

Aus der Radiologischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Radiologische Diagnostik
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. C. D. Claussen

**Prävention der Restenose
nach Angioplastie durch ¹⁸⁶Rhenium Stents
im Kaninchenmodell**

INAUGURAL - DISSERTATION
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
der Eberhard - Karls - Universität
zu Tübingen

vorgelegt von

TOBIAS JOHANNES BOGISLAV DIETRICH
aus Stuttgart

2002

Dekan :

Professor Dr. C. D. Claussen

1. Berichterstatter :

Professor Dr. S. Duda

2. Berichterstatter :

Privatdozent Dr. H. Aebert

meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	9
1.1	Anatomie einer Arterie	10
1.2	Die In- Stent Restenose.....	11
1.3	Pathophysiologie ionisierender Strahlung.....	13
1.4	Einheiten und Begriffe der Strahlendosis	14
1.5	Anwendung ionisierender Strahlen bei benigner Proliferation.....	15
1.6	Strahlung und Arteriosklerose	16
1.7	Fragestellung.....	17
2	Material und Methoden.....	18
2.1	Tiermodell	18
2.1.1	Versuchstiere	18
2.1.2	Gefäßendoprothesen, ¹⁸⁶ Rhenium und Gruppeneinteilung	18
2.2	Stentimplantation	20
2.2.1	Thromboembolieprophylaxe	21
2.3	Gefäßentnahme bei Versuchsende	22
2.3.1	Präparation des gestenteten Aortenabschnitts.....	22
2.3.2	Herstellung von Quer- und Längsschnitten für die Morphometrie.....	23
2.3.3	Einbettung in Paraffin.....	23
2.4	Histologische Färbungen	24
2.4.1	Hämalaun-Eosin-Färbung (HE-Färbung)	24
2.4.2	Elastika-van-Gieson-Färbung (EvG-Färbung)	24
2.4.3	Immunhistochemische Färbungen	24
2.5	Auswertung der Präparate.....	26
2.5.1	Morphometrische Auswertung.....	26
2.5.2	Zelldichte	27
2.5.3	Auswertung der Immunhistochemie und Erfassung histopathologischer Strahlenfolgen.....	28
2.5.4	Statistische Auswertung	29
3	Ergebnisse	30
3.1	Versuchstiere	30

3.2	Cholesterinkonzentration im Plasma	31
3.3	Morphometrische Daten sieben Wochen nach Stentimplantation.....	32
3.3.1	Intimafläche.....	32
3.3.2	Längsschnitte	33
3.3.3	Mediafläche.....	35
3.4	Zelldichte sieben Wochen nach Stentimplantation.....	36
3.4.1	Zelldichte der Neointima.....	36
3.4.2	Zelldichte der Media.....	36
3.4.3	Zelldichte der Adventitia.....	37
3.5	Immunhistochemische Analyse sieben Wochen nach Stentimplantation	38
3.5.1	Faktor-VIII-Färbung	38
3.5.2	RAM-11-Färbung.....	40
3.5.3	α -Actin –Färbung.....	41
3.6	Histopathologische Strahlenfolgen sieben Wochen nach Stentimplantation ...	42
3.6.1	Thrombotisches Material	42
3.6.2	Fibrose	43
3.6.3	Degeneration glatter Muskelzellen.....	43
3.6.4	Verkalkungen.....	44
3.6.5	Zellnekrosen.....	45
3.6.6	Ödeme	46
3.6.7	Fibrinoide Insudate.....	47
3.6.8	Granulozytäre Infiltrate und mononukleäre Infiltrate.....	48
3.7	Langzeitergebnisse	49
3.7.1	Morphometrische Daten 23 Wochen nach Stentimplantation.....	50
3.7.1.1	Intimafläche.....	50
3.7.2	Immunhistochemische Analyse 23 Wochen nach Stentimplantation	50
3.7.2.1	Faktor-VIII-Färbung	50
3.7.3	Pathohistologische Strahlenfolgen 23 Wochen nach Stentimplantation ..	51
3.7.3.1	Thrombotisches Material	51
3.7.3.2	Fibrose	51
3.7.3.3	Degeneration glatter Muskelzellen.....	52

3.7.3.4	Verkalkungen	52
3.7.3.5	Zellnekrosen	53
3.7.3.6	Ödeme	53
3.7.3.7	Fibrinoide Insudate	54
3.7.3.8	Granulozytäre Infiltrate und mononukleäre Infiltrate	55
3.8	Bilder	56
4	Diskussion	58
4.1	Tiermodell	58
4.2	¹⁸⁶ Rhenium	59
4.3	Radioaktivität zur Prävention arterieller Rezidivstenosen	60
4.3.1	Externe Bestrahlung	62
4.3.2	Kathetergestützte, endovaskuläre Brachytherapie	63
4.3.3	Radioaktive Stents	64
4.4	Eigene Ergebnisse	67
4.4.1	Neointima nach sieben Wochen	67
4.4.1.1	Aufbau der Neointima	67
4.4.1.2	Fläche der Neointima	69
4.4.2	RAM-11 nach sieben Wochen	70
4.4.3	Spätwirkungen der endovaskulären Strahlentherapie	71
4.4.3.1	Allgemeine Spätwirkungen der endovaskulären Strahlentherapie	71
4.4.3.2	Zell- und Gewebsschäden infolge ionisierender Strahlung	72
4.4.3.3	Fläche, Zelldichte und α -Actin der Media nach sieben Wochen	72
4.4.3.4	Fibrose, Zelldichte und α -Actin der Adventitia	73
4.4.3.5	Granulozytäre und mononukleäre Infiltrate	74
4.4.3.6	Intraluminales Endothel und späte Thrombose	75
4.5	Schlußfolgerungen	77
5	Zusammenfassung	79
6	Literaturverzeichnis	80
7	Danksagung	94
8	Lebenslauf	95

Abkürzungen

Abb.	Abbildung
atm	physikalische Atmosphäre (1 atm = 101325 Pascal)
Bq	Becquerel
Ci	Curie
cps	counts per second
eV	Elektronenvolt
EvG-Färbung	Elastika-van-Gieson-Färbung
Gy	Gray
HE-Färbung	Hämalaun-Eosin-Färbung
Ir	Iridium
KG	Körpergewicht
MG	Molekulargewicht
P	Phosphor
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
RBW	relative biologische Wirksamkeit
Re	Rhenium
Sr	Strontium
Y	Yttrium

1 Einleitung

Das intakte Herz-Kreislaufsystem sichert die Durchblutung und Versorgung aller Organe mit Sauerstoff und essentiellen Metaboliten. Voraussetzung hierzu ist die freie Durchgängigkeit der koronaren, cerebralen und peripheren Arterien. Stenosen als Folge von Intimahyperplasie sind eine häufige Ursache für Durchblutungsstörungen und darauf folgende Ischämien. Die am häufigsten zum Tode führende Erkrankung in Deutschland ist die koronare Herzerkrankung. Fünf bis zehn Prozent der männlichen Bevölkerung leiden an einer Koronarinsuffizienz (121).

Es gibt vielfältige Therapiemöglichkeiten der arteriellen Gefäßstenosen. Chirurgisch können arterielle, venöse und synthetische Bypässe verlegt werden. Perkutan werden Katheter eingeführt und Ballon, Laser und Stent sichern die erneute Durchgängigkeit des Gefäßes.

Der Primärerfolg einer perkutanen Therapie ist nicht der alleinige limitierende Faktor. Ein halbes Jahr nach Koronarangioplastie beträgt die Rezidivstenoserate häufig über 30 % (1). Die Rezidivstenoserate ist jedoch abhängig von der Definition, den selektierten Patienten und der Methode der klinischen Studie (1).

Intravaskuläre Stents sind Endoprothesen die der Abstützung und der Durchgängigkeit eines Blutgefäßes nach perkutaner transluminaler Angioplastie (PTA) dienen. Das Material dieser Endoprothesen wie auch deren geometrischer Aufbau variiert. Es gibt z.B. netzförmige und spiralförmige Stents, die aus verschiedenen Legierungen hergestellt werden (2, 3).

Die erste Publikation über die perkutane Applikation endovaskularer Prothesen erschien 1969 von Dotter et al. (4). Diese erste Stentgeneration war eine röhrenförmige Edelstahlspule. Mit Hilfe eines Führungsdrahtes wurde der Stent in das Gefäß eines Hundes eingeführt, die endgültige Position wurde durch koaxiales Schieben eines Katheters erreicht. Eine intravaskuläre Aufdehnung dieser Stents war nicht möglich. Somit limitierten Zugangsgefäß und durchzuführende Arteriotomie den Stentdurchmesser.

Bis 1983 unterblieb eine umfangreichere Weiterentwicklung der Stents (5). Unabhängig voneinander (5) erschienen 1983 Berichte von Dotter et al. (6) sowie Cragg et al. (7, 8) über intravaskuläre Stentimplantationen in Hundearterien. Diese Autoren nutzten die

Thermoeigenschaften von Nitinol, einer Nickel-Titan-Legierung, und konstruierten aus Nitinoldrahnten selbstexpandierbare Stents. Anschließend entwickelte Palmaz (9) Ballon-expandierbare Stents aus Edelstahl und erhielt die erste Zulassung für die Applikation intravaskularer Stents durch die US Food and Drug Administration (FDA).

Der „Stent Restenosis Study Trial“ (STRESS, 10) und die „Benestent Study Group“ (11) sind zwei Multicenterstudien mit jeweils über 400 Patienten, deren Ergebnisse im Jahr 1994 veröffentlicht worden sind. Es wurden die Rezidivraten der Gefäßstenosen ermittelt. Als Restenose wurde eine Stenose von mindestens 50 % definiert. Die erste angiographische Verlaufskontrolle erfolgte nach einem halben Jahr. Die Daten von Benestent (11) und Stress (10) ergaben, daß eine Restenose nach Einsatz eines Palmaz Schatz-Stents in 22 % bzw. 31,6 % der Patienten auftrat. Die Restenoserate nach Ballonangioplastie war in beiden Studien signifikant höher.

In den folgenden Jahren stieg die Zahl der implantierten Stents stark an. Im Jahr 1998 wurden weltweit 1 000 000 Stents in Koronararterien eingesetzt (12).

1.1 Anatomie einer Arterie

Bei mikroskopischer Betrachtung einer gesunden Arterie läßt sich eine Dreischichtung erkennen. Innen liegt die Tunica Intima, die auch als Intima bezeichnet wird. Darauf folgt die Tunica Media und außen liegt die Tunica Externa oder kurz Adventitia.

Die Tunica Intima besitzt als Grenzmembran gegen das Blut eine geschlossene Schicht von Endothelzellen. Unter der Endothelschicht befindet sich die dünne Lamina Propria Intimae. Sie besteht aus Bindegewebe und enthält das elastische Material der Membrana Elastica Interna, die eine Grenzschicht gegen die Media bildet.

Die Tunica Media ist breit und enthält vorwiegend Myozyten und elastisches Material. Die Muskelschicht der Media reguliert die Gefäßweite der Arterien, sie wird vegetativ innerviert.

Die Tunica Externa besteht aus unterschiedlich dicken Bündeln kollagener Fibrillen, elastischem Material und Fibrozyten. Die Adventitia verbindet das Gefäß locker mit der

Umgebung. In dieser Schicht verlaufen die Nervenfasern und bei größeren Gefäßen die Vasa vasorum (119).

Der Gefäßwand-Myozyt ist eine multipotente Zelle, die zu tiefgreifenden morphologischen und funktionellen Veränderungen befähigt ist. Hierzu gehört auch die amöboide Beweglichkeit, die eine Migration aus der Media in den Intimaraum erlaubt (119). Vermehrte Mitosen der Myozyten finden sich in der Regenerationsphase nach Einwirkung verschiedener Noxen auf die Gefäßwand. Dies führt zu einer Zunahme der Myozyten in der Gefäßwand. Oft ist die Zunahme der Myozyten mit gesteigerten Synthese- und Abbauleistungen sowie einer charakteristischen Vermehrung und Veränderung der Interzellulärsubstanz verbunden, es kommt zur Fibrose (119).

Wahrscheinlich gibt es alle Übergänge von Myozyten zu Myofibroblasten und Fibroblasten. Es wurde geradezu eine Entwicklungsreihe postuliert, die von undifferenzierten Mesenchymzellen über Fibroblasten, Myofibroblasten zu Myozyten führt (119).

1.2 Die In- Stent Restenose

Die Pathomechanismen als Folgereaktionen einer Arterie auf die Stentimplantation sind nur unvollständig geklärt (13, 14, 15). Von besonderem klinischem und wissenschaftlichem Interesse sind diejenigen pathobiologischen Reaktionen eines Gefäßes, welche zum Wiederverschluß der eingesetzten Gefäßendoprothese führen. Dieser Wiederverschluß eines Stents wird In-Stent Restenose genannt. Die bekannten Reaktionen arterieller Gefäße auf eine Stentimplantation sind Thrombose, Entzündung und Zellwachstum (17).

a) Thrombose

Noch vor wenigen Jahren war der Erfolg von Stentimplantationen limitiert durch subakute Stentthrombosen, die in 40 % aller Implantationen auftraten. (18, 19). Die Thromben entstehen durch Akkumulation von Thrombozyten, Fibrin und Erythrozyten (15). Änderungen der periinterventionellen Medikation sowie schonende

Implantationstechniken konnten die Inzidenz einer vollständigen Stentthrombose auf unter 1 % (17) senken. Dennoch besteht weiterhin das grundsätzliche Problem der Thrombogenität von Stent und Gefäßwand nach perkutaner transluminaler Angioplastie (PTA).

Während den ersten drei Tagen bilden sich wandständige Thromben, die zu einer unbedeutenden Lumeneinengung führen. Die Größe eines jeden Thrombus, der sich einer Stentstrebe anlagert, ist unter anderem abhängig von der Eindringtiefe der Strebe in die Gefäßwand. Eine stärkere Verletzung generiert eine ausgeprägtere Thromboseantwort, eine geringere Verletzung kann die Gefahr eines Thrombus mindern (20, 21, 22).

Zu Beginn der In-Stent Restenose Forschung wurde die Thrombose als Hauptverursacher der vaskulären Folgereaktionen auf Stentimplantation betrachtet. Auch wenn die Thrombose ein ernstes Folgeproblem der Stentimplantation ist, ermöglicht die Verhinderung der Thrombose kein Dauererfolg der Gefäßrekanalisierung (23, 24, 25).

b) Entzündung

Die II. Reparaturphase basiert auf frischen Thromben, die der Gefäßwand anliegen und die Stentstreben bedecken (21). Monozyten haften an die gespannte Lamina Elastica Interna und zeigen mikroskopisch eine floride Entzündung. Die Anzahl der anhaftenden Leukozyten ist möglicherweise der entscheidende Faktor für die Höhe der Proliferationsrate innerhalb der entstandenen Läsion. So konnten Rogers et al. (21) im Kaninchenmodell eine lineare Korrelation zwischen Anzahl der Monozyten pro Arterie und dem Ausmaß der Intimafläche aufstellen. Ab dem dritten Tag nach Stentimplantation sank die Zahl der an die Grenzfläche anhaftenden Leukozyten. Die Zahl der gewebeinfiltrierenden Monozyten erreichte nach einer Woche das Maximum (21). Schließlich fusionierten ein Teil der Makrophagen in Nachbarschaft der Stentstreben zu vielkernigen Riesenzellen (17), weitere Makrophagen waren später in der Neointima zu finden.

c) Neointimawachstum

Neointima und Intimahyperplasie sind synonym verwendete Begriffe für das lumenwärts gebildete Gewebe der Arterie. Die III. Phase der Wundheilung nach Stentimplantation

liegt zeitlich eng zusammen mit der Migration einiger Entzündungszellen von der Gefäßoberfläche in die Intima (17). Sieben Tage nach Intervention beteiligen sich Makrophagen und glatte Muskelzellen an der Zellproliferation und legen die grundlegende Struktur für die Intimahyperplasie (17). Die Neointima entsteht hauptsächlich durch die Proliferation glatter Muskelzellen und durch die Formation der extrazellulären Matrix (13, 14, 26, 27). Schließlich kleidet die Neointima die Gefäßinnenwand homogen und konzentrisch aus (28, 29). Intravaskularer Ultraschall und Autopsien beweisen, daß die Neointima das entscheidende pathomorphologische Korrelat der In-Stent Restenose darstellt (28, 30) und somit Hauptverursacher der In-Stent Restenose ist (26, 28, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36).

d) Formstabilität der Stents

Der akute Verlust vom gewonnenen Gefäßdurchmesser innerhalb der ersten 24 Stunden nach Ballondilatation wird als „elastic recoil“ bezeichnet (122, 123, 124). Dieser „elastic recoil“ ist ein wichtiger Pathomechanismus der Restenose nach Ballonangioplastie, denn dadurch kann der Lumenquerschnitt bis zu 50 % reduziert werden (115, 125).

Bei Stenteinsatz wird ein Lumenverlust durch die Formstabilität des Stents verhindert. Eine Rückstellung der Gefäßwand unmittelbar nach Angioplastie tritt bei den meisten Stentarten nicht auf (17, 37). Hoffmann et al. (28) erbrachten durch intravaskuläre Ultraschallmessungen den Nachweis, daß weder eine Rückstellung noch eine Expansion des Palmaz-Schatz- Stents innerhalb der ersten 5 Monaten auftrat.

1.3 Pathophysiologie ionisierender Strahlung

Mit Strahlenwirkung bezeichnet man die direkte und indirekte Wirkung ionisierender Strahlen als Folge der Absorption der von ihnen transportierten Energie durch biologisch wichtige Makromoleküle z.B. DNS oder Membranproteine.

Ionisierende Strahlung kann im Organismus zu Früh- und Spätreaktionen führen. Die Primärwirkung ist die Folge der Reaktionen der Radiolyseprodukte des Wassers mit solchen Molekülen. Bei der Entstehung der Spätschäden spielt die strahlenbedingte

Vaskulopathie die Hauptrolle. Radiogene Gewebsschäden werden somit hauptsächlich durch die Schädigung der Kapillaren oder der größeren Gefäße beeinflusst, wenn nicht sogar ausgelöst. Ursache hierfür sind die Gefäßendothelien, die zu den radioreagierenden Zellen gehören (38).

Die Radiosensibilität eines Gewebes ist unter anderem abhängig von dessen Zellteilungsrate. Eine Zelle reagiert umso empfindlicher auf ionisierende Strahlung, je höher ihre Mitoserate ist. Während der Mitose ist das genetische Material besonders strahlenempfindlich. Daher sind Gewebe mit einer hohen Zellteilungsrate wie z.B. Knochenmark, lymphoretikuläres System oder Darm durch Strahlung in ihrem Wachstum stärker gehemmt als ruhendes Gewebe (16).

Werden Zellen in der Interphase geschädigt, verklumpt primär das Chromatin. Ferner werden die Zellmembran und die Organellen geschädigt. Die Strahlenwirkung auf proliferierende Zellen verursacht chromosomale Schäden, Mutationen, maligne Transformationen, Riesenzellbildung oder den sogenannten reproduktiven Zelltod (16).

1.4 Einheiten und Begriffe der Strahlendosis

Radioaktivität ist eine Bezeichnung für Substanzen, die Alpha-, Beta- oder Gammastrahlen aussenden. Definitionen und Einheiten ermöglichen den Vergleich der Auswirkungen verschiedener Strahlenquellen auf Objekte.

Die SI –Einheit der Aktivität eines radioaktiven Stoffes ist Becquerel (Bq). Ein Bq entspricht einem Zerfallsakt pro Sekunde. Eine veraltete Einheit der Aktivität ist Curie (Ci), ein Ci sind $3,7 \times 10^{10}$ Bq.

Eine Wechselwirkung von Strahlung und Materie ist die Ionisation. Die Ionendosis ist definiert durch die erzeugte Ladung pro Masseneinheit:

$$\text{Ionendosis} = \frac{\text{im Volumenelement erzeugte Ladung}}{\text{Masse des Volumenelementes}}$$

Formel 1: Ionendosis

Die SI-Einheit der Ionendosis lautet: $\frac{\text{C}}{\text{kg}}$, (C = Coulomb; kg = Kilogramm).

Die Energiedosis gibt an, wieviel Energie durch Wechselwirkungen der Strahlung im betrachteten Gewebe absorbiert wird:

$$\text{Energiedosis} = \frac{\text{im Volumenelement absorbierte Strahlung}}{\text{Masse des Volumenelementes}}$$

Formel 2: Energiedosis

Es resultiert die SI-Einheit Gray (Gy): $\frac{\text{J}}{\text{kg}}$, (J = Joule).

Ebenso wichtig ist die Art der Strahlung. Die relative biologische Wirksamkeit (RBW) gibt an, wieviel schädlicher die betrachtete Strahlung bei gleicher Energiedosis ist als mittelharte Photonenstrahlung. Der Faktor der relativen biologischen Wirksamkeit für Röntgen-, Gamma-, und Betastrahlung beträgt 1, 5 für langsame Neutronen und 20 für schnelle Neutronen und Alphastrahlen.

Ein Dosisbegriff, der die Schädigung eines Gewebes beschreibt ohne die Strahlenart zu berücksichtigen, ist die Äquivalenzdosis (39):

$$\text{Äquivalenzdosis} = \text{Energiedosis} \times \text{RBW}$$

Formel 3: Äquivalenzdosis

Die SI-Einheit ist: Sievert (Sv).

1.5 Anwendung ionisierender Strahlen bei benigner Proliferation

Der Einsatz ionisierender Strahlung zur Wachstumshemmung von Malignomen ist in der Strahlentherapie zur Routine geworden.

Unter Verwendung kleiner Gesamtdosisleistungen wird ionisierende Strahlung auch zur Therapie nicht maligner Erkrankungen eingesetzt. Order und Donaldson (40) haben über 100 benigne Erkrankungen beschrieben, bei deren Therapie ionisierende Strahlung zum Einsatz kam.

Beispiele der adjuvanten Strahlentherapie sind die Prophylaxe der Bildung von Narbenkeloiden und die Entstehung heterotroper Knochenbildung nach Unfällen. Den Hauptanteil der komplexen Entstehung von Narbenkeloiden bilden intradermale Fibroblastenaktivitäten und deren Proliferation (41, 42).

Die Bestrahlung der Narbe nach Exzision des Keloids mit 9-15 Gy, aufgeteilt in 1-3 Anwendungen, führt zu einer erfolgversprechenden Prophylaxe zukünftiger Narbenkeloide. Die Anwendung niedrigdosierter Radiatio ruft keine Störung der Wundheilung hervor. Es liegen keine Berichte über die Entstehung von Malignomen vor. Die kosmetischen Ergebnisse sind gut, persistierende unbedeutende Hyperpigmentierungen treten bei weniger als 5 % aller behandelten Patienten auf (43, 44).

1.6 Strahlung und Arteriosklerose

Aus der schrittweisen Erforschung der Rezidivstenose entwickelte sich die Theorie, daß die Restenose das Endergebnis von unkontrolliertem Gewebewachstum am Ort der Verletzung durch Angioplastie ist (45, 46, 47, 48). Diese Theorie legte den Grundstein zum Einsatz der Radioaktivität in Gefäßen zur Prophylaxe der Restenosen. In Vitro Studien dokumentierten eine Proliferationshemmung infolge radioaktiver Strahlen. Die Proliferationshemmung umfaßte unter anderem arterielle glatte Muskelzellen und Fibroblasten sowie die Kollagensynthese durch Fibroblasten (49, 50, 51).

In klinischen wie auch in tierexperimentellen Studien (75, 76) wurde bereits gezeigt, daß ionisierende Strahlung die Intimahyperplasie reduzieren kann. Die ionisierende Bestrahlung der behandelten Arterien erfolgte endovaskular oder auch von extern. Weiterhin liegen Resultate von Untersuchungen mit radioaktiven Stents vor, welche bereits in Tieren und Menschen implantiert worden sind (89, 91, 111). Durch Strahlentherapie ließ sich das Ausmaß der In-Stent Stenose senken. Die Ergebnisse machen Hoffnung, daß mittels adjuvanter Strahlentherapie die langfristigen Resultate nach primär erfolgreicher perkutaner transluminaler Koronarangioplastie (PTCA) verbessert werden können.

1.7 Fragestellung

Die Restenoserate nach Angioplastie kann durch gezielten Einsatz von Stents verringert werden (10, 11). Trotz dessen bleibt die Restenose als mittel- und langfristig limitierender Faktor nach Angioplastie und Stentapplikation bestehen.

Es liegen bereits Berichte aus tierexperimentellen und klinischen Studien vor, welche einen positiven Effekt ionisierender Strahlen in Kombination mit Angioplastie beschreiben. So wurden zwei kathetergestützte, endovaskuläre Strahlentherapiesysteme zur Therapie der In-Stent Stenose von der US Food and Drug Administration zugelassen (82).

Experimentelle und klinische Studien zeigten, daß radioaktive ^{32}P -Stents die Bildung von Neointima innerhalb des Stents verhindern können (89, 118). ^{32}P -Stents als „reine“ β -Strahler konnten die Häufigkeit der Reangioplastie gegenüber konventionellen Stents in klinischen Studien jedoch nicht senken, da eine ausgeprägte Restenose der nicht gestenteten Gefäßbereiche auftrat (118).

Anhand unserer durchgeführten Studie sollte die Wirkung eines radioaktiven ^{186}Re -Stents auf die arterielle Gefäßwand untersucht werden. Von besonderem Interesse war das Ausmaß der Intimahyperplasie in Abhängigkeit von der Aktivität von ^{186}Re . Zusätzlich sollten die Pathomechanismen der In-Stent Stenose, mit und ohne Einwirkung von Radioaktivität, erforscht werden.

2 Material und Methoden

2.1 Tiermodell

2.1.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere zur Stentimplantation dienten insgesamt 40 Weiße Neuseelandkaninchen (Fa. Charles River, Kißlegg). Die Auswertung der Präparate erfolgte an jenen 35 Tieren, welche das Versuchsende erreichten.

Zum Zeitpunkt der OP betrug das durchschnittliche Gewicht der Kaninchen 3,02 kg. Alle Versuchstiere erhielten präoperativ eine 0,5 %ige Cholesterindiät (Fa. Altromin, Lage) über 28 Tage. Postoperativ wurde das Cholesterinfutter durch Normalfutter (Altromin, Lage) ersetzt. Die Tötung der Tiere erfolgte 7 bzw. 23 Wochen nach Stentimplantation.

2.1.2 Gefäßendoprothesen, $^{186}\text{Rhenium}$ und Gruppeneinteilung

Eingesetzt wurden handelsübliche Palmaz® Stents (P204, Länge: 2cm, Cordis, Warren, USA). Der empfohlene Durchmesser der aus Edelstahl gefertigten Stents nach Ballonexpansion liegt zwischen 4 und 9 mm.

Fabrikneue Palmaz® Stents wurden in die Kaninchen der Kontrollgruppe implantiert. Tiere der Therapiegruppen erhielten radioaktiv beschichtete Palmaz® Stents mit folgenden Aktivitäten: 2,58 MBq, 8,07 MBq, 15,98 MBq und 25,80 MBq. Die radioaktive Dotierung mit dem Isotop $^{186}\text{Rhenium}$ (Internationaler Patentantrag: WO98/48551) erfolgte im Forschungszentrum Rossendorf e.V., (Institut für Bioanorganische und Radiopharmazeutische Chemie, Dresden).

$^{186}\text{Rhenium}$ (^{186}Re) zerfällt unter Aussendung eines β -minus-Teilchens (Elektron) zum $^{186}\text{Osmium}$ (^{186}Os) mit einer physikalischen Halbwertszeit von 90,64 Stunden.

$^{186}\text{Rhenium}$ ist ein gemischter β - und γ -Strahler. Die maximale Elektronenenergie beträgt 1,08 MeV, die mittlere Elektronenenergie beträgt 330 keV und die emittierte Energie der Gammastrahlung entspricht 137 keV (52).

Es wurde folgende Gruppeneinteilung gewählt:

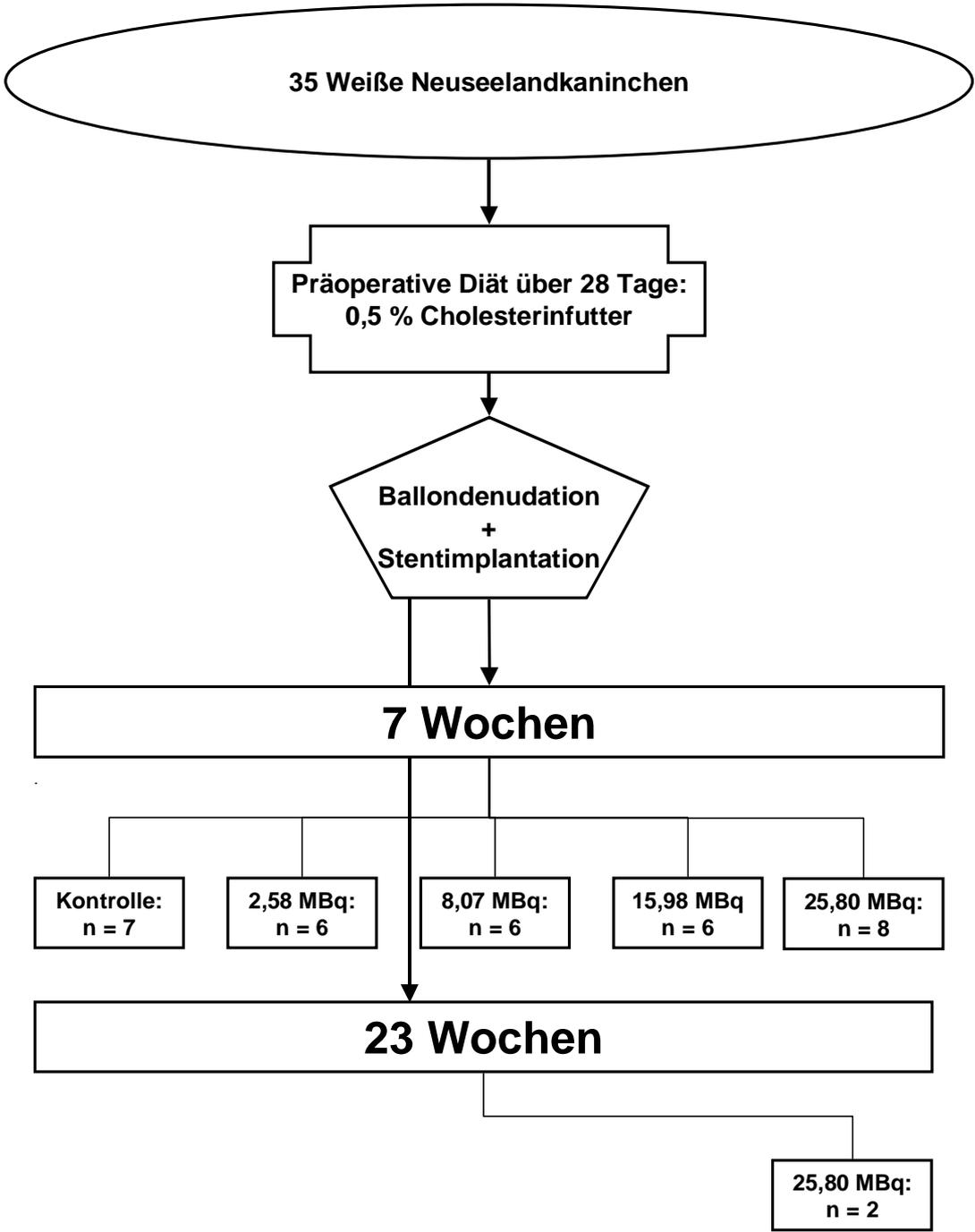


Abb. 1: Versuchsgruppeneinteilung

Um die verbliebene Radioaktivität der Stents zu bestimmen, wurden unmittelbar nach Stentimplantation sowie 1, 2, 7 und 14 Tage später Ganzkörperszintigramme (Apex SP4 HR Gamma Camera, Elscint, Haifa, Israel) der Kaninchen angefertigt. Anschließend wurde eine halbwegszeitkorrigierte Kurve zur Quantifizierung der abgeschwemmten Radioaktivität erstellt. Die Abbildung 2 zeigt, daß weniger als 10 % der Radioaktivität innerhalb von 14 Tagen von der Stentoberfläche abgeschwemmt wurden.

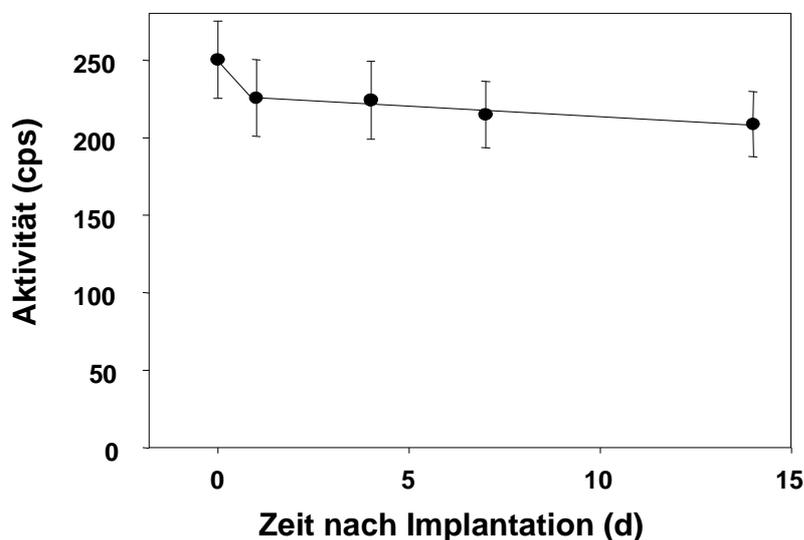


Abb. 2: Halbwegszeitkorrigierte Messung der Aktivität (Mittelwerte \pm SD) der ^{186}Re -Stents (25,80 MBq, n = 8) nach Implantation.

2.2 Stentimplantation

Die Narkose der Versuchstiere erfolgte durch intramuskuläre Injektion von 4-5 ml Narkosegemisch. Das Narkosegemisch bestand aus 28 Teilen Ketamin (Ketanest[®] 50, Parke-Davis, Berlin), 12 Teilen Xylazin (Rompun[®] 2 %, Bayer, Leverkusen) und einem Teil Atropinsulfat (Atropinsulfat 0,5 mg/ml Braun, Melsungen).

In Vollnarkose wurde eine Inzision der Haut im Bereich der rechten Leiste gesetzt. Nach Darstellung des femoralen Gefäßnervenstrangs in seiner Muskelloge konnten mittels stumpfer Präparation Arteria, Vena und Nervus femoralis einzeln freigelegt werden.

Es folgte eine Fadenligatur (Perma-Handseide®, Ethicon, Brüssel, Belgien) der A. femoralis. Vor und nach Denudation wurde die A. femoralis, proximal der Fadenligatur, mittels eines Miniclip (Aesculap, Tuttlingen) vorübergehend ligiert.

Eine ca. 2 mm breite Arteriotomie der A. femoralis bildete den Zugang für Katheter und Schleuse. Unter vorsichtigem Rückzug des inflatierten Arterien-Embolektomiekatheters (2F Forgaty®, Baxter, Unterschleißheim) wurde die infrarenale Aorta und rechte A. iliaca über eine Strecke von 15 cm denudiert. Anschließend erfolgte die Platzierung der Schleuse (5F Avanti+, Cordis, Warren, U.S.A.) in der rechten A. femoralis. Die Spülung der Schleuse erfolgte mittels 200 IE Heparin in 5 ml isotonischer Kochsalzlösung.

Der Palmazstent wurde auf den Angioplastiekatheter (Cordis Savvy, Warren, USA) gecrimpt und über die liegende Schleuse in das arterielle Gefäßsystem eingeführt. Nach Erreichen der abdominellen Aorta wurde der Angioplastieballon unter Röntgenkontrolle 20 Sekunden lang auf einen Druck von 8 atm inflatiert. Es folgte eine 20 Sekunden lange Deflation des Ballonkatheters. Abschließend wurde die Schleuse entnommen, der arterielle Gefäßstumpf ligiert und die Wunde mit Fäden verschlossen.

2.2.1 Thromboembolieprophylaxe

Um Komplikationen durch Thrombosen und Embolien vorzubeugen, wurde allen Tieren perioperativ Heparin und Acetylsalicylsäure appliziert. Präoperativ wurden 30 mg Acetylsalicylsäure in die Glutealmuskulatur injiziert. Am Tag des operativen Eingriffs, wie auch an den drei folgenden Tagen, wurde diese Medikation täglich mit 30 mg fortgesetzt. Bis zum Versuchsende erhielten die Tiere jeden dritten Tag 60 mg Acetylsalicylsäure. Heparin ergänzte die Thromboseprophylaxe. Postoperativ erhielten alle Kaninchen drei Tage lang täglich 1800 IE Heparin/kg Körpergewicht (Liquemin© N 25 000, Roche, Basel, Schweiz) subkutan injiziert.

2.3 Gefäßentnahme bei Versuchsende

Die Tötung der Versuchstiere erfolgte in Narkose durch intrakardiale Injektion von 2 ml T61 (Höchst Veterinär GmbH, Unterschleißheim). Nach Thorako- und Laparatomie folgte die Präparation der Aorta über ihre ganze Länge. Die Aorta wurde vom Aortenbogen bis einschließlich der Aortenbifurkation entnommen und anschließend mit 0,9 %iger NaCl-Lösung und 2 %iger Formaldehydlösung (0,1 mol/ l Dimethylarinsäure, MG = 214,13 g; pH 7,4) gespült. Über mindestens 24 Stunden fand eine Immersionsfixation in 2 %iger Formaldehydlösung (0,1 mol/ l Dimethylarinsäure, MG = 214,13 g; pH 7,4) statt.

2.3.1 Präparation des gestenteten Aortenabschnitts

Zur Erzielung optimaler morphometrischer Ergebnisse war es einerseits notwendig, die Aorta in einen Kunststoff aus Methakrylat einzubetten, andererseits sollten immunhistochemische Färbungen sowie Hämalaun-Eosin-Färbungen und Elastika-van-Gieson-Färbungen an Gefäßsegmenten durchgeführt werden, welche in Paraffin eingebettet waren. Diese verschiedenen Einbettungsverfahren erforderten eine getrennte histologische Aufbereitung der gestenteten Aorta.

Daher wurde die entnommene Aorta in der Mitte des 2 cm langen Palmaz® Stents unter Zuhilfenahme einer rotierenden Trennscheibe geteilt (Abb. 3, DIAMANT Instrumente HORICO, Modell H 355 C190, Hopf. Ringleb & Co., Berlin). Nachfolgend verlief die weitere Aufarbeitung der zwei gestenteten Teile der Aorta unterschiedlich.

Nach Entfernung der Stentstreben wurde das proximale Teilstück in Paraffin eingebettet. Der Präparatanteil, bestehend aus der distalen Hälfte des implantierten Stents samt umliegendem Gefäß und einem ca. 1 cm langen Anschlußstück der nicht gestenteten Aorta, wurde in Methamethylakrylat eingebettet.

2.3.2 Herstellung von Quer- und Längsschnitten für die Morphometrie

In einer aufsteigenden Alkoholreihe wurden die ca. 2 cm langen Präparate entwässert. Anschließend erfolgte deren Infiltration mit einem lichthärtenden Einkomponentenkunststoff auf (53) Methakrylatbasis (Technovit 7200, Kulzer, Friedrichsdorf). Die Polymerisation und Aushärtung fand in Einbettmulden statt. Beleuchtet wurden die Einbettmulden (53) im Histolux-Lichtgerät (Kulzer, Friedrichsdorf) bei Wellenlängen zwischen 400 und 500 nm. Dem gehärteten Kunststoff wurde ein Objektträger aufgeklebt, als Klebstoff diente ein schnellhärtender, kaltpolymerisierender Dreikomponentenkunststoff (Technovit 4000, Kulzer, Friedrichsdorf).

Nachfolgend wurde vom Kunststoffblock eine ca. 200 µm dicke Scheibe abgetrennt. Dieser Arbeitsschritt erfolgte mittels einem Diamanten besetzten Trennband im Exakt-Trennschliffsystem (53) (Exakt Apparatebau, Norderstedt). Hierbei betragen die Vorschubkräfte zwischen 50 und 100 Pond. In einem mikroparallel arbeitenden (53) Schleifsystem (Exakt Apparatebau, Norderstedt) wurden die Kunststoffblöcke auf eine Dicke von ca. 100 µm geschliffen. Die Körnung des hier verwendeten Sandpapiers variierte zwischen 1200 bis 2000.

Abschließend wurden die Präparate nach Elastika-van-Gieson gefärbt. Entsprechend dieser Methode wurden zuerst Querschnitte und später Längsschnitte zur morphometrischen Auswertung angefertigt.

2.3.3 Einbettung in Paraffin

Die Gefäßsegmente für die Paraffinhistologie wurden in aufsteigenden Ethanolreihen (70-99,9 %) dehydriert, in Methylbenzoat (Fa. Merk, Darmstadt) und Rothihistol (Fa. Roth, Karlsruhe) überführt und anschließend in Paraffin (Fa. Sherwood, St. Louis, USA) eingebettet. Mit einem Mikrotom (Modell Jung RM 2045, Leica, Wetzlar) wurden von den in Paraffin eingebetteten Präparaten Semidünnschnitte mit einer Dicke von 4 µm angefertigt. Diese Semidünnschnitte wurden nach Elastika-van-Gieson, in Hämalaun-Eosin und immunhistochemisch gefärbt.

2.4 Histologische Färbungen

2.4.1 Hämalaun-Eosin-Färbung (HE-Färbung)

Als Zellübersichtsfärbung zur Beurteilung der morphologischen Veränderungen diene eine HE-Färbung der in Paraffin eingebetteten Semidünnschnitte. Die Schnitte wurden in Xylol und einer absteigenden Ethanolreihe entparaffiniert. Die Einwirkzeiten in Hämalaunlösung nach Mayer (Fa. Merck, Darmstadt) und Eosin (Fa. Sigma, St. Louis, USA) betragen jeweils 5 min. Abschließend wurden die Schnitte in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert, in Xylol aufgehellt und in Eukitt (Fa. Langenbrink, Emmendingen) eingebettet.

2.4.2 Elastika-van-Gieson-Färbung (EvG-Färbung)

Zur Darstellung der Lamina Elastica Interna und weiteren elastischen Fasern wurden die Semidünnschnitte nach Elastika van Gieson gefärbt. Das Procedere entsprach der HE-Färbung. Die Einwirkzeiten der Farbstoffe betragen 30 min für Resorcin-Fuchsin (Chroma Gesellschaft, Köngen), 6 min für Hämatoxylin nach Weigert (Chroma Gesellschaft) und 2 min für van Gieson-Lösung (Chroma Gesellschaft).

2.4.3 Immunhistochemische Färbungen

Zur Darstellung des Gefäßendothels, der Makrophagen und der glatten Muskelzellen wurden immunhistochemische Färbungen der Semidünnschnitte nach der Avidin-Biotin-Komplex Methode vorgenommen. Das Ziel der Immunhistochemie war, ausgewählte Epitope mit Hilfe von Immunglobulinen mikroskopisch sichtbar zu machen (Tabelle 1).

Zu Beginn wurden die Präparate in Bädern mit Xylol und in absteigenden Alkoholreihen entparaffiniert. Danach folgte sowohl bei der Faktor-VIII-Färbung wie auch bei der RAM-Färbung eine Antigendemaskierung. Diese war notwendig wegen einer möglichen störenden Veränderung der dreidimensionalen Struktur der Antigenepitope infolge der Fixation. Die endogene Peroxidase wurde durch 30 min langes Einwirken in einer

0,4 % Wasserstoffperoxidlösung bei Raumtemperatur blockiert. Zur Vermeidung einer unspezifischen Hintergrundfärbung wurde eine Inkubation über 10 min bei 37 °C mit normalem Pferdeserum und Rinderserumalbumin durchgeführt.

Nach Inkubation des Objektträgers mit dem jeweils spezifischen Primärantikörper wurde der entsprechende, mit Biotin konjugierte Sekundärantikörper, aufpipettiert. Das zweite biotinierte Immunglobulin war gegen das Erste gerichtet und bindete an dieses. Als nächster Schritt folgte die Zugabe des Avidin-Biotin-Komplex (Vector Laboratories, Burlingame, USA), welcher mit dem Biotin des Sekundärantikörpers spezifisch reagierte. Die Inkubationsdauer des zweiten Antikörpers und des ABC - Komplexes betrug 15 min bei 37 °C. Schließlich wurde die rote Anfärbung durch auftragen des AEC-Komplexes (Vector Laboratories, Burlingame, USA) erreicht. Dieser diente als Substrat für die mit dem Avidin-Biotin-Komplex konjugierte Peroxidase. Zwischen diesen Arbeitsgängen wurden die Präparate in Saline gespült. Die Saline wurde mittels Phosphatpuffer auf pH 7,4 titriert, die Oberflächenspannung mit Tween©20 reduziert. Die Gegenfärbung der Schnitte wurde 2 Sekunden lang in Hämalaun vorgenommen.

Färbung	α-Actin	RAM-11	Faktor-VIII
Epitop	glatte Muskelzellen	Kaninchenmakrophagen (112)	Endothelzellen (54)
Antigen-demaskierung		Präparate kochten 15 min in Citratpuffer (pH 6)	Präparate wurden 2 x 5 min in Histosafe-Enhancer erhitzt (Linaris, Wertheim-Bettingen)
Primärantikörper	Monoclonal Anti-Smooth Muscle Actin Mouse Ascites Fluid (Sigma, St. Louis, USA)	RAM 11 (Dako Corporation, Carpinteria, USA)	Anti-Human Factor VIII assoziiertes Antigen Serum/ Ziege (Incstar Corporation, Stillwater, USA)
Inkubationszeit	50 min bei 20 °C	60 min bei 20 °C	40 min bei 37 °C
Sekundärantikörper	Anti-Mouse-IgG, Vectastain, Vector Laboratories, Burlingame, USA		Anti-Goat -IgG, Vectastain, Vector Laboratories

Tabelle 1: Anwendung und Details der Antikörper

2.5 Auswertung der Präparate

2.5.1 Morphometrische Auswertung

Die quantitative Bestimmung der morphometrischen Daten erfolgte an Quer- und Längsschnitten, welche in Methakrylat eingebettet waren, unter Verwendung einer Morphometrie-Einrichtung (Mikroskop: Laborlux S., Fa. Leica, Bensheim. Digitalisierungstableau: Summagraphics Inc., Seymour, USA. Software: Bioquant intro, Bilany Consultant GmbH, Düsseldorf). Jede Messung wurde dreimal durchgeführt und aus diesen Messungen wurde das arithmetische Mittel errechnet. Am Gefäßquerschnitt wurde die Lumenfläche sowie die Flächen innerhalb der Lamina Elastica Interna und der Lamina Elastica Externa gemessen. Als vierter Meßwert der Querschnitte wurde die Länge der Lamina Elastica Interna bestimmt. Die vorläufige Intimafläche resultierte aus der Differenz der Flächen innerhalb der Lamina Elastica Interna und der Lumenfläche. Die Differenz der Flächen innerhalb der Lamina Elastica Interna und der Lamina Elastica Externa ergab die vorläufige Mediafläche.

Nicht exakt orthogonal durchgeführte Querschnitte waren eine Fehlerquelle der Meßwerte. Daher wurde sowohl die vorläufige Intimafläche wie auch die vorläufige Mediafläche mit einem Korrekturfaktor multipliziert:

$$\text{Intimafläche} = \frac{\text{vorläufige Intimafläche} \times 4\text{mm} \times \pi}{\text{Länge Lamina Elastica Interna}}$$

Formel 4: Berechnung der Intimafläche

$$\text{Mediafläche} = \frac{\text{vorläufige Mediafläche} \times 4\text{mm} \times \pi}{\text{Länge Lamina Elastica Interna}}$$

Formel 5: Berechnung der Mediafläche

An vier verschiedenen Positionen (Abb. 3) der Längsschnitte wurde sowohl die Dicke der Neointima wie auch der Media gemessen und schließlich die Ratio beider Gefäßschichten gebildet. Die erste Position lag innerhalb des Stents, die zweite am Stentausgang, die dritte im Übergangsstück zwischen Stent und Aorta, die vierte Messung befand sich im Bereich der nativen Aorta.

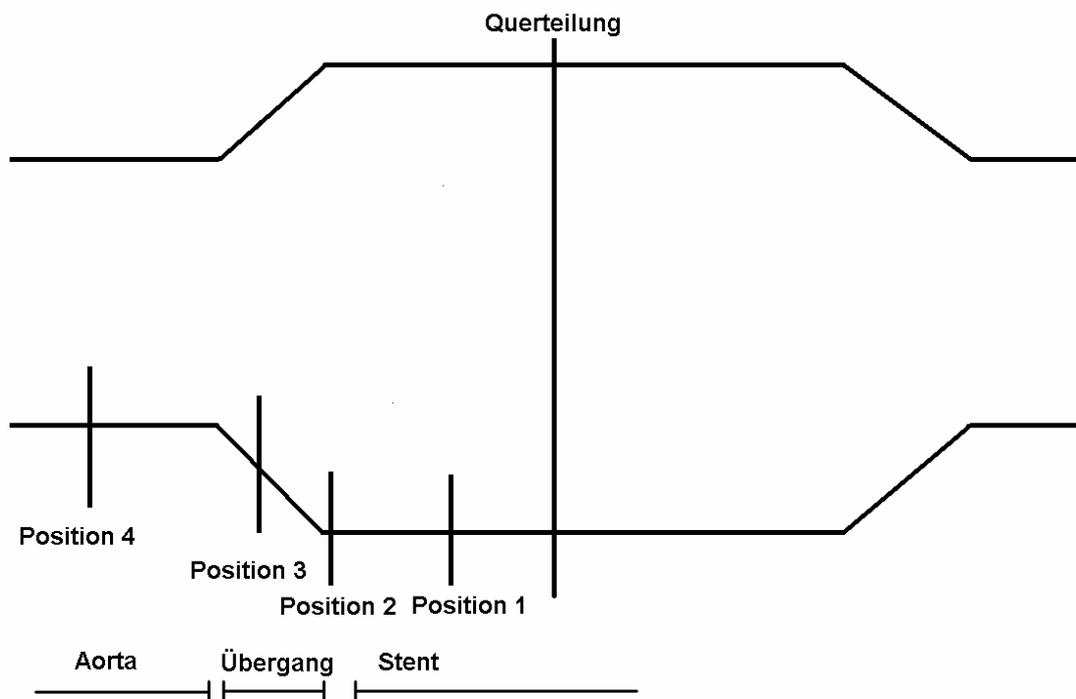


Abb. 3: Skizze der Meßpunkte

2.5.2 Zeldichte

Zum Zählen der Kerne in Neointima, Media und Adventitia wurden Photos aller HE-Paraffin-Präparate aufgenommen. Für die Aufnahmen wurde ein Mikroskop (Photomikroskop Axiophot, Carl Zeiss, Oberkochen), eine digitale Kamera (3CCD Color Video Camera MC-3255P Power HAD, Sony Corporation., Japan) sowie Software (Scion Image, Scion Corporation, MD, USA) verwendet. Die Datenspeicherung und Bildbearbeitung erfolgte im Tagged Image File Format.

Von Neointima, Media und Adventitia aller Präparate sind jeweils drei repräsentative Ausschnitte mit einer Fläche von $0,04603 \text{ mm}^2$ gewählt und fotografiert worden. Die Kerne wurden bei 972,1-facher Vergrößerung am Monitor (Vision Master 450, Ilyama) im CorelDRAW7 gezählt. Anschließend wurde das Areal der Kernzählung im CorelDRAW7 gemessen und anhand des Vergrößerungsfaktors in die vorliegende Objektfläche umgerechnet.

Die Zelldichte für Neointima, Media und Adventitia wurde anhand folgender Formel berechnet:

$$\text{Zelldichte [Kerne / mm}^2\text{]} = \frac{\text{Summe der Zellkerne}}{\text{Fläche aller 3 Bildausschnitte}}$$

Formel 6: Berechnung der Zelldichte

2.5.3 Auswertung der Immunhistochemie und Erfassung histopathologischer Strahlenfolgen

Die Immunhistochemie sowie histopathologisch erfassbare Strahlenfolgen wurden semiquantitativ mit 0, +, ++ oder +++ bewertet (Tabelle 2 und 3). Intima, Media, Adventitia und die nähere Umgebung der Streben wurden getrennt bewertet und verschiedenen histopathologischen Variablen zugeordnet.

Histopathologische Variable	Färbung	in Nachbarschaft zu den Streben	Intima	Media	Adventitia
Makrophagen	RAM		x	x	x
Muskelfilamente	Actin		x	x	x
Verkalkungen	HE, EvG			x	x
Ödeme	HE, EvG	x	x	x	x
Fibrinoide Insudate	HE, EvG	x	x	x	x
Nekrosen	HE, EvG	x	x	x	x
Degeneration glatter Muskelzellen	HE, EvG	x		x	
Endothelläsionen der Vasa vasorum	HE, EvG, Faktor-VIII				x
Fibrose	HE, EvG	x		x	x
Granulozytäre Infiltrate	HE, EvG	x	x	x	x
Mononukleäre Infiltrate	HE, EvG	x	x	x	x

Tabelle 2: Erfassung histopathologischer Strahlenfolgen I

Histopathologische Variable	Färbung		
Intraluminales Endothel Thrombotisches Material	Faktor-VIII	Intima	
	HE, EvG	frisch	älter

Tabelle 3: Erfassung histopathologischer Strahlenfolgen II

2.5.4 Statistische Auswertung

Zur Prüfung statistisch signifikanter Zusammenhänge wurden verschiedene Methoden verwendet. Diese statistischen Zusammenhänge wurden in Zusammenarbeit mit Herrn Rosenberger vom Institut für medizinische Informationsverarbeitung erstellt. Anhand der ermittelten Daten der Intimafläche wurde der Fisher-Exact Test durchgeführt (55). Der Fisher-Exact Test auf Unabhängigkeit war zugleich eine Approximation für den Vergleich der Grundwahrscheinlichkeiten zweier Binominalverteilungen aufgrund sehr kleiner Stichprobenumfänge.

Die Daten der Mediafläche, der Zelldichte von Media und Adventitia sowie der Cholesterinkonzentration im Plasma wurden mit Hilfe des Dunnett's Test geprüft. Die Prüfung auf Signifikanz dieser Daten war zulässig, da die Residuen (Shapiro-Wilk W Test) normal verteilt waren und zudem kein Unterschied der Residuenvarianz (Kruskal-Wallis Test) zwischen den Gruppen gegeben war.

Die Ratio der Dicke von Neointima und Media wurde an Gefäßlängsschnitten ermittelt. Anhand einer Varianzanalyse (ANOVA) wurden die Werte auf Signifikanz geprüft.

3 Ergebnisse

3.1 Versuchstiere

33 Kaninchen wurden sieben Wochen nach Stentimplantation abgetötet. Zusätzlich wurden zwei Langzeittiere der Hochdosisgruppe 23 Wochen nach Intervention getötet. Die Langzeittiere dienten der Prüfung eventueller Spätwirkungen der implantierten ¹⁸⁶Rhenium-Stents.

Fünf Versuchstiere erreichten nicht das Versuchsende. Ein Versuchstier der Aktivitätsgruppe 8,07 MBq, das schon präoperativ durch verminderte Nahrungsaufnahme aufgefallen war, starb innerhalb der ersten postoperativen Stunde. Die Obduktion des Kaninchens zeigte Lungenveränderungen, die mit einer Pneumonie vereinbar waren. Im Retroperitoneum wurde kein Hämatom gefunden.

Ein Stent der 2,58 MBq-Gruppe ließ sich nicht optimal freisetzen. Dilatationsversuche bis zu 16 atm konnten die Sanduhrform des Stents nicht verändern. Drei Tage später war das Tier tot. Eine Sektion zeigte kein retroperitoneales Hämatom. Wahrscheinlich ist das Lumen des Stents thrombosiert und führte anschließend zu einem spinalen Schock. Als Ursache für die inkomplette Aufdehnung des Stents wurde ein Verhaken der Stentstreben in der Stentmitte festgestellt.

Zwei Kaninchen, ein Kontrolltier sowie ein Kaninchen der Hochdosisgruppe starben intraoperativ infolge einer Aortenruptur. Die Sektionen beider Tiere zeigten jeweils ein großes retroperitoneales Hämatom.

Drei Monate nach Stentimplantation wurde ein Langzeittier der Hochdosisgruppe tot im Stall aufgefunden. Eine Erklärung für den Tod des Tieres konnte nicht gefunden werden. Im Rahmen der Sektion fanden sich weder strahlenbedingte Organveränderungen, noch andere Veränderungen, die den plötzlichen Tod des Tieres erklären konnten. Die Aorta zeigte weder ein Aneurysma noch Perforationen.

Zur morphometrischen und histopathologischen Auswertung verblieben 35 Weiße Neuseelandkaninchen (Abb. 1).

3.2 Cholesterinkonzentration im Plasma

Alle Versuchstiere erhielten präoperativ über 4 Wochen eine 0,5 %ige Cholesterindiät. Postoperativ erhielten die Kaninchen Normalfutter. Abb. 4 zeigt die Gesamtplasmacholesterinkonzentration der verschiedenen Gruppen im Vergleich zum Zeitpunkt der Stentimplantation. Die Abbildung 4 zeigt den Mittelwert, die Standardabweichung, Minimum und Maximum der Cholesterinwerte einer Versuchsgruppe. Der jeweilige Mittelwert und die Standardabweichung einer Versuchsgruppe sind als Punkt und Strecke dargestellt. Die Dreiecke sind Minimum und Maximum der Cholesterinwerte.

Die Kontrollgruppe zeigte mit 1379 ± 465 mg/dl den höchsten Cholesterinspiegel. Der niedrigste Cholesterinwert war in der 15,98 MBq-Gruppe zu beobachten. Statistisch signifikante Unterschiede der Versuchsgruppen gegenüber der Kontrollgruppe konnten nicht ermittelt werden.

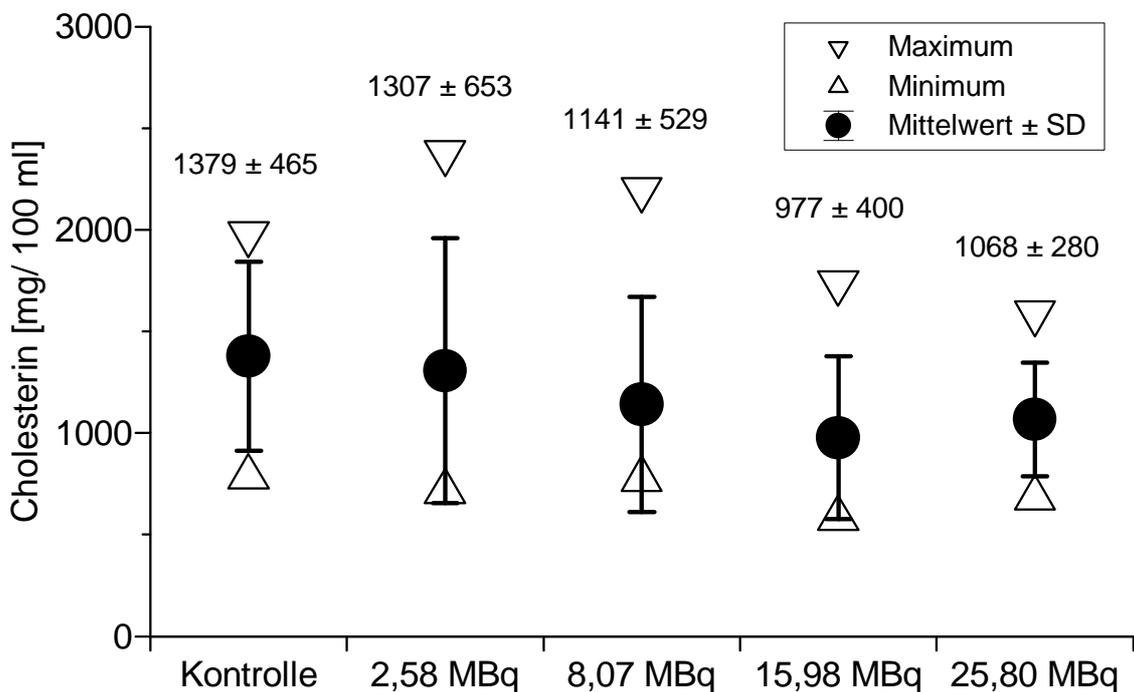


Abb. 4: Gesamtcholesterinkonzentration im Plasma zum Zeitpunkt der Stentimplantation

3.3 Morphometrische Daten sieben Wochen nach Stentimplantation

3.3.1 Intimafläche

Die Bestimmung der In-Stent Intimafläche erfolgte an Querschnitten der Präparate, welche in Methakrylat eingebettet waren. Sieben Wochen nach Ballondenudation und Stentimplantation zeigte die Neointimafläche eine Abnahme mit steigender Radioaktivität: Bei allen Kontrollkaninchen führte die Intervention und die Cholesterindiät zu einer deutlichen Intimaprolieration. Die Kontrolltiere entwickelten in sieben Wochen eine Intimafläche von $2,20 \pm 0,86 \text{ mm}^2$. Die Intimafläche der 2,58 MBq-Gruppe ($0,52 \pm 0,55 \text{ mm}^2$) und der 8,07 MBq-Gruppe ($0,36 \pm 0,53 \text{ mm}^2$) war kleiner als die der Kontrollgruppe. In einem Präparat der 2,58 MBq-Gruppe und in drei Präparaten der 8,07 MBq-Gruppe war keine Neointima vorhanden. Sämtliche Präparate der beiden höheren Dosisgruppen wiesen keine Neointima auf. Abb. 5 zeigt einen Vergleich der In-Stent Intimafläche zwischen den einzelnen Versuchsgruppen:

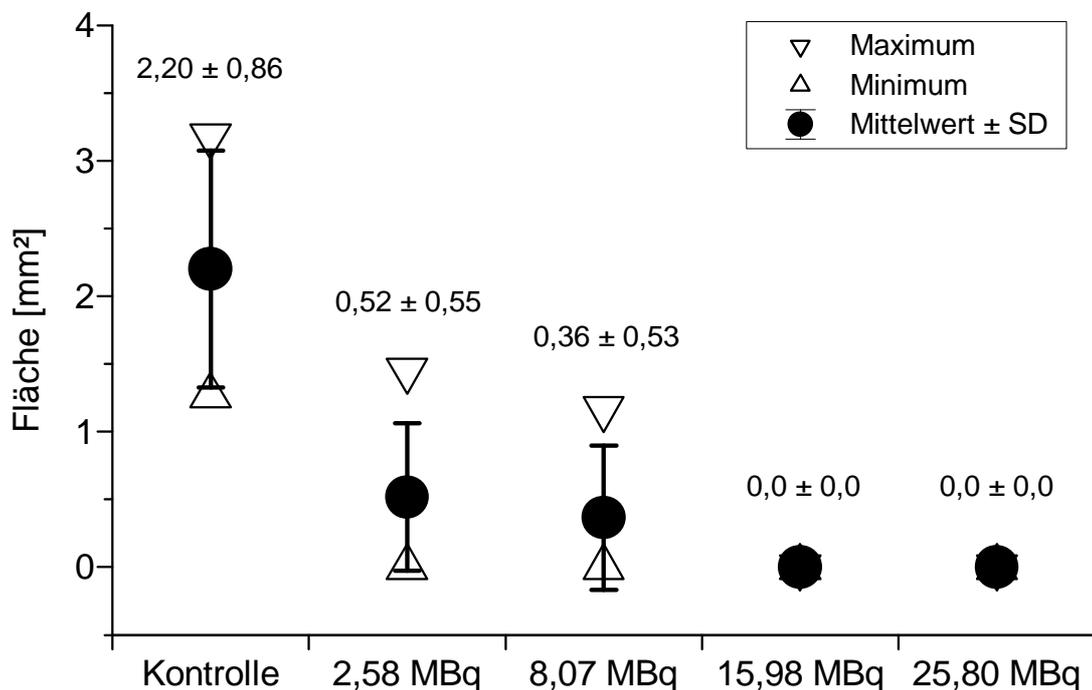


Abb. 5: Vergleich der In-Stent Intimafläche sieben Wochen nach Stentimplantation

Es konnte auf einen statistischen Vergleich der Intimafläche verzichtet werden, da schon mit dem Fisher-Exact Test eine statistische Aussage möglich war. Diese Ergebnisse sind in Tabelle 4 ($p < 0,001$) zusammengefaßt. Der p-Wert des Fisher-Exact Test gibt an, mit welcher Wahrscheinlichkeit die Verteilung der Tabelle zufällig ist.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Intima vorhanden (Anzahl der Präparate)	keine Intima vorhanden (Anzahl der Präparate)
Kontrolle (n=7)	7	0
2,58 MBq (n=6)	5	1
8,07 MBq (n=5)	2	3
15,98 MBq (n=6)	0	6
25,80 MBq (n=8)	0	8

Tabelle 4: Vergleich der In-Stent Intimafläche sieben Wochen nach Stentimplantation ($p < 0,001$, Fisher-Exact Test)

3.3.2 Längsschnitte

Die Intimafläche (Abb. 5) wurde ausschließlich an Querschnitten der Präparate gemessen. Längsschnitte der Präparate, welche den Stent sowie die anschließende Aorta umfaßten, ermöglichten eine Aussage hinsichtlich der Intima über eine relativ große Strecke. An vier verschiedenen Positionen (Abb. 3) der Längsschnitte wurde sowohl die Dicke der Neointima als auch der Media gemessen und schließlich die Ratio beider Gefäßschichten gebildet. In Abb. 6 ist diese Ratio der Kontroll- und der Hochdosisgruppe dargestellt.

Die Ratio Neointima zu Media wurde in einem Modell der Varianzanalyse (Abkürzung: ANOVA) auf Abhängigkeit von den quantitativen Größen Gruppe (Verum- und Kontrollgruppe), Position (4 Ausprägungen) und deren Interaktion untersucht. Das Signifikanzniveau wurde auf $\alpha = 5\%$ festgelegt.

Für die Kontrolle wurde an Meßpunkt 1 ein Schätzwert von 2,6 errechnet. Das Konfidenzintervall (95 %ige Wahrscheinlichkeit) lag zwischen 2,19 und 3,01. Der

Schätzwert der 25,80 MBq-Gruppe war 0, das Konfidenzintervall war zwischen $-0,41$ und $+0,41$. Die negative Ratio des unteren Konfidenzintervalles in der Hochdosisgruppe mußte bei diesem Modell als Artefakt betrachtet werden.

Die beiden Konfidenzintervalle der Kontroll- und der Hochdosisgruppe an Position 1 waren nicht innerhalb eines gemeinsamen Wertebereichs. Daher lag an Meßpunkt 1 eine statistische Signifikanz vor. Die Unterschiede zwischen der Kontroll- und der Hochdosisgruppe hinsichtlich ihrer Ratio an den Meßpunkten 2 und 4 waren ebenfalls statistisch signifikant.

Der Schätzwert [Intima/ Media] der Kontrollgruppe an Position 3 war $1,44 \pm 0,41$. Der Schätzwert für die Hochdosisgruppe lag bei $1,63 \pm 0,41$. Somit waren die beiden Konfidenzintervalle der Kontroll- und der Hochdosisgruppe an Position 3 innerhalb eines gemeinsamen Wertebereichs. Es ist ersichtlich, daß an Meßpunkt 3 kein statistisch signifikanter Unterschied gegeben war.

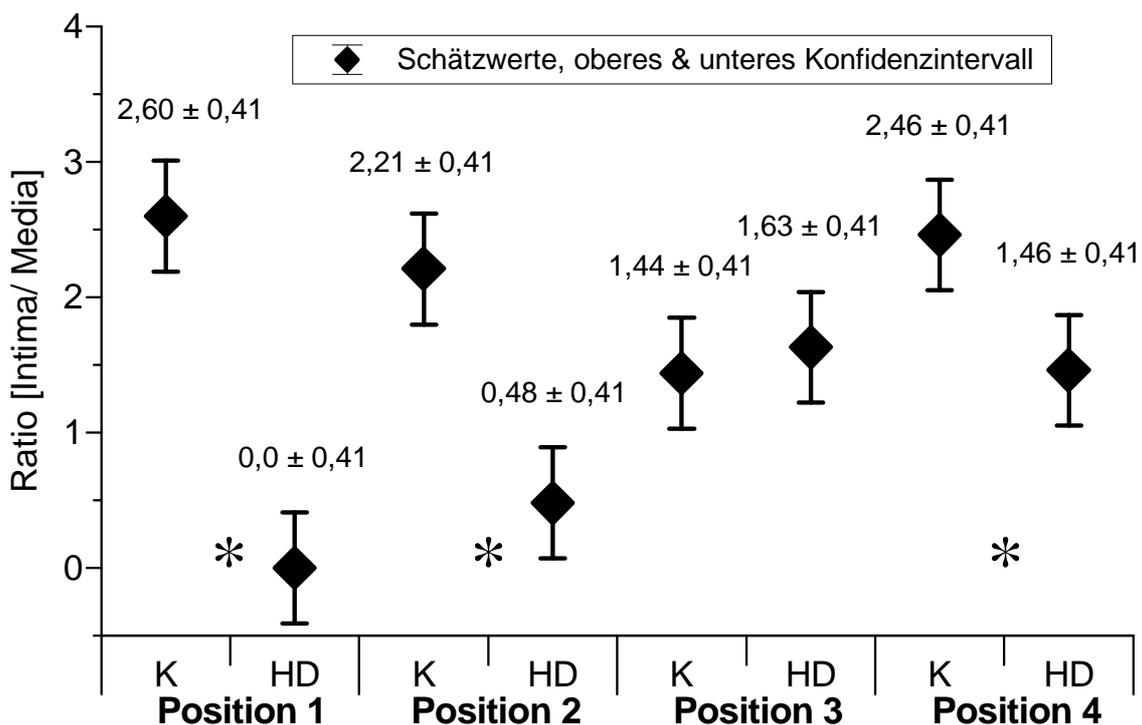


Abb. 6: Ratio [Intima/ Media] der Kontroll- (K) und Hochdosisgruppe (HD) sieben Wochen nach Stentimplantation

* statistisch signifikante Unterschiede der Hochdosisgruppe gegenüber der Kontrollgruppe (ANOVA; $p < 0,05$)

3.3.3 Mediafläche

Die Mediafläche wurde an Querschnitten der Präparate bestimmt. Abb. 7 zeigt die Mediafläche der verschiedenen Gruppen im Vergleich. In der Kontrollgruppe war mit $0,85 \pm 0,24 \text{ mm}^2$ die größte Mediafläche nachweisbar. Die Versuchsgruppen mit radioaktiven Stents zeigten eine dosisabhängige Reaktion der Mediafläche: Mit zunehmender Dosis nahm die Mediafläche ab.

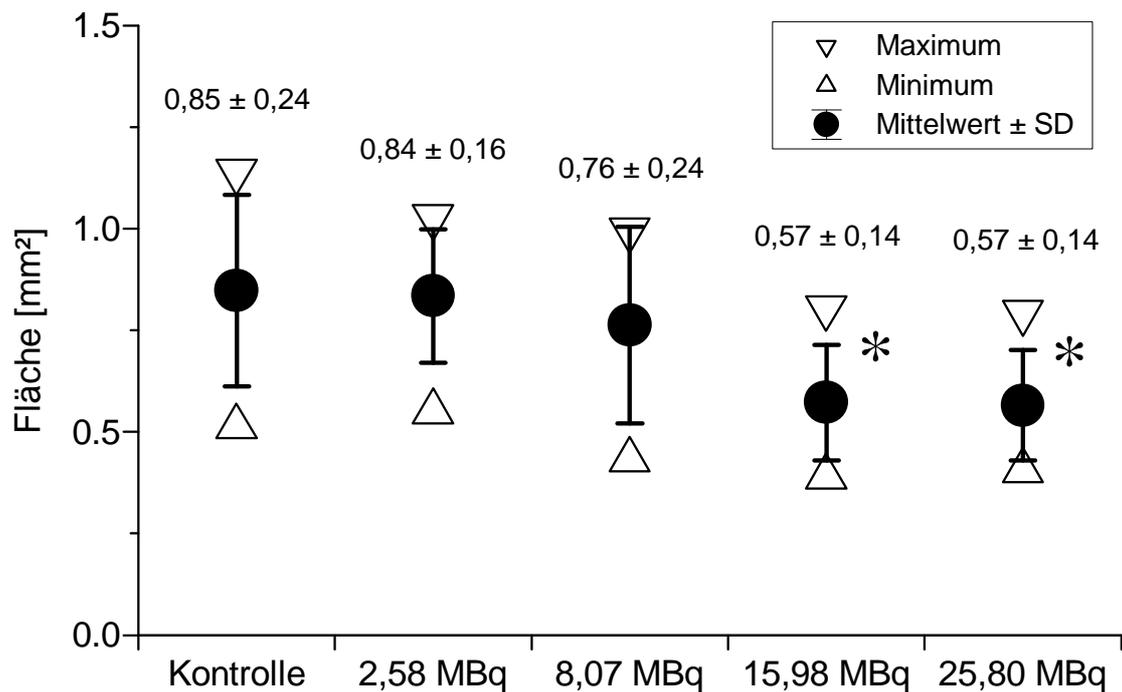


Abb. 7: Mediafläche sieben Wochen nach Stentimplantation

* statistisch signifikanter Unterschied der Mediafläche gegenüber der Kontrollgruppe (Dunnett's Test; $p < 0,05$)

Die Gruppen mit 15,98 MBq und 25,80 MBq zeigten beide eine Mediafläche von jeweils $0,57 \pm 0,14 \text{ mm}^2$. Die Mittelwerte dieser beiden Versuchsgruppen waren im Dunnett's Test signifikant kleiner als der Mittelwert der Kontrollgruppe. Die Prüfung auf Signifikanz war zulässig, da die Residuen (Shapiro-Wilk W Test) normal verteilt waren und zudem kein Unterschied der Residuenvarianz (Kruskal-Wallis Test) zwischen den Gruppen gegeben war.

3.4 Zelldichte sieben Wochen nach Stentimplantation

3.4.1 Zelldichte der Neointima

Die Zelldichte beschreibt das Verhältnis zwischen Zellzahl und extrazellulärer Matrix. Der Mittelwert der Dichte aller Intimazellen war in der Kontrollgruppe ($4171,00 \pm 1304,15$ Zellen/mm²) größer als die Mittelwerte der beiden unteren Dosisgruppen (2,58 MBq: $2835,63 \pm 589,68$ Zellen/mm²; 8,07 MBq: $2418,36 \pm 205,29$ Zellen/mm²). Statistisch signifikante Unterschiede gegenüber der Kontrollgruppe konnten bei einem Signifikanzniveau von Alpha = 5 % nicht ermittelt werden.

3.4.2 Zelldichte der Media

Die Zelldichte der Media der Kontrollgruppe belief sich auf 4047 ± 1412 Zellen / mm² und war größer als die Zelldichte der vier Gruppen mit radioaktiven Stents. Die Zelldichte der Media der 15,98 MBq-Gruppe betrug 2967 ± 723 Zellen / mm². Statistisch signifikante Unterschiede zwischen der 15,98 MBq-Gruppe und der Kontrollgruppe konnten nicht festgestellt werden

Die Zelldichte der Media der Gruppen mit 2,58 MBq (2197 ± 836 Zellen / mm²), 8,07 MBq (2109 ± 549 Zellen / mm²) und 25,80 MBq (1660 ± 633 Zellen / mm²) war im Dunnett's Test signifikant kleiner als die der Kontrollgruppe. Die Anforderungen der Methoden nach Shapiro-Wilk W und Kruskal-Wallis waren erfüllt.

Die unterschiedliche Zelldichte der Media ist in Abb. 8 für die einzelnen Gruppen dargestellt.

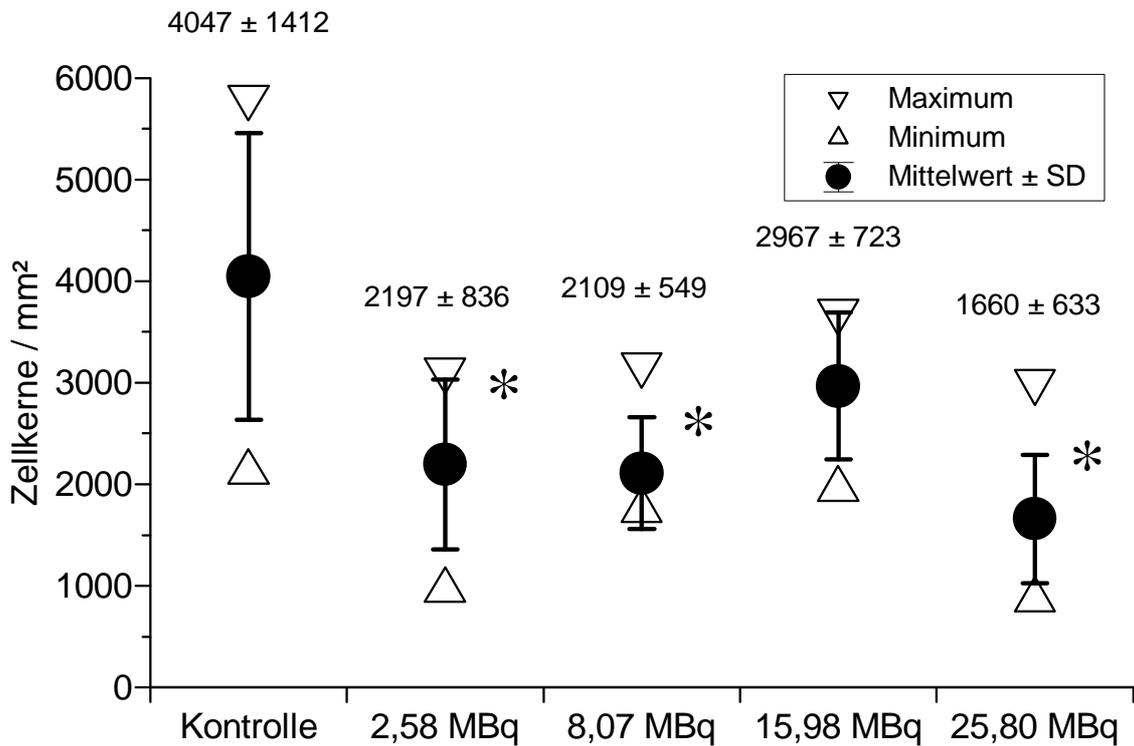


Abb. 8: Zelldichte der Media sieben Wochen nach Stentimplantation

*statistisch signifikanter Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe (Dunnett's Test; $p < 0,05$)

3.4.3 Zelldichte der Adventitia

Die Zelldichte der Adventitia der 25,80 MBq-Gruppe betrug 2349 ± 713 Zellen/ mm^2 und war signifikant größer (Dunnett's Test) als diejenige der Kontrollgruppe (1277 ± 266 Zellen/ mm^2). Die Anforderungen von Shapiro-Wilk W und Kruskal-Wallis waren erfüllt. Zwischen der Kontrollgruppe und den übrigen Versuchsgruppen mit radioaktiv dotierten Stents waren keine signifikanten Unterschiede erkennbar.

Abb. 9 zeigt die Zelldichte der Adventitia der verschiedenen Gruppen im Vergleich.

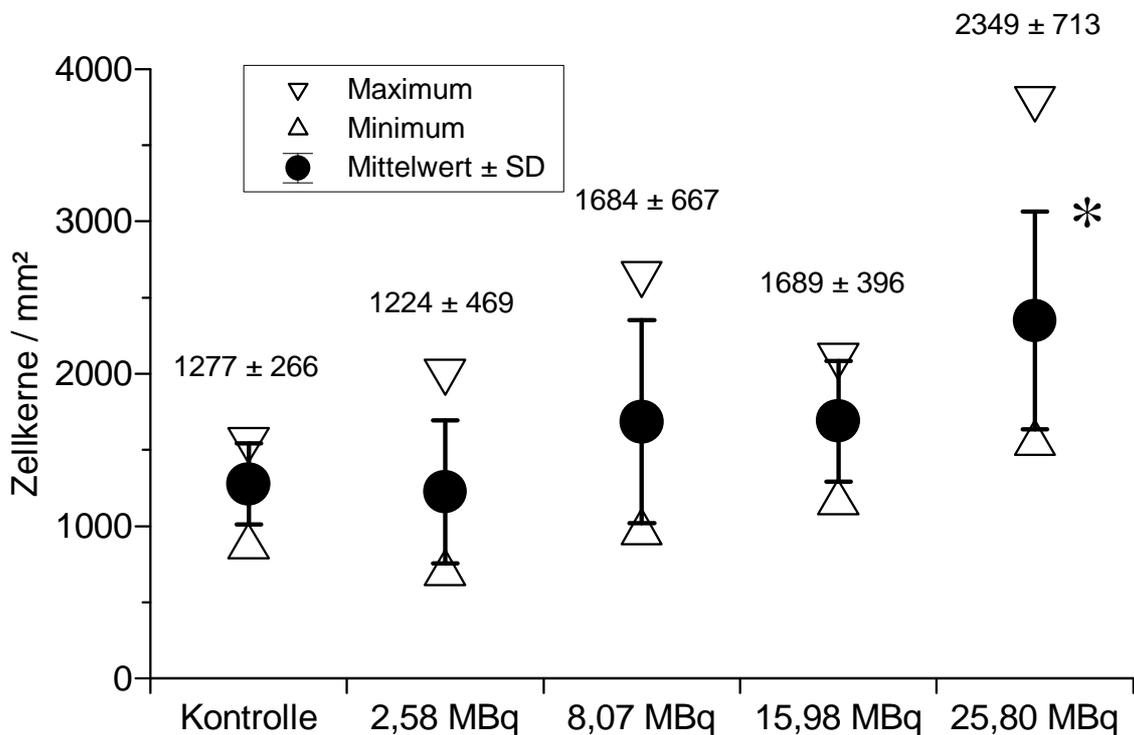


Abb. 9: Zelldichte der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

*statistisch signifikanter Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe (Dunnett's Test; $p < 0,05$)

3.5 Immunhistochemische Analyse sieben Wochen nach Stentimplantation

3.5.1 Faktor-VIII-Färbung

Sieben Wochen nach Denudation der infrarenalen Aorta und anschließender Stentimplantation wurde das Endothel immunhistochemisch gefärbt.

Je nach Färbung des Endothels mit dem Antikörper Faktor-VIII erfolgte eine Einstufung in 0, +, ++ oder +++. Wenn 70-100 % der Zirkumferenz (circa: 4π mm) des Aortenquerschnitts immunhistochemisch angefärbt waren, wurde das Präparat bezüglich der Faktor-VIII-Färbung mit +++ bewertet. Bei einem Anteil von 30-70 % ergab dies eine Bewertung von ++, bei 0-30 % eine Bewertung von +. Ein Ausbleiben der Faktor-VIII-Färbung wurde mit 0 bewertet. Tabelle 5 zeigt die semiquantitative Bewertung der

Faktor-VIII-Färbung des intraluminalen Endothels und des Endothels der Vasa vasorum nach sieben Wochen. In der linken Spalte sind die Gruppen aufgeführt. Die Zahlen in Klammern in der linken Spalte informieren über die Gesamtsumme der bewerteten Kaninchen. Die erste Zahl in Klammern bezieht sich auf die Anzahl der Kaninchen einer Versuchsgruppe, welche für die Bewertung des intraluminalen Endothels verwendet wurden. Die zweite Zahl nimmt Bezug auf die Anzahl der bewerteten Tiere für die Faktor-VIII Bewertung des Endothels der Vasa vasorum.

Die Auswertung zeigte eine dosisabhängige Reduktion des intraluminalen Endothels. Die Kaninchen der Kontrollgruppe zeigten eine gute bis sehr gute Faktor-VIII Färbung des intraluminalen Endothels. Die Färbung des intraluminalen Endothels mit Faktor-VIII Antikörper war nur an drei von sechs Kaninchen der 2,58 MBq-Gruppe möglich. Die drei Gruppen mit den Aktivitäten 8,07 MBq, 15,98 MBq und 25,80 MBq zeigten keine Reaktion auf die Faktor-VIII Färbung.

Alle Vasa vasorum eines Präparatquerschnittes wurden bezüglich ihrer Anfärbbarkeit auf Faktor-VIII im Gesamten bewertet. Analog zur Bewertung des intraluminalen Endothels wurde eine maximale Färbung mit +++, eine mittlere mit ++, eine geringe mit + und keine Anfärbbarkeit mit 0 bewertet.

Die Ergebnisse zeigten, daß die Vasa vasorum (Tabelle 5) in der Adventitia der Kontrollgruppe und der 2,58 MBq-Gruppe in einem sehr guten Zustand waren. Die höheren Dosisgruppen wiesen einen schwachen Endothelschaden auf.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Faktor-VIII Färbung des intraluminalen Endothels (Anzahl der Präparate)				Faktor-VIII Färbung des Endothels der Vasa vasorum (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	-	1	2	4	-	-	-	7
2,58 MBq (n=6; 6)	3	2	1	-	-	-	-	6
8,07 MBq (n=6; 6)	6	-	-	-	-	-	2	4
15,98 MBq (n=6; 6)	6	-	-	-	-	2	4	-
25,80 MBq (n=8; 8)	8	-	-	-	-	-	7	1

Tabelle 5: Semiquantitative Bewertung der Faktor-VIII-Färbung des intraluminalen Endothels und des Endothels der Vasa vasorum sieben Wochen nach Stentimplantation

3.5.2 RAM-11-Färbung

Zur Anfärbung von Makrophagen wurde RAM-11 als Primärantikörper verwendet, da dieser spezifisch mit einem Antigen von Kaninchenmakrophagen reagiert.

Die drei Gefäßwandschichten aller Präparate wurden jeweils getrennt auf deren RAM-Färbung untersucht. Wenn 40-100 % der Fläche einer Gefäßwandschicht immunhistochemisch angefärbt waren, wurde das Präparat bezüglich der RAM-Färbung mit +++ bewertet. Bei einem Anteil von 15-40 % ergab dies eine Bewertung von ++, bei 0-15 % eine Bewertung von +. Ein Ausbleiben der RAM-Färbung wurde mit 0 bewertet. Da die 15,98 MBq- und die 25,80 MBq-Gruppe keine Neointima gebildet hatten, konnte die RAM-11-Färbung der Intima dieser beiden Gruppen nicht bewertet werden.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Fläche der RAM-positiven Areale in der Intima (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
Kontrolle (n=7)	-	3	3	1				
2,58 MBq (n=5)	-	1	4	-				
8,07 MBq (n=2)	1	-	1	-				
15,98 MBq (n=0)	-	-	-	-				
25,80 MBq (n=0)	-	-	-	-				
	Fläche der RAM-positiven Areale in der Media (Anzahl der Präparate)				Fläche der RAM-positiven Areale in der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	1	1	5	-	7	-	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	5	-	1	-	5	-	1	-
8,07 MBq (n=6; 6)	1	1	2	2	5	1	-	-
15,98 MBq (n=6; 6)	-	1	4	1	1	4	-	1
25,80 MBq (n=8; 8)	1	5	1	1	7	1	-	-

Tabelle 6: Flächengröße der RAM-positiven Areale in der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

Die Neointima zeigte große RAM-positive Flächen. Die RAM-positiven Areale der Kontrolltiere waren vorwiegend entlang der Lamina Elastica Interna zu lokalisieren. In der Tunica Adventitia war mit Ausnahme der 15,98 MBq-Gruppe der Nachweis der

RAM-positiven Flächen negativ bis leicht positiv. Es konnte hinsichtlich der RAM-Färbung weder innerhalb der Intima, der Media noch in der Adventitia ein dosisabhängiger Effekt beobachtet werden.

3.5.3 α -Actin –Färbung

Mittels der α -Actin-Färbung wurden glatte Muskelzellen nachgewiesen (54). Die Bewertung der α -Actin-Färbung erfolgte nach dem gleichen System wie die RAM-11-Färbung (3.5.2).

Auffällig war eine dosisabhängige Reaktion dieser Immunhistochemie in Media und Adventitia. Mit steigender Strahlung nahmen die α -Actin positiven Flächen in der Media ab und in der Adventitia zu.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Fläche der α -Actin positiven Areale in der Intima (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
Kontrolle (n=7)	-	1	3	3				
2,58 MBq (n=5)	-	-	3	2				
8,07 MBq (n=2)	-	2	-	-				
15,98 MBq (n=0)	-	-	-	-				
25,80 MBq (n=0)	-	-	-	-				
	Fläche der α -Actin- positiven Areale in der Media (Anzahl der Präparate)				Fläche der α -Actin- positiven Areale in der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	-	-	2	5	7	-	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	-	-	2	4	-	5	1	-
8,07 MBq (n=6; 6)	-	1	1	4	-	4	2	-
15,98 MBq (n=6; 6)	1	3	2	-	-	-	5	1
25,80 MBq (n=7; 7)	2	5	-	-	-	-	4	3

Tabelle 7: Flächengröße der α -Actin-positiven Areale in der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6 Histopathologische Strahlenfolgen sieben Wochen nach Stentimplantation

Ionisierende Strahlen können histopathologische Veränderungen im Gewebe bewirken. Zur Beschreibung möglicher Strahlenwirkungen auf die Gefäßwand wurden die folgenden Parameter an histologischen Gefäßwandquerschnitten semiquantitativ bestimmt (Tabelle 2 und 3).

3.6.1 Thrombotisches Material

Innerhalb des Lumens der gestenteten Gefäßquerschnitte wurde frisches und älteres thrombotisches Material getrennt beurteilt. Beide Subtypen der Thromben waren vorwiegend an den Stentstreben abgelagert. Verglichen mit der Kontrollgruppe, waren die Thromben der Versuchsgruppen fibrinreicher und weniger bindegewebsartig organisiert.

Mit steigender Radioaktivität nahmen zwar beide Formen des thrombotischen Materials diskret zu, jedoch war der Anteil der Thromben bezüglich der Fläche des Gefäßquerschnittes derart gering, daß keine meßbar relevante Stenose des Gefäßlumens entstand.

Keines der 33 Kaninchen in Tabelle 8 zeigte Symptome für eine akute, subakute oder späte arterielle Thrombose.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	frisches thrombotisches Material (Anzahl der Präparate)				älteres thrombotisches Material (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
	Kontrolle (n=7; 7)	6	1	-	-	7	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	2	4	-	-	-	5	1	-
8,07 MBq (n=6; 6)	1	4	1	-	-	3	2	1
15,98 MBq (n=6; 6)	1	3	2	-	-	2	3	1
25,80 MBq (n=8; 8)	3	4	1	-	-	1	6	1

Tabelle 8: Semiquantitative Bewertung des frischen und des älteren thrombotischen Materials sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.2 Fibrose

Je höher die Radioaktivität war, umso ausgeprägter zeigte sich die Fibrose in der Tunica Adventitia der gestenteten Aorta abdominalis. Innerhalb der Media und in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Stentstreben war die Zunahme der Fibrosierung mit steigender Radioaktivität weniger deutlich zu erkennen.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Ausprägung der Fibrose in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7)	-	7	-	-	3	4	-	-
2,58 MBq (n=6)	-	5	1	-	-	5	1	-
8,07 MBq (n=6)	-	3	3	-	-	2	3	1
15,98 MBq (n=6)	-	3	3	-	-	1	3	2
25,80 MBq (n=8)	-	-	6	2	-	-	2	6
	Ausprägung der Fibrose innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Ausprägung der Fibrose innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	-	7	-	-	3	4	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	-	5	1	-	-	5	1	-
8,07 MBq (n=6; 6)	-	5	1	-	-	2	3	1
15,98 MBq (n=6; 6)	-	5	1	-	-	1	3	2
25,80 MBq (n=8; 8)	-	1	7	-	-	-	2	6

Tabelle 9: Semiquantitative Bewertung der Ausprägung der Fibrose in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.3 Degeneration glatter Muskelzellen

Die Präparate der Kontrollgruppe zeigten sowohl in Nähe zu den Stentstreben, als auch innerhalb der Media einen geringen Anteil von degenerierten glatten Muskelzellen. Mit steigender Radioaktivität nahm der Anteil von degenerierten Muskelzellen zu.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von degenerierten glatten Muskelzellen in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von degenerierten glatten Muskelzellen innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
	Kontrolle (n=7; 7)	-	7	-	-	-	7	-
2,58 MBq (n=6; 6)	-	6	-	-	-	5	1	-
8,07 MBq (n=6; 6)	-	1	3	2	-	4	1	1
15,98 MBq (n=6; 6)	-	1	5	-	-	3	3	-
25,80 MBq (n=8; 8)	-	-	5	3	-	-	6	2

Tabelle 10: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von degenerierten glatten Muskelzellen in Nähe zu den Stentstreben und innerhalb der Media sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.4 Verkalkungen

Innerhalb der Kontroll-, der 15,98 MBq- und der 25,80 MBq-Gruppe zeigte die Häufigkeit von Verkalkungen in der Media eine breite Streuung. In dieser Gefäßschicht ließ sich zwischen der Strahlendosis und dem Auftreten von Verkalkungen kein Zusammenhang ableiten. Im Bereich der Tunica Adventitia traten keine Kalkablagerungen auf.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von Verkalkungen innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von Verkalkungen innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
	Kontrolle (n=7; 7)	4	2	-	1	7	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	5	-	-	1	6	-	-	-
8,07 MBq (n=6; 6)	6	-	-	-	6	-	-	-
15,98 MBq (n=6; 6)	1	2	1	2	6	-	-	-
25,80 MBq (n=8; 8)	1	4	1	2	8	-	-	-

Tabelle 11: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von Verkalkungen innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.5 Zellnekrosen

Mit zunehmender Strahlendosis stieg die Anzahl nekrotischer Zellen in Nähe der Stentstreben, innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von Zellnekrosen in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von Zellnekrosen innerhalb der Intima (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	6	1	-	-	6	1	-	-
2,58 MBq (n=6; 5)	-	5	1	-	3	2	-	-
8,07 MBq (n=6; 2)	-	6	-	-	1	1	-	-
15,98 MBq (n=6; 0)	-	2	3	1	-	-	-	-
25,80 MBq (n=8; 0)	-	3	4	1	-	-	-	-
	Häufigkeit von Zellnekrosen innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von Zellnekrosen innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	7	-	-	-	7	-	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	5	-	1	-	6	-	-	-
8,07 MBq (n=6; 6)	2	4	-	-	3	3	-	-
15,98 MBq (n=6; 6)	-	2	3	1	3	2	1	-
25,80 MBq (n=8; 8)	-	7	1	-	3	4	1	-

Tabelle 12: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von Zellnekrosen in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.6 Ödeme

Mit steigender Strahlendosis nahm die Ausprägung der Gewebsödeme in unmittelbarer Nachbarschaft zu den Stentstreben sowie in der Media und in der Adventitia zu.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Ausprägung der Ödeme in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)				Ausprägung der Ödeme innerhalb der Intima (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	6	-	1	-	1	3	2	1
2,58 MBq (n=6; 5)	4	2	-	-	-	4	1	-
8,07 MBq (n=6; 2)	1	3	2	-	-	2	-	-
15,98 MBq (n=6; 0)	2	4	-	-	-	-	-	-
25,80 MBq (n=8; 0)	5	3	-	-	-	-	-	-
	Ausprägung der Ödeme innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Ausprägung der Ödeme innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	5	2	-	-	5	2	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	3	3	-	-	5	1	-	-
8,07 MBq (n=6; 6)	2	3	-	1	1	3	2	-
15,98 MBq (n=6; 6)	1	5	-	-	1	2	3	-
25,80 MBq (n=8; 8)	2	6	-	-	2	3	3	-

Tabelle 13: Semiquantitative Bewertung der Ausprägung der Ödeme in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.7 Fibrinoide Insudate

Als Fibrinoid werden bei Gewebeerfall frei werdende Substanzen bezeichnet, die sich mit dem sauren Farbstoff Eosin färben und Färbeeigenschaften des Fibrins besitzen. Bei dieser extrazellulär lokalisierten homogenen Substanz handelt es sich um Bestandteile von zerfallenen Zellen (3).

In unserer Studie nahm die Häufigkeit von fibrinoiden Einlagerungen in der interzellulären Substanz mit steigender Dosis im gesamten betrachteten Gefäßquerschnitt zu.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten innerhalb der Intima (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	4	3	-	-	6	1	-	-
2,58 MBq (n=6; 5)	-	2	3	1	-	5	-	-
8,07 MBq (n=6; 2)	2	4	-	-	2	-	-	-
15,98 MBq (n=6; 0)	-	-	3	3	-	-	-	-
25,80 MBq (n=8; 0)	-	1	5	2	-	-	-	-
	Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	7	-	-	-	7	-	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	3	2	1	-	6	-	-	-
8,07 MBq (n=6; 6)	4	2	-	-	4	2	-	-
15,98 MBq (n=6; 6)	-	1	4	1	-	1	3	2
25,80 MBq (n=8; 8)	1	6	1	-	-	6	2	-

Tabelle 14: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.6.8 Granulozytäre Infiltrate und mononukleäre Infiltrate

Granulozyten sind Leukozyten der frühen zellulären Entzündungsreaktion. Mit steigender Radioaktivität nahm die Dichte der granulozytären Infiltrate in Nachbarschaft zu den Stentstreben zu (Tabelle 15). Innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia war die Zunahme der granulozytären Infiltrate weniger stark ausgeprägt.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Dichte der granulozytären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)				Dichte der granulozytären Infiltrate innerhalb der Intima (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
	Kontrolle (n=7; 7)	6	1	-	-	7	-	-
2,58 MBq (n=6; 5)	2	4	-	-	1	4	-	-
8,07 MBq (n=6; 2)	-	4	2	-	-	2	-	-
15,98 MBq (n=6; 0)	-	1	2	3	-	-	-	-
25,80 MBq (n=8; 0)	-	3	2	3	-	-	-	-
	Dichte der granulozytären Infiltrate innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Dichte der granulozytären Infiltrate innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	7	-	-	-	7	-	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	6	-	-	-	6	-	-	-
8,07 MBq (n=6; 6)	4	2	-	-	5	1	-	-
15,98 MBq (n=6; 6)	-	4	2	-	1	5	-	-
25,80 MBq (n=8; 8)	-	8	-	-	4	4	-	-

Tabelle 15: Semiquantitative Bewertung der Dichte der granulozytären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

Mononukleäre Zellen repräsentieren die späte zelluläre Entzündungsreaktion. In Nachbarschaft zu den Stentstreben und innerhalb der Tunica Adventitia nahm die Dichte der mononukleären Infiltrate mit steigender Radioaktivität zu (Tabelle 16). Innerhalb der

Intima und der Media zeigte die Dichte der mononukleären Infiltrate eine mittlere Ausprägung und war unabhängig von der Strahlendosis.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Dichte der mononukleären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)				Dichte der mononukleären Infiltrate innerhalb der Intima (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	6	1	-	-	2	1	4	-
2,58 MBq (n=6; 5)	2	4	-	-	1	3	1	-
8,07 MBq (n=6; 2)	-	4	2	-	-	2	-	-
15,98 MBq (n=6; 0)	-	1	2	3	-	-	-	-
25,80 MBq (n=8; 0)	-	3	2	3	-	-	-	-
	Dichte der mononukleären Infiltrate innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Dichte der mononukleären Infiltrate innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle (n=7; 7)	1	4	2	-	6	1	-	-
2,58 MBq (n=6; 6)	4	2	-	-	4	2	-	-
8,07 MBq (n=6; 6)	2	3	1	-	-	4	2	-
15,98 MBq (n=6; 6)	-	4	2	-	-	1	4	1
25,80 MBq (n=8; 8)	1	7	-	-	-	3	4	1

Tabelle 16: Semiquantitative Bewertung der Dichte der mononukleären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Intima, der Media und der Adventitia sieben Wochen nach Stentimplantation

3.7 Langzeitergebnisse

Zwei Kaninchen der 25,80 MBq-Gruppe wurden 23 Wochen nach Stentimplantation getötet. Anhand dieser Tiere wurden die biologischen Spätwirkungen der radioaktiven ¹⁸⁶Rhenium-Stents auf die Gefäßwand untersucht. Hierzu wurde die Intimafläche gemessen sowie die Faktor-VIII Färbung, das thrombotische Material und die Histopathologie ausgewertet.

3.7.1 Morphometrische Daten 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.1.1 Intimafläche

23 Wochen nach Stentimplantation war keine Intimahyperplasie vorhanden und die In-Stent Intimafläche betrug demnach null. Diese Resultate stimmten mit den Ergebnissen der 25,80 MBq-Tiere, welche nach sieben Wochen getötet wurden, überein.

Auf eine statistische Prüfung der Ergebnisse wurde verzichtet. Zum einen waren keine Ergebnisse von Kontrollkaninchen, welche 23 Wochen nach Stentimplantation getötet wurden, vorhanden und zum anderen war die Gruppe der Langzeittiere von $n = 2$ zu klein.

3.7.2 Immunhistochemische Analyse 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.2.1 Faktor-VIII-Färbung

23 Wochen nach der Ballondenudation und der Implantation eines ^{186}Re -Stents der Aktivität 25,80 MBq konnte keine Regeneration des intraluminalen Endothels festgestellt werden. Das Endothel der Vasa vasorum war nahezu in einem physiologischen Status. Die Ergebnisse der Faktor-VIII-Immunhistochemie der Langzeitkaninchen sind in Tabelle 17 dargestellt.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Faktor-VIII Färbung des intraluminalen Endothels (Anzahl der Präparate)				Faktor-VIII Färbung des Endothels der Vasa vasorum (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	2	-	-	-	-	-	1	1

Tabelle 17: Semiquantitative Bewertung der Faktor-VIII-Färbung des intraluminalen Endothels und des Endothels der Vasa vasorum 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3 Pathohistologische Strahlenfolgen 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.1 Thrombotisches Material

Intraluminal war kein frisches thrombotisches Material vorhanden. An den Stentstreben wurde eine mittlere Ansammlung des älteren thrombotischen Materials beobachtet. Bezüglich der Fläche des Gefäßquerschnittes war das thrombotische Material so gering, daß keine Stenose des Gefäßlumens meßbar war. Während der 23 postoperativen Wochen der zwei Langzeitkaninchen wurden keine Symptome für akute, subakute oder späte thrombotische Gefäßverschlüsse beobachtet.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	frisches thrombotisches Material (Anzahl der Präparate)				älteres thrombotisches Material (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	2	-	-	-	-	1	1	-

Tabelle 18: Semiquantitative Bewertung des frischen und des älteren thrombotischen Materials 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.2 Fibrose

Die Adventitia der Langzeittiere zeigte eine deutliche Ausprägung der Fibrose. Innerhalb der Media und in Nachbarschaft zu den Stentstreben war eine Fibrosierung mittleren Ausmaßes zu beobachten.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Ausprägung der Fibrose in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2)	-	1	1	-	-	1	1	-
	Ausprägung der Fibrose innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Ausprägung der Fibrose innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	-	1	1	-	-	-	1	1

Tabelle 19: Semiquantitative Bewertung der Ausprägung der Fibrose in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.3 Degeneration glatter Muskelzellen

Aus Tabelle 20 ist ersichtlich, daß sowohl in Nähe zu den Stentstreben wie auch in der übrigen Media ein hoher Anteil von degenerierten Muskelzellen zu beobachten war.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von degenerierten glatten Muskelzellen in Nähe zu den Stentstreben				Häufigkeit von degenerierten glatten Muskelzellen innerhalb der Media			
	(Anzahl der Präparate)				(Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	-	-	2	-	-	-	2	-

Tabelle 20: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von degenerierten glatten Muskelzellen in Nähe zu den Stentstreben und innerhalb der Media 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.4 Verkalkungen

Die Verkalkungen in der Media der zwei Langzeitpräparate waren nicht einheitlich: In einem Präparat waren keine und im anderen Präparat waren sehr viele Verkalkungen nachweisbar. In der Adventitia beider Kaninchen zeigten sich keine Verkalkungen. Diese Ergebnisse sind ähnlich wie die Resultate der Kurzzeittiere.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von Verkalkungen innerhalb der Media				Häufigkeit von Verkalkungen innerhalb der Adventitia			
	(Anzahl der Präparate)				(Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	1	-	-	1	2	-	-	-

Tabelle 21: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von Verkalkungen innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.5 Zellnekrosen

Die Auswertung der Zellnekrosen wurde in Nähe zu den Stentstreben, in der Media und in der Adventitia vorgenommen. In der Nähe der Stentstreben war eine große Anzahl nekrotischer Zellen vorhanden. In der Media und in der Adventitia waren einzelne nekrotische Zellen zu lokalisieren.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von Zellnekrosen in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
25,80 MBq (n=2)	-	-	2	-				
	Häufigkeit von Zellnekrosen innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von Zellnekrosen innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	-	1	1	-	-	2	-	-

Tabelle 22: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von Zellnekrosen in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.6 Ödeme

Die Gewebsödeme der verschiedenen Gefäßwandbereiche sind in Tabelle 23 dargestellt. Die Ödeme in der Adventitia waren ausgeprägt. Keine oder geringe ödematöse Veränderungen konnten in unmittelbarer Nähe zu den Stentstreben und in der Media nachgewiesen werden.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Ausprägung der Ödeme in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
25,80 MBq (n=2)	1	1	-	-				
	Ausprägung der Ödeme innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Ausprägung der Ödeme innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	1	1	-	-	-	-	2	-

Tabelle 23: Semiquantitative Bewertung der Ausprägung der Ödeme in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.7 Fibrinoide Insudate

Nach 23 Wochen waren in Nachbarschaft zu den Stentstreben und innerhalb der Media häufig fibrinoide Insudate zu lokalisieren. Innerhalb der Adventitia waren geringe Anteile von fibrinoiden Insudaten vorhanden.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten in Nähe zu den Stentstreben (Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
25,80 MBq (n=2)	-	-	1	1				
	Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten innerhalb der Media (Anzahl der Präparate)				Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten innerhalb der Adventitia (Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	-	-	2	-	-	2	-	-

Tabelle 24: Semiquantitative Bewertung der Häufigkeit von fibrinoiden Insudaten in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

3.7.3.8 Granulozytäre Infiltrate und mononukleäre Infiltrate

Die Infiltration der Granulozyten wie auch der mononukleären Entzündungszellen war im gesamten Gefäßquerschnitt in einer mittleren Dichte anzutreffen. Die Ergebnisse dieser zwei Kaninchen waren ähnlich wie die der Kurzzeittiere mit 25,80 MBq-Stents.

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Dichte der granulozytären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben							
	(Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
25,80 MBq (n=2)	-	1			1			-
	Dichte der granulozytären Infiltrate innerhalb der Media				Dichte der granulozytären Infiltrate innerhalb der Adventitia			
	(Anzahl der Präparate)				(Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	-	2	-	-	-	2	-	-

Tabelle 25: Semiquantitative Bewertung der Dichte der granulozytären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

Versuchsgruppe (Summe der bewerteten Kaninchen)	Dichte der mononukleären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben							
	(Anzahl der Präparate)							
	0	+	++	+++				
25,80 MBq (n=2)	-	1			1			-
	Dichte der mononukleären Infiltrate innerhalb der Media				Dichte der mononukleären Infiltrate innerhalb der Adventitia			
	(Anzahl der Präparate)				(Anzahl der Präparate)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
25,80 MBq (n=2; 2)	-	1	1	-	-	1	1	-

Tabelle 26: Semiquantitative Bewertung der Dichte der mononukleären Infiltrate in Nähe zu den Stentstreben, innerhalb der Media und innerhalb der Adventitia 23 Wochen nach Stentimplantation

3.8 Bilder

Die Abbildung 10 zeigt Bilder von Gefäßquerschnitten der Aorta. Am oberen Bildrand ist das Gefäßlumen, in der Mitte ist die Media und am unteren Bildrand ist die Adventitia zu sehen. Bei den Bildern der Kontroll-, der 2,58 MBq- und der 8,07 MBq-Gruppe ist die Neointima zwischen dem Gefäßlumen und der Media zu erkennen. Bei den höheren Dosisgruppen sind Fibrinablagerungen an den Stentstreben erkennbar.

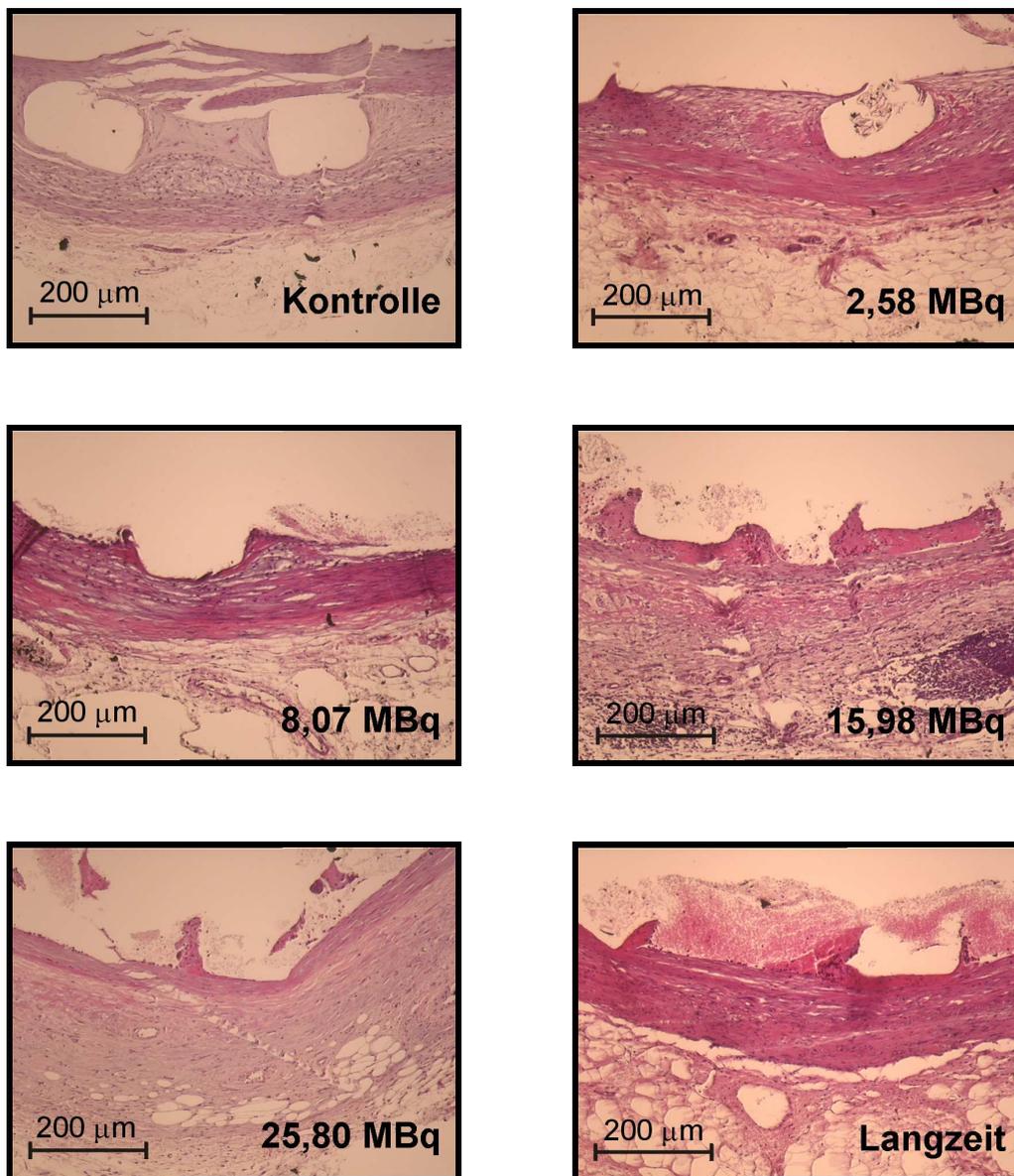


Abb. 10: Gefäßquerschnitte aller Gruppen 7 und 23 Wochen nach Ballondenudation und Stentimplantation (HE-Färbung, Paraffin)

Die Abbildung 11 zeigt Bilder von Gefäßlängsschnitten der Aorta. Im äußeren linken Bereich der Längsschnitte ist die native Aorta und im rechten Bereich ist die gestentete Aorta zu sehen. In jedem Längsschnitt ist jeweils eine Stentstrebe erkennbar. Oberhalb der Stentstrebe ist das Gefäßlumen, unterhalb der Stentstrebe die Media und die Adventitia zu sehen. Im Kontrollgruppenpräparat ist die Neointima über den gesamten Gefäßlängsschnitt zu erkennen. Das native Gefäßsegment und der Übergangsbereich von der nativen zur gestenteten Aorta der 25,80 MBq-Gruppe weisen ebenfalls eine Neointima auf. Im gestenteten Bereich der 25,80 MBq-Gruppe ist hingegen keine Neointima vorhanden.

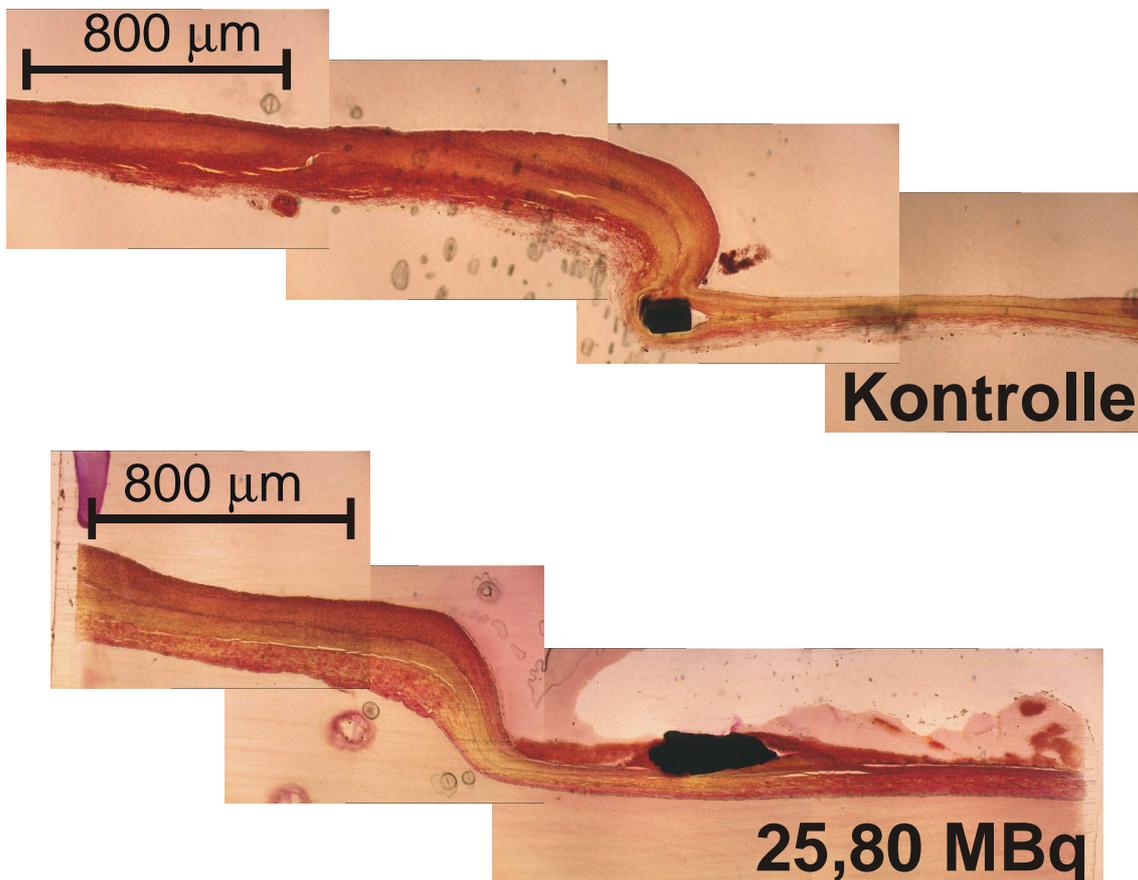


Abb. 11: Gefäßlängsschnitte der Kontroll- und der 25,80 MBq-Gruppe sieben Wochen nach Ballondenudation und Stentimplantation (EvG-Färbung, Methamethylakrylat)

4 Diskussion

4.1 Tiermodell

Zum Nachweis einer möglichen Inhibition der Intimahyperplasie durch die verwendeten Stents ist ein aussagekräftiges Tiermodell wichtig. Das Tiermodell soll die Pathophysiologie der humanen In-Stent Restenose möglichst gut simulieren, um das Tiermodell auf den Menschen übertragen zu können.

Innerhalb der Atheroskleroseforschung dienen unter anderem Mäuse, Ratten, Schweine, Hunde und Kaninchen als Versuchstiere. Mäuse und Ratten sind zur Stentimplantation zu klein (75). Schweine und Hunde sind in Anschaffung und Unterhalt (94) teuer, zudem sind nur wenige Antikörper für die Immunhistochemie erhältlich (75).

Die Kosten für eine statistisch aussagekräftige Anzahl von Kaninchen sind vertretbar und es ist eine breite Auswahl an Antikörpern für die Immunhistochemie verfügbar (75). Die Gefäße sind zur Stentimplantation ausreichend groß. Nach Rubin et al. können die Ergebnisse von hyperlipämischen Kaninchen mit Gefäßtrauma auf Patienten übertragen werden (75).

Unser Ziel bei der Auswahl der Methode zur Neointimainduktion war die Erzeugung einer großen Plaque bei den Kontrolltieren. Tepe et al. zeigten, daß die alleinige infrarenale Implantation eines Wiktor-Stents im Weißen Neuseelandkaninchen keinen großen Plaque generiert. Deswegen war für diese Untersuchungen die alleinige Stentimplantation im Kaninchen als Restenosemodell ungeeignet. Zur Erzeugung einer großen Neointima eignet sich die Ballondenudation der Aorta in Kombination mit einer Cholesterindiät (95). Die Cholesterindiät und die Ballondenudation wurden daher ergänzend zur Stentimplantation durchgeführt.

Die durchschnittliche Intimafläche der Querschnittpräparate unserer Kontrollgruppe betrug $2,20 \pm 0,86 \text{ mm}^2$ (Abb. 5). Mit dieser Intimafläche der Kontrollkaninchen erreichten wir eine befriedigende Plaquebildung. Die Plasmacholesterinwerte der Versuchsgruppen zeigten zum Zeitpunkt der Stentimplantation keinen statistisch signifikanten Unterschied gegenüber der Kontrollgruppe (Abb. 4). So waren die standardisierten Wachstumsreize der Intimaproliferation in unserer Studie Ballondenudation, Stentimplantation und erhöhte Plasmacholesterinwerte.

Da verschiedene Tierarten unterschiedliche Reaktionen auf radioaktive ^{32}P -Stents zeigten, bleibt die Frage, inwieweit Ergebnisse eines Tiermodells auf den Menschen übertragen werden können. Carter et al. (91) verglichen die unbefriedigenden Ergebnisse der ^{32}P -Stents (1 – 12 μCi) nach sechs Monaten in Schweinekronarien mit den guten Ergebnissen der ^{32}P -Stents nach drei Monaten in Kaninchen und postulierten eine unterschiedliche Wirkung der Strahlung hinsichtlich Intimahyperplasie in Abhängigkeit zum Tiermodell. Verschiedene Reaktionen von koronaren und peripheren Arterien sind ein weiterer Erklärungsansatz der gegensätzlichen Ergebnisse von ^{32}P -Stents in verschiedenen Tiermodellen (92). Die Ursachen sind jedoch noch nicht geklärt (92) und die Diskussion über das geeignetste Tiermodell wird somit fortgeführt werden.

4.2 $^{186}\text{Rhenium}$

Trotz der ermutigenden tierexperimentellen Ergebnisse ist das ideale Isotop zur radioaktiven Dotierung von Stents nicht bekannt (93).

$^{186}\text{Rhenium}$ ist ein gemischter β - und γ -Strahler. Die maximale Elektronenenergie beträgt 1,08 MeV, die mittlere Elektronenenergie beträgt 330 keV und die emittierte Energie der Gammastrahlung entspricht 137 keV. Die physikalische Halbwertszeit von $^{186}\text{Rhenium}$ beträgt 90,64 Stunden (52). Somit werden innerhalb der ersten zwölf Tage über 87,5 % (3 Halbwertszeiten) der Strahlung an die Umgebung des Stents abgegeben.

Im Vergleich zu Gammastrahlern haben Betastrahler den Vorteil, daß nur der unmittelbare Gefäßabschnitt bestrahlt wird (99). Zudem ist der Strahlenschutz bei Betastrahlung für das Personal wesentlich einfacher zu handhaben (99). $^{186}\text{Rhenium}$ emittiert Gammastrahlung mit einer Energie von 137 keV und ist daher kein reiner Betastrahler.

Die von $^{186}\text{Rhenium}$ ausgehende Gammastrahlung ermöglichte Messungen bezüglich der Radioaktivität der Stents nach ihrer Implantation. Diese Messungen informierten über die Stabilität der mit $^{186}\text{Rhenium}$ dotierten Stents. Die halbwegszeitkorrigierte Kurve in Abb. 2 zeigt, daß innerhalb von 14 Tagen weniger als 10 % der radioaktiven Dotierung von der Stentoberfläche abgeschwemmt wurde.

Da die biologische Halbwertszeit von $^{186}\text{Rhenium}$ weniger als 12 Stunden beträgt (96, 97), ist die systemische Wirkung relativ kurz. Ein potentieller Vorteil von $^{186}\text{Rhenium}$ gegenüber den Isotopen ^{32}P und ^{90}Y ist, daß $^{186}\text{Rhenium}$ nicht in den Knochen eingebaut wird (98).

Verschiedene Autoren verwendeten radioaktive $^{32}\text{Phosphor}$ -Stents in tierexperimentellen und klinischen Studien. Schweikert und Hehrlein bezeichneten die Herstellung von $^{32}\text{Phosphor}$ -Stents als Ionen Implantation (120). Für diesen Prozeß wird im Forschungszentrum Karlsruhe eine sehr spezielle ^{32}P -Ionenquelle benötigt, ein Beschleunigungssystem sowie ein 90° Magnet zur Filterung der Verunreinigungen im ^{32}P -Strahl (120). Diese komplizierte Stentdotierung resultiert in längeren Bestellzeiten für die Stents und erfordert eine gute zeitliche Koordination bezüglich Produktion und klinischer Verwendung. Die $^{186}\text{Rhenium}$ -Stents hingegen können vor Ort in ca. 15 Minuten radioaktiv dotiert werden.

4.3 Radioaktivität zur Prävention arterieller Rezidivstenosen

Aufgrund des Primärerfolges ist die PTCA eine Alternative zur koronaren Bypasschirurgie (56, 57, 58). So hatten 82 % der Patienten in der GABI-Studie (German Angioplasty Bypass Surgery Investigation-Studie) am Entlassungstag nach PTCA keine Angina Pectoris Beschwerden (57). Nach der Bypassoperation war zwar der Anteil der Patienten ohne Angina Pectoris Beschwerden mit 93 % größer, die Hospitalisationsdauer für diese Patientengruppe war jedoch länger und ein höherer Prozentsatz erkrankte an einem Myokardinfarkt (8,1 % im Vergleich zu 2,3 % nach PTCA).

Gegenwärtig ist die Rezidivstenose der limitierende Faktor der PTCA (59, 60, 61). Es wurden zahlreiche pharmakologische und mechanische Therapieansätze zur Reduktion der Restenose entwickelt. Der Einsatz unterschiedlicher systemisch applizierter Medikamente wie beispielsweise Lovastatin oder das niedermolekulare Heparin Enoxaparin erzielten keine relevanten Fortschritte (62, 63, 64, 65). Aus der Gruppe der mechanischen Ansätze zur möglichen Reduktion der Restenose wie z.B. Atherektomie,

Laser und Stent, sind ausschließlich Stents erfolgreicher als die alleinige intrakoronare Ballonangioplastie (10, 11, 66, 67).

Im „Stent Restenosis Study Trial“ (STRESS, 10) und in der BENESTENT-Studie (11) war ein halbes Jahr nach der perkutanen koronaren Intervention die Restenoserate nach Stentimplantation signifikant kleiner als nach alleiniger Ballonangioplastie. Wie in Abschnitt 1.1 dargestellt ist die Neointima das entscheidende pathomorphologische Korrelat der In-Stent Restenose. Große Anteile dieser Neointima entstehen infolge Proliferation glatter Muskelzellen und Formation extrazellulärer Matrix (13, 14, 26, 27). Ein vielversprechender Ansatz zur Prophylaxe der Rezidivstenose ist ionisierende Strahlung. Ionisierende Strahlen können das Wachstum von glatten Muskelzellen und Fibroblasten sowie die Produktion der Kollagenfasern hemmen (68, 69, 70, 116). Zur Bestrahlung von Gefäßen eignen sich Beta-, Gamma- und Röntgenstrahlung sowie gemischte Strahlenquellen. Bisher angewandte Bestrahlungsmethoden können in externe und endovaskuläre Techniken unterteilt werden. Die endovaskuläre Bestrahlung beinhaltet zwei Möglichkeiten: Bei der auf Katheter basierenden Afterloadingtechnik wird das Zielvolumen kurzzeitig mit einer relativ hohen Dosisrate bestrahlt. Als dauerhafte Implantate sind radioaktive Stents eine zweite Möglichkeit der endovaskulären Therapie. Radioaktive Stents bieten den Vorteil, eine geringere Dosisrate über längere Zeit wirken zu lassen. Da bei radioaktiven Stents geringere Dosisraten als bei der kathetergestützten, endovaskulären Brachytherapie zum Einsatz kommen, sind weniger aufwendige Strahlenschutzmaßnahmen erforderlich.

4.3.1 Externe Bestrahlung

Die externe Bestrahlung kann unabhängig von der eigentlichen Intervention durchgeführt werden, was eine Verlängerung der Angioplastie nicht notwendig macht. Die homogene Bestrahlung der gesamten Gefäßwand ist möglich und die bisherigen Kathetersysteme müssen nicht modifiziert werden. Die Nebenwirkungen der radioaktiven Strahlen können wie bei der Radiatio von malignen Prozessen durch eine fraktionierte Bestrahlung reduziert werden. Ein relativ großes Volumen in Nachbarschaft zum Zielgefäß wird jedoch während einer externen Radiatio von Arterien mitbestrahlt.

In Tiermodellen wurden gegensätzliche Ergebnisse beschrieben: Die externe Bestrahlung von Schweinekoronarien (14 Gy) sowie die externe Radiatio der Halsschlagadern von Ratten mit Energiedosen zwischen 5 Gy und 20 Gy resultierten in einer Reduktion der Intimahyperplasie (71, 72). Die Beckenarterien in Kaninchen und die Herzkranzgefäße von Schweinen reagierten nach externer Bestrahlung (3 - 8 Gy) mit einer Zunahme der Intimahyperplasie (73, 74). Rubin et al. (75) verglichen die tierexperimentellen Ergebnisse der externen Gefäßwandbestrahlung von 11 Studien und stellten fest, daß die Ergebnisse der externen Radiatio weniger reproduzierbar und nicht so konstant sind wie jene der endovaskulären Bestrahlung.

Nach externer Bestrahlung von Schweinekoronarien mit 14 Gy wurden Myokardnekrosen beobachtet (76). Mosseri et al. (113) beschrieben ein Modell zur sichereren und effektiven Gefäßwandbestrahlung bei gleichzeitiger Schonung des umliegenden Gewebes. Hier handelt es sich um eine in Zukunft mögliche Form der Teletherapie von gestenteten Koronararterien. Es ist anzumerken, daß die für diese Therapieform notwendigen Geräte noch nicht existieren und lediglich als separate Systeme im strahlentherapeutischen und militärischen Sektor kommerziell erhältlich sind. So ist die baldige klinische Anwendbarkeit der externen Radiatio zur Prophylaxe der Restenose nicht realistisch und würde zudem eine teure Infrastruktur am Behandlungsort voraussetzen (114).

4.3.2 Kathetergestützte, endovaskuläre Brachytherapie

Über radioaktive Drähte, Ballons mit Flüssigkeiten und Plomben in Kathetern können Arterien vor bzw. nach einer Angioplastie bestrahlt werden. Im Gegensatz zur externen Bestrahlung sind die tierexperimentellen Ergebnisse der kathetergestützten Strahlentherapie einheitlicher. Verschiedene Autoren beschrieben eine Reduktion der Neointima infolge endovaskularer Bestrahlung mit ^{192}Ir (7 bis 25 Gy). Als Tiermodelle wurden Schweine verwendet, bei denen in Koronararterien durch Ballonangioplastie (77, 78, 79) oder Stenteinsatz (79) eine Intimaproliferation induziert wurde.

Erste klinische Studien der endovaskulären Radiatio bestätigen die Erfolge an Tieren (80, 81). Teirstein, Massullo et al. untersuchten an der Scripps Clinic die Wirkung des Gammastrahlers ^{192}Ir an Patienten mit koronarer Restenose nach Ballonangioplastie oder Stentimplantation (80, 81). Im Rahmen einer randomisierten klinischen Studie wurden die Patienten erneut gestentet oder ballonangioplastiert und anschließend endovaskular bestrahlt (mittlere minimale Energiedosis: 7,3 Gy, mittlere maximale Energiedosis: 26,5 Gy) bzw. einer Placebobehandlung zugeführt. Nach sechs Monaten betrug die angiographisch meßbare Restenoserate 17 % in der Iridiumgruppe (26 Patienten) bzw. 54 % in der Placebogruppe (29 Patienten).

Der Beta Energy Restenosis Trial (BERT) erhielt als erste klinische Studie die Genehmigung für die vaskuläre Strahlentherapie durch die US Food and Drug Administration. Nach Ballonangioplastie nativer Koronargefäße wurden 12, 14 oder 16 Gy über $^{90}\text{Sr}/\text{Y}$ -Katheter endovaskular appliziert. Sechs Monate später erfolgte die Kontrollangiographie der ersten 64 Patienten und ergab mit 14 % eine niedrigere Restenoserate als erwartet (76, 84). Dieses Ergebnis wurde mit der Restenoserate von 42 % des Lovastatin Restenosis Trial verglichen, da die Patienten beider Studien identische Eingangsvoraussetzungen erfüllen mußten.

Sowohl das $^{90}\text{Sr}/\text{Y}$ Beta-Cath System (Novoste, Norcross, GA, USA) wie auch das ^{192}Ir -Checkmate System (Cordis, Miami, FL, USA) wurden in großen randomisierten Multicenterstudien getestet und beide Systeme erhielten die Zulassung für die Therapie der In-Stent Stenose durch die US Food and Drug Administration (82).

Ein Nachteil der kathetergestützten Strahlentherapie ist die verlängerte Interventionsdauer. In klinischen Studien benötigte das Cordis ¹⁹²Ir-Checkmate System durchschnittlich über 20 min für die Applikation der therapeutischen Strahlendosis (117). In BERT-Studien wurde das Novoste Beta-Cath System verwendet. Ali et al. (117) kritisierten am Beta-Cath System, daß mit diesem keine Zentrierung der Strahlenquelle innerhalb der Arterie möglich sei. Systeme, die keine Zentrierung der Strahlenquelle innerhalb des Gefäßes ermöglichen, erreichen nicht immer eine gleichmäßige Bestrahlung aller Gefäßabschnitte. Insbesondere nach Stentapplikation und in Arterien mit einem größerem Querschnitt (> 3,0 – 3,5 mm) steigt die Bedeutung der fehlenden Zentrierung (117).

Daher werden zur Zentrierung der Strahlenquelle auch Ballonkatheter benutzt, welche der Gefäßwand gleichmäßig anliegen. Der Vorteil dieser Systeme ist eine gleichmäßige Bestrahlung der Gefäßwand, der Nachteil besteht darin, daß die Perfusion gestört wird. Verin et al. (83) verwendeten einen solchen Ballonkatheter. Trotz der kurzen Bestrahlungsdauer von 391 ± 206 Sekunden mußte aufgrund intolerabler Ischämien bei 4 von 15 Patienten die Radiatio unterbrochen werden, um die Ballons zu deflatieren (85). Gleichzeitig sollte die Dosisleistung nicht größer als 50 cGy / Sekunden gewählt werden, da sonst ein strahleninduziertes Gefäßtrauma entstehen kann (86).

Amols et al. (87) schätzen die Gefahr einer Ballonruptur eines Ballonkatheters auf 1 %. Ein mit ionisierender Flüssigkeit gefüllter rupturierter Ballonkatheter würde diese radioaktive Substanz systemisch applizieren und den Patienten radioaktiv kontaminieren. Nicht zuletzt wegen Strahlenkatastrophen wie z.B. in Tschernobyl, Ukraine ist die Bevölkerung im Umgang mit radioaktiven Stoffen sensibilisiert. Sicherheitsbedenken und die erschwerte Handhabung könnten die Akzeptanz der endovaskulären, kathetergestützten Brachytherapie (88) erschweren.

4.3.3 Radioaktive Stents

Der große Vorteil von Stents ist ihre Formstabilität. Daher tritt ein „elastic recoil“ bei den meisten Stentarten nicht in Erscheinung (17, 37). Damit ist im Vergleich zur

Ballonangioplastie bereits eine Möglichkeit der Restenose ausgeschlossen. Somit ist die Intimahyperplasie der wichtigste Mechanismus der In-Stent Restenose. Eine radioaktive Dotierung von Stents ist hierbei besonders geeignet, um die Restenosehäufigkeit zu verringern.

Ein radioaktiver Stent strahlt kontinuierlich und stellt das Ideal einer fraktionierten Radiotherapie dar. Die Dauer der Radiatio wird über die Wahl des Isotops und dessen Halbwertszeit determiniert. Bisher wurden nur wenige vorklinische und klinische Ergebnisse von radioaktiven Stents veröffentlicht (75, 76). Die radioaktive Dotierung der Stents erfolgte relativ häufig mit ^{32}P aber auch mit ^{90}Y . ^{90}Y emittiert eine maximale Energie von 2,26 MeV und die Halbwertszeit beträgt 64,5 h. ^{32}P emittiert reine β -Strahlung mit einer maximalen Energie von 1,709 MeV und einer mittleren Energie von 0,695 MeV. Die Halbwertszeit von ^{32}P beträgt 14,3 Tage (92).

Verschiedene Arbeitsgruppen implantierten ^{32}P -PalmaZ-Schatz Stents in die Femoralarterien von Kaninchen, Beckenarterien und Koronararterien von Schweinen sowie in Koronarien von Hunden. Die Intimafläche der ^{32}P -Stents in Beckenarterien von Kaninchen war vier (4 μCi & 13 μCi) und 12 Wochen (13 μCi) nach Implantation signifikant (89) geringer als die der Kontrollgruppe.

Laird et al. (90) implantierten ^{32}P -Stents (0,14 μCi) in die Beckenarterien von Schweinen und erzielten 28 Tage später eine signifikante Reduktion der Intimafläche gegenüber der Kontrollgruppe. Auch in Schweinekoronarien konnte die Intimafläche 28 Tage nach Implantation eines ^{32}P -PalmaZ-Schatz Stents (0,15-0,5 μCi und 3-23 μCi) reduziert werden. Interessant ist, daß die mittlere Dosisgruppe (1 μCi) im Vergleich zur Kontrollgruppe eine größere Intimafläche entwickelt hat.

Verschiedene tierexperimentelle Langzeitstudien konnten den Erfolg der zeitlich kürzer dauernden Studien der ^{32}P -Stents nicht bestätigen: Die Implantation von radioaktiven ^{32}P -Stents in Schweinekoronarien zeigte in einer Langzeitstudie eine Zunahme der Intimahyperplasie gegenüber der Kontrollgruppe. Sechs Monate nach Implantation zeigten die Kontrollstents die kleinste Intimafläche ($1,78 \pm 0,68 \text{ mm}^2$) (91). Die Intimafläche war mehr als doppelt so groß wie die der höchsten Dosisgruppe (12,0 μCi). Erwähnenswert ist ein dosisabhängiges Ansteigen der Intimafläche (1 μCi : $2,23 \pm 0,66 \text{ mm}^2$; 3,0 μC : $3,39 \pm 1,10 \text{ mm}^2$; 6,0 μC : $3,37 \pm 1,02 \text{ mm}^2$; 12 μCi : $3,94 \pm 1,21 \text{ mm}^2$) bei

höherer Aktivität der Stents. Carter et al. diskutierten eine inadäquate kumulative Dosis, Dosisleistung oder eine verspätete Endothelisierung als mögliche Erklärung der Ergebnisse (91).

Taylor et al. (92) implantierten ^{32}P -Stents (3,5-14,4 μCi) in Koronarien von Hunden. Nach 15 Wochen war die kleinste Intimafläche in der Kontrolle zu beobachten. Auch hier zeigte sich eine dosisabhängige Wirkung: In der Hochdosisgruppe (6,5-14,4 μCi) war die Intimafläche größer, die Adventitiafläche kleiner und es waren weniger Endothelzellen pro Gefäßschnitt vorhanden, als in der Niedrigdosisgruppe (3,5-6 μCi). In der Niedrigdosisgruppe war die Intimafläche wiederum größer, die Adventitiafläche kleiner und es waren weniger Endothelzellen vorhanden als in der Kontrollgruppe (92).

Die Ergebnisse der Implantation von ^{90}Y -Stents (0,25 –16 μCi) in Schweinekoronarien nach 28 Tagen waren handelsüblichen Stents (93) nicht überlegen. Die Stents mit den Aktivitäten 4 und 8 μCi induzierten eine größere Intimafläche als die Stents der Kontrollgruppe. Die In-Stent Restenose der übrigen Aktivitätsgruppen entsprach derjenigen der Kontrolle.

Albiero et al. (111) implantierten 122 ^{32}P -Stents in Patienten mit koronarer Herzkrankheit und verwendeten dabei Aktivitäten von 0,75-3,0 μCi (Gruppe 1), 3,0-6,0 μCi (Gruppe 2) und 6,0-12,0 μCi (Gruppe 3). Sechs Monate nach Implantation der ^{32}P -Stents wurde eine Kontrollangiographie sowie ein intravaskularer Ultraschall durchgeführt. Die In-Stent Restenose wurde als Lumenverlust $\geq 50\%$ definiert und betrug 6 Monate nach Intervention 16 % in Gruppe 1, 3 % in Gruppe 2 und 0 % in Gruppe 3.

Als Intraläsion-Restenose definierten Albiero et al. (111) einen Lumenverlust von mindestens 50 % im Bereich des Stents oder in einem der beiden bis zu 10 mm vom Stent entfernten nativen Koronararteriensegmente. Diese Intraläsion-Restenose betrug 52 % in Gruppe 1, 41 % in Gruppe 2, und 50 % in Gruppe 3 (111).

Somit zeigte die Studie von Albiero et al. (111) bei einer Radioaktivität größer als 3,0 μCi eine fast vollständige Inhibition der Intimahyperplasie innerhalb des Stentsegmentes. Verglichen mit den in der Literatur beschriebenen Ergebnissen über nichtradioaktive Stents, kam es bei Albiero et al. zu einer verstärkten Restenose im Bereich der ersten 1 bis 3 mm proximal und distal des Stents (111). Dieses verstärkte

Auftreten der Restenose in den stentnahen Koronarien bezeichneten Albiero et al. (111) als „edge effect“ bzw. „candy wrapper.“

Als mögliche Ursachen des „candy wrapper“ diskutierten Albiero et al. zwei Möglichkeiten. Einerseits könnten zu große Ballondurchmesser die Gefäße während der Intervention an den Stentenden verletzt haben. Andererseits könnte eine zu geringe Strahlendosis an den Stentenden ein verstärktes Wachstum der Intima bewirkt haben, was sich mit dem steilen Abfall der β -Strahlung bei zunehmender Entfernung von der Strahlenquelle erklären ließe.

4.4 Eigene Ergebnisse

4.4.1 Neointima nach sieben Wochen

4.4.1.1 Aufbau der Neointima

Ballondenudation, erhöhtes Serumcholesterin und die Stentimplantation wirkten in unserem Arteriosklerosemodell als Wachstumsreize auf die Gefäßintima. Sieben Wochen nach Intervention erfolgte die Tötung der Kaninchen und anschließend die Färbung der Gefäßquerschnitte. Zur Auswertung der Strahlenwirkung auf den Gewebeaufbau der Neointima wurden die HE-, EvG-, RAM- und α -Actin-Präparate mikroskopisch betrachtet.

Die Neointima der Kontrollgruppe war im Wesentlichen aus drei Komponenten zusammengesetzt: Glatte Muskelzellen, Schaumzellen und extrazelluläre Matrix. Im lumennahen Bereich der Neointima waren glatte Muskelzellen der dominierende Zelltyp. Das morphologische Bild der lumennahen Neointima war ähnlich wie der Aufbau der Tunica Media einer natürlichen Arterie. Entlang der Lamina Elastica Interna fanden sich großflächige RAM-positive Schaumzellareale und ein geringer Anteil glatter Muskelzellen. Die zahlreichen Schaumzellen waren das Resultat der hohen Serumcholesterinwerte. Nekrotische Zellen waren nur selten zu beobachten und granulozytäre Infiltrate waren nicht vorhanden. Der Anteil der extrazellulären Matrix war im lumennahen Bereich höher als entlang der Lamina Elastica Interna.

Innerhalb der Neointima, in Nähe zur Lamina Elastica Interna, waren Gefäßneubildungen vorhanden und können als Zeichen einer reifen Intimahyperplasie interpretiert werden (persönliche Mitteilung: Greschniok, Pathologisches Institut Tübingen).

Der Vergleich der intimalen Architektur der Versuchsgruppen zur Kontrollgruppe ließ strukturelle Unterschiede erkennen. RAM - und α -Actin positive Anfärbungen der Neointima waren innerhalb der Verumgruppen fleckenförmig verteilt. Dazwischen waren Zellnekrosen, granulozytäre Infiltrate und große Anteile fibrinoider Insudate. Der Aufbau der Neointima der Versuchsgruppen wirkte ungeordneter als die Intimaarchitektur der Kontrollgruppe.

Das Erscheinungsbild der Intima der Gruppen 2,58 und 8,07 MBq ist vereinbar mit simultan abgelaufenen Aufbau- und Destruktionsprozessen. Die gleichzeitigen Aufbau- und Destruktionsprozesse können mit einer Wundheilung der Haut verglichen werden, bei welcher die Wundkruste immer wieder abgetragen wurde (persönliche Mitteilung: Greschniok, Pathologisches Institut Tübingen).

In den beiden oberen Dosisgruppen war keine Intimahyperplasie vorhanden. An Stelle einer Neointima fanden sich lediglich Fibrinniederschläge, die hauptsächlich entlang der Zirkumferenz der Stentstreben zu lokalisieren waren.

Die Zelldichte der Neointima der Verumgruppen war niedriger als die der Kontrollgruppe. Die Unterschiede der Zelldichte innerhalb der Neointima waren jedoch nicht signifikant.

Hehrlein et al. (89) hatten ähnliche Ergebnisse und beschrieben einen dosisabhängigen Effekt der Zelldichte von glatten Muskelzellen. Vier Wochen nach Stentimplantation war die Zelldichte der 13 μ Ci Gruppe niedriger als die der 4 μ Ci Gruppe und die Zelldichte der 4 μ Ci Gruppe war wiederum niedriger als die der Kontrolle. Sowohl nach 4, als auch nach 12 Wochen war die Zelldichte der Neointima in der 13 μ Ci Gruppe niedriger als die der Kontrolle.

4.4.1.2 Fläche der Neointima

Es wurde bereits erläutert, daß eine Korrelation zwischen der histomorphologisch meßbaren Intimahyperplasie und der Ausprägung der In-Stent Stenose gegeben ist. Eine, im Vergleich zu Kontrollstents, verstärkte Intimahyperplasie am Stentende oder an der unmittelbar anschließenden nativen Arterie bei Implantation radioaktiver Stents wird als „edge effect“ und „candy wrapper“ (111) bezeichnet. Demnach wäre die Prävention einer Reangioplastie möglich, falls sich die Reduktion der Intimahyperplasie realisieren lassen würde und zugleich kein „candy wrapper“ auftreten würde.

In den Aktivitätsgruppen 15,98 und 25,80 MBq trat keine Neointima auf, während in der Kontrollgruppe sowie den beiden unteren Dosisgruppen eine Intimahyperplasie stattfand. Die Fläche der Intimahyperplasie an Gefäßquerschnitten wurde kleiner mit steigender Radioaktivität der Stents. 23 Wochen nach Implantation von 25,80 MBq-Stents wurden zwei Kaninchen getötet. Anhand von Präparaten dieser Tiere sollte geklärt werden, ob die ionisierende Strahlung zu einer dauerhaften Reduktion der Intimahyperplasie führte oder lediglich eine verzögerte Intimabildung bewirkte. Die Präparate der beiden Langzeitkaninchen zeigten auch nach 23 Wochen keine Neointima. Somit führte die Implantation der ¹⁸⁶Rhenium-Stents zu einer dauerhaften Unterdrückung der In-Stent Intimahyperplasie.

Die Messung der Intimadicke an mehreren Punkten der Gefäßquerschnitte erschien notwendig, da Ergebnisse einer klinischen Studie mit ³²P-Stents eine verstärkte Restenose am Übergang des Stents zum nativen Gefäß zeigten (111). Die Hypothese des „candy wrapper“ konnte in unserem Atherosklerosemodell für die Hochdosisgruppe nicht bestätigt werden, da im Vergleich zur Kontrolle keine Position der Hochdosisgruppe eine stärker ausgeprägte Intima erkennen ließ. Am ehesten sollte der „candy wrapper“ an Position 2, 3 oder 4 erwartet werden (Abb. 3). Die Intima der Hochdosisgruppe an Position 1, 2 und 4 war signifikant kleiner als die der Kontrolle. An Position 3 war keine statistische Signifikanz gegeben, d.h. der geringe Unterschied der Schätzwerte an Position 3 könnte auch zufällig entstanden sein.

Ergebnisse von Langzeitkaninchen mit nicht radioaktiven Stents waren nicht vorhanden. Die Ergebnisse von Längsschnitten der 25,80 MBq-Langzeitkaninchen konnten daher nicht mit Ergebnissen einer Langzeitkontrollgruppe verglichen werden. Bei der

mikroskopischen Betrachtung von Längsschnitten der 25,80 MBq-Langzeitkaninchen waren keine Anzeichen für einen „candy wrapper“ zu sehen.

Da die Stents der Hochdosisgruppe weder eine Neointima bildeten noch der „candy wrapper“ in Erscheinung trat, waren in dieser Studie die 25,80 MBq-Stents bezüglich der Intimahyperplasie den Kontrollgruppenstents überlegen.

4.4.2 RAM-11 nach sieben Wochen

Makrophagen sind weder an der Oberfläche, noch in der Tunica Media eines gesunden Gefäßes anzutreffen. Nach Rubin et al. (108) sind ortsständige Makrophagen ein üblicher Bestandteil der atheromatösen Neointima. Auch Hanke et al. (107) fanden nach experimenteller Ballonangioplastie in Kaninchenkarotiden eine Ansammlung von Makrophagen innerhalb der Intima.

Rubin et al. (108) sehen die Makrophagen als Auslöser und Schrittmacher der Rezidivstenose und postulierten folgende Hypothese der Pathogenese der Restenose: Während den ersten 48 Stunden nach Angioplastie initiieren Makrophagen der Adventitia die Vermehrung der ortsständigen Intimamakrophagen. Rubin et al. (108) zählen die Makrophagen zu den strahlenempfindlichen Zellen, welche mit niedrigen Energiedosen eliminiert werden können. Infolge der Ausschaltung der Makrophagen werden einige Zytosinkaskaden (108) inhibiert, die wiederum einen Proliferations- und Migrationsreiz der glatten Muskelzellen oder Fibroblasten bewirken würden. Nach Rubin et al. (108) unterbleibt schließlich die Intimahyperplasie sowie die Restenose aufgrund der Radioaktivität und der daraufhin fehlenden Proliferation und Migration der Bindegewebszellen.

Unsere Auswertung der vorhandenen Intima, besonders in Nähe zur Lamina Elastica Interna, zeigte große RAM-positive Areale. Hinsichtlich der RAM-Färbung war weder in der Intima, in der Media, noch in der Adventitia ein dosisabhängiger Effekt zu beobachten.

Unsere Ergebnisse beschreiben das Erscheinungsbild der Makrophagen in der Gefäßwand sieben Wochen nach Stentimplantation. Zur Auswertung der

Wechselwirkungen von ionisierender Strahlung, Makrophagen und dem Pathomechanismus der In-Stent Stenose wäre ein zeitlich differenzierteres Versuchsdesign von Vorteil. Interessant wären Ergebnisse über die Präsenz der Makrophagen in der Gefäßwand während der ersten Stunden und Tage nach Implantation eines radioaktiven Stents.

4.4.3 Spätwirkungen der endovaskulären Strahlentherapie

4.4.3.1 Allgemeine Spätwirkungen der endovaskulären Strahlentherapie

Schon geringe Strahlendosen können Endothelschäden, eine Fibrose oder eine strahleninduzierte Atherosklerose bewirken. Hohe Strahlendosen können Aneurysmen und Gefäßwandrupturen zur Folge haben (100, 101). Sekundäre Malignome nach vorangegangener Radiatio sind maligne hämatologische Erkrankungen, Sarkome und Karzinome der mitbestrahlten Organe (102, 103, 104, 105).

Das Blutbild der Hochdosisgruppe war sowohl zum Zeitpunkt der Stentimplantation als auch beim Abtöten unauffällig und unverändert. Bei der Gefäßentnahme am Versuchsende waren im stentnahen Bereich weder Sarkome noch Karzinome nachweisbar. Es sollte allerdings angemerkt werden, daß strahleninduzierte Malignome bei den verwendeten Strahlendosen und den Versuchszeiten bis zu 23 Wochen nicht erwartet wurden. Zudem werden andere, in der Literatur beschriebene (43, 44), niedrigdosierte Strahlentherapien, z.B. nach Keloidnarbenexzision ebenfalls als sicher bewertet. Es traten bei dieser Therapie bisher keine malignen Entartungen auf.

Da nach Riede-Schäfer (38) die Endothelzellen zu den besonders radiosensiblen Zellen gehören, kann an diesen Zellen ein möglicher Strahlenschaden auch schon bei niederen Dosen detektiert werden. Das Endothel der Vasa vasorum unserer Kaninchen war weder durch eine Denudation, noch infolge einer Stentimplantation geschädigt. Die 2,58 MBq-Gruppe, die 8,07 MBq-Gruppe und die 15,98 MBq-Gruppe zeigten überwiegend geringe oder keine Endothelschäden. In den Kurzzeittieren wie auch in den Langzeitkaninchen der 25,80-MBq-Gruppe waren lediglich geringe Endothelschäden der Vasa vasorum nachweisbar. Daher kann, trotz der strahleninduzierten Adventitiaveränderungen, der

relative Strahlenschaden in der Umgebung zu den radioaktiven Stents als relativ gering beurteilt werden.

4.4.3.2 Zell- und Gewebsschäden infolge ionisierender Strahlung

Als Marker für Zell- und Gewebsschäden infolge ionisierender Strahlung wurden die Parameter Zellnekrosen, Gewebsödeme, fibrinoide Insudate, Verkalkungen und Degeneration glatter Muskelzellen gewählt.

Zusammenfassend kann über die Ergebnisse aller Gefäßwandschichten der Tabellen 10 bis 14 folgende Aussage gemacht werden: Je höher die Strahlendosis in unserem Versuchsmodell war, umso ausgeprägter zeigten sich die Zellnekrosen, die fibrinoiden Insudate und die Degeneration glatter Muskelzellen. Die Ödeme nahmen ebenfalls mit steigender Strahlendosis zu, wenn auch in geringerer Deutlichkeit wie weiter obenstehende Parameter.

Die in allen Gruppen fehlenden Verkalkungen innerhalb der Adventitia sowie die gemischte Verteilung der Kalkeinlagerungen im Bereich der Media, ließen den Schluß zu, daß in unserem Versuchsmodell zwischen der Höhe der Strahlung sowie dem Auftreten von Verkalkungen kein Zusammenhang bestand.

Ein Vergleich der histopathologischen Ergebnisse zwischen den Kurz- und den Langzeitkaninchen der Hochdosisgruppe zeigte, daß die Ergebnisse sehr ähnlich waren. Aufgrund der Ähnlichkeit dieser Ergebnisse kann gefolgert werden, daß sich die Zell- und Gewebsveränderungen infolge ionisierender Strahlung zwischen der siebenten und der 23. Woche nach der Stentimplantation nicht verändert haben.

4.4.3.3 Fläche, Zelldichte und α -Actin der Media nach sieben Wochen

Die Mediafläche zeigte eine strahlenabhängige Reaktion. Im Dunnett's Test zeigten die Gruppen mit 15,98 MBq und 25,80 MBq eine signifikante Atrophie der Mediafläche gegenüber der Kontrollgruppe. Im Vergleich zur Kontrollgruppe hat in der 2,58 MBq-,

der 8,07 MBq- und der 25,80 MBq-Gruppe eine signifikante Reduktion der Zelldichte innerhalb der Media stattgefunden. Der dritte auffällige Parameter war eine dosisabhängige Anfärbung von α -Actinepitopen. Mit höherer Strahlendosis waren geringere Flächen der Media angefärbt.

Die Aufgabe der Tunica Media eines gesunden arteriellen Gefäßes ist unter anderem die Vasomotorik. Die Vasomotorik besteht aus der Vasokonstriktion durch glatte Muskelzellen und der Elastizität entsprechender Fasern. Eine gestentete Arterie ist formstabil und hat die vasomotorischen Fähigkeiten verloren, was die vasomotorische Funktion der Media einer gestenteten Arterie überflüssig macht.

Die Atrophie der Media könnte eine Perforation oder auch Ruptur befürchten lassen, was jedoch nicht zu beobachten war. Außerdem stabilisierte die fibrosierte Adventitia die gesamte Gefäßwand.

4.4.3.4 Fibrose, Zelldichte und α -Actin der Adventitia

Nach externer Radiatio, aufgrund einer malignen Erkrankung im Thorax, wurde bei Patienten eine fibrosierte und verdickte Adventitia beobachtet (109). In Schweinekoronarien vergrößerte sich die Adventitiafläche mit steigender Aktivität der ^{32}P -Stents (91). Eine konträre Wirkung zeigten ^{32}P -Stents bei vergleichbaren Aktivitäten in Herzkranzgefäßen von Hunden (92).

Die Tunica Adventitia in unserem Experiment zeigte sowohl für α -Actin, als auch bezüglich der Zelldichte einen dosisabhängigen Effekt. Die Zelldichte der Adventitia in der Hochdosisgruppe war signifikant höher als diejenige der Kontrollgruppe. Die α -Actin-Färbung der Adventitia zeigte eine kontinuierliche, dosisabhängige Zunahme der angefärbten Areale mit steigender Radioaktivität. Die Strahlung, welche die Adventitia erreichte, provozierte eine Transformation des faserreichen, ruhenden Gewebes der Adventitia in aktives, myozytenhaltiges Gewebe. Ob ruhende, ortsständige Zellen eine Reaktivierung erfahren haben oder eingewanderte Zellen die Ursache für das Phänomen waren, konnte aus den angestellten Untersuchungen nicht beantwortet werden.

Die Theorie, die beinhaltet, daß nach Verletzung einer Arterie glatte Muskelzellen aus der Adventitia in die Neointima einwandern (108, 110), sieht die Tunica Adventitia als Zielgewebe der arteriellen Brachytherapie, da radioaktive Strahlung die Proliferation glatter Muskelzellen und die Migration von Myofibroblasten aus der Adventitia hemmt.

Die Adventitia unserer Kaninchen fibrosierte dosisabhängig: Mit steigender Strahlendosis nahm das Ausmaß der Fibrose zu. Die Fibrose äußerte sich pathomorphologisch als verdickte Adventitia. Bei der Präparation ließen sich die einzelnen Gewebeschichten nicht mehr voneinander trennen. Die Aorta war fest mit dem umliegenden Gewebe wie z.B. dem Musculus psoas verwachsen. Keines der Kaninchen zeigte ein Aneurysma oder eine Ruptur seiner Aorta. Aufgrund der verdickten und fibrosierten Adventitia wären diese Spätwirkungen auch eher unwahrscheinlich gewesen.

In unseren Untersuchungen wurden keine Nachteile durch die Fibrosierung der Adventitia beobachtet. Es muß jedoch hinterfragt werden, inwieweit die Fibrose der Adventitia zu Dysfunktionen führte. Da mikroskopisch nur schwache Strahlenschäden an Vasa vasorum und keine Irritationen an Nerven sichtbar waren, scheint die Strahlenwirkung auf das Gewebe der Adventitia selbst beschränkt geblieben zu sein.

4.4.3.5 Granulozytäre und mononukleäre Infiltrate

Granulozyten und mononukleäre Zellen geben Auskunft über den Entzündungsstatus eines Gewebes. Zahlreiche Granulozyten sind ein Zeichen der relativ frühen zellulären Immunreaktion und mononukleäre Zellen sind ein Hinweis eines zeitlich weiter fortgeschrittenen Entzündungsstatus.

Mit steigender Radioaktivität nahm die Dichte der granulozytären Infiltrate in Nachbarschaft zu den Stentstreben, in der Intima, in der Media und in der Adventitia zu. In Nachbarschaft zu den Stentstreben und innerhalb der Tunica Adventitia nahm die Dichte der mononukleären Infiltrate mit steigender Radioaktivität zu. Innerhalb der Intima und der Media war die Dichte der mononukleären Infiltrate unabhängig von der Strahlendosis.

Mögliche Entzündungsreize unseres Versuchsmodells könnten erhöhtes Plasmacholesterin, Ballondenudation, ionisierende Strahlung und Fremdkörperreaktionen gewesen sein. Die Durchführung der Ballondenudation und die Cholesterinfütterung waren standardisiert, womit diese möglichen Entzündungsreize in allen Kaninchen gleich gewirkt haben. Fabrikneue Palmaz® Stents wurden in die Kaninchen der Kontrollgruppe implantiert. Den Kaninchen der Versuchsgruppen wurden radioaktive Stents appliziert. Als Folge der radioaktiven Dotierung könnte die Oberfläche der Verumgruppenstents verändert worden sein. Somit unterschieden sich die in unserer Studie verwendeten Stents in ihrer Radioaktivität und eventuell in ihrer Oberfläche. Die unterschiedliche Dichte der Granulozyten und mononukleären Zellen könnte infolge der Radioaktivität oder der möglicherweise veränderten Oberfläche entstanden sein.

Fremdkörperreaktionen in unmittelbarer Nähe zur Stentstrebe, aufgrund einer eventuell veränderten Oberfläche, könnten die verstärkten Infiltrate der Entzündungszellen in Nähe zu den Stentstreben erklären. Zur Klärung dieser Fragestellung wäre eine weitere, nicht radioaktive Versuchsgruppe notwendig, deren Stents dieselbe Oberfläche wie die der radioaktiven Stents aufweisen würde.

4.4.3.6 Intraluminales Endothel und späte Thrombose

Die physiologische abdominale Aorta eines Kaninchens bildet ihre luminale Grenze zum Blutstrom aus einschichtigen Endothelzellen (54). Dieses Endothel bildet den Faktor-VIII, welcher auch v. Willebrand Faktor genannt wird. Gegen den Faktor-VIII gerichtete Primärantikörper können daher als Teil einer Immunhistochemie das Endothel einer Aorta anfärben (54). In unseren Studien konnte sieben Wochen nach Denudation mittels eines inflatierten 2F Embolektomiekatheter und anschließender Stentimplantation ein dosisabhängiger Effekt der Endothelregeneration beobachtet werden: Innerhalb der Kontrollgruppe war eine ausgeprägte Endothelregeneration vorhanden. In der kleinsten Dosisgruppe wurde eine starke Variation der Endothelregeneration beobachtet. In den übrigen Dosisgruppen der Kurzzeitkaninchen war die Faktor-VIII – Immunhistochemie ohne Anfärbung.

Eine Regeneration des Endothels konnte auch bei den Langzeittieren der 25,80 MBq-Gruppe nicht nachgewiesen werden. Demnach führte die Implantation der 25,80 MBq-Stents zu einer langfristigen Schädigung der intraluminalen Endothelregeneration.

Tanaka (54) et al. denudierten die Aorta von Weißen Neuseelandkaninchen über eine Strecke von 2 cm. Sie berichteten, daß sich 30 Tage nach Intervention bei einem von sechs Kaninchen das Endothel vollständig regeneriert hat. Das Endothel der fünf übrigen Kaninchen hatte sich großflächig, aber nicht komplett regeneriert. Somit sind die Ergebnisse unserer Kontrolltiere mit denen von Tanaka et al. (54) vergleichbar.

Hehrlein et al. (89) implantierten ³²P-Stents ohne vorherige Denudation. Bereits nach vier Wochen war in allen Gruppen eine Endothelregeneration festzustellen. Ergänzend wurde über eine dosisabhängige Endothelregeneration berichtet: Je größer die Aktivität war, umso schwächer zeigte sich die Ausprägung der Endothelregeneration. Taylor et al. (92) kommentierten dies bei ähnlichen Versuchsanordnungen: Drei Monate nach Implantation von 6 µCi Stents in Kaninchen war ausschließlich ein Drittel der endoluminalen Oberfläche mit Endothel bedeckt.

Die Konsequenzen einer verspäteten Endothelisierung nach Stentimplantation sind unklar. Nach Waksman (106) könnte aufgrund einer verspäteten Endothelregeneration infolge der Radioaktivität die Thrombosegefahr nach Stentimplantation ansteigen.

Wie bereits in Kapitel 1.2 erwähnt, ist die akute Thrombose während der Intervention und bis zu 30 Tage nach Stentimplantation ein bekanntes Problem. Dieses Thromboserisiko nach Implantation von nicht radioaktiven Stents konnte mittels Änderungen der periinterventionellen Medikation auf unter 1 % gesenkt werden (17).

Costa et al. (126) berichteten über ein neues Phänomen im Gebiet der Interventionellen Kardiologie: Sechs von 91 Patienten entwickelten späte thrombotische Gefäßverschlüsse, welche sich als kardiale Arrhythmien und akute koronare Syndrome manifestierten. Die Thrombosen traten 2-15 Monate nach einer Intervention in Kombination mit Bestrahlung auf. Dieses Phänomen ging mit verschiedenen potentiellen Komplikationsfaktoren wie Gefäßwanddissektionen und Absetzen der Acetylsalicylsäure-Therapie einher. Die Patienten wurden mittels verschiedener β-Strahlern und unterschiedlicher Gesamtdosen bestrahlt.

Als potentielle Auslöser der späten Thrombose nach intrakoronarer Brachytherapie diskutierte Waksman eine verzögerte Endothelregeneration, nicht verheilte Dissektionen, Gewebsarrosionen in Nähe der Stentstreben, fibrinreiche und gering organisierte lumenale Thromben sowie Gefäßspasmen. Costa et al. und Waksman erwähnten, daß die Ätiologie der späten Thrombose bei diesen sechs Patienten nicht unbedingt auf die Radiotherapie zurückgeführt werden könne. Die Autoren forderten großzahlige und randomisierte Studien zur Klärung der Pathogenese der späten Thrombose und ihrer genauen Inzidenz. Als Konsequenz dieser Beobachtungen wurde die verlängerte Anwendung von Acetylsalicylsäure, Clopidogrel oder Ticlopidin nach intrakoronarer Brachytherapie empfohlen.

In unseren Studien wurde die Gerinnung der Kaninchen mittels Heparin und Acetylsalicylsäure gehemmt. Das Heparin wurde postoperativ nach 3 Tagen abgesetzt, die Acetylsalicylsäure wurde bis zur Abtötung verabreicht. Ein Tier der 2,58 MBq-Gruppe starb wahrscheinlich infolge eines Thrombus innerhalb des Stents. Das Tier verstarb am dritten postoperativen Tag. Diese arterielle Thrombose erklärten wir uns als Folge der Sanduhrform des Stents und nicht als Folge der Radioaktivität. Sonstige akute, subakute oder späte Thrombosen traten in unserer Studie nicht auf. Es konnte eine diskrete Ablagerung von thrombotischem Material an den Stentstreben nachgewiesen werden. Dieses thrombotische Material war jedoch so gering, daß keine Stenose meßbar war.

Somit traten bei keinem der Kaninchen mit regelrecht implantierten Stents thrombotisch bedingte Einengungen oder Verschlüsse auf. Anhand unserer Untersuchungen konnte demnach keine erhöhte Thrombosegefahr bei Verwendung von ¹⁸⁶Rhenium-Stents festgestellt werden.

4.5 Schlußfolgerungen

Diese Studie zeigte, daß die Implantation von ¹⁸⁶Rhenium-Stents in die Aorta von Kaninchen durchführbar ist. In einem Zeitraum von 14 Tagen wurde in vivo weniger als 10 % der radioaktiven Dotierung der Stents abgeschwemmt.

Die Implantation der ^{186}Re -Stents führte zu einer dosisabhängigen Suppression der In-Stent Intimahyperplasie. In den 15,98- und 25,80 MBq-Gruppen war nach sieben Wochen keine In-Stent Neointima vorhanden. Nach 23 Wochen zeigten auch die beiden Langzeitkaninchen der 25,80 MBq-Gruppe keine Intimahyperplasie. Ein „candy wrapper“ wurde nicht beobachtet. Die Regeneration des intraluminalen Endothels der Aorta wurde gestört. Späte Thrombosen traten nicht auf. In den hier verwendeten Aktivitäten bis 25,80 MBq wurden keine weiteren ernsthaften biologischen Neben- oder Spätwirkungen der ^{186}Re -Stents beobachtet.

Das verwendete Tiermodell zeigte, daß mittels Implantation von ^{186}Re -Stents eine Prävention der Restenose nach Angioplastie möglich ist. Die verwendeten radioaktiven Stents sollten aber noch in weiteren Tiermodellen geprüft werden. Da Tiermodelle die Pathomechanismen der In-Stent Restenose im Menschen jedoch nicht exakt simulieren können, sollten schließlich klinische Studien das Potential von ^{186}Re -Stents prüfen.

5 Zusammenfassung

Die Restenoserate nach Angioplastie kann durch den gezielten Einsatz von Stents verringert werden. Trotzdem lag die Restenoserate im Stent Restenosis Study Trial (STRESS), sechs Monate nach Stentimplantation, bei 31,6 %. Intravaskularer Ultraschall und Autopsien bewiesen, daß die Neointima das entscheidende pathomorphologische Korrelat der In-Stent Restenose darstellt und somit Hauptverursacher der In-Stent Restenose ist. Ergebnisse von tierexperimentellen und klinischen Studien zeigten, daß die Intimahyperplasie durch intravaskuläre Strahlentherapie gehemmt werden kann.

Anhand der durchgeführten Studie sollten die Auswirkungen von radioaktiv dotierten ¹⁸⁶Rhenium-Stents auf die Gefäßwand untersucht werden. Von besonderem Interesse war die Intimahyperplasie in Abhängigkeit von der Radioaktivität der Stents.

Die Auswertung erfolgte an Präparaten von 35 Weißen Neuseelandkaninchen. Zur Induktion einer Intimahyperplasie erhielten alle Versuchstiere präoperativ eine 0,5 %ige Cholesterindiät über vier Wochen. Intraoperativ erfolgte eine Ballondenudation der infrarenalen Aorta. Anschließend wurden die Palmaz® Stents implantiert. Sieben Wochen nach Implantation von radioaktiv dotierten ¹⁸⁶Rhenium-Stents (2,58 MBq [n=6], 8,07 MBq [n=6], 15,98 MBq [n=6], 25,80 MBq [n=8]) bzw. nicht radioaktiven Kontrollstents (n=7) wurden 33 Kaninchen getötet. Zwei Kaninchen mit ¹⁸⁶Rhenium-Stents der Aktivität 25,80 MBq wurden 23 Wochen nach Implantation getötet.

Im Gefäßquerschnitt betrug die Intimafläche der Kontrollgruppe $2,20 \pm 0,86 \text{ mm}^2$. Die Versuchsgruppen zeigten eine dosisabhängige Abnahme der Intimafläche ($0,52 \pm 0,55 \text{ mm}^2$ [2,58 MBq]; $0,36 \pm 0,53 \text{ mm}^2$ [8,07 MBq] und $0,0 \text{ mm}^2$ [15,98 MBq und 25,80 MBq]). Die Intimafläche der beiden Langzeitkaninchen der Hochdosisgruppe betrug ebenfalls $0,0 \text{ mm}^2$. In den Gefäßlängsschnitten der Hochdosisgruppe konnte an den Stentenden keine verstärkte Intimahyperplasie beobachtet werden. Die radioaktive Strahlung führte zu einer Störung der Regeneration des intraluminalen Endothels der Aorta. Späte thrombotische Gefäßverschlüsse traten nicht auf.

6 Literaturverzeichnis

1. Rezidivstenose nach Koronarangioplastie. Klinische, zellbiologische und molekulare Aspekte.
Hombach V, Waltenberger J, Voisard R, Hoher M
Z Kardiol 1995; 84: 5-21
2. Roche Lexikon Medizin
4. Auflage (1999), Urban und Schwarzenberg
3. Pschyrembel Klinisches Wörterbuch
Hildebrandt H
257. Auflage (1993), de Gruyter
4. Transluminally-placed coilspring endarterial tube grafts. Long-term patency in canine popliteal artery.
Dotter CT
Invest Radiol 1969; 4: 329-32
5. Nitinol intravascular stent: results of preclinical evaluation.
Cragg AH, De Jong SC, Barnhart WH, Landas SK, Smith TP
Radiology 1993; 189: 775-8
6. Transluminal expandable nitinol coil stent grafting: preliminary report.
Dotter CT, Buschmann RW, McKinney MK, Rosch J
Radiology 1983; 147: 259-60
7. Nonsurgical placement of arterial endoprostheses: a new technique using nitinol wire.
Cragg A, Lund G, Rysavy J, Castaneda F, Castaneda Zuniga W, Amplatz K
Radiology 1983; 147: 261-3
8. Percutaneous arterial grafting.
Cragg AH, Lund G, Rysavy JA, Salomonowitz E, Castaneda Zuniga WR, Amplatz K
Radiology 1984; 150: 45-9
9. Expandable intraluminal graft: a preliminary study. Work in progress.
Palmaz JC, Sibbitt RR, Reuter SR, Tio FO, Rice WJ
Radiology 1985; 156: 73-7
10. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators
Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M, et al.
N Engl J Med 1994; 331: 496-501

11. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group
Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P, et al.
N Engl J Med 1994; 331: 489-95
12. Dramatic increase in use of coronary stents
Lane DM
Am J Cardiol 1999; 84: 1141
13. Neointimal tissue response at sites of coronary stenting in humans: macroscopic, histological, and immunohistochemical analyses.
Komatsu R, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Becker AE
Circulation 1998; 98: 224-33
14. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans.
Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, Virmani R
Circulation 1999; 99: 44-52
15. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia, and/or remodeling.
Schwartz RS
Am J Cardiol 1998; 81: 14E-17E
16. Allgemeine und spezielle Pathologie
Bühling KJ, Lepenies J, Witt K
(1995) Urban und Schwarzenberg
17. Pathobiologic responses to stenting.
Edelman ER, Rogers C
Am J Cardiol 1998; 81: 4E-6E
18. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty.
Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L
N Engl J Med 1987; 316: 701-6
19. Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: a time-related phenomenon. A quantitative angiographic study in 342 consecutive patients at 1, 2, 3, and 4 months.
Serruys PW, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ, van den Brand M, Reiber JH, ten Katen HJ, van Es GA, Hugenholtz PG
Circulation 1988; 77: 361-71

20. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model
Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, Holmes DR
J Am Coll Cardiol 1992; 19: 267-74
21. Monocyte recruitment and neointimal hyperplasia in rabbits. Coupled inhibitory effects of heparin.
Rogers C, Welt FG, Karnovsky MJ, Edelman ER
Arterioscler Thromb Vasc Biol 1996; 16: 1312-8
22. Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model.
Carter AJ, Laird JR, Farb A, Kufs W, Wortham DC, Virmani R
J Am Coll Cardiol 1994; 24: 1398-405
23. Inhibition of experimental neointimal hyperplasia and thrombosis depends on the type of vascular injury and the site of drug administration.
Rogers C, Karnovsky MJ, Edelman ER
Circulation 1993; 88: 1215-21
24. A unified model of vascular repair after mechanical injury.
Rogers C, Parikh S, Edelman ER
Circulation 1995; 92 (suppl I): I-300
25. Heparin-coated stents eliminate mural thrombus deposition for days without affecting restenosis.
Rogers C, Kjelsberg MA, Seifert P, Edelman ER
Circulation 1997; 9(suppl I): I-710
26. Histopathology of in-stent restenosis in patients with peripheral artery disease.
Kearney M, Pieczek A, Haley L, Losordo DW, Andres V, Schainfeld R, Rosenfield K, Isner JM
Circulation 1997; 95: 1998-2002
27. Histopathologic comparison of human coronary in-stent and post-balloon angioplasty restenotic tissue
Moreno PR, Palacios IF, Leon MN, Rhodes J, Fuster V, Fallon JT
Am J Cardiol 1999; 84: 462-466, A9
28. Patterns and mechanisms of in-stent restenosis. A serial intravascular ultrasound study
Hoffmann R, Mintz GS, Dussaillant GR, Popma JJ, Pichard AD, Satler LF, Kent KM, Griffin J, Leon MB
Circulation 1996; 94: 1247-54

-
29. Validation of the in vivo intravascular ultrasound measurement of in-stent neointimal hyperplasia volumes.
Mehran R, Mintz GS, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Brahim A, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Popma JJ, Leon MB
J Am Coll Cardiol 1998; 32: 794-9
 30. Serial follow-up after optimized ultrasound-guided deployment of Palmaz-Schatz stents. In-stent neointimal proliferation without significant reference segment response.
Mudra H, Regar E, Klauss V, Werner F, Henneke KH, Sbarouni E, Theisen K
Circulation 1997; 95: 363-70
 31. Vascular pathology of balloon-expandable flexible coil stents in humans.
Anderson PG, Bajaj RK, Baxley WA, Roubin GS
J Am Coll Cardiol 1992; 19: 372-81
 32. Directional atherectomy for treatment of restenosis within coronary stents: clinical, angiographic and histologic results.
Strauss BH, Umans VA, van Suylen RJ, de Feyter PJ, Marco J, Robertson GC, Renkin J, Heyndrickx G, Vuzevski VD, Bosman FT, et al.
J Am Coll Cardiol 1992; 20: 1465-73
 33. Histology after stenting of human saphenous vein bypass grafts: observations from surgically excised grafts 3 to 320 days after stent implantation.
van Beusekom HM, van der Giessen WJ, van Suylen R, Bos E, Bosman FT, Serruys PW
J Am Coll Cardiol 1993; 21: 45-54
 34. Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine: an animal model of restenosis.
Karas SP, Gravanis MB, Santoian EC, Robinson KA, Anderberg KA, King SB 3rd
J Am Coll Cardiol 1992; 20: 467-74
 35. Mechanisms of restenosis and redilation within coronary stents--quantitative angiographic assessment.
Gordon PC, Gibson CM, Cohen DJ, Carrozza JP, Kuntz RE, Baim DS
J Am Coll Cardiol 1993; 21: 1166-74
 36. Small stent size and intimal hyperplasia contribute to restenosis: a volumetric intravascular ultrasound analysis.
Dussaillant GR, Mintz GS, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Popma JJ, Wong SC, Leon MB
J Am Coll Cardiol 1995; 26: 720-4
 37. Stent-Restenose: Therapiekonzepte und Möglichkeiten der Prävention.
Radke PW, vom Dahl J, Klues HG
Med Klin 1999; 94: 88-92

38. Allgemeine und spezielle Pathologie
Riede UN, Schaefer HE
4. Auflage (1995), Thieme Verlag
39. Physik für Mediziner
Trautwein A, Kreubig U, Oberhausen E
4. Auflage, de Gruyter Verlag
40. Radiation therapy of benign diseases
Order SE & Donaldson SS,
2nd rev. Springer (1998)
41. Apoptosis, necrosis, and proliferation: possible implications in the etiology of keloids.
Appleton I, Brown NJ, Willoughby DA
Am J Pathol 1996; 149: 1441-7
42. The microvessels in hypertrophic scars, keloids and related lesions: a review.
Kischer CW
J Submicrosc Cytol Pathol 1992; 24: 281-96
43. Role of ionizing irradiation for 393 keloids.
Borok TL, Bray M, Sinclair I, Plafker J, LaBirth L, Rollins C
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1988; 15: 865-70
44. Radiation therapy following keloidectomy: a 20-year experience.
Kovalic JJ, Perez CA
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1989; 17: 77-80
45. Intimal proliferation of smooth muscle cells as an explanation for recurrent coronary artery stenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty.
Austin GE, Ratliff NB, Hollman J, Tabei S, Phillips DF
J Am Coll Cardiol 1985; 6: 369-75
46. Transluminal coronary angioplasty and early restenosis. Fibrocellular occlusion after wall laceration.
Essed CE, Van den Brand M, Becker AE
Br Heart J 1983; 49: 393-6
47. Restenosis after coronary angioplasty. Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia.
Liu MW, Roubin GS, King SB 3d
Circulation 1989; 79: 1374-87

48. Histopathologic phenomena at the site of percutaneous transluminal coronary angioplasty: the problem of restenosis.
Gravanis MB, Roubin GS
Hum Pathol 1989; 20: 477-85
49. Radiosensitivity of vascular tissue. II. Differential radiosensitivity of aortic cells in vitro.
Fischer DK, Dimitrievich GS, Griem ML
Radiat Res 1984; 99: 536-46
50. Radiation survival properties of cultured vascular smooth muscle cells.
Rosen EM, Goldberg ID, Myrick KV, Levenson S
Radiat Res 1984; 100: 182-91
51. Effect of hyperlipidemic serum and irradiation on wound healing in primary quiescent cultures of vascular cells.
Fischer DK, Dimitrievich GS, Schaffner T
Exp Mol Pathol 1990; 52: 1-12
52. Radionuclide data and decay schemes
Weber DA, Eckermann KF, Dillmann LT
Society of Nuclear Medicine SNM
53. Die Trenn- Dünnschliff-Technik
Donath K
Exakt-Kulzer Druckschrift, Norderstedt 1989
54. Sustained activation of vascular cells and leukocytes in the rabbit aorta after balloon injury.
Tanaka H, Sukhova GK, Swanson SJ, Clinton SK, Ganz P, Cybulsky MI, Libby P
Circulation 1993; 88: 1788-803
55. Angewandte Statistik
Sachs L
6. Auflage (1984), Springer Verlag
56. A randomized trial comparing coronary angioplasty with coronary bypass surgery. Emory Angioplasty versus Surgery Trial (EAST)
King SB, Lembo NJ, Weintraub WS, et al.
N Eng J Med 1994; 331: 1044-50
57. A randomized study of coronary angioplasty compared with bypass surgery in patients with symptomatic multivessel coronary disease. German Angioplasty Bypass Surgery Investigation (GABI)
Hamm CW, Reimers J, Ischinger T, Rupprecht HJ, Berger J, Bleifeld W
N Engl J Med 1994; 331: 1037-43

58. Angioplasty or surgery for multivessel coronary artery disease: Comparison of eligible registry and randomized patients in the EAST trial and influence of treatment selection on outcomes
King SB, Barnhart HX, Kosinski AS, Weintraub WS, Lembo NJ, Petersen JY, Douglas JS, Jones EL, Craver JM, Guyton RA, Morris DC, Liberman HA
Am J Cardiol 1997; 79: 1453-9
59. Textbook of interventional cardiology, 2nd ed 1994, 415-435
Hillegass WB
60. Coronary restenosis: Ist mechanisms and modification-overview
Ludbrook PA
Coron Artery Dis 1993; 4:225-228
61. Restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty.
Klein LW, Rosenblum J
Prog Cardiovasc Dis 1990; 32: 365-82
62. Clinical trials of restenosis after coronary angioplasty
Popma JJ, Califf RM, and Topol EJ
Circulation 1991; 84: 1426-1436
63. Pharmacologic prevention of restenosis after coronary angioplasty: review of the randomized clinical trials.
Franklin SM, Faxon DP
Coron Artery Dis 1993; 4: 232-42
64. Lack of effect of lovastatin on restenosis after coronary angioplasty. Lovastatin Restenosis Trial Study Group.
Weintraub WS, Boccuzzi SJ, Klein JL, Kosinski AS, King SB 3rd, Ivanhoe R, Cedarholm JC, Stillabower ME, Talley JD, DeMaio SJ, et al.
N Engl J Med 1994; 331: 1331-7
65. Low molecular weight heparin in prevention of restenosis after angioplasty. Results of Enoxaparin Restenosis (ERA) Trial.
Faxon DP, Spiro TE, Minor S, Cote G, Douglas J, Gottlieb R, Califf R, Dorosti K, Topol E, Gordon JB, et al.
Circulation 1994; 90: 908-14
66. Generalized model of restenosis after conventional balloon angioplasty, stenting and directional atherectomy.
Kuntz RE, Gibson CM, Nobuyoshi M, Baim DS
J Am Coll Cardiol 1993; 21: 15-25
67. New device angioplasty: the impact on restenosis.
Wong CS, Leon MB, Popma JJ
Coron Artery Dis 1993; 4: 243-53

-
68. Radiosensitivity of vascular tissue. II. Differential radiosensitivity of aortic cells in vitro.
Fischer DK, Dimitrievich GS, Griem ML
Radiat Res 1984; 99: 536-46
69. Radiation survival properties of cultured vascular smooth muscle cells.
Rosen EM, Goldberg ID, Myrick KV, Levenson S
Radiat Res 1984; 100: 182-91
70. Effect of hyperlipidemic serum and irradiation on wound healing in primary quiescent cultures of vascular cells.
Fischer DK, Dimitrievich GS, Schaffner T
Exp Mol Pathol 1990; 52: 1-12
71. Radiation inhibition of intimal hyperplasia after arterial injury.
Mayberg MR, Luo Z, London S, Gajdusek C, Rasey JS
Radiat Res 1995; 142: 212-20
72. Effects of external irradiation of the heart on the coronary artery response to balloon angioplasty injury in pigs
Styles TJ, Majjianowski MMH, Robinson KA et al.
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1997; 39 (Suppl 2S): 2181
73. Effect of external beam irradiation on neointimal hyperplasia after experimental coronary artery injury.
Schwartz RS, Koval TM, Edwards WD, Camrud AR, Bailey KR, Browne K, Vlietstra RE, Holmes DR Jr
J Am Coll Cardiol 1992; 19: 1106-13
74. The effect of very low-dose irradiation on restenosis following balloon angioplasty.
Gellman J, Healey G, Chen Q. et al.
Circulation 1991; 83: (Suppl I): 1319
75. Radiation inhibition of arterial restenosis -- a new frontier.
Rubin P, Williams JP, Schell MC, Okunieff P
Acta Oncol 1999; 38: 407-24
76. Radiation therapy to prevent coronary artery restenosis.
Crocker I
Semin Radiat Oncol 1999; 9: 134-43
77. Intracoronary irradiation markedly reduces restenosis after balloon angioplasty in a porcine model.
Wiedermann JG, Marboe C, Amols H, Schwartz A, Weinberger J
J Am Coll Cardiol 1994; 23: 1491-8

78. Endovascular low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in swine. A possible role for radiation therapy in restenosis prevention. Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, Gravanis MB, Cipolla GD, King SB 3rd
Circulation 1995; 91: 1533-9
79. High dose rate intracoronary radiation for inhibition of neointimal formation in the stented and balloon-injured porcine models of restenosis: angiographic, morphometric, and histopathologic analyses. Mazur W, Ali MN, Khan MM, Dabaghi SF, DeFelice CA, Paradis P Jr, Butler EB, Wright AE, Fajardo LF, French BA, Raizner AE
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1996; 36: 777-88
80. Endovascular brachytherapy to inhibit coronary artery restenosis: an introduction to the SCRIPPS Coronary Radiation to Inhibit Proliferation Post Stenting trial
Massullo V, Teirstein PS, Jani S, Russo RJ, Guarneri EM, Jin H, Schatz RA, Morris NB, Steuterman S, Popma JJ, Mintz GS, Leon MB, Tripuraneni P
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1996; 36: 973-5
81. Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting
Teirstein PS, Massullo V, Jani S, Popma JJ, Mintz GS, Russo RJ, Schatz RA, Guarneri EM, Steuterman S, Morris NB, Leon MB, Tripuraneni P
N Engl J Med 1997; 336: 1697-703
82. Meeting report: 73rd scientific sessions of the American Heart Association
Coussement PK
Vascular Radiotherapy Monitor 2000; 3: 53-55
83. Feasibility of intracoronary beta-irradiation to reduce restenosis after balloon angioplasty. A clinical pilot study
Verin V, Urban P, Popowski Y, Schwager M, Nouet P, Dorsaz PA, Chatelain P, Kurtz JM, Rutishauser W
Circulation 1997; 95: 1138-44
84. Endovascular beta-radiation to reduce restenosis after coronary balloon angioplasty: results of the beta energy restenosis trial (BERT).
King SB 3rd, Williams DO, Chougule P, Klein JL, Waksman R, Hilstead R, Macdonald J, Anderberg K, Crocker IR
Circulation 1998; 97: 2025-30
85. Beta-radiation to reduce restenosis. Too little, too soon?
Teirstein P
Circulation 1997; 95: 1095-7

-
86. The effect of intracoronary beta-radiation on neointimal formation and vascular remodeling in balloon-injured porcine coronary arteries: Effect of dose rate
Ali MN, Kaluza G, Mazur W, Fajardo LF, Schulz D, Bradshaw AJ, Berens KL
Khan MM, Raizner AE
J Interv Cardiol 1999; 12: 271-282
87. Dosimetry of a radioactive coronary balloon dilatation catheter for treatment of neointimal hyperplasia.
Amols HI, Reinstein LE, Weinberger J
Med Phys 1996; 23: 1783-8
88. The radioisotope stent for the prevention of restenosis.
Fischell TA, Hehrlein C
Herz 1998; 23: 373-9
89. Pure beta-particle-emitting stents inhibit neointima formation in rabbits.
Hehrlein C, Stintz M, Kinscherf R, Schlosser K, Huttel E, Friedrich L, Fehsenfeld P, Kubler W
Circulation 1996; 93: 641-5
90. Inhibition of neointimal proliferation with low-dose irradiation from a beta-particle-emitting stent.
Laird JR, Carter AJ, Kufs WM, Hoopes TG, Farb A, Nott SH, Fischell RE, Fischell DR, Virmani R, Fischell TA
Circulation 1996; 93: 529-36
91. Dose-response effects of ^{32}P radioactive stents in an atherosclerotic porcine coronary model.
Carter AJ, Scott D, Bailey L, Hoopes T, Jones R, Virmani R
Circulation 1999; 100: 1548-54
92. Long-term coronary vascular response to ^{32}P β -particle-emitting stents in a canine model
Taylor AJ, Gorman PD, Farb A, Hoopes TG, Virmani R
Circulation 1999; 100: 2366-2372.
93. Experimental results with $(90)\text{yttrium}$ beta-particle emitting radioactive stents in a porcine model of restenosis
Carter AJ, Sweet W, Bailey L, Jones R, Virmani R, Fischell TA
J Interv Cardiol 1999; 12 : 291-297
94. A dilemma for the 1990s. Choosing appropriate experimental animal model for the prevention of restenosis
Ferrell M, Fuster V, Gold HK, Chesebro JH
Circulation 1992; 85: 1630-1

95. Plaquemorphologie nach arteriellen Interventionen am Weißen Neuseelandkaninchen - Wann ist welches Restenosemodell geeignet?
Tepe G, Duda SH, Hagmeier S, Brehme U, Kalinowski M, Bruck B, Schmahl FW, Claussen CD
Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 1998; 168: 84-9
96. Limits for intakes of radionuclides by workers (1980)
Ann ICRP, New York
Pergamon Press 1980: 30
97. Physiological studies of rhenium compounds
Maresh F, Lustok MJ, Cohen PP
Proc soc exp Biol Med 1940; 45: 576-9
98. Electrodeposition of radioactive rhenium onto stents to prevent restenosis.
Hafeli UO, Warburton MC, Landau U
Biomaterials 1998; 19: 925-33
99. Dosimetrische Grundlagen für die endovaskuläre Therapie mit Re-188 zur Prävention der Restenose nach Angioplastie.
Kotzerke J, Rentschler M, Glatting G, Schneider E, Stabin M, Knapp FF Jr, Reske SN
Nuklearmedizin 1998; 37: 68-72
100. Factors affecting late mortality from heart disease after treatment of Hodgkin's disease.
Hancock SL, Tucker MA, Hoppe RT
JAMA 1993; 270: 1949-55
101. Rupture of major vessels after radiation.
Fajardo LF, Lee A
Cancer 1975; 36: 904-13
102. Long-term complications of treatment and causes of mortality after Hodgkin's disease
Hancock SL, Hoppe RT
Semin Radiat Oncol 1996; 6: 225-242
103. Roles of radiotherapy and smoking in lung cancer following Hodgkin's disease
van Leeuwen FE, Klokman WJ, Stovall M, Hagenbeek A, van den Belt Dusebout AW, Noyon R, Boice JD Jr, Burgers JM, Somers R
J Natl Cancer Inst 1995; 87: 1530-7
104. Breast cancer after treatment of Hodgkin's disease.
Hancock SL, Tucker MA, Hoppe RT
J Natl Cancer Inst 1993; 85: 25-31

-
105. Gastrointestinal cancer after treatment of Hodgkin's disease.
Birdwell SH, Hancock SL, Varghese A, Cox RS, Hoppe RT
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1997; 37: 67-73
106. Late thrombosis after radiation. Sitting on a time bomb
Waksman R
Circulation 1999; 100: 780-2
107. Accumulation of macrophages in the arterial vessel wall following experimental balloon angioplasty.
Hanke H, Hassenstein S, Ulmer A, Kamenz J, Oberhoff M, Haase KK, Baumbach A, Gown AM, Karsch KR
Eur Heart J 1994; 15: 691-8
108. Cellular and molecular mechanisms of radiation inhibition of restenosis. Part I: role of the macrophage and platelet-derived growth factor
Rubin P, Williams JP, Riggs PN, Bartos S, Sarac T, Pomerantz R, Castano J, Schell M, Green RM
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1998; 40: 929-41
109. Radiation heart disease. Analysis of 16 young (aged 15 to 33 years) necropsy patients who received over 3,500 rads to the heart.
Brosius FC 3d, Waller BF, Roberts WC
Am J Med 1981; 70: 519-30
110. The role of the adventitia in the arterial response to angioplasty: the effect of intravascular radiation.
Wilcox JN, Waksman R, King SB, Scott NA
Int J Radiat Oncol Biol Phys 1996; 36: 789-96
111. Short- and intermediate-term results of ^{32}P radioactive β -emitting stent implantation in patients with coronary artery disease. The Milan dose-response study
Albiero R, Adamian M, Kobayashi N, Amato A, Vagheti M, Di Mario C, Colombo A
Circulation 2000; 101: 18-26
112. Immunocytochemical analysis of cellular components in lesions of atherosclerosis in the Watanabe and fat fed rabbit using monoclonal antibodies.
Tsukada T, Rosenfeld M, Ross R, Gown AM
Arteriosclerosis 1986; 6:601-13
113. Prevention of restenosis by external beam ionizing irradiation
Mosseri M, Schwalb H, Weshler Z
J Interv Cardiol 1999; 12: 283-90
114. Clinical Reviews
Vascular Radiotherapy Monitor 2000; 2: 105-106

115. Quantitative angiographic comparison of elastic recoil after coronary excimer laser-assisted balloon angioplasty and balloon angioplasty alone.
Strikwerda S, van Swijndregt EM, Melkert R, Serruys PW
J Am Coll Cardiol 1995;25:378-86
116. Dosisabhängige Auswirkungen des kombinierten beta/gamma Emitters Rhenium¹⁸⁶ auf das Wachstum humaner Gefäßzellen.
Wiskirchen J, Dittmann H, Gebert R, Burgbacher B, Betsch A, Schöber W, Johst U, Dohmen BM, Kehlbach R., Rodemann HP, Bares R, Duda SH
Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr 2001; 173: 72-6
117. Catheter-based endovascular radiation therapy devices
Ali NM, Kaluza GL, Raizner AE
Vascular Radiotherapy Monitor 2000; 2: 72-81
118. Update on radioactive stents
Hehrlein C
Vascular Radiotherapy Monitor 2000; 3: 31-35
119. Anatomie
Benninghoff A
13./14. Auflage (1985), Urban und Schwarzenberg
120. Radioactive stents
Schweikert H, Hehrlein C
Min Invas Ther Allied Technol 1999; 8: 255-60
121. Innere Medizin
Classen M, Diehl V, Kochsiek K
(1991) Urban und Schwarzenberg
122. Biology of restenosis and therapeutic approach.
Nicolini FA, Pepine CJ
Surg Clin North Am 1992;72:919-40
123. Restenosis after experimental angioplasty. Intimal, medial, and adventitial changes associated with constrictive remodeling.
Lafont A, Guzman LA, Whitlow PL, Goormastic M, Cornhill JF, Chisolm GM
Circ Res 1995;76:996-1002
124. The three processes leading to post PTCA restenosis: dependence on the lesion substrate.
Fuster V, Falk E, Fallon JT, Badimon L, Chesebro JH, Badimon JJ
Thromb Haemost 1995;74:552-9

125. Management of restenosis after coronary intervention.
Dangas G, Fuster V
Am Heart J 1996;132:428-36
126. Late coronary occlusion after intracoronary brachytherapy.
Costa MA, Sabat M, van der Giessen WJ, Kay IP, Cervinka P, Ligthart JM,
Serrano P, Coen VL, Levendag PC, Serruys PW
Circulation 1999;100:789-92

7 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Duda für die freundliche Überlassung dieses Themas sowie für die Möglichkeit zur Mitarbeit an weiteren wissenschaftlichen Projekten.

Ganz herzlich bedanke ich mich bei Herrn Dr. Tepe für die ausdauernde Betreuung bei der Planung, Durchführung und Auswertung dieser Arbeit. Seine fachlich hervorragende Unterstützung war mir in jedem Abschnitt eine große Hilfe.

Die Experimente wurden zusammen mit der Schering AG Berlin durchgeführt. Bei Herrn Dr. Dinkelborg und den Mitarbeitern der Abteilung Research Molecular Imaging and New Fields bedanke ich mich ganz herzlich für die Kooperation.

Bei Herrn Prof. Dr. Schmahl, an dessen Institut für Arbeits- und Sozialmedizin der Universitätsklinik Tübingen die Auswertung der Ergebnisse stattfand, bedanke ich mich herzlich.

Ich danke Frau Dr. Brehme, die mir bei Computerfragen weitergeholfen hat und mir als freundliche Ansprechpartnerin im Haus der Arbeits- und Sozialmedizin immer mit gutem Rat zur Seite stand.

Ich danke Herrn Drysch vom Institut für Arbeits- und Sozialmedizin für seine Antworten auf Fragen in technischen Belangen.

Frau Dr. Greschniok vom Institut für Pathologie der Universitätsklinik Tübingen danke ich für die histopathologische Beratung.

Herrn Ernst vom Pathologischen Institut des Kreiskrankenhauses Reutlingen danke ich für die Herstellung der Methamethylakrylat-Präparate.

Herrn Prof. Dr. Wagner vom Anatomischen Institut der Universität Tübingen danke ich für die Bereitstellung der digitalen Kamera.

Ich danke Herrn Rosenberger vom Institut für Medizinische Informationsverarbeitung für seine statistische Beratung.

Herr Prof. Dr. Claussen hat sich sehr für dieses Projekt engagiert und mich immer unterstützt. Dafür danke ich ihm ganz herzlich.

8 Lebenslauf

Name	Tobias Johannes Bogislav Dietrich
15. Januar 1974	geboren in Stuttgart
Nationalität	deutsch
1980 - 1984	Besuch der Ludwig-Uhland-Grundschule in Böblingen
1984 - 1993	Besuch des Albert-Einstein-Gymnasiums in Böblingen
Mai 1993	Abitur
August 1993 - Oktober 1994	Zivildienst als Pfleger im Kreiskrankenhaus Böblingen
Oktober 1994 - Dezember 2001	Medizinstudium an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
Mai 1999 - Januar 2000	Tätigkeit als wissenschaftliche Hilfskraft an der Abteilung für Radiologische Diagnostik der Universitätsklinik Tübingen
Oktober 2000 - November 2001	Ableistung des Praktischen Jahres am Kantonsspital St. Gallen (CH), Boston Medical Center (USA) und am Städtischen Krankenhaus Friedrichshafen
6. November 2001	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung in Friedrichshafen
seit Januar 2002	Tätigkeit als Arzt im Praktikum an der Abteilung für Radiologische Diagnostik der Universitätsklinik Tübingen