

**Aus dem Institut für Radiologie der Charité –
Universitätsmedizin Berlin und der Klinik für Kleintiere des
Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin**

**Entwicklung und Beurteilung Polydioxanon-basierter Mikrosphären
als temporäres Embolisationsmaterial zur kathetergestützten
transarteriellen Embolisation im Kaninchen Nierenmodell**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Helena-Victoria Beatrix Astrid Prinzessin
zu Sayn-Wittgenstein-Berleburg
Tierärztin aus Hamburg**

**Berlin 2021
Journal-Nr.: 4310**

**Aus dem Institut für Radiologie der Charité –
Universitätsmedizin Berlin und der Klinik für Kleintiere des
Fachbereiches Veterinärmedizin der Freien Universität Berlin**

Entwicklung und Beurteilung Polydioxanon-basierter Mikrosphären als temporäres
Embolisationsmaterial zur kathetergestützten transarteriellen Embolisation
im Kaninchen Nierenmodell

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Veterinärmedizin
an der
Freien Universität Berlin**

**vorgelegt von
Helena-Victoria Beatrix Astrid Prinzessin zu Sayn-Wittgenstein-Berleburg
Tierärztin aus Hamburg**

Berlin 2021

Journal-Nr.: 4310

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin
der Freien Universität Berlin

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Uwe Rösler
Erster Gutachter: Prof. Dr. Karl Heinz Lahrmann
Zweiter Gutachter: Prof. Dr. Florian Streitparth
Dritter Gutachter: Univ.-Prof. Dr. Robert Klopffleisch

Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):

rabbits, animal models, kidneys, arteries, surgical operations, catheters,
catheterization, embolism, surgical equipment, materials, microspheres
(MeSH), veterinary medicine

Tag der Promotion: 08.09.2021

Bibliografische Information der *Deutschen Nationalbibliothek*

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation in der Deutschen Nationalbibliografie; detaillierte bibliografische Daten sind im Internet über <<https://dnb.de>> abrufbar.

ISBN: 978-3-96729-136-0

Zugl.: Berlin, Freie Univ., Diss., 2021

Dissertation, Freie Universität Berlin

D188

Dieses Werk ist urheberrechtlich geschützt.

Alle Rechte, auch die der Übersetzung, des Nachdruckes und der Vervielfältigung des Buches, oder Teilen daraus, vorbehalten. Kein Teil des Werkes darf ohne schriftliche Genehmigung des Verlages in irgendeiner Form reproduziert oder unter Verwendung elektronischer Systeme verarbeitet, vervielfältigt oder verbreitet werden.

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Warenbezeichnungen, usw. in diesem Werk berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, dass solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürfen.

This document is protected by copyright law.

No part of this document may be reproduced in any form by any means without prior written authorization of the publisher.

Alle Rechte vorbehalten | all rights reserved

© Mensch und Buch Verlag 2021 Choriner Str. 85 - 10119 Berlin

verlag@menschundbuch.de – www.menschundbuch.de

Meiner Familie

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	VII
Tabellenverzeichnis	IX
1 Einleitung.....	1
2 Literaturteil	3
2.1 Katheterembolisation	3
2.1.1 Technik der Katheterembolisation.....	3
2.1.2 Embolisationsverfahren.....	4
2.1.3 Indikationsspektrum	5
2.2 Embolisationsmaterial	9
2.2.1 Permanente Embolisationspartikel.....	11
2.2.2 Temporäre Embolisationspartikel.....	12
2.2.3 Aktuelle Forschung	20
3 Ziele der Studie	25
4 Material und Methoden	29
4.1 Versuchstiere und Haltung	29
4.1.1 Versuchstiermodell.....	29
4.1.2 Versuchstierhaltung	29
4.1.3 Veterinärmedizinische Betreuung	30
4.2 Polydioxanon-Mikrosphären	30
4.3 Versuchsaufbau	31
4.4 Versuchsvorbereitung.....	33
4.4.1 Versuchstievorbereitung	33
4.4.2 Interventionsvorbereitung.....	34
4.5 Versuchsdurchführung	36
4.5.1 Intervention	36
4.5.2 MRT-Untersuchungen.....	39
4.5.3 Beobachtungszeitraum	41
4.5.4 Kontrolluntersuchungen	42

4.5.5	Histopathologie	42
4.5.5.1	Euthanasie, Sektion und Organentnahme	42
4.5.5.2	Paraffineinbettung und Schnitthanfertigung	44
4.5.5.3	Histologische Färbungen	45
4.6	Auswertungen und Analysen	47
4.6.1	Anwendbarkeit der Mikrosphären im Tiermodell	48
4.6.2	Wirksamkeit der Mikrosphären	49
4.6.2.1	Bildgebender Embolisationseffekt	49
4.6.2.2	Makroskopischer und mikroskopischer Embolisationseffekt	51
4.6.3	Resorbierbarkeit der Mikrosphären	52
4.6.3.1	Bildgebender Reperfusionseffekt	52
4.6.3.2	Mikroskopische Partikeldegradation	54
4.6.4	Auswertung: Biokompatibilität der Mikrosphären	55
4.6.4.1	Mikroskopische Gewebereaktion	55
4.6.4.2	Mikroskopische Gefäßwandreaktion	55
4.6.5	Statistische Auswertung	57
4.6.5.1	Datenspeicherung und –aufbereitung	57
4.6.5.2	Datenauswertung und statistische Tests	57
4.6.5.3	Ausgeschlossene Tiere	58
5	Ergebnisse	59
5.1	Anwendbarkeit der Mikrosphären im Tiermodell	59
5.1.1	Durchführbarkeit und Sicherheit der Embolisation	59
5.1.2	Injektionsfähigkeit der Mikrosphären	62
5.2	Wirksamkeit der Mikrosphären	66
5.2.1	Bildgebender Embolisationseffekt	66
5.2.2	Makroskopischer Embolisationseffekt	70
5.2.3	Mikroskopischer Embolisationseffekt	78
5.3	Resorbierbarkeit der Mikrosphären	85
5.3.1	Bildgebender Reperfusionseffekt	85
5.3.2	Mikroskopische Partikeldegradation	90
5.4	Biokompatibilität der Mikrosphären	94
5.4.1	Mikroskopische Gewebereaktion	94
5.4.2	Mikroskopische Gefäßwandreaktion	96
6	Diskussion	101
6.1	Durchführbarkeit und Sicherheit des Embolisationsverfahrens	101
6.2	Injektionsfähigkeit der Mikrosphären	108
6.3	Wirksamkeit der Mikrosphären	112

6.4	Resorbierbarkeit der Mikrosphären	117
6.5	Biokompatibilität der Mikrosphären.....	124
6.6	Versuchstiermodell	129
7	Schlussfolgerung und Ausblick	133
8	Zusammenfassung	137
9	Summary.....	138
10	Literaturverzeichnis	139
11	Publikationen	155
12	Danksagung	157
13	Selbstständigkeitserklärung	158

Abkürzungsverzeichnis

A.	Arterie
Abb.	Abbildung
AVM	arteriovenöse Malformation
B	Breite
BCLC	Barcelona Clinic Liver Cancer
BPH	benigne Prostatahyperplasie
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CCC	Cholangiocellular Carcinoma (Cholangiozelluläres Karzinom)
CCM	Campus Charité Mitte
CRC	Colorectal Carcinoma (Colorektales Karzinom)
CT	Computertomographie
cTACE	konventionelle transarterielle Chemoembolisation
CVK	Campus Charité Vichow Klinikum
d.h.	das heißt
DEB	Drug-eluting Bead (Medikamenten-freisetzende Mikrosphären)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DSA	Digitalesubtraktionsangiographie
DSM	Degradable Starch Mikrosphäre (degradierbare Stärkemikrosphären)
et al.	et alia (u.a.)
EvG	Elastika-van-Gieson
exkl.	ekklusive
FDA	Food and Drug Administration
FEM	Forschungseinrichtungen für experimentelle Medizin
Fr.	French
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
H	Höhe
HCC	Hepatocellular Carcinoma (Hepatozelluläres Karzinom)
HE	Hämatoxylin-Eosin
HEA	Hydroxyethylacrylat
i.a.	intraarteriell
i.v.	intravenös
Inc.	Incorporated

inkl.	inklusive
JMS	Jones-Methenamine-Silber
Kap.	Kapitel
kg	Kilogramm
KGW	Körpergewicht
KM	Kontrastmittel
LAGeSo	Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomographie
n	nano
NaCl	Natriumchlorid
NET	Neuroendocrine Tumor (Neuroendokrine Tumoren)
NWFZ	Neurowissenschaftlichen Forschungszentrum
PAE	Prostataarterienembolisation
PAS	Perjud-Acid-Schiff
PDO	Polydioxanon
PDS	Polydioxanon Sutures
PEG	Polyethylenglykol
PES	Post-Embolisations-Syndrom
PLGA	Poly (lactic-co-glycolic acid) (Polylactid-co-Glycolid)
PMMA	Polymethymethacrylat
PVA	Polyvinylalkohol
RNA	Ribonukleinsäure
s.c.	subkutan
SIRT	selektive interne Radiotherapie
SPF	spezifisch pathogenfrei
SPIO	superparamagnetisches Eisenoxid
T	Tesla
T	Tiefe
Tab.	Tabelle
TAE	transarterielle Embolisation
TACE	transarterielle Chemoembolisation
TAG	Trisacryl-Gelatine
TAGM	Trisacryl-Gelatine Mikrosphären
TARE	transarterielle Radioembolisation

TART	transarterielle Radiotherapie
TIVA	totale intravenöse Allgemeinanästhesie
TSE	Turbo-Spin-Echo
u.a.	und andere
UAE	Uterusarterienembolisation
USA	United States of America
VAF	virusantigenfrei
V.	Vena
z.B.	zum Beispiel
µm	Mikrometer
°	Grad
%	Prozent
§	Paragraph
®	registered trademark
™	trademark

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: SELDINGER-METHODE ZUR PERKUTANEN GEFÄßPUNKTION (SELDINGER 1953).....	4
ABBILDUNG 2: ÜBERSICHT DER KOMMERZIELL VERFÜGBAREN EMBOLISATIONSMATERIALIEN.....	10
ABBILDUNG 3: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES VERSUCHSAUFBAUS.....	32
ABBILDUNG 4: EINLEGEN EINER VENENVERWEILKANÜLE AM KANINCHEN.....	33
ABBILDUNG 5: INTERVENTIONSTISCH MIT NOTWENDIGEN INSTRUMENTARIEN.....	35
ABBILDUNG 6: CHIRURGISCHE PRÄPARATION UND ISOLATION DER ARTERIA FEMORALIS.....	36
ABBILDUNG 7: ANGIOGRAPHISCHE DARSTELLUNG DES GEFÄßBAUMS.....	37
ABBILDUNG 8: ANGIOGRAPHISCHE DARSTELLUNG DER SELEKTIVEN NIERENEMBOLISATION.....	38
ABBILDUNG 9: PATHOLOGISCHE SEKTION EINES EUTHANASIIERTEN VERSUCHSKANINCHEN.....	43
ABBILDUNG 10: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES SCHNITTSCHEMA NACH STAMPFL (2008).....	44
ABBILDUNG 11: BEISPIELE DER EMBOLISATIONSSCORES E 1 – E 3 IN DER ANGIOGRAPHIE.....	50
ABBILDUNG 12: BEISPIELE DER EMBOLISATIONSSCORES E 1 – E 3 IN DER MRT.....	51
ABBILDUNG 13: BEISPIELE DER EMBOLISATIONSSCORES E 1 – E 3 IN DER MAKROSKOPIE.....	51
ABBILDUNG 14: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES OKKLUSIONSSCORES O 1 – O3.....	53
ABBILDUNG 15: SCHEMATISCHE DARSTELLUNG DES GEFÄßWANDVERLETZUNGSSCORES G 0 – G 3.....	56
ABBILDUNG 16: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER PDO-MIKROSPHÄREN.....	62
ABBILDUNG 17: GRÖßENVERTEILUNG DER PDO-MIKROSPHÄREN.....	63
ABBILDUNG 18: ANGIOGRAPHISCHE DARSTELLUNG DES EMBOLISATIONSEFFEKTES.....	66
ABBILDUNG 19: EMBOLISATIONSSCORES IN DER ANGIOGRAPHIE EXKL. GRUPPE 0.....	67
ABBILDUNG 20; EMBOLISATIONSSCORE IN DER ANGIOGRAPHIE EXKL. GRUPPE 0.....	67
ABBILDUNG 21: KERNSPINTOMOGRAPHISCHE DARSTELLUNG DES EMBOLISATIONSEFFEKTES.....	68
ABBILDUNG 22: EMBOLISATIONSSCORE IN DER MRT EXKL. GRUPPE 0.....	69
ABBILDUNG 23: EMBOLISATIONSSCORE IN DER MRT EXKL. GRUPPE 0.....	69
ABBILDUNG 24: MAKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DES EMBOLISATIONSEFFEKTES.....	71
ABBILDUNG 25: MAKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DES EMBOLISATIONSEFFEKTES IM ANSCHNITT.....	72
ABBILDUNG 26: MAKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER MIKROINFARKTE.....	73
ABBILDUNG 27: EMBOLISATIONSSCORES IN DER MAKROSKOPIE EXKL. GRUPPE 0.....	74
ABBILDUNG 28: EMBOLISATIONSSCORES IN DER MAKROSKOPIE EXKL. GRUPPE 0.....	74
ABBILDUNG 29: ÜBERSICHT DER EMBOLISATIONSSCORES EXKL. GRUPPE 0.....	76
ABBILDUNG 30: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DES NIERENPARENCHYMS GRUPPE 0.....	78
ABBILDUNG 31: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DES HÄMORRHAGISCHER RANDSAUMS.....	79
ABBILDUNG 32: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DES EMBOLISATIONSEFFEKTES GRUPPE 1.....	80
ABBILDUNG 33: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DES EMBOLISATIONSEFFEKTES GRUPPE 5.....	80
ABBILDUNG 34: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER PARENCHYMMINERALISIERUNG GRUPPE 1.....	81
ABBILDUNG 35: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER PARENCHYMMINERALISIERUNG GRUPPE 5.....	81
ABBILDUNG 36: MAKRO- UND MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG EINES NIERENINFARKTES.....	82
ABBILDUNG 37: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG EINES MIKROINFARKTES.....	83
ABBILDUNG 38: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG EINER EMBOLISIERTEN ARTERIE GRUPPE 2.....	84
ABBILDUNG 39: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG EINER EMBOLISIERTEN ARTERIE GRUPPE 4.....	84
ABBILDUNG 40: ÜBERSICHT DER OKKLUSIONSSCORES EXKL. GRUPPE 0.....	85
ABBILDUNG 41: ÜBERSICHT DER OKKLUSIONSSCORES EXKL. GRUPPE 0.....	86
ABBILDUNG 42: ANGIOGRAPHISCHE DARSTELLUNG DES REPERFUSIONSEFFEKTES.....	86

ABBILDUNG 43: REPERFUSIONSEFFEKT NACH QUALITÄT DER REPERFUSION EXKL. GRUPPE 0.....	87
ABBILDUNG 44: REPERFUSIONSEFFEKT NACH QUALITÄT UND STANDZEIT EXKL. GRUPPE 0.....	88
ABBILDUNG 45: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER PARTIKELDEGRADATION.....	92
ABBILDUNG 46: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER PARTIKELDEGRADATION GRUPPE 5.....	93
ABBILDUNG 47: ÜBERSICHT DER DEGRADATIONSSCORES.....	94
ABBILDUNG 48: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER FREMDKÖRPERREAKTION.....	96
ABBILDUNG 49: MIKROSKOPISCHE DARSTELLUNG DER GEFÄßWANDVERLETZUNG.....	98
ABBILDUNG 50: ÜBERSICHT DER GEFÄßWANDVERLETZUNGSSCORES.....	99

1 Einleitung

Der Einsatz moderner, minimal-invasiver Therapien zur Minimierung des operativen Traumas hat in den letzten Jahrzehnten für eine Vielzahl medizinischer Indikationen zunehmenden Stellenwert erlangt. Zu diesen zählen unter anderem kathetergestützte Embolisationsverfahren aus dem Bereich der interventionellen Radiologie, bei welchen zumeist arterielle Gefäße durch gezielte endovaskuläre Injektion spezieller Embolisationsmaterialien selektiv und unter angiographischer Bildkontrolle verschlossen werden. Die kathetergestützte Gefäßembolisation hat heutzutage ein breites Einsatzspektrum gefunden und sich als wirksame, minimal-invasive Alternative in der Behandlung benigner und maligner hypervaskularisierter Neoplasien als erfolgreich bewiesen. Darüber hinaus werden die Verfahren auch in der Therapie nicht-tumoröser Krankheitsbilder, wie zum Beispiel Blutungen unterschiedlicher Genese oder bei vaskulären Anomalien angewandt.

Der zunehmende Erfolg der minimal-invasiven Therapieverfahren hat die Erforschung und Entwicklung diverser neuartiger Embolisationsmaterialien in den letzten Jahren maßgeblich gefördert. Heutzutage ist eine Auswahl an Embolisationspartikeln auf dem Markt erhältlich, die sich anhand ihrer biologischen und physikalischen Eigenschaften in permanente und temporäre Materialien einteilen lassen. Aufgrund der wachsenden Bedeutung in der Onkologie und potentieller Vorteile gegenüber permanenten Stoffen sind insbesondere die temporären Embolisationspartikel in den Fokus der Forschung gerückt.

Bis dato sind eine limitierte Anzahl temporärer Embolisationsmaterialien auf dem Markt verfügbar, welche aufgrund unterschiedlicher Limitationen in Handhabbarkeit, Wirksamkeit, Resorptions- oder Entzündungsverhalten bis dato kein breites Anwendungspotential gefunden haben. Neben einer leichten Injektionsfähigkeit durch herkömmliche Kathetersysteme und einem daraus resultierenden effektiven, als auch vorhersehbareren Gefäßverschluss, sollte ein ideales und vielfältig einsetzbares temporäres Embolisationsmaterial eine kontrollierte Resorptionszeit und eine lokal begrenzte Entzündungsreaktion aufweisen, welche eine vollständige Wiederherstellung der Gefäßfunktionalität erlaubt. Darüber hinaus ist eine Echtzeit-Visualisierung der Partikel während der Angiographie anzustreben. Für Einsätze in der onkologischen Interventionsmedizin sollte ein ideales Embolisationsmaterial darüber hinaus die Fähigkeit besitzen mit Medikamenten beladen werden zu können.

Die in der vorliegenden Studie untersuchten, neu entwickelten Polydioxanon (PDO)-Mikrosphären scheinen einen Großteil dieser Eigenschaften in einem Material zu vereinen.

2 Literaturteil

2.1 Katheterembolisation

Kathetergestützte Embolisationsverfahren sind minimal-invasive, lokoregionäre Behandlungsmethoden aus dem Fachgebiet der interventionellen Radiologie. Ziel des Verfahrens ist ein selektiver Gefäßverschluss arterieller (selten venöser) Strombahnen durch endovaskuläre Injektion von Embolisationsmaterial durch ein Kathetersystem unter angiographischer Bildkontrolle.

2.1.1 Technik der Katheterembolisation

Der Standardgefäßzugang für die Katheterembolisation ist die retrograde Punktion der Arteria (A.) femoralis communis. Alternativ ist beim Menschen ein transbrachialer Zugang und beim Versuchstier der Karotiszugang möglich. Venöse Zugänge erfolgen häufig transjugulär. In der Humanmedizin erfolgt die Gefäßpunktion perkutan unter Palpation des Gefäßpulses oder Ultraschall-gesteuert und unter Verwendung von Lokalanästhetika des Amid-Typs (zum Beispiel (z.B.) Lidocain oder Prilocain). In der Versuchstiermedizin erfolgt der Zugang meist chirurgisch unter Allgemeinanästhesie. Im Anschluss an die Gefäßpunktion wird nach der Seldinger-Technik zunächst ein Führungsdraht und anschließend eine Gefäßschleuse eingeführt (siehe Abb. 1, Seite 3) (Seldinger 1953). Über die Gefäßschleuse erfolgt das Einführen eines Angiographiekatheters, über welchen mittels Kontrastmittelinjektion und Fluoroskopie sowie digitaler Subtraktionsangiographie (DSA) die visuelle Darstellung des Gefäßbaums erfolgt. Für die Sondierung der Gefäßäste steht eine Vielzahl angiographischer Selektivkatheter zur Verfügung. Die Auswahl des Katheters erfolgt je nach Konfiguration des zu sondierenden Gefäßes und der Embolisationsindikation. Unter fluoroskopischer Kontrolle erfolgt anschließend die Injektion des Embolisationsmaterials in das Zielgefäß.

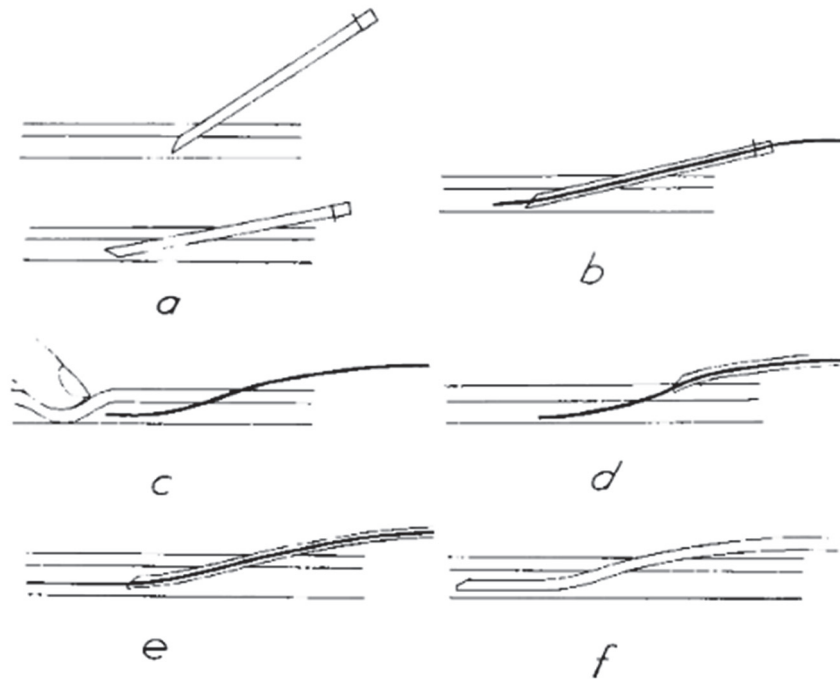


Abbildung 1: Seldinger-Methode zur perkutanen Gefäßpunktion (Seldinger 1953)

a) Punktion der Gefäßwand und Entfernung des Mandrins zum Zeitpunkt des pulssynchronen Blutaustritts b) Einführen des Führungsdrahtes durch die Punktionskanüle c) Entfernung der Punktionskanüle unter Fixierung des Führungsdrahtes d) Einführen der Gefäßschleuse über den Führungsdraht e) Positionierung der Gefäßschleuse im Gefäßsystem f) Entfernung des Führungsdrahtes unter Fixierung der Gefäßschleuse.

2.1.2 Embolisationsverfahren

In den letzten Jahrzehnten hat die Technik des selektiven endovaskulären Gefäßverschlusses bedeutsame Fortschritte verzeichnet, sodass man heutzutage eine Vielzahl an unterschiedlichen kathetergestützten Embolisationsverfahren unterscheidet.

Für eine detaillierte Beschreibung aller Verfahren wird auf die eingehende Fachliteratur verwiesen.

Im Sinne der vorliegenden Studie wird im Folgenden eine kurze Übersicht derjenigen Embolisationsverfahren aufgeführt, die eine Verwendung von Embolisationspartikeln erfordern. Hierbei lassen sich folgende Modalitäten unterscheiden:

- transarterielle Embolisation (TAE)
- transarterielle Chemoembolisation (TACE)
- transarterielle Radioembolisation (TARE)

Die TAE, oder auch blande Embolisation genannt, ist als der selektive Gefäßverschluss durch die alleinige Injektion von Embolisationsmaterial definiert (Brown et al. 2012, Gaba et

al. 2016). Da die TAE ohne Zusatz onkologischer Therapien wie z.B. Radio- oder Chemotherapie erfolgt, ist die blande Embolisation das Verfahren der Wahl bei allen nicht-tumorösen Krankheitsbildern oder benignen Tumoren (siehe Kap. 2.1.3). In ausgewählten Malignitäten wird die blande Embolisation mit dem Ziel des terminalen Verschlusses der arteriellen Blutversorgung eingesetzt, welche in einer ischämischen Nekrose durch Tumorhypoxie resultiert (Bruix and Sherman 2005, Bruix and Sherman 2011).

Bei der TACE (auch konventionelle TACE = cTACE) handelt es sich um ein Kombinationsverfahren aus lokaler, intraarterieller Chemoinfusion und transarterieller Embolisation. Dabei wird ein Chemotherapeutikum direkt in die den Tumor versorgende Arterie appliziert und das Gefäß mit Embolisationspartikeln selektiv verschlossen (Brown et al. 2012, Gaba et al. 2016). Der Wirkmechanismus ist somit mehrschichtig und beruht einerseits auf einer lokalen zytotoxischen Chemotherapie und andererseits auf einer ischämischen Dearterialisierung durch Embolisation (Bruix and Sherman 2005, Bruix and Sherman 2011). Der Gefäßverschluss verhindert außerdem das Auswaschen der Chemotherapie und führt somit zu einer Chemoretention und verlängerten Wirkdauer im Tumorgebiet (Coldwell et al. 1994). Eine moderne Adaptation der TACE ist die Verwendung von medikamenten-freisetzenden Mikrosphären (englisch „drug-eluting beads“ = DEB). Die sogenannte DEB-TACE ist ein neuartiges Verfahren bei dem kalibrierte Embolisationspartikel selbst zum Medikamententräger werden und nach intraarterieller Injektion sowohl den selektiven Gefäßverschluss als auch die gezielte Medikamentenapplikation in einem Ein-Schritt-Verfahren bewerkstelligen (Brown et al. 2012, Gaba et al. 2016). Neben einer lokalen Anreicherung hoher Wirkstoffkonzentrationen, liegt der Vorteil der TACE und DEB-TACE in der Minimierung der systemischen Bioverfügbarkeit und somit toxischer Nebenwirkungen des Chemotherapeutikums (Coldwell et al. 1994).

Die TARE oder auch transarterielle Radiotherapie (TART) oder selektive interne Radiotherapie (SIRT) genannt, ist ein Kombinationsverfahren aus lokaler, interner Strahlentherapie und transarterieller Embolisation (Brown et al. 2012, Gaba et al. 2016). Es handelt sich dabei um eine intraarterielle Injektion von Radioisotop-beladenen Mikrosphären zur selektiven Lieferung hoher intratumoraler Dosen an Beta-Strahlung unter Schonung des umliegenden Gewebes.

2.1.3 Indikationsspektrum

Das technische Konzept der Katheterembolisation wurde bereits in den 1930er Jahren durch Brooks entwickelt (Brooks 1930). Die erste klinisch wirksame Anwendung einer perkutanen Katheterembolisation erfolgte Jahrzehnte später in der Behandlung arteriovenöser Malformationen (AVM) (Luessenhop and Spence 1960). Bereits einige Jahre später

etablierte sich die Verfahrenstechnik in weiteren Indikationsbereichen, wie zum Beispiel in der Stillung akuter Blutungen (Rösch et al. 1972).

Mit den technischen und wissenschaftlichen Fortschritten in der Bildgebung, Kathetertechnologie und Materialforschung hat die kathetergestützte Embolisation in den vergangenen Jahrzehnten ein breites Einsatzspektrum gefunden und die Zahl der Anwendungsbereiche nimmt weiter stetig zu. Die Vielfalt der Anwendungsmöglichkeiten unterstreicht die große Bedeutung der Katheterembolisationsverfahren. Das Indikationsspektrum umfasst heutzutage verschiedene degenerative, kongenitale, traumatische und onkologische Erkrankungen und lässt sich grob in drei Gruppen unterteilen:

1. akute Blutungen
2. vaskuläre Anomalien (angeboren und erworben)
3. benigne und maligne hypervaskularisierte Neoplasien (Primär- oder Sekundärtumoren)

Dabei findet die Katheterembolisation entweder mit präoperativer, palliativer/symptomatischer oder kurativ-therapeutischer Zielsetzung Anwendung. Eine Übersicht der medizinischen Indikationen ist der Tabelle 1, Seite 7 zu entnehmen. Dabei wird im Folgenden auf die wichtigsten Indikationen kurz eingegangen.

Einen besonderen Stellenwert hat die TAE in der Behandlung gutartiger Uterusleiomyome, auch als Uterusarterienembolisation (UAE) bekannt. Die UAE wurde zunächst mit präoperativer Zielsetzung entwickelt (Ravina et al. 1994, Ravina et al. 1995a), fand aber bereits kurz nach erstmaliger Anwendung auch als kuratives Therapieverfahren Einsatz (Ravina et al. 1995b). Als minimal-invasive Behandlungsmethode mit geringer Nebenwirkungs- und Komplikationsrate stellt die TAE eine effektive und organerhaltende Behandlungsmöglichkeit im Vergleich zur Hysterektomie oder anderen gebräuchlichen Therapiemethoden des symptomatischen Uterus myomatosus dar (Dariushnia et al. 2014). Sie ist heutzutage durch eine Vielzahl an Studien in ihrer Wirksamkeit bestätigt, welche in der folgenden Metaanalyse zusammengefasst sind (de Bruijn et al. 2017).

Im Laufe der letzten Jahre ist außerdem die TAE der Prostata, auch Prostataarterienembolisation (PAE) genannt, zur Behandlung einer benignen Prostatahyperplasie in den Forschungsmittelpunkt gerückt (Pisco et al. 2011) und hat zuletzt im Juli 2018 die Zulassung der amerikanischen Food and Drug Administration (FDA) als Alternativmethode zur chirurgischen Intervention erlangt. Aufgrund fehlender Langzeitstudien und daher unzureichender Evidenzlage ist die PAE bis dato noch nicht als Behandlungsstandard zur Therapie einer benignen Prostatahyperplasie in europäische

Richtlinien aufgenommen, die ersten Ergebnisse aus Metaanalysen zeigen jedoch vielversprechende Ergebnisse (Malling et al. 2019, Zumstein et al. 2019).

Neben der UAE und PAE sind kathetergestützte Embolisationsverfahren ein wesentlicher Bestandteil in der Behandlung des Hepatozellulären Karzinoms (HCC), sowie bei hepatischen Metastasen. Die Rationale liegt darin, dass die Leber über eine duale Blutversorgung verfügt, welche physiologisch zu ca. 75% über die Pfortader und ca. 25% über die Leberarterie erfolgt. Bereits frühe Forschungsgruppen haben gezeigt, dass hepatische Tumoren mit fortschreitendem Wachstum zu einer zunehmenden Arterialisierung der Blutversorgung übergehen und ihre Blutversorgung im gut differenzierten Stadium überwiegend aus der Leberarterie beziehen (Breedis and Young 1954, Nakashima and Kojiro 1986). Dies ermöglicht eine gezielte Therapie unter gleichzeitiger Schonung des umgebenden nicht-tumorösen Lebergewebes mit Erhaltung der Leberfunktionen (Bruix et al. 2004, Bruix and Sherman 2005).

Trotz bekannter Risikofaktoren und implementierter Überwachungsprogramme bedingt der meist stille Verlauf des HCC eine späte Diagnose, zu welchem Zeitpunkt der Einsatz kurativer Verfahren wie Resektion, Transplantation oder perkutane ablativ Therapiesansätze nicht mehr möglich ist. Gemäß europäischer Richtlinien sind nur 30-40% der Patienten für kurative Verfahren geeignet, für die HCC-Patienten im intermediären Stadium (BCLC B = asymptomatisch, multinodulär, erhaltene Leberfunktion, keine vaskuläre Invasion, keine extrahepatische Streuung) kommen kathetergestützte Embolisationsverfahren als palliative Therapiesansätze zum Einsatz (Llovet et al. 2012, Galle et al. 2018). Die klinischen Erfolge einer blanden TAE sind umstritten. Obwohl die blande Tumorembolisation nachweisbar ausgedehnte ischämische Nekrosen hervorruft, stimuliert die entstehende Tumorphoxie HCC-Studien zufolge eine Kaskade, die durch Hochregulation diverser proangiogenetischer Faktoren gekennzeichnet ist. Diese Wachstumsfaktoren können die Tumorangio-genese, -proliferation, -metastasierung, Apoptose-Inhibierung, Chemo- und -Radioresistenz nachweislich fördern (Kim et al. 1998, Kim et al. 2002, Li et al. 2004, Liao et al. 2004, Wu et al. 2007). Daher ist die blande Embolisation in der Behandlung von HCC-Patienten zugunsten der TACE und DEB-TACE, welche vielfach vorteilhafte Ergebnisse erzielt, in den Hintergrund gerückt (Llovet et al. 2002, Lo et al. 2002, Llovet and Bruix 2003).

Aufgrund der radiosensitiven Natur des gesunden Leberparenchyms und somit der begrenzten Möglichkeit letale Strahlendosen zu liefern, spielte die externe Strahlentherapie bis dato nur eine begrenzte Rolle in der Behandlung von HCC-Patienten. Die TARE bietet ein neues therapeutisches Instrument der Bestrahlungstherapie für die Palliativbehandlung von HCC-Patienten im intermediären (BCLC B) und weiter fortgeschrittenen Stadien und ist in ihrer Wirksamkeit durch unterschiedliche Studien bewiesen (Kulik et al. 2008, Salem et al. 2010).

Die Leber ist die dominierende Stelle für metastatische Erkrankungen bei einer Reihe von malignen Erkrankungen, einschließlich dem kolorektalem Karzinom (CRC), neuroendokrinen Tumoren (NET), Mammakarzinomen und weiteren, für welche kurative Ansätze in vielen Fällen nicht in Frage kommen. Auch hier wird die (DEB-) TACE als minimalinvasive Therapiealternative erforscht, eine Übersicht der hierzu veröffentlichten Studien ist aus den folgenden Reviews zu entnehmen (Vogl et al. 2009, Richardson et al. 2013, M. Wang et al. 2017).

Tabelle 1: Übersicht des Indikationsspektrums der Katheterembolisation

Indikationsgruppe	Klinische Anwendung
Akute Blutungen	- gastrointestinale Blutungen
	- bronchiale/pulmonale Blutungen
	- peripartale Blutungen
	- traumatische Blutungen
	- iatrogene Blutungen
	- u.a.
Vaskuläre Anomalien	- vaskuläre Malformationen
	- Aneurysmen
	- Varizen
	- vaskuläre Tumoren
	- u.a.
benigne Neoplasien	- Uterusleiomyome
	- Prostatahyperplasien
	- Hämangiome
	- u.a.
maligne Neoplasien (primär)	- hepatozelluläre Karzinome
	- Nierenzellkarzinome
	- Osteosarkome
	- Cholangiozelluläre Karzinome
	- u.a.
maligne Neoplasien (sekundär)	- hepatische Metastasen
	- ossäre Metastasen
	- u.a.

Darüber hinaus befindet sich eine Vielzahl neuer Indikationen und Anwendungsmöglichkeiten in unterschiedlichen Stadien der Forschung. Kürzlich ist die sogenannte bariatrische Embolisation zur Behandlung von Adipositas als neuartigste Anwendungsmöglichkeit in den Fokus der Forschung gerückt. Dabei soll die Embolisation von Arterien des Magenfundus über eine Hemmung der Hormonproduktion der Magenschleimhaut den Appetit lindern und sich positiv auf die Gewichtsabnahme auswirken (Weiss et al. 2019).

2.2 Embolisationsmaterial

Die heutzutage verfügbaren Embolisationsmaterialien lassen sich anhand ihrer biologischen und physikalischen Eigenschaften in verschiedene Gruppen einteilen. Man unterscheidet flüssige von festen Materialien, wobei feste Embolisate weiter in mechanische und partikuläre Embolisationsmaterialien differenziert werden können (siehe Abb. 2, Seite 9)

Im Kontext dieser Studie werden im nachfolgenden Kapitel die Eigenschaften der Embolisationspartikel näher beleuchtet, welche je nach ihrer Beständigkeit in permanente und temporäre Materialien unterteilt werden können. Für eine detaillierte Beschreibung von flüssigen als auch mechanischen Embolisaten wird auf die eingehende Fachliteratur verwiesen. Eine Übersicht der aktuell auf dem Weltmarkt verfügbaren Embolisationspartikel und ihre Gruppenzugehörigkeit ist der Tabelle 2, Seite 15 zu entnehmen. Sie erhebt keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

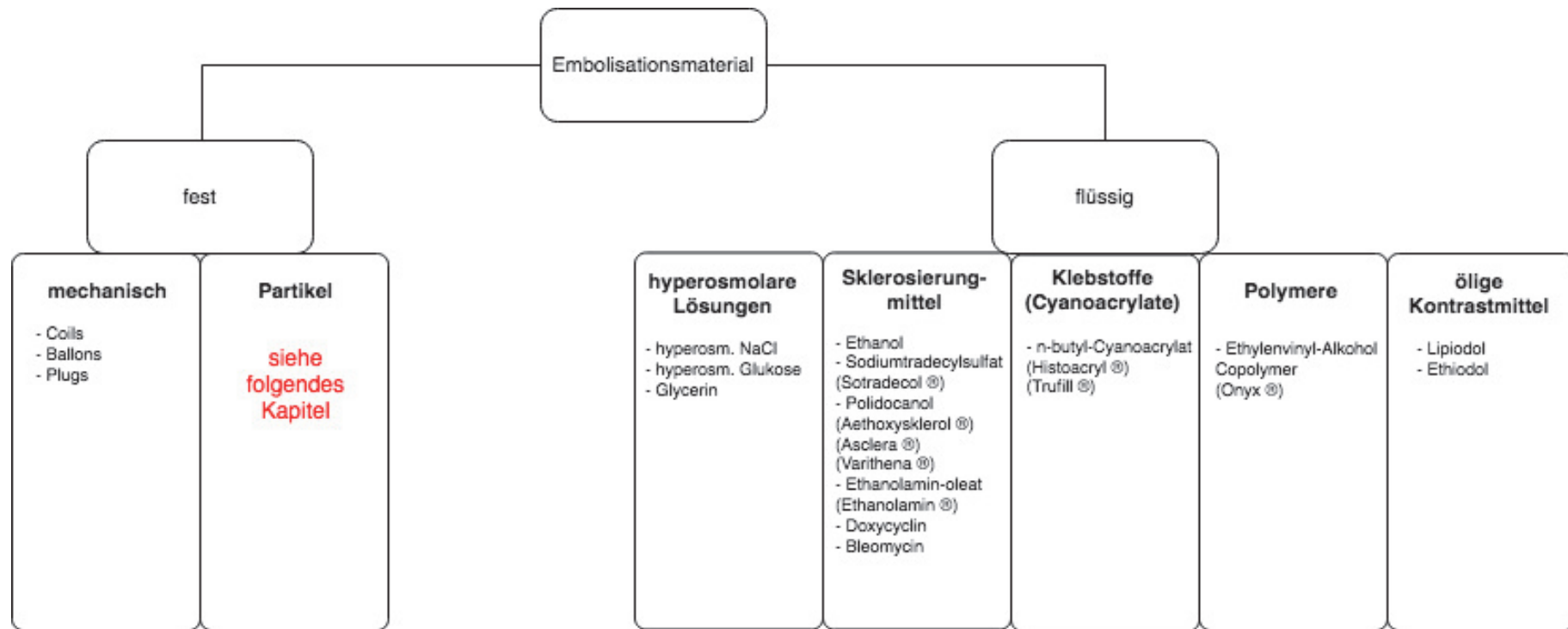


Abbildung 2: Übersicht der kommerziell verfügbaren Embolisationsmaterialien

Die Einteilung der Embolisationsmaterialien erfolgt anhand von physikalischen Eigenschaften in flüssige und feste Materialien. Die festen Materialien werden weiter unterschieden in mechanische Embolisationsmaterialien wie Coils, Plugs und Ballons sowie Embolisationspartikel. Im Kontext dieser Studie wird im Weiteren auf die nähere Behandlung von flüssigen als auch mechanischen Embolisaten verzichtet. Die Embolisationspartikel werden in Kapitel 2.2 näher erläutert werden (Diese Abbildung erhebt keine Ansprüche auf Vollständigkeit).

2.2.1 Permanente Embolisationspartikel

Unter den derzeit verfügbaren permanenten Embolisationspartikeln können Partikel aus Polyvinylalkohol (PVA), Trisakrylgelatine (TAG), Polymethylmethacrylat (PMMA) und Polyethylenglykol (PEG) unterschieden werden.

Polyvinylalkohol ist ein nicht-resorbierbares, synthetisches Material, welches ursprünglich unter dem Namen Ivalon von großem industriellem und hauswirtschaftlichem Nutzen war. PVA zählt zu den ersten kommerziell verfügbaren Embolisationsmaterialien und wurde in den 1970er Jahren in Form eines Schwammes zur transarteriellen Embolisation angewandt (Tadavarthy et al. 1974, Tadavarthy et al. 1975, Castaneda-Zuniga et al. 1978, Kerber et al. 1978). Die heute kommerziell verfügbaren PVA-Partikel werden unter multiplen Markennamen vertrieben, zum Beispiel Contour™ (Boston Scientific, Nattick, Massachusetts, USA), PVA foam embolization particle (Cook Medical, Bloomington, Indiana, USA) und Bearing™ nsPVA (Merit Medical Systems, Inc., South Jordan, Utah, USA). Das strahlenundurchlässige Material ist in getrockneter Form erhältlich und bedarf eine Rekonstitution mit einer Kontrastmittelsuspension vor Gebrauch. Nachteil der nicht sphärischen PVA-Partikel ist die irreguläre Form, welche in einer großen granulometrischen Breite und einem erhöhten Risiko für Partikelaggregation und Katheterobstruktionen resultiert (Derdeyn et al. 1995, Derdeyn et al. 1997). Um diese Nachteile zu überbrücken wurde eine neue Generation an PVA-Embolisaten entwickelt. Diese umfasst die uniformen, sphärischen Partikel Contour SE™ (Boston Scientific, Nattick, Massachusetts, United States) und Beadblock® (Biocompatibles UK Ltd., Farnham, United Kingdom). Contour SE™ Mikrosphären bestehen aus reinem PVA, Beadblock® Mikrosphären basieren auf einem PVA-Hydrogel aus Acrylamid-Polyvinylalkohol. Darüberhinaus sind unterschiedliche DEB aus modifiziertem Polyvinylalkohol kommerziell erhältlich: Die europäischen DC Beads™ (Biocompatibles UK Ltd., Farnham, Surrey, Vereinigtes Königreich) und die amerikanischen LC Beads™ (Biocompatibles UK Ltd., Farnham, Surrey, Vereinigtes Königreich) und deren Modifikationen DC Bead Lumi™ und LC Bead Lumi™, sowie die amerikanischen QuadraSphere®-Mikrosphären (Merit Medical Systems Inc., Rockland, MA, Vereinigte Staaten) und die außerhalb Amerikas verfügbaren HepaSphere® (Merit Medical Systems Inc., Rockland, MA, Vereinigte Staaten).

Trisakrylgelatine Mikrosphären (TAGM) namens Embosphere® Microspheres (Merit Medical Systems, Inc., South Jordan, Utah, Vereinigte Staaten) sind präzise kalibrierte, biokompatible Mikrosphären aus einer nicht-resorbierbaren, mikroporösen Acryl-Matrix, welche mit porziner Gelatine be- und vernetzt ist. Es handelt sich um kompressible Sphären, welche ihren Durchmesser während der Injektion temporär um 33–40 % verringern können und nach Applikation ohne Anzeichen von Schaden Ihre Ursprungsgröße annehmen (Laurent et al. 1996). Diese elastischen Eigenschaften erlauben eine geschmeidige

Katheterpassage und somit eine leichte Handhabung und Injektionsfähigkeit, auch durch Mikrokatheter (Laurent et al. 1996, Derdeyn et al. 1997). Dank ihrer runden und glatten Form, wie auch den hydrophilen Materialeigenschaften, zeigen die Partikel außerdem keine Anzeichen von Akkumulation, Aggregation oder Katheterverstopfung und führen daher zu einer uniformen und zielsicheren Verteilung im Gefäßbett (Beaujeux et al. 1996). Der Subtyp EmboGold® wurde für eine verbesserte Visualisierung mit 2% elementarem Gold imprägniert und ist ebenfalls in den aufgelisteten Größen erhältlich.

Mikrosphären aus Polymethylmethacrylat-Hydrogel namens Embozene™ Mikrosphären (CeloNova BioSciences, Newnan, Georgia, USA) sind kompressible, kalibrierte, biokompatible Mikrosphären mit einem Hydrogel-Kern aus Polymethylmethacrylat und einer dünnen Beschichtung aus einer Poly-Bis(Trifluoroethoxy)-Phosphazene Formulierung namens Polyzene®-F (CeloNova BioSciences, Newnan, Georgia, USA). Polyzene®-F ist ein anorganisches Polymer, das aufgrund seiner antithrombogenen, antiinflammatorischen und stabilen Eigenschaften zur Beschichtung von endoluminalen Gefäßprothesen/Stents vermarktet wird (Capodanno and Tamburino 2010). Embozene™ Tandem sind superselektiv kalibrierte Mikrosphären aus einem PMMA-Kern und einer Polyzene-F-Beschichtung, welche als DEB mit Doxorubicin, Irinotecan, Epirubicin und Idarubicin beladen werden können.

Seit dem Jahre 2015 sind Mikrosphären aus Polyethylenglykol unter den Namen HydroPearl® (Terumo Europe N.V, Leuven, Belgien) auf dem Markt erhältlich. Es handelt sich dabei um biokompatible, präzise kalibrierte und kompressible Embolisationsmikrosphären, deren Subtyp LifePearl® als DEB zur Verfügung steht.

2.2.2 Temporäre Embolisationspartikel

Temporäre Embolisationsmaterialien bieten potentielle Vorteile gegenüber permanenten Stoffen, da sie aufgrund ihres resorbierbaren Charakters einen kurzzeitigen Gefäßverschluss bewirken und somit einen wiederholten vaskulären Zugang ermöglichen. Dies ist vor allem in Krankheitsbildern, die eine wiederholte Therapie oder eine Erhaltung von Organfunktionen erfordern, von Vorteil. Des Weiteren begrenzen temporäre Materialien die Ausschüttung angiogenetischer Faktoren, welche im Hepatozellulären Karzinom die unerwünschte Tumorangiogenese nachweislich fördern (Kim et al. 1998, Kim et al. 2002, Li et al. 2004, Liao et al. 2004, Wu et al. 2007). Letztlich werden temporäre Materialien aufgrund ihrer transienten Natur und kurzlebigen Fremdkörperwirkung besser toleriert und daher von Patienten präferiert.

Unter den derzeit verfügbaren temporären Embolisationspartikeln können Partikel aus Gelatine und aus Stärke unterschieden werden. Andere temporäre Embolisationsmaterialien umfassen natürliche Materialien wie Kollagen, Zellulose, Thrombin, sowie modifizierte

autologe Gewebe, wie zum Beispiel autologe Blutgerinnsel. Es handelt sich dabei meist um lokale Hämostatika, welche zulassungsüberschreitende Anwendung in endovaskulären Eingriffen finden. In den vergangenen Jahren ist ihre Nutzung allerdings zugunsten der neu-entwickelten Materialien zurückgegangen, sodass auf diese im Folgenden nicht weiter eingegangen wird.

Embolisationsmaterialien aus Gelatine sind die ersten beschriebenen, temporären Embolisationspartikel. Heutzutage stellt Gelfoam® (Pfizer Inc., New York, New York, USA) das gebräuchlichste resorbierbare Embolisat dar. Gelfoam® ist ein wasser-unlösliches, biodegradierbares Material aus gereinigter Gelatine, welche aus subkutanem Schweinefett gewonnen wird. Die Resorptionszeit ist in der Literatur variabel zwischen Wochen und Monaten angegeben (Jenkins and Clarke 1945, Cho et al. 1976, Barth et al. 1977). Auch ein permanenter Gefäßverschluss ist beschrieben, welcher auf eine begleitende Entzündungsreaktion zurückzuführen ist (Bracken et al. 1975, Jander and Russinovich 1980). Intravaskuläre Gelatine induziert eine akute Entzündungsreaktion in der Gefäßwand, welche bis auf die Membrana elastica interna (MEI) reichen kann (Bracken et al. 1975, Goldstein et al. 1976). Die teils nekrotisierend verlaufende Panarteritis ist mit dem Auftreten von Fremdkörperriesenzellen verbunden, welche mit Resorption der Partikel nach ca. ein bis zwei Monaten in der Regel selbstlimitierend verläuft (Light and Prentice 1975, Barth et al. 1977). Unter den kommerziell verfügbaren Produkten unterscheidet man sterile Gelfoam® Schwämme oder steriles Gelfoam® Puder, mit einem durchschnittlichen Partikeldurchmesser von 50 µm. Bei den Gelfoam® Schwämmen handelt es sich um Gelatine-Blöcke, aus denen durch manuelles Zuschneiden Embolisate erwünschter Größe hergestellt werden können, wie zum Beispiel millimeter-große Gelfoam® Partikel oder zentimeter-große Gelfoam® „Torpedos“. Darüber hinaus kann durch Mazeration von Gelfoam® Partikeln in Kontrastmittel ein sogenannter Gelfoam® - „Slurry“ hergestellt werden (Bank and Kerber 1979). Die „Torpedos“, Partikel oder „Slurries“ dienen der arteriellen Okklusion großer, proximaler Gefäße, während das Gelfoam® Puder zur distalen Embolisation des gesamten arteriolären Gefäßbettes wie z.B in der Tumorembolisation verwendet wird.

Sowohl das Gelfoam® Puder als auch der Gelfoam® Schwamm sind als extravaskuläre Hämostatika zugelassen. Die Verwendung als intravaskuläres Embolisationsmaterial erfolgt als zulassungsüberschreitende Anwendung („off-label use“). Das manuelle Zuschneiden der Gelfoam® Schwämme führt zu einer Entstehung irregulärer, nicht-sphärischer, nicht-kalibrierter Partikel mit einer hohen Größendiskrepanz und dem Risiko der Partikelaggregation (Katsumori and Kasahara 2006). Die in den Poren der Schwämme eingefangenen Luftblasen bergen zusätzlich das Risiko des Eintragens von aeroben

Infektionserregern (Lindstrom 1956, Greenfield 1980). In Japan sind daher seit 2006 ein- und zwei-millimeter große, kalibrierte Gelatine Partikel erhältlich (Gelpart, Nippon Kayaku, Tokyo, Japan) (Osuga et al. 2007, Sone et al. 2010). Trotzdem zeigten Studien, dass die Partikel weiterhin irregulär sind und eine breite Größenverteilung zeigen (Osuga et al. 2009). Daraufhin erfolgte die Entwicklung von uniformen Gelatine-Mikrosphären auf Basis einer früheren Studie (Tabata and Ikada 1989), welche sich derzeit noch in der klinischen Erforschung befinden (Ohta et al. 2007, Ohta et al. 2010, Nitta et al. 2013, Ohta et al. 2013, Ye et al. 2019).

2014 gab das Unternehmen Vascular Solutions, Inc., welches bereits einen Gelatine-Schwamm als Embolisationsmaterial vermarktet, die Markteinführung von Gel Bead™ Embolization Spheres (Vascular Solutions, Inc. Minneapolis, Minnesota, Vereinigte Staaten), größenkalibrierte, bioresorbierbare Mikrosphären aus Gelatine, bekannt.

Degradierbare Embolisationspartikel aus amylomerer Stärke (Degradable Starch microspheres =DSM) werden kommerziell unter den Handelsnamen EmboCept® S (EmboCept® S, PharmaCept, Berlin, Deutschland) und Spherex® (Spherex® Magle Life Science, Lund, Sweden) vertrieben. Es handelt sich um biodegradierbare Sphären aus einer dreidimensional-vernetzten, hydrophilen Polymer Matrix, die aus Kartoffelstärke gewonnen wird. DSM sind größenkalibriert, mit einem durchschnittlichen Durchmesser von 50 µm. Die intraarterielle Injektion von DSM-Mikrosphären verursacht dank einer Halbwertszeit von nur 30-40 Minuten einen kurzzeitigen Gefäßverschluss mit anschließend vollständiger Gefäßrekanalisierung (Lindell et al. 1978). In einer Leberembolisationsstudie an Schweinen zeigte sich nach Embolisation mit DSM eine vollständige angiographische Reperfusion der embolisierten Leberarterie nach 32 Minuten. Histologisch konnten keine nachweisbaren Unterschiede zwischen der mit DSM embolisierten Lebergewebe und dem unbehandeltem Lebergewebe festgestellt werden (Pieper et al. 2015). Die Embolisation mit DSM allein verursacht demnach eine nur vorübergehende Ischämie, welche nicht für die Induktion einer ischämischen Nekrose ausreicht und somit die Anwendung in tumorösen Indikationen limitiert. Ähnliches konnte für lösliche PVA-Mikrosphären mit einer Degradationszeit von 30 Minuten beschrieben werden (Shomura et al. 2011). Die DSM werden zwar routinemäßig in der TACE-Behandlung von HCC-Patienten eingesetzt, jedoch beruht der antitumorale Effekt nicht auf der Induktion einer Tumornekrose durch Ischämie, sondern auf der Erhöhung der Zytostatikakonzentration durch Verminderung der Auswaschung des Wirkstoffes in die systemische Zirkulation. Darüber hinaus hat eine frühe Studie am Kaninchenmodell nach mehrfacher Embolisation experimentell induzierter Lebertumoren mit DSM den antitumoralen Effekt einer sogenannten Ischämie-Reperfusionsverletzung beschrieben (Yoshikawa et al. 1994).

Tabelle 2: Übersicht permanenter und temporärer Embolisationspartikel

Material	Handelsname	Hersteller	Form	Größen (µm)	Indikationen	Bemerkungen
permanent						
Polyvinylalkohol	PVA Foam embolization particles	Cook Medical	irreguläre Partikel	90 – 2800	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen - intrakranielle Embolisation	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße
	Contour™	Boston Scientific Corporation	irreguläre Partikel	45 – 1180	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße
	Bearing™ ns PVA	Merit Medical Systems, Inc.	irreguläre Partikel	45 – 1180	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße
	Contour SE™	Boston Scientific Corporation	Mikrosphären	100 – 1200	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße

Polyvinylalkohol- Hydrogel	Beadblock ®	Biocompatibles Ltd. BTG International	Mikrosphären	100 –1200	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen - benigne Prostatahyperplasie	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - farblich markiert - präzise kalibriert
	DC Bead ® / DC Bead M1 ™	Biocompatibles Ltd. BTG International (Europa)	DEB- Mikrosphären	70 –900	- Primärtumoren der Leber - Lebermetastasen des colorektalen Karzinoms	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - farblich markiert - präzise kalibriert - beladbar mit Doxorubicin, Irinotecan
	DC Bead Lumi ™	Biocompatibles Ltd. BTG International (Europa)	Mikrosphären	70 – 300	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - farblich markiert - röntgendicht - präzise kalibriert
	LC Bead ® / LC Bead M1 ™	Biocompatibles Ltd. BTG International (USA)	DEB- Mikrosphären	70 – 900	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - farblich markiert - präzise kalibriert
	LC Bead Lumi ™	Biocompatibles Ltd. BTG International (USA)	Mikrosphären	70 – 300	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - farblich markiert - röntgendicht - präzise kalibriert

Polyvinyl-alcohol-Co-Natriumacrylat	QuadraSphere ®	Merit Medical Systems, Inc (USA)	DEB-Mikrosphären	20 – 200	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - präzise kalibriert
	HepaSphere ®	Merit Medical Systems, Inc (Europa)	DEB-Mikrosphären	30 – 200	- Primärtumoren der Leber - Lebermetastasen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - präzise kalibriert
Trisacryl-Gelatine	Embosphere ®	Merit Medical Systems, Inc	Mikrosphären	40 – 1200	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen - benigne Prostatahyperplasie	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - präzise kalibriert
	EmboGold ®	Merit Medical Systems, Inc	Mikrosphären	40 – 1200	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - farblich markiert - mit 2% elementarem Gold imprägniert - komprimierbar - präzise kalibriert

Polymethyl- methacrylat + Polyzene F	Embozene TM	Boston Scientific Corporation (Europa)	Mikrosphären	40, –1300	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen - benigne Prostatahyperplasie - akute Blutungen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - farblich markiert - präzise kalibriert
	Embozene Tandem [®]	Boston Scientific Corporation	DEB-Mikrosphären	40 – 100	- Primärtumoren der Leber - Lebermetastasen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - farblich markiert - präzise kalibriert - beladbar mit Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Irinotecan
	Oncozene TM	Boston Scientific Corporation (USA)	Mikrosphären	40 – 100	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - präzise kalibriert - farblich markiert
Polyethylenglykol	LifePearl [®]	Terumo Interventional Systems	DEB-Mikrosphären	100 –400	- Primärtumoren der Leber - Lebermetastasen	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - farblich markiert - präzise kalibriert - beladbar mit Doxorubicin, Epirubicin, Idarubicin, Irinotecan
	HydroPearl [®]	Terumo Interventional Systems	DEB-Mikrosphären	75 –1100	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen - benigne Prostatahyperplasie	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - farblich markiert - komprimierbar - präzise kalibriert

temporär						
Gelatine	Gelfoam ®	Pharmacia & Upjohn Company	irreguläre Partikel	variabel	- hämostatisches Puder oder Schwamm - zulassungsüberschreitende Anwendung („off-label use“)	- manuelles Zuschneiden erforderlich
	Gel-Block ™	Vascular Solutions, Inc.	irreguläre Partikel	2000 – 3000	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom) - arteriovenöse Malformationen	
	Gel-Bead ™	Vascular Solutions, Inc.	Mikrosphären	100 – 1000	- Tumoren (z.B. Uterusleiomyom)	- farbkodierte Flaschen nach Partikelgröße - komprimierbar - präzise kalibriert
Stärke	EmboCept ® S	PharmaCept GmbH	Mikrosphären	50	- Primärtumoren der Leber - Lebermetastasen	
	Spherex ®	Magle Life Sciene	Mikrosphären	20 – 45	- Primärtumoren der Leber - Lebermetastasen	

2.2.3 Aktuelle Forschung

Aktuell befassen sich mehrere Arbeitsgruppen (siehe Tab. 3, Seite 23) mit natürlichen und synthetischen Polymeren als temporäres Embolisationsmaterial. In einer 2018 veröffentlichten Übersicht sind alle relevanten Daten zu den sich aktuell in der Erforschung befindlichen, neuartigen temporären Embolisationspartikeln detailliert zusammengefasst (Doucet et al. 2018).

Chitin ist das zweithäufigste natürliche Biopolymer und wird aus dem Exoskelett von Schalentieren gewonnen werden. Es dient als Ausgangsstoff für die Synthese von Chitosan, welches als biokompatibles, biodegradierbares Material unterschiedlichen Nutzens bekannt ist (Hirano 1999, Kumar 2000). Bereits 2005 wurde die Verwendung von Chitin und Chitosan als Embolisationsmaterial erforscht (Kwak et al. 2005). Kwak et al. zeigten eine vollständige Resorption von Chitosan-Mikrosphären nach 32 Wochen in Begleitung einer moderaten Fremdkörperentzündungsreaktion. Darüber hinaus sind Chitosanpartikel deformierbar und lassen sich leicht durch Katheter injizieren (Kang et al. 2010). Diverse Studien haben außerdem gezeigt, dass die Chitosan-Partikel mit Zytostatika beladen werden können (Kim et al. 2007, Park et al. 2012, Kim et al. 2013) und dass eine MRT-Visualisierung mittels superparamagnetischem Eisenoxid möglich ist (Lee et al. 2005, Kang et al. 2009, Chung et al. 2012, S. Y. Choi et al. 2015). Durch Modifikationen im Acetylierungsgrad können die physikochemischen Eigenschaften der Chitosan-Mikrosphären angepasst werden (Zhou et al. 2014b, Zhou et al. 2014a). Erste Untersuchungen im Kaninchen VX2 Lebertumormodell zeigten vielversprechende Ergebnisse (Hwang et al. 2018). Weng et al. entwickelten kalibrierte und beladbare Hydrogel-Mikrosphären aus Carboxymethyl-Chitosan und Carboxymethyl-Cellulose (Weng et al. 2013a, Weng et al. 2013b). Präklinische in vitro und in vivo Untersuchungen zeigten eine leichte Injektionsfähigkeit durch Katheter (Weng et al. 2011b, Weng et al. 2013c). Die Degradationszeit der Partikel lag in Abhängigkeit vom Acetylierungsgrad zwischen zwei und vier Wochen in vitro (Weng et al. 2011a, Weng et al. 2011b) und bei 14 Tagen in vivo, in Begleitung einer moderaten Entzündungsreaktion mit Gefäßwandveränderungen (Weng et al. 2015). Auch eine Langzeitverträglichkeit ist beschrieben (Weng et al. 2018). Neueste Studien berichten über einen möglichen Einsatz als DEB (Weng et al. 2016). Berichte über eine klinische Anwendung bleiben zu erwarten.

Alginate ist ein ebenfalls natürlich vorkommendes Polysaccharid, das aufgrund seiner Biokompatibilität und Struktur vielfach in der Lebensmittel- und Kosmetikindustrie verwendet wird. In Verbindung mit divalenten Kationen bildet Alginate ein biodegradierbares Hydrogel, das in der Embolotherapie bereits von großem Interesse ist (Becker et al. 2001, Becker et al. 2005, Becker et al. 2007). Forster et al. entwickelten Mikrosphären aus Alginate, welche sowohl in vivo als auch in vitro eine gute Handhabbarkeit und Injektionsfähigkeit ohne Fragmentation

und Aggregation demonstrierten (Forster et al. 2010). Auch der Kompressionstest fiel positiv aus und die Ergebnisse waren mit denen von BeadBlock® vergleichbar. Eine in vitro Degradation war ab Woche zwölf zu beobachten. In einer tiexperimentellen Studie hingegen waren nach zwölf Wochen keine Anzeichen von Degradation sichtbar (Forster et al. 2010). Eine Visualisierung in der Fluoroskopie oder Magnetresonanztomographie erscheint sowohl mittels Barium-Sulfat (BaSO_4) als auch mit Lanthanoiden möglich (Oerlemans et al. 2013, Q. Wang et al. 2015, Q. Wang et al. 2017). Weiterhin sind sie mit unterschiedlichen Medikamenten beladbar und so intraarteriell vielseitig einsetzbar (Rong et al. 2015, van Elk et al. 2015, Rong et al. 2017, Xuan et al. 2017). Verschiedene Arbeitsgruppen haben darüber hinaus mit Chitosan beschichtete Alginat-Mikrosphären zur Chemoembolisation erforscht (Li et al. 2002, Misirli et al. 2005, Eroglu et al. 2006, Zhang et al. 2013).

Auch die Entwicklung von synthetischen Embolisationsmaterialien ist kürzlich in den Fokus der Forschung gerückt. Eine französische Arbeitsgruppe entwickelte neuartige, beladbare, schnell-degradierbare Mikrosphären aus Polyethylenglykol-(PEG)-Methacrylat-Hydrogel mit hydrolysierbaren Polylactid-co-Glycolid-(PLGA)-Polyethylenglykol-(PEG)-Brücken (Louguet et al. 2014). Das Gel hat dank seiner Hydrophililität, Elastizität und Biokompatibilität großen biomedizinischen Nutzen (Centre National De La Recherche Scientifique et al. 2012). Als Embolisat mit dem Namen ResMic (ResMic, Occlugel SAS, Jouy-en-Josas, Frankreich) befindet es sich derzeit in der tierexperimentellen Untersuchung (Maeda et al. 2013, Verret et al. 2014). In vivo Studien am ovinen und porcinen Nieren- und Uterusmodell zeigten, für unterschiedlich kalibrierte Partikelgrößen, eine leichte und steuerbare intra-arterielle Injektionsfähigkeit ohne Hinweise für Aggregation. Die Mikrosphären erreichten einen effizienten und kompletten Gefäßverschluss, welcher sich nach sieben Tagen angiographisch und histologisch wiederherstellt (Maeda et al. 2013, Verret et al. 2014). Die in vitro Resorptionsrate in phosphatgepufferter Salzlösung entsprach je nach chemischer Zusammensetzung 24-48 Stunden (Maeda et al. 2013, Louguet et al. 2014). Die Autoren des Material-Patents postulieren, dass die Resorptionszeit durch Anpassungen der chemischen Struktur des Polymers modifiziert werden kann (Centre National De La Recherche Scientifique et al. 2012). Die Gewebeverträglichkeit der ResMic-Mikrosphären und deren Degradationsprodukte wurde in einer Zytotoxizitätsstudie verschiedener Zellkulturen in vitro nachgewiesen (Louguet et al. 2014). Subkutane und intraarterielle in vivo Untersuchungen attestieren dem Embolisat ebenfalls eine gute Biokompatibilität (Maeda et al. 2013, Louguet et al. 2014, Verret et al. 2014). Berichte über eine klinische Anwendung bleiben zu erwarten. In vitro zeigten die ResMic-Mikrosphären eine gute Beladbarkeit mit verschiedenen Pharmazeutika (Bedouet et al. 2015, Bedouet et al. 2016).

Ein allein auf PLGA basierendes, mit bovinem Kollagen überzogenes Embolisationsmaterial namens Ekobi™ Embolization Microspheres (IMBiotechnologies Ltd., Edmonton, Vereinigte

Staaten) ist in den USA und Kanada bereits in kalibrierten Größen von 40 - 800 µm erhältlich. Das neuartige, biodegradierbare Produkt, welches in der Forschung noch unter dem Familiennamen Occlusin™ 500 (OCL 500) bekannt ist, ist größen-kalibriert und leicht zu applizieren. Das bovine Kollagen bindet an zirkulierenden Thrombozyten, sodass ein vollständiger Gefäßverschluss durch in einen Thrombus gebettete Mikrosphären entsteht. Die Mikrosphären degradieren nach 4-6 Monaten, eine komplette Gefäßrekanalisierung findet aufgrund der fibrotischen Reaktion jedoch erst nach 12 Monaten statt und ist von einer milden mononukleären und Fremdkörper-Entzündungsreaktion begleitet. Aufgrund der erhöhten Dichte verbleiben die Mikrosphären am Ort der Injektion und führen nur selten zu Reflux (Owen et al. 2012). OCL 500 erlangte als Medizinprodukt 2010 die FDA-Zulassung für die Behandlung von inoperablen, benignen und malignen hypervaskulären Tumoren. 2019 wurde die Zulassung in Kanada für die Embolisation hypervaskulärer Tumoren, Uterusmyome und der BPH erweitert. Klinische Studien am Menschen sind bis dato noch nicht veröffentlicht. Ein Drug-loading ist für die OCL 500 Mikrosphären nicht beschrieben, jedoch bestehen anderweitige Mikrosphären aus PLGA, für welche ein Beladen mit unterschiedlichen Pharmazeutika beschrieben ist (Chen et al. 2015, J. W. Choi et al. 2015, Choi et al. 2017). Die Ekobi™ Mikrosphären sind hyperechogen und ermöglichen dem Hersteller zufolge intra- und post Embolisation eine minimal-invasive sonographische Visualisierung.

PVA ist wie bereits geschildert ein nicht biologisch abbaubares synthetisches Polymer und wird daher als permanentes Embolisationsmaterial angesehen. Shomura et al. entwickelten 2011 PVA-Mikrosphären, die bei bestimmten Verseifungsgraden wasserlöslich und degradierbar sind. Entsprechend der chemischen Struktur belief sich die Resorptionszeit zwischen 3 Stunden und 21 Tagen ohne signifikante Begleitentzündung (Shomura et al. 2011). Eine weitere Erforschung dieser Mikrosphären blieb bis heute aus. Es befinden sich allerdings anderweitig zusammengesetzte degradierbare PVA-Mikrosphären in der Forschung (Wang et al. 2014, Liang et al. 2017)

Schwarz et al. entwickelten degradierbare Mikrosphären aus synthetischem Hydroxyethylacrylat (HEA), welches subsequent im Embolisationsmodell an Hund und Kaninchen getestet wurde. Eine Resorption der Partikel erfolgte nach 1-3 Wochen ohne signifikante Entzündungsreaktion (Schwarz et al. 2004). Bis dato erfolgte jedoch keine Weiterentwicklung der HEA-Mikrosphären. Poly-Lactid und Poly-caprolacton Mikrosphären sind sowohl in der Medizin als auch in der Kosmetik bereits vielfältig zur Freisetzung niedermolekularer Wirkstoffe im Einsatz. Ein experimenteller Nutzen in der Embolotherapie ist jedoch nur vereinzelt beschrieben (Fujiwara et al. 2000, Y. J. Wang et al. 2015, Salis et al. 2017) und scheint seinen klinischen Einsatz bis dato nicht gefunden zu haben.

Tabelle 3: Übersicht der aktuell erforschten temporären Embolisationspartikel

Material	Studiengruppe	Herkunft	Versuchstiermodell	Resorptionszeit	Entzündungsreaktion
Chitosan	Kwak et al. (2005)	natürlich	Nierenmodell (Kaninchen)	Monate (16-24 Wochen)	moderat
Carboxymethyl- Chitosan- Carboxymethyl- Cellulose - Hydrogel	Weng et al. (2011-2018)	natürlich	Nierenmodell (Kaninchen)	Wochen (>2 Wochen)	moderat
Alginat - Hydrogel	Forster et al. (2010)	natürlich	Uterusmodell (Schaf)	Monate (>12 Wochen)	mild bis moderat
Polyethylenglykol- Methacrylat - Hydrogel	Maeda et al. (2013) Verret et al. (2014) Louguet et al. (2014)	synthetisch	Nierenmodell (Schwein) Uterusmodell (Schaf)	Tage (>1 Woche)	keine bis mild
Polylactid-co-Glycolid	Owen et al. (2012)	synthetisch	Uterusmodell (Schaf)	Monate (>12 Monate)	mild bis moderat
Lösliches Polyvinylalkohol	Shomura et al. (2011)	synthetisch	Nierenmodell (Schwein)	Tage bis Wochen (>3 Wochen)	keine bis mild
Hydroxyethylacrylat - Hydrogel	Schwarz et al. (2004)	synthetisch	Nierenmodell (Hund)	Wochen (>3 Wochen)	keine bis mild

3 Ziele der Studie

Trotz der Vielfalt an verfügbaren Embolisationsmaterialien bietet der Weltmarkt derzeit keine Embolisationspartikel, welche alle notwendigen Eigenschaften für eine transarterielle (Chemo-)Embolisation in einem Produkt vereinen. Bereits vor einigen Jahren wurden die idealen Eigenschaften und Ansprüche an neuartige Embolisationsmaterialien von Expertengruppen auf Basis vergleichender Studien definiert und werden im Folgenden zusammengefasst (Laurent 2007, Senturk et al. 2010). Für die klinische Anwendbarkeit ist eine technische Durchführbarkeit und Handhabung unabdingbar, weshalb neue Embolisationsmaterialien einfach durch herkömmliche (Mikro-)Katheter injizierbar sein müssen. Dies geht unter anderem mit speziellen Anforderungen an die physikalischen Eigenschaften wie zum Beispiel eine sphärische Form oder Kompressibilität einher. Darüber hinaus wird eine in-vivo Visualisierung der Embolisationsmaterialien mittels Computer- oder Magnetresonanztomographie (CT- oder MRT) angestrebt um ein unmittelbares Feedback über den Interventionserfolg und mögliche Komplikationen zu erlauben. Nach Injektion der Partikel sollte ein ideales Embolisat einen effektiven Gefäßverschluss hervorrufen und außerdem größenkalibriert sein um eine vorhersehbare und zielgerichtete Embolisation zu gewährleisten. Da temporäre Embolisationsmaterialien potentielle Vorteile gegenüber permanenten Stoffen bieten, ist die Erforschung resorbierbarer Materialien kürzlich in den Fokus der Wissenschaft gerückt. Idealerweise sollten neue temporäre Embolisationsmaterialien eine definierte, kontrollier- und individuell anpassbare Resorptionszeit besitzen um eine Elimination des Materials aus dem Körper zu gewährleisten, bevor eine Fremdkörperreaktion den Erhalt der Gefäßfunktionalität kompromittiert. Abgesehen davon ist eine gute Biokompatibilität Grundvoraussetzung jedes implantierten Fremdmaterials. Für die Anwendung onkologischer Indikationen ist darüber hinaus eine Beladbarkeit mit Medikamenten, insbesondere Zytostatika oder Radioisotopen (siehe DEB-TACE oder SIRT), anzustreben.

Zur Erweiterung des derzeit verfügbaren Materialspektrums der temporären Embolisationsmaterialien wurden im Rahmen der vorliegenden Studie größenkalibrierte und biodegradierbare Mikrosphären aus Polydioxanon entwickelt. Als Richtlinie gilt das 2004 veröffentlichte Dokument der U.S. Food and Drug Administration (FDA) „Guidance for Industry and FDA Staff – Class II Special Controls Guidance Document: Vascular and Neurovascular Embolization Devices“ (Food and Drug Administration 2004).

Polydioxanon oder auch Poly-p-Dioxanon genannt ist ein synthetisches, bioresorbierbares Esther-Ether-Polymer, welches seit 1977 für seinen Einsatz als bioresorbierbares Fadenmaterial „Polydioxanon suture“ (PDS) bekannt (Ethicon Inc. 1977) und in seinen

grundlegenden Eigenschaften beschrieben ist (Berry et al. 1981, Ray et al. 1981). Neben der Verwendung als resorbierbares Nahtmaterial hat Polydioxanon in Form verschiedenster hochwertiger, degradierbarer Implantatmaterialien in der Medizin Anwendung gefunden.

Die Degradation von Polydioxanon erfolgt durch Hydrolyse der Ester-Bindungen in den sich wiederholenden Polymereinheiten der Polymerkette (Middleton and Tipton 2000, Ping Ooi and Cameron 2002b, Ping Ooi and Cameron 2002a). Bei intramuskulärer Implantation von Polydioxanon-Nahtmaterial beträgt die vollständige Degradationszeit 180 Tage (Ray et al. 1981). Die Degradationsprodukte sind atoxische, inaktive Monomere und physiologische Metaboliten des Körpers, die über den Harn-, Atmungs- und Gastrointestinaltrakt ausgeschieden werden (Ray et al. 1981). Polydioxanon zeigt keine akuten oder toxischen Effekte post-implantationem, akkumuliert nicht in Geweben und ist von einer minimalen Fremdkörperreaktion begleitet (Ray et al. 1981). Diese stellt sich durch das Auftreten von proliferativen Fibroblasten und Zellen des mononukleären Systems dar und ist nach vollständiger Resorption des Materials nicht weiter nachzuweisen (Delbeke et al. 1983). Mit der Herstellung von Co-Polymeren lassen sich die physikalischen und biochemischen Eigenschaften von Polydioxanon modifizieren um neuartige physikalische Eigenschaften für individuelle biomedizinische Anwendungen zu generieren. Daher sind in den vergangenen Jahren auch eine Reihe weitere medizinische Anwendungsgebiete/Medizinprodukten aus Co-Polymeren des Polydioxanons und anderen Laktanmonomeren erarbeitet worden. Eine Verwendung als endovaskuläres Embolisationsmaterial zur transarteriellen Katheterembolisation ist allerdings bis dato nicht beschrieben.

Die vorliegende tierexperimentelle Studie soll das in-vivo Verhalten neu entwickelter Mikrosphären aus Polydioxanon zum Zwecke einer endovaskulären Injektion beleuchten. Das Ziel der Studie ist die Beurteilung der neu entwickelten Polydioxanon-Mikrosphären hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit, Sicherheit, Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität an 16 klinisch gesunden „Weißen Neuseeländern“ im Nierenembolisationsmodell. Hierfür wurde randomisiert ein Nierenpol selektiv unter fluoroskopischer Kontrolle embolisiert und der Embolisierungseffekt bildgebend mittels Angiographie und Magnetresonanztomographie untersucht. Nach 1, 4, 8, 12, oder 16 Wochen erfolgte eine Kontrollbildgebung und anschließend die Euthanasie und histopathologische Aufarbeitung der Zielorgane.

Als Hauptuntersuchungsziel wurde der Nachweis eines erfolgreichen temporären Gefäßverschlusses durch kathetergestützte Embolisation mit degradierbaren PDO-Mikrosphären definiert, welcher mittels bildgebender und mikroskopischer Verfahren im zeitlichen Verlauf nachgewiesen werden sollte. Es galt der Beurteilung der angiographisch

und kernspintomographisch sichtbaren Wiedereröffnung der Gefäße und der Ermittlung des Zeitpunkts der histologischen Embolisatresorption. Des Weiteren wurde die Wirksamkeit der PDO-Embolisation im Sinne eines bildgebenden, makroskopisch und mikroskopisch sichtbaren Embolisierungseffekts auf das Nierengewebe, sowie ihre Gewebe- und Gefäßwandverträglichkeit histologisch untersucht und bewertet.

Es handelt sich um einen hypothesen-generierenden Primärversuch, bei dem die grundlegenden Eigenschaften des neu entwickelten Materials wie klinische Anwendbarkeit, Sicherheit, Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität untersucht werden sollen. Die Zusammenstellung der Daten erfolgte mit dem Ziel, Aussagen zu den grundlegenden Eigenschaften der neuentwickelten, resorbierbaren PDO-Mikrosphären aufzustellen und mit den derzeit zur Verfügung stehenden temporären Embolisationsmaterialien aus Literaturdaten zu vergleichen. Eine verlässliche statistische Planung und die Überprüfung näher spezifizierter Hypothesen sind in diesem Pilotversuch unmöglich.

4 Material und Methoden

Die tierexperimentelle Studie wurde im Rahmen eines vom Landesamt für Gesundheit und Soziales Berlin (LAGeSo) genehmigten Versuchsvorhaben durchgeführt (Genehmigungsnummer: G 0112/14). Die experimentelle Phase erstreckte sich über den Zeitraum von Oktober 2014 bis April 2016.

4.1 Versuchstiere und Haltung

4.1.1 Versuchstiermodell

In dem genehmigten Untersuchungsvorhaben wurden 16 klinisch gesunde, weibliche, nicht-tragende Kaninchen der Rasse „Weiße Neuseeländer“ verwendet. Die Tiere wurden bei den Züchtern Charles River Laboratories (Charles River Laboratories, Research Models and Services, Germany GmbH, Sulzfeld, Deutschland) und Harlan Laboratories (Harlan Laboratories GmbH, 5800 Venray, Niederlande) mit einem Alter von 12 – 16 Wochen und einem Körpergewicht (KGW) von 2,5 – 3,0 Kilogramm (kg) bezogen. Die Tiere wurden als „spezifisch pathogenfrei“ (SPF) und „viral Antikörperfrei“ (VAF) deklariert. „Weiße Neuseeländer“ sind ein weltweit in der interventionellen Radiologie etabliertes Tiermodell zur Testung von Embolisationsverfahren und wurden daher für das Untersuchungsvorhaben als Versuchstier ausgewählt.

4.1.2 Versuchstierhaltung

Nach Ankunft der Tiere in der Versuchstierhaltung des Neurowissenschaftlichen Forschungszentrum (NWFZ) der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Charité Mitte (CCM), wurden die Tiere entsprechend ihrer Verträglichkeit in Einzel- oder Paarhaltung in konventionellen Edeldstahldoppelkäfigen der Größe; Höhe (H) 65cm x Breite (B) 73cm x Tiefe (T) 73cm untergebracht. Im Falle einer Einzelhaltung wurden die Käfige so positioniert, dass der visuelle, akustische und olfaktorische Kontakt der Tiere miteinander dauerhaft gewährleistet war. Um das Lokomotions- und Sozialverhalten der Tiere zu ermöglichen waren die Käfige mit Verstecken und erhöhten Liegeflächen ausgestattet. Die Entmistung der Stallanlagen erfolgte über einen perforierten Lochboden und eine eingestreute Kotwanne, welche täglich gereinigt wurde. Den Kaninchen wurde pelletiertes Kaninchen-Haltungsfutter (ssniff-Spezialdiäten GmbH, Soest, Deutschland), sowie Heu aus landwirtschaftlichem Anbau ad libitum zur Verfügung gestellt. Außerdem wurde täglich frisches Grünfutter (Äpfel, Möhren, Gurken, Salat) angeboten. Die ad libitum Wasserversorgung wurde durch Trinkflaschen mit Stadtwasser sichergestellt, welche täglich gereinigt und aufgefüllt wurden.

Der Raum der Tierhaltung wurde mit gefilterter Frischluft klimatisiert und wies eine Durchschnittstemperatur von 20,5 ° Celsius und eine durchschnittliche Luftfeuchtigkeit von 55% auf. Der Beleuchtungszyklus war auf einen zwölfstündigen Hell-Dunkel-Rhythmus geschaltet (06:00 – 18:00 Uhr) und wurde durch abgedunkelte Fenster gewährleistet.

Aufgrund von Umbaumaßnahmen am CCM, mussten drei der 16 Kaninchen aus der Tierhaltung im NWFZ in die Tierhaltung der Forschungseinrichtungen für experimentelle Medizin (FEM) der Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow Klinikum (CVK) verlegt werden. Der interne Transport der Tiere wurde von der FEM und unter vollständiger Berücksichtigung der einschlägigen Gesetzestexte organisiert und durchgeführt.

Am CVK wurden die Tiere einzeln in Edelstahldoppelkäfigen (Scanbur, Karlslunde, Dänemark) der Größe H 81cm x B 86,5cm x T 65,5cm untergebracht, welche ebenfalls mit erhöhten Liegeflächen und Verstecken ausgestattet waren. Die Tiere hatten zu jeder Zeit optischen, akustischen und olfaktorischen Kontakt zu den benachbarten Artgenossen. Die Ernährung, Wasserversorgung, Klimatisierung und Beleuchtung entsprach denjenigen aus der Tierhaltung des NWFZ.

Die Tierhaltung der Versuchskaninchen erfolgte an beiden Standorten zu standardisierten Laborbedingungen gemäß der Richtlinien der Gesellschaft für Versuchstierkunde – Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS) und der Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz (TVT).

4.1.3 Veterinärmedizinische Betreuung

Die Tiere wurden an beiden Standorten der Charité über den gesamten Versuchszeitraum tierärztlich betreut. Ebenso erfolgte eine ständige Überwachung der Studie durch einen lokalen Tierschutzbeauftragten (nach dem Deutschen Tierschutzgesetz in der Fassung und Bekanntmachung vom 18. Mai 2006, Abschnitt 6, §10).

Vorbereitend auf den Versuch wurden die Tiere durch regelmäßiges Handling an den Umgang mit Pflegern und Tierärzten gewöhnt, um den Stress der Untersuchungen auf ein Minimum zu reduzieren. Vor Versuchsbeginn erfolgten regelmäßige Gesundheits- und Gewichtskontrollen. Alle Tiere waren bei Eintritt in den Versuch in klinisch einwandfreiem Zustand.

4.2 Polydioxanon-Mikrosphären

In der vorliegenden Studie wurden größen-kalibrierte Mikrosphären aus dem resorbierbaren, synthetischen Polymer Polydioxanon entwickelt. Die Herstellung und Entwicklung der Mikrosphären erfolgte in wissenschaftlicher Kooperation mit der Fa. microparticles GmbH,

Berlin, Deutschland. Als Rohmaterial wurde das monofilamentöse PDS-Fadenmaterial Surgicryl® (SMI Suture Materials AG, St. Vith, Belgien) verwendet. Das Nahtmaterial wurde in Dichlormethan gelöst und in eine tensid-stabilisierte wässrige Phase eingerührt. Der Ansatz wurde im offenen Becherglas bei Raumtemperatur über Nacht gerührt und anschließend nass gesiebt. Es erfolgte eine Kalibrierung auf zwei Größenverteilungen (100 – 150 µm und 90 – 315 µm) ± 10% unter Verwendung kommerzieller Industriesiebe. Die PDO-Mikrosphären wurden bei 50°C im Trockenschrank getrocknet und letztlich für eine intraarterielle Verwendung mit Ethylenoxid sterilisiert. Die verschiedenen Siebfraktionen wurden in-vitro auf ihre Injektionsfähigkeit an einem 3-Fr. Kathetersystem mit einem Innendurchmesser von 530 µm getestet. Die Morphologie, Oberfläche und Größenverteilung der PDO-Mikrosphären wurden vor Anwendung im Tiermodell in-vitro mit einem inversen Mikroskop (Axio Observer.Z1 Mikroskop, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) untersucht und die Ergebnisse mittels der Software Zen 2012 blue edition (v.2.0.0.0, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) digitalisiert und histomorphometrisch ausgewertet.

4.3 Versuchsaufbau

Das im Folgenden beschriebene Versuchsvorhaben ist in Abbildung 3, Seite 30 dargestellt. Die Tiere erreichten die Tierhaltung mindestens eine Woche vor der Intervention, um eine ausreichende Adaptation an die neuartige Umgebung zu gewährleisten. Bei allen 16 Tieren erfolgte am Tag der Intervention unter Angiographie eine selektive Teilembolisation eines ausgewählten Nierenpols mit größen-kalibrierten Polydioxanon-Partikeln. Die kontralaterale Niere blieb unbehandelt. Jedes Tier wurde randomisiert einem der Beobachtungszeiträume von 0, 1, 4, 8, 12 oder 16 Wochen zugeordnet, nach welchem eine Kontrollangiographie erfolgte. Die Verteilung der Tiere nach Beobachtungszeitraum ist der Tabelle 4, Seite 29 zu entnehmen. Einzelne Tiere erhielten additiv zu beiden Interventionszeitpunkten eine Magnetresonanztomographie (MRT). Im Anschluss an die Kontrolluntersuchungen erfolgte die Euthanasie und Organentnahme zur histopathologische Aufarbeitung und Analyse der Proben.

Tabelle 4: Anzahl und Verteilung der Versuchstiere nach Beobachtungszeitraum

	Gruppe 0 0 Wochen	Gruppe 1 1 Woche	Gruppe 2 4 Wochen	Gruppe 3 8 Wochen	Gruppe 4 12 Wochen	Gruppe 5 16 Wochen	Σ
Tierzahl	3	2	2	2	5	2	16

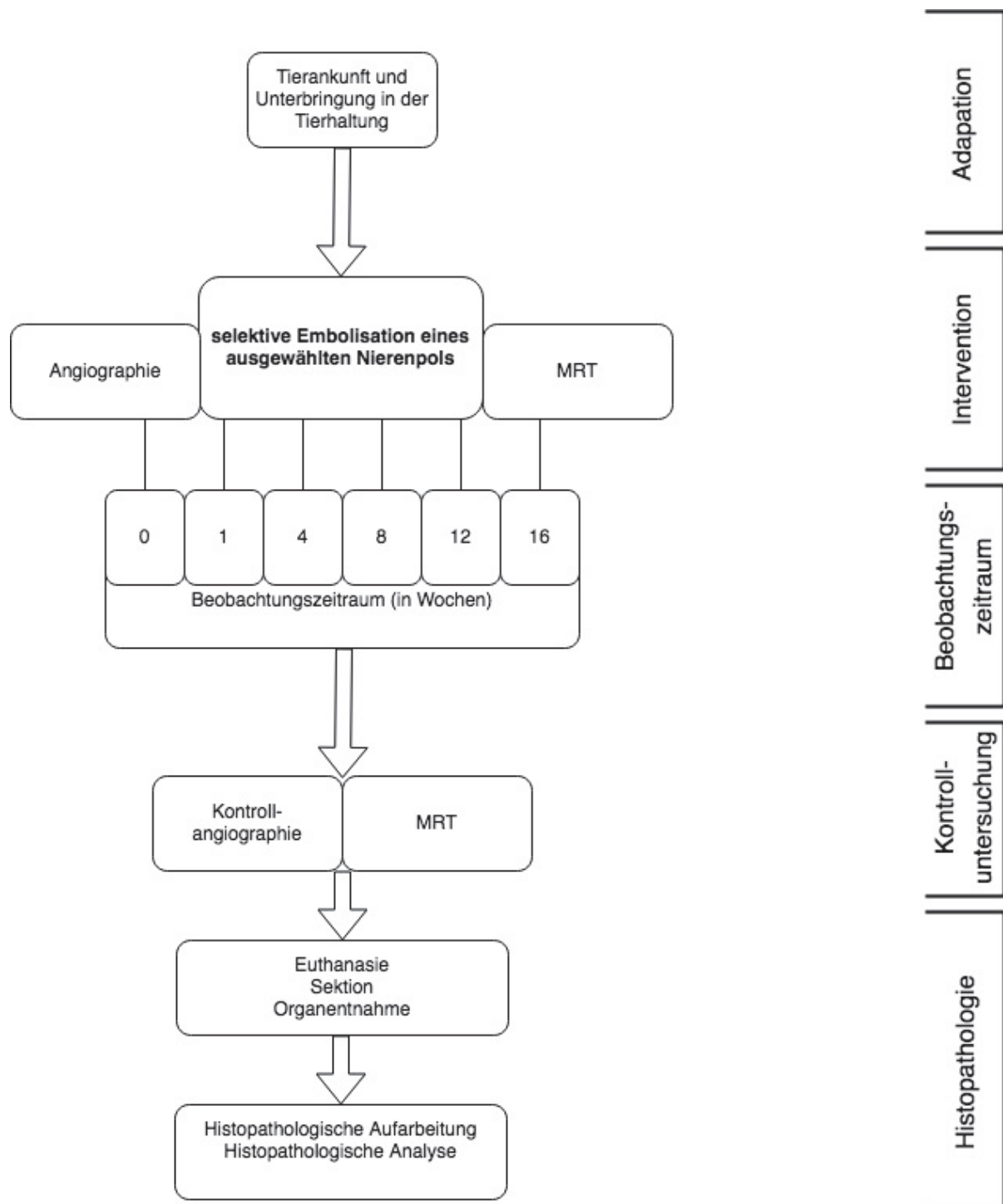


Abbildung 3: Schematische Darstellung des Versuchsaufbaus

Nach Ankunft und erfolgreicher Adaptation der Versuchstiere erfolgte die selektive Embolisation eines Nierenpols unter angiographischer und kernspintomographischer Kontrolle. Jedes Tier wurde randomisiert einem der Beobachtungszeiträume von 0, 1, 4, 8, 12 oder 16 Wochen zugeordnet, nach welchem eine angiographische und kernspintomographische Kontrollbildgebung durchgeführt wurde. Im Anschluss erfolgte die Euthanasie, Sektion und histopathologische Aufarbeitung der embolisierten Nieren.

4.4 Versuchsvorbereitung

4.4.1 Versuchstiervorbereitung

Am Interventionstag wurde die Narkose mit einer subkutanen (s.c.) Mischspritze aus 35 mg/kg KGW Ketaminhydrochlorid (Ketamin 100mg/ml, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland; Ketamin 10% Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) und 0,25 mg/kg KGW Medetomidinhydrochlorid (Cepetor® 1mg/ml, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland) eingeleitet. Bei ausreichender Narkosetiefe wurden die Tiere aus ihrem Käfig entnommen und die Vorbereitungen in einem separaten Raum fortgeführt. Hierfür wurde den Kaninchen zum Schutz der Kornea und Konjunktiven zunächst Augensalbe (Bepanthen® Augen- und Nasensalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) verabreicht und nach erfolgter Hautdesinfektion anschließend ein Venenverweilkatheter (Vasofix Safety 22G, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) in die laterale Ohrrendvene (V. auricularis caudalis) platziert (siehe Abb. 4). Weiterhin erhielten die Kaninchen als perioperatives Schmerzmanagement 0,5 mg/kg KGW Butorphanol s.c. (Dolorex® 10mg/ml, Intervet Deutschland GmbH, Unterschleißheim, Deutschland) und langsam intravenös (i.v.) 50 mg/kg KGW Metamizol (Novaminsulfon-ratiopharm® 1g/2ml, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) in 1ml Wasser für Injektionszwecke (Aqua ad iniectabilia®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verdünnt, um zu Interventionsbeginn einen maximalen Wirkspiegel zu erreichen. Die Anästhesie und Analgesie des operativen Eingriffs erfolgte gemäß der Richtlinien der Gesellschaft für Versuchstierkunde – Society for Laboratory Animal Science (GV-SOLAS) und der Tierärztliche Vereinigung für Tierschutz (TVT).

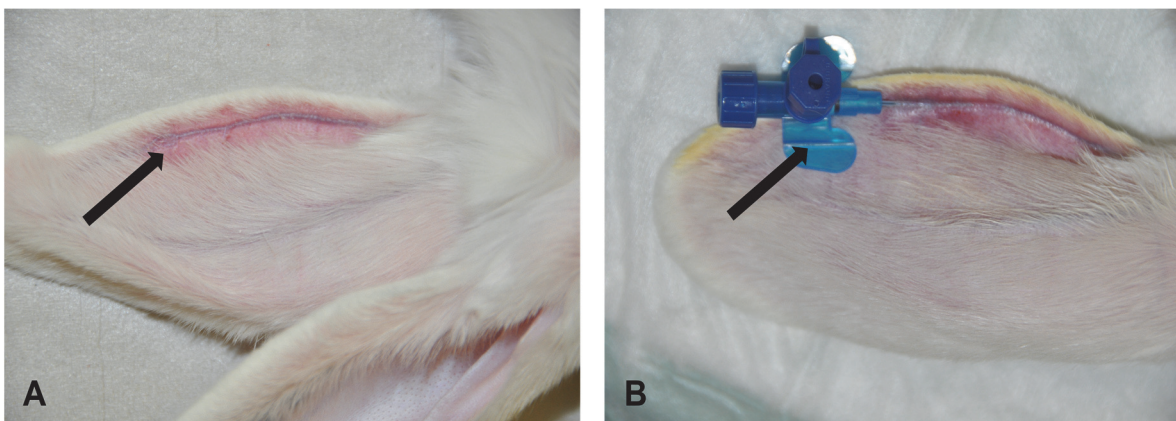


Abbildung 4: Einlegen einer Venenverweilkatheter am Kaninchen

Einlegen einer Venenverweilkatheter am Kaninchen in die Vena auricularis caudalis. A) Visualisierung der Vene nach manueller Entfernung des Fells und Desinfektion der Haut am kaudalen Ohrtrand (Pfeil), B) Einlegen einer Venenverweilkatheter in die V. auricularis caudalis unter sterilen Kautelen (Pfeil). Im Anschluss folgte eine Fixierung der Venenverweilkatheter mittels eines Klebebandes.

Im Anschluss an die präemptive medikamentelle Versorgung folgte das Scheren des Operationsfeldes. Hierfür wurde die Leistengegend bis zur Höhe des Knies, Schambeins und Bauchnabels vollständig freigeschoren.

Vom Vorbereitungsraum wurden die Versuchstiere in tiefer Anästhesie mit Hilfe einer undurchsichtigen Transportbox in die Angiographie Räume der Charité- Universitätsmedizin Berlin verbracht.

4.4.2 Interventionsvorbereitung

Über den mit einem Drei-Wege-Hahn (Discofix® C 3SC, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) versehenen i.v. Zugang wurde die Narkose während der mehrstündigen Intervention aufrechterhalten.

Diese erfolgte als totale intravenöse Allgemeinanästhesie (TIVA) mit einem Gemisch aus der Initialnarkose und 18 ml Natriumchlorid (NaCl)-Lösung (Isotone Kochsalz-Lösung® 0,9%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) über einen Perfusor (Alaris Asena GH MKIII, Alaris® Medical UK Ltd., Basingstoke, Vereinigtes Königreich) mit einer Flussrate von 10 ml/h. Die Flüssigkeitsdefizite wurden ergänzend auf 10 ml/kg KGW/h mit einer isoionischen Elektrolytlösung (Sterofundin® ISO, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) über einen weiteren Perfusor (P4000 Anästhesie – Spritzenpumpe, IVAC Corporation, Hampshire, Vereinigtes Königreich) ausgeglichen. Die Oxygenierung wurde über eine Atemmaske mit einer Flussrate von 3l Sauerstoff pro Minute gewährleistet.

Nach Lagerung der Tiere in Rückenlage wurde das Operationsfeld mit einer alkoholischen Povidon-Iod-Lösung (Braunoderm®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) antiseptisch vorbereitet und mit sterilen, selbstklebenden Abdecktüchern bedeckt. Die Intervention fand unter sterilen Kautelen statt. Die Durchführenden legten Mund- und Kopfschutz, wie auch sterile Kleidung und Einmalhandschuhe an. Des Weiteren wurden alle notwendigen Utensilien auf dem Punktionstisch bereitgestellt (siehe Abb. 5, Seite 33).

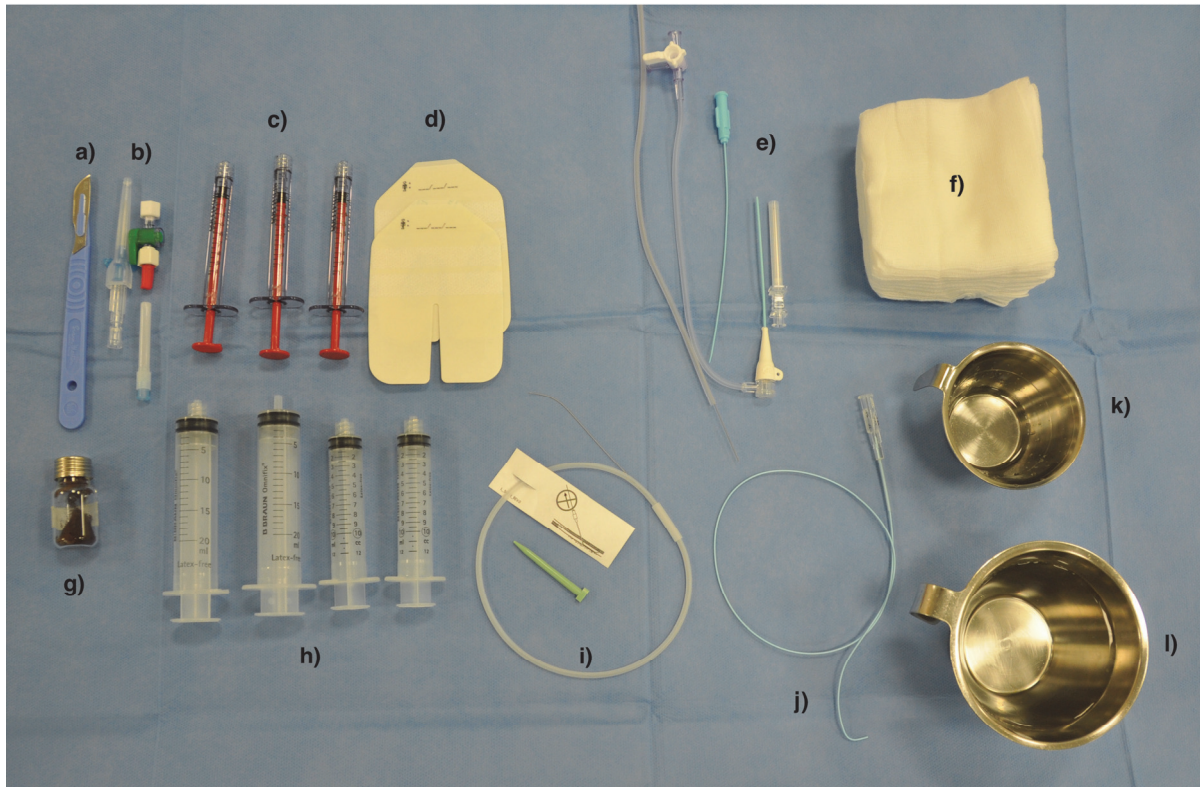


Abbildung 5: Interventionstisch mit notwendigen Instrumentarien

a) Skalpell Nr. 23 b) Punktionskanüle 22G, Braunüle 22G c) 1ml Medaillon-Spritzen d) Hautpflaster e) 3 Fr. Schleusensystem f) sterile Tupfer g) PDO-Mikrosphären h) 20- und 10ml Spritzen i) Katheterführungsdraht j) Cobra Angiographiekatheter k) Accupaque Kontrastmittel l) sterile Kochsalzlösung.

Nach Wirkeintritt der Hautdesinfektion erfolgte die Präparation der Femoralarterie. Hierfür wurde palpatorisch der Femoralpuls erfasst und auf Höhe der Pulsation mit einem 23er-Skalpell (Feather Disposable Scalpel No. 23, Feather Safety Razor Co., LTD., Osaka, Japan) eine etwa 3-4 cm lange Hautinzision entlang des Gefäßverlaufes gesetzt. Anschließend wurde mittels Pinzette und Präparationsschere stumpf durch die tiefer liegenden Schichten der Unterhaut, Faszien und Muskulatur präpariert. Nach Erfassung des Gefäß-Nervenstranges wurde unter Schonung des Femoralnerven die Gefäß-Nerven-Scheide vorsichtig stumpf eröffnet und die Femoralarterie am kranialen Rand des Stranges isoliert und mobilisiert. Mit resorbierbarem Fadenmaterial (3-0 VICRYL™ Plus, Johnson & Johnson Medical GmbH, Ethicon Deutschland, Norderstedt, Deutschland) wurden Haltefäden platziert und ein distaler Knoten vorgelegt (siehe Abb. 6, Seite 34).

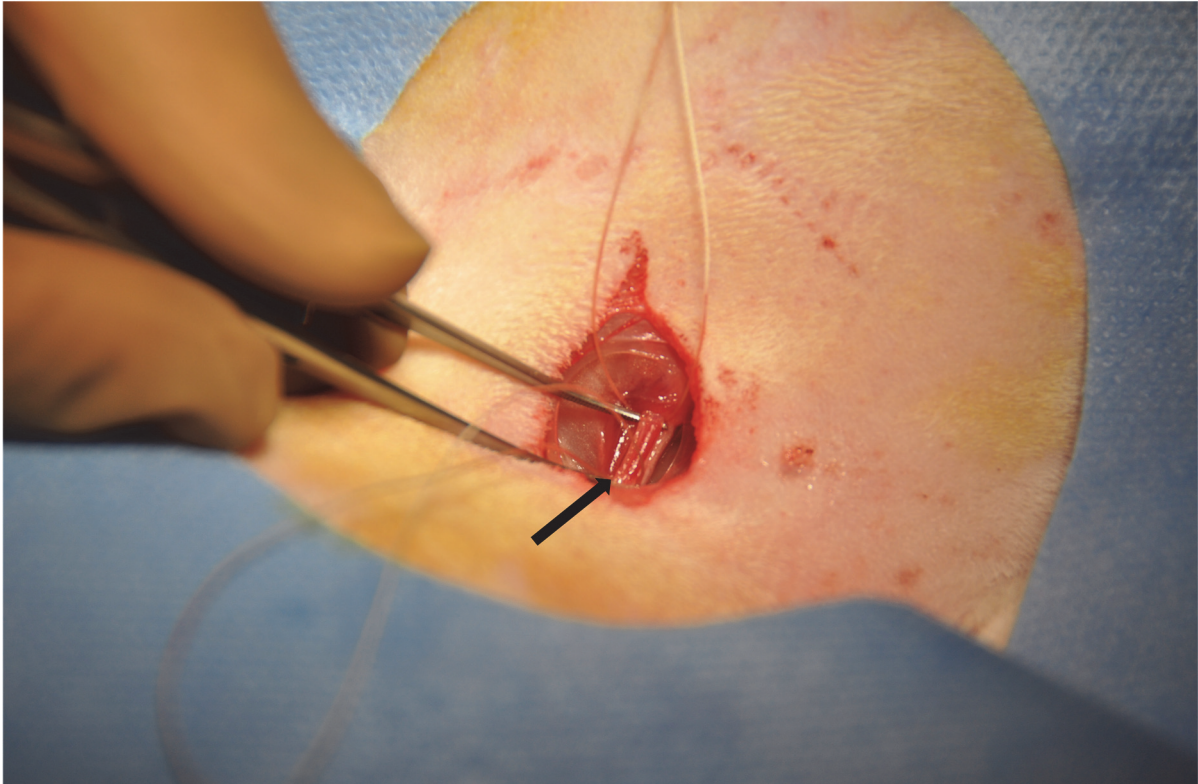


Abbildung 6: Chirurgische Präparation und Isolation der Arteria femoralis

Identifikation der Gefäß- und Nervenstrukturen (Pfeil) nach erfolgreicher Präparation und Position der Vircyl-Haltefäden. Von links nach rechts: A. femoralis, V. femoralis, N. femoralis.

4.5 Versuchsdurchführung

4.5.1 Intervention

Der angiographische Zugang wurde mit Hilfe einer Braunüle (Introcan Safety-W 22 G, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) transfemoral gelegt. Um einen idealen Punktionswinkel zu ermöglichen wurde das Gefäß mittels einer aufgespreizten Pinzette untergriffen, nach proximal gekippt und punktiert. Sobald arterielles Blut floss wurde entsprechend der Seldinger-Technik (siehe Abb. 1, Seite 3) ein befeuchteter Schleusendraht über die Punktionskanüle eingeführt und die Braunüle durch eine Schleuse ersetzt. Die mit Kochsalzlösung gespülte 3 French-(Fr.) Schleuse (Haemostatic sheath introducers 3Fr, Balt, Montmorency, France) wurde langsam und unter feinen Drehbewegungen etwa 5-6 cm tief in der Femoralarterie platziert. Der korrekte Sitz der Schleuse wurde einerseits durch den pulssynchronen Blutfluss am Ventil und andererseits unter Durchleuchtung (Philips Allura Xper FD 20, Philips, Amsterdam, Niederlande) kontrolliert. Zur Prävention einer Thrombembolie wurde nach Platzierung der Schleuse eine Heparinisierung mit 500 IE Heparin (Heparin-Natrium-25000-ratiopharm®, ratiopharm GmbH, Ulm, Deutschland) pro Tier intraarteriell (i.a.) via Schleuse oder i.v. via Venenverweilkanüle vorgenommen.

Ein diagnostischer 3 Fr.-Katheter (Non braided angiography catheter COBRA I 50cm, Balt, Montmorency, France) mit Führungsdraht (Cope Mandril Wire Guide 60 cm, Cook Incorporated, Bloomington, Indiana, Vereinigte Staaten) wurde eingeführt und unter Röntgendurchleuchtung bis zur Höhe der letzten Rippe vorgeschoben. Durch die Gabe von einem 1:1 mit Kochsalzlösung (Isotone Kochsalz-Lösung® 0,9%, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) verdünnten jodhaltigen Kontrastmittel (Accupaque™ 240 Injektionslösung, GE Healthcare Buchler GmbH & Co. KG, Braunschweig, Deutschland; Imeron® 300 Injektionslösung, Bracco Imaging Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland) wurde zunächst eine Digitale Subtraktionsangiographie (DSA) der abdominalen Aorta (Aortographie) durchgeführt (siehe Abb. 7 A). Folgend wurde unter erneuter Durchleuchtungskontrolle die Abzweigung der rechts- oder linksseitigen Nierenarterie, welche auf Höhe des ersten oder zweiten Lendenwirbels entspringt, detektiert und sondiert. Das Kontrastmittel-NaCl-Gemisch wurde erneut in eine 1ml Medallion Spritze aufgezogen (Medallion® Syringe, Merit Medical Systems, Inc., South Jordan, Utah, Vereinigte Staaten) und die arterielle Nierenperfusion (Arteriographie) durch Injektion dargestellt (siehe Abb. 7 B).

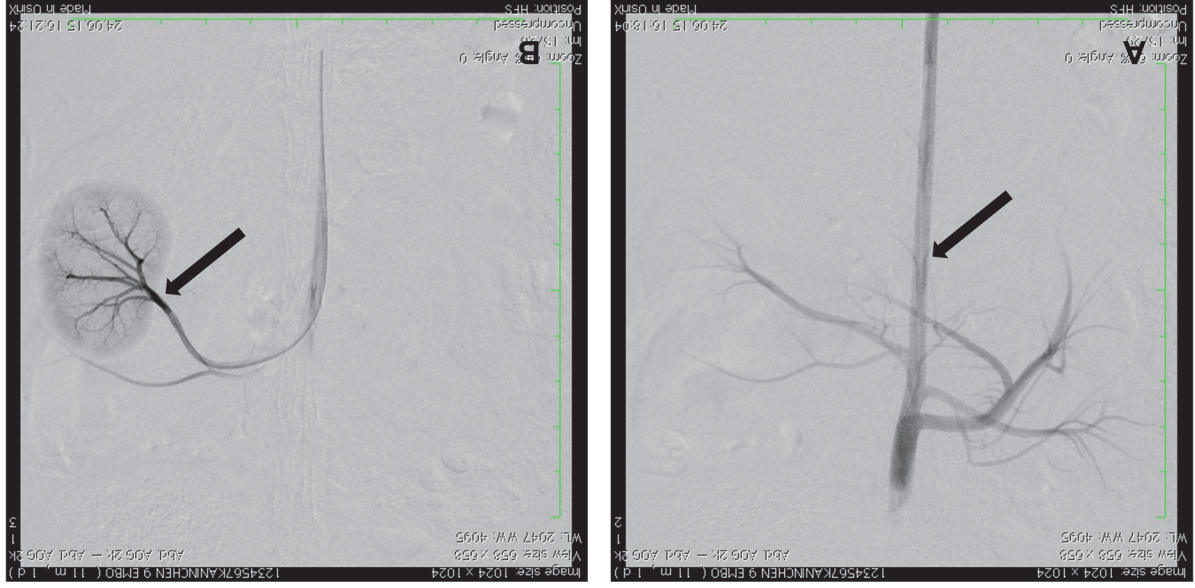


Abbildung 7: Angiographische Darstellung des Gefäßbaums

Angiographische Darstellung des Gefäßbaums mittels Digitaler Subtraktionsangiographie. A) Injektion von Kontrastmittel durch einen Angiographiekatheter in die Aorta abdominalis und Erstellung einer Aortographie (Pfeil), B) Fortführen des Angiographiekatheters in die Arteria renalis und Erstellung einer Arteriographie der linken Niere (Pfeil)

Unter erneuter Röntgen- und Kontrastmittelkontrolle wurde die Katheterspitze bis zur Aufzweigung der Nierenarterie in eine Segmentarterie vorgeführt. Sobald eine selektive Teilembolisation möglich war, wurde das Embolisationsgemisch hergestellt.

Hierfür wurde eine 1ml Medaillon Spritze mit 0,1ml Partikeln befüllt und zu 50:50 mit Kontrastmittel und NaCl-Lösung ergänzt. Eine Übersicht der verwendeten PDO-Mikrosphären ist Tabelle 5, Seite 37 zu entnehmen. Das Embolisationsgemisch wurde manuell geschwenkt, bis die Partikel ausreichend dispergiert waren und anschließend langsam via Katheter unter fluoroskopischer Kontrolle injiziert, bis sich in der bildlichen Kontrolle eine allmähliche Kontrastmittelanreicherung und Stase zeigte (siehe Abb. 8 A). Nach Beurteilung der Flächenausdehnung des embolisierten Areals wurde ggf. durch dieselbe Methode nachembolisiert. Als angiographischer Endpunkt wurden der Verschluss der Segmentarterie und ein selektiver Perfusionsausfall des korrespondierenden Nierenpols, welcher sich als Parenchymopazifizierung darstellt, definiert.

Nach einer Wartezeit von 5-10 Minuten wurde eine erneute Nierenangiographie durchgeführt, um den Perfusionsverlust darzustellen und um die Persistenz des Gefäßverschlusses und der Hämostase zu beurteilen (siehe Abb. 8 B). Es erfolgte die genaue Dokumentation des embolisierten Bereiches, der verwendeten Art und Menge der Partikel, sowie des Embolisationsgemisches, der Injektionsfähigkeit und der zeitlichen Dauer.

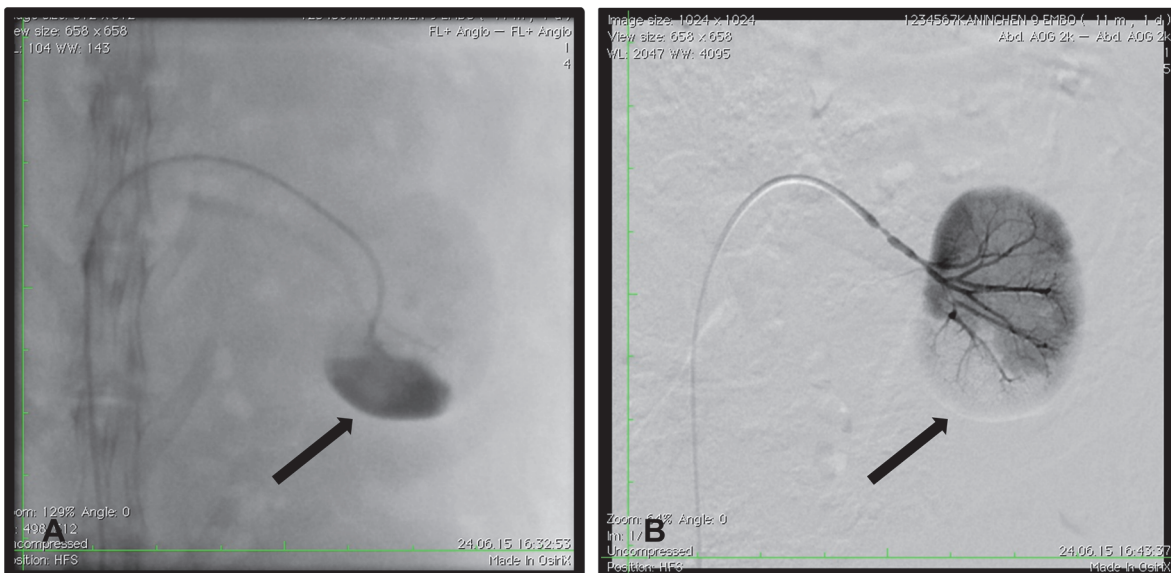


Abbildung 8: Angiographische Darstellung der selektiven Nierenembolisation

Angiographische Darstellung der selektiven Nierenembolisation der linken Niere. A) Injektion von PDO-Mikrosphären und Kontrastmittel durch einen Angiographiekatheter in eine renale Segmentarterie unter fluoroskopischer Kontrolle bis zur Blutflussstase (Pfeil), B) Erstellung einer post-Embolisationsarteriographie mit sichtbarem Perfusionsdefizit im embolisierten Gebiet des kaudalen Nierenpols (Pfeil).

Nach erfolgreicher Embolisation wurden alle radiologischen Instrumentarien aus dem Tier entfernt und die Femoralarterie mittels der Vicryl-Haltefäden ligiert. Nach Kontrolle der Ligatur wurde die Präparationswunde chirurgisch verschlossen. Hierfür wurde die Unterhaut mit einem resorbierbaren Faden (3-0 Safil®, B. Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) einfach fortlaufend verschlossen. Die Haut wurde mit nicht-resorbierbarem Supramidfaden (3-0 Supramid®, B. Braun, Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) in engliegenden U-Heften vernäht und die Wunde anschließend mit einer Povidon-Iod-Salbe (Braunovidon® Salbe 100g, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) auf einem sterilen Tupfer antiseptisch bedeckt. Im Anschluss an die Embolisation und Angiographie wurden die Tiere zurück in die Transportbox verbracht und in ausgewählten Fällen für eine anschließende MRT-Untersuchung nach dem in Kapitel 4.5.2., Seite 37-38 beschriebenen Aufbau in das Institut für Radiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte transportiert.

Tabelle 5: Anzahl und Verteilung der verwendeten PDO-Mikrosphären nach Größe

Partikelgröße [µm]	Partikelart	Versuchstierzahl
90-315	bland	9
100-150	bland	7
Gesamt		16

Über den gesamten Zeitraum der Intervention fand eine intensive Narkoseüberwachung der Tiere statt. Hierbei wurden die Vitalparameter wie Herzfrequenz, Atemfrequenz, kapilläre Füllungszeit und Schleimhautfarbe kontrolliert. Weiterhin wurde die Narkosetiefe über den Zwischenzehen-, Lid- und Cornealreflex, als auch die Pupillengröße und Bulbusposition erfasst. Im Falle eines Narkose-Zwischenfalls wurde das Kaninchen durch Schockinfusion mit Sterofundin® ISO, Thoraxkompression und Beatmung reanimiert.

Es erfolgte eine zeitliche Dokumentation aller Arbeitsschritte, Medikamentenapplikationen und Materialverwendungen, sowie intraoperativer Zwischenfälle.

4.5.2 MRT-Untersuchungen

Die MRT-Untersuchungen der Kaninchen fanden im Institut für Radiologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Mitte an einem klinischen 1,5 Tesla (T) Magnetresonanztomographen (Magnetom Sonata 1,5 T, Siemens AG, Erlangen, Deutschland) statt. Die anästhesierten Kaninchen wurden in Rückenlage mit Füßen voran in der Extremitätenspule (CP Extremity Coil, Siemens AG, Erlangen, Deutschland) positioniert und der Körper so angeordnet, dass sich die Brustbeinspitze auf Höhe des Spulenanfangs

und die Nieren im Zentrum der Spule befanden. Die Narkose wurde während der Untersuchung wie in Kapitel 4.3.2. beschrieben aufrechterhalten. Die MRT-Untersuchungen wurden für einzelne Tiere jeweils am Tag der Embolisation und am Tag der Kontrollangiographie durchgeführt.

Das Standardmessprotokoll bestand aus Localizer, zwei T1-gewichteten Turbo-Spin-Echo-(TSE)-Sequenzen (T1 TSE cor, T1 TSE tra) jeweils prä- und post- Kontrastmittelgabe und zwei T2-gewichteten TSE-Sequenzen (T2 TSE cor, T2 TSE tra). Eine Übersicht der Sequenzparameter ist der Tabelle 6, Seite 38 zu entnehmen. Als Kontrastmittel wurde MultiHance (MultiHance 0,5 M, Bracco Imaging Deutschland GmbH, Konstanz, Deutschland) in einer Dosierung von 100 µmol/kg KGW i.v. appliziert.

Tabelle 6: Übersicht der Sequenzparameter für die Magnetresonanztomographie

	T1 TSE	T2 TSE
Sequenzart	SE 2d	SE 2d
Bezeichnung	T1_tse_cor, T1_tse_tra	T2_tse_cor T2_tse_tra
Orientierung	coronar, transversal	coronar transversal
Schichtgruppe	1	1
Schichtanzahl	9	15
Schichtdicke	3.0	3.0
Distanzfaktor [%]	0	20
Phasenkodierrichtung	R >> L	cor: R >> L, tra: A >> P
Phasen-Oversampling [%]	0	0
FoV Auslese [mm]	115	cor: 120, tra: 140
FoV Phase [%]	100.0	cor: 100.0, tra: 75
TR [ms]	1150	6580
TE [ms]	14	72
Mitteilungen	3	4
Verknüpfungen	1	1
Filter	keine	keine
Spulenelemente	EX	EX
Messzeit [min]	2:07	cor: 5:50, tra: 4:31

TSE: Turbospinecho; SE: Spinecho; 2d: zweidimensional; FOV: field of view; cor: coronar; tra: transversal; TR: Repititionszeit; TE: Echozeit, EX: Extermitätenspule

4.5.3 Beobachtungszeitraum

Nach Beendigung der Intervention wurde den Tieren ein ruhiges Aufwachen aus der Narkose gewährleistet. Zur Unterstützung des Kreislaufsystems wurden der Transportbox Wärmekissen hinzugefügt und regelmäßig die innere Körpertemperatur der Kaninchen gemessen. Die Infusion und der venöse Zugang wurden erst dann entfernt, wenn das Tier die ersten Kopfbewegungen zeigte. Sobald das Tier sich eigenständig aufrichten konnte erfolgte der Rücktransport in den Stall zur post-operativen Beobachtung. Hier wurden die Kaninchen über die nächsten 24 Stunden intensiv tiermedizinisch betreut, bis sie wieder wach und ansprechbar waren und sich koordiniert fortbewegen konnten. Des Weiteren wurde der Harn- und Kotabsatz, die Futter- und Wasseraufnahme und das Allgemeinbefinden streng überwacht. Bei Abweichungen von der Norm wurde veterinärmedizinisch interveniert.

Nach Ablauf der Intensivbetreuung erfolgte eine tägliche Kontrolle von Allgemeinbefinden und Wunde, ebenso wie eine wöchentliche Gewichtskontrolle. Die Gesundheitskontrolle umfasste insbesondere die Beobachtung der Tiere hinsichtlich des Auftretens von embolisationsbedingten Nebenwirkungen aus dem Krankheitskomplex des Post-Embolisationssyndrom (PES) wie z.B. Fieber, Übelkeit, Erbrechen und Schmerzbefinden.

Am Tag der Embolisation und an zwei darauf folgenden Tagen erhielten die Tiere einmal täglich 5mg/kg KGW Carprofen (Rimadyl® , Pfizer GmbH, Berlin, Deutschland) als Analgesie. Die Applikation erfolgte am Interventionstag i.v. und an den Folgetagen s.c.. Im Falle einer Überembolisation mit größerem betroffenen Nierenareal erhielten die Kaninchen eine additive und individuell an das Allgemeinbefinden angepasste Dosis und Dauer von 0,01 – 0,05 mg/kg KGW Buprenorphin (Temgesic® Ampullen 0,3mg Injektionslösung, RB Pharmaceuticals Limited, Slough, Vereinigtes Königreich).

Auf die prophylaktische Gabe eines Antibiotikums wurde aufgrund einer sterilen Arbeitsweise verzichtet. Die Wundnaht wurde täglich auf Intaktheit und entzündliche Veränderungen (Schwellungen, Rötungen) untersucht. Bei Auftreten von Wundkomplikationen oder Wundheilungsstörungen wurde den Tieren ein Halskragen aufgesetzt und die Wunde lokal mit einer Povidon-Iod- (Braunovidon® Salbe 100g, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) oder Dexpanthenol-Salbe (Bepanthen® Wund- und Heilsalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) behandelt. Im Falle einer (potentiellen) Wundinfektion erhielten ausgewählte Tiere über einen Zeitraum von jeweils fünf Tagen tägliche 7,5 mg/kg KGW Enrofloxacinum (Baytril® 2,5% Injektionslösung, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland). Zehn Tage post Operation wurden die Hauthefte entfernt.

Über den gesamten Beobachtungszeitraum erfolgte eine veterinärmedizinische Betreuung, mit zeitlicher Dokumentation aller Komplikationen, Medikamentenapplikationen und weiterführenden Behandlungen.

4.5.4 Kontrolluntersuchungen

Nach Beendigung des Beobachtungszeitraums von 1, 4, 8, 12 oder 16 Wochen \pm 1-2 Tage wurden die Kaninchen einer Kontrollangiographie unterzogen. Alle vorbereitenden Maßnahmen wie auch die bildgebenden Untersuchungen wurden wie in den vorangegangenen Kapiteln beschrieben durchgeführt, lediglich die Embolisation blieb aus. Der Gefäßzugang erfolgte auf der kontralateralen Seite. Im Anschluss an die Kontrollangiographie erfolgte bei einzelnen Kaninchen eine MRT-Untersuchung nach dem in Kapitel 4.5.2. beschriebenen Aufbau.

4.5.5 Histopathologie

4.5.5.1 Euthanasie, Sektion und Organentnahme

Im Anschluss an die Kontrollangiographie und Kontroll-MRT-Untersuchung folgte die schmerzlose Tötung der Kaninchen in tiefer Narkose durch i.v. Applikation von 200-400 mg/kg KGW Pentobarbital-Natrium (Narcoren ® 16 g/100ml Injektionslösung, Merial GmbH, Hallbergmoos, Deutschland). Der Wirkstoff wurde nach Wirkung dosiert.

Der Tod wurde durch den Atem- und Herzstillstand auskultatorisch verifiziert. Zusätzlich wurden die Puls- und Reflexlosigkeit, Haut- und Schleimhautblässe, erschlaffender Muskeltonus, Abkühlung des Tierkörpers und die weiten, lichtstarrten Pupillen als Todeszeichen herangezogen und von zwei Personen unabhängig beurteilt.

Nach sicherer Feststellung wurde der Tierkörper aus der Transportbox entfernt und auf dem Sektionstisch in Rückenlage mit nach hinten ausgezogenen Beinen positioniert. Mit einem 23er-Skalpell (Feather Disposable Scalpel No. 23, Feather Safety Razor Co., LTD., Osaka, Japan) folgte ein abdominaler Schnitt vom Brustbeinxyphoid bis zum Schambein entlang der Linea alba (siehe Abb. 9 A, Seite 41). Nach Eröffnung der Bauchhöhle unter Schonung der Viszera wurden zwei seitliche, bogenförmige Entlastungsschnitte entlang des letzten Rippenpaars durchgeführt, um eine vollständige Exploration der Bauchhöhle zu ermöglichen (siehe Abb. 9 B, Seite 41). Jegliche intraabdominalen Veränderungen abseits der Nieren wurden notiert und zur weiterführenden histologischen Untersuchung beprobt.

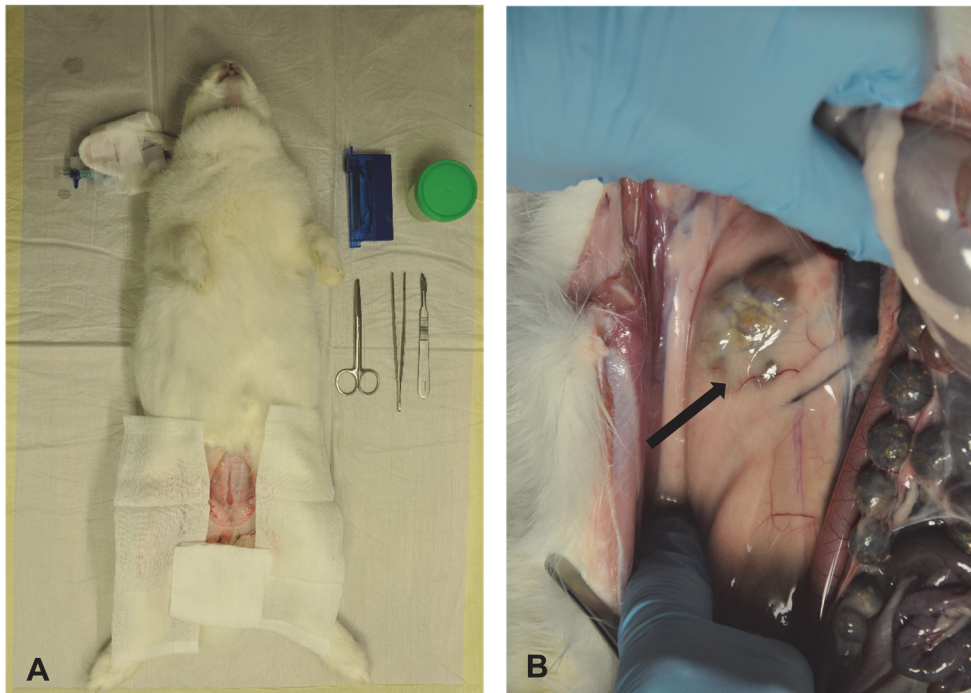


Abbildung 9: Pathologische Sektion eines euthanasierten Versuchskaninchen

Pathologische Sektion eines euthanasierten Versuchskaninchen. A) Positionierung des Tierkörpers in Rückenlage und Eröffnung der Bauchhöhle mittels medianer Laparotomie über der Linea alba mit Skalpell Nr. 23, Chirurgischer Pinzette und Präparationsschere, B) Präparation und Isolation der im Retroperitoneum liegenden embolisierten rechten Niere.

Die im Retroperitoneum liegende, embolisierte Niere, als auch die auf der kontralateralen Seite liegende nicht-embolisierte Niere, wurden isoliert und stumpf aus dem retroperitonealen Fettpolster entfernt. Mit der Durchtrennung von Arterie, Vene, Nerv und Harnleiter wurden die Organe inklusive ihrer Kapsel und Gefäß-, Nerven- und Harnleiteranteile entnommen und auf einem separaten Tisch bereitgelegt. Nach Säuberung der Nieren vom restlichen, an der Kapsel haftenden Fettgewebe wurden die Organe makroskopisch betrachtet, ausgewertet und fotodokumentiert. Die kontralaterale Seite wurde auf Veränderungen untersucht und als unbehandelte Kontrollgruppe herangezogen.

Zur weiteren Aufarbeitung wurde die Niere mit einem Mikrotommesser (Feather Microtome Blades R35, Feather Safety Razor Co., Ltd., Osaka, Japan) nach folgendem Schema, modifiziert nach einer weiteren Studie (Stampfl et al. 2008), in vier Teile geschnitten: Der erste Schnitt erfolgte transversal durch den Nierenhilus und resultierte in der Entstehung eines kranialen und eines kaudalen Abschnitts (siehe Abb. 10 A, Seite 42). Der zweite Schnitt erfolgte longitudinal durch die Hilusregion, sodass eine dorsale und eine ventrale Portion entstand (siehe Abb. 10 B, Seite 42). Die einzelnen Nierenteile wurden nun zur Fixierung für mindestens eine Woche in beschrifteten Bechergläsern mit 10% Formalinlösung aufbewahrt. Anschließend wurden die Teilstücke entnommen und erneut

longitudinal geschnitten, sodass jedes der vier Teilstücke in einen zentralen und einen peripheren Abschnitt geteilt wurde (siehe Abb. 10 C). Es handelt sich dabei um ein von Stampfl et al. entwickeltes Schema (Stampfl et al. 2008) und resultiert in der Entstehung von acht Teilstücken. Die acht Nierenebenen wurden im Anschluss in Einbettkassetten, welche durch einen Kassettendrucker (Leica IPC V1.8, Leica Microsysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland) beschriftet wurden, aufbewahrt.

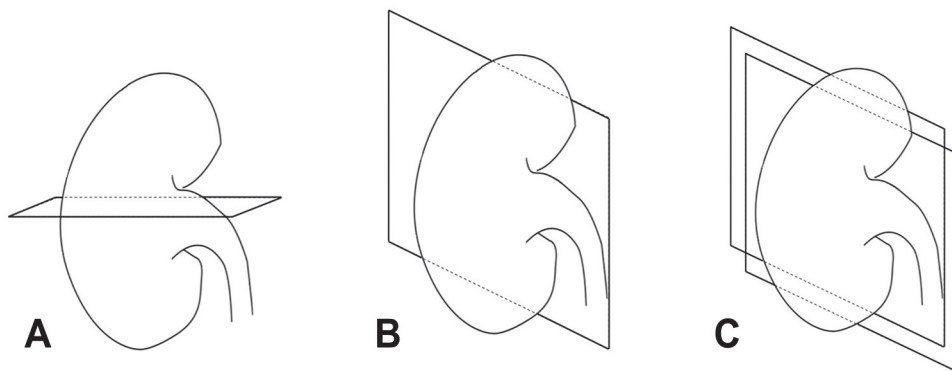


Abbildung 10: Schematische Darstellung des Schnittschemas nach Stampfl (2008)

Schematische Darstellung des Schnittschemas nach Stampfl et al.. A) Erste Schnittebene erfolgt transversal durch den Nierenhilus, B) Zweite Schnittebene erfolgt longitudinal durch den Nierenhilus, C) Dritte Schnittebene erfolgt longitudinal durch die Nierenperipherie.

4.5.5.2 Paraffineinbettung und Schnittanfertigung

Für die Anfertigung der histologischen Schnitte wurden das entnommene Nierengewebe im Gewebereinbettautomaten (Leica TP1020, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland) in einer aufsteigenden Alkoholreihe (70, 80, 96, 100% Ethanol) maschinell entwässert und über Xylol in Paraffin überführt. Danach folgte die Entnahme der Proben aus den Einbettkassetten und die manuelle Einbettung der Teilstücke in einzelne 25 mm x 25 mm große Paraffinblöcke (Leica EG 1150 H, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland). Die Ausrichtung der Gewebeproben bei der Einbettung wurde mittels Pinzette so gewählt, dass die Schnittführung des Mikrotoms (Leica RM 2125 RT, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland) mit dem Organanschnitt übereinstimmte. Durch die Überführung des Paraffinblocks auf die integrierte Kühlplatte erfolgte das Aushärten des Paraffins in einen schnittfähigen Zustand.

Aus jedem der acht Teilstücke wurden für die verschiedenen histologischen Färbemethoden mittels Schnittmikrotom (Leica RM 2125 RT, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland) ca. 10 – 15 aufeinanderfolgende, nummerierte, 3 – 5 µm dicke Schnitte gewonnen. Die Schnitte wurden in einem 48° Celsius warmem Wasserbad (Leica HI 1210, Leica Mikrosysteme Vertrieb GmbH, Bensheim, Deutschland) auf Objektträger (SuperFrost® Plus Objektträger, R. Langenbrick Labor- und Medizintechnik, Emmendingen, Deutschland)

aufgebracht. Nach einer Trocknungszeit von mindestens 24 Stunden bei 37° Celsius wurden aus jeder der acht Schnittebenen etwa drei bis vier Schnitte für die Hämatoxylin-Eosin-Färbung, ein bis zwei Schnitte für die Elastika-van-Giesson-Färbung und einzelne Schnitte für die Sonderfärbungen ausgewählt. Die übrigen Schnitte wurden als Reservepräparate aufbewahrt. Die Objektträger wurden entsprechend der Beschriftung der Einbettkassetten markiert.

Die Hämatoxylin- und Eosin-färbung wurde im Labor für experimentelle Radiologie, Charitéplatz 1, CCM mit einem automatischen Färbeautomaten (Leica Autostainer XL, Leica Biosystems Nussloch GmbH, Nussloch, Deutschland) vorgenommen.

Die ergänzenden Färbungen wurden in den Räumlichkeiten des Institutes für Pathologie, Charitéplatz 1, CCM unter Anleitung und Aufsicht der dortigen Mitarbeiter durchgeführt.

4.5.5.3 Histologische Färbungen

Zur Darstellung ausgewählter Gewebekomponenten wurden die in Tabelle 7, Seite 43 zusammengefassten Färbungen durchgeführt.

Tabelle 7: Übersicht der histologischen Färbungen

	Färbung	Bestandteile	Gewebekomponente
Standardfärbungen	Hämatoxylin-Eosin (HE)	Hämalaun nach Mayer + Eosin	Zellkerne, Ribosomen, Endoplasmatisches Reticulum (blau-violett) Zytoplasmabestandteile (blass-rosa) Bindegewebe (rosa-rot)
	Elastika-van-Giesson (EvG)	Resorcinfuchsin nach Weigert + Eisenhämatoxylin nach Weigert + Pikrofuksin nach van Gieson	Zellkerne (schwarzbraun) Zytoplasma, Muskelgewebe, Erythrozyten (gelb) elastische Bindegewebsfasern (schwarzblau) Kollagenfasern (rot)
Sonderfärbungen	Jones-Methenamin-Silber (JMS)	Perjodsäure + Silbermethenamin + HE	glomeruläre Basalmembran (schwarz) Zellkerne, Zytoplasma (rosa-rot)
	Perjod-Acid-Schiff (PAS)	Perjodsäure + Schiff-Reagens (fuchsin-schwefelige Säure) + HE	Bindegewebe, Basalmembran, Muzine, Glykokalix, (rot-violett) Zellkerne, Zytoplasma (blau)
	von-Kossa Versilberung	Silbernitrat	Kalk (schwarz) Zellkerne (rot) Zytoplasma (rosa)

Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Bei der HE-Färbung handelt es sich um eine histologische Übersichtsfärbung, die eine Routine-Färbung der Wahl darstellt. Mit ihr gelingt eine gute Darstellung des Gewebes, wobei saure, basophile Bestandteile wie nukleinsäure-reiche Zellbestandteile (Desoxyribonukleinsäure (DNA), Chromatin, Ribonukleinsäure (RNA)) blau-violett und basische, azidophile Zytoplasmabestandteile (Mitochondrien und Zytoplasmaproteine) blass-rosa erscheinen. Interzelluläre Substanzen wie kollagene oder elastische Bindegewebsfasern färben sich rosa-rot, während Knorpelgewebe blau-violett erscheint. Auch Bakterien und Kalk lassen sich mit dieser Färbemethode blau anfärben.

Im Rahmen dieser Studie diente die HE-Färbung als histologische Übersichtsfärbung zur Beurteilung der Partikeldegradation und Gewebereaktion. Die HE-Färbung wurde anhand des Färbeprotokolls nach Romeis (1989, Mikroskopische Technik, 18. Auflage, Seite 214, Anleitung A3.28) mit Hämalaun nach Mayer und Eosin durchgeführt.

Elastica-van-Gieson-Färbung

Die Elastica-van-Gieson-Färbung ist eine Kombination der van-Gieson-Färbung mit der Elastica-Färbung nach Weigert. Es handelt sich um eine trichromatische Färbung zur Darstellung elastischer Komponenten (Elastinfasern). Die Zellkerne stellen sich bei dieser Bindegewebsfärbung schwarzbraun, die elastische Fasern schwarz-violett dar. Durch die Gegenfärbung mit Pikrinsäure-Säurefuchsin werden das Zytoplasma sowie das Muskelgewebe gelb und Kollagenfasern rot angefärbt.

Die Elastica-van-Gieson-Färbung diente in der vorliegenden Studie der Darstellung der IEL zur Beurteilung der Gefäßwandreaktion.

Jones-Methenamin-Silberfärbung

Die Jones-Methenamin-Silberfärbung ist eine Routineuntersuchung der Nephropathologie. Sie dient speziell der Darstellung der glomerulären Basalmembran und der Mesangiumzellen, welche sich schwarz anfärben. In Abhängigkeit der Gegenfärbung, meist HE-Färbung, stellt sich der Hintergrund rot dar.

Period-Acid-Schiff-Färbung

Bei der PAS-Färbung handelt es sich um eine Nachweisfärbung für kohlenhydrathaltige Zellbestandteile wie Polysaccharide (Glykogen, Cellulose, Stärke) oder neutrale Glycokonjugate (Glycolipide, Glycoproteine, Mukoproteine, Glycosaminoglykane, Mukopolysaccharide, Proteoglykane). Diese Substanzen sind beispielsweise in der bindegewebigen Interzellulärschicht/extrazelluläre Matrix, in Basalmembranen, Muzinen

der Becherzellen oder in der Glycokalix von Zellwänden und Zellmembranen enthalten. In Abhängigkeit der Gegenfärbung, meist HE, stellt sich der Hintergrund blau dar.

Die Färbung dient in der Nephropathologie der Anfärbung des Bürstensaums der Untersuchung der Basalmembran in Nierenglomerula.

Von-Kossa-Färbung

Die Silberimprägnations-Färbung nach von-Kossa ist eine Versilberungsfärbung und dient dem Kalknachweis. Sie kommt daher in der Histologie häufig zum Einsatz um anomale Kalziumablagerungen im Körper zu erfassen. Das Prinzip dieser Färbung basiert auf der Umwandlung von Kalzium- in Silbersalze, welche sich als schwarz-graue metallische Silberniederschläge darstellen.

Eine HE-Gegenfärbung erlaubt das rosa-rote Hervorheben der Zellkerne des Zytoplasmas.

4.6 Auswertungen und Analysen

Die Auswertung der Studie diente der Beurteilung der neu entwickelten Polydioxanon-Mikrosphären hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit, Sicherheit, Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität. Hierfür wurden die in Tabelle 8, Seite 46 definierten Zielparameter mittels unterschiedlicher Modalitäten ausgewertet.

Die Auswertung der bildgebenden Modalitäten (Angiographie, MRT) wurde mit dem DICOM-Viewer OsiriX (v.5.7, 32-bit, Pixmeo SARL, Bernex, Schweiz) von vier unabhängigen Untersuchern, davon zwei Fachärzten für Radiologie durchgeführt.

Die histopathologische Auswertung (makro – und mikroskopisch) erfolgte durch zwei unabhängige Wissenschaftler und wurde durch einen Professor für Pathologie (Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Jens H. L. Neumann) bestätigt. Die makroskopische Auswertung erfolgte durch visuelle Begutachtung beider Nieren im Vergleich. Die Organveränderungen wurden mit einer Spiegelreflexkamera (Nikon D90 DSLR, Nikon GmbH, Düsseldorf, Deutschland) fotodokumentiert und digitalisiert.

Insgesamt wurden aus den embolisierten Nieren über 400 Schnitte in der HE-Färbung, über 200 Schnitte in der EvG-Färbung und über 100 Schnitte in der JMS-, PAS- und von-Kossa-Färbung angefertigt. Nach Durchsicht an einem Leica Durchlichtmikroskop (Leica DMLS 020-518.500 DM/LS, Leica Microsystems GmbH, Wetzlar, Deutschland) wurde jeweils ein repräsentativer Schnitt aus jeder der acht Ebenen für die weitere mikroskopische Auswertung ausgewählt. Die histologischen Schnitte wurden anschließend mit einem inversen Mikroskop (Axio Observer.Z1 Mikroskop, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena, Deutschland) und der Software Zen 2012 blue edition (v.2.0.0.0, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Jena,

Deutschland) digitalisiert und histomorphometrisch ausgewertet. Im Falle unklarer Beobachtungen wurden weitere Schnitte derselben Ebene herangezogen. Es erfolgte eine Betrachtung unter 5x, 10x und 20x Vergrößerung. Von den nicht-embolisierten Nieren standen für jedes Tier je ein Schnitt aus jeder der acht Ebenen in der HE- und der EvG-Färbung zur Verfügung.

Tabelle 8: Übersicht der Auswertungskriterien und Zielparameter

	Zielparameter	Versuchsdurchführung	Angiographie	MRT	Makroskopie	Mikroskopie
Anwendbarkeit und Sicherheit	Durchführbarkeit und Sicherheit	X				
	Injektionsfähigkeit	X				
Wirksamkeit	bildgebender Embolisationseffekt		X	X		
	histopathologischer Embolisationseffekt				X	X
Resorbierbarkeit	bildgebender Reperfusionseffekt		X	X		
	histopathologische Partikeldegradation				X	X
Biokompatibilität	Gewebereaktion					X
	Gefäßwandreaktion					X

4.6.1 Anwendbarkeit der Mikrosphären im Tiermodell

Die Anwendbarkeit der PDO-Mikrosphären im Tiermodell unter Nutzung radiologischer Standardinstrumentarien, sowie der Bewertung der Sicherheit wurde anhand der allgemeinen Versuchsdurchführung bewertet. Hierfür wurden die einzelnen Arbeitsschritte, die verwendeten Materialien in Art und Menge, sowie das Auftreten von Komplikationen an jedem Interventionstag dokumentiert um die klinische Durchführbarkeit der Versuchsreihe zu analysieren. Darüber hinaus wurde die Injektionsfähigkeit der Mikrosphären in einem dreistufigen Schema festgehalten (leicht, mäßige oder unbefriedigende Injektionsfähigkeit) und von zwei Radiologen mit über 15 jähriger Erfahrung bewertet.

Die Sicherheit des Embolisationsverfahrens wurde anhand des Auftretens von intra- und post-operativen Komplikationen während und nach der Embolisation, sowie bei der Durchführung der Kontrollangiographie bemessen. Hierfür wurden die Versuchstiere kontinuierlich tiermedizinisch untersucht und alle von der Norm abweichenden Vorkommnisse dokumentiert. Als verfahrensassoziierte Komplikationen wurden folgende Dinge erfasst: arterielle Fehlpunktionen, Vasospasmen, Gefäßdissektionen, Thrombosen, Thromboembolien, arterielle Perforationen, Pseudoaneurysmen, arteriovenöse Fisteln, Kontrastmittelunverträglichkeiten, Abschwemmungen von Embolisationsmaterial, Postembolisationssyndrom, Wundinfektionen, Hämatome, Abszessbildungen, Nahtdehiszenzen, Kreislaufdysregulationen und weitere.

4.6.2 Wirksamkeit der Mikrosphären

Die Wirksamkeit der PDO-Mikrosphären wurde anhand des bildgebenden, sowie makroskopischen und mikroskopischen Embolisierungseffektes bewertet. Als Embolisierungseffekt wurde eine sichtbare Gefäßokklusion mit Perfusionsausfall und folglich Infarzierung des nachgeschalteten Stromgebiets definiert. In der Angiographie und Kernspintomographie stellen sich die Perfusionsausfälle als Kontrastmittelaussparungen dar, in der histopathologischen Auswertung (makroskopisch und mikroskopisch) als korrespondierende Niereninfarkte.

4.6.2.1 Bildgebender Embolisierungseffekt

Zur Beurteilung des bildgebenden Embolisierungseffektes (E) wurde das in Tabelle 9, Seite 48 aufgeführte semi-quantitative Scoring-System für alle Angiographie- und MRT Bilder am Tag der Embolisation angewendet. Der Embolisierungseffekt wurde auf einer Skala von 0 – 3 bewertet, wobei der Score E 0 als kein sichtbarer Embolisierungseffekt, Score E 1 als selektive Embolisation des Nierenpols, Score E 2 als selektive Embolisation des Nierenpols und unselektive Embolisation angrenzender Nierenareale, und Score E 3 als unselektive Embolisation der gesamten Niere definiert wurde. Als Ziel-Score wurde ein Embolisierungsscore von E 1 identifiziert. Für die Tiere der Gruppe 0 (= Akutgruppe) war der Ziel-Score E 3.

Tabelle 9: Scoring-System Embolisierungseffekt

Embolisationsscore	Definition
E 0	kein sichtbarer Embolisierungseffekt
E 1	selektive Embolisierung des Nierenpols
E 2	selektive Embolisierung Nierenpols + Embolisation angrenzender Nierenareale
E 3	unselektive Embolisierung der gesamten Niere

Für die angiographische Auswertung wurden die selektiven Nierenangiogramme prä- und unmittelbar post-Embolisation für alle Kaninchen miteinander verglichen um das durch die Embolisierung verursachte Ausmaß an Perfusionsausfall zu definieren. Die Persistenz des Gefäßverschlusses wurde durch ein 5 – 10 Minuten nach Embolisierung erstelltes Kontrollangiogramm bestätigt. Beispielangiographien für die Scores E 1 – 3 sind den Abbildungen 11 A-C, Seite 48 zu entnehmen. Es folgte die Bildung des arithmetischen Mittels für die einzelnen Standzeiten.



Abbildung 11: Beispiele der Embolisierungsscores E 1 – E 3 in der Angiographie

A) Embolisierungsscore E 1 = selektive Embolisierung des kaudalen Nierenpols der rechten Niere, B) Embolisierungsscore E 2 = selektive Embolisierung des kaudalen Nierenpols und marginale Embolisierung angrenzender Nierenareale der rechten Niere, C) Embolisierungsscore E 3 = unselektive Embolisierung der gesamten linken Niere.

Für die Auswertung der Magnetresonanztomographie und zur Beurteilung des Perfusionsausfalls wurden die T1-TSE Sequenzen prä- und post- Kontrastmittelgabe verglichen und ebenfalls nach oben beschriebenem Scoring-System ausgewertet. Die Abbildungen 12 A-C, Seite 49 zeigen exemplarisch die MRT-Scores E 1 – 3. Es folgte die Bildung des arithmetischen Mittels für die einzelnen Standzeiten.

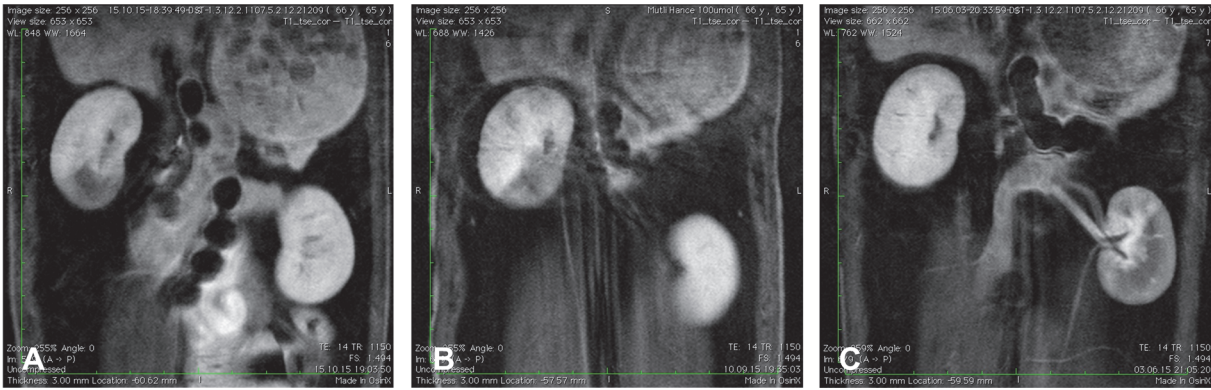


Abbildung 12: Beispiele der Embolisationscores E 1 – E 3 in der MRT

A) Embolisationscore E 1 = selektive Embolisation des kaudalen Nierenpols der rechten Niere, B) Embolisationscore E 2 = selektive Embolisation des kaudalen Nierenpols und marginale Embolisation angrenzender Nierenareale der rechten Niere, C) Embolisationscore E 3 = unselektive Embolisation der gesamten linken Niere (T1 TSE coronar).

4.6.2.2 Makroskopischer und mikroskopischer Embolisierungseffekt

Die histopathologische Auswertung des makroskopischen Embolisierungseffektes erfolgte ebenfalls nach dem in 4.6.2.1 beschriebenen Schema. In der Abbildung 13 A-C sind beispielhaft die makroskopischen Embolisierungsscores dargestellt.

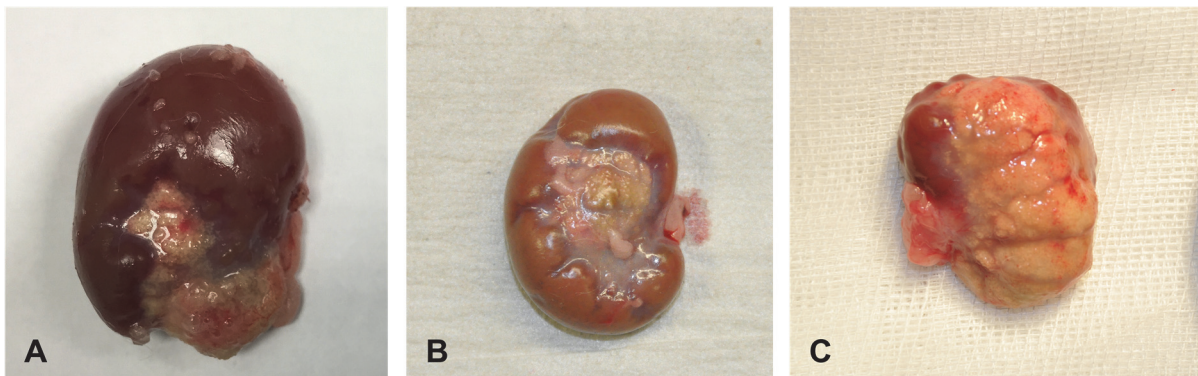


Abbildung 13: Beispiele der Embolisationscores E 1 – E 3 in der Makroskopie

A) Embolisationscore E 1 = selektive Embolisation des kaudalen Nierenpols der rechten Niere, B) Embolisationscore E 2 = selektive Embolisation des kaudalen Nierenpols und marginale Embolisation angrenzender Nierenareale der rechten Niere, C) Embolisationscore E 3 = unselektive Embolisation der gesamten linken Niere.

Für die histopathologische Auswertung des makroskopischen Embolisierungseffektes erfolgte außerdem die qualitative Beurteilung und Dokumentation von Infarktlokalisierung, Konsistenz, Oberflächenbeschaffenheit, Farbe und Gefäßzubildungen der Niere im Ganzen und im

Anschnitt. Die kontralaterale, nicht-embolisierte Niere diente dabei als physiologischer Vergleich.

Für die Beurteilung der Infarktlokalisierung konnte der Infarkt vier möglichen Orientierungen zugeordnet werden: kranio-dorsal, kranio-ventral, kaudo-dorsal, kaudo-ventral. Die Konsistenz des gesunden Nierenparenchyms und des Infarktgewebes ließ sich folgenden Kriterien zuordnen: weich-elastisch, derb-elastisch, derb-kalkig. Die Oberflächenbeschaffenheit war entweder glatt oder höckrig und konnte narbig eingezogen sein. Die Farbe wurde qualitativ beschrieben und die Anwesenheit oder Abwesenheit von Gefäßzubildungen wurde dokumentiert. Die Auswertung erfolgte eigenständig durch die Autorin.

Die histopathologische Auswertung des mikroskopischen Embolisierungseffekts erfolgte durch Heranziehen der HE- und PAS-gefärbten histologischen Schnitte. In Einzelfällen wurden die Sonderfärbungen von-Kossa und Jones-Methenamin-Silber herangezogen. Es erfolgte die qualitative Untersuchung auf histologische Infarktzeichen wie einen zentral liegenden Nekroseherd und eine entzündliche und hämorrhagische Demarkation des Infarktareals im chronologischen Verlauf. Auch der indirekte, durch den Gefäßverschluss entstandene Blutrückstau in andere Teile des renalen Gefäßbaums, wurde als Infarktzeichen gedeutet. Alle histologischen Infarktmerkmale wurden qualitativ erfasst und dokumentiert.

4.6.3 Resorbierbarkeit der Mikrosphären

Die Resorbierbarkeit der PDO-Mikrosphären wurde anhand des bildgebenden Reperfusionseffekts und der mikroskopischen Partikeldegradation bewertet. Als bildgebender Reperfusionseffekt wurde eine in den Kontrollangiogrammen sichtbare Reperfusion der initial embolisierten Gefäße definiert. Histopathologisch wurde die Resorbierbarkeit der Mikrosphären als mikroskopisch sichtbare Degradation der Partikel bewertet.

4.6.3.1 Bildgebender Reperfusionseffekt

Zur Beurteilung des bildgebenden Reperfusionseffektes als bildmorphologischer Ausdruck der Bioresorbierbarkeit wurde das in Tabelle 10, Seite 51 aufgeführte semi-quantitative Scoring-System für alle Angiographiebilder am Tag der Embolisation und am Tag der Kontrolluntersuchung angewandt. Die Gefäßokklusion wurde zu beiden Zeitpunkten auf einer Skala von 0 – 3 bewertet, wobei Score 0 als kein sichtbarer Gefäßverschluss, Score 1 als Gefäßverschluss auf Höhe der Aa. arcuatae, Score 2 als Gefäßverschluss auf Höhe

der Aa. interlobares und Score O 3 als Gefäßverschluss der Segmentarterie definiert wurde (siehe Abb. 14). Die bildgebende Reperfusion wurde anschließend bewertet, indem der Okklusionsscore auf den Embolisationsangiogrammen mit dem Okklusionsscore auf den Reangiogrammen am Tag der Kontrolluntersuchung verglichen wurde.

Tabelle 10: Scoring-System Reperfusionseffekt

Okklusionsscore	Definition
O 0	kein Gefäßverschluss
O 1	Gefäßverschluss auf Höhe der Aa. arcuatae
O 2	Gefäßverschluss auf Höhe der Aa. interlobares
O 3	Gefäßverschluss auf Höhe der Segmentarterie

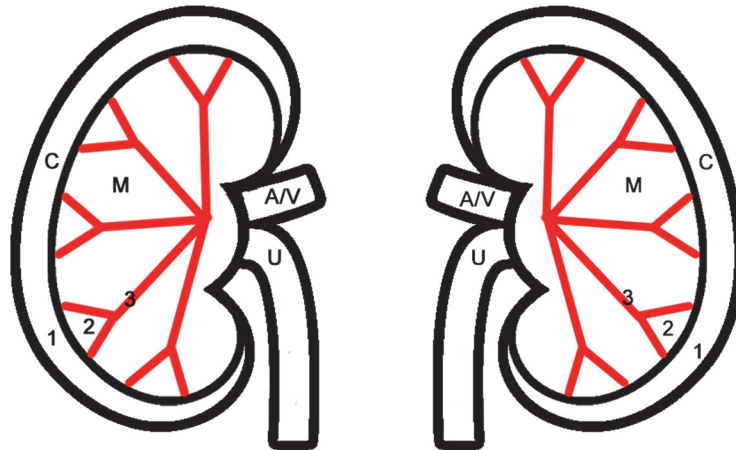


Abbildung 14: Schematische Darstellung des Okklusionsscores O 1 – O3

Schematische Darstellung der Nieren mit Nierenrinne (Cortex) und Nierenmark (Medulla), sowie der arteriellen Perfusion. Okklusionsscore O 1 = Gefäßverschluss auf Höhe der Aa. arcuatae, Okklusionsscore O 2 = Gefäßverschluss auf Höhe der Aa. interlobares, Okklusionsscore O 3 = Gefäßverschluss auf Höhe der Segmentarterie (C = Cortex, M = Medulla, U = Ureter A/V = Arterie und Vene)

Auf Basis der Score-Veränderung erfolgte eine qualitative Beurteilung des Reperfusionseffektes in „partiell“ und „vollständig“. Eine „partielle Reperfusion“ wurde als eine Verringerung um mindestens einen Okklusionsscore verstanden. Eine „vollständige Reperfusion“ hingegen wurde als komplette Wiederherstellung der Organperfusion auf einen Okklusionsscore von O 0 definiert. Ein persistierender Gefäßverschluss ohne Verringerung des Okklusionsscores wurde als „keine Reperfusion“ bewertet. Die vier Tiere der Gruppe 0

wurden in der Reperfusionanalyse nicht eingeschlossen. Die Bildung des arithmetischen Mittels erfolgte anschließend für die einzelnen Standzeiten.

4.6.3.2 Mikroskopische Partikeldegradation

Die Auswertung der Partikeldegradation erfolgte anhand von beobachteten morphologischen Veränderungen der Partikel in der HE-Färbung mit Hilfe eines entwickelten, semi-quantitativen Scoring-Systems (siehe Tab. 11). Als morphologische Kriterien wurden die Partikelform, Partikeloberfläche/-kontur, Partikelbinnenstruktur, Partikeldefekte und zelluläre Beteiligungen definiert. Das histologische in-vitro Erscheinungsbild der Partikel unter dem Mikroskop wurde als Originalstruktur bestimmt und einem Score von D 0 (0 Punkte) zugeordnet. Hierfür wurde eine Spatelspitze Partikel auf einen Objektträger aufgetragen und mit einer Xylol-Pertex-Lösung unter einem Deckgläschen fixiert. Für jede Partikelart wurden 100 Mikrosphären unter 5x und 10x Vergrößerung betrachtet und die morphologischen Eigenschaften notiert.

Für alle Abweichungen von dieser Originalstruktur wurden je nach Ausmaß der Veränderung Punkte vergeben. Die Summe dieser Punkte lies sich anschließend in einen Hauptscore übersetzen. Dieser wurde als D 1 = leichte Partikeldegradation (1-2 Punkte), D 2 = mäßige Partikeldegradation (3-4 Punkte) und D 3 = extensive Partikeldegradation (5-6 Punkte) festgelegt. Es handelt sich dabei um einen von den Autoren modifizierten Score nach Ohta et al. (Ohta et al. 2007) und erfolgte für je eine HE-Probe aus je einer Schnittebene und für jedes Kaninchen. In fraglichen Fällen wurden histologische Schnitte mit Jones-Methenamin-Silber gefärbt und zur Identifizierung herangezogen.

Tabelle 11: Scoring-System Partikeldegradation

Form		Oberfläche/Kontur		Binnenstruktur		Defekte		zelluläre Beteiligung	
sphärisch	0	glatt	0	homogen	0	keine	0	keine	0
fragmentiert	1	rau	1	inhomogen, vakuolisiert	1	Brüche, Löcher	1	marginal	1
								invasiv	2



Punkte	Definition	Score
0	Originalstruktur	D 0
1-2	Leichte Degradation	D 1
3-4	Mäßige Degradation	D 2
5-6	Extensive Degradation	D 3

(Die Tabelle findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder)

4.6.4 Auswertung: Biokompatibilität der Mikrosphären

Die Biokompatibilität der PDO-Mikrosphären wurde anhand der mikroskopischen Gewebereaktion als auch Gefäßwandreaktion bemessen. Als Gewebereaktion wurde der zelluläre Einstrom in das embolisierte Nierenparenchym über den Beobachtungszeitraum von 16 Wochen definiert. Die Gefäßwandreaktion betrachtet die zelluläre Reaktion auf die Gefäßwände der embolisierten Arterien.

4.6.4.1 Mikroskopische Gewebereaktion

Die Auswertung der Gewebereaktion erfolgte qualitativ mittels HE-Färbung für eine Probe aus je einer Schnittebene und für jedes Kaninchen.

Hierfür wurde die entzündliche Infiltration des Nierenparenchyms mit charakteristischen Leukozyten beurteilt und entsprechend einem von drei Entzündungsmustern zugeordnet: heterophil, mononukleär oder granulomatös. Als heterophile Entzündung wurde ein Auftreten von Granulozyten, insbesondere Neutrophilen definiert. Ein mononukleäres Entzündungsmuster umfasst das Einwandern von mononukleären Entzündungszellen wie Monozyten und Lymphozyten. Eine granulomatöse Entzündung lag bei einer Infiltration von aktivierten Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen vor. Abschließend erfolgte eine Beurteilung der regionalen Ausdehnung, sowie des Schweregrads in gering-, mittel- und hochgradig.

4.6.4.2 Mikroskopische Gefäßwandreaktion

Das Ausmaß der Gefäßwandverletzung und -entzündung, welche durch die Embolisation induziert wurde, wurde mit je einer HE- und einer EvG-Probe aus jeder Schnittebene und für jedes Kaninchen bestimmt.

Die Gefäßwandentzündung wurde zunächst qualitativ mit Hilfe der HE- Färbung analysiert. Hierfür wurde die entzündliche Infiltration der Gefäßwände mit charakteristischen Leukozyten entsprechend dem parenchymalen Schema in heterophil, mononukleär und granulomatös eingeteilt. Die Auswertung umfasste weiter die Beurteilung des regionalen Ausmaßes, sowie die semiquantitative Beurteilung des Schweregrads der Gefäßwandinfiltration in gering-, mittel- und hochgradig. Weiterhin wurden Anzeichen einer neointimalen Hyperplasie dokumentiert, welche als Verdickung der innersten Gefäßwandschicht (Tunica intima) durch Zell- und Matrixwachstum definiert wurde. Auch Verdickungen anderer Wandschichten wurden notiert.

Des Weiteren wurde das Auftreten vaskulärer Nekrosen und Veränderungen der elastischen Fasern in der Membrana elastica interna (MEI) und externa (MEE) mittels der EvG-Färbung beurteilt (siehe Abb. 15, Seite 54). Entsprechend der von Schwartz et al. (Schwartz et al.

1992) etablierten Methode wurde der Grad an Gefäßwandverletzung nach folgendem Score bewertet (siehe Tab. 12):

Tabelle 12: Scoring-System Gefäßwandverletzungsscore nach Schwartz (1992)

Gefäßwandscore	Definition
G 0	Membrana elastica interna, Tunica media, Membrana elastica externa intakt
G 1	Unterbrechung der Membrana elastica interna, Tunica media und Membrana elastica externa intakt
G 2	Unterbrechung der Membrana elastica interna und Tunica media, Membrana elastica externa intakt
G 3	Unterbrechung der Membrana elastica interna, Tunica media und Membrana elastica externa

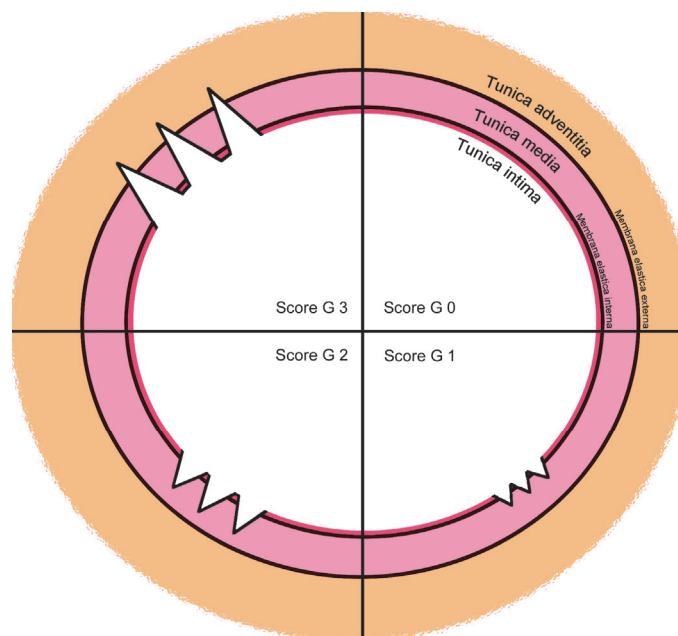


Abbildung 15: Schematische Darstellung des Gefäßwandverletzungsscores G 0 – G 3

Schematische Darstellung eines Gefäßquerschnitts mit Tunica intima, Membrana elastica interna, Tunica media, Membrana elastica externa und Tunica adventitia (von innen nach außen). Gefäßwandverletzungsscore G 0 = Membrana elastica interna, Tunica media und Membrana elastica externa intakt, Gefäßwandverletzungsscore G 1 = Membrana elastica interna defekt, Gefäßwandverletzungsscore G 2 = Membrana elastica interna und Tunica media defekt, Gefäßwandverletzungsscore G 3 = Membrana elastica interna, Tunica media und Membrana elastica externa defekt.

Der beschriebene Score wurde für alle großen Gefäße mit > 5 Partikeln angewandt. Kleine Gefäße ohne erkennbare Gefäßschichten wurden nicht in die Auswertung eingeschlossen.

4.6.5 Statistische Auswertung

4.6.5.1 Datenspeicherung und –aufbereitung

Die digitalisierten Daten wurden auf der Harddisk eines Laptops (MacBook Pro 13 Zoll 2009, OS X Yosemite, Version 10.10.5, Apple Inc., Cupertino, Kalifornien, USA) und einer externen Festplatte (WD Elements 1 TB, 2,5 Zoll, Western Digital Corporation, San José, Kalifornien, USA) gespeichert, aufbereitet und ausgewertet. Alle quantitativen und qualitativen Rohdaten des Kollektivs wurden zu Beginn in Microsoft-Excel Tabellen (Microsoft® Excel® 2008 für Mac, Version 12.3.6, Microsoft Corporation, Redmond, Washington, USA) gesammelt.

Die numerische Darstellung der Ergebnisse erfolgte für stetige Variablen aufgrund der geringen Fallzahl pro Gruppe und der daher nicht zu erwartenden Normalverteilung der Werte als Mediane mit Interquartilbereich, welche mit Microsoft Excel berechnet wurden. Lediglich die Darstellung des Degradationsscore von 2933 ausgewerteten Partikeln und des Gefäßwandscores von 62 Gefäßen erfolgte auf Grundlage des arithmetischen Mittelwerts und Standardabweichung. Für diskrete Variablen wurde die absolute und relative Häufigkeit (Anzahl (n) und Prozent (%)) berechnet. Die Ergebnisse sind in Text, Bild und Tabelle wiedergegeben. Die grafische Darstellung der Ergebnisse erfolgte mit Hilfe von Microsoft Excel und SPSS in Form von Säulen-, Linien- und Verlaufsdigrammen, sowie Boxplots. Die Boxplotdarstellung enthält den Median (50-Perzentil), das 25- und 75-Perzentil (1. und 3. Quartil), sowie den Minimum- und Maximumwert. Der Corpus des Boxplots wird vom 1. und 3. Quartil gebildet und vereint 50 Prozent der Werte in sich. Die sich oben und unten an den Corpus anschließenden Whisker umfassen jeweils die Werte unterhalb des 1. bzw. oberhalb des 3. Quartils.

Die erhobenen Einzelwerte wurden zur statistischen Auswertung den jeweiligen Versuchsgruppen zugeordnet und die erforderlichen Daten anschließend in die Datenbank des Statistik-Programms SPSS® Statistics, Version 25 von IBM® (SPSS Inc., Chicago, U.S.A.) übertragen.

4.6.5.2 Datenauswertung und statistische Tests

Die statistische Datenauswertung erfolgte selbstständig durch die Autorin unter Verwendung des Statistikprogramm Pakets SPSS® Statistics, Version 25 von IBM® (SPSS Inc., Chicago, U.S.A.). Zur Analyse der Daten wurden überwiegend deskriptive Statistiken berechnet. Zunächst wurden die Daten mittels des Shapiro-Wilk-Tests auf eine Normalverteilung geprüft. Mangels Normalverteilung erfolgte die Durchführung nicht-parametrischer Statistiken.

Die in die Auswertung eingehenden Tiere wurden bezüglich ihrer Kontrollzeit in 6 Gruppen eingeteilt und sind voneinander unabhängig.

Für den Vergleich dieser ungepaarten, stetigen Variablen (Vergleich zwischen Gruppen) wurde der nicht-parametrische Kruskal-Wallis-Test angewandt. Der Kruskal-Wallis-Test für unabhängige Stichproben testet, ob die zentralen Tendenzen von mehr als zwei unabhängigen Stichproben unterscheiden und wurde zur Beurteilung der Partikeldegradation, sowie der Gewebe- und Gefäßwandreaktion angewandt.

Für gepaarte Daten (Vergleich innerhalb einer Gruppe), wie den Reperfusionseffekt wurde der nicht-parametrische Wilcoxon signed-rank Test angewandt, um die Gleichheit der zentralen Tendenzen zu überprüfen.

Der Kappa Koeffizient nach Cohen wurde für die Fragestellung bestimmt, ob die erhobenen kategorialen Stichproben des Embolisationsscore aus Angiographie, Kernspintomographie und Makroskopie zur Beurteilung des Embolisationseffekts übereinstimmen.

Bei der Bewertung der statistischen Signifikanzen wurden Testergebnisse mit $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant angesehen.

4.6.5.3 Ausgeschlossene Tiere

Ein Kaninchen wurde aufgrund eines intraoperativen Narkosezwischenfalls aus der Versuchsreihe ausgeschlossen. Alle weiteren 15 Tiere konnten für die bildgebenden, histopathologischen und die statistischen Auswertungen herangezogen werden. Die 15 nicht-embolisierten Nieren der kontralateralen Seite standen als physiologischer Vergleich zur Verfügung.

5 Ergebnisse

5.1 Anwendbarkeit der Mikrosphären im Tiermodell

5.1.1 Durchführbarkeit und Sicherheit der Embolisation

Die Intervention konnte in 15/16 Tieren (93,7%) erfolgreich durchgeführt werden. Ein Tier, welches präoperativ randomisiert der Gruppe 2 zugeordnet wurde, verstarb intraoperativ durch ein akutes, narkosebedingtes Kreislaufversagen und wurde von der Versuchsreihe ausgeschlossen. Die übrigen 15 Tiere zeigten keine Narkosezwischenfälle.

In allen Tieren wurde jeweils eine Niere embolisiert. Insgesamt wurden in 8/15 (53,3%) Fällen die rechte Niere und in 7/15 (46,7%) die linke Niere embolisiert. Die Auswahl erfolgte randomisiert. 2/15 Tieren wurden randomisiert der Akutgruppe = Gruppe 0 zugeordnet und wurden planmäßig unmittelbar post Embolisation im anästhesierten Zustand euthanasiert. Ein Tier zeigte unmittelbar nach Narkoseerwachen ein schlechtes klinisches Allgemeinbefinden (Hinterhandlähmung) und wurde außerplanmäßig euthanasiert und ebenfalls der Akutgruppe = Gruppe 0 zugeordnet, somit erhielten 3/15 Tieren eine Embolisation der gesamten Niere. In 12/15 Tieren wurde eine selektive Embolisation angestrebt. In 10/12 (83,3%) Fällen gelang eine selektive Sondierung eines Nierenpols (9/10 kaudal, 1/10 kranial). In den übrigen 2/12 Fällen (16,7%) war eine selektive Sondierung eines Nierenpols nicht vollständig möglich.

Über den Untersuchungszeitraum vom 30.10.2014 bis 12.04.2016 wurden insgesamt 27 Angiographien durchgeführt. Davon waren 15 Angiographien am Tag der Embolisation und 12 Reangiographien am Tag der Euthanasie (drei Akuttiere erhielten keine Kontrolluntersuchung). In 1/27 Fällen (3,7%) entstand während des Eingriffs ein Vasospasmus. In 1/27 Untersuchungen (3,7%) kam es zu einer nicht letalen Gefäßwandverletzung, welche keinen Eingriff erforderte. Die übrigen 25 angiographischen Interventionen (25/27= 92,6%) verliefen ohne intraoperative Zwischenfälle.

Die Durchschnittsdauer der Versuchstier- und Interventionsvorbereitung für die Erstuntersuchungen betrug 81,27 (\pm 17,77) Minuten und 82,91 (\pm 18,49) Minuten für die Kontrolluntersuchungen. Die durchschnittliche Embolisationsdauer betrug insgesamt 93,07 (\pm 20,24) Minuten. Die durchschnittliche Dauer der Kontrollangiographie betrug 54,27 (\pm 26,03) Minuten.

In keinem der übrigen zwölf Tiere (12/12= 100%), die aus der Narkose erwachten, waren Anzeichen eines Post-Embolisationssyndrom zu vermerken. Ein Tier (1/12= 8,3%) zeigte eine Nahtdehiszenz durch Automutilation der Wunde. Ein Tier (1/12= 8,3%) erlitt eine Krallenverletzung als auch eine Nahtdehiszenz durch Automutilation. Die Komplikationen

dieser Tiere wurden durch einen erneuten chirurgischen Eingriff und eine medikamentelle Versorgung mit Antibiose und Analgesie behandelt. Drei weitere Tiere (3/12= 25%) zeigten eine geringfügige lokale Wundinfektion durch Automutilation der Wunde, welche konservativ mit Antibiose und einer antiseptischen Salbe behandelt wurde. Die übrigen Tiere (7/12= 58,3%) erlitten keine post-operativen Komplikationen. Das durchschnittliche Körpergewicht (als Maß für den allgemeinen Gesundheitszustand der Kaninchen) betrug am Tag der Embolisation 3,5 kg (\pm 0,53) und am Tag der Euthanasie 3,72 kg (\pm 0,54). Lediglich nach einer Standzeit von 1 Woche war das Körpergewicht zum Zeitpunkt der Euthanasie geringer als zum Zeitpunkt der Embolisation.

Eine Übersicht der dokumentierten Parameter ist der Tabelle 13, Seite 59 zu entnehmen.

Tabelle 13: Übersichtstabelle Durchführbarkeit und Sicherheit

Nr.	Studien-Nr.	Identifikation	Gruppe	Durchführbarkeit	Lokalisation	intra-operative Zwischenfälle	post-operative Komplikationen
1	G0112/14-1	C29432	0	erfolgreich	rechts	Gefäßwandverletzung	keine
2	G0112/14-2	C29495	3	erfolgreich	links	keine	keine
3	G0112/14-3	C29459	1	erfolgreich	links	keine	keine
4	G0112/14-6	D02664	4	erfolgreich	links	keine	Automutilation - Nahtdehiszenz
5	G0112/14-7	D02763	4	erfolgreich	links	keine	Automutilation - Wundinfektion
6	G0112/14-8	C44849	0	erfolgreich	links	keine	Hinterhandlähmung
7	G0112/14-9	C44915	4	erfolgreich	links	Vasospasmus	Automutilation - Wundinfektion
8	G0112/14-10	LYMM	4	erfolgreich	rechts	keine	keine
9	G0112/14-11	D20518	2	ex	ex	ex	ex
10	G0112/14-12	D26401	5	erfolgreich	rechts	keine	Automutilation - Wundinfektion
11	G0112/14-13	D20513	4	erfolgreich	rechts	keine	keine
12	G0112/14-14	D26640	5	erfolgreich	rechts	keine	keine
13	G0112/14-15	D26437	1	erfolgreich	rechts	keine	Krallenverletzung, Automutilation - Nahtdehiszenz
14	G0112/14-21	D38120	3	erfolgreich	rechts	keine	keine
15	G0112/14-22	D38125	2	erfolgreich	links	keine	keine
16	G0112/14-24	D45130	0	erfolgreich	rechts	keine	keine

5.1.2 Injektionsfähigkeit der Mikrosphären

Die neu entwickelten blanden PDO-Mikrosphären zeigten sich *in vitro* im mikroskopischen Bild hellbraun, kugelförmig und regelmäßig in ihrer Form. Die Oberfläche war glatt und die Kontur scharf abgrenzbar. Keines der 200 *in vitro* untersuchten blanden Partikel zeigte Defekte wie Risse, Brüche oder Löcher. Es waren keine Aggregate oder Partikelverklumpungen zu erkennen. Die Binnenstruktur war homogen, in allen Partikeln waren vereinzelt unterschiedlich große Lufteinschlüsse zu sehen, die sich als dunkelbraune, runde, meist zentral gelegene Stellen darstellten (siehe Abb. 16 A-B). Die Partikel zeigten innerhalb der angegebenen Größenkalibrierung eine einheitliche Größe. Der durchschnittliche Durchmesser der Partikel der Größe 100-150 μm betrug 99,21 μm ($\pm 7,26 \mu\text{m}$) und 215,27 μm ($\pm 33,63 \mu\text{m}$) für die Größenrange 90-315 μm . Die Größenverteilung der Partikel der Größe 90-315 μm war näher an der Gaußverteilung als die Größenverteilung der 100-150 μm großen Partikel. Die Größenverteilung der 90-315 μm großen Partikel war jedoch etwas breiter. Alle Partikel der Größe 90-315 μm befanden sich innerhalb der angegebenen Range, während nur einzelne Partikel der Größe 100-150 μm innerhalb des angegebenen Durchmessers lagen. Die Größenverteilung der Mikrosphären inklusive ihrer Normalverteilung ist der Abbildung 17 A-B, Seite 61 zu entnehmen.

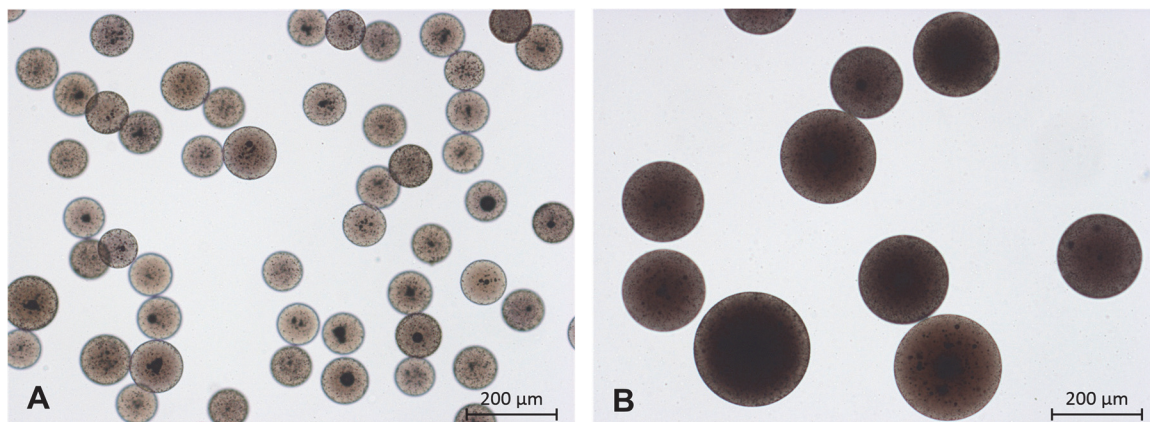


Abbildung 16: Mikroskopische Darstellung der PDO-Mikrosphären

Mikroskopische Darstellung der PDO-Mikrosphären in-vitro mit sphärischer Form, glatter Oberfläche, scharfer Kontur und homogener Binnenstruktur ohne sichtbare Defekte. A) Mikroskopisches Erscheinungsbild der Partikel der Größe 100 – 150 μm , B) Mikroskopisches Erscheinungsbild der Partikel der Größe 90 – 315 μm (5x Vergrößerung, nativ).

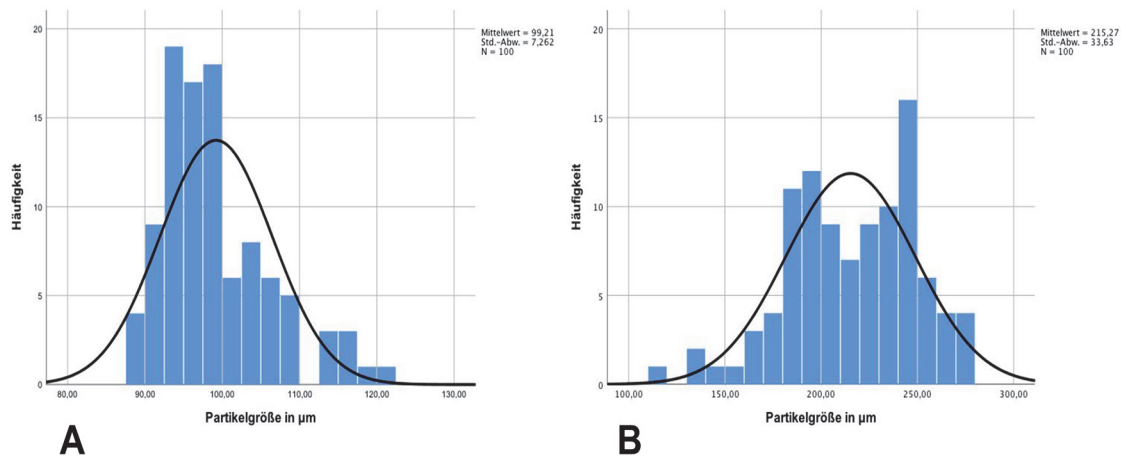


Abbildung 17: Größenverteilung der PDO-Mikrosphären

Graphische Darstellung der PDO-Mikrosphären nach Partikeldiameter und Häufigkeit, sowie ihre Normalverteilung. A) Größenverteilung der Partikel der Größe 100 – 150 µm, B) Größenverteilung der Partikel der Größe 90 – 315 µm. (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

Das Injektionsgemisch bestand regulär aus einer Mischung von Mikrosphären, isotoner Kochsalzlösung und Kontrastmittel. Die Verwendung der Partikelgrößen erfolgte randomisiert. Eine Verteilung der verwendeten Partikel und ihre Größenzuteilung ist der Tabelle 5, Seite 37 zu entnehmen. Die durchschnittlich verwendete Partikelmenge betrug 0,11 (\pm 0,03) ml. Im Bezug auf die einzelnen Partikelgrößen betrug sie 0,12 (\pm 0,03) ml für 100 – 150 µm und 0,11 (\pm 0,03) ml für 90 – 315 µm große Partikel.

In 6/15 (40%) durchgeführten Embolisationen wurde eine reine Injektionsmischung ohne Hilfsstoff appliziert. In den übrigen 9/15 (60%) Fällen wurde dem Injektat ein Hilfsstoff zur potentiellen Injektionsverleicherung beigemischt. Dieser Hilfsstoff war in 1/9 (11,1%) bzw. 1/15 (6,7%) Fällen eine 5-% Glukoselösung (Glucose Injektionslösung 5% Mini Plasco® connect, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) und in 8/9 (88,9%) bzw. 8/15 (53,3%) Fällen humanes Albumin (human Albumin 200 g/l, Baxter AG, Wien, Österreich).

Eine leichte Injektion des Embolisates war in 3/15 (20%) Fällen möglich. In 9/15 (60%) Fällen erfolgte die Injektion mäßig und in 3/15 (20%) unbefriedigend. In Fällen von unbefriedigender Injektion sammelten sich die Partikel meist im Katheterstutzen und verlegten vereinzelt auch das Lumen des Katheters.

Die Injektionsfähigkeit für Partikel der Größe 100 – 150 µm mit humanem Albumin war in 3/4 (75%) Fällen leicht und in 1/4 (25%) Embolisationen mäßig. Ohne Hilfsstoff hingegen ließen sich die Partikel der Größe 100 – 150 µm in 2/2 Fällen nur mäßig gut injizieren. In der Gruppe der Größe 90 – 315 µm verlief die Injektion mit humanem Albumin in 3/4 (75%) Malen mäßig und in 1/4 (25%) Fällen unbefriedigend. Auch mit Glukoselösung als Hilfsstoff war die Injektion von 90 – 315 µm großen Partikeln in 1/1 (100%) Embolisationen

unbefriedigend. Ohne Hilfsstoff ließen sich die Partikel der Größe 90 – 315 µm in 3/4 (75%) Fällen mäßig und in 1/4 (25%) Fällen unbefriedigend injizieren.

Die durchschnittliche Embolisationsdauer betrug insgesamt 85,67 (\pm 15,44) Minuten für die Partikel der Größe 90 – 315 µm und 104,17 (\pm 22,80) Minuten für Partikel der Größe 100 – 150 µm. Im Bezug auf den verwendeten Hilfsstoff betrug die Embolisationsdauer für Partikel der Größe 90 – 315 µm ohne Hilfsstoff 77,75 (\pm 10,59) Minuten, 85 (\pm 6,78) Minuten mit humanem Albumin und 120 Minuten für eine Injektion mit Glukose. Für Partikel der Größe 100 – 150 µm betrug die durchschnittliche Embolisationsdauer ohne Hilfsstoff 85,5 (\pm 3,54) Minuten und 113,5 (\pm 22,66) Minuten bei einer Verwendung von humanem Albumin als Hilfsstoff.

Eine Übersicht der ermittelten Parameter ist der Tabelle 14, Seite 63 zu entnehmen.

Tabelle 14: Übersichtstabelle Injektionsfähigkeit

Nr.	Studien-Nr.	Identifikation	Gruppe	Partikelart	Partikelgröße	Partikelmenge	Hilfsmittel	Injektion
1	G0112/14-1	C29432	0	bland	90 – 315 µm	0,125 ml	-	unbefriedigend
2	G0112/14-2	C29495	3	bland	90 – 315 µm	0,075 ml	-	mäßig
3	G0112/14-3	C29459	1	bland	90 – 315 µm	0,1 ml	-	mäßig
4	G0112/14-6	D02664	4	bland	100 – 150 µm	0,15 ml	-	mäßig
5	G0112/14-7	D02763	4	bland	100 – 150 µm	0,1 ml	-	mäßig
6	G0112/14-8	C44849	0	bland	90 – 315 µm	0,1 ml	-	mäßig
7	G0112/14-9	C44915	4	bland	90 – 315 µm	0,15 ml	Glukose	unbefriedigend
8	G0112/14-10	LYMM	4	bland	100 – 150 µm	0,15 ml	humanes Albumin	leicht
9	G0112/14-11	D20518	2	ex	ex	ex	ex	ex
10	G0112/14-12	D26401	5	bland	90 – 315 µm	0,1 ml	humanes Albumin	mäßig
11	G0112/14-13	D20513	4	bland	90 – 315 µm	0,1 ml	humanes Albumin	mäßig
12	G0112/14-14	D26640	5	bland	90 – 315 µm	0,15 ml	humanes Albumin	unbefriedigend
13	G0112/14-15	D26437	1	bland	90 – 315 µm	0,05 ml	humanes Albumin	mäßig
14	G0112/14-21	D38120	3	bland	100 – 150 µm	0,075 ml	humanes Albumin	leicht
15	G0112/14-22	D38125	2	bland	100 – 150 µm	0,1 ml	humanes Albumin	mäßig
16	G0112/14-24	D45130	0	bland	100 – 150 µm	0,15 ml	humanes Albumin	leicht

5.2 Wirksamkeit der Mikrosphären

5.2.1 Bildgebender Embolisierungseffekt

In allen Versuchstieren war in der Angiographie prä Embolisierung eine physiologische Gefäßanatomie mit homogener Parenchymopazifizierung zu erkennen. Unmittelbar post Embolisierung zeigten sich eine Okklusion des embolisierten Arterienstammes, sowie korrelierende Perfusionsdefekte im Sinne von Kontrastmittelaussparungen im Nierenparenchym (siehe Abb. 18 und Abb. 21, Seite 66). Angiographische Kontrollen 10 – 15 Minuten post Embolisierung bestätigten die Persistenz des Gefäßverschlusses.

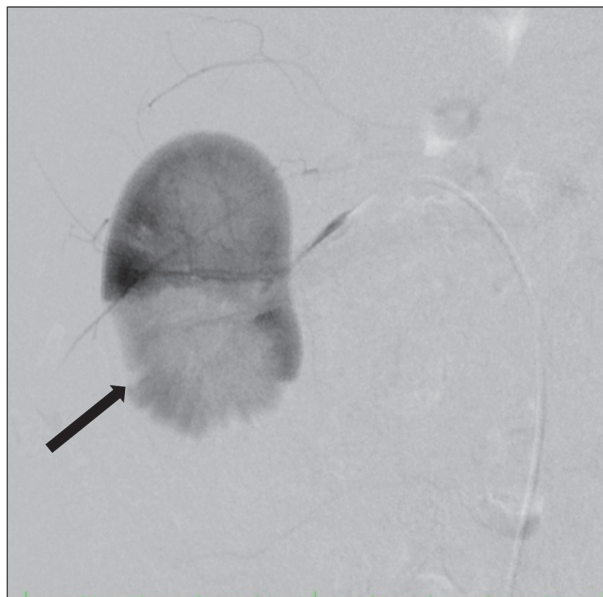


Abbildung 18: Angiographische Darstellung des Embolisierungseffektes

Angiographische Darstellung des Perfusionsdefektes nach erfolgreicher Embolisierung des kaudalen Nierenpols einer rechten Niere. Der Perfusionsdefekt stellt sich als Kontrastmittelaussparung im Nierenparenchym dar (Pfeil). (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

Der durchschnittliche Embolisierungsscore der Angiographieauswertung betrug $E = 1,93 (\pm 0,80)$, Median 2 (1 – 2,5) (Median mit Interquartilbereich). Ein Embolisierungsscore von 0 wurde in 0/15 (0%) Tieren, ein Score von 1 in 5/15 (33,3%), ein Score von 2 in 6/15 (40%) und ein Score von 3 in 4/15 (26,7%) Fällen vergeben. Nach Abzug der Akuttiere, in denen die Embolisierung bewusst unselektiv stattfand, betrug der Durchschnittsscore $E = 1,75 (\pm 0,75)$, Median 2 (1 – 2) (Median mit Interquartilbereich). Die Scores verteilen sich hier wie folgt: Score 0: 0/16 (0%), Score 1: 5/12 (41,7%), Score 2: 5/12 (41,7%) und Score 3: 2/12 (16,6%) (siehe Abb. 19-20, Seite 65).

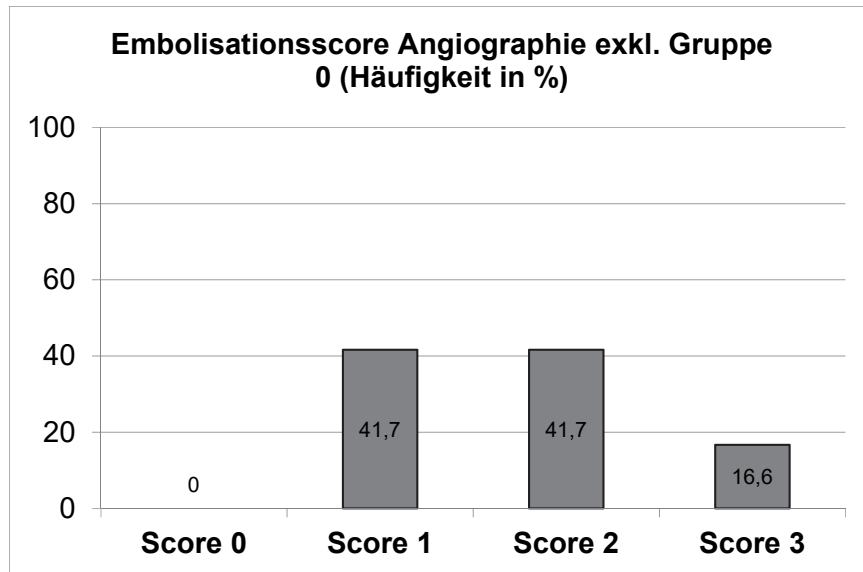


Abbildung 19: Embolisationscores in der Angiographie exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung der Embolisationscores (Säulendiagramm) in der Angiographie nach Häufigkeit (in %) exkl. Gruppe 0. Der Score E 0 wurde in keinem Tier vergeben. Der Score E 1 in 41,7%, der Score E 2 in 41,7% und der Score E 3 in 16,6% vergeben.

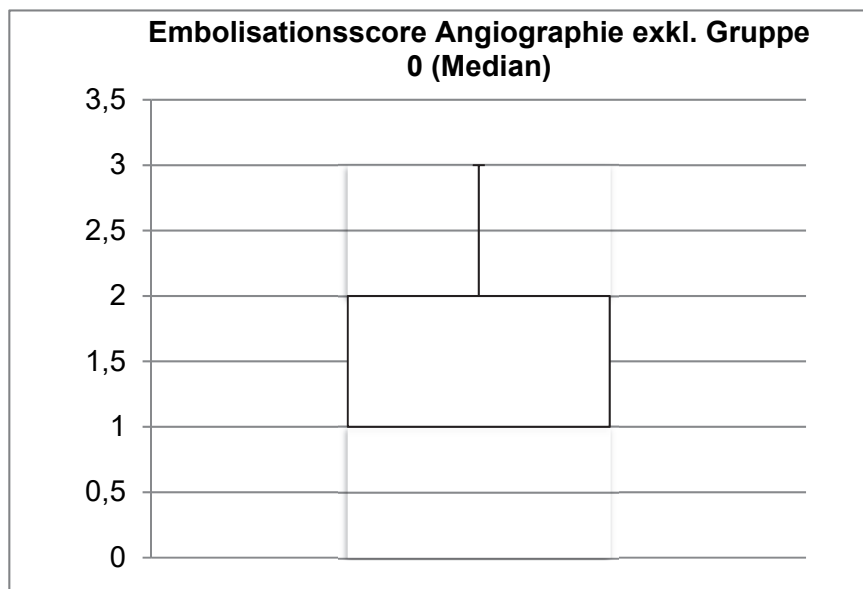


Abbildung 20; Embolisationscore in der Angiographie exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung des medianen Embolisationscore (Boxplot mit Interquartilabständen) in der Angiographie exkl. Gruppe 0. Der Median beträgt 2, das 1. Quartil 1 und das 2. Quartil 2. Der Minimum-Wert beträgt 1 und der Maximum-Wert 3.



Abbildung 21: Kernspintomographische Darstellung des Embolisierungseffektes

Kernspintomographische Darstellung des Perfusionsdefektes nach erfolgreicher Embolisierung des kaudalen Nierenpols einer rechten Niere. Der Perfusionsdefekt stellt sich als Kontrastmittelaussparung im Nierenparenchym dar (Pfeil) (T1 TSE coronar). (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

Der durchschnittliche Embolisierungsscore der MRT-Auswertung aller 8 untersuchten Tiere beträgt 1,5 (\pm 1,07), Median 1 (1 – 2,25) (Median mit Interquartilbereich). Ein Embolisierungsscore von 0 wurde in 1/8 (12,5%), ein Score von 1 in 4/8 (50%), ein Score von 2 in 1/8 (12,5%) und ein Score von 3 in 2/8 (25%) Fällen vergeben. Nach Abzug der Akuttiere, in denen die Embolisierung bewusst unselektiv stattfand, beträgt der Durchschnittsscore 1,29 (\pm 0,95), Median 1 (1 – 1,5) (Median mit Interquartilbereich). Die Scores verteilen sich hier wie folgt: Score 0: 1/7 (14,3%), Score 1: 4/7 (57,1%), Score 2: 1/7 (14,3%) und Score 3: 1/7 (14,3%) (siehe Abb. 22-23, Seite 67).

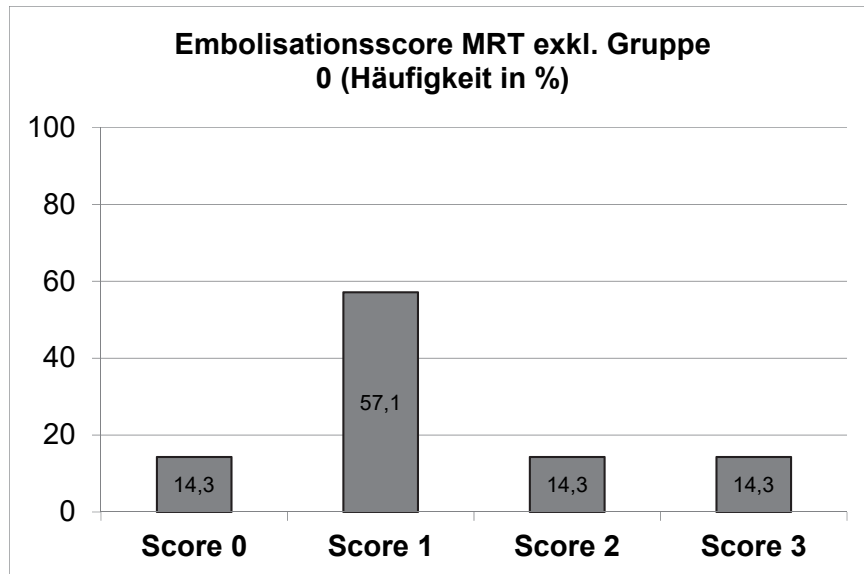


Abbildung 22: Embolisationsscore in der MRT exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung der Embolisationsscores (Säulendiagramm) in der Kernspintomographie nach Häufigkeit (in %) exkl. Gruppe 0. Der Score E 0 wurde in 14,3 %, der Score E 1 in 57,1%, der Score E 2 in 14,3% und der Score E 3 in 14,3% vergeben.

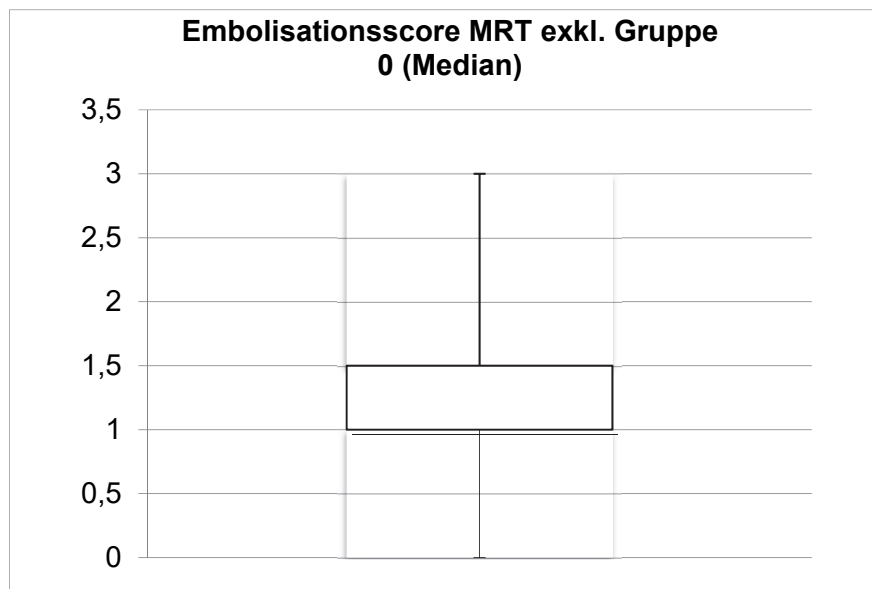


Abbildung 23: Embolisationsscore in der MRT exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung des medianen Embolisationsscore (Boxplot mit Interquartilabständen) in der Kernspintomographie exkl. Gruppe 0. Der Median beträgt 1, das 1. Quartil 1 und das 2. Quartil 1,5. Der Minimum-Wert beträgt 0 und der Maximum-Wert 3.

Der durchschnittliche Embolisationsscore der Angiographie betrug für Partikel der Größe 100 – 150 µm inkl. Akuttiere $E = 2 (\pm 0,89)$, Median 2 (1,25 – 2,75) (Median mit Interquartilbereich) und exkl. Akuttiere $E = 1,5 (\pm 0,58)$, Median 1,5 (1 – 2) (Median mit Interquartilbereich). Für Partikel der Größe 90 – 315 µm betrafen die Scores $E = 1,89$

($\pm 0,78$), Median 2 (1 – 2) (Median mit Interquartilbereich) und exkl. Akuttiere E = 2 ($\pm 0,83$), Median 2 (1 – 2,25) (Median mit Interquartilbereich).

Für die Kernspintomographie betrug der mittlere Score für Partikel der Größe 100 – 150 μm E = 1,67 ($\pm 1,21$), Median 1,5 (1 – 2,75) (Median mit Interquartilbereich) inkl. Akuttiere und E = 1 ($\pm 0,82$), Median 1 (0,75 – 1,25) (Median mit Interquartilbereich) exkl. Akuttiere. Für Partikel der Größe 90 – 315 μm betrug der Embolisationscore des MRT E = 1 (± 0) inkl. und exkl. Akuttiere, Median 1 (1 – 1) (Median mit Interquartilbereich).

5.2.2 Makroskopischer Embolisierungseffekt

Eine Übersicht der makroskopischen Auswertung ist der Tabelle 16, Seite 75 zu entnehmen. Der makroskopische Embolisierungseffekt stellte sich als unterschiedliche Entwicklungsstufen eines Niereninfarktes dar. Im Allgemeinen variierten die makroskopisch sichtbaren Merkmale zu den unterschiedlichen Kontrollzeitpunkten.

In den drei Tieren der Gruppe 0 waren zum Zeitpunkt der makroskopischen Auswertung keine Infarktzeichen zu beobachten. Hier stellte sich das Nierenparenchym in Konsistenz und Oberfläche als physiologisch weich-elastisch und glatt dar. Die Farbe des Nierengewebes war rotbraun mit einer hell-dunklen Maserung, die als Hämorrhagien zu erkennen waren. Auch die Anschnittflächen zeigten keine Anzeichen eines Infarktes. Die Zeit zwischen der Embolisierung und der Organsektion betrug circa 120 Minuten.

Die Infarkte der übrigen 12 Tiere stellten sich zu allen Kontrollzeitpunkten als weiß-beige, kapillarisierte Gewebnarben dar (siehe Abb. 24, Seite 69). Die Konsistenz war nach 1, 4 und 8 Wochen derb-elastisch und verkalkte 12 und 16 Wochen post Embolisierung. Die Oberfläche war bis zu 8 Wochen glatt und begann sich nach einer Woche am Infarkttrand narbig einzuziehen. Mit 12 und 16 Wochen stellte sich die Oberfläche als höckrig und eingezogen mit Oberflächenvertiefungen und deutlicher Volumenreduktion dar. Der Vergleich der embolisierten Niere mit der kontralateralen Kontrollnieren zeigte einen eindeutigen Größenunterschied. Die embolisierte Seite wirkte dabei geschrumpft, während die nicht-embolisierte Niere hypertrophierte (siehe Abb. 24, Seite 69).



Abbildung 24: Makroskopische Darstellung des Embolisierungseffektes

Makroskopische Darstellung einer embolisierten Niere (links) und der kontralateralen nicht-embolisierten Niere (rechts). Sichtbar ist eine deutliche Größenreduktion im Sinne einer Schrumpfniere (links) mit segmentalem Niereninfarkt (Pfeil). Die kontralaterale nicht-embolisierte Niere zeigte sich kompensatorische vergrößert (rechts).

Im Anschnitt waren die Infarkte der Gruppe 1 als blassgraues, keil-förmiges, über die Oberfläche ragendes Areal erkennbar, dessen Spitze zum Mark hin zeigte. Der Infarkt konnte durch einen hämorrhagischen Saum vom gesunden Nierenparenchym abgegrenzt werden (siehe Abb. 25 A-B, Seite 70). In Gruppe 2 und 3 grenzte sich das Infarktareal durch das fibrotische Zusammenziehen der Gewebnarbe vom gesunden Gewebe ab. Es war kein Randsaum mehr zu erkennen (siehe Abb. 25 C-D, Seite 70). In Gruppe 4 und 5 war der verkalkte Infarkt als bröseliges, im Anschnitt knirschendes Gewebe zu beurteilen (siehe Abb. 25 E-F, Seite 70). In keinem der Anschnitte waren die Mikrosphären mit dem bloßen Auge zu erkennen.

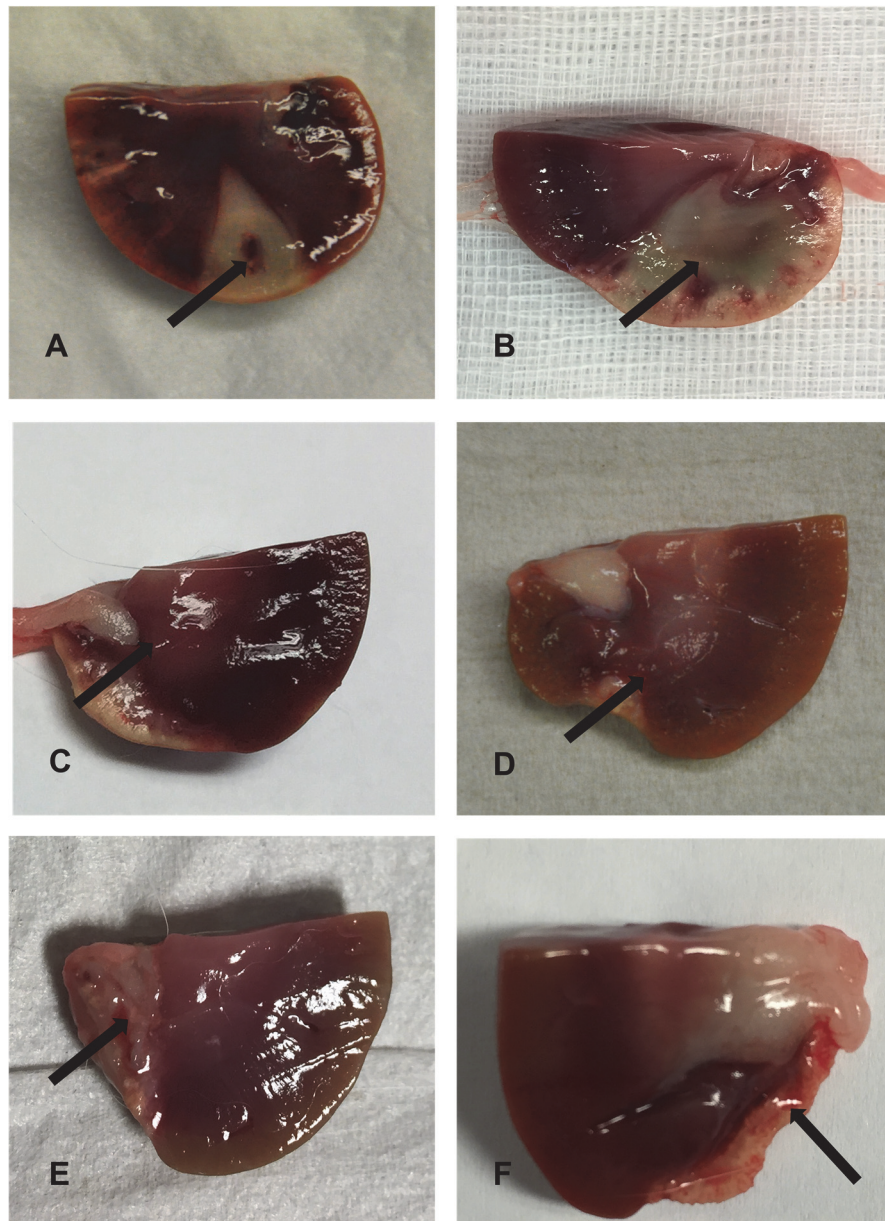


Abbildung 25: Makroskopische Darstellung des Embolisierungseffektes im Anschnitt

Makroskopische Darstellung der Niereninfarkte der embolisierten Nieren im zeitlichen Verlauf (Pfeile). A und B: Anschnittsflächen eines embolisierten Nierenpols 1 Woche nach Embolisation. Der Niereninfarkt stellt sich als blassgraues, keilförmiges Areal dar, dessen Spitze zum Nierenmark hin zeigt. Der Infarkt wölbt sich über die Nierenoberfläche hinaus. Eine Abgrenzung vom gesunden Nierenparenchym erfolgt durch einen hämorrhagischen Randsaum. C und D: Anschnittsflächen eines embolisierten Nierenpols 4 und 8 Wochen nach Embolisation. Der Niereninfarkt stellt sich als weißes, teils mineralisiertes keilförmiges Areal dar. Durch fortschreitende Fibrosierung zieht sich der Infarkt als Gewebenarbe in seiner Oberfläche ein. E und F: Anschnittsflächen eines embolisierten Nierenpols 12 und 16 Wochen nach Embolisation. Der Niereninfarkt ist verkalkt und stellt sich als mineralisierte Gewebenarbe dar.

In 2/12 (16,7%) Tieren betraf der makroskopisch sichtbare Infarkt nahezu die gesamte Niere, in 10/12 (83,3%) waren die makroskopisch sichtbaren Infarkte auf ein Areal beschränkt vorzufinden. In 8/10 (80%) Tieren waren die Infarkte selektiv abgrenzbar und ein bis zwei der

möglichen Orientierungen zuzuordnen. In 2/12 (20%) Tieren war das Infarktareal nicht als selektive Gewebsnarbe abzugrenzen, sondern stellte sich als Ansammlung mehrerer kleiner Mikroinfarkte dar. Diese Mikroinfarkte waren trotz ihres fortgeschrittenen Kontrollzeitpunktes nach 12 Wochen derb-elastisch, glatt, eingezogen, nicht-verkalkt und geringfügig kapillarisiert. Sie ließen sich farblich durch eine geringfügig dunklere Färbung vom umliegenden Gewebe unterscheiden (siehe Abb. 26).



Abbildung 26: Makroskopische Darstellung der Mikroinfarkte

Makroskopische Darstellung einer embolisierten linken Niere mit multiplen Mikroinfarkten 12 Wochen nach Embolisation. Die Mikroinfarkte stellen sich als nicht-verkalkte, dunkel verfärbte, eingezogene Parenchymveränderungen dar (Pfeil).

Der durchschnittliche Embolisationscore der histopathologischen Auswertung (Makroskopie) aller 15 Nieren beträgt 1,2 (\pm 1,01), Median 1 (0,5 – 2) (Median mit Interquartilbereich). Ein Embolisationscore von 0 wurde in 4/15 (26,7%), ein Score von 1 in 6/15 (40%), ein Score von 2 in 3/15 (20%) und ein Score von 3 in 2/15 (13,3%) Fällen vergeben. Nach Abzug der Akuttiere, in denen noch kein Embolisierungseffekt sichtbar war, beträgt der Durchschnittsscore 1,5 (\pm 0,90), Median 1 (1 – 2) (Median mit Interquartilbereich). Die Scores verteilen sich hier wie folgt: Score 0: 1/12 (8,3%), Score 1: 6/12 (50%), Score 2: 3/12 (25%) und Score 3: 2/12 (16,7%) (siehe Abb. 27-28, Seite 72).

Die makroskopische Untersuchung der embolisierten Nieren korrelierte mit dem angiographischen Erscheinungsbild des Nierenparenchyms und den angiographisch sichtbaren Perfusionsdefekten. Bei allen Tieren zeigten die unbehandelte, nicht-embolisierte kontralaterale Niere keine makroskopischen Anomalien. Es besteht demnach kein Hinweis auf eine Nicht-Zielembolisation. Auch im nicht-embolisierten Anteil der ausgewählten Niere waren in der überwiegenden Anzahl der Fälle keine Infarktzeichen zu sehen. Es waren keine Unterschiede hinsichtlich der Partikelgrößen festzustellen.

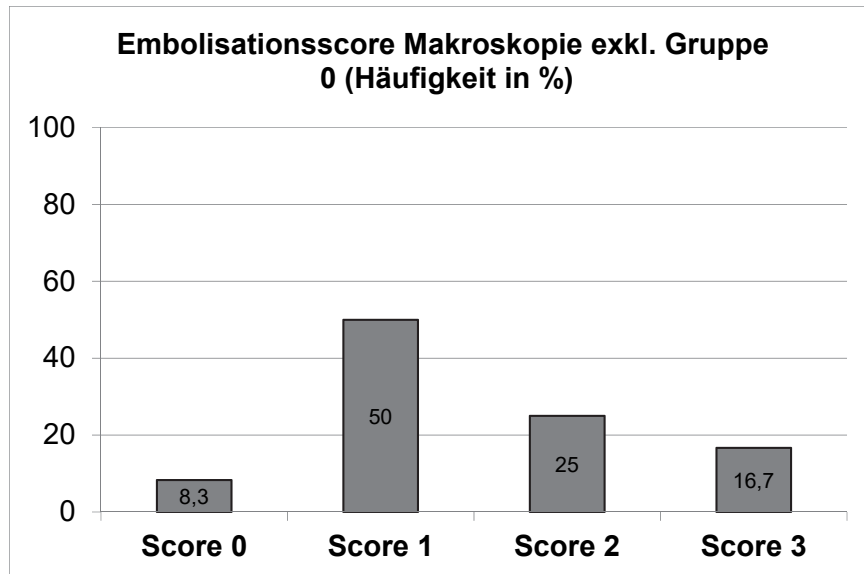


Abbildung 27: Embolisationscores in der Makroskopie exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung der Embolisationscores (Säulendiagramm) in der Makroskopie nach Häufigkeit (in %) exkl. Gruppe 0. Durchschnittlicher Embolisationscore in der Makroskopie in % exkl. der Gruppe 0. Der Score E 0 wurde in 8,3 %, der Score E 1 in 50%, der Score E 2 in 25% und der Score E 3 in 16,7% vergeben.

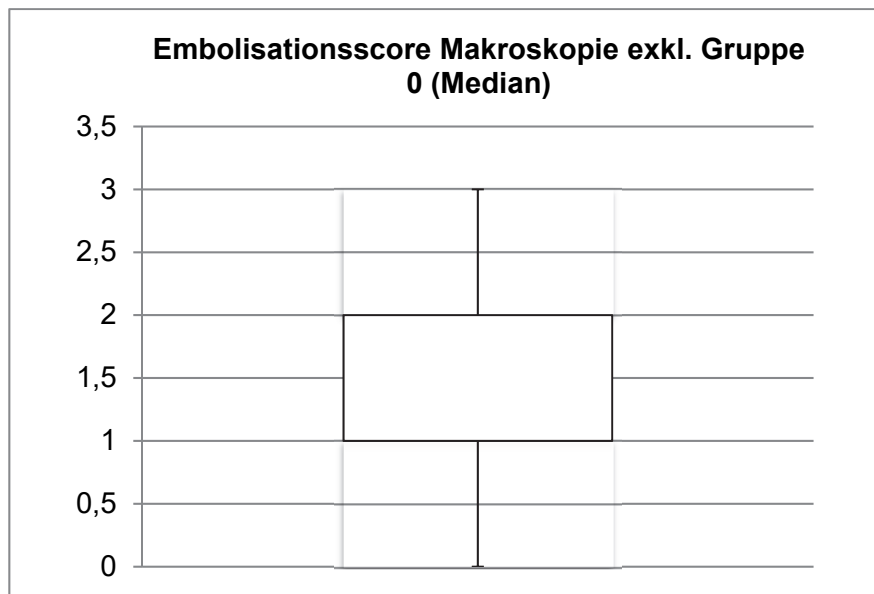


Abbildung 28: Embolisationscores in der Makroskopie exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung des medianen Embolisationscore (Boxplot mit Interquartilabständen) in der Makroskopie exkl. Gruppe 0. Der Median beträgt 1, das 1. Quartil 1 und das 2. Quartil 2. Der Minimum-Wert beträgt 0 und der Maximum-Wert 3.

Tabelle 15: Übersichtstabelle Embolisierungseffekt

Nr.	Studien-Nr.	Identifikation	Gruppe	Embolisationsscore Angiographie	Embolisationsscore MRT	Embolisationsscore Makroskopie
1	G0112/14-1	C29432	0	3	n/a	0 (Akut)
2	G0112/14-2	C29495	3	2	n/a	2
3	G0112/14-3	C29459	1	2	n/a	2
4	G0112/14-6	D02664	4	3	3	3
5	G0112/14-7	D02763	4	1	0	0
6	G0112/14-8	C44849	0	2	n/a	0 (Akut)
7	G0112/14-9	C44915	4	1	n/a	1
8	G0112/14-10	LYMM	4	2	2	1
9	G0112/14-11	D20518	ex	ex	ex	ex
10	G0112/14-12	D26401	5	1	1	1
11	G0112/14-13	D20513	4	2	1	2
12	G0112/14-14	D26640	5	3	n/a	3
13	G0112/14-15	D26437	1	1	n/a	1
14	G0112/14-21	D38120	3	2	1	1
15	G0112/14-22	D38125	2	1	1	1
16	G0112/14-24	D45130	0	3	3	0 (Akut)
Mittelwert inkl. Gruppe 0				1,93	1,5	1,2
Standardabweichung				0,80	1,07	1,01
Median inkl. Gruppe 0				2	1	1
1. Quartil				1	1	0,5
3. Quartil				2,5	2,25	2
Mittelwert exkl. Gruppe 0				1,75	1,29	1,5
Standardabweichung				0,75	0,95	0,90
Median exkl. Gruppe 0				2	1	1
1. Quartil				1	1	2
3. Quartil				2	1,5	2

n/a: nicht vorhanden; ex.: verstorben; inkl: inklusive; exkl.:exklusive

Eine Übersicht der ermittelten Embolisierungsscores aus Angiographie, MRT und Makroskopie inkl. und exkl. der Akuttiere im Vergleich sind der Tabelle 15, Seite 73 zu entnehmen. Die durchschnittlichen Embolisierungsscores und Standardabweichung exkl. der Tiere der Gruppe 0, sowie deren Median ist für alle drei Modalitäten in den Abbildung 29, Seite 74 verdeutlicht.

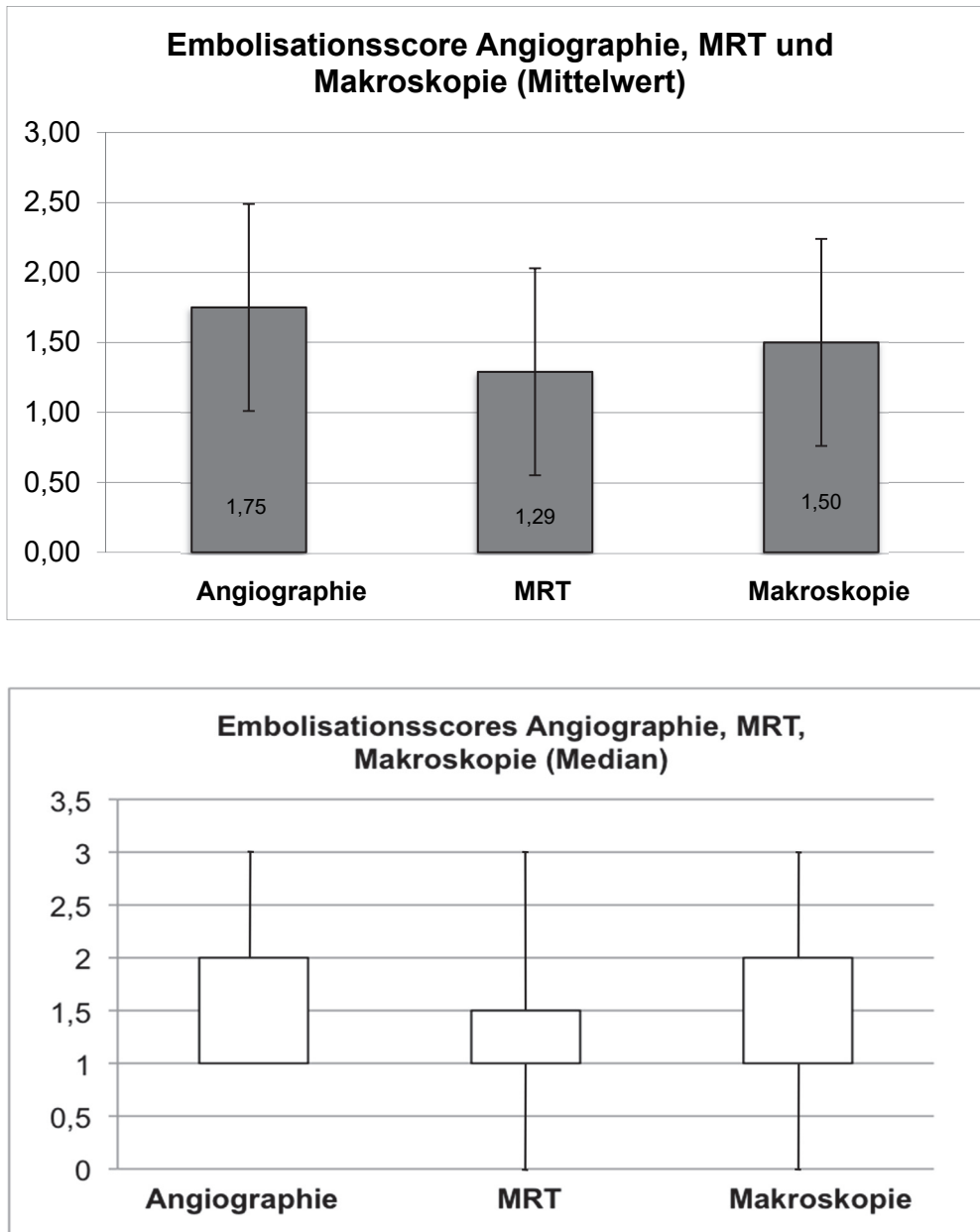


Abbildung 29: Übersicht der Embolisationsscores exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung der durchschnittlichen Embolisationsscores und Standardabweichung (Säulendiagramm oben) und der Embolisationsscores als Median (Boxplot unten) Angiographie, MRT und Makroskopie exkl. der Gruppe 0. Es besteht eine sichtbare Korrelation der Werte in allen drei Modalitäten mit einem Kappa-Koeffizienten von 0,621. (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

In der statistischen Auswertung ergaben diese Ergebnisse einen Kappa-Koeffizient von 0,621 mit einem Signifikanzniveau von 0,001 und bestätigen einen substantiellen Übereinstimmungsgrad der Modalitäten und belegen damit einen signifikanten Embolisationseffekt (Landis and Koch 1977).

Tabelle 16: Übersichtstabelle makroskopische Auswertung

Nr.	Studien-Nr.	Identifikation	Gruppe	Infarktlokalisierung	Infarktkonsistenz	Oberflächenbeschaffenheit	Farbe	Kapillarisierung
1	G0112/14-1	C29432	0	kein Infarkt	weich-elastisch	glatt	rotbraun, hell-dunkle Maserung	nein
2	G0112/14-2	C29495	3	kranio-dorsal kranio-ventral	derb-elastisch	glatt, eingezogen	weiß-beige	ja
3	G0112/14-3	C29459	1	kaudo-dorsal kaudo ventral	derb-elastisch	glatt	weiß-beige	ja
4	G0112/14-6	D02664	4	kranio-dorsal kaudo-dorsal kranio-ventral kaudo-ventral	derb-kalkig	höckrig, eingezogen	weiß-beige	ja
5	G0112/14-7	D02763	4	Mikroinfarkte	derb-elastisch	glatt, eingezogen	dunkelbraun	ja
6	G0112/14-8	C44849	0	kein Infarkt	weich-elastisch	glatt	rotbraun, hell-dunkle Maserung	ja
7	G0112/14-9	C44915	4	Mikroinfarkte	derb-elastisch	glatt, eingezogen	dunkelbraun	ja
8	G0112/14-10	LYMM	4	kaudo-ventral	derb-kalkig	höckrig, eingezogen	weiß-beige	minimal
9	G0112/14-11	D20518	2	ex	ex	ex	ex	ex
10	G0112/14-12	D26401	5	kaudo-dorsal kaudo-ventral	derb-kalkig	höckrig, eingezogen	weiß-beige	ja
11	G0112/14-13	D20513	4	kaudo-dorsal	derb-kalkig	höckrig, eingezogen	weiß-beige	ja
12	G0112/14-14	D26640	5	kranio-dorsal kaudo-dorsal kranio-ventral kaudo-ventral	derb-kalkig	höckrig, eingezogen	weiß-beige	ja
13	G0112/14-15	D26437	1	kaudo-dorsal kaudo-ventral	derb-elastisch	glatt	weiß-beige	ja
14	G0112/14-21	D38120	3	kaudo-ventral kaudo-dorsal	derb-elastisch	glatt, eingezogen	weiß-beige	ja
15	G0112/14-22	D38125	2	kaudo-dorsal	derb-elastisch	glatt, eingezogen	weiß-beige	ja
16	G0112/14-24	D45130	0	kein Infarkt	weich-elastisch	glatt	rotbraun, hell-dunkle Maserung	nein

5.2.3 Mikroskopischer Embolisierungseffekt

Der mikroskopische Embolisierungseffekt stellte sich zu den unterschiedlichen Kontrollzeitpunkten verschiedenartig dar.

In den histologischen Schnitten der Tiere, welche untermittelbar post Embolisierung (Gruppe 0 = Akutgruppe) euthanasiert wurden, waren keine abweichenden Nierenstrukturen oder Infarktzeichen zu erkennen. Das Nierenparenchym, d.h. die Nephrone (Glomeruli, Tubuli) und die Blutgefäße erschienen intakt und mit physiologischer Architektur. Es zeigten sich erste Anzeichen einer Stauungshyperämie, welche durch das vereinzelt Auftreten gestauter Arteriolen und vergrößerter peritubulärer Kapillaren charakterisiert war (siehe Abb. 30).

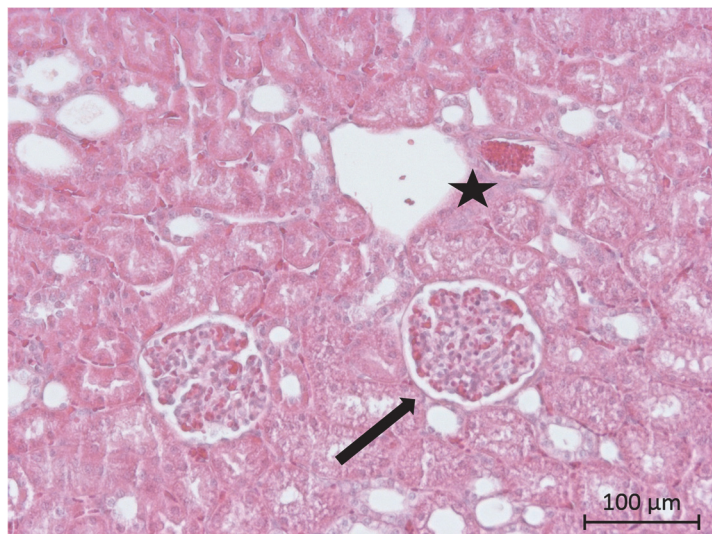


Abbildung 30: Mikroskopische Darstellung des Nierenparenchyms Gruppe 0

Mikroskopische Darstellung von physiologischem Nierenparenchym unmittelbar post Embolisierung. Die Glomeruli und Tubuli erscheinen intakt (Pfeil). Es zeigen sich eine Vergrößerung der peritubulären Kapillaren und eine Stauungshyperämie der Arteriolen (♣) (5x Vergrößerung, HE-Färbung).

Zu den Kontrollzeitpunkten 1, 4, 8, 12 und 16 Wochen post Embolisierung waren ischämieinduzierte Niereninfarkte in unterschiedlichen Stadien der Organisation zu erkennen. Histologisch stellten sich diese zu Beginn als fokale bis diffuse, meist kortikale Koagulationsnekrosen mit schattenhaft erkennbarem, zugrunde gegangenem Nierenparenchym dar. Die Nekroseherde waren durch das Auftreten nekrotischer Nephrone sowie heruntergegangenem Interstitium gekennzeichnet. Die nekrotischen Glomeruli und Tubuli zeigten einen Verlust an Zelldetail, sowie an Kernfärbbarkeit mit erhaltener Zellarchitektur (siehe Abb. 32 A-B, Seite 78). In der HE-Färbung waren die Nephrone als Strukturen mit kernlosen, geschrumpften Zellen mit homogenem, azidophilem Zytoplasma zu erkennen. Die Zellen des proximalen gewundenen Tubulus stellten sich als gequollen mit blassem Zytoplasma und vollständigem Kernverlust und Abwurf ihres Bürstensaumes dar. Durch Permeabilitätssteigerung der Kapillaren war das Infarktareal bereits nach einer Woche von einer hyperämischen und hämorrhagischen Randzone mit erweiterten, angestauten

Kapillaren und ausgetretenen Erythrozyten umrandet (siehe Abb. 31). Dieser Saum setzte sich bis unter die Kapsel fort, wo noch ein schmaler Streifen erhaltenes Parenchym zu erkennen war. Die Nekroseherde waren außerdem durch eine leukozytäre Infiltration, der sogenannten Reaktionszone aus überwiegend neutrophilen Granulozyten und vereinzelt Lymphozyten und Makrophagen vom gesunden Gewebe abgrenzbar. Diese entzündliche Demarkation von devitalisiertem Gewebe war bis 4 Wochen post Embolisation deutlich zu erkennen und wurde anschließend durch eine vermehrte Einwanderung von Monozyten und ihrer Entwicklung zu Makrophagen, sowie einsprossende Kapillaren abgelöst. Dies führte zu einer gesteigerten Resorptionsleistung und der Auflösung des nekrotischen Gewebes im Zeitraum zwischen 1 und 4 Wochen post Embolisation. Durch aktivierte (Myo-) Fibroblasten folgte die Synthese extrazellulärer Matrix und der Ersatz des nekrotischen Gewebes durch fibröses Bindegewebe, welches sich in der Jones-Silber-Färbung und PAS-Färbung bestätigen lässt (siehe Abb. 33 A-B, Seite 78). Nach 12 Wochen waren zwischen den kollagenen Fasern des Granulationsgewebes noch vereinzelt Parenchymstrukturen zu erkennen. Die narbige Fibrose führte zum Kollabieren des Infarkts infolgedessen sich dieser an der Organoberfläche einzog. Die fortschreitende interstitielle Fibrose wurde durch eine resorptive Entzündung aus Lymphozyten und Plasmazellen begleitet.

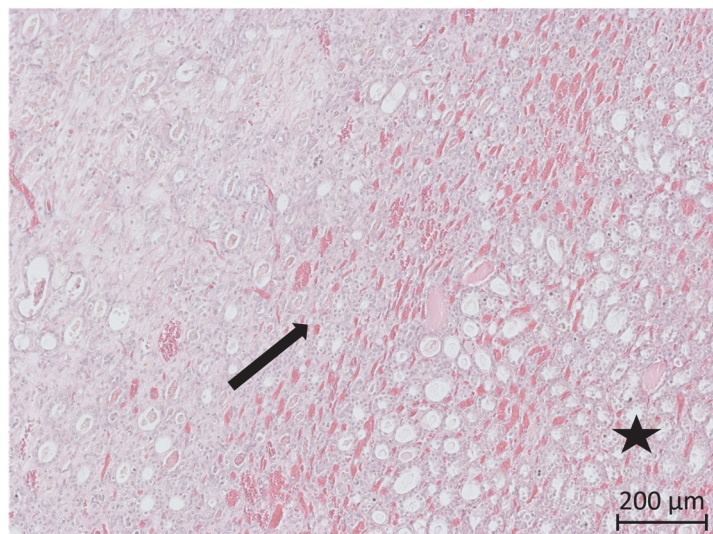


Abbildung 31: Mikroskopische Darstellung des hämorrhagischer Randsaums

Mikroskopische Darstellung des hämorrhagischer Randsaums 1 Woche nach Embolisation. Die Abgrenzung des infarzierten Areals von physiologischem Nierenparenchym (D) erfolgt durch einen hämorrhagischen Randsaum, gekennzeichnet durch vergrößerte Kapillaren und Austritt von Erythrozyten (Pfeil) (5x Vergrößerung, HE-Färbung).

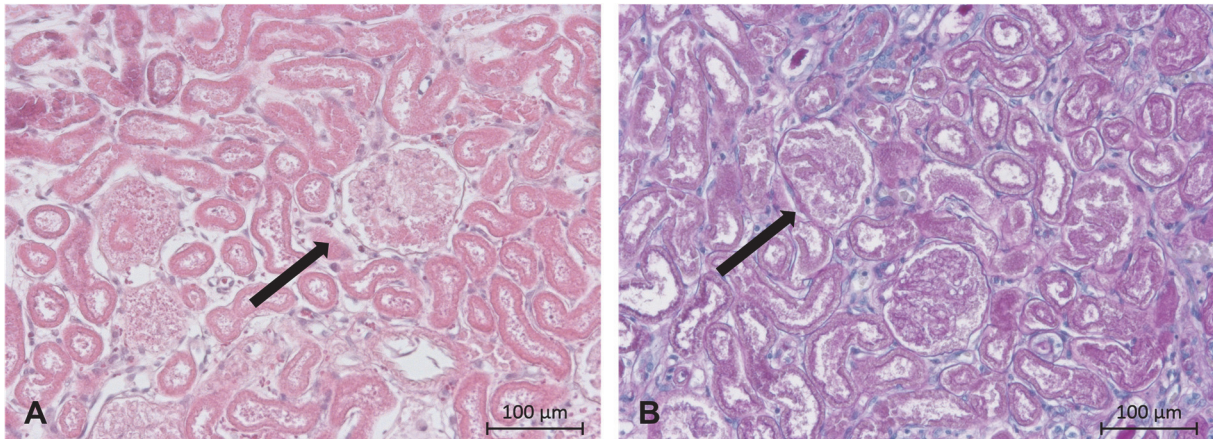


Abbildung 32: Mikroskopische Darstellung des Embolisierungseffektes Gruppe 1

Mikroskopische Darstellung des Embolisierungseffektes 1 Woche nach Embolisierung mit nekrotischen Nephronen, gekennzeichnet durch Zelldetail- und Kernfärbungsverlust (Pfeil). A) HE-Färbung, B) PAS-Färbung (5x Vergrößerung, HE- und PAS-Färbung).

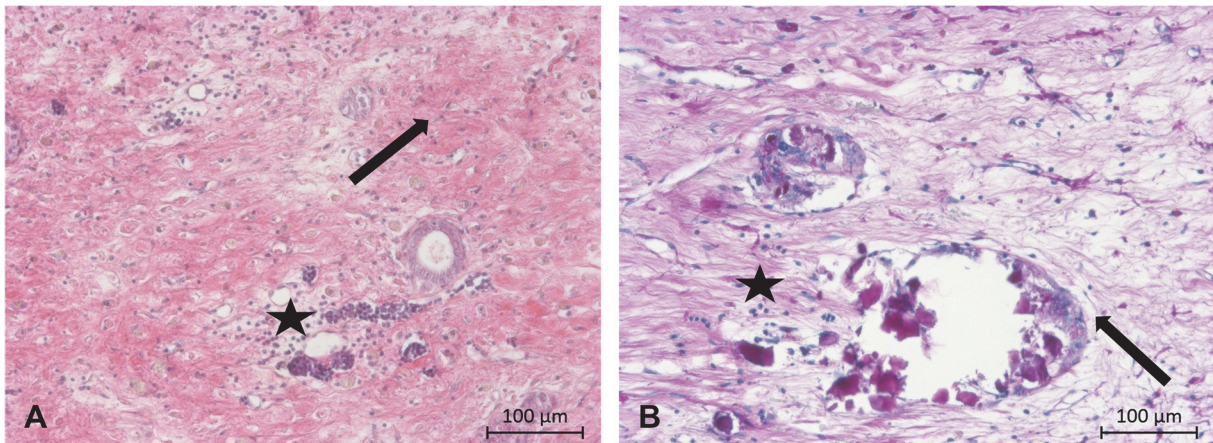


Abbildung 33: Mikroskopische Darstellung des Embolisierungseffektes Gruppe 5

Mikroskopische Darstellung des Embolisierungseffektes 16 Wochen nach Embolisierung mit zunehmender Gewebefibrose, Verlust der Parenchymstruktur (Pfeil) und begleitender resorptiver Entzündung aus Makrophagen und Lymphozyten (). A) HE-Färbung, B) PAS-Färbung (5x Vergrößerung, HE- und PAS-Färbung).*

Weiterhin konnte mit Hilfe der lichtmikroskopischen Analyse zu späteren Zeitpunkten in allen Exemplaren eine interstitielle Mineralisierung nachgewiesen werden. Diese dystrophischen Verkalkungsreaktionen begannen mit 1 Woche und war 4 bis 8 Wochen post Embolisierung vollständig ausgebildet. Die mineralisierten Bereiche äußerten sich durch das Auftreten blau-lilauer basophiler Schollen mit einhergehendem Strukturverlust in der HE- und PAS-Färbung. Eine Verifizierung erfolgte mittels von-Kossa-Färbung (siehe Abb. 34 A-B, 35 A-B, Seite 79).

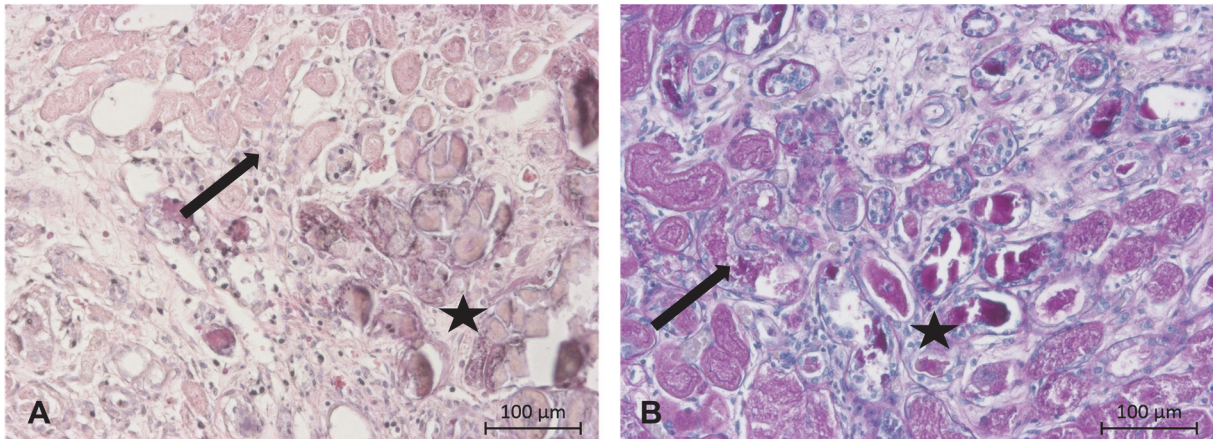


Abbildung 34: Mikroskopische Darstellung der Parenchymmineralisierung Gruppe 1

Mikroskopische Darstellung der beginnenden interstitiellen Mineralisierung 1 Woche nach Embolisation. A) Nekrotische Nephrone (Pfeil) und beginnende interstitielle Mineralisierung (D) im Nekroseareal gekennzeichnet durch lila-rote Schollen mit einhergehendem Strukturverlust in der HE-Färbung, B) Nekrotische Nephrone (Pfeil) und beginnende interstitielle Mineralisierung (D) im Nekroseareal gekennzeichnet durch blau-lilane, basophile Schollen mit einhergehendem Strukturverlust in der PAS-Färbung (5x Vergrößerung, HE- und PAS-Färbung).

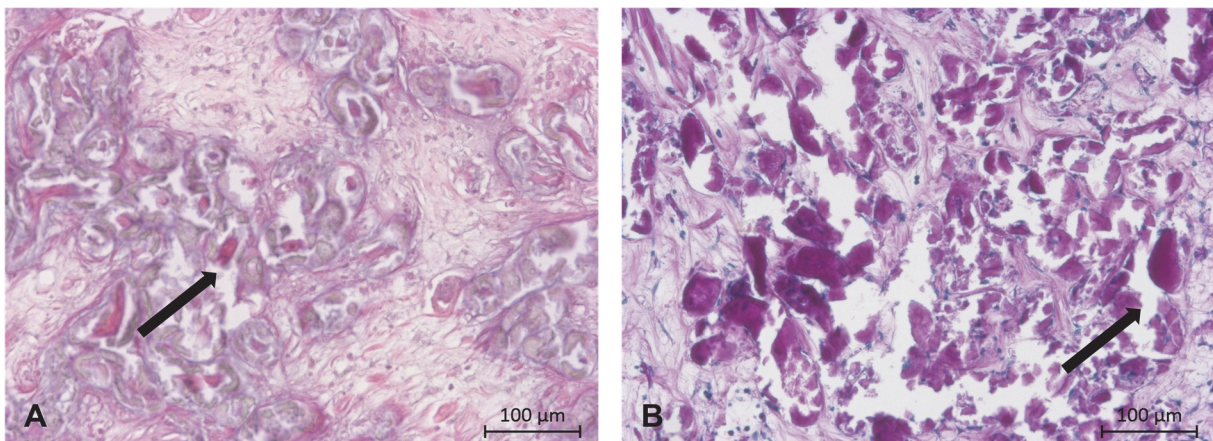


Abbildung 35: Mikroskopische Darstellung der Parenchymmineralisierung Gruppe 5

Mikroskopische Darstellung der vollständigen interstitiellen Mineralisierung 16 Woche nach Embolisation. A) Vollständige interstitielle Mineralisierung im Nekroseareal gekennzeichnet durch lila-rote Schollen mit einhergehendem Strukturverlust in der HE-Färbung (Pfeil), B) Vollständige interstitielle Mineralisierung im Nekroseareal gekennzeichnet durch blau-lilane, basophile Schollen mit einhergehendem Strukturverlust in der PAS-Färbung (Pfeil) (5x Vergrößerung, HE- und PAS-Färbung).

Die histologisch sichtbaren Infarktareale korrelierten mit den makroskopisch identifizierten Infarktlokalisationen (siehe Abb. 36, Seite 80) und waren auch mikroskopisch in 8/12 (66,6%) Fällen als fokaler Infarkt, in 2/12 (16,7%) Fällen diffus über die gesamte Niere und in 2/12 (16,7%) Fällen als Mikroinfarkte zu erkennen (siehe Abb. 37, Seite 81). Abseits des embolisierten Gewebes, als auch in der kontralateralen Niere stellte sich das Parenchym zu

allen Zeitpunkten als physiologisch dar. Es waren keine Unterschiede hinsichtlich der Partikelgrößen festzustellen.

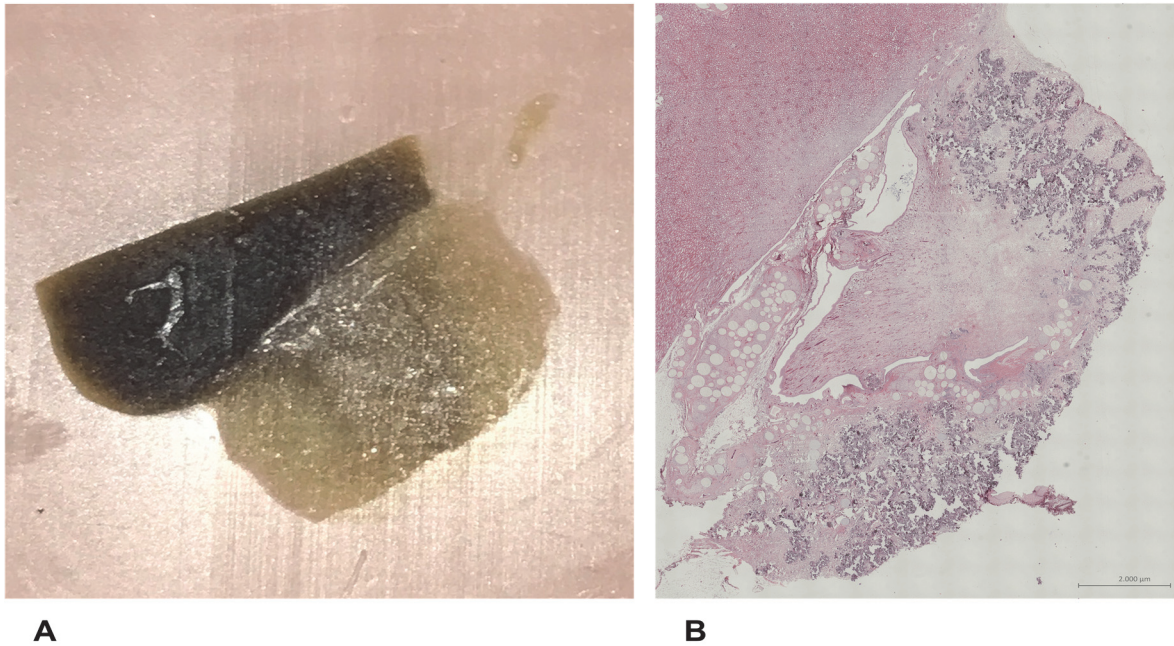


Abbildung 36: Makro- und mikroskopische Darstellung eines Niereninfarktes

Makroskopische und mikroskopische Darstellung eines segmentalen Niereninfarktes 12 Wochen nach Embolisation. A) Makroskopisch sichtbarer Niereninfarkt einer in Paraffin eingebetteten Probe im Anschnitt, B) Mikroskopisch sichtbarer Niereninfarkt in HE-Färbung. Es besteht ein sichtbare Korrelation zwischen den makroskopischen und mikroskopischen Befunden (gekachelte Aufnahme, HE-Färbung).

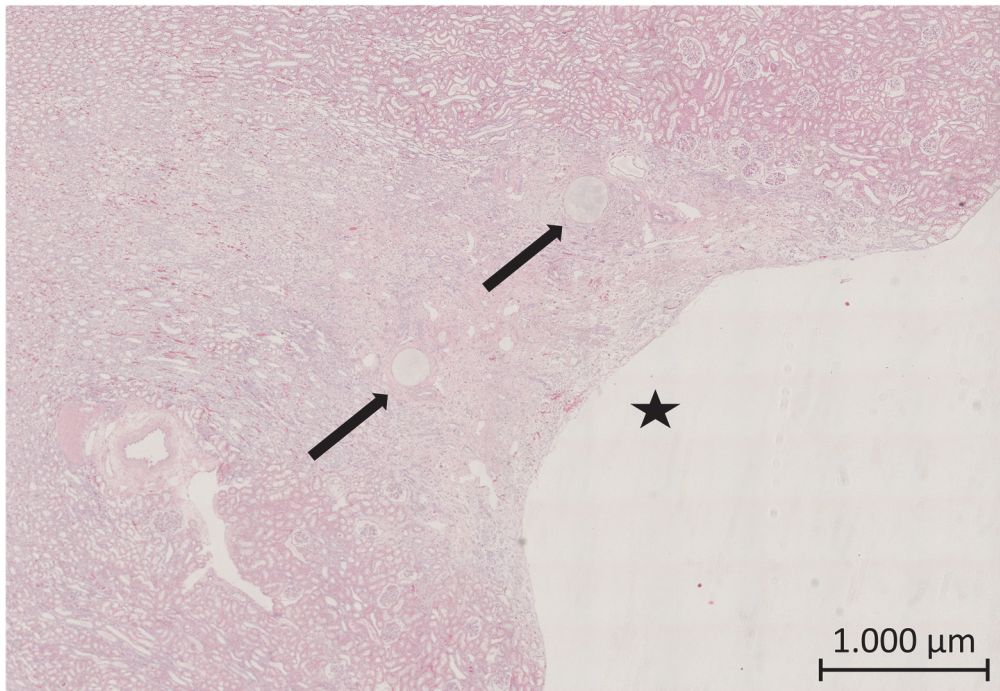


Abbildung 37: Mikroskopische Darstellung eines Mikroinfarktes

Mikroskopische Darstellung eines Mikroinfarktes 12 Wochen nach Embolisation. Das Infarktareal betrifft lediglich die Nierenrinde (D). Embolisationspartikel in weit fortgeschrittenem Degradationszustand (Pfeil) (gekachelte Aufnahme, HE-Färbung).

Mikroskopisch liess sich der Embolisierungseffekt neben den hervorgerufenen Niereninfarkten außerdem durch das Auftreten von Polydioxanon-Mikrosphären im Gefäßsystem nachweisen (siehe Abb. 38-39, Seite 82). Die Mikrosphären lagen im distalen Gefäßbett einzeln, das Gefäßlumen vollständig ausfüllend, vor. Im proximalen Gefäßsystem waren die Embolisierungspartikel in Ansammlungen vorzufinden. In den Partikelzwischenräumen zeigten sich in den Akuttieren vereinzelt Thrombozyten und Erythrozyten. 1 Woche post Embolisation befanden sich die einzelnen Thrombozyten und Erythrozyten in den Partikelzwischenräumen mit Fibrinfäden in homogener Aggregation. Darüber hinaus waren zu diesem Zeitpunkt vereinzelt (Myo-) Fibroblasten und Entzündungszellen in den Gefäßlumina zu erkennen. Ab 4 Wochen post Embolisation zeigte sich neben den Thrombozytenaggregaten eine bindegewebige Matrix zwischen den morphologisch veränderten, intraluminal liegenden Mikrosphären, welche im Laufe der Untersuchungszeiträume das Gefäßlumen zunehmend füllte. Ab 8 Wochen post Embolisation waren einzelne PDO-Mikrosphären auch außerhalb der Gefäße zu erkennen und wurden mit 12 und 16 Wochen regelmäßig als Fragmente außerhalb der fibrosierten Gefäßlumina detektiert. Histologisch konnte kein Hinweis auf einen Blutaustritt festgestellt werden. Es waren keine Unterschiede hinsichtlich der Partikelgrößen festzustellen.



Abbildung 38: Mikroskopische Darstellung einer embolisierten Arterie Gruppe 2

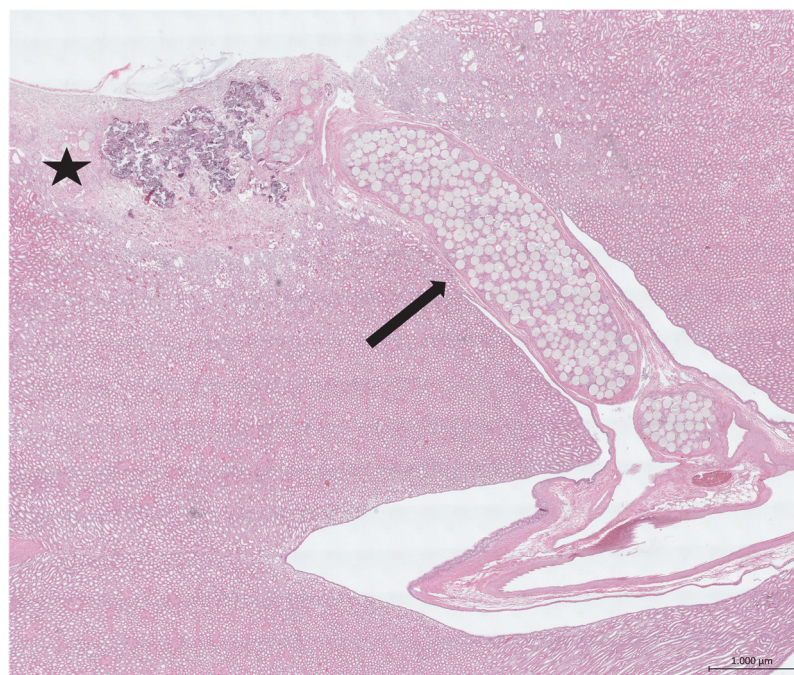


Abbildung 39: Mikroskopische Darstellung einer embolisierten Arterie Gruppe 4

Mikroskopische Darstellung einer mit PDO-Mikrosphären embolisierten Segmentarterie im Querschnitt 4 Wochen nach Embolisation (oben) und im Längsschnitt 12 Wochen nach Embolisation (unten). Mikroskopisch sichtbar sind die PDO-Mikrosphären im Gefäß (Pfeil), sowie Anzeichen einer neointimalen Hyperplasie und Leukozyteneinstrom in das Gefäß mit der Formation von Fremdkörperriesenzellen an den Partikeln. Mikroskopisch sichtbar ist außerdem das korrespondierende Infarktareal mit interstitieller Mineralisierung (unten) (L) (gekachelte Aufnahme, HE-Färbung). (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

5.3 Resorbierbarkeit der Mikrosphären

5.3.1 Bildgebender Reperfusionseffekt

In allen Versuchstieren war in der Angiographie prä Embolisation eine physiologische Gefäßanatomie mit homogener Parenchymopazifizierung zu erkennen (siehe Abb. 42, Seite 84). Post Embolisation zeigten sich eine Okklusion der ausgewählten Arterie, sowie korrelierende Perfusionsausfälle. Angiographische Kontrollen 10 – 15 Minuten post Embolisation bestätigten die Persistenz des Gefäßverschlusses.

Der durchschnittliche Okklusionsscore aller 15 Tiere am Tag der Erstuntersuchung beträgt 2,20 (\pm 0,68), Median 2 (2 – 3) (Median mit Interquartilbereich) und nach Abzug der 3 Akuttiere 2,33 (\pm 0,65), Median 2 (2 – 3) (Median mit Interquartilbereich). Der durchschnittliche Okklusionsscore aller 12 Kaninchen am Tag der Kontrolluntersuchungen beträgt 1,08 (\pm 0,90), Median 1 (0,75 – 1,25) (Median mit Interquartilbereich) (siehe Abb. 40-41, Seite 83-84). Statistisch entsprach dies einem p-Wert von 0,002 im Wilcoxon-signed-rank-Test.

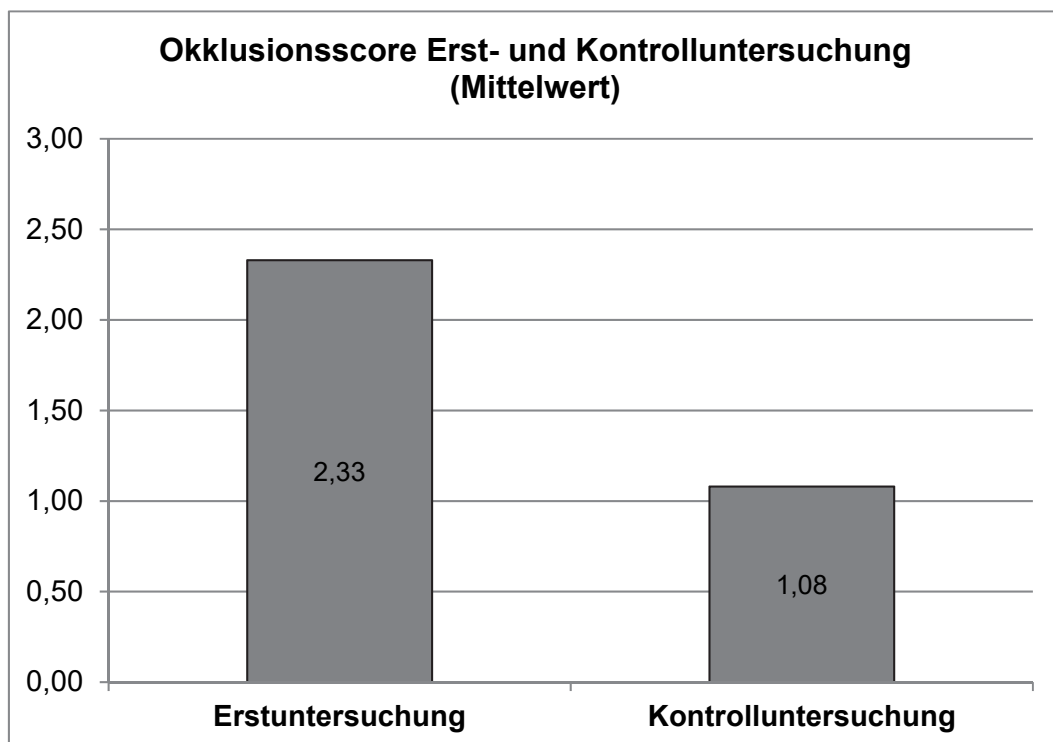


Abbildung 40: Übersicht der Okklusionsscores exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung der durchschnittlichen Okklusionsscores in Erst- und Kontrolluntersuchung exkl. der Gruppe 0. Der mittlere Okklusionsscore fiel von 2,33 am Tag der Erstuntersuchung auf 1,08 am Tag der Kontrolluntersuchung mit einer statistischen Signifikanz von 0,002 im Wilcoxon-signed-rank-Test.

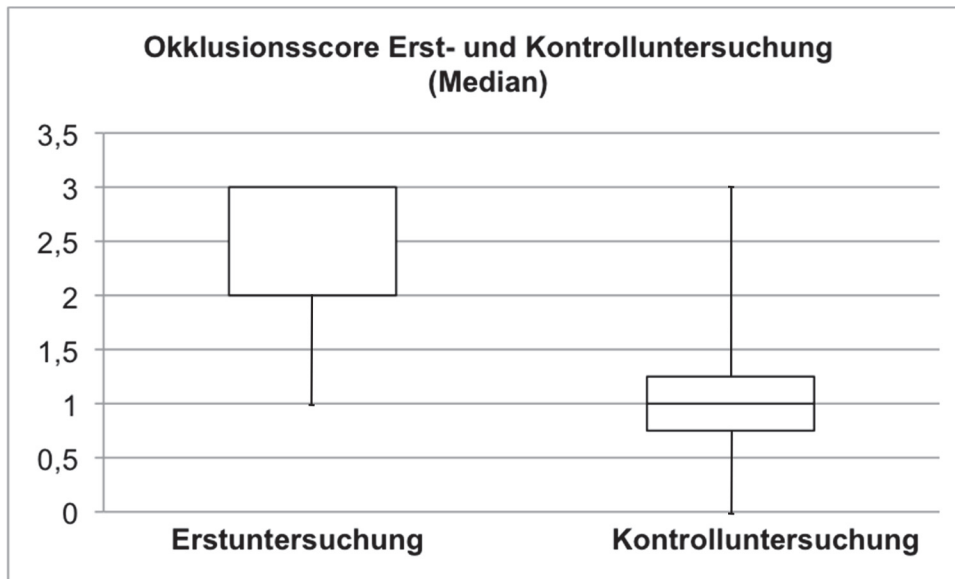


Abbildung 41: Übersicht der Okklusionsscores exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung der Okklusionsscores im Median in Erst- und Kontrolluntersuchung exkl. der Gruppe 0. Der statistische Vergleich ergab eine Signifikanz von 0,002 im Wilcoxon-signed-rank-Test.



Abbildung 42: Angiographische Darstellung des Reperfusionseffektes

Angiographische Darstellung der Nierenperfusion im zeitlichen Verlauf. A) Angiographische Darstellung der embolisierten Nierensegmentarterie (Pfeil) am Tag der Embolisation. B) Angiographische Darstellung der reperfundierten Nierensegmentarterie (Pfeil) am Tag der Kontrollangiographie nach 12 Wochen. Der Pfeil markiert das reperfundierte Gefäß. (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

Die qualitative Betrachtung des Reperfusionseffektes zeigte in einem Tier (8,3%) keine Anzeichen von Reperfusion, in acht Tieren (66,7%) eine partielle Reperfusion und in drei Tieren (25%) eine vollständige Reperfusion (siehe Abb. 43, Seite 85) (siehe Tab. 17, Seite 87).

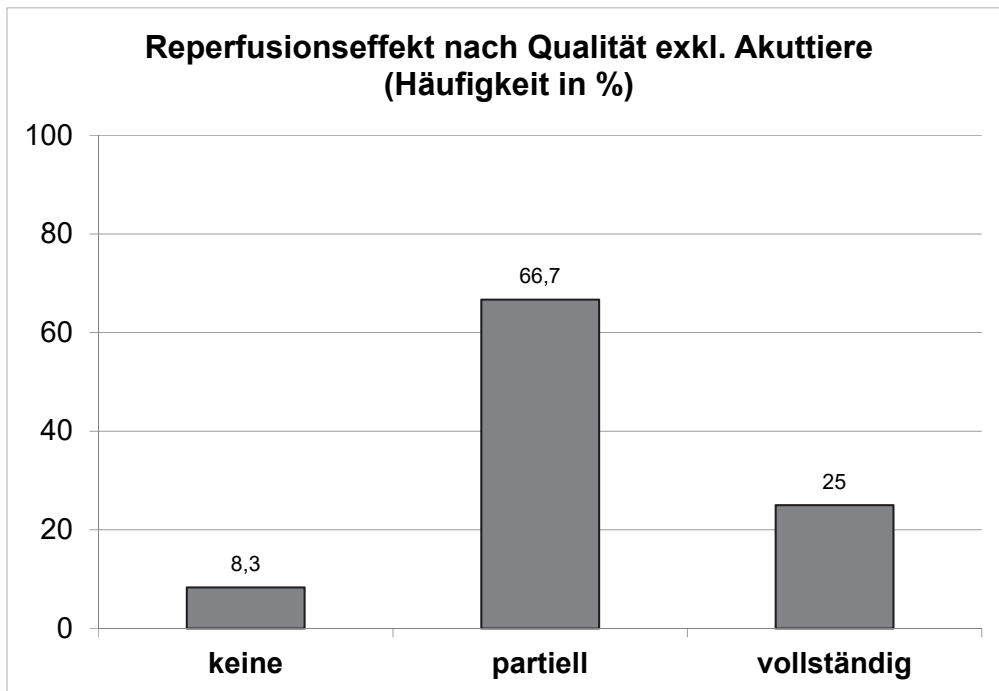


Abbildung 43: Reperfusionseffekt nach Qualität der Reperfusion exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung des Reperfusionseffektes nach Qualität der Reperfusion exkl. Gruppe 0. Keine Reperfusion konnte in 8,3%, eine partielle Reperfusion in 66,7% und eine vollständige Reperfusion in 25% ermittelt werden.

Eine Differenzierung nach Standzeiten ergab nach 1 Woche in 1/2 (50%) der Tiere keine und in 1/2 (50%) eine partielle Reperfusion. Nach 4 Wochen war die Perfusion in 1/1 (100%) Fällen partiell wiederhergestellt. Nach 8 Wochen zeigte sich in 1/2 (50%) der Tiere eine partielle und in den übrigen 1/2 (50%) eine vollständige Reperfusion. Nach 12 Wochen zeigte sich in 3/5 (60%) der Fälle eine partielle Reperfusion und in 2/5 (40%) eine vollständige Reperfusion. Nach 16 Wochen zeigte sich in 2/2 (100%) eine partielle Reperfusion (siehe Abb. 44, Seite 86).

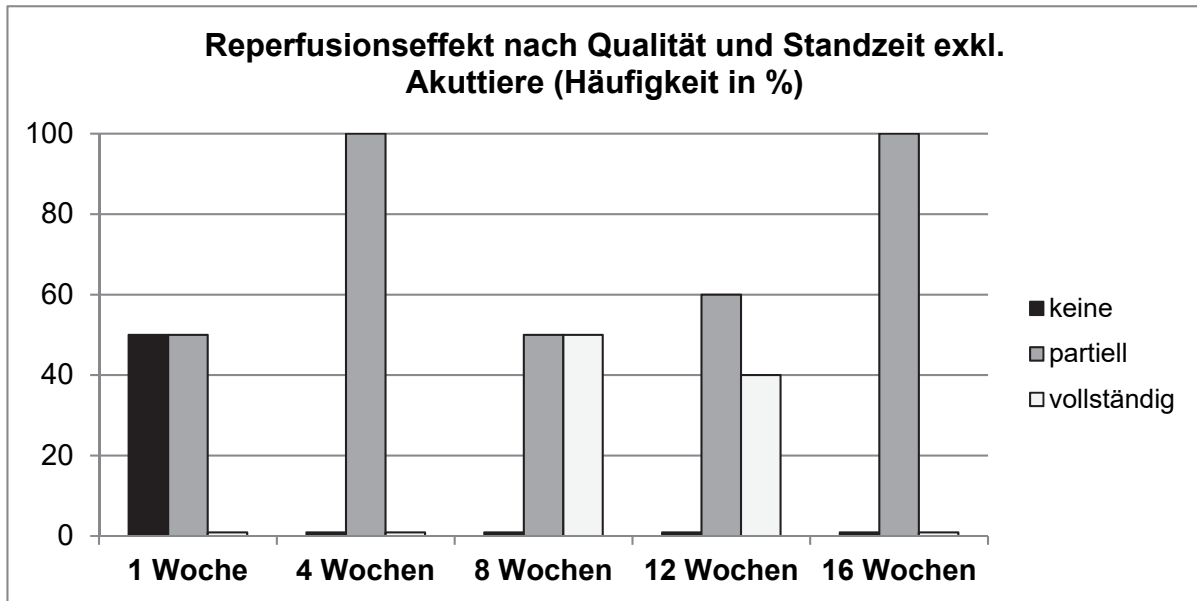


Abbildung 44: Reperfusionseffekt nach Qualität und Standzeit exkl. Gruppe 0

Graphische Darstellung des Reperfusionseffektes nach Qualität der Reperfusion und Standzeit exkl. Gruppe 0. 1 Woche nach Embolisation konnte in 50% keine und in 50% eine partielle Reperfusion ermittelt werden. 4 Wochen nach Embolisation konnte in 100% eine partielle Reperfusion ermittelt werden. 8 Wochen nach Embolisation zeigte sich in 50% eine partielle und in 50% eine vollständige Reperfusion. 12 Wochen nach Embolisation war die Reperfusion in 60% partiell und in 40% vollständig. 16 Wochen nach Embolisation war die Reperfusion in 100% partiell. (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

Der mittlere Okklusionsscore für Partikel der Größe 100-150 µm inkl. Akuttiere am Tag der Embolisation beträgt 2,17 ($\pm 0,41$), Median 2 (2 – 2) (Median mit Interquartilbereich), exkl. Akuttiere 2,2 ($\pm 0,45$), Median 2 (2 – 2) (Median mit Interquartilbereich). Der durchschnittliche Okklusionsscore aller fünf Kaninchen, welche Partikel der Größe 100-150 µm erhielt, beträgt am Tag der Kontrolluntersuchungen beträgt 0,80 ($\pm 0,45$), Median 1 (1 – 1) (Median mit Interquartilbereich). Für die Partikel der Größe 90-315 µm betragen die Scores 2,22 ($\pm 0,83$), Median 2 (2 – 3) (Median mit Interquartilbereich), 2,43 ($\pm 0,79$), Median 2 (3 – 3) (Median mit Interquartilbereich) und 1,3 ($\pm 1,11$), Median 0,5 (1 – 2) (Median mit Interquartilbereich) respektive.

Tabelle 17: Übersichtstabelle Reperfusionseffekt

Nr.	Studien-Nr.	Identifikation	Gruppe	Okklusionsscore Tag 1	Okklusionsscore Kontrolluntersuchung	Reperfusion qualität
1	G0112/14-1	C29432	0	2	n/a	n/a (Akut)
2	G0112/14-2	C29495	3	1	0	vollständig
3	G0112/14-3	C29459	1	2	1	partiell
4	G0112/14-6	D02664	4	2	1	partiell
5	G0112/14-7	D02763	4	3	0	vollständig
6	G0112/14-8	C44849	0	1	n/a	n/a (Akut)
7	G0112/14-9	C44915	4	3	0	vollständig
8	G0112/14-10	LYMM	4	2	1	partiell
9	G0112/14-11	D20518	ex	ex	ex	ex
10	G0112/14-12	D26401	5	3	2	partiell
11	G0112/14-13	D20513	4	3	2	partiell
12	G0112/14-14	D26640	5	2	1	partiell
13	G0112/14-15	D26437	1	3	3	keine
14	G0112/14-21	D38120	3	2	1	partiell
15	G0112/14-22	D38125	2	2	1	partiell
16	G0112/14-24	D45130	0	2	n/a	n/a (Akut)
Mittelwert inkl. Gruppe 0				2,2	1,08	
Standardabweichung				0,68	0,90	
Median inkl. Gruppe 0				2	1	
1. Quartil inkl. Gruppe 0				2	0,75	
3. Quartil inkl. Gruppe 0				3	1,25	
Mittelwert exkl. Gruppe 0				2,33	1,08	
Standardabweichung				0,65	0,90	
Median exkl. Gruppe 0				2	1	
1. Quartil exkl. Gruppe 0				2	0,75	
3. Quartil exkl. Gruppe 0				3	1,25	

n/a: nicht vorhanden; ex.: verstorben; inkl: inklusive; exkl.:exklusive

5.3.2 Mikroskopische Partikeldegradation

Die PDO-Mikrosphären zeigten sich *in vitro* in ihrer Originalstruktur als hellbraun, kugelförmig und regelmäßig in ihrer Form. Die Oberfläche war glatt und die Kontur scharf abgrenzbar. Darüber hinaus war die Binnenstruktur homogen ohne Defekte wie Risse, Brüche oder Löcher. Die Mikrosphären zeigten zudem histologisch eine moderate Anfärbbarkeit, welche sich im Laufe der Degradation von initial braun zu später blassrosa veränderte. Die morphologische Begutachtung der Partikel in den histologischen Schnitten zeigte in einem zeitlichen Trend verlaufende Veränderungen in den in 4.6.3.2. aufgelisteten Eigenschaften (siehe Abb. 45, Seite 90).

Die Partikel aus dem Akutversuch entsprachen bis auf einzelne Mikrosphären der Originalstruktur. Sie waren in der HE-Färbung eindeutig zu erkennen und färbten sich beige an. Ihre Form war sphärisch/rund, mit einer glatten Kontur und einer homogenen Binnenstruktur. Sie wiesen keine zelluläre Infiltration auf und zeigten glattrandige, parallel verlaufende Zerreißen (siehe Abb. 45 A, Seite 90). In einigen Gefäßen waren die Umrisse der Partikel zu erkennen, aber die Partikel selbst waren durch histologische Bearbeitung herausgerissen.

Die ersten morphologischen Veränderungen an den blanden Partikeln waren bereits nach einer Woche zu erkennen, waren aber nur vereinzelt zu sehen. Sie äußerten sich in einer rauen Kontur mit marginaler zellulärer Beteiligung. Die übrigen Merkmale wie Farbe, Form und Binnenstruktur entsprachen der Originalstruktur. Es waren außerdem glattrandige, parallel verlaufende Risse zu erkennen (siehe Abb. 45 B, Seite 90).

Nach 4 Wochen waren die blanden Partikel weiterhin sphärisch, aber wiesen alle eine raue Kontur mit marginaler Zellbeteiligung auf. Teilweise war der Beginn einer inhomogenen und vakuolisierten Binnenstruktur erkennbar. Auch einzelne Partikeldefekte wie Brüche oder Löcher war neben den parallel verlaufenden Rissen in den beige-grau gefärbten Partikeln zu beobachten (siehe Abb. 45 C, Seite 90).

Nach 8 Wochen erschienen die beige-grauen blanden Mikrosphären histologisch als sphärische Partikel mit rauer Oberfläche, zellulärer Beteiligung und inhomogener Binnenstruktur. Es waren jedoch vermehrt Brüche und Löcher neben den parallel verlaufenden Zerreißen zu erkennen (siehe Abb. 45 D, Seite 90).

Nach 12 Wochen erschienen die blanden PDO-Partikel als beige-grau, sphärisch, rau und vakuolisiert. Brüche und Löcher waren, neben den nun nur noch seltener auftretenden parallel verlaufenden Zerreißen, immer häufiger zusehen ebenso wie eine zelluläre Beteiligung, die teils invasiv den Großteil des Partikels betraf und vereinzelt nur noch Fragmente erkennen lies (siehe Abb. 45 E, Seite 90).

Nach 16 Wochen waren größtenteils Fragmente blander Mikrosphären zu erkennen. Die Fragmente waren aufgrund ihrer Größe und Anfärbbarkeit schwierig von dem umliegenden

Gewebe abzugrenzen. Vereinzelt sphärisch-ovale Partikel erschienen hellgrau mit einer rauen Kontur, inhomogen vakuolisiert, durch Brüche gekennzeichnet und meist invasiv von Entzündungszellen umgeben (siehe Abb. 45 F, Seite 90). Eine genauere Betrachtung der fortgeschritten degradierten Partikel in der Jones-Silber-Färbung erlaubte eine verbesserte Differenzierung der Strukturen vom umliegenden Gewebe (siehe Abb. 46 A-D, Seite 91). Hier erschienen die Partikel zu späten Kontrollzeitpunkten dunkelgrau meliert und fibröses Bindegewebe schwarz, während vitales Nierenparenchym und Entzündungszellen sich rosa anfärbten. Die Partikel umgebenden Entzündungszellen waren in der Jones-Färbung deutlich Zellen mit grau meliertem Zellinhalt zu erkennen.

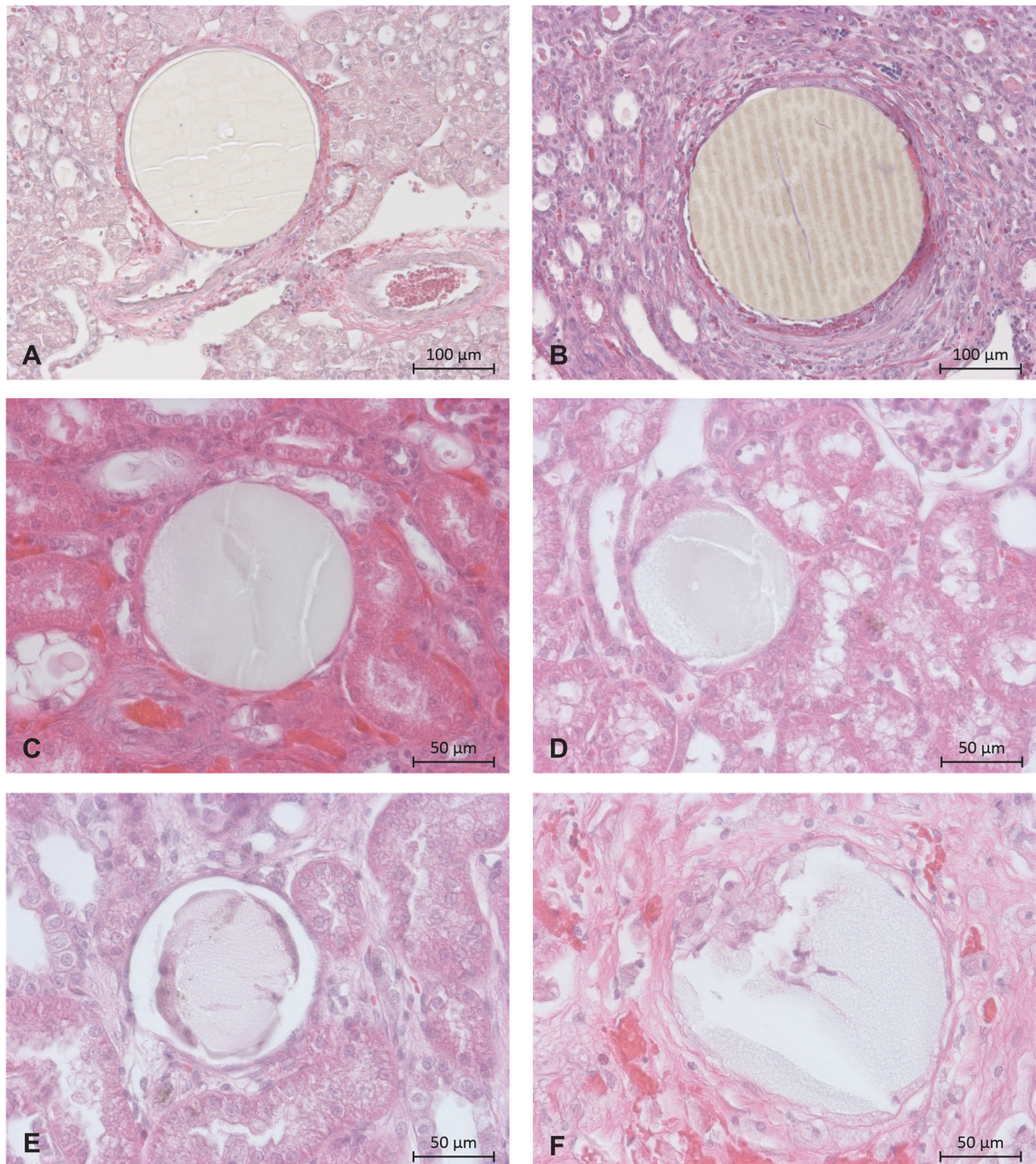


Abbildung 45: Mikroskopische Darstellung der Partikeldegradation

Mikroskopische Darstellung des histomorphologischen Erscheinungsbildes von PDO-Mikrosphären im zeitlichen Verlauf. Fortschreitende Partikeldegradation A) 0 Wochen, B) 1 Woche, C) 4 Wochen, D) 8 Wochen, E) 12 Wochen und F) 16 Wochen nach Embolisation mit zunehmender Fragmentation der Embolisationspartikel und Einstrom von phagozytisch aktiven Entzündungszellen (Makrophagen, Fremdkörperriesenzellen) in der Partikelperipherie Embolisation (10x und 20x Vergrößerung, HE-Färbung). (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

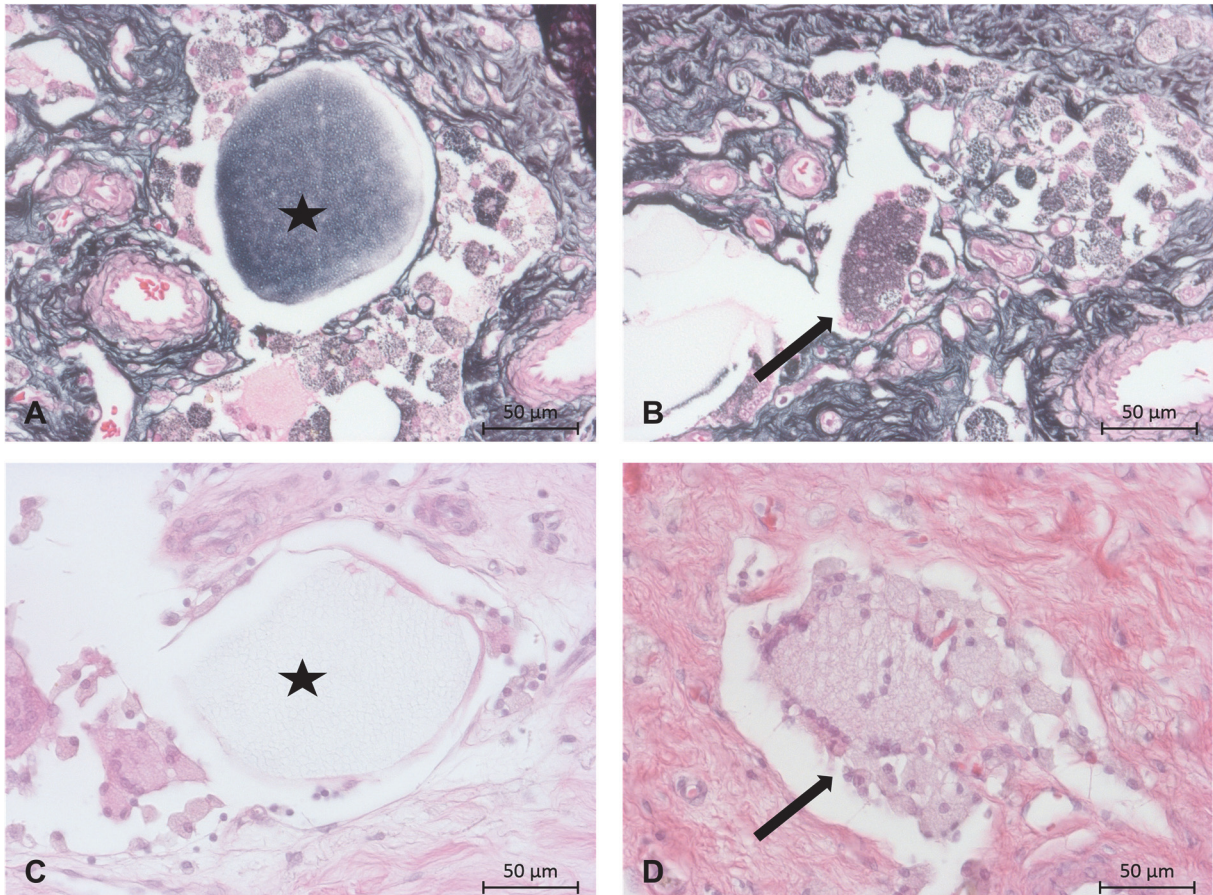


Abbildung 46: Mikroskopische Darstellung der Partikeldegradation Gruppe 5

Mikroskopische Darstellung von fortgeschritten degradierten PDO-Mikrosphären 16 Wochen nach Embolisation. Eine sichere Identifikation der Partikelfragmente (D) und von phagozytiertem Partikeldetritus (Pfeil) erfolgte durch die Jones-Silber-Färbung, A und B) fortgeschritten degradiertes PDO-Partikel in Jones-Silber-Färbung, C und D) fortgeschritten degradiertes PDO-Partikel in HE-Färbung (20x Vergrößerung, JMS- und HE-Färbung).

Die mikroskopische Auswertung der Partikeldegradation zeigte, dass die PDO-Mikrosphären post mortem zu allen Zeitpunkten in den Arterien nachzuweisen waren. Das Degradationsmuster, gemessen an dem in 4.6.3.2 beschriebenen Score, folgte 1, 4, 8, 12 und 16 Wochen post Injektion einem sichtbaren Trend. Es wurden 2933 Mikrosphären in der HE-Färbung ausgewertet und beurteilt.

Der durchschnittliche Degradationsscore der histologischen Auswertung beträgt $0,04 (\pm 0,03)$ für die Gruppe 0 = Akutgruppe, $0,38 (\pm 0,06)$ 1 Woche post Embolisation, $1,28 (\pm 0,00)$ 4 Wochen post Embolisation, $1,74 (\pm 0,13)$ 8 Wochen post Embolisation, $2,2 (\pm 0,05)$ 12 Wochen post Embolisation und $2,86 (\pm 0,21)$ 16 Wochen post Embolisation (siehe Abb. 47, Seite 92). Statistisch entsprach dies einem p-Wert von $< 0,001$ im Kruskal-Wallis-Test.

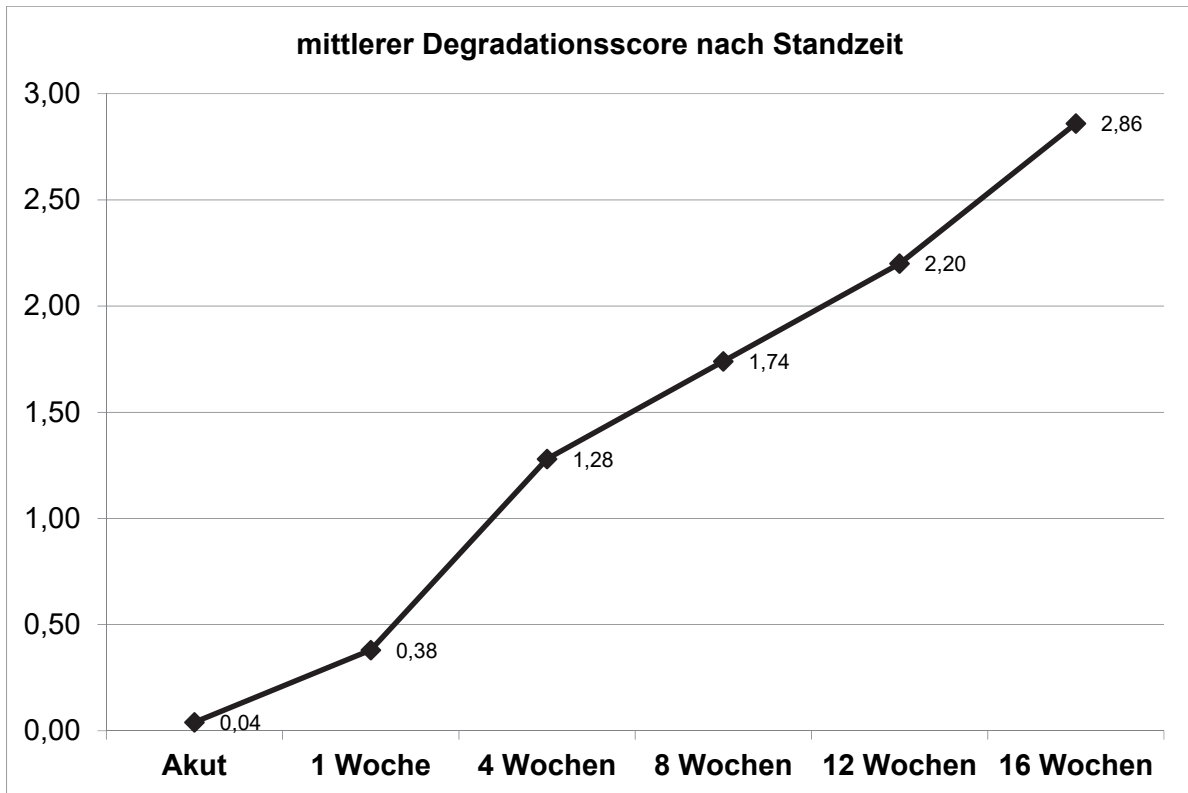


Abbildung 47: Übersicht der Degradationsscores

Graphische Darstellung der durchschnittlichen Degradationsscores im zeitlichen Verlauf 0, 1, 4, 8, 12 und 16 Wochen nach Embolisation. Es zeigt sich ein fortschreitender Degradationsscore im zeitlichen Verlauf im Sinne einer Resorbierbarkeit der PDO-Embolisationspartikel mit einer statistischen Signifikanz von $< 0,001$ im Kruskal-Wallis-Test. (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

5.4 Biokompatibilität der Mikrosphären

5.4.1 Mikroskopische Gewebereaktion

Das Ausmaß der Gewebereaktion, welche durch die Embolisation induziert wurde ist in Tabelle 18, Seite 98 zusammengefasst. Eine entzündliche Infiltration des Nierengewebes wurde in der HE-Färbung zu allen Zeitpunkten, außer unmittelbar post Embolisation identifiziert.

Zu dem Kontrollzeitpunkt 1 Woche post Embolisation war die Entzündung sowohl mittelgradig heterophil als auch geringgradig mononukleär. Die heterophile Entzündung war durch das Auftreten von neutrophilen Granulozyten dominiert, vereinzelt waren auch eosinophile Granulozyten und Lymphozyten zu erkennen. Die heterophilen Entzündungszellen waren in der 100x Vergrößerung im Öl-Immersion Objektiv als polymorphkernige Strukturen mit einem segmentierten Zellkern und einem granulierten Zytoplasma zu erkennen. Die Entzündungsreaktion war auf das Infarktareal beschränkt und diente der Demarkation des Nekroseareals und initiierte die Resorption des devitalen

Gewebes. In der Umgebung der Mikrosphären waren außerdem vereinzelt mehrkernige Riesenzellen erkennbar. Diese erschienen als vielkernige Zellsyntizien mit unregelmäßig, zufällig im Zytoplasma verteilten Zellkernen. Auch eosinophile Granulozyten waren vereinzelt zu sehen und lichtmikroskopisch deutlich anhand ihrer eosinophilen Granula zu erkennen.

Mit Fortschreiten der Läsion und Zunahme der Partikelresorption nach 4 Wochen zeigte sich das entzündliche Infiltrat zunehmend mononukleär, gekennzeichnet durch das Auftreten von Lymphozyten und Makrophagen. Die Lymphozyten waren unter dem Öl-Immersion Objektiv als runde Zellen mit einem prominenten, basophilen Zellkern und einem schmalen eosinophilen Zytoplasmasaum zu erkennen. Die Makrophagen hingegen hatten eine unregelmäßige Form mit granuliertem Zytoplasma als Resultat ihrer phagozytischen Aktivität. In Übereinstimmung mit der Zunahme an mononukleären Entzündungszellen wurde ein Rückgang des Anteils an Heterophilen und eine progressive Zunahme der Fibrose beobachtet. Die zentralen Nekrosezonen waren von zerfallenen/untergehenden neutrophilen Granulozyten durchsetzt. Auch hier waren vereinzelt mehrkernige Riesenzellen des typischen Erscheinungsbildes und eosinophile Granulozyten zu erkennen.

Das parenchymale Entzündungsmuster nach 8 Wochen war ebenfalls mittelgradig mononukleär dominiert und zeigte darüber hinaus eine Zunahme an phagozytisch aktiven Makrophagen im Sinne einer geringgradig granulomatösen Entzündung. Nach 12 und 16 Wochen wurden neben dem häufigen Auftreten von aktivierten Makrophagen im Gewebe auch vermehrt mehrkernige Riesenzellen gefunden, die die Mikrosphären umgaben und sichtlich an der Phagozytose der Partikelfragmente beteiligt waren (siehe Abb. 48, Seite 94). Auch mononukleäre Lymphozyten waren zu diesen Zeitpunkten noch geringgradig vertreten, ebenso wie das vereinzelte Auftreten von eosinophilen Granulozyten.

Die parenchymalen Entzündungsreaktionen waren zu allen Kontrollzeitpunkten auf das Infarktareal und die Umgebung der Mikrosphären beschränkt. In den Kontrollschnitten nicht-embolisierten Nierenareale war lichtmikroskopisch keine entzündliche Infiltration des Parenchyms zu erkennen. Die semiquantitative Analyse der parenchymalen Entzündung zeigte sich zu allen Zeitpunkten als gering- bis mittelgradig.

Hinsichtlich der zwei verwendeten Partikelgrößen waren keine Unterschiede in Art und Grad der Entzündung zu erkennen. Der Grad der Entzündung variierte allerdings in Abhängigkeit der Infarktgröße. Während die Entzündung im Bereich der Mikroinfarkte geringgradig ausfiel, fiel sie in den größeren embolisierten Regionen mittelgradig aus.

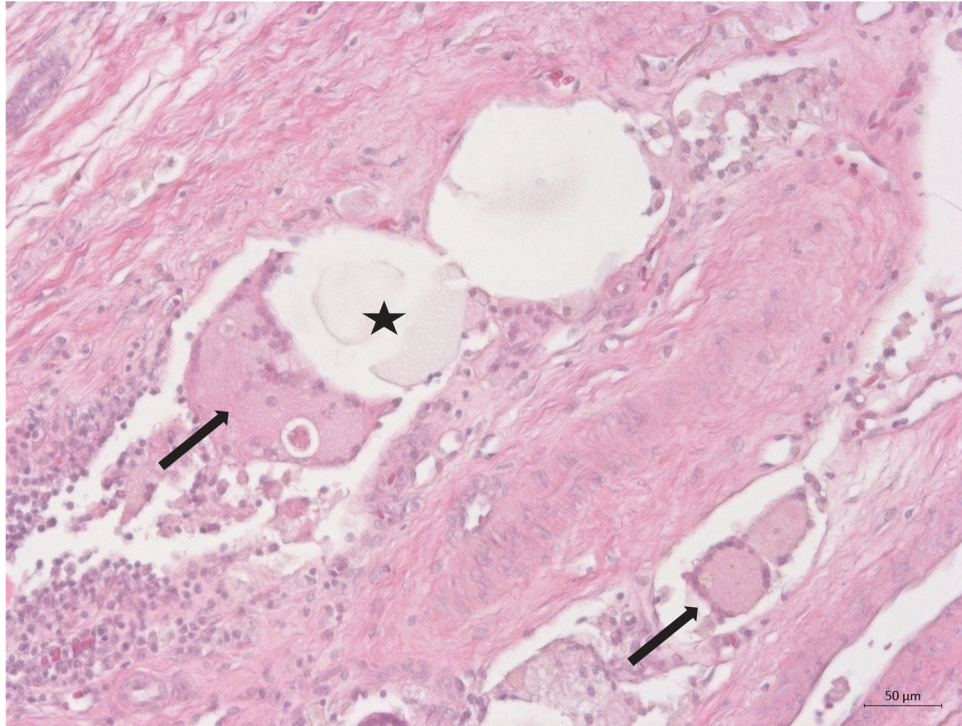


Abbildung 48: Mikroskopische Darstellung der Fremdkörperreaktion

Mikroskopische Darstellung eines fortgeschrittenen PDO-Embolisationspartikels (★) mit angrenzendem Auftreten von Fremdkörperriesenzellen und Makrophagen in der Partikelperipherie (Pfeil) (5x-Vergrößerung, HE-Färbung)

5.4.2 Mikroskopische Gefäßwandreaktion

Das Ausmaß der Gefäßwandentzündung und -verletzung, welche durch die Embolisation mit PDO-Mikrosphären induziert wurde ist in Tabelle 18, Seite 98 zusammengefasst. In allen untersuchten Proben nahm die Schwere der Entzündung und induzierten Gefäßwandverletzung über den Untersuchungszeitraum zu.

Bei Betrachtung der vaskulären Entzündung in der HE-Färbung erschien ein vergleichbares Muster wie im umliegenden Nierengewebe. Während des gesamten Beobachtungszeitraums, mit Ausnahme unmittelbar nach der Embolisation, zeigten die histopathologischen Schnitte eine Leukozyteninfiltrationen in den Gefäßwänden. Ähnlich wie bei der parenchymalen Entzündung war die Entzündungsreaktion der Nierengefäße zu frühen Kontrollzeitpunkten vorwiegend heterophil mit vereinzeltm Auftreten von mehrkernigen Riesenzellen. Mit fortschreitender Partikelresorption und Organisation des nekrotischen Gewebes im umliegenden Parenchym entwickelte sich das Entzündungsmuster der okkludierten Gefäße zunehmend mononukleär und zu späten Kontrollzeitpunkten granulomatös. Peripartikulär war zu allen Zeitpunkten ein dünner diskontinuierlicher Rand von Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen korrespondierend zu einer milden Fremdkörperentzündungsreaktion.

Die semiquantitative Analyse der vaskulären Entzündung in der HE-Färbung zeigte sich zu allen Zeitpunkten gering- bis mittelgradig. Die Entzündungsreaktion war zu allen Zeitpunkten auf die embolisierten Gefäße, insbesondere peripartikulär beschränkt. Nicht embolisierte Gefäße oder Gefäßwände ohne Kontakt zu Mikrosphären erschienen physiologisch. Das Ausmaß der Gefäßwandinfiltration war bei Embolsation kleiner Gefäße im Allgemeinen geringer als bei embolisierten, großen Gefäßen. In der HE-Färbung konnte in einzelnen Fällen ab 1 Woche post Embolisation eine Verdickung der innersten Gefäßwandschicht (Tunica intima) im Sinne einer neointimalen Hyperplasie beobachtet werden. Mit fortschreitenden Kontrollzeitpunkten zeigten sich eine zunehmende neointimale Hyperplasie und Verdickungen und Verlust anderer Gefäßwandschichten, bis hin zu fibrotischen Gefäßwandremodellierungen.

Die Elastika-van-Gieson Färbung bestätigte die zunehmende Verletzung und Diskontinuität der Gefäßwände. Diese waren über den Studienzeitraum als zunehmende Defekte in der Membrana elastica interna (MEI), Tunica Media oder Membrana elastica externa (MEE) zu erkennen. Tiere der Gruppe 0, welche unmittelbar post Embolisation euthanasiert wurden zeigten keine pathologischen Veränderungen in der Gefäßwandarchitektur.

Eine Woche post Embolisation mit PDO-Mikrosphären zeigten sich vereinzelt fokale Gefäßwanddefekte der Membrana elastica interna mit einer neointimalen Hyperplasie, welche mit einer geringgradigen peripartikulären und perivaskulären Infiltration von überwiegend heterophilen Entzündungszellen einherging (siehe Abb. 49 A, Seite 96). Zellen des mononukleären Systems waren zu diesem Zeitpunkt nur vereinzelt sichtbar. Vier Wochen post Embolisation zeigten sich in den embolisierten Gefäßen eine zunehmende neointimale Hyperplasie mit Defekten der Membrana elastica interna, welche von einer prädominierend mononukleären transmuralen Entzündung begleitet wurden. Vereinzelt lies sich nach 4 Wochen bereits eine Zerstörung der Tunica media nachweisen (siehe Abb. 49 B, Seite 96). 8 Wochen post Embolisation konnte ein Fortschreiten der Verletzung bis hin zur Tunica media nachgewiesen werden (siehe Abb. 49 C, Seite 95). Nach 12 und 16 Wochen zeigte sich eine diffuse Verletzung der Arterienwandelemente bis hin zur Membrana elastica externa und Tunica adventitia (siehe Abb. 49 D - E, Seite 95). Mikrosphären waren ab Woche 8 vereinzelt außerhalb des ehemaligen Gefäßes zu erkennen. Histologisch konnte kein Hinweis auf einen Blutausstritt festgestellt werden. Das transmurale Entzündungsmuster war zu den spätern Kontrollzeiten überwiegend mononukleär bis granulomatös geprägt. Die sichtbaren Ergebnisse korrelieren dabei mit dem erhobenen Gefäßwandverletzungsscore in der EVG-Färbung, welcher mit einer zunehmenden Zerstörung der Gefäßwandarchitektur im Verlaufe der 16 Wochen des Beobachtungszeitraumes einherging. Insgesamt wurden 62 embolisierte Gefäße mittels dem von Schwartz et al. entwickelten und in Kapitel 4.6.4.2 beschriebenen Scoring-System beurteilt. Der durchschnittliche Score betrug $0 (\pm 0)$ in der

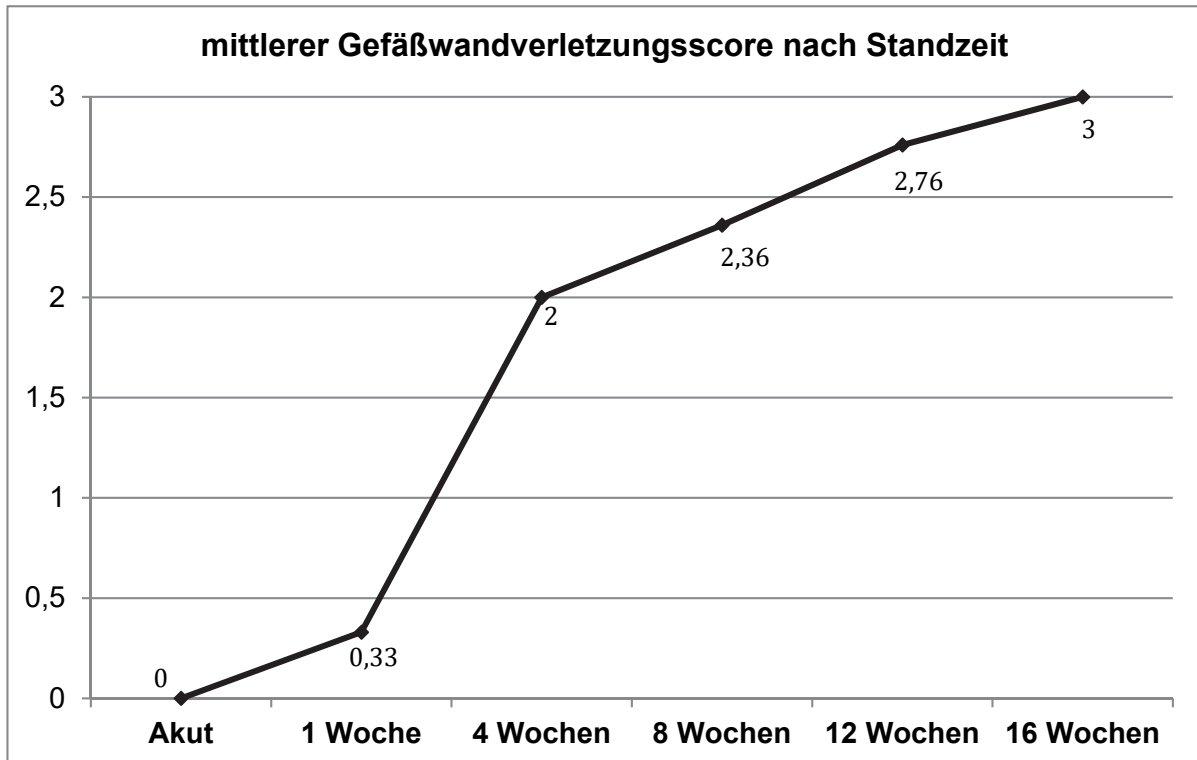


Abbildung 50: Übersicht der Gefäßwandverletzungsscores

Graphische Darstellung des durchschnittlichen Gefäßwandverletzungsscores im zeitlichen Verlauf 0, 1, 4, 8, 12 und 16 Wochen nach Embolisation. Es zeigt sich ein fortschreitende Gefäßwandverletzung im zeitlichen Verlauf im Sinne eines chronischen Gefäßwandumbaus mit einer statistischen Signifikanz von $< 0,001$ im Kruskal-Wallis-Test. (Die Abbildung findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder).

Tabelle 18: Übersichtstabelle mikroskopische Auswertung

Hauptzielgröße	Pathologisches Ereignis	Gruppe 0 (Akut)	Gruppe 1 (1 Woche)	Gruppe 2 (4 Wochen)	Gruppe 3 (8 Wochen)	Gruppe 4 (12 Wochen)	Gruppe 5 (16 Wochen)
Wirksamkeit	Koagulationsnekrose	-	+++	+++	+++	+++	+++
	Fibrose	-	-	+	+++	+++	+++
	Mineralisierung	-	-	+	+++	+++	+++
Biokompatibilität	heterophile Entzündung	-	++	+	(+)	-	-
	mononukleäre Entzündung	-	+	++	++	+	+
	granulomatöse Entzündung	-	(+)	(+)	+	++	++
	neointimale Hyperplasie	-	(+)	+++	+++	+++	+++
	Defekt MEI	-	(+)	++	+++	+++	+++
	Defekt Tunia Media	-	-	+	++	+++	+++
	Defekt MEE	-	-	-	(+)	++	+++
	Gefäßwandverletzungsscore	0	0,33	2	2,36	2,76	3
Resorbierbarkeit	Partikel	Partikel	Partikel	Partikel	Partikel	Partikel, vereinzelt Fragmente	Fragmente
	Form	sphärisch	sphärisch	sphärisch	sphärisch	sphärisch, vereinzelt fragmentiert	fragmentiert
	Kontur	glatt	rau	rau	rau	rau	rau
	Binnenstruktur	homogen	homogen, vereinzelt inhomogen	inhomogen	inhomogen	inhomogen	inhomogen
	Defekte (Risse, Brüche)	Schneideartefakte	Schneideartefakte, vereinzelt Defekte	Schneideartefakte, vereinzelt Defekte	Defekte	Defekte	Defekte
	zelluläre Beteiligung	keine	vereinzelt marginal	marginal	marginal	marginal, vereinzelt invasiv	invasiv
	Partikeldegradationsscore	0,06	0,38	1,28	1,73	2,2	2,86

(Die Tabelle findet sich angelehnter Weise in der Publikation Streitparth et al., J Vasc Interv Radiol 2020 wieder)

6 Diskussion

Kathetergestützte Embolisationsverfahren wie z.B. die TAE, TACE, DEB-TACE oder TARE haben heutzutage ein breites Einsatzspektrum gefunden. Sie haben sich insbesondere als wirksame, minimal-invasive Alternativen in der Behandlung hypervaskularisierter Neoplasien erwiesen. Darüber hinaus werden die Verfahren auch in der Therapie nicht-tumoröser Krankheitsbilder angewandt.

Das zunehmende Interesse an diesen minimal-invasiven Therapieverfahren hat die Erforschung und Entwicklung neuartiger Embolisationsmaterialien in den letzten Jahren maßgeblich gefördert. Aufgrund der wachsenden Bedeutung in der Onkologie sind insbesondere die partikulären Materialien in den Fokus der Forschung gerückt. Temporäre Embolisationspartikel bieten hier potentielle Vorteile, da sie aufgrund ihres resorbierbaren Charakters nur einen kurzzeitigen Gefäßverschluss unter Erhalt der Gefäßfunktionalität bewerkstelligen. Dies ist vor allem in Krankheitsbildern, mit dem Wunsch einer wiederholten Therapie/wiederholten endosvaskulären Zugang oder einer Erhaltung der Organfunktion, essentiell.

Trotz bereits vielfach etablierter Verfahren mangelt es bis dato an einem idealen, temporären Embolisationsmaterial, welches allseits verfügbar, leicht handzuhaben, größen-kalibriert, effektiv, biokompatibel und in seinem Zielverschluss und Resorptionsverhalten vorhersehbar ist. Das in der vorliegenden Arbeit neu entwickelte und untersuchte temporäre Embolisationsmaterial aus Polydioxanon scheint alle notwendigen Eigenschaften zu vereinen, welche im folgenden Teil der Arbeit diskutiert werden.

6.1 Durchführbarkeit und Sicherheit des Embolisationsverfahrens

Das Embolisationsverfahren mit PDO-Mikrosphären konnte in 15/16 Kaninchen (93,7%) erfolgreich durchgeführt werden. Die Präparation und Punktion der Femoralarterie war in allen Fällen trotz der geringen Größe des Gefäßes leicht möglich. Ein perkutaner Zugang mit oder ohne Sonographiekontrolle, wie es in der Humanmedizin üblich ist, ist aufgrund der geringen Körpergröße der Versuchstiere nicht möglich. Die chirurgische Femoralarterienpräparation liefert eine sichere und tolerierbare Option.

Die Anwendung herkömmlicher 3Fr Schleusen- und Kathetersysteme verlief ohne Hindernisse und stellt einen wichtigen Aspekt in der Extrapolation der Daten hinsichtlich einer zukünftigen Nutzung im Menschen dar. Andere Studien berichten außerdem von einer sicheren Verwendung von 4Fr Schleusen- und Kathetersystemen am Kaninchen (Ohta et al. 2007, Ohta et al. 2013, Weng et al. 2013a, Weng et al. 2013b, Weng et al. 2013c, Weng et al. 2015, Weng et al. 2018). Die Wahl der zu embolisierenden Niere erfolgte in der

vorliegenden Studie willkürlich. Es zeigte sich jedoch, dass die Katheterisierung der rechten Nierenarterie (53,3%) tendenziell leichter war, als die der linken (47,7%).

Ein Tier aus Gruppe 2 verstarb vor der Injektion der PDO-Mikrosphären an einem narkosebedingtem Kreislaufversagen. Die Narkose der Versuchstiere wurde subkutan durch ein Injektionsgemisch aus Medetomidin/Ketamin eingeleitet und intravenös durch eine Verdünnung des Gemisches aufrecht gehalten. Es handelt sich dabei um ein an unserem Institut etabliertes Narkoseprotokoll für Versuchskaninchen, welche auch in der Fachliteratur als etablierte Anästhesie dokumentiert ist (Fish 2008, Erhardt et al. 2011, Flecknell 2015). Die Sauerstoffversorgung wurde über eine Atemmaske sichergestellt. Eine endotracheale Intubation beim Kaninchen stellt sich aufgrund der geringen Größe der Atemwege und einer begrenzten Visualisierung unter Anästhesie technisch als schwierig dar. Die Narkoseüberwachung erfolgte routinemäßige durch eine Evaluation klinischer Parameter am Versuchstier wie in Kapitel 4.5.1 beschrieben. Kaninchennarkosen stellen insbesondere aufgrund der geringen Narkoseverträglichkeit der Spezies und einer begrenzten Medikamentenzulassung eine besondere Herausforderung in der Kleintiermedizin dar. Mögliche Gründe für eine erhöhte Narkosesensibilität liegen darin, dass Kaninchen stressempfindliche Fluchttiere sind. Diese Stressempfindlichkeit resultiert aus anatomischen Besonderheiten der Tierart. Herz und Lunge besitzen beim Kaninchen ein sehr geringes relatives Gewicht, wodurch es in Stresssituationen leicht zum Kreislaufversagen kommt (Ewringmann 2016). Kaninchen haben außerdem im Vergleich zum Thorax eine große Bauchhöhle, sodass während einer Narkose und Lagerung in Rückenlage der Druck der Darmmasse die Atmung beeinträchtigt. Zusätzlich weisen die Tiere oft ein hohes Oberflächen-zu-Volumen-Verhältnis auf, das sie für die Entstehung einer perioperativen Hypothermie prädisponiert. Kaninchen werden daher in der Anästhesie als Hochrisikopatienten bezeichnet mit einem ca. 14-mal höheren Mortalitätsrisiko als Hunde (Brodgelt 2009). Es besteht eine begrenzte Anzahl an aktuellen wissenschaftlichen Veröffentlichungen über das Risiko für narkosebedingte Todesfälle im Kaninchen.

Im Rahmen unserer Studie verstarb ein Tier (6,3%) an einem narkosebedingtem Kreislaufversagen. Dieser Wert ist geringfügig höher als der Wert einer umfassenden Analyse aus dem Jahr 2008, in welcher das Risiko von perioperativen, narkosebedingten Todesfällen in Kaninchen bei 1,39% lag (Brodgelt et al. 2008). Die Abweichung von dem in unserer Studie ermittelten Wert ist vermutlich auf die unterschiedliche Größe des Studienumfangs zurückzuführen, welcher in unserer Studie n=16 und in der Studie von Brodgelt et al. n=8209 betrug. In einer weiteren Studie an 160 Kaninchen beträgt die Inzidenz von narkosebedingten Todesfällen 1,9% (Ishida et al. 2014). Ohta et al. berichten unter Verwendung des gleichen Narkoseprotokolls von keinen narkosebedingten Zwischenfällen (Ohta et al. 2007, Ohta et al. 2013). Weitere Nierenembolisationsstudien an

Kaninchen, welche anderen Narkoseverfahren nutzten, berichten ebenfalls von einzelnen perioperativen Todesfällen, wodurch der in unserer Studie ermittelte Wert als normales und kalkulierbares Komplikationsrisiko/Narkoserisiko zu werten ist (Weng et al. 2013a, Weng et al. 2013b, Weng et al. 2013c, Weng et al. 2015, Weng et al. 2018). Eine Korrelation zwischen dem Körpergewicht der Tiere oder der verwendeten Partikelgröße und der Durchführbarkeit des Verfahrens war nicht zu erkennen.

Die Nierenembolisation mit PDO-Mikrosphären im Kaninchenmodell lies sich ohne Auftreten von interventionsbedingten Majorkomplikationen in insgesamt 27 Interventionen sicher durchführen. Es wurden 15 angiographische Erstinterventionen und 12 Kontrolluntersuchungen durchgeführt. Drei Tiere wurden unmittelbar post Embolisation euthanasiert und der Gruppe 0 = Akutgruppe zugeordnet und erhielten daher keine Kontrolluntersuchungen.

Die Sicherheit des Embolisationsverfahrens wurde anhand des Auftretens von intra- und post-operativen Komplikationen während und nach der Embolisation, sowie bei der Durchführung der Kontrollangiographie bemessen. Entsprechend der Gesellschaft für Interventionelle Radiologie (SIR) und der Gesellschaft für kardiovaskuläre & interventionelle Radiologie (SCVIR) können intra- und post-operative Komplikationen in Minor- und Majorkomplikationen eingeteilt werden (Leoni et al. 2001). Minorkomplikationen sind Zwischenfälle, die keine oder eine symptomatische Therapie erfordern, und keine Konsequenzen mit sich bringen. Majorkomplikationen hingegen erfordern eine eingreifende Therapie, die meist mit einer ungeplanten Erhöhung der Pflege und einer Verlängerung des Krankenhausaufenthaltes einhergeht. In den schlimmsten Fällen führen Majorkomplikationen zu dauerhaften Schäden oder gar zum Tod. Einer retrospektiven Studie zufolge sind die häufigsten Komplikationen am Menschen, unabhängig von der Art des interventionell-radiologischen Verfahrens, die Entstehung von Hämatomen, Pseudoaneurysmen, arteriovenöse Fisteln, Gefäßdissektionen, Vasospasmen, Arterienperforationen, sowie Thrombosen oder Thrombembolien (Hamouda 2007).

Intra-operative Komplikationen

Die transarterielle Embolisation konnte in allen Tieren ohne das Auftreten von intra-operativen Majorkomplikationen sicher durchgeführt werden. Die Punktionen der Femoralarterie sowie die Sondierungen der Aorta und der Nierenarterie erfolgten in allen 15 Erst- und 12 Kontrollangiographien ($27/27 = 100\%$) problemlos. In einem Fall ($1/27 = 3,7\%$) trat während des Eingriffs ein Vasospasmus der A. renalis auf, welcher sich nach einer kurzen Wartezeit selbstständig löste. Eine Wandverletzung der Aorta abdominalis ($1/27 = 3,7\%$) stellte sich als geringgradige Dissektion dar und benötigte keinen weiteren

therapeutischen Eingriff. Das Auftreten von Vasospasmen zählt in der Humanmedizin zu den seltenen intraoperativen Komplikationen der katheterbasierten Angiographie und wird mit einer Häufigkeit von unter 1% angegeben (Hamouda 2007). Katheter-induzierte Vasospasmen entstehen während der Katheterführung aufgrund von mechanischer Reizung der muskulösen Arterienwand durch die Katheterspitze. Vasospasmen sind selten von klinischer Bedeutung, sie verhindern jedoch eine Weiterführung des Katheters an die gewünschte Stelle und verlängern somit den Eingriff. Daher wird in der periinterventionellen medikamentösen Therapie häufig eine Spasmusprophylaxe mit Nitroglyzerin empfohlen, welches vasodilatativ wirkt (Radeleff 2021). Aufgrund der kardiovaskulären Narkoseempfindlichkeit der Versuchskaninchen wurde in der vorliegenden Studie auf eine prophylaktische Gabe von Nitroglyzerin verzichtet, da die Injektion zu einer lebensbedrohlichen Hypotonie und Tachykardie der Tiere führen kann (Bogaert et al. 1970). Das Auftreten eines Vasospasmus in 3,7% der durchgeführten Angiographien mit einem selbstlimitierenden Verlauf rechtfertigt dieses Risiko aus unserer Sicht nicht.

Das Auftreten von Gefäßwandverletzungen ist eine ebenfalls bekannte Komplikation in der interventionellen Radiologie. Dabei können sowohl nicht-letale Dissektionen und Pseudoaneurysmen als auch lebensbedrohliche Rupturen oder Perforationen auftreten. Dissektionen treten in der Humanmedizin mit einer beschriebenen Häufigkeit von 1,75 % - 5,5% auf, Pseudoaneurysmen zu 0,06 - 2% und arterielle Perforationen zu 0,5 - 0,9 % auf (Hamouda 2007). Vorbeugen lassen sich diese Komplikationen alleine durch vorsichtige Handhabung der Instrumente im Gefäßbaum. Im Menschen bestehen diverse Möglichkeiten einer Gefäßdissektion zu therapieren, meist sind hierfür interventionell-radiologische Verfahren wie ein Ballonkatheter und/oder eine Stentplatzierung notwendig (Radeleff 2021). Aus Zeit- und Kostengründen und in Anbetracht des geringen Schweregrades erforderte die Dissektion in dieser Studie keine therapeutische Intervention. Außerdem handelte es sich bei dem Tier um ein geplantes Akuttier, welches unabhängig vom Auftreten der Gefäßwandverletzung planmäßig nach Embolisation euthanasiert wurde. Die Dissektionsrate von 3,7% ist dabei vergleichbar mit einer retrospektiven Studie aus dem Jahr 2007, welche im Menschen eine post-interventionelle Dissektionsrate von 3,7% erfasste. Aufgrund der prophylaktischen Nitroglyzeringabe sind in der aufgeführten Studie keine Vasospasmen aufgetreten (Hamouda 2007). Hämatome, Pseudoaneurysmen, arteriovenöse Fisteln, Perforationen oder sonstige Komplikationen sind in der vorliegenden Studie nicht aufgetreten. Die Übrigen 92,6% der Angiographien verliefen ohne intraoperative Komplikationen.

Ein Tier wurde nach Demonstration einer einseitigen Hinterhandlähmung unmittelbar nach Narkoseerwachen euthanasiert und der Gruppe 0 zugeordnet. Ob ein Zusammenhang zur durchgeführten Intervention besteht ist fraglich. Möglich wäre das Auftreten einer peripheren

Embolie der hinteren Extremität, eine sogenannte Nicht-Zielembolisation durch Embolisatverschleppung oder die Entstehung einer Thrombembolie. Periphere Embolien treten Studien zufolge mit einer Häufigkeit von 0,4 - 4% auf (Hamouda 2007). Das Auftreten einer Embolie ist im vorliegenden Fall als unwahrscheinlich einzustufen, da alle Tiere eine prophylaktische Thrombolyse mittels Heparin verabreicht bekommen haben. Auch eine Manipulation des N. femoralis während der Präparation oder Punktion der A. femoralis ist als mögliche Ursache für die Hinterhandlähmung in Erwägung zu ziehen. Die pathologische Untersuchung des Tieres ergab keinen Aufschluss über die Ursache.

Die Häufigkeit der in der vorliegenden Studie aufgetretenen intra-operativen Komplikationen ist in Übereinstimmung mit den in der Literatur angegebenen Komplikationsraten beim Menschen. Verlässliche Zahlen über das Komplikationsrisiko im Versuchstier sind nicht beschrieben. Die einzeln aufgetretenen intraoperativen Komplikationen waren in beiden Fällen der Erstintervention zuzuordnen. Dies ist vermutlich auf die weiter distal im Gefäßbett liegende Katheterpositionierung zurückzuführen, welches das Risiko für Dissektionen und Spasmen durch Kathetermanipulation erhöht. Eine Korrelation zwischen dem Körpergewicht der Tiere oder der verwendeten Partikelgröße und der Sicherheit des Verfahrens war nicht zu erkennen.

Post-operative Komplikationen

Das PES kann als Nebenwirkung nach der transarteriellen Embolisation und Chemoembolisation auftreten. In der Humanmedizin kann das PES nach cTACE, DEB-TACE und blander Embolisation von HCC-Patienten bei bis zu 60–80 % der Eingriffe auftreten (Radeleff 2021). Die Inzidenz des PES bei Nierenembolisationen beträgt einer weiteren Studie zufolge circa 44% (Vora et al. 2014). Es tritt in der Regel innerhalb der ersten 72 Stunden nach Embolisation parenchymatöser Organe auf und manifestiert sich durch das Auftreten von Fieber, Schmerzen, Übelkeit und Erbrechen (Puppala 2009, Kessel et al. 2016). Ätiologisch ist das PES möglicherweise auf ischämische Organläsionen durch Fehlembolisationen, sowie embolisationsbedingte Inflammation des Zielgebietes zurückzuführen. Siskin et al. stellten die Hypothese auf, dass der Schweregrad des PES insbesondere vom Ausmaß entzündlicher Gewebeveränderungen abhängt (Siskin et al. 2003).

Trotz der häufigen Verwendung von Kaninchen als tierexperimentelles Versuchsmodell in einer Vielzahl von Forschungsgebieten fehlen bis dato verlässliche Methoden zur Bewertung klinisch relevanter Schmerzen. Das Erkennen von schmerzhaften Zuständen gestaltet sich darüber hinaus als äußerst schwierig, da Kaninchen aufgrund ihres natürlichen Instinkts als Flucht- und Beutetier kaum Anzeichen von Schmerzen zeigen (Erhardt et al. 2011, Flecknell 2015). Als speziesspezifische Schmerzsymptome gelten Inappetenz, Anorexie, Apathie und

Lethargie, Allotriophagie, Inaktivität, unphysiologische Haltung, sowie reduzierter Kot- und Urinabsatz (Kohn et al. 2007, Weaver et al. 2010). Im Tiermodell erfordert die Diagnose des PES daher eine strenge klinische Überwachung und Beurteilung des Allgemeinbefindens. Einer der wichtigsten Faktoren ist hierbei die regelmäßige Futteraufnahme und Gewichtskontrolle. Aus diesem Grund wurde zusätzlich zu der Beurteilung des Allgemeinzustandes und der täglichen Adspektion der Operationsnaht, das Gewicht der Tiere in regelmäßigen Abständen kontrolliert, um den Tieren post-operativen Stress zu vermeiden wurde auf die Kontrolle der inneren Körpertemperatur verzichtet. Im Rahmen dieser Studie waren in keinem der Tiere klinische Anzeichen eines eingeschränkten Allgemeinbefindens im Sinne des PES zu erkennen. Die Kaninchen zeigten zu jeder Zeit während des Beobachtungszeitraumes einen guten Appetit und ein arttypisches Allgemeinbefinden. Auch die protokollierten Gewichtskontrollen wiesen unerhebliche Schwankungen auf. Ein Verlust des Körpergewichts von max. 10% bis zum Tag des Fäden-Ziehens zehn Tage post Intervention wurde als physiologisch angesehen. Spätestens nach Entfernen der Fäden sollten die Tiere Ihr Initialgewicht wieder erreicht haben. Nur die Tiere, die eine Woche post Embolisation euthanasiert wurden, wiesen ein geringeres Euthanasiegewicht als Embolisationsgewicht auf. Alle Tiere, die zu späteren Beobachtungszeitpunkten euthanasiert wurden wiesen eine Gewichtszunahme im Vergleich zum initialen Körpergewicht auf. Eine genaue Auswertung der Gewichtsveränderungen wurde dadurch erschwert, dass die Gewichte zu verschiedenen Zeitpunkten nach Behandlung erhoben wurden. Des Weiteren bestehen individuelle Unterschiede, welche nicht berücksichtigt werden können. Das Kaninchen ist ein Tier mit einem sehr ausgeprägten Stoffwechsel, so dass Futteraufnahme und Ausscheidung sehr schnell zu Gewichtsschwankungen führen können. Daher bewegen sich die hier dokumentierten Schwankungen der Tiergewichte in einem physiologischen Rahmen.

Die Tiere erhielten prophylaktisch eine an Ihr Allgemeinbefinden angepasste Analgesie bis 72h post Embolisation, welche potentielle Symptome des PES hätte verschleiern können. Eine Fehlembolisation und Ischämie anderer Organe konnte weder angiographisch noch pathohistologisch festgestellt werden. Außerdem wurde die histologisch identifizierte Fremdkörperreaktion als mild eingestuft, sodass auch ohne Analgesie nicht von der Entstehung eines signifikanten PES auszugehen ist.

In zwei Tieren (G0112/14-6, G0112/14-14) zeigte sich in eine unerwünschte, nicht-selektive Embolisation, welche durch eine additive Schmerzbehandlung symptomatisch behandelt wurde. Auch diese Tiere und zeigten unter der ergänzenden Form der Analgesie keine Anzeichen eines PES oder einer Nierenerkrankung, sodass auf eine Nottötung verzichtet werden konnte.

Neben dem PES können insbesondere beim Tier weitere post-operative Komplikationen auftreten, welche ebenso in Major- und Minorkomplikationen eingeteilt werden können.

Im Rahmen des Beobachtungszeitraums dieser Studie zeigte ein Tier (1/12= 8,3%) eine Nahtdehiszenz und ein weiteres Tier (1/12= 8,3%) erlitt eine Krallenverletzung als auch eine Nahtdehiszenz. Die Komplikationen dieser Tiere wurden durch einen erneuten chirurgischen Eingriff und eine medikamentelle Versorgung mit Antibiose und Analgesie behandelt und somit als Major komplikationen eingestuft. Die Krallenverletzung kann allerdings nicht eindeutig als verfahrensassoziierte Komplikation gedeutet werden, sondern ist möglicherweise auch auf eine haltungsbedingte Verletzung zurückzuführen. Es besteht allerdings die Möglichkeit, dass das Tier sich diese Verletzung eigenständig durch Automutilation, als Reaktion auf einen Femoralnervenreizung zugezogen hat. In einer Studie, in denen Ratten eine artifizielle Nervenschädigung des N. ischiadicus zugefügt wurde, zeigten die Tiere eine Tendenz zur Automutilation der Zehen (Ganga et al. 2012).

Drei weitere Tiere (25%) zeigten Minorkomplikationen im Sinne einer geringfügigen lokale Wundinfektion, welche konservativ mit Bepanthenwundsalbe (Bepanthen® Wund- und Heilsalbe, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) und Braunovidonsalbe (Braunovidon® Salbe 100g, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) therapiert wurden. Sowohl die Nahtdehiszenzen als auch die Wundinfektionen sind auf ein automutilatorisches Verhalten der Tiere zurückzuführen. Leider ist dies in tierexperimentellen Studien nicht zu vermeiden, da Kaninchen sich an den herausstehenden Fäden stören und diese durch Bekratzen oder Belecken herausreißen oder sich die Wunde infolge des hohen Infektionsdrucks infiziert. Eine Studie hat gezeigt, dass knapp 50% der Kaninchen, die zur Kastration in eine Kleintierklinik kamen, post operationem durch Automutilation der Wundnaht auffielen (Harre 2012). Zur Vermeidung dieses Umstands ist eine rundum Beaufsichtigung der Tiere nötig, welches sich in einem experimentellen Versuchsaufbau unmöglich darstellt. Alternativ ist die Verwendung von Bodies oder Halskragen als Leck-, Kratz- und Beißschutz möglich. Im Rahmen dieser Studie wurde auf die routinemäßige Verwendung von Halskragen verzichtet, da diese die Tiere an der Futteraufnahme, Wasseraufnahme, Hygiene und der Ausübung allgemeiner Verhaltensmuster hindert. Des Weiteren ist das separieren von Tieren mit Halskragen in eine Einzelhaltung notwendig und ist daher aus ethischen Aspekten genau zu begründen. In den fünf Fällen in denen sich Folgen einer Automutilation zeigten wurden die Tiere für die Dauer der Behandlung separiert und mit einem Halskragen versorgt. Dieser wurde täglich auf Intaktheit und korrekten Sitz geprüft und soweit gekürzt, dass eine Futter- und Wasseraufnahme problemlos erfolgte. Eine Korrelation zwischen dem Körpergewicht der Tiere oder der verwendeten Partikelgröße und der Sicherheit des Verfahrens war nicht zu erkennen.

6.2 Injektionsfähigkeit der Mikrosphären

Die temporären Mikrosphären aus Polydioxanon liessen sich insgesamt nur mäßig durch herkömmliche Kathetersysteme injizieren.

In den vergangenen Jahren hat die Entwicklung von permanenten und temporären Embolisationsmikrosphären stetig zugenommen. Im Vergleich zu irregulären Embolisationspartikeln, wie zum Beispiel Contour™ oder manuell zugeschnittenen Gelfoam® Partikeln, ist ein Hauptvorteil von sphärischen Embolisaten die leichte Injektionsfähigkeit und das geringe Katheterverstopfungsrisiko (Beaujeux et al. 1996, Laurent et al. 1996, Derdeyn et al. 1997). Darüber hinaus bewirken Mikrosphären einen geometrischen, vollständigen und vorhersehbaren Gefäßverschluss im Vergleich zu den irregulären Partikeln (Siskin et al. 2003, Laurent et al. 2004). Eine Studie zeigte eine deutlichere und signifikante Blutflussreduktion in der Verwendung von Mikrosphären im Vergleich zu irregulären Partikeln (Andrews and Binkert 2003). Klinische Erfahrungen und experimentelle Untersuchungen haben außerdem gezeigt, dass sphärische Partikel im Vergleich zu nicht-sphärischen Teilchen distaler in das Gefäß eindringen und somit das Risiko von Fehlembolisationen vermindern (Chua et al. 2005, Senturk et al. 2010).

Polydioxanon ist ein synthetisches, bioabbaubares Polymer, welches heutzutage neben der Verwendung als resorbierbares Nahtmaterial in Form verschiedenster hochwertiger Implantatmaterialien in der Medizin Anwendung gefunden hat. Eine Verwendung als Embolisationsmaterial ist bis dato nicht beschrieben.

Die in der vorliegenden Studie neu entwickelten, größen-kalibrierten Polydioxanon-Mikrosphären zeigten sich in-vitro im Lichtmikroskop kugelrund mit glatter Oberfläche, einheitlicher Größe und regelmäßiger Form ohne Anzeichen von Partikelaggregation. Eine Übersicht der Größenverteilung und Standardabweichung ist der Abbildung 17, Seite 60 zu entnehmen. Dabei ist zu erkennen, dass die Partikel der Größe 90 – 315 µm näher an der Gaußschen Normalverteilung liegen, als die der Größe 100 – 150 µm. Eine umfassende in vitro Studie hinsichtlich ihrer physikochemischen Eigenschaften ist nicht Teil der vorliegenden Arbeit und wurde durch den industriellen Partner microparticles GmbH im Voraus durchgeführt.

Die Embolisation ließ sich im Rahmen dieser Studie in allen Tieren mittels Standardinstrumentarien durchführen. Die injizierten Mikrosphären wurden vor der Embolisation in einer Mischung an isotoner Kochsalzlösung und Kontrastmittel suspensiert. In ausgewählten Fällen erfolgte der Zusatz von 5% Glukoselösung oder humanem Albumin. Die durchschnittlich verwendete Partikelmenge betrug 0,11 (± 0,03) ml. Im Bezug auf die einzelnen Partikelgrößen betrug sie 0,12 (± 0,03) ml für 100 – 150 µm und 0,11 (± 0,03) ml für 90 – 315 µm große Partikel.

Die Injektionsfähigkeit der PDO-Mikrosphären stellte sich trotz ihrer gleichmäßigen, sphärischen Form insgesamt als mäßig dar. Am leichtesten erfolgte die Injektion kleiner Partikel der Größe 100 – 150 μm mit humanem Albumin als Hilfsstoff und unabhängig von der verwendeten Partikelmenge. Die Injektion der 100 – 150 μm großen Partikel ohne Hilfsstoff erfolgte mäßig. Unabhängig von der Präsenz und Art des Hilfsstoffs erfolgte die Injektion der Partikel der Größe 90 – 315 μm mäßig bis unbefriedigend. Es zeigte sich bei dieser Partikelgröße allerdings deutlich, dass die Injektion von mehr als 0,1 ml stets unbefriedigend erfolgte, während sich eine Injektion von weniger als 0,1 ml stets mäßig durchführen lies. In Fällen von mäßiger bis unbefriedigender Injektion sammelten sich die Partikel im Katheterstutzen an und waren nur durch ein vorsichtiges Applizieren von Druck injizierbar. Für die Applikation der Mikrosphären wurden 3Fr-Katheter der Firma Balt (Non braided angiography catheter COBRA I 50cm, Balt, Montmorency, France; Non braided angiography catheter HEADHUNTER 50cm, Balt, Montmorency, France) verwendet. Diese Katheter haben entsprechend ihrer Produktbeschreibung eine Länge von 50 cm und einen Durchmesser von 0,63 mm (= 630 μm). Als maximaler Durchmesser des Mikroführungsdrahtes wird eine Diameter von 0.021“ (0,5334 mm = 533.4 μm) empfohlen. Es ist daher zu befürchten, dass bereits das Aneinanderheften zweier Partikel oder mehr zu einer erschwerten Katheterpassage führt.

In einer vergleichbaren Studie mit von Carboxymethylcellulose-Chitosan-Mikrosphären wurde während eines in-vitro Injektionstests keine Aggregation der Mikrosphären, Verstopfung der Mikrokatheter oder Sammlung der Partikel im Katheterstutzen beobachtet. Die in-vitro Studie zeigte eine leichte Injektionsfähigkeit der Mikrosphären bis hin zu einer Partikelgröße von 930 μm durch einen 3 Fr Mikrokatheter (3 Fr Renegade, Boston Scientific, Natick, Massachusetts) mit einem Lumendurchmesser von 0.027“. Ab einer Größe von 500 μm zeigten die Partikel nach Austritt aus dem Katheter Formveränderungen von rund zu oval, aber keine Anzeichen von Schädigungen oder Frakturen. Eine Injektion von Partikeln mit größerem Durchmesser war zwar möglich, verlief aber nur mäßig leicht und führte zu Schädigungen und Frakturierungen der Partikel. Mit Zunahme der Partikelgrößen stieg proportional der prozentuale Anteil an beschädigten Partikeln. Darüber hinaus konnten Partikel der Größe 100 – 150 μm leicht und ohne Deformation und Schädigung durch einen 2.4 Fr Mikrokatheter mit einem inneren Lumen von 0,0165“ (Excelsior; Boston Scientific, Natick, Massachusetts) injiziert werden. Partikel mit einer Größe von bis 730 μm ließen sich unter Deformation durch einen 2.6 Fr Mikrokatheter (Lumen 0,019“, Excelsior; Boston Scientific) verabreichen (Weng et al. 2011b). In einer anschließenden in-vivo Studie im Kaninchen konnten Partikel der Größe 100 – 300 μm problemlos durch einen Standard 2.8-Fr Mikrokatheter (2.8 Fr Renegade HI-FLO; Boston Scientific, Cork, Irland) mit einem inneren Durchmesser von 0.027“ injiziert werden (Weng et al. 2013c). Auch weitere vergleichbare

Studien haben die Injektionsfähigkeit neu entwickelter Mikrosphären durch unterschiedliche Kathetersysteme analysiert und als leicht empfunden (siehe Tab. 19).

Tabelle 19: Übersicht Injektionsfähigkeit bioresorbierbarer Partikel

Material	Studie	Versuchsmodell	Katheter	Lumen	Hersteller	Partikelgröße	Injektionsfähigkeit
Chitosan	Kwak et al. 2005	Kaninchen	4 F Cobra	0.041"	Terumo, Tokyo, Japan	150 – 250 µm	leicht
Gelatine	Ohta et al. 2007	Kaninchen	4 F Cobra	0.041"	Terumo, Tokyo, Japan	35 – 100 µm 100 – 200 µm 200 – 300 µm	n/a
	Ohta et al. 2013	Kaninchen	4 F Cobra	0.041"	Terumo, Tokyo, Japan	100 µm 1000 µm	n/a
Alginat Hydrogel	Forster et al. 2010	Schaf	2.7 F Progreat ®	0.025/7"	Terumo, Tokyo, Japan	500 µm	leicht
Carboxymethylcellulose-Chitosan Hydrogel	Weng et al. 2011	in-vitro	2.4 F Excelsior 2.6 F Excelsior 3 F Renegade	0.0165" 0.019" 0.027"	Boston Scientific, Massachusetts, USA	100 – 300 µm 300 – 500 µm 500 – 730 µm 730 – 930 µm 930 – 1,080 µm 1,080 – 1,280 µm	leicht bis mäßig
	Weng et al. 2013	Kaninchen	3 F Renegade HI-FLO	0.027"	Boston Scientific, Cork, Ireland	485 ± 50 µm 620 ± 177 µm 689 ± 132 µm	leicht
	Weng et al. 2013	Kaninchen	2.8 F Renegade HI FLO	0.027"	Boston Scientific, Cork, Ireland	100 – 300 µm	leicht
	Weng et al. 2013	Kaninchen	2.8 F Progreat ®	0.027"	Terumo, Tokyo, Japan	100 – 300 µm	leicht
	Weng et al. 2015	Kaninchen	2.7 F Progreat ®	0.025"	Terumo, Tokyo, Japan	300 – 500 µm	leicht
	Weng et al. 2018	Kaninchen	2.4-F Progreat ®	0.022"	Terumo, Tokyo, Japan	300 – 500 µm	n/a
PLGA-PEG-PLGA Hydrogel	Louquet et al. 2014	in-vitro	2.1 F Echelon™ 10	0.017"	EV3, Plymouth, USA	300 – 500 µm	leicht
	Maeda et al. 2013	Schwein	4 F Cobra	0.041"	Terumo, Tokyo, Japan	300 – 500 µm 500 – 700 µm 700 – 900 µm	leicht
	Verret et al. 2014	Schaf	2.7 F Progreat ®	0.025/7"	Terumo, Tokyo, Japan	500 – 700 µm	leicht

Eine mögliche Erklärung für die mäßige Injektionsfähigkeit ist eine reduzierte Elastizität und Flexibilität der Polydioxanon-Mikrosphären. Die Carboxymethylcellulose-Chitsoan-Mikrosphären bestehen aus einem Hydrogel, das einen niedrigen Oberflächenreibungskoeffizienten aufweist und daher nicht adhäsiv ist. Darüber hinaus lassen sich die kompressiblen, viskoelastischen Mikrosphären bis 33% ihrer Ursprungsgröße deformieren, sodass die Mikrosphären durch einen Mikrokatheter mit einer Lumengröße, die kleiner als die Größe der Mikrosphären ist, ohne Kompromittierung ihrer Struktur passen

(Weng et al. 2011b). Die Kompressibilität der Carboxymethylcellulose-Chitosan-Mikrosphären ist dabei vergleichbar mit den kommerziell verfügbaren Embolisationsmaterialien Embosphere™, Embogold™, Contour SE™ and Bead Block™ (Lewis et al. 2006). Auch die Mikrosphären aus PLGA-PEG-PLGA oder Alginat bestehen aus einem kompressiblen Hydrogel. Über die Elastizität und Flexibilität von Polydioxanon als Rohmaterial liegen keine Informationen vor. Nahtmaterial aus Polydioxanon weist eine gute Elastizität und Flexibilität auf im Vergleich zu anderen monofilamentösen Nahtmaterialien (Ray et al. 1981). Boland et al. hypothetisieren, dass mechanische Eigenschaften wie die Flexibilität und Elastizität des Fadens durch die Art des Weiterverarbeitungsprozess bestimmt wird (Boland et al. 2005). Somit ist es möglich, dass die Elastizität und Flexibilität des PDS-Nahtmaterials nicht auf die Mikrosphären zu extrapolieren ist.

Eine weitere mögliche Erklärung für die limitierte Handhabbarkeit der PDO-Mikrosphären ist das Sedimentationsverhalten der Partikel. Sie ließen sich zwar in einer Suspension aus isotoner Kochsalzlösung und Kontrastmittel innerhalb weniger Minuten gut und homogen lösen, allerdings sedimentierten die Partikel schnell, sodass die beladene Medaillon-Spritze regelmäßig während der Injektion geschwenkt werden musste um eine gleichmäßige Suspension zu erhalten und einer Ansammlung oder Verstopfung im Katheterstutzen vorzubeugen. Es ist anzumerken, dass das Suspensionsverhalten stark von der Viskosität der Lösung, also von der Art des verwendeten Kontrastmittels und dem Mischverhältnis mit Kochsalzlösung abhängt. Das Suspensionsverhalten wird außerdem durch die verwendete Partikelgröße bestimmt, wobei größere Mikrosphären im Allgemeinen schneller aus der Suspension sedimentieren. Zur Verbesserung dieses Umstandes wurden entweder 20% humanes Albumin oder eine 5% Glukose-Lösung als Hilfsstoff beigemischt. Mit einer höheren spezifischen Dichte, als die isotoner NaCl-Lösung ($0,9\% \text{ NaCl} = 1,005 \text{ g/cm}^3$, $5\% \text{ Glukose} = 1,017 \text{ g/cm}^3$, $20\% \text{ humanes Albumin} = 1,057 \text{ g/cm}^3$) und einer erhöhten Viskosität sollte das Beifügen der Hilfsstoffe die Sedimentationsgeschwindigkeit der Partikel verringern. Albumin diene darüber hinaus als Emulgator für eine verbesserte Dispersion der Partikel im Injektionsgemisch. Das Hinzufügen der Glukose-Lösung führte subjektiv zu keinem verbesserten Sedimentations- oder Injektionsverhalten und wurde daher nur einmalig angewandt. Das Beimischen von humanem Albumin führte zu einem verbesserten Suspensionsverhalten und bei Partikeln der Größe $100 - 150 \mu\text{m}$ ebenso zu einem verbesserten Injektionsverhalten. Es kann daher als Hilfsstoff für die Injektion empfohlen werden.

Für eine sichere klinische Anwendung ist eine problemlose Injektion des Embolisationsmaterials unabdingbar. Regelmäßige Verstopfungen gelten dabei als nicht akzeptabel. Auf der einen Seite verlängern sie die Interventionsdauer auf signifikante Weise. Auf der anderen Seite besteht durch eine erschwerte Injektionsfähigkeit der Mikrosphären

die Gefahr von nicht-zielgerichteten Embolisationen wie zum Beispiel Überembolisationen oder gar Embolisationen von Nicht-Zielorganen. Eine gute Injektionsfähigkeit geht mit einer besseren Steuerbarkeit, d.h. mit einem vorhersehbaren, kontrollierten und zielgerichteten Gefäßverschluss einher und ist essentiell für die Sicherheit eines Embolisationsverfahrens.

6.3 Wirksamkeit der Mikrosphären

Im Rahmen der vorliegenden Versuchsreihe konnte nachgewiesen werden, dass PDO-Mikrosphären einen wirksamen Gefäßverschluss verursachen, welcher sich sowohl mittels Bildgebung (Aniographie und MRT) als auch in der Histopathologie (markoskopisch und mikroskopisch) darstellen lässt.

Eine Grundvoraussetzung für die klinische Anwendbarkeit neu-entwickelter Embolisationsmaterialien ist eine effektive Embolisation (Laurent 2007, Senturk et al. 2010). Die Wirksamkeit der Embolisation wurde zu Beginn der Studie als der bildgebungstechnische Embolisationseffekt durch Perfusionsausfall in Angiographie und MRT, sowie der histopathologische Gefäßverschluss und Infarktnachweis definiert.

Bildgebender Embolisationseffekt

Die post Embolisation erstellten Angiogramme wiesen in allen 15 Patienten eine Okklusion des embolisierten Gefäßes, sowie korrelierende Parenchymdefekte im embolisierten Areal nach. Prä Embolisation waren keine Abweichungen einer physiologischen Gefäßanatomie sichtbar. Auch die Persistenz des Gefäßverschlusses 10-15 Minuten nach der Embolisation konnte in allen Fällen angiographisch bestätigt werden. Zur Beurteilung des bildgebenden Embolisationserfolgs und ableitend davon der Wirksamkeit der Partikel, wurde der in 4.6.2.1 beschriebene Embolisationsscore angewandt.

Die Auswertung der Tiere in den bildgebenden Modalitäten zeigte einen mittleren Embolisationsscore von $1,75 \pm 0,75$ in der Angiographie und $1,29 \pm 0,95$ in der Magnetresonanztomographie. Für eine Beurteilung der Wirksamkeit wurde der Score exkl. Akuttiere als Messwert herangezogen, da für die Akuttiere eine vollständige Embolisation (E = 3) angestrebt wurde und den mittleren Embolisationsscore damit fälschlicherweise erhöhen würde. Der ermittelte Score weist darauf hin, dass eine Zielembolisation mit einem Score von E = 1 in den meisten Fällen erfolgreich erreicht werden konnte und der Gefäßverschluss in allen Fällen bildgebungstechnisch nachzuweisen war.

In 10/12 (83,3%) der Fälle gelang eine selektive Ziel-Embolisation eines Nierenpols (9/10 kaudal, 1/10 kranial). In zwei Tieren (G0112/14-6, G0112/14-14) zeigte sich eine unerwünschte, nicht-selektive Embolisation, welche möglicherweise auf eine unbefriedigende Injektionsfähigkeit (G0112/14-14) und eine zu große Injektionsmenge (G0112/14-6) zurückzuführen ist. Darüber hinaus schien die Größe des mittels Bildgebung

sichtbaren Perfusionsausfalls mit der Größe des Partikeldurchmessers zuzunehmen. Partikel der Größe 90 – 315 µm waren angiographisch häufiger mit einem weiter proximal gelegenen Gefäßverschluss und einem größeren Infarktareal assoziiert. Ohta et al. erreichten vergleichbare Ergebnisse und konnten histopathologisch nachweisen, dass Partikel mit einer Größe > 100 µm die Interlobulararterien verschlossen und Partikel mit einer Größe < 100 µm die Interlobulararterien erreichten (Ohta et al. 2007). Das Risiko für Fehlembolisation/Überembolisationen/nicht-selektive Embolisationen ist daher bei großen Embolisationspartikeln einzukalkulieren.

Die Embolisation mit 100 – 150 µm großen Partikeln, welche wie in Kapitel 6.2 diskutiert leichter zu injizieren waren, zeigte in der Angiographie einen mittleren Embolisationscore (E = 1,5), der näher am Zielembolisationscore lag als der Embolisationscore als Partikel der Größe 90 – 315 µm (E = 2) und unterstützt damit die Annahme, dass das Erreichen eines gezielten und definierten Embolisationslevels mit der Injektionsfähigkeit der verwendeten Partikel korreliert. Allgemein lässt sich daher ableiten, dass die Verwendung von Partikeln der Größe 100 – 150 µm zu einer besseren Steuerbarkeit unter Verwendung des 3Fr Katheters führt. Die Steuerbarkeit eines Embolisationsverfahrens im Sinne eines vorhersehbaren, kontrollierten und zielgerichteten Gefäßverschlusses ist essentiell für die Sicherheit des Eingriffs. Hierbei gilt allgemein die Annahme, dass sphärische Partikel wie Embozene™, Embosphere®, Beadblock® oder Contour SE® im Vergleich zu den irregulären PVA-Partikeln aufgrund ihrer leichteren Injektionsfähigkeit eine bessere Steuerbarkeit und Sicherheit aufweisen.

Für die Unterschiede in den ermittelten Durchschnittswerten in Angiographie und Kernspintomographie sind verschiedene Erklärungen möglich. Zum einen wurde die Kernspintomographie nur stichprobenweise an einzelnen Tieren durchgeführt. Die Auswahl dieser Tiere erfolgte willkürlich und je nach zeitlicher und räumlicher Verfügbarkeit des MRT. Demnach waren nicht für alle Tiere Bilder aus den beiden bildgebenden Modalitäten zur Auswertung verfügbar, sodass ein direkter Vergleich der Mittelwerte beider Modalitäten nicht aussagekräftig erscheint. Zum anderen handelt es sich bei der Kernspintomographie um eine dreidimensionale Modalität, welche eine umfassendere und reellere Einschätzung des Infarktolumens und -lokalisierung ermöglicht als die Angiographie. In der zweidimensionalen Angiographie sind sichtbare Perfusionsausfälle möglicherweise überrepräsentiert und würde einen höheren Durchschnittsscore erklären. Eine weitere mögliche Erklärung für die Diskrepanzen ist die Redistribution der Partikel post Embolisation. Durch den pulsatilem Blutfluss können die Partikel nach der Intervention tiefer in das Gefäßsystem eingedrungen sein und somit in der circa 1h später durchgeführten MRT-Untersuchung einen geringeren sichtbaren Perfusionsdefekt hervorgerufen haben. Dies erscheint insbesondere für ein Tier

möglich (G0112/14-7), in welchem angiographisch eine deutliche Gefäßembolisation nachgewiesen wurde, in der Kernspintomographie jedoch kein Perfusionsausfall sichtbar war. In der statistischen Auswertung ergaben die Ergebnisse einen Kappa-Koeffizient von 0,621 mit einem Signifikanzniveau von 0,001 und bestätigen dennoch einen substantiellen Übereinstimmungsgrad der Modalitäten (Landis and Koch 1977).

Die MRT zur Beurteilung des Embolisierungserfolges unmittelbar nach der Embolisierung wurde in dieser Studie erstmals angewandt. In der Humanmedizin wird die Kernspintomographie insbesondere zur Interventionsplanung prä Embolisierung durchgeführt und anschließend in determinierten Zeitintervallen der Nachsorge zur Beurteilung der Wirksamkeit genutzt. Die vorliegende Studie scheint für eine MRT-Untersuchung unmittelbar post Embolisierung keinen eindeutigen Vorteil darstellen zu können. In der Verwendung von Embolisierungspartikeln, welche sich mittels MRT visualisieren lassen, kann eine solche Untersuchung hilfreich sein, um die Verteilung der Partikel und dessen Wirksamkeit einzuschätzen. Ein Beispiel hierfür sind Partikel, welche mit superparamagnetischem Eisenoxid (SPIO) imprägniert sind und sich in der T2 * Sequenz darstellen lassen (S. Y. Choi et al. 2015). Darüber hinaus bestehen weitere Möglichkeiten einer in-vivo Partikelvisualisierung mittels Fluoroskopie, CT oder MRT, durch Partikel welche mit Lipiodol, Iod oder auch Barium-Sulfat beladen sind (Sharma et al. 2010, Bartling et al. 2011, Stampfl et al. 2012). Diese Materialeigenschaft wird wesentlicher Bestandteil zukünftiger Studien sein.

Histopathologischer Embolisierungseffekt

In Geweben mit nur einer Blutversorgung und minimalen Anastomosen, wie zum Beispiel das Endstromgebiet der Niere, führt der Verschluss arterieller Gefäß zur Entstehung eines Infarktes im nachgeschalteten Gewebe. Ein Infarkt ist per definitionem eine herdförmige Koagulationsnekrose, welche nach akuter Ischämie zum Beispiel durch eine arterielle Durchblutungsstörung auftritt (McGavin and Zachary 2009). Koagulationsnekrosen des Nierenparenchyms werden durch hypoxische Schädigung des Gewebes hervorgerufen und sind durch den Erhalt der ursprünglichen Zellgrenzen der nekrotischen Zellen, bei gleichzeitiger Kernpyknose bzw. Karyolyse gekennzeichnet.

Makroskopisch unterscheiden sich Niereninfarkte in Abhängigkeit des verschlossenen Gefäßkalibers und des Infarktalters. Bei Verschluss der Nierenarterie oder mehrerer Interlobararterien kommt es beispielsweise zum Infarkt der gesamten Niere. Verlegungen einzelner Aa. interlobares verursachen segmentale Infarkte der Nierenrinde und des Nierenmarks. Verschlüsse kleinerer Gefäße wie zum Beispiel der Aa. arcuatae führen zu subtotalen Infarkten, während Verschlüsse der Aa. interlobulares zu kleinen, kortikalen Infarkten führt. In der vorliegenden Studie wurde keine präzise Analyse der arteriellen

Partikelverteilung durchgeführt. Die Partikel waren sowohl in den kleinen Gefäßen wie z.B. Aa. interlobulares als auch in den großen Gefäßen wie Aa. interlobares vorzufinden. Keine Partikel oder Partikelfragmente waren in den Glomeruli oder den peritubulären Kapillaren nachzuweisen. Im Hinblick auf die makroskopische Auswertung ist in zwei Tieren davon auszugehen, dass eine Überembolisation bis in die A. renalis oder mehrere Interlobararterien stattgefunden hat, welche zur nahezu vollständigen Embolisation der gesamten Nieren führte. In zwei weiteren Tieren waren keine segmentalen Infarkte sondern Mikroinfarkte/kortikale Infarkte sichtbar, welches für eine Embolisation der Aa. arcuatae oder Aa. interlobularis spricht. In den übrigen acht Kaninchen konnte eine selektive Embolisation der Aa. interlobares nachgewiesen werden. In einem dieser Tiere konnte eine selektive Embolisation des kranialen Nierenpols durchgeführt werden, wenn auch der kaudale Pol angestrebt wurde, welches jedoch keinen weiteren Einfluss auf die Studie hat. Die Auswertung des makroskopischen Embolisationseffektes zeigte einen mittleren Embolisationsscore von 1,5 ($\pm 0,90$), welches daraufhinweist, dass eine Zielembolisation (Idealscore E= 1) in den meisten Fällen erfolgreich war und die PDO-Mikrosphären einen wirksamen Gefäßverschluss hervorrufen. Die makroskopisch sichtbaren Infarktareale korrelierten dabei signifikant mit den embolisierten Bereichen in Angiographie und MRT (Kappa-Koeffizient = 0,621 mit Signifikanzniveau = 0,001). Es wird davon ausgegangen, dass mit einer Verbesserung der Injektionsfähigkeit der Partikel eine Verbesserung der Zielembolisation und des Embolisationsscores sowohl in der Angiographie, als auch in der Kernspintomographie und letztlich der Makroskopie erreicht werden kann.

Die unbehandelten, kontralateralen Nieren, welche als Kontrollgruppe zur Verfügung standen zeigten in keinem der Tiere makroskopische Hinweise für eine Nicht-Zielembolisation. Ebenso befanden sich die übrigen abdominalen Organe in der Sektion in physiologischem Zustand. Für die Verwendung von Polydioxanon-Mirkosphären besteht demnach kein Risiko für eine Embolisation von Nicht-Zielorganen.

Die im zeitlichen Verlauf dieser Studie beobachteten morphologischen makroskopischen und mikroskopischen Merkmale der Infarkte entsprechen den in der wissenschaftlichen Literatur dokumentierten Verlauf eines Niereninfarktes (McGavin and Zachary 2009, Baumgärtner and Gruber 2020). Makroskopisch zeigte sich der akute Infarkt zu Beginn hämorrhagisch und geschwollen, anschließend ischämisch mit hyperämischen Randsaum und einer entzündlichen Reaktionszone aus infiltrierenden Leukozyten. Die chronisch ausgeheilten Infarkte, wie sie bereits nach einigen Wochen zu erwarten sind, kennzeichneten sich durch eine fibrosierte und kapillarsierte Gewebsnarbe mit Einsenkung der kortikalen Oberfläche und zunehmender Verkalkung. Als Folge des Gewebeuntergangs mit chronisch, fibrotischen Umstrukturierungsprozessen zeigten sich die Nieren im fortgeschrittenen

Beobachtungszeitraum mit einer sichtbaren Größenreduktion im Vergleich zur kontralateralen Kontrollniere. Insbesondere bei vollständig embolisierten Nieren im fortgeschrittenen Stadium führte die Intervention, ähnlich wie bei einer chronischen Nierenerkrankung, zur Entstehung einer Schrumpfniere (Levey and Coresh 2012).

Mikroskopisch äußerten sich die Niereninfarkte charakteristisch als fokale Koagulationsnekrosen, deren Randbereiche durch einen leukozytären Saum entzündlich demarkiert und somit vom gesunden Gewebe abgrenzbar waren. Ein schmaler Streifen Nierenrinde zeigte noch erhaltenes Parenchym, das per diffusionem aus dem Kapillarnetz der Kapsel versorgt wurde. Die Zellen der nekrotischen Nephrone im Infarktareal zeigten in der HE-Färbung ein homogenes, eosinophiles Zytoplasma mit Karyolyse. Nach 1 bzw. 4 Wochen waren histologisch erste Anzeichen einer dystrophischen Parenchymverkalkung nachzuweisen. Dystrophische Verkalkungen kommen unabhängig von der Nekroseform in allen nekrotischen Bereichen aufgrund einer gestörten Calciumhomöostase in den zugrundegehenden Zellen vor und wurden bereits in anderen, vergleichbaren tiexperimentellen Studien nachgewiesen (Stampfl et al. 2008). Histologisch lassen sich die Calcium-Ablagerungen mit Hämatoxylin blau anfärben und identifizieren. Eine sichere Differenzierung ist jedoch mit einer Spezialfärbung wie z.B. nach von Kossa notwendig, insbesondere um das Ausmaß zu bestätigen.

Neben den makroskopisch und mikroskopisch nachweisbaren Parenchymveränderungen liess sich der Embolisierungseffekt außerdem durch das Auftreten von Polydioxanon-Mikrosphären mit einhergehender Thrombusbildung im Gefäßsystem nachweisen. Dabei stellte sich die Thrombusbildung nach 1 Woche durch eine Aggregation an Thrombozyten und Erythrozyten in einem Netz von Fibrinfäden dar. Sie waren teilweise endothelisiert und organisiert und enthielten seltene Kapillaren, einige heterophile und mononukleäre Entzündungszellen und keine Makrophagen. Siskin et al. zeigten, dass der Verschluss von Nierengefäßen die mit sphärischen Partikeln embolisiert wurden, ausschließlich oder überwiegend von Embolisierungspartikeln bewerkstelligt wird. Im Vergleich hierzu ist der Gefäßverschluss mit irregulären PVA-Partikeln größtenteils auf eine Thrombusbildung zurückzuführen (Siskin et al. 2003). Im Rahmen der vorliegenden Embolisierungsstudie zeigten die PDO-Mikrosphären trotz ihrer sphärischen Form eine geringgradige Thrombusbildung in den Partikelzwischenräumen. Eine moderate Thrombusbildung wurde auch für die sphärischen Partikel Embosphere® oder Embosphere®- Mikrosphären nachgewiesen (Laurent et al. 2004, Stampfl et al. 2007a, Stampfl et al. 2008) und ist daher als physiologisch zu werten.

Die histopathologische Untersuchung der Partikelwirksamkeit ergab, dass PDO-Mikrosphären nach selektiver Nierenembolisierung einen Gefäßverschluss mit makroskopisch

und mikroskopisch nachweisbarer ischämischer Koagulationsnekrose im Sinne eines Niereninfarktes verursachen und somit den Zweck eines Embolisationspartikels erfüllen. Die beschriebenen histopathologischen Effekte sind dabei vergleichbar mit denen von kommerziell verfügbaren permanenten oder temporären Embolisationsmaterialien. In der vorliegenden histopathologischen Studie schien die Größe der verwendeten Partikel keinen Einfluss auf die Entstehung eines Niereninfarktes zu haben. Auch die Ergebnisse der angiographischen und kernspintomographischen Untersuchungen zeigten, dass die PDO-Mikrosphären beider Größen einen adäquaten embolischen Effekt aufwiesen und sind somit in Ihrer Wirksamkeit bestätigt. Dabei ist eine zielsichere Embolisation insbesondere durch Partikel der Größe 100 – 150 µm zu erreichen. Mögliche Unterschiede im Verteilungsmuster der zwei Partikelgrößen konnte aufgrund fehlender Verteilungsanalysen in der vorliegenden Studie nicht nachgewiesen werden.

Eine zukünftige wirksame Anwendung in kathetergestützte Embolisationsverfahren am Menschen ist anhand der vorliegenden Ergebnisse denkbar. Zu Bedenken gilt jedoch, dass selbst der vorübergehende Verschluss einer Endarterie wie zum Beispiel in der Niere unwiderruflich zu einer Infarzierung des betroffenen Organes führt und somit alleine nicht beweisend für die Wirksamkeit der Partikel in Nicht-Endorganen ist. Bereits ein kurzfristiger Gefäßverschluss von 30 Minuten ist einer Studie zufolge ausreichend für eine irreversible Infarktbildung/Nekrose der Niere (Shomura et al. 2011). Die für eine effektive Tumornekrose notwendige Dauer der Gefäßokklusion/Ischämie in Nicht-Endorganen muss noch final determiniert werden (Verret et al. 2014). Wir empfehlen vor einer klinischen Anwendung daher die Untersuchung der PDO-Mikrosphären in Nicht-Endorganen wie der Leber oder dem Uterus.

6.4 Resorbierbarkeit der Mikrosphären

Die durchgeführte Studie liefert den Beweis einer Resorbierbarkeit der neu entwickelten PDO-Mikrosphären. Die PDO-Mikrosphären zeigten nach 8-12 Wochen angiographisch Anzeichen für eine Reperfusion und nach 16 Wochen eine nahezu vollständige histopathologische Degradation.

Bildgebender Reperfusionseffekt

In allen Tieren war prä Embolisation eine physiologische Gefäßanatomie mit homogener Parenchymopazifizierung zu erkennen. Die unmittelbar nach der Embolisation erhaltenen Angiogramme zeigten eine Okklusion der selektierten Arterien, sowie korrelierende keilförmige Parenchymdefekte, welche auch nach 10 – 15 Minuten persistierten. Die durchgeführten Kontrollangiographien am Ende der Beobachtungszeiträume zeigten je nach Standzeit unterschiedliche Anzeichen einer Reperfusion. Zur Objektivierung der Reperfusion

wurde der in Kapitel 4.6.3.1 entwickelte Okklusionsscore angewandt. Der durchschnittliche Okklusionsscore am Tag der Embolisation beträgt 2,33 (\pm 0,65) und am Tag der Kontrolluntersuchungen 1,08 (\pm 0,90). Die Reduktion in den ermittelten Okklusionsscores gibt damit ersten Hinweis auf eine erfolgte Reperfusion im embolisierten Gefäßbett, welcher sich statistisch als signifikant erwies ($p= 0,002$). Die qualitative Betrachtung der Reperfusion zeigte unabhängig von der Standzeit in einem Tier (8,3%) keine Anzeichen von Reperfusion. In acht Tieren (66,7%) konnte eine partielle Reperfusion und in drei Tieren (25%) eine vollständige Reperfusion nachgewiesen werden. Dabei waren ab Woche 1 erstmalig Anzeichen einer partiellen Reperfusion und ab Woche 8 Anzeichen einer vollständigen Reperfusion zu erkennen, Das angiographische Erscheinungsbild der reperfundierten Gefäße unterschied sich nicht von der Gefäßmorphologie vor dem Embolisationsverfahren. Nach 16 Wochen waren allerdings nur partiell reperfundierte Gefäße detektierbar.

Der mittlere Okklusionsscore für die Partikel der Größe 100-150 μm beträgt 2,2 (\pm 0,45) am Tag der Embolisation und 0,80 (\pm 0,45) am Tag der Kontrolluntersuchung. Für die Partikel der Größe 90-315 μm betragen 2,43 (\pm 0,79) und 1,3 (\pm 1,11) respektive. Diese Werte signalisieren, dass die Rekanalisierung bei kleinen Partikeln ausgeprägter zu sein scheint als bei größeren Partikeln. Aufgrund der unterschiedlichen Anzahl an Kaninchen pro Gruppe war ein verlässlicher statistischer Vergleich zwischen den Standzeiten und insbesondere den zwei Partikelgrößen allerdings nicht möglich, wenn auch die ersten Informationen dieser Pilotstudie vielversprechende Reperfusionsergebnisse für degradierbare PDO-Mikrosphären liefern. Die Bestimmung der Reperfusion beruhte auf einer subjektiven Auswertung der Angiographiebilder und wurde mittels des zugrundeliegenden semi-quantitativen Scores objektiviert. Ähnliche Scoring-Systeme zur Bewertung einer angiographischen Reperfusion wurden in vorhergehenden Studien erfolgreich angewandt und sind somit als Methode etabliert (Stampfl et al. 2008, Maeda et al. 2013). Eine subjektive Befangenheit ist dennoch nicht auszuschließen.

Anzunehmen ist, dass die angiographisch sichtbare Reperfusion in einer Verwendung von temporären Embolisationsmaterialien alleine auf die Degradation der Embolisationspartikel zurückzuführen ist. Nichtsdestotrotz wurde eine Reperfusion auch in der Verwendung von nicht-resorbierbaren, permanenten Embolisationsmaterialien in diversen Tiermodellen als Phänomen beschrieben, weshalb weitere Mechanismen diskutiert werden müssen. Laurent et al. berichten beispielsweise von einer 60-65% Reperfusionsrate 26 Monate nach Embolisation mit PVA und TAGM im Uterusmodell (Laurent et al. 2009). Auch nach Embolisation der Niere, einem Endorgan, mit unterschiedlichen permanenten Embolisationspartikeln ist eine angiographische Reperfusion beschrieben (Bilbao et al. 2008, Stampfl et al. 2008). Die Autoren diskutieren hierfür diverse zugrundeliegende Mechanismen. Dabei kommen als Ursachen für eine angiographisch sichtbare Reperfusion

sowohl die Bildung neuer Gefäßäste (Neoangiogenese), eine Wiederherstellung des Blutflusses um die Mikrosphären durch Resorption des Thrombus (Thrombolyse), eine sekundäre Redistribution der Partikel, als auch eine transvaskuläre Migration/Extravasation und Partikelexklusion als mögliche Reperfusionursachen in Frage (Bilbao et al. 2008, Stampfl et al. 2008). Inwiefern diese Mechanismen auch an der Reperfusion von mit temporären Materialien embolisierten Gefäßen beteiligt sind, lässt sich anhand der aktuellen Literatur nicht final beantworten. Die vorliegende Studie versucht eine Beteiligung der oben genannten Mechanismen (Neoangiogenese, Thrombolyse, sekundäre Partikelredistribution und Partikelexklusion) anhand histopathologischer Veränderungen zu untersuchen, welches im Folgenden näher diskutiert wird.

Mikroskopische Partikeldegradation

Die PDO-Mikrosphären demonstrierten im Laufe des Beobachtungszeitraums multiple, in einem zeitlichen Trend verlaufende, Veränderungen in der Partikelmorphologie. Die PDO-Partikel zeigten sich in der HE-Färbung zunächst als beige, sphärische Partikel mit glatter Kontur und einer homogenen Binnenstruktur ohne zelluläre Infiltration. Im Laufe der Partikeldegradation wiesen die Partikel raue Konturen mit zellulärer Infiltration und inhomogener, vakuolisierter Binnenstruktur auf. Mit fortschreitender Degradation zerbrachen die Partikel zu einzelnen Fragmenten und waren von einer deutlichen zellulären Infiltration begleitet. Einzelne Fragmente waren nur durch die Jones-Silber-Färbung eindeutig vom infarzierten/fibrosierten Nierenparenchym zu unterscheiden und stellten sich in der Silberfärbung, im Vergleich zu dem sich rosa angefärbten Nierenparenchym, grau dar. Zu Beginn der Studie war geplant, die Partikeldegradation anhand der Reduktion im mittleren Partikeldurchmesser zu bestimmen. Anhand der beobachteten morphologischen Veränderungen ist jedoch davon auszugehen, dass der Degradationsmechanismus auf einem Verlust der Binnenstruktur/einem Zerbrechen von innen heraus beruht und nicht auf einer gleichmäßigen Abnahme im Partikeldurchmesser. Somit wurde der in Kapitel 4.6.3.2 Degradationsscore entwickelt. Ähnliche Scores sind in ihrer Anwendung bereits etabliert (Ohta et al. 2007, Weng et al. 2013c, Weng et al. 2015).

Der durchschnittliche Degradationsscore der histologischen Auswertung beträgt $D = 0,04$ für die Gruppe 0 = Akutgruppe, $D = 0,38$ für Gruppe 1 (1 Woche post Embolisation), $D = 1,28$ für Gruppe 2 (4 Wochen post Embolisation), $D = 1,74$ für Gruppe 3 (8 Wochen post Embolisation), $D = 2,2$ für Gruppe 4 (12 Wochen post Embolisation) und $D = 2,86$ für Gruppe 5 (16 Wochen post Embolisation). Die mikroskopische Auswertung der Partikeldegradation von 2933 Partikeln über einen Beobachtungszeitraum von 16 Wochen bestätigte somit, dass die untersuchten PDO-Partikel das Potential haben, sich innerhalb des Gefäßsystems zu resorbieren. Die vorliegende histologische Studie liefert darüber hinaus wertvolle Hinweise

auf die zugrundeliegenden Degradationsmechanismen. Der exakte intravaskuläre Degradationszeitpunkt der PDO-Partikel konnte aus dieser Studie nicht abgeleitet werden. Die mikroskopische Auswertung der Partikeldegradation wies die PDO-Mikrosphären post mortem zu allen Zeitpunkten in den Arterien nach, zeigte jedoch mit fortschreitendem Kontrollzeitpunkt eine statistisch signifikante Zunahme des Degradationsscores ($p < 0,001$) im Sinne einer fortschreitenden Degradation über einen Zeitraum von 16 Wochen. Der Großteil der Partikel war nach 16 Wochen nahezu vollständig resorbiert, vereinzelt waren verbliebene Fragmente und extensiv degradierte Mikrosphären zu erkennen. Es wird hypothetisiert, dass die verbleibenden Partikelreste in den Folgewochen vollständig abgebaut werden. Die exakte Bestimmung des Degradationszeitpunktes würde weitere angiographische und histopathologische Untersuchungen erfordern, die über einen Untersuchungszeitraum von 16 Wochen hinaus gehen.

Ein statistischer Vergleich zwischen beiden Partikelgrößen war aufgrund der inhomogenen Gruppenverteilung nicht möglich. In den Fällen, in denen ein direkter Vergleich möglich war, zeigten Partikel der Größe 100-150 μm einen höheren Degradationsscore als die Partikel der Größe 90-315 μm . Dies lässt sich physikalisch durch ein geringeres Volumens und einer relativ vergrößerten resorptiven Oberfläche erklären und ist in anderen Studien gleichermaßen beschrieben (Ohta et al. 2013).

PDO-Mikrosphären degradieren etwa zeitgleich wie die resorbierbaren Mikrosphären aus Polylactid-co-glycolid (12-24 Wochen) (Owen et al. 2012) oder Chitosan (16-24 Wochen) (Kwak et al. 2005), jedoch später als Mikrosphären aus Carboxymethylcellulose-Chitosan (>3 Wochen) (Weng et al. 2015), Gelatine (>3 Wochen) (Ohta et al. 2007), Polyethylenglykol (<1 Woche) (Verret et al. 2014), wasserlöslichem PVA (>3 Wochen) (Shomura et al. 2011) oder Hydroxyethyl-acrylat (>2-3 Wochen) (Schwarz et al. 2004). Der ideale Zeitpunkt der Partikeldegradation ist indikations- und organabhängig daher bis dato nicht beschrieben. Im Beispiel der TACE liegt laut einer Metanalyse von Marelli et al. der mediane Abstand zwischen zwei aufeinanderfolgenden Zyklen in HCC Patienten bei 2 Monaten (4-12 Wochen) (Marelli et al. 2007). Ob eine TACE-Wiederholung zu einem definierten Zeitpunkt oder „on demand“ wie zum Beispiel basierend auf Ansprechrate und Verträglichkeit durchgeführt werden sollte, bleibt zu erörtern und wird derzeit von den Institutionen unterschiedlich gehandhabt.

Eine Resorptionszeit von circa 16-18 Wochen ist schneller als die initial dokumentierte Resorptionszeit von PDS-Nahtmaterial, welches laut einer in-vivo Studie von Ray et al. nach 182 Tagen (26 Wochen) hydrolytisch vollständig degradiert war (Ray et al. 1981). Die Degradationsrate von implantierten Materialien wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst, dabei spielen das Molekulargewicht, Polymorphologie, Kristallinität, Größe, Form und der Ort der Implantation eine Rolle (Gogolewski 2000). Die hier detektierte

Diskrepanz ist vermutlich auf ein unterschiedliches in-vivo Verhalten und Unterschiede im Umgebungsmilieu zurückzuführen. Während PDS-Nahtmaterial in der Studie von Ray et al. intramuskulär und subkutan implantiert wurde, wurde das Degradationsverhalten der PDO-Mikrosphären in der vorliegenden Studie intraarteriell untersucht, wo das Material konstant größeren Mengen an Blut und Blutbestandteilen, insbesondere Enzymen und Entzündungszellen ausgesetzt ist. Verschiedene Studien haben den positiven Einfluss der Implantationsstelle und der Gefäßaktivität auf die Abbaugeschwindigkeit von Polydioxanon nachgewiesen (Bhatia et al. 1994, Atkinson et al. 1998, Kimura et al. 2003). In einer Studie korrelierte das Bruchfestigkeitsprofil von in der Osteosynthese verwendeten PDO-Pins mit der Gefäßaktivität an der Implantationsstelle, d.h. Pins im stark vaskularisierten, intramedullären Kanal des Femurs wiesen dabei schnellere Abbaugeschwindigkeiten auf als PDO-Pins in der weniger gut durchbluteten Subkutis (Atkinson et al. 1998). Auch Kimura et al. zeigten, dass Polydioxanon Fasern nach intramedullärer Implantation signifikant schneller degradierten als im subkutanen Milieu (Kimura et al. 2003). Dies unterstützen auch vorherige Ergebnisse von Bhatia et al. in denen postuliert wurde, dass implantierte Polydioxanon-Pins an Stellen mit höherer metabolischer Aktivität und Blutversorgung schneller degradiert werden (Bhatia et al. 1994).

Eine Studie an Mikrosphären aus PLGA-PEG-PLGA- Hydrogel zeigte, dass die ermittelte Reperfusionrate negativ mit der Höhe der Infarktrate korrelierte (Maeda et al. 2013). Weng et al. ermittelten darüber hinaus unterschiedliche Degradationszeiten von Carboxymethylcellulose-Chitosan-Mikrosphären in partiell und vollständig embolisierten Nieren. Diese Befunde legen nahe, dass eine partielle Embolisation aufgrund der Bereitstellung von Entzündungszellen, proinflammatorischen Substanzen und flüssigen Blutbestandteilen durch den remanenten Blutfluss zu einem schnelleren Abbau der Mikrosphären führt (Weng et al. 2013c, Weng et al. 2015). Die vorliegende Studie unterstützt diese Hypothese, da bei genauerer Betrachtung in Tieren mit einer unerwünschten, vollständigen Embolisation ein niedrigerer Degradationsscore und Reperfusionsscore ermittelt wurde, als in vergleichbaren Tieren mit einer selektiven, partiellen Embolisation. Im übertragenen Sinne unterstützt dieses Erkenntnis auch die Annahme, dass die Degradationszeit der Polydioxanon-Mikrosphären in Nicht-Endorganen mit bestehenden Kollateralkreisläufen schneller von Statten läuft als in der Niere ist. Bei der Niere und ihrer Perfusion handelt es sich um ein Endstromgebiet. Der vollständige Gefäßverschluss im arteriellen System der Niere führt aufgrund von fehlenden Kollateralkreisläufen zu einem eingeschränkten Kontakt zwischen Blutbestandteilen und den injizierten Mikrosphären und somit zu einer verlängerten Resorptionsdauer. Es lässt sich daher vermuten, dass eine Embolisation der Leber oder anderen Nicht-Endorganen mit PDO-Mikrosphären aufgrund der bestehenden Kollateralkreisläufe zu einer kürzeren Resorptionsdauer als 16 Wochen

führt. Für experimentelle Folgestudien, insbesondere für einen potentiellen Nutzen in HCC- oder UAE Patienten, sollten die Partikel daher auch in einem Nicht-Endstromgebiet wie der Leber oder dem Uterus getestet werden (Ohta et al. 2007).

Der Mechanismus der in-vivo-Degradation von Polydioxanon ist nicht eindeutig geklärt. Synthetische Polymere wie Polylactid oder Polyglykolid werden in der Regel in mehreren Phasen, primär jedoch durch Hydrolyse abgebaut (Middleton and Tipton 2000, Liebehenschel 2004). Die Aufspaltung des Polymers beginnt mit der hydrolytischen Spaltung der Ester-Gruppen unter Abgabe von H₂O, wodurch Risse im Material entstehen. Es folgt eine zunehmend stärkere Zellreaktion durch Einwanderung von Makrophagen und Lymphozyten um die Polymerfragmente, welche die Degradation durch Phagozytose und enzymatische Hydrolyse voranschreiten lassen. Aufgrund der zellulären Enzyme erfolgt die Degradation daher in-vivo schneller als in-vitro (Liebehenschel 2004). Da Polydioxanon ein synthetisches Polymer ist, ist davon auszugehen, dass es dem Schicksal von Polylactid und Polyglykolid folgt. Die vorliegende Studie liefert Beweise, dass PDO-Mikrosphären nicht, wie zunächst angenommen alleine durch Hydrolyse degradieren, sondern auch durch einen enzymatischen Abbau und Phagozytose. Dies war mikroskopisch durch das Auftreten von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen in der Partikelumgebung und durch Partikelreste in den Fremdkörperriesenzellen zu erkennen. Die Betrachtung der fortgeschritten degradierten Polydioxanon-Partikel in der Jones-Silber-Färbung erlaubte eine sichere Identifikation von Partikeldetritus innerhalb der Gewebemakrophagen. Ähnliche Befunde aus anderen Studien und zu anderen Materialien unterstützen diese Vorstellung (Kwak et al. 2005, Forster et al. 2010, Weng et al. 2015). Für eine sichere Differenzierung der immunmedierten, zellulären Beteiligung sind immunhistochemische Färbungen nötig, die in dieser Pilotstudie nicht durchgeführt wurden.

Nur wenige Veröffentlichungen befassen sich mit der histologischen Gefäßrekanalisierung nach Embolisation mit resorbierbaren Embolisationsmaterialien. Die vorliegende Studie bestätigt zwar die Resorbierbarkeit der temporären PDO-Mikrosphären, die durchgeführte histopathologische Untersuchung zeigte jedoch trotz bildgebender Reperfusion keine vollständige mikroskopische Gefäßrekanalisierung. Somit müssen neben einer Partikeldegradation andere Mechanismen, wie bereits oben erwähnt, für die angiographisch sichtbare Reperfusion diskutiert werden. Die histopathologische Untersuchung zeigte Hinweise für die Bildung neuer Gefäßäste, somit ist eine Neoangiogenese als Teilursache zu nennen. Die Resorption des Thrombus, welcher im Zwischenraum der Partikeln nachgewiesen wurde und eine folglich partielle Rekanalisierung des Gefäßes, könnte für die angiographisch sichtbare Reperfusion ebenfalls verantwortlich sein. Zu späteren Degradationszeitpunkten lies sich kein thrombotisches Material mehr in den embolisierten

Gefäßen und eine partielle Gefäßrekanalisierung nachweisen, weshalb dies als Mechanismus wahrscheinlich scheint. Eine sekundäre Redistribution der Partikel könnte eine weitere Erklärung sein. Embolisationspartikel, insbesondere zu fortgeschrittenen degradierten Zeitpunkten, können aufgrund des pulsatilen Blutflusses nach der Embolisation weiter distal in das Gefäßbett gelangen, was zu einer angiographisch sichtbaren Reperfusion zuvor verschlossener proximaler Gefäßäste führt. Diese Hypothese erscheint auch im Rahmen der PDO-Mikrosphären plausibel. Kritisch zu diskutieren bleibt jedoch der Fakt, dass die PDO-Mikrosphären sich zu späteren Kontrollzeitpunkten in einer kollagenen Matrix eingebettet darstellten und ein „Weiterrutschen“ somit physikalisch erschwert erscheint. Eine finale Antwort kann nur durch eine Untersuchung der Partikelverteilung im zeitlichen Verlauf erhalten werden und sollte Ziel von Folgestudien werden.

Ab 8 Wochen post Embolisation waren einzelne PDO-Mikrosphären auch außerhalb der Gefäße zu erkennen. Mit 16 Wochen wurden regelmäßig Fragmente außerhalb der fibrosierten Gefäßlumina und destruierten Gefäßwände detektiert. Eine Partikelmigration- und -exklusion wurde auch für andere Embolisationsmaterialien nachgewiesen und ist womöglich auf eine Zerstörung der internen und externen elastischen Lamina und einen chronischen Gefäßumbau als Folge einer Fremdkörperreaktion zurückzuführen (Chiesa and Hart 2004, Bilbao et al. 2008, Laurent et al. 2009). Eine transvaskuläre Partikelmigration/Extravasation und Partikelexklusion ist somit auch für PDO-Mikrosphären als Erklärung für eine Reperfusion denkbar. Jedoch zeigten sich die Gefäße zu diesen Zeitpunkten meist chronisch soweit umgebaut, dass kein Gefäßlumen mehr zu erkennen war, weshalb dies als Reperfuptionsursache weniger wahrscheinlich erscheint.

Zusammenfassend lässt sich also sagen, dass die angiographisch sichtbare Reperfusion nicht alleine aufgrund der Partikeldegradation zu erklären ist, sondern eine Thrombolyse und sekundäre Partikelredistribution und -migration als Mechanismen ebenfalls beteiligt sein können.

Der bildgebende Reperfusionseffekt stieg analog zur Partikeldegradation bis 12 Wochen nach der Embolisation an, nahm dann jedoch wider erwartend bis 16 Wochen nach Embolisation wieder ab. Diese Beobachtung kann wie folgt erklärt werden: Mit fortschreitender Degradation der Partikel, Thrombolyse, sekundärer Partikelredistribution und Neoangiogenese erhöhte sich der bildgebende Reperfusionseffekt sukzessive bis 12 Wochen nach Embolisation. Zu späteren Kontrollzeitpunkten führte die mit der Fremdkörperwirkung einhergehende Inflammation zu einem chronischen Umbau der Gefäßwände mit Partikelexklusion und Gefäßstenosierung, sodass aufgrund der Gefäßobliteration die bildgebend sichtbare Reperfusion wieder abnahm. Histologisch konnte ausreichend Evidenz für eine chronische Gefäßremodellierung erhoben werden. Ein

ähnliches Phänomen wurde in einer weiteren Studie beobachtet (Ohta et al. 2013) und würde die oben genannten Befunde zusammenfassen. Die Ursachen und Folgen/Bedeutung der Gefäßobliteration werden im folgenden Kapitel genauer diskutiert.

6.5 Biokompatibilität der Mikrosphären

Im Allgemeinen wird Polydioxanon in der Literatur mit einer guten Biokompatibilität beschrieben. Der wesentliche Teil der Studien beläuft sich auf Untersuchungen an PDO-Nahtmaterial (Ray et al. 1981, Delbeke et al. 1983, Molea et al. 2000). Im Rahmen der vorliegenden Versuchsreihe konnte demonstriert werden, dass PDO-Mikrosphären eine gute Gewebeerträglichkeit im Sinne einer regulären Fremdkörperreaktion aufweist, welche sich histologisch mittels unterschiedlicher Färbeprotokolle sowohl für die embolisierten Gefäße als auch das Nierenparenchym darstellen lässt.

Eine Grundvoraussetzung für eine klinische Anwendbarkeit neu entwickelter Mikrosphären ist die Verträglichkeit des Materials im umliegenden Gewebe (Laurent 2007, Senturk et al. 2010). Embolisationsmikrosphären stellen implantierte Materialien dar, die aufgrund ihrer Fremdkörperwirkung in frühen Stadien der Produktentwicklung sorgfältig auf eine potentielle Toxizität untersucht werden müssen. Die Beurteilung und Charakterisierung embolisationsbedingter Entzündungsreaktionen ist ein viel diskutierter Faktor in der Erforschung und Genehmigung neuer Embolisationsmaterialien, insbesondere im Hinblick auf die Unterscheidung zwischen postischämischen und postnekrotischen, sowie materialspezifischen toxischen und allergischen Entzündungsreaktionen. Die Beurteilung erfolgt in den meisten Fällen durch Routine-Lichtmikroskopie mit Standardfärbetechnologien wie der HE- oder EvG-Färbung. Für eine detaillierte Analyse und Visualisierung der beteiligten zellulären Strukturen sind spezielle immunhistochemische Färbeverfahren nötig.

Bis dato besteht in der Literatur kein standardisierter Ansatz/Methodik zur Beurteilung der Biokompatibilität von Embolisationsmaterialien und Quantifizierung ihrer Entzündungsreaktion. Die Gewebeerträglichkeit der Polydioxanon-Mikrosphären der vorliegenden Studie wurde anhand der Entzündungsreaktion im Gewebe, als auch anhand der inflammatorischen Reaktion der Gefäßwände beurteilt.

Mikroskopische Gewebereaktion

Jede Koagulationsnekrose wird von einer vitalen Reaktion in Form einer Entzündung begleitet. In der frühen Phase, der sogenannten akuten Entzündung kommt es als Folge der Permeabilitätssteigerung der Kapillaren zur Einwanderung von Granulozyten, welche das Nekroseareal leukozytär demarkieren. Diese polymorphkernigen Entzündungszellen initiieren außerdem die Resorption des nekrotischen Gewebes. Bei einer Persistenz des Reizes kommt es nachfolgend zu einer chronischen Entzündungsreaktion, welche durch das

Einwandern von Lymphozyten und Monozyten, sowie deren Transformation zu Makrophagen gekennzeichnet ist. Eine Aktivierung von Fibroblasten und Myofibroblasten führt zur Synthese von Kollagen und extrazellulärer Matrix, wodurch die Nekrose nachfolgend durch ein organisiertes Granulationsgewebe ersetzt wird (Anderson et al. 2008, Anderson and Jiang 2017). Eine Entzündungsreaktion, welche durch Fremdmaterial hervorgerufen wird, verläuft in der Regel chronisch und ist mit einem charakteristischen Auftreten von Makrophagen und Fremdkörperriesenzellen verbunden. Fremdkörperriesenzellen sind fusionierte Makrophagen, welche die Phagozytose größerer Fremdmaterialien bewerkstelligen. Fremdkörperriesenzellen sind kein Marker für die Toxizität eines Fremdmaterials, sondern vielmehr bei jedem andauernden Fremdmaterial als physiologisch zu werten (Coleman et al. 1974, McGavin and Zachary 2009, Klopffleisch and Jung 2017). Sie bewerkstelligen eine substrat-spezifische komplexe zelluläre Antwort und spielen eine Schlüsselrolle bei der Entstehung und Dauer einer Fremdkörperreaktion nach Implantation von Biomaterialien (Sheikh et al. 2015). Daher ist es denkbar, dass das Ausmaß der Fremdkörperreaktion sich zwischen den verschiedenen Embolisationsmaterialien unterscheidet.

Die in der vorliegenden Studie demonstrierte parenchymale Entzündungsreaktion im Infarktareal entspricht dem geschilderten Verlauf einer Koagulationsnekrose. Auch eine Fremdkörperreaktion im Sinne des Auftretens von Fremdkörperriesenzellen in der Peripherie des implantierten Materials war zu beobachten. Die Entzündungsreaktion war zunächst heterophil und durch das Auftreten von polymorphkernigen Granulozyten dominiert. Bereits 1 Woche post Embolisation waren vereinzelt mehrkernige Riesenzellen in der peripartikulären Umgebung erkennbar. 4 Wochen post Embolisation zeigte sich ein vermehrter Einstrom von mononukleären Zellen in das infarzierte Nierengewebe, sowie eine progressive Zunahme der Gewebefibrose. Eine stetige Zunahme von phagozytisch aktiven Makrophagen und mehrkernigen Riesenzellen im Sinne einer granulomatösen Entzündung dauerte bis zur 16. Woche post Embolisation an. Mit der Zunahme der granulomatösen Fremdkörperreaktion zeigte sich außerdem eine fortschreitende Partikeldegradation. Die in der vorliegenden Studie beobachtete zelluläre Infiltration, insbesondere der beginnende Einstrom von mehrkernigen Riesenzellen zwischen 1 und 4 Wochen post Embolisation, wurde durch unterschiedliche Studiengruppen sowohl für die kommerziell erhältlichen Embolisationsmaterialien aus PVA und Gelatine, als auch für neuartige, resorbierbare Materialien nachgewiesen (Siskin et al. 2003, Khankan et al. 2004, Laurent et al. 2004, Kwak et al. 2005, U. Stampfl et al. 2009, Owen et al. 2012, Weng et al. 2015). Die Dauer der granulomatösen Entzündungsreaktion korrelierte dabei mit der Persistenz der Partikel. Für resorbierbare Partikel dauerte sie bis zur vollständigen Resorption an, für permanente Partikel war die Fremdkörperreaktion meist noch nach mehreren Monaten bis Jahren

histologisch erkennbar (Laurent et al. 2009, Weng et al. 2018). Bis dato besteht in der Literatur keine systematische Methode zur Evaluierung der Fremdkörperreaktion eines Embolisationsmaterials, sodass ein statistischer Vergleich mit anderen Materialien nicht möglich erscheint. Der von Stampfl et al. postulierte „Giant Cell Score“ scheint bis heute keine Etablierung gefunden zu haben (U. Stampfl et al. 2009). Die parenchymale Entzündungsreaktion der PDO-Mikrosphären war auf das Infarktareal und die Umgebung der Mikrosphären beschränkt. Das Ausmaß der Entzündungsreaktion korrelierte mit dem Ausmaß und der Größe des Infarktareals, während die Entzündung im Bereich der Mikroinfarkte geringgradig ausfiel, fiel sie in den größeren embolisierten Regionen deutlicher aus. Hinsichtlich der verwendeten Partikelgrößen waren außerdem keine Unterschiede zu erkennen. Die inflammatorische Reaktion war zu allen Zeitpunkten als gering- bis mittelgradig einzustufen. In keinem Fall gab es Hinweise für eine bakterielle Besiedelung. In Embolisationsmodellen an Endorganen wie z.B. der Niere führt ein Gefäßverschluss unvermeidlich zu einer ischämischen Koagulationsnekrose, welche eine vom Embolisationsmaterial unabhängige Entzündungsreaktion herbeiführt. Insbesondere im Hinblick auf die Unterscheidung zwischen postischämischen/ postnekrotischen und materialspezifischen Entzündungsreaktionen, lässt die parenchymale Infiltration von Entzündungszellen somit nicht unmittelbar auf eine verminderte Biokompatibilität der Polydioxanon-Mikrosphären schließen. Die Verwendung eines Organs mit doppelter Blutversorgung wie z.B. die Leber oder der Uterus, scheint sich als experimentelles Embolisationsmodell für die Untersuchung von materialspezifischen Entzündungsreaktionen besser zu eignen (Stampfl et al. 2007b, U. Stampfl et al. 2009, Wassef and Laurent 2011). Alternativ zeichnet das Entzündungsmuster der Gefäßwände ein realistischeres Bild hinsichtlich der Biokompatibilität eines Embolisationsmaterials und seiner Abbauprodukte.

Mikroskopische Gefäßwandreaktion

Die histologischen Untersuchungen der vorliegenden Embolisationsstudie in der HE-Färbung zeigten zunächst akute entzündliche Veränderungen der Gefäßwände, die ebenfalls überwiegend aus polymorphonukleären Zellen bestanden. Im Verlauf des Studienzeitraums wurde eine chronische Entzündung nachgewiesen, welche durch eine transmurale Infiltration von Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen und Fremdkörper-Riesenzellen gekennzeichnet war. Darüber hinaus zeigten embolisierte Blutgefäße zu späteren Kontrollzeitpunkten, korrelierend mit der zellulären Infiltration der Gefäßwände, fokale Angionekrosen mit perivaskulärer, lymphozytärer Infiltration und Gefäßfibrosierung. Die Entzündungsreaktion war dabei auf die embolisierten Gefäße beschränkt und in unbehandelten Gefäßen nicht nachzuweisen. Die Integrität der Gefäßwände, insbesondere der elastischen Fasern der Membrana Elastica interna und externa konnte mittels EVG-Färbung dargestellt werden. Der

von Schwartz et al. verwendete Score diente dabei einer Objektivierung des Verletzungsgrades (Schwartz et al. 1992). Auch andere Methoden zur Objektivierung der Gefäßkontinuität sind beschrieben, wurden aber in der vorliegenden Studie nicht angewandt (Racusen et al. 1999, U. Stampfl et al. 2009, Weng et al. 2015). Bereits eine Woche post Embolisation zeigten sich beginnende Gefäßwandverletzungen im Sinne neointimaler Hyperplasien und fokalen Dehiszenzen der MEI. An den darauffolgenden Kontrollzeitpunkten konnten tieferreichende Verletzungen in den Gefäßwänden festgestellt werden, welche letztlich zu einem fibrotischen Umbauprozess der behandelten Nierengefäße mit Stenosierung/Gefäßobliteration nach 12 bis 16 Wochen führten. In allen Versuchstieren nahm die Schwere der induzierten Gefäßwandverletzung mit der Zeit zu, welches sich in einem mittleren Gefäßwandverletzungsscore von 0 (\pm 0), 0,33 (\pm 0,58), 2 (\pm 0,82), 2,36 (\pm 1,03), 2,76 (\pm 0,56) und 3 (\pm 0) nach 0, 1, 4, 8, 12 und 16 Wochen äußerte ($p > 0,001$). Dabei war eine signifikante Verletzung der MEI erstmals nach 4 Wochen und eine signifikante Verletzung der MEE nach 12-16 Wochen zu beobachten. Zu keinem Zeitpunkt waren Unterschiede hinsichtlich der verwendeten Partikelgrößen festzustellen.

Das Auftreten neointimaler Hyperplasien ist für verschiedene interventionell-radiologische Verfahren beschrieben. Als neointimale Hyperplasie versteht man einen pathologischen Remodellierungsprozess der Tunica intima als Folge einer mechanischen Gefäßwandverletzung, welches zur Aktivierung einer komplex regulierten Entzündungskaskade führt (Davies and Hagen 1994). Obwohl die zugrundeliegenden Mechanismen seit Jahrzehnten untersucht werden und Fokus diverser Arbeitsgruppen darstellen, bleibt die Entstehung neointimaler Hyperplasien eine komplexe Prozesskette, die auch bis heute nicht vollständig geklärt ist. Auslöser sind meist Endothelschädigungen oder -dysfunktion, welche als Folge einer Gefäßwanddehnung, Gefäßwandhypoxie oder direkten Gefäßwandmanipulation auftreten kann. Multiple Autoren diskutieren außerdem die Entstehung neointimaler Hyperplasien durch intraarterielle Infusion von Chemotherapeutika ohne vorherige mechanische Gefäßwandverletzung (Maeda et al. 2008). Nachfolgend kommt es zu einer Aktivierung der Endothelzellen und Thrombozyten, sowie einer Rekrutierung von Leukozyten aus der Peripherie, welche eine Sekretion von Metalloproteinasen bewirken. Metalloproteinasen sind die Schlüsselenzyme in der Aufspaltung von extrazellulärem Matrixprotein wie Kollagen und Elastin und ermöglichen durch eine Zerstörung der internen elastischen Lamina den Einstrom glatter Muskelzellen und Fibroblasten aus der Tunica Media und Adventitia in die innerste Gefäßwandschicht (Davies and Hagen 1994, Zain and Siddiqui 2019). Die Synthese von Wachstumsfaktoren, extrazellulärer Matrix und entzündlichen Mediatoren durch die abnormal proliferierten Zellen führt zu einer Verdickung der Tunica intima mit progressivem Verlust der Lumendurchgängigkeit (Zain and Siddiqui 2019). Es ist daher anzunehmen, dass die in der

vorliegenden Studie nachgewiesene Gefäßremodellierung als Folge einer mechanischen Reizung der Gefäßwände durch die Embolisation entsteht und nicht als materialspezifische Unverträglichkeit zu werten ist. Darüber hinaus ist die transmurale Infiltration von polymorphonukleären Zellen und später Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen und Fremdkörper-Riesenzellen, analog zur parenchymalen Entzündungsreaktion, auch als physiologische Reaktion auf Fremdmaterialmaterial beschrieben. Es ist beschrieben, dass diese Fremdkörperreaktion für die gesamte in-vivo Lebensdauer eines Fremdmaterials andauert (Anderson et al. 2008). Aufgrund der nachgewiesenen Resorbierbarkeit der PDO-Mikrosphären ist davon auszugehen, dass die assoziierte Entzündungsreaktion mit einer vollständigen Entfernung des Fremdmaterials inhärent selbstlimitierend verläuft. Die pathologischen Veränderungen der Gefäßwände, die durch die PDO-Mikrosphären verursacht wurden, erscheinen daher keine neuartige Erkenntnis zu sein. Ähnliche Veränderungen wurden auch für die permanenten Embolisationsmikrosphären HepaSphere®, Embosphere®, Beadblock® oder Contour SE® (Colgan et al. 2003, Siskin et al. 2003, Bilbao et al. 2008), als auch für die langsam resorbierbaren Gelatinepartikel oder Partikel aus PLGA nachgewiesen (Louail et al. 2006, Ohta et al. 2010, Owen et al. 2012). Dies unterstreicht weiter, dass eine Entzündungsreaktion in diesem Ausmaße nicht als materialspezifische Toxizität zu bewerten ist und somit kein Ausschlusskriterium für die Verwendung von PDO-Mikrosphären als neuartiges Embolisationsmaterial ist.

Allerdings verhindert die fortschreitende und chronische Remodellierung und Fibrosierung der Gefäßarchitektur eine funktionelle Rekanalisierung/Wiederherstellung des Gefäßes. Ein erneuter vaskulärer Zugang ist somit trotz nachweisbarer Partikeldegradation und guter Partikelverträglichkeit nicht möglich. Daher erscheint eine solche Entzündungsreaktion für resorbierbare Embolisationsmaterialien wie den Polydioxanon-Mikrosphären, mit dem Ziel einer wiederholten Embolotherapie/Wiederherstellung der Gefäßfunktionalität, nicht ideal. Eine neuartige Studie zeigte, dass das Stenoserisiko bei schnell resorbierbaren Gelatinepartikeln im Vergleich zu den regulären Gelatine-Partikeln deutlich reduziert war (Kawai et al. 2013). Auch für schnell resorbierbare Mikrosphären aus PLGA-PEG-PLGA-Hydrogel oder Carboxymethylcellulose-Chitosan konnten keine histologischen Veränderungen der Gefäßwand dargestellt werden (Weng et al. 2013b, Verret et al. 2014). Eine Beschleunigung im Degradationsverhalten der PDO-Mikrosphären kann daher womöglich Abhilfe verschaffen. Weitere Studien sind indiziert um herauszufinden, wie schnell die Degradation der PDO-Mikrosphären erfolgen muss, um einem chronischen Umbauprozess der Gefäße vorzubeugen und die Signifikanz dieser Befunde zu bestimmen.

Die klinischen Implikationen von akuten und besonders chronischen Entzündungsreaktionen nach Embolisationsverfahren sind noch weitestgehend unklar. Abschließend zu klären gilt

vor allem, inwiefern die chronische Gefäßremodellierung langfristig auch zu Einschränkungen in der Organfunktionalität führt.

Laurent et al. postulieren, dass die langfristige Entwicklung embolisierter Gefäße nach UAE von großer Signifikanz für die Präservierung der Uterusfunktion, insbesondere während der Schwangerschaft ist (Laurent et al. 2009). Diverse Studien berichten darüber hinaus von bis zu 7% fetalen Wachstumsverzögerungen nach UAE, welche durch eine Reduktion der Nährstoff- und Sauerstoffversorgung zu erklären sind (Kim et al. 2005, Bonduki et al. 2011). Auch eine Reduktion der Fertilität, gemessen an der Anzahl der Trächtigkeiten mit vitalen Lämmern pro Mutterschaf und der Anzahl der erfolgreichen Besamungen, wurde im Embolisationsmodell am Schaf insbesondere für PVA-Partikel und weniger für TAG nachgewiesen, welches sich durch Unterschiede in der Gefäßwandreaktion erklären lässt (Laurent et al. 2008).

Neben Einschränkungen in der Organfunktionalität hypothetisieren einige Studien, dass die Entzündungsreaktion (Gewebe- und Gefäßwandreaktion) eine wichtige Rolle bei der Entstehung postoperativer Schmerzen spielt und somit die Schwere des PES beeinflusst (Siskin et al. 2002). Um dieser unerwünschten Nebenwirkung entgegen zu wirken entwickelte eine Forschergruppe Ibuprofen-beladene PVA-Mikrosphären als Maßnahme zur Reduktion einer post-embolisationsbedingten Entzündung und einhergehender klinischer Symptomatik (Borovac et al. 2006).

Abschließend lässt sich sagen, dass zusätzlich zu der oben beschriebenen klassischen pathologischen Analyse in Folgestudien validierte molekularbiologische Werkzeuge zum Nachweis einer Intoleranz eingesetzt werden sollten, um die Entzündungsreaktion auf verschiedene Embolisationsmaterialien vollständig und vergleichend zu bewerten (Wassef and Laurent 2011). Eine detaillierte Entzündungsanalyse mittels Immunhistochemie, wie sie von einigen Autoren beschrieben ist, könnte die Art der Entzündung nach Nierenembolisation weiter charakterisieren (S. Stampfl et al. 2009, Verret et al. 2011). Ebenfalls empfiehlt sich der Einsatz des BANFF Scores als standardisierte Methodik zur Klassifizierung der vaskulären Entzündungsreaktion (Racusen et al. 1999).

6.6 Versuchstiermodell

Die Untersuchung neuer Embolisationsmaterialien in einem standardisierten, tierexperimentellen Versuchsaufbau stellt einen wichtigen Ansatz dar um klinisch relevante Grunddaten über Anwendbarkeit, Sicherheit und Wirksamkeit der Partikel vor Eintritt in die klinische Anwendung am Menschen zu erhalten, da in-vitro Versuche meist nur begrenzt Informationen liefern. Eine direkte Extrapolation der Daten auf den Menschen ist meist nicht vollständig möglich, aber es ist notwendig vor dem klinischen Einsatz neuer Therapien

prädiktive Informationen am Tiermodell zu generieren, sofern eine ethische Vertretbarkeit der Belastung der Tiere im Hinblick auf den zu erwartenden Erkenntnisgewinn besteht.

Die bestmögliche Auswahl der Tierspezies, Alter und Geschlecht erfolgt auf Grundlage der Ähnlichkeiten zwischen Tier und Mensch hinsichtlich verschiedener Aspekte wie Organanatomie, -funktion, -physiologie und Pathophysiologie. Darüber hinaus hängt die Wahl der Spezies auch von praktischen Erwägungen wie Verfügbarkeit, Beschaffung, Haltungsaufwand und Handhabbarkeit ab. Die Auswahl des Tiermodells muss außerdem wissenschaftlichen, ethischen und tierschutzrechtlichen Kriterien genügen. In erster Linie steht dabei die fachliche Prüfung des Tiermodells, d.h. die Auswahl desjenigen Modells, das die besten Erfolgsaussichten bietet eine spezifische wissenschaftliche Fragestellung beantworten zu können. Dabei gilt der Grundsatz die phylogenetisch möglichst niedrig stehenden Spezies anderen Tiermodellen vorzuziehen, sofern diese den gleichen Erkenntnisgewinn erbringen. Da selbstverständlich kein Tiermodell die klinische Situation im Menschen in Gänze widerspiegelt, ist es notwendig, die spezifischen Ziele unter Berücksichtigung des besten verfügbaren Modells abzustimmen. In einigen Fällen wird sogar die Benutzung mehrere Tiermodelle für einen mehrschichtigen Erkenntnisgewinn notwendig.

In den letzten Jahren beschäftigten sich mehrere Arbeitsgruppen mit der Erforschung neuer angiographischer Embolisationsmaterialien im Tiermodell. Dabei kamen sowohl New Zealand White Kaninchen (Ohta et al. 2007, Ohta et al. 2013, Weng et al. 2013a, Weng et al. 2013b, Weng et al. 2013c, Weng et al. 2015, Weng et al. 2018) als auch verschiedene Schweinerassen (Shomura et al. 2011, Maeda et al. 2013) oder Schafe (Laurent et al. 2006, Forster et al. 2010, Owen et al. 2012, Verret et al. 2014) zum Einsatz. Aufgrund ihrer geringen Größe, der leichten Verfügbarkeit, dem einfachen Umgang und den niedrigen Anschaffungs- und Haltungskosten werden Kleintiere wie Kaninchen als Versuchsmodelle zur experimentellen Testung neuer temporärer Embolisationsmaterialien bevorzugt. Dabei hat sich vor allem die akute Nierenembolisation bewährt, da sich die Organanatomie, wie auch hämodynamische Eigenschaften, Gerinnungsfaktoren und immunologische Faktoren im Kaninchen und Menschen vergleichbar darstellen (Moreira and An 2003). Darüber hinaus ermöglichen die beidseits lateral der Aorta angelegten Organe einen leichten und standardisierbaren wie reproduzierbaren endovaskulären Zugang unter Verwendung klinisch üblicher und kommerziell verfügbarer medizinischer Materialien und technischer Geräte, welche bei Ratten oder anderen Nagetieren aufgrund ihrer geringeren Größe nicht anzuwenden wären. Letztlich steht die nicht-embolisierte, kontralaterale Niere als physiologischer Vergleich zur Verfügung, sodass im Versuchsaufbau auf eine Kontrollgruppe verzichtet werden kann.

Für weiterführende Untersuchungen hinsichtlich einer Verwendung neuartiger Embolisationsmaterialien für die TACE kann das Kaninchen in Folgestudien als VX2-Tumormodell genutzt werden, um die neu entwickelten Mikrosphären für den Einsatz in der HCC-Therapie genauer zu untersuchen. Der VX2-Tumor ist ein virus-induzierter, maligner, epithelialer Tumor, der durch Hypervaskularität, schnelles Wachstum und eine einfache Anzüchtung im Skelettmuskel gekennzeichnet ist (Rous and Beard 1935, Galasko and Muckle 1974). Das VX2-Tumormodell wurde bereits zur Erforschung verschiedenster Krebserkrankungen angewandt und hat in den letzten Jahren insbesondere für die Beurteilung lokoregionaler Therapieverfahren des HCC am Kaninchen Bedeutung gewonnen (Aravalli et al. 2009, Obeid et al. 2018). Eine Verwendung des Kaninchen VX2-Modells in der UAE befindet sich noch in der Etablierung (Rhee et al. 2007). Bei Betrachtung der oben genannten Faktoren scheint das Kaninchen ein adäquates Modell für experimentelle Untersuchungen neuer Embolisationsmaterialien zu sein und wurde daher als präklinisches Tiermodell für die vorliegende Studie ausgewählt.

Das Nierenembolisationsmodell am Kaninchen hat sich in der vorliegenden Studie als präklinisches Tiermodell erneut bewährt. Die Studie war mit klinisch üblichen und kommerziell verfügbaren Materialien und Geräten durchführbar. Die geringe Körpergröße der Versuchstiere stellte selbst erfahrene Radiologen vor Herausforderungen, welche jedoch ohne Komplikationen überwunden werden konnten und lediglich zu einer verlängerten Interventionszeit führten. In Anbetracht der in den vorherigen Kapiteln diskutierten Ergebnisse reicht das Nierenembolisationsmodell alleine jedoch nicht zur vollständigen Beurteilung der Polydioxanon-Mikrosphären hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit, Sicherheit, Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität aus. Zur Etablierung eines Standardprotokolls und Beurteilung der Anwendbarkeit, Sicherheit und Wirksamkeit scheint die Nierenembolisation am Kaninchen ein adäquates Modell darzustellen. Da die Durchmesser der embolisierten Nierenarterien im Voraus vorhergesagt werden können, eignen sich das Modell darüber hinaus auch für eine Untersuchung der Partikelverteilung post Embolisation. Für eine Beurteilung der Partikelresorbierbarkeit und Gefäßreperfusion, sowie der Biokompatibilität sollten die Mikrosphären jedoch auch in einem Nicht-Endorgan, wie zum Beispiel der Leber oder dem Uterus untersucht werden (Ohta et al. 2013). Das Vorhandensein einer doppelten Blutversorgung in diesen Organen begrenzt die ischämische Nekrose und ermöglicht daher die Beurteilung einer materialspezifischen Entzündungsreaktion ohne den maskierenden Effekt der ischämischen Nekrose. Der Uterus von Schafen, ein Organ mit zahlreichen vaskulären Anastomosen, hat sich in den letzten Jahrzehnten hierfür als geeignetes Tiermodell etabliert.

Die transarterielle Embolisation wird für viele verschiedene klinische Indikationen (arteriovenöse Malformationen, Blutungen, maligne und benigne Tumoren) und in

unterschiedlichen Organsystemen mit variabler Gefäßanatomie und Organ-pathophysiologie eingesetzt, welche im hier gewählten Embolisationsmodell nicht alle erfasst werden konnte. Vor einer klinischen Anwendung am Menschen empfiehlt sich daher die Untersuchung des Materials in den jeweiligen Zielorganen.

Das Nierenembolisationsmodell am Kaninchen ist darüber hinaus kein Tumormodell und spiegelt die Änderungen der Gefäßanatomie und Hämodynamik hypervaskularisierter Tumoren nicht wieder, sodass die Ergebnisse der vorliegenden Studie keine unmittelbare Extrapolation auf das HCC oder Uterusmyome erlauben. Eine potentielle Weiterführung des Kaninchen-Modells in ein VX2-Tumormodell ist insbesondere für eine zukünftige Anwendung des Materials in der transarteriellen Chemoembolisation bedeutsam und notwendig.

7 Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die in der vorliegenden Studie untersuchten, neuartigen PDO-Mikrosphären sich durch eine gute Anwendbarkeit und Sicherheit im Kaninchen Nierenembolisationsmodell, sowie eine zuverlässige Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität auszeichneten.

Die Nierenembolisation mit PDO-Mikrosphären lies sich ohne Auftreten von interventionsbedingten Majorkomplikationen sicher durchführen. Der durchgehend gute Gesundheitszustand der Tiere und die allgemein geringe Rate an Nebenwirkungen sprechen für eine gute Tolerabilität des Verfahrens. Die Embolisationstudie war mittels herkömmlicher radiologischer Instrumentarien und etablierter Anästhesie- und Analytikverfahren durchzuführen. Die Mikrosphären aus Polydioxanon waren dabei aufgrund von Aggregation im Katheterstutzen jedoch nur mäßig durch herkömmliche Kathetersysteme zu injizieren. Der Gefäßverschluss konnte mittels PDO-MS effektiv erreicht werden, welcher sich sowohl mittels Anio-graphie und MRT als auch in der Histopathologie bestätigen lies. Die durchgeführte histopathologische Untersuchung lieferte außerdem den Nachweis einer Resorbierbarkeit der Mikrosphären. Die neu entwickelten PDO-Mikrosphären waren dabei nach 16 Wochen nahezu vollständig degradiert und wiesen eine gute Gewebeerträglichkeit auf, die sich mit herkömmlichen Embolisationsmaterialien vergleichen lässt. Darüber hinaus konnte die Resorbierbarkeit der Mikrosphären durch eine Reperfusion des embolisierten Gefäßbettes nach 8-12 Wochen angiographisch dargestellt werden.

Zur vorliegenden Arbeit müssen dennoch folgende Limitationen genannt werden:

Da es sich um eine hypothesengenerierende Pilotstudie mit geringer Fallzahl und inhomogener Gruppenverteilung handelt, liefern die Ergebnisse inklusiver der statistischen Analysen nur erste Tendenzen, welche für eine bessere Aussagekraft in größeren Kohorten untersucht werden müssen, insbesondere bevor eine klinische Anwendung am Menschen durchgeführt wird. Der Nachteil der niedrigen Fallzahl wird insbesondere bei der Beurteilung der histopathologischen Ergebnisse bedingt durch die große Anzahl an ausgewerteten Schnitten zum Teil relativiert.

Aus der vorliegenden Studie können die Langzeiteigenschaften der PDO-Mikrosphären nicht bestimmt werden, sodass Folgestudien über einen verlängerten Beobachtungszeitraum notwendig sind um die Materialeigenschaften in Gänze zu beurteilen. Auch für eine finale Aussage hinsichtlich der Vorteile der PDO-Mikrosphären gegenüber kommerziell verfügbaren Materialien eignet sich die vorliegende Studie nicht. Hierfür sind Untersuchungen mit einer Kontrollgruppe oder einer Scheinbehandlungsgruppe, sowie eine Vergleichsstudie mit derzeit verfügbaren Embolisationsmaterialien notwendig. Eine weitere Limitation beruht auf der Verwendung der etablierten Scores.

Letztlich birgt die entwickelte Methodik der qualitativen Scoring-Systeme das Risiko einer subjektiven Befangenheit, welcher eine Studienverblindung und das Scoring durch mehrere wissenschaftliche Mitarbeiter nur begrenzt entgegen wirkt. Die diskutierten Limitationen erschweren somit eine unmittelbare Nutzung der PDO-Mikrosphären als temporäres Embolisat. Ein zukünftiger Einsatz erscheint jedoch, nach im folgenden Abschnitt erläuterten Modifikationen an den Mikrosphären und Erweiterung des Studienaufbaus langfristig möglich.

Verbesserte Injektionsfähigkeit

Embolisationsmikrosphären haben sich im Vergleich zu irregulären Partikeln von Vorteil erwiesen, da letztere aufgrund von Partikelaggregation häufig zu Verstopfungen der Katheter oder Okklusion proximaler Gefäßäste führen.

Sphärische Formen, uniforme und präzise kalibrierte Größen und homogene Morphologien ermöglichen eine leichte Applizierbarkeit/Injektionsfähigkeit und erlauben den gezielten Verschluss von Gefäßen und eine bessere Steuerbarkeit des Embolisationsverfahrens. Eine bessere Steuerbarkeit führt zu einem niedrigeren Risiko an Fehlembolisation und einer besseren Wirksamkeit. Die vorliegenden Mikrosphären ließen sich, trotz ihrer uniformen, sphärischen Natur nur mäßig durch herkömmliche Kathetersysteme injizieren und führten durch ihre hinderliche Injektion meist zu einer Verlängerung der Interventionszeit. In zwei Fällen führte die schwere Injektionsfähigkeit sogar zu einer unerwünschten Fehlembolisation der gesamten Niere. Eine Fehlembolisation anderer Organe konnte in dieser Studie nicht nachgewiesen werden. Die Schwierigkeiten in der Injektionsfähigkeit verhindern eine unmittelbare Translation der Ergebnisse in die klinische Praxis und eine Modifikation der Mikrosphären hinsichtlich einer verbesserten Injektionsfähigkeit durch Standardinstrumentarien, auch für PDO-Mikrosphären unterschiedlicher Größen, ist daher ebenfalls anzustreben. Hierbei hat sich in anderen Studien insbesondere die Herstellung eines Hydrogels mit verbesserten Elastizitätseigenschaften als erfolgreich bewiesen (Weng et al. 2013c). Auch eine Co-Polymerisation mit elastischen Polymeren erscheint hierfür denkbar. Sollte eine Verbesserung der Injektionsfähigkeit gelingen, kann in Folgestudien auf das Beifügen von humanem Albumin verzichtet werden, welches ein potentiell allergenes Risiko birgt.

Modifiziertes Degradationsverhalten

Bis dato besteht kein wissenschaftlicher Konsensus über den idealen Degradationszeitpunkt von resorbierbaren Embolisationsmikrosphären. Je nach klinischer Indikation bestehen verschiedene Anforderungen an die Resorptionsdauer der verwendeten Partikel (Geschwind et al. 2003). Während bei der TAE zur Behandlung akuter Blutungen, BPH oder der

Uterusarterienembolisation in der Regel kein wiederholter Eingriff notwendig ist und eine gute Biokompatibilität zur Erhaltung der Organfunktion im Vordergrund steht, werden resorbierbare Mikrosphären in der TACE mit der Intention eine wiederholte Embolisation durchzuführen, eingesetzt. Hierfür wird eine durchschnittliche Intervalldauer von 8 Wochen (4-12 Wochen) beschrieben. Ein Degradationszeitraum von mindestens 16 Wochen, wie es für PDO-Mikrosphären in der vorliegenden Studie nachgewiesen wurde, erscheint somit für die TACE zu lang. Eine beschleunigte Degradation der Polydioxanon-Mikrosphären ist daher für Folgestudien anzustreben. Eine Veränderung der grundlegenden Materialeigenschaften kann beispielsweise mittels chemischer Modifikation des Polydioxanon durch Einbau hydrolysierbarer Bindungen oder durch eine Co-Polymerisation mit anderen, schneller resorbierbaren, synthetischen Polymeren, erreicht werden (Middleton and Tipton 2000). Auch eine Vergrößerung der resorptiven Oberfläche durch Intergration von Poren in die Mikrosphären kann zu einer beschleunigten Degradation führen. Ohta et al. zeigten, dass poröse Gelatine-Mikrosphären aufgrund ihrer vergrößerten Oberfläche schneller degradieren, als die nicht-porösen Gelatine-Partikel (Ohta et al. 2010).

Für alle TAE- und TACE-Indikationen gilt, dass ein beschleunigtes Degradationsverhalten außerdem der chronischen Entzündungsreaktion und Remodellierung der Gefäßwand entgegenwirken könnte. Auch wenn das Einwandern von Entzündungszellen sich in gewissem Maße positiv auf den Embolisationseffekt auswirken kann (Kwak et al. 2005), verhindert eine übermäßige Entzündungsreaktion mit Remodellierung der Gefäßwand eine langfristige Rekanalisierung des Gefäßlumens und ist daher zur Verwendung in Verfahren, bei denen eine wiederholte Embolisation innerhalb weniger Wochen erforderlich ist, nicht anzustreben. Die in der vorliegenden Studie angiographisch nachgewiesene Reperfusion ließ sich histologisch nicht durch eine vollständige Wiederherstellung der Gefäßlumina bestätigen. Die histologisch erkennbaren Rekanalisierungen zeigten einen deutlich verringerten Gefäßdurchmesser als das Ursprungsgefäß. Zudem konnte nach 4-8 Wochen eine signifikante Gefäßwandverletzung und Remodellierung der Gefäßarchitektur nachgewiesen werden. Eine angiographisch sichtbare Reperfusion schließt somit die vollständige Wiederherstellung der Funktionalität des Gefäßes also nicht ein. Eine Modifikation des Resorptionsverhaltens würde sich demnach in zweierlei Hinsicht positiv auf einen potentiellen Nutzen in Wiederholungseingriffen ausüben: 1. Eine wiederholte Durchführung von Embolisationen durch das wiederhergestellte Gefäß wird für TACE-Patienten ermöglicht und 2. Eine bessere Langzeitverträglichkeit durch Wiederherstellung der Organfunktion wird für TAE Patienten gewährleistet.

Die vorliegende Studie zeigte, dass eine direkte Extrapolation der Daten von PDO-Nahtmaterial auf die PDO-Mikrosphären nicht möglich war. Daher empfiehlt sich nach

Modifikation der Partikel die Durchführung einer in-vitro Studie hinsichtlich Parametern wie Injektionsverhalten unterschiedlicher Partikelgrößen durch unterschiedliche Kathetersysteme, Sedimentationsverhalten in unterschiedlichen Lösungen, Degradationsverhalten der Partikel in-vitro, als auch ein mögliches Drug-loading um grundlegende Eigenschaften der modifizierten PDO-Mikrosphären außerhalb eines Tiermodells zu bestimmen. Dies ermöglicht eine sichere statistische Planung und die Etablierung eines Standardprotokolls für das in-vivo-Modell. Das Nierenembolisationsmodell eignet sich auch für die geplante Folgestudie zur Beurteilung der Durchführbarkeit, Sicherheit, Wirksamkeit und Verteilungsmuster der modifizierten PDO-Mikrosphären. Für die Beurteilung des Reperfusionseffektes und der Biokompatibilität sind Nierenarterien als Endarterien möglicherweise nicht gänzlich geeignet, da eine Embolisation trotz vollständiger Partikeldegradation aufgrund des fehlenden Kollateralkreislaufes unwiderruflich zu einer irreversiblen Infarzierung des Endorgans führt. Es empfiehlt sich daher im Hinblick auf die Partikelresorbierbarkeit und Gefäßreperfusion im Anschluss an eine Nierenembolisation auch eine Untersuchung der Partikel im Leberembolisationsmodell oder Uterusembolisationsmodell durchzuführen. Auch für die Beurteilung einer langfristigen Kompatibilität kann das Leberembolisationsmodell weitere Informationen liefern. Sollten sich die modifizierten PDO-Mikrosphären in-vitro für ein mögliches Drugloading eignen, ist außerdem nachfolgend an ein VX2-Modell zu denken.

Die durch die vorliegende Pilotstudie gewonnenen Erkenntnisse sind wegweisend für eine zukünftig minimal-invasive Embolisation mit resorbierbaren PDO-Mikrosphären. Sollte auch das modifizierte Embolisationsmaterial eine sichere und wirksame Embolisation, sowie eine Gefäßrekanalisierung ermöglichen, ist eine breite klinische Anwendung denkbar. Die vorliegende Studie liefert hierfür die Grundlagen einer neu entwickelten Methodik, sowie verschiedene Analyseverfahren. Die Verwendung der Kernspintomographie ist insbesondere zur in-vivo Visualisierung für SPIO- beladene-PDO-Mikrosphären von Bedeutung, welche in einer weiteren Studie der Arbeitsgruppe untersucht wurden (Stechele et al. 2020).

8 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden tierexperimentellen Studie war es das in-vivo Verhalten neuartiger temporärer Embolisationsmikrosphären aus Polydioxanon zu beleuchten. Es handelt sich dabei um einen hypothesen-generierenden Primärversuch, bei dem die grundlegenden Eigenschaften (Anwendbarkeit, Sicherheit, Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität) des neu entwickelten Materials an 16 klinisch gesunden „Weißen Neuseeländern“ im Nierenembolisationsmodell untersucht wurden.

Hierzu wurden neuartige, größenkalibrierte (100 – 150 µm und 90 – 315 µm) und biodegradierbare Mikrosphären aus Polydioxanon entwickelt. Die selektive unilaterale Embolisation der Nierenpole erfolgte randomisiert und unter fluoroskopischer Kontrolle. Die Wirksamkeit der Embolisation wurde mittels digitaler Subtraktionsangiographie (DSA) und Magnetresonanztomographie (MRT) bestätigt. Drei Tiere (Gruppe 0) wurden unmittelbar nach der Embolisation euthanasiert um das Akutverhalten der Partikel zu beurteilen. Bei den übrigen 13 Tieren erfolgte nach 1, 4, 8, 12, oder 16 Wochen eine Kontrollbildgebung (DSA und MRT) zur Beurteilung der Resorbierbarkeit und Reperfusion. Anschließend erfolgte die Euthanasie und labortechnische Aufarbeitung der Zielorgane zur histopathologischen Untersuchung der Resorbierbarkeit und Biokompatibilität der Mikrosphären.

Die Nierenembolisation mit Polydioxanon-Mikrosphären lies sich in allen Kaninchen sicher durchführen. Die Injektion durch herkömmliche Kathetersysteme erfolgte dabei mäßig leicht. Die Embolisationspartikel bewerkstelligten einen wirksamen Gefäßverschluss, welcher sich sowohl mittels Angiographie und MRT, als auch in der Histopathologie bestätigte. Die Angiographie- und MRT-Kontrollen nach 1, 4, 8, 12, oder 16 Wochen zeigten eine partielle bis vollständige Reperfusion als Anzeichen einer Resorbierbarkeit der Mikrosphären. Die histopathologische Untersuchung bestätigte die Resorbierbarkeit durch eine mikroskopisch sichtbare und fortschreitende Partikeldegradation im zeitlichen Verlauf. Die Degradation der Mikrosphären wurde von einer gering- bis mittelgradigen Entzündungsreaktion/Fremdkörperreaktion ohne Anzeichen für eine Gewebeunverträglichkeit begleitet.

Bei zusammenfassender Betrachtung der vorliegenden Ergebnisse lässt sich sagen, dass neuartige temporärer Embolisationsmikrosphären aus Polydioxanon sich durch eine gute Anwendbarkeit und Sicherheit im Kaninchen Nierenembolisationsmodell, sowie eine zuverlässige Wirksamkeit, Resorbierbarkeit und Biokompatibilität auszeichnen. Um eine klinische Anwendung zu ermöglichen sind biochemische Modifikationen an den Partikeln mit dem Ziel eines beschleunigten Degradationsverhaltens und einer verbesserten Injektionsfähigkeit notwendig.

9 Summary

Development and evaluation of polydioxanone-based microspheres as temporary embolization material for transarterial embolization in a rabbit kidney model

The objective/aim of the present animal study was to investigate the in-vivo behavior of novel temporary embolization microspheres made of polydioxanone. It is a hypothesis-generating primary study in which the basic properties (feasibility, safety, efficacy, resorbability and biocompatibility) of the newly developed material were examined in a renal embolization model in 16 clinically healthy New Zealand White.

For this purpose, newly size-calibrated (100-150 μm and 90-315 μm) and biodegradable microspheres made of polydioxanone were developed. The selective unilateral embolization of the kidney poles was performed randomized and under fluoroscopic control. The effectiveness of the embolization was confirmed by means of digital subtraction angiography (DSA) and magnetic resonance imaging (MRI).

Three animals (group 0) were euthanized immediately after embolization in order to assess the acute behavior of the particles. The remaining 13 animals were subjected to control imaging (DSA and MRT) after 1, 4, 8, 12 or 16 weeks to assess resorbability and reperfusion. This was followed by euthanasia and laboratory processing of the target organs for the histopathological examination of the resorbability and biocompatibility of the microspheres.

Renal embolization with polydioxanone microspheres was safe to perform in all rabbits. The injection through conventional catheter systems was moderately easy. The embolization resulted in an effective vascular occlusion, which was confirmed by DSA and MRI as well as in histopathology. The DSA and MRT controls after 1, 4, 8, 12, or 16 weeks showed partial to complete reperfusion as an indication of resorbability of the microspheres. The histopathological examination confirmed the resorbability through a microscopically visible and progressive particle degradation over time. The degradation of the microspheres was accompanied by a mild to moderate inflammatory / foreign body reaction with no evidence of tissue intolerance.

In conclusion the novel temporary embolization microspheres made of polydioxanone are characterized by good applicability and safety in the rabbit kidney embolization model, as well as reliable efficacy, resorbability and biocompatibility. In order to enable clinical application, biochemical modifications to the particles with the aim of accelerated degradation behavior and improved injectability are necessary.

10 Literaturverzeichnis

- Anderson, J. M., A. Rodriguez and D. T. Chang (2008): "Foreign body reaction to biomaterials." Semin Immunol 20(2): 86-100.
- Anderson, J. M. and S. Jiang (2017): "Implications of the Acute and Chronic Inflammatory Response and the Foreign Body Reaction to the Immune Response of Implanted Biomaterials." In: *The Immune Response to Implanted Materials and Devices: The Impact of the Immune System on the Success of an Implant*. 1st edition, pages 15-36, Cham, Springer International Publishing. ISBN 9783319454313.
- Andrews, R. T. and C. A. Binkert (2003): "Relative rates of blood flow reduction during transcatheter arterial embolization with tris-acryl gelatin microspheres or polyvinyl alcohol: quantitative comparison in a swine model." J Vasc Interv Radiol 14(10): 1311-1316.
- Aravalli, R. N., J. Goltzarian and E. N. Cressman (2009): "Animal models of cancer in interventional radiology." Eur Radiol 19(5): 1049-1053.
- Atkinson, P. J., R. L. Lancaster, T. S. Atkinson, S. P. Arnoczky, R. C. Haut and S. E. Weisbrode (1998): "Breaking strength retention and histologic effects around 1.3-mm. ORTHOSORB® polydioxanone absorbable pins at various sites in the rabbit." The Journal of Foot and Ankle Surgery 37(1): 42-47.
- Bank, W. O. and C. W. Kerber (1979): "Gelfoam embolization: a simplified technique." American Journal of Roentgenology 132(2): 299-301.
- Barth, K. H., J. D. Strandberg and R. I. White, Jr. (1977): "Long term follow-up of transcatheter embolization with autologous clot, oxycel and gelfoam in domestic swine." Invest Radiol 12(3): 273-280.
- Bartling, S. H., J. Budjan, H. Aviv, S. Haneder, B. Kraenzlin, H. Michaely, S. Margel, S. Diehl, W. Semmler, N. Gretz, S. O. Schonberg and M. Sadick (2011): "First multimodal embolization particles visible on x-ray/computed tomography and magnetic resonance imaging." Invest Radiol 46(3): 178-186.
- Baumgärtner, W. und A. Gruber (2020): "Spezielle Pathologie für die Tiermedizin." 2. aktualisierte Auflage, Stuttgart, Thieme Verlag. ISBN 9783132428591.
- Beaujeux, R., A. Laurent, M. Wassef, A. Casasco, Y. P. Gobin, A. Aymard, D. Rufenacht and J. J. Merland (1996): "Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization, II: preliminary clinical evaluation in tumors and arteriovenous malformations." Am J Neuroradiol 17(3): 541-548.
- Becker, T. A., D. R. Kipke and T. Brandon (2001): "Calcium alginate gel: a biocompatible and mechanically stable polymer for endovascular embolization." J Biomed Mater Res 54(1): 76-86.
- Becker, T. A., M. C. Preul, W. D. Bichard, D. R. Kipke and C. G. McDougall (2005): "Calcium Alginate Gel as a Biocompatible Material for Endovascular Arteriovenous Malformation Embolization: Six-month Results in an Animal Model." Neurosurgery 56(4): 793-801.
- Becker, T. A., M. C. Preul, W. D. Bichard, D. R. Kipke and C. G. McDougall (2007): "Preliminary investigation of calcium alginate gel as a biocompatible material for endovascular aneurysm embolization in vivo." Neurosurgery 60(6): 1119-1127.

- Bedouet, L., V. Verret, S. Louguet, E. Servais, F. Pascale, A. Beilvert, M. T. Baylatry, D. Labarre, L. Moine and A. Laurent (2015): "Anti-angiogenic drug delivery from hydrophilic resorbable embolization microspheres: an in vitro study with sunitinib and bevacizumab." Int J Pharm 484(1-2): 218-227.
- Bedouet, L., L. Moine, E. Servais, A. Beilvert, D. Labarre and A. Laurent (2016): "Tunable delivery of niflumic acid from resorbable embolization microspheres for uterine fibroid embolization." Int J Pharm 511(1): 253-261.
- Berry, A. R., M. C. Wilson, J. W. Thomson and T. J. McNair (1981): "Polydioxanone: a new synthetic absorbable suture." J R Coll Surg Edinb 26(3): 170-172.
- Bhatia, S., S. W. Shalaby, D. L. Powers, R. L. Lancaster and R. L. Ferguson (1994): "The effect of site of implantation and animal age on properties of polydioxanone pins." J Biomater Sci Polym Ed 6(5): 435-446.
- Bilbao, J. I., E. de Luis, J. A. Garcia de Jalon, A. de Martino, M. D. Lozano, A. M. de la Cuesta and B. Sangro (2008): "Comparative study of four different spherical embolic particles in an animal model: a morphologic and histologic evaluation." J Vasc Interv Radiol 19(11): 1625-1638.
- Bogaert, M. G., M. T. Rosseel and A. F. De Schaepdrijver (1970): "Nitroglycerin (trinitrine): cardiovascular effects and plasma levels in the rabbit." Bruux Med 50(9): 567-569.
- Boland, E. D., B. D. Coleman, C. P. Barnes, D. G. Simpson, G. E. Wnek and G. L. Bowlin (2005): "Electrospinning polydioxanone for biomedical applications." Acta Biomaterialia 1(1): 115-123.
- Bonduki, C. E., P. C. Feldner, Jr., J. Silva, R. A. Castro, M. G. Sartori and M. J. Girão (2011): "Pregnancy after uterine arterial embolization." Clinics (Sao Paulo) 66(5): 807-810.
- Borovac, T., J. P. Pelage, A. Kasselouri, P. Prognon, G. Guiffant and A. Laurent (2006): "Release of ibuprofen from beads for embolization: in vitro and in vivo studies." J Control Release 115(3): 266-274.
- Bracken, R. B., D. E. Johnson, H. M. Goldstein, S. Wallace and A. G. Ayala (1975): "Percutaneous transfemoral renal artery occlusion in patients with renal carcinoma. Preliminary report." Urology 6(1): 6-10.
- Breedis, C. and G. Young (1954): "The blood supply of neoplasms in the liver." Am J Pathol 30(5): 969-977.
- Brodbelt, D. C., K. J. Blissitt, R. A. Hammond, P. J. Neath, L. E. Young, D. U. Pfeiffer and J. L. N. Wood (2008): "The risk of death: the Confidential Enquiry into Perioperative Small Animal Fatalities." Veterinary Anaesthesia and Analgesia 35(5): 365-373.
- Brodbelt, D. C. (2009): "Perioperative mortality in small animal anaesthesia." Veterinary Journal 182(2): 152-161.
- Brooks, B. (1930): "The treatment of traumatic arteriovenous fistula." Southern Medical Journal 23(2): 100-106.
- Brown, D. B., B. Nikolic, A. M. Covey, C. W. Nutting, W. E. A. Saad, R. Salem, C. T. Sofocleous and D. Y. Sze (2012): "Quality Improvement Guidelines for Transhepatic Arterial Chemoembolization, Embolization, and Chemotherapeutic Infusion for Hepatic Malignancy." Journal of Vascular and Interventional Radiology 23(3): 287-294.

- Bruix, J., M. Sala and J. M. Llovet (2004): "Chemoembolization for hepatocellular carcinoma." Gastroenterology 127(5): 179-188.
- Bruix, J. and M. Sherman (2005): "Management of hepatocellular carcinoma." Hepatology 42(5): 1208-1236.
- Bruix, J. and M. Sherman (2011): "Management of hepatocellular carcinoma: an update." Hepatology 53(3): 1020-1022.
- Capodanno, D. and C. Tamburino (2010): "Properties and clinical development of a novel coating technology: the poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazene]." Recent Pat Drug Deliv Formul 4(1): 18-22.
- Castaneda-Zuniga, W. R., R. Sanchez and K. Amplatz (1978): "Experimental observations on short and long-term effects of arterial occlusion with Ivalon." Radiology 126(3): 783-785.
- Chen, J., S. B. White, K. R. Harris, W. Li, J. W. Yap, D. H. Kim, R. J. Lewandowski, L. D. Shea and A. C. Larson (2015): "Poly(lactide-co-glycolide) microspheres for MRI-monitored delivery of sorafenib in a rabbit VX2 model." Biomaterials 61: 299-306.
- Chiesa, A. G. and W. R. Hart (2004): "Uterine artery embolization of leiomyomas with trisacryl gelatin microspheres (TGM): pathologic features and comparison with polyvinyl alcohol emboli." Int J Gynecol Pathol 23(4): 386-392.
- Cho, K. J., S. R. Reuter and R. Schmidt (1976): "Effects of experimental hepatic artery embolization on hepatic function." Am J Roentgenol 127(4): 563-567.
- Choi, J. W., J. H. Park, S. Y. Baek, D. D. Kim, H. C. Kim and H. J. Cho (2015): "Doxorubicin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres prepared using the solid-in-oil-in-water method for the transarterial chemoembolization of a liver tumor." Colloids Surf B Biointerfaces 132: 305-312.
- Choi, J. W., J. H. Park, H. R. Cho, J. W. Chung, D. D. Kim, H. C. Kim and H. J. Cho (2017): "Sorafenib and 2,3,5-triiodobenzoic acid-loaded imageable microspheres for transarterial embolization of a liver tumor." Sci Rep 7(1): 554.
- Choi, S. Y., B. K. Kwak, H. J. Shim, J. Lee, S. U. Hong and K. A. Kim (2015): "MRI traceability of superparamagnetic iron oxide nanoparticle-embedded chitosan microspheres as an embolic material in rabbit uterus." Diagn Interv Radiol 21(1).
- Chua, G. C., M. Wilsher, M. P. Young, I. Manyonda, R. Morgan and A. M. Belli (2005): "Comparison of particle penetration with non-spherical polyvinyl alcohol versus trisacryl gelatin microspheres in women undergoing premyomectomy uterine artery embolization." Clin Radiol 60(1): 116-122.
- Chung, E. Y., H. M. Kim, G. H. Lee, B. K. Kwak, J. S. Jung, H. J. Kuh and J. Lee (2012): "Design of deformable chitosan microspheres loaded with superparamagnetic iron oxide nanoparticles for embolotherapy detectable by magnetic resonance imaging." Carbohydr Polym 90(4): 1725-1731.
- Coldwell, D. M., K. R. Stokes and W. F. Yakes (1994): "Embolotherapy - Agents, Clinical-Applications, and Techniques." Radiographics 14(3): 623-643.
- Coleman, D. L., R. N. King and J. D. Andrade (1974): "The foreign body reaction: a chronic inflammatory response." J Biomed Mater Res 8(5): 199-211.

Colgan, T. J., G. Pron, E. J. Mocarski, J. D. Bennett, M. R. Asch and A. Common (2003): "Pathologic features of uteri and leiomyomas following uterine artery embolization for leiomyomas." Am J Surg Pathol 27(2): 167-177.

Dariushnia, S. R., B. Nikolic, L. S. Stokes and J. B. Spies (2014): "Quality improvement guidelines for uterine artery embolization for symptomatic leiomyomata." J Vasc Interv Radiol 25(11): 1737-1747.

Davies, M. G. and P. O. Hagen (1994): "Pathobiology of intimal hyperplasia." Br J Surg 81(9): 1254-1269.

de Bruijn, A. M., M. Smink, P. N. M. Lohle, J. A. F. Huirne, J. W. R. Twisk, C. Wong, L. Schoonmade and W. J. K. Hehenkamp (2017): "Uterine Artery Embolization for the Treatment of Adenomyosis: A Systematic Review and Meta-Analysis." J Vasc Interv Radiol 28(12): 1629-1642.e1621.

Delbeke, L. O., V. Gomel, P. F. McComb and N. Jetha (1983): "Histologic reaction to four synthetic microsutures in the rabbit." Fertil Steril 40(2): 248-252.

Derdeyn, C. P., C. J. Moran, D. T. Cross, H. H. Dietrich and R. G. Dacey, Jr. (1995): "Polyvinyl alcohol particle size and suspension characteristics." Am J Neuroradiol 16(6): 1335-1343.

Derdeyn, C. P., V. B. Graves, M. S. Salamat and A. Rappe (1997): "Collagen-coated acrylic microspheres for embolotherapy: in vivo and in vitro characteristics." Am J Neuroradiol 18(4): 647-653.

Ethicon, Inc. (1977): "Synthetic absorbable surgical devices of poly-dioxanone." Doddi, N., C. C. Versfelt and D. Wasserman. 10.10.1977. USA. US 4052988 A.

Doucet, J., L. Kiri, K. O'Connell, S. Kehoe, R. J. Lewandowski, D. M. Liu, R. J. Abraham and D. Boyd (2018): "Advances in Degradable Embolic Microspheres: A State of the Art Review." J Funct Biomater 9(1): 14.

Erhardt, W., J. Henke, J. Haberstroh, C. Baumgartner und S. Tacke (2011): "Anästhesie und Analgesie beim Klein- und Heimtier: mit Exoten, Labortieren, Vögeln, Reptilien, Amphibien und Fischen." 2. Auflage, Stuttgart, Schattauer Verlag. ISBN 9783794527816.

Eroglu, M., H. Kursaklioglu, Y. Misirli, A. Iyisoy, A. Acar, A. I. Dogan and E. B. Denkbas (2006): "Chitosan-coated alginate microspheres for embolization and/or chemoembolization: In vivo studies." J Microencapsul 23(4): 367-376.

Ewringmann, A. (2016): "Leitsymptome beim Kaninchen: diagnostischer Leitfaden und Therapie." 3., überarbeitete und erweiterte Auflage, Stuttgart, Enke Verlag. ISBN 9783132193611.

FDA (2004): "Guidance for Industry and FDA Staff: Class II Special Controls Guidance Document: Vascular and Neurovascular Embolization Devices." Silver Spring, MD, USA, Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health. [available from: <https://www.fda.gov/medical-devices/guidance-documents-medical-devices-and-radiation-emitting-products/vascular-and-neurovascular-embolization-devices-class-ii-special-controls-guidance-document-industry>].

Fish, R. E. (2008): "Anesthesia and analgesia in laboratory animals." 2nd edition, San Diego, Academic Press Inc. ISBN 9780123738981.

- Flecknell, P. A. (2015): "Laboratory animal anaesthesia." 4th edition, San Diego, Academic Press Inc. ISBN 9780128000366.
- Forster, R. E., F. Thurmer, C. Wallrapp, A. W. Lloyd, W. Macfarlane, G. J. Phillips, J. P. Boutrand and A. L. Lewis (2010): "Characterisation of physico-mechanical properties and degradation potential of calcium alginate beads for use in embolisation." J Mater Sci Mater Med 21(7): 2243-2251.
- Fujiwara, K., K. Hayakawa, Y. Nagata, M. Hiraoka, T. Nakamura, Y. Shimizu and Y. Ikada (2000): "Experimental embolization of rabbit renal arteries to compare the effects of poly L-lactic acid microspheres with and without epirubicin release against intraarterial injection of epirubicin." Cardiovasc Intervent Radiol 23(3): 218-223.
- Gaba, R. C., R. J. Lewandowski, R. Hickey, M. O. Baerlocher, E. I. Cohen, S. R. Dariushnia, B. J. d'Othee, S. A. Padia, R. Salem, D. S. Wang, B. Nikolic, D. B. Brown and S. I. Radiology (2016): "Transcatheter Therapy for Hepatic Malignancy: Standardization of Terminology and Reporting Criteria." J Vasc Interv Radiol 27(4): 457-473.
- Galasko, C. S. and D. S. Muckle (1974): "Intrasarcolemmal proliferation of the VX2 carcinoma." Br J Cancer 29(1): 59-65.
- Galle, P. R., A. Forner, J. M. Llovet, V. Mazzaferro, F. Piscaglia, J. L. Raoul, P. Schirmacher and V. Vilgrain (2018): "EASL Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma." J Hepatol 69(1): 182-236.
- Ganga, M. V., J. Coutinho-Netto, B. O. Colli, W. Marques Junior, C. H. Catalao, R. T. Santana, M. R. Oltramari, K. T. Carraro, J. J. Lachat and S. Lopes Lda (2012): "Sciatic nerve regeneration in rats by a nerve conduit engineering with a membrane derived from natural latex." Acta Cir Bras 27(12): 885-891.
- Geschwind, J. F., D. E. Ramsey, B. Cleffken, B. C. van der Wal, H. Kobeiter, K. Juluru, G. G. Hartnell and M. A. Choti (2003): "Transcatheter arterial chemoembolization of liver tumors: effects of embolization protocol on injectable volume of chemotherapy and subsequent arterial patency." Cardiovasc Intervent Radiol 26(2): 111-117.
- Gogolewski, S. (2000): "Bioresorbable polymers in trauma and bone surgery." Injury-International Journal of the Care of the Injured 31: S28-S32.
- Goldstein, H. M., S. Wallace, J. H. Anderson, R. L. Bree and C. Gianturco (1976): "Transcatheter occlusion of abdominal tumors." Radiology 120(3): 539-545.
- Greenfield, A. J. (1980): "Transcatheter vessel occlusion: selection of methods and materials." Cardiovasc Intervent Radiol 3(4): 222-228.
- Hamouda, F. (2007): "Eine retrospektive Analyse der Komplikationen interventionell-radiologischer Eingriffe." [Dissertation]. Berlin: Freie Universität Berlin
- Harre, D. (2012): "Untersuchung zur Eignung eines Gewebeklebers zum Verschluss der Hautwunde bei weiblichen Katzen und Kaninchen nach Kastrationen." [Dissertation]. Gießen: Universität Gießen.
- Hirano, S. (1999): "Chitin and chitosan as novel biotechnological materials." Polymer International 48(8): 732-734.

- Hwang, H., H. S. Kim, J. Kwon, P. S. Oh, H. S. Park, S. T. Lim, M. H. Sohn and H. J. Jeong (2018): "Chitosan-Based Hydrogel Microparticles for Treatment of Carcinoma in a Rabbit VX2 Liver Tumor Model." J Vasc Interv Radiol 29(4): 575-583.
- Ishida, T., M. Onuma, S. Ono, A. Murakami and T. Sano (2014): "Anesthesia-associated death in 160 rabbits." Japanese Journal of Veterinary Anesthesia & Surgery 45(1): 7-12.
- Jander, H. P. and N. A. Russinovich (1980): "Transcatheter gelfoam embolization in abdominal, retroperitoneal, and pelvic hemorrhage." Radiology 136(2): 337-344.
- Jenkins, H. P. and J. S. Clarke (1945): "Gelatin Sponge, a New Hemostatic Substance - Studies on Absorbability." Archives of Surgery 51(4): 253-261.
- Kang, M. J., I. Y. Oh, B. C. Choi, B. K. Kwak, J. Lee and Y. W. Choi (2009): "Development of Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles (SPIOs)-Embedded Chitosan Microspheres for Magnetic Resonance (MR)-Traceable Embolotherapy." Biomolecules & Therapeutics 17(1): 98-103.
- Kang, M. J., J. M. Park, W. S. Choi, J. Lee, B. K. Kwak and J. Lee (2010): "Highly spherical and deformable chitosan microspheres for arterial embolization." Chem Pharm Bull (Tokyo) 58(3): 288-292.
- Katsumori, T. and T. Kasahara (2006): "The size of gelatin sponge particles: differences with preparation method." Cardiovasc Intervent Radiol 29(6): 1077-1083.
- Kawai, N., M. Sato, H. Minamiguchi, A. Ikoma, H. Sanda, K. Nakata, H. Sato, H. Sakaguchi, M. Nakai and T. Sonomura (2013): "Clinical evaluation of transcatheter arterial chemoembolization with 2-day-soluble gelatin sponge particles for hepatocellular carcinoma-comparison with insoluble gelatin sponge particles." J Vasc Interv Radiol 24(9): 1383-1390.
- Kerber, C. W., W. O. Bank and J. A. Horton (1978): "Polyvinyl alcohol foam: prepackaged emboli for therapeutic embolization." Am J Roentgenol 130(6): 1193-1194.
- Kessel, D., I. Robertson and T. Sabharwal (2016): "Interventional radiology: a survival guide." 4th revised edition, London, Elsevier Health Sciences. ISBN 9780702067303.
- Khankan, A. A., K. Osuga, S. Hori, E. Morii, T. Murakami and H. Nakamura (2004): "Embolic effects of superabsorbent polymer microspheres in rabbit renal model: comparison with tris-acryl gelatin microspheres and polyvinyl alcohol." Radiat Med 22(6): 384-390.
- Kim, H. M., G. H. Lee, H. J. Kuh, B. K. Kwak and J. Lee (2013): "Liposomal doxorubicin-loaded chitosan microspheres capable of controlling release of doxorubicin for anti-cancer chemoembolization: in vitro characteristics." J Drug Deliv Sci Technol 23(3): 283-286.
- Kim, J. S., B. K. Kwak, H. J. Shim, Y. C. Lee, H. W. Baik, M. J. Lee, S. M. Han, S. H. Son, Y. B. Kim, S. Tokura and B. M. Lee (2007): "Preparation of doxorubicin-containing chitosan microspheres for transcatheter arterial chemoembolization of hepatocellular carcinoma." J Microencapsul 24(5): 408-419.
- Kim, K. R., H. E. Moon and K. W. Kim (2002): "Hypoxia-induced angiogenesis in human hepatocellular carcinoma." J Mol Med 80(11): 703-714.
- Kim, K. W., S. K. Bae, O. H. Lee, M. H. Bae, M. J. Lee and B. C. Park (1998): "Insulin-like growth factor II induced by hypoxia may contribute to angiogenesis of human hepatocellular carcinoma." Cancer Research 58(2): 348-351.

- Kim, M. D., N. K. Kim, H. J. Kim and M. H. Lee (2005): "Pregnancy following uterine artery embolization with polyvinyl alcohol particles for patients with uterine fibroid or adenomyosis." Cardiovasc Intervent Radiol 28(5): 611-615.
- Kimura, S., K. Yasuda, N. Hara, T. Sakai, S. Mikami, A. Minami and H. Tohyama (2003): "Implantation sites and fiber diameters affect the rate of degradation in absorbable polydioxanone fibers." Arthroscopy 19(1): 68-74.
- Klopfleisch, R. and F. Jung (2017): "The pathology of the foreign body reaction against biomaterials." J Biomed Mater Res A 105(3): 927-940.
- Kohn, D. F., T. E. Martin, P. L. Foley, T. H. Morris, M. M. Swindle, G. A. Vogler and S. K. Wixson (2007): "Guidelines for the assessment and management of pain in rodents and rabbits." J Am Assoc Lab Anim Sci 46(2): 97-108.
- Kulik, L. M., B. I. Carr, M. F. Mulcahy, R. J. Lewandowski, B. Atassi, R. K. Ryu, K. T. Sato, A. Benson, 3rd, A. A. Nemcek, Jr., V. L. Gates, M. Abecassis, R. A. Omary and R. Salem (2008): "Safety and efficacy of 90Y radiotherapy for hepatocellular carcinoma with and without portal vein thrombosis." Hepatology 47(1): 71-81.
- Kumar, M. N. V. R. (2000): "A review of chitin and chitosan applications." Reactive & Functional Polymers 46(1): 1-27.
- Kwak, B. K., H. J. Shim, S. M. Han and E. S. Park (2005): "Chitin-based embolic materials in the renal artery of rabbits: pathologic evaluation of an absorbable particulate agent." Radiology 236(1): 151-158.
- Landis, J. R. and G. G. Koch (1977): "The measurement of observer agreement for categorical data." Biometrics 33(1): 159-174.
- Laurent, A., R. Beaujeux, M. Wassef, D. Rufenacht, E. Boschetti and J. J. Merland (1996): "Trisacryl gelatin microspheres for therapeutic embolization, I: development and in vitro evaluation." Am J Neuroradiol 17(3): 533-540.
- Laurent, A., M. Wassef, R. Chapot, E. Houdart and J. J. Merland (2004): "Location of vessel occlusion of calibrated tris-acryl gelatin microspheres for tumor and arteriovenous malformation embolization." J Vasc Interv Radiol 15(5): 491-496.
- Laurent, A., M. Wassef, J. P. Saint Maurice, J. Namur, J. P. Pelage, A. Seron, R. Chapot and J. J. Merland (2006): "Arterial distribution of calibrated tris-acryl gelatin and polyvinyl alcohol microspheres in a sheep kidney model." Invest Radiol 41(1): 8-14.
- Laurent, A. (2007): "Microspheres and nonspherical particles for embolization." Tech Vasc Interv Radiol 10(4): 248-256.
- Laurent, A., J. P. Pelage, M. Wassef and J. Martal (2008): "Fertility after bilateral uterine artery embolization in a sheep model." Fertil Steril 89(5 Suppl): 1371-1383.
- Laurent, A., M. Wassef, J. Namur, J. Martal, D. Labarre and J. P. Pelage (2009): "Recanalization and particle exclusion after embolization of uterine arteries in sheep: a long-term study." Fertil Steril 91(3): 884-892.
- Lee, H. S., E. H. Kim, H. P. Shao and B. K. Kwak (2005): "Synthesis of SPIO-chitosan microspheres for MRI-detectable embolotherapy." J Magn Magn Mater 293(1): 102-105.

- Leoni, C. J., J. E. Potter, M. P. Rosen, D. P. Brophy and E. V. Lang (2001): "Classifying complications of interventional procedures: a survey of practicing radiologists." J Vasc Interv Radiol 12(1): 55-59.
- Levey, A. S. and J. Coresh (2012): "Chronic kidney disease." The Lancet 379(9811): 165-180.
- Lewis, A. L., C. Adams, W. Busby, S. A. Jones, L. C. Wolfenden, S. W. Leppard, R. R. Palmer and S. Small (2006): "Comparative in vitro evaluation of microspherical embolisation agents." J Mater Sci Mater Med 17(12): 1193-1204.
- Li, S., X. T. Wang, X. B. Zhang, R. J. Yang, H. Z. Zhang, L. Z. Zhu and X. P. Hou (2002): "Studies on alginate-chitosan microcapsules and renal arterial embolization in rabbits." J Control Release 84(3): 87-98.
- Li, X., G. S. Feng, C. S. Zheng, C. K. Zhuo and X. Liu (2004): "Expression of plasma vascular endothelial growth factor in patients with hepatocellular carcinoma and effect of transcatheter arterial chemoembolization therapy on plasma vascular endothelial growth factor level." World J Gastroenterol 10(19): 2878-2882.
- Liang, Q., Y. X. Wang, J. S. Ding, W. He, L. L. Deng, N. Li, Y. J. Liao, Z. Li, B. Ye and W. Wang (2017): "Intra-arterial Delivery of Superparamagnetic Iron-oxide Nanoshell and Polyvinyl Alcohol Based Chemoembolization System for the Treatment of Liver Tumor." Discovery Medicine 23(124): 27-39.
- Liao, X. F., J. L. Yi, X. R. Li, W. Deng, Z. F. Yang and G. Tian (2004): "Angiogenesis in rabbit hepatic tumor after transcatheter arterial embolization." World J Gastroenterol 10(13): 1885-1889.
- Liebehenschel, N. (2004): "Biokompatibilität resorbierbarer Polymere in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie - Eine evidenzbasierte Analyse." [Dissertation]. U. Freiburg. Stuttgart: ibidem Verlag. 978-3898213646.
- Light, R. U. and H. R. Prentice (1975): "Surgical investigation of a new absorbable sponge derived from gelatin for use in hemostasis." Journal of Neurosurgery 2(5): 435-455.
- Lindell, B., K. F. Aronsen, B. Nosslin and U. Rothman (1978): "Studies in pharmacokinetics and tolerance of substances temporarily retained in the liver by microsphere embolization." Ann Surg 187(1): 95-99.
- Lindstrom, P. A. (1956): "Complications from the use of absorbable hemostatic sponges." AMA Arch Surg 73(1): 133-141.
- Llovet, J. M., M. I. Real, X. Montana, R. Planas, S. Coll, J. Aponte, C. Ayuso, M. Sala, J. Muchart, R. Sola, J. Rodes, J. Bruix and G. Barcelona Liver Cancer (2002): "Arterial embolisation or chemoembolisation versus symptomatic treatment in patients with unresectable hepatocellular carcinoma: a randomised controlled trial." Lancet 359(9319): 1734-1739.
- Llovet, J. M. and J. Bruix (2003): "Systematic review of randomized trials for unresectable hepatocellular carcinoma: Chemoembolization improves survival." Hepatology 37(2): 429-442.
- Llovet, J. M., R. Lencioni, A. M. Di Bisceglie, P. R. Galle, J. F. Dufour, T. F. Greten, E. Raymond, T. Roskams, T. De Baere, M. Ducreux, V. Mazzaferro, M. Bernardi, J. Bruix, M.

- Colombo and A. Zhu (2012): "EASL-EORTC Clinical Practice Guidelines: Management of hepatocellular carcinoma." J Hepatol 56(4): 908-943.
- Lo, C. M., H. Ngan, W. K. Tso, C. L. Liu, C. M. Lam, R. T. Poon, S. T. Fan and J. Wong (2002): "Randomized controlled trial of transarterial lipiodol chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma." Hepatology 35(5): 1164-1171.
- Louail, B., M. Sapoval, M. Bonneau, M. Wasseff, Q. Senechal and J. C. Gaux (2006): "A new porcine sponge material for temporary embolization: an experimental short-term pilot study in swine." Cardiovasc Intervent Radiol 29(5): 826-831.
- Louguet, S., V. Verret, L. Bedouet, E. Servais, F. Pascale, M. Wassef, D. Labarre, A. Laurent and L. Moine (2014): "Poly(ethylene glycol) methacrylate hydrolyzable microspheres for transient vascular embolization." Acta Biomater 10(3): 1194-1205.
- Luessenhop, A. J. and W. T. Spence (1960): "Artificial Embolization of Cerebral Arteries Report of Use in a Case of Arteriovenous Malformation." Journal of the American Medical Association 172(11): 1153-1155.
- Maeda, N., K. Osuga, K. Mikami, H. Higashihara, H. Onishi, Y. Nakaya, M. Tatsumi, M. Hori, T. Kim, K. Tomoda and H. Nakamura (2008): "Angiographic evaluation of hepatic arterial damage after transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma." Radiat Med 26(4): 206-212.
- Maeda, N., V. Verret, L. Moine, L. Bedouet, S. Louguet, E. Servais, K. Osuga, N. Tomiyama, M. Wassef and A. Laurent (2013): "Targeting and recanalization after embolization with calibrated resorbable microspheres versus hand-cut gelatin sponge particles in a porcine kidney model." J Vasc Interv Radiol 24(9): 1391-1398.
- Centre National De La Recherche Scientifique; Assistance Publique Hôpitaux De Paris; Université Paris Diderot; Occlugel (2012): "Implantable swellable bio-resorbable polymer." Magnon, L., A. Laurent, M. Wassef, L. Bedouet, S. Louguet, V. Verret and E. Servais. 13.09.2012. WO 2012120138 A1.
- Malling, B., M. A. Røder, K. Brasso, J. Forman, M. Taudorf and L. Lönn (2019): "Prostate artery embolisation for benign prostatic hyperplasia: a systematic review and meta-analysis." Eur Radiol 29(1): 287-298.
- Marelli, L., R. Stigliano, C. Triantos, M. Senzolo, E. Cholongitas, N. Davies, J. Tibballs, T. Meyer, D. W. Patch and A. K. Burroughs (2007): "Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies." Cardiovasc Intervent Radiol 30(1): 6-25.
- McGavin, M. D. und J. F. Zachary (2009): "Pathologie der Haustiere: Allgemeine, spezielle und funktionelle Veterinärpathologie." 1. Auflage, München, Urban & Fischer in Elsevier Verlag. ISBN 9783437582509.
- Middleton, J. C. and A. J. Tipton (2000): "Synthetic biodegradable polymers as orthopedic devices." Biomaterials 21(23): 2335-2346.
- Misirli, Y., E. Ozturk, H. Kursaklioglu and E. B. Denkbaz (2005): "Preparation and characterization of Mitomycin-C loaded chitosan-coated alginate microspheres for chemoembolization." J Microencapsul 22(2): 167-178.

Molea, G., F. Schonauer, G. Bifulco and D. D'Angelo (2000): "Comparative study on biocompatibility and absorption times of three absorbable monofilament suture materials (Polydioxanone, Poliglecaprone 25, Glycomer 631)." Br J Plast Surg 53(2): 137-141.

Moreira, P. L. and Y. H. An (2003): "Animal models for therapeutic embolization." Cardiovasc Intervent Radiol 26(2): 100-110.

Nakashima, T. and M. Kojiro (1986): "Pathologic characteristics of hepatocellular carcinoma." Semin Liver Dis 6(3): 259-266.

Nitta, N., S. Ohta, A. Sonoda, S. Watanabe, H. Otani, Y. Tomozawa, A. Nitta-Seko, K. Tsuchiya, K. Mukaisho, M. Takahashi, K. Murata and Y. Tabata (2013): "Evaluation of the embolic effect and degradability of gelatin microspheres and Gelpart particles." Minim Invasive Ther Allied Technol 22(3): 157-164.

Obeid, M., R. C. Khabbaz, K. D. Garcia, K. M. Schachtschneider and R. C. Gaba (2018): "Translational Animal Models for Liver Cancer." Am J Interv Radiol 2(2): 1-7.

Oerlemans, C., P. R. Seevinck, G. H. van de Maat, H. Boulkhrif, C. J. Bakker, W. E. Hennink and J. F. Nijssen (2013): "Alginate-lanthanide microspheres for MRI-guided embolotherapy." Acta Biomater 9(1): 4681-4687.

Ohta, S., N. Nitta, M. Takahashi, K. Murata and Y. Tabata (2007): "Degradable gelatin microspheres as an embolic agent: an experimental study in a rabbit renal model." Korean J Radiol 8(5): 418-428.

Ohta, S., N. Nitta, A. Sonoda, A. Seko, T. Tanaka, R. Takazakura, A. Furukawa, M. Takahashi, T. Sakamoto, Y. Tabata and K. Murata (2010): "Embolization Materials Made of Gelatin: Comparison Between Gelpart and Gelatin Microspheres." Cardiovasc Intervent Radiol 33(1): 120-126.

Ohta, S., N. Nitta, S. Watanabe, Y. Tomozawa, A. Sonoda, H. Otani, K. Tsuchiya, A. Nitta-Seko, A. Yamamoto, M. Takahashi and K. Murata (2013): "Gelatin microspheres: correlation between embolic effect/degradability and cross-linkage/particle size." Cardiovasc Intervent Radiol 36(4): 1105-1111.

Osuga, K., S. Miyayama, T. Yamagami, H. Anai, M. Takahashi and H. Nakamura (2007): "[New porous gelatin particles for hepatic arterial embolization--investigation of passage through current microcatheters]." Gan To Kagaku Ryoho 34(1): 59-64.

Osuga, K., H. Anai, M. Takahashi, S. Miyayama, T. Yamagami, M. Sone and H. Nakamura (2009): "[Porous gelatin particles for hepatic arterial embolization; investigation of the size distribution and fragmentation before and after microcatheter passage]." Gan To Kagaku Ryoho 36(3): 437-442.

Owen, R. J., P. N. Nation, R. Polakowski, J. A. Biliske, P. B. Tiege and I. J. Griffith (2012): "A preclinical study of the safety and efficacy of Occlusin 500 Artificial Embolization Device in sheep." Cardiovasc Intervent Radiol 35(3): 636-644.

Park, J. M., S. Y. Lee, G. H. Lee, E. Y. Chung, K. M. Chang, B. K. Kwak, H. J. Kuh and J. Lee (2012): "Design and characterisation of doxorubicin-releasing chitosan microspheres for anti-cancer chemoembolisation." J Microencapsul 29(7): 695-705.

Pieper, C. C., C. Meyer, B. Vollmar, K. Hauenstein, H. H. Schild and K. E. Wilhelm (2015): "Temporary arterial embolization of liver parenchyma with degradable starch microspheres (EmboCept®S) in a swine model." Cardiovasc Intervent Radiol 38(2): 435-441.

- Ping Ooi, C. and R. E. Cameron (2002a): "The hydrolytic degradation of polydioxanone (PDSII) sutures. Part II: Micromechanisms of deformation." J Biomed Mater Res 63(3): 291-298.
- Ping Ooi, C. and R. E. Cameron (2002b): "The hydrolytic degradation of polydioxanone (PDSII) sutures. Part I: Morphological aspects." J Biomed Mater Res 63(3): 280-290.
- Pisco, J. M., L. C. Pinheiro, T. Bilhim, M. Duarte, J. R. Mendes and A. G. Oliveira (2011): "Prostatic arterial embolization to treat benign prostatic hyperplasia." J Vasc Interv Radiol 22(1): 11-19.
- Puppala, S. (2009): "Management of Post-embolization Syndrome." In: *Transcatheter Embolization and Therapy*. 1st edition, pages 129-134, London, Springer Verlag. ISBN 978-1-84800-897-7.
- Racusen, L. C., K. Solez, R. B. Colvin, S. M. Bonsib, M. C. Castro, T. Cavallo, B. P. Croker, A. J. Demetris, C. B. Drachenberg, A. B. Fogo, P. Furness, L. W. Gaber, I. W. Gibson, D. Glotz, J. C. Goldberg, J. Grande, P. F. Halloran, H. E. Hansen, B. Hartley, P. J. Hayry, C. M. Hill, E. O. Hoffman, L. G. Hunsicker, A. S. Lindblad, Y. Yamaguchi and et al. (1999): "The Banff 97 working classification of renal allograft pathology." Kidney Int 55(2): 713-723.
- Radeleff, B. (2021): "Angiofibel: Interventionelle angiographische Diagnostik und Therapie." 2. vollständig aktualisierte und erweiterte Auflage, Berlin, Springer Verlag. ISBN 9783662562420.
- Ravina, J. H., J. J. Merland, D. Herbreteau, E. Houdart, J. M. Bouret and P. Madelenat (1994): "[Preoperative embolization of uterine fibroma. Preliminary results (10 cases)]." Presse Med 23(33): 1540.
- Ravina, J. H., J. M. Bouret, D. Fried, J. L. Benifla, E. Darai, G. Pennehouat, P. Madelenat, D. Herbreteau, E. Houdart and J. J. Merland (1995a): "[Value of preoperative embolization of uterine fibroma: report of a multicenter series of 31 cases]." Contracept Fertil Sex 23(1): 45-49.
- Ravina, J. H., D. Herbreteau, N. Ciraruvigneron, J. M. Bouret, E. Houdart, A. Aymard and J. J. Merland (1995b): "Arterial Embolization to Treat Uterine Myomata." Lancet 346(8976): 671-672.
- Ray, J. A., N. Doddi, D. Regula, J. A. Williams and A. Melveger (1981): "Polydioxanone (PDS), a novel monofilament synthetic absorbable suture." Surg Gynecol Obstet 153(4): 497-507.
- Rhee, T. K., R. K. Ryu, A. K. Bangash, D. Wang, B. Szolc-Kowalska, K. R. Harris, K. T. Sato, H. B. Chrisman, R. L. Vogelzang, T. Paunesku, G. E. Woloschak, A. C. Larson and R. A. Omary (2007): "Rabbit VX2 tumors as an animal model of uterine fibroids and for uterine artery embolization." J Vasc Interv Radiol 18(3): 411-418.
- Richardson, A. J., J. M. Laurence and V. W. Lam (2013): "Transarterial chemoembolization with irinotecan beads in the treatment of colorectal liver metastases: systematic review." J Vasc Interv Radiol 24(8): 1209-1217.
- Rong, J. J., M. Liang, F. Q. Xuan, J. Y. Sun, L. J. Zhao, H. Z. Zhen, X. X. Tian, D. Liu, Q. Y. Zhang, C. F. Peng, T. M. Yao, F. Li, X. Z. Wang, Y. L. Han and W. T. Yu (2015): "Alginate-calcium microsphere loaded with thrombin: A new composite biomaterial for hemostatic embolization." International Journal of Biological Macromolecules 75: 479-488.

- Rong, J. J., M. Liang, F. Q. Xuan, J. Y. Sun, L. J. Zhao, H. Z. Zheng, X. X. Tian, D. Liu, Q. Y. Zhang, C. F. Peng, F. Li, X. Z. Wang, Y. L. Han and W. T. Yu (2017): "Thrombin-loaded alginate-calcium microspheres: A novel hemostatic embolic material for transcatheter arterial embolization." Int J Biol Macromol 104: 1302-1312.
- Rösch, J., C. T. Dotter and M. J. Brown (1972): "Selective arterial embolization. A new method for control of acute gastrointestinal bleeding." Radiology 102(2): 303-306.
- Rous, P. and J. W. Beard (1935): "The Progression to Carcinoma of Virus-Induced Rabbit Papillomas (Shope)." J Exp Med 62(4): 523-548.
- Salem, R., R. J. Lewandowski, M. F. Mulcahy, A. Riaz, R. K. Ryu, S. Ibrahim, B. Atassi, T. Baker, V. Gates, F. H. Miller, K. T. Sato, E. Wang, R. Gupta, A. B. Benson, S. B. Newman, R. A. Omary, M. Abecassis and L. Kulik (2010): "Radioembolization for hepatocellular carcinoma using Yttrium-90 microspheres: a comprehensive report of long-term outcomes." Gastroenterology 138(1): 52-64.
- Salis, A., E. P. Porcu, E. Gavini, G. R. Fois, A. Icaro Cornaglia, G. Rassu, M. Diana, M. Maestri, P. Giunchedi and I. Nikolakakis (2017): "In situ forming biodegradable poly(epsilon-caprolactone) microsphere systems: a challenge for transarterial embolization therapy. In vitro and preliminary ex vivo studies." Expert Opin Drug Deliv 14(4): 453-465.
- Schwartz, R. S., K. C. Huber, J. G. Murphy, W. D. Edwards, A. R. Camrud, R. E. Vlietstra and D. R. Holmes (1992): "Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model." J Am Coll Cardiol 19(2): 267-274.
- Schwarz, A., H. Zhang, A. Metcalfe, I. Salazkin and J. Raymond (2004): "Transcatheter embolization using degradable crosslinked hydrogels." Biomaterials 25(21): 5209-5215.
- Seldinger, S. I. (1953): "Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography; a new technique." Acta radiol 39(5): 368-376.
- Senturk, C., V. Cakir, K. Yorukoglu, O. Yilmaz and A. Y. Goktay (2010): "Looking for the ideal particle: an experimental embolization study." Cardiovasc Intervent Radiol 33(2): 336-345.
- Sharma, K. V., M. R. Dreher, Y. Tang, W. Pritchard, O. A. Chiesa, J. Karanian, J. Peregoy, B. Orandi, D. Woods, D. Donahue, J. Esparza, G. Jones, S. L. Willis, A. L. Lewis and B. J. Wood (2010): "Development of "imageable" beads for transcatheter embolotherapy." J Vasc Interv Radiol 21(6): 865-876.
- Sheikh, Z., P. J. Brooks, O. Barzilay, N. Fine and M. Glogauer (2015): "Macrophages, Foreign Body Giant Cells and Their Response to Implantable Biomaterials." Materials (Basel) 8(9): 5671-5701.
- Shomura, Y., N. Tanigawa, M. Shibutani, S. Wakimoto, K. Tsuji, T. Tokuda, J. Terada, S. Kariya, H. Kojima, A. Komemushi and S. Sawada (2011): "Water-soluble polyvinyl alcohol microspheres for temporary embolization: development and in vivo characteristics in a pig kidney model." J Vasc Interv Radiol 22(2): 212-219.
- Siskin, G. P., J. Bonn, R. L. Worthington-Kirsch, S. J. Smith, R. Shlansky-Goldberg, L. S. Machan, R. T. Andrews, S. C. Goodwin and D. M. Hovsepian (2002): "III. Uterine fibroid embolization: pain management." Tech Vasc Interv Radiol 5(1): 35-43.
- Siskin, G. P., K. Dowling, R. Virmani, R. Jones and D. Todd (2003): "Pathologic evaluation of a spherical polyvinyl alcohol embolic agent in a porcine renal model." J Vasc Interv Radiol 14(1): 89-98.

- Sone, M., K. Osuga, K. Shimazu, H. Higashihara, T. Nakazawa, K. Kato, M. Tomabechi, S. Ehara, H. Nakamura, E. Morii and K. Aozasa (2010): "Porous gelatin particles for uterine artery embolization: an experimental study of intra-arterial distribution, uterine necrosis, and inflammation in a porcine model." Cardiovasc Intervent Radiol 33(5): 1001-1008.
- Stampfl, S., U. Stampfl, C. Rehnitz, P. Schnabel, S. Satz, P. Christoph, C. Henn, F. Thomas, G. W. Kauffmann and G. M. Richter (2007a): "Experimental evaluation of early and long-term effects of microparticle embolization in two different mini-pig models. Part I: kidney." Cardiovasc Intervent Radiol 30(2): 257-267.
- Stampfl, S., U. Stampfl, C. Rehnitz, P. Schnabel, S. Satz, P. Christoph, C. Henn, F. Thomas and G. M. Richter (2007b): "Experimental evaluation of early and long-term effects of microparticle embolization in two different mini-pig models. Part II: liver." Cardiovasc Intervent Radiol 30(3): 462-468.
- Stampfl, S., U. Stampfl, N. Bellemann, C. M. Sommer, H. Thierjung, B. Radeleff, R. Lopez-Benitez, I. Berger, G. W. Kauffmann and G. M. Richter (2008): "Biocompatibility and recanalization characteristics of hydrogel microspheres with polyzene-F as polymer coating." Cardiovasc Intervent Radiol 31(4): 799-806.
- Stampfl, S., U. Stampfl, N. Bellemann, B. Radeleff, R. Lopez-Benitez, C. M. Sommer, H. Thierjung, I. Berger and G. M. Richter (2009): "Immunohistochemical characterization of specific inflammatory tissue reactions following embolization with four different spherical agents in the minipig kidney model." J Vasc Interv Radiol 20(7): 936-945.
- Stampfl, U., S. Stampfl, N. Bellemann, C. M. Sommer, R. Lopez-Benitez, H. Thierjung, B. Radeleff, I. Berger and G. M. Richter (2009): "Experimental liver embolization with four different spherical embolic materials: impact on inflammatory tissue and foreign body reaction." Cardiovasc Intervent Radiol 32(2): 303-312.
- Stampfl, U., C. M. Sommer, N. Bellemann, M. Holzschuh, A. Kueller, J. Bluemmel, T. Gehrig, M. Shevchenko, H. Kenngott, H. U. Kauczor and B. Radeleff (2012): "Multimodal visibility of a modified polyzene-F-coated spherical embolic agent for liver embolization: feasibility study in a porcine model." J Vasc Interv Radiol 23(9): 1225-1231 e1222.
- Stechele, M., H. Wittgenstein, N. Stolzenburg, J. Schnorr, J. Neumann, C. Schmidt, R. W. Günther and F. Streitparth (2020): "Novel MR-Visible, Biodegradable Microspheres for Transcatheter Arterial Embolization: Experimental Study in a Rabbit Renal Model." Cardiovasc Intervent Radiol 43(10): 1515-1527.
- Tabata, Y. and Y. Ikada (1989): "Synthesis of gelatin microspheres containing interferon." Pharm Res 6(5): 422-427.
- Tadavarthy, S. M., L. Knight, T. W. Ovitt, C. Snyder and K. Amplatz (1974): "Therapeutic transcatheter arterial embolization." Radiology 112(1): 13-16.
- Tadavarthy, S. M., J. H. Moller and K. Amplatz (1975): "Polyvinyl alcohol (Ivalon)--a new embolic material." Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med 125(3): 609-616.
- van Elk, M., B. Ozbakir, A. D. Barten-Rijbroek, G. Storm, F. Nijssen, W. E. Hennink, T. Vermonden and R. Deckers (2015): "Alginate Microspheres Containing Temperature Sensitive Liposomes (TSL) for MR-Guided Embolization and Triggered Release of Doxorubicin." Plos One 10(11).
- Verret, V., M. Wassef, J. P. Pelage, S. H. Ghegediban, L. Jouneau, L. Moine, D. Labarre, J. Golzarian, I. Schwartz-Cornil and A. Laurent (2011): "Influence of degradation on

inflammatory profile of polyphosphazene coated PMMA and trisacryl gelatin microspheres in a sheep uterine artery embolization model." Biomaterials 32(2): 339-351.

Verret, V., J. P. Pelage, M. Wassef, S. Louguet, E. Servais, L. Bedouet, T. Beaulieu, L. Moine and A. Laurent (2014): "A novel resorbable embolization microsphere for transient uterine artery occlusion: a comparative study with trisacryl-gelatin microspheres in the sheep model." J Vasc Interv Radiol 25(11): 1759-1766.

Vogl, T. J., N. N. N. Naguib, S. Zangos, K. Eichler, A. Hedayati and N.-E. A. Nour-Eldin (2009): "Liver metastases of neuroendocrine carcinomas: Interventional treatment via transarterial embolization, chemoembolization and thermal ablation." Eur J Radiol 72(3): 517-528.

Vora, A., R. Brodsky, J. Nolan, S. Ram, L. Richter, C. Yingling, K. Venkatesan, R. Ghasemian, J. Hwang, K. Horton and M. Verghese (2014): "Incidence of postembolization syndrome after complete renal angioinfarction: a single-institution experience over four years." Scand J Urol 48(3): 245-251.

Wang, M., J. Zhang, S. Ji, G. Shao, K. Zhao, Z. Wang and A. Wu (2017): "Transarterial chemoembolisation for breast cancer with liver metastasis: A systematic review." Breast 36: 25-30.

Wang, Q., K. Qian, S. Liu, Y. Yang, B. Liang, C. Zheng, X. Yang, H. Xu and A. Q. Shen (2015): "X-ray visible and uniform alginate microspheres loaded with in situ synthesized BaSO₄ nanoparticles for in vivo transcatheter arterial embolization." Biomacromolecules 16(4): 1240-1246.

Wang, Q., S. S. Liu, F. Yang, L. Gan, X. L. Yang and Y. J. Yang (2017): "Magnetic alginate microspheres detected by MRI fabricated using microfluidic technique and release behavior of encapsulated dual drugs." Int J Nanomedicine 12: 4335-4347.

Wang, Y. J., A. Benzina, D. G. M. Molin, N. van den Akker, M. Gagliardi and L. H. Koole (2015): "Preparation and structure of drug-carrying biodegradable microspheres designed for transarterial chemoembolization therapy." J Biomater Sci Polym Ed 26(2): 77-91.

Wang, Y. X. J., X. M. Zhu, Q. Liang, C. H. K. Cheng, W. Wang and K. C. F. Leung (2014): "In Vivo Chemoembolization and Magnetic Resonance Imaging of Liver Tumors by Using Iron Oxide Nanoshell/Doxorubicin/Poly(vinyl alcohol) Hybrid Composites." Angew Chem Int Edit 53(19): 4812-4815.

Wassef, M. and A. Laurent (2011): "How to quantify inflammatory tissue reactions following embolization?" J Vasc Interv Radiol 22(2): 258-260.

Weaver, L. A., C. A. Blaze, D. E. Linder, K. A. Andrutis and A. Z. Karas (2010): "A model for clinical evaluation of perioperative analgesia in rabbits (*Oryctolagus cuniculus*)." J Am Assoc Lab Anim Sci 49(6): 845-851.

Weiss, C. R., G. O. Abiola, A. M. Fischman, L. J. Cheskin, J. Vairavamurthy, B. P. Holly, O. Akinwande, F. Nwoke, K. Paudel, S. Belmustakov, K. Hong, R. S. Patel, E. J. Shin, K. E. Steele, T. H. Moran, R. E. Thompson, T. Dunklin, H. Ziessman, D. L. Kraitichman and A. Arepally (2019): "Bariatric Embolization of Arteries for the Treatment of Obesity (BEAT Obesity) Trial: Results at 1 Year." Radiology 291(3): 792-800.

Weng, L., H. C. Le, J. Lin and J. Golzarian (2011a): "Doxorubicin loading and eluting characteristics of bioresorbable hydrogel microspheres: in vitro study." Int J Pharm 409(1-2): 185-193.

- Weng, L., H. C. Le, R. Talaie and J. Golzarian (2011b): "Bioresorbable hydrogel microspheres for transcatheter embolization: preparation and in vitro evaluation." J Vasc Interv Radiol 22(10): 1464-1470 e1462.
- Weng, L., N. Rostambeigi, N. D. Zantek, P. Rostamzadeh, M. Bravo, J. Carey and J. Golzarian (2013a): "An in situ forming biodegradable hydrogel-based embolic agent for interventional therapies." Acta Biomater 9(9): 8182-8191.
- Weng, L., P. Rostamzadeh, N. Nooryshokry, H. C. Le and J. Golzarian (2013b): "In vitro and in vivo evaluation of biodegradable embolic microspheres with tunable anticancer drug release." Acta Biomater 9(6): 6823-6833.
- Weng, L., M. Rusten, R. Talaie, M. Hairani, N. K. Rosener and J. Golzarian (2013c): "Calibrated bioresorbable microspheres: a preliminary study on the level of occlusion and arterial distribution in a rabbit kidney model." J Vasc Interv Radiol 24(10): 1567-1575.
- Weng, L., D. Seelig, P. Rostamzadeh and J. Golzarian (2015): "Calibrated Bioresorbable Microspheres as an Embolic Agent: An Experimental Study in a Rabbit Renal Model." J Vasc Interv Radiol 26(12): 1887-1894.
- Weng, L., H. J. Tseng, P. Rostamzadeh and J. Golzarian (2016): "In vitro comparative study of drug loading and delivery properties of bioresorbable microspheres and LC bead." J Mater Sci Mater Med 27(12).
- Weng, L., D. Seelig and O. Souresrafil (2018): "Long-Term Implantability of Resorbable Carboxymethyl Cellulose/Chitosan Microspheres in a Rabbit Renal Arterial Embolization Model." Cardiovasc Intervent Radiol 41(6): 951-958.
- Wu, X. Z., G. R. Xie and D. Chen (2007): "Hypoxia and hepatocellular carcinoma: The therapeutic target for hepatocellular carcinoma." J Gastroenterol Hepatol 22(8): 1178-1182.
- Xuan, F. Q., J. J. Rong, M. Liang, X. W. Zhang, J. Y. Sun, L. J. Zhao, Y. Li, D. Liu, F. Li, X. Z. Wang and Y. L. Han (2017): "Biocompatibility and Effectiveness Evaluation of a New Hemostatic Embolization Agent: Thrombin Loaded Alginate Calcium Microsphere." Biomed Research International.
- Ye, Y., Y. Ren, H. Zeng, J. He, Z. Zhong and X. Wu (2019): "Characterization of Calibrated Gelatin Sponge Particles in a Rabbit Renal Embolization Model." Cardiovasc Intervent Radiol 42(8): 1183-1191.
- Yoshikawa, T., S. Kokura, H. Oyamada, S. Iinuma, S. Nishimura, T. Kaneko, Y. Naito and M. Kondo (1994): "Antitumor effect of ischemia-reperfusion injury induced by transient embolization." Cancer Res 54(19): 5033-5035.
- Zain, M. A. and W. J. Siddiqui (2019): "Neointimal Hyperplasia." In: StatPearls Treasure Island (FL).
- Zhang, G. Y., X. F. Zhou, X. Y. Zhou, Q. Y. Wen, B. G. You, Y. Liu, X. N. Zhang and Y. Jin (2013): "Effect of alginate-chitosan sustained release microcapsules for transhepatic arterial embolization in VX2 rabbit liver cancer model." J Biomed Mater Res 101(11): 3192-3200.
- Zhou, X., M. Kong, X. J. Cheng, J. J. Li, J. Li and X. G. Chen (2014a): "Investigation of acetylated chitosan microspheres as potential chemoembolic agents." Colloids and Surfaces B-Biointerfaces 123: 387-394.

Zhou, X., M. Kong, X. J. Cheng, C. Feng, J. Li, J. J. Li and X. G. Chen (2014b): "In vitro and in vivo evaluation of chitosan microspheres with different deacetylation degree as potential embolic agent." Carbohydrate Polymers 113: 304-313.

Zumstein, V., P. Betschart, M. W. Vetterlein, L. A. Kluth, L. Hechelhammer, L. Mordasini, D. S. Engeler, T. M. Kessler, H. P. Schmid and D. Abt (2019): "Prostatic Artery Embolization versus Standard Surgical Treatment for Lower Urinary Tract Symptoms Secondary to Benign Prostatic Hyperplasia: A Systematic Review and Meta-analysis." Eur Urol Focus 5(6): 1091-1100.

11 Publikationen

Publikation 1 (Paper):

Streitparth F, **Wittgenstein H**, Stechele M, Neumann J, Schmidt C, Schnorr J, Hamm B, Günther RW. Biodegradable Polydioxanone Microspheres for Transcatheter Arterial Embolization: Proof of Principle. J Vasc Interv Radiol. 2020 Dec;31(12):2132-2140.e5. doi: 10.1016/j.jvir.2020.07.022. Epub 2020 Nov 5. PMID: 33160828.

Publikation 2 (Paper):

Stechele M, **Wittgenstein H**, Stolzenburg N, Schnorr J, Neumann J, Schmidt C, Günther RW, Streitparth F. Novel MR-Visible, Biodegradable Microspheres for Transcatheter Arterial Embolization: Experimental Study in a Rabbit Renal Model. Cardiovasc Intervent Radiol. 2020 Oct;43(10):1515-1527. doi: 10.1007/s00270-020-02534-1. Epub 2020 Jun 8. PMID: 32514611.

Publikation 3 (Vortrag und Abstrakt):

Stechele M, **Wittgenstein H**, Breinl J, Stolzenburg N, Schnapauff D, Rudolph B, Schmidt C, Schnorr J, Hamm B, Günther RW, Streitparth F. Entwicklung und Evaluation eines temporären Embolisationsmaterials zur arteriellen Transkatheter-Applikation im Kaninchenmodell. 98. Deutscher Röntgenkongress und 8. Gemeinsamer Kongress der DRG und ÖRG, 24. – 27. Mai, 2017, Leipzig, Deutschland.

Publikation 4 (Vortrag und Abstrakt):

Wittgenstein H, Stechele M, Breinl J, Schnorr J, Rudolph B, Schmidt C, Hamm B, Günther RW, Streitparth F. Evaluation of a newly developed biodegradable embolic agent for transcatheter arterial embolisation in a rabbit renal model. European Congress of Radiology, the annual meeting of European Society of Radiology; March 1 – 5 2017, Vienna, Austria.

Publikation 5 (Vortrag, Abstrakt und Poster):

Wittgenstein H, Stechele M, Breinl J, Stolzenburg N, Geisel D, Schnorr J, Rudolph B, Schmidt C, Hamm B, Günther RW, Streitparth F. Entwicklung und Beurteilung eines temporären Embolisationsmaterials zur arteriellen Transkatheter-Applikation im Kaninchenmodell. IROS 2017, Dreiländertagung der Deutschen, Österreichischen und Schweizerischen Gesellschaften für Interventionelle Radiologie (DeGIR, ÖGIR & SSVIR).12 – 14. Januar 2017, Berlin, Deutschland

Publikation 6 (Vortrag und Abstrakt):

Wittgenstein H, Stechele M, Breinl J, Stolzenburg N, Geisel D, Schnorr J, Hamm B, Günther RW, Streitparth F. Development and evaluation of a novel biodegradable embolic agent for transcatheter embolization in a rabbit kidney model: work in progress. CIRSE 2016, Annual meeting and postgraduate course of the Cardiovascular and Interventional Radiological Society of Europe, September 10 – 14 2016 , Barcelona, Spain.

12 Danksagung

Zunächst möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. Florian Streitparth für die Möglichkeit der Promotion am Institut für Radiologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin und die Überlassung des Promotionsthemas bedanken. Vielen Dank für die umfangreiche Betreuung, sowie die fortwährend freundliche Zusammenarbeit bei der Durchführung der Versuchsreihe.

Mein herzlicher Dank gilt darüber hinaus Herrn Prof. Dr. Karl-Heinz Lahrmann für die Annahme als Doktorandin und die stets konstruktive Hilfe und fachliche Unterstützung bei der Erstellung dieser Disseratation.

Weiterhin Danke ich Herrn Prof. Dr. Rolf W. Günther für eine beeindruckende interventionell-radiologische Expertise ohne die, die Umsetzung dieser Studie nicht möglich gewesen wäre. Des Weiteren möchte ich mich bei Herrn Matthias Stechele für die fachliche und persönliche Unterstützung auf allen Ebenen dieser Arbeit und eine unermüdliche Hilfsbereitschaft bedanken. Die zahlreichen gemeinsamen Diskussionen und Anregungen im Rahmen langer Versuchstage haben die Arbeit maßgeblich geprägt.

Mein Dank gilt darüber hinaus Frau Janni Breinl, Herr Dr. Jörg Schnorr und Frau Dr. Nicola Stolzenburg, sowie dem gesamten Laborteam der Arbeitsgruppe für Experimentelle Radiologie für die gründliche Einweisung und stets hilfsbereite Art und technische Assistenz im Rahmen aller Labortätigkeiten. Ich danke außerdem allen technischen Mitarbeitern des Institut für Radiologie, Charité - Universitätsmedizin für die angenehme und freundliche Arbeitsatmosphäre sowie Hilfsbereitschaft während der Nutzung der Räumlichkeiten.

Ein großer Dank gilt zudem den Tierpflegern des Neurowissenschaftlichen Forschungszentrum und den Forschungseinrichtungen für experimentelle Medizin der Charité – Universitätsmedizin Berlin, welche mich bei der Versorgung der Versuchstiere unterstützt haben.

Mein größter Dank gilt meiner Familie und Freunden für deren immerwährende Hilfe, Geduld und Zuspruch in den letzten Jahren. Insbesondere Danke ich meinen Eltern, die mir im Laufe des Studiums immer zur Seite gestanden haben und ohne deren Motivation und Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

13 Selbstständigkeitserklärung

Hiermit bestätige ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbständig angefertigt habe.

Ich versichere, dass ich ausschließlich die angegebenen Quellen und Hilfen in Anspruch genommen habe.

Hamburg, den 08.09.2021

Helena-Victoria zu Sayn-Wittgenstein-Berleburg



9 783967 291360
mbvberlin mensch und buch verlag

49,90 Euro | ISBN: 978-3-96729-136-0