

Aus dem Institut für Arbeitsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Tierexperimentelle Testung von Koronarstents mit Beschichtung von Sirolimus in unterschiedlichen Dosierungen

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Diana Stephanie Tschirschmann

aus Berlin

Datum der Promotion: 25.06.2017

Für Jonas, Hannah und Christian

INHALTSVERZEICHNIS

ZUSAMMENFASSUNG	6
ABSTRACT	8
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....	10
1 EINLEITUNG.....	13
1.1 Epidemiologie	13
1.2 Stand der Wissenschaft.....	15
1.2.1 Koronare Herzkrankheit.....	15
1.2.2 Therapie der Koronaren Herzkrankheit	18
1.3 Die Geschichte des Herzkatheters	20
1.4 Koronarstents in der interventionellen Kardiologie.....	22
1.4.1 Stent Definition	22
1.4.2 Bare metal stents (BMS)	22
1.4.3 Restenose	24
1.4.4 Drug eluting stents (DES).....	25
1.4.5 Sirolimus als Stentbeschichtung.....	26
1.4.6 Stentthrombosen und In-Stent-Restenose	27
1.5 Das Schwein als Versuchsmodell in der Humanmedizin	31
2 HERLEITUNG EINER AUFGABENSTELLUNG	32
3 MATERIAL UND METHODEN.....	33
3.1 Versuchstiere und Tierhaltung	33
3.2 Versuchsplanung	33
3.3 Stents	35
3.4 Gruppeneinteilung der Versuchstiere	36

3.5 Anästhesie	37
3.6 Quantitative Koronarangiographie	38
3.6.1. Berechnung des prozentualen Gefäßstenosedurchmessers	38
3.6.2 Berechnung des Late Loss	39
3.7 Abfolge der Koronarintervention	40
3.7.1 Overstretch injury	41
3.7.2 Berechnung Ballon-to-Artery-Ration.....	41
3.8 Euthanasie und Probeentnahme	42
3.9 Histologie und Histomorphometrie	43
3.9.1 Probenvorbereitung	43
3.9.2 Histomorphometrische Untersuchung der Präparate	44
3.9.3 Histologische Score und Indices	45
3.10 Hämatologische Auswertung	48
3.10.1 Entsorgung der Blutprodukte	48
3.11 Statistische Methoden	48
4 ERGEBNISSE	49
4.1 Hämatologische Auswertung	49
4.2 Koronarangiographische Auswertung	51
4.2.1 Koronarangiographische Ergebnisse der Gefäßdurchmesser prae-, unmittelbar nach als auch 4 Wochen postinterventionell	52
4.2.2 Koronarangiographische Ergebnisse der Balloon-to-Artery-Ratio (BAR) vor der Stentimplantation	53
4.2.3 Koronarangiographische Ergebnisse zur Ermittlung des Gefäßstenosedurchmessers	53
4.2.4 Angiographische Ergebnisse des Late Loss	56
4.3 Histomorphometrische und-pathologische Auswertung	59
4.3.1 Prozentuale Gefäßstenosefläche 4 Wochen nach Stentimplantation im Vergleich zur Kontrollgruppe B	60
4.3.2 Neointimale Gefäßfläche 4 Wochen nach Stentimplantation	63
4.3.3 Fläche der Lamina elastica interna (LEI) in mm ²	66
4.4 Histologische Auswertung	68
4.4.1 Verletzungsscore 4 Wochen nach Stentimplantation	68
4.4.2 Entzündungsscore 4 Wochen nach Stentimplantation	70

4.4.3 Endothelisationsscore 4 Wochen nach Stentimplantation	73
DISKUSSION	75
5.1 Diskussion der Methode	78
5.1.1 Wahl der Versuchstiere	78
5.1.2 Versuchszeitraum	79
5.1.3 Sirolimusbeschichtung	79
5.1.4 Koronarangiographie	80
5.1.5 Histopathologische Auswertung	81
5.2 Ergebnisdiskussion	82
5.2.1 Studiendesign und Versuchstiere	82
5.2.2 Angiographische Ergebnisse	82
5.2.3 Histologische Evaluation	83
5.2.4 Histomorphometrische Evaluation	84
5.3 Zusammenfassung	86
6 LIMITATIONEN	87
7 LITERATURVERZEICHNIS	88
8 EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	102
9 LEBENSLAUF	103
10 DANKSAGUNG	103

Zusammenfassung

Hintergrund: In der katheterbasierten Behandlung koronarer Stenosen stellen auch derzeit, trotz langjähriger Optimierung und Forschung, In-Stent-Restenosen ein klinisches Problem dar. Die neointimale Hyperproliferation im Interventionsgebiet wird heute als leitender Prozess für eine Restenose genannt. Um dem entgegenzuwirken, sind diverse antiproliferative Substanzen in Studien getestet worden. In dieser Arbeit wird die antiproliferative Substanz Sirolimus als Beschichtungsmaterial für einen Kobalt Chrom Koronarstent getestet, sowie der Einfluss einzelner Prüfdosierungen auf die neointimale Gefäßproliferation im Schweineherzen untersucht.

Methoden: Zum Einsatz kamen Kobalt-Chrom Stents mit und ohne Polymer Beschichtung sowie Polymer beschichtete Kobalt-Chrom-Stents mit Sirolimus in verschiedenen Dosierungen (D1= 232 µg Sirolimus, D2= 116 µg Sirolimus, D3= 58µg Sirolimus, D4= 29µg Sirolimus). Insgesamt wurden 48 Stents in 6 Gruppen in 24 juvenile deutsche Landrasseschweine implantiert und über einen Versuchszeitraum von 28 Tagen untersucht. Jedes Tier wurde in zwei Dosisgruppen randomisiert und folglich pro Tier zwei Koronarstents implantiert. Hierzu wurde die rechte (RCA) und linke (LAD oder LXC) Herzkranzarterie unter angiographischer Kontrolle gewählt. Die stenttragenden Koronargefäßabschnitte wurden angiographisch, histomorphometrisch und histopathologisch beurteilt.

Resultat: Nach der 28 tägigen Versuchszeit zeigten weder die angiographischen Ergebnisse noch die histomorphometrische Auswertung ein signifikantes Ergebnis zu Gunsten einer Dosisgruppe. Die Dosisgruppe D3 erzielte für die angiographisch ermittelten Parameter Lumenreduktion „Late Loss“ und Reduktion des neointimalen Gefäßdurchmessers das beste Ergebnis. In der histopathologischen Auswertung ergaben sich für die Parameter, Entzündungs- Verletzungs- und Endothelisationsscore keine signifikanten Unterschiede. Histomorphometrische Daten zeigten ebenso kein signifikantes Ergebnis im Gruppenvergleich, wenngleich auch hier die Dosierung D3 mit 58 µg Sirolimus die höchste prozentual ermittelte Reduktion der Neointima aufweisen konnte.

Schlussfolgerung: Der Einsatz eines mit Sirolimus beschichteten Kobalt-Chrom Stents mit einer Dosierung von 58µg, führt im Gruppenvergleich zwar nicht zu einer signifikant

Zusammenfassung

geringeren angiographisch messbaren Lumenreduktion oder signifikant geringeren neointimalen Gefäßdurchmesser im Stentareal. Es zeigt sich allerdings trotz insignifikanter Resultate, im Gruppenvergleich ein positiver Effekt der Dosierung mit 58µg Sirolimus auf die Ausbildung einer neointimalen Gefäßfläche sowie den Late Loss.

Weiterführende Studien mit einem längeren Beobachtungszeitraum als 28 Tage werden notwendig sein, um diese Tendenz zu bestätigen.

Abstract

Background: Despite multi-year optimization and research, in-stent restenosis currently represents a clinical problem in catheter-based treatment of coronary stenoses. Neointimal hyper-proliferation in the area of intervention is specified today as a dominant procedure for restenosis. In order to counteract this, diverse anti-proliferative substances are being tested in studies. In this paper, the anti-proliferative substance Sirolimus is tested as a coating material for a cobalt-chrome coronary stent, and the influence of individual test dosages upon neointimal vessel-proliferation in a pig's heart is also examined.

Methods: Applied in this context were Cobalt-chrome stents with and without polymer coating material as well as polymer coated cobalt-chrome stents with Sirolimus in various dosages (D1= 232 µg Sirolimus, D2= 116 µg Sirolimus, D3= 58µg Sirolimus, D4= 29µg Sirolimus). A total of 48 stents in 6 groups were implanted in 24 juvenile German Landrace pigs and examined over a trial period of 28 days. Each animal was randomised in two dosage groups and, subsequently, two coronary stents per animal were implanted. For this procedure, the right (RCA) and left (LAD or LXC) coronary arteries were selected with angiographic monitoring. The stent-bearing coronary-vessel segments were evaluated angiographically, histomorphometrically and histopathologically.

Results: After the 28-day trial period, neither the angiographic findings nor the histomorphometric evaluation indicated a significant result to the benefit of a dosage group. The best result was achieved by the dosage group D3 for the angiographically ascertained parameter lumenreduction "late loss" and reduction of the neointimal vessel diameter. In the histopathological evaluation, no significant differences resulted for the parameters involving three different scores: infection, injury and endothelisation. Histomorphometric data also showed no significant result in the group comparison, even though the dosage D3 with 58 µg Sirolimus was able to demonstrate, here as well, the highest-identified reduction, on a percentage basis, in neointima development.

Conclusion: Application of a cobalt-chrome stent covered with Sirolimus in a dosage of 58µg, indeed does not lead in the group comparison to significantly lower angiographically measurable lumenreduction, or significantly lower neointimal vessel diameter in the area of the stent. However, it was shown in the group comparison despite insignifi-

Abstract

cant results that a positive effect from the dosage with 58 µg Sirolimus emerges regarding both the formation of a neointimal vascular surface area, as well as late loss.

Further studies with a longer period of observation than 28 days will be required to confirm this tendency.

Abkürzungsverzeichnis

ACVB	Aorto-Coronarer-Venen-Bypass
ACT	Activated clotting time
ADP	Adenosin Diphosphat
ADP	Adenosin Diphosphat
ANOVA	Analysis of Variance
AP	Angina pectoris
ASS	Acetylsalizylsäure
BAR	Balloon-to-Artery-Ratio
BMS	Bare-metal stent
BLS	Preclinical Services Berlin
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CoCr-Stent	Kobalt-Chrom Stent
DCA	Direktionale Atherektomie
DES	Drug eluting stent
DTAH	Duale Thrombozytenaggregationshemmung
EC	Endothelzellen
EPC	Endotheliale Vorläuferzellen
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EES	Everolimus eluting stent
EKG	Elektrokardiogramm
EMA	European Medicines Evaluation Agency

Abkürzungsverzeichnis

FDA	Food and Drug Administration
FELASA	Federation of European Laboratory Animal Science Association
HDL	High density lipoprotein
i.m	intramuskulär
ISR	In-Stent-Restenose
i.v	intravenös
IVUS	Intravaskulärer Ultraschall
J.	Jahre
kg/KG	Kilogramm pro Körpergewicht
KG	Körpergewicht
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAGeSo	Landesamt für Gesundheit und Soziales
LCX	Left circumflex artery
LDL	Low density lipoprotein
LL	Late loss
m	männlich
mg	Milligramm
mg/d	Milligramm/Tag
mm	Millimeter
mmHG	millimeter Quecksilbersäule
MACE	Major adverse cardiac events
MLD	minimaler Gefäßlumendurchmesser

Abkürzungsverzeichnis

Neutr.	neutrophile Granulozyten
NON-STEMI	non ST-elevation myocardial infarction
PCI	Perkutane koronare Intervention
PC-ZES	Phosphorylcholine-zotarolimus eluting stent
PES	Paclitaxel eluting stent
PtCr-EES	Platinum-Chromium Everolimus eluting stent
PTCA	perkutane transluminale Koronarangiographie
PTT	partielle Thromboplastinzeit
QCA	Quantitative Koronarangiographie
RCA	Right coronary artery
RCT	Randomisierte klinische Studie
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RVD	Referenz Gefäßlumendurchmesser
SD	Standardabweichung
SEM	Standardfehler vom Mittelwert
SES	Sirolimus eluting stent
ST	Stentthrombose
TF	Tissue-Faktor
TLR	Target lesion revascularization
vs.	versus

1 Einleitung

1.1 Epidemiologie

Die durch zahlreiche epidemiologische Studien beobachtete globale Zunahme kardiovaskulärer Erkrankungen lässt diese heute zu den weltweit häufigsten Todesursachen zählen (Gaziano 2012). MacKay et al. schätzen den prozentualen Anteil der Todesfälle durch die Koronare Herzkrankheit (KHK) im Jahr 2030 auf 14,9% bei Männern und 13,1% bei Frauen. Dies unterstreicht die Notwendigkeit die therapeutischen Ansätze fortlaufend zu verbessern (Gaziano 2012).

Lange Zeit waren die Erfolge der perkutanen transluminalen Koronarangiographie (PTCA), nach Einführung durch Andreas Grüntzig im Jahr 1977, durch das Auftreten postinterventioneller Verschlüsse (Restenosen) des koronarangiographisch dilatierten Gefäßes limitiert. Mit der Einführung der Koronarstents im Jahr 1994 und zusätzlicher Gabe einer dualen Thrombozytenaggregationshemmung (DTAH) konnte schließlich die Anzahl dieser Komplikation reduziert werden.

Die seit dem Jahr 2003 zum Einsatz kommenden Medikamente freisetzende Koronarstents konnten das Auftreten von Restenosen weiterhin reduzieren, aber nicht gänzlich beseitigen. Im Vergleich tritt derzeit nach alleiniger Angioplastie bei 20-50% der Patienten eine Restenose nach Intervention auf. Bei Metallstents ohne Medikamentenbeschichtung (BMS) liegt der Restenoseanteil bei 10-30% und bei Medikamente freisetzenden Stents (Drug eluting stents (DES)) bei 5-15% (Faxon 2012).

Der Vorteil eines DES ist auf die durch ein Medikament bewirkte Verhinderung der Dickenzunahme der Gefäßintima im Stentbereich zurückzuführen (Faxon 2012). Nach Auswertung mehrerer randomisierter klinischer Studien und Metaanalysen konnte belegt werden, dass die Verwendung eines DES hinsichtlich dem Auftreten von Komplikationen wie Restenose und Revaskularisationen am Zielgefäß (Target lesion revascularisation (TLR)) (Scheller 2011) dem Einsatz von BMS überlegen bleibt (Kalesan 2011).

Doch auch die Erfolge der DES werden heute durch das Auftreten von In-Stent-Restenosen (ISR) und Stentthrombosen (ST) relativiert. Stentthrombosen, welche zwar selten, dennoch derzeit mit einer Häufigkeit von 0,4%-1,3% auftreten, sind eine noch nicht behobene und gefürchtete Komplikation nach perkutaner Koronarangioplastie

Einleitung

(Bonzel 2009) (Büllesfeld 2003). Nach derzeitigem Kenntnisstand können die mit Polymer beschichteten DES eine Entzündungsreaktion am Gefäß auslösen, welche die Gefahr für Restenosen und ST steigern lässt (Rittger 2012) (Joner 2006).

Vor diesem Hintergrund, insbesondere zur Vermeidung einer ISR, sollen in dieser Arbeit mit Sirolimus in unterschiedlichen Dosierungen beschichtete Kobalt-Chrom Stents hinsichtlich ihrer lokalen Bioverträglichkeit auf das Endothel vor der Zulassung am Menschen mittels einer tierexperimentellen Studie getestet werden.

1.2 Stand der Wissenschaft

1.2.1 Koronare Herzkrankheit

1.2.1.1 Definition

Die Koronare Herzkrankheit (KHK) ist eine durch thrombotische und atherosklerotische Ablagerungen hervorgerufene, chronisch verlaufende Erkrankung der arteriellen Herzkranzgefäße.

Das Herz, als muskuläres Hohlorgan, wird von den Herzkranzgefäßen mit Sauerstoff versorgt. Infolge atherosklerotischer Ablagerungen (koronarer Plaques) kommt es in den Gefäßen zu einer Einengung der Gefäßwand mit folgendem Elastizitätsverlust. Daraus resultiert ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und -bedarf am Herzmuskel. Dies führt langfristig zu einer Herzmuskelschwäche, der Herzinsuffizienz. Gefürchtetes Akutereignis ist eine Plaqueruptur in einem oder mehreren Herzkranzgefäßen mit Verengung oder Verschluss der herzmuskelversorgenden Arterien - der Myokardinfarkt. Das betroffene Herzmuskelareal wird hierbei nicht mehr mit Sauerstoff versorgt und stirbt ab (Löwel 2006).

Zu den charakteristischen Symptomen der KHK zählen verschiedene Formen der Angina pectoris (AP), welche bereits Ende des 17. Jahrhunderts durch den Mediziner William Heberden anhand zahlreicher Krankheitsberichte beschrieben wurde (Tellingn 2010).

Die stabile Angina pectoris ist ein durch Belastung oder psychische Anstrengung hervorgerufener thorakaler Schmerz, der in Ruhe oder nach Gabe eines Nitrats wieder vergeht. Die instabile AP beschreibt jedes Erstereignis der Angina pectoris, zunehmende thorakale Schmerzen, das Nichtansprechen auf verabreichte Nitrate und in Ruhe bestehende thorakale Beschwerden. Eine Erhöhung des spezifischen kardialen Markers für muskulären Sauerstoffmangel Troponin I, unterstützt die Diagnose Myokardinfarkt. Hierbei wird entsprechend bestehender Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) der ST-Strecken-Hebungsinfarkt (STEMI) vom Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarkt (NON-STEMI) unterschieden (Herold 2010). Asymptomatische Verläufe, als Stumme Ischämie, werden häufig bei älteren Patienten oder Diabetikern beschrieben (Dietz 2003).

Einleitung

Weitere klinische Merkmale der KHK sind der plötzliche Herztod und die bei chronischem Verlauf entstehenden Zeichen der Herzinsuffizienz.

Zu den kardiovaskulären Risikofaktoren für die Entstehung der atherosklerotischen Plaques zählen als Hauptfaktoren Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, positive Familienanamnese für Herzinfarkt oder KHK bei Familienangehörigen ersten Grades, Nikotinabusus, Lebensalter (männlich > 45 Jahre; weiblich > 55 Jahre) sowie eine Low-Density-Lipoprotein (LDL) Erhöhung und High-Density-Lipoprotein (HDL) Erniedrigung (Löwel 2006), (Herold 2010).

1.2.1.2 Epidemiologie

Zu den häufigsten Todesursachen in den Industrieländern zählen die Herzkreislauferkrankungen. Nach der Todesursachenstatistik 2003 des Statistischen Bundesamtes starb in Deutschland jeder fünfte Bundesbürger an den Folgen einer ischämischen Herzerkrankung. In Deutschland besteht eine Abnahme der Sterblichkeit an KHK bei bis zu 85 jährigen Menschen, bei gleichzeitig wachsender Sterblichkeit in den höheren Altersklassen. In Bezug auf den demographischen Wandel mit steigender Lebenserwartung und fallenden Geburtenraten, stellt dies einen wichtigen Punkt zur Weiterentwicklung der Prävention und Therapie der Koronaren Herzkrankheit dar (Löwel 2006).

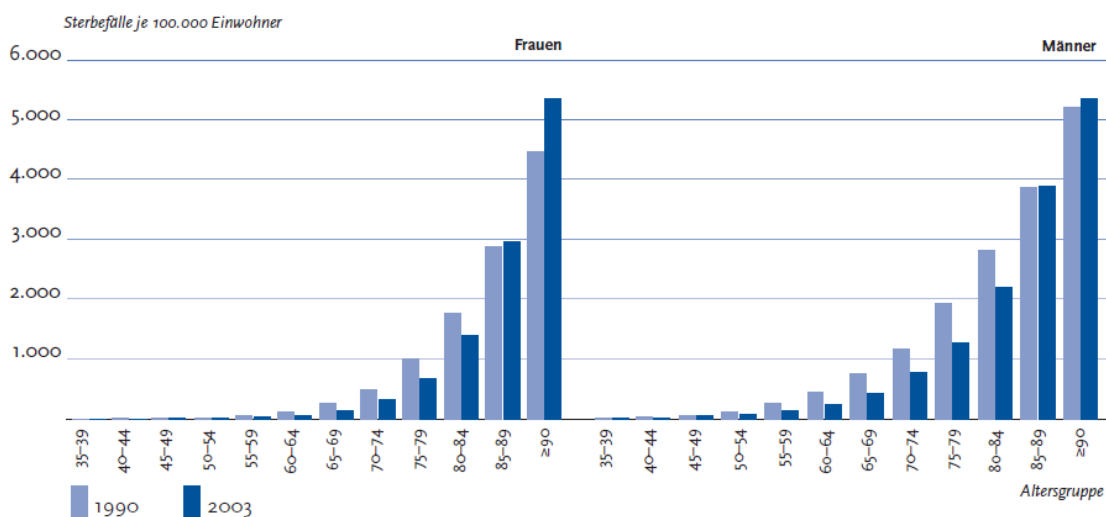


Abbildung 1 : Separate Darstellung der durch koronare Herzkrankheit bedingten Sterblichkeit pro 100.000 Einwohner bei Frauen und Männern in Deutschland zwischen 1990 und 2003 (H Löwel, 2006)

1.2.1.3 Entstehung und Ursache der Atherosklerose am Herz

Wie eingangs beschrieben entwickelt sich die koronare Herzkrankheit auf dem Boden einer Atherosklerose in den Herzkranzgefäßen. Die daraus resultierende Koronarinsuffizienz ist die Folge des Ungleichgewichts zwischen Sauerstoffangebot und –abgabe am Herzmuskel. Ursächlich für die Entwicklung dieses Missverhältnisses ist die Ablagerung atherosklerotischer Plaques in den Herzkranzgefäßen, die bis zu einer kompletten Stenose des Gefäßes führen können (Löwel 2006). Laut Weltgesundheitsorganisation (WHO) wird die Atherosklerose „als eine variable Kombination von Intimaveränderungen, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Fettsubstanzen, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia“, definiert (Riede 1989).

Nach heutigem Wissensstand gelten Fettstreifen, sogenannte „Fatty Streaks“ in den Gefäßen als anfängliche Läsionen für die Atherosklerose (Libby 2012).

Die fortschreitende Akkumulation lipidhaltiger Zellen in die Arterienwände ist ein komplexer und schleichender Prozess. Schon im frühen Erwachsenenalter treten die Fettstreifen unter dem Endothel in Erscheinung. Diese Anreicherung ist jedoch noch komplett reversibel und derzeit mittels hochauflösender Bildgebung nicht erfassbar. Ein geringer Anteil der Fettstreifen verbleibt im Endothel und bildet im Verlauf ein circa ein oder mehrere Millimeter dickes atherosklerotisches Beet aus (Müller 2012). Histomorphologisch werden hierbei das Atherom und die Sklerose unterschieden. Das Atherom ist eine beetartige, lipidreiche Ansammlung einer Bindegewebsmatrix. Die Sklerose wird durch eine Kollagenproliferation (Typ 1 Kollagen) erfasst (Müller 2012). Das Initialstadium der Atherosklerose ist gekennzeichnet durch eine Ansammlung subintimaler Lipide, Kollagenfasern und herdförmig angeordneter Makrophagen, die durch ihre Lipidbelastung auch als Schaumzelle bezeichnet werden. Bei fehlendem Abbau von Cholesterin durch High density lipoprotein (HDL) kristallisiert das überflüssige Cholesterin und zerstört die Schaumzellen und angrenzenden Gewebestrukturen. Das auf diese Art gebildete histologische Material mit einer zentralen Nekrose und randgebenden Schaumzellen wird als Atherom oder Atherosklerotischer Plaque bezeichnet (Riede 1989).

Beim Menschen zählen zu den Prädilektionsstellen der Koronarsklerose die proximalen Abschnitte der Herzkranzgefäße (Mörl 1998).

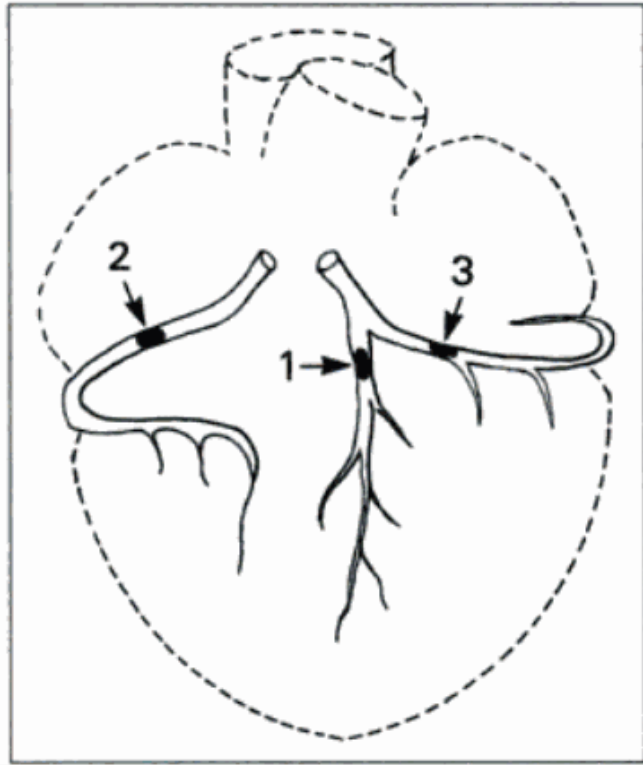


Abbildung 2 : Manifestation der Koronarsklerose in den Herzkranzgefäßen.
1 Ramus interventricularis anterior (RIVA), 2 Arteria coronaria dextra (RCA),
3 Ramus circumflexus (LCX) (Mörl 1998)

1.2.2 Therapie der Koronaren Herzkrankheit

Die KHK kann rein konservativ, chirurgisch- interventionell als auch in Kombination therapiert werden. Therapeutische Ziele sind neben der Senkung der Sterblichkeit die Erhaltung und Optimierung der Lebensqualität sowie die Abwendung von Folgeschäden wie Herzinsuffizienz und Herzinfarkt (Dietz 2003).

Bei der medikamentösen Behandlung werden antianginöse und antithrombozytäre Wirkstoffe entsprechend des individuellen Risikoprofils eingesetzt.

Nach Antman et al. werden folgende Substanzklassen verwendet (Antman 2012):

a) Nitrate

Pharmakologisch wirksames Substrat dieser Arzneimittelklasse ist das über eine Aktivierung der Guanylatzyklase an den glatten Gefäßmuskelzellen und anschließender cGMP-Synthese vasodilatierend wirkende Stickstoffmonoxid (NO).

b) β-Rezeptoren-Blocker

Betablocker mindern den myokardialen Sauerstoffverbrauch durch Blockierung des adrenerg vermittelten Herzantriebes. Desweiteren wird durch eine regelmäßige

ge Betablocker-Medikation die Sterblichkeit und das Reinfarkttrisiko bei Patienten nach einem Herzinfarkt gesenkt.

c) Kalziumantagonisten

Diese Stoffgruppe blockiert Calciumkanäle vom L-Typ. Dies bedingt am Myokard eine Senkung der kardialen Kontraktionsfähigkeit, Abnahme der AV-Überleitung und Herzfrequenz (Grimminger 2007).

d) Nicht-steroidale Antiphlogistika

Aspirin führt durch irreversible Hemmung der Cyclooxygenase zu einer verminderten koronaren Thrombusaggregation. Eine Langzeittherapie zw. 75-325 mg/d mindert das Risiko eines koronaren Events.

e) Adenosin Diphosphat (ADP)-Rezeptor-Antagonisten

Clopidogrel und Ticlopidin hemmen irreversibel über den P2Y₁₂-ADP-Rezeptor die Thrombozytenaggregation. Clopidogrel kommt in Kombination mit Acetylsalicylsäure (ASS) oder allein bei bestehender ASS Unverträglichkeit in der Behandlung der ischämischen Herzkrankheit zum Einsatz. Die duale Thrombozytenaggregation mit ASS und Clopidogrel senkt nach stattgehabtem Myokardinfarkt das Reinfarkttrisiko und wirkt nach Stentimplantation der Entstehung intravasaler Thromben entgegen.

Die chirurgisch-interventionellen Verfahren kommen entsprechend dem Ausmaß der geschädigten Gefäße zum Einsatz.

Neben der 1977 von A. Grüntzig erfolgreich durchgeführten PTCA sind von Eberli et al. noch weitere Angioplastieverfahren beschrieben worden (Eberli 2001), (Grüntzig 1979).

- a) Hochfrequenzrotationsangioplastie
- b) Excimer-Laser-Koronarangioplastie
- c) Direktionale Atherektomie (DCA)

Neben den chirurgisch-interventionellen Verfahren existiert als operativer Eingriff die Bypass-Operation. Hier handelt es sich um einen Eingriff am offenen Herzen nach Sternotomie mit dem Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine. Bei der Operation werden künstliche Umgehungskreisläufe aus Venen (z.B. Vena saphena magna) an einen stenosefernen Gefäßabschnitt einer betroffenen Herzkranzarterie und der Aorta ascendens geschaffen (Hombach 2001).

1.3 Die Geschichte des Herzkatheters

Die perkutane koronare Intervention zählt heute zu einer der am häufigsten durchgeführten Maßnahme der invasiven Medizin. Die erste dokumentierte Rechts-und Linksherzkatheterdiagnostik wurde 1711 von Hales an einem Pferd durchgeführt (Mueller 1995). Der Versuch eines Linksherzkatheters an einem an Cholera erkrankten Menschen ist im Jahr 1831 auf den Chirurgen Dieffenbach zurückzuführen (Albers 2014). Der französische Physiologe Bernard definierte 1844 den Begriff des Herzkatheters. Mit einem Glasthermometer prüfte Bernard die Temperatur in einem Pferdeherz und führte aufbauend auf seine Methoden 1847 die erste Messung der Druckverhältnisse im rechten Ventrikel eines Pferdeherzes durch. Zu den weiteren Fortschritten zählten die 1895 durch Roentgen entdeckte Röntgenstrahlung sowie des Fluoroskopos 1896 durch Williams (Schmitt 2004).

Der deutsche Urologe Werner Forßmann suchte nach einer neuen Möglichkeit zur Verabreichung intrakardialer Medikamente unter Umgehung der Durchstechung der Herzwände. Von seinem anatomischen Wissen abgeleitet sah er den Zugang über das rechte Herz durch das venöse System als den sicherern Weg. Im Juli 1929 schrieb Forßmann mit dem im Selbstversuch durchgeführten Herzkatheter Geschichte. Über seine linke Armvene (Vena basilaris sinister) schob er einen Blasenkatheter von 65 cm Länge bis in den rechten Herzvorhof und dokumentierte die Katheterposition per Röntgenbild (Mueller 1995).

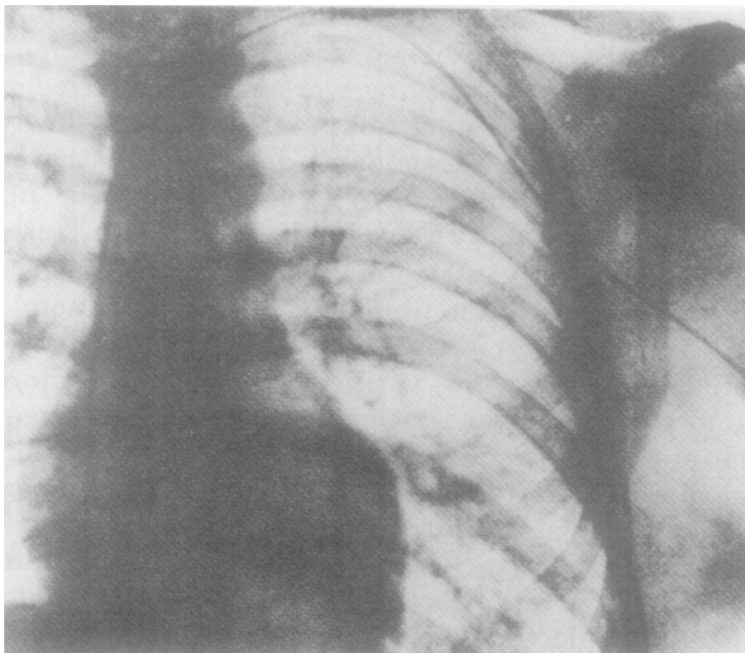


Abbildung 3 : Darstellung des thorakalen Röntgenbildes mit einer Katheterspitze im rechten Herzvorhof aus dem Rechtsherzkatheter-Selbstexperiment von Forssmann 1929 (Mueller 1995).

Einleitung

Angetrieben von den Fortschritten in der Herzkatheterentwicklung nutzten Cournand und Richards 1941 den Herzkatheter zur Messung des Herzzeitvolumens. 1942 wurden von ihnen die rechte Herzkammer und 1944 schließlich die Pulmonalarterien katheterisiert. 1956 wurde Cournand, Forßmann und Richard der Nobelpreis für Medizin verliehen.

Einen weiteren Meilenstein in der Herzkatheterentwicklung erzielte 1953 der Radiologe Seldinger in Stockholm, indem er die Seldinger-Methode zur Gefäßpunktion beim Katheterisieren entwickelte. Mason Sones entwickelte knapp 30 Jahre nach Forßmann 1958 das Koronarangiogramm. Hierbei konnten durch Kontrastmittel erstmals die Herzkranzgefäße sichtbar gemacht werden. Der durch Dotter geprägte Begriff der transluminalen Angioplastie stammt aus dem Jahr 1964. Dotter rekanalisierte irrtümlich eine verschlossene Iliacalarterie. Zudem war er der Überzeugung, dass Gefäße mit einer Schiene offen gehalten werden können. Im Januar 1964 wurde von Dotter und Judkins die erste transluminale Angioplastie der linken Arteria poplitea bei einer 82-jährigen Patientin durchgeführt. 1968 folgte in Cleveland die erste Aorto-Coronare-Venen-Bypass (ACVB) Operation durch den argentinischen Herzchirurgen René Favaloro. Nicht unwesentlich für die Geschichte der interventionellen Kardiologie war die bereits 1965 in Moskau durch den russischen Arzt Kolessov durchgeführte Mammaria-Operation mit einem Bypass zum Ramus interventrikularis anterior (RIVA) des Herzens. 1976 wurde durch Chazóv erstmals mittels intrakoronar verabreichter Streptokinase ein akuter Myokardinfarkt therapiert (Erbel 2002).

Der deutsche Mediziner Andreas Grüntzig überarbeitete die Kathetermethode von Dotter und Judkins. Am 12. Februar 1974 setzte er schließlich seinen eigens hergestellten Ballonkatheter zur Ballonangioplastie einer Beinarterie beim Menschen ein. Drei Jahre später folgte durch Grüntzig und Myler die erste am Menschen durchgeführte PTCA im Sankt Mary's Hospital in San Francisco (Mueller 1995). Diese Methode etablierte sich schnell als Methode der Wahl bei der Behandlung der ischämischen Herzerkrankung (Lange 1991). Die Erfolgsrate der ersten 50 Patienten, die eine PTCA erhielten, lag nach Newsome et al. bei 64% und stieg mit steigender Erfahrung auf 90% an (Newsome 2008).

Durch die technische Weiterentwicklung und die wachsende Erfahrung der Mediziner konnten zunehmend Patienten mit komplexeren Koronargefäßläsionen behandelt werden. Pro Jahr wurden in den 90iger Jahren rund 300.000 Menschen durch eine PTCA behandelt (Faxon 2012).

1.4 Koronarstents in der interventionellen Kardiologie

Die Erfolge der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie durch A. Grüntzig wurden schnell durch das Auftreten von Restenosen in dem zuvor dilatierten Gefäß relativiert (Horlitz, 2002). Einen Lösungsansatz hierzu stellte bereits in den 60iger Jahren der von Charles Dotter und seinem Kollegen Judkins entwickelte Versuch ein Gefäß mit einer Stütze zu weiten und stabilisieren (Payne 2001) (Faxon 2012).

1.4.1 Stent Definition

Ein Stent besteht aus einer gitterförmigen Endoprothese, die zur Aufrechterhaltung einer Gefäßwand dient. Die ersten Koronarstents wurden in den neunziger Jahren durch Jaques Puel, Peter Serruys und Ulrich Sigward getestet. Hierbei handelte es sich um selbstexpandierende Gefäßstützen. Der Prototyp koronarer Stents war der von ihnen verwendete Wallstent, ein aus 16 Stahldrähten bestehendes Maschennetz. Die Weiterentwicklung des Wallstents folgte. Weite klinische Anwendung fand der Palmaz-Schatz-Stent. Hierbei handelte es sich um eine ballonexpandierende Gefäßstütze, deren Überlegenheit zur alleinigen Ballonangioplastie hinsichtlich der Verhinderung einer Restenose in Studien belegt werden konnte (Serruys 1994) (Urban 1989) (Eberli 2001). In der ISAR-Stereo Studie wurde zudem von einem positiven Effekt auf Restenoseraten dünner Stentstreben berichtet (Kastrati 2001).

Derzeit existieren neben den reinen Metallstents Medikamente freisetzende Koronarstents mit entweder resorbierbarer oder biostabiler Trägerbeschichtung (Polymer) (Scheller 2011).

In dieser Arbeit wurde als Stentgerüst Kobalt-Chrom mit einem resorbierbaren Polymer mit unterschiedlicher Sirolimusdosierung, sowie ein unbeschichteter Bare-metal stent eingesetzt. Die Kobalt-Chrom Legierung der Koronarstents ist seit deren Einführung ein klinisch ausführlich erprobtes Material (Kereiakes 2003).

1.4.2 Bare-metal stents (BMS)

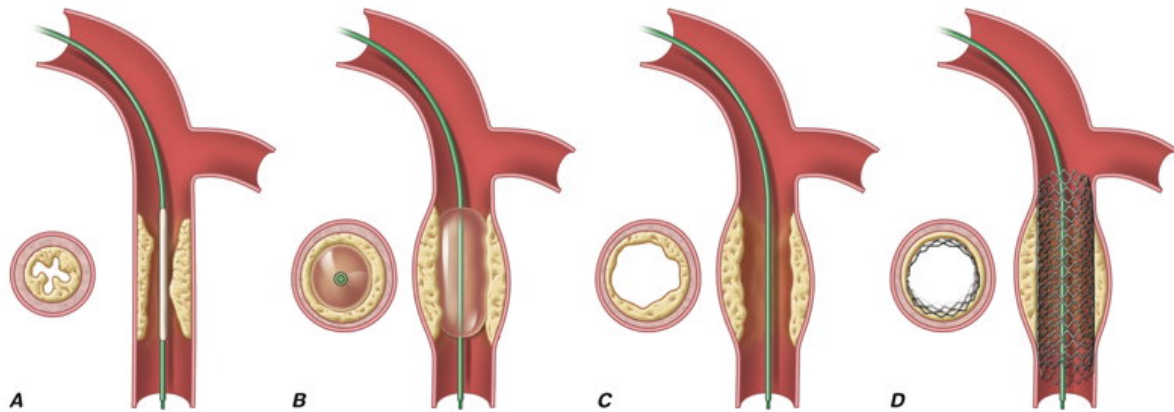
Nach Einführung der Bare-metal Stents (BMS) im Jahr 1994 durch die Food and Drug Administration (FDA) waren die ersten Schritte zur Vorbeugung einer Restenosierung nach Ballonangioplastie getan. Es ist nach zahlreichen Studien bewiesen worden, dass verglichen mit der konventionellen perkutanen transluminalen Koronarangioplastie

Einleitung

(PTCA) der Restenosegrad eines mit einem Stent versorgten Gefäßes reduziert werden kann. Zu nennen sind hier die beiden ersten groß angelegten randomisierten Studien BENESTENT und STRESS, in denen aufbauend auf den Errungenschaften von J. R. Palmaz ballonexpandierende Stents verwendet wurden (Serruys 1994) (Erbel 2002).

Eine schematische Darstellung der Weiterentwicklung der Koronarangioplastie mit Applikation eines Stents zur Verhinderung der Restenose ist in Abbildung 4 dargestellt (Faxon 2012).

Abbildung 4 : Schematische Darstellung der Stentimplantation nach Ballonangioplastie



Aus: Harrisons Innere Medizin, 18. Auflage (Copyright: ABW Wissenschaftsverlag GmbH)

Konnte schließlich eine Restenose durch BMS verhindert werden, suchten Wissenschaftler schon bald durch das Auftreten neuer Komplikationen wie Stentthrombosen (ST) und In-Stent-Restenosen (ISR) nach Lösungen. Bei reinen Metallstents liegt derzeit das Risiko für einen thrombotischen Verschluss bei 1 bis 3 % nach Intervention, welches nach heutigem Kenntnisstand durch die Einnahme einer dualen Thrombozytenaggregationshemmung (DTAH) reduziert werden kann. Das Auftreten einer Restenose nach BMS Implantation beträgt 10-30% (Faxon 2012).

1.4.3 Restenose

Bis heute ist die Pathogenese der Restenose nach Ballonangioplastie nicht vollständig geklärt. Es wird von einem mehrphasigen Verlauf ausgegangen. Zu dem in mehreren Phasen stattfindenden Prozess werden heute folgende drei Punkte gezählt:

- a) Auftreten elastischer Rückstellkräfte (elastic Recoil) innerhalb von 24 Stunden nach Ballonangioplastie
- b) Ausbildung eines intimalen Thrombus innerhalb von zwei Wochen nach PTCA, welcher zu einer erheblichen Lumeneinengung führt
- c) Überschießende Bildung neointimaler Flächen durch Aktivierung und Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen und extrazellulärer Matrix innerhalb der ersten 12 Wochen (Schainfeld 2002).

Durch Einwanderung glatter Muskelzellen kommt es, bedingt durch die Ausbildung einer neointimalen Gefäßfläche, zu einer Gefäßlumeneinengung. Faxon et al. nennen den nach Ballonangioplastie hervorgerufenen reaktiven Gefäßumbau „Remodeling“ mit

Differenzierung endothelialer Vorläuferzellen (EPC), wodurch das Risiko für die Entstehung einer ST erhöht werden kann und aktivieren Tissue-Faktor (TF) (Steffel 2007).

Der Wirkstoff Rapamycin (Sirolimus) drängte sich dank seiner immunsuppressiven und antiproliferativen Eigenschaften schnell als geeignetes Medikament für eine Stentbeschichtung in den Vordergrund (Moses 2003).

1.4.5 Sirolimus als Stentbeschichtung

Sirolimus (Rapamune®), als ein natürlich vorkommendes Makrolidantibiotikum zählt zusammen mit Everolimus (Certican®) und Mycophenolatmofetil (CellCept®) zu der Gruppe der neuen Immunsuppressiva. Seine Wirkweise mit Unterdrückung der Aktivierung und Proliferation von T- und B-Lymphozyten, sowie die Hemmung glatter vaskulärer Muskelzellen (Kaeber, 2007), entspricht dem therapeutischen Ziel der In-Stent-Restenose-Behandlung (Topol, 1998).

Einsatz fand der Zellzyklus-Inhibitor bereits Ende der 90er Jahre in der Transplantationsmedizin (Groth, 1999).

1999 wurde durch die Food and Drug Administration (FDA) und 2001 durch die European Medicines Evaluation Agency (EMA) die Zulassung für den Einsatz von Sirolimus als Medikament zur Verhinderung der Nierenabstoßungsreaktion bestätigt.

Es stellte sich jedoch die Frage nach der Fähigkeit des Sirolimusstents, eine adäquate Sirolimus Konzentration zur ausreichenden Hemmung der intimalen Neoplasie abzusondern.

Anreiz zur Weiterentwicklung dieses medikamentenbeschichteten Stents bot die erste klinische Studie am Menschen in welcher ein mit Sirolimus beschichteter Stent (Sirolimus eluting stent (SES)) verwendet wurde. In der Pilotstudie konnte durch den Einsatz dieses Stents nach sechs Monaten eine 0% In-Stent-Restenose und nur eine geringe Ausbildung einer Neointima gegenüber 26% bei dem BMS dokumentiert werden. In der folgenden RAVEL Studie konnten diese positiven Resultate bestätigt werden.

In Europa erschien schließlich 2002, in den USA 2003 die erste Generation der DES mit Sirolimus. 2004 folgte der mit Paclitaxel beschichtete DES (PES) (Newsome 2008).

Doch nicht nur ISR, vielmehr das neu aufgetretene Phänomen der späten Stentthrombosen (ST), welche bei Medikamente freisetzenden Stents (hier insbesondere 12 Monaten nach Implantation) auftraten forderte neue Lösungsansätze.

1.4.6 Stentthrombosen und In-Stent-Restenose

Eine einheitliche Definition der Stentthrombose existiert erst seit 2006. Nach dem Academic Research Consortium (ARC) werden Stentthrombosen nach ihrem zeitlichen Auftreten definiert (Wöhrle 2007):

- akut (innerhalb von 24 Stunden nach Implantation)
- subakut (>24 Stunden bis 30 Tage)
- spät (31 Tage bis 1 Jahr)
- sehr spät (>1 Jahr)

Wie einleitend erwähnt ist die postinterventionelle Stentthrombose (ST) eine gefürchtete Komplikation in der interventionellen Kardiologie. Bis heute konnte das Problem früher (< 30 Tage nach Stentimplantation), später (30 bis 360 Tage nach Stentimplantation) und sehr später (>360 Tage nach Stentimplantation) Stentthrombosen nicht komplett eliminiert werden.

1.4.6.1 Ursachen der Stentthrombose

Als mögliche Auslöser der Stentthrombosen werden aktuell die unterschiedlichen Polymerbeschichtungen der Koronarstents, welche eine Hypersensitivitätsreaktion hervorrufen können, die Dosierung des antiproliferativen Medikaments, deren Freisetzungskinetik, sowie eine verlangsamte Endothelialisierung der Stentstreben kritisch hinterfragt (Nakazawa 2011) (Räber 2012) und dienen fortlaufend als Anreiz derer Modifikation.

Die Gefahr des Auftretens sehr später Stentthrombosen, bei dem Gebrauch eines DES der ersten Generation wächst, mit einem jährlichen Risiko von 0,5%-0,6% innerhalb von fünf Jahren nach Implantation (Räber 2012). Es bestätigte sich, dass der Einsatz einer DTAH (Acetylsalizylsäure (ASS) und ADP-Antagonisten (Ticlopidin und folgend Clopidogrel)) einen prophylaktischen Effekt gegen Stentthrombosen bewirken kann (Lüscher 2007).

Aktuell belegen Ergebnisse einer Metaanalyse von Palmerini et al. eine Überlegenheit der DES der zweiten Generation (Everolimus Kobalt-Chrom Stent), gegenüber DES der ersten Generation (Sirolimus/Cypher und Paclitaxel/Taxus) und unbeschichteten Me-

tallstents hinsichtlich dem Auftreten von Stentthrombosen in einem Beobachtungszeitraum von 2 Jahren (Palmerini 2012).

Vor dem Hintergrund der Datenlage zu Beginn dieser Arbeit soll insbesondere auf Studien in denen SES mit PES und BMS verglichen wurden, eingegangen werden.

1.4.6.2 Restenosen bei DES

Die bereits erwähnte multizentrisch durchgeführte RAVEL Studie aus dem Jahr 2002 dokumentierte eine Überlegenheit des SES zu herkömmlichen BMS. Als primärer Endpunkt war hier der späte Lumenverlust (Late Loss) im Stent nach 6 Monaten festgelegt. Nach einem Jahr zeigte sich mit 5,8% bei SES im Vergleich zu 28,8% bei BMS ein verringertes Auftreten von major cardiac events (MACE)(Morice 2002). Eine multizentrische Folgestudie mit größerem Patientenkollektiv (SIRIUS) verzeichnete ähnliche Resultate zugunsten des mit Sirolimus beschichteten Stents (Binäre Restenoserate SES 8,9% vs. 36,6% BMS) (Moses 2003). Nachfolgend wurden 2003 die E-SIRIUS und 2004 die C-SIRIUS Studien durchgeführt, welche ebenso als primären Endpunkt den Late Los in einem Zeitraum von 8 Monaten festgelegt hatten. Zudem wurde das Patientenkollektiv erweitert. Der Vorteil des SES hinsichtlich verringerter Restenosierungsraten, hier an sehr kleinen Gefäßen und längeren Gefäßläsionen, zu BMS ist auch in diesen beiden Studien bestätigt worden (Schofer 2003) (Schampaert 2006). Babapulle et al. verglichen 15 randomisierte klinische Studien (RCT) mit einem follow-up von 6-12 Monaten zur Effektivität und Sicherheit der DES erster Generation und BMS. Mit der Verwendung der DES konnte eine Abnahme der Häufigkeit von Restenosen nach Implantation, Revaskularisation an der Zielläsion (Target lesion revascularization (TLR)) und eine Reduktion von MACE zugunsten der DES erzielt werden (Babapulle 2004). Im Jahr 2007 belegten Daten aus der SESAMI Studie ebenfalls einen Vorteil von SES gegenüber BMS. Der primäre Endpunkt war hier das Auftreten einer binären Restenose nach einem Jahr. Die sekundären Endpunkte dieser Studien wie MACE und TLR fielen ebenso zugunsten der mit Sirolimus beschichteten Stents aus (Menichelli 2007).

Bei der Gegenüberstellung von DES 1.Generation (SES und PES) belegen Daten der SORT OUT II Studie aus 2008 und der SIRTAX LATE Studie aus 2011, mit einem Patientenkollektiv von jeweils >1000 Patienten, keine Überlegenheit des SES gegenüber dem PES (Galløe 2008) (Räber 2011). Klinisch primäre Endpunkte waren hier Tod, Myokardinfarkt und TLR.

Die ISAR DESIRE Studie aus dem Jahr 2005, in der SES und PES untereinander, sowie mit der reinen Ballon-Angioplastie verglichen wurden kam zu folgenden Ergebnissen. Das Vorkommen von ISR war in der Angioplastie-Gruppe mit 44% signifikant höher, als in der PES (21,7%) -und SES (14,3%) Gruppe. Eine statistisch signifikante Reduktion des Late Loss bestand zugunsten des SES verglichen mit PES (0,21mm vs. 0,48mm, $P=0,006$). Zudem wurde aus den Ergebnissen sichtbar, dass Risikogruppen für Restenosierungen wie Raucher und Diabetiker von dem Einsatz eines SES profitieren (Kastrati 2005).

1.4.6.3 Stentthrombosen bei DES

In der BASKET-LATE-Studie wurde 2006 das signifikant vermehrte Auftreten von späten (31 Tage bis 1 Jahr) und sehr späten (> 1 Jahr) Stentthrombosen dokumentiert und stellte somit die Wissenschaft vor ein neues Problem (Pfisterer 2006). Unter dem Aspekt des Auftretens einer späten ST (>30 Tage) wurden schließlich in einer Metaanalyse die Langzeitergebnisse zwischen SES und PES bei Patienten mit KHK ausgewertet. Hier zeigte sich eine signifikante Überlegenheit der SES in der Reduktion von späten und sehr späten Stentthrombosen im Vergleich mit PES. (Schomig 2007).

Als Pathomechanismus der späten und sehr späten Stentthrombose gelten derzeit folgende Ansätze. Finn et al. konnten an Leichenpräparaten zeigen, dass auch nach 24 Monaten Teile der DES nicht vollständig integriert waren (Finn 2007). Durch die gewünschte antiproliferative Wirkung der DES wird nicht nur die überschießende Proliferation neointimaler Zellen, sondern ebenfalls die Einheilung der Stents in das Gefäß gehemmt. Die Einheilung und endotheliale Auskleidung der Stents führt zu einer antithrombogenen Oberfläche der Stents. Bleibt diese Auskleidung aus, persistiert die Thrombogenität der Stentoberfläche (Inoue 2011). Aus diesem Grund wurde die Empfehlung zur prolongierten Thrombozytenaggregation bei der Verwendung von DES herausgegeben. Cook et al. postulieren die Notwendigkeit einer optimalen Stenteinlage zur Vermeidung einer ST (Cook 2012).

Doch führten letztlich auch die Modifikation der Stentoberfläche und eine prolongierte Thrombozytenaggregationshemmung nicht zur erhofften Eliminierung der ST und ISR.

Eine Weiterentwicklung DES 1.Generation folgte. Zu diesen Nachfolgern zählen unter anderem der Zotarolimus eluting stent (ZES) und der Everolimus eluting stent (EES)

Einleitung

(Martin 2011), auf die hier unter Beachtung der Datenlage zur Beginn dieser Arbeit nur kurz eingegangen wird.

Die Ergebnisse einer groß angelegten Metaanalyse aus dem Jahr 2012 bestätigten eine Überlegenheit des EES auf Kobalt-Chrom-Basis (CoCr-EES) im Auftreten später (31 Tage bis ein Jahr) und sehr später (> ein Jahr) Stentthrombosen verglichen mit BMS, PES, SES, PC-ZES (Phosphorylcholin-zotarolimus-eluting-stent) und Re-ZES (Resolute-zotarolimus-eluting-stent (Palmerini 2012).

Hoffnung auf langfristige Erfolge liefern derzeitige Studienergebnisse in denen ISR mit Medikamente beschichteten Ballons (DEB) therapiert werden. Die PACCOATH ISR I Studie bestätige bei zwar kleinem Patientenkollektiv einen signifikant kleineren Late Loss und eine verringerte Restenoserate in der DEB-Gruppe (DEB Restenose 5% vs. 43% konventioneller Ballonkatheter) (Indermuehle 2012).

1.5 Das Schwein als Versuchsmodell in der Humanmedizin

Der Einsatz von Schweinen als Versuchsmodell zur Demonstration des Herzzyklus ist auf Leonardo da Vinci bis ins 15. Jahrhundert zurückzuführen.

Die in der Forschung zum Einsatz kommenden Jungtiere haben in der Regel ein Körpergewicht um 30 kg. Das Verhältnis zu Herzgröße und Körpergewicht kommt in dieser Gewichtsklasse dem des Menschen sehr nahe (0,5%). Bei ausgewachsenen Schweinen mit einem Gewicht von ca. 100 kg ist das Herzgewicht im Verhältnis zum Körpergewicht gering. Das Herzgewicht des Menschen ist in Bezug auf sein Körpergewicht schwerer. Bei Frauen wiegt das Herz ca. 250-300 g und bei Männern um 300-350 g (Verdouw 1983) (Hughes 2003) (Lippert 2003).

Verglichen mit anderen Spezies besitzt das Schweineherz bezüglich der Koronar Anatomie die meisten Parallelen zum Mensch (Verdouw 1983) und ist bis heute ein geeignetes Modell in der Atheroskleroseforschung.

Die Nutzung von Schweinen in tierexperimentellen Studien ist aufgrund der sich ähnelnden anatomischen und physiologischen Verhältnisse, besonders der Herzkranzgefäße, weit verbreitet (Hughes 2003) (Hughes 2004) (Suzuki 2010).

Vorteile bietet die Spezies gegenüber anderen Versuchstieren wie Hund oder Kaninchen bezüglich leichter Zugangswege zu den Koronargefäßen mit in der Humanmedizin verwendeten, standardisierten Kathetertechnik (Bonan 1993). Darüber hinaus sind Schweine aufgrund der vergleichbaren kardialen Blutversorgung mit Ausprägung weniger Kollateralgefäße, Parallelen im Blutgerinnungssystem, sowie hinsichtlich der Arteriosklerosentwicklung anderen Versuchsspezies im humanklinischen Einsatz überlegen (Muller 1992).

In der Literatur gibt es eine Vielzahl präklinischer Studien zur Testung koronarer Stents in Tiermodellen. Hierbei hat sich das porcine Modell aufgrund der oben beschriebenen Vorteile als sehr geeignet erwiesen (Suzuki 2001) (Schwartz 2007).

2 Herleitung einer Aufgabenstellung

- a) Prüfung der Anfrage des Stentherstellers die Effektivität und lokale Bioverträglichkeit unterschiedlicher Dosierungen von mit Sirolimus beschichteten Kobalt Chrom Stents zur Behandlung neointimaler In-Stent Hyperplasien zu testen und auszuwerten.
- b) Suche nach einem geeigneten Tiermodell und eine für die Versuchsdurchführung benötigte Mindestanzahl von Versuchstieren bestimmen.
- c) Mithilfe bei der Beantragung für die Durchführung der tierexperimentellen Studie bei der zuständigen Genehmigungsbehörde LAGeSo¹ (Versuchsleiter Priv. Doz. Dr. Christian Große-Siestrup, Stellvertreter Prof. Dr. med. P. Ewert, Genehmigungsnummer G 0425/09), sowie Erstellung eines Studienprotokolls in Zusammenarbeit mit BLS².
- d) Mitarbeit bei der Betreuung der Versuchstiere während des Studienzeitraums. Durchführung der Narkosen und Blutabnahmen.
- e) Assistenz bei den angiographischen Ausmessungen der Herzkranzgefäße zur Auswahl der Stentpositionierung, sowie bei den postinterventionellen koronarangiographischen Messungen in Zusammenarbeit der Kardiologie (Prof. Dr. med. P. Ewert, Prof. Dr. med. R. Berger, Dr. med. Boris Schmitt) des DHZB³.
- f) Assistenz bei der Sektion der Schweine, der Herzen und Koronargefäße zusammen mit einem Veterinärpathologen⁴.
- g) Fixierung der histologischen Proben und Versand an das histopathologische Labor⁵.
- h) Histomorphometrische⁶ Auswertung der Proben.
- i) Besprechung der Ergebnisse für das Studienprotokoll.
- j) Einreichung und Besprechung der Rohdaten im Institut für statistische Auswertung der Freien Universität Berlin⁷.
- k) Auswertung der histologischen und histomorphometrischen Messungen der Koronar-segmente.

¹ LAGeSo, Landesamt für Gesundheit und Soziales, Deutschland

² BLS, Preclinical Services, 13035 Berlin, Deutschland

³ DHZB, Deutsches Herzzentrum Berlin, 13353 Berlin, Deutschland

⁴ Institut für Tierpathologie, Dr. vet. med. Haider, 13127 Berlin, Deutschland

⁵ HIK Hannover, 30625 Hannover, Deutschland

⁶ Pathologie am Tiergarten, Prof. Dr. med. H. Maschek, Dr.med. S. Delventhal, 30559 Hannover, Deutschland

⁷ Statistische Beratungseinheit/fu:stat, Deutschland

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere und Tierhaltung

Für den Zeitraum von 28 Tagen werden insgesamt 24 (± 3 Ersatztiere) weibliche Deutsche Landrasse Schweine eingesetzt. Das durchschnittliche Alter beträgt 11 Wochen. Die Tiere haben ein Gewicht von 39.5 bis 68.5 Kilogramm (kg).

Die Schweine werden zur Eingewöhnung fünf Tage vor dem Versuchsbeginn an die Tierhaltungsräume gewöhnt⁸. Die Haltung erfolgt bei einer Temperatur von 20 ± 2 °C, einer relativen Luftfeuchtigkeit von $55\% \pm 5\%$. Die Beleuchtungsverhältnisse werden durch einen Tag-Nacht-Rhythmus (12/12 Std.) geregelt. In den Boxen liegt Stroh, welches täglich erneuert wird. Die Stallboxen werden täglich gesäubert und nach den Richtlinien des FELASA⁹ (Federation of European Laboratory Animal Science Associations) desinfiziert.

Zur Identifizierung besitzt jedes Schwein eine herkunftsstallbezogene Ohrmarke.

Die Tiere erhalten eine einheitliche Diät¹⁰ für Schweine, (OnOvo, Universal Press, Nummer 7009365).

Die Tiere haben freien Zugang zu Tränkwasser über automatische Tränken. Das Trinkwasser unterliegt der deutschen Trinkwasserverordnung von 2001 der Berliner Wasserbetriebe.

Zwei Tage vor der Koronarangiographie erhalten die Versuchstiere täglich eine anti-thrombotische Therapie mit 300 mg Acetylsalizylsäure und 75 mg Clopidogrel, jeweils in einem Stück Apfel zur Nahrung dazu.

3.2 Versuchsplanung

Die Untersuchungen werden nach einem detaillierten Studienprotokoll durchgeführt.

Um die Anzahl an benötigten Versuchstieren so gering wie möglich zu halten werden jedem Tier 2 Stents implantiert.

⁸ Tierexperimentelle Einrichtung der Charité, Campus Virchow-Klinikum 13353 Berlin Deutschland

⁹ FELASA, Needham Market, Ipswich, IP6 8WH, United Kingdom

¹⁰ OnOvo GmbH, 34346 Münden, Deutschland

Material und Methoden

Die 24 Tiere werden insgesamt auf sechs gleich große Gruppen mit je 8 Tieren aufgeteilt. Folglich werden für insgesamt sechs Gruppen 48 Stents implantiert.

Der Versuchszeitraum beträgt insgesamt 28 Tage. Das Testmaterial wird während einer Narkose den Tieren in je eine linke und rechte Herzkranzarterie per Koronarangiographie implantiert. Pro Tier werden demnach zwei Stents implantiert.

3.3 Stents

Bei der Studie handelt es sich um eine industrielle Auftragsforschung. Aufgrund einer Geheimhaltungsvereinbarung muss von Angaben über den Hersteller Abstand genommen werden.

Die Größe der Stents ist mit 3,0(Ø) x15 mm (Länge) in allen Gruppen gleich groß.

Bei dem mit B bezeichneten Stent handelt es sich um einen unbeschichteten Kobalt Chrom-Bare metal Stent (BMS), der mit P bezeichnete Stent ist ein Polymer beschichteter CoCr-Stent. Beide Stents tragen keine Medikamentenbeschichtung. Die mit D1-4 bezeichneten Gruppen sind die mit Sirolimus beschichteten Drug eluting stents.

B = CoCr-Bare-metal stent

P= Polymer-CoCr-Stent

D1 = 232 µg Sirolimus polymer beschichteter CoCr-Stent

D2 = 116 µg Sirolimus polymer beschichteter CoCr-Stent

D3 = 53 µg Sirolimus polymer beschichteter CoCr-Stent

D4 = 29 µg Sirolimus polymer beschichteter CoCr-Stent

Nach 28 Tagen erfolgt die Explantation der Koronarstents, sowie die histopathologische und histomorphometrische Auswertung. Die Tiere werden im Anschluss unter tierärztlicher Beobachtung euthanasiert. Es werden klinische und hämatologische Daten vor, während und nach dem Versuch erfasst. Zudem werden die aus den Proben gewonnenen Ergebnisse histologisch dargestellt und deren biostatistische Aufarbeitung erläutert.

Bei dem Testmaterial handelt es sich um Ballon-expandierende Koronarstents. Die Aufbewahrung des Testmaterials erfolgt an einem trockenen Platz bei einer Temperatur von 1-30°C.

3.4 Gruppeneinteilung der Versuchstiere

Vor dem Versuchsbeginn erfolgt eine Randomisierung der insgesamt 24 Versuchstiere in 6 Stentgruppen. Eine Powerkalkulation mit einer Streuung von 10% sowie die Durchführung eines ungepaarten T-Tests hatte ergeben, dass eine Gruppengröße von 6 Tieren notwendig ist, um eine signifikante Aussage treffen zu können. Um diese Minimalgruppengröße von 6 Tieren zu gewährleisten wurde eine Regelgruppengröße von 8 Tieren gewählt. Da jedem Tier zwei unterschiedliche Stents eingesetzt werden, können insgesamt 48 Stents implantiert werden und jedes Tier wird in zwei unterschiedliche Stentgruppen randomisiert.

Zur Optimierung der Durchführung der Versuche werden die Tiere in 2 Fraktionen aufgeteilt. Die Einteilung der ersten und zweiten Fraktion ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1 : Nummerierung der Fraktionen 1 und 2

Fraktion	Tiernummer	Anzahl der Tiere
1	04, 05, 07-14	n = 10
2	37-50	n = 14
Ersatzgruppe	01, 03, 06	n = 3

3.5 Anästhesie

Die Narkoseeinleitung der Tiere erfolgt in der Tierexperimentellen Einrichtung der Charité¹¹. Die Durchführung der Narkose, sowie die intra-und postoperative Überwachung, erfolgt durch Veterinärmediziner. Zur Prämedikation erhält jedes Tier eine intramuskuläre (i.m) Injektion 2-6 mg/kg KG (Körpergewicht) Azepromazin (Stresnil®¹²), 0,05 mg/kg KG Atropin¹³, 5 mg/kg KG Xylazin (2% Rompun®¹⁴) und 20 mg/kg KG Ketamin (Ursotamin®¹⁵) als Mischspritze intramuskulär (i.m) in die seitliche Nackenmuskulatur. Im Narkoseeinleitungsraum wird für die intravenöse (i.v) Verabreichung von Medikamenten ein 20-G-Venenverweilkatheter in eine Ohrvene gelegt. Zur Vertiefung der Narkose wird eine Mischinjektion aus Propofol 2% (40 ml)¹⁶ und Fentanyl® (10 ml)¹⁶ verabreicht. Es folgt die Intubation und maschinelle, volumenkontrollierte Beatmung der Tiere. Anschließend erfolgt die unterirdische Verlegung der Tiere in das Herzkatheterlabor. Die Aufrechterhaltung der Narkose erfolgt bei Bedarf durch Verabreichung einer intravenösen Mischinjektion bestehend zu 20% aus Fentanyl® und zu 80% aus Propofol 2%. Alle Tiere erhalten während der Narkose eine isotone Elektrolytlösung (Jonosteril®¹⁶). Während der Narkose werden die Vitalparameter (Herzfrequenz, Sauerstoffsättigung, Blutdruck, Atmung, Temperatur) per Monitor¹⁷ kontinuierlich angezeigt und vom Veterinärmediziner kontrolliert.

Nach Beendigung der Untersuchung werden die Tiere extubiert, bis zum Erwachen in Einzelboxen untergebracht und betreut.

Zur postoperativen Analgesie erhalten die Tiere 2 mg/kg KG Caprofen (Rimadyl®) subkutan (s.c). Eine postoperative antibiotische Therapie für insgesamt drei Tage wird einmal täglich mit 5 mg/kg KG Enrofloxacin (Baytril®) s.c durchgeführt.

¹¹ Tierexperimentelle Einrichtung der Charité, Campus Virchow-Klinikum 13353 Berlin Deutschland

¹² Janssen-Cilag GmbH

¹³ B. Braun Melsungen AG, Deutschland

¹⁴ Bayer AG, Deutschland

¹⁵ Serumwerk AG, Deutschland

¹⁶ Fresenius Kabi AG, Deutschland

¹⁷ Philips SureSigns VM6, Philips

3.6 Quantitative Koronarangiographie

Die Herzkatheteranlage inklusive der Monitore und Messeinrichtung für Gefäßmessungen ist von der Firma Philips¹⁸. Die Koronarangiographien werden im Herzkatheterlabor des DHZB¹⁹ durchgeführt.

Zur Unterstützung der Größenbestimmung von Stent- und Gefäßdurchmesser wird das quantitative Koronarangiographie System (QCA) eingesetzt. Die quantitative Koronarangiographie wird heute in erster Linie zur Auswertung von Koronarangiogrammen bei wissenschaftlicher Fragestellung eingesetzt. Mit ihrer Hilfe lassen sich exakte objektive Aussagen über definierte kontrastmittelgefüllte Gefäßabschnitte treffen, welche in Form digitalisierter Bilder ausgewertet werden können (Bestehorn 2004). Das Verfahren der QCA basiert auf der automatischen Konturerkennung des mit Kontrastmittel gefüllten Gefäßabschnittes anhand der Graustufenveränderung am Gefäßrand. Nach manueller Kennzeichnung der proximalen und distalen Gefäßabschnitte werden die dargestellten Gefäßkonturen durch das Programm automatisch umrandet, gegebenenfalls manuell korrigiert und der Gefäßdurchschnitt berechnet. Ein Bezugsquerschnitt wird in einem nicht erkrankten Gefäßabschnitt bestimmt. Voraussetzung für eine wissenschaftliche Evaluation ist hierbei ein identischer Untersuchungsablauf (Bestehorn 2004) (Lapp 2010).

3.6.1. Berechnung des prozentualen Gefäßstenosedurchmessers

Zur Berechnung der prozentualen Durchmesserstenose (Diameterstenose) der Gefäße werden die im Follow-up-Angiogramm ermittelten minimalen Lumendurchmesser (MLD), sowie die Referenzdurchmesser (RVD) mittels der QCA herangezogen. Der Referenzdurchmesser ist dabei eine Vergleichsgröße zur Gefäßstenose. Aus dem minimalen Lumendurchmesser und dem Referenzdurchmesser wird für jede Projektion die Diameterstenose ermittelt.

¹⁸Allura Xper FD20, Fa. Philips

¹⁹Tierexperimentelle Einrichtung der Charité, Campus Virchow-Klinikum 13353 Berlin Deutschland

Es werden zur Berechnung folgende Formeln angewendet (J Al Suwaidi, 1999):

$$\text{RVD} = \frac{1}{2} \times (\text{Gefäß } \varnothing \text{ proximal} + \text{Gefäß } \varnothing \text{ distal})$$

- Gefäß \varnothing = Gefäßdurchmesser

$$\text{Prozentuale Diameterstenose (\%)} = (1 - \text{MDL}:\text{RVD}) \times 100$$

- MLD= minimaler Lumendurchmesser
- RVD= Referenzdurchmesser

3.6.2 Berechnung des Late Loss

Der Late Loss (Lumenverlust, LL) wird heute als einer der wichtigsten Endpunkte zur Einschätzung der Effektivität eines DES ermittelt (Ellis 2005) (Mauri 2005). Hierbei handelt es sich um die Messung eines späten Gefäßlumenverlustes nach perkutaner Koronarintervention in der Stentregion. Zur Berechnung des Late Loss werden Messwerte der postinterventionellen minimalen Lumendiameter (MLD) in Millimeter (mm) von den Messungen der MLD in mm im follow-up-Angiogramm subtrahiert.

3.7 Abfolge der Koronarintervention

Die narkotisierten Tiere befinden sich auf dem Herzkathetertisch in Rückenlage. Nach steriler Abdeckung und Fixierung der Tiere kann mit der Koronarangiographie begonnen werden. Die Punktionsseite für den Zugang zur rechten Arteria femoralis wird rasiert, mit 7,5% Braunoderm®²⁰ desinfiziert und steril abgedeckt. Anschließend wird die rechte Arteria femoralis punktiert. Eine Katheterschleuse mit einem Außendurchmesser von 8 French wird eingeführt und 200 IU/kg KG Heparin (Ratiopharm®²¹) werden darüber appliziert. Die Gerinnungsparameter werden bei jedem Tier durch Bestimmung der Activated clotting time (ACT) kontrolliert. Unter Durchleuchtungskontrolle wird ein Führungskatheter in die arterielle Schleuse vorgeschoben. Durch Kontrastmittelgabe kann über den Führungskatheter Kontrastmittel zur besseren Lagekontrolle verabreicht werden. Anschließend werden angiographische Bilder der Gefäße zur Identifizierung der passenden Stentposition aufgenommen. Zielbereiche für eine Stentablage sind Koronargebiete mit Gefäßdurchmessern zwischen 2,3 mm und 2,5 mm. Wird kein passendes Gefäß gefunden, muss das Versuchstier von dem Versuch ausgeschlossen und ein Ersatztier eingesetzt werden. Die Spitze des Führungskatheters wird in die Aufnahmen zur Erleichterung der Quantitativen Koronaranalyse eingeschlossen. Der Führungskatheter wird danach entfernt und ein 0,014-inch-Führungsdraht wird eingeführt, der dem Ballonkatheter mit Stent als Schienung dient. In deflatiertem Zustand wird der Ballonkatheter nun an die gewünschte Gefäßstelle unter Durchleuchtung vorgeschoben. Durch einen Drehinflator wird an der passenden Position das jeweilige Gefäß aufgedehnt. Hierbei wird eine Aufdehnung von 30-40% angestrebt, um in den nativen Schweinegefäßen eine Gefäßwandverletzung zu gewährleisten. Die Dauer der Gefäßüberdehnung (in Sekunden) sowie die Druckhöhe des Drehinflatoren (in Bar) werden pro Gefäß notiert. Es werden pro Tier je ein Stent in die RCA und LAD/LCX mit einem Ballon-Gefäß-Verhältnis (Balloon-to-Artery-Ratio (BAR)) von 1.3-1.4 mm implantiert. Angestrebt wird eine endgültige Stentaufdehnung "Overstretch Injury" von 30-40%. Anschließend werden angiographische Dokumentationen der mit Stents versorgten Gefäße durchgeführt. Nach abschließender Implantation wird der Katheter entfernt und das femorale Gefäß mit einer Naht verschlossen.

²⁰ B. Braun Melsungen AG Deutschland

²¹ Ratiopharm GmbH, Deutschland

Das Tier wird anschließend zur Tierunterkunft transportiert. Dort kann es unter tierärztlicher Kontrolle aus der Narkose erwachen.

Die Tiere erhalten postinterventionell über den gesamten Versuchszeitraum von 28 Tagen täglich eine duale TAH mit 300 mg Acetylsalizylsäure und 75 mg Clopidogrel per os.

3.7.1 Overstretch injury

Die eingesetzten juvenilen Tiere haben natürlicherweise keine arteriosklerotisch veränderten Koronargefäße. Um morphologisch ähnliche Bedingungen zu humanen Herzkranzgefäßen mit Atherosklerose zu erreichen, erfolgt durch Überdehnung der nativen Koronarien eine Verletzung der Gefäßwände, die sogenannte „Overstretch injury“ (Scott 1996). Hierdurch wird durch Aktivierung des Gerinnungssystems thrombogenes Material ins Gefäßlumen befördert, wie es auch bei der Läsion arteriosklerotischer Plaques bei KHK der Fall ist.

3.7.2 Berechnung Ballon-to-Artery-Ration

Die Ballon-to-Artery-Ratio (BAR) errechnet sich aus der Division des mittleren Ballondurchmessers durch den mittleren Gefäßdurchmesser vor der Stentimplantation:

$$\text{BAR} = \frac{\text{mittlerer Ballondurchmesser}}{\text{mittlerer Gefäßdurchmesser vor Intervention}}$$

3.8 Euthanasie und Probeentnahme

Zur Vermeidung einer Thrombosierung erhalten die tief narkotisierten Tiere intravenös 2500 IE Heparin (ratiopharm®²²). Anschließend werden zur Aufrechterhaltung der Narkose 10 ml Propofol 2% und als Muskelrelaxanz 2 ml (4mg) Pancuronium injiziert. Eine letale Kaliumdosis (60 ml KCL 7,45%) werden zuletzt verabreicht.

Nach durchgeführter Thorakotomie erfolgt das Ausbluten mit anschließendem Durchspülen der Koronargefäße mit einem Liter NaCl-Lösung, welche mit Heparin (1IU/ml) versetzt ist. Anschließend wird eine 4,5% Phosphat gepufferte Spüllösung mit einem Spüldruck von 100 ± 20 mmHg durch die Herzkranzgefäße gepumpt.

Es erfolgt die pathologische Inspektion und Präparation des Myokards und der Koronargefäße durch einen Pathologen²³.

Die mit Stents versorgten Gefäße, das Myokardgewebe neben den mit Stents versorgten Koronararterien, sowie zwei Proben der proximalen und distalen Anteile der Gefäße werden anschließend exzidiert und in einen versiegelten mit 4,5% Formaldehyd-Lösung gefüllten Acrylbehälter verpackt. Die Proben werden daraufhin zur histologischen Aufarbeitung eingeschickt²⁴.

²³ Institut für Tierpathologie, Dr. vet. med. Haider, 13127 Berlin, Deutschland

²⁴ HIK-Hannover, 30625 Hannover, Deutschland

3.9 Histologie und Histomorphometrie

Die histologische Bearbeitung und histomorphometrische Auswertung der Materialien erfolgt durch ein externes Labor²⁵ und pathologisches Institut²⁶. Die Ergebnisse werden anschließend an uns übermittelt.

3.9.1 Probenvorbereitung

Das Probematerial wird in einer 4,5 prozentigen Formaldehydlösung aufbewahrt. Als Aufbewahrungsbehälter werden 28 Falcon Röhrchen benutzt, die je einen beschrifteten Stent, die dazugehörigen 3-5 mm dünnen Myokardproben und einen Behälter mit einer 3-5 mm proximalen und 3-5 mm distalen Koronararterie enthalten.

Alle Proben werden zunächst jeweils in 70% Ethanol, 96% Ethanol und 100% Ethanol nacheinander dehydriert und in Xylol als Intermedium aufgenommen.

Dehydrierung

Die Dehydrierung der einzelnen Probenmengen (0,5L bis 1,5 L) erfolgt jeweils für 12-24 Stunden in einer steigenden Alkoholreihe mit 70%, 96% und 100% Ethanol. Anschließend werden die Proben jeweils für ein bis zwei Tage in Xylol aufgenommen.

Die reinen Gewebeproben ohne Stent werden anschließend in Paraffin eingebettet. Von diesen Paraffinblöcken werden mit einem Mikrotom je 1 µm dünne Stücke angefertigt und zur histologischen Begutachtung mit Hämatoxylin und Eosin gefärbt.

Die stenttragenden Gewebeproben werden nach den Angaben des Herstellers²⁷ in Technovit 9100 eingebettet und gemäß der Beschreibung von Donath (Donath 1995) mit einem EXAKT²⁸-Trennschleif- und Mikroschleifsystem nach Angaben des Herstellers in 3 µm feine Schnitte geschnitten.

Die Technovit-Infiltration erfolgt über die Vorstufen der Präinfiltration, wie in Tabelle 2 beschrieben.

²⁵HIK-Hannover, 30625 Hannover, Deutschland

²⁶Pathologie am Tiergarten, 30559 Hannover, Deutschland

²⁷HERAEUS Kulzer GmbH, Wehrheim, Deutschland

²⁸EXAKT Advanced Technologies GmbH, Norderstedt, Deutschland

Tabelle 2: Präinfiltration und Infiltration

Menge	Bezeichnung	Reagenz	Dauer	Temperatur
bis 50ml	Präinfiltration 1	Xylol + Technovit	1-2d	Raumtemperatur
bis 50ml	Präinfiltration 2	Technovit + Härter	1-2d	Raumtemperatur
bis 50ml	Präinfiltration 3	Technovit + Härter	1-2d	4°C
bis 50ml	Infiltration	Technovit + Härter + PMMA-Pulver	5-7d	4°C

Die so angefertigten Präparate werden durch einen Pathologen²⁹ mit einem Leica-Zoom S6D Stereomikroskop mit Kamera untersucht. Für die Dokumentation der Schnitte wird eine Leica LAS Software benutzt.

3.9.2 Histomorphometrische Untersuchung der Präparate

Zur Quantifizierung der neointimalen Gefäßfläche und der Gewebereaktion dient in dieser Arbeit die histomorphometrische Analyse.

Die Messungen erfolgen nach einem standardisierten Verfahren. Die Flächen der Lamina elastica interna (LEI) und die neointimale Fläche jedes Stentabschnitts (distal, mittel, proximal) werden berechnet. Es werden folgende Flächen ermittelt:

3.9.2.1 Berechnung der prozentualen Flächenstenose

Bereich Lamina elastica interna berechnet aus Querschnittsfläche umgeben von der neointimalen Fläche der LEI.

Fläche der Lamina elastica interna berechnet aus LEI Abschnitt minus Gefäßlumen.

Die prozentuale Stenosefläche wird gemäß der nachstehenden Gleichung berechnet:

$$\% \text{ Stenosefläche} = (\text{Neointimafläche} / \text{IEL Bereich}) * 100$$

3.9.2.2 Berechnung der neointimalen Gefäßfläche in mm²

Zur morphometrischen Ausmessung dient ein computergestütztes System (Leicas LAS), welches mit dem Leica S6D Stereomikroskop mit Kameraausgang gekoppelt ist. Zur Berechnung der neointimalen Fläche in mm² Flächenparameter dienen die Fläche der LEI und das Gefäßlumen, welches vom neointimalen Gewebe begrenzt ist. Die Flä-

²⁹ Pathologie am Tiergarten, 30559 Hannover, Deutschland

che der LEI ist das Originallumen und entspricht der Gefäßlumenfläche direkt nach Stentimplantation. Das Residuallumen ist das von der Neointima abluminal begrenzte Lumen nach 28 Tagen. Hieraus errechnet sich folgende Größe:

$$\underline{\text{Neointimale Fläche in mm}^2 = \text{Originallumen minus Residuallumen}}$$

3.9.3 Histologische Score und Indices

Folgende Parameter werden vier Wochen nach Stentimplantation histologisch untersucht: Entzündung, Endothelisation, Verletzung.

3.9.3.1 Verletzungsindex

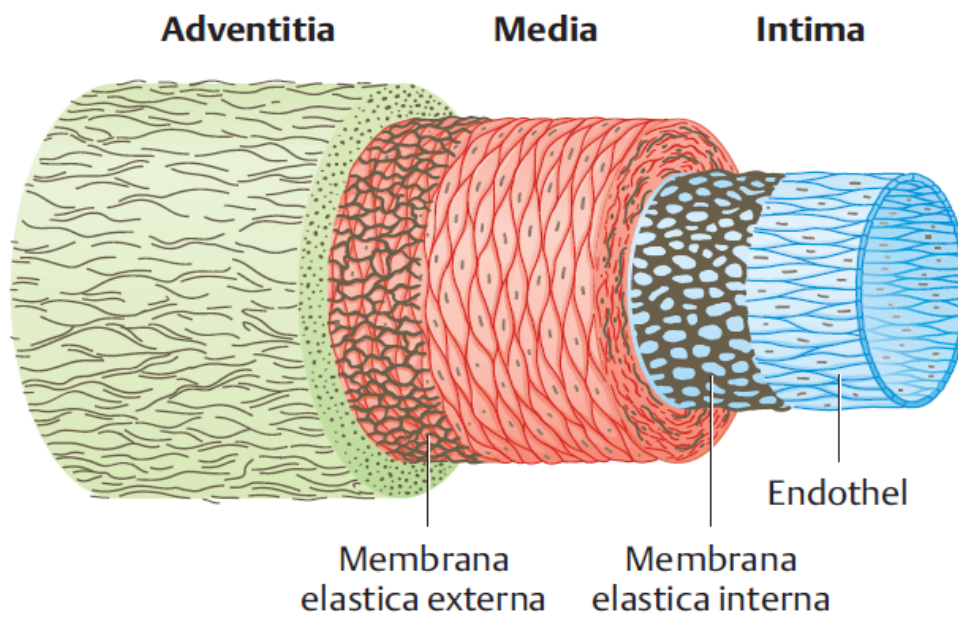
Zur Beurteilung der Gefäßverletzung der stenttragenden Gefäße wird ein Verletzungsindex aufgestellt. Der Verletzungsindex nach Schwartz enthält eine Einstufung in einen Score von 0-3. Die Schnitte werden mikroskopisch untersucht und nach dem Score eingestuft. Der mittlere Score, jeder stenttragenden Arterie, wurde wie folgt berechnet (Schwartz 1992):

$$\text{Verletzungsindex} = \frac{\text{Summe der Verletzungsgrade (0-3) aller Stentstreben}}{\text{Gesamtzahl Stentstreben im dist., mitt. und prox. Gefäßschnitt}}$$

Tabelle 3 : Darstellung des Verletzungsindex nach Schwartz (Schwartz 1992)

Score	Beschreibung
0	Intakte Lamina elastic interna (LEI)
1	Rupturierte LEI mit Abtragung oberflächlicher Mediaschicht
2	Rupturierte LEI mit Abtragung tiefer Mediaschicht (medial dissection)
3	Rupturierte lamina elastica externa (LEE) mit Abtragung der Adventitia

Abbildung 6: Darstellung humaner arterieller Wandschichten (Lüllmann-Rauch 2003)



3.9.3.2 Entzündungsindex

Die histologischen Schnitte werden mikroskopisch untersucht und in einen Score von 0-3 eingestuft. Die Einstufung jede Stentsstrebe eines stenttragenden Gefäßabschnitts erfolgt nach Kornowski et al. (Kornowski 1998)

Tabelle 4 : Entzündungsscore nach Kornowski R (Kornowski 1998)

Score	Beschreibung
0	keine Entzündungszellen an den Stentstreben
1	schwache nicht zirkuläre Lymphozytenansammlungen an den Stentstreben
2	lokalisierte, mäßig bis dichte Zellansammlung rund um die Stentstreben, nicht zirkuläre Ansammlung
3	zirkuläre dichte lymphozytenreiche Zellansammlung um die Stentstreben

Der mittlere Entzündungsscore jedes Gefäßschnittes wurde wie folgt berechnet:

$$\text{Entzündungsscore} = \frac{\text{Summe aller Entzündungsgrade (0-3) aller Stentstreben}}{\text{Gesamtzahl Stentstreben im dist., mitt. und prox. Gefäßschnitt}}$$

3.9.3.3 Endothelisationsscore

Die stenttragenden Gefäße werden mikroskopisch untersucht und nach dem Endothelisationsscore wie in Tabelle 5 angegeben eingestuft. Die Summe der Endothelisationsscore (1-3) jeder Stentstrebe wird durch die Anzahl der Stentstreben der proximalen, distalen und mittleren Stentabschnitte dividiert. Hierdurch wird der mittlere Endothelisationsscore für jedes Gefäß ermittelt.

Tabelle 5: Endothelisationsscore

Score	Beschreibung
1	Der Umfangs des mit Endothelzellen bedeckten arteriellen Gefäßlumens beträgt weniger als 25%
2	Der Umfangs des mit Endothelzellen bedeckten arteriellen Gefäßlumens beträgt 25% bis 75%
3	Der Umfangs des mit Endothelzellen bedeckten arteriellen Gefäßlumens beträgt mehr 75%

3.10 Hämatologische Auswertung

Die labordiagnostischen Ergebnisse der Versuchstiere werden zur Überwachung der Gesundheit der Tiere über den gesamten Versuchszeitraum von 28 Tagen kontrolliert. Für die Bestimmung der Blutproben wird das Blut aus den Ohrvenen der Tiere gesammelt. Die gewonnenen Blutproben werden von allen Tieren in die Studie eingeschlossen. Um allergischen Reaktionen nach Implantation eines Fremdkörpers entgegenwirken zu können, wird bei den Versuchstieren ein Differentialblutbild vor und nach der Stentimplantation abgenommen.

Die Bearbeitung und Auswertung der Blutproben erfolgt in einem externen Labor³⁰. Alle gewonnenen Daten werden unter der Studiennummer X7268 im MS Excel Format gespeichert und an uns übertragen. Untersucht werden 0,2 ml EDTA (Ethylenediaminetetraacetic acid) Blut von jedem Versuchstier. Das Differentialblutbild wird unter Verwendung eines Sysmex XT2000i Zähler nach den Anweisungen des Herstellers hergestellt. Innerhalb von drei Stunden nach Eintreffen der Materialien werden die gekühlten Blutprodukte bearbeitet. Restmaterial und EDTA-Plasma Proben werden verworfen. Von allen Proben werden Blutausstriche auf Glasobjektträgern angefertigt. Diese werden anschließend nach May-Grünwald gefärbt. Die Proben werden mit einem Olympus-Mikroskop CX71 untersucht und die Blutzellen gezählt.

3.10.1 Entsorgung der Blutprodukte

Alle Blutproben und deren Derivate werden in Übereinstimmung mit dem Europäischen Abfallkatalog, Ausgabe 2002, der Abfall-Klasse 180103 zugeordnet und dementsprechend zerstört.

3.11 Statistische Methoden

Mit Hilfe eines Tabellenkalkulationsprogramms Enviroment „R“ werden die Untersuchungsergebnisse unter der Studiennummer TE.41960.2009 im Institut für Wirtschaftswissenschaft, Statistik, Ökonometrie und Statistische Beratungseinheit der FU Berlin ausgewertet und die Ergebnisse an uns übermittelt.

³⁰ Synlab vet. Labor Berlin GmbH, Deutschland

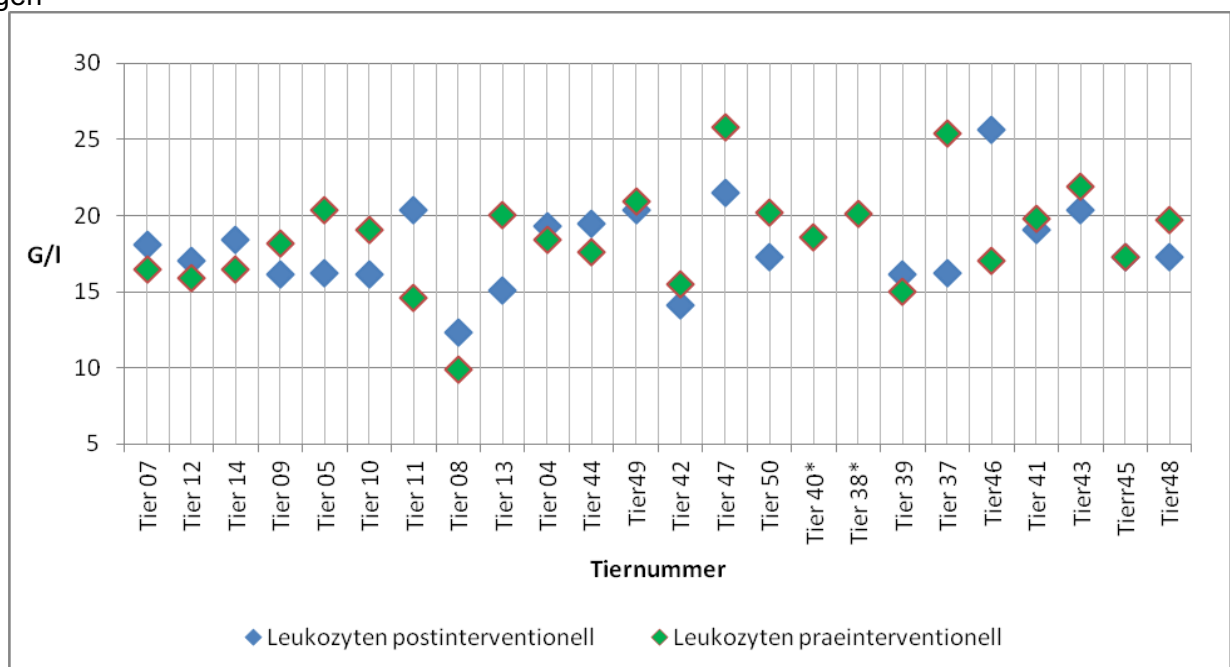
4 Ergebnisse

Alle Tiere blieben über den gesamten Beobachtungszeitraum gesund und wurden nach 28 oder nach 29 Tagen tierschutzgerecht in Narkose getötet. Alle 48 Stents konnten wie geplant entnommen und untersucht werden.

4.1 Hämatologische Auswertung

Die hämatologischen Kontrolluntersuchungen aller Versuchstiere ergaben keine interventionsbedürftigen Abweichungen. In den folgenden Abbildungen 7, 8 und 9 sind die Blutwerte der Tiere vor und nach der Stentimplantation dargestellt. Der vereinzelte postinterventionelle Thrombozytenabfall der Tiere 12,14,10 lässt sich auf die antithrombozytäre Medikation mit Acetylsalizylsäure und Heparin zurückführen. Einen Anhalt für aktive Blutungszeichen und einen relevanten Blutverlust wurde nicht beobachtet. Die Zuordnung der Tiere zu den Stentgruppen ist der Tabelle 6 entnehmen.

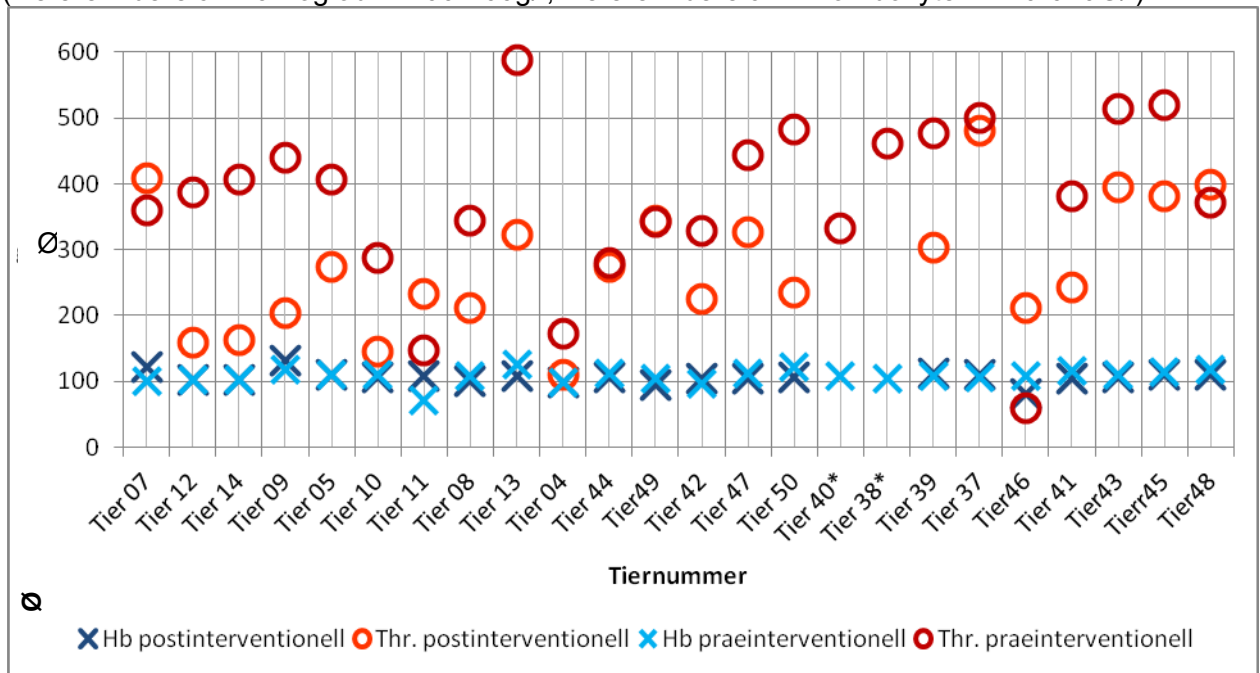
Abbildung 7: Laborwerte prae- und postinterventionell: Leukozyten (Referenzbereich: 11,0-22,2 G/L). Es ergaben sich keine interventionsbedürftigen Abweichungen



*Bei den Tieren 38 und 40 konnte postinterventionell keine Blutprobe gewonnen werden

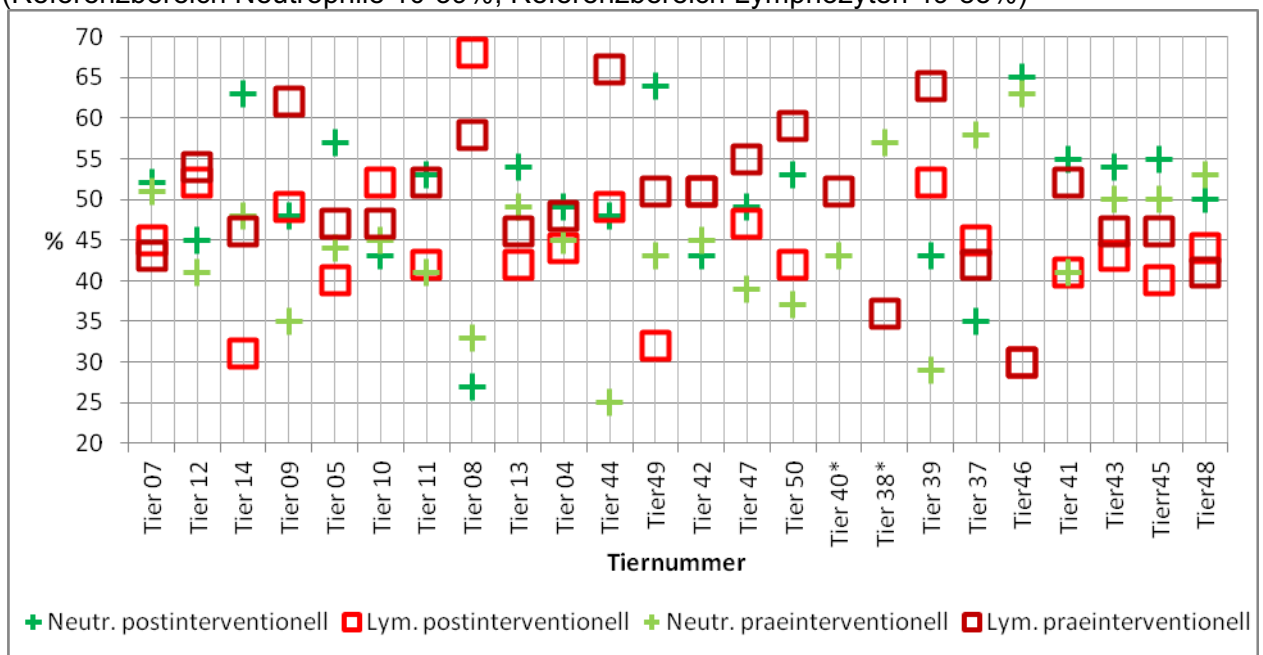
Ergebnisse

Abbildung 8: Laborwerte prae- und postinterventionell: Hämoglobin und Thrombozyten
(Referenzbereich Hämoglobin: 100-160g/l, Referenzbereich Thrombozyten: 220-620G/l)



*Bei den Tieren 38 und 40 konnte postinterventionell keine Blutprobe gewonnen werden

Abbildung 9: Laborwerte prae- und postinterventionell Neutrophile und Lymphozyten
(Referenzbereich Neutrophile 10-39%, Referenzbereich Lymphozyten 49-85%)



*Bei den Tieren 38 und 40 konnte postinterventionell keine Blutprobe gewonnen werden

4.2 Koronarangiographische Auswertung

Die gewonnenen Daten werden als statistische Mittelwerte präsentiert. Die angiographisch ermittelten Werte für Gefäßdurchmesser, Balloon-to-Artery-Ratio und Late Loss sind in Millimeter angegeben. Eine Übersicht aller implantierten Stents mit Zuordnung zur Stentgruppe und Herzkranzgefäß zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6: Stentdosierung mit ausgewähltem Herzkranzgefäß und Tiernummer

Dosis	Kranzgefäß	Tiernummer	Dosis	Kranzgefäß	Tiernummer
D1	LAD	44	D1	LCX/RCA	42
D1	LAD	37	D1	LCX/RCA	48
D1	LAD	5			
D2	LAD	4	D2	LCX/RCA	5
D2	LAD	14	D2	LCX/RCA	7
D2	LAD	38	D2	LCX/RCA	8
D2	LAD	43	D2	LCX/RCA	11
			D2	LCX/RCA	13
D3	LAD	7	D3	LCX/RCA	12
D3	LAD	11	D3	LCX/RCA	39
D3	LAD	39	D3	LCX/RCA	43
D3	LAD	50	D3	LCX/RCA	44
D4	LAD	8	D4	LCX/RCA	4
D4	LAD	10	D4	LCX/RCA	9
D4	LAD	12	D4	LCX/RCA	10
D4	LAD	45			
D4	LAD	47*			
B	LAD	13	B	LCX/RCA	14
B	LAD	40	B	LCX/RCA	37
B	LAD	42	B	LCX/RCA	41
B	LAD	46	B	LCX/RCA	50
P	LAD	9	P	LCX/RCA	40
P	LAD	41	P	LCX/RCA	45
P	LAD	48	P	LCX/RCA	46
			P	LCX/RCA	47*

*Dosierungen LCX/ LAD wurden vertauscht, Tier 01,03,06 sind Ersatztiere

4.2.1 Koronarangiographische Ergebnisse der Gefäßdurchmesser prae-, unmittelbar nach als auch 4 Wochen postinterventionell

Die Gefäßdurchmesser der Tiere wurden vor und unmittelbar nach der Stentimplantation, sowie im Follow-up nach 28 Tagen per Koronarangiographie gemessen und mittels QCA ausgewertet. In der Tabelle 7 sind die Gefäßdurchmesser als Mittelwerte, für die Zeiträume prae-, unmittelbar nach Implantation und vier Wochen postinterventionell angegeben. Da die Messungen der Gefäßdurchmesser vier Wochen postinterventionell sowohl im proximalen, mittleren als auch im distalen Drittel erfolgten, wurde aus den insgesamt 48 Messergebnissen ein Mittelwert berechnet, welcher für die vergleichenden Untersuchungen herangezogen wurde. Bei Tiernummer 47 wurden die Dosierungen für die Gefäße LCX und LAD vertauscht. Das Tier 47 erhielt somit in die LAD keinen mit Sirolimus beschichteten Stent, sondern einen Polymer-CoCr-Stent (P). In die LCX wurde ein mit Polymer beschichteter CoCr-Stent mit 29 µg Sirolimus (D4) implantiert.

Tabelle 7: Mittelwerte der Gefäßdurchmesser prae-, unmittelbar post- und 4 Wochen postinterventionell

	B	P	D1	D2	D3	D4
	Gefäßdurchmesser vor Stentimplantation in mm					
gesamt	2.35 ± 0.12	2.34 ± 0.05	2.37 ± 0.06	2.34 ± 0.07	2.28 ± 0.11	2.33 ± 0.06
	Gefäßdurchmesser unmittelbar nach Stentimplantation in mm					
gesamt	3.32±0.69	2.98±0.10	3.08±0.07	2.95±0.04	2.94±0.07	3.07±0.15
	Gefäßdurchmesser 4 Wochen nach Stentimplantation in mm					
distal	2.36 ±0.12	2.41 ± 0.08	2.16 ± 0.11	2.12 ± 0.09	2.32 ± 0.08	2.22 ± 0.14
medial	2.47 ±0.15	2.29 ± 0.14	2.53 ± 0.11	2.39 ± 0.11	2.75 ± 0.07	2.39 ± 0.15
proximal	3.09 ±0.14	3.27 ± 0.06	2.92 ± 0.15	2.91 ± 0.12	3.10 ± 0.08	2.93 ± 0.12
gesamt	2.64 ±0.30	2.66 ± 0.41	2.57 ± 0.23	2.47 ± 0.29	2.73 ± 0.27	2.52 ± 0.28

Werte sind als Mittelwerte ± SD (n=24 Stents) angegeben

4.2.2 Koronarangiographische Ergebnisse der Balloon-to-Artery-Ratio (BAR) vor der Stentimplantation

Das Verhältnis der Ballongröße zum Gefäßdurchmesser vor der Stentimplantation wird in Tabelle 8 dargestellt. Die Balloon-to-Artery-Ratio (BAR) wird in mm angegeben. Es ließ sich nach der Datenauswertung kein signifikanter Unterschied der einzelnen Dosisgruppen (P, D1-D4) zur Kontrollgruppe B dokumentieren ($p=0,2843$). Die Balloon-to-Artery-Ratio lag in allen Gruppen zwischen 1,3-1,4 mm.

Tabelle 8: Mittelwerte der BAR zur Auswahl der Stentgröße

	B	P	D1	D2	D3	D4
BAR	1.32±	1.34±	1.34 ±	1.34 ±	1.36 ±	1.36 ±
(mm)	0.05	0.03	0.04	0.04	0.03	0.02

Werte sind als Mittelwerte \pm SD (n=24 Stents) angegeben

4.2.3 Koronarangiographische Ergebnisse zur Ermittlung des Gefäßstenosedurchmessers

Tabelle 9 zeigt die angiographisch erhobenen Rohdaten zur Berechnung der prozentualen Gefäßstenosedurchmesser.

Abbildung 10 zeigt die Ergebnisse als Mittelwerte \pm Standardfehler (n=8 Stents). Hierbei ergaben die Stenosegrade innerhalb einer einzelnen Stentgruppen eine homogene Verteilung.

Durch die statistische Varianzanalyse konnte kein signifikanter Unterschied der Gefäßstenosedurchmesser der Dosisgruppen (P, D1-D4) zur Kontrollgruppe B festgestellt werden ($p=0.05247$).

Ergebnisse

Tabelle 9: Ergebnisse der angiographischen Messungen der Gefäßlumina zur Berechnung der prozentualen Gefäßstenosedurchmesser

Dosis	Kranzgefäß	MLD Ø [mm]	Gefäß- Ø prox. [mm]	Gefäß- Ø dist. [mm]	Stenose Ø [%]
B	LAD	2.39	2.24	1.86	-16.59
B	LAD	3.06	3.79	3.10	11.18
B	LAD	2.94	3.42	2.50	0.68
B	LAD	2.10	3.10	2.43	24.05
B	LCX	1.85	3.01	2.08	27.31
B	LCX	2.27	n.d.	2.23	n.d.
B	LCX	1.00	2.98	1.92	59.18
B	LCX	2.75	n.d.	2.75	n.d.
Mittelwert der prozentualen Stenose für B: 17,6%					
Dosis	Kranzgefäß	MLD Ø [mm]	Gefäß- Ø prox. [mm]	Gefäß- Ø dist. [mm]	Stenose Ø [%]
D1	LAD	1.48	2.13	1.75	23.71
D1	LAD	2.35	3.20	2.57	18.54
D1	LAD	2.12	2.66	1.82	5.36
D1	LAD	2.21	3.08	2.29	17.69
D1	LCX	2.18	2.26	2.03	-1.63
D1	LCX	2.55	3.42	2.44	12.97
D1	LCX	2.56	3.20	2.17	4.66
D1	RCA	3.14	3.37	2.97	0.95
Mittelwert der prozentualen Stenose für D1: 10,3%					
Dosis	Kranzgefäß	MLD Ø [mm]	Gefäß- Ø prox. [mm]	Gefäß- Ø dist. [mm]	Stenose Ø [%]
D2	LAD	1.85	3.26	2.60	36.86
D2	LAD	1.76	3.20	2.34	36.46
D2	LAD	1.78	2.88	1.35	15.84
D2	LAD	2.40	3.21	2.22	11.60
D2	LCX	2.33	2.44	2.12	-2.19
D2	LCX	3.00	3.24	2.25	-9.29
D2	LCX	2.18	3.03	2.20	16.63
D2	LCX	2.06	1.99	1.86	-7.01
Mittelwert der prozentualen Stenose für D2: 12,4%					
Dosis	Kranzgefäß	MLD Ø [mm]	Gefäß- Ø prox. [mm]	Gefäß- Ø dist. [mm]	Stenose Ø [%]
D3	LAD	2.65	3.03	2.33	1.12
D3	LAD	2.60	3.28	2.31	6.98
D3	LAD	2.63	3.82	2.77	20.18
D3	LAD	2.40	2.58	2.39	3.42
D3	LCX	2.38	2.95	1.49	-7.21
D3	LCX	2.49	2.96	2.42	7.43
D3	LCX	3.13	3.14	2.58	-9.44
D3	LCX	2.92	3.04	2.30	-9.36
Mittelwert der prozentualen Stenose für D3: 1,6%					

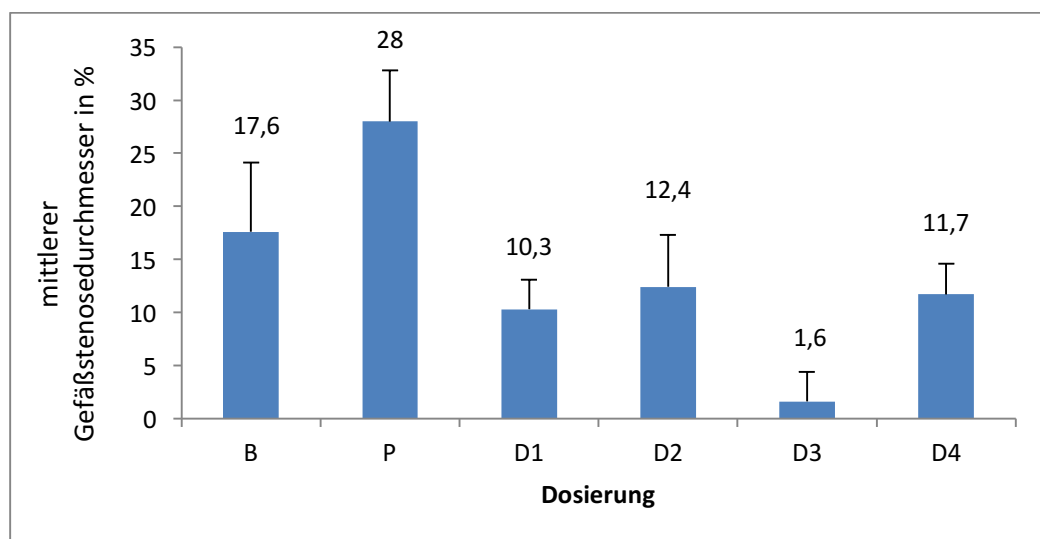
Ergebnisse

Dosis	Kranzgefäß	MLD Ø [mm]	Gefäß- Ø prox. [mm]	Gefäß- Ø dist. [mm]	Stenose Ø [%]
D4	LAD	2.83	3.32	2.77	7.06
D4	LAD	1.79	2.46	1.62	12.25
D4	LAD	2.74	3.08	2.32	-1.48
D4	LAD	2.23	2.74	2.20	9.72
D4*	LAD	1.47	2.42	1.88	31.63
D4	LCX	2.14	2.78	1.98	10.08
D4	LCX	2.49	3.12	1.85	-0.20
D4	RCA	2.52	3.52	3.17	24.66
Mittelwert der prozentualen Stenose für D4: 11,7%					
Dosis	Kranzgefäß	MLD Ø [mm]	Gefäß- Ø prox. [mm]	Gefäß- Ø dist. [mm]	Stenose Ø [%]
P	LAD	1.33	2.96	1.84	44.58
P	LAD	2.02	3.17	2.88	33.22
P	LAD	2.36	3.38	2.54	20.27
P	LCX	2.49	3.33	2.72	17.69
P	LCX	2.59	3.23	2.42	8.32
P	LCX	2.12	4.05	2.37	33.96
P*	LCX	2.62	3.63	2.28	11.34
P	LCX	1.22	3.20	2.21	54.90
Mittelwert der prozentualen Stenose für P: 28%					

* Dosierungen LCX/ LAD wurden vertauscht

Abbildung 10 zeigt den mittleren prozentualen Gefäßstenosedurchmesser für die jeweilige Dosierungsgruppe 4 Wochen nach Stentimplantation. Die Gefäßdurchmesser wurden je am proximalen und distalen Ende nach der QCA Methode gemessen

Abbildung 10: mittlere prozentuale Stenosedurchmesser für die jeweilige Dosisgruppe zur Kontrollgruppe B vier Wochen nach Stentimplantation. B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = 232µg Sirolimus, D2 = 116µg Sirolimus, D3 = 58µg Sirolimus, D4 = 29µg Sirolimus



4.2.4 Angiographische Ergebnisse des Late Loss

Der Late Loss im Follow-up nach 28 Tagen stellt in dieser Studie ein Hauptkriterium zur Evaluation der neointimalen Gefäßhyperplasie dar.

Die ermittelten Werte werden tabellarisch in Tabelle 10 dargestellt und zum besseren Vergleich in Tabelle 11 als Mittelwerte (\pm Standardabweichung) angegeben.

In Abbildung 11 werden die insignifikanten Werte des Late Loss als Mittelwerte dargestellt ($p=0,084$).

Tabelle 10: Messergebnisse der minimalen Gefäßlumina zur Berechnung des Late Loss

Dosis	Kranzgefäß	min. Lumen Ø post. [mm]	min. Lumen Ø follow up [mm]	Late Loss [mm]
B	LAD	2.96	2.39	0.57
B	LAD	2.91	3.06	-0.15
B	LAD	2.80	2.94	-0.14
B	LAD	2.86	2.10	0.76
B	LCX	3.05	1.85	1.20
B	LCX	2.91	2.27	0.64
B	LCX	2.07	1.00	1.07
B	LCX	2.99	2.75	0.24
mittlerer Late Loss in Dosisgruppe B: 0,45mm				
Dosis	Kranzgefäß	min. Lumen Ø post [mm]	Min. Lumen Ø follow up [mm]	Late Loss [mm]
D1	LAD	3.04	1.48	1.56
D1	LAD	3.03	2.35	0.68
D1	LAD	2.81	2.12	0.69
D1	LAD	3.03	2.21	0.82
D1	LCX	3.00	2.18	0.82
D1	LCX	2.95	2.55	0.40
D1	LCX	2.91	2.56	0.35
D1	RCA	3.18	3.14	0.04
D1	LAD	3.04	1.48	1.56
mittlerer Late Loss in Dosisgruppe D1: 0,67mm				
Dosis	Kranzgefäß	min. Lumen Ø post. [mm]	min. Lumen Ø follow up [mm]	Late Loss [mm]
D2	LAD	3.03	1.85	1.18
D2	LAD	2.85	1.76	1.09
D2	LAD	2.75	1.78	0.97
D2	LAD	2.96	2.40	0.56
D2	LCX	2.81	2.33	0.48
D2	LCX	2.74	3.00	-0.26
D2	LCX	2.98	2.18	0.80
D2	LCX	2.72	2.06	0.66
D2	LAD	3.03	1.85	1.18
mittlerer Late Loss in Dosisgruppe D2: 0,69mm				

Ergebnisse

Dosis	Kranzgefäß	min. Lumen Ø post. [mm]	min. Lumen Ø follow up [mm]	Late Loss [mm]
D3	LAD	2.84	2.65	0.19
D3	LAD	2.71	2.60	0.11
D3	LAD	2.77	2.63	0.14
D3	LAD	2.95	2.40	0.55
D3	LCX	2.82	2.38	0.44
D3	LCX	2.73	2.49	0.24
D3	LCX	3.01	3.13	-0.12
D3	LCX	2.82	2.92	-0.10
D3	LAD	2.84	2.65	0.19
mittlerer Late Loss in Dosisgruppe D3: 0,18mm				
Dosis	Kranzgefäß	min. Lumen Ø post. [mm]	min. Lumen Ø follow up [mm]	Late Loss [mm]
D4	LAD	3.12	2.83	0.29
D4	LAD	3.34	1.79	1.55
D4	LAD	2.39	2.74	-0.35
D4	LAD	2.97	2.23	0.74
D4*	LAD	3.10	1.47	1.63
D4	LCX	2.70	2.14	0.56
D4	LCX	2.96	2.49	0.47
D4	RCA	3.04	2.52	0.52
D4	LAD	3.12	2.83	0.29
mittlerer Late Loss in Dosisgruppe D4: 0,68mm				
Dosis	Kranzgefäß	min. Lumen Ø post. [mm]	min. Lumen Ø follow up [mm]	Late Loss [mm]
P	LAD	2.75	1.33	1.42
P	LAD	2.69	2.02	0.67
P	LAD	2.97	2.36	0.61
P	LCX	2.98	2.49	0.49
P	LCX	2.7	2.59	0.11
P	LCX	2.96	2.12	0.84
P*	LCX	2.90	2.62	0.28
P	LCX	2.96	1.22	1.74
P	LAD	2.75	1.33	1.42
mittlerer Late Loss in Dosisgruppe P: 0,77mm				

*Dosierungen LCX/ LAD wurden vertauscht

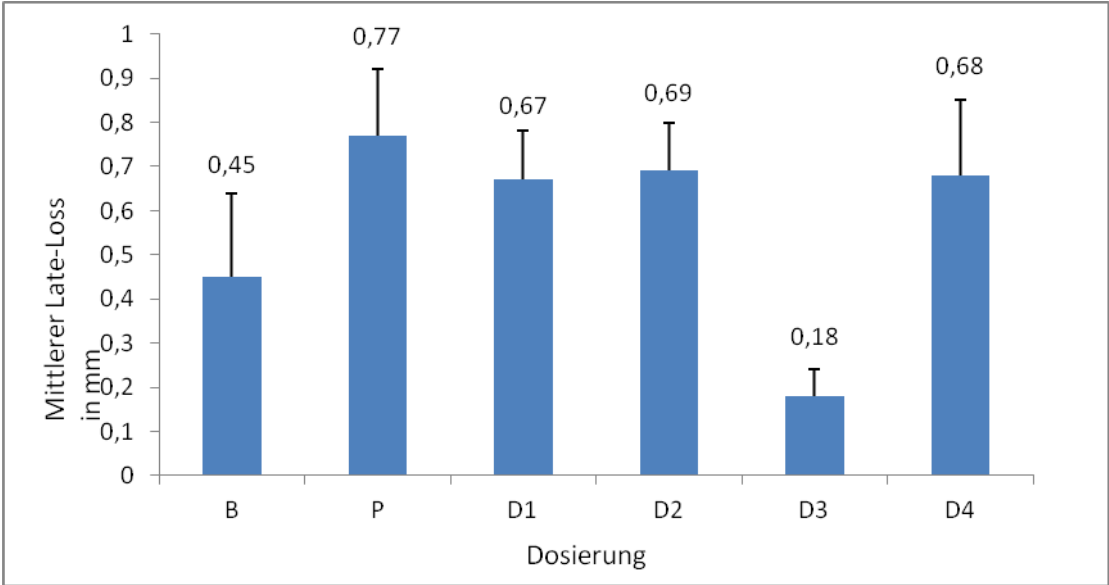
Tabelle 11: Mittelwerte des Late Loss angegeben in Millimeter

	B	P	D1	D2	D3	D4
Late Loss in mm	0.45±0.19	0.77±0.15	0.67±0.11	0.69±0.11	0.18±0.06	0.68±0.17

Werte sind als Mittelwerte± SEM (n=8 Stents) angegeben

Ergebnisse

Abbildung 11: Darstellung der insignifikanten Mittelwerte des Late Loss 4 Wochen nach Stentimplantation.
(B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232µg Sirolimus, D2 = 116µg Sirolimus, D3 = 58µg Sirolimus, D4 = 29µg Sirolimus)



4.3 Histomorphometrische und-pathologische Auswertung

Tabelle 12 zeigt eine Übersicht der histologischen und histomorphometrischen Ergebnisse. In allen statistischen Berechnungen ergaben sich keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 12: Darstellung der gewonnenen Mittelwerte:

Neointimale Fläche und Lamina elastica interna in mm², Stenosefläche in %, sowie histopathologische Score

		B	P	D1	D2	D3	D4
Neointimale Fläche (mm²)¹	distal§	2.37 ± 0.57	2.33 ± 0.18	1.97 ± 0.14	2.16 ± 0.28	2.02 ± 0.21	2.66 ± 0.52
	medial§	2.15 ± 0.31	2.24 ± 0.23	1.40 ± 0.06	1.80 ± 0.27	1.41 ± 0.12	2.20 ± 0.34
	proximal§	1.91 ± 0.32	2.61 ± 0.28	1.53 ± 0.10	1.97 ± 0.23	1.52 ± 0.07	2.58 ± 0.22
	Gesamt*	2.15 ± 0.16	2.39 ± 0.15	1.63 ± 0.22	1.97 ± 0.12	1.65 ± 0.25	2.48 ± 0.19
LEI Fläche (mm²)¹	distal§	5.50 ± 0.52	5.99 ± 0.23	5.74 ± 0.28	6.58 ± 0.26	6.69 ± 0.27	6.90 ± 0.14
	medial §	6.86 ± 0.16	6.39 ± 0.35	5.47 ± 0.50	6.05 ± 0.45	6.07 ± 0.40	6.42 ± 0.32
	proximal§	7.24 ± 0.13	6.94 ± 0.11	5.66 ± 0.63	6.67 ± 0.20	6.72 ± 0.18	6.79 ± 0.35
	Gesamt*	6.53 ± 0.69	6.42 ± 0.34	5.62 ± 0.10	6.43 ± 0.26	6.49 ± 0.28	6.70 ± 0.19
Stenose Fläche (%)¹	distal§	38.5 ± 9.4	39.2 ± 2.5	35.1 ± 2.7	34.9 ± 5.3	30.9 ± 3.7	38.8 ± 7.5
	medial§	32.1 ± 4.8	36.7 ± 4.1	28.6 ± 3.1	28.3 ± 3.9	24.3 ± 2.5	34.5 ± 4.7
	proximal§	27.1 ± 5.1	38.3 ± 4.5	24.8 ± 2.8	29.7 ± 3.4	22.7 ± 1.3	39.5 ± 3.5
	Gesamt*	32.6 ± 3.9	38.1 ± 0.9	29.5 ± 3.7	31.0 ± 2.7	26.0 ± 3.3	37.6 ± 2.1
Verletzungsscore¹	distal§	1.92 ± 0.04	1.91 ± 0.03	1.95 ± 0.03	1.97 ± 0.04	2.00 ± 0.00	2.02 ± 0.03
	medial§	2.00 ± 0.02	1.96 ± 0.03	1.90 ± 0.05	1.99 ± 0.02	1.95 ± 0.02	2.03 ± 0.04
	proximal§	1.94 ± 0.03	1.95 ± 0.02	1.86 ± 0.09	2.00 ± 0.02	1.98 ± 0.01	2.02 ± 0.05
	Gesamt*	1.96 ± 0.03	1.94 ± 0.02	1.90 ± 0.03	1.99 ± 0.01	1.98 ± 0.02	2.02 ± 0.01
Entzündungsscore¹	distal §	0.23 ± 0.05	0.17 ± 0.03	0.09 ± 0.02	0.23 ± 0.08	0.07 ± 0.02	0.24 ± 0.06
	Medial §	0.13 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.14 ± 0.04	0.12 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.21 ± 0.03
	proximal§	0.18 ± 0.03	0.29 ± 0.08	0.12 ± 0.03	0.13 ± 0.02	0.09 ± 0.02	0.12 ± 0.01
	Gesamt*	0.18 ± 0.04	0.20 ± 0.06	0.12 ± 0.02	0.16 ± 0.05	0.07 ± 0.01	0.19 ± 0.05
Endothelions-score¹	distal §		3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0
	medial §	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0
	proximal§	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0
	Gesamt *	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0	3 ± 0

* Werte sind als Mittelwerte ± SD angegeben (n=24, Gruppe D1 und B mit n=23),

§ Werte sind als Mittelwerte ± SEM angegeben (n=8 Stents, Gruppe D1 und B mit n=7)

¹ ANOVA berichtet keinen signifikanten Unterschied der Gruppen P, D1-D4 zur Kontrollgruppe B

4.3.1 Prozentuale Gefäßstenosefläche 4 Wochen nach Stentimplantation im Vergleich zur Kontrollgruppe B

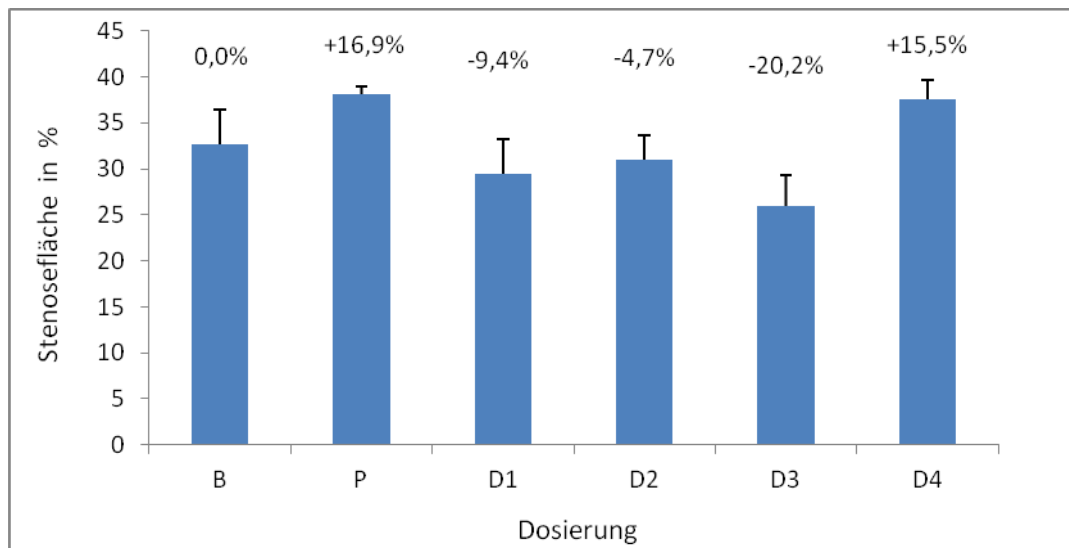
Abbildung 12 zeigt die nicht signifikanten Ergebnisse der Dosisgruppen P-D4 als Mittelwert im Vergleich zur Kontrollgruppe B ($p=0,7339$).

Zur Veranschaulichung eines histologischen Präparats wird in Abbildung 13 die zur Berechnung der prozentualen Gefäßstenose benötigten Flächen, Neointima und Lamina elastica interna abgebildet. Hierbei handelt es sich um die Koronargefäß LCX des Tiers 47 aus der Gruppe P.

In der Abbildung 14 sind die histomorphometrischen Ergebnisse nach Aufteilung in die distalen, mittleren und proximalen Gefäßsegmente dargestellt. In allen untersuchten Bereichen (distal, mittel, proximal) konnten keine signifikanten Ergebnisse der Dosisgruppen P, D1-D4 zur Kontrollgruppe B festgestellt werden (distal $p=0,9571$, mittel $p=0,7406$, proximal $p=0,1465$).

Abbildung 12: Darstellung der Mittelwerte der prozentualen Stenoseflächen im Vergleich zur Kontrollgruppe B

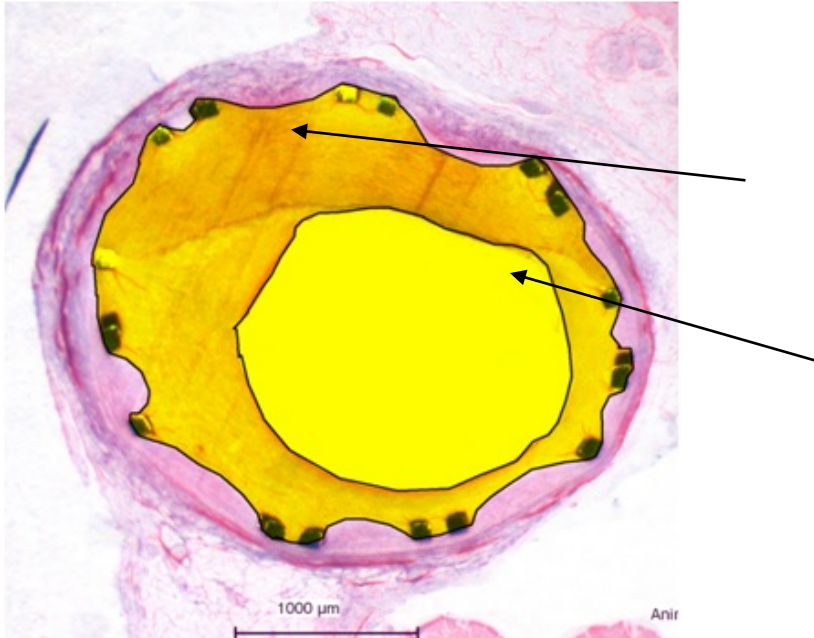
B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232 μ g Sirolimus, D2 = 116 μ g Sirolimus, D3 = 58 μ g Sirolimus, D4 = 29 μ g Sirolimus



Ergebnisse

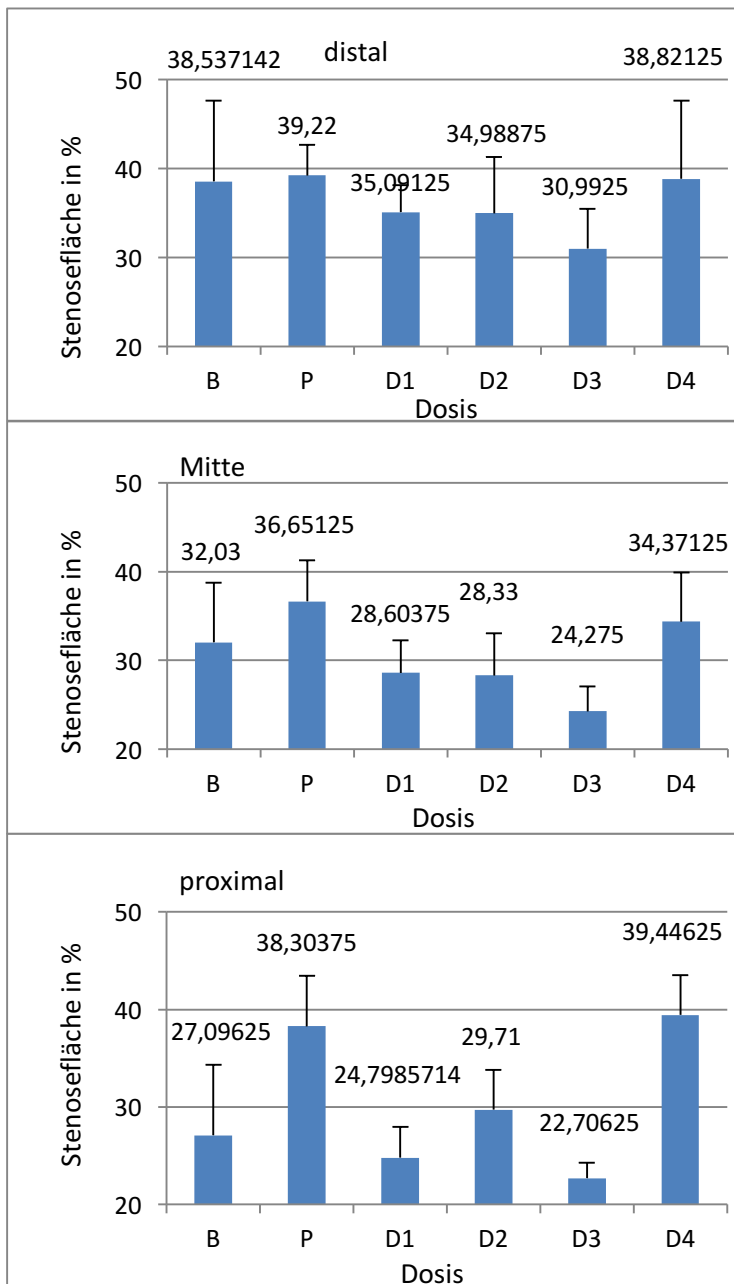
Abbildung 13: Darstellung distales Koronarsegment vier Wochen nach Implantation eines polymer beschichteten CoCr-Stent Stents (Gruppe P, Tier 49, LCX) mit neointimaler Fläche und Lamina elastica interna.

∅



Ergebnisse

Abbildung 14: Stenoseflächen der distalen, mittleren und proximalen Gefäßabschnitte 4 Wochen nach Stentimplantation dargestellt als Mittelwerte
B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232µg Sirolimus, D2 = 116µg Sirolimus, D3 = 58µg Sirolimus, D4 = 29µg Sirolimus



4.3.2 Neointimale Gefäßfläche 4 Wochen nach Stentimplantation

Abbildung 15 zeigt graphisch die Mittelwerte (\pm Standardabweichung) neointimaler Flächen gemessen in Quadratmillimeter für die distalen, mittleren und proximalen Stentabschnitte. Die histologische Auswertung der Präparate ergab keinen signifikanten Unterschied innerhalb der einzelnen Dosisgruppen zur Kontrollgruppe B.

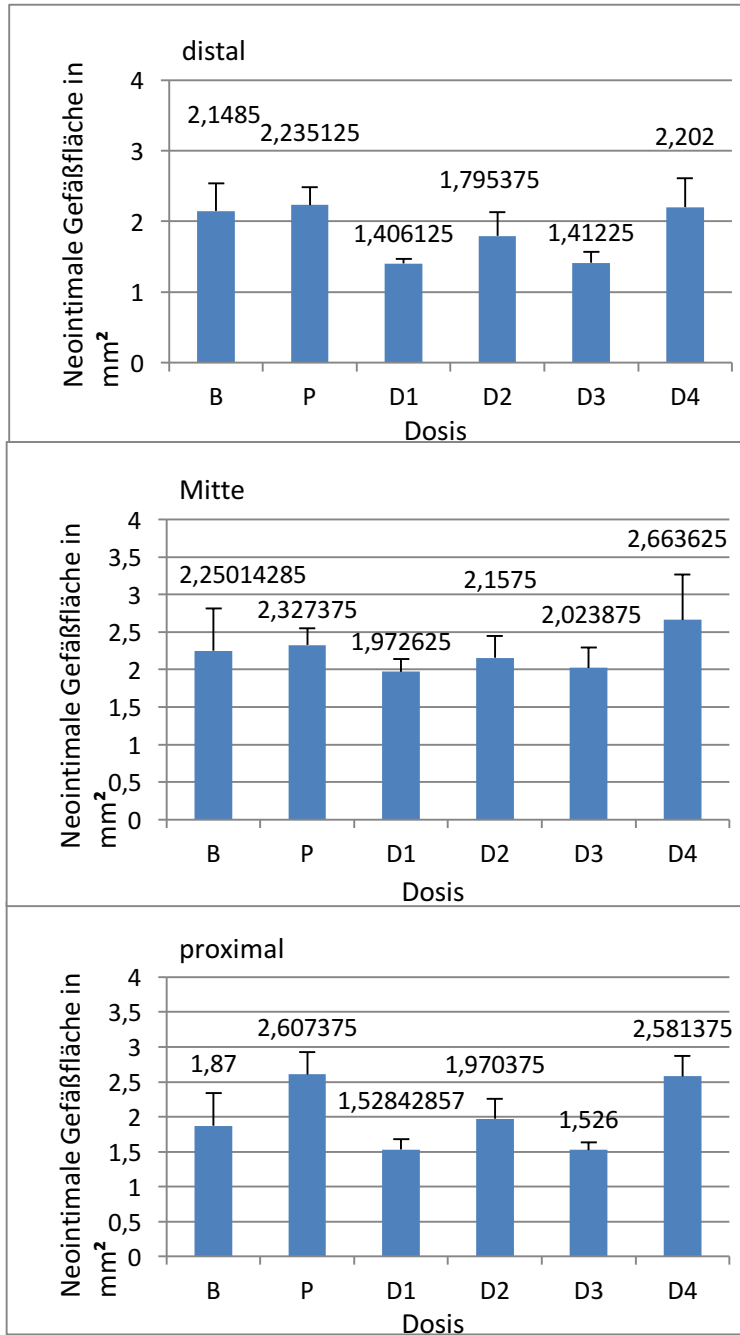
Neointimale Fläche proximal $p=0,0131$, medial $p=0,1752$, distal $p=0,8257$.

Durch den durchgeführten Dunnett-Test konnte die vermeintliche Signifikanz im proximalen Gefäßabschnitt widerlegt werden (D1–B: $p=0,8795$, D2–B: $p=1,0$, D3–B: $p=0,8549$, D4–B: $p=0,4234$, P–B: $p=0,3878$)

Ergebnisse

Abbildung 15: Darstellung der Mittelwerte der neointimalen Gefäßabschnitte der distalen, mittleren und proximalen Stentflächen in mm²

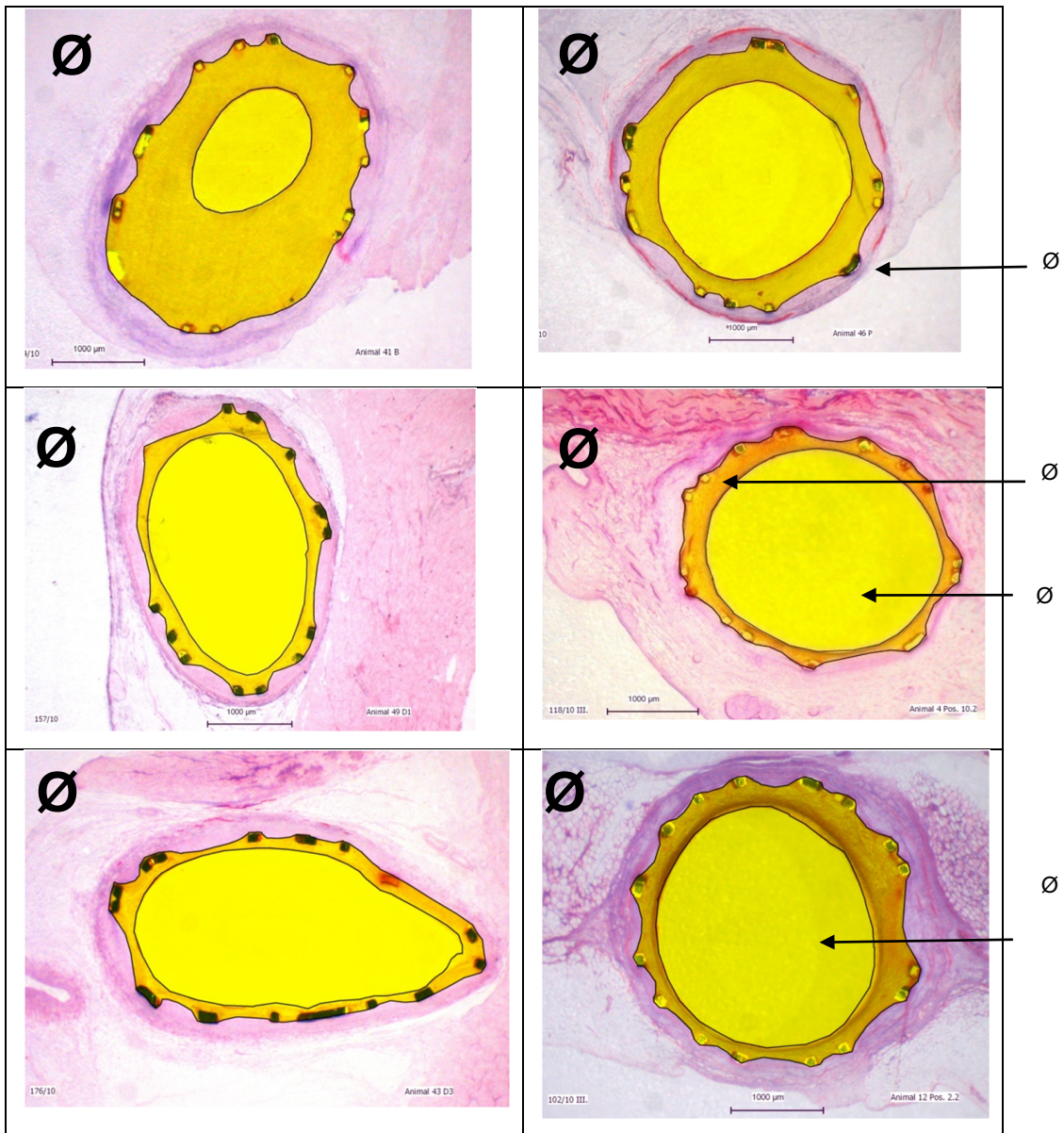
B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232µg Sirolimus, D2 = 116µg Sirolimus, D3 = 58µg Sirolimus, D4 = 29µg Sirolimus



Ergebnisse

Abbildung 16 zeigt die histologischen Bilder der einzelnen Stentgruppen mit den jeweiligen Stenoseflächen. Die hellgelben Felder markieren das Gefäßlumen. Die Stentstreben sind am äußeren Rand der einzelnen Gefäße ebenfalls im Querschnitt angeschnitten.

Abbildung 16: Histologische Schnitte aus den jeweiligen Stentgruppen mit Darstellung der randbildenden Stentstreben, der neointimalen Flächen und Stenoseflächen
 B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232mg Sirolimus, D2 = 116µg Sirolimus, D3 = 58µg Sirolimus, D4 = 29µg Sirolimus



Flächenergebnisse:

B: Lumen: 1306534,351µm
 Stenose: 6468435,985µm
 D1: Lumen: 4077227,860µm
 Stenose: 5592808,001µm
 D3: Lumen: 4745663,858µm
 Stenose: 6283364,585µm

P: Lumen: 4153189,673µm
 Stenose: 7157947,965µm
 D2: Lumen: 4702239,242µm
 Stenose: 6342281,702µm
 D4: Lumen: 654867,000µm
 Stenose: 1004526,000µm

Ergebnisse

4.3.3 Fläche der Lamina elastica interna (LEI) in mm²

Die histomorphometrische Auswertung der einzelnen Flächen der Lamina elastica interna ergibt im Gruppenvergleich P-D4 zur Kontrollgruppe B kein signifikantes Ergebnis. LEI proximal: $p= 0,4443$, LEI medial: $p=0,3779$, LEI distal: $p=0,1063$.

In der folgenden Tabelle 13 sind die Mittelwerte der Einzelmessungen aufgelistet. Die Mittelwerte der Lamina elastica interna sind in mm² angegeben.

Ergebnisse

Tabelle 13: Histomorphometrische Messergebnisse der distalen, medialen und proximalen Flächen der Lamina elastica Interna angegeben in mm²

Dosis	Kranzgefäß	distal (I) [mm ²]	medial (II) [mm ²]	proximal (III) [mm ²]
B	LAD	5.528	6.074	6.593
B	LAD	7.853	6.998	7.125
B	LAD	5.101	6.717	7.383
B	LAD	5.956	7.044	7.277
B	LCX	5.883	7.260	7.427
B	LCX	n.d. \$	7.949	7.735
B	LCX	6.442	5.944	6.468
B	LCX	7.238	6.872	7.893
Dosis	Kranzgefäß	distal (I) [mm ²]	medial (II) [mm ²]	proximal (III) [mm ²]
D1	LAD	5.883	5.171	6.341
D1	LAD	6.077	7.646	7.903
D1	LAD	6.824	5.369	4.232
D1	LAD	5.836	3.669	5.593
D1	LCX	3.939	4.355	6.709
D1	LCX	4.337	3.087	n.d.\$
D1	LCX	6.231	6.819	6.181
D1	RCA	6.771	7.610	8.345
Dosis	Kranzgefäß	distal (I) [mm ²]	medial (II) [mm ²]	proximal (III) [mm ²]
D2	LAD	6.172	6.063	6.342
D2	LAD	7.416	7.587	7.320
D2	LAD	4.433	6.591	7.112
D2	LAD	6.590	6.038	7.056
D2	LCX	6.563	6.804	6.375
D2	LCX	7.203	0.960	7.128
D2	LCX	7.998	7.771	7.012
D2	LCX	6.227	6.562	5.002
Dosis	Kranzgefäß	distal (I) [mm ²]	medial (II) [mm ²]	proximal (III) [mm ²]
D3	LAD	7.274	7.414	7.334
D3	LAD	5.235	3.504	6.952
D3	LAD	5.192	6.828	5.776
D3	LAD	6.911	6.688	7.488
D3	LCX	8.362	6.834	6.125
D3	LCX	7.079	4.329	6.896
D3	LCX	6.875	7.079	6.283
D3	LCX	6.560	5.863	6.936
Dosis	Kranzgefäß	distal (I) [mm ²]	medial (II) [mm ²]	proximal (III) [mm ²]
D4	LAD	6.991	7.265	7.157
D4	LAD	7.055	6.779	6.905
D4	LAD	6.808	6.281	7.328
D4	LAD	7.604	7.183	8.035
D4*	LAD	6.920	7.295	7.732
D4	LCX	6.635	5.702	6.795
D4	LCX	7.495	7.162	7.541
D4	RCA	5.723	3.701	2.818
Dosis	Kranzgefäß	distal (I) [mm ²]	medial (II) [mm ²]	proximal (III) [mm ²]
P	LAD	5.707	7.013	7.206
P	LAD	5.162	7.010	6.261
P	LAD	5.821	7.079	7.937
P	LCX	7.064	7.812	7.360
P	LCX	4.775	3.571	6.156
P	LCX	7.108	7.000	7.158
P*	LCX	6.247	6.273	6.819
P	LCX	5.701	5.359	6.584

*: Dosierungen LCX/ LAD wurden vertauscht, \$: Probe 37 distal und Probe 38 proximal waren vor Untersuchung zerquetscht worden, weshalb eine exakte Messung nicht möglich war

4.4 Histologische Auswertung

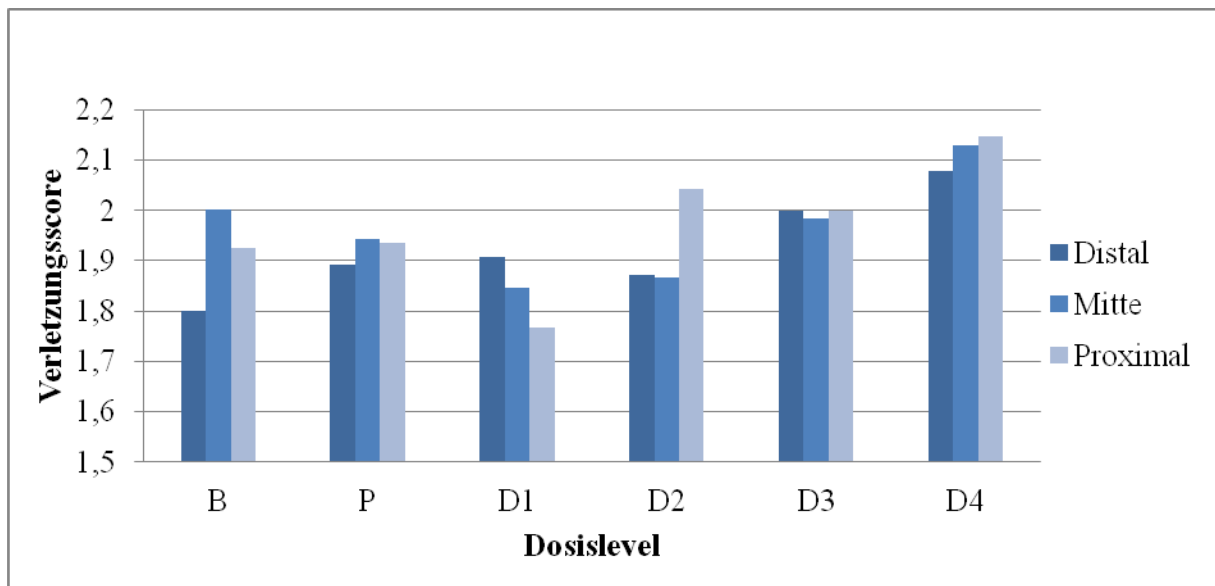
4.4.1 Verletzungsscore 4 Wochen nach Stentimplantation

Abbildung 17 zeigt die Ergebnisse der distalen, medialen und proximalen Gefäßabschnitte nach Einteilung in den Verletzungsscore vier Wochen postinterventionell. Einheitlich sind in allen Gruppen Verletzungen der Lamina elastica interna (Intima) zu dokumentieren. Die statistischen Ergebnisse der Dosisgruppen (P, D1-D4) weisen zur Kontrollgruppe B kein signifikantes Ergebnis auf.

Verletzungsscore proximal $p=0,3673$, medial $p=0,8082$, distal $p=0,1224$.

Die einzelnen Messdaten sind in Tabelle 14 aufgelistet. Eine Zusammenfassung der histomorphometrischen Mittelwerte der distalen, medialen und proximalen Segmente ist der Übersichtstabelle 12 zu entnehmen.

Abbildung 17: Graphische Darstellung des Verletzungsscores der distalen, medialen und proximalen Stentabschnitte
B= BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1= SES 232 μ g Sirolimus, D2= 116 μ g Sirolimus, D3= 58 μ g Sirolimus, D4= 29 μ g Sirolimus



Verletzungsscore nach (RS Schwartz, 1992)

0 = Lamina elastica interna (LEI) intakt

1 = rupturierte LEI mit Angrenzung an die Media

2 = rupturierte LEI mit Angrenzung an tiefere Schichten der Media

3 = rupturierte Lamina elastica externa (LEE) mit Beteiligung der Adventitia

Tabelle 14: Verletzungsscore

Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
B	LAD	1.94 ± 0.03 (n=16)	2.0 ± 0.00 (n=9)	1.92 ± 0.04 (n=12)
B	LAD	1.73 ± 0.12 (n=11)	2.00 ± 0.00 (n=10)	1.86 ± 0.09 (n=14)
B	LAD	1.88 ± 0.07 (n=16)	1.94 ± 0.04 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=6)
B	LAD	2.00 ± 0.00 (n=12)	2.00 ± 0.00 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=5)
B	LCX	2.0 ± 0.00 (n=12)	2.0 ± 0.00 (n=15)	2.0 ± 0.00 (n=15)
B	LCX	0.00 ± 0.00 (n=4)	2.00 ± 0.00 (n=15)	2.00 ± 0.00 (n=15)
B	LCX	2.07 ± 0.04 (n=15)	2.20 ± 0.10 (n=10)	2.08 ± 0.05 (n=13)
B	LCX	1.82 ± 0.07 (n=15)	1.89 ± 0.07 (n=9)	1.69 ± 0.14 (n=13)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D1	LAD	2.08 ± 0.04 (n=13)	2.06 ± 0.03 (n=16)	2.07 ± 0.03 (n=15)
D1	LAD	1.93 ± 0.04 (n=15)	2.08 ± 0.04 (n=13)	2.00 ± 0.00 (n=12)
D1	LAD	1.88 ± 0.07 (n=16)	1.91 ± 0.05 (n=11)	2.00 ± 0.00 (n=15)
D1	LAD	1.88 ± 0.07 (n=16)	1.71 ± 0.16 (n=14)	2.00 ± 0.00 (n=12)
D1	LCX	2.0 ± 0.00 (n=12)	2.0 ± 0.00 (n=14)	2.0 ± 0.00 (n=13)
D1	LCX	1.79 ± 0.10 (n=14)	1.50 ± 0.22 (n=14)	0.88 ± 0.16 (n=16)
D1	LCX	2.00 ± 0.00 (n=10)	2.00 ± 0.00 (n=16)	1.93 ± 0.05 (n=15)
D1	RCA	2.00 ± 0.00 (n=14)	1.90 ± 0.06 (n=10)	2.00 ± 0.00 (n=11)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D2	LAD	2.0 ± 0.00 (n=13)	2.0 ± 0.00 (n=17)	2.0 ± 0.00 (n=14)
D2	LAD	2.14 ± 0.07 (n=14)	2.0 ± 0.00 (n=14)	1.94 ± 0.03 (n=16)
D2	LAD	1.53 ± 0.24 (n=17)	1.85 ± 0.09 (n=13)	2.08 ± 0.05 (n=12)
D2	LAD	2.00 ± 0.00 (n=16)	1.88 ± 0.08 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=11)
D2	LCX	2.0 ± 0.00 (n=14)	2.13 ± 0.06 (n=15)	2.20 ± 0.10 (n=10)
D2	LCX	2.0 ± 0.00 (n=14)	2.0 ± 0.00 (n=12)	2.0 ± 0.00 (n=11)
D2	LCX	2.0 ± 0.00 (n=13)	2.0 ± 0.00 (n=12)	2.0 ± 0.00 (n=16)
D2	LCX	2.06 ± 0.03 (n=17)	2.07 ± 0.03 (n=15)	1.81 ± 0.00 (n=16)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D3	LAD	2.0 ± 0.00 (n=14)	2.0 ± 0.00 (n=11)	2.0 ± 0.00 (n=16)
D3	LAD	2.0 ± 0.00 (n=15)	1.77 ± 0.10 (n=13)	1.85 ± 0.07 (n=13)
D3	LAD	2.00 ± 0.00 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=13)	2.00 ± 0.00 (n=12)
D3	LAD	2.00 ± 0.00 (n=15)	2.00 ± 0.00 (n=10)	2.00 ± 0.00 (n=16)
D3	LCX	2.0 ± 0.00 (n=15)	1.91 ± 0.05 (n=11)	2.0 ± 0.00 (n=16)
D3	LCX	2.00 ± 0.00 (n=13)	1.92 ± 0.04 (n=13)	2.00 ± 0.00 (n=11)
D3	LCX	2.00 ± 0.00 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=11)	2.00 ± 0.00 (n=14)
D3	LCX	2.00 ± 0.00 (n=11)	2.00 ± 0.00 (n=13)	2.00 ± 0.05 (n=14)

Ergebnisse

Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D4	LAD	2.0 ± 0.00 (n=10)	2.0 ± 0.00 (n=10)	2.0 ± 0.00 (n=16)
D4	LAD	2.0 ± 0.00 (n=14)	2.0 ± 0.00 (n=11)	2.0 ± 0.00 (n=10)
D4	LAD	2.0 ± 0.00 (n=13)	2.0 ± 0.00 (n=15)	2.2 ± 0.08 (n=15)
D4	LAD	2.00 ± 0.00 (n=11)	2.00 ± 0.00 (n=11)	2.00 ± 0.00 (n=15)
D4	LAD	2.14 ± 0.16 (n=14)	2.25 ± 0.11 (n=12)	2.33 ± 0.14 (n=12)
D4	LCX	2.19 ± 0.08 (n=16)	2.0 ± 0.00 (n=16)	2.0 ± 0.00 (n=13)
D4	LCX	2.0 ± 0.00 (n=14)	2.0 ± 0.00 (n=9)	2.14 ± 0.07 (n=14)
D4	RCA	1.79 ± 0.09 (n=14)	1.77 ± 0.10 (n=13)	1.5 ± 0.16 (n=16)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
P	LAD	2.0 ± 0.00 (n=10)	2.08 ± 0.04 (n=13)	2.0 ± 0.00 (n=14)
P	LAD	1.86 ± 0.07 (n=14)	1.93 ± 0.04 (n=14)	1.93 ± 0.05 (n=14)
P	LAD	2.00 ± 0.00 (n=12)	2.00 ± 0.00 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=11)
P	LCX	1.63 ± 0.16 (n=16)	1.86 ± 0.08 (n=14)	1.84 ± 0.09 (n=12)
P	LCX	2.00 ± 0.00 (n=15)	1.80 ± 0.10 (n=10)	1.90 ± 0.05 (n=12)
P	LCX	1.92 ± 0.04 (n=13)	2.00 ± 0.00 (n=10)	2.00 ± 0.00 (n=11)
P	LCX	1.86 ± 0.07 (n=14)	2.00 ± 0.00 (n=9)	1.90 ± 0.06 (n=10)
P	LCX	2.00 ± 0.00 (n=16)	2.00 ± 0.00 (n=13)	2.00 ± 0.00 (n=10)

*: Abweichung vom Studienprotokoll: Die Dosislevel von LCX/LAD wurden vertauscht

#: n = Anzahl der sichtbaren Stentstreben in den evaluierten Sektionen.

Die Werte sind als Mittelwerte ± Standardfehler dargestellt

4.4.2 Entzündungsscore 4 Wochen nach Stentimplantation

Die Stentstreben in jedem Gefäß wurden gemäß der Beschreibung nach Kornowski eingeteilt. Hierbei ergeben sich folgende Stufen:

0 = keine, 1 = leichte, 2 = moderate, 3 = massive Zellinfiltration (R Kornowski, 1998).

Die Ergebnisse werden in Abbildung 18 als Mittelwerte der Dosisgruppen präsentiert. In Abbildung 19 erfolgt die Auflistung der Mittelwerte (±Standardabweichung (n=24)) für jeweils die distalen, medialen und proximalen Segmente zu jedem einzelnen Tier. Es besteht kein signifikanter Unterschied der Dosisgruppen (P, D1-D4) zur Kontrollgruppe B $p=0,2064$. Entzündungsscore: proximal: $p=0,4498$, medial: $p=0,1161$, distal: $p=0,0768$.

Die Rohdaten der Messwerte für die distalen, medialen und proximalen Segmente sind in Tabelle 15 zusammengestellt.

Eine Zusammenfassung der histomorphometrischen Mittelwerte der distalen, medialen und proximalen Segmente ist der Übersichtstabelle 12 zu entnehmen.

Ergebnisse

Abbildung 18: Darstellung der Mittelwerte (mit Standardabweichung) des Entzündungsscores für jede Dosisgruppe mit jeweils 8 Stents

B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232µg Sirolimus, D2 = 116µg Sirolimus, D3 = 58µg Sirolimus, D4 = 29µg Sirolimus

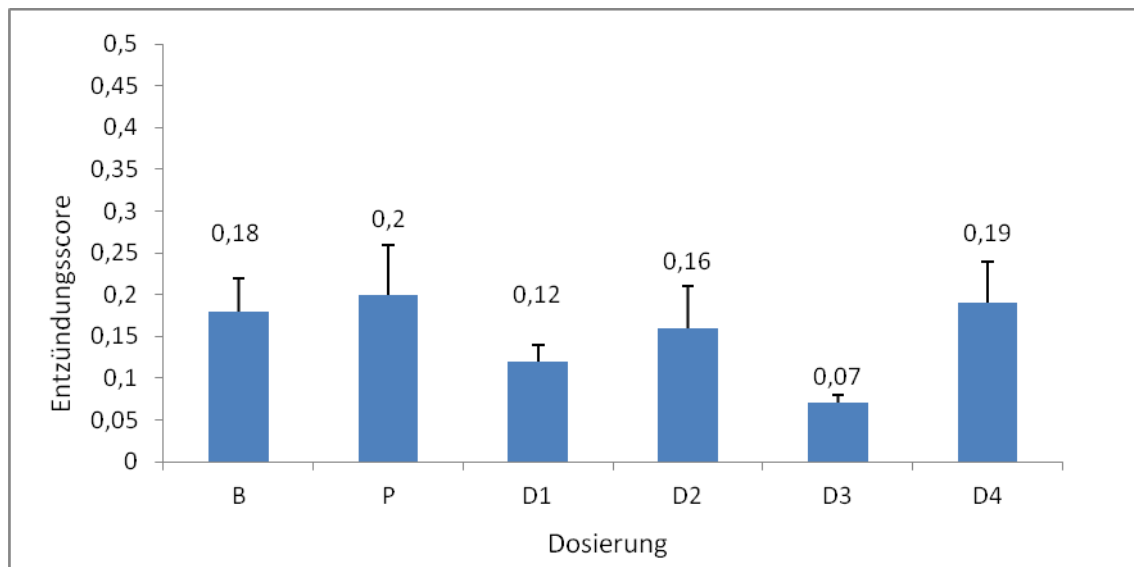


Tabelle 15: Rohdaten der Messwerte des Entzündungsscores für die distalen, medialen und proximalen Segmente

Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
B	B LAD	0.06 ± 0.03 (n=16)	0.00 ± 0.00 (n=9)	0.17 ± 0.08 (n=12)
B	B LAD	0.36 ± 0.14 (n=11)	0.00 ± 0.00 (n=10)	0.07 ± 0.05 (n=14)
B	B LAD	0.13 ± 0.07 (n=16)	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.17 ± 0.11 (n=6)
B	B LAD	0.25 ± 0.12 (n=12)	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.40 ± 0.21 (n=5)
B	B LCX	0.08 ± 0.04 (n=12)	0.13 ± 0.06 (n=15)	0.13 ± 0.06 (n=15)
B	B LCX	0.25 ± 0.19 (n=4)	0.07 ± 0.04 (n=15)	0.07 ± 0.05 (n=15)
B	B LCX	0.40 ± 0.13 (n=15)	0.60 ± 0.15 (n=10)	0.31 ± 0.14 (n=13)
B	B LCX	0.07 ± 0.04 (n=15)	0.11 ± 0.12 (n=9)	0.08 ± 0.05 (n=13)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D1	D1 LAD	0.15 ± 0.07 (n=13)	0.38 ± 0.08 (n=16)	0.27 ± 0.10 (n=15)
D1	D1 LAD	0.13 ± 0.09 (n=15)	0.15 ± 0.08 (n=13)	0.25 ± 0.12 (n=12)
D1	D1 LAD	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.00 ± 0.00 (n=11)	0.07 ± 0.05 (n=15)
D1	D1 LAD	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.20 ± 0.11 (n=14)	0.08 ± 0.00 (n=12)
D1	D1 LCX	0.17 ± 0.08 (n=12)	0.29 ± 0.11 (n=14)	0.15 ± 0.07 (n=13)
D1	D1 LCX	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.00 ± 0.00 (n=16)
D1	D1 LCX	0.10 ± 0.06 (n=10)	0.00 ± 0.00 (n=16)	0.00 ± 0.00 (n=15)
D1	D1 RCA	0.00 ± 0.00 (n=14)	0.00 ± 0.00 (n=10)	0.00 ± 0.00 (n=11)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D2	LAD	0.23 ± 0.12 (n=13)	0.17 ± 0.05 (n=17)	0.14 ± 0.07 (n=14)
D2	LAD	0.93 ± 0.21 (n=14)	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.19 ± 0.04 (n=16)
D2	LAD	0.06 ± 0.04 (n=17)	0.15 ± 0.08 (n=13)	0.17 ± 0.09 (n=12)
D2	LAD	0.13 ± 0.07 (n=16)	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.09 ± 0.05 (n=11)
D2	LCX	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.20 ± 0.08 (n=15)	0.20 ± 0.10 (n=10)
D2	LCX	0.00 ± 0.00 (n=14)	0.00 ± 0.00 (n=12)	0.09 ± 0.05 (n=11)
D2	LCX	0.00 ± 0.00 (n=13)	0.08 ± 0.04 (n=12)	0.06 ± 0.03 (n=16)

Ergebnisse

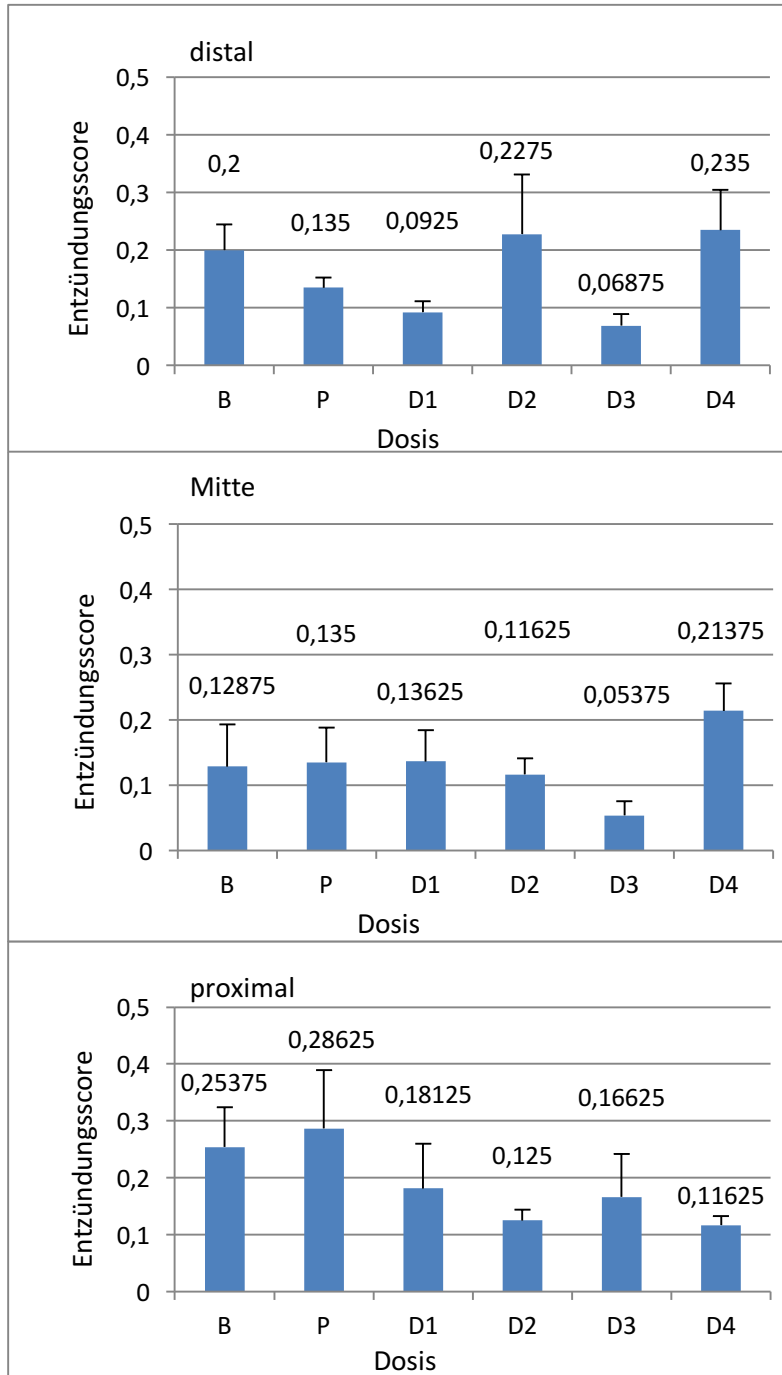
D2	LCX	0.40 ± 0.14 (n=17)	0.20 ± 0.10 (n=15)	0.06 ± 0.03 (n=16)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D3	LAD	0.14 ± 0.07 (n=14)	0.09 ± 0.05 (n=11)	0.19 ± 0.08 (n=16)
D3	LAD	0.13 ± 0.06 (n=15)	0.08 ± 0.04 (n=13)	0.08 ± 0.00 (n=13)
D3	LAD	0.00 ± 0.00 (n=16)	0.00 ± 0.00 (n=13)	0.08 ± 0.05 (n=12)
D3	LAD	0.00 ± 0.00 (n=15)	0.00 ± 0.00 (n=10)	0.00 ± 0.00 (n=16)
D3	LCX	0.13 ± 0.06 (n=15)	0.00 ± 0.00 (n=11)	0.07 ± 0.03 (n=16)
D3	LCX	0.00 ± 0.00 (n=13)	0.08 ± 0.04 (n=13)	0.00 ± 0.00 (n=11)
D3	LCX	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.18 ± 0.09 (n=11)	0.21 ± 0.12 (n=14)
D3	LCX	0.09 ± 0.05 (n=11)	0.00 ± 0.00 (n=13)	0.07 ± 0.05 (n=14)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
D4	LAD	0.10 ± 0.06 (n=10)	0.10 ± 0.06 (n=10)	0.06 ± 0.03 (n=16)
D4	LAD	0.20 ± 0.09 (n=14)	0.18 ± 0.09 (n=11)	0.10 ± 0.06 (n=10)
D4	LAD	0.08 ± 0.04 (n=13)	0.20 ± 0.08 (n=15)	0.07 ± 0.03 (n=15)
D4	LAD	0.00 ± 0.00 (n=11)	0.09 ± 0.05 (n=11)	0.13 ± 0.09 (n=15)
D4	LAD	0.50 ± 0.15 (n=14)	0.50 ± 0.22 (n=12)	0.08 ± 0.05 (n=12)
D4	LCX	0.50 ± 0.17 (n=16)	0.19 ± 0.08 (n=16)	0.15 ± 0.07 (n=13)
D4	LCX	0.43 ± 0.15 (n=14)	0.22 ± 0.12 (n=9)	0.21 ± 0.09 (n=14)
D4	D4 RCA	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.23 ± 0.10 (n=13)	0.13 ± 0.05 (n=16)
Dosis	Kranzgefäß	distal (I)	medial (II)	proximal (III)
P	LAD	0.10 ± 0.06 (n=10)	0.00 ± 0.00 (n=13)	0.07 ± 0.04 (n=14)
P	LAD	0.14 ± 0.07 (n=14)	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.14 ± 0.09 (n=14)
P	LAD	0.17 ± 0.08 (n=12)	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.00 ± 0.00 (n=11)
P	LCX	0.19 ± 0.09 (n=16)	0.14 ± 0.08 (n=14)	0.92 ± 0.10 (n=12)
P	LCX	0.20 ± 0.04 (n=15)	0.20 ± 0.10 (n=10)	0.58 ± 0.14 (n=12)
P	LCX	0.15 ± 0.07 (n=13)	0.50 ± 0.16 (n=10)	0.18 ± 0.12 (n=11)
P	LCX	0.07 ± 0.04 (n=14)	0.11 ± 0.07 (n=9)	0.30 ± 0.13 (n=10)
P	LCX	0.06 ± 0.04 (n=16)	0.00 ± 0.00 (n=13)	0.10 ± 0.06 (n=10)

*: Abweichung vom Studienprotokoll: Die Dosislevel von LCX/LAD wurden vertauscht

#: n = Anzahl der sichtbaren Stentstreben in den evaluierten Sektionen

Die Werte sind als Mittelwerte dargestellt

Abbildung 19: Grafische Darstellung des Entzündungsscores der distalen, medialen und proximalen Gefäßabschnitte. Mittelwerte \pm Standardfehler
 B = BMS, P= Polymer-CoCr-Stent, D1 = SES 232 μ g Sirolimus, D2 = 116 μ g Sirolimus, D3 = 58 μ g Sirolimus, D4 = 29 μ g Sirolimus



4.4.3 Endothelisationsscore 4 Wochen nach Stentimplantation

Ein signifikanter Unterschied der Dosisgruppen (P, D1-D4) zur Kontrollgruppe B existiert nicht. Die histologische Untersuchung zeigte in allen untersuchten Präparaten eine zu über 75 % Endothelialisierung. Der Endothelisationsscore betrug einheitlich 3 in allen Kontroll- und Versuchsgruppen.

Diskussion

Der Einsatz von Koronarstents zählt heute bei der Behandlung der koronaren Herzkrankheit zu einem standardisierten Therapieverfahren. Trotz jahrelanger Forschung bleibt auch heute das Auftreten von Stentthrombosen und In-Stent-Restenosen eine gefürchtete Komplikation. Wenngleich zahlreiche Studien und Metaanalysen die Sicherheit von beschichteten Koronarstents (Drug eluting stents, DES) bestätigen konnten, (Moses 2003) (Leon 2010) (Kedhi 2010) bleibt das Auftreten von Stentthrombosen und In-Stent-Restenosen nach wie vor ein bisher nicht gänzlich vermeidbares Risiko nach einer Koronarintervention.

Die in dieser Arbeit verwendeten DES nutzen als Trägermaterial eine Polymerbeschichtung, welche einen entsprechenden Wirkstoff (hier Sirolimus) ins Gewebe abgibt und somit dem pathophysiologischen Prozess der überschießenden Gewebeproliferation mit folgender Restenose entgegen wirken soll. Mit der anschließenden Einnahme einer dualen Thrombozytenaggregationshemmung kann das Risiko für Stentthrombosen und Restenosierung reduziert werden.

Durch diese, seit 2002 beim Menschen zum Einsatz kommenden, Medikament-freisetzenden Koronarstents (DES) konnte das Auftreten von In-Stent-Restenosen in Abhängigkeit vom kardiovaskulären Risikoprofil des Patienten auf bis zu 10% reduziert werden (Schühlen 2004) (Serruys 2006) (Lapp 2010). Es existieren zahlreiche Arbeiten, in denen DES der ersten und zweiten Generation verglichen und deren Ausschlusskriterien zur Ausweitung des Patientenkollektivs minimiert wurden. In einer Arbeit von Mauri et al. konnte gezeigt werden, dass sich die Herzinfarkt- und Mortalitätsraten für Sirolimus beschichtete Stents (SES) und Bare-metal Stents (BMS) nicht signifikant unterschieden. Es bestand jedoch eine nicht signifikante Tendenz zugunsten einer geringeren Mortalitätsrate für SES (Mauri 2008) (Chen 2009). Dennoch zeigten frühere Studienergebnisse an unterschiedlichen Spezies eine durch Koronarstents mit Polymerbeschichtung und Medikamentenabgabe erhöhte Entzündungsreaktion und Thromboseneigung im Stentgebiet (van der Giessen 1996) (Virmani 2004) (McFadden 2004). Studienergebnisse der Arbeitsgruppe um Morice und Kollegen aus dem Jahr 2002 demonstrierten die Überlegenheit des SES im Vergleich mit einem Bare-metal Stent bei Patienten mit Angina Pectoris. Nach einem Beobachtungszeitraum von sechs Monaten konnte für den primären Endpunkt „luminaler Late Loss“ in dieser Arbeitsgruppe ein

signifikant besseres Ergebnis für den SES erreicht werden. Das Auftreten von Stentthrombosen in der Sirolimusgruppe konnte hier nicht dokumentiert werden (Morice 2002).

Derzeit beschreiben Langzeit-Folgestudien ein verringertes Auftreten von ST bei DES der 2. Generation verglichen mit DES der 1. Generation (Carter 2006) (Finn 2007) (Faxon 2012).

Auf der Suche nach dem „optimalen Stent“, ist es wichtig neue Erkenntnisse zum klinischen Ergebnis sowie Aussagen über die Langzeitwirkung von Medikamentenbeschichteten Koronarstents zu erlangen. Hierfür ist es notwendig Studien mit weiterentwickelten und veränderten Polymerbeschichtungen durch zu führen. Zusätzlich muss der optimale Stent hinsichtlich der aufgetragenen Medikamentendosierung gefunden werden.

In dieser Arbeit mit insgesamt 48 implantierten Koronarstents ergaben sich statistisch keine signifikanten Unterschiede der verschiedenen Dosisgruppen (P, D1-D4) zur Kontrollgruppe B. Es konnte dennoch gezeigt werden, dass der Einsatz eines mit Sirolimus beschichteten Koronarstents mit 58µg Sirolimus verglichen mit den hier zum Einsatz kommenden mit Polymer beschichteten Stents mit und ohne verschiedenen Sirolimusdosierungen, hinsichtlich der neointimalen Gefäßproliferation und des reduzierten Gefäßstenosedurchmessers das beste Ergebnis erzielte. Die Messwerte der Kontrollangiographie nach 28 Tagen zeigten zugleich trotz fehlender Signifikanz zur Kontroll- und Dosisgruppe beim Einsatz der Dosisgruppe D3 (58µg Sirolimus) eine um 20,2% geringere prozentuale Stenosefläche.

Folglich stellt sich die Frage, weshalb gerade die Konzentration von 58µg Sirolimus das beste Ergebnis erzielt. Geht man von der Wirksamkeit von Sirolimus aus, läge nahe eine bessere Reduktion der Stenose durch eine höhere Medikamentenkonzentration zu vermuten. Ist Sirolimus nicht wirksam, so sollte mit steigender Sirolimuskonzentration auch eine Zunahme der Stenosefläche resultieren. Die hier gewonnenen Ergebnisse mit einer zwar nicht signifikant geringeren Stenosefläche und insignifikant geringeren Lumenreduktion, weisen jedoch eine deutliche Tendenz für die besten angiographischen Ergebnisse mit der zweitniedrigsten Sirolimus-Dosierung auf, was zunächst überrascht. Auch in der Literatur finden sich hierzu keine direkten Erklärungen. Es finden sich jedoch Hinweise, welche das erhaltene Ergebnis erklären könnten.

Bei der hier eingesetzten niedrigsten Sirolimuskonzentration von 29µg muss von einer zu geringen Dosierung ausgegangen werden, um einen antiproliferativen Effekt zu erreichen. Der in der Vergangenheit am häufigsten eingesetzte Sirolimusstent (CYPHER-Stent) ist mit einer Sirolimus-Menge von 141µg ausgestattet (Morice2002) (Moses 2003). Hierbei handelt es sich jedoch um humane Studien mit zwar unterschiedlichem Patientenkollektiv, aber fehlender Reproduzierbarkeit auf porcine Studien.

Die schlechteren Ergebnisse der Dosisgruppen D2 (116µg) und D1 (232µg) wären durch eine lokale zytotoxische Wirkung des Sirolimus in hoher Konzentration zu erklären. Matter und Kollegen berichteten jedoch bereits 2006, dass In-vitro-Studien keine Zytotoxizität von Sirolimus auf Endothelzellen zeigen (Matter 2006). Auch Wessley et al. schreiben von einer großen therapeutischen Breite von Sirolimus und lediglich zytostatischen, nicht zytotoxischen Effekten (Wessley 2006).

Serry et al. berichteten jedoch bereits 2005 von Endotheldysfunktionen nach Implantation eines CYPHER-Stents. Da dieser in der Sirolimus-Konzentration zwischen den Stents der Dosisgruppen D3 und D4 liegt könnte sich dieses Ergebnis hier widerspiegeln (Serry 2005).

In den beiden hohen Dosisgruppen (D1 und D2) sowie in der niedrigsten Dosisgruppe (D4) zeigt sich auch ein erhöhter Entzündungsscore. Dieser ist nicht signifikant erhöht, hier ist jedoch im Vergleich zu Dosisgruppe D3 ein Trend zu vermuten. Auch Klugherz et al. berichteten bereits 2002 von erhöhten Entzündungsscores nach Implantation von mit Sirolimus beschichteten Stents im Kaninchenmodell (Klugherz 2002) (Finn 2007). Ein andauernder Entzündungsreiz könnte ebenfalls mit einer Endothelproliferation oder gar narbigen Veränderung einhergehen. Hierauf weisen Suzuki et al. hin. Sie untersuchten in Schweinearterien den Effekt einer hohen Sirolimus Dosierung mit 180µg im Vergleich zu BMS und stellten in der Sirolimusgruppe nach 28 Tagen eine erhöhte Fibrinbildung im Stentgebiet bei jedoch einheitlicher Endothelialisierung mit >75% der Fläche in allen Gruppen fest (Suzuki 2001). Auch in unserer Untersuchung konnte ein einheitlicher Endothelialisierungsscore >75% in allen Dosisgruppen nachgewiesen werden. Eine erhöhte Fibrinbildung im Stentgebiet war in der histologischen Untersuchung zwar nicht aufgefallen, es zeigte sich jedoch eine nicht signifikante Tendenz zu einer geringeren Entzündungsreaktion in der Dosisgruppe D3 (58µg).

Zusammenfassend kann hier also wahrscheinlich von einer lokal reizenden Wirkung ohne direkte zytotoxische Effekte des Sirolimus in hoher Konzentration ausgegangen werden. Ebenso ist bei zu geringer Dosierung oder völlig ausbleibender Sirolimuswirkung (D4, B, P) von einer erhöhten Entzündungsreaktion durch die nicht ausreichend vorhandene immunmodulierende Wirkung des Sirolimus auszugehen. Die Dosis macht das Gift (Paracelsus 1538). Die Ideale Konzentration des Sirolimus scheint bei 58g zu liegen, hier sollten weitere Untersuchungen mit größerer Fallzahl angeschlossen werden.

5.1 Diskussion der Methode

5.1.1 Wahl der Versuchstiere

Der Einsatz tierexperimenteller Studien in der Humanmedizin ist stets im Hinblick auf ethische und ökonomische Aspekte kritisch zu hinterfragen. Ausschlaggebend für die Selektion einer geeigneten Spezies sind anatomische und physiologische Parallelen zum Menschen sowie finanzielle Aspekte.

Der Erfolg eines Restenosemodells, wie es in dieser Arbeit verwendet wurde, ist von mehreren Faktoren abhängig. Hierzu zählen neben bereits erwähnten anatomischen und physiologischen Parallelen auch pathophysiologische Ähnlichkeiten. Insbesondere die Ausbreitung und Anlagerung von Lipiden und Schaumzellen im Schweinemodell zeigt gewisse Ähnlichkeit zur menschlichen Atherosklerose (Ratcliffe 1971).

Es bleibt stets zu berücksichtigen, dass sich häufig vielversprechende Ergebnisse aus Studien zur Restenoseforschung am Schweinemodell nicht auf humane Folgestudien prognostizieren lassen (Suzuki 2001) und der Einsatz von Tieren, hier insbesondere des Schweins, als Restenosemodell kritisch zu hinterfragen bleibt (Schwartz 2004). Als primär limitierenden Faktor zählen Suzuki et al. in ihrer Studie die fehlende Umsetzbarkeit der tierexperimentellen Ergebnisse auf humane Bedingungen.

Trotz der guten anatomischen Parallelen zwischen Mensch und Schwein werden in den Studien nicht atherosklerotisch veränderte Gefäße verwendet und Rückschlüsse bleiben möglicherweise nur unter den jeweiligen Studienbedingungen gültig. Auch Virmani et al. verweisen auf die zeitlichen Unterschiede im Heilungsprozess humaner und tierischer Gewebe hin, welcher beim Tier mit einem Monat deutlich unter der des Menschen mit sechs bis zwölf Monaten liegt (Farb 1999) (Virmani 2003).

5.1.2 Versuchszeitraum

Der in dieser Studie angesetzte Versuchszeitraum von vier Wochen bezieht sich auf porcine Studien zur Testung koronarer Stents. Zahlreiche präklinische Arbeiten am Schweinmodell demonstrieren, dass an nativen Schweinegefäßen nach Stentimplantation innerhalb von 28 Tagen eine neointimale Gefäßfläche ausgebildet wird. Schon vor über 20 Jahren beschrieben White et al. in ihrer Arbeit am Schweinmodell einen maximalen Zuwachs der Gefäßintima vier Wochen nach Koronarstenting (White 1992).

Vor dem Hintergrund der erhöhten Thrombogenität beim Einsatz von Metallstents untersuchten van der Giessen et al. die Biokompatibilität verschiedener synthetischer Polymere an porcinen Herzkranzgefäßen und zeigten auch hier vier Wochen postinterventionell einen maximalen neointimalen Gefäßzuwachs (van der Giessen 1996). 2001 demonstrierten Suzuki T. et al. ebenfalls nach 28 Tagen eine signifikante Reduktion der neointimalen Gefäßproliferation bei der Verwendung eines SES im Schweinmodell (Suzuki 2001). Neun Jahre später zeigte eine Arbeit von Suzuki Y. ebenfalls nach 28 Tagen eine Neointima in verletzten porcinen Koronargefäßen, die der zur Restenose beitragenden neointimalen Proliferation der des Menschen identisch war (Suzuki 2010).

Demzufolge ist der in dieser Studie gewählte Zeitraum von 28 Tagen zur Beurteilung der Neointimadicke im Schweinmodell als durchaus aussagekräftig zu werten, wenngleich die Ergebnisentwicklung nach 28 Tagen offen bleibt.

Zur Prüfung einer tendenziellen Ab- oder Zunahme der Gefäßintimadicke wären jedoch weitere in-vivo Untersuchungen nach 12 und 18 Monaten erforderlich (Schwartz 2008). Durch die Kürze des gewählten Versuchszeitraums können somit keine Aussagen über einen anhaltenden Effekt auf die Neointima des mit Polymer beschichteten Stents mit 58µg Sirolimus nach 28 Tagen gemacht werden.

5.1.3 Sirolimusbeschichtung

Das Makrolid Rapamycin (Sirolimus/Rapamune®) zeichnet sich durch seine antiproliferative und immunsuppressive Eigenschaft aus und wurde bereits vor 12 Jahren als ein geeignetes Beschichtungsmaterial zur Reduzierung des Restenosegrades im Vergleich zu Bare-metal Stents beschrieben (Sousa 2001) (Suzuki 2001).

5.1.3.1 Sirolimus beschichtete Stents in porcinen Studien

Nach Nakazawa et al. ist die präklinische histologische Untersuchung von Drug-eluting-Stents eine notwendige und förderliche Methode, um sich deren Auswirkungen auf die Gefäßwände nach Implantation zu veranschaulichen. Sie berichten in einer Datenanalyse mehrerer präklinischer Studien von einer Überlegenheit Sirolimus beschichteter Stents verglichen mit BMS und einem DES der zweiten Generation (Zotarolimus). In den evaluierten Studien zeigte der SES im Schweinmodell das beste Ergebnis in der Reduktion der neointimalen Proliferation nach 30 Tagen. Dennoch war die Entzündungsreaktion beim SES verglichen mit ZES und BMS am größten (Nakazawa 2007). Die Entzündungsreaktionen nach Stentimplantation zeigten in dieser Arbeit im Gruppenvergleich keinen signifikanten Unterschied.

5.1.4 Koronarangiographie

Zur Beurteilung der Koronargefäße hat sich seit Jahrzehnten die Koronarangiografie als diagnostisches Verfahren bewährt. Durch sie werden dem Untersucher die anatomischen Verhältnisse und die Ausdehnung der atherosklerotischen Läsionen verdeutlicht (Leopold 2012). Dennoch sind die koronarangiographischen Ergebnisse vom Untersucher und dessen Ausführung abhängig und können somit variieren. Vor diesem Hintergrund wäre ein zusätzliches diagnostisches Mittel wie folgend beschrieben notwendig.

5.1.4.1 Quantitative Koronarangiographie

Zur Beurteilung der Morphologie eines Gefäßes wird die QCA eingesetzt mit deren Hilfe eine Ausmessung der Gefäßdiameter im Stenosegebiet, als auch in einem nicht betroffenen Referenzsegment erfolgt (Erbel 2011). Die dadurch akkurate Bestimmung des Stenosegrades ist somit möglich und daher für diese Arbeit eine geeignete Methode. Mittels der quantitativen Koronarangiographie ist die Möglichkeit einer genaueren Bestimmung der Restenose als durch alleinige angiographische Darstellung gegeben. Zudem wird durch den Einsatz der QCA eine visuelle Überschätzung der Gefäßläsion verringert (Leopold 2012). Zur Abschätzung einer Gefäßverengung nach Koronarintervention wird die QCA heute als eine einfach anwendbare Methode in zahlreichen Studien eingesetzt.

Vor dem Hintergrund der Zielsetzung dieser Arbeit, Auswirkungen unterschiedlicher Sirolimusdosierungen auf das Gefäßendothel und die neointimale Gefäßfläche zu prüfen, wäre nach derzeitigem Kenntnisstand auch der Einsatz des Intravaskulären Ultra-

schalls (IVUS) eine geeignete Methode. Von Vorteil sind hierbei das Erlangen besserer Einblicke zur Beurteilung von atherosklerotischen Läsionen, Stentstreben und Neointimabildung (Kuntz 1993) (Tsuchida 2006). Zudem kann durch den Einsatz des IVUS die komplette neointimale Gefäßstrecke im Stent beurteilt werden, wogegen bei histopathologischen Untersuchungen nur drei Gefäßabschnitte (distal, medial, proximal) beurteilt werden (Gyöngyösi 2004).

5.1.4.2 Overstretch-Injury

Die Methode des Overstretch-Injury ist ein gängiges Verfahren zur Bewertung der Gefäßwandverletzung (Schwartz 1992), welches im Tiermodell mit Jungtieren ohne vorherige Gefäßwandveränderungen zur Sicherung ähnlicher Verhältnisse, wie es bei humanen atherosklerotisch veränderten Herzkranzgefäßen gegeben ist. Schwartz et al. weisen jedoch darauf hin, dass Schweinemodelle mit doppelter Gefäßverletzung hinsichtlich der anschließenden biologischen Pathomechanismen stärker variieren und somit deren Reproduzierbarkeit auf humane Studien einschränken (Schwartz 2008).

5.1.5 Histopathologische Auswertung

Das zur Herstellung der Hartschnitte verwendete Polymerisationssystem auf Basis von Methylmetacrylat (MMA) hat sich als Standardverfahren zur histologischen Auswertung von Geweben etabliert (White 1992) (van Beusekom 1996) (Mulisch 2012). Zur morphometrischen Beurteilung der stenttragenden Gefäßabschnitte dient ein computergestütztes Auswertungsprogramm, deren Einsatz als eine Standardmethode bezeichnet werden kann (Hårdhammar 1996) (Matsumoto 2002).

5.2 Ergebnisdiskussion

5.2.1 Studiendesign und Versuchstiere

Der Einsatz von Versuchstieren hat auf dem Gebiet der Restenose zahlreiche Erkenntnisse geliefert. Durch Tiermodelle lassen sich durchaus Rückschlüsse auf humane Studien ziehen, wenngleich zahlreiche erfolgsversprechende Tierversuche in der Vergangenheit häufig in humanklinischen Studien nicht umsetzbar waren. Es ist trotz einer Vielzahl geeigneter Tiermodelle also gegenwärtig unerlässlich die Effektivität und Sicherheit nach erfolgreichem Tierversuch in Humanstudien zu belegen.

Für diese Arbeit wurden Deutsche Landrasse Schweine gewählt. Aufgrund der physiologischen und anatomischen Parallelen zählen insbesondere Schweine wie auch Ratten oder Kaninchen als geeignete Tiermodelle zur Erforschung der Restenose (Johnson 1999) (Matsumoto 2002).

Die Abläufe der Koronarangiographie sind zudem mit denen des Menschen vergleichbar.

Zur Gewährleistung gleicher Implantationsabläufe wurden in dieser Studie die Koronrinterventionen von ein und derselben Person nach immer gleichem Ablauf durchgeführt.

5.2.2 Angiographische Ergebnisse

Die Auswertung der angiographischen Ergebnisse dient dem Vergleich der Polymer beschichteten CoCr-Stents mit unterschiedlichen Sirolimusdosierungen (D1-D4) und ohne (Polymer beschichteten Stent (P)) mit der Kontrollgruppe B (Bare-metal-Stent).

5.2.2.1 Late Loss

Der Late Loss zur Einschätzung der Restenose ist in dieser Studie ein Hauptkriterium zur Evaluation der angiographisch ermittelten Werte. Zur Quantifizierung der Effektivität von DES wird neben dem angiographisch ermittelten Stenosegrad auch der Parameter des Late Loss herangezogen (Popma 2009).

Es konnte hierbei gezeigt werden, dass sich in dem 4-wöchigen Untersuchungszeitraum kein signifikantes Ergebnis einzelner Sirolimusdosierungen (D1-D4) und des reinen mit Polymer beschichteten Stent (P) zur Kontrollgruppe B ergeben.

Doch obschon die Messung des Late Loss als wichtiger Aussagewert bezüglich einer angiographisch gemessenen Restenose bei der Verwendung von DES ist, bleibt die Frage nach dessen Vorhersagekraft für Langzeitbeobachtungen (> vier Wochen) in dieser Studie offen. Es ist demzufolge notwendig, die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse in weiterführenden Langzeitstudien zu testen.

5.2.2.2 Ballon-to-Artery-Ratio

Die angiographisch ermittelten Werte der Ballon-to-Artery-Ratio vor Stentimplantation lagen bei den untersuchten Gruppen nahe dem Wert 1.3 und lassen somit auf eine geeignete Auswahl der Ballongröße schließen. In der Literatur finden sich in porcinen Stentstudien ähnliche Größen der BAR vor Stentimplantation (Matsumoto 2002) (Suzuki 2010).

5.2.2.3 Stent-to-artery-ratio

Nach einer bereits erfolgten Gefäßdehnung und dadurch bedingten Gefäßverletzung der nativen Gefäße wird in dieser Arbeit eine Stent-to-artery-ratio von $\leq 1:1$ nicht überschritten und es kann somit bei der Auswertung von einer nur geringen erneuten Gefäßwandverletzung ausgegangen werden (Schwartz 1992).

5.2.2.4 Stenosedurchmesser

Nach angiographischer Messung existiert im Gruppenvergleich keine Signifikanz zugunsten einer Dosisgruppe (P, D1-D4) im Vergleich zur Kontrollgruppe B. Dennoch erzielt die Dosisgruppe D3 mit Sirolimus die geringste Stenosefläche. Durch den Einsatz der QCA war es möglich, die für die funktionelle Bestimmung der Stenosefläche relevanten Parameter wie MLD und RVD zu interpretieren und somit eine exakte Beurteilung der Stenosefläche zu ermöglichen (Al Suwaidi 1999).

5.2.3 Histologische Evaluation

Bei der histologischen Auswertung ergaben sich im Gruppenvergleich keine signifikanten Ergebnisse bezüglich des Entzündungs-Verletzungs-und Endothelisationsscore.

5.2.3.1 Verletzungsscore

Der Verletzungsscore nach Schwartz beschreibt bei einem Score von 2 eine rupturierte LEI (Gefäßintima) mit Angrenzungen an die Gefäßmedia. In allen vergleichenden Gruppen lässt sich postinterventionell ein Verletzungsscore von 2 ermitteln. Diese Resultate lassen sich auf die chirurgische Intervention zurückführen (Schwartz 1992) Für das Aus-

maß der Neointimabildung scheint die Verletzungstiefe mit einem Verletzungsscore von 2 nicht ausschlaggebend. Nach Gunn et al. korreliert erst eine Verletzung der abluminalen LEE mit einer vermehrten neointimalen Proliferation (Gunn 2002). Nach Schwartz ist die Ruptur der LEI (Verletzungsscore 1) allein ausreichend um die pathophysiologischen Prozesse der Neointimabildung zu aktivieren (Schwartz 1992) (van der Giessen 1996).

5.2.3.2 Entzündungsscore

Die Anzahl der Entzündungszellen ist im Gruppenvergleich bei der Sirolimusgruppe D3 mit 58µg in den histologischen Präparaten am geringsten ausgeprägt. Es lässt sich daraus schließen, dass die Sirolimusdosierung mit 58µg nach einem Zeitraum von 28 Tagen am stärksten zur Reduktion von Entzündungszellen beiträgt.

5.2.3.3 Endothelisationsscore

Die Ergebnisse des Endothelisationsscore in dieser Studie weisen mit einem einheitlichen Score von 3 in allen untersuchten Gruppen keinen Vorteil zugunsten der Sirolimus beschichteten Stents in unterschiedlicher Dosierung auf. Allerdings ist ebenfalls kein Nachteil zu verzeichnen. Für die histologische Beurteilung und Einstufung in den Endothelisationsscore ist der Zeitraum mit 28 Tagen als ausreichend anzusehen. Dennoch sind Langzeitbeobachtungsstudien von mindestens 180-360 Tagen notwendig, um die Ergebnisse der vier Wochen Studie zu untermauern (Schwartz 2008).

5.2.4 Histomorphometrische Evaluation

Die histomorphometrische Vermessung der Gefäßwanddicken zeigte für alle untersuchten Parameter kein statistisch signifikantes Ergebnis zugunsten einer Dosisgruppe.

5.2.4.1 Neointimale Fläche

Die histomorphometrischen Ergebnisse der neointimalen Gefäßfläche in mm² sind im Gruppenvergleich zwar nicht statistisch signifikant, zeigen jedoch eine kleinere neointimale Fläche in der Sirolimusgruppe D3 mit 58µg Sirolimus im Vergleich zur Kontrollgruppe B. Hierfür ist vermutlich der immunsuppressive und antiproliferative Wirkstoff Rapamycin verantwortlich, welcher in dieser Arbeit mit der Dosierung von 58 µg das beste angiographische und histopathologische Ergebnis erzielen konnte.

5.2.4.2 Stenosefläche

Die histomorphometrische Auswertung der prozentualen Stenosefläche zeigt nach vier Wochen kein signifikantes Ergebnis. Es lässt sich dennoch eine deutlich geringere stenosierte Gefäßfläche in der Sirolimusgruppe D3 demonstrieren, wodurch demnach eine Trendentwicklung erkennbar ist, die die Sirolimusdosierung mit 58µg als geeignete Menge zur Reduktion einer Neointimafläche unterstreicht.

5.3 Zusammenfassung

Zur Optimierung derzeit verwendeter Koronarstents sind in dieser präklinischen Arbeit Koronarstents mit und ohne Polymerbeschichtung, sowie Polymer beschichtete Koronarstents mit verschiedenen Sirolimuskonzentrationen im Schweinemodell über einen Versuchsraum von 28 Tagen angiographisch und histopathologisch getestet worden.

Es konnte gezeigt werden, dass der Einsatz eines mit Polymer beschichteten Stents mit 58µg Sirolimus über einen Zeitraum von 28 Tagen im Vergleich zur Kontrollgruppe B und im Vergleich zu den weiteren Dosisgruppen P,D1,D2, D4 angiographisch und histomorphometrisch kein signifikantes Ergebnis aufweist, obschon hierbei eine Tendenz zugunsten der Dosisgruppe D3 erkennbar wird.

Die histomorphometrischen Ergebnisse, sowie die histologische Evaluation der Präparate zeigten im Gruppenvergleich während der 4-wöchigen Versuchsdurchführung einen positiven Effekt auf die Neointimabildung durch eine Sirolimusdosis mit 58µg erkennen. Es bleibt letztlich die Frage offen, wie sich die Neointimabildung über einen längeren Beobachtungszeitraum entfaltet. In diesem Zusammenhang sind Folgestudien über drei und sechs Monate bereits in Arbeit.

Eine erhöhte Thrombogenität oder vermehrte Entzündungsreaktion ist innerhalb der vier wöchigen Beobachtungsphasen in keiner Gruppe zu verzeichnen.

6 Limitationen

In dieser Arbeit wurde ein kurzer Beobachtungszeitraum von 28 Tagen gewählt. Im Schweinmodell ist nach bereits 28 Tagen von einer abgeschlossenen Endothelialisierung nach Stentimplantation auszugehen. Diese Heilung im Schweinmodell ist jedoch nicht mit der humanen Endothelreaktion in diesem Zeitintervall gleichzusetzen und bedarf einer längeren Nachbeobachtungszeit von drei bis sechs Monaten (Schwartz 2008) (Suzuki 2010) (Stone 2007).

Somit bleibt in dieser Arbeit offen, wie sich die antiproliferative Wirkung von Sirolimus nach einem längeren Zeitraum als 28 Tage auf das Gewebe auswirkt und wie sich die histopathologischen Ergebnisse bezüglich der neointimalen Proliferation, Endothelisation und Entzündungsreaktion nach drei oder sechs Monaten verhalten. Gerade vor dem Hintergrund des Auftretens einer ISR nach meist erst sechs Monaten, bleibt das Verhalten der Neointimadicke sowie die histologische Entwicklung der gestenteten Gefäße von großem Interesse.

Es kann abschließend für den kurzen Studienzeitraum von 28 Tagen nur eine hypothetische Aussage getroffen werden, die den Einsatz des mit 58µg beschichteten Sirolimus DES als den geeignetsten zur Reduzierung der neointimalen Gefäßproliferation und Lumenreduktion im Vergleich zu einem reinen BMS und weiteren Sirolimusdosierungen (D1, D2, D4 und P) betrachtet.

Darüber hinaus sind in dieser Arbeit juvenile gesunde Landrasseschweine eingesetzt worden, deren Gefäße keine atherosklerotische Veränderungen aufwiesen. Deshalb wurde eine künstliche Gefäßwandverletzung induziert, welche der pathologischen Gefäßwandveränderungen bei Arteriosklerose ähnelt, aber pathophysiologisch nicht entspricht. Hierzu wären Studien mit an Arteriosklerose erkrankten Schweinen von Vorteil, um sich den pathologischen Prozessen zu nähern und annähernd identische Ausgangsbedingungen bei Tier und Mensch zu schaffen.

7 Literaturverzeichnis

Al Suwaidi J, Higano ST, Holmes DR, Rihal CS, Lerman A. 1999. Measuring maximal percent area stenosis poststent placement with intracoronary doppler and the continuity equation and correlation with intracoronary ultrasound and angiography. *American J Cardiol.* 15. September 1999, 84, S. 650-4.

Albers. Geschichte der Kardiologie von Harvey bis Bernard. *www.antiquariat-siegel.de.* [Online] [Zitat vom: 22. 07 2014.] <http://www.antiquariat-siegle.de/kat50/kat50.pdf>.

Antman EM, Selwyn AP, Loscalzo J. 2012. Ischämische Herzkrankheit. [Buchverf.] Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J Longo DL. *Harrisons Innere Medizin.* Berlin : ABW Wissenschaftsverlag, 2012, Bd. 2, S. 2149-2154.

Babapulle M, Joseph L, Bélisle P, Brophy J, Eisenberg M. 2004. A hierarchical Bayesian meta-analysis of randomised clinical trials off drug-eluting stents. *The Lancet.* 14-20. August 2004, 364, S. 583-91.

Bestehorn HP, Roskamm H, Petersen J. 2004. Koronarangiographie, Herzkatheterisierung und Angiokardiographie. [Buchverf.] Neumann FJ, Kalusche D, Bestehorn HP Roskamm H. *Herzkrankheiten Pathophysiologie, Diagnostik, Therapie.* Berlin Heidelberg : Springer, 2004, Bd. 5, S. 281-317.

Bonan R, Paiement P, Scortichini D, Cloutier MJ, Leung TK. 1993. Coronary restenosis: Evaluation of a restenosis injury index in a swine model. *American Heart Journal.* December 1993, 126, S. 1334–40.

Bonzel T, Hamm CW. 2009. Drug-eluting Stents (DES). *Leitfaden Herzkatheter.* Stuttgart : Steinkopff, 2009, S. 108-109.

Büllesfeld L, Gerckens U, Müller R, Grube E. 2003. Long-term evaluation of paclitaxel-coated stents for treatment of native coronary lesions. First results of both the clinical and angiographic 18 month follow-up of TAXUS I. *Z Kardiol.* 2003, S. 825-32.

Camenzind E, Steg PG, Wijns W. 2007. Stentthrombosis late after implantation of first-generation drug-eluting-stents: a cause for concern. *Circulation.* 2007, 115, S. 1440-1455.

Carter AJ, Brodeur A, Collingwood R, Ross S, Gibson L, Wang CA, Haller S, Coleman L, Virmani R. 2006. Experimental efficacy of an everolimus eluting cobalt chromium stent. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2006, 68, S. 103-97.

Chen SF, El-Bialy A, Matthews R, Clavijo L. 2009. Use of drug-eluting versus bare-metal stents in ST-segment elevation myocardial infarction. *J Invasive Cardiol.* 2009, S. (11):E206-12.

Chesebro JH, Lam JY, Badimon L, Fuster V. 1987. Restenosis after arterial angioplasty: A hemorrhheologic response to injury. *The American Journal of Cardiology.* 31. July 1987, 60, S. 10-16.

Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, Dudek D, Fort S, Schiele F, Zmudka K, Guagliumi G, Russell ME. 2003. Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions. *Circulation.* 19. August 2003, 108, S. 788-94.

Cook S, Eshtehardi P, Kalesan B, Räber L, Wenaweser P, Togni M, Moschovitis A, Vogel R, Seiler C, Eberli FR, Lüscher T, Meier B, Jüni P, Windecker S. 2012. Impact of incomplete stent apposition on long-term clinical outcome after drug-eluting stent implantation. *Eurheart.* 2012, 33, S. 1334-1343.

Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, Abrecht L, Vaina S, Morger C, Kukreja N, Jüni P, Sianos G, Hellige G, van Domburg RT, Hess OM, Boersma E, Meier B, Windecker S, Serruys PW. 2007. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *Lancet.* 24. February 2007, 369, S. 667-78.

Dietz R, Rauch B. 2003. Leitlinie zur Diagnose und Behandlung der chronischen koronaren Herzerkrankung der deutschen Gesellschaft für Kardiologie-Herz-und Kreislaufforschung (DGK). *Zeitschrift für Kardiologie.* 2003, 92, S. 501-521.

Donath. 1995. Preparation of histologic section by the cutting-grinding technique for hard tissue and other material not suitable to be sectioned by routine methods. *EXACT-Kulzer Publication.* 1995.

Eberli F, Windbecker B, Meier B. 2001. Angioplastieverfahren. [book auth.] V Hombach. *Interventionelle Kardiologie, Angiologie und Kardiovaskularchirurgie.* Stuttgart, New York : V Hombach, 2001, pp. 91-126.

Edelman ER, Rogers C. 1999. Stent-Versus-Stent Equivalency Trials Are Some Stents More Equal Than Others? *Circulation.* 31. August 1999, 100, S. 896-8.

Ellis SG, Popma JJ, Lasala JM, Koglin JJ, Cox DA, Hermiller J, O'shaughnessy C, Mann JT, Turco M, Caputo R, Bergin P, Greenberg J, Stone GW. 2005. Relationship between

angiographic late loss and target lesion revascularization after coronary stent implantation: analysis from the TAXUS-IV trial. *J AM Coll Cardiol.* 2005, 45, S. 1193-1200.

Erbel R, Konorza T, Haude M, Nikolas D, Baumgart D. 2002. Rolle der interventionellen Kardiologie in der Therapie der koronaren Herzkrankheit. *Herz.* 2002, 6, S. 471-80.

Erbel R, Plicht B, Kahlert P, Konorza T. 2011. Erweiterte morphologische und funktionelle Koronarangiografie. *Herzkathetermanual Diagnostik und interventionelle Therapie.* s.l. : Deutscher Ärzteverlag, 2011, S. 175-235.

Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Wally VM, Edwards WD, Schwartz RS, Virmani R. 1999. Pathology of Acute and Chronic Coronary Stenting in Humans. *Circulation.* 1999, Bd. 99, S. 44-52.

Faxon DP, Bhatt DL. 2012. Perkutane koronare Intervention und andere interventionelle Verfahren. [Buchverf.] Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J Longo DL. [Hrsg.] Suttrop N, Zeitz M Dietel M. *Harrisons Innere Medizin.* Berlin : ABW Wissenschaftsverlag, 2012, S. 2191-2197.

Finn AV, Joner M, Nakazawa G, Kolodgie F, Newell J, John MC, Gold HK, Virmani R. 2007. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization. *Circulation.* 8. May 2007, 115, S. 2435-41.

Galløe AM, Thuesen L, Kelbaek H, Thayssen P, Rasmussen K, Hansen PR, Bligaard N, Saunamäki K, Junker A, Aarøe J, Abildgaard U, Ravkilde J, Engstrøm T, Jensen JS, Andersen HR, Bøtker HE, Galatius S, Kristensen SD, Madsen JK, Krusell LR, Abildstrøm SZ, Step. 2008. Comparison of paclitaxel- and sirolimus-eluting stents in everyday clinical practice: the SORT OUT II randomized trial. *JAMA.* 30. January 2008, 299, S. 409-16.

Gaziano TA, Gaziano JM. 2012. Epidemiologie kardiovaskulärer Erkrankungen. [Buchverf.] Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J Longo DL. [Hrsg.] Suttrop N, Zeitz M Dietel M. *Harrisons Innere Medizin.* Berlin : ABW Wissenschaftsverlag, 2012, Bd. 2, S. 1945-1950.

Grimminger F, Hasenfuß G, Porzig H, Ravens U. 2007. Pharmakologie und Toxikologie für Studium und Praxis. [Buchverf.] Schmitt H Estler CJ. *Pharmakologie und Toxikologie für Studium und Praxis.* Stuttgart New York : Schattauer, 2007, S. 469.

Groth CG, Bäckman L, Morales JM, Calne R, Kreis H, Lang P, Touraine JL, Claesson K, Campistol JM, Durand D, Wramner L, Brattström C, Charpentier B. 1999. Sirolimus

(rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. Sirolimus European Renal Transplant Study Group. *Transplantation*. 15. April 1999, 67, S. 1036-42.

Grumann T, Diehl P, Bode C, Moser M. 2007. Ist die Stentthrombose die neue Achillesferse. *Hämostaseologie*. 2007, 5, S. 344-350.

Grüntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. 1979. Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med*. 12. July 1979, 301, S. 61-8.

Gunn J, Arnold N, Chan KH, Shepherd L, Cumberland DC, Crossman DC. 2002. Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima. *Heart*. October 2002, 88, S. 401–405.

Gyöngyösi M, Strehblow C, Spreker W, Fröhlich G, Shirazi M, Scherzer TM, Matiasek J, Yahya N, Pavo N, Heinisch B, Windberger U, Losert U, Garamvölgyi R, Petrasie Z, Repa I, Glogar D. 2004. Intrakoronare Stents: Der Weg der Fabrik bis in die menschlichen Koronararterie-Präklinische Evaluierung der Koronarstents. *J Kardiol*. 2004, Bd. 11, S. 515-521.

Hårdhammar PA, van Beusekom HM, Emanuelsson HU, Hofma SH, Albertsson PA, Verdouw PD, Boersma E, Serruys PW, van der Giessen WJ. 1996. Reduction in thrombotic events with heparin-coated Palmaz-Schatz stents in normal porcine coronary arteries. *Circulation*. 1. February 1996, 93, S. 423-30.

Herold, G. 2010. Koronare Herzerkrankungen. [Hrsg.] Gerd Herold. *Herold Innere Medizin*. Köln : s.n., 2010, S. 236-247.

Hombach, V. 2001. Koronare Herzkrankheit. *Interventionelle Kardiologie, Angiologie und Kardiovascularchirurgie*. Stuttgart New York : Schattauer, 2001, S. 323-398.

Horlitz M, Siegwart U, Niebauer J. 2002. Fighting restenosis after coronary angioplasty: contemporary and future treatment options. *Int J Cardiol*. June 2002, 83, S. 199-205.

Hughes GC, Biswas SS, Yin B, Coleman RE, DeGrado TR, Landolfo CK, Lowe JE, Annex BH, Landolfo KP. 2004. Therapeutic angiogenesis in chronically ischemic porcine myocardium: comparative effects of bFGF and VEGF. *The Annals of Thoracic Surgery*. March 2004, 77, S. 812–18.

- Hughes GC, Post MJ, Simons M, Annex BH. 2003.** Translational Physiology: Porcine models of human coronary artery disease: implications for preclinical trials of therapeutic angiogenesis. *Journal of Applied Physiology*. 23. May 2003, Bd. 5, 94, S. 1689-170.
- Indermuehle A, Bahl R, Lansky AJ, Froehlich GM, Knapp G, Timmis A, Meier P. 2012.** Drug-eluting balloon angioplasty for in-stent restenosis: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled trials. *Heart*. 2012.
- Inoue T, Croce K, Morooka T, Sakuma M, Node K, Simon DI. 2011.** Vascular inflammation and repair: implications for re-endothelialization, restenosis, and stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol Interv*. October 2011, 4, S. 1057-66.
- Johnson GJ, Griggs TR, Badimon L. 1999.** The utility of animal models in the preclinical study of interventions to prevent human coronary artery restenosis: analysis and recommendations. On behalf of the Subcommittee on Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the S. *Thromb Haemost*. May 1999, 81, S. 835-43.
- Joner M, Finn AV, Farb A, Mont EK, Kologdie FD, Ladich E, Kutys R, Skorija K, Gold HK, Virmani R. 2006.** Pathology of drug-eluting-stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol*. 2006, Bd. 48, S. 193-202.
- Kaefer V, Resch R. 2007.** Immunsuppressiva. [Buchverf.] Schmitt H Estler C-J. *Pharmakologie und Toxikologie für Studium und Praxis*. Stuttgart New York : Schattauer, 2007, S. 360-369.
- Kalesan B, Pilgrim T, Heinemann K, Räber L, Stefanini GG, Valgimigli M, da Costa BR, Mach F, Lüscher TF, Meier B, Windecker S, Juni P. 2011.** Comparison of drug-eluting stents with bare metal stents in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J*. April 2011, 33, S. 877-987.
- Kaltenbach, M. 2000.** Kardiologie Kompakt. [Buchverf.] Kaltenbach M. *Kardiologie Kompakt*. Darmstadt : Steinkopff, 2000.
- Karas SP, Gravanis MB, Santoian EC, Robinson KA, Anderberg KA, King SB 3rd. 1992.** Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine: An animal model of restenosis. *J Am Coll Cardiol*. August 1992, 20, S. 467-474.
- Kastrati A, Mehilli J, Dirschinger J, Dotzer F, Schühlen H, Neumann FJ, Fleckenstein M, Pfafferoth C, Seyfarth M, Schömig A. 2001.** Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO) trial. *Circulation*. 12. June 2001, 103, S. 2816-21.

- Kastrati A, Mehilli J, Pache J, Kaiser C, Valgimigli M, Kelbaek H, Menichelli M, Sabaté M, Suttorp MJ, Baumgart D, Seyfarth M, Pfisterer ME, Schömig A. 2007.** Analysis of 14 Trials Comparing Sirolimus-Eluting Stents with Bare-Metal Stents. *N Engl J Med.* 8. March 2007, 356, S. 1030-1039.
- Kastrati A, Mehilli J, von Beckerath N, Dibra A, Hausleiter J, Pache J, Schühlen H, Schmitt C, Dirschinger J, Schömig A. 2005.** Sirolimus-eluting stent or paclitaxel-eluting stent vs balloon angioplasty for prevention of recurrences in patients with coronary in-stent restenosis: a randomized controlled trial. *JAMA.* 12. January 2005, 293, S. 165-71.
- Kastrati A, Schömig A, Dirschinger J, Mehilli J, von Welser N, Pache J, Schühlen H, Schilling T, Schmitt C, Neumann FJ. 2000.** Increased risk of restenosis after placement of gold-coated stents: results of a randomized trial comparing gold-coated with uncoated steel stents in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 30. May 2000, 101.
- Kedhi E, Joesoef KS, McFadden E, Wassing J, van Mieghem C, Goedhart D, Smits PC. 2010.** Second-generation everolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in real-life practice (COMPARE): a randomised trial. *Lancet.* 16. January 2010, 375, S. 375:201-9.
- Kereiakes DJ, Cox DA, Hermiller JB, Midei MG, Bachinsky WB, Nukta ED, Leon MB, Fink S, Marin L, Lansky AJ. 2003.** Usefulness of a cobalt chromium coronary stent alloy. *American Journal of Cardiology.* 15. August 2003, 92.
- Kibos A, Campeanu A, Tintoiu I. 2007.** Pathophysiology of coronary artery in-stent restenosis. *Acute Cardiac Care.* 2007, 9, S. 111-119.
- Klues HG, Radke PW, Hoffmann R, vom Dahl J. 1997.** Pathophysiology and therapeutic concepts in coronary restenosis. *Herz.* 6. December 1997, S. 322-34.
- Klugherz B, Llanos G, Ieualen W, Kopia G, Papandreou G, Narayan, Sasseen B, Adelman S, Falotico R, Wilensky R. 2002.** Twenty-Eight-Day Efficacy and Pharmacokinetics of the Sirolimus-Eluting Stent. *Coronary Artery Disease.* 13, no. 3, S. 183–88.
- Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. 1998.** In-Stent Restenosis: Contributions of Inflammatory Responses and Arterial Injury to Neointimal Hyperplasia. *J Am Coll Cardiol.* January 1998, 31, S. 224-30.
- Kuntz RE, Baim DS. 1993.** Defining coronary restenosis. Newer clinical and angiographic paradigms. *Circulation.* September 1993, 88, S. 1310-1323.
- Lange RA, Flores ED, Hillis LD. 1991.** Restenosis after coronary balloon angioplasty. *Annu Rev Med.* 1991, 42, S. 127-132.

Lapp H, Krakau I. 2010. Koronare Herzerkrankung. *Das Herzkatheterbuch-Diagnostische und interventionelle Kathetertechnik*. Stuttgart New York : Georg Thieme, 2010, S. 192-212.

Lemos PA, Serruys PW, van Domburg RT, Saia F, Arampatzis CA, Hoye A, Degertekin M, Tanabe K, Daemen J, Liu TK, McFadden E, Sianos G, Hofma SH, Smits PC, van der Giessen WJ, de Feyter PJ. 2004. Unrestricted utilization of sirolimus-eluting stents compared with conventional bare stent implantation in the "real world": the Rapamycin-Eluting Stent Evaluated At Rotterdam Cardiology Hospital (RESEARCH) registry. *Circulation*. 2004, S. 190-5.

Leon MB, Mauri L, Popma JJ, Cutlip DE, Nikolsky E, O'Shaughnessy C, Overlie PA, McLaurin BT, Solomon SL, Douglas JS Jr, Ball MW, Caputo RP, Jain A, Tolleson TR, Reen BM 3rd, Kirtane AJ, Fitzgerald PJ, Thompson K, Kandzari DE. 2010. A Randomized Comparison of the ENDEAVOR zotarolimus-eluting stent versus TAXUS paclitaxel-eluting stent in de novo native coronary lesions 12 months outcome from the ENDEAVOR IV trial. *J Am Coll Cardiol*. 9. February 2010, 55, S. 543-54.

Leopold JA, Faxon DP. 2012. Diagnostische Herzkatheterisierung und Koronarangiografie. [Buchverf.] Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J Longo DL. [Hrsg.] Suttrop N, Zeits M Dietel M. *Harrisons Innere Medizin*. s.l. : ABW Wissenschaftsverlag, 2012, Bd. 2, S. 1988-1994.

Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, Bailey SR, Bittl JA, Cercek B, Chambers CE, Ellis SG, Guyton RA, Hollenberg SM, Khot UN, Lange RA, Mauri L, Mehran R, Moussa ID, Mukherjee D, Nallamothu BK, Ting HH. 2011. A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. *Circulation*. 12. February 2011, 79, S. e574-e651.

Libby, Peter. 2012. Pathogenese, Prävention und Behandlung der Atherosklerose. [Buchverf.] Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL, Loscalzo J Longo DL. *Harrisons Innere Medizin*. Berlin : ABW Wissenschaftsverlag, 2012, S. 21-25-34.

Lippert, Herbert. 2003. Brusteingeweide. *Lehrbuch Anatomie*. s.l. : Urban&Fischer, 2003, S. 228.

Löwel H, Hörmann A, Döring A, Heier M, Meisinger C, Schneider A. 2006. www.gbe-bund.de. [Online] 08 2006. [Zitat vom: 22. Juli 2014.] http://www.gbe-bund.de/gbe10/owards.prc_show_pdf?p_id=9944&p_sprache=d.

Lüllmann-Rauch, Renate. 2003. *Histologie Verstehen-Lernen-Nachschnagen*. Stuttgart : Thieme, 2003. S. 209.

Lüscher TF, Steffel J, Eberli FR, Joner M, Nakazawa G, Tanner FC, Virmani R. 2007. Drug-Eluting Stent and Coronary Thrombosis: Biological Mechanisms and Clinical Implications. *Circulation*. 11. February 2007, 115, S. 1051-8.

Martin D, Boyle F. 2011. Drug-eluting stents for coronary artery disease: A review. *Medical Engineering & Physics*. 11. March 2011, 33, S. 148–163.

Matsumoto Y, Shimokawa H, Morishige K, Eto Y, Takeshita A. 2002. Reduction in Neointimal Formation With a Stent Coated With Multiple Layers of Releasable Heparin in Porcine Coronary Arteries. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. April 2002, 39, S. 513-522.

Matter CM, Rozenberg I, Jaschko A, Greutert H, Kurz DJ, Wnendt S, Kuttler B, Joch H, Grünenfelder J, Zünd G, Tanner FC, Lüscher TF. 2006. Effects of Tacrolimus or Sirolimus on Proliferation of Vascular Smooth Muscle and Endothelial Cells. *J Cardiovasc Pharmacol*. December 2006, 48, S 286-92.

Mauri L, Hsieh WH, Massaro JM, Ho KK, D'Agostino R, Cutlip D. 2007. Stent thrombosis in randomized clinical trials of drug-eluting stents. *N Engl J Med*. 8. March 2007, S. 1020-9.

Mauri L, Orav EJ, Kuntz RE. 2005. Late loss in lumen diameter and binary restenosis for drug-eluting stent comparison. *Circulation*. 28. June 2005, 111, S. 3435-42.

Mauri L, Silbaugh TS, Wolf RE, Zelevinsky K, Lovett A, Zhou Z, Resnic FS, Normand SL. 2008. Long-term clinical outcomes after drug-eluting and bare-metal stenting in Massachusetts. *Circulation*. 28. October 2008, 118, S. 1817-27.

McFadden EP, Stabile E, Regar E, Cheneau E, Ong AT, Kinnaird T, Suddath WO, Weissman NJ, Torguson R, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Waksman R, Serruys PW. 2004. Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. *Lancet*. 23-29. October 2004, 364, S. 1519-21.

Menichelli M, Parma A, Pucci E, Fiorilli R, De Felice F, Nazzaro M, Giulivi A, Alborino D, Azzellino A, Violini R. 2007. Randomized Trial of Sirolimus-Eluting Stent Versus Bare-metal Stent in Acute Myocardial Infarction (SESAMI). *J Am Coll Cardiol*. 15. Mai 2007, 49, S. 1924-1930.

Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, Colombo A, Schuler G, Barragan P, Guagliumi G, Molnàr F, Falotico R. 2002. A randomized

comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med.* 23, 2002, 346, S. 17730-80.

Mörl H, Haders P, von Fallois J. 1998. Grundlagen der koronaren Herzkrankheit (KHK). *Koronare Herzkrankheit: Diagnostik und Therapie in der Praxis.* Berlin: New York : de Gruyter, 1998, 1, S. 4.

Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PF, Holmes DR, O'Shaughnessy C, Caputo RP, Kereiakes DJ, Williams DO, Teirstein PS, Jaeger JL, Kuntz ER. 2003. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med.* 2003, 349, S. 1315-23.

Mueller RL, Sanborn TA. 1995. The history of interventional cardiology: Cardiac catheterization, angioplasty, and related interventions. *American Heart Journal.* January 1995, 129, S. 146-172.

Mulisch M, Welsch U. 2012. Präparationstechniken. [Buchverf.] Ulrich Welsch Maria Mulisch. *Romeis Mikroskopische Technik.* s.l. : Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg, 2012, S. 39-174.

Muller DW, Ellis SG, Topol EJ. 1992. Experimental models of coronary artery restenosis. *J Am Coll Cardiol.* February 1992, 19, S. 418-32.

Müller JG, Kuhlencordt P. 2012. Pathogenese und klinische Grundlagen. [Buchverf.] Gross-Fengels W Debus ES. *Operative und interventionelle Gefäßmedizin.* Heidelberg : Springer-Verlag Berlin, 2012, S. 99-154.

Nakazawa G, Finn AV, John MC, Kolodgie FD, Virmani R. 2007. The Significance of Preclinical Evaluation of Sirolimus-, Paclitaxel and Zotarolimus-Eluting Stents. *Am J Cardiol* 2007. 22. October 2007, 100, S. 36M-44M.

Nakazawa G, Finn AV, Vorpahl M, Ladich ER, Kolodgie FD, Virmani R. 2011. Coronary Responses and Differential Mechanisms of Late Stent Thrombosis Attributed to First-Generation Sirolimus- and Paclitaxel-Eluting Stents. *J Am Coll Cardiol.* 2011, 57, S. 390-398.

Newsome L, Kutcher M, Royster R. 2008. Coronary Artery Stents: Part I. Evolution of Percutaneous Coronary Intervention. *International Anesthesia Research Society.* 2, Februar 2008, 107, S. 552-569.

Palmerini T, Biondi-Zoccai G, Della Riva D, Stettler C, Sangiorgi D, D'Ascenzo F, Kimura T, Briguori C, Sabatè M, Kim HS, De Waha A, Kedhi E, Smits PC, Kaiser C, Sardella G, Marullo A, Kirtane AJ, Leon MB, Stone GW. 2012. Stent thrombosis with drug-

eluting and bare-metal stents: evidence from a comprehensive network meta-analysis. *Lancet*. 14. April 2012, 379, S. 1393–1402.

Paracelsus T. 1538. Die dritte Defension wegen des Schreibens der neuen Recepte. In: Septem Defensiones 1538. Werke Bd. 2, Darmstadt 1965, S. 510.

Payne, MM. 2001. Charles Theodore Dotter the father of intervention. *Tex Heart Inst J*. 2001, 28, S. 28-38.

Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP, Buser PT, Rickenbacher P, Hunziker P, Mueller C, Jeger R, Bader F, Osswald S, Kaiser C. 2006. BASKET-LATE: Late Clinical Events Related to Late Stent Thrombosis After Stopping Clopidogrel: Drug-Eluting vs Bare-Metal Stenting. *J Am Coll Cardiol*. 2006, 48, S. 2584-91.

Popma JJ, Almonacid A. 2009. Angiographic Markers of Restenosis after Drug-Eluting Stent Implantation: Surrogates for Late Clinical Outcomes? *Journal of Interventional Cardiology*. April 2009, 22, S. 64-71.

Räber L, Magro M, Stefanini GG, Kalesan B, van Domburg RT, Onuma Y, Wenaweser P, Daemen J, Meier B, Jüni P, Serruys PW, Windecker S. 2012. Very Late Coronary Stent Thrombosis of a Newer-Generation Everolimus-Eluting Stent Compared With Early-Generation Drug-Eluting Stents. *Circulation*. 6. March 2012, 125, S. 1110-21.

Räber L, Wohlwend L, Wigger M, Togni M, Wandel S, Wenaweser P, Cook S, Moschovitis A, Vogel R, Kalesan B, Seiler C, Eberli F, Lüscher TF, Meier B, Jüni P, Windecker S. 2011. Five-year clinical and angiographic outcomes of a randomized comparison of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents: results of the Sirolimus-Eluting Versus Paclitaxel-Eluting Stents for Coronary Revascularization LATE trial. *Circulation*. 21. June 2011, 123, S. 2819-28.

Ratcliffe HL, Luginbuhl H. 1971. The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis*. 1971, S. 133-6.

Reiber JH, Koning G, Tuinenburg JC, Lansky A, Goedheart B. 2004. Quantitative Coronary Arteriography. [Buchverf.] Sartor K Baert AI. *Coronary Radiology*. Berlin Heidelberg New York : Springer, 2004, S. 41-79.

Riede UN, Schaefer HE. 1989. Allgemeine und spezielle Pathologie. [Buchverf.] Schaefer HE, Wehner H Riede UN. [Hrsg.] Schaefer HE, Wehner H Riede UN. *Allgemeine und Spezielle Pathologie*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 1989, Bd. 2, S. 386-393.

Rittger H, Arnold M, Schmid M, Zimmermann S, Daniel WG. 2012. Koronarintervention, Update 2012. *Herz*. 2012, Bd. 37, S. 123-127.

Ruygrok PN, Serruys PW. 1996. Intracoronary Stenting. From concept to custom. *Circulation*. 1996, 94, S. 882-90.

Schainfeld, RM. 2002. Potential Emerging Therapeutic Strategies to Prevent. *Catheter Cardiovasc Interv*. July 2002, 56, S. 421–431.

Schampaert E, Moses JW, Schofer J, Schlüter M, Gershlick AH, Cohen EA, Palisaitis DA, Breithardt G, Donohoe DJ, Wang H, Popma JJ, Kuntz RE, Leon MB. 2006. Sirolimus-eluting stents at two years: a pooled analysis of SIRIUS, E-SIRIUS, and C-SIRIUS with emphasis on late revascularizations and stent thromboses. *Am J Cardiol*. 1. July 2006, 1, S. 36-41.

Scheller B, Levenson B, Joner M, Zahn R, Klauss V, Naber C, Schächinger V, Elsässer A. 2011. Medikamente freisetzende Koronarstents und mit Medikamenten beschichtete Ballonkatheter. *Der Kardiologe*. Dezember 2011, Bd. 5, S. 411-435.

Scheller, B. 2004. Medikamenten beschichtete Stents. *Z Kardiol*. 2004, 93, S. 646–48 .

Schmitt JM, Beeres M. 2004. www.bvmed.de. [Online] November 2004. [Zitat vom: 22. Juli 2014.] <http://www.bvmed.de/download/geschichte-web.pdf>.

Schofer J, Schlüter M, Gershlick AH, Wijns W, Garcia E, Schampaert E, Breithardt G. 2003. Sirolimus-eluting stents for treatment of patients with long atherosclerotic lesions in small coronary arteries: double-blind, randomised. *Lancet*. 4. October 2003, 363, S. 1093-9.

Schomig A, Dibra A, Windecker S, Mehilli J, Suarez de Lezo J, Kaiser C, Park SJ, Goy JJ, Lee JH, Di Lorenzo E, Wu J, Juni P, Pfisterer M E, Meier B, Kastrati A. 2007. A Meta-Analysis of 16 Randomized Trials of Sirolimus-Eluting Stents Versus Paclitaxel-Eluting Stents in Patients With Coronary Artery Disease. *Journal of the American College of Cardiology*. October 2007, 50, S. 1373-80.

Schühlen H, Kastrati A, Mehilli J, Hausleiter J, Pache J, Dirschinger J, Schömig A. 2004. Restenosis detected by routine angiographic follow-up and late mortality after coronary stent placement. *Am Heart J*. February 2004, 147, S. 317-22.

Schwartz RS, Edelman E, Virmani R, Carter A, Granada JF, Kaluza GL, Chronos NA, Robinson KA, Waksman R, Weinberger J, Wilson GJ, Wilensky RL. 2008. Drug-Eluting Stents in Preclinical Studies: Updated Consensus Recommendations for Preclinical Evaluation. *Circulation*. October 2008, 1, S. 143-53.

Schwartz RS, Edelman ER, Carter A, Chronos N, Rogers C, Robinson KA, Waksman R, Weinberger J, Wilensky RL, Jensen DN, Zuckerman BD, Virmani R. 2007. Drug-eluting stents in preclinical studies: recommended evaluation from a consensus group. *Circulation*. 1. October 2007, 106, S. 1051–58.

Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, Holmes DR. 1992. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. *J Am Coll Cardiol*. February 1992, 19, S. 267-74.

Scott NA, Cipolla GD, Ross CE, Dunn B, Martin FH, Simonet L, Wilcox JN. 1996. Identification of a Potential Role for the Adventitia in Vascular Lesion Formation After Balloon Overstretch Injury of Porcine Coronary Arteries. *Circulation*. 1996, S. 2178-2187.

Serry R, Penny WF. 2005. Endothelial dysfunction after sirolimus-eluting stent placement. *J Am Coll Cardiol*. July 2005 19, S 237-8.

Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrick G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P, et al .1994. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *N Engl J Med*. August 1994, 331, S. 489-495.

Serruys PW, Kutryk MJ, Ong AT. 2006. Coronary-Artery Stents. *N Engl J Med*. 2. February 2006, 354, S. 483-495.

Serruys PW, Ong ATL, Morice MC, et al. 2005. Arterial Revascularisation Therapies Study Part II - Sirolimus-eluting stents for the treatment of patients with multivessel de novo coronary artery lesions. *EuroInterv*. 2005, 1, S. 147-156.

Serruys PW, Onuma Y, Garg S, Vranckx P, De Bruyne B, Morice MC, Colombo A, Macaya C, Richardt G, Fajadet J, Hamm C, Schuijjer M, Rademaker T, Wittebols K, Stoll HP. 2010. 5-year clinical outcomes of the ARTS II (Arterial Revascularization Therapies Study II) of the sirolimus-eluting stent in the treatment of patients with multivessel de novo coronary artery lesions. *J Am Coll Cardiol*. 16. March 2010, 55, S. 1093-101.

Simsek C, Magro M, Boersma E, Onuma Y, Nauta ST, Gaspersz MP, van der Giessen WJ, van Domburg RT, Serruys PW. 2010. The Unrestricted Use of Sirolimus- and Paclitaxel-Eluting Stents Results in Better Clinical Outcomes During 6-Year Follow-Up Than Bare-Metal-Stents. *JACC: Cardiovascular Interventions*. 1051-8, October 2010, 3.

Sousa EJ, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Ibraim FF, Pinto MF, Seixas AC, Staico R, Mattos LA, Sousa AGMR, Falotico R, Jaeger J, Popma JJ, Serruys PW. 2001. Lack of

Neointimal Proliferation After Implantation of Sirolimus-Coated Stents in Human Coronary Arteries. *Circulation*. 2001, 103, S. 192-195.

Steffel J, Tanner FC. 2007. Biological Effects of Drug-Eluting Stents in the Coronary Circulation. *Herz*. 2007, Bd. 32, S. 268-273.

Stone GW, Moses JW, Ellis SG, Schofer J, Dawkins KD, Morice MC, Colombo A, Schampaert E, Grube E, Kirtane AJ, Cutlip DE, Fahy M, Pocock SJ, Mehran R, Leon MB. 2007. Safety and Efficacy of Sirolimus- and Paclitaxel-Eluting Coronary Stents. *N Engl J Med*. 8. March 2007, 356, S. 998-1008.

Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, Bailey LR, Llanos G, Wilensky R, Klugherz BD, Papandreou G, Narayan P, Leon MB, Yeung AC, Tio F, Tsao PS, Falotico R, Carter AJ. 2001. Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. *Circulation*. 4. September 2001, 104, S. 1188–1193.

Suzuki Y, Lyons JK, Yeung AC, Ikeno F. 2010. The Porcine Restenosis Model Using Thermal Balloon Injury: Comparison with the Model by Coronary Stenting. *The Journal of Invasive Cardiology*. March 2010, 20, S. 142-6.

Tellingn, C van. 2010. Chest pain and angina pectoris - or the ugly swan and the beautiful duckling. *Neth Heart J*. November 2010, 18, S. 561–4.

Topol EJ, Serruys PW. 1998. Frontiers in Interventional Cardiology. *Circulation*. 1998, 98, S. 1802-20.

Tsuchida K, García-García HM, Ong AT, Valgimigli M, Aoki J, Rademaker TA, Morel MA, van Es GA, Bruining N, Serruys PW. 2006. Revisiting late loss and neointimal volumetric measurements in a drug-eluting stent trial: Analysis from the SPIRIT FIRST trial. *Catheter Cardiovasc Interven*. February 2006, 67, S. 188-197.

Urban P, Sigwart U, Golf S, Kaufmann U, Sadeghi H, Kappenberger L. 1989. Intravascular stenting for stenosis of aortocoronary venous bypass grafts. *J Am Coll Cardiol*. April 1989, 13, S. 1085-91.

van Beusekom HM, Whelan DM, van de Plas M, van der Giessen WJ. 1996. A practical and rapid method of histological processing for examination of coronary arteries containing metallic stents. *Cardiovascular Pathology*. March 1996, 5, S. 69–76.

van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR Jr, Ellis SG, Topol EJ. 1996. Marked Inflammatory Sequelae to Implantatio of

Biodegradable and Nonbiodegradable Polymers in Procine Coronary Arteries. *Circulation*. 1. October 1996, 94, S. 1690-7.

Verdouw PD, Wolffenbuttel BH, van der Giessen WJ. 1983. Domestic pigs in the study of myocardial ischemia. *Eur Heart J*. 4. May 1983, S. 61-7.

Virmani R, Farb A, Lafont A. 2003. Drug eluting stents: are human and animal studies comparable? *Heart*. 2003, 89, S. 133-138.

Virmani R, Guagliumi G, Farb A, Musumeci G, Grieco N, Motta T, Mihalcsik L, Tespili M, Valsecchi O, Kolodgie FD. 2004. Localized Hypersensitivity and Late Coronary Thrombosis Secondary to a Sirolimus-Eluting Stent Should We Be Cautious? *Circulation*. 17. February 2004, 109, S. 701-705.

Weintraub, WS. 2007. The pathophysiology and burden of restenosis. *Am J Cardiol*. 26. June 2007, 100, S. 3K-9K.

Weisz G, Leon MB, Holmes DR Jr, Kereiakes DJ, Clark MR, Cohen BM, Ellis SG, Coleman P, Hill C, Shi C, Cutlip DE, Kuntz RE, Moses JW. 2006. Two-year outcomes after sirolimus-eluting stent implantation: results from the Sirolimus-Eluting Stent in de Novo Native Coronary Lesions (SIRIUS) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006, 47.

Weisz G, Leon MB, Holmes DR Jr, Kereiakes DJ, Popma JJ, Teirstein PS, Cohen SA, Wang H, Cutlip DE, Moses JW. 2009. Five-year follow-up after sirolimus-eluting stent implantation results of the SIRIUS (Sirolimus-Eluting Stent in De-Novo Native Coronary Lesions) Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2009, 53.

Wessely R, Schömig A, Kastrati A. 2006. Sirolimus and Paclitaxel on Polymer-Based Drug-Eluting Stents. Similar But Different. *J Am Coll Cardiol*. February 2006, 47, S. 708-14.

White CJ, Ramee SR, Banks AK, Mesa JE, Chokshi S, Isner JM. 1992. A new balloon-expandable tantalum coil stent: angiographic patency and histologic findings in an atherogenic swine model. *J Am Coll Cardiol*. 15. March 1992, 19, S. 870-6.

Wöhrle, J. 2007. Die Stentthrombose im Fokus von Drug-eluting Stents. *Herz Kardiovaskuläre Erkrankungen*. July 2007, 32, S. 411-418.

8 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Diana Tschirschmann versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Tierexperimentelle Testung von Koronarstents mit Beschichtung von Sirolimus in unterschiedlichen Dosierungen“ 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 etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden 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.“

18.08.2016

Datum

Unterschrift

Danksagung

9 Lebenslauf

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

10 Danksagung

Ich danke all jenen, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

In erster Linie möchte ich mich bei meinem Lebenspartner Dr. med. Christian Pfeifle, für seine starken Nerven und die durchgehende Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit bedanken.

Insbesondere danke ich Herrn Privatdozent Dr. med. C. Grosse-Siestrup für die Überlassung der Dissertationsarbeit und den durchgehenden fachlichen Beistand.

Herrn Mohammed Bagheri danke ich für die Unterstützung bei der Zusammenarbeit mit der Firma BLS.

Mein besonderer Dank gilt auch Professor Dr. med. P. Ewert, Professor Dr. med. R. Berger, Dr. med. B. Schmitt und Dr. med. W. Haider für die Unterstützung im Rahmen der praktischen Tätigkeiten während der Arbeit, sowie für die Erlaubnis der Benutzung der Tierexperimentellen Einrichtung des DHZB.

Herzlichen Dank an Frau Dr. vet. med. K. Reiter für die tierärztliche Betreuung und Unterstützung.

Frau Maren Hasper, Professor Dr. med. Maschek und Frau Dr. med. Delventhal danke ich für die fachliche Unterstützung bei der histopathologischen Arbeit.