Implantation eines ePTFE-Grafts induziert die Plättchen- und Makrophagenaktivierung, die wiederum für

die Ausschüttung von migrations- und proliferationsstimulierenden Faktoren verantwortlich sind (Abbildung 23). Ein Compliance-Mismatch der Elastizitätsmodule der anastomosierten Gefässe und Flussturbulenzen nannte er als weitere Faktoren eher am Rande.

Das Konzept des Compliance-Mismatches zwischen Bypassgraft und Empfängerarterie und der positiven Korrelation zur IH gilt seit der Beschreibung im Jahre 1976 durch Baird und Abbott als anerkannt <sup>69</sup>. Die hier wesentlichen Effekte konnten jedoch im vorliegenden Experiment durch das Silikonmodell nicht imitiert werden, da das Modell ganzheitlich aus einem Silikon bestand. Dennoch korrelierten die Scherstressverteilung und PI-Ausbreitung statistisch signifikant.

Die Betrachtung von Gradienten fand bereits in der rechnergestützten Simulation Anwendung: Von Interesse war dort unter anderem der WSS-Gradient <sup>70-72,73</sup>. Die technische Umsetzung in eine in vivo-Messung bleibt jedoch weiterhin schwierig.

Die Varianz der in der vorliegenden Arbeit gemessenen Scherstressabsolutwerte war gross (Tabellen 5 und 10), jedoch zeigten sich signifikant eindeutige Gradienten in den verglichenen Arealen (Tabellen 7, 8, 12-14).

Des Weiteren muss ausdrücklich zwischen dem WSS und den viskösen Scherkräften unterschieden werden. Der WSS stellt eine auf die Wand wirkende Scherkraft dar, wohingegen im vorliegenden Experiment visköse Scherkräfte, das heisst Kräfte innerhalb des Strömungsmediums, berechnet wurden. Die Tatsache, dass die synthetische Graftoberfläche auf eine einwirkende Kraft im Sinne eines WSS biologisch nicht reagieren kann, rechtfertigt die hier dargestellte Vorgehensweise und alleinige Betrachtung der viskösen Scherkraftkomponente.

Neben bio- und immunchemischen Eigenschaften der nativen Gefässwand spielen kontinuierliche Regenerationsprozesse eine entscheidende Rolle: So werden an der nativen Gefässwand Ablagerungen auf mechanischem Weg abgestossen <sup>74,75</sup>. Dies erklärt die Nichtexistenz der PI in nativen, gesunden Gefässen. Hier kommt es bei einer aberranten lokalen Hämodynamik zur IH <sup>76</sup>. Umgekehrt zeigt eine alterierte native Gefässwand neben arteriosklerotischen Prozessen der PI ähnliche Erscheinungen mit erhöhter Thrombogenität <sup>77</sup>. Eine Wandregeneration fehlt naturgemäss in synthetischen Grafts.

Hinsichtlich des Ursprungs der PI-bildenden Zellen wurden neben der

Materialsedimentation transmurale Prozesse beschrieben <sup>78,79</sup>: In hochporösen ePTFE-Prothesen (mittlerer internodaler Abstand 90 µm) wurde eine transmurale Kapillareinsprossung beobachtet (Abbildung 24). Allerdings wurden diese bei ihrer geringen Zahl als nicht verantwortlich für die entstandene anastomotische PI eingestuft. Vielmehr diene das Einwachsen von Zellen über die Anastomosennaht hinweg als Erklärung für die anastomotische PI <sup>80</sup> (Abbildung 24).

Clowes und Kirkman zählen zu den ersten Autoren, die einen Zusammenhang zwischen der PTFE-Struktur und seiner Thrombogenität sowie der Ausbildung einer intakten neointimalen Formation sehen. Sie beschrieben ebenfalls das Einwachsen von Endothelzellen in den ePTFE-Graft. Dabei hatten die Endothelzellen ihrer Auffassung nach ihren Ursprung in der anastomosierten Arterie <sup>81</sup>. Sie interpretierten diese Endothelauskleidung als langsamen Heilungsprozess. Immerhin waren 60% der 6-9 cm langen ePTFE-Prothesen nach 12 Monaten vollständig mit Endothel ausgekleidet <sup>82</sup>. Darüber hinaus beschrieben sie die Koexistenz von glatten Muskelzellen (VSMC). Diese Beobachtung wurde bereits zuvor von vielen Autoren gemacht <sup>83-84,8990</sup>.

Andererseits existiert die Hypothese, dass zirkulierende Endothelzellen sich im Rahmen thrombotischer Ablagerungen ansiedeln und zu der beschriebenen Endothelauskleidung beitragen <sup>91</sup>. Diese These wurde von Clowes et al. in eigenen Experimenten widerlegt. Weitere Autoren vertreten ebenfalls den Standpunkt, dass die Herkunft der Endothelzellen in eingesprosssten Kapillaren zu suchen sei <sup>81,92-95</sup>. Hinweise hierfür sah Florey bereits 1962 in Endothelinseln, die keine Kontinuität zu eingewachsenen Endothelzellen aufwiesen. Von Florey stammt auch der 1961 erstmals genannte Begriff der PI <sup>96</sup>.

Aus dem Gesagten schlussfolgerte Clowes, dass die Materialstruktur massgebend für eine suffiziente Endothelzellbeschichtung sei <sup>97</sup>. Durch Erhöhung des internodalen Abstandes erzielte er eine schnelle und komplette Endothelzellauskleidung der ePTFE-Grafts (4 mm Durchmesser, 60 µm internodaler Abstand). Jedoch machten sie ihre experimentellen Beobachtungen in Steppenpavianen. Des Weiteren beschrieben sie die Ausbildung einer IH – und nicht PI – nach abgeschlossener Endothelzellbeschichtung. Dagegen ist die PI als Folge der Thrombogenität des ePTFE von der IH im Bereich der Anastomose – zumindest begrifflich – zu

unterscheiden<sup>98</sup>.

Auf der anderen Seite scheinen diese Mechanismen nicht auf andere Tiermodelle oder Grafts übertragbar zu sein. Untersucht wurden auch in beim Menschen implantierte Dacron-Prothesen ohne (indirekten) Nachweis einer Endothelzellschicht<sup>99-106</sup>. Neuere Untersuchungen stammen von Miura et al.<sup>107</sup>. Jedoch lag seinen Versuchen ein Hundetiermodell zugrunde.

Andere Studien konzentrierten sich auf die distale Anastomosengeometrie (gerade Anastomose [wie in der vorliegenden Arbeit], Linton<sup>108,109</sup>- und Taylor-Patch<sup>110</sup>, Miller-Cuff<sup>111</sup>, St Mary's Boot<sup>112</sup>, Karacagil's Cuff<sup>113</sup>) und machten diese auf der Basis von mechanischen Faktoren und Flussveränderungen für die unterschiedliche Ausprägung der PI verantwortlich. Allerdings wurde in der Ausprägung der anastomotischen PI bei allen beschriebenen Anastomosenformen kein signifikanter Unterschied gefunden<sup>114</sup>. Dies spricht für den wesentlicheren Einfluss der lokalen Hämodynamik auf die PI-Entstehung als der geometrische Faktor, da bei den genannten Anastomosenformen die Flusscharakteristik sehr ähnlich ist. Dies wurde in dieser Arbeit unter anderem auch anhand der ähnlichen Ergebnissen für alle Silikonmodelle (gerade Anastomose mit unterschiedlichem Einstromwinkel) gezeigt.

#### **4.4 Anwendungsmöglichkeiten für die klinische Praxis**

In dieser Studie wurde der massgebliche Einfluss des Scherstressgradienten auf die Ausbreitung der PI in einer Bypassanastomose gezeigt. Die Studie eignete sich nicht für eine Ableitung des Entstehungsmechanismus' der PI selbst. Es bestanden lediglich Anzeichen dafür, dass die PI im Wesentlichen aus Blutbestandteilen besteht<sup>115,116</sup>.

Die naheliegende Schlussfolgerung ist die lokale PI-Beschränkung durch optimale Scherstressgradienten. Diese können durch eine geeignete, jedoch noch zu entwickelnde Anastomosen- und Bypassgeometrie erzielt werden. Diese wird sich wesentlich von den 4 Grundformen der End-zu-Seit-Anastomose (gerade Anastomose, Linton-Patch, Taylor-Patch, Miller-Cuff) unterscheiden müssen: Die Studie hat gezeigt, dass relativ kleine Änderungen in der Bypassform keine

signifikante Änderung der Gradientenverteilung zur Folge hat. Es wird daher eine vollkommen neu entwickelte Prothesenform erforderlich sein, um die gewünschten Änderungen zu erzielen. Diese Änderungen im Sinne einer Verbesserung liegen in der Minimierung von Sekundärfluss- sowie Stagnationszonen. Dabei kann ePTFE als etabliertes Gefäßprothesenmaterial mit vergleichsweise geringer antigener Wirkung weiterhin Anwendung finden <sup>117,118</sup>.

Die Hauptanwendungsbereiche liegen in der Bypasschirurgie der Extremitäten <sup>119</sup>, der Dialysehuntchirurgie <sup>120</sup> sowie der Überbrückung von Koronarverschlüssen <sup>121,122</sup>. Die Komorbidität der meisten Patienten mit mindestens 2 der genannten Bereiche bedingt eine jeweilige Materialeinbusse durch bereits verwendetes, autologes Venenmaterial.

## 5. Zusammenfassung

Aufgrund der Komorbidität gefässchirurgischer Patienten besteht oft keine Alternative zur synthetischen Gefäßprothese, wenn körpereigenes Gefäßmaterial im Rahmen anderer Revaskularisationseingriffe bereits verwendet wurde. Dabei wird die hohe Frühverschlussrate in Kauf genommen. Der Patient muss dann lebenslang blutverdünnende Medikamente einnehmen, um der Thrombogenität des synthetischen Prothesenmaterials entgegenzuwirken. Dennoch wird nicht annähernd die gleiche Offenheitsrate wie bei autologen Grafts erreicht. Besonders niedrig ist die Offenheitsrate für ePTFE-Prothesen mit einem Innendurchmesser kleiner 6 cm<sup>15,21</sup>.

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob sich fluiddynamische Aspekte zur Verbesserung der Offenheitsrate ergeben. Hierzu wurde die Studie in zwei Arme aufgeteilt: (1) Im Tiermodell betrug die Offenheitsrate nativer femoropoplitealer Bypassimplantate 67%. Der Fluss war nach 6 Wochen auf rund 30% des Ausgangswertes reduziert<sup>71</sup>. (2) Im Silikonmodell der proximalen und distalen Bypassanastomose wurde das Geschwindigkeitsvektorfeld mittels der PIV unter physiologischen Kreislaufbedingungen gemessen und der Scherstress sowie die Vorticity berechnet. In beiden Anastomosen wurden Abrissströmungen mit der Ausbildung von Sekundärflusszonen zwischen Hauptstrom und Wand nachgewiesen. Hierunter fallen Rezirkulations- und Stagnationszonen.

Die graphische, 2-dimensionale Korrelation der Histologie der Bypassexplantate mit den Flussvisualisierungen der PIV ergab eine Kongruenz zwischen den PI-Arealen und Sekundärflusszonen. Der Vergleich der Messwerte mit dieser Kongruenz zeigte die Begrenzung der PI durch eine relative Hochscherstresszone mit hohem negativem Gradienten zur Umgebung. Die Ergebnisse waren statistisch eindeutig und signifikant (Abbildungen 30, 32, 33).

Die IH bezeichnet den erweiterten Abstand zwischen der Endotheloberfläche und der Lamina elastica interna im nativen Arterienquerschnitt. Die PI entspricht dagegen in ihrer Ausdehnung der gesamten Dimension neointimaler Prozesse in ePTFE-Grafts. Beide neointimalen Prozesse werden durch die Anwendung antithrombotischer Substanzen in ihrer Entstehung entsprechend gehemmt<sup>71</sup>. Die PI scheint dabei wie die IH maßgeblich durch die lokale Hämodynamik beeinflusst. Dabei entsteht

erstere in Sekundärflusszonen. Schlussfolgernd lässt sich die PI-Ausbildung durch die Unterdrückung von Sekundärflüssen vermeiden und die Offenheitsrate verbessern.

Bisherige Anastomosenformen sind die gerade Anastomose, der Linton<sup>74,74</sup>- und Taylor- Patch<sup>74</sup> sowie der Miller-Cuff<sup>74</sup>. Sie zeigen trotz ihrer unterschiedlichen Formen keine signifikanten Unterschiede in ihren Offenheitsraten. Daher ist zur Etablierung einer neuen Bypassgeometrie unter Verwendung von ePTFE ein vollkommen neues Design erforderlich, welches auf der Grundlage der hier gemachten Überlegungen zu einer erhöhten Offenheitsrate führen muss. Ähnliche Vermutungen über einen Zusammenhang zwischen Sekundärflüssen und der IH-Ausbildung bestehen bereits<sup>70,7273</sup>.

## 6. Anhang

### 6.1 Tabellen- und Bildanhang

Übersicht über die untersuchten Silikonmodellkonfigurationen				<b>Tabelle 1</b>	
Silikonmodelle	distale Anastomose, jede Gruppe je mit und ohne peripherem Widerstand		Proximale Anastomose, jede Gruppe je mit und ohne peripherem Widerstand		
	A	① retrograder Abstrom offen	④ retrograder Abstrom geschlossen	⑦ retrograder Abstrom offen	⑧ retrograder Abstrom geschlossen
B	② retrograder Abstrom offen	⑤ retrograder Abstrom geschlossen			
C	③ retrograder Abstrom offen	⑥ retrograder Abstrom geschlossen			

Systemdruck p in mmHg mit SD als Fehler					<b>Tabelle 2</b>
Silikonmodell	retrograder Abfluss offen	retrograder Abfluss <u>geschlossen</u>	retrograder Abfluss offen	retrograder Abfluss <u>geschlossen</u>	
	<u>hoher</u> peripherer Widerstand		<u>niedriger</u> peripherer Widerstand		
	A	49 ± 6	58 ± 7	36 ± 2	39 ± 3
B	52 ± 3	61 ± 4	39 ± 2	43 ± 2	
C	49 ± 3	59 ± 6	38 ± 9	38 ± 2	

± SD = Standardabweichung

Gefäßwiderstand in mmHg/(ml· min) mit SD als Fehler					<b>Tabelle 3</b>
Silikonmodell	retrograder Abfluss offen	retrograder Abfluss <u>geschlossen</u>	retrograder Abfluss offen	retrograder Abfluss <u>geschlossen</u>	
	<u>hoher</u> peripherer Widerstand		<u>niedriger</u> peripherer Widerstand		
	A	0,47 ± 0,05	0,57 ± 0,08	0,34 ± 0,06	0,37 ± 0,04
B	0,49 ± 0,03	0,60 ± 0,04	0,36 ± 0,03	0,40 ± 0,03	
C	0,45 ± 0,02	0,61 ± 0,08	0,38 ± 0,12	0,40 ± 0,04	

± SD = Standardabweichung

Distale Anastomose, oben Messwerte, unten Statistik **Tabelle 4**

<b>Geschwindigkeit</b>		Zentral- strom	Hauben- region	Fersen- region	Boden	Übergangs- zone 1	Übergangs- zone 2
A	Retrograd geschlossen ohne peripheren Widerstand	20 ± 17	4 ± 2	1 ± 1	8 ± 7	8 ± 15	12 ± 9
B		25 ± 20	3 ± 2	2 ± 1	12 ± 11	17 ± 19	7 ± 5
C		25 ± 26	7 ± 7	9 ± 6	8 ± 8	11 ± 20	7 ± 4
A	Retrograd geschlossen mit peripherem Widerstand	13 ± 11	2 ± 2	1 ± 0	4 ± 3	7 ± 8	5 ± 5
B		15 ± 12	2 ± 0	1 ± 0	5 ± 5	10 ± 8	3 ± 4
C		18 ± 15	6 ± 4	5 ± 4	4 ± 3	8 ± 9	3 ± 2
A	Retrograd offen ohne peripheren Widerstand	21 ± 18	2 ± 2	1 ± 1	4 ± 3	8 ± 2	9 ± 11
B		25 ± 20	2 ± 1	1 ± 1	7 ± 6	15 ± 16	6 ± 7
C		24 ± 21	5 ± 5	8 ± 8	6 ± 7	8 ± 14	6 ± 5
A	Retrograd offen mit peripherem Widerstand	16 ± 15	2 ± 1	1 ± 0	3 ± 3	6 ± 9	7 ± 9
B		18 ± 14	2 ± 1	1 ± 1	6 ± 5	10 ± 9	5 ± 5
C		18 ± 16	4 ± 3	7 ± 7	4 ± 5	6 ± 8	4 ± 3
Arithmetic mean		19,8333	3,4167	3,1667	5,9167	9,5000	6,1667
95% CI for the mean		17,1673 - 22,4993	2,2847 - 4,5487	1,1605 - 5,1728	4,3034 - 7,5299	7,3242 - 11,6758	4,5449 - 7,7884
Variance		17,6061	3,1742	9,9697	6,4470	11,7273	6,5152
Standard deviation		4,1960	1,7816	3,1575	2,5391	3,4245	2,5525
Standard error of the mean		1,2113	0,5143	0,9115	0,7330	0,9886	0,7368

Distale Anastomose							Tabelle 5
Schersstress		Zentral- strom	Hauben- region	Fersen- region	Boden	Übergangs- zone 1	Übergangs- zone 2
A	Retrograd geschlossen ohne peripheren Widerstand	2,22 ± 1,5	3,81 ± 2,4	2,78 ± 1,4	5,5 ± 3,4	6,51 ± 9	4,51 ± 2,7
B		3,08 ± 3,4	4,26 ± 3,8	2,3 ± 0,7	6,41 ± 6,1	5,21 ± 4,3	2,99 ± 1,7
C		1,91 ± 2,3	8,02 ± 8,1	3,48 ± 2,4	3,56 ± 2,5	5,54 ± 7,1	3,48 ± 2,1
A	Retrograd geschlossen mit peripherem Widerstand	1,52 ± 1,2	2,7 ± 2	1,42 ± 0,9	2,42 ± 1,9	5,27 ± 5,6	2,52 ± 1,9
B		1,24 ± 1,5	2,09 ± 1,1	0,83 ± 0,5	1,81 ± 1,9	3,03 ± 2,7	1,24 ± 1
C		1,38 ± 1,6	5,97 ± 4,9	1,67 ± 1,2	1,84 ± 1,8	4,72 ± 4,7	1,57 ± 0,9
A	Retrograd offen ohne peripheren Widerstand	2,35 ± 1,9	2,65 ± 2,1	1,91 ± 1,8	1,61 ± 0,8	6,56 ± 9,1	3,88 ± 3,1
B		2,09 ± 1,8	3,12 ± 2,4	2,2 ± 1,5	3,44 ± 2,3	4,07 ± 3,9	3,12 ± 4
C		2,09 ± 1,2	5,23 ± 5,7	2,46 ± 2,2	2,56 ± 3	4,53 ± 4,6	2,22 ± 1,6
A	Retrograd offen mit peripherem Widerstand	1,58 ± 0,9	2,5 ± 1,3	1,54 ± 1,3	0,99 ± 0,7	5,53 ± 8,5	3,47 ± 3,5
B		1,14 ± 0,7	2,26 ± 1,3	1,91 ± 1,6	2,13 ± 1,7	3,04 ± 3,1	2,83 ± 4,3
C		1,49 ± 1,1	3,46 ± 2,3	2,15 ± 1,5	1,53 ± 1,1	3,07 ± 3	1,47 ± 0,8
Arithmetic mean		1,8408	3,8392	2,0542	2,8208	4,7567	2,7750
95% CI for the mean		1,4862 - 2,1954	2,7082 - 4,9701	1,6186 - 2,4897	1,7640 - 3,8777	3,9598 - 5,5536	2,1321 - 3,4179
Variance		0,3115	3,1683	0,4700	2,7668	1,5731	1,0240
Standard deviation		0,5581	1,7800	0,6855	1,6634	1,2542	1,0119
Standard error of the mean		0,1611	0,5138	0,1979	0,4802	0,3621	0,2921

Distale Anastomose		Tabelle 6					
Vorticity		Zentral- strom	Hauben- region	Fersen- region	Boden	Übergangs- zone 1	Übergangs- zone 2
A	Retrograd geschlossen ohne peripheren Widerstand	-66 ± 44	76 ± 89	-8 ± 100	-70 ± 198	216 ± 359	-65 ± 212
B		93 ± 141	-174 ± 184	2 ± 130	5 ± 307	-315 ± 261	43 ± 239
C		-68 ± 75	326 ± 339	3 ± 2	-19 ± 157	250 ± 309	-13 ± 184
A	Retrograd geschlossen mit peripherem Widerstand	-37 ± 32	73 ± 76	-30 ± 39	-102 ± 80	189 ± 237	-86 ± 68
B		27 ± 33	-75 ± 64	36 ± 41	58 ± 66	-204 ± 130	76 ± 101
C		-52 ± 86	265 ± 209	-97 ± 96	-44 ± 44	191 ± 206	-63 ± 63
A	Retrograd offen ohne peripheren Widerstand	-60 ± 79	65 ± 72	-36 ± 72	-20 ± 37	208 ± 342	-63 ± 154
B		76 ± 89	-124 ± 134	63 ± 118	1 ± 165	-267 ± 450	122 ± 244
C		-51 ± 83	232 ± 236	-142 ± 208	-13 ± 44	188 ± 228	-72 ± 144
A	Retrograd offen mit peripherem Widerstand	-48 ± 38	59 ± 53	-35 ± 50	4 ± 11	173 ± 287	-118 ± 113
B		35 ± 33	-77 ± 79	79 ± 93	-15 ± 46	-186 ± 255	138 ± 202
C		-18 ± 47	149 ± 123	-150 ± 170	-1 ± 21	137 ± 157	-73 ± 89
Arithmetic mean		-14,0833	9,4167	-26,2500	-18,0000	48,3333	-14,5000
95% CI for the mean		-50,3712 - 22,2046	-3,9535 - 22,7868	-72,7068 - 20,2068	-43,6405 - 7,6405	-90,7844 - 187,4510	-69,7559 - 40,7559
Variance		3261,9015	442,8106	5346,2045	1628,5455	47941,5152	7563,1818
Standard deviation		57,1131	21,0431	73,1177	40,3552	218,9555	86,9666
Standard error of the mean		16,4871	6,0746	21,1073	11,6496	63,2070	25,1051

Distale Anastomose					Tabelle 7
Scherstress	Paired samples t-test				
Verglichene Regionen	Ferse/Übergangszone 1	Übergangszone 1/Zentralstrom	Zentralstrom/Übergangszone 2	Übergangszone 2/Haube	
Mean difference	2,7025	-2,9158	0,9342	1,0642	
Standard deviation	1,1830	1,0367	0,8596	2,0235	
95% CI	1,9508 - 3,4542	-3,5745 - -2,2571	0,3880 - 1,4803	-0,2215 - 2,3498	
Test statistic t	7,913	-9,743	3,764	1,822	
Two-tailed probability P	< 0,0001	< 0,0001	0,0031	1,822 (n.s.)	

n.s. = nicht signifikant

Distale Anastomose				Tabelle 8
Scherstress	Paired samples t-test			
Verglichene Regionen	Boden/Ferse	Boden/Haube	Ferse/Haube	
Mean difference	0,7667	1,0183	1,7850	
Standard deviation	1,4104	2,0593	1,3758	
95% CI	-0,1294 - 1,6628	-0,2901 - 2,3267	0,9108 - 2,6592	
Test statistic t	1,883	1,713	4,494	
Two-tailed probability P	0,0864 (n.s.)	0,1147 (n.s.)	0,0009	

n.s. = nicht signifikant

Proximale Anastomose						Tabelle 9
Geschwindigkeit	Zentralstrom 2	Konkav 2	Konvex	Zentralstrom 1	Konkav 1	Übergangszone
Retrograd geschlossen ohne peripheren Widerstand	14 ± 9	12 ± 9	21 ± 19	17 ± 13	2 ± 1	11 ± 7
Retrograd geschlossen mit peripherem Widerstand	10 ± 7	6 ± 4	15 ± 12	11 ± 9	1 ± 1	6 ± 6
Retrograd offen ohne peripheren Widerstand	15 ± 9	12 ± 9	21 ± 19	18 ± 15	2 ± 1	13 ± 9
Retrograd offen mit peripherem Widerstand	11 ± 9	8 ± 7	17 ± 15	11 ± 9	1 ± 0	6 ± 6
Arithmetic mean	12,5000	9,5000	18,5000	14,2500	1,5000	9,0000
95% CI for the mean	8,7121 - 16,2879	4,7263 - 14,2737	13,7263 - 23,2737	8,2433 - 20,2567	0,5813 - 2,4187	3,3368 - 14,6632
Variance	5,6667	9,0000	9,0000	14,2500	0,3333	12,6667
Standard deviation	2,3805	3,0000	3,0000	3,7749	0,5774	3,5590
Standard error of the mean	1,1902	1,5000	1,5000	1,8875	0,2887	1,7795

± SD = Standardabweichung

Proximale Anastomose						Tabelle 10
Scherstress	Zentralstrom 2	Konkav 2	Konvex	Zentralstrom 1	Konkav 1	Übergangszone
Retrograd geschlossen ohne peripheren Widerstand	1,74 ± 0,8	4,31 ± 3,2	4,73 ± 4,1	1,98 ± 1,2	1,41 ± 0,6	5,58 ± 4,2
Retrograd geschlossen mit peripherem Widerstand	1,23 ± 0,8	2,54 ± 1,9	2,94 ± 1,9	1,27 ± 0,7	0,94 ± 0,5	2,45 ± 1,9
Retrograd offen ohne peripheren Widerstand	1,65 ± 1,2	4,25 ± 3,2	5,02 ± 4,3	2,42 ± 1,7	1,68 ± 0,5	4,91 ± 4,1
Retrograd offen mit peripherem Widerstand	1,3 ± 0,8	3,22 ± 2,8	3,69 ± 3,2	1,26 ± 0,9	0,71 ± 0,3	2,77 ± 2
Arithmetic mean	1,4800	3,5800	4,0950	1,7325	1,1850	3,9275
95% CI for the mean	1,0781 - 1,8819	2,2195 - 4,9405	2,5696 - 5,6204	0,8272 - 2,6378	0,4846 - 1,8854	1,4592 - 6,3958
Variance	0,06380	0,7310	0,9190	0,3237	0,1938	2,4063
Standard deviation	0,2526	0,8550	0,9586	0,5689	0,4402	1,5512
Standard error of the mean	0,1263	0,4275	0,4793	0,2845	0,2201	0,7756

± SD = Standardabweichung

Proximale Anastomose						Tabelle 11
Vorticity	Zentralstrom 2	Konkav 2	Konvex	Zentralstrom 1	Konkav 1	Übergangszone
Retrograd geschlossen ohne peripheren Widerstand	-12 ± 32	64 ± 114	20 ± 60	91 ± 85	1 ± 83	110 ± 162
Retrograd geschlossen mit peripherem Widerstand	7 ± 24	67 ± 54	-28 ± 45	51 ± 42	15 ± 42	66 ± 60
Retrograd offen ohne peripheren Widerstand	-7 ± 35	72 ± 128	26 ± 62	99 ± 96	-3 ± 85	106 ± 158
Retrograd offen mit peripherem Widerstand	-7 ± 33	77 ± 81	-11 ± 42	57 ± 40	9 ± 39	82 ± 72
Arithmetic mean	-4,7500	70,0000	1,7500	74,5000	5,5000	91,0000
95% CI for the mean	-17,7666 - 8,2666	60,9054 - 79,0946	-39,0130 - 42,5130	36,2775 - 112,7225	-7,3289 - 18,3289	57,9781 - 124,0219
Variance	66,9167	32,6667	656,2500	577,0000	65,0000	430,6667
Standard deviation	8,1803	5,7155	25,6174	24,0208	8,0623	20,7525
Standard error of the mean	4,0901	2,8577	12,8087	12,0104	4,0311	10,3763

± SD = Standardabweichung

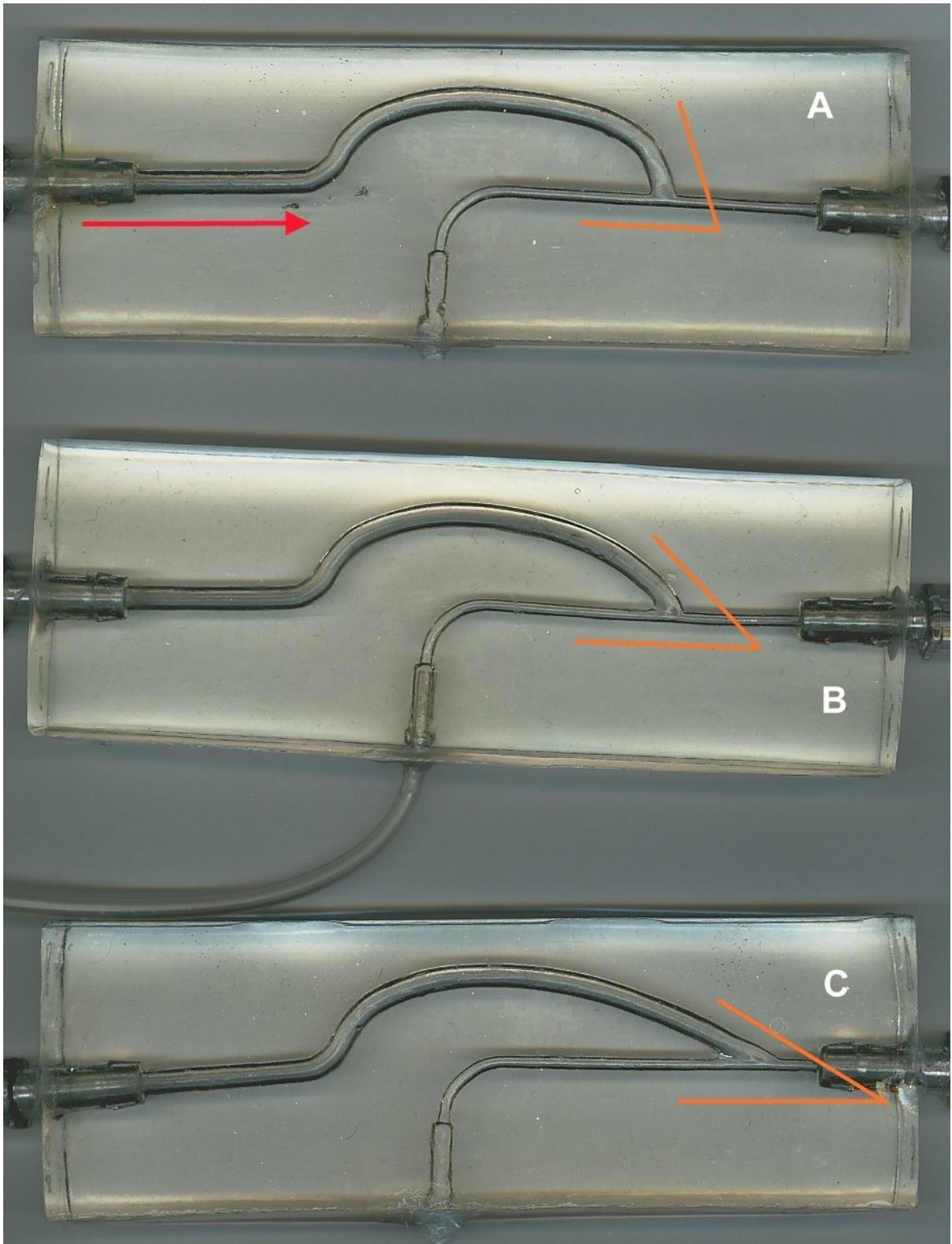
Proximale Anastomose		Tabelle 12	
Scherstress	Independent samples t-test		
Verglichene Regionen	Konvex / Zentralstrom gesamt	Zentralstrom gesamt / Übergangszone	Übergangszone / Konkav gesamt
Correction for unequal variances	T-test (assuming equal variances)	Welch-test (assuming unequal variances)	T-test (assuming equal variances)
Difference	-2,4887	2,3212	-1,5450
Standard error	0,3896	0,7903	0,8972
95% CI of difference	-3,3567 to -1,6208	-0,1939 to 4,8364	-3,5441 to 0,4541
Test statistic t	-6,389	2,937	-1,722
Two-tailed probability P	0,0001	0,0607 (n.s.)	0,1158 (n.s.)

n.s. = nicht signifikant

Proximale Anastomose – Querschnitt 1		Tabelle 13	
Scherstress	Paired samples t-test		
Verglichene Regionen	Konvex / Zentralstrom 1	Zentralstrom 1 / Übergangszone	Übergangszone / Konkav 1
Mean difference	-2,3625	2,1950	-2,7425
Standard deviation	0,4798	1,0894	1,1917
95% CI	-3,1260 to -1,5990	0,4615 to 3,9285	-4,6387 to -0,8463
Test statistic t	-9,847	4,030	-4,603
Two-tailed probability P	0,0022	0,0275	0,0193

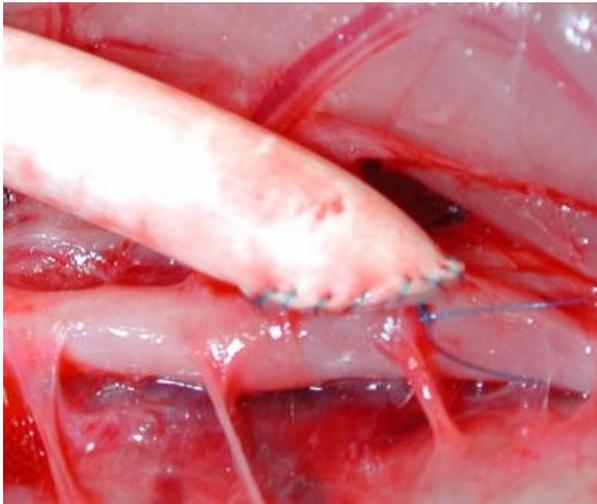
Proximale Anastomose – Querschnitt 2		Tabelle 14	
Scherstress	Paired samples t-test		
Verglichene Regionen	Konvex / Zentralstrom 2	Zentralstrom 2 / Übergangszone	Übergangszone / Konkav 2
Mean difference	-2,6150	2,4475	-0,3475
Standard deviation	0,7258	1,2989	0,7694
95% CI	-3,7699 to -1,4601	0,3806 to 4,5144	-1,5718 to 0,8768
Test statistic t	-7,206	3,769	-0,903
Two-tailed probability P	0,0055	0,0327	0,4330 (n.s.)

n.s. = nicht signifikant

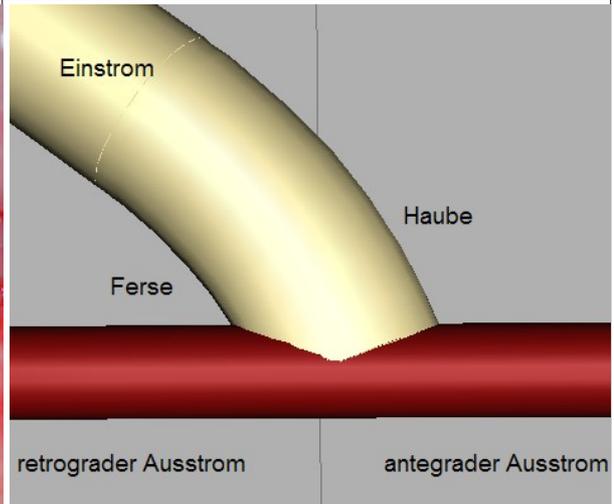


Bypassmodelle A, B und C aus Elastosil.

**Abbildung 2**

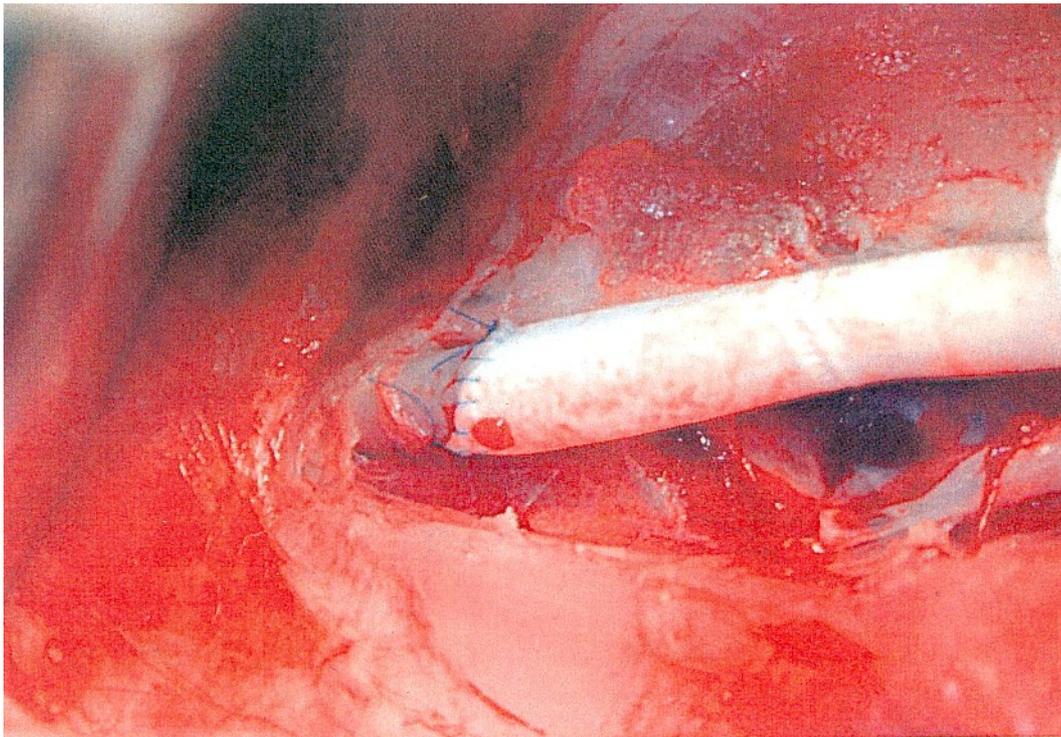


**Abbildung 3**



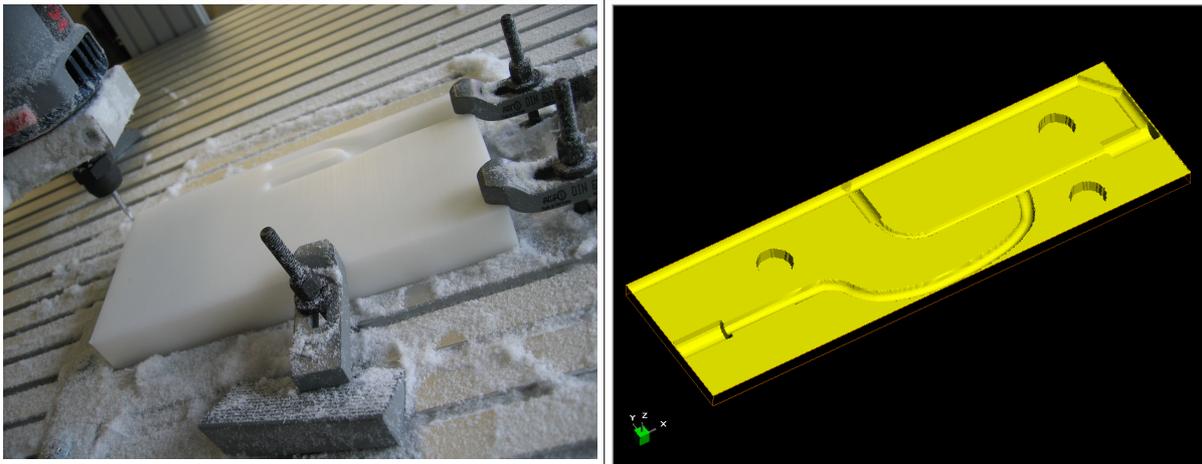
Links: Distale Bypassanastomose; rechts: Software-gestützte Konstruktion.

**Abbildung 4**



Proximale Bypassanastomose.

**Abbildung 5**



Links: Fräsbohrer mit eingespanntem Werkstück, rechts die Simulation des Resultates.

**Abbildung 6**



Zusammensetzen der Gusschalen mittels Schraubzwingen.

**Abbildung 7**



Die auf einem Herd verflüssigte Wolframlegierung wurde mit Hilfe eines aluminiumbeschichteten Papptrichters in den Eingusschacht gegossen.

**Abbildung 8**



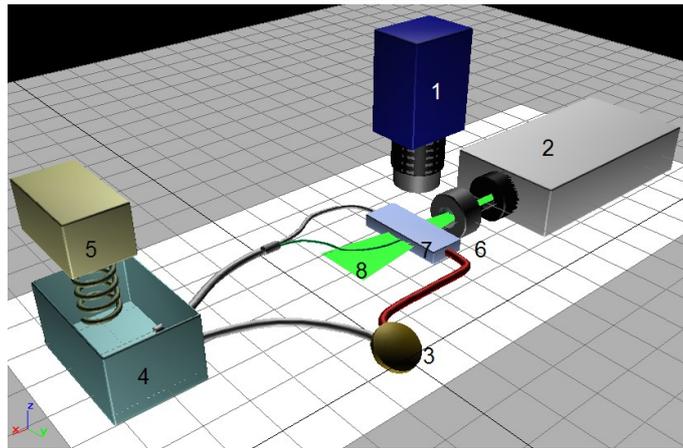
In Elastosil eingegossener Guss.

**Abbildung 9**



Der Wolframinguss wurde mittels einer Elastosil-Maske exakt waagrecht positioniert.

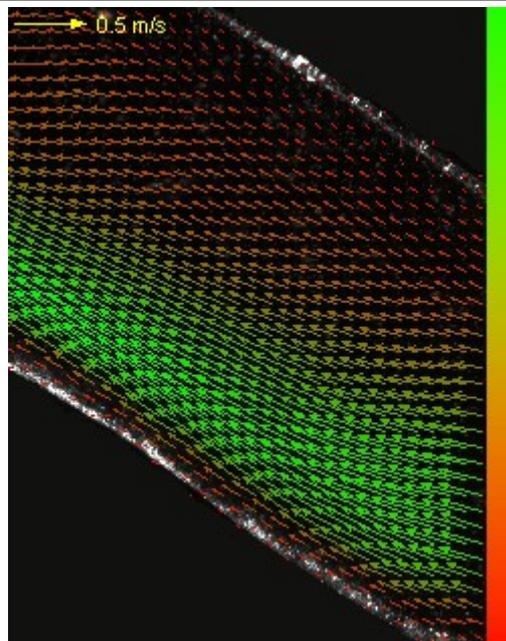
Abbildung 10



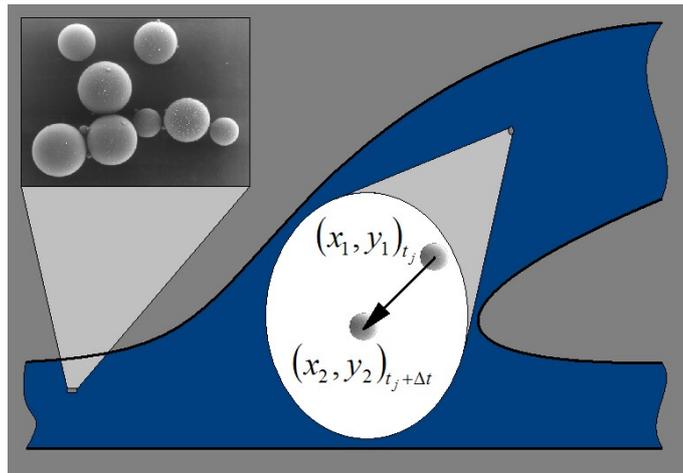
Darstellung des für die PIV verwendeten Modellkreislaufs. Das Silikonmodell der Anastomose wird mit einer pulsatilen Strömung perfundiert. Die CCD-Kamera erfasst den durch einen getriggerten Nd:YAG-Laser Lichtschnitt, der durch das Zentrum der Anastomose geführt wurde.

**1: CCD-Kamera, 2: Nd:YAG-Laser, 3: pneumatisches Kunstherz, 4: Flüssigkeitsreservoir, 5: Badthermostat, 6: Zylinderlinse, 7: Modellanastomose, 8: Light sheet.**

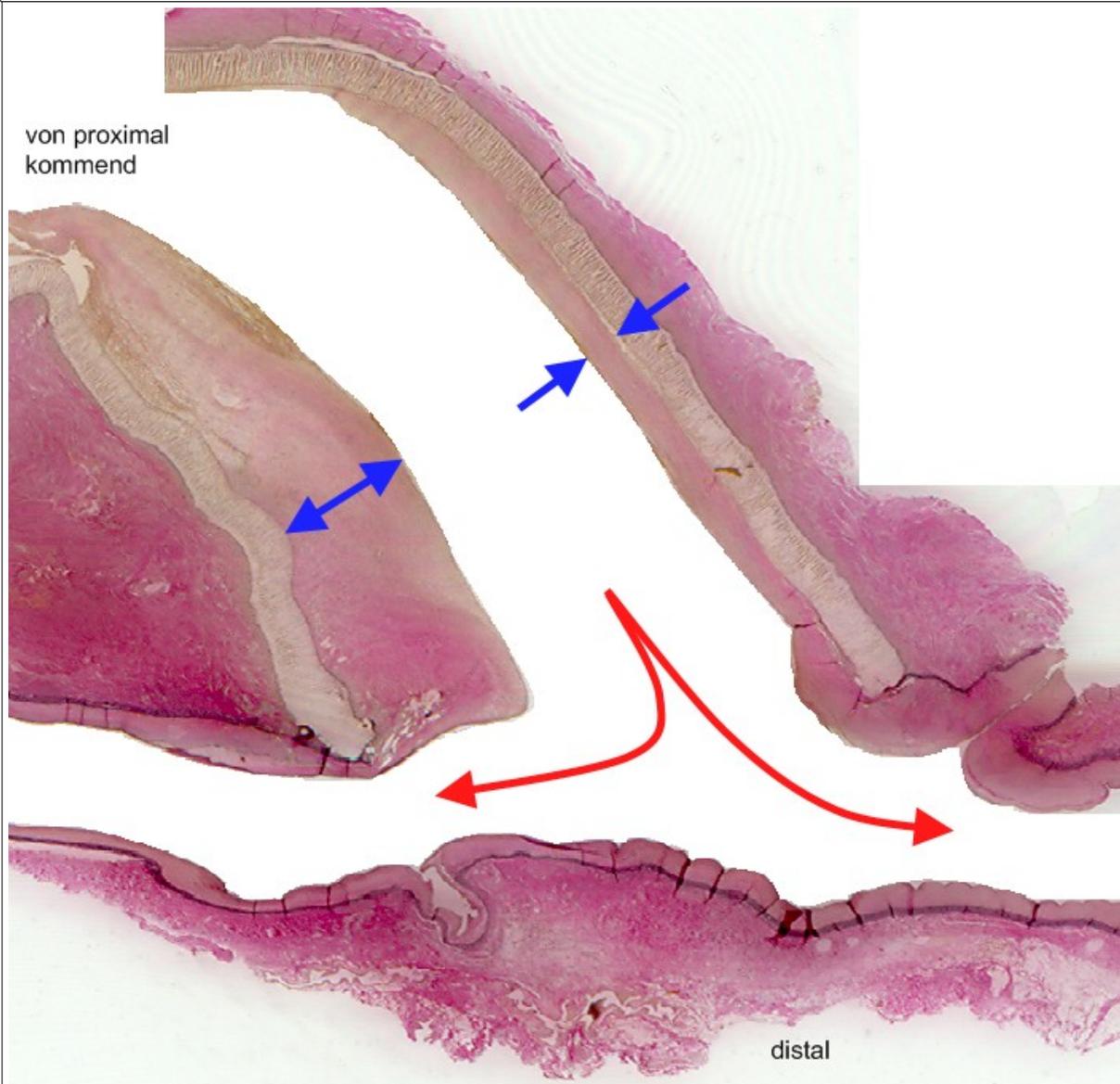
Abbildung 11



Ausschnitt eines Geschwindigkeitsvektorfeldes. Der Betrag der Geschwindigkeit ist farbkodiert dargestellt. Aus dem Vektorfeld berechnet die Software die Vorticity und den Scherstress.

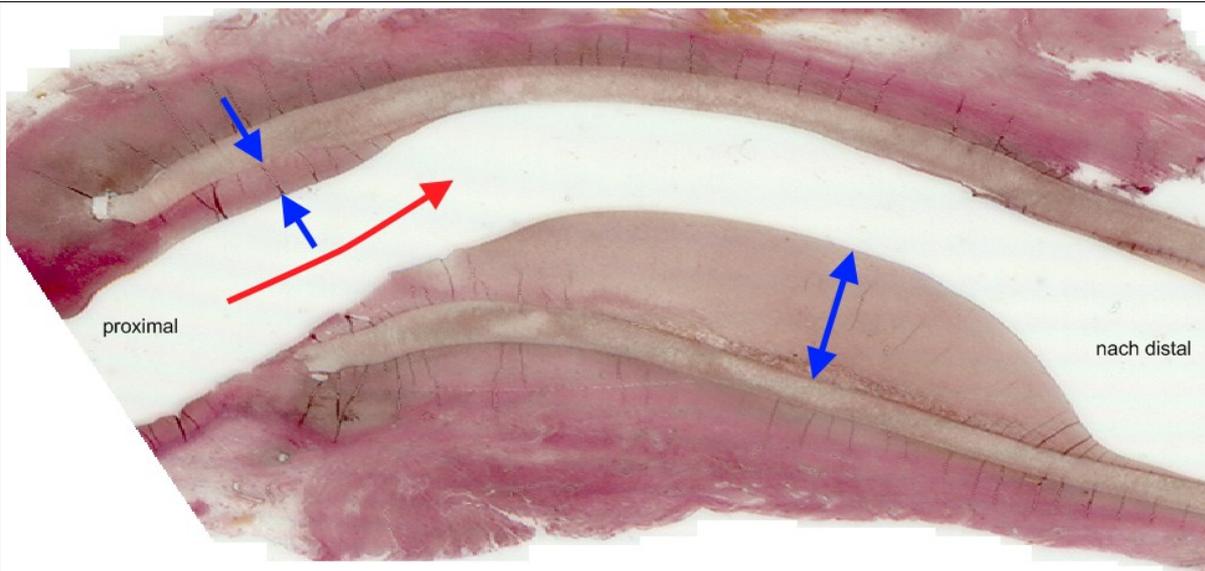


Die Partikelverschiebungen zwischen beiden Belichtungen wurden für jedes Interrogationsareal individuell berechnet. Lokale Geschwindigkeiten und Richtungen der Fluidpartikel wurden mit Hilfe von Pfeildiagrammen dargestellt, wobei die Pfeillänge proportional zur gemessenen Geschwindigkeit war. Oben links: Rasterelektronenmikroskopische Aufnahme der Glasmikrosphären (9-13  $\mu\text{m}$  / Fa. LaVision), welche als Tracer-Partikel in der Modellflüssigkeit dienen. Das Streulicht dieser Partikel wird für die Berechnung der lokalen Geschwindigkeitsvektoren genutzt.



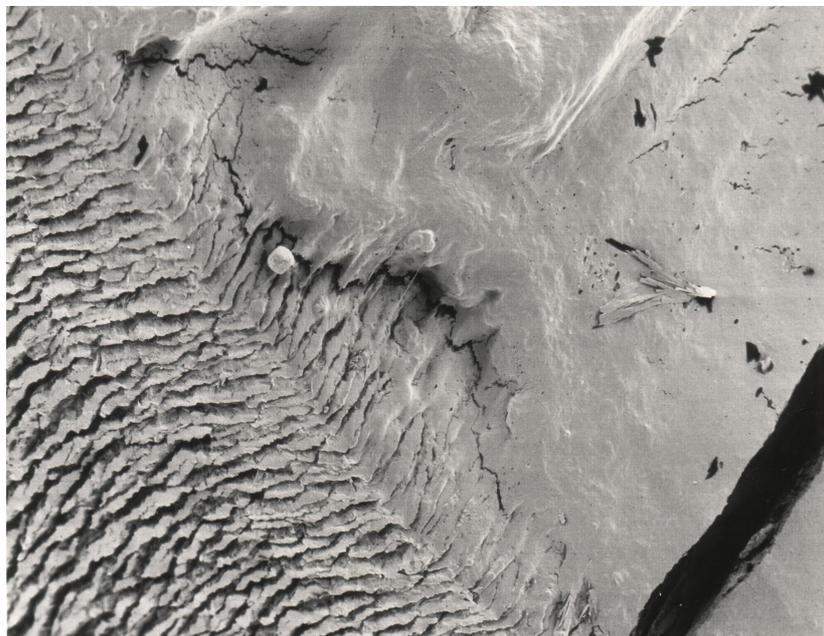
Histologie der distalen Bypassanatomose. Vgl. Abbildung 2. Blaue Pfeile: Pseudointima. Rote Pfeile: retrograder und antegrader Abstrom.

Abbildung 14



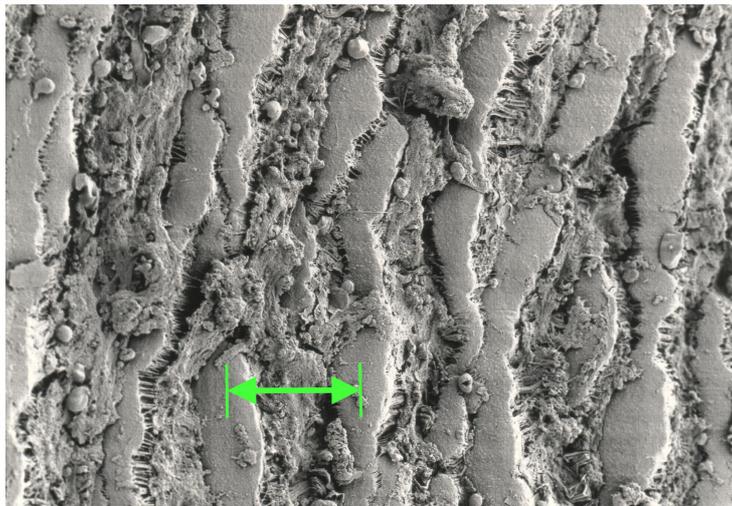
Histologie der proximalen Bypassanatomose. Vgl. Abbildung 4. Blaue Pfeile: Pseudointima. Roter Pfeil: Flussrichtung.

Abbildung 15



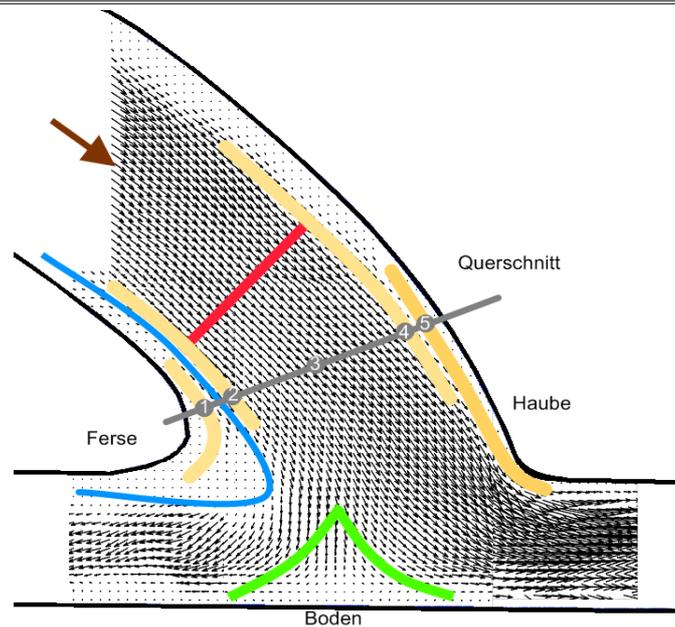
Innenfläche einer explantierten unbeschichteten ePTFE-Prothese mit Pseudointima (Rasterelektronenmikroskop mit 200-facher Vergrößerung).

Abbildung 16



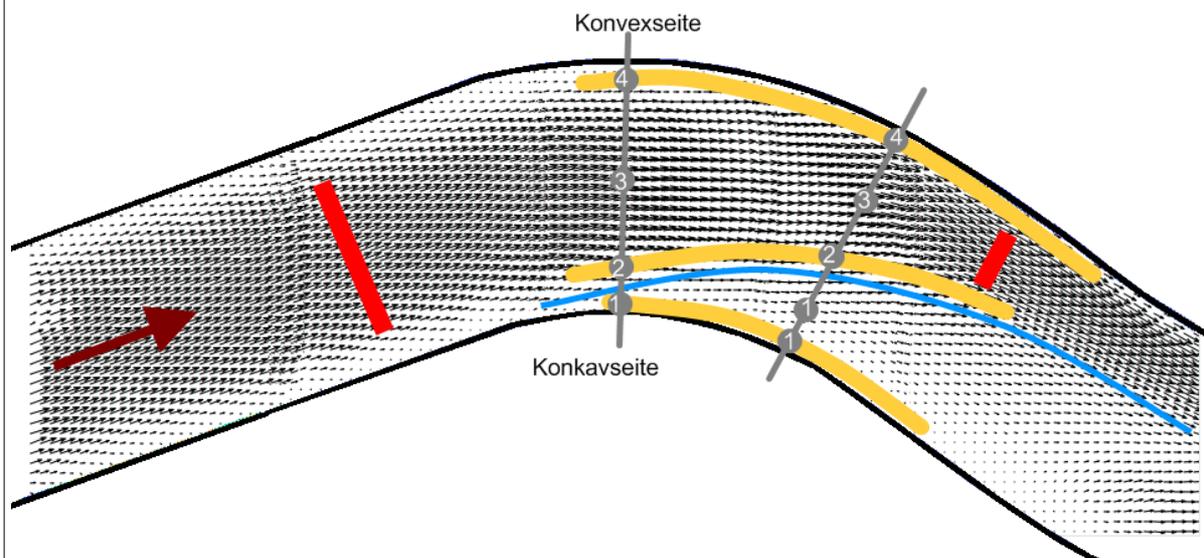
Innenfläche einer unbeschichteten ePTFE-Gefäßprothese im Rasterelektronenmikroskop mit Debridement (1000-fache Vergrößerung). Grüner Pfeil: internodaler Abstand.

Abbildung 17



Vektorrohdaten der PIV für die distale Bypassanastomose. Die rote Linie stellt den Zentralstrom dar, die blaue die Grenze zwischen Stagnationszone und Hauptstrom. Grüne Linie: Stagnationszone auf dem Anastomosenboden. Graue Linie: gedachter Schnitt (vgl. Abbildung 30, Tabelle 7 und 8).

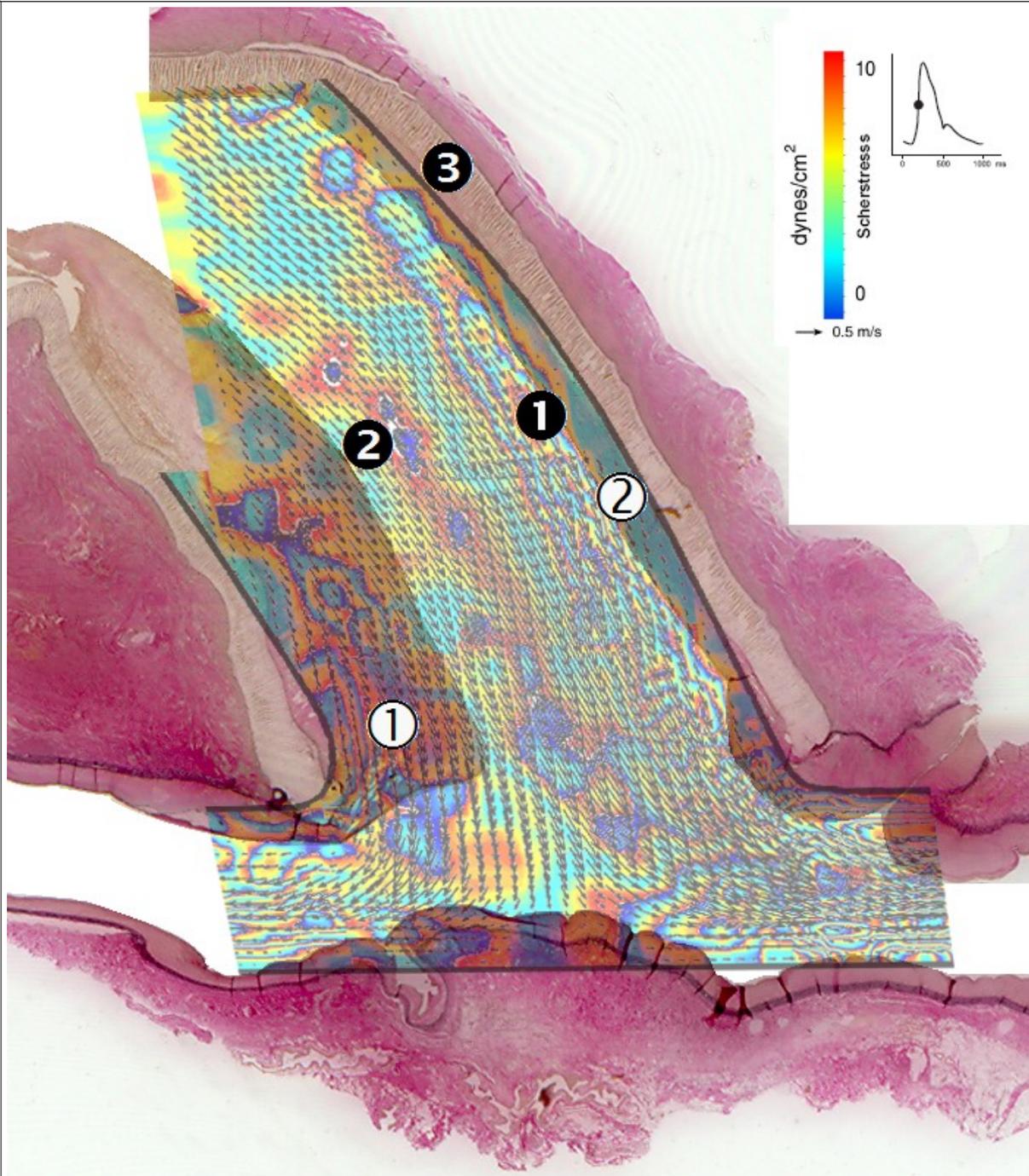
① Fersenzone; ② Übergangszone; ③ Zentralstrom; ④ Übergangszone 2; ⑤ Haubenregion.



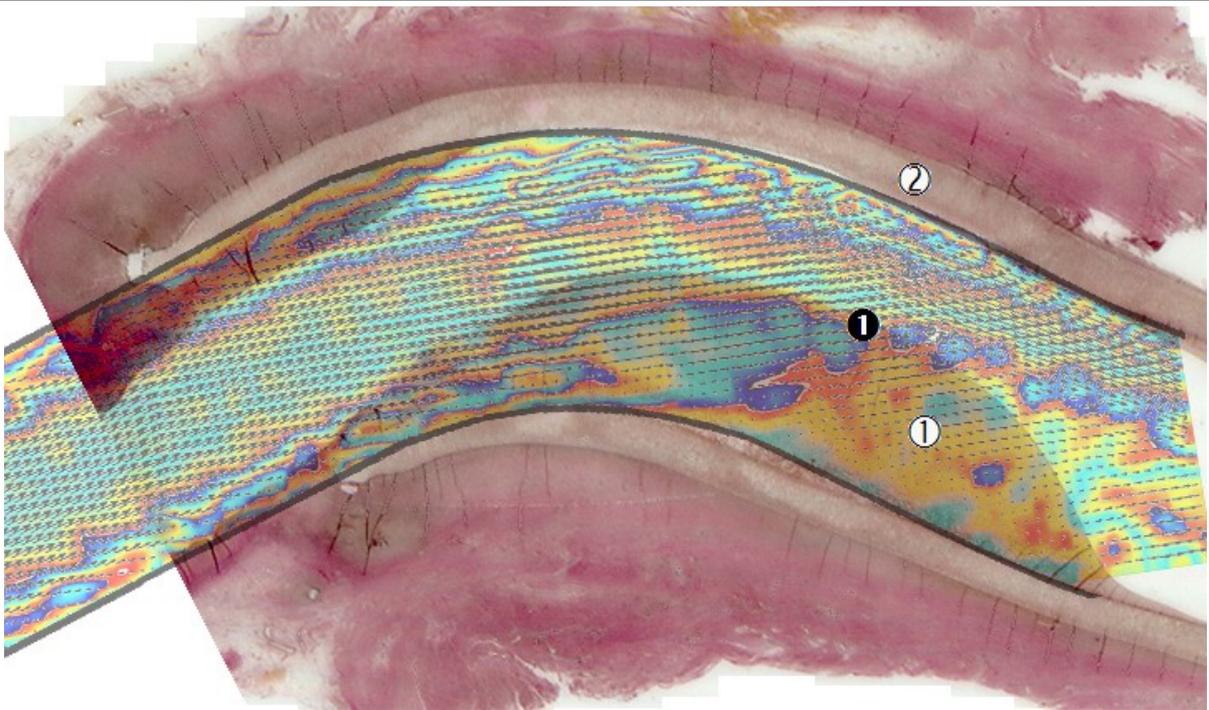
Vektorrohdaten der PIV für die proximale Bypassanastomose. Die roten Linien stellen den Zentralstrom dar, die blaue Linie zeigt die Grenze zwischen Stagnationszone und Hauptstrom. Graue Linien: gedachte Schnitte links: Querschnitt 1, rechts: Querschnitt 2 (vgl. Abbildungen 32 und 33, Tabelle 12-14).

① Konkavseite; ② Übergangszone; ③ Zentralstrom; ④ Konvexseite.

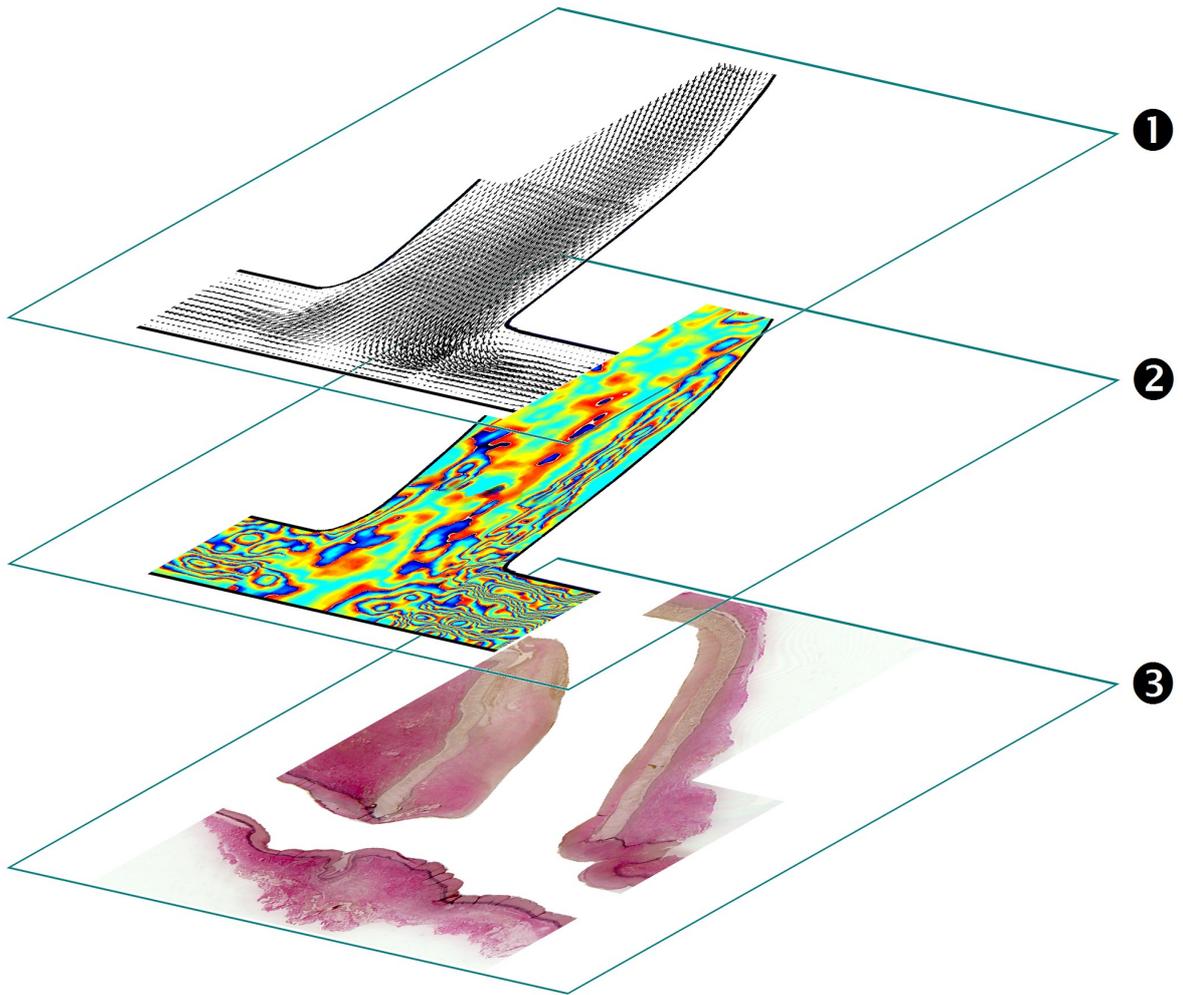
Abbildung 19



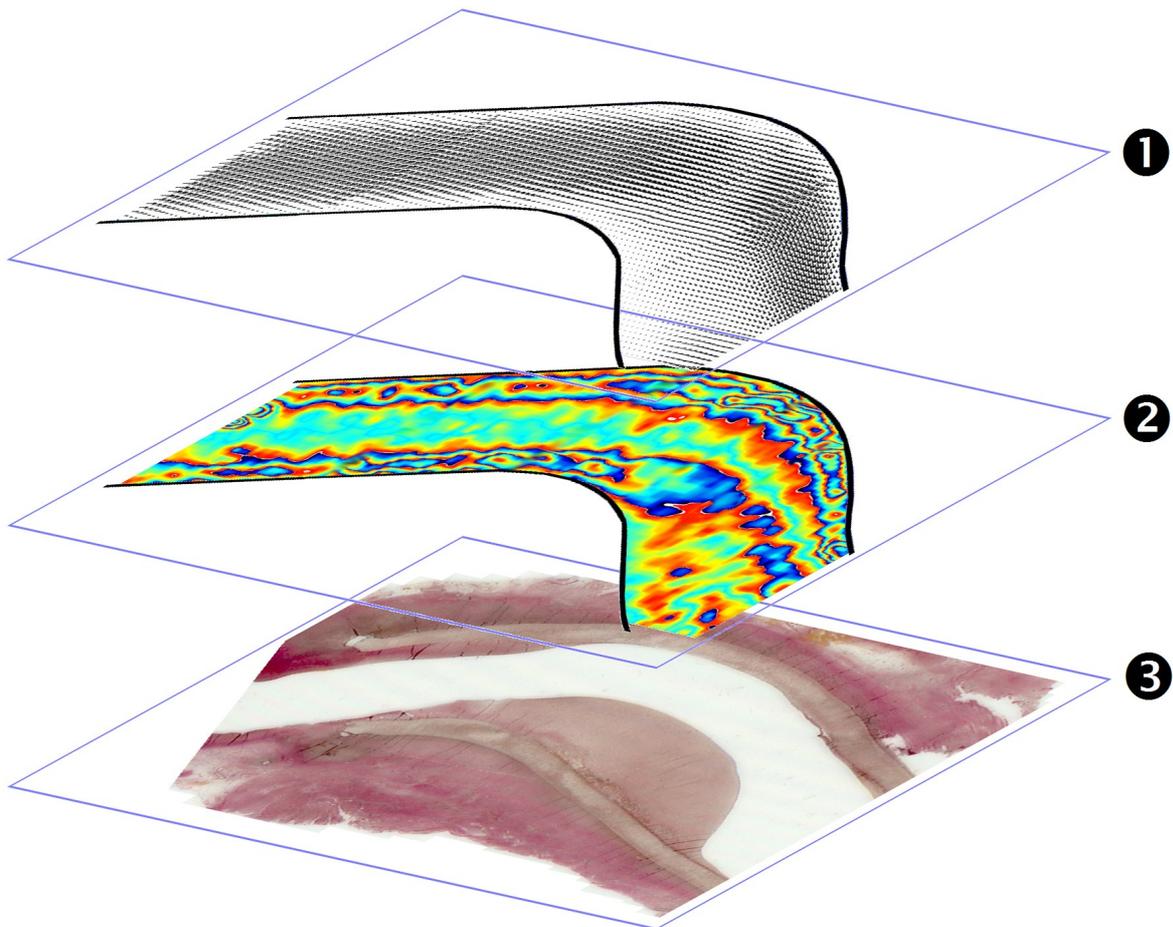
2D-Korrelation der Hämodynamik (Geschwindigkeitsvektorfeld und farbkodierter Scherstress) mit der Histologie der distalen Anastomose. Vgl. Abbildung 30, Tabelle 7 und 8. ① PI im Haubenbereich, ② PI im Fersenbereich, ③ ePTFE-Bypassprothese, ② Übergangszone 1, ① Übergangszone 2.



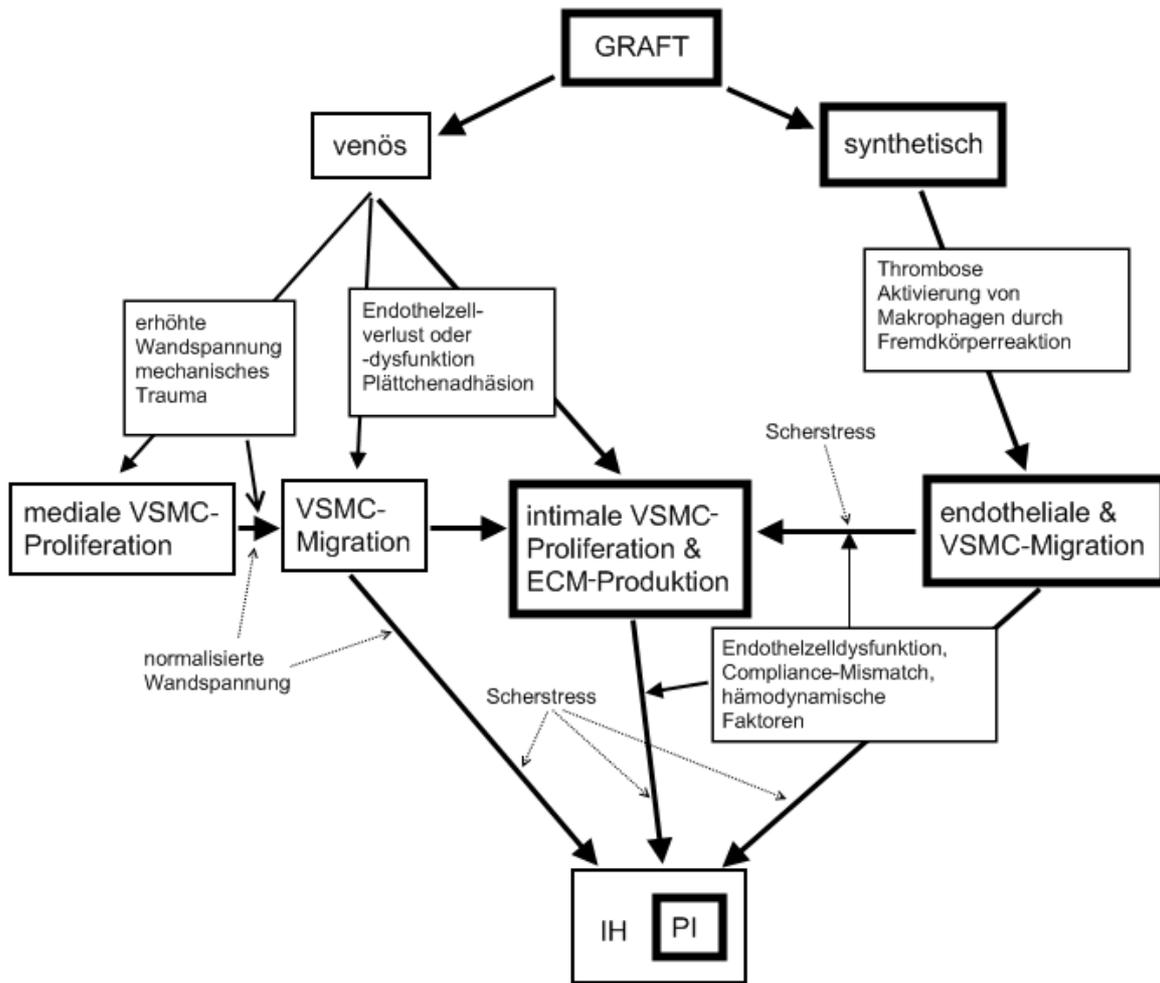
2D-Korrelation der Hämodynamik (Geschwindigkeitsvektorfeld und farbkodierter Scherstress) mit der Histologie der proximalen Anastomose. Vgl. Abbildungen 32 und 33, Tabelle 12-14. ① Stagnationszone konkavseitig, ② ePTFE-Bypassprothese; ③ Übergangszone zwischen Stagnationszone und Zentralstrom.



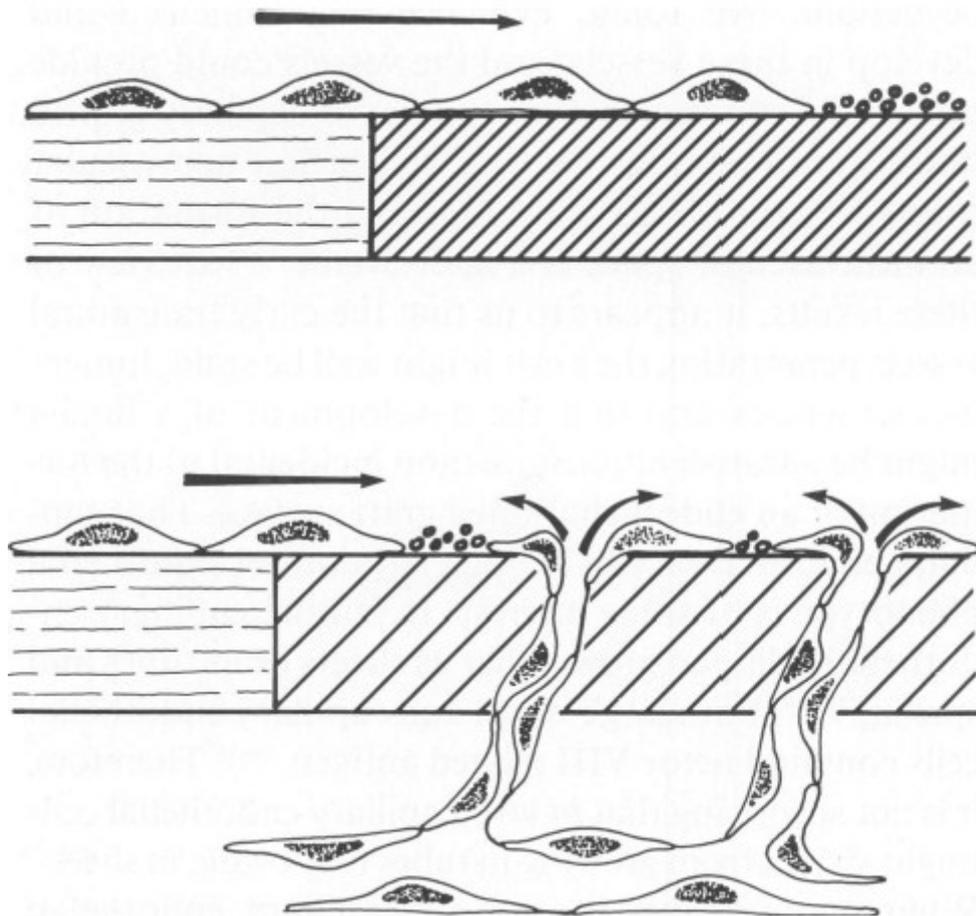
Übersichtsdarstellung der distalen Bypassanastomose. ❶ Geschwindigkeitsvektorfeld, ❷ Scherstressverteilung, ❸ Histologie des Bypasslängsschnittes.



Übersichtsdarstellung der proximalen Bypassanastomose. ❶ Geschwindigkeitsvektorfeld, ❷ Scherstressverteilung, ❸ Histologie des Bypasslängsschnittes.



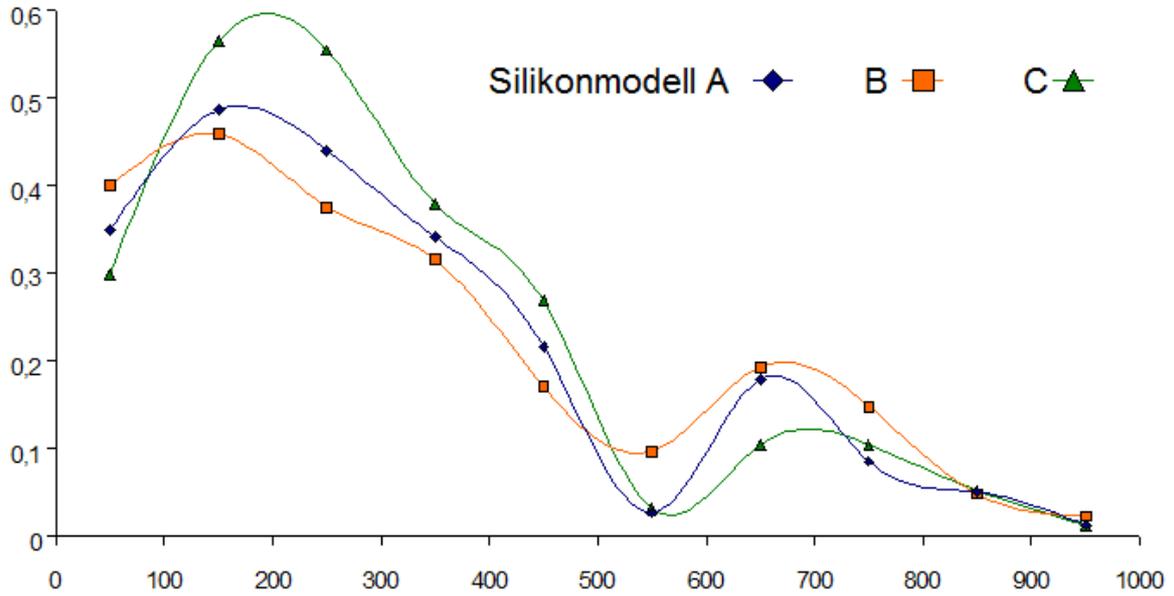
Hypothese der IH-Entwicklung<sup>123</sup>. Modifiziert durch Kraiss und Clowes<sup>124</sup>. Durchgehende Pfeile: stimulierende Faktoren, gepunktete Pfeile: inhibierende Faktoren. Dicke Umrandung: Pfad der PI-Entstehung.



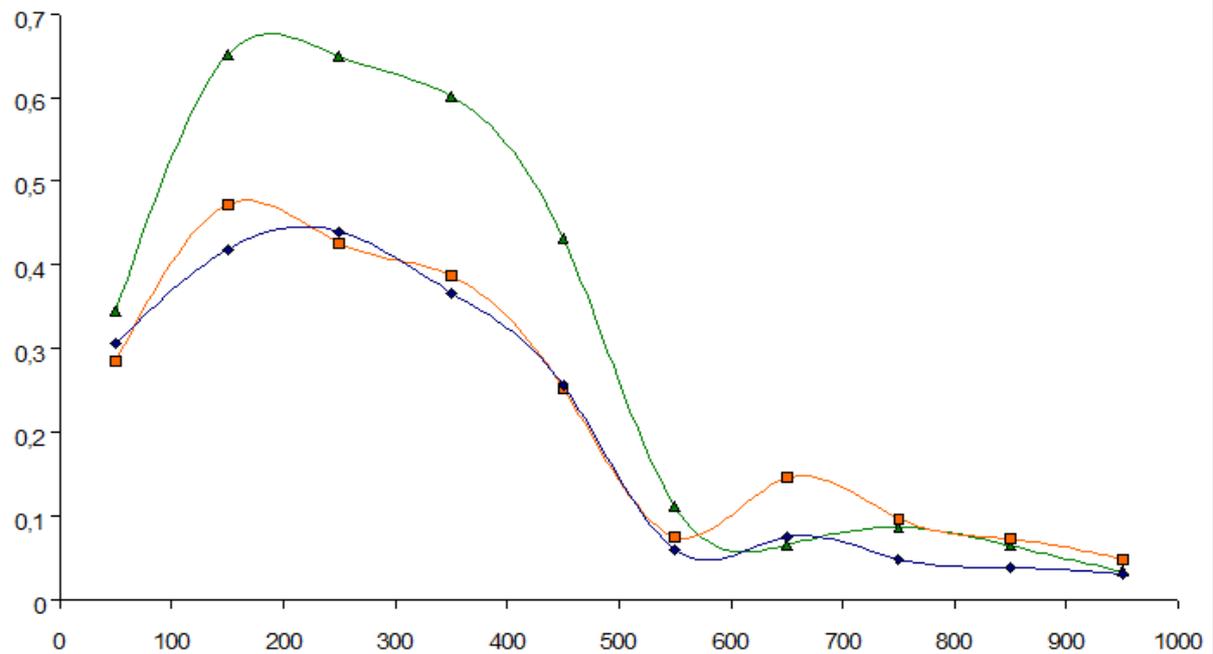
Schema möglicher endothelialer Reparaturprozesse im Anastomosenbereich zwischen Nativgefäß (jeweils links) und ePTFE-Prothese (jeweils rechts, schräge Schraffur). Oben: niedrig-poröses ePTFE, unten: hoch-poröses ePTFE. Skizze nach Clowes<sup>82</sup>.

mittlere Querschnittsgeschwindigkeit (Ordinate in [m/s]) im Einstromgebiet über eine Herzaktion  
(Abszisse in [ $\mu$ s])

retrograder Abstrom offen, kein peripherer Widerstand

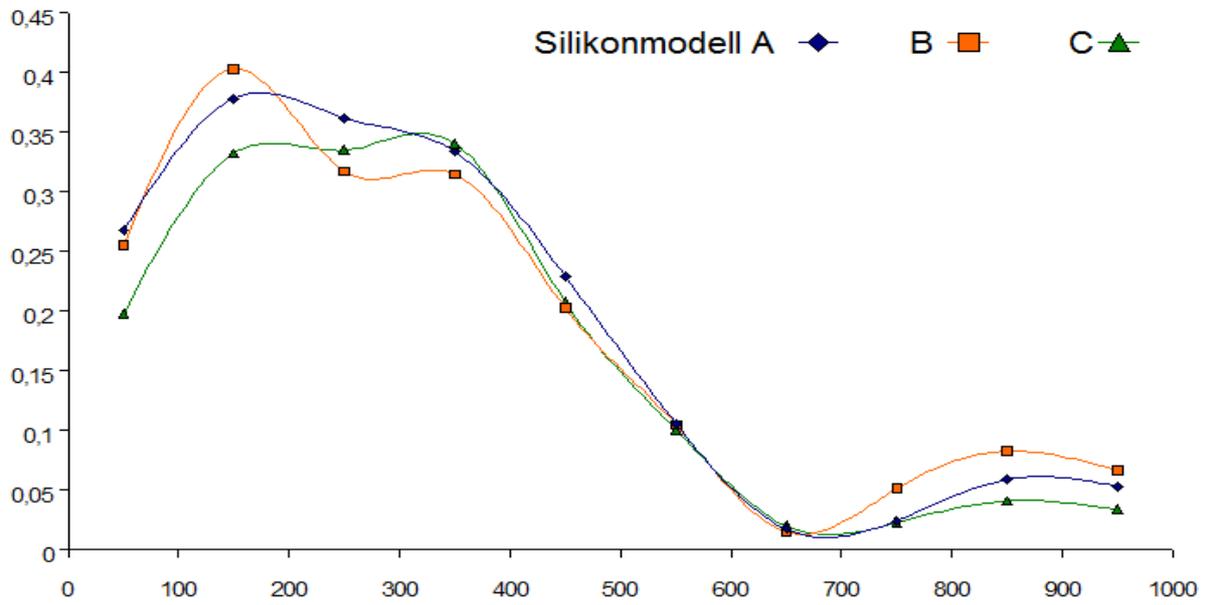


retrograder Abstrom geschlossen, kein peripherer Widerstand

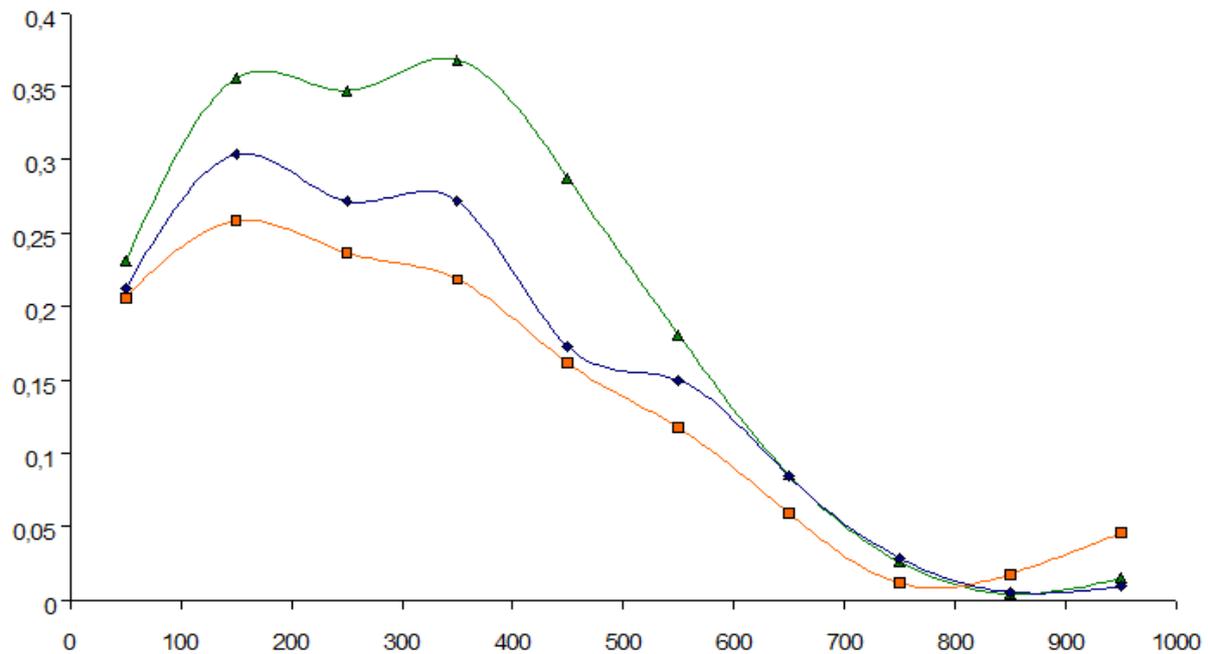


mittlere Querschnittsgeschwindigkeit (Ordinate in [m/s]) im Einstromgebiet über eine Herzaktion  
(Abszisse in [ $\mu$ s])

retrograder Abstrom offen, zusätzlicher peripherer Widerstand

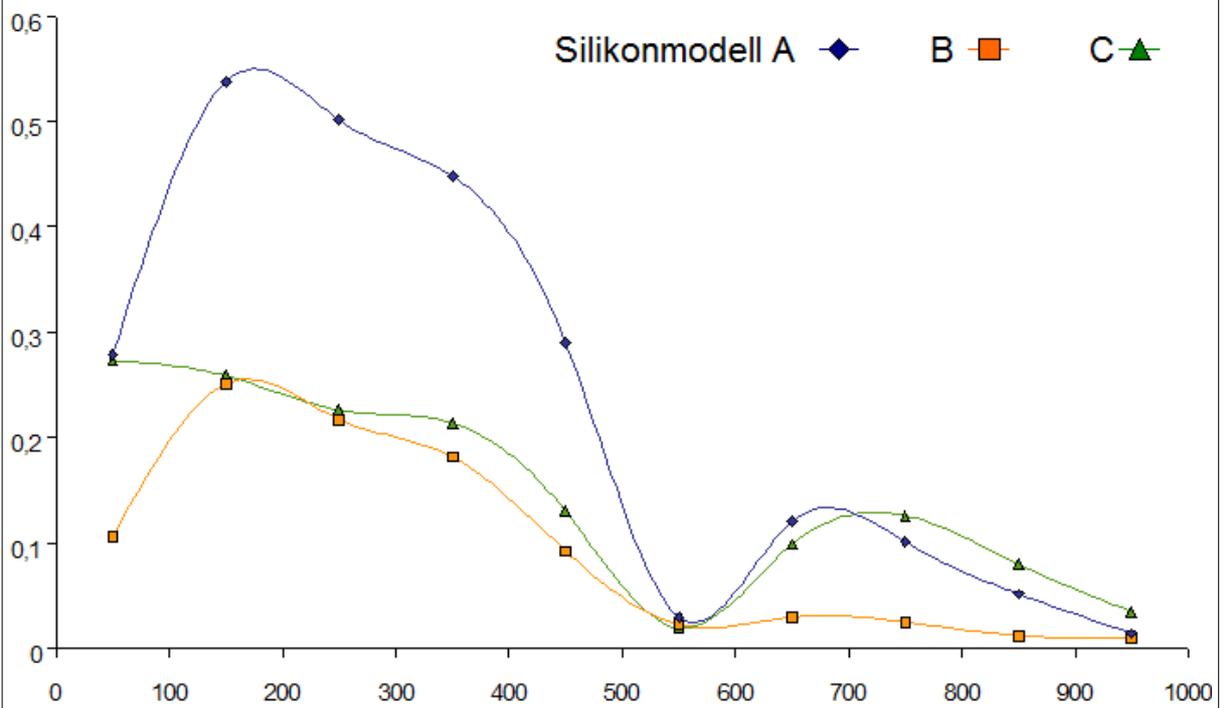


retrograder Abstrom geschlossen, zusätzlicher peripherer Widerstand

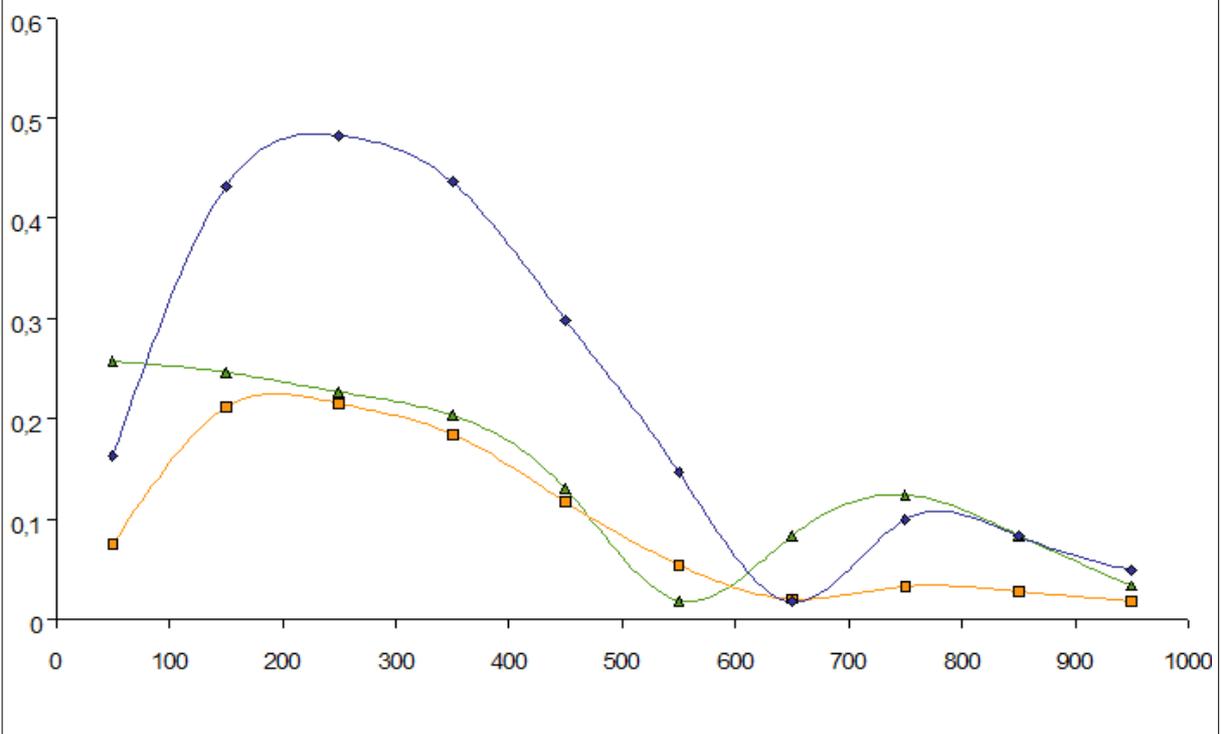


mittlere Querschnittsgeschwindigkeit (Ordinate in [m/s]) über eine Herzaktion (Abszisse in [ $\mu$ s])

retrograder Abstrom offen, kein peripherer Widerstand

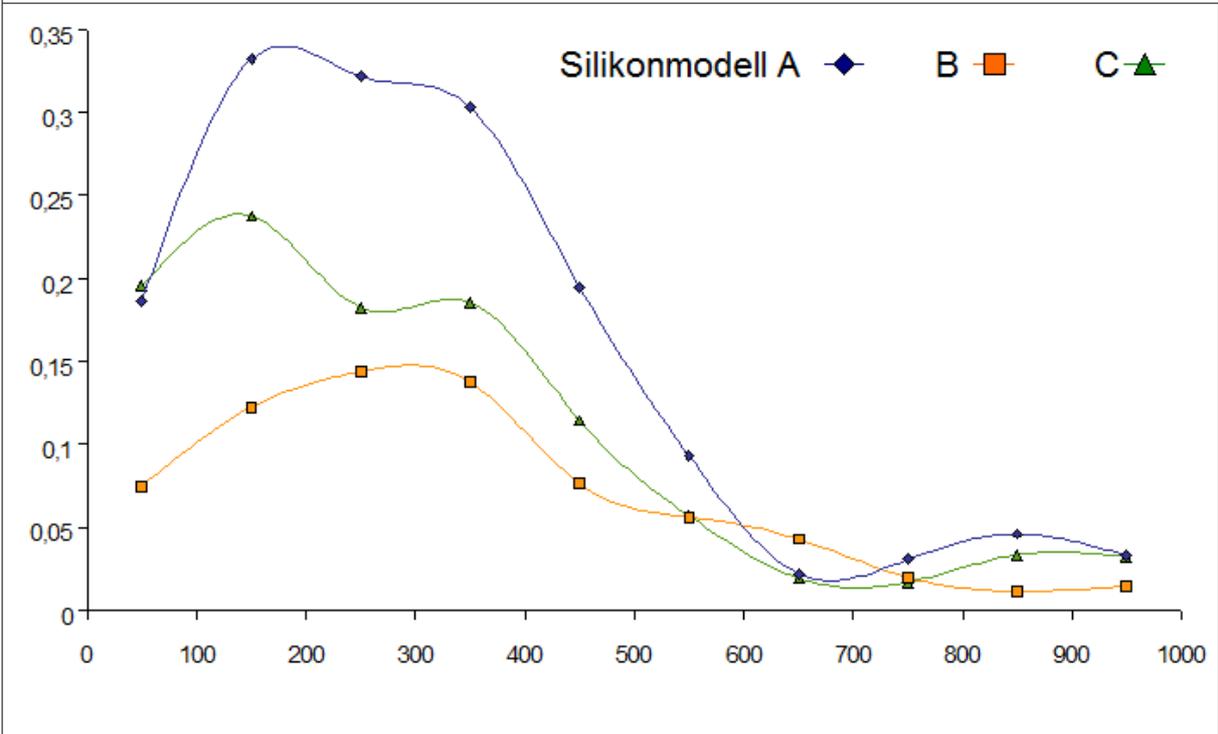


retrograder Abstrom geschlossen, kein peripherer Widerstand

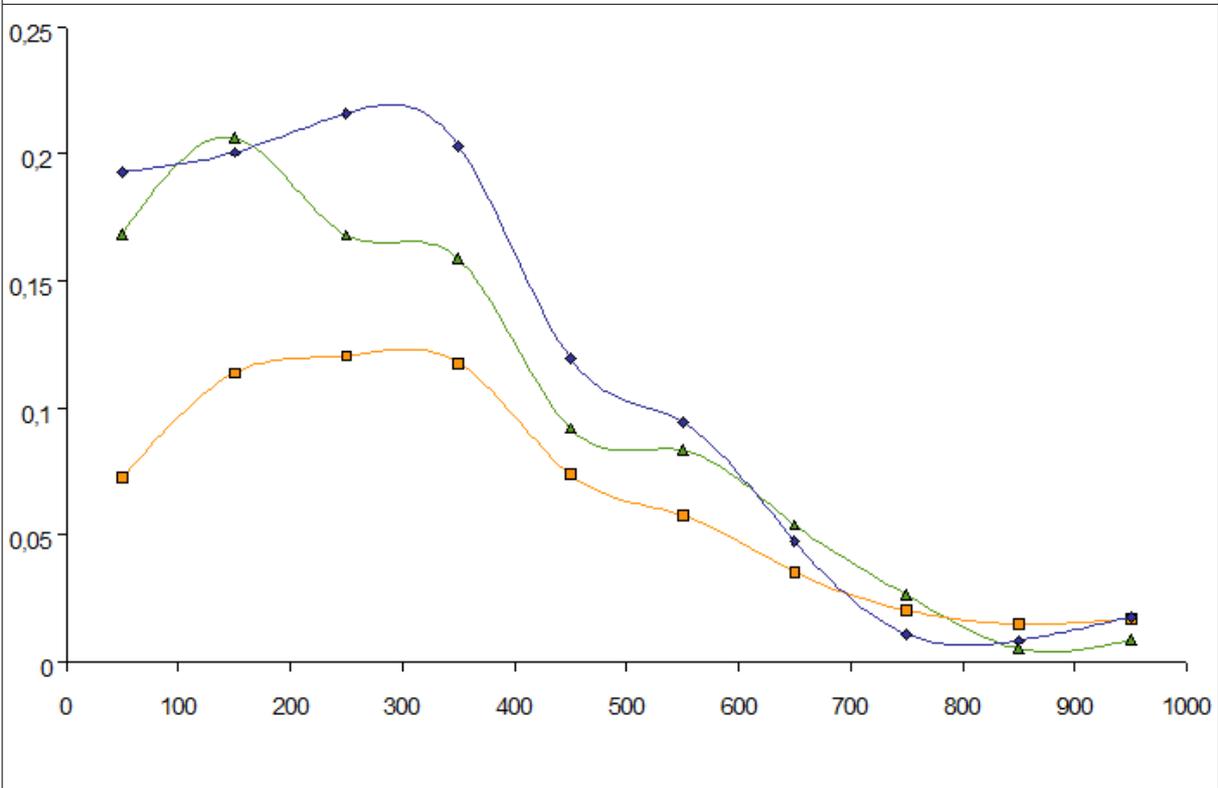


mittlere Querschnittsgeschwindigkeit (Ordinate in [m/s]) über eine Herzaktion (Abszisse in [ $\mu$ s])

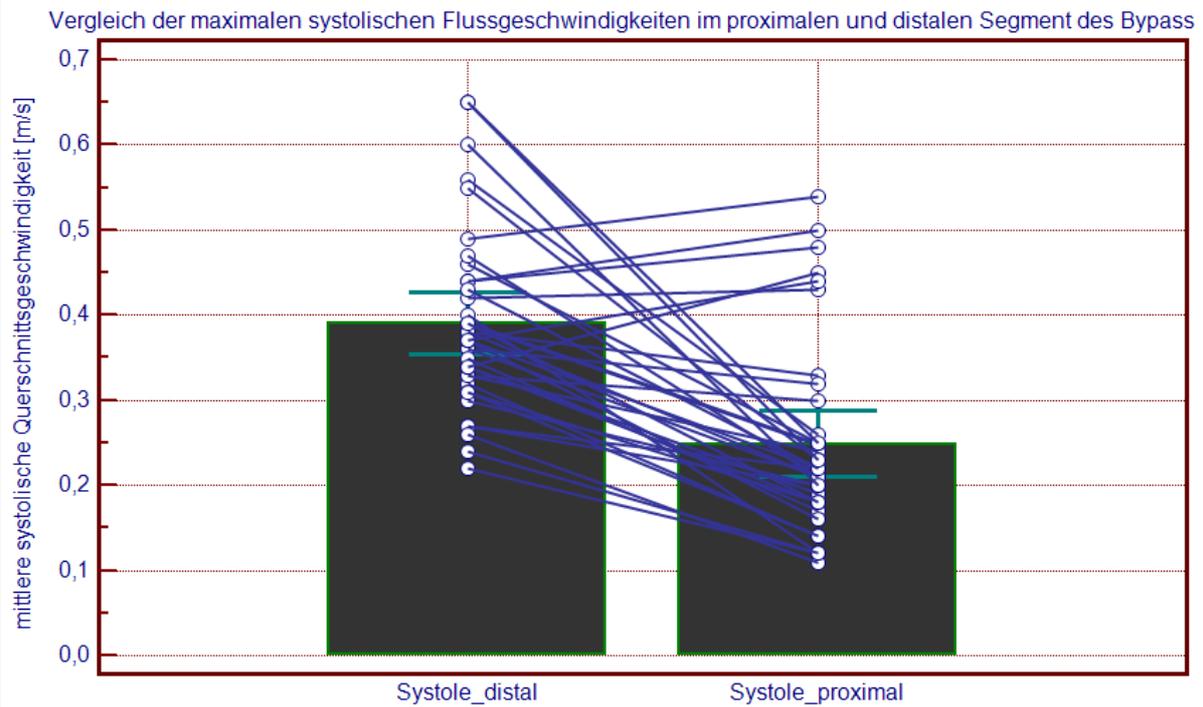
retrograder Abstrom offen, zusätzlicher peripherer Widerstand



retrograder Abstrom geschlossen, zusätzlicher peripherer Widerstand

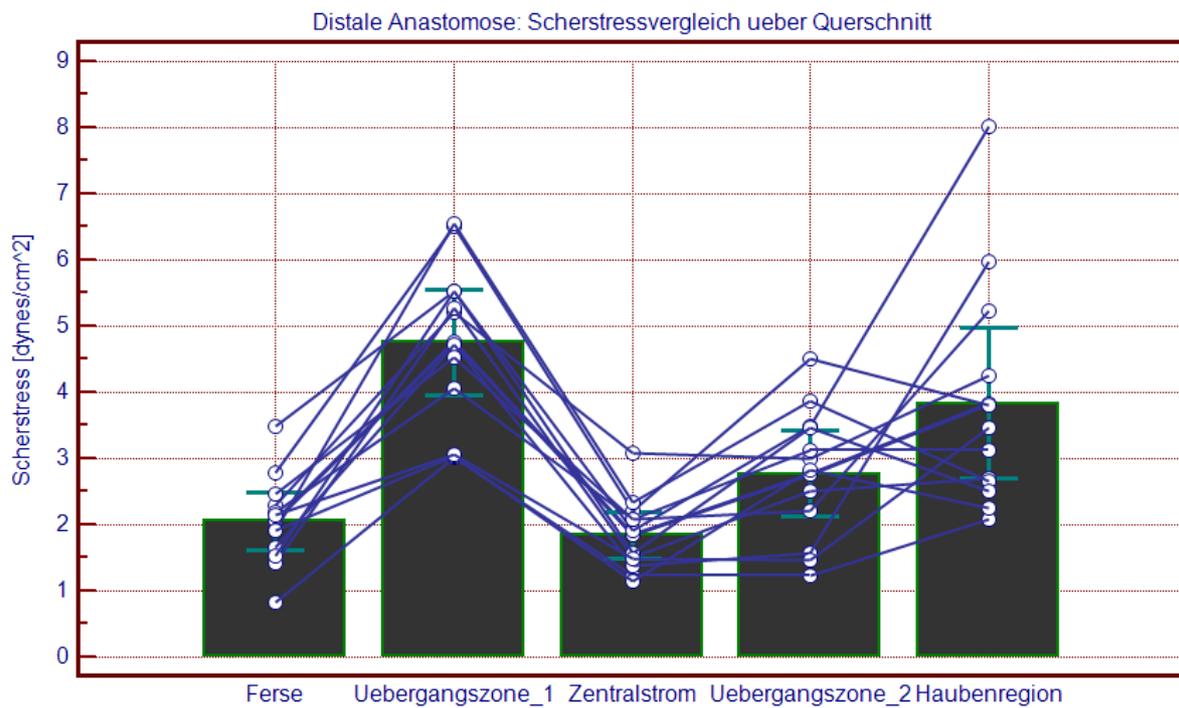


**Abbildung 29**

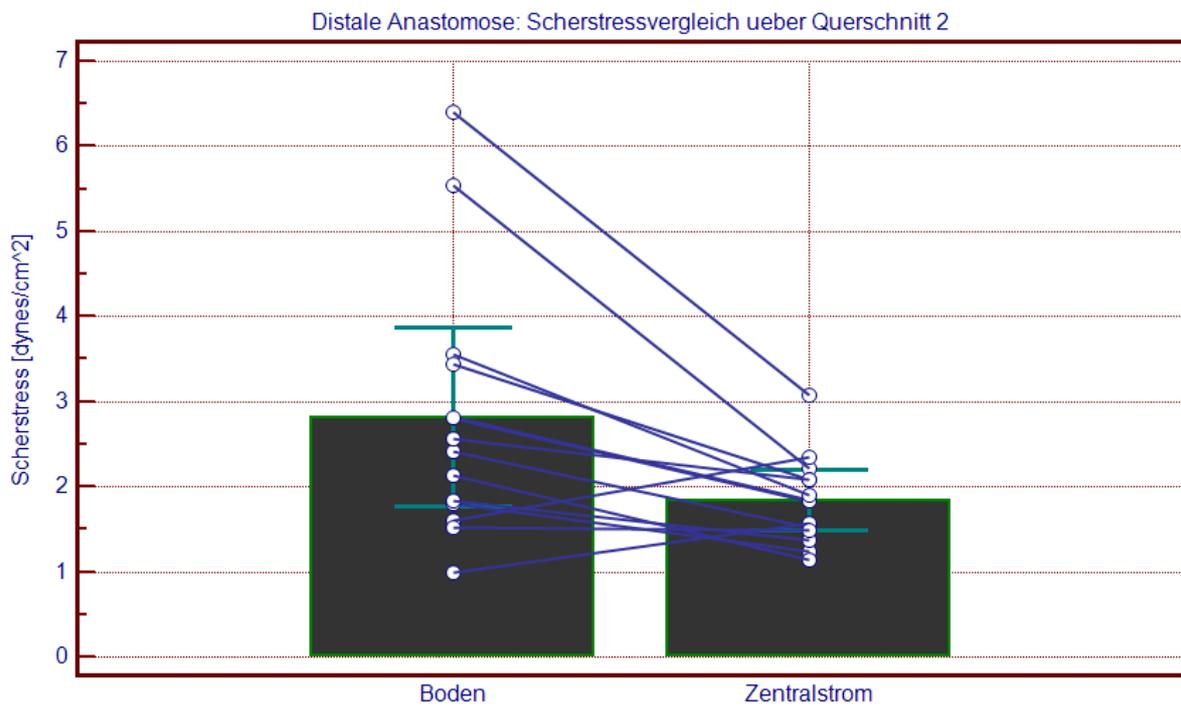


Der Balkenplot gibt das arithmetische Mittel an, der Fehlerbalken den Standardfehler des arithmetischen Mittels. Die Einzelproben sind als Punkte aufgetragen; sich entsprechende Punkte aus den 2 verglichenen Gruppen sind miteinander verbunden.

Mean difference	-0,1422
Standard deviation	0,1329
95% CI	-0,1872 to -0,09727
Test statistic t	-6,423
Two-tailed probability P	< 0,0001

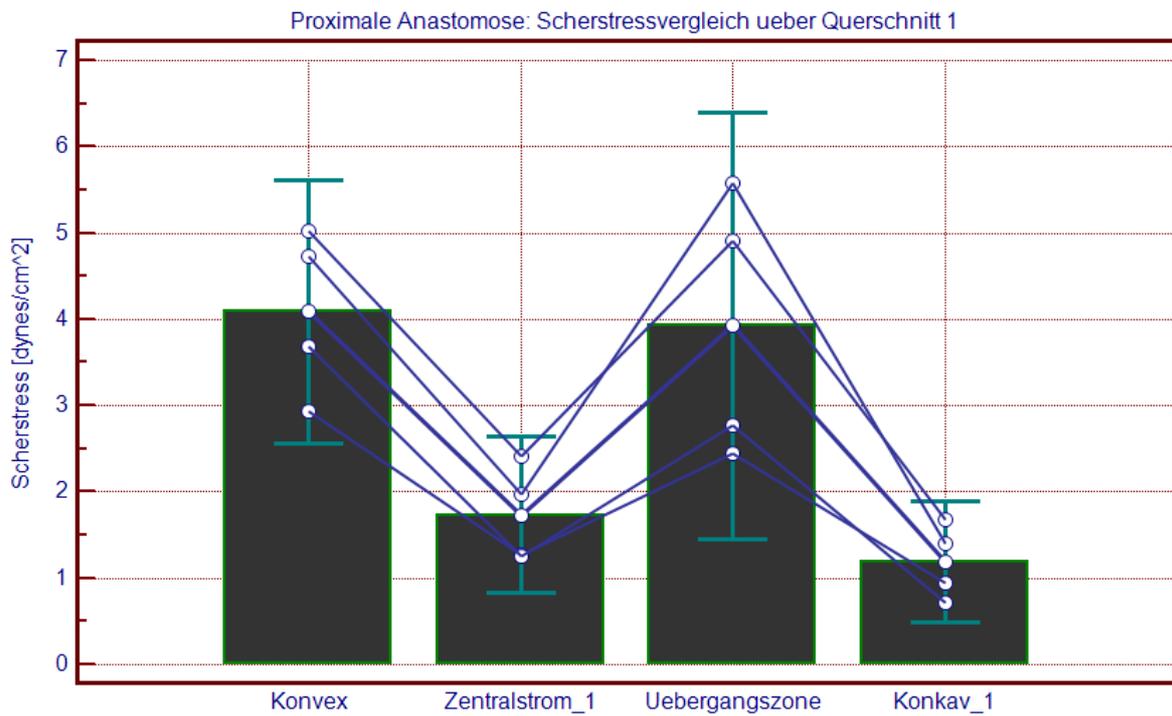


Vgl. Abbildung 17. Der Balkenplot gibt das arithmetische Mittel der Scherstress-Werte über den Querschnitt an, der Fehlerbalken den Standardfehler des arithmetischen Mittels. Zu erkennen ist ein statistisch signifikanter Scherstress-Gradient je zu einer Übergangzone.

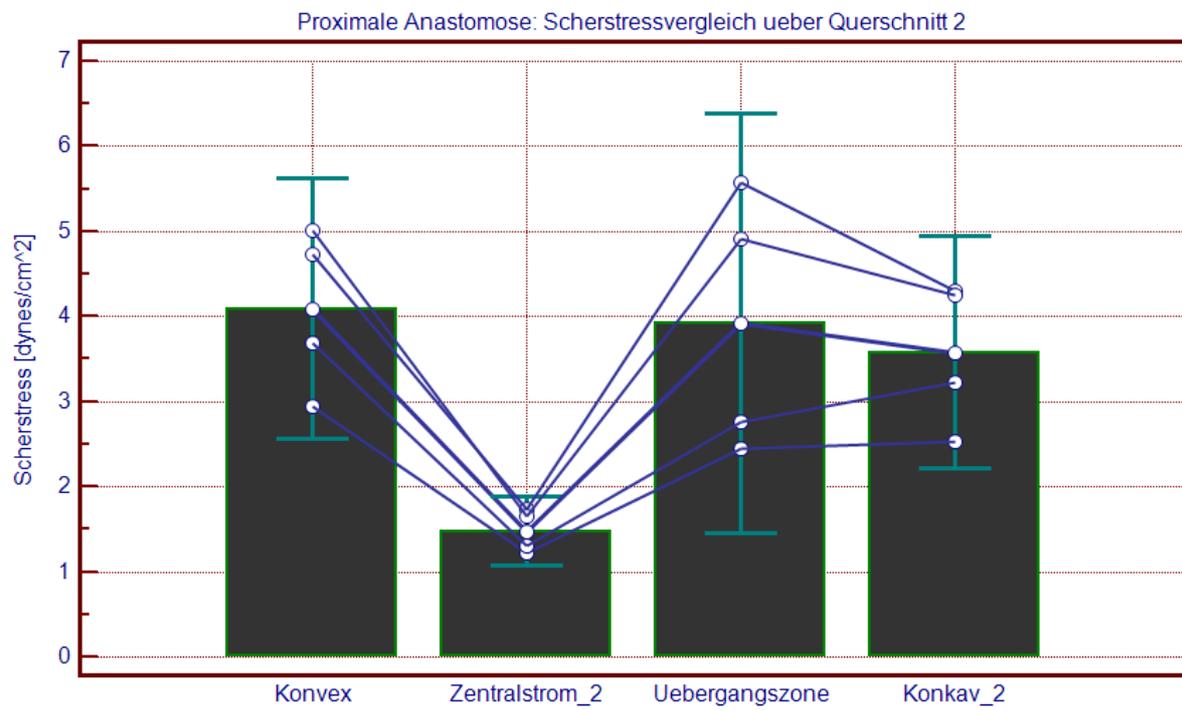


Vgl. Erklärung zu Abbildung 29.

Mean difference	-0,9800
Standard deviation	1,3018
95% CI	-1,8072 to -0,1528
Test statistic t	-2,608
Two-tailed probability P	0,0244



Vgl. Abbildung 18. Der Balkenplot gibt das arithmetische Mittel der Scherstress-Werte über den Querschnitt 1 an, der Fehlerbalken den Standardfehler des arithmetischen Mittels. Zu erkennen ist ein statistisch signifikanter Scherstress-Gradient zur Übergangszone.



Vgl. Abbildung 18. Der Balkenplot gibt das arithmetische Mittel der Scherstress-Werte über den Querschnitt 2 an, der Fehlerbalken den Standardfehler des arithmetischen Mittels. Zu erkennen ist ein statistisch signifikanter Scherstress-Gradient zwischen Zentralstrom und Übergangszone.

## 6.2 Formeln

(1) Teichengeschwindigkeit  $v$

$$v_{xy} = \frac{\Delta s}{\Delta t} \stackrel{\text{Pythagoras}}{=} \frac{\sqrt{(x_2 - x_1)^2 + (y_2 - y_1)^2}}{t_2 - t_1} = \frac{\sqrt{\Delta x^2 + \Delta y^2}}{\Delta t}$$

$v$  = Geschwindigkeit,  $\Delta x$  = Strecke in x-Richtung,  $\Delta y$  = Strecke in y-Richtung,  $\Delta s$  = Strecke,  $\Delta t$  = Zeitspanne

(2) Vorticity  $\omega$

$$\omega_z = \text{rot} \vec{v}_{xy} = \vec{\nabla} \times \vec{v}_{xy} = \begin{pmatrix} \frac{\partial v_z}{\partial y} - \frac{\partial v_y}{\partial z} \\ \frac{\partial v_x}{\partial z} - \frac{\partial v_z}{\partial x} \\ \frac{\partial v_y}{\partial x} - \frac{\partial v_x}{\partial y} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} 0 \\ 0 \\ \frac{\partial v_y}{\partial x} - \frac{\partial v_x}{\partial y} \end{pmatrix}$$

$$\omega_z = \frac{\partial v_y}{\partial x} - \frac{\partial v_x}{\partial y}$$

$\delta v$  = infinitesimale Geschwindigkeit,  $\delta x | y$  = infinitesimale Strecke  
rot = Vektoroperator;  $\nabla$  = Nablaoperator

(3) Scherrate  $\dot{\gamma}$

$$\dot{\gamma} = \vec{\nabla} \vec{v}_{xy} = \text{grad} v_{xy} = \begin{pmatrix} \frac{\partial v_x}{\partial x} & \frac{\partial v_x}{\partial y} & \frac{\partial v_x}{\partial z} \\ \frac{\partial v_y}{\partial x} & \frac{\partial v_y}{\partial y} & \frac{\partial v_y}{\partial z} \\ \frac{\partial v_z}{\partial x} & \frac{\partial v_z}{\partial y} & \frac{\partial v_z}{\partial z} \end{pmatrix}$$

(4) Scherstress  $\tau$

$$\tau = \eta \cdot \dot{\gamma} = \eta \cdot \left( \frac{\partial v_x}{\partial y} + \frac{\partial v_y}{\partial x} \right)$$

$\eta$  = Viskosität

(5) Scherstress in einem Zylinder

$$\tau = \frac{4 \cdot \eta Q}{\pi r^3}$$

$Q$  = Blutflussrate,  $r$  = Gefäßradius

### 6.3 Abkürzungen

A.	Arteria
ABI	Ankle-Brachial-Index (Knöchel-Arm-Index)
AFS	Arteria femoris superficialis
CCD	CCD-Kamera, charge coupled device
CI	Claudicatio intermittens
CNC	computerized numerical control
ePTFE	expandiertes Polytetrafluorethylen
IH	Intimahyperplasie
KHK	Koronare Herzkrankheit
Nd:YAG	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser
n.s.	nicht signifikant
P	Wahrscheinlichkeit
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PI	Pseudointima
PIV	particle image velocimetry
PLA	Polylactid acid (Polylactid-Säure)
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
PTFE	Polytetrafluorethylen
SD	Standardabweichung
TASC	TransAtlantic Inter-Society Consensus
TEA	Thrombendarteriektomie
V.	Vena
VSM	Vena saphena magna
VSMC	vascular smooth muscle cells (glatte Muskelzellen)
WSS	Wandscherstress

#### **6.4. Erklärung und Danksagung**

Ich, Antonius Roman Rabsch, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „2D-Korrelation von lokaler Hämodynamik im Modell und Histologie der Pseudointima der femorokruralen ePTFE-Bypassanastomose unter Verwendung der Particle Image Velocimetry“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin, 29.01.2010

Ich möchte allen danken, die diese Arbeit ermöglichten: Herrn Prof. Dr. med. habil Utz Settmacher und Herrn PD Dr. med. Michael Heise, damals in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Transplantationschirurgie der Charité auf dem Campus Virchow-Klinikum, danke ich für die Überlassung des Themas und für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und Facilitäten zur Durchführung der Experimente. Besonders wertvoll war für mich die Einführung in die Technik der Particle Image Velocimetry.

Nicht weniger daran beteiligt war mein Studienkollege Dr. med. Stefan Rösler, der mir sein durch seine Vorarbeit im selben Labor entstandenes Wissen vermittelte. Des Weiteren reifte die physikalische Basis in langen Diskussionen mit meinen Studienfreunden Dipl. phys. Michael Jasiulek und Dr. rer. nat. Dipl. phys. Henrik Hetzheim.

Dr. med. Klaus Haug, damals am Kantonsspital Obwalden in Sarnen/Schweiz, unterwies mich als erster im chirurgischen Praktischen Jahr.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. rer. nat. Bas de Mol, Klinikdirektor der Herz- und Thoraxchirurgie am Academisch Medisch Centrum Amsterdam, bin ich zu Dank verpflichtet: Er förderte mich übergebüß während meiner letzten Periode meines praktischen Studiums.

Nicht zuletzt möchte ich meiner Familie, insbesondere meiner Freundin Heide, und meinen Freunden danken, deren Freundschaft und Unterstützung wesentlich für meinen persönlichen Werdegang waren und sind, und denen ich diese Arbeit aus diesem Grund auch widmen möchte.

## 6.5 Literaturverzeichnis

- 1 Holler D, Claes C, von der Schulenburg JM. Treatment costs and quality of life of patients with peripheral arterial occlusive disease--the German perspective. *Vasa*. 2004 Aug;33(3):145-53.
- 2 Wilde CJ, Donath A, Keck N, Wilde J. How to recognize POAD? The diagnosis of peripheral occlusive arterial disease in the physician's office. *MMW Fortschr Med*. 2005 May 5;147(18):25-8.
- 3 Brevetti G, Oliva G, Silvestro A, Scopacasa F, Chiariello M, Peripheral Arteriopathy and Cardiovascular Events (PACE) Study Group. Prevalence, risk factors and cardiovascular comorbidity of symptomatic peripheral arterial disease in Italy. *Atherosclerosis* 2004;175:131-8.
- 4 Meijer WT, Hoes AW, Rutgers D, Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:185-92.
- 5 Meijer WT, Grobbee DE, Hunink MGM, Hofman A, Hoes AW. Determinants of peripheral arterial disease in the elderly: the Rotterdam study. *Arch Int Med* 2000;160:2934-8.
- 6 Leng G, Lee A, Fowkes G, Whiteman M, Dunbar J, Housley E, et al. Incidence, natural history and cardiovascular events in symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease in the general population. *Int J Epidemiol* 1996;25:1172-81.
- 7 C. Cimminiello. PAD. Epidemiology and pathophysiology. *Thromb Res*. 2002;106:V295-V301.
- 8 Schmieder FA, Comerota AJ. Intermittent claudication: magnitude of the problem, patient evaluation, and therapeutic strategies. *Am J Cardiol*. 2001 Jun 28;87(12A):3D-13D. Review.
- 9 Feringa H, Karagiannis S, Schouten O, Vidakovic R, van Waning V, Boersma E, et al. Prognostic significance of declining ankle-brachial index values in patients with suspected or known peripheral arterial disease. *Eur J Vasc Endovasc Surg*; 2007;206-13.
- 10 Greenland P, Abrams J, Aurigemma GP, Bond MG, Clark LT, Criqui MH, et al. Prevention Conference V. Beyond secondary prevention: identifying the high-risk patient for primary prevention. Noninvasive tests of atherosclerotic burden. *Circulation* 2000;101:-16-22.
- 11 Doobay AV, Anand SS. Sensitivity and specificity of the anklebrachial index to predict future cardiovascular outcomes: a systematic review. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25: 1463-9.
- 12 Hyatt WR. Medical treatment of peripheral arterial disease and claudication. *N Engl J Med* 2001;344:1608-21.
- 13 Norgren L, Hiatt WR, Dormandy JA, Nehler MR, Harris KA, Fowkes FGR, on behalf of the TASC II Working Group. Intersociety consensus for the management of peripheral arterial disease (TASC II). *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2007;33:S1-75.
- 14 Labs KH, Dormandy JA, Jaeger KA, Stuerzebecher C, Hiatt WR. Trans-atlantic conference on clinical trial guidelines in PAOD (Peripheral arterial occlusive disease) clinical trial methodology. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1999;18:253-65.
- 15 Rutherford RB, Jones DN, Bergentz SE, Bergqvist D, Comerota AJ, Dardik H, Flinn WH, Fry WJ, McIntyre K, Moore WS, et al. Factors affecting the patency of infrainguinal bypass. *J Vasc Surg*. 1988 Sep;8(3):236-46.
- 16 Lin PH, Chen C, Bush RL, Yao Q, Lumsden AB, Hanson SR. Small-caliber heparin-coated ePTFE grafts reduce platelet deposition and neointimal hyperplasia in a baboon model. *J Vasc Surg*. 2004 Jun;39(6):1322-8.
- 17 Sottiurai VS, Yao JS, Flinn WR, Batson RC. Surgery. 1983 Jun;93(6):809-17. Intimal hyperplasia and neointima: An ultrastructural analysis of thrombosed grafts in humans.
- 18 Gemmell CH, Ramirez SM, Yeo EL, Sefton MV. *J Lab Clin Med*. 1995 Feb;125(2):276-87. Platelet

activation in whole blood by artificial surfaces: identification of platelet-derived microparticles and activated platelet binding to leukocytes as material-induced activation events.

- 19 Clowes AW, Kohler T: Graft endothelialization: The role of angiogenic mechanisms. *J Vasc Surg* 13:734-736, 1991.
- 20 LoGerfo FW, Quist WC, Nowak MD, et al. Downstream anastomotic hyperplasia: A mechanism of failure in Dacron arterial grafts. *Ann Surg* 197:479-483, 1983.
- 21 Veith FJ, Gupta SK, Ascer E, White-Flores S, Samson RH, Scher LA, Towne JB, Bernhard VM, Bonier P, Flinn WR, et al. Six-year prospective multicenter randomized comparison of autologous saphenous vein and expanded polytetrafluoroethylene grafts in infrainguinal arterial reconstructions. *J Vasc Surg.* 1986 Jan;3(1):104-14.
- 22 Veith FJ, Moss CM, Daly V, Fell SC, Haimovici H. New approaches to limb salvage by extended extra-anatomic bypasses and prosthetic reconstructions to foot arteries. *Surgery.* 1978 Dec;84(6):764-74.
- 23 Carrel A., Guthrie CC. Unitermal and bitermal venous transplantations. *Surg. Gynecol Obstet* 1906;266-286.
- 24 Carrel A. The surgery of blood vessels. *Bull Johns Hopk Hosp.* 1906;19:18-27.
- 25 Jeger E. *Die Chirurgie der Blutgefäße und des Herzens.* Berlin: Hirschwald, 1913.
- 26 Bircks W. History of cardiac surgery in Germany--in consideration of her relation to the German Cardiac Society. *Z Kardiol.* 2002;91 Suppl 4:81-5.
- 27 Kunlin J. Le traitement de l'artérite oblitérante par la greffe veineuse. *Arch Mal Cœur.* 1949;42:371-2.
- 28 Ando J, Ohtsuka A, Katayama Y et al. Intracellular calcium response to directly applied mechanical shearing force in cultured vascular endothelial cells. *Biorheology* 1994;31:57-68.
- 29 Hecker M, Mulsch A, Bassenge E, Busse R. Vasoconstriction and increased flow: two principal mechanisms of shear stress-dependent endothelial autacoid release. *Am J Physiol* 1993;265:H828-H833.
- 30 Kohler TR, Kirkman TR, Kraiss LW, Zierler BK, Clowes AW. Increased Blood flow inhibits neointimal hyperplasia in endothelialized vascular grafts. *Circ Res* 1991;69:1557-1565.
- 31 Hofstra L, Tordoir JHM, Kitslaar PJEHM Hoeks APG, Daemen MJAP. Enhanced cellular proliferation in intact stenotic lesions derived from human arteriovenous fistulas and peripheral bypass grafts. Does it correlate with flow parameters? *Circulation* 1996;94:1283-1290.
- 32 Bassiouny HS, White S, Glagov S et al. Anastomotic intimal hyperplasia: mechanical injury or flow induced. *J Vasc Surg* 1992;15:708-716.
- 33 Fei DY, Thomas JD, Rittgers SE. The effect of angle and flow rate upon hemodynamics in distal vascular graft anastomoses: a numerical model study. *J Biomech Eng* 1994;116:331-336.
- 34 Jones DN, Rutherford RB, Ikezawa T, Nishikimi N, Ishibashi H, Whitehill TA. Factors affecting the patency of small-caliber prostheses: Observations in a suitable canine model. *J Vasc Surg.* 1991 Oct;14(4):441-8; discussion 448-51.
- 36 C.W. Pumphrey, J.H. Chesebro and M.K. Dewanjee et al., In vivo quantitation of platelet deposition on human peripheral arterial bypass grafts using indium-111-labeled platelets. Effect of dipyridamole and aspirin, *Am J Cardiol* 51 (Mar 1 1983) (5), pp. 796–801.
- 37 Heise M, Schmidmaier G, Husmann I, Heidenhain C, Schmidt J, Neuhaus P, Settmacher U. PEG-hirudin/iloprost coating of small diameter ePTFE grafts effectively prevents pseudointima and intimal hyperplasia development. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006 Oct;32(4):418-24. Epub 2006 May 6.

- 38 Wernet MP, Subramanian A, Mu H, Kadambi JR. Comparison of particle image velocimetry and laser Doppler anemometry measurements in turbulent fluid flow. *Ann Biomed Eng.* 2000 Nov-Dec;28(11):1993-6.
- 39 Akutsu T, Fukuda T. Time-resolved particle image velocimetry and laser dopper anemometry study of turbulent flow field of bileaflet mechanical mitral prostheses. *J Artif Organs.* 2005;8(3):171-83.
- 40 Choi HW, Barakat AI. Numerical study of the impact of non-Newtonian blood flow behavior on flow over a two-dimensional backward facing step. *Biorheology.* 2005;42(6):493-509.
- 41 Ducasse E, Fleurisse L, Vernier G, Speziale F, Fiorani P, Puppincck P, Creusy C. Interposition vein cuff and intimal hyperplasia: an experimental study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2004 Nov;28(5):568.
- 42 Karges HE, Funk KA, Ronneberger H. Activity of coagulation and fibrinolysis parameters in animals. *Arzneimittelforschung.* 1994 Jun;44(6):793-7.
- 43 Kissin M, Kansal N, Pappas PJ, DeFouw DO, Durán WN, Hobson RW 2nd. Vein interposition cuffs decrease the intimal hyperplastic response of polytetrafluoroethylene bypass grafts. *J Vasc Surg.* 2000 Jan;31(1 Pt 1):69-83.
- 44 Heise M, Krüger U, Pfitzmann R, Neuhaus P, Scholz H, Settmacher U. The influence of intraarterial prostaglandin E(1) on vascular hydraulic impedance and infrainguinal graft patency. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2001 Sep;22(3):219-25.
- 45 Pislaru C, Kantor B, Kinnick RR, Anderson JL, Aubry MC, Urban MW, Fatemi M, Greenleaf JF. In vivo vibroacoustography of large peripheral arteries. *Invest Radiol.* 2008 Apr;43(4):243-52.
- 46 Virmani A, Burke A, Farb F, Kolodgie. Pathology of the vulnerable plaque. *J Am Coll Cardiol* 2006;18:C13–C18.
- 49 Grundmann S, Hoefer I, Ulusans S, Bode C, Oesterle S, Tijssen JG, Piek JJ, Buschmann I, van Royen N. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor stimulates arteriogenesis in a pig model of peripheral artery disease using clinically applicable infusion pumps. *J Vasc Surg.* 2006 Jun;43(6):1263-9.
- 50 Heise M, Krüger U, Settmacher U, Sklenar S, Neuhaus P, Scholz H. A new method of intraoperative hydraulic impedance measurement provides valuable prognostic information about infrainguinal graft patency. *J Vasc Surg.* 1999 Aug;30(2):301-8.
- 51 Urayama H, Katada S, Kasashima F, Tanaka Y, Kawasuji M, Watanabe Y. Rupture of pseudointima in an implanted vascular prosthesis: immunohistological study of plasminogen activators and matrix metalloproteinases. *J Cardiovasc Surg (Torino).* 2000 Jun;41(3):459-62.
- 52 Heise M, Schmidt S, Krüger U, Rückert R, Rösler S, Neuhaus P, Settmacher U. Flow pattern and shear stress distribution of distal end-to-side anastomoses. A comparison of the instantaneous velocity fields obtained by particle image velocimetry. *J Biomech.* 2004 Jul;37(7):1043-51.
- 55 Sakhaeimanesh AA. Effect of oscillation on elevating shear stresses. *J Med Eng Technol.* 2008 Nov-Dec;32(6):434-9.
- 58 Revellin R, Rousset F, Baud D, Bonjour J. Extension of Murray's law using a non-Newtonian model of blood flow. *Theor Biol Med Model.* 2009 May 15;6:7.
- 59 Khanafer KM, Gadhoke P, Berguer R, Bull JL. Modeling pulsatile flow in aortic aneurysms: effect of non-Newtonian properties of blood. *Biorheology.* 2006;43(5):661-79.
- 60 Gijssen FJ, van de Vosse FN, Janssen JD. Wall shear stress in backward-facing step flow of a red blood cell suspension. *Biorheology.* 1998 Jul-Oct;35(4-5):263-79.
- 61 Stoltz JF, Lucius M. Viscoelasticity and thixotropy of human blood. *Biorheology.*

1981;18(3-6):453-73.

62 McMillan DE, Utterback NG, Baldrige JB. Thixotropy of blood and red blood cell suspensions. *Biorheology*. 1980;17(5-6):445-54.

63 Hetzer R, Jurmann MJ, Potapov EV, Hennig E, Stiller B, Müller JH, Weng Y. Heart assist systems--current status. *Herz*. 2002 Aug;27(5):407-17.

64 Walker PG, Alshorman AA, Westwood S, David T. Adhesion of leukocytes under oscillating stagnation point conditions: a numerical study. *Biorheology*. 2002;39(3-4):475-81.

65 Shankaran H, Neelamegham S. Effect of secondary flow on biological experiments in the cone-plate viscometer: methods for estimating collision frequency, wall shear stress and inter-particle interactions in non-linear flow. *Biorheology*. 2001;38(4):275-304.

66 Mohiaddin RH, Yang GZ, Kilner PJ. Visualization of flow by vector analysis of multidirectional cine MR velocity mapping. *J Comput Assist Tomogr*. 1994 May-Jun;18(3):383-92.

67 Mody NA, King MR. Platelet adhesive dynamics. Part I: characterization of platelet hydrodynamic collisions and wall effects. *Biophys J*. 2008 Sep;95(5):2539-55.

68 Watase M, Kambayashi J, Itoh T, Tsuji Y, Kawasaki T, Shiba E, Sakon M, Mori T, Yashika K, Hashimoto PH. Ultrastructural analysis of pseudo-intimal hyperplasia of polytetrafluoroethylene prostheses implanted into the venous and arterial systems. *Eur J Vasc Surg*. 1992 Jul;6(4):371-80.

69 Baird RN, Abbott WM. Pulsatile blood-flow in arterial grafts. *Lancet*. 1976 Oct 30;2(7992):948-50.

70 Wang QQ, Ping BH, Xu QB, Wang W. Rheological effects of blood in a nonplanar distal end-to-side anastomosis. *J Biomech Eng*. 2008 Oct;130(5):051009.

74 Bishop JJ, Popel AS, Intaglietta M, Johnson PC. Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies. *Biorheology*. 2001;38(2-3):263-74. Review.

75 Skilbeck C, Westwood SM, Walker PG, David T, Nash GB. Dependence of adhesive behavior of neutrophils on local fluid dynamics in a region with recirculating flow. *Biorheology*. 2001;38(2-3):213-27.

76 Tran-Son-Tay R, Hwang M, Berceci SA, Ozaki CK, Garbey M. A model of vein graft intimal hyperplasia. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2007;2007:5807-10.

77 Glagov S, Zarins CK, Masawa N, Xu CP, Bassiouny H, Giddens DP. Mechanical functional role of non-atherosclerotic intimal thickening. *Front Med Biol Eng*. 1993;5(1):37-43. Review.

78 Glagov S, Zarins CK. Intimal hyperplasia: an adaptive response or a pathologic process? *J Vasc Surg* 1989;10:571-573.

79 Healing Tsuchida H, Wilson SE, Ishimaru S. Mechanisms of high-porosity PTFE grafts: significance of transmural structure. *J Surg Res*. 1997 Aug;71(2):187-95.

80 Li XM, Rittgers SE. Computational simulation of biomechanics in e-PTFE and venous Miller's cuffs: implications for intimal hyperplasia. *J Med Eng Technol*. 2005 Jul-Aug;29(4):187-96.

81 Clowes AW, Gown AM, Hanson SR, Reidy MA: Mechanisms of arterial graft failure: I. Role of cellular proliferation in early healing of PTFE prostheses. *Am J Pathol* 1985, 118:43-54.

82 Clowes AW, Kirkman TR, Clowes MM. Mechanisms of arterial graft failure. II. Chronic endothelial and smooth muscle cell proliferation in healing polytetrafluoroethylene prostheses. *J Vasc Surg*. 1986 Jun;3(6):877-84.

83 Burkel WE, Vinter DW, Ford JW, Kahn RH, Graham LM, Stanley JC: Sequential studies of healing in endothelial seeded vascular prostheses: Histologic and ultrastructural characteristics of graft incorporation. *J Surg Res* 1981, 30:305-324.

- 91 Harker LA, Slichter SJ, Sauvage LR. Platelet consumption by arterial prostheses: the effects of endothelialization and pharmacologic inhibition of platelet function. *Ann Surg.* 1977 Nov;186(5):594-601.
- 92 Kusaba A, Fischer CR, Matulewski TJ, Matsumoto T: Experimental study of the influence of porosity on development of neointima in Gore-Tex grafts. *Amer Surgeon* 1981, 47:347-354.
- 95 Herring M, Baughman S, Glover J, Kesler K, Jesseph J, Campbell J, Dilley R, Evan A, Gardner A: Endothelial seeding of Dacron and polytetrafluoroethylene grafts: The cellular events of healing. *Surgery* 1985, 96:745-754.
- 96 FLOREY HW, GREER SJ, POOLE JC, WERTHESEN NT. The pseudointima lining fabric grafts of the aorta. *Br J Exp Pathol.* 1961 Jun;42:236-46.
- 97 Clowes AW, Kirkman TR, Reidy MA. Mechanisms of arterial graft healing. Rapid transmural capillary ingrowth provides a source of intimal endothelium and smooth muscle in porous PTFE prostheses. *Am J Pathol.* 1986 May;123(2):220-30.
- 98 Imparato AM, Bracco A, Kim GE, Zeff R. Intimal and neointimal fibrous proliferation causing failure of arterial reconstructions. *Surgery.* 1972 Dec;72(6):1007-17.
- 99 Gown AM, Vogel AM: Monoclonal antibodies to human intermediate filament proteins: II. Distribution of filament proteins in normal human tissues. *Am J Pathol* 1984, 114:309-321.
- 107 Miura H, Nishibe T, Yasuda K, Shimada T, Hazama K, Katoh H, Watanabe S, Okuda Y, Kumada T. The influence of node-fibril morphology on healing of high-porosity expanded polytetrafluoroethylene grafts. *Eur Surg Res.* 2002 May-Jun;34(3):224-31.
- 108 Noori N, Scherer R, Perktold K, Czerny M, Karner G, Trubel M, Polterauer P, Schima H. Blood flow in distal end-to-side anastomoses with PTFE and a venous patch: results of an in vitro flow visualisation study. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1999 Sep;18(3):191-200.
- 109 Batson RC, Sottiurai VS, Craighead CC. Linton patch angioplasty. An adjunct to distal bypass with polytetrafluoroethylene grafts. *Ann Surg.* 1984 Jun;199(6):684-93.
- 110 Gentile AT, Mills JL, Gooden MA, Hagerty RD, Berman SS, Hughes JD, Kleinhert LB, Williams SK. Vein patching reduces neointimal thickening associated with prosthetic graft implantation. *Am J Surg.* 1998 Dec;176(6):601-7.
- 111 Cabrera Fischer EI, Bia Santana D, Cassanello GL, Zócalo Y, Crawford EV, Casas RF, Armentano RL. Reduced elastic mismatch achieved by interposing vein cuff in expanded polytetrafluoroethylene femoral bypass decreases intimal hyperplasia. *Artif Organs.* 2005 Feb;29(2):122-30.
- 112 Tyrrell MR, Wolfe JH. New prosthetic venous collar anastomotic technique: combining the best of other procedures. *Br J Surg.* 1991 Aug;78(8):1016-7.
- 113 Karacagil S, Narbani A, Almgren B, Bowald S, Bergqvist D. Modified vein cuff technique for distal polytetrafluoroethylene graft anastomoses: how we do it. *Eur J Surg.* 1995 Jan;161(1):47-8.
- 114 Trubel W, Schima H, Czerny M, Perktold K, Schimek MG, Polterauer P. Experimental comparison of four methods of end-to-side anastomosis with expanded polytetrafluoroethylene. *Br J Surg.* 2004 Feb;91(2):159-67.
- 115 Park JS, Oh JH, Kim DY, Park YK, Park SJ, Kim SJ. Effects of intraluminal irradiation with Holmium-166 for TIPS stenosis: experimental study in a swine model. *Korean J Radiol.* 2007 Mar-Apr;8(2):127-35.
- 116 Kambayashi J, Watase M, Shibuya T, Kawasaki T, Shiba E, Sakon M, Oiki E. Suppression by

antithrombotic agents of pseudointimal hyperplasia of polytetrafluoroethylene graft implanted into venous system. *Thromb Res.* 1994 Dec 15;76(6):551-9.

117 Margiotta MS, Benton L, Greco RS. Endothelial cells adherent to expanded polytetrafluoroethylene express the intercellular adhesion molecule-1. *J Am Coll Surg.* 1995 Sep;181(3):215-9.

118 Ombrellaro MP, Stevens SL, Sciarrotta J, Freeman MB, Goldman MH. Effect of endoluminal PTFE graft placement on cell proliferation, PDGF secretion, and intimal hyperplasia. *J Surg Res.* 1996 Jun;63(1):110-4.

119 Goodney PP, Beck AW, Nagle J, Welch HG, Zwolak RW. National trends in lower extremity bypass surgery, endovascular interventions, and major amputations. *J Vasc Surg.* 2009 May 27.

120 Ball LK. Forty years of vascular access. *Nephrol Nurs J.* 2009 Mar-Apr;36(2):119-23.

121 Carneiro LJ, Platania F, Dallan LA, Dallan LA, Stolf NA. Coronary artery bypass grafting using the radial artery: influence of proximal anastomosis site in mid-term and long-term graft patency. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2009 Mar;24(1):38-43.

122 Hu PP, Peterson KL, Tsimikas S. Spontaneous recanalization of a completely occluded saphenous vein graft two months following acute myocardial infarction with persistent one year patency. *J Thromb Thrombolysis.* 2009 Jul;28(1):101-5.

123 Lemson MS, Tordoir JH, Daemen MJ, Kitslaar PJ. Intimal hyperplasia in vascular grafts. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2000 Apr;19(4):336-50.

124 Davies MG, Hagen PO. Pathophysiology of vein graft failure: a review. *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 1995 Jan;9(1):7-18. Review.