

Aus dem Institut/der Klinik für
Diagnostische und interventionelle Radiologie und Nuklearmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Paclitaxel-beschichtete Ballone zur Angioplastie: Beschichtungsoptimierung,
Dosisfindung und Pharmakokinetik sowie mögliche neue Anwendungsgebiete

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor rerum medicinalium (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Bettina Kelsch

aus Berlin

Datum der Promotion: 27.02.2015

Inhaltsverzeichnis

1 Abstract	3
2 Einleitung, Zielstellung	6
2.1 Medizinischer Hintergrund / Ausgangslage und Zielstellung	6
3 Material und Methoden	7
3.1 Vorversuche zur Auswahl einer neuen Paclitaxelbeschichtung	7
3.2 Ballonkatheter und Beschichtung	7
3.3 Haftung und Freigabe von Paclitaxel.....	7
3.4 Untersuchungen zur Wirksamkeit, Verträglichkeit und Pharmakokinetik	8
3.4.1 Tiermodell.....	8
3.4.2 Intervention	9
3.4.3 Nach der Intervention	9
3.5 Probenaufbereitung und Paclitaxel-Analytik.....	9
3.6 Quantitative Koronarangiographie.....	9
3.7 Histopathologie	10
3.8 Statistik	10
4 Ergebnisse	10
4.1 Haftung, Transfer in die Arterienwand, Wirkung und Verträglichkeit (einschließlich Dosisfindung) der neuen Paclitaxelbeschichtung (Invest Radiol 2011).....	10
4.2 Wirkstoffverlauf in der Gefäßwand (Circ Cardiovasc Interv 2012).....	11
4.3 Inflation mit geringem Druck (im Hinblick auf die kombinierte Anwendung mit Atherektomie, Clin Res Cardiol 2012)	12
5 Diskussion	13
5.1 Neue Beschichtung (Paclitaxel mit Harnstoff-Zusatz): Haftung, Freigabe, Wirksamkeit, Dosisfindung und Verträglichkeit bei Überdosierung (Invest Radiol 2011).....	15
5.2 Wirkstoffverlauf in der Gefäßwand bis zu 6 Monate nach Intervention	17
5.3 Kombination des Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters mit Atherektomie.....	19
6 Literatur	20
Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen	23
Der Promotion zugrundeliegende Publikationen	24
Lebenslauf	51
Publikationsliste	54
Selbstständigkeitserklärung	55
Danksagung	56

Zusammenfassung

1 Abstract

Einleitung/Zielstellung:

Lokaler Kurzzeitkontakt der Gefäßwand mit Paclitaxel während der Inflation beschichteter Ballonkatheter in verengten Gefäßsegmenten ist geeignet, eine durch die Gefäßwandverletzung ausgelöste überschießende Neointimaprolieration nachhaltig zu hemmen. Ziel der vorliegenden Arbeiten war die Untersuchung der für die Anwendung relevanten Eigenschaften einer neuen Beschichtungsformulierung, der minimal wirksamen und lokal maximal verträglichen Dosis, der Paclitaxel-Verweildauer in der Gefäßwand und im Versorgungsgebiet der behandelten Arterien sowie die mögliche Anwendung in Kombination mit Atherektomie.

Methoden:

Die Haftung der neuen Paclitaxelbeschichtung im trockenen Zustand und im Blut wurde in vitro getestet. Der Paclitaxelübergang in die Gefäßwand, Wirksamkeit, Verträglichkeit sowie die Verweildauer von Paclitaxel in der Gefäßwand wurden in vivo an Koronararterien des Schweins untersucht.

Wirksamkeit und Verträglichkeit wurden in einem Dosisbereich von 1 bis $3 \times 9 \mu\text{g Paclitaxel/mm}^2$ Ballonoberfläche im Vergleich zu unbeschichteten und klinisch bewährten Paclitaxel-beschichteten Paccocath-Ballonkathetern getestet. Die Bestimmung der Paclitaxel-Verweildauer in der Gefäßwand erfolgte bis 6 Monate nach Angioplastie.

Für die Anwendung nach Atherektomie in bereits offenen Gefäßen wurde der Inflationsdruck von 12 auf 2 atm reduziert.

Wirksamkeit und Verträglichkeit wurden mittels quantitativer Koronarangiographie und/oder Histomorphometrie 4 Wochen nach Intervention beurteilt; die Messung der Paclitaxelgehalte erfolgte mit Flüssigchromatographie und Ultraviolett- bzw. massenspektroskopischer Detektion.

Ergebnisse:

Bei vergleichbarer Wirksamkeit und Verträglichkeit zeigte die neue Paclitaxel-Formulierung mit Harnstoff auf den für diese Untersuchung verwendeten Ballonkathetern eine bessere mechanische Stabilität und weniger vorzeitigen Wirkstoffverlust im Blut als die Paccocath-Beschichtung. Die Abnahme des Koronargefäßlumendurchmessers (Lumenverlust) 4 Wochen nach Intervention war mit $0,3 \pm 0,19 \text{ mm}$ nach $1 \mu\text{g Paclitaxel/mm}^2$ bis $0,19 \pm 0,11 \text{ mm}$ nach $9 \mu\text{g Paclitaxel/mm}^2$ statistisch signifikant geringer ($p < 0,01$) als nach Intervention mit einem unbeschichteten Ballon mit $1,21 \pm 0,51 \text{ mm}$ Lumenverlust. Die lokale Verträglichkeitsgrenze war erst nach Anwendung der 9-fachen regulären Dosis überschritten.

Von der ursprünglich auf dem Ballon befindlichen Paclitaxeldosis fanden sich unmittelbar nach Intervention $10\pm 5\%$ bzw. $21\pm 8\%$ (Haus- und Minischwein) in der Gefäßwand, nach 7 Tagen $3,5\pm 3,1\%$ (Hausschwein) und 6 Monate nach Intervention noch $0,40\pm 0,35\%$ (Minischwein). Die Paclitaxelkonzentration im Plasma lag zu allen Zeitpunkten unterhalb der Nachweisgrenze von 10 ng/ml.

Die Inflation des Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters mit nur 2atm führte zu ähnlich guter Hemmung der Neointimaprolieration wie nach Inflation mit dem regulären Druck von 12atm.

Schlussfolgerung:

Der neue, inzwischen CE-zertifizierte, mit Paclitaxel und Harnstoff beschichtete Ballonkatheter zeigte beim Schwein eine sehr gute Wirksamkeit und Verträglichkeit über einen großen Dosisbereich. Die lange Verweildauer von Paclitaxel in der Gefäßwand könnte die anhaltende Restenosehemmung erklären. Bei Verwendung Paclitaxel-beschichteter Ballonkatheter nach Atherektomie scheint ein deutlich reduzierter Inflationsdruck ausreichend, um eine unerwünscht starke Proliferation der verletzten Gefäßwand zu hemmen.

Abstract

Background/Aim:

Short-term exposure to paclitaxel during balloon inflation persistently inhibits neointimal proliferation caused by vessel wall injury due to balloon angioplasty. The aim of the current studies was to investigate relevant properties of a new paclitaxel-coating, the lowest effective and locally maximal tolerated dose, paclitaxel residence time in treated arteries and downstream tissue and the possible use in combination with atherectomy.

Methods:

Adherence of coating in dry state and in blood was tested in vitro, transfer of paclitaxel to and residence time in the vessel wall, efficacy and tolerance were evaluated in vivo in porcine's coronaries.

Efficacy and tolerance were investigated in a dose range of 1 to $3\times 9\mu\text{g}$ paclitaxel/ mm^2 balloon surface compared to uncoated balloons and the clinically proven paclitaxel-coated Paccocath. Paclitaxel residence time in the vessel wall was evaluated up to 6 months after angioplasty.

For the possible use of paclitaxel-coated balloons after atherectomy in an already reopened vessel the inflation pressure was limited to 2 instead of 12atm.

Quantitative angiography and/or histomorphometry 4 weeks after intervention was used to evaluate efficacy and tolerance, liquid chromatography with ultraviolet or mass spectrometry detection to measure paclitaxel content.

Results:

On the balloons used in this study the new urea-matrix paclitaxel coating showed an improved mechanical stability and less premature loss of coating in blood compared to the clinically proven Paccocath-coating with comparable efficacy and tolerance. Four weeks after intervention loss of vessel lumen in the urea-matrix treated arteries ranged from 0.3 ± 0.19 mm after $1\mu\text{g}$ paclitaxel/ mm^2 to 0.19 ± 0.11 mm after $9\mu\text{g}$ paclitaxel/ mm^2 compared to 1.21 ± 0.51 mm in the uncoated balloon group ($p<0.01$ versus control). The local limit of local tolerance was exceeded after 9-times the regular dose of $3\mu\text{g}$ paclitaxel/ mm^2 was applied.

Immediately after intervention $10\pm 5\%$ or $21\pm 8\%$ (domestic or minipig) of the paclitaxel dose on balloons was detected in the vessel wall, after 7 days $3.5\pm 3.1\%$ of dose (domestic pig) and at 6 months still $0.40\pm 0.35\%$ of dose (minipig). At all time points paclitaxel concentration in plasma remained below the limit of quantification of 10ng/ml.

Low-pressure inflation of paclitaxel-coated balloons was similarly effective as high-pressure inflation.

Conclusion:

In swine the new, meanwhile CE-marked urea-matrix coated balloon catheter is effective and tolerated over a wide dose range. The long residence time of paclitaxel in the vessel wall may explain persistent inhibition of neointimal proliferation. Inflation of paclitaxel-coated balloons with significantly lower pressure than used in standard balloon angioplasty is sufficient to inhibit neointimal proliferation.

2 Einleitung, Zielstellung

2.1 Medizinischer Hintergrund / Ausgangslage und Zielstellung

Ballonkatheter werden zum Erweitern verengter Arterien eingesetzt. Bei der Ballondilatation kommt es zu Verletzungen der Gefäßwand, auf die diese mit überschießender Gewebeproliferation reagiert, die ihrerseits wiederum zu einer Gefäßverengung führt. Diese unerwünschte Reaktion kann durch die lokale Verabreichung von bestimmten die Zellproliferation hemmenden Wirkstoffe weitgehend unterdrückt werden. Realisiert wurde dieses Prinzip erstmalig durch die Einführung von medikamentenbeschichteten Stents, allerdings ist die Anwendung von Stents nicht immer möglich oder wünschenswert (Stent-in-Stent-Problematik, Bifurkationen, langstreckige Läsionen in den Beinarterien).

Eine Hemmung der durch Neointimaprolieration bedingten Restenose unabhängig von der Implantation von Stents ist daher wünschenswert, muss aber auf die über lange Zeit anhaltende Freisetzung des Wirkstoffs aus einem Implantat verzichten.

In Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass Paclitaxel, aufgetragen auf die Ballonoberfläche von Angioplastiekathetern, in der Lage ist, trotz des nur kurzen Kontaktes mit der Gefäßwand während der Inflation des beschichteten Ballons im verengten Gefäßsegment, die Neointimabildung im Tiermodell und in bestimmten klinischen Indikationen (koronare In-stent Restenose und femoropopliteale Läsionen) nachhaltig zu hemmen (1-6).

Die in den bis dahin durchgeführten Studien getestete Prototyp-Beschichtung (Bezeichnung: 'Paccocath') auf einem Prototyp-Ballon (Orbus X) war eine eher zufällig ausgewählte Formulierung mit dem Kontrastmittel Iopromid (Ultravist) als Matrixsubstanz und einer damals maximal möglichen Beladung des Ballons mit $3 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ Ballonoberfläche.

Vor diesem Hintergrund sollten nun u.a. im Rahmen dieser Dissertation die folgenden, bisher offen gebliebenen, Fragen untersucht werden:

- 1) Ist eine Verbesserung der Beschichtungsformulierung im Hinblick auf Wirkstoffhaftung, Freigabe im Gefäßsegment und Wirksamkeit möglich? (**Ergebnisse in Invest Radiol 2011**)
- 2) Ist die bisher verwendete Dosis optimal? Wie hoch ist die lokale Verträglichkeitsgrenze, insbesondere im Hinblick auf die Notwendigkeit der Anwendung mehrerer überlappender Ballone in langstreckigen peripheren Stenosen? (**Ergebnisse in Invest Radiol 2011**)
- 3) Ist die anhaltende Restenosehemmung trotz des nur kurzzeitigen Kontaktes der Gefäßwand mit Paclitaxel während der Ballonangioplastie pharmakokinetisch erklärbar, d.h. wie ist der Zeitverlauf des Wirkstoffspiegels in der Gefäßwand? (**Ergebnisse in Circ Cardiovasc Interv 2012**)

4) Kann der Paclitaxel-beschichtete Ballonkatheter auch in Kombination mit anderen endovaskulären Therapieoptionen (z.B. Atherektomie) eingesetzt werden? (**Ergebnisse siehe Clin Res Cardiol 2012**)

Eine weiterführende klinische Studie zur Untersuchung der Wirksamkeit des Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters bei der Behandlung von Läsionen im Unterschenkel ist zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht abgeschlossen.

3 Material und Methoden

3.1 Vorversuche zur Auswahl einer neuen Paclitaxelbeschichtung

In Vorversuchen wurden verschiedene Beschichtungen hinsichtlich Beschaffenheit /Struktur auf dem Ballon, Homogenität des Beschichtungsfilms vor und nach der Inflation sowie hinsichtlich des Verlustes an Beschichtung während der Bearbeitung (z.B. Aufcrimpen von Stents, Aufschieben der Schutzhülle) untersucht. Nach Auswahl der dahingehend am besten geeigneten neuen Paclitaxel-Formulierung wurde diese dann, wie in Kapitel 3.3 bis 3.5 beschrieben, näher untersucht.

3.2 Ballonkatheter und Beschichtung

Konventionelle PTCA-Ballonkatheter (Falcon Bravo) wurden mit der neuen Paclitaxel-Formulierung mit Harnstoff als Zusatzstoff beschichtet. Die verwendete Paclitaxeldosis auf den Ballonen betrug 1, 2, 3 und 9 μg Paclitaxel/ mm^2 Ballonoberfläche. Der klinisch bewährte Paccocath (Paclitaxel in Iopromid auf Orbus X Ballonkathetern) diente in der Wirksamkeitsstudie als positive Kontrolle hinsichtlich Hemmung der Neointimaproliferation. Die verwendete Paclitaxeldosis auf dem Paccocath betrug 1 und 3 μg Paclitaxel/ mm^2 .

Die Untersuchung von Haftung und Freigabe der neuen Paclitaxelbeschichtung erfolgte im Vergleich zur Paccocath-Beschichtung auf dem gleichen Ballontyp.

Alle Ballone wurden im gefalteten Zustand beschichtet. Je nach Verwendungszweck wurde auf einem Teil der Ballonkatheter mittels Crimpzange ein Metallstent montiert.

3.3 Haftung und Freigabe von Paclitaxel

Gegenstand dieser Untersuchungen war die Haftung der neuen Paclitaxelbeschichtung auf dem Ballon und die Freigabe von Paclitaxel im Gefäßsegment, d.h. wieviel Paclitaxelbeschichtung geht während der normalen Handhabung sowie im Blut auf dem Weg zur Läsion verloren, bzw. wieviel Wirkstoffübertrag in die Gefäßwand wird während der Inflation des Ballons erreicht.

Dazu kamen die folgenden 3 Methoden zum Einsatz:

- **Trockenexpansion zur Beurteilung der mechanischen Stabilität des Beschichtungsfilms**
Die Ballone wurden im trockenen Zustand (ohne Stent) in entsprechend großen Probengefäßen expandiert. Der dabei abgeplatzte Anteil des Wirkstoffs und die auf dem Ballon verbliebene Wirkstoffmenge wurden anschließend mittels HPLC (high performance liquid chromatography) bestimmt.
- **Simulation des Wirkstoffverlustes im Blut auf dem Weg zur Läsion (in vitro)**
Der Ballon wurde durch ein blutgefülltes hämostatisches Ventil und einen Führungskatheter geschoben und etwa 1 Minute in gerührtem Blut belassen. Der Restgehalt an Paclitaxel auf dem Ballon wurde anschließend mittels HPLC bestimmt.
- **Übergang von Paclitaxel in die Gefäßwand (in vivo am Schwein)**
Pro Tier wurden 3 Koronarsegmente (LAD: left anterior descending, Cx: left ramus circumflex, RCA: right coronary artery) nacheinander mit je einem beschichteten Ballon (mit oder ohne vormontierten Stent) behandelt. War kein Stent auf dem beschichteten Ballon vormontiert, wurde distal des zu behandelnden Segmentes zunächst ein kurzer ‚Marker‘-Stent implantiert, der einem zweifelsfreien Auffinden des behandelten Gefäßsegmentes bei der Sektion diene. Die Inflationszeit betrug 1 Minute. Etwa 15 Minuten nach der Intervention wurden die Tiere getötet und die entsprechenden Koronarsegmente zur Paclitaxelbestimmung entnommen. Die auf dem Ballon verbliebene Paclitaxelmenge wurde ebenfalls bestimmt.

3.4 Untersuchungen zur Wirksamkeit, Verträglichkeit und Pharmakokinetik

3.4.1 Tiermodell

Die tierexperimentellen Untersuchungen wurden am bewährten Modell überdehnter Schweinekoronarien (7) in direktem Vergleich zu einem unbeschichteten Ballonkatheter und dem präklinisch und klinisch bewährten Prototyp Paccocath-Ballonkatheter durchgeführt. Während der Ballondilatation wird das an sich gesunde Gefäß überdehnt, was zu einer Gefäßwandverletzung führt. Um die Überdehnung aufrecht zu erhalten und die Gefäßwand zusätzlich und kontinuierlich zur Bildung von Neointima zu reizen, werden an den behandelten Stellen Stents implantiert, meist dadurch, dass die Stents auf den beschichteten oder unbeschichteten Ballonkathetern vormontiert werden. Dies führt letztendlich zu einer Gefäßlumeneinengung 28 Tage nach Intervention. In den tierexperimentellen Versuchen kamen junge Hausschweine (ca. 3 Monate alt) bzw. für die Untersuchung des Wirkstoffverlaufs im Gewebe bis 3 und 6 Monaten nach Intervention Mischschweine zum Einsatz.

3.4.2 Intervention

Die Interventionen wurden von einem erfahrenen Interventionalisten durchgeführt.

Dabei wurde je ein Stent in die LAD und die CX implantiert, in der Pharmakokinetikstudie auch in die RCA. Die Stentimplantation erfolgte unter Anwendung eines Inflationsdruckes von 10-15 atm (entsprechend einer Überdehnung von 10 bis 20%). Die Stents waren je nach Randomisierung entweder auf unbeschichteten (Kontrollgruppe) oder beschichteten Ballonkathetern (Behandlungsgruppe) vormontiert. In der Studie zur Untersuchung der Wirksamkeit des Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters nach Inflation mit geringem Druck (im Hinblick auf die kombinierte Anwendung mit Atherektomie) erfolgte zunächst eine Stentimplantation mittels unbeschichtetem Ballon, unmittelbar gefolgt von Nachdilatation des gestenteten Gefäßsegmentes mit einem unbeschichteten oder Paclitaxel-beschichteten Ballon unter Anwendung eines Inflationsdruckes von 2 oder 12 atm. Die Inflationszeit betrug in allen Versuchen 60 Sekunden.

3.4.3 Nach der Intervention

In allen Studien erfolgte die Bestimmung der auf dem Ballon verbliebenen Wirkstoffmenge als Maß für den Anteil Paclitaxel, der bei der Intervention nicht freigegeben wurde. Desweiteren wurde bei den dafür vorgesehenen Tieren die Paclitaxelmenge in der Gefäßwand unmittelbar nach Behandlung bestimmt sowie in der Pharmakokinetikstudie zusätzlich der Wirkstoffverlauf in der Gefäßwand bis zu 6 Monate nach Intervention und der Paclitaxelgehalt im Blut als Maß für die systemisch verfügbare Paclitaxelmenge.

28 Tage nach der Intervention wurden die Tiere reangiographiert, danach getötet (bis auf die für die Kinetikuntersuchungen nach 3 und 6 Monaten vorgesehenen Tiere) und die Herzen zur Präparation der behandelten Koronarsegmente für die histologische Auswertung oder die Bestimmung von Paclitaxel entnommen.

3.5 Probenaufbereitung und Paclitaxel-Analytik

Die Proben wurden mit Ethanol versetzt, ggf. homogenisiert und zentrifugiert. Plasmaproben wurden mittels tert-Butylmethylether ausgeschüttelt. Die Quantifizierung von Paclitaxel erfolgte mittels HPLC.

3.6 Quantitative Koronarangiographie (Prof. Bruno Scheller, Homburg/Saar)

Die quantitative Auswertung der Angiogramme erfolgte mit der Software CAAS II (Pie Medical) durch einen erfahrenen Interventionalisten.

3.7 Histopathologie (Prof. Bruno Scheller, Homburg/Saar)

Die gestenteten Koronarsegmente wurden in Methylmethacrylat (Technovit) eingebettet, pro Segment 3 Schnitte angefertigt und mit der Software LUCIA G histomorphometrisch ausgewertet.

3.8 Statistik

Mittelwerte und Standardabweichungen wurden mit Excel oder SPSS bestimmt. Die angiographischen und histomorphometrischen Parameter wurden mittels ANOVA unter Anwendung der Software SPSS oder mittels Student-t-Test ausgewertet.

4 Ergebnisse

4.1 Haftung, Transfer in die Arterienwand, Wirkung und Verträglichkeit (einschließlich Dosisfindung) der neuen Paclitaxelbeschichtung (Invest Radiol 2011)

Die neue Paclitaxelbeschichtung verlor bei Trockenexpansion mit $22\pm 4\%$ der Dosis deutlich weniger als die Paccocath-Beschichtung auf dem gleichen Ballontyp mit einem Verlust von $43\pm 7\%$ der ursprünglich auf dem Ballon befindlichen Paclitaxeldosis. Der gleiche Trend zu besserer Haftung der neuen Paclitaxelbeschichtung zeigte sich auch bei der Passage durch ein hämostatisches Ventil und den Führungskatheter sowie beim Aufenthalt in Blut. Die neue Beschichtung verlor $26\pm 3\%$, die Paccocath-Beschichtung hingegen $36\pm 11\%$ der auf dem Ballon befindlichen Paclitaxeldosis. Der Rest-Paclitaxelgehalt auf dem Ballon (nach Inflation in Schweinekoronarien) betrug 13% für die neue und 10% der ursprünglich auf dem Ballon befindlichen Paclitaxeldosis für die Paccocath-Formulierung. Im behandelten Gefäßsegment wurden kurz nach der Behandlung $175\ \mu\text{g}$ Paclitaxel (neue Beschichtung) bzw. $214\ \mu\text{g}$ Paclitaxel (Paccocath) quantifiziert (entspricht einer Paclitaxelkonzentration von ca. $500\ \mu\text{g/g}$ Gewebe).

Für die Untersuchungen zur Wirksamkeit und Verträglichkeit der neuen Paclitaxelbeschichtung sowie Dosisfindung und Verträglichkeit bei Überdosierung wurden in insgesamt 2 Versuchsreihen 9 unterschiedliche Behandlungen mit Ballonkathetern an je 2 Koronargefäßen von 65 Tieren durchgeführt. Die Intervention wurde von allen Tieren gut vertragen. Während oder kurz nach der Intervention wurden weder thrombotische noch embolische Komplikationen beobachtet, auch nicht bei den Tieren der höchsten Dosisgruppe, die mit 3 Ballonkathetern, beladen mit je $9\ \mu\text{g Paclitaxel/mm}^2$ pro Gefäßsegment, behandelt wurden. 28 Tage nach Intervention zeigten sich 3 von insgesamt 15 behandelten Gefäßen der höchsten Dosisgruppe (mit $3 \times 9\ \mu\text{g Paclitaxel/mm}^2$) thrombotisch verschlossen bzw. nahezu verschlossen, allerdings ohne nennenswerte Neointimaproliferation oder Zeichen von Malapposition der bei der Behandlung implantierten

Stents. Alle mit einem Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheter (beide Paclitaxel-Formulierungen) behandelten Tiere zeigten 28 Tage nach Intervention eine deutliche Hemmung der Neointimaproliferation, wohingegen es in den Kontrolltieren (unbeschichteter Ballon) zu einer signifikanten Neointimabildung kam. Sowohl die reguläre Dosis von 3 μg Paclitaxel/ mm^2 als auch eine Dosis von 1, 2 und 9 μg Paclitaxel/ mm^2 Ballonoberfläche führten im Vergleich zur Kontrollgruppe zu einer statistisch signifikant geringeren Abnahme des Gefäßlumendurchmessers (Late Lumen Loss, LLL), einem geringeren Stenosegrad mit entsprechend (ebenfalls statistisch signifikant) größerem minimalen Gefäßlumendurchmesser (MLD).

Auch die Gefäße der höchsten Dosisgruppe (Inflation von 3 Ballonkathetern, beschichtet mit je 9 μg Paclitaxel/ mm^2) zeigten eine deutliche Hemmung der Neointimaproliferation verglichen mit den Kontrolltieren. Sofern man die 3 thrombotisch verschlossenen Gefäße dieser Gruppe von der Auswertung ausschloss, waren Gefäßlumenverlust und der Stenosegrad nach 28 Tagen im Ausmaß ähnlich gering wie in den anderen Behandlungsgruppen.

Das Ausmaß der Hemmung der Neointimaproliferation war in den beiden Paclitaxelgruppen (neue Formulierung und Paccocath) nahezu identisch.

Die quantitative angiographische Auswertung zeigte bis zu einer Dosis von 9 μg Paclitaxel/ mm^2 Ballonoberfläche eine leichte Tendenz zu besserer Wirksamkeit (geringerer Gefäßlumenverlust) mit steigender Paclitaxeldosis.

Die histomorphometrische Auswertung der Gefäßsegmente bestätigte die Ergebnisse der QCA. Alle die Ausprägung von in-stent Stenose beschreibenden histomorphometrischen Parameter waren in den mit Paclitaxel behandelten Gefäßen deutlich reduziert und zeigten ebenfalls einen leicht dosisabhängigen Verlauf bis zu einer Dosis von 3 μg Paclitaxel/ mm^2 Ballonoberfläche. So betrug die Neointimafläche $6,77 \pm 2,15 \text{ mm}^2$ in den Kontrolltieren (kein Paclitaxel), in den mit 1 μg Paclitaxel/ mm^2 behandelten Tieren ca. 3 mm^2 und war kleiner als 2 mm^2 nach Behandlung mit einem Ballon, beschichtet mit 3 μg Paclitaxel/ mm^2 . Eine weitere Erhöhung der Paclitaxeldosis auf dem Ballon (9 bzw. $3 \times 9 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) führte nicht zu mehr Wirksamkeit.

4.2 Wirkstoffverlauf in der Gefäßwand (Circ Cardiovasc Interv 2012)

Der Paclitaxelgehalt in der Gefäßwand unmittelbar nach der Intervention mit einem Ballon der Dosis 3 μg Paclitaxel/ mm^2 und vormontiertem Stent betrug $9,9 \pm 5,1\%$ der Dosis (junge Hauschweine), sank innerhalb von 7 Tagen deutlich auf $3,5 \pm 3,1\%$ der Dosis und danach nur noch sehr langsam bis auf $2,5 \pm 0,6\%$ der ursprünglich auf dem Ballon befindlichen Dosis nach 28 Tagen. Ohne vormontierten Stent auf dem Ballon war die anfängliche Paclitaxelmenge in der Gefäßwand mit $5,5 \pm 4,7\%$ der Dosis geringer, sank innerhalb der ersten 24 Stunden deutlich ab

(auf 1% der Dosis), danach dann aber ähnlich langsam wie in der Gruppe der mit vormontiertem Stent behandelten Tiere. War der Ballon mit der 3-fachen Dosis ($9 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) beschichtet, war die anfängliche Paclitaxelkonzentration in der Gefäßwand mit $306 \pm 240 \mu\text{g}/\text{g}$ deutlich höher als nach Anwendung der regulären Dosis ($3 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) mit $197 \pm 106 \mu\text{g}$ Paclitaxel/g Gewebe.

28 Tage nach Intervention fanden sich noch $168 \pm 90 \mu\text{g}$ Paclitaxel/g Gewebe in der Gefäßwand. Bei den erwachsenen Minischweinen war der Paclitaxelübergang in die Gefäßwand nach Behandlung mit einem Ballon der Dosis $3 \mu\text{g}$ Paclitaxel/ mm^2 und vormontiertem Stent mit $21,1 \pm 7,6\%$ der Dosis doppelt so hoch wie in der entsprechenden Gruppe der jungen Hauschweine. Auch hier sank der Paclitaxelgehalt in der Gefäßwand mit der Zeit nur langsam; 3 bzw. 6 Monate nach Intervention waren noch $1,1 \pm 0,7\%$ bzw. $0,40 \pm 0,35\%$ der Dosis im Gefäß nachweisbar.

Im Herzen (nach Präparation und Entnahme der behandelten Gefäßsegmente) fanden sich unmittelbar nach Intervention 17-26% der insgesamt verabreichten Paclitaxelmenge von 2 mg (entsprechend 3 Ballonkathetern mit je $3 \mu\text{g}$ Paclitaxel/ mm^2 pro Herz). Die Paclitaxelkonzentration ($3\text{-}5 \mu\text{g}$ Paclitaxel/g Gewebe) war zwar deutlich geringer als in den behandelten Gefäßsegmenten ($\sim 200 \mu\text{g}/\text{g}$), der Paclitaxelgehalt sank mit der Zeit aber ähnlich langsam wie in der Gefäßwand. Im Plasma lag der Paclitaxelgehalt zu allen Zeitpunkten unterhalb der Nachweisgrenze von $10 \text{ ng}/\text{ml}$.

4.3 Inflation mit geringem Druck (im Hinblick auf die kombinierte Anwendung mit Atherektomie, Clin Res Cardiol 2012)

Die Inflation eines Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters mit nur 2 atm in unmittelbar zuvor gestenteten Gefäßsegmenten führte 28 Tage nach Intervention zu vergleichbarer Hemmung der Neointimaproliferation wie die Inflation des Ballonkatheters mit 12 atm (Gefäßlumenverlust von $0,89 \pm 0,58 \text{ mm}$ bzw. $0,72 \pm 0,39 \text{ mm}$) und war dabei in beiden Gruppen statistisch signifikant geringer ($p < 0,01$) als der Lumenverlust von $1,50 \pm 0,51 \text{ mm}$ bei den Kontrolltieren (unbeschichteter Ballon). Dementsprechend war in beiden Behandlungsgruppen der minimale Gefäßlumen-durchmesser nach 28 Tagen statistisch signifikant größer ($p < 0,005$) und der Stenosegrad kleiner ($p = 0,001$) als in der Kontrollgruppe.

Die histomorphometrische Auswertung der behandelten Gefäßsegmente bestätigte die Ergebnisse der QCA. Die maximale Neointimadicke und die Neointimafläche in den mit einem beschichteten Ballonkatheter und 2 atm behandelten Gefäßsegmenten waren statistisch signifikant geringer als in den Kontrollgefäßen (unbeschichteter Ballon).

5 Diskussion

Paclitaxel ist in der Lage, die durch die Ballondilatation ausgelöste überschießende Gewebeproliferation als Folge der unvermeidlichen Gefäßwandverletzung zu hemmen. Paclitaxel-beschichtete Stents haben sich klinisch bewährt, allerdings ist die Anwendung von Stents nicht immer möglich oder wünschenswert. Präklinische Untersuchungen – durchgeführt von unserer Arbeitsgruppe – zeigten, dass der kurze Kontakt der Gefäßwand mit einem Paclitaxel-beschichteten Ballon während der Inflation im verengten Gefäßsegment ebenfalls geeignet ist, die durch den Ballon verursachte überschießende Gewebeproliferation deutlich zu vermindern. Dies war ein damals überraschender Befund, da man davon ausging, dass für eine anhaltende Restenosehemmung eine kontinuierliche lokale Freisetzung von Paclitaxel über einen längeren Zeitraum notwendig ist, wie dies mit Paclitaxel-beschichteten Stents realisiert war.

Der erste beschichtete Ballonkatheter enthielt Paclitaxel mit einem Zusatz von Iopromid (nichtionisches Röntgenkontrastmittel) als Matrixsubstanz. Diese Prototyp-Beschichtung (Paccocath) auf einem Prototyp-Ballon (Orbus X) zeigte in den ersten klinischen Studien in den geprüften Indikationen eine deutliche Hemmung der Neointimaproliferation, auch über einen längeren Zeitraum (4-6).

Die präklinischen Daten von Cremers et al. (8) belegen allerdings, dass Paclitaxel allein noch keine Wirksamkeit garantiert. Der in dieser Studie getestete Paclitaxel-beschichtete DIOR-Ballon der ersten Generation erwies sich als nahezu unwirksam, wohingegen der zum Vergleich getestete Paccocath-Ballon die bekannte Hemmung der Neointimaproliferation zeigte. Unzureichende Wirksamkeit zeigte der DIOR-Ballonkatheter auch in einer klinischen Studie (9). Beide Studien belegen, dass neben Paclitaxel auch die Zusammensetzung der Arzneimittel-Formulierung, die Beschichtungsmethode und die Eigenschaften der Ballonmembran für die Wirksamkeit wesentlich sind. Die Daten zeigen aber auch, dass Ergebnisse aus dem anerkannten Tiermodell der Stentimplantation und Überdehnung von gesunden Schweinekoronarien mit denen in der Klinik korrelieren, trotz der offensichtlichen Unterschiede zu den Bedingungen in den arteriosklerotisch veränderten Gefäßen beim Menschen. Ein im Tiermodell unwirksamer Ballonkatheter ist es am Menschen sehr wahrscheinlich ebenfalls.

Zu Beginn dieser Doktorarbeit war bekannt, dass ein kurzzeitiger Kontakt der Gefäßwand mit Paclitaxel während der Ballonangioplastie zu einer über 6 Monate hinausgehenden Restenosehemmung in den Koronararterien und im femoropoplitealen Gefäßsegment führt (4, 5). Bislang nicht beantwortet war die Frage, ob die bisher verwendete und eher zufällig ausgewählte Paccocath-Beschichtung einzigartig ist oder eine Veränderung der Beschichtungsformulierung

im Hinblick auf Wirkstoffhaftung und Freigabe im Gefäßsegment sowie Wirksamkeit sogar Vorteile bringt. Ebenso fehlte es bis dahin an Dosis-Wirksamkeitsstudien zur Beurteilung der für eine optimale Wirkung notwendigen Paclitaxeldosis auf dem Ballon. Die bisher getestete Dosis von $3 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ entsprach der damals technisch maximal möglichen Beladung des Ballons. Mögliche lokale Verträglichkeitsprobleme bei Überdosierung, z.B. infolge überlappender Anwendung mehrerer beschichteter Ballone waren zwar untersucht (10), die Verträglichkeitsgrenze war in diesen Untersuchungen aber nicht erreicht worden. Der Anteil an Paclitaxel, der sich unmittelbar nach Intervention in der Gefäßwand wiederfindet, war bekannt, nicht jedoch die Verweildauer von Paclitaxel in der Gefäßwand und ob diese die anhaltende Restenosehemmung erklärt. Diese Fragen und die Möglichkeit der Anwendung von Paclitaxel-beschichteten Ballonkathetern in Kombination mit anderen endovaskulären Therapieoptionen (z.B. Atherektomie) waren Gegenstand der vorliegenden Doktorarbeit.

Da Paclitaxel in Wasser nahezu unlöslich ist, ist für die Herstellung einer Beschichtungslösung ein Lösungsmittel nötig, das geeignet ist, eine ausreichende Menge Paclitaxel in Lösung zu bringen und das gewährleistet, dass die lipophile Ballonmembran gleichmäßig benetzt wird. Idealerweise sollte das Lösungsmittel nach Auftragen der Beschichtungslösung auf den Ballon möglichst schnell und rückstandsfrei verdampfen. Zudem muss gewährleistet sein, dass der Wirkstoff bei der Vorbereitung zur Anwendung des Ballons (Befeuchten mit physiologischer Kochsalzlösung), normaler Handhabung, beim Einführen durch die Schleuse und in den Führungskatheter sowie auf dem Weg im Blut bis zum Zielort in der verengten Arterie nicht abgelöst wird, dann aber beim Inflatieren des Ballons augenblicklich in ausreichender Menge auf die Gefäßwand übertragen und nicht sofort nach Deflation vom Blutstrom wieder von der Gefäßwand abgeschwemmt wird. Möglichst gute Haftung auf dem Ballon einerseits und rasche und vollständige Abgabe des Wirkstoffes im Moment der Inflation andererseits entscheiden darüber, ob ein beschichteter Ballon wirksam ist oder nicht. Um dies zu erreichen, ist der Zusatz eines Hilfsstoffes nötig, der als Matrix Löslichkeit und Haftung von Paclitaxel verbessert, aber auch genügend Paclitaxelübergang in die Gefäßwand gewährleistet. Paclitaxel-beschichtete Ballone ohne Verwendung einer Matrix wie der bereits erwähnte DIOR-Ballon der ersten Generation haben sich in der Klinik aufgrund zu starker Haftung der Beschichtung auf dem Ballon als unwirksam erwiesen (9). Letzterer wurde daher vom Markt genommen und durch den DIOR der zweiten Generation ersetzt, bei dem Schellack als Hilfsstoff verwendet wird (11).

Der als Trägersubstanz verwendete Hilfsstoff sollte pharmakologisch inert sein und aus regulatorischen Gründen für die Zulassung idealerweise bereits als Hilfsstoff im Europäischen Arzneibuch beschrieben worden sein.

Harnstoff erwies sich als ein dahingehend geeigneter Hilfsstoff und wurde deshalb als Matrix in der neuen Paclitaxelbeschichtung verwendet.

5.1 Neue Beschichtung (Paclitaxel mit Harnstoff-Zusatz): Haftung, Freigabe, Wirksamkeit, Dosisfindung und Verträglichkeit bei Überdosierung (Invest Radiol 2011)

Haftung und Freigabe

Die neue Paclitaxelbeschichtung zeigte eine bessere mechanische Stabilität und eine bessere Haftung auf dem Ballon als die zum Vergleich getestete Paccocath-Beschichtung auf demselben Ballontyp. Verglichen mit den in der Literatur beschriebenen Daten für den Prototyp Paccocath-Ballon (Paccocath-Beschichtung auf Orbus X Ballonkathetern) war der Verlust im Blut für die neue Beschichtung allerdings höher (1). Die unterschiedlichen Eigenschaften des Ballonmaterials (weichere Ballonmembran der Falcon-Ballonkatheter) könnten dies erklären. Zudem wurde im aktuellen Versuch kein Unterdruck an den Ballon angelegt, womit ein gewisser Schutz der Beschichtung durch Fixation der Faltung entfiel.

Paclitaxelfreigabe und -übergang in die Gefäßwand während der Inflation des Ballons in den Koronararterien vom Schwein wurde mit vormontiertem Stent untersucht, um identische Versuchsbedingungen zur Wirksamkeitsuntersuchung zu gewährleisten, bei der die Implantation eines Stents zwingend nötig ist, um einen andauernden Reiz zur Neointimaprolieration auszulösen. Zudem erleichtert der Stent die eindeutige Identifizierung des behandelten Gefäßsegmentes bei Entnahme der Arterien für die Bestimmung des Paclitaxelgehaltes in der Gefäßwand. Als Inflationszeit des Ballons im Gefäßsegment wurde 1 Minute gewählt, um wiederum identische Versuchsbedingungen und damit eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse mit vorangegangenen präklinischen Studien zu gewährleisten (1, 2, 8, 12). Die behandelten Gefäßsegmente (3 pro Tier) wurden ca. 15 min nach der letzten Stentimplantation zur Paclitaxelbestimmung entnommen. Das Zeitintervall gewährleistet, dass locker anhaftendes, nicht in die Gefäßwand gedrücktes Paclitaxel mit dem Blutstrom abgeschwemmt werden konnte und tatsächlich nur in die Gefäßwand übergegangenes Paclitaxel bestimmt wird.

Trotz der kurzen Kontaktzeit des Paclitaxel-beschichteten Ballons mit der Gefäßwand von nur 1 Minute fanden sich für beide Beschichtungen ca. 200 µg Paclitaxel im Gefäßsegment. Dies entspricht ungefähr 20% der ursprünglich auf dem Ballon befindlichen Paclitaxeldosis und ist damit deutlich mehr als die Gesamtmenge von Paclitaxel, die von einem beschichteten Stent abgegeben wird (13, 14). Dies könnte erklären, warum der Paclitaxel-beschichtete Ballon trotz der kurzen Kontaktzeit wirksam ist.

Der Restgehalt an Paclitaxel auf den Ballonen nach Inflation in den Koronararterien vom Schwein war für beide Ballone ähnlich niedrig.

Aus den oben genannten Daten lässt sich die während der Intervention in den Blutstrom abgegebene und damit sofort systemisch verfügbare Paclitaxelmenge kalkulieren: 20% Verlust an Paclitaxel im Blut auf dem Weg zur Läsion, 20% Übergang von Paclitaxel in die Gefäßwand und Restgehalt von 13% Paclitaxel auf dem Ballon nach Intervention ergibt, dass 67% der Paclitaxeldosis auf dem Weg zur Läsion, während der Inflation, Deflation und Entfernen des Katheters über den Führungsdraht verloren geht und damit systemisch verfügbar ist. Die Gesamtmenge Paclitaxel auf Ballonen zur Koronarintervention liegt bei ca. 1 mg. Selbst nach Anwendung mehrerer Ballone während einer Intervention liegt die Gesamt-Paclitaxelmenge bei nur ca. 1% der Dosis, die in der Tumorthherapie Anwendung findet. Untersuchungen von Huizing et al. (15) haben gezeigt, dass unerwünschte systemische Wirkungen durch Paclitaxel erst bei ≥ 50 mg systemisch verfügbarem Paclitaxel auftreten. Systemische Nebenwirkungen durch im Blutstrom freigesetztes Paclitaxel während einer Ballonangioplastie unter Anwendung mehrerer Paclitaxel-beschichteter Ballone sind daher in der Kardiologie nicht zu erwarten. Bei Verwendung in peripheren Arterien ist allerdings die Zahl und Größe der während einer Intervention eingesetzten Ballone zu begrenzen (15).

Wirksamkeit und Verträglichkeit

Trotz erheblicher Überdehnung der Gefäße während der Stentimplantation wurde die Intervention von allen Tieren gut vertragen. Die Verträglichkeitsgrenze war erst überschritten, wenn 3 Ballone, beschichtet jeweils mit der 3-fachen regulären Dosis von $3 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ Ballonoberfläche, pro Gefäßsegment inflatiert wurden (Thrombus in 3 von insgesamt 15 so behandelten Gefäßen). Der Zeitpunkt des Gefäßverschlusses in den beiden Hochdosis-Tieren ließ sich nicht feststellen, zum Zeitpunkt unmittelbar nach Stentimplantation war kein Thrombus im Angiogramm sichtbar und beide Tiere überlebten die Nachbeobachtungszeit von 4 Wochen bis zur Kontrollangiographie ohne klinische Auffälligkeiten. Der Grund für die Thrombusentwicklung blieb unklar, die histologische Auswertung der behandelten Gefäßabschnitte zeigte keine Stentmalapposition. Zudem waren die Stentstreben zumindest in einem der beiden Tiere gut mit neuer Intima eingeeilt.

Die Wirksamkeit der neuen Beschichtung und der Paccocath-Beschichtung war nahezu identisch. Es gab keine Hinweise auf Aneurismenbildung, auch nicht nach Anwendung der 9-fachen Paclitaxeldosis (Inflation von 3 Ballonen, beschichtet mit je $9 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ pro Gefäßsegment).

Die Wirksamkeit zeigte einen leicht dosisabhängigen Verlauf mit einem Lumenverlust von $0,30 \pm 0,19$ mm nach $1 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ bis $0,19 \pm 0,11$ mm nach $9 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ verglichen mit $1,21 \pm 0,51$ mm nach Intervention mit einem unbeschichteten Ballon. Dennoch war bereits $1 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ Ballonoberfläche statistisch signifikant wirksamer als ein unbeschichteter Ballonkatheter. Dies könnte erklären, warum ein mit $3 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ beschichteter Ballonkatheter trotz des relativ hohen vorzeitigen Wirkstoffverlustes im Blut auf dem Weg zur Läsion wirksam ist. Allerdings zeigen die bereits erwähnten tierexperimentellen Daten von Cremers et al. (8) im selben Tiermodell und mit einem ebenfalls mit $3 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ beschichteten Ballonkatheter (DIOR, Paclitaxel ohne Matrixsubstanz), der sich als nahezu unwirksam erwies, dass die Paclitaxeldosis auf dem Ballon allein nicht der entscheidende Faktor für die Wirksamkeit ist. Eine starke Haftung der Beschichtung auf dem Ballon verhindert zwar mögliche vorzeitige Wirkstoffverluste, kann aber – wie man an diesem Beispiel sieht – auch dazu führen, dass nicht genügend Paclitaxel während der Balloninflation in die Gefäßwand übergeht. Die neue, aus Paclitaxel und Harnstoff als Matrixsubstanz bestehende Beschichtung, erlaubt die Herstellung unterschiedlicher, an die besonderen Anforderungen einzelner Gefäßregionen und Erkrankungsbilder angepasster Produkte. Insbesondere für die Unterschenkelarterien sind die mit dieser Beschichtung inzwischen verfügbaren flexibleren Ballone mit sehr geringem Ballonprofil besser geeignet als der Prototyp Paccocath-Ballonkatheter. Die neue Beschichtung hat sich im Tiermodell über einen großen Dosisbereich als sehr wirksam und sehr gut verträglich erwiesen. Die Beschichtung wird auf speziellen Kathetern für die Koronararterien, Ober- und Unterschenkelarterien mit unterschiedlichen Schaftstärken verwendet, welche inzwischen CE-zertifiziert sind und im klinischen Alltag erfolgreich eingesetzt werden (16-21).

5.2 Wirkstoffverlauf in der Gefäßwand bis zu 6 Monate nach Intervention

Der Zeitverlauf des Paclitaxel-Gehaltes in der Gefäßwand bis 6 Monate nach Intervention war Gegenstand der folgenden Untersuchung. Damit sollte die Frage beantwortet werden, ob die Verweildauer des Wirkstoffs im Gewebe die zunächst überraschend erscheinende anhaltende Wirksamkeit bei Patienten erklären kann.

Getestet wurde die neue Paclitaxel-Formulierung mit Harnstoff als Matrixsubstanz in den Dosierungen 3 und $9 \mu\text{g Paclitaxel}/\text{mm}^2$ Ballonoberfläche mit vormontiertem Stent bzw. $3 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ ohne vormontierten Stent, da letzteres den Bedingungen in der klinischen Anwendung näher kommt.

Der Paclitaxelübergang in die Gefäßwand während der Inflation war vergleichbar mit den für den Paccocath-Ballon publizierten Daten (1) bzw. dem optimiertem DIOR II (11), aber bedeutend höher als für den klinisch unwirksamen DIOR I berichtet (22).

Der Anteil Paclitaxel, der während der Intervention in die Gefäßwand übergang, hing von der Schweinerasse bzw. dem Alter der Tiere ab, von der Paclitaxeldosis auf dem Ballon als auch davon, ob ein Stent vormontiert war oder nicht. Bei erwachsenen Minischweinen war der Paclitaxelübergang in die Gefäßwand mit 20% der auf dem Ballon befindlichen Paclitaxeldosis doppelt so hoch wie bei den jungen Hausschweinen. Ursache dafür könnte die mit dem Alter der Gefäße nachlassende Elastizität sein. Dies führt zu einem höheren Gegendruck der Gefäßwand während der Balloninflation, was wiederum den Anteil an Paclitaxel, der dabei in die Gefäßwand gedrückt wird, erhöhen könnte.

Die während der Inflation des Ballons in die Gefäßwand abgegebene Paclitaxelmenge war kleiner, wenn kein Stent vormontiert war (5,5% der Dosis ohne Stent bzw. 10% der Dosis mit Stent). Der Stent bietet einen gewissen Schutz der Beschichtung im Blut auf dem Weg zur Läsion, was vorzeitigem Wirkstoffverlust entgegenwirkt. Zudem könnte der Stent bei Implantation bewirken, dass zusätzlich Paclitaxel in die Gefäßwand gelangt und dort festgehalten wird.

Eine höhere Paclitaxeldosis auf dem Ballon führte auch zu einer höheren Gesamt-Paclitaxelkonzentration im Gefäß (ca. 300 µg Paclitaxel/g Gewebe nach Inflation mit 9 µg Paclitaxel/ mm² versus 200 µg/g nach Inflation mit 3 µg Paclitaxel/mm²).

Die Paclitaxelmenge in der Gefäßwand sank innerhalb der ersten 7 Tage deutlich, danach nur noch sehr langsam. Sechs Monate nach Intervention war mit $0,40 \pm 0,35\%$ der Dosis immer noch Paclitaxel in der Gefäßwand nachweisbar.

Die Pharmakokinetikstudie wurde am bereits beschriebenen Modell überdehnter gesunder Schweinekoronarien durchgeführt. Der Paclitaxel-beschichtete Ballon ist im Moment der Dilatation mit einer gesunden und nicht arteriosklerotisch veränderten Gefäßwand in Kontakt. Dies mag einen Einfluss auf den Paclitaxelübergang in die Gefäßwand und den Anteil Paclitaxel, der sich im Myocard wiederfindet, haben. Trotzdem ist dieses Tiermodell das gebräuchlichste Modell, da es reproduzierbare Ergebnisse liefert und mit den Ergebnissen in der Klinik am besten korreliert.

Da die Wasserlöslichkeit von Paclitaxel mit <1 µg/ml für kristallines und wenige µg/ml für amorphes Paclitaxel extrem gering ist (23-25), lassen sich die in dieser und den oben erwähnten Studien gefundenen Paclitaxelkonzentrationen in der Gefäßwand von mehr als 100 µg/ml nur damit erklären, dass Paclitaxel nicht vollständig gelöst, sondern zu einem großen Teil als Partikel vorliegt bzw. an Zellbestandteile gebunden ist. Letzteres könnte die in dieser Studie gefun-

dene überraschend langanhaltende Verweildauer von Paclitaxel in der Gefäßwand erklären und möglicherweise auch die andauernde Restenosehemmung. Wenn die Bindung des lipophilen Paclitaxels an Zellbestandteile dessen Ausscheidung bzw. metabolischen Abbau verhindert, ist es allerdings fraglich, ob Paclitaxel dann überhaupt noch pharmakologisch wirksam sein kann. Daher müssen auch andere Wirkmechanismen für die Restenosehemmung von Paclitaxel in Betracht gezogen werden, z.B. die Wirkung auf frühere Phasen nach der Gefäßwandverletzung mit der Blockade von Prozessen, die die überschießende Neointimaprolieration erst in Gang setzen. Dies ist in Einklang mit der Beobachtung von Pompili et al. (26), dass die Neointimaprolieration 2 bis 7 Tage nach Gefäßwandverletzung ansteigt und danach zurückgeht. Das würde bedeuten, dass die das Gefäßlumen einengende Zellproliferation nicht erst beginnt, wenn die Gefäßwandverletzung ausgeheilt ist, was wiederum bedeuten würde, dass eine kontinuierliche und langanhaltende Paclitaxelfreigabe (wie auf Paclitaxel-beschichteten Stents) gar nicht erforderlich ist.

5.3 Kombination des Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters mit Atherektomie

Bei der herkömmlichen Ballonangioplastie werden die arteriosklerotischen Ablagerungen nicht entfernt, sondern während der Inflation des Ballons mit hohem Druck lediglich in die Gefäßwand gedrückt. Die Dehnung der Gefäßwand mit Plaque und gegebenenfalls Kalk unter hohem Druck führt zu Verletzungen der Gefäßwand, die mit übermäßiger Neointimabildung reagieren kann. Bei der Atherektomie hingegen erfolgt die Wiederherstellung des Gefäßlumens durch eine möglichst gefäßwandschonende Abtragung des Plaques, z.B. mittels kleiner rotierender Klingen. Eine Überdehnung des Gefäßes ist dabei nicht notwendig.

Die Atherektomie kann zudem z.B. auch in extrem kalzifizierten Läsionen eingesetzt werden, bei denen die normale Ballonangioplastie mit oder ohne Stentimplantation unter Umständen nicht erfolgreich wäre oder es aufgrund des hohen nötigen Inflationsdruckes zu schwerwiegenden Dissektionen oder Wandunregelmäßigkeiten mit Stentmalapposition kommen kann. Beides erhöht das Risiko für Thrombenbildung oder Restenosen.

Eine Kombination von Atherektomie und Ballonangioplastie mit einem Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheter könnte daher eine vielversprechende Therapieoption sein. Aufgrund des bereits wiedereröffneten Gefäßlumens könnte der Ballon mit einem deutlich geringeren Druck inflatiert werden, lediglich mit dem Ziel, Paclitaxel in die Gefäßwand abzugeben und das Gefäßlumen zu glätten. Zudem wäre ein nur mäßiger Inflationsdruck wünschenswert, um die ohnehin schon verletzte und geschwächte Gefäßwand nicht noch zusätzlich zu schädigen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass die Inflation des Paclitaxel-beschichteten Ballons mit nur 2 atm ausreichte, um die Neointimabildung im Vergleich zur Kontrollgruppe (unbeschichteter Ballon) statistisch signifikant zu senken. Auch ein niedriger Inflationsdruck gewährleistet im Tiermodell genügend Paclitaxelübergang in die Gefäßwand, um die Neointimaprolieration im bekannten Ausmaß zu hemmen.

Eine klinische Anwendung des Paclitaxel-beschichteten Ballonkatheters in Kombination mit Atherektomie ist daher vorstellbar und wird inzwischen erfolgreich geprüft (27, 28).

6 Literatur

1. Scheller B, Speck U, Abramjuk C, Bernhardt U, Böhm M, Nickenig G. Paclitaxel balloon coating, a novel method for prevention and therapy of restenosis. *Circulation* 2004;110:810-4.
2. Speck U, Scheller B, Abramjuk C, Breitwieser C, Dobberstein J, Boehm M, Hamm B. Neointima inhibition: comparison of effectiveness of non-stent-based local drug delivery and a drug-eluting stent in porcine coronary arteries. *Radiology* 2006;240:411-8.
3. Scheller B, Hehrlein C, Bocksch W, Rutsch W, Haghi D, Dietz U, Böhm M, Speck U. Treatment of coronary in-stent restenosis with a paclitaxel-coated balloon catheter. *N Engl J Med*. 2006;355:2113-24.
4. Tepe G, Zeller T, Albrecht T, Heller S, Schwarzwälder U, Beregi JP, Claussen CD, Oldenburg A, Scheller B, Speck U. Local delivery of paclitaxel to inhibit restenosis during angioplasty of the leg. *N Engl J Med*. 2008;358:689-99.
5. Werk M, Langner S, Reinkensmeier B, Boettcher HF, Tepe G, Dietz U, Hosten N, Hamm B, Speck U, Rieke J. Inhibition of restenosis in femoropopliteal arteries: paclitaxel-coated versus uncoated balloon: femoral paclitaxel randomized pilot trial. *Circulation* 2008;118:1358-65.
6. Scheller B, Clever YP, Kelsch B, Hehrlein C, Bocksch W, Rutsch W, Haghi D, Dietz U, Speck U, Böhm M, Cremers B. Long-term follow-up after treatment of coronary in-stent restenosis with a paclitaxel-coated balloon catheter. *JACC Cardiovasc Interv*. 2012;5:323-30.
7. Schwartz RS, Chronos NA, Virmani R. Preclinical restenosis models and drug-eluting stents: still important, still much to learn. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1373-85.
8. Cremers B, Biedermann M, Mahnkopf D, Böhm M, Scheller B. Comparison of two different paclitaxel-coated balloon catheters in the porcine coronary restenosis model. *Clin Res Cardiol*. 2009;98:325-30.
9. Cortese B, Micheli A, Picchi A, Coppolaro A, Bandinelli L, Severi S, Limbruno U. Paclitaxel-coated balloon versus drug-eluting stent during PCI of small coronary vessels, a prospective randomised clinical trial. The PICCOLETO study. *Heart*. 2010;96:1291-6.

10. Cremers B, Speck U, Kaufels N, Mahnkopf D, Kühler M, Böhm M, Scheller B. Drug-eluting balloon: Very short-term exposure and overlapping. *Thromb Haemost.* 2009;101:201-6.
11. Pósa A, Nyolczas N, Hemetsberger R, Pavo N, Petnehazy O, Petrasi Z, Sangiorgi G, Gyöngyösi M. Optimization of drug-eluting balloon use for safety and efficacy: evaluation of the 2nd generation paclitaxel-eluting DIOR-balloon in porcine coronary arteries. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2010;76:395-403.
12. Albrecht T, Speck U, Baier C, Wolf KJ, Böhm M, Scheller B. Reduction of stenosis due to intimal hyperplasia after stent supported angioplasty of peripheral arteries by local administration of paclitaxel in swine. *Invest Radiol.* 2007;42:579-85.
13. Farb A, Heller F, Shroff S, Cheng L, Kolodgie D, Carter J, Scott S, Froehlich J, Virmani R. Pathological Analysis of Local Delivery of Paclitaxel Via a Polymer-Coated Stent. *Circulation* 2001;104:473-9.
14. Park SJ, Shim WH, Ho DS, Raizner AE, Park SW, Hong MK, Lee CW, Choi D, Jang Y, Lam R, Weissman NJ, Mintz GS. A paclitaxel-eluting stent for the prevention of coronary restenosis. *N Engl J Med.* 2003;348:1537-45.
15. Huizing MT, Keung AC, Rosing H, van der Kuij V, ten Bokkel Huinink WW, Mandjes IM, Dubbelman AC, Pinedo HM, Beijnen JH. Pharmacokinetics of paclitaxel and metabolites in a randomized comparative study in platinum-pretreated ovarian cancer patients. *J Clin Oncol.* 1993;11:2127-35.
16. Micari A, Cioppa A, Vadalà G, Stabile E, Castriota F, Pantaleo P, Grattoni C, Cremonesi A, Marchese A, Rubino P, Biamino G. A new paclitaxel-eluting balloon for angioplasty of femoropopliteal obstructions: acute and midterm results. *EuroIntervention* 2011;7 Suppl K:K77-82.
17. Fanelli F, Cannavale A, Boatta E, Corona M, Lucatelli P, Wlderk A, Cirelli C, Salvatori FM. Lower limb multilevel treatment with drug-eluting balloons: 6-month results from the DEBELLUM randomized trial. *J Endovasc Ther.* 2012;19:571-80.
18. Latib A, Colombo A, Castriota F, Micari A, Cremonesi A, De Felice F, Marchese A, Tespili M, Presbitero P, Sgueglia GA, Buffoli F, Tamburino C, Varbella F, Menozzi A. A randomized multicenter study comparing a paclitaxel drug-eluting balloon with a paclitaxel-eluting stent in small coronary vessels: the BELLO (Balloon Elution and Late Loss Optimization) study. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60:2473-80.
19. Micari A, Cioppa A, Vadalà G, Castriota F, Liso A, Marchese A, Grattoni C, Pantaleo P, Cremonesi A, Rubino P, Biamino G. Clinical evaluation of a paclitaxel-eluting balloon for trea-

- atment of femoropopliteal arterial disease: 12-month results from a multicenter Italian registry. *JACC Cardiovasc Interv.* 2012;5:331-8.
20. Werk M, Albrecht T, Meyer DR, Ahmed MN, Behne A, Dietz U, Eschenbach G, Hartmann H, Lange C, Schnorr B, Stiepani H, Zoccai GB, Hänninen EL. PACIFIER_Paclitaxel-coated balloons reduce restenosis after femoro-popliteal angioplasty: evidence from the randomized PACIFIER trial. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5:831-40.
21. Liistro F, Porto I, Angioli P, Grotti S, Ricci L, Ducci K, Falsini G, Ventoruzzo G, Turini F, Bellandi G, Bolognese L. Drug-eluting balloon in peripheral intervention for below the knee angioplasty evaluation (DEBATE-BTK): a randomized trial in diabetic patients with critical limb ischemia. *Circulation* 2013;128:615-21.
22. Posa A, Hemetsberger R, Petnehazy O, Petrasi Z, Testor M, Glogar D, Gyöngyösi M. Attainment of local drug delivery with paclitaxel-eluting balloon in porcine coronary arteries. *Coron Artery Dis.* 2008;19:243-7.
23. Liggins RT, Hunter WL, Burt HM. Solid-state characterization of paclitaxel. *J Pharm Sci.* 1997;86:1458-63.
24. Haas H. Development of new taxane formulations. *Pharm Unserer Zeit.* 2005;34:115-21.
25. Jeong Hoon Lee U-SG, Kim J-H, Kim Y, Kim S-H, Oh H, Min B. Preparation and Characterization of Solvent Induced Dihydrated, Anhydrous, and Amorphous Paclitaxel. *Bull Korean Chem Soc.* 2001;22:925-8.
26. Pompili VJ, Gordon D, San H, Yang Z, Muller DW, Nabel GJ, Nabel EG. Expression and Function of a Recombinant PDGF B Gene in Porcine Arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:2254-64.
27. Cioppa A, Stabile E, Popusoi G, Salemme L, Cota L, Pucciarelli A, Ambrosini V, Sorropago G, Tesorio T, Agresta A, Biamino G, Rubino P. Combined treatment of heavy calcified femoropopliteal lesions using directional atherectomy and a paclitaxel coated balloon: One-year single centre clinical results. *Cardiovasc Revasc Med.* 2012;13:219-23.
28. Sixt S, Carpio Cancino OG, Treszl A, Beschoner U, Macharzina R, Rastan A, Krankenberg H, Neumann FJ, Zeller T. Drug-coated balloon angioplasty after directional atherectomy improves outcome in restenotic femoropopliteal arteries. *J Vasc Surg.* 2013;58:682-6.

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Bettina Kelsch hatte folgenden Anteil an den aufgeführten Publikationen:

Publikation 1: Kelsch B, Scheller B, Biedermann M, Clever YP, Schaffner S, Mahnkopf D, Speck U, Cremers B. Dose-response to paclitaxel-coated balloon catheters in the porcine coronary overstretch and stent implantation model. Invest Radiol. 2011;46:255-263.

Konzeptionierung der tierexperimentellen Versuche und Entwurf der Studienprotokolle / Beteiligung an experimentellen Arbeiten / Auswertung der Daten / Bewertung der Daten / Verfassen der Publikation

Publikation 2: Speck U, Cremers B, Kelsch B, Biedermann M, Clever Y, Schaffner S, Mahnkopf D, Hanisch U, Böhm M, Scheller B. Do pharmacokinetics explain persistent restenosis inhibition by a single dose of paclitaxel? Circ Cardiovasc Interv. 5:392-400

Konzeptionierung der tierexperimentellen Versuche und Entwurf der Studienprotokolle / Auswertung der Daten / Bewertung der Daten und zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse im Studienbericht / kritische Durchsicht des Manuskripts

Publikation 3: Cremers B, Kelsch B, Clever YP, Hattangadi N, Mahnkopf D, Speck U, Taupitz M, Scheller B. Inhibition of neointimal proliferation after bare metal stent implantation with low-pressure drug delivery using a paclitaxel-coated balloon in porcine coronary arteries. Clin Res Cardiol. 2012;101:385-91

Konzeptionierung der tierexperimentellen Versuche und Entwurf der Studienprotokolle / Auswertung der Daten / Bewertung der Daten und zusammenfassende Darstellung der Ergebnisse im Studienbericht / wesentliche Beiträge zum Verfassen des Manuskripts

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Der Promotion zugrundeliegende Publikationen

Kelsch B, Scheller B, Biedermann M, Clever YP, Schaffner S, Mahnkopf D, Speck U, Cremers B. Dose-response to paclitaxel-coated balloon catheters in the porcine coronary overstretch and stent implantation model. *Invest Radiol.* 2011;46:255-263
<http://dx.doi.org/10.1097/RLI.0b013e31820577df>

Speck U, Cremers B, Kelsch B, Biedermann M, Clever Y, Schaffner S, Mahnkopf D, Hanisch U, Böhm M, Scheller B. Do pharmacokinetics explain persistent restenosis inhibition by a single dose of paclitaxel? *Circ Cardiovasc Interv.* 5:392-400
<http://dx.doi.org/10.1007/s00392-011-0408-y>

Cremers B, Kelsch B, Clever YP, Hattangadi N, Mahnkopf D, Speck U, Taupitz M, Scheller B. Inhibition of neointimal proliferation after bare metal stent implantation with low-pressure drug delivery using a paclitaxel-coated balloon in porcine coronary arteries. *Clin Res Cardiol.* 2012;101:385-91
<http://dx.doi.org/10.1161/CIRCINTERVENTIONS.111.967794>

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Speck U, Cremers B, **Kelsch B**, Biedermann M, Clever Y, Schaffner S, Mahnkopf D, Hanisch U, Böhm M, Scheller B. Do pharmacokinetics explain persistent restenosis inhibition by a single dose of paclitaxel?

Circ Cardiovasc Interv. 2012, 5:392-400

Cremers B, Milewski K, Clever YP, Aboodi MS, Biedermann M, Thim T, **Kelsch B**, Kaluza GL, Scheller B, Granada JF. Long-Term Effects on Vascular Healing of Bare Metal Stents Delivered via Paclitaxel Coated Balloons in the Porcine Model of Restenosis. Catheter Cardiovasc Interv. 2012, 80:630-10

Scheller B, Clever YP, **Kelsch B**, Hehrlein C, Bocksch W, Rutsch W, Haghi D, Dietz U, Speck U, Böhm M, Cremers B. Long-term Follow-up after Treatment of Coronary In-stent Restenosis with a Paclitaxel Coated Balloon Catheter. JACC Cardiovasc Interv 2012; 5: 323-30.

Cremers B, **Kelsch B**, Clever YP, Hattangadi N, Mahnkopf D, Speck U, Taupitz M, Scheller B. Inhibition of neointimal proliferation after bare metal stent implantation with low-pressure drug delivery using a paclitaxel-coated balloon in porcine coronary arteries.

Clin Res Cardiol. 2012;101:385-91.

Kelsch B, Scheller B, Biedermann M, Clever YP, Schaffner S, Mahnkopf D, Speck U, Cremers B. Dose-response to paclitaxel-coated balloon catheters in the porcine coronary overstretch and stent implantation model. Invest Radiol. 2011;46:255-263.

Schnorr B, **Kelsch B**, Cremers B, Clever YP, Speck U, Scheller B. Paclitaxel-Coated Balloons - Survey of Preclinical Data. Minerva Cardioangiol. 2010; 58: 567-582.

Tepe G, Schmitmeier S, Speck U, Schnorr B, **Kelsch B**, Scheller B. Advances on drug-coated balloons. J Cardiovasc Surg. 2010 51:125-43

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Bettina Kelsch, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema:

„Paclitaxel-beschichtete Ballone zur Angioplastie: Beschichtungsoptimierung, Dosisfindung und Pharmakokinetik sowie mögliche neue Anwendungsgebiete“

selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an den ausgewählten Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der obenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Danksagung

Die vorliegende Arbeit wäre ohne die Unterstützung zahlreicher Personen nicht möglich gewesen. Diesen möchte ich meinen Dank aussprechen.

Bei Herrn Professor Dr. M. Taupitz bedanke ich mich für die Überlassung des Promotionsthemas und für die engagierte Betreuung. Seine Anregungen und kritischen Hinweise waren mir eine wertvolle Hilfe.

Dank sage ich auch ganz herzlich Herrn Professor Dr. U. Speck, Herrn Professor Dr. B. Scheller und Dr. B. Cremers sowie Frau Dr. M. Biedermann, Frau N. Chan, Herrn U. Hanisch, Frau N. Hollinger, Frau A. Mittag und Frau B. Rastoul für die Unterstützung bei den experimentellen Arbeiten.

Herrn Dr. Mahnkopf und seiner Arbeitsgruppe bei der IMTR GmbH in Rottmersleben gilt mein Dank für die Bereitstellung der Möglichkeit zu Untersuchungen am Großtiermodell.