

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

**Stentbeschichtung mit Rhenium-186  
zur Beeinflussung der Restenose nach  
Angioplastie im Schweinmodell**

Inaugural - Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin

der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen

vorgelegt von  
Jörg - Martin Schmehl  
aus Tübingen

2006

Dekan: Professor Dr. I.B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. G. Tepe

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. B. Balletshofer



## Abkürzungsverzeichnis

ACAT	Acyl-CoA-Cholesterin-O-Acyltransferase
AFS	Arteria femoralis superficialis
Bq	Bequerel
BrdU	Bromo-desoxy-Uridin
D1-3	Dosisgruppe 1-3
GP IIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
Gy	Gray
HDL	High density lipoprotein
HDR	High dose rate
ICAM	Intercellular adhesion molecule
IVUS	Intravascular Ultrasonography
IL	Interleukin
ISR	In-Stent-Restenose
K	Kontrollgruppe
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low density lipoprotein
LDR	Low dose rate
MACE	Major adverse cardiac events
MCP	Macrophage chemoattractant protein
MLD	Minimal luminal diameter
NiTiNOL	Nickel Titanium Naval Ordnance Laboratories
PAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	Platelet derived growth factor
PTA	Perkutane transluminale Angioplastie
PTCA	Perkutane transluminale Koronarangioplastie
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RCX	Ramus circumflexus
RT	Radiation therapy
SD	Standardabweichung
SMC	Smooth muscle cells
VBT	Vascular brachytherapy
VCAM	Vascular cell adhesion molecule
VLDL	Very low density lipoprotein

## **Inhaltsverzeichnis**

Abkürzungsverzeichnis .....	3
Inhaltsverzeichnis .....	4
1 Einleitung .....	8
1.1 Entstehung der Atherosklerose .....	8
1.2 Durch atherosklerotische Veränderungen bedingte Erkrankungsbilder .....	11
1.3 Therapieoptionen .....	12
1.4 Die Entwicklung von Stents .....	14
1.5 Pathomechanismus der Restenose .....	16
1.6 Therapeutische Optionen bei Wiederverschlüssen, prophylaktische Ansätze ...	18
1.7 Strahlenbiologie und Einsatzgebiete in der Medizin .....	19
1.8 Strahlenwirkung auf Gefäße .....	19
1.9 Strahlentherapie zur Hemmung von Neointimabildung .....	20
1.10 Problematik und Fragestellung .....	21
2 Material und Methoden .....	23
2.1 Versuchsmaterialien .....	23
2.1.1 Interventionsmaterial .....	23
2.1.2 Das Isotop Rhenium-186 .....	23
2.1.3 Beschichtungsverfahren .....	24
2.1.4 Dosimetrie der beschichteten Stents .....	24
2.2 Versuchsablauf .....	26
2.2.1 Tiermodell .....	26
2.2.2 Gruppeneinteilung .....	26
2.2.3 Thromboseprophylaxe und Narkose .....	27
2.2.4 Operationstechnik .....	28
2.2.5 Nachbehandlung und Nachuntersuchung .....	28
2.2.6 Versuchsende .....	29
2.3 Herstellung und Aufarbeitung der Präparate .....	29
2.3.1 Zuschneiden der Gefäße .....	29

# *Inhaltsverzeichnis*

---

2.3.2	Überführung in Parafin .....	31
2.3.3	Färbungen zur histologischen Untersuchung .....	31
2.3.3.1	Haematoxilin-Eosin-Färbung .....	31
2.3.3.2	Elastica van Giesson-Färbung .....	32
2.3.4	Untersuchungsmethoden .....	32
2.3.4.1	Quantitative Angiographie .....	32
2.3.4.2	Morphometrische Auswertung .....	33
2.3.4.3	Zellkerndichte in den Wandschichten .....	34
2.3.4.4	Histopathologische Auswertung .....	34
2.4	Statistische Auswertung .....	35
3	Ergebnisse .....	37
3.1	Prozedur .....	37
3.2	Dosimetrie der radioaktiven Stents .....	40
3.3	Ergebnisse der KoronargefäÙe .....	44
3.3.1	Ergebnisse der quantitativen Angiographie .....	44
3.3.1.1	Länge des untersuchten Segments .....	44
3.3.1.2	Maximaler Durchmesser im untersuchten Segment .....	44
3.3.1.3	Minimaler Durchmesser im untersuchten Segment (MLD) .....	45
3.3.1.4	Mittlerer Durchmesser des untersuchten Segments .....	45
3.3.1.5	Durchmesser an den Stentenden .....	46
3.3.1.6	Durchmesser in der Mitte des Stents .....	47
3.3.2	Morphometrische Ergebnisse .....	49
3.3.2.1	Lumenfläche .....	49
3.3.2.2	Intimafläche .....	50
3.3.2.3	Mediafläche .....	51
3.3.2.4	Stenosegrad .....	51
3.3.2.5	Dicke der Adventitia .....	52
3.3.3	Dichte der Zellkerne in den Wandschichten .....	54
3.3.3.1	Dichte der Zellkerne in der Intima .....	54
3.3.3.2	Dichte der Zellkerne in der Media .....	55
3.3.3.3	Dichte der Zellkerne in der Adventitia .....	56

## *Inhaltsverzeichnis*

---

3.3.4	Ergebnisse der histopathologischen Auswertung.....	57
3.3.4.1	Vessel injury score.....	57
3.3.4.2	Inflammation score.....	57
3.3.4.3	Fibrose in der Adventitia.....	59
3.3.4.4	Fibrinoide Insudate in der Intima.....	60
3.3.4.5	Differenzierung der intimalen Hyperplasie.....	62
3.3.4.6	Endothelialisierung.....	64
3.4	Ergebnisse der Carotiden.....	66
3.4.1	Ergebnisse der quantitativen Angiographie.....	66
3.4.1.1	Länge des untersuchten Segments.....	66
3.4.1.2	Maximaler Durchmesser im untersuchten Segment.....	66
3.4.1.3	Minimaler Durchmesser im untersuchten Segment (MLD).....	66
3.4.1.4	Mittlerer Durchmesser des untersuchten Segments .....	67
3.4.1.5	Durchmesser an den Stentenden .....	68
3.4.1.6	Durchmesser in der Mitte des Stents.....	68
3.4.2	Morphometrische Ergebnisse .....	71
3.4.2.1	Lumenfläche.....	71
3.4.2.2	Intimafläche.....	72
3.4.2.3	Mediafläche.....	73
3.4.2.4	Dicke der Adventitia .....	74
3.4.3	Dichte der Zellkerne in den Wandschichten.....	76
3.4.3.1	Dichte der Zellkerne in der Intima .....	76
3.4.3.2	Dichte der Zellkerne in der Media .....	76
3.4.3.3	Dichte der Zellkerne in der Adventitia.....	76
3.4.4	Ergebnisse der histopathologischen Auswertung .....	78
3.4.4.1	Vessel injury score .....	78
3.4.4.2	Inflammation score.....	78
3.4.4.3	Fibrose in der Adventitia.....	79
3.4.4.4	Fibrinoide Insudate in der Intima.....	81
3.4.4.5	Differenzierung der intimalen Hyperplasie.....	81
3.4.4.6	Endothelialisierung.....	83

# *Inhaltsverzeichnis*

---

3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse.....	84
4 Diskussion .....	86
4.1 Hintergrund des vorliegenden Versuches.....	86
4.2 Ionisierende Strahlen im Rahmen intravaskulärer Eingriffe .....	86
4.2.1 Grundlagen der endovaskulären Brachytherapie.....	86
4.2.2 Stentdotierung als Alternative zum Afterloading.....	88
4.3 Experimentelles Modell.....	91
4.3.1 Tiermodelle zur Erforschung der Restenose .....	91
4.3.2 Wahl des Schweinemodells .....	92
4.4 Versuche mit Radiatio im Kaninchen.....	95
4.5 Intravaskuläre Strahlentherapie im Schwein .....	97
4.5.1 Intimale Hyperplasie nach intravaskulärer Radiatio .....	98
4.5.2 Histopathologische Veränderungen nach Bestrahlung.....	103
4.5.3 Gefäßreaktion und Grad des Heilungsprozesses .....	104
4.6 Klinische Anwendung der intravaskulären Strahlentherapie .....	106
4.6.1 Datenlage zu ionisierender Strahlung in den Koronarien.....	106
4.6.2 Limitationen Edge Effekt und späte Thrombose.....	108
4.6.3 Ionisierende Strahlung in peripheren Arterien .....	110
4.7 Endovaskuläre Therapie in der Arteria carotis .....	110
4.8 Schlussfolgerungen.....	112
5 Zusammenfassung .....	114
6 Literaturverzeichnis .....	115
7 Danksagung .....	126
8 Lebenslauf .....	127

## **1 Einleitung**

### **1.1 Entstehung der Atherosklerose**

Okklusive arterielle Gefäßerkrankungen zählen neben malignen Neoplasien zu den häufigsten Todesursachen in westlichen Gesellschaften. Klinisch äußern sie sich beispielsweise als KHK, PAVK und Schlaganfall. Bei der zugrundeliegenden Atherosklerose handelt es sich um eine variable Kombination von Veränderungen der Intima, bestehend aus einer herdförmigen Ansammlung von Fettsubstanzen, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia, so die Definition der Weltgesundheitsorganisation.

Nach der "Response-to-Injury" Hypothese von Russel Ross (1, 2) entwickelt sich eine Läsion als Antwort auf einen Endothelschaden im Sinne einer Zerstörung der Endothelbarriere. Nachfolgende Thrombozytenaggregation an die subendotheliale Matrix, deren Degranulation und die Migration von glatten Muskelzellen in die Intima sowie Lipidansammlungen führen zur Entstehung einer Plaque. Die Notwendigkeit einer morphologisch erkennbaren Läsion des Endothels wurde allerdings nicht bestätigt, vielmehr scheint aus heutiger Sicht eine funktionelle Störung ausschlaggebend für die Entstehung einer atherosklerotischen Läsion zu sein.

Das intakte Endothel stellt nicht nur eine einfache Barriere zwischen dem Blut und den darunterliegenden Schichten der Gefäßwand dar, es nimmt durch Metabolismustransport, Regulierung des Gefäßtonus über die Bildung von Stickstoffmonoxid, welche durch Scherkräfte und vasoaktive Substanzen stimuliert wird, und die Modulation von Gerinnung und Immunantwort durch pro- und antithrombogen wirkende und immunmodulatorische Komponenten wichtige Aufgaben für die Funktion von Blut und Gefäßen wahr. Die Adhäsion und Gewebmigration im Blut zirkulierender Zellen wird durch Adhäsionsmoleküle vermittelt. Im Falle einer Störung der endothelialen Stickstoffmonoxidbildung kommt es zu einer vermehrten Expression z.B. des VCAM-1, welches auf nicht aktivierten Endothelzellen nicht vorkommt und sich schon in frühen atherosklerotischen Läsionen findet (3). Durch

## *Einleitung*

---

Bindung mit einem  $\beta 1$ -Integrin-Rezeptor wird eine Adhäsion von T-Zellen und Monozyten vermittelt. Verschiedene weitere Adhäsionsmoleküle wie ICAM-1 sowie P- und E-Selektine führen zu einer vermehrten Leukozytenadhäsion an das Endothel und nachfolgender Migration in die Gefäßwand. Eine endotheliale Funktionsstörung stellt somit die Grundlage für die Entwicklung einer atherosklerotischen Läsion dar.

Die meisten bekannten Risikofaktoren der Atherosklerose wie Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und inhalatives Zigarettenrauchen führen zu einer endothelialen Dysfunktion. Neben der oben beschriebenen vermehrten Expression von Adhäsionsmolekülen kommt es außerdem zu einer Ablagerung von Plasmaproteinen in den subendothelialen Gefäßwandschichten, darunter insbesondere LDL.

Die Relevanz von Cholesterin im Rahmen atherosklerotischer Läsionen wurde schon früh erkannt. So konnte bereits zu Beginn des letzten Jahrhunderts gezeigt werden, dass neben Kalk und Bindegewebe auch Cholesterin in atherosklerotischen Läsionen zu finden ist. Durch Verfütterung einer cholesterinreichen Diät ließ sich im Kaninchenmodell die Bildung einer atherosklerotischen Plaque induzieren (4). Nach der „Response-to-Retention“ Theorie von Kevin Williams wird LDL an die Proteoglykane der Gefäßwand gebunden (5). Dies führt in der Folge zur Oxidation von Lipoproteinen und Ausschüttung chemotaktischer Faktoren, was die Entwicklung der Läsion bewirkt.

Der Transport von Cholesterin zu den Organen wird durch das LDL wahrgenommen, im Gegensatz hierzu dient HDL dem Cholesterintransport zur Leber. Ferner können HDL antioxidierende Enzyme transportieren, welche oxidiertes LDL auflösen. Entzündliche Prozesse in der Gefäßwand und hierbei insbesondere die inflammatorische Wirkung von LDL sind ein zentraler Mechanismus in der Entstehung der atherosklerotischen Läsion. Verschiedene Enzyme wie Trypsin, Cholesterolesterase und Neuraminidase verändern LDL in ähnlicher Form wie in Plaques gefundenes LDL, was für HDL und VLDL nicht der Fall ist (6). LDL hat allerdings auch ohne Oxidation selbst das Potential inflammatorisch zu wirken, indem es Komplement und Makrophagen aktiviert. Enzymatisch verändertes LDL kann durch Verbindung mit CRP eine Komplementreaktion auslösen (7). Durch eine Impfbehandlung mit LDL konnte so im Kaninchenmodell die Ausbildung der Atherosklerose vermindert werden.

## *Einleitung*

---

Homologes, oxidiertes LDL als Immunisierung führte zu einer Reduktion der Neointimafläche um 58% nach Ballonschädigung der Iliofemoralarterie des weißen Neuseelandkaninchen (8).

Durch die Aufnahme von Cholesterinestern in Makrophagen und deren Aufspaltung durch lysosomale Lipasen entsteht ein Überangebot an Cholesterin im Zytoplasma, welches durch das ACAT-System reesterfiziert wird. Makrophagen besitzen einen LDL-Scavenger-Rezeptor, welcher keinem Regelmechanismus unterliegt und eine unregelte Aufnahme ermöglicht (9). Es kommt zu einer Vakuolenbildung, was histologisch im Bild der sogenannten Schaumzellen resultiert. Eine Ansammlung dieser Zellen erzeugt die makroskopisch sichtbaren „Fatty Streaks“. Zerfallen diese Zellen, so wird das durch die Myeloperoxidase der Makrophagen veränderte LDL wieder in die Gefäßwand abgegeben, welches wiederum von T-Lymphozyten erkannt wird. Aus Plaques gewonnene T-Zellen sezernieren nach Kontakt mit oxidiertem LDL IFN- $\gamma$ , ein Verhalten, welches periphere Zellen nicht aufweisen (10). Makrophagen sezernieren außerdem inflammatorisch wirkende Substanzen wie IL-1 und TNF, was zu einer Adhäsion von Leukozyten führt und glatte Muskelzellen der Media und Fibroblasten in der Adventitia aktiviert.

Es können verschiedene Stadien der Veränderung unterschieden werden: Erste erkennbare Zeichen sind die erwähnten "Fatty Streaks", welche durch die Akkumulation von Schaumzellen entstehen und selbst noch zu keinen Symptomen führen. Die Entwicklung einer fibrösen Plaque stellt das nachfolgende Stadium dar. Hierbei kommt es zu vermehrter Ansammlung von glatten Muskelzellen und Makrophagen in der Intima, was zu einer Einengung des Gefäßlumens führen kann. Das klinisch problematische Stadium stellt die komplizierte Läsion dar. Der Mangel an antithrombogen wirkenden endothelialen Substanzen sowie die hochgradige Thrombogenität der Lipidansammlungen führen bei Ruptur der abdeckenden Bindegewebsschicht zu Thrombosenbildungen (11) mit entsprechenden klinischen Konsequenzen.

### **1.2 Durch atherosklerotische Veränderungen bedingte Erkrankungsbilder**

In epidemiologischen und experimentellen Studien konnten verschiedene Risikofaktoren für die Entstehung atherosklerotischer Läsionen nachgewiesen werden. Die größte und wohl bekannteste Studie zur Beurteilung kardiovaskulärer Risikofaktoren stellt die Framingham - Studie dar (12). Unterschieden werden kausale Faktoren, prädisponierende sowie mögliche Risikofaktoren. Die unbeeinflussbaren Faktoren umfassen Familienbelastung, das Alter und das Geschlecht, wobei Männer hier häufiger betroffen sind.

Zu den beeinflussbaren Risikofaktoren zählen eine erhöhte Blutkonzentration von LDL, ein im Verhältnis dazu niedriges HDL, die Hypertriglyzeridämie, die arterielle Hypertonie und insbesondere auch Stoffwechselstörungen wie der Diabetes mellitus, bei welchem es infolge der Hyperglykämie zu advance glycation end groups (AGE) kommt. Dies wiederum führt zu veränderter Rezeptorbeschaffenheit (RAGE), was eine erhöhte Zytokinausschüttung bewirkt. Als weiterer wichtiger Risikofaktor, welcher eine endotheliale Dysfunktion bewirkt, ist der Nikotinkonsum zu nennen.

In geringerem Ausmaß wird von einer Beteiligung von erhöhtem Lipoprotein(a), Hyperfibrinogenämie, Hyperhomocysteinämie (13), Antiphospholipid-Antikörpern und genetischen Defekten des t-Plasminogenaktivators ausgegangen.

Nach Angaben des Statistischen Bundesamtes sind 46,4% der Todesfälle im Jahr 2003 auf Erkrankungen des Herz- und Kreislaufsystems zurückzuführen. Hauptsächlich betroffen ist die Altersgruppe der über 65-Jährigen. Klinisch wird eine atherosklerotische Gefäßveränderung erst offensichtlich, wenn die Einengung des Gefäßes reproduzierbare Ischämieschmerzen hervorruft oder sich auf einer vulnerablen Plaque ein Verschluss gebildet hat.

Im Falle der KHK können die Symptome der Angina pectoris nach der Canadian Cardiovascular Society in die Grade I bis IV eingeteilt werden (14), wonach bei einem Stadium I Beschwerden lediglich bei äußerster Belastung, beim Stadium IV bereits in Ruhe vorliegen.

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit ist eine der häufigsten Erkrankungen der Altersgruppe über 65 Jahre. Auf der Basis der Verschlussdruckmessungen am Oberarm

sowie am Knöchel, dem sogenannten Knöchel-/Arm-Index, welcher ein Screening-Tool zur Detektion asymptomatischer Erkrankungen darstellt, liegt eine Prävalenz von mindestens 10% in der Gruppe der über 40-Jährigen vor (15).

Klinisch lassen sich nach Fontaine (im angloamerikanischen Raum häufiger nach Rutherford) folgende, in Tabelle 1 dargestellte Ausprägungen abgrenzen (16, 17). Hieraus ergeben sich auch die - insbesondere im Falle der kritischen Extremitätenischämie notwendigen - Therapiemaßnahmen.

Tabelle 1. Klinische Einteilungen der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Rutherford und Fontaine.

<b>Rutherford</b>		<b>Fontaine</b>	
Kategorie		Stadium	
0	Asymptomatisch	I	Asymptomatisch, ABI unter 0,9
1	Geringe Claudicatio intermittens	II a	Schmerzfremie Gehstrecke >200m
2	Mässige Claudicatio intermittens	II b	Schmerzfremie Gehstrecke <200m
3	Schwere Claudicatio intermittens	III	Ruhschmerz
4	Ruhschmerz	IV	Ulkus, Nekrose, Gangrän
5	Distaler Gewebsschaden		
6	Proximaler Gewebsschaden		

### **1.3 Therapieoptionen**

Neben der Reduzierung von Risikofaktoren wie Nikotin und Anpassen der Ernährungsgewohnheiten kommt der medikamentösen Therapie eine Schlüsselrolle zu. Zu den verwendeten Medikamenten gehören abhängig von der klinischen Situation Lipidsenker, Fibrate, HMG-CoA-Inhibitoren, Antihypertensiva ( $\beta$ -Adrenorezeptorblocker, ACE-Hemmer, AT1-Antagonisten, Diuretika) und Thrombozytenaggregationshemmer. Insbesondere die Verwendung der sogenannten Statine (HMG-CoA-Inhibitoren) und Thrombozytenaggregationshemmer wie Acetylsalicylsäure können das Ausmaß sowie die Häufigkeit von Komplikationen durch atherosklerotische Gefäßveränderungen limitieren.

## *Einleitung*

---

Zur Behandlung symptomatischer Stenosen kann die Durchgängigkeit der Arterie durch bildgestützte, minimalinvasive Verfahren wiederhergestellt werden. Als erfolgreiche Methode hat sich hierzu der Ballonkatheter etabliert (18). Die wegweisende Entwicklung des Koronarangiogramms erfolgte Ende der fünfziger Jahre durch Mason Sones. Die Ergebnisse erster Experimente mit Ballonkathetern wurden im Jahr 1964 durch den Radiologen Charles Dotter veröffentlicht (19).

Nach erfolgreichem Einsatz in peripheren Gefäßen wurde eine Ballonangioplastie einer Koronarstenose im Menschen erstmalig von Andreas Grüntzig im Jahr 1977 durchgeführt (20).

Nachfolgend wurde in insgesamt sechs großen klinischen Studien die perkutane transluminale Coronarangioplastie (PTCA) mit der chirurgischen Bypass-Therapie verglichen. Im einzelnen waren dies GABI (German Angioplasty versus Bypass Grafting, (21)), RITA (Randomized Intervention Treatment of Angina, (22)), CABRI (Coronary Angioplasty versus Bypass Revascularisation Investigation, (23)), BARI (Bypass Angioplasty Revascularization Investigation, (24)), EAST (Emory Angioplasty versus Surgery Trial, (25)) und die ERACI (Argentine Randomized Trial, (26)).

In diese Studien wurden zwischen 127 und 1829 Patienten eingeschlossen, der Beobachtungszeitraum betrug 1 bis 5 Jahre. In der BARI Studie zeigte sich, dass außer im Falle der Diabetiker, welche von der CABG profitierten, sich die Mortalität nicht signifikant unterschied. Ein Jahr nach Intervention waren in der CABG-Gruppe 75%, in der PTCA 70% der Patienten beschwerdefrei. Die Anzahl erneuter Interventionen war zwar im Falle der PTCA signifikant erhöht, dafür waren die Behandlungskosten niedriger. In einer 3-jährigen, prospektiven Studie, der EAST, wurden 392 Patienten untersucht. Die CABG-Gruppe umfasste 194 Patienten gegenüber 198, welche eine PTCA erhielten. Es verstarben in beiden Gruppen ähnlich viele Patienten. Eine Reintervention war bei initialem CABG (Chirurgisch 1%, interventionell 13%) gegenüber PTCA (Chirurgisch 22%, interventionell 41%) nötig, in Bezug auf MACE unterschieden sich beide Verfahren nicht.

Insgesamt zeigt das Verfahren der perkutanen Ballondilatation recht gute Akutergebnisse, birgt aber mittelfristig die Gefahr des Reverschlusses. Im Falle der Herzkranzgefäße entwickeln etwa 30-40% der Patienten einen erneuten Verschluss

innerhalb eines Jahres nach Koronarangioplastie (27) mit schwerwiegenden Komplikationen (MACE). Im Falle interventionell radiologisch behandelbarer peripherer Verschlüsse wird das Auftreten von Restenosen im Falle der Becken- und Beinarterien, einer Gefäßregion, in der die PTA ebenfalls einen hohen Stellenwert in der Therapie einnimmt, iliacal zwischen 19-23% nach 2 Jahren, allerdings im problematischen Gebiet der AFS, welche das am häufigsten interventionell behandelte periphere Gefäß darstellt, mit 35-78% (28, 29) angegeben.

### **1.4 Die Entwicklung von Stents**

Im Jahre 1983 berichteten Charles Dotter und Andrew Cragg über Versuche mit Nitinol-Ringen in arteriellen Gefäßen von Hunden und zeigten, dass sich ein Gefäß mit dieser Technik offenhalten lässt (30). Stents stellen intravaskuläre Stützen dar, welche die elastische Rückstellung der Arterie, den sogenannten „elastic recoil“, verhindern sollen. Dieser tritt zeitnah zur Dilatation des Gefäßes auf.

Eine Weiterentwicklung, der sogenannte „Zickzack“-Stent, welcher ein selbstexpandierbares Design aufwies, wurde 1985 von Cesare Gianturco veröffentlicht. Ein Jahr später wurde der erste selbstexpandierende Wallstent durch Jacques Puel in eine menschliche Koronararterie implantiert (31). Zeitnah berichteten Richard Schatz und Julio Palmaz über ein Stentdesign, bei welchem ein Rohr als Grundlage für den Stent verwendet wurde, aus dem das Implantat geschnitten wurde. Dieses Design war auf einem Ballonkatheter vormontiert (32).

In zwei großen Studien, der Benestent und der STRESS, wurde die Überlegenheit dieser Therapieoption gegenüber der einfachen Angioplastie gezeigt. In der Benestent Studie zeigte sich eine Abnahme der Restenose um 30-50% (33, 34). Allerdings wird auch diese erweiterte Methode durch das Auftreten von Restenosen limitiert, welche hier jedoch hauptsächlich auf eine Neubildung von Gewebe innerhalb des Stents zurückzuführen ist.

Gegenwärtig werden weltweit jährlich über 1 Million koronare Ballonangioplastien durchgeführt, in 50-80% der Fälle erfolgt eine zusätzliche Stentimplantation (35, 36). Zwar kann mit Hilfe dieser Gefäßstützen das Auftreten einer Restenose auf bis zu 25% verringert werden (34, 37), der Wiederverschluss eines auf diese Weise initial

erfolgreich wiedereröffneten Gefäßes stellt jedoch abhängig von der zugrundeliegenden Läsion eine entscheidende Limitation des Verfahrens dar. Je nach Autor werden jedoch auch Restenoseraten nach PTCA zwischen 30% und 50% genannt (38, 39). Je komplizierter die Läsionen und je kleiner die Gefäße werden, desto höher wird auch die Restenoserate nach Stentimplantation (40), die Lokalisation spielt somit eine entscheidende Rolle (41).

Auch im peripheren Bereich sind Stents aus dem klinischen Alltag nicht mehr wegzudenken und zeigen im Falle der Beckenachse sehr zufriedenstellende Ergebnisse mit bis zu 71% Offenheit nach 10 Jahren (42) bei Behandlungen von Stenosen, welche nach dem transatlantischen Konsensdokument als Typ A und B eingestuft wurden (43). Für das weitaus häufiger behandelte Gefäß, die AFS, welche zusätzliche mechanische Ansprüche an die Implantate stellt, bleibt die Anwendung von Stents allerdings Situationen mit nicht befriedigendem Ergebnis nach PTA (Druckgradient) oder einer flusslimitierenden Dissektion vorbehalten (44). Die Ergebnisse in diesem Gefäßabschnitt konnten zwar durch Verwendung selbstexpandierbarer Stents etwas gebessert werden, die Restenoserate liegt jedoch auch mit dieser Methode bei bis zu 25% nach einem Jahr (45).

Selbstexpandierbare Stents für die Peripherie werden gegenwärtig hauptsächlich aus der "Gedächtnis"-Legierung Nitinol, welche 1965 in Labors der amerikanischen Seestreitkräfte entwickelt wurde, hergestellt. Ferner kommt chirurgischer Edelstahl zum Einsatz. Grundsätzliche Veränderungen an den Stents wie die Verwendung anderer Materialien oder Oberflächenverarbeitungen konnten die Bioverträglichkeit und damit die Restenoseentstehung verringern. So zeigte eine *ex vivo*-Untersuchung von Thierry et al. eine geringere Thrombogenität von Nitinolstents verglichen mit Edelstahl (46). In Untersuchungen zur Restenose bei Verwendung unterschiedlicher Stents fanden sich deutliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Produkten von 20% und 50% Restenoserate nach Koronarstenting. Neben der Bioverträglichkeit stellt die mechanische Belastbarkeit der Materialien jedoch insbesondere in Arterien mit deutlichen Bewegungen wie der AFS einen entscheidenden Parameter dar. So zeigt sich hier gegenwärtig das noch nicht gelöste Problem des Stentbruches, wobei abhängig vom Grad der Schädigung mit vermehrten Restenosen oder Verschlüssen zu rechnen ist (47). Ein idealer Stent sollte also mechanische Belastbarkeit, radiale Abstützkraft, Weichheit

sowie gute Sichtbarkeit unter Durchleuchtung mit biokompatiblen Oberflächeneigenschaften kombinieren.

Zusätzlich hat die Anwendung von Thrombozytenaggregationshemmern wie dem ADP-Antagonisten Clopidogrel und auch der GPIIb/IIIa-Antagonisten (48) nach Interventionen in klinischen Studien zu einer deutlichen Reduktion der Komplikationen nach Stentimplantation geführt. Beschichtungen mit Heparin wurden zwar entwickelt und auf ihre Anwendbarkeit hin getestet, konnten aber in Bezug auf die Verringerung der Neointimabildung nicht den gewünschten Effekt erzielen. So zeigte sich in der COAST zwar ein Vorteil der Stentapplikation in kleinen Gefäßen, jedoch kein signifikanter Unterschied zwischen dem unbeschichteten und dem Heparinbeschichteten Stent (49).

Somit stellt die Restenose weiterhin, in Abhängigkeit vom verwendeten Stentmaterial und der zugrundeliegenden Läsion, ein großes klinisches wie volkswirtschaftliches Problem dar.

### **1.5 Pathomechanismus der Restenose**

Restenose nach PTCA und PTA ist als ein überschüssiger Wundheilungsprozeß anzusehen, welcher aus elastischem Recoil, neointimaler Hyperplasie und negativem Gefäßumbau (Remodeling) besteht (50). Zwar verhindern Stents weitestgehend den elastischen Recoil, durch die Bildung von Thromben (Wochen) und einer Gewebeneubildung innerhalb des Stents, der intimalen Hyperplasie (Monate), kann es jedoch zu klinisch relevanten Wiederverschlüssen kommen. Intravaskuläre Ultraschalluntersuchungen (IVUS) zeigten, dass die Lumeneinengung nach Stentapplikation, im Gegensatz zur alleinigen Angioplastie, hauptsächlich auf die Bildung einer Neointima zurückzuführen ist (51).

Im Unterschied zu primären atherosklerotischen Läsionen, welche teilweise als vaskuläre Entzündung anzusehen sind, handelt es sich bei der Restenose um eine proliferative Reaktion. Sie weist zwar Gemeinsamkeiten mit der Atherosklerose auf, ist in ihrer Pathogenese aber in vielen Punkten verschieden. So findet sich in primären atherosklerotischen Läsionen eher eine Intimafibrose mit Nekrosen sowie typische Schaumzellakkumulationen. In restenosierten Gefäßen dominiert ein eher lockeres

fibroproliferatives Gewebe mit immunhistochemisch nachweisbaren glatten Gefäßwandmyozyten (52). Dieses erfährt im zeitlichen Verlauf eine Umwandlung der extrazellulären Matrixbestandteile mit einem vermehrten Vorkommen von Kollagen (53, 54).

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Bildung intimaler Hyperplasie und der Schädigung des Gefäßes wurde 1992 von Schwarz et al. im Schweinemodell beschrieben. Die mechanische Traumatisierung von Schweinearterien führte zu einer der beim Menschen auftretenden Atherosklerose ähnlichen Läsion (55, 56). Die Freilegung thrombogenen Materials und die Fremdoberfläche des Stents führen zu einer Aktivierung von Thrombozyten und der Ausbildung eines Thrombus im Bereich der Läsion (57). Der aus den  $\alpha$ -Granula von Thrombozyten freigestetzte PDGF stellt eines der stärksten Mitogene für glatte Gefäßmuskelzellen dar (58), außerdem sezernieren diese Zellen Serotonin, Thromboxan A2 und P-Selectin, woraus sich umfangreiche Interaktionen der Thrombo- und Leukozyten ergeben. Thrombin als Endprodukt der plasmatischen Gerinnung führt ebenfalls zur Ausschüttung von PDGF aus Thrombozyten, kann aber auch auf direktem Wege SMC stimulieren (59). Somit bestehen weitreichende Zusammenhänge zwischen Thrombusformation, Entzündungsreaktion und der Ausprägung der Neointima (60, 61).

Auch die direkte Schädigung der glatten Gefäßwandmyozyten im Sinne einer Dehnung stellt einen Proliferationsreiz dar. Insgesamt beginnen diese Zellen in den ersten Tagen nach Intervention zu proliferieren und in die Intima zu migrieren. Durch die Bildung von extrazellulärer Matrix entsteht die histologisch definierbare intimale Hyperplasie.

Das adventitielle Bindegewebe wurde lange Zeit nur als Stützgewebe und nicht als aktiv teilnehmend an Gefäßprozessen verstanden. Allerdings zeigte eine Proliferationsfärbung mit BrDU drei Tage nach Intervention eine vermehrte Anfärbbarkeit in der Adventitia, sieben Tage später hauptsächlich in der Neointima. Möglicherweise kommt somit eine Migration adventitieller Zellen in die lumennahen Gefäßwandschichten vor (62). Um zu migrieren, bilden diese Zellen vermehrt Metalloproteinasen und exprimieren  $\alpha$ -Aktin, einen Marker für Myofibroblasten. Es erfolgt eine vermehrte Bildung von reaktiven Radikalen in der Adventitia, was zum Remodeling beiträgt. Entsprechend vermindern NAD(P)H-Oxidase-Inhibitoren die Proliferation von adventitiellen Fibroblasten (63). Die Annahme einer Beteiligung der Adventitia wird unterstützt durch die Beobachtung,

dass ein experimentell gesetzter, isolierter Schaden in der Adventitia zur Bildung einer Atherosklerose führt. Wenige Tage nach Schädigung beginnt die Proliferation, welche etwa nach 1 bis 2 Monaten auf Basislevel zurückfällt (64).

### **1.6 Therapeutische Optionen bei Wiederverschlüssen, prophylaktische Ansätze**

Der Wiederverschluss eines initial erfolgreich behandelten Gefäßabschnittes, welcher sich durch eine systemische Medikation allein bisher nicht ausreichend verhindern lässt, erfordert einerseits eine erneute Intervention oder möglicherweise sogar Operation, verbunden mit Risiken für den Patienten, andererseits verursacht sie erneute Kosten. Daher werden Anstrengungen unternommen, das Auftreten dieser Komplikationen zu verhindern oder einfache Methoden zu deren Therapie zu finden.

Die Architektur der Stents, die verwendeten Materialien und die Oberflächenbeschaffenheit werden kontinuierlich weiterentwickelt. Große Hoffnungen werden gegenwärtig in Beschichtungen mit Medikamenten gesetzt. Hierbei werden aus der Tumorthherapie bekannte Chemotherapeutika z.B. Sirolimus (Rapamycin) oder Paclitaxel (Taxol) über einen polymerbeschichteten Stent lokal an die Gefäßwand abgegeben. Die Wirksamkeit zeigte sich bereits in großen Studien wie beispielsweise der TAXUS I, in welcher die langsame Freisetzung von Paclitaxel in *de novo* Läsionen oder koronaren Restenosen untersucht wurde (65). Nach sechs Monaten fand sich eine Restenoserate von 0% gegenüber 10% in der Kontrollgruppe. MACE traten in der Gruppe mit medikamentenbeschichteten Stents in 3% gegenüber 10% in der Kontrolle auf.

Ein weiterer Ansatz besteht in der Proliferationshemmung glatter Muskelzellen mittels ionisierender Strahlung. Im Folgenden werden kurz die Grundlagen sowie existierende vorklinische und klinische Ergebnisse dieser Methode geschildert.

### **1.7 Strahlenbiologie und Einsatzgebiete in der Medizin**

Ionisierende Strahlung wird im klinischen Alltag zur adjuvanten, kombinierten oder alleinigen Therapie von malignen Neoplasien und deren Metastasen eingesetzt. Auch zur Behandlung von benignen Wucherungen wie dem Narbenkeloid oder hypertrophen Ossifikationen kann sie verwendet werden (66, 67). Außerdem findet indirekt ionisierende Strahlung Anwendung im diagnostischen Bereich.

Eine charakteristische Nebenwirkung der Bestrahlung ist die Fibrosierung des Gewebes. Bestrahlungen von 1-10 Gy führen über einen Zeitraum von 2-3 Wochen zu einer Differenzierung von Fibroblasten zu Fibrozyten (68). An den interzellularen Signalen nach Radiatio sind beispielsweise PDGF und  $\beta$ -TGF beteiligt (69). Die Erfahrungen der Strahlentherapie zeigen, dass eine konzentrierte Dosis einen besseren Effekt erzielt als eine protahierte. Wird die Strahlung also über einen Stent appliziert, so muss die Dosis der niedrigeren Dosisrate und dem verlängerten Bestrahlungszeitraum angepasst werden.

### **1.8 Strahlenwirkung auf Gefäße**

Grundsätzlich zählen Gefäßwände zu den weitestgehend strahlenresistenten Geweben. Allerdings kann es abhängig von der Bestrahlungsdosis zu einer Intimafibrose, zu Lipideinlagerungen und Wandsklerosen kommen, ferner wird eine Endothelzellschwellung beobachtet. Bei kleineren Arterien und Arteriolen sowie Kapillaren kann es hierdurch zu einer Gefäßverengung kommen. Durch den Austritt von Proteinen und Blutbestandteilen ins Interstitium entsteht ein Ödem nach Bestrahlung. In der Literatur finden sich Berichte über das Auftreten von koronarer Herzerkrankung nach mediastinaler Bestrahlung zur Therapie eines Morbus Hodgkin (70). In den Vasa vasorum wird hierbei ein Schaden bzw. die Bildung von Neointima beobachtet. Dies ist kohärent mit dem Bild einer strahleninduzierten Arteriopathie bei extrakorporaler Bestrahlung, z.B. eines Pulmonalkarzinoms. Auch Stenosen der extrakraniellen hirnversorgenden Arterien nach Radiatio im Halsbereich wurden beschrieben (71). Im Zusammenhang mit der Strahlenwirkung auf Gefäße nach Angioplastie stellt vor allem

die verzögerte Reendothelialisierung (72) aufgrund hierdurch vermehrt auftretender Thrombosen ein Problem dar.

### 1.9 Strahlentherapie zur Hemmung von Neointimabildung

Schon im Jahr 1964 berichtete Friedman über die antiatherogene Wirkung von Iridium-192  $\gamma$ -Strahlung im Kaninchen (73), was aufgrund fehlender klinischer Notwendigkeit erst später als Methode zur Prophylaxe postinterventioneller intimaler Hyperplasie wieder aufgegriffen wurde (74). Grundlage für die Anwendung nach PTA war die Annahme, dass das proliferierende Gewebe mehr als gesunde Gefäße strahlensensibel sein sollte. Neben der extrakorporalen Bestrahlung wurden drei Formen der intravaskulären Applikation von Strahlung zur Hemmung neointimalen Wachstums verfolgt: Die Applikation über ein Afterloadingsystem, jene über mit radioaktiven Substanzen gefüllte Ballonkatheter und ferner die Verwendung eines im Gefäß verbleibenden Stents als Plattform.

Der Unterschied besteht hierbei nicht nur in der Methode, sondern auch in der Dosisrate und der Dauer, über welche die Gesamtdosis abgegeben wird. Es hat sich gezeigt, dass letztere bei einer protrahierten LDR-Therapie deutlich höher sein muss als bei einer HDR, um ein vergleichbares Resultat zu erzielen. Untersuchungen mit in klinischen Studien verwendeten Dosen von etwa 13 Gy/35 min (entsprechend der SCRIPPS) zeigten, dass die Proliferation verzögert oder ganz verhindert wird, wenn eine bestimmte Anzahl an proliferationsfähigen Zellen unterschritten ist. Humane aortale glatte Muskelzellen wurden hierzu mittels  $\gamma$ -Strahlung behandelt. Da jedoch teilweise das kolonigene Potential der Zellen erhalten bleibt, wurde lediglich eine Verzögerung des Restenosemaximums von 6 Monaten ohne Radiatio auf bis zu 36 Monaten mit Radiatio von 13 Gy postuliert (75). Für das Isotop Rhenium-186 zeigte sich bei 4-32 Gy ein dosisabhängiger proliferationshemmender Einfluss auf Endothelzellen und glatte Muskelzellen der menschlichen Aortenwand. Die Endothelzellen schienen jedoch ein höheres Potential zu haben, sich nach Bestrahlung wieder zu erholen (76).

Gegensätzlich zu den *in vitro*-Versuchen, welche eine Teilungshemmung glatter Gefäßmuskelzellen durch Bestrahlung gezeigt haben, ergab sich jedoch insbesondere im Schweinemodell für Dosen zwischen 10 Gy (3 cGy/h) bis 125 Gy (60 cGy/h) eine

positive Korrelation zwischen der Aktivität des Stents und der Neointimafläche nach 6 Monaten (77).

### 1.10 Problematik und Fragestellung

Die Wirksamkeit der intraarteriellen Strahlentherapie zur Hemmung der Proliferation glatter Gefäßwandmyozyten konnte bereits *in vitro*, im Tiermodell und klinisch gezeigt werden. Die Frage nach der idealen Applikationsform und Dosis abhängig von der Lokalisation und Gefäßgröße ist jedoch weiterhin offen. Grundsätzlich ist die katheterbasierte vaskuläre Brachytherapie (VBT) über ein Afterloadingsystem mit Problemen insbesondere bei der homogenen Dosisverteilung und Zentrierung behaftet. Außerdem muss mit einer hochaktiven Quelle umgegangen werden, was das Zusammenwirken mehrerer Disziplinen verlangt (78). Bei der kathetergestützten Applikation kommen Probleme wie eine mögliche Kontamination durch Ballonschäden hinzu.

Die Vorteile eines Stentsystems liegen in der einfacheren Handhabung, der kontinuierlichen Dosisabgabe über den Proliferationszeitraum und der besseren Verteilung durch den direkten Kontakt der radioaktiven Quelle zur Gefäßwand. Da hier als Beschichtung die Verwendung eines  $\beta$ -Strahlers mit kurzer Eindringtiefe sinnvoll ist, wurde in ersten Studien sehr häufig auf das Isotop Phosphor-32 zurückgegriffen. Klinisch wurde die Anwendbarkeit im koronaren Gefäßsystem bereits in der IRIS (Isostent Restenosis Intervention Study (79)) und der Milan Dose-Response Study (80) evaluiert. Zur Anwendung in peripheren Arterien sind für radioaktive Stents keine Daten vorhanden.

Obwohl die Stents in den genannten Untersuchungen bei hoher initialer Aktivität eine neointimale Hyperplasie unterdrücken konnten, fand sich eine auffällige Veränderung an den Stentenden: in einem umschriebenen Bereich zeigte sich eine deutliche Intimaproliferation mit hochgradiger Lumeneinengung, welche das Resultat bezogen auf das therapierte Gefäß limitierte. Als mögliche Ursache hierfür wurde einerseits eine kontinuierliche Bestrahlung mit niedriger Dosis im Randbereich, andererseits ein vermehrter Schaden durch die Implantation angenommen. Hoffnungen auf eine Lösung dieses Problems werden in die Suche nach dem idealen Isotop gelegt, welches eine

geeignete Halbwertszeit aufweist und aufgrund der Energiespektren eine zielgerechte Dosisverteilung in den Wandschichten erlaubt. Das hier untersuchte Isotop Rhenium-186 weist im Vergleich zu Phosphor-32 eine deutlich geringere HWZ sowie eine geringere mittlere  $\beta$ -Energie auf, was in einer schnelleren Abgabe der Dosis und einer geringeren Eindringtiefe resultiert. In einer zuvor durchgeführten Tierstudie am Kaninchenmodell konnte für Rhenium-186 eine dosisabhängige Reduktion der Neointima festgestellt werden (81). Hierzu wurden 34 Neuseelandkaninchen nach Vorfütterung einer 0,5% Cholesterindiät radioaktive Palmaz-Schatz Stents in die infrarenale Aorta implantiert. Nach 7 Wochen zeigte sich eine deutliche Reduktion der Neointimafläche, insbesondere in den Gruppen mit der höchsten Aktivität von 16,0 MBq und 25,3 MBq, entsprechend 250 und 377 Gy Gesamtdosis im Abstand von 0,5 mm von den Stentstreben. Allerdings war die genannte Studie nicht konzipiert, um einen potentiellen Edge-Effekt zu detektieren. Somit wurde die vorliegende Arbeit durchgeführt, um folgende Fragen zu beantworten:

- Lässt sich durch Stentbeschichtung mit Rhenium-186 eine Verminderung der Neointimabildung in porcinen Gefäßen erreichen ? Lassen sich somit die mit Rhenium-186 im Kaninchen gefundenen positiven Ergebnisse im Schweinemodell bestätigen, für welches in der Literatur teilweise deutlich schlechtere Resultate berichtet wurden ?
- Gibt es eine vermehrte Verengung durch neointimale Hyperplasie an den Stentenden im Sinne eines „Candy-Wrappers“ ?
- Reagieren periphere und koronare Gefäße unterschiedlich auf die Bestrahlung nach Angioplastie ?
- Lassen sich im Vergleich mit anderen Isotopen für Rhenium-186 charakteristische histologische Veränderungen finden ?

## **2 Material und Methoden**

### **2.1 Versuchsmaterialien**

#### **2.1.1 Interventionsmaterial**

Als Stents wurden ballonexpandierbare Koronarstents der Firma Jomed (Jomed, Rangendingen, Deutschland) mit einer Länge von 16 mm und einem Durchmesser von 3 mm verwendet. Als periphere Stents in den Carotiden dienten Jomed peripheral Stents (Jomed, Rangendingen, Deutschland) mit einer Länge von 58 mm und einem Durchmesser von 7 mm. Zum Einführen der Katheter wurde nach Punktion der Arteria femoralis in Seldinger-Technik eine Schleuse (F8-Avanti Einführbesteck, Cordis, Warren, USA) eingebracht.

Die in den Koronarien zu platzierenden Stents wurden im Falle der Kontrollgruppe auf einen Ballon mit 3 mm Durchmesser aufgebracht. Die radioaktiv dotierten Stents wurden hinter einer Bleiglasscheibe mit Schutzhandschuhen auf einen Ballon gleichen Fabrikats aufgecrimpt. Für die peripheren Stents wurde ebenso verfahren, es wurde hier jedoch ein Ballon mit einem Durchmesser von 7 mm verwendet.

#### **2.1.2 Das Isotop Rhenium-186**

Das Element Rhenium ist ein Metall aus der Gruppe VIIb / Periode 6 und besitzt die Ordnungszahl 75. Von den Isotopen dieses Elements wurde im vorliegenden Versuch das Rhenium-186 gewählt. Dieses besitzt eine Halbwertszeit von 90,64 Stunden, entsprechend 3,8 Tagen und zerfällt zu 93,1% durch  $\beta$ -Zerfall zu Osmium-186 und zu 6,9% durch  $\gamma$ -Zerfall zu Wolfram-186. Die maximale  $\beta$ -Energie beträgt 1,069 MeV, die mittlere 0,349 MeV. Die Energie der  $\gamma$ -Komponente beträgt 137 keV.

### **2.1.3 Beschichtungsverfahren**

Die Stents wurden im Forschungszentrum Rossendorf e.V. (Dresden) im Institut für bioorganische und radiopharmazeutische Chemie beschichtet. Hierzu wurden die Stents zunächst in eine der Stentlänge entsprechende Glasampulle eingebracht, in welcher sich Rhenium-186 in 2ml 1 N Salzsäure befand. Die Ampulle wurde in einem Wasserbad für 10 Minuten auf 100° Celsius erhitzt. Der so aktivierte Stent wurde danach in 100% Ethanol gewaschen. Zur Fixierung der Stentoberfläche wurde der Stent in einer Quarzglasampulle bei 10<sup>-3</sup> Torr für 15 Minuten auf 900° Celsius erhitzt. Zum Transport wurden die Stents in einem Acrylresinschutz in einen Bleibehälter verbracht.

### **2.1.4 Dosimetrie der beschichteten Stents**

Die Dosimetrie bestimmt die absorbierte Dosis in einem definierten Abstand von der Strahlenquelle im Medium. Die Problematik der Dosisverteilung im Falle der VBT über einen Stent besteht in den kleinen Durchmessern und der kurzen Eindringtiefe, was einen Messabstand von unter 2 mm notwendig macht. Der Dosisabfall ist sehr steil (siehe Abbildung 8) weshalb das Messgerät ein kleines Volumen aufweisen muss.

Die dosimetrischen Untersuchungen wurden an der Universität Essen durchgeführt. Die Messungen erfolgten in Wasser in einer Entfernung von 0,5 bis 10 mm. Es wurde ein Plasticszintillator mit 4 mm<sup>2</sup> Messoberfläche verwendet. Als NIST (National Institute of Standards and Technology) Standard wurde ein kalibrierter Novoste (Novoste Beta-Cath) Quellenzug verwendet.

Die Aktivität, welche der Anzahl der radioaktiven Zerfälle pro Zeiteinheit entspricht, berechnet sich über die Formel des radioaktiven Zerfallsgesetzes:

$$N = N_0 \cdot e^{-\lambda t}$$

Gleichung 1. Radioaktives Zerfallsgesetz

Hierbei stellt  $N_0$  die Anzahl der radioaktiven Kerne zu Beginn,  $N$  die Anzahl der Kerne zum Zeitpunkt  $t$  und  $\lambda$  die Zerfallskonstante dar. Diese steht mit der Halbwertszeit in folgendem Zusammenhang:

$$\lambda = \frac{\ln 2}{T_{1/2}}$$

Gleichung 2. Berechnung der Zerfallskonstante

Zum Angiographiezeitpunkt nach 8 Wochen (56 Tage) sind somit 15 Halbwertszeiten, zum Zeitpunkt der Abtötung nach 12 Wochen (84 Tage) 22 Halbwertszeiten vergangen. Nach etwa 5 Halbwertszeiten ist die Radioaktivität weitestgehend abgeklungen. Die nachfolgende Abbildung 1 zeigt den Aktivitätsverlauf von Rhenium-186 über die Zeit des Versuches.

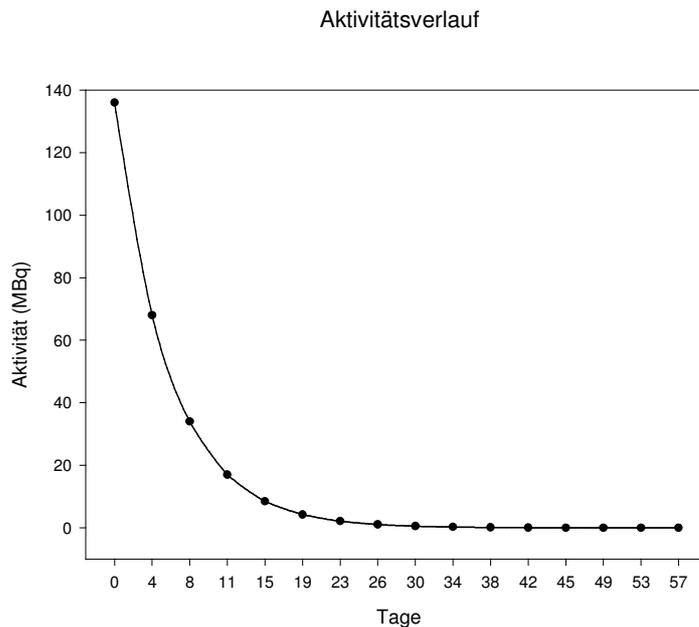


Abbildung 1. Verlauf der Aktivität eines mit 136 MBq Rhenium-186 dotierten Stents über den Versuchszeitraum bis zur angiographischen Nachuntersuchung.

### **2.2 Versuchsablauf**

#### **2.2.1 Tiermodell**

Die Versuche wurden in den Labors der Schering AG (Berlin, Deutschland) durchgeführt. Hier waren die notwendigen Strahlenschutzmaßnahmen gegeben. Als Modell für die Gefäßreaktionen nach Stentimplantation wurde das in der Erforschung der Restenose weit verbreitete Schweinmodell gewählt. Für die hier beschriebenen Versuche wurden 17 Göttingen Minipigs (Ellegaard Göttingen Minipigs ApS, Dalmose, Dänemark) mit einem Anfangsgewicht von  $27,2 \pm 2,7$  kg verwendet. Als Zielgefäße dienten der RIVA und der RCX der linken Koronararterie sowie beide Arteriae caroticae.

#### **2.2.2 Gruppeneinteilung**

Der RIVA und der RCX der linken Koronararterie erhielten entweder Kontrollstents oder Stents mit mittleren Aktivitäten von  $10,86 \pm 1,58$  MBq (8,5-13) im RIVA und mit  $17,77 \pm 1,73$  MBq (15,3-21) im RCX. In den Carotiden wurden neben der Kontrollgruppe drei verschiedene Aktivitätsgruppen eingesetzt. Eine niedrige mit  $10,67 \pm 1,15$  MBq (10-12), eine mittlere mit  $77,56 \pm 10,44$  MBq (52-88) und eine hohe mit  $136 \pm 4,73$  MBq (129-142). Abbildung 2 zeigt den schematischen Versuchsaufbau.

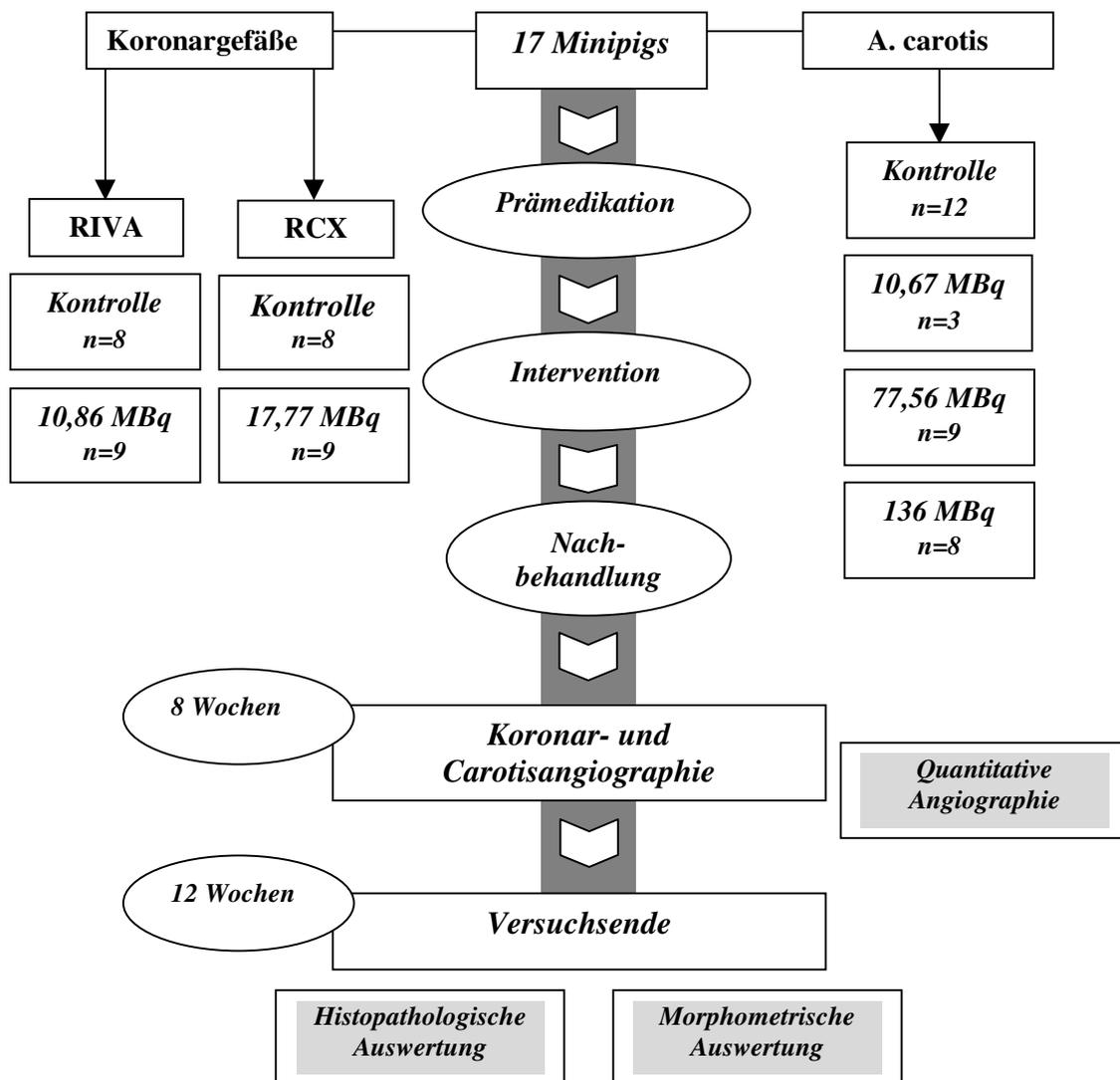


Abbildung 2. Schematische Darstellung des Versuchsablaufes. In 2 Carotiden wurde kein Stent implantiert.

### 2.2.3 Thromboseprophylaxe und Narkose

Die Thromboseprophylaxe 24 Stunden vor dem Eingriff bestand aus 300 mg Clopidogrel (Plavix, Sanofi-Synthelabo GmbH, Berlin, Deutschland) per os sowie 500 mg Acetylsalicylsäure per os.

Zur Einleitung der Narkose wurde den Tieren 10 mg Ketamin / kgKG (Ketanest, Parke-Davis, Karlsruhe, Deutschland), 4 mg Azaperon / kgKG (Stresnil, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) und 0,01 mg Atropin / kgKG (Atropinsulfat, Braun, Melsungen,

Deutschland) als intramuskuläre Injektion verabreicht. Nach Anlage einer Venenverweilkanüle wurden über diese vor der Intubation weitere 2 ml Ketamin (Ketanest, Parke-Davis, Karlsruhe, Deutschland) sowie 1 ml Diazepam (Valium, Hoffman LaRoche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) verabreicht. Es erfolgte die endotracheale Intubation und die Beatmung mit einem Sauerstoff / Lachgasgemisch (1:3 / 0,8 / 2,4 ml) und Enfluran 1,5 Vol%. Bei Bedarf wurden während der Intervention 2 ml Ketamin, sowie 1 ml Valium intravenös nachappliziert.

Im direkten Anschluß an den Eingriff erhielten die Tiere jeweils 5 mg Aspisol intravenös und eine intramuskuläre Gabe von 1,7 ml eines Penizillin-Streptomycin Kombinationspräparates mit Depotwirkung (Tardomycel, Bayer, Leverkusen, Deutschland). Ab dem ersten postinterventionellen Tag erhielten die Tiere eine tägliche Dosis von 75 mg Clopidogrel und 100 mg ASS per os als Thromboseprophylaxe.

### **2.2.4 Operationstechnik**

Zunächst wurde die Arteria femoralis punktiert und anschließend eine 8F Schleuse (Avanti, Cordis, Warren, USA) eingeführt. Hierüber wurden zunächst 100 IE Heparin / kgKG (Liquemin N 25000, Hoffman LaRoche, Grenzach-Wyhlen, Deutschland) verabreicht. Falls erforderlich, erhielten die Tiere Nitroglycerin 200 µg entsprechend 4 ml intraarteriell. Die kardiale Überwachung während der Intervention erfolgte mittels eines 4-Punkt EKG, die notwendige Durchleuchtungskontrolle mit Hilfe einer mobilen Durchleuchtungseinheit (Siemens, Erlangen, Deutschland).

Die Carotiden wurden vor der Stentapplikation durch Überdilatation mit einem Ballon mit 8 mm Durchmesser geschädigt. Bei einem Tier der Kontrollgruppe wurde hierzu aufgrund der geringen Gefäßgröße ein Ballon mit lediglich 7 mm verwendet. Die Stentplatzierung erfolgte in den Koronarien mit 10 bar Inflationsdruck über eine Dauer von 30 Sekunden, in den Carotiden mit 8 bar für ebenfalls 30 Sekunden.

### **2.2.5 Nachbehandlung und Nachuntersuchung**

Nach 8 Wochen wurden die behandelten Gefäßabschnitte angiographisch dargestellt. Die Narkose wurde analog zur initialen Intervention durchgeführt (siehe 2.2.3). Nach

Punktion der A. femoralis erfolgte das Einführen einer Schleuse in Seldinger-Technik und die Sondierung und Darstellung der behandelten Koronargefäße und der Carotiden. Die Untersuchungen wurden auf Röntgenfilmbändern zur späteren quantitativen Auswertung (siehe 2.3.4.1) in 2 Ebenen dokumentiert. Im Rahmen dieser zweiten Intervention wurde den Tieren nochmals 2 ml Tardomycel intramuskulär verabreicht.

### **2.2.6 Versuchsende**

Nach dem Beobachtungszeitraum von 12 Wochen wurden die Tiere euthanasiert. Nach intravenöser Gabe von 2 ml Fentanyl + Droperidol (Thalamonal, Janssen-Cilag, Berchem, Belgien), 10 ml Ketamin (Ketanest, Parke-Davis, Berlin, Deutschland) und 4 ml Phentobarbital (Narkoren, Meral GmbH, Hallbergmoos, Deutschland) wurden 20 ml Kaliumchlorid intravenös appliziert, was zum sofortigen Herzstillstand führte. Die Zielgefäße wurden freipräpariert und die entnommenen Gefäßpräparate mit 4% Formalin fixiert. Die Lagerung bis zur Aufbearbeitung erfolgte ebenfalls in 4% Formalinlösung.

## **2.3 Herstellung und Aufarbeitung der Präparate**

### **2.3.1 Zuschneiden der Gefäße**

Die Gefäßpräparate wurden, wie in Abbildung 3 dargestellt, an mehreren Stellen geschnitten. Um die Neointimabildung in den einzelnen Dosisgruppen zu vergleichen, wurde ein Schnitt in der Stentmitte angefertigt (Schnitt Nr. 1).

Da in der Literatur eine vermehrte Gefäßreaktion an den Stentenden nach Bestrahlung beschrieben ist, wurden zur Beurteilung der Randregionen entsprechende Präparate hergestellt. Zwei Schnitte erfolgten innerhalb des Stents im Abstand von 3 und 1 mm (Schnitt Nr. 2 und 3), ein weiterer außerhalb im Abstand von 1 mm (Schnitt Nr. 4).

Mit Hilfe eines Schleifschneidegerätes (Georg Schick Dental GmbH, Schemmerhofen, Deutschland) mit einer rotierenden Trennscheibe (DIAMANT Instrumente HORICO, Hopf. Ringleb & Co., Berlin, Deutschland) wurde aus den Gefäßstücken zunächst an vier Stellen ein ca. 1 mm dickes Stück herausgeschnitten. Hierbei bleibt die

Gefäßarchitektur intakt, die verbliebenen Reste der Stentstreben wurden vorsichtig mit Hilfe einer Pinzette aus dem Präparat entfernt, ohne dass es zu einer vollständigen Ablösung der Neointima kam (Abbildung 4). Die Schnitte wurden dann bis zur Einbettung in 4% Formalin gelagert.

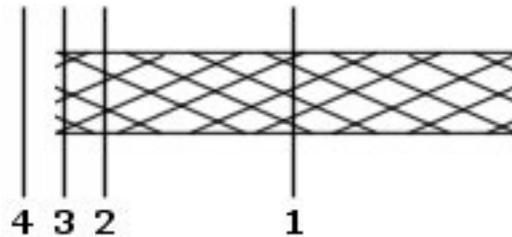


Abbildung 3. Schematische Darstellung der Schnittstellen. Zum Vergleich des Einflusses der radioaktiven Stentbeschichtung erfolgten Schnitte in der Stentmitte. Die übrigen 3 Schnitte dienen zur Untersuchung eines strahlenbedingten Effektes an den Randbereichen des Stents.



Abbildung 4. Wandschichten einer Arteria carotis aus der Kontrollgruppe: Zu erkennen sind die Neointima (N), die Media (M) und das adventitielle Bindegewebe (A). Außerdem dargestellt sind das Lumen (L) des Gefäßes sowie die Lokalisation einer entfernten Stentstrebe (S).

### **2.3.2 Überführung in Parafin**

Nach der Lagerung in 4% Formalin wurde eine aufsteigende Alkoholreihe mit 70%, 80%, 90%, 96%, 99% für je 2h durchgeführt. Danach wurden die Präparate in drei Schritten unterteilt für 40 h in Benzoessäuremethylester (Carl Roth GmbH&Co, Karlsruhe, Deutschland) eingelegt. Anschließend wurde für 20 min in zwei Schritten Rotihistol (Carl Roth GmbH&Co, Karlsruhe, Deutschland) gewaschen. Danach wurden die Präparate für 30 h mit Wechseln bei 60° Celsius in flüssiges Parafin (Paraplast Plus, Sherwood Medical, St. Louis, USA) gelegt, dann in frisches Paraplast eingebettet.

Aus den Blöcken wurden am Mikrotom (Modell Jung RM 2045, Leica Instruments GmbH, Wetzlar, Deutschland) 4-10 µm dünne Schnitte angefertigt und für die histologischen Untersuchungen auf 76 x 26 mm Objektträger (Menzel, Darmstadt, Deutschland) aufgebracht und in Glyceringelatine (Merck, Darmstadt, Deutschland) eingeschlossen.

### **2.3.3 Färbungen zur histologischen Untersuchung**

#### **2.3.3.1 Haematoxin-Eosin-Färbung**

Zur morphologischen Beurteilung wurde eine Standard-Übersichtsfärbung mit Hämalan und Eosin durchgeführt. Hierbei werden die Zellkerne blau, das Cytoplasma und die Interzellulärsubstanz rot bis rosa angefärbt. Über Nacht wurden die Präparate bei 60° Celsius gelagert, um das Paraffin zu lösen. Die entparaffinierten Schnitte verblieben 5 min zur Kernfärbung in Mayer's Hämalanlösung (Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland). Anschließend wurden sie 10 min unter fließendem Wasser gespült und 5 min in Eosin (Fa. Sigma, Deisenhofen, Deutschland) gegengefärbt. Zum Schluß wurden sie in einer aufsteigenden Alkoholreihe entwässert, einige Minuten in Xylol belassen und in Eukitt (Fa. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland) eingebettet.

### **2.3.3.2 Elastica van Giesson-Färbung**

Bei dieser Färbung, die zur histologisch-pathologischen Beurteilung verwendet wurde, stellen sich die Zellkerne dunkelblau bis schwarz, elastische Fasern dunkelviolet bis schwarz, Bindegewebe rot und Muskulatur gelb dar. Diese Färbung wurde insbesondere zur Beurteilung der Gefäßarchitektur verwendet, da sich elastische Fasern in der HE-Färbung nur unzureichend darstellen. Die entparaffinierten Gefäßschnitte wurden 30 min mit Resorcinfuchsin (Chroma Gesellschaft, Köngen, Deutschland), anschließend nach Spülen mit 80%igem Alkohol und H<sub>2</sub>O 6 min mit Eisenhämatoxylin nach Weigert (Chroma Gesellschaft, Köngen, Deutschland) gefärbt. Die Präparate wurden nach Differenzierung in HCl-Alkohol 10 min unter fließendem Leitungswasser gebläut und nach erneutem Spülen mit Wasser etwa 2 min in van-Gieson-Lösung (Chroma Gesellschaft, Köngen, Deutschland) belassen. Die gefärbten Schnitte wurden kurz in Xylol getaucht und in Vitro Clud (Fa. Langenbrinck, Emmendingen, Deutschland) eingebettet.

### **2.3.4 Untersuchungsmethoden**

#### **2.3.4.1 Quantitative Angiographie**

Von den auf Bildplatten gespeicherten Angiographiesequenzen wurden einzelne Standbilder digitalisiert. Aus den auf CD vorhandenen Sequenzen wurden mit Hilfe des Programms HyperCOR 2.60-12p (ITZ Medicom, Willich, Deutschland) einzelne Bilder gespeichert. Für jedes Gefäß wurde eine Leeraufnahme mit Katheterspitze zur Kalibrierung benötigt. Die Bilder der Koronarangiographien wurden in der Diastole bei optimaler Füllung der Gefäße ausgewertet. Im Fall der Carotiden wurde ein Bild mit optimaler Kontrastmittelfüllung des Gefäßes gewählt.

Die Darstellung der Koronarien erfolgte in links anterior obliquer (LAO) und rechts anterior obliquer (RAO) Projektion. Die Carotiden wurden im sagittalen Strahlengang und entsprechenden Angulationen für die jeweilige Seite dargestellt.

Die quantitative Analyse erfolgte mit dem Programm QCA 3.0 (Pie Medical Imaging, Maastricht, Niederlande). Zur Kalibrierung des Messprogramms wurde die jeweils mit

abgebildete Katheterspitze mit bekanntem Durchmesser verwendet. Zunächst wurden der zu untersuchende Gefäßabschnitt markiert und die Länge des Segmentes bestimmt. Danach erfolgte die automatische Kantenerkennung, welche falls nötig (z.B. Abgänge kleiner Gefäße, Überlagerungen, Stentstreben) manuell korrigiert wurde. Bestimmt wurden der maximale und minimale sowie der mittlere Durchmesser über das gesamte Segment. Außerdem wurden die Stenosegrade in der Stentmitte sowie in den Randbereichen errechnet.

### **2.3.4.2 Morphometrische Auswertung**

Die Messungen wurden an den Elastica van Giesson gefärbten Präparaten durchgeführt, da sich hier die elastischen Lamellen deutlich abgrenzen lassen. Jeder Wert wurde dreifach bestimmt und es wurde das arithmetische Mittel gebildet.

Unter einem Mikroskop (Laborlux S., Fa. Leica, Bensheim, Deutschland) wurden mit Hilfe eines CAD Brettes (SummaSketch III, Summagraphics, München, Deutschland) welches über ein Teleskop und einen teilenden Spiegel im Mikroskop sichtbar war, mit der Software "BIOQUANT INTRO: BQANALYSIS BQ-IAD Analysis Software" und "BQANALYSIS BQ-IAD Measurement Software" (Bilany Consultants GmbH, Düsseldorf, Deutschland) die Messungen durchgeführt.

Die verschiedenen Parameter wurden bei den Carotiden unter einem 1,25-fach Objektiv (Plan 1,25/0,04, Zeiss, Oberkochen; Okular 10-fach, Tubus 1,25-fach) und bei den Koronarien unter einem 10-fach Objektiv (EF 10/0,25, Leica, Bensheim; Okular 10-fach, Tubus 1,25-fach) gemessen. Durch die morphometrische Meßanordnung bedingt ergaben sich für das 1,25-fach Objektiv eine 24-fache und für das 10-fach Objektiv eine 188-fache Vergrößerung.

Im einzelnen bestimmt wurden die Lumenfläche in mm<sup>2</sup>, die Fläche der Neointima in mm<sup>2</sup>, sowie die Fläche der Media in mm<sup>2</sup>. Daraus ergaben sich die Werte für den Stenosegrad des Gefäßabschnittes mittels der Formel  $(\text{Intima} / (\text{Intima} + \text{Lumen})) \times 100$ . Weiterhin wurde an drei Stellen die Dicke der Adventitia in mm gemessen.

Für die digitalen Fotografien wurden ein Mikroskop (Olympus BH 2, Olympus Optical Co. (Europe) GmbH, Hamburg, Deutschland) und eine 3CCD-Farbkamera (FUJIX Digital Camera HC-300 Z, Fujifilm, Tokyo, Japan) mit 1,280 x 1,000 Pixeln Auflösung

verwendet. Die Fotos wurden mit Hilfe der Software AVT Horn 200-FUJI-HC-300, Version 0.9 B (Fujifilm, Tokyo, Japan) an das Programm Corel PHOTO-PAINT™ (Version 7.373, Corel Corporation, Ottawa, Canada) übertragen und im TIF-Format (Tagged image file format) gespeichert.

### **2.3.4.3 Zellkerndichte in den Wandschichten**

Zum Auszählen der Zellkerne innerhalb der einzelnen Wandschichten wurde zunächst nach der digitalen Photographie eines Standardmaßobjektträgers eine Computerschablone erstellt. Mit dieser 1 mm<sup>2</sup> -Schablone wurden an drei Stellen in jeder der Wandschichten die vorhandenen Zellkerne ausgezählt. Von den Wandschichten, welche aufgrund der geringen Dicke nicht mit der Schablone ausgezählt werden konnten, wurden zunächst Papierausdrucke angefertigt (LaserJet III, Hewlett-Packard, Böblingen, Deutschland). Nach Auszählen der Zellen wurde der jeweilige Bereich vermessen und die Zellkerndichte berechnet.

### **2.3.4.4 Histopathologische Auswertung**

Um die Auswirkungen der Strahlenbehandlung auf Gefäßarchitektur, Entzündung und Zellreaktion zu quantifizieren, wurden ohne Kenntnis der jeweiligen Dosisgruppe mit Hilfe eines erfahrenen Gefäßpathologen am Pathologischen Institut der Universität Tübingen die folgenden Parameter an allen Schnitten untersucht:

Das Auftreten fibrinoider Insudate in der Neointima wurde je nach Merkmalsausprägung semiquantitativ von 0 (nicht vorhanden) bis +++ (ausgeprägt nachweisbar) bewertet. Soweit an den vorhandenen Färbungen eine Beurteilung möglich war, wurde auch der Grad der Endothelialisierung erfasst und in 0 (weitestgehendes Fehlen einer Endothelschicht) und + (unauffällige Endothelschicht) eingeteilt.

Zusätzlich wurde eine Differenzierung des vorherrschenden Stadiums des intimalen Remodelings vorgenommen. Unterschieden wurde hier zwischen lose angeordneten Zellen in reichlicher Extrazellulärmatrix (als Neointima bezeichnet) und einem eher organisierten Stadium, in welchem die extrazelluläre Matrix hauptsächlich aus Kollagen

besteht (als Fibrose bezeichnet). Beim Vorhandensein beider Ausprägungen war eine doppelte Wertung möglich.

Um die Gefäßschädigung durch die Überdilatation beim Einbringen des Stents zu erfassen, wurde der Vessel Injury Score nach Schwartz et al. verwendet (56). Diese Einteilung erfasst das Maß der Gefäßschädigung anhand der Intaktheit von innerer und äußerer elastischer Lamelle sowie der Strukturen der Tunica Media. Zur Beurteilung der Entzündungsreaktion wurde der Inflammation Score nach Hofma et al. verwendet (60), welcher zur Beurteilung die Lokalisation und Art der entzündlichen Infiltrate heranzieht. Die hier verwendete Gradierung der Fibrosierung im Bereich der Adventitia erfasst die Ausprägung der Bindegewebsreaktion nach Stentimplantation im Hinblick auf eine mögliche Beeinträchtigung der Gefäßfunktion. Eine Übersicht der verwendeten Scores gibt nachfolgende Tabelle 2.

Tabelle 2. Übersicht über die Merkmale der verwendeten pathologischen Scores.

Score	Vessel injury score	Inflammation score	Fibrose
0	Lamina elastica interna intakt, Endothel denudiert, Media komprimiert, nicht zerrissen	Keine Entzündungszellen sichtbar	Keine Fibrose
1	Lamina elastica interna zerrissen, Media komprimiert, nicht zerrissen	Entzündungszellen in der Adventitia	Minimale Fibrosierung der Tunica Adventitia
2	Lamina elastica interna zerrissen, Media sichtbar zerrissen, Lamina elastica externa komprimiert, nicht zerrissen	Diffuse, klar erkennbare Infiltrate in der Adventitia	Fibrose ummauert vasa vasorum
3	Lamina elastica externa zerrissen, Media stark zerrissen bis durch die lamina elastica externa, Streben bis in die Adventitia	Starke, granulomatöse Infiltrate in der Adventitia, teils in die Intima	Fibrose ummauert Nerven

### 2.4 Statistische Auswertung

Die statistische Analyse wurde mit Hilfe des Softwarepaketes JMP (Version 3.1.6.2., SAS Institute, Cary, USA) durchgeführt. Die Schaubilder wurden mit Sigmaplot 2000 (Version 6, SPSS Inc., Chicago, USA) erstellt.

## *Material und Methoden*

---

Im Falle der Koronarien wurde für die kontinuierlich verteilten Variablen nach Überprüfung der Normalverteilung mittels Shapiro-Wilk-Test ein t-Test für unverbundene Stichproben durchgeführt.

Die Ergebnisse der Carotiden wurden mit Hilfe der post-hoc-Tests nach Dunnett zum Vergleich der Verum-Gruppen mit der Kontrolle (hierbei handelt es sich um einen Test aus mehreren t-Tests mit interner alpha-Adjustierung) und nach Tuckey-Kramer zum Vergleich der Verum-Gruppen untereinander analysiert.

Zur statistischen Untersuchung der ordinalskalierten Parameter wurde nach Umskalierung in kontinuierliche Variablen ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Ein p-Wert von  $<0,05$  wurde als statistisch signifikant angesehen.

## **3 Ergebnisse**

### **3.1 Prozedur**

Bei einem Tier der Kontrollgruppe (Nr. 81 239, nach 12 Wochen angefertigtes histologisches Bild siehe Abbildung 5) wurde im Rahmen der Kontrolluntersuchung nach 8 Wochen ein Thrombus im RCX festgestellt. Es erfolgte eine dreimalige Ballondilatation mit einem Ballon Größe 2 mit 14 bar sowie eine weitere nach 10 Minuten. Insgesamt wurden im Rahmen der Intervention 600 µg Nitroglycerin und 5 ml Aspisol sowie 5000 IE Heparin appliziert. Das Tier erhielt in den darauffolgenden 3 Tagen zusätzlich einmal täglich niedermolekulares Heparin intramuskulär.

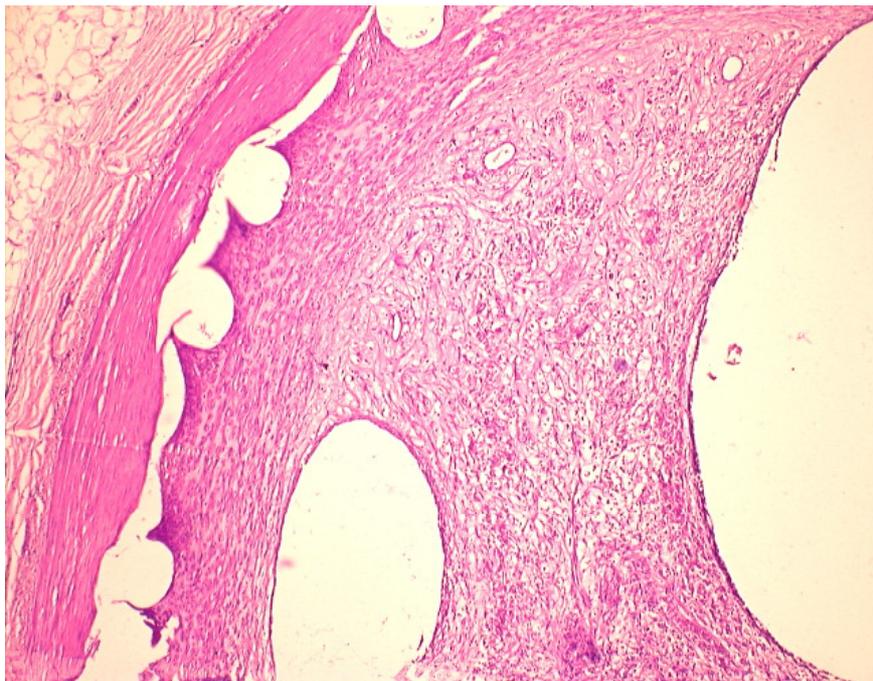


Abbildung 5. Histologisches Bild aus der Stentmitte im Ramus circumflexus des Tieres Nummer 81 239 nach 12 Wochen, bei welchem im Rahmen der Nachuntersuchung nach 8 Wochen ein Thrombus festgestellt worden war, und eine Nachdilatation erfolgte.

Bei einem Tier der Verumgruppe (Nr. 81 599) kam es im RCX (15,3 MBq) bei 8 bar zu einem Platzen des Ballons. Der Stent wurde jedoch erfolgreich freigesetzt und kurz mit 14 bar inflatiert. Das anschließende Angiogramm zeigte ein zufriedenstellendes

## *Ergebnisse*

---

Ergebnis. Zu einem weiteren Ballonplatzter kam es bei der Stentimplantation im RIVA des Tieres 81 740. Das postinterventionelle Angiogramm zeigte jedoch keine Auffälligkeiten, ebenso waren die Ergebnisse der histologischen Auswertung mit denen der Gesamtgruppe vergleichbar.

Bei Tier Nr. 81 476 wurde in die linke A. carotis communis kein Stent implantiert. Im Falle des Tieres 81 377 wurde in die linke Carotis ebenfalls kein Stent gesetzt, das Gefäß wurde jedoch leicht überdilatiert. Im Rahmen der Nachuntersuchung kam es zu einem koronaren Gefäßspasmus, welcher durch Nitroglycerin-Gabe erfolgreich behandelt wurde. Bei Tier 81 397 (Hochdosis-Gruppe) kam es am proximalen Ende der linken Carotis zu einer Dissektion. Abbildung 6 zeigt das Angiogramm der linken Arteria carotis communis nach 8 Wochen.



Abbildung 6. Carotisangiogramm der linken Arteria carotis communis des Tieres 81 397 nach 8 Wochen. Im Rahmen der Intervention war es hier zu einer Dissektion des proximalen Gefäßabschnittes gekommen. Das angiographische Resultat innerhalb des Stents war hiervon nicht betroffen.

Im Rahmen der angiographischen Nachkontrolle wurde bei Tier 81 526 ein Verschluss des Ramus interventricularis anterior gefunden. Es handelte sich hierbei um ein Tier der

## Ergebnisse

---

Verumgruppe. Abbildung 7 zeigt die angiographische Kontrolle sowie das entsprechende histologische Präparat nach 12 Wochen.

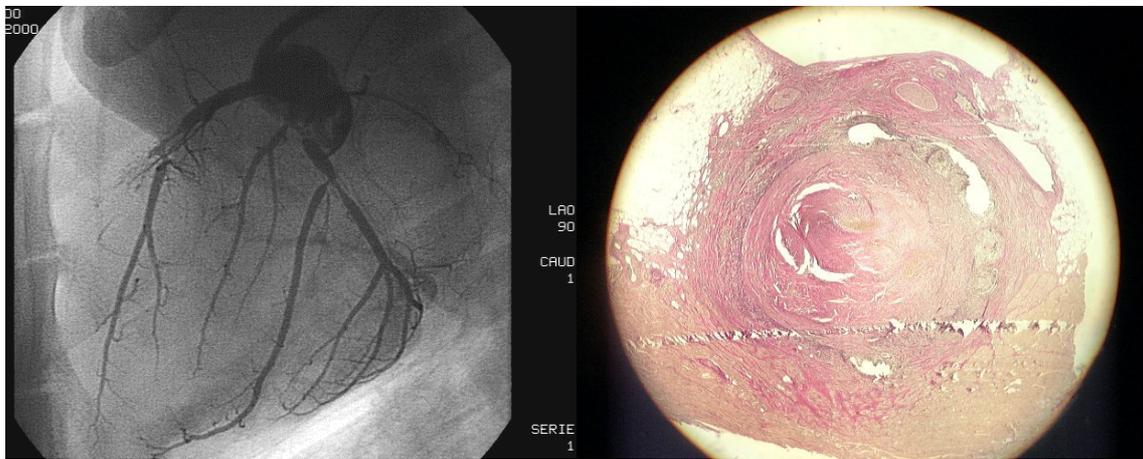


Abbildung 7. Koronarangiogramm nach 8 Wochen mit Darstellung des vollständigen Verschlusses im RIVA und einer hochgradigen Einengung des RCX. Histologisches Bild des RIVA im Endbereich mit subtotaler Lumenverlegung, die Gefäßarchitektur ist hier vollständig aufgehoben.

Bei Tier 81 767 kam es im Rahmen der Koronarangiographie zu vorübergehenden Herzrhythmusstörungen, welche jedoch nicht zu einem Verlust des Tieres führten. Es erfolgte eine zusätzliche Gabe von 6 ml Nitroglycerin und 5000 IE Heparin. Das Tier erreichte das Versuchsende. Bei Tier 81 582 (Radioaktive Koronarstents, Carotis 140 MBq und 83 MBq) ließ sich der Katheter bei der Nachuntersuchung nicht ausreichend gut steuern, es kam zu einer Drahtdissektion und einem Spasmus im RIVA. Das Tier verstarb im Rahmen der Angiographie, die Stents wurden hier schon vorzeitig entnommen. Eine histologische Aufarbeitung wurde durchgeführt, die Ergebnisse wurden jedoch nicht in die Endauswertung einbezogen. Es zeigte sich eine unvollständige Gefäßheilung mit inkompletter Reendothelialisierung und fibrinoiden Insudaten in der Neointima. Diese bestand im Bereich der Streben aus unorganisierten SMC in reichlich vorhandener Extrazellulärmatrix. In den Koronarien fand sich eine deutliche Einengung des Lumens.

Die übrigen 16 Tiere erreichten das Versuchsende ohne zusätzliche Komplikationen und wurden wie beschrieben getötet.

## 3.2 Dosimetrie der radioaktiven Stents

In den Koronarien wurde jeweils eine Dosisgruppe mit dem nicht-dotierten Kontrollstent verglichen, in der Arteria carotis communis wurden neben den Kontrollstents insgesamt drei Dosisgruppen verwendet. In der folgenden Tabelle 3 sind die mittlere Aktivität sowie die maximale und minimale Aktivität und Gesamtdosis über die Lebenszeit dargestellt.

Tabelle 3. Dosen über die Dauer des Versuches in den einzelnen Aktivitätsgruppen. Wichtigster Vergleichsparameter ist die Lifetime Radiation in 0,5 mm Abstand von der Stentoberfläche.

Gefäß	Aktivität (MBq)	Dosis (Gy in 0,5 mm)
RIVA	10,86 ± 1,58 (8,5 - 13)	166,7
RCX	17,77 ± 1,73 (15,3 - 21)	270,1
CAROTIS	10,67 ± 1,15 (10 - 12)	-
	77,56 ± 10,44 (52 - 88)	260,1
	136 ± 4,73 (129 - 142)	470,8

Die umseitige Abbildung 8 zeigt die gemessenen Dosisraten in Abhängigkeit von der Tiefe exemplarisch für jeweils einen Jomed 16 mm-Koronarstent sowie einen Jomed 58 mm-Peripherstent. Zu beachten ist hier der deutliche Abfall der Dosisrate innerhalb weniger Millimeter, 60% der Dosis wird in einem Bereich bis 0,92 mm Abstand von den Stentstreben abgegeben.

## Tiefendosiskurven

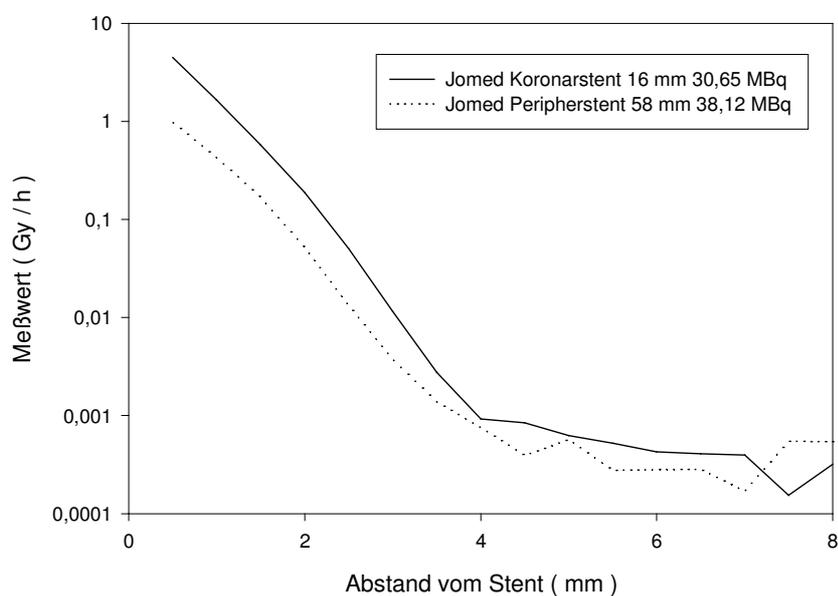


Abbildung 8. Repräsentative Darstellung der Dosisraten der verwendeten Jomed Koronar- und Peripherstents auf halblogarithmischer Skala.

Die auf den folgenden Seiten zu findenden Abbildungen 9-12 zeigen die Dosisraten in der Umgebung der Stents, wiederum exemplarisch für die Jomed 16 mm Koronarstents und die Jomed 58 mm Peripherstents. Zur besseren Erfassung der absoluten Unterschiede der Dosisrate insbesondere im relevanten Bereich bis zu 1 mm sind zusätzlich zur halblogarithmischen Darstellung die Absolutwerte auf einer linearen Skala aufgetragen.

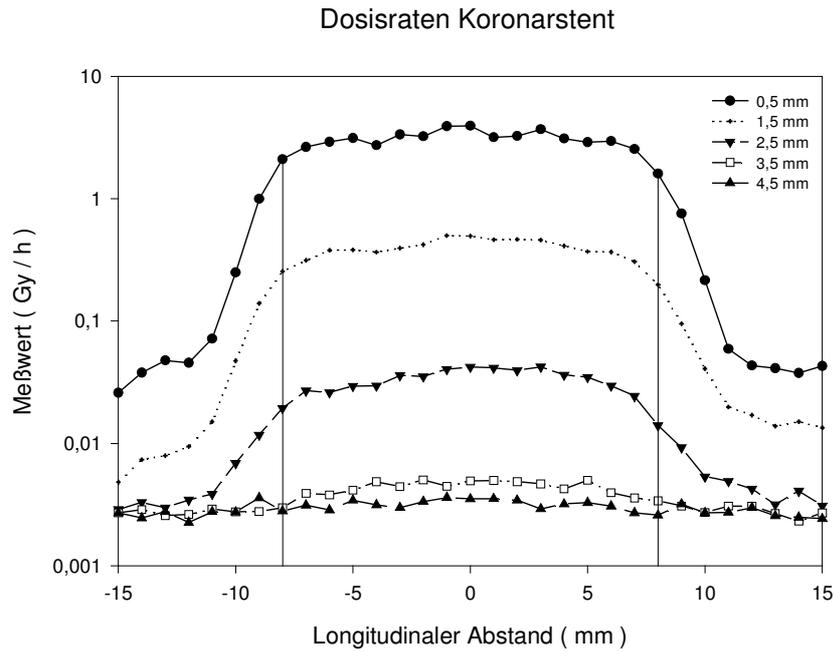


Abbildung 9. Jomed Koronarstent mit einer Länge von 16 mm. Die initiale Aktivität nach der Dotierung mit Rhenium-186 betrug 30,65 MBq. Die gemessenen Dosisraten sind auf einer logarithmischen Skala aufgetragen, oberste Linie im Abstand von 0,5 mm. Zu bemerken ist der Dosisabfall an den Stentenden (-8 und +8 mm longitudinaler Abstand zur Stentmitte).

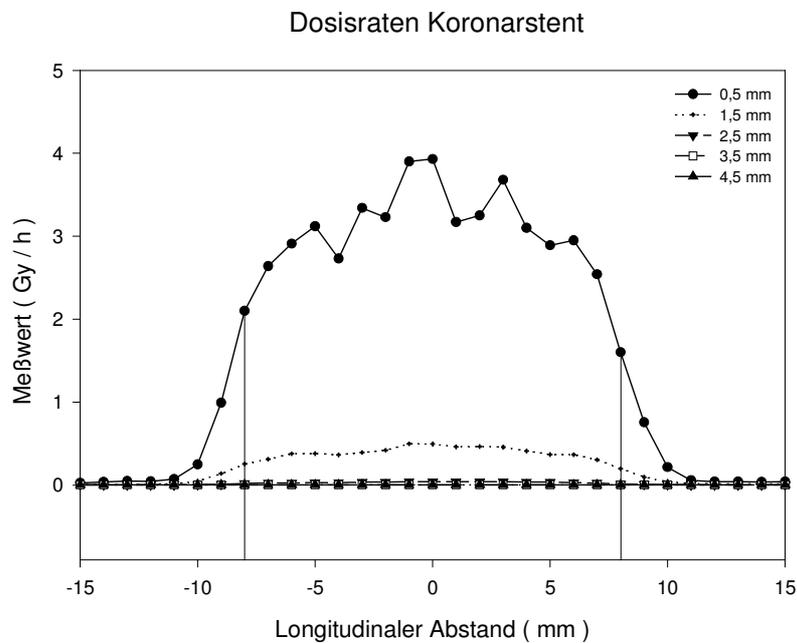


Abbildung 10. Darstellung der Messwerte für denselben Jomed Koronarstent wie in Abbildung 9 mit 16 mm Länge. Auf der hier verwendeten nicht-logarithmischen Skala sind die absoluten Schwankungen der Dosisrate zu erkennen.

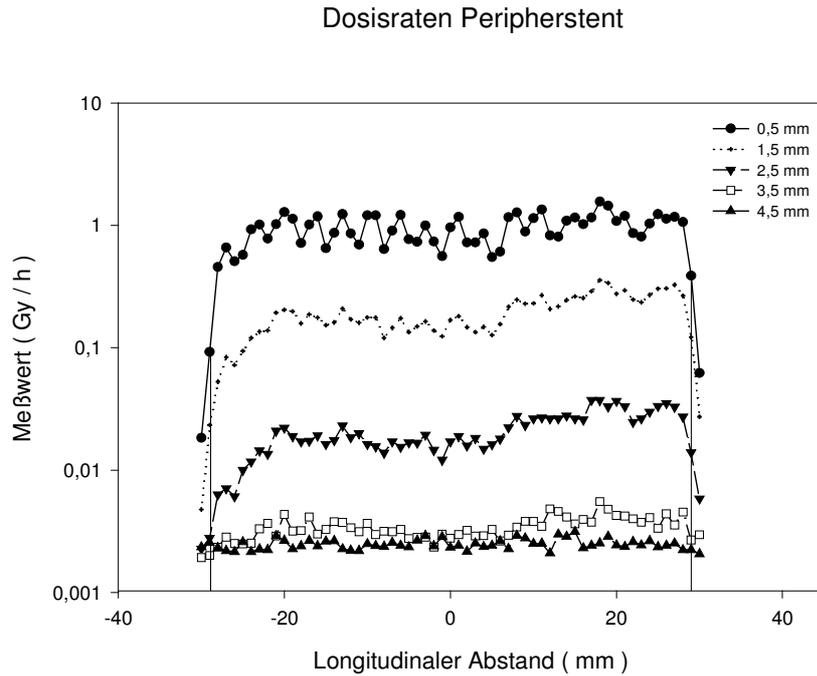


Abbildung 11. Jomed 58 mm mit einer Aktivität von 38,12 MBq. Auffällig ist hier die schwankende Dosisverteilung, welche dem Abstand zwischen den Stentstreben entspricht. Im Bereich der Stentenden (-29 und +29 longitudinaler Abstand zur Stentmitte) findet sich ein deutlicher Dosisabfall.

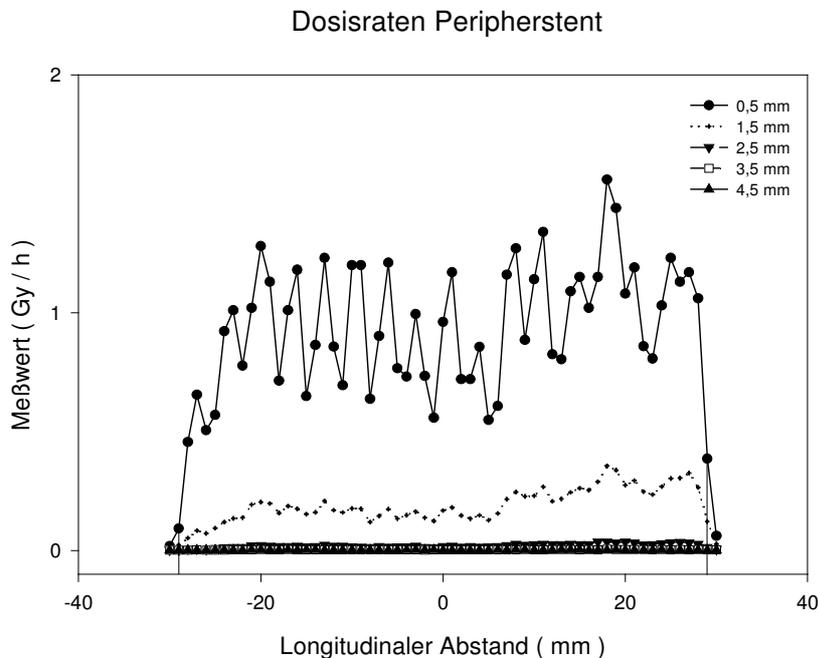


Abbildung 12. Zum Vergleich hier wiederum die nicht-logarithmische Darstellung der Meßwerte für den Stent aus Abbildung 11 mit einer Länge von 58 mm. Es zeigen sich somit auch hier Schwankungen über den Längsverlauf des Stents.

### **3.3 Ergebnisse der Koronargefäße**

Nach dem Studiendesign wurden in beiden Koronargefäßen unterschiedliche Dosisgruppen implantiert, somit waren auch die Kontrollen als unterschiedliche Gruppen zu bewerten. Eine gemeinsame Darstellung der Ergebnisse der beiden Koronargefäße (Ramus circumflexus und Ramus interventricularis) erfolgt hier somit nur aus Übersichtsgründen, es wurden keine statistischen Vergleiche durchgeführt. Die Aktivitäten der radioaktiv dotierten Stents betrugen im Ramus interventricularis anterior 8,5-13 MBq (im Mittel 10,86 MBq) und im Ramus circumflexus 15,3-21 MBq (im Mittel 17,77 MBq).

#### **3.3.1 Ergebnisse der quantitativen Angiographie**

##### **3.3.1.1 Länge des untersuchten Segments**

Die Länge des untersuchten Segments beschreibt den Abschnitt über welchen die im Folgenden dargestellten angiographischen Parameter bestimmt wurden.

Die mittlere Länge betrug für den RIVA in der Kontrollgruppe  $17,2 \pm 2,1$  mm und in der 10,86 MBq-Gruppe  $19,2 \pm 3,7$  mm. Im RCX wurde im Mittel über  $18,1 \pm 3,1$  mm in der Kontrollgruppe und über  $19,1 \pm 5,9$  mm in der 17,77 MBq-Gruppe gemessen.

##### **3.3.1.2 Maximaler Durchmesser im untersuchten Segment**

Der maximale Lumendurchmesser beschreibt die breiteste mit Kontrastmittel ausgefüllte Stelle im untersuchten Segment. Im RIVA waren dies in der Kontrolle  $2,91 \pm 0,21$  mm und in der Bestrahlungsgruppe  $3,4 \pm 0,45$  mm. Dieser Unterschied war signifikant mit  $p < 0,031$ . Im RCX ergab sich kein signifikanter Unterschied mit  $2,95 \pm 0,13$  mm in der Kontrolle gegenüber  $3,07 \pm 0,49$  mm nach Bestrahlung. Die im Anschluß an Punkt 3.3.1.4 zu findende Abbildung 13 zeigt in einem gemeinsamen Schaubild die Ergebnisse für maximalen, minimalen und mittleren Lumendurchmesser.

### **3.3.1.3 Minimaler Durchmesser im untersuchten Segment (MLD)**

Korrelierend zum maximalen zeigt der minimale Lumendurchmesser die engste Stelle im Verlauf des untersuchten Segments an. Da der Blutfluss und somit der Erfolg der Therapie hierdurch bestimmt wird, ist er der für die Wirksamkeit der Therapie maßgebliche Parameter.

Im RIVA zeigte die Kontrollgruppe einen MLD von  $1,78 \pm 0,67$  mm gegenüber  $1,13 \pm 0,36$  mm in der Strahlungsgruppe. Die Testung mittels t-Test ergab einen signifikanten Unterschied mit  $p < 0,038$ . Die Messung im RCX ergab mit  $1,6 \pm 0,63$  mm in der Kontrolle gegenüber  $0,99 \pm 0,18$  mm im Verum einen ebenfalls signifikanten Unterschied mit  $p < 0,0144$ .

### **3.3.1.4 Mittlerer Durchmesser des untersuchten Segments**

Der über das gesamte Segment gemittelte Durchmesser ergab sowohl für den RIVA als auch für den RCX jeweils in Kontrolle und Verumgruppe ähnliche Ergebnisse. Hieraus folgt allerdings keine Aussage über die Verteilung der Neointima. Im RIVA errechnete sich ein mittlerer Durchmesser von  $2,3 \pm 0,4$  mm für die Kontrolle und  $2,4 \pm 0,4$  mm für die Verum-Gruppe, im RCX für die Kontrolle  $2,2 \pm 0,52$  mm versus  $2,2 \pm 0,44$  mm nach Bestrahlung.

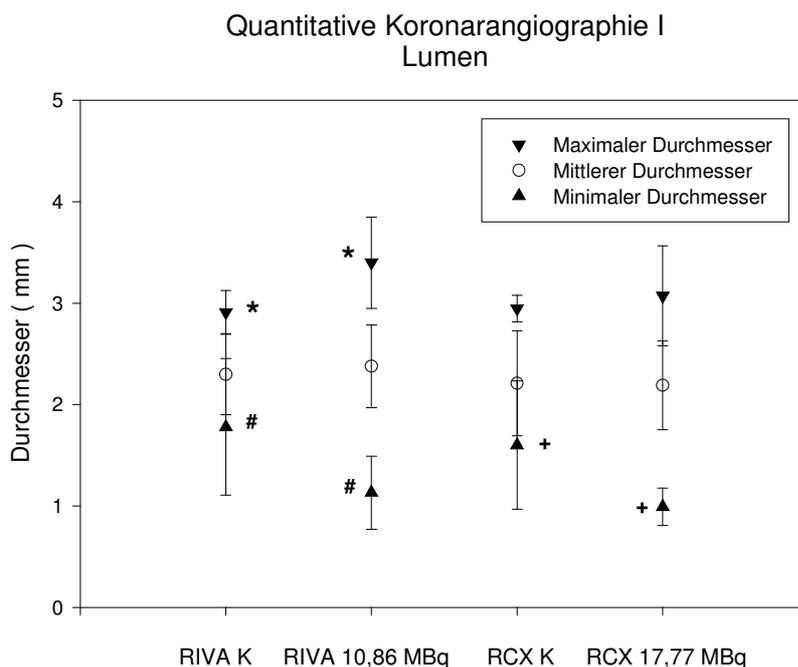


Abbildung 13. Maximaler, mittlerer und minimaler Durchmesser im untersuchten Segment. Im RIVA sind sowohl maximaler (\*), als auch minimaler (#) Durchmesser zwischen Kontrolle und Verum-Gruppe signifikant verschieden. Im RCX ist der minimale Durchmesser (+) in der Kontroll- und der Verumgruppe signifikant unterschiedlich.

### 3.3.1.5 Durchmesser an den Stentenden

Die Engstellen an den Stentenden der radioaktiven Stents entsprechen den geringen Messungen für den MLD. Dies spiegelt das angiographische Bild des „Candy-Wrappers“ wieder.

Im RIVA am proximalen Ende waren dies für die Kontrolle  $2,43 \pm 0,37$  mm versus  $1,32 \pm 0,36$  mm in der Dosisgruppe, am distalen Ende  $2,1 \pm 0,4$  mm in der Kontrolle versus  $1,28 \pm 0,43$  mm in der Strahlungsgruppe.

Vergleichbar waren die Ergebnisse im RCX. Für das proximale Ende ergaben die Messungen in der Kontrolle  $2,16 \pm 0,42$  mm und  $1,23 \pm 0,46$  mm in der 17,77 MBq-Gruppe. Distal ergab die Messung für den Durchmesser in der Kontrolle  $2,02 \pm 0,33$  mm gegenüber  $1,11 \pm 0,24$  mm in der Verumgruppe. Die Verteilung der Einengung ist zusammen mit dem Durchmesser in der Stentmitte in Abbildung 14 dargestellt.

## 3.3.1.6 Durchmesser in der Mitte des Stents

In den Kontrollgruppen lagen die gemessenen Werte nahe den Ergebnissen des durchschnittlichen Durchmessers, was der eher gleichmäßigen Verteilung der Stenosen in der Angiographie entspricht. In der RIVA-Kontrollgruppe fanden sich  $2,1 \pm 0,33$  mm gegenüber der Verumgruppe mit  $2,8 \pm 0,28$  mm, im RCX für die Kontrolle  $2,0 \pm 0,73$  mm versus  $2,7 \pm 0,55$  mm im Verum.

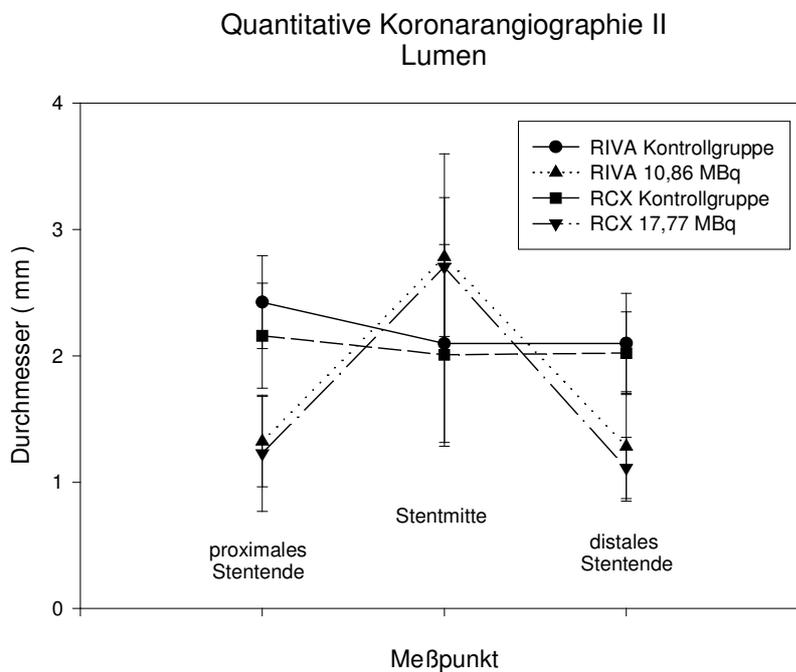


Abbildung 14. Deutlich erkennbarer Unterschied in den bestrahlten Gefäßen zwischen Mitte und Randbereichen des Stents. Insgesamt ist das durchgängige Lumen nach Radiatio in der Mitte des Stents jedoch größer als in der Kontrollgruppe.

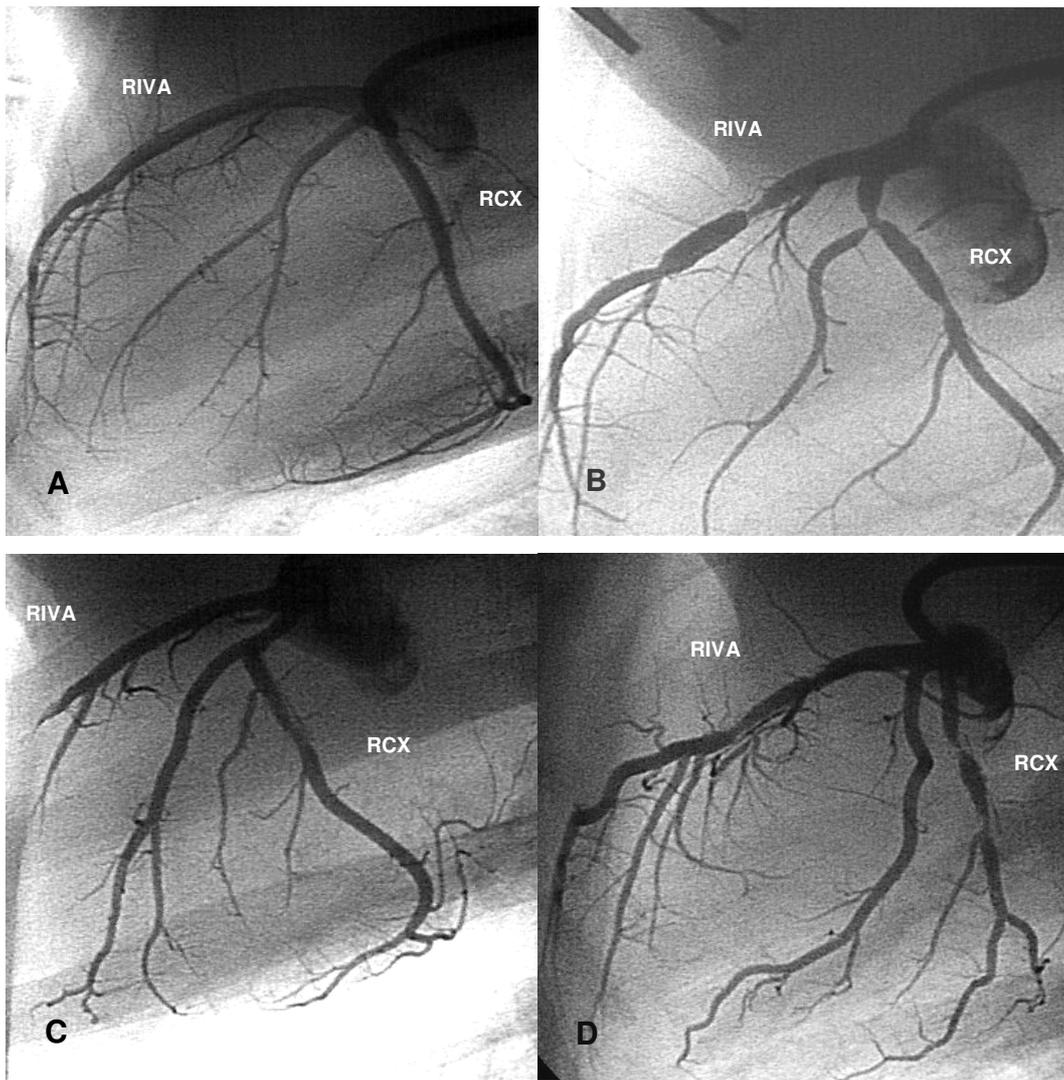


Abbildung 15. Koronarangiogramme zum Untersuchungszeitpunkt 8 Wochen nach Stentimplantation in RIVA und RCX. A: Zwei Kontrollstents, B: RIVA 11 MBq und RCX 21 MBq, C: zwei Kontrollstents, D: RIVA 18 MBq und RCX 9,5 MBq. Deutlich erkennbar ist die Lumeneinengung an den Stentenden der radioaktiven Stents, der sogenannte „Candy-Wrapper“.

## 3.3.2 Morphometrische Ergebnisse

### 3.3.2.1 Lumenfläche

Die morphometrisch gemessene Fläche des durchlässigen Lumens betrug im RIVA  $3,0 \pm 1,2$  mm<sup>2</sup> in der Kontrollgruppe gegenüber  $2,7 \pm 1,4$  mm<sup>2</sup> in der 10,86 MBq Gruppe. Am Stentende (in der Abbildung 16 nicht mit dargestellt) ergaben die Messungen deutlichere, allerdings nicht signifikante Werte von  $2,4 \pm 1,1$  mm<sup>2</sup> in der Kontrolle gegenüber  $1,9 \pm 1,0$  mm<sup>2</sup> in der Verumgruppe.

Auch im RCX ergaben die Messungen in der Mitte des Stents keine signifikanten Unterschiede. Die Kontrolle zeigte jedoch mit  $2,2 \pm 0,9$  mm<sup>2</sup> gegenüber  $2,0 \pm 1,4$  mm<sup>2</sup> ein geringradig größeres Lumen. Dieser Unterschied war am Stentende mit  $2,1 \pm 1,0$  mm<sup>2</sup> gegenüber  $1,5 \pm 1,4$  mm<sup>2</sup> nach Bestrahlung zwar größer, jedoch ebenfalls nicht signifikant.

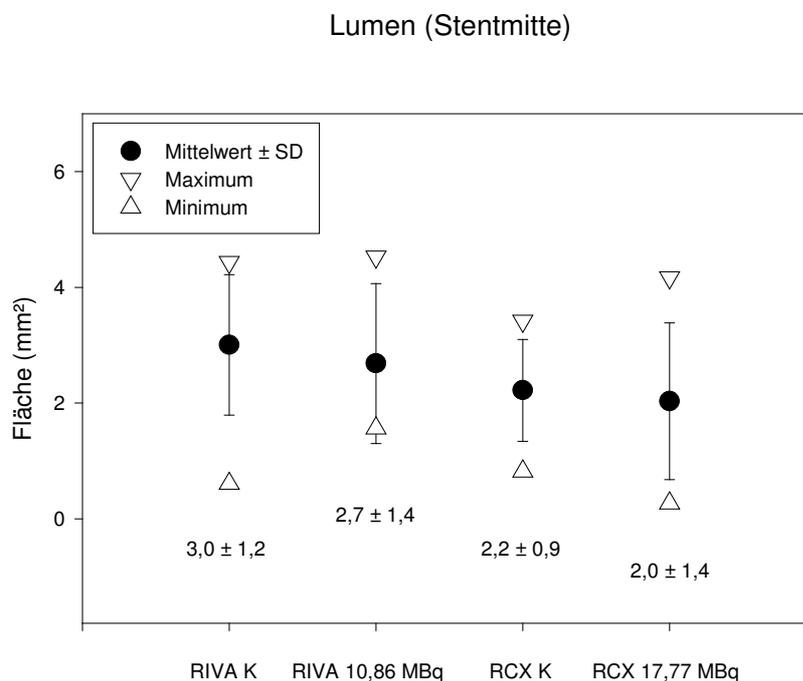


Abbildung 16. Fläche des durchgängigen Lumens in den Koronargefäßen. Insgesamt ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

## 3.3.2.2 Intimafläche

Korrelierend zur Lumenfläche ergaben die Messungen der Neointima im RIVA mit einer Fläche von  $1,8 \pm 1,1 \text{ mm}^2$  in der Kontrolle und  $2,4 \pm 0,9 \text{ mm}^2$  in der Verumgruppe einen Trend hin zu mehr Intima in der bestrahlten Gruppe. Die genannte Tendenz zeigte sich auch im Falle des Ramus circumflexus. Die Fläche der Intima maß in der Kontrolle  $2,2 \pm 0,9 \text{ mm}^2$  gegenüber  $3,1 \pm 1,4 \text{ mm}^2$  in der Gruppe mit radioaktivem Stent.

Bei einem Tier der Therapiegruppe kam es aufgrund einer erheblichen Störung der Gefäßarchitektur zu einer vollständigen Okklusion des Ramus interventricularis anterior, welche schon in der Koronarangiographie nach 8 Wochen sichtbar war und sich in der Histologie nach 12 Wochen bestätigte (Siehe Abbildung 7).

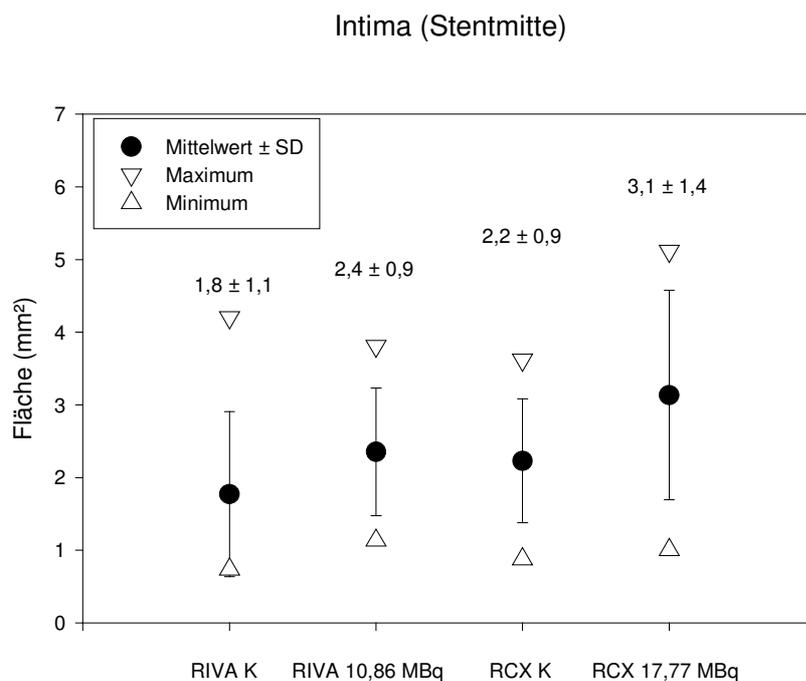


Abbildung 17. Morphometrisch gemessene Intimafläche in der Mitte der Stents. Es zeigt sich ein statistisch nicht signifikanter Trend zu einer größeren Fläche nach Bestrahlung.

### 3.3.2.3 Mediafläche

Die Fläche der Media war in der Kontrollgruppe des RIVA mit  $1,9 \pm 1,5 \text{ mm}^2$  gegenüber  $1,4 \pm 0,4 \text{ mm}^2$  in der Bestrahlungsgruppe etwas höher. Ebenso zeigte sich im RCX in der Kontrolle eine Fläche von  $1,7 \pm 0,6 \text{ mm}^2$  und  $1,0 \pm 0,5 \text{ mm}^2$  im Verum. Als Resultat der Bestrahlung hat somit eine Ausdünnung der Media stattgefunden. Die graphische Darstellung der Ergebnisse für die Fläche der Media findet sich in Abbildung 18.

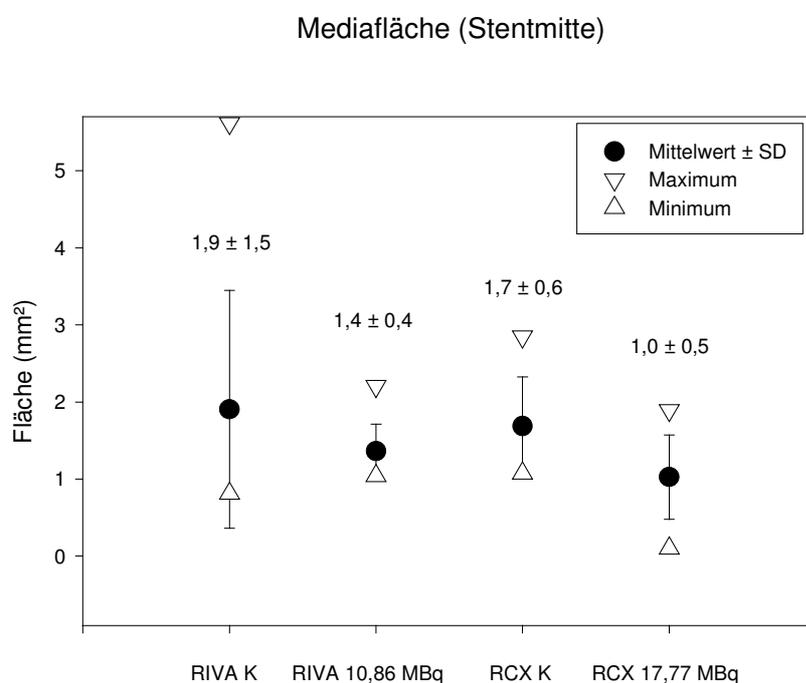


Abbildung 18. Morphometrisch gemessene Fläche der Tunica Media 12 Wochen nach Implantation der Stents.

### 3.3.2.4 Stenosegrad

Aus den Werten der Lumenfläche und der Intimafläche wurde der Stenosegrad bezogen auf die Fläche innerhalb der Stentstreben errechnet. Im RIVA betrug die Stenose somit in der Stentmitte für die Kontrollgruppe  $37,1 \pm 23,4\%$  versus  $49,5 \pm 24,6\%$  nach Bestrahlung. Am Stentende zeigte sich ein noch deutlicherer Unterschied von  $39,2 \pm 24,9\%$  für die Kontrolle und  $63,5 \pm 16,6\%$  im Verum. Im RCX wiesen die

Kontrollen in der Stentmitte mit  $50,4 \pm 18,5\%$  ebenfalls eine verminderte Stenose gegenüber  $60,6 \pm 25,3\%$  auf. Am Stentende fand sich für die Kontrolle eine Stenosierung von  $49,12 \pm 21\%$  versus  $80,4 \pm 11,4\%$  der bestrahlten Stentenden.

### 3.3.2.5 Dicke der Adventitia

Wie in Abbildung 19 dargestellt, fand sich im RIVA eine Dicke von  $0,2 \pm 0,3$  mm in der Kontrolle gegenüber  $0,8 \pm 0,2$  mm in der Verumgruppe, was einem statistisch signifikanten Unterschied entsprach ( $p < 0,0004$ ). Verglichen hiermit waren die Werte am Stentende nicht so deutlich ausgeprägt. Die Adventitia der Kontrolle maß hier  $0,3 \pm 0,4$  mm versus  $0,6 \pm 0,1$  mm in der Verumgruppe ( $p < 0,0373$ ). Ebenso ergaben die Messungen im RCX für die Kontrolle  $0,2 \pm 0,2$  mm versus  $0,8 \pm 0,1$  mm in der Stentmitte der Verum-Gruppe ( $p < 0,0001$ ), am Stentende für die Kontrolle  $0,3 \pm 0,3$  mm und  $0,7 \pm 0,2$  mm im Verum ( $p < 0,0131$ ). Umseitige Abbildung 20 zeigt exemplarische Schnitte, welche die ausgeprägte Fibrosierung der Adventitia in den bestrahlten Gefäßen erkennen lassen.

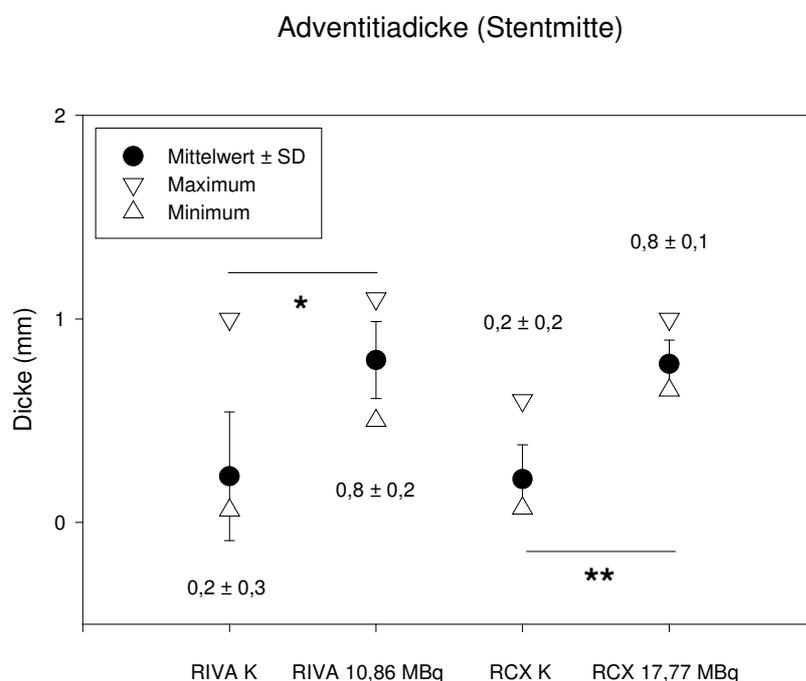


Abbildung 19. Dicke der Adventitia 12 Wochen nach Implantation von Kontrollstents (K) und radioaktiv dotierten Stents. Die Unterschiede sind statistisch als signifikant zu bewerten (\*  $p < 0,0004$  und \*\*  $p < 0,0001$ ).

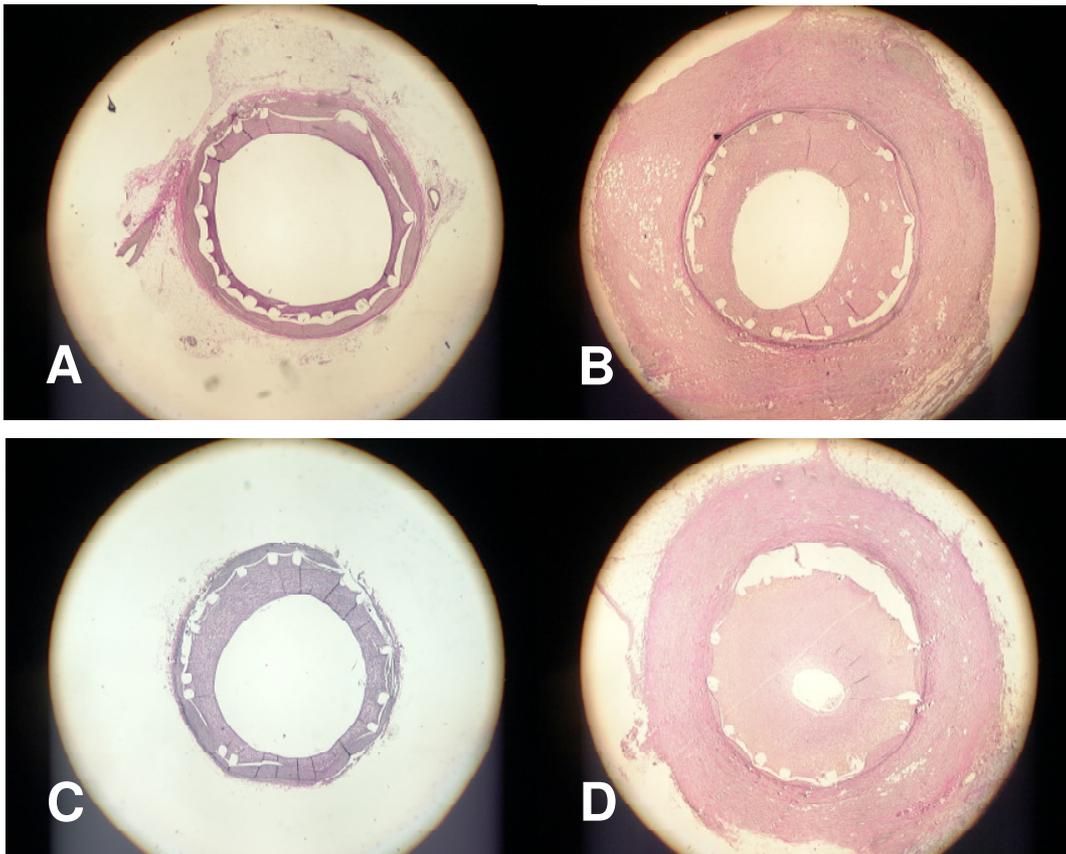


Abbildung 20. Exemplarische mikroskopische Bilder von Schnitten aus der Stentmitte, Vergrößerung 2,5-fach. A: Ramus interventricularis anterior aus der Kontrollgruppe mit Darstellung einer Neointima, welche jedoch zu keiner signifikanten Lumeneinengung geführt hat, B: RIVA-Gefäß aus der Therapiegruppe mit einer Stentaktivität von 10,86 MBq. Deutlich abzugrenzen sind die adventitielle Fibrose sowie die größere neointimale Fläche. Entsprechend zeigen die Abbildungen C und D eine Kontrolle und einen mit 17,77 MBq behandelten RCX, bei welchem sich ebenfalls eine Verdickung der Adventitia im Sinne eines fibrotischen Umbaus und die deutlichere Neointimabildung abgrenzen lassen.

## 3.3.3 Dichte der Zellkerne in den Wandschichten

### 3.3.3.1 Dichte der Zellkerne in der Intima

Insgesamt ergaben die Auszählungen der Kerndichte in der Intima keine wesentlichen Unterschiede zwischen den bestrahlten Gefäßen und den Kontrollgruppen. Im RIVA waren dies für die Kontrolle  $2439 \pm 1016$  Zellen/mm<sup>2</sup> versus  $1861 \pm 473$  Zellen/mm<sup>2</sup> nach Radiatio. Die Auszählung an den Stentenden ergab  $2257 \pm 903$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Kontrolle versus  $2088 \pm 524$  Zellen/mm<sup>2</sup> im Verum.

Im Falle des RCX ergab die Kontrolle  $2275 \pm 805$  Zellen/mm<sup>2</sup> versus  $2306 \pm 648$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Stentmitte und  $2350 \pm 740$  Zellen/mm<sup>2</sup> versus  $2278 \pm 531$  Zellen/mm<sup>2</sup> am Ende des gestenteten Bereichs.

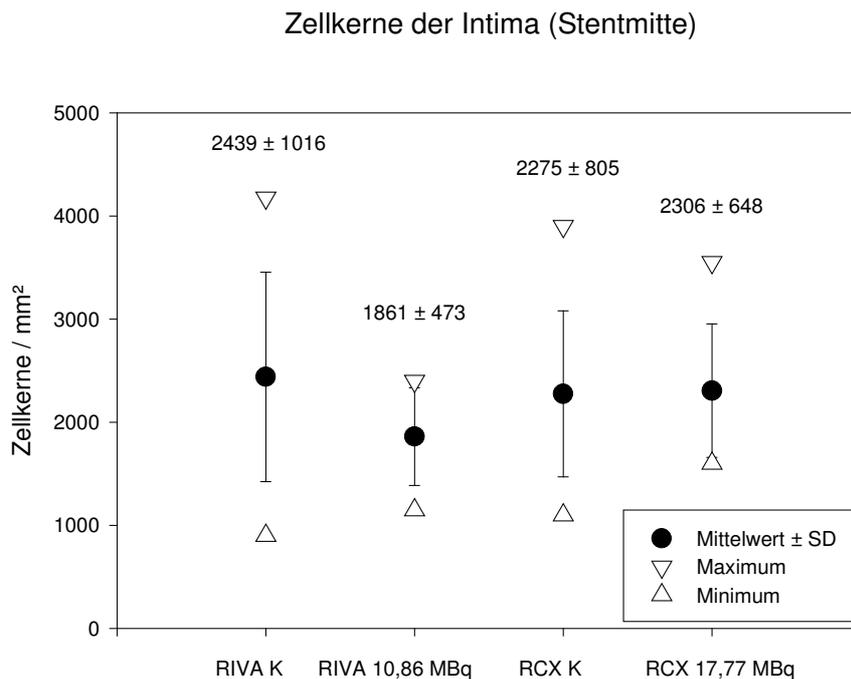


Abbildung 21. Die Auszählung der Zellkerne und die daraus bestimmte Zellkerndichte ergaben für die Intima nach 12 Wochen vergleichbare Ergebnisse in den Verum- und Kontroll-Gruppen. Es ließ sich somit kein strahlenbedingter Unterschied feststellen.

## 3.3.3.2 Dichte der Zellkerne in der Media

Korrespondierend zur verminderten Mediafläche ergab die Auswertung der Zellkerndichte in dieser Wandschicht in beiden Koronargefäßen einen geringeren Wert nach Bestrahlung (Abbildung 22). Für den RIVA entsprach dies in der Stentmitte einer Dichte von  $2250 \pm 692$  Zellen/mm<sup>2</sup> gegenüber  $1689 \pm 392$  Zellen/mm<sup>2</sup> nach Bestrahlung. Ähnlich fand sich für die Zelldichte am Stentende ein Wert von  $2600 \pm 607$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Kontrolle versus  $1856 \pm 864$  Zellen/mm<sup>2</sup> im Verum.

Im Ramus circumflexus wurden für die Kontrolle in der Stentmitte  $2337 \pm 504$  Zellen/mm<sup>2</sup> gegenüber  $1405 \pm 554$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Radiatio-Gruppe gezählt. Dieser Trend setzte sich am Ende des Stents fort, die Kontrolle zeigte hier  $2086 \pm 527$  Zellen/mm<sup>2</sup>, die Dosisgruppe  $1720 \pm 559$  Zellen/mm<sup>2</sup>.

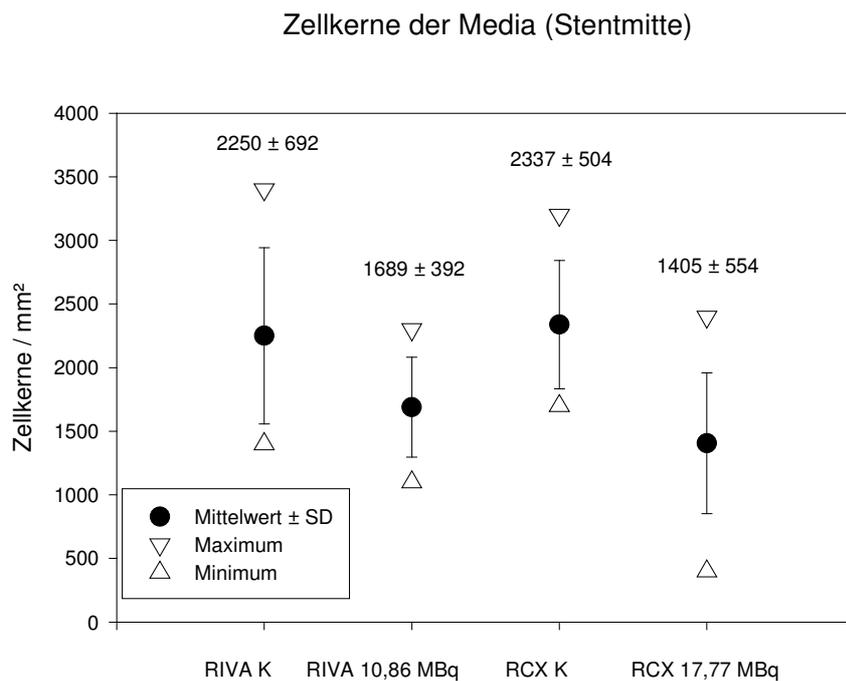


Abbildung 22. Geringere Dichte an Zellkernen in der Tunica media nach Radiatio. Die Ergebnisse korrelierten mit der histopathologischen Beobachtung einer ausgedünnten Media nach Radiatio.

### 3.3.3.3 Dichte der Zellkerne in der Adventitia

Wiederum keine wesentlichen Unterschiede ergaben die Messungen der Zellkerndichte in der Adventitia. Im RIVA waren dies für die Stentmitte  $1221 \pm 540$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Kontrolle und  $1450 \pm 353$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der bestrahlten Gruppe. Für das Stentende wurden in der Kontrolle  $1521 \pm 661$  Zellen/mm<sup>2</sup>, im Verum  $1400 \pm 316$  Zellen/mm<sup>2</sup> gezählt.

Im RCX fanden sich für die Kontrolle eine Dichte von  $1279 \pm 566$  Zellen/mm<sup>2</sup> versus  $1575 \pm 696$  Zellen/mm<sup>2</sup> sowie am Stentende Werte von  $1650 \pm 689$  Zellen/mm<sup>2</sup> gegenüber  $1700 \pm 400$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Kontrolle.

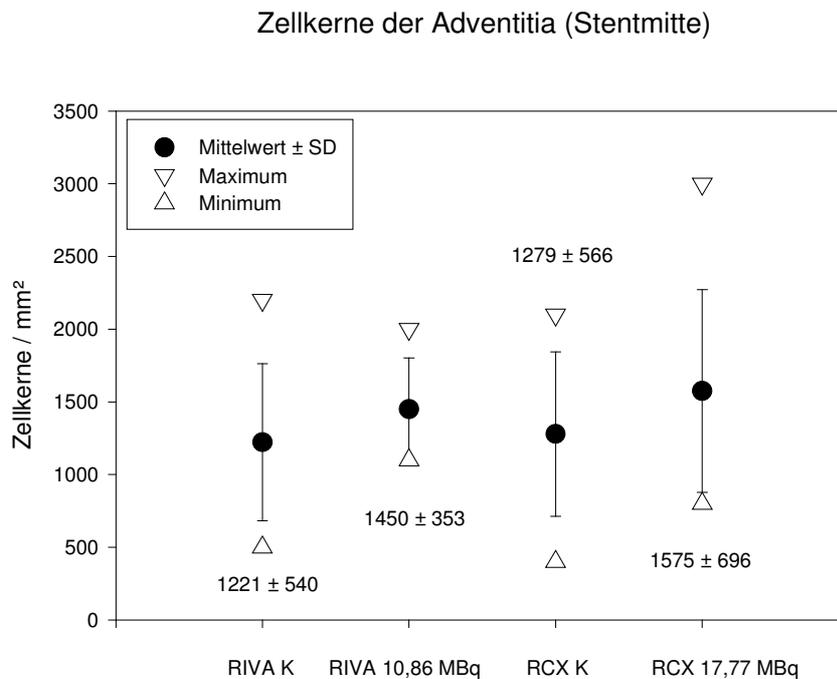


Abbildung 23. In den Koronargefäßen zeigten sich keine wesentlichen Unterschiede der Zellkerndichte in der Adventitia zum Entnahmezeitpunkt 12 Wochen nach der Intervention.

### 3.3.4 Ergebnisse der histopathologischen Auswertung

#### 3.3.4.1 Vessel injury score

Der vessel injury score bezeichnet den Schaden an der Gefäßwand, insbesondere der elastischen Lamellen. Im Mittelschnitt des RIVA zeigte sich eine mit  $p < 0,0132$  signifikant größere Verletzung des Gefäßes in der Verum-Gruppe. Im RCX war dieser Unterschied nicht signifikant, wenngleich als Trend dennoch vorhanden.

Tabelle 4. Gefäßschädigung erfasst als semiquantitativer Injury Score nach Schwartz et al. Durch die Angioplastie und die Implantation des Stents kommt es zu einer Gefäßschädigung. Diese war am Stentende (Schnitt Nr. 3) in allen Gruppen ebenso wie in der Stentmitte (Schnitt Nr. 1) vorhanden.

		Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
		0	1	2	3	0	1	2	3
RIVA	Kontrolle	1	5	1	1	-	4	2	2
	10,86 MBq	-	-	6	2	-	1	3	4
RCX	Kontrolle	-	5	2	1	-	2	4	2
	17,77 MBq	-	1	3	4	-	-	5	3

#### 3.3.4.2 Inflammation score

Anhand dieser Bewertung, welche in Anlehnung an die Einteilung von Hofma et al. durchgeführt wurde, ließ sich ermitteln, wie stark eine entzündliche Reaktion des Gefäßes auf die Implantation des Stents stattgefunden hatte. Sowohl im RIVA als auch im RCX zeigte sich im Mittelschnitt nach Bestrahlung eine deutliche Entzündungsreaktion. Dies war in geringerem Ausmaß auch in der Kontrollgruppe zu finden. Die Ergebnisse sind nachfolgender Tabelle 5 zu entnehmen, Abbildung 24 zeigt einen Ausschnitt um eine Stentstrebe eines Kontrollstents nach 12 Wochen. Erkennbar

## Ergebnisse

sind hier die Merkmale des bis in die Intima reichenden Infiltrats sowie mehrkernige Riesenzellen.

Tabelle 5. Inflammation score nach Hofma et al. In der Stentmitte findet sich im Falle der Verumgruppe insgesamt eine etwas deutlichere Entzündungsreaktion.

		Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
		0	1	2	3	0	1	2	3
RIVA	Kontrolle	6	-	-	2	3	2	-	3
	10,86 MBq	-	1	6	1	-	1	5	2
RCX	Kontrolle	3	2	1	2	2	1	-	4
	17,77 MBq	-	3	4	1	-	-	5	3



Abbildung 24. HE-Schnitt (Vergrößerung 10-fach) eines Ramus circumflexus 12 Wochen nach Implantation eines Kontrollstents. Es lassen sich als Inflammationszeichen mehrkernige Riesenzellen (1) und von der Adventitia bis in die Intima reichende Infiltrate (2) erkennen. Auffällig ist die Gruppierung in der Umgebung der Stentstrebe. Nebenbei findet sich eine deutliche Ausdünnung der Medialamellen.

### 3.3.4.3 Fibrose in der Adventitia

Als Effekt der Brachytherapie trat in der Adventitia eine ausgeprägte Fibrosierung auf. Die semiquantitative Erfassung dieses Merkmals erfolgte nach den Kriterien (a.) Ausprägung der Fibrose und (b.) Ummauerung von Gefäß- und Nervenstrukturen (vergleiche Abbildung 25) als Zeichen einer möglichen Beeinträchtigung der Gefäßfunktion.

Tabelle 6. Semiquantitative Erfassung des Merkmals der Adventitiafibrose (Ausprägung von 0 bis 3). Hier wurde insbesondere auf die Ummauerung von Nerven und Gefäßen geachtet.

		Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
		0	1	2	3	0	1	2	3
RIVA	Kontrolle	-	5	3	-	-	4	4	-
	10,86 MBq	-	-	5	1	-	-	5	1
RCX	Kontrolle	2	4	1	1	2	3	3	-
	17,77 MBq	-	1	5	2	-	2	3	2

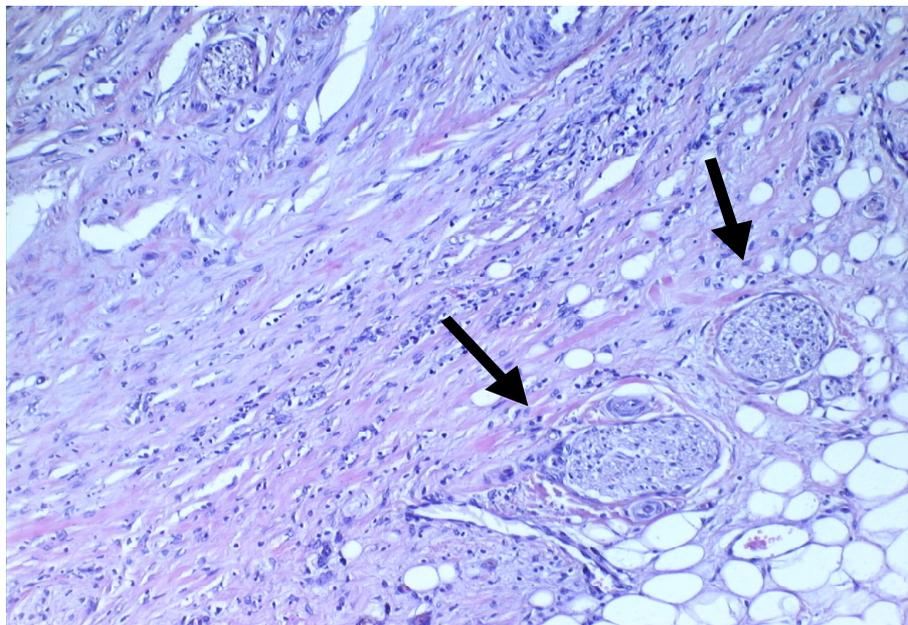


Abbildung 25. Beispiel aus einem Ramus circumflexus der Therapiegruppe. Die Fibrose im adventitiellen Bindegewebe (in der vorliegenden HE-Färbung rosa bis rot dargestellt) ummauert nervale Strukturen (Pfeile).

### 3.3.4.4 Fibrinoide Insudate in der Intima

Fibrinoide Insudate stellen sich im HE-gefärbten Schnitt als eosinophile Regionen dar und sind kennzeichnend für die noch unvollständige Gefäßheilung. Das Merkmal war in beiden Strahlungsgruppen deutlich vorhanden, während es in den Kontrollgruppen lediglich einmalig nachweisbar war. Nach 12 Wochen fand sich im RIVA-Mittelschnitt deutlich mehr fibriniodes Material nach Implantation von Stents mit einer mittleren Aktivität von 10,86 MBq. Im RCX zeigte sich ein ähnlicher Trend. An den Stentenden ergab sich für dieses Merkmal kein Unterschied. Die Ergebnisse der semiquantitativen Auswertung sind in Tabelle 7 dargestellt.

Abbildung 26 zeigt exemplarische histologische Schnitte, welche fibrinoide Absonderungen in der Umgebung der Stentstreben (entfernt) aufweisen.

Tabelle 7. Semiquantitative Merkmalerfassung von 0 (nicht vorhanden) bis +++ (deutlich vorhanden) in der Stentmitte (Schnitt 1) und direkt am Stentende (Schnitt 3).

		Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
		0	+	++	+++	0	+	++	+++
RIVA	Kontrolle	7	1	-	-	8	-	-	-
	10,86 MBq	2	5	-	1	6	1	1	-
RCX	Kontrolle	8	-	-	-	8	-	-	-
	17,77 MBq	2	3	2	1	8	-	-	-

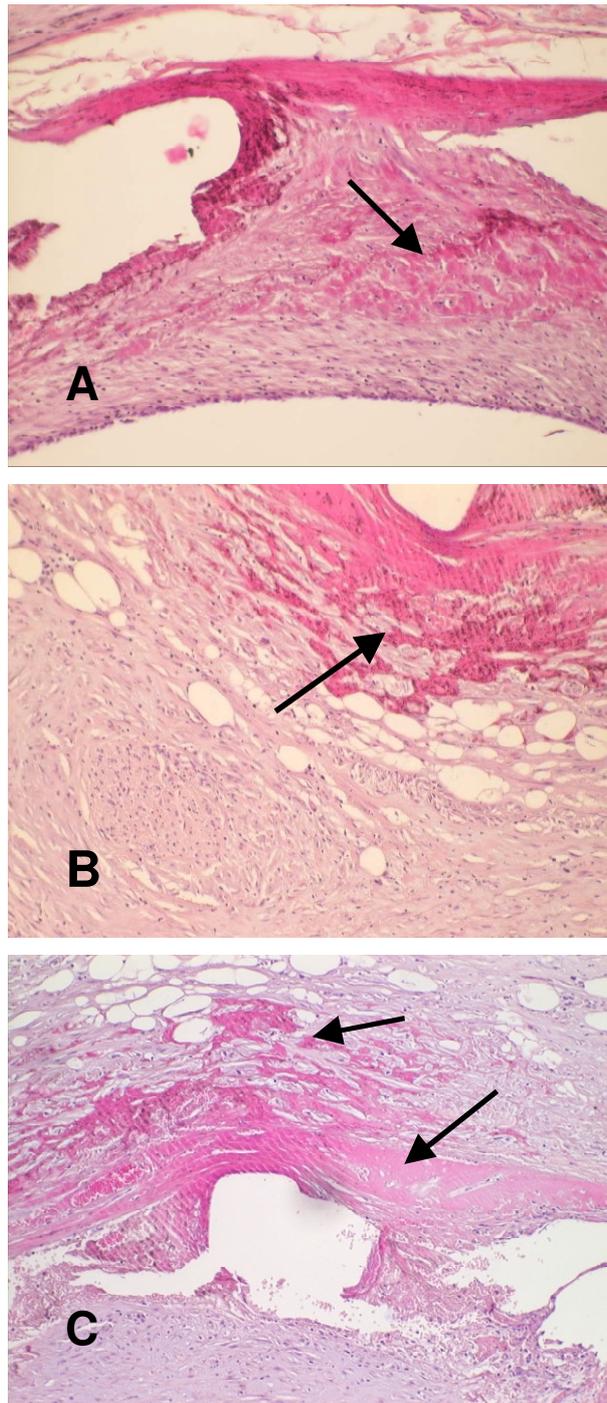


Abbildung 26. HE-Färbungen eines Ramus circumflexus mit einem 15,3 MBq-Stent aus der Behandlungsgruppe (Tier 81 599). Erkennbar sind die fibrinoiden Absonderungen (Pfeile) in der Neointima und in der Umgebung der Stentstrebe (oberes Bildbeispiel A), welche teilweise auch in der Media und Adventitia nachweisbar waren (mittlere (B) und untere (C) Abbildung).

### 3.3.4.5 Differenzierung der intimalen Hyperplasie

Die Neointima nach Stentimplantation entwickelt sich über verschiedene Stadien hin zur „reifen“, differenzierten Neointima. Ausschlaggebend für die Interpretation des Alters sind die Anzahl der Zellen, deren Morphologie, die Verteilung innerhalb des neointimalen Gewebes sowie der Organisationsgrad. Abhängig vom Entwicklungsstadium finden sich auch charakteristische Bestandteile der extrazellulären Matrix. Im frühen Stadium sind dies vermehrt Proteoglycane, Hyaluronsäure und Kollagen Typ III, welches im Verlauf durch Kollagen Typ I ersetzt wird. Anhand dieses Parameters sollte somit festgestellt werden, ob sich histologisch ein Unterschied in der Beschaffenheit der neointimalen Hyperplasie nach 12 Wochen erkennen ließ, um so eine Aussage über den Organisationsgrad zu treffen.

Im RIVA ergaben sich keinerlei Unterschiede, wohingegen der RCX einen Trend zu einer unorganisierten Neointima in der Gruppe der 17,77 MBq-Stents erkennen ließ.

Die umseitig zu findende Abbildung 27 zeigt ein Bildbeispiel einer Neointima 12 Wochen nach Stentimplantation. Es handelte sich hierbei um einen Stent der Kontrollgruppe.

Tabelle 8. Beurteilung des vorherrschenden Organisationsgrades der intimalen Hyperplasie. Diese war in allen untersuchten Präparaten vorhanden.

		Ausprägung in der Stentmitte (1)			Ausprägung am Stentende (3)		
		0	Neointima	Fibrose	0	Neointima	Fibrose
RIVA	Kontrolle	-	2	6	-	3	5
	10,86 MBq	-	2	6	-	3	4
RCX	Kontrolle	-	1	7	-	2	6
	17,77 MBq	-	5	3	-	5	3

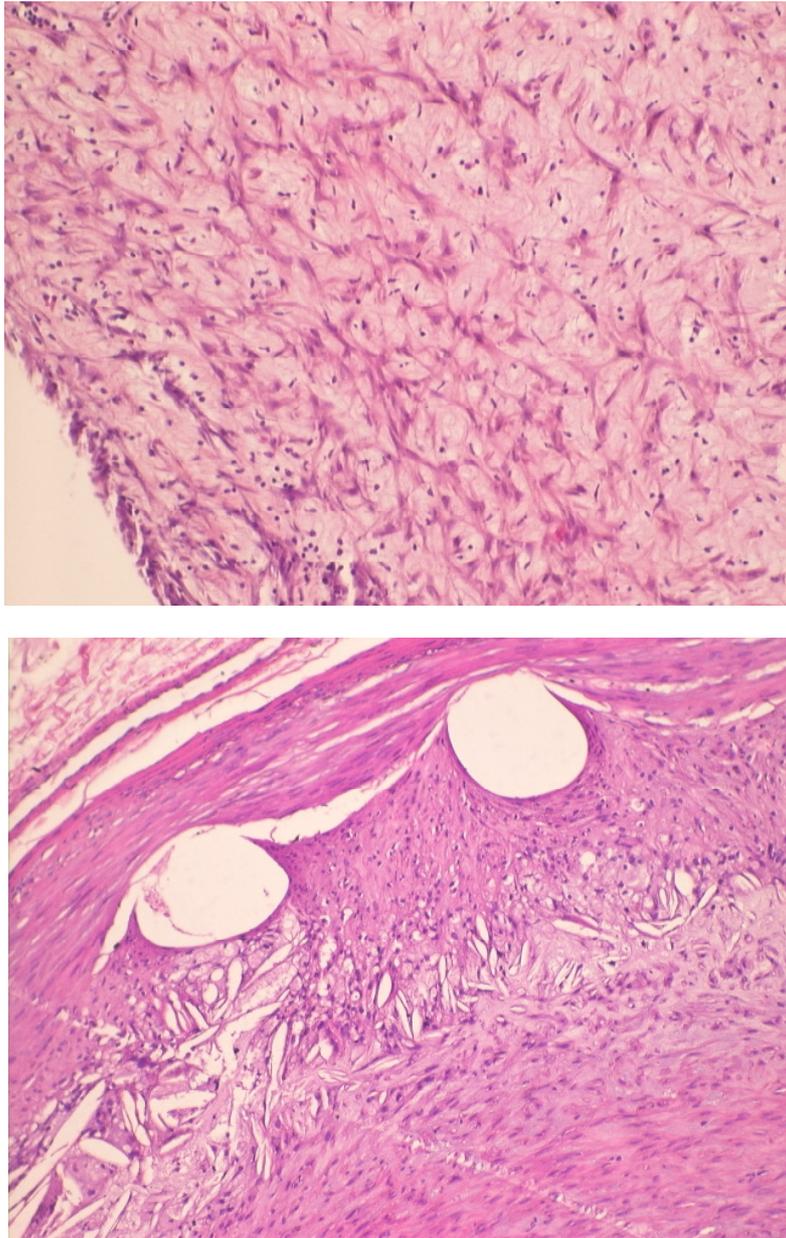


Abbildung 27. Neointima aus einem Ramus interventricularis anterior der Kontrollgruppe. Die eingewanderten Muskelzellen zeigen eine typische Morphologie (HE-Färbung, 20-fache Vergrößerung). Darunter abgebildet ist ebenfalls ein Stent der Kontrollgruppe mit Zeichen einer Neoatherombildung (Cholesterinkristalle, im Rahmen der Aufbearbeitung herausgelöst).

### 3.3.4.6 Endothelialisierung

Die Wiederherstellung einer Endothelbarriere nach Gefäßschädigung stellt einen wichtigen Schritt für die Integrität der Neointima dar. An EvG- und HE-gefärbten Schnitten wurde eine morphologische Aussage über den Heilungsgrad des Endothels 12 Wochen nach Gefäßschädigung und Stentimplantation gemacht. Während alle Kontrollgefäße eine erkennbare Endothelschicht aufwiesen, war dies für jeweils zwei Gefäße aus der Radiotherapie-Gruppe nicht der Fall. Die Ergebnisse der semiquantitativen Auswertung sind der nachfolgenden Tabelle 9 zu entnehmen, in Abbildung 28 und 29 sind jeweils charakteristische histologische Schnitte dargestellt.

Tabelle 9. Erfassung des Endothelialisierungsgrades anhand der EvG- und HE-Schnitte. Sowohl in der Stentmitte als auch am Stentausgang zeigten alle Schnitte der Kontrollgruppe eine durchgängige Schicht endothelartiger Zellen an der Lumenseite der Neointima. Dies war für beide Therapiegruppen in ca. 33% nicht der Fall.

		Ausprägung in der		Ausprägung am	
		Stentmitte (1)		Stentende (3)	
		0	+	0	+
RIVA	Kontrolle	-	8	-	8
	10,86 MBq	2	6	2	6
RCX	Kontrolle	-	8	-	8
	17,77 MBq	2	6	2	6

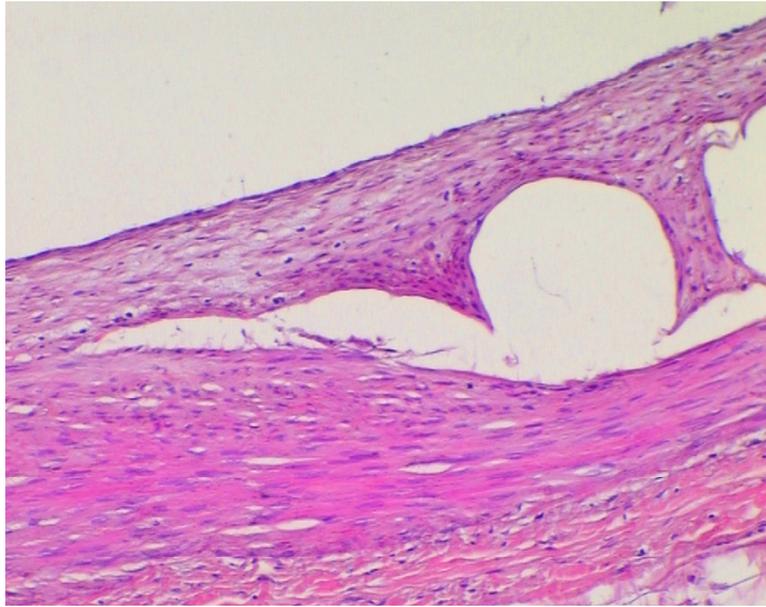


Abbildung 28. Ramus circumflexus (Stentstreben herausgelöst) der Kontrollgruppe mit regelrecht organisierter Neointima und Darstellung eines lumenseitigen Endothelzellayers.

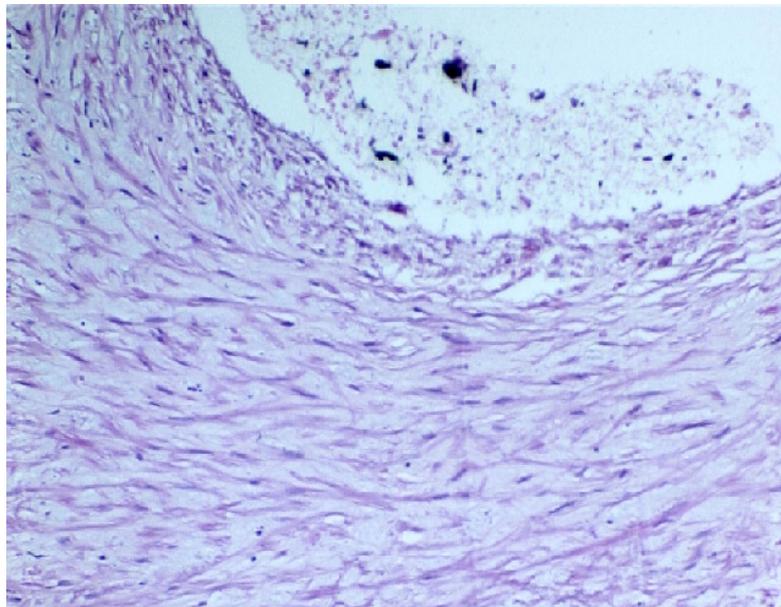


Abbildung 29. Dargestellt ist ein Ausschnitt der Neointima eines Ramus interventricularis anterior 12 Wochen nach Implantation eines radioaktiv dotierten Jomed Koronarstents mit einer initialen Aktivität von 13 MBq. Neben einer vermehrten Neointima zeigt sich eine unvollständige Reendothelialisierung.

### **3.4 Ergebnisse der Carotiden**

Die radioaktiv beschichteten Jomed peripheral Stents, welche in die Carotiden der Therapiegruppen implantiert wurden, hatten mittlere Aktivitäten von  $10,67 \pm 1,15$  MBq bei Einzelwerten von 10-12 MBq (D1),  $77,56 \pm 10,44$  MBq mit Einzelwerten von 52-88 MBq (D2) und  $136 \pm 4,73$  MBq, einzelne Werte entsprechend 129-142 MBq (D3).

#### **3.4.1 Ergebnisse der quantitativen Angiographie**

##### **3.4.1.1 Länge des untersuchten Segments**

Die Segmente der Zielgefäße, welche mittels quantitativer Angiographie untersucht wurden, maßen im Mittel  $59,8 \pm 8,1$  mm in der Kontrollgruppe (K),  $56,7 \pm 0,8$  mm in der 10,7 MBq-Gruppe (D1),  $58,7 \pm 5,4$  mm in der 77,6 MBq-Gruppe (D2) und  $59,2 \pm 2,1$  mm in der 136 MBq-Gruppe (D3). Es ergaben sich somit keine höhergradigen Abweichungen.

##### **3.4.1.2 Maximaler Durchmesser im untersuchten Segment**

Dieser Wert beschreibt den größten im untersuchten Segment gemessenen Durchmesser. Hier ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede in den verschiedenen Gruppen mit  $5,57 \pm 0,53$  mm in der Kontrolle,  $5,31 \pm 0,32$  mm in der D1,  $5,83 \pm 0,38$  mm in der D2 und  $5,88 \pm 0,47$  mm in der D3. Die Werte sind zusammen mit jenen des minimalen und mittleren Diameters im untersuchten Gefäßsegment in Abbildung 30 zusammengefasst.

##### **3.4.1.3 Minimaler Durchmesser im untersuchten Segment (MLD)**

Der minimale Durchmesser kennzeichnet die für den klinischen Erfolg relevante höchstgradige Einengung im untersuchten Gefäßabschnitt. Im Falle der Kontrolle waren dies  $3,69 \pm 0,49$  mm, in der D1  $2,6 \pm 0,77$  mm, in der D2  $3,03 \pm 0,54$  mm und in der D3

2,79±0,54 mm. Die Dosisgruppe 3 zeigte gegenüber der Kontrolle einen signifikanten Unterschied.

### 3.4.1.4 Mittlerer Durchmesser des untersuchten Segments

Vom angiographischen Bild her war die Neointimabildung im Falle der D1 eher diffus über den gestenteten Gefäßabschnitt verteilt, während die beiden anderen Dosisgruppen eine vermehrte Einengung vor allem lokalisiert am Ende des Stents aufwiesen (vgl. exemplarische Angiographien, Abbildung 33). Im Einzelnen ergaben sich für die Kontrolle 4,6±0,47 mm, für D1 3,7±0,56 mm, für D2 4,69±0,51 mm und für D3 4,75±0,47. Einzig die D1 zeigte hier schlechtere Ergebnisse.

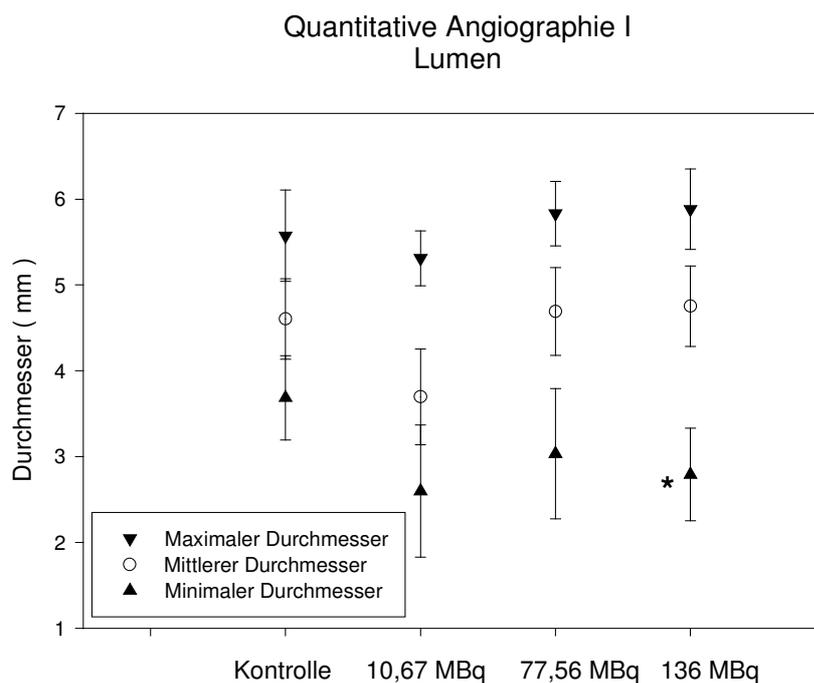


Abbildung 30. Im untersuchten Segment ermittelte Durchmesser. Entscheidend für den Therapieerfolg ist der minimale Lumendurchmesser (MLD). Dieser war im Falle der D3 allerdings gegenüber der Kontroll-Gruppe signifikant geringer (\*).

### **3.4.1.5 Durchmesser an den Stentenden**

Am proximalen Stentende zeigte sich ein signifikanter Unterschied der Kontrolle im Vergleich zu den radioaktiven Stentgruppen mit  $4,99\pm 0,57$  mm (K),  $3,65\pm 1,29$  mm (D1),  $3,25\pm 0,83$  mm (D2) und  $3,0\pm 0,6$  mm (D3). Zwischen den Dosisgruppen selbst waren keine signifikanten Unterschiede zu finden.

Am distalen Stentende ergab die Kontrolle  $4,22\pm 0,49$  mm, die D1  $3,37\pm 0,94$  mm, die D2  $3,16\pm 0,76$  mm und die D3  $3,06\pm 0,51$  mm. Die 77,56 MBq- und die 136 MBq-Gruppen zeigten einen signifikanten Unterschied im statistischen Vergleich mit der Kontrolle.

### **3.4.1.6 Durchmesser in der Mitte des Stents**

Die Ergebnisse in den Verumgruppen zeigten mit  $4,76\pm 0,67$  mm in der D2 und  $4,96\pm 0,6$  mm in der D3 gegenüber  $4,25\pm 0,67$  mm in der Kontrolle einen höheren Durchmesser in der Stentmitte. Die D1 wies mit  $3,32\pm 0,79$  mm deutlich schlechtere Ergebnisse als die übrigen Gruppen auf. Allerdings ergab sich eine deutliche Einengung der Randbereiche der Stents in den radioaktiv beschichteten Gruppen.

In umseitiger Abbildung 31 sind die Werte für die Stenosierung im Durchmesser für die gemessenen Lokalisationen dargestellt.

Zu beachten ist eine Korrelation des gemittelten Durchmessers und des Durchmessers in der Stentmitte sowie den Enden im Falle der Kontrollgruppe (●), was der eher gleichmässigen Verteilung im angiographischen Bild entsprach. Für die D2 (▲) und D3 (▼) fand sich eine Korrelation des minimalen Durchmessers mit den Werten an den Stentenden. Diese Werte bilden einen sogenannten „Kanteneffekt“ oder „Candy-Wrapper“ ab, exemplarische Aufnahmen der angiographischen Nachuntersuchung sind in Abbildung 33 auf Seite 70 zu finden.

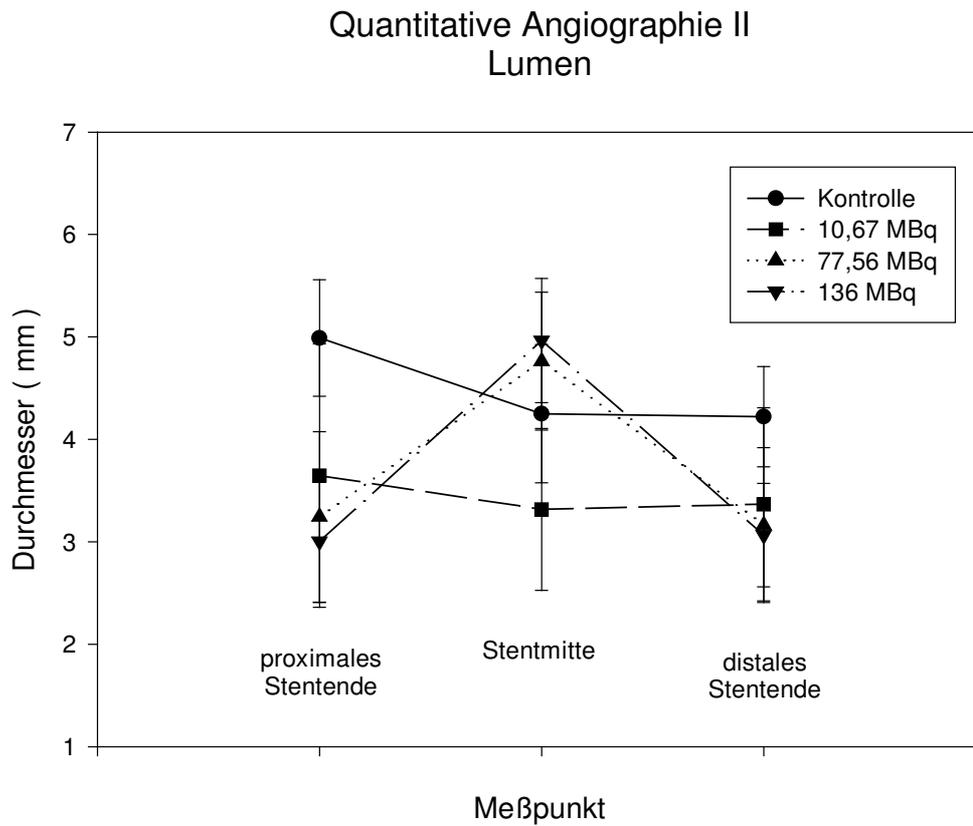


Abbildung 31. Stenosierung dargestellt nach der Lokalisation im Stentsegment in den einzelnen Dosisgruppen. Für die D2 und D3 fand sich eine deutliche Einengung an den Stentenden.

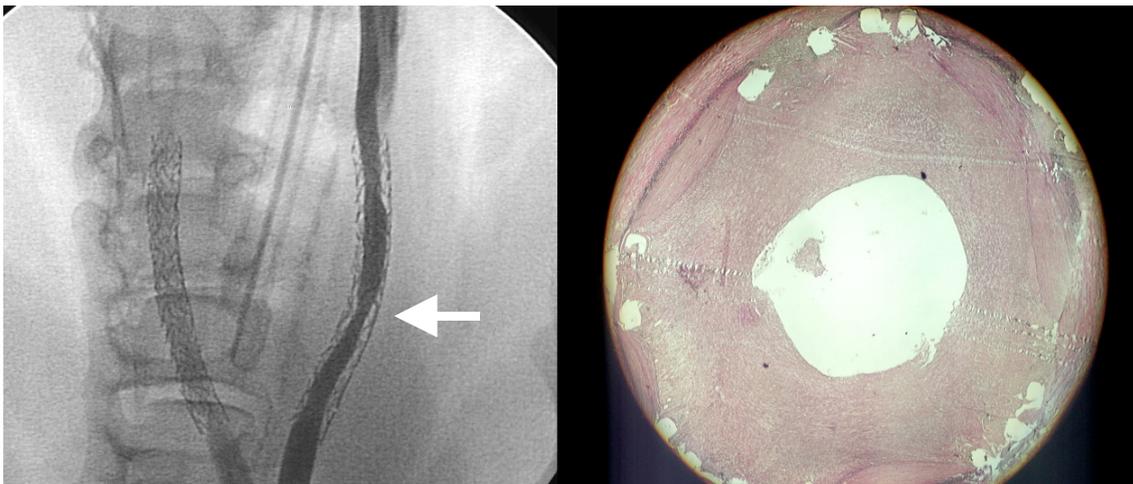


Abbildung 32. Carotisstent mit niedriger Aktivität in der Angiographie (links) sowie korrespondierender histologischer Schnitt (rechts) aus der Stentmitte (Pfeil).

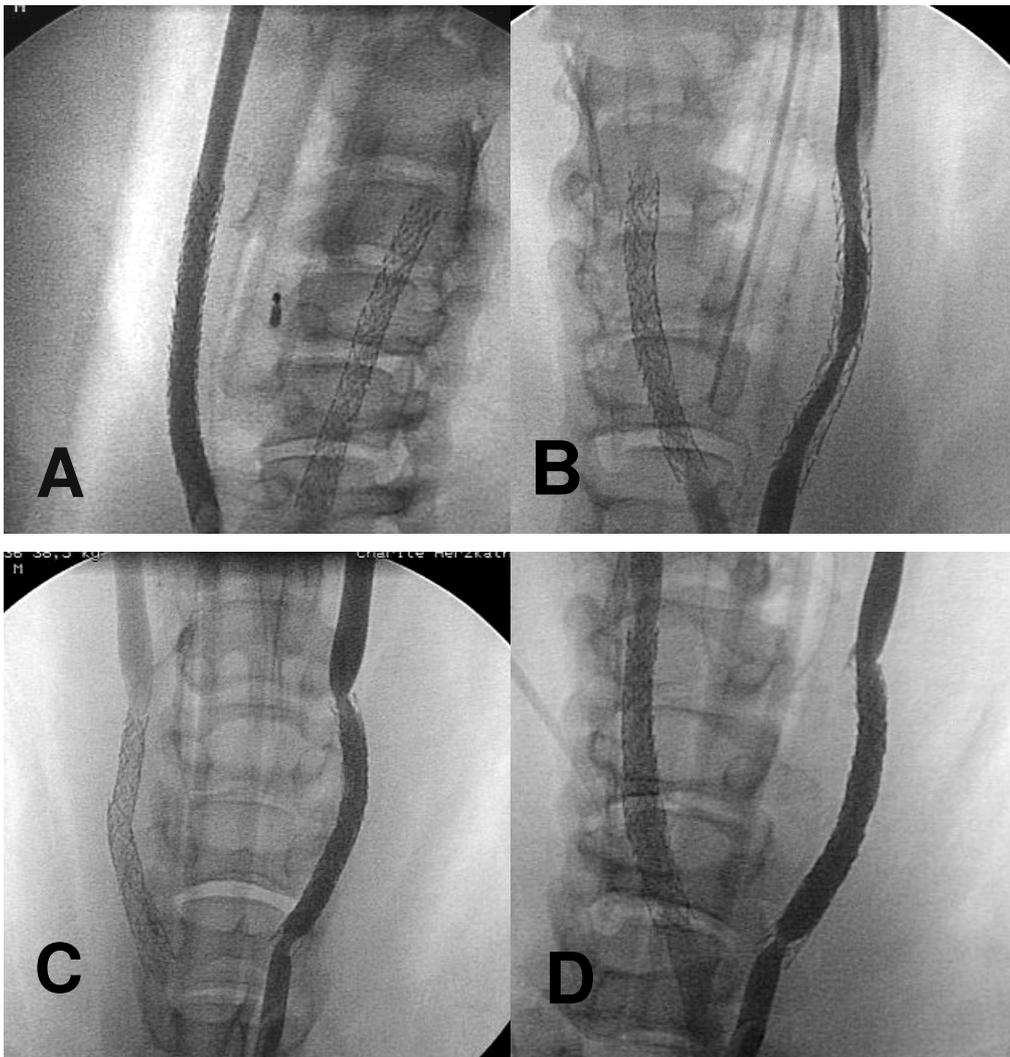


Abbildung 33. Exemplarische Abbildungen der Carotis-Angiographien. Der Kontrollstent (A) zeigte bei geringgradig ausgeprägter intimaler Hyperplasie eine gute Durchgängigkeit auch an den Enden. Der Stent der 10,7 MBq-Gruppe (B) zeigte eine diffus über das behandelte Segment verteilte Einengung. Sowohl der 77,6 MBq, als auch der 136 MBq Stent zeigten in der Angiographie minimale Stenosierungen in der Stentmitte mit deutlicher Einengung an den Stentenden. Zu beachten ist hierbei die Lage dieser „Edge-Stenose“ innerhalb, bzw. direkt an den Enden des gestenteten Abschnitts.

## 3.4.2 Morphometrische Ergebnisse

### 3.4.2.1 Lumenfläche

Zum Untersuchungszeitpunkt - 12 Wochen nach der Intervention - betrug die Lumenfläche in der Stentmitte in der Kontrollgruppe  $11,0 \pm 2,4$  mm<sup>2</sup>, in der Gruppe mit 10,67 MBq-Stents  $8,1 \pm 2,2$  mm<sup>2</sup>, in der Gruppe mit 77,56 MBq-Stents  $9,0 \pm 4,1$  mm<sup>2</sup> und in der Hochaktivitätsgruppe mit 136 MBq  $7,9 \pm 2,1$  mm<sup>2</sup> (Graphische Darstellung siehe Abbildung 34). Die Messungen am Stentende ergaben für die Kontrollgruppe  $7,9 \pm 3,4$  mm<sup>2</sup>, für die D1  $5,5 \pm 3,0$  mm<sup>2</sup>, für D2  $5,8 \pm 2,4$  mm<sup>2</sup> sowie im Falle der D3  $5,7 \pm 2,3$  mm<sup>2</sup>. Es zeigte sich also auch hier eine Tendenz hin zu einem Kanteneffekt durch die Bestrahlung, der allerdings auf der Basis der morphometrischen Messungen nicht als signifikant zu bewerten war.

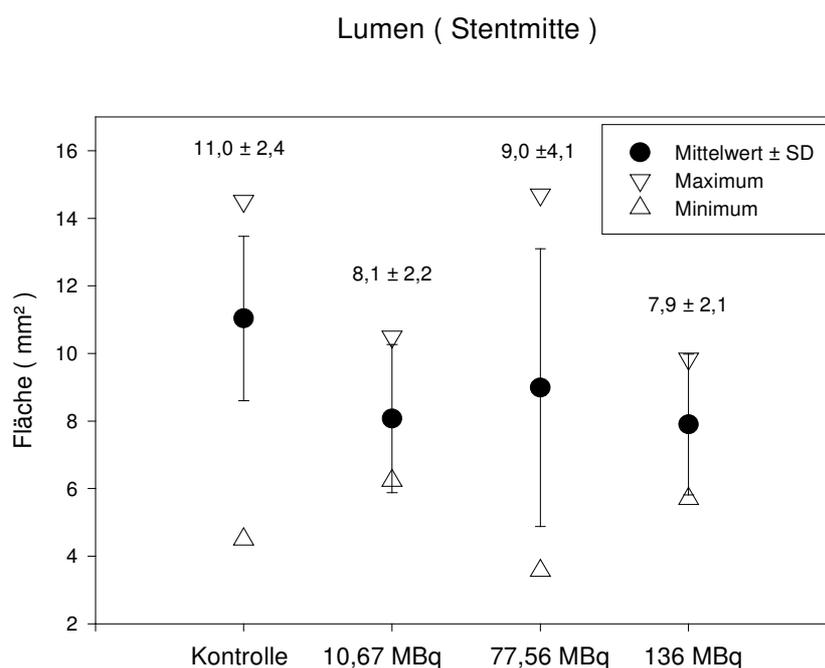


Abbildung 34. Ergebnisse der morphometrischen Messungen der Fläche des druchgängigen Lumens in der Stentmitte zum Beobachtungszeitpunkt 12 Wochen nach Intervention. Die D2 und D3 zeigten entgegen den Ergebnissen der Angiographie geringere Werte als die Kontrolle.

### 3.4.2.2 Intimafläche

Korrelierend zur Lumenfläche zeigte sich bei der morphometrischen Untersuchung nach 12 Wochen die größte Ausprägung der Neointimafläche in der D2 mit  $6,4 \pm 3,7 \text{ mm}^2$ . Dies entsprach im Vergleich zur Kontrollgruppe, in welcher  $2,7 \pm 1,3 \text{ mm}^2$  gemessen wurden, einem signifikanten Unterschied. Die D1 zeigte Werte von  $5,5 \pm 2,2 \text{ mm}^2$ , die D3 wies mit  $4,0 \pm 1,1 \text{ mm}^2$  keinen signifikanten Unterschied auf. Für das Stentende ergaben sich für die Kontrolle  $4,1 \pm 1,5 \text{ mm}^2$ , für die D1  $5,9 \pm 3,1 \text{ mm}^2$ , für die D2  $8,1 \pm 4,0 \text{ mm}^2$  und für die D3  $7,0 \pm 3,5 \text{ mm}^2$ . Auch hier war ein entsprechender Trend zu einer vermehrten Ausprägung an den Stentenden durch die Bestrahlung in der D2 auszumachen.

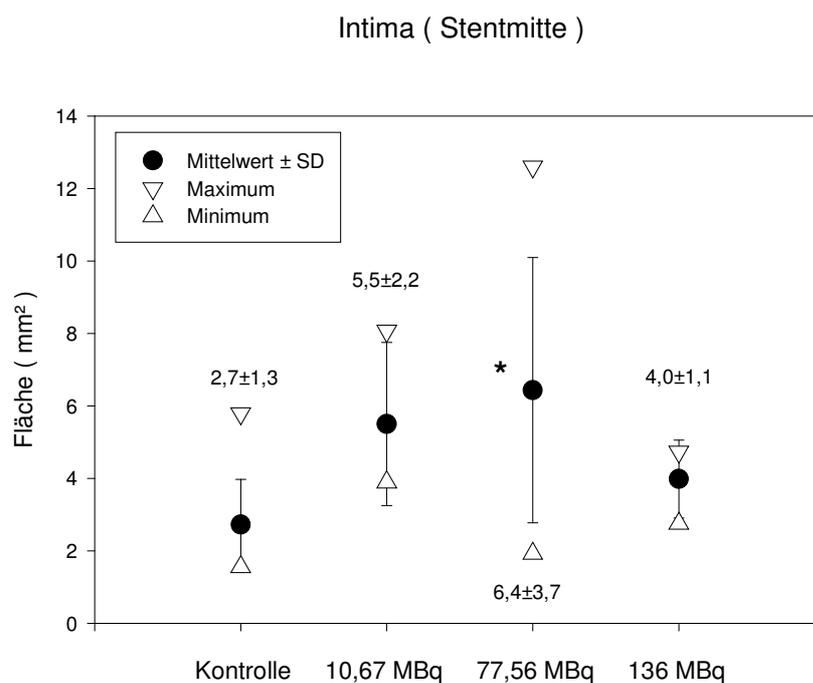


Abbildung 35. Nach 12 Wochen ließ sich in der Dosisgruppe mit 77,56 MBq eine im Vergleich zur Kontrolle signifikant höhere Neointimabildung messen (\*). Insgesamt zeigte sich nach Bestrahlung jedoch ein recht inhomogenes Reaktionsmuster der einzelnen Gefäße, was in der Streuung der einzelnen Werte wiedergegeben ist.

Bildbeispiele von Präparaten jeder Gruppe sind in Abbildung 38 auf Seite 75 dargestellt. Hierin lassen sich auch die im Folgenden beschriebenen Veränderungen finden.

## 3.4.2.3 Mediafläche

Wie auch in den morphometrischen Messungen der Koronargefäße ergab die Fläche der Tunica media in der Arteria carotis communis eine leichte Tendenz zu einer geringeren Fläche nach Bestrahlung. Für die Kontrollgruppe wurden  $4,0 \pm 1,0 \text{ mm}^2$ , für D1  $4,2 \pm 0,7 \text{ mm}^2$ , für D2  $3,6 \pm 1,0 \text{ mm}^2$  und für D3  $3,3 \pm 0,7 \text{ mm}^2$  gemessen. Die geringeren Meßwerte korrelierten mit der Beobachtung einer Ausdünnung der Media nach Radiatio in der histopathologischen Auswertung.

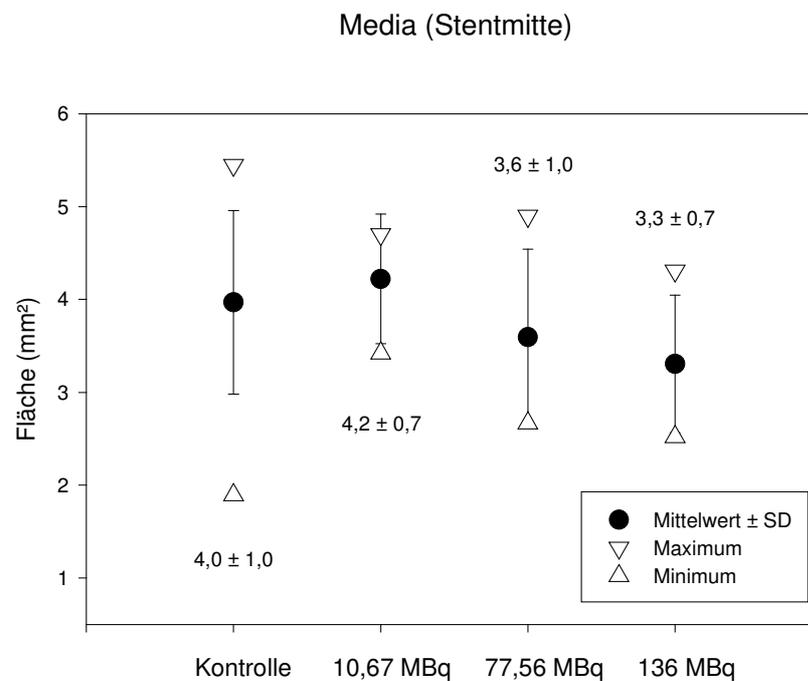


Abbildung 36. Morphometrisch bestimmte Fläche der Media 12 Wochen nach Implantation der Stents in die A. carotis.

## 3.4.2.4 Dicke der Adventitia

Als Folge der Bestrahlung kam es zu einer deutlichen Verdickung des adventitiellen Gewebes. Die Kontrolle zeigt eine aus drei Einzelwerten gemittelte Dicke von  $0,2 \pm 0,1$  mm, in den Dosisgruppen fanden sich entsprechend  $1,0 \pm 0,3$  mm in der D1,  $1,7 \pm 0,4$  mm in der D2 und  $1,7 \pm 0,3$  mm in der D3. Die umseitige Abbildung 38 enthält exemplarische Schnitte der einzelnen Dosisgruppen, in welchen diese in den Gruppen D2 und D3 stärker ausgeprägten Veränderungen deutlich zu erkennen sind.

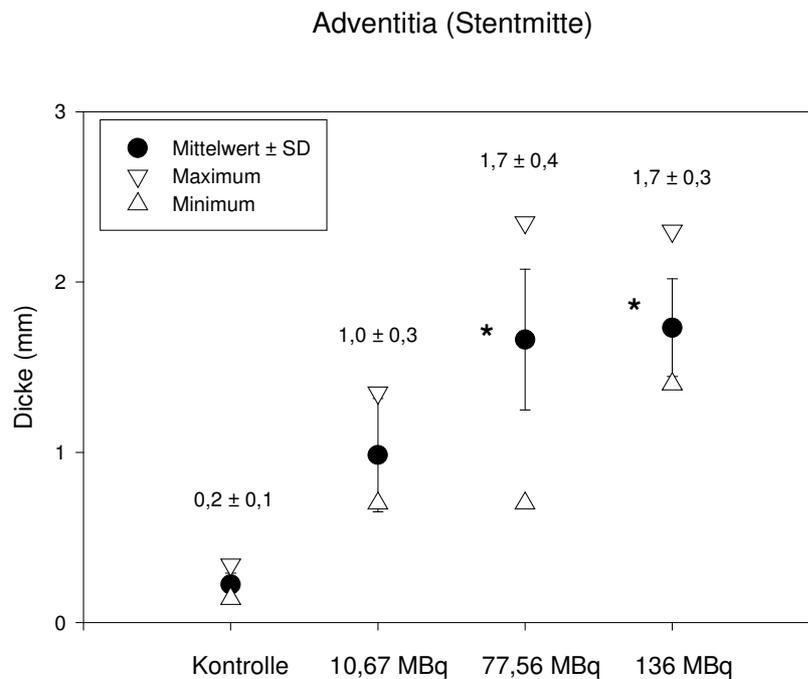


Abbildung 37. Die Adventitiadicke wurde an drei Stellen des Präparates vermessen und das arithmetische Mittel gebildet. Es zeigte sich in den Behandlungsgruppen eine deutliche Zunahme der Adventitiadicke (\* statistisch signifikant für die D2 und die D3), welche mit den Ergebnissen der histopathologischen Auswertung korrelierte (vergleiche hierzu Punkt 3.4.4.3.).

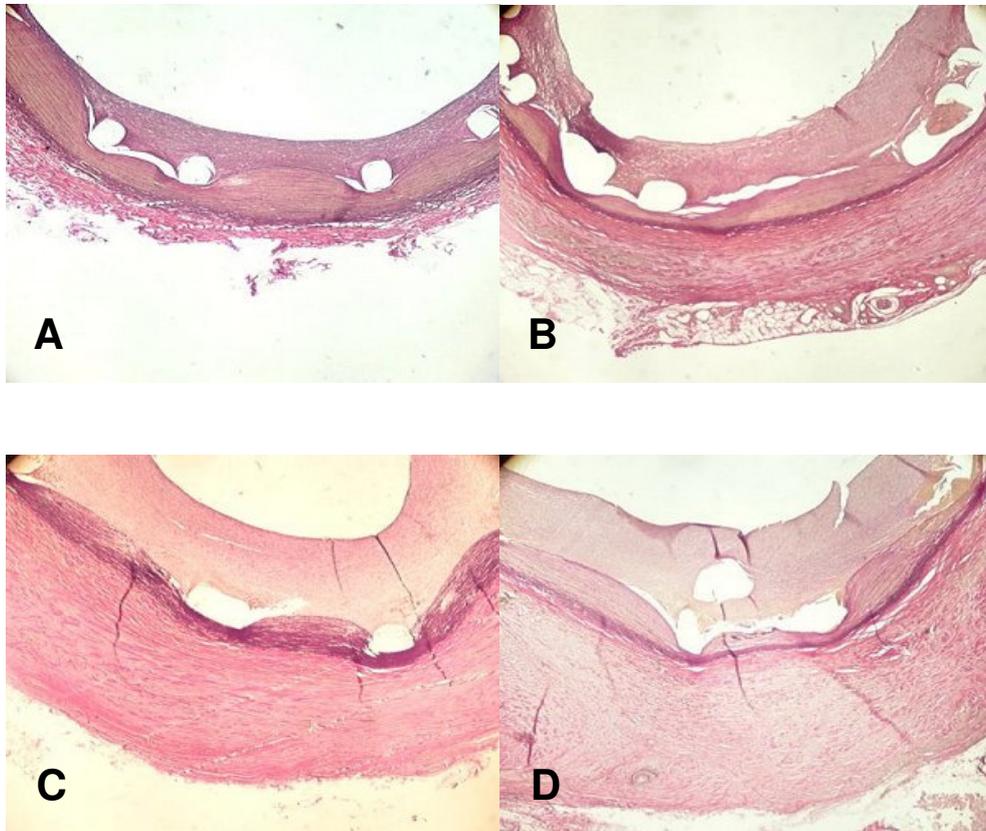


Abbildung 38. Beispiele von Schnitten aus der Stentmitte mit 2,5 facher Vergrößerung. Die Kontrolle (A) zeigt eine postinterventionell unauffällige Gefäßarchitektur mit leichter Kompression der Media im Bereich der Stentstreben und Bildung einer Neointima. Das lockere adventitielle Bindegewebe verliert in kurzem Abstand zur Media eine erkennbare Struktur. Der Wandaufbau der Dosisgruppen D1 (B), D2 (C) und D3 (D) ist im Vergleich hierzu deutlich unruhiger. Es zeigt sich eine erkennbar dickere Adventitia, eine Ausdünnung der Media mit teilweise vollständiger Auflösung des Gefüges sowie eine deutlicher ausgeprägte intimale Hyperplasie.

### **3.4.3 Dichte der Zellkerne in den Wandschichten**

#### **3.4.3.1 Dichte der Zellkerne in der Intima**

Die Dichte der Zellkerne in der Intima zeigte keine wesentlichen Unterschiede mit einzelnen Werten von  $3346 \pm 896$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der Kontrollgruppe,  $3250 \pm 926$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der D1,  $3133 \pm 1361$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der D2 und  $3336 \pm 775$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der D3. Die Messung unterschied jedoch nicht zwischen lumen- und strebennahen Arealen innerhalb der Neointima.

#### **3.4.3.2 Dichte der Zellkerne in der Media**

Korrelierend mit dem Trend einer verminderten Mediafläche ergab sich mit zunehmender Dosis am Beobachtungszeitpunkt nach 12 Wochen eine Abnahme der Zellkerndichte in der Tunica media. In der Kontrolle zeigten sich  $3150 \pm 1028$  Zellen/mm<sup>2</sup>, in der D1  $2683 \pm 275$  Zellen/mm<sup>2</sup> und in der D2  $2172 \pm 520$  Zellen/mm<sup>2</sup>. Die Zellzahl pro Flächeneinheit war in der D3 mit  $1588 \pm 1158$  Zellen/mm<sup>2</sup> gegenüber der Kontrollgruppe deutlich erniedrigt (siehe umseitige Abbildung 39).

#### **3.4.3.3 Dichte der Zellkerne in der Adventitia**

Die Bestimmung der Zellkerndichte in den Wandschichten ergab für die Adventitia einen erkennbaren Unterschied zwischen der Kontrolle mit  $1520 \pm 333$  Zellen/mm<sup>2</sup> und der D3 mit  $2200 \pm 316$  Zellen/mm<sup>2</sup> (siehe Abbildung 40). Für die D2 konnte mit  $1906 \pm 415$  Zellen/mm<sup>2</sup> ebenfalls ein etwas höherer Wert gefunden werden. Die Messung in der D1 ergab eine Zellkerndichte von  $1650 \pm 229$  Zellen/mm<sup>2</sup>.

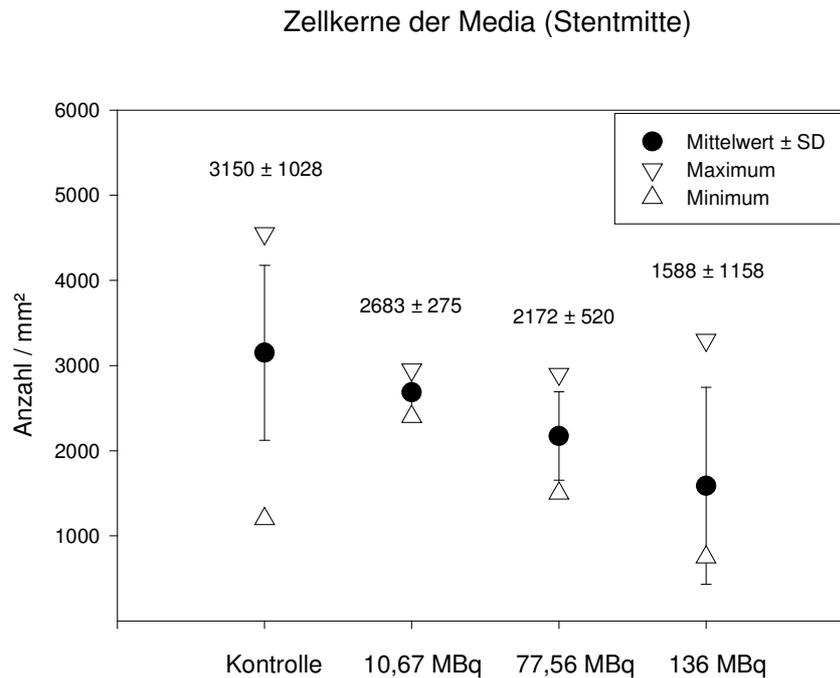


Abbildung 39. Es zeigte sich ein dosisabhängiger Effekt auf die Dichte der Zellkerne in der Tunica media. Die Ergebnisse gehen mit der Beobachtung einer deutlichen Ausdünnung der Medialamellen einher und waren in der D3 am deutlichsten ausgeprägt.

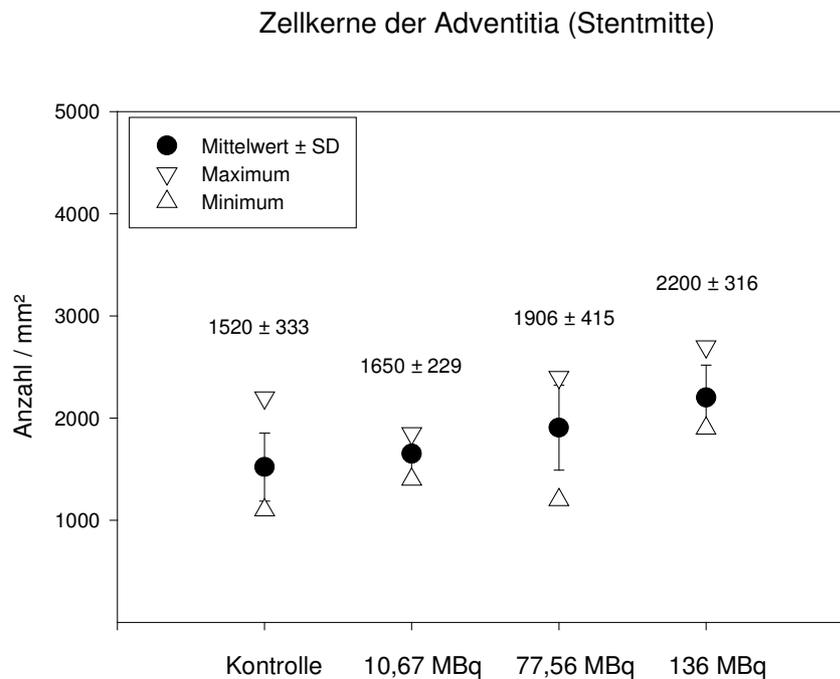


Abbildung 40. Dichte der Zellkerne in der Tunica Adventitia. Auch hier fand sich der deutlichste Unterschied in der Hochdosisgruppe.

## 3.4.4 Ergebnisse der histopathologischen Auswertung

### 3.4.4.1 Vessel injury score

Die Auswertung der Präparate in Bezug auf die Gefäßschädigung, welche maßgeblich auf der Intaktheit der elastischen Lamellen beruht, ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Eine nach diesen Kriterien intakte Gefäßarchitektur fand sich in keinem Schnitt aus der Stentmitte. Das Gefäß in der auf Seite 83 zu findenden Abbildung 44 weist beispielsweise eine deutliche Kompression der Medialamellen auf.

Tabelle 10. Ausmaß der Gefäßschädigung bestimmt an histologischen Schnitten 12 Wochen nach Stentimplantation.

	Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
	0	1	2	3	0	1	2	3
Kontrolle	-	5	7	-	-	4	7	-
10,67 MBq	-	-	3	-	-	1	2	-
77,56 MBq	-	-	7	1	-	7	1	-
136 MBq	-	1	4	-	-	-	4	3

### 3.4.4.2 Inflammation score

Nach 12 Wochen zeigte sich in den mittels Radiotherapie behandelten Gruppen eine vermehrte Ausprägung von Entzündungsmerkmalen. Allerdings war auch in den Gefäßen der Kontrollgruppe eine Entzündungsreaktion 12 Wochen nach Stentimplantation zu beobachten. Die Ergebnisse der semiquantitativen Beurteilung sind in umseitiger Tabelle 11 dargestellt.

## *Ergebnisse*

---

Tabelle 11. Entzündungsreaktion semiquantitativ erfasst nach Hofma et al.

	Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
	0	1	2	3	0	1	2	3
Kontrolle	-	5	1	-	-	3	2	2
10,67 MBq	-	1	2	-	-	2	-	-
77,56 MBq	-	3	4	1	-	1	5	2
136 MBq	-	1	4	-	-	2	2	3

### 3.4.4.3 Fibrose in der Adventitia

Korrelierend mit der Zunahme der Adventitiadicke ergab auch die histopathologische Bewertung des Ausmaßes der Fibrose in der Adventitia eine deutliche Zunahme nach Implantation von radioaktiv beschichteten Stents. Die Abbildung 41 zeigt eine im Rahmen der angiographischen Nachuntersuchung angefertigte Leeraufnahme, in welcher als Resultat dieser Veränderungen eine Deformierung des Stents zu beobachten ist. Im dazugehörigen histologischen Präparat sowie in Abbildung 43 ist die vermehrte Fibrosierung erkennbar.

Tabelle 12. Semiquantitative Merkmalerfassung des Ausmaßes der Fibrose in der Adventitia nach Bestrahlung.

	Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
	0	1	2	3	0	1	2	3
Kontrolle	-	5	-	-	-	6	2	-
10,67 MBq	-	1	2	-	-	2	1	-
77,56 MBq	-	-	4	3	-	-	6	2
136 MBq	-	1	3	1	-	2	4	1



Abbildung 41. Leeraufnahme eines Stents mit einer initialen Aktivität von 78 MBq (Aufnahme zum Zeitpunkt der angiographischen Nachkontrolle nach 8 Wochen) und korrespondierender histologischer Schnitt (12 Wochen). Deutlich erkennbar ist die Deformierung des Stents bei histologisch ausgeprägter Adventitafibrose. Auffällig ist ferner die nach medial konkave Verbiegung, welche in allen Fällen zu beobachten war.

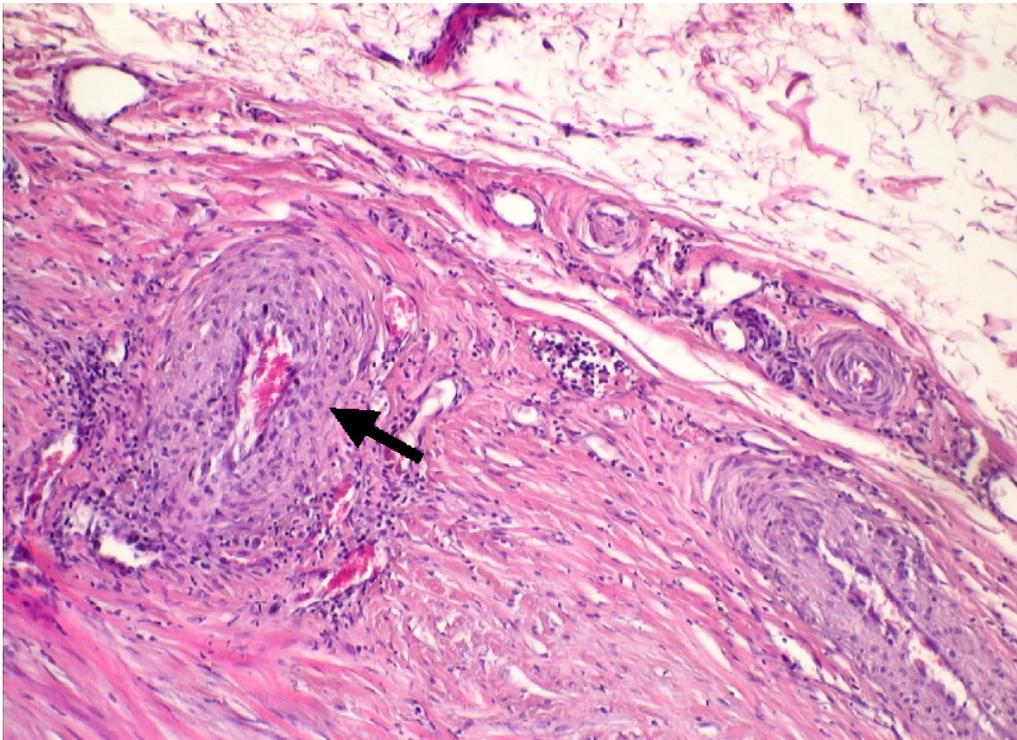


Abbildung 42. Vas vasorum in der Adventitia einer Carotis aus der 77 MBq-Gruppe (Pfeil). Neben der fibrösen Umbauung zeigt sich eine durch die Bestrahlung veränderte Architektur des Wandgefäßes.

### **3.4.4.4 Fibrinoide Insudate in der Intima**

Das Vorkommen hyalin-fibrinoiden Materials (eosinophiles Färbeverhalten) in der Gefäßwand wurde als positive Merkmalsausprägung beurteilt. In den wenigen Gefäßen der D1 wurde keine fibrinoide Exsudation gefunden, gleiches gilt für die Kontrollgruppe. In den Gefäßen, welche mit 77,56 MBq bzw. 136 MBq dotierten Stents behandelt wurden, fand sich ein häufigeres Auftreten dieses Merkmals im Vergleich zur Kontrolle..

Tabelle 13. Fibrinoide Absonderungen in der Intima 12 Wochen nach Stentimplantation. Entsprechend der auch in den folgenden Parametern zum Ausdruck kommenden verzögerten Heilung in der Bestrahlungsgruppe fand sich in der D2 und D3 mehr fibrinoides Material.

	Ausprägung in der Stentmitte (1)				Ausprägung am Stentende (3)			
	0	+	++	+++	0	+	++	+++
Kontrolle	12	-	-	-	12	-	-	-
10,67 MBq	3	-	-	-	3	-	-	-
77,56 MBq	5	3	-	-	7	1	-	-
136 MBq	5	2	-	-	4	3	-	-

### **3.4.4.5 Differenzierung der intimalen Hyperplasie**

An den histologischen Schnitten 12 Wochen nach Implantation der Stents in die Arteriae caroticae wurde das pathomorphologische Erscheinungsbild der Neointima bewertet. Diese zeigt im Verlauf der Entstehung ein Remodeling, welches sich durch den Organisationsgrad der glatten Muskelzellen und vermehrtes Auftreten von Kollagen Typ I ausdrückt. Das Bild einer Intimafibrose kennzeichnet somit die reife Neointima und steht für einen abgeschlossenen Heilungsprozeß nach einem initialen Gefäßtrauma.

## Ergebnisse

Tabelle 14. Der Heilungsprozeß nach Gefäßtrauma verläuft über die Organisation der glatten Muskelzellen und Remodeling der Extrazellulärschicht mit zusätzlicher Ausbildung einer Endothelschicht. Die Tabelle zeigt die Ergebnisse der Differenzierung des Entwicklungsgrades der Neointima 12 Wochen nach Stentimplantation.

	Ausprägung in der Stentmitte (1)			Ausprägung am Stentende (3)		
	0	Neointima	Fibrose	0	Neointima	Fibrose
Kontrolle	-	5	9	-	5	10
10,67 MBq	-	3	1	-	1	1
77,56 MBq	-	3	5	-	6	5
136 MBq	-	2	1	-	5	3

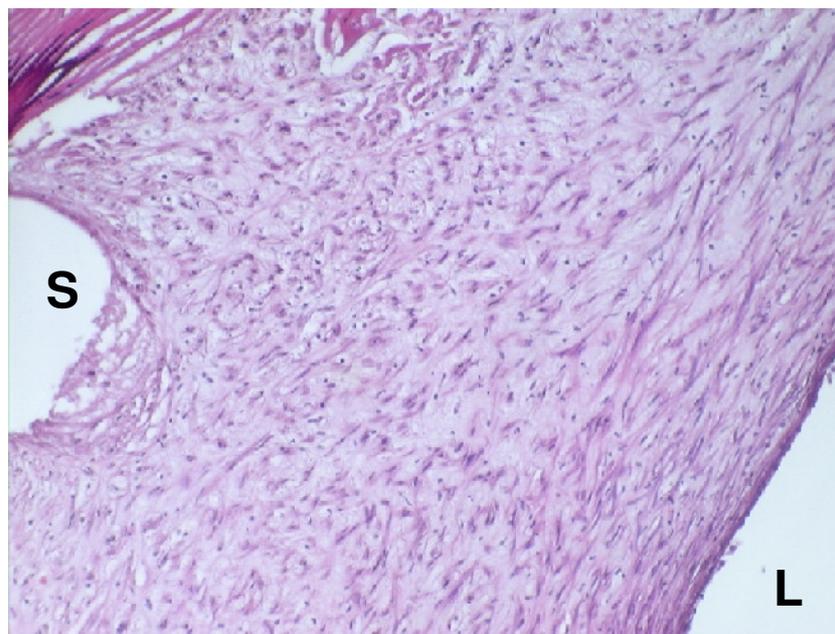


Abbildung 43. Die Abbildung zeigt ein Gefäß der Bestrahlungsgruppe (Stentaktivität 140 MBq) mit lose angeordneten glatten Muskelzellen in der Umgebung der Stentstreben (S, entfernt). Zu beachten ist der vergleichsweise hohe Organisationsgrad in den lumennahen Anteilen (Lumen - L). Insgesamt ist die Dicke der Neointima gegenüber der Kontrollgruppe deutlich vermehrt.

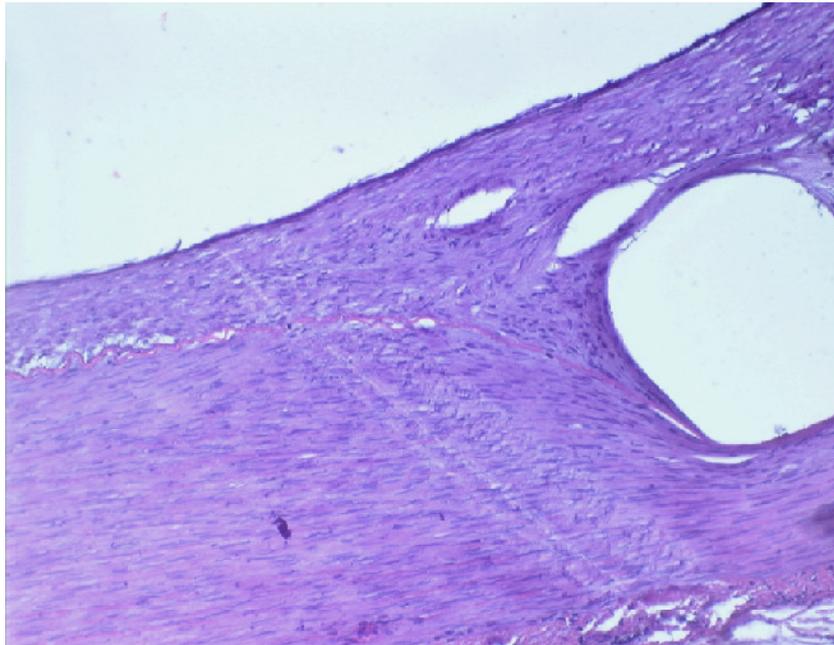


Abbildung 44. Bild eines Gefäßes der Kontrollgruppe (Tier 81 476, Stentmitte) mit organisierter und im Vergleich zu Abbildung 43 geringradiger ausgeprägter Neoinima.

#### 3.4.4.6 Endothelialisierung

An den histologischen Schnitten wurde eine Aussage über den Heilungsgrad des Endothels getroffen. Kriterium hierfür war eine Endothelzellschicht im gesamten Umfang des Gefäßschnittes. In der Kontrollgruppe war dies für alle Gefäße der Fall, in den Gruppen D2 und D3 fand sich bei ca. 33% bzw. ca. 75% in der Stentmitte eine nur unvollständige Endothelialisierung. Beispielhaft zeigt das in obiger Abbildung 44 dargestellte Gefäß eine lumenseitige endotheliale Zellschicht.

Tabelle 15. Semiquantitative Erfassung des Merkmals der Reendothelialisierung.

	Ausprägung in der Stentmitte (1)		Ausprägung am Stentende (3)	
	0	+	0	+
Kontrolle	-	12	-	12
10,67 MBq	-	3	-	3
77,56 MBq	2	6	2	6
136 MBq	3	4	3	4

### **3.5 Zusammenfassung der Ergebnisse**

1. ***Dosimetrie:*** Die Dosisraten waren nicht über den gesamten Stentverlauf homogen, es fand sich ein Abfall am Stentende. Die Streben selbst sind in der Dosisverteilung abgebildet, da 60% der Hauptdosis in einem Abstand von unter 1 mm von der Strebe bereits abgegeben wurde.
  
2. ***Verteilung der Neointima:*** In den Kontrollen war eine eher diffuse Verteilung gegenüber einer deutlichen Lumeneinengung am Stentende der Dosisgruppe (Angiographie) zu finden. Im Falle der Kontrolle entsprach der mittlere Durchmesser des gesamten Segmentes eher der Situation in der Stentmitte.
  
3. ***Ergebnisse der Flächenbestimmungen:*** Morphometrisch zeigte die Lumenfläche in den Koronarien keine signifikanten Unterschiede 12 Wochen nach Bestrahlung, wengleich eine etwas vermehrte Neointimabildung in der Stentmitte zu finden war. Ferner fiel eine Ausdünnung der Media und eine deutliche fibrotische Verdickung des adventitiellen Bindegewebes in den Therapiegruppen auf.  

Die Dosisgruppen der Arteria carotis zeigten ein etwas geringeres Lumen entsprechend einer vergrößerten Neointimafläche. Diese war im Falle der D2 gegenüber der Kontrolle signifikant größer. Auch eine zunehmende Ausdünnung der Media sowie eine deutliche Verdickung der Adventitia konnten in den Dosisgruppen gefunden werden.
  
4. ***Angiographie versus Histologie:*** Die Ergebnisse der Restenosemessungen dürfen aufgrund der methodischen Unterschiede der Messverfahren nicht direkt verglichen werden. Ferner wurden die Untersuchungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten durchgeführt. Im Zeitraum zwischen 8 und 12 Wochen war die Aktivität der Stents jedoch weitestgehend abgeklungen. Insbesondere die Ergebnisse in der Stentmitte waren für die D2 und D3 der Arteria carotis in der histologischen Auswertung schlechter.

5. ***Zellkerndichte:*** Unterschiede in der Zellkerndichte fanden sich in den Koronarien am deutlichsten in der Media, welche nach Bestrahlung weniger Zellen erkennen ließ. In der Adventitia war die Anzahl der Zellen/mm<sup>2</sup> in beiden Bestrahlungsgruppen nicht wesentlich unterschiedlich. Ähnlich verhielt sich die Zellkerndichte in den peripheren Gefäßen. Hier zeigte insbesondere die D3 eine erniedrigte Zellzahl in der Media zusammen mit einer leicht erhöhten Anzahl in der Adventitia im Vergleich zur Kontrolle.
  
6. ***Histopathologische Auswertung:*** Die histopathologische Auswertung ergab deutlich mehr fibrinoides Material in der Gefäßwand nach Radiotherapie. In der Kontrollgruppe wurde dieses Merkmal nur im RIVA einmalig gefunden, in der Kontrolle des RCX und den Carotiden nicht. Eine Störung der Reendothelialisierung konnte in allen Verum-Gruppen gezeigt werden, während die Kontrollgruppen in diesem Merkmal unauffällig waren. Der Entwicklungsgrad der Neointima war insgesamt als eher uneinheitlich zu werten. Es fand sich eine Tendenz zum Überwiegen eines früheren Stadiums nach Radiatio. Koronar zeigte sich in der Bestrahlungsgruppe eine vermehrte Gefäßschädigung ausgedrückt im vessel injury score. In den Carotiden war hier kein nennenswerter Unterschied zu verzeichnen. Im Koronargefäß führte die Bestrahlung zu etwas vermehrter Entzündung, was wiederum in der Carotis ebenfalls nicht in vergleichbarem Maß der Fall war. Korrelierend zur dickeren Arterienadventitia zeigte sich histologisch eine Fibrose mit Ummauerung von Gefäß- und Nervenstrukturen.
  
7. ***Unterschiede peripher zu koronar:*** Grundsätzlich fand sich eine vergleichbare Reaktion der koronaren und peripheren Gefäße auf die Bestrahlung. In Bezug auf die Gefäßschädigung und die Entzündungsreaktion zeigte sich im peripheren Gefäß ein geringerer Unterschied der Dosisgruppen zur Kontrolle. Die in allen Verum-Gruppen gefundene Fibrose der Adventitia ging im Fall der Carotiden einher mit einer Verbiegung des Stents. Die niedrige Dosisgruppe D1 wies eine diffuse In-Stent-Restenose in der angiographischen Untersuchung auf. Das Auftreten von thrombotischen Komplikationen wurde nur in den Koronarien beobachtet.

## **4 Diskussion**

### **4.1 Hintergrund des vorliegenden Versuches**

Interventionelle Methoden zur Behandlung von Gefäßverengungen und -verschlüssen stellen mittlerweile einen entscheidenden Teil der Therapieoptionen sowohl bei koronarer Herzerkrankung und der PAVK als auch bei Carotisstenosen dar. Durch die steigende Anzahl an Interventionen wird das Problem des Wiederverschlusses nach Angioplastie sowie nach zusätzlicher Stentapplikation ein zunehmendes Problem darstellen. Daher wurden in der Vergangenheit bereits vielfältige Versuche unternommen, eine primäre oder zumindest eine sekundäre Prophylaxe dieser Limitation zu erreichen. Die Mechanismen, welche zur Entstehung einer Neointima führen, wurden bereits eingangs dargestellt. Die Ausbildung einer Neointima ist als Prozess der Gefäßheilung nach Traumatisierung anzusehen und stellt eine natürliche Reaktion des Gefäßes dar, die übermäßige Ausbildung einer intimalen Hyperplasie führt klinisch jedoch zum Problem der Restenose.

Im vorliegenden Versuch sollte die Möglichkeit zur Therapie und Prophylaxe der Restenose über einen Rhenium-186 beschichteten Stent untersucht werden. Für dieses Verfahren konnte bereits in einem Kaninchenmodell eine Verminderung der Restenose gezeigt werden (81). In einem weiteren Tiermodell sollten nun der Einfluß der einzelnen Dosisgruppen mit hoher Gesamtdosis auf die Bildung einer Neointima und eines „Candy-Wrapper“ sowie ein möglicher Unterschied zwischen Koronargefäßen und peripheren Arterien untersucht werden.

### **4.2 Ionisierende Strahlen im Rahmen intravaskulärer Eingriffe**

#### **4.2.1 Grundlagen der endovaskulären Brachytherapie**

Wie eingangs erwähnt, fanden schon im Jahr 1964 erste Untersuchungen zur intravasalen Radiatio statt (73). Erst später wurden jedoch zunächst im Tier

Anstrengungen unternommen, diese Therapiemodalität für den klinischen Einsatz zu evaluieren. Grundsätzlich kommen im Rahmen der vaskulären Brachytherapie  $\beta$ -Strahler mit einer sehr geringen Eindringtiefe und  $\gamma$ -Strahler, welche eine höhere Reichweite besitzen, zum Einsatz. Aus diesen Charakteristika ergab sich in der Vergangenheit der hauptsächliche Einsatz der  $\beta$ -Strahlung in den Koronargefäßen, während im peripheren Bereich bei der Anwendung katheterbasierter Bestrahlung hauptsächlich  $\gamma$ -Strahler (z.B. Iridium-192) verwendet wurden (82).

Zwei wesentliche Faktoren charakterisieren die VBT:

Die Gesamtdosis (absorbierte Energie bezogen auf die Masse der Materie, 1 Gray = 1 Joule/Kilogramm), welche an die Gefäßwand abgegeben wird, wobei die Einzeldosis zur Prävention der Restenose bei etwa 15-20 Gy liegt (83).

Der zweite Faktor besteht in der Fraktionierung der Gesamtdosis und der Dosisrate. Die in der Strahlentherapie angewendete Unterteilung der Gesamtdosis zielt auf die zellulären Erholungsvorgänge zwischen den einzelnen Applikationen ab. Ferner muss die Strahlenquelle so platziert sein, dass nur das Zielgewebe in der Media und Adventitia bestrahlt wird, wobei die Endothelschicht jedoch mitbetroffen ist. Ferner stellt sich aufgrund von teilweise asymmetrischen Plaques das Problem der Zentrierung. Eine ungleichmäßige Dosisrate in den einzelnen Wandschichten macht eine homogene Dosisverteilung und somit einen einheitlichen Effekt unmöglich.

Das genannte Problem tritt bei den verschiedenen Applikationsformen in unterschiedlichem Maße auf. Grundsätzlich können hier drei Methoden genannt werden:

Zum einen die bereits angesprochenen Afterloading-Verfahren, bei welchen über ein intravaskulär einliegendes System eine Strahlenquelle eingeführt werden kann. Die applizierte Dosis lässt sich über die Bewegung der Quelle exakt steuern, eine Zentrierung der Strahlenquelle muss über entsprechende Katheter sichergestellt werden. Desweiteren können mit radioaktiven Substanzen gefüllte Ballonkatheter verwendet werden. Hier liegt die Strahlenquelle allseits der Gefäßwand an und appliziert eine homogene Dosis. Bei beiden genannten Applikationsformen muss die Positionierung sehr genau durchgeführt werden, da anderenfalls ein Fehlverhältnis zwischen

Angioplastielänge und Bestrahlungslänge resultiert, was als „geographic miss“ bezeichnet wird (84). Ein weiterer Aspekt der Dosisverteilung bei Afterloadingtherapie mit  $\beta$ -Strahlern und zusätzlicher Implantation von metallischen Stents wurde durch Amols et al. beschrieben. Durch die Stentstreben kommt es zu einer Dosisverzerrung, was in einer inhomogenen Verteilung innerhalb der Wandschichten resultiert. Die Autoren fanden bei der Testung dieses Phänomens eine totale Dosisreduktion von 4-14% in Abhängigkeit vom Stentmodell (85). Sie evaluierten im genannten Versuch 9 verschiedene Stentdesigns, als Strahlenquelle wurde ein Rhenium-188 gefüllter Ballon verwendet.

Die dritte Variante, die auch im vorliegenden Versuch angewendet wurde, besteht in der radioaktiven Beschichtung von Stents.

### **4.2.2 Stentdotierung als Alternative zum Afterloading**

Theoretisch bietet die Anwendung einer Stentplattform als Applikationsart einige Vorteile gegenüber der katheterbasierten Brachytherapie. Zunächst erscheint die Handhabung einfacher, da weniger Personal mit den Strahlenquellen umgehen muss und weniger radioaktives Material nach der Intervention verbleibt. Aus pathophysiologischen Gesichtspunkten liegen die Vorteile in der kontinuierlichen Dosisabgabe über den Proliferationszeitraum der glatten Muskelzellen insbesondere in den ersten 30 Tagen nach der Intervention, da die Strahlenquelle im Gefäß verbleibt. Ein weiterer Vorteil liegt in der besseren Verteilung durch den direkten Kontakt der radioaktiven Quelle zur Gefäßwand. Als Beschichtung ist hier die Verwendung eines  $\beta$ -Strahlers mit kurzer Eindringtiefe sinnvoll, da die Zielzellen sich in einem sehr kurzen Radius um die Stentstrebe befinden.

Die Wahl der Strahlenquelle ist von entscheidender Bedeutung, da die Halbwertszeit, die Energie, die Aktivität und die Eindringtiefe die Dosisverteilung in der Gefäßwand und den Zeitraum, über welchen die Hauptdosis abgegeben wird, bestimmen. Das im vorliegenden Versuch verwendete Rhenium-186 besitzt im Vergleich zum intensiv untersuchten Isotop Phosphor-32 eine kürzere Halbwertszeit (3,8 Tage gegenüber 14,3 Tagen) eine geringere mittlere  $\beta$ -Energie (330 keV gegenüber 695 keV) und eine

geringere Eindringtiefe, was in einer Abgabe von 60% der Dosis in einer Distanz von 0,92 mm gegenüber 1,85 mm beim Phosphor-32 resultiert. Der durch diese Unterschiede erhoffte Vorteil war hier die strebennahe Applikation einer hohen Dosis über einen relativ kurzen Zeitraum. Nennenswert ist die Beobachtung, dass in den Messungen der Dosisrate von Stents mit initialen Aktivitäten von circa 30 MBq die Stentstreben im kurzen Meßabstand aufgrund der Distanz zwischen den Streben eine inhomogene Verteilung bewirken. Bei zunehmender Distanz von der Strahlenquelle und somit sinkender Dosisrate wurde diese Veränderung wieder ausgeglichen. Außerdem fiel die Dosisrate im Randbereich relativ steil ab, was für das Auftreten einer Randstenose mit als Erklärung dienen könnte.

Die Art der Aktivierung muss als logistischer Prozeß in die Beurteilung der Anwendbarkeit einbezogen werden. Die Methoden zur Aktivierung von Phosphor-32 Stents bestehen beispielsweise in der direkten Ionenimplantation oder der Aktivierung durch Bombardierung mit Deuteronen in einem Zyklotron (86). Die im vorliegenden Fall angewandte Methode der Stentdotierung ist im Vergleich hierzu deutlich einfacher durchzuführen und universeller einsetzbar, sodass eine ortsnahe Durchführung denkbar erscheint.

Die Bestrahlung über eine Stentplattform stellt das Ideal einer fraktionierten Strahlentherapie dar. Der Unterschied besteht hierbei im Vergleich zur kathetergestützten Brachytherapie primär in der geringeren Dosisrate. Die Gesamtdosis muss jedoch bei einer protrahierten LDR-Therapie deutlich höher sein als bei einer HDR-Bestrahlung, um ein vergleichbares Resultat zu erzielen. Beim Vergleich der Wachstumshemmung von glatten Muskelzellen aus der Schweineaorta mit einer niedrigen Dosisrate von 0,675 Gy/h (vergleichbar mit der Bestrahlung über einen Stent) gegenüber einer hohen Dosisrate von 1,5 Gy/min war etwa die doppelte Gesamtdosis notwendig, um vergleichbare Ergebnisse in Bezug auf eine Proliferationshemmung zu erhalten (87).

Aufgrund der Halbwertszeit von 3,8 Tagen des hier verwendeten Rhenium-186 wird der überwiegende Teil der Dosis in einer Zeitspanne von ca. 19 Tagen abgegeben, welche

den Zeitraum des Proliferationsmaximums der SMC abdeckt. Fraglich bleibt, inwieweit die Restaktivität einen chronischen inflammatorischen und pro-proliferativen Prozeß unterhalten kann.

Gegensätzlich zu den *in vitro*-Versuchen, welche eine Teilungshemmung glatter Gefäßmuskelzellen durch Bestrahlung gezeigt haben, ergab sich bei Anwendung von Phosphor-32 im Schweinemodell für Dosen zwischen 10 Gy (3 cGy/h) bis 125 Gy (60 cGy/h) eine positive Korrelation zwischen Aktivität des Stents und der Neointimafläche nach 6 Monaten (77). Dies zeigt, dass bei der Gefäßreaktion nach Radiatio im lebenden Modell deutlich komplexere Mechanismen eine Rolle spielen. Zusätzlich kommt es insbesondere bei der  $\beta$ -Strahlung, wie in Punkt 3.2 dargestellt, zu einem sehr steilen Dosisabfall an den Stentenden, was einen gegenteilig proliferativen Einfluß auf die glatten Gefäßmuskelzellen haben könnte. Dieses Phänomen soll im Rahmen der Diskussion des „Candy-Wrapper“ noch erörtert werden.

Die katheterbasierte Radiotherapie mit Iridium-192 und Strontium/Yttrium-90 arbeitet mit Dosisraten im Bereich von etwa 0,2 Gy/h bis 2,5 Gy/min für 3 Minuten bis 1 Stunde (88, 89). Im Vergleich zu anderen Studien lagen die Dosisraten der hier verwendeten Rhenium-186-dotierten Stents zum Implantationszeitpunkt mit etwa 4 Gy/h höher, die Gesamtdosis in einem Abstand von 0,5 mm betrug etwa 166 Gy im RIVA und 270 Gy im RCX sowie 260 Gy und 470 Gy in den Dosisgruppen D2 und D3 der Carotiden, was allerdings keine Verminderung der Neointimabildung nach 12 Wochen bewirken konnte. Im Gegenteil fand sich ein geringeres Lumen der bestrahlten Gefäßsegmente. Entsprechend fanden sich ausgeprägte Veränderungen der Arterienwand, welche dem Bild einer strahleninduzierten Arteriopathie ähneln (90).

### **4.3 Experimentelles Modell**

#### **4.3.1 Tiermodelle zur Erforschung der Restenose**

Die im vorliegenden Versuch verfolgte Methode der strahleninduzierten Proliferationshemmung zur Restenoseprophylaxe mittels Rhenium-186 wurde bereits im Zellkulturversuch erfolgreich getestet (76). Vor der Anwendung im Menschen bedarf es jedoch des Tests im Tiermodell. Hierzu wurden im vorliegenden Experiment koronare und periphere Schweinearterien verwendet, welche aufgrund einer humanen Arterien ähnlichen Größe, Anatomie und Physiologie in der Interventionsforschung weit verbreitet sind (91).

Grundsätzlich existiert eine Vielzahl an Tiermodellen, welche in der Atherosklerose- und Restenoseforschung eingesetzt werden. Nagetiere zeigen keine natürlich vorkommende Atherosklerose, es existieren jedoch genetische Varianten, welche zum Verständnis grundsätzlicher Pathomechanismen verwendet werden können (92). Grundlegende Untersuchungen zur Restenose wurden an diesem Modell nach Ballonschädigung durchgeführt. Obwohl sich die Gefäßgröße- und -architektur deutlich von der des Menschen unterscheidet (93), wurden hieraus beispielsweise Erkenntnisse über den Zusammenhang zwischen Schädigung und Proliferation glatter Muskelzellen der Gefäßwand (94) und die Rolle von PDGF (95) gewonnen. Nach Schädigung (z.B. mittels 2F Fogarty Katheter) findet sich eine Gefäßreaktion mit einem SMC-Proliferationsmaximum etwa 3 Tage nach Denudation, eine Migration nach etwa 4 Tagen und eine intimale Proliferation mit entsprechender Matrixsynthese im Zeitraum von 1 bis 2 Wochen nach dem Trauma (96).

Da sich beim Kaninchen durch entsprechende Fütterung eine atherosklerotische Läsion induzieren lässt, wird dieses Tiermodell sowohl zur Atherosklerose- als auch zur Restenoseforschung seit längerem verwendet (97, 98). Zwar zeigt die natürlicherweise vorkommende Atherosklerose im Gegensatz zum Menschen eher das Bild einer Mediadegeneration, durch entsprechende Züchtung konnte jedoch erreicht werden, dass sich eine dem humanen Gefäß ähnliche Atherosklerosemorphologie induzieren lässt

(99). Die Iliacalarterien von Kaninchen weisen einen ähnlichen Durchmesser wie die Koronargefäße des Menschen auf. Im Gegensatz zum Schwein zeichnet sich das Kaninchen durch eine erheblich einfachere Handhabung bei Haltung und Operation sowie durch geringere Kosten in der Anschaffung aus. Es lässt somit ein Design mit mehreren Dosisgruppen bei gleichzeitig zur statistischen Auswertung befriedigender Gruppengröße zu. Dies ist für das Schwein nicht in gleichem Maße der Fall. In der Literatur sind jedoch für interventionelle Methoden vielfach unterschiedliche Ergebnisse beider Modelle beschrieben, was auch für das vorliegende Experiment zutraf.

### **4.3.2 Wahl des Schweinmodells**

Das Schweinmodell zeichnet sich durch eine dem Menschen ähnliche Atherosklerose mit Verteilung der Fettdepots und Schaumzellen (100) sowie eine sehr ähnliche Gefäßgröße und Architektur aus. Hierdurch lassen sich im klinischen Alltag eingesetzte Materialien und Methoden anwenden. Anatomie, Physiologie und Gerinnungssystem sind dem Menschen sehr ähnlich (101).

Im Falle der Untersuchungen zur Restenose stellt die Induzierbarkeit einer Läsion durch z.B. mechanisches Trauma ein entscheidendes Kriterium dar. Diese Traumatisierung der Gefäße wurde in unserem Versuch, wie in der Literatur mehrfach als erfolgreich beschrieben, in den Koronargefäßen als Überdilatation (sogenannter "Balloon-Overstretch") durchgeführt (102). Hierbei wird ein Angioplastieballon deutlich über den Durchmesser des gesunden Gefäßes inflatiert, um so eine Schädigung der Gefäßarchitektur zu erreichen. Einen zusätzlichen Reiz stellt die Stentimplantation selbst dar (103), welche im vorliegenden Versuchsdesign sowohl für Dosisgruppen als auch Kontrollgefäße identisch durchgeführt wurde. Die Überdilatation mit klinisch anwendbaren Ballons führt zu einer dem Menschen vergleichbaren Neointimabildung in Bezug auf Zellgröße, -dichte und histopathologisches Bild nach 28 Tagen (104). Die Reaktion ist jedoch nicht spezifisch für diesen Schädigungsmechanismus und kann durch verschiedene Faktoren ausgelöst werden. Hierzu zählt unter anderem auch die

Bestrahlung (105), was bei der Untersuchung der Radiotherapie als Einflußgröße für die Neointimabildung besonders beachtet werden sollte.

Im hier verwendeten Modell der mechanischen Gefäßschädigung durch Überdilatation zeigte die Kontrollgruppe in den Koronarien mit  $1,8 \pm 1,1 \text{ mm}^2$  im RIVA und  $2,2 \pm 0,9 \text{ mm}^2$  im RCX eine befriedigende Neointimabildung. Ähnliche Werte wurden beispielsweise auch von Carter et al. berichtet, die den Langzeiteffekt 6 Monate nach Implantation von Phosphor-32-Stents in Schweinearterien untersuchten, in welchen 28 Tage zuvor durch Ballonschädigung und Cholesterinfütterung eine fibrozelluläre Plaque induziert worden war (77). Die Werte betragen hier für die Gefäße der Kontrollgruppe, welche erst nach einer doppelt so langen Beobachtungszeit wie in unserem Fall entnommen wurden,  $1,78 \pm 0,68 \text{ mm}^2$ . Dieser Vergleich legt eine ausreichende Induktion einer Neointima in unserer Kontrollgruppe nahe.

Wie auch im Menschen sind im Tiermodell charakteristische Abläufe nach Gefäßtrauma zu beobachten. Nach Schädigung kommt es zu einer deutlichen Plättchenanheftung und fibrinreicher Thrombusformation nach etwa einem Tag (104). Von der Lumenseite her wandern im Zeitraum von etwa einer Woche Lymphozyten und Monozyten ein (61), danach lassen sich  $\alpha$ -actin positive Zellen nachweisen.

Die Thrombenbildung stellt beim Schwein einen wichtigen pathomechanischen Schritt der frühen Reaktionen nach Stentimplantation dar. Wir führten eine Thrombozytenaggregationshemmung mit 300 mg Clopidogrel und 500 mg ASS als Prophylaxe und 75 mg Clopidogrel und 100 mg ASS als Nachbehandlung durch. Trotzdem kam es bei zwei Tieren zu thrombotischen Verschlüssen in den Koronararterien. Die deutlich kaliberstärkeren Carotiden zeigten keine Auffälligkeiten im Hinblick auf thrombotische Verschlüsse.

Die Vergleichbarkeit der Gefäßreaktion im Tier und im Menschen nach Radiatio konnte von Virmani et al. beim Vergleich von humanen und porcinen Koronararterien gezeigt werden. Erstgenannte erhielten eine externe Bestrahlung im Rahmen der Therapie maligner Erkrankungen. Im Falle der Schweine wurden  $\beta$ -Partikel-emittierende Stents

mit Aktivitäten von 0,15-23  $\mu\text{Ci}$  implantiert. Es fanden sich ähnliche charakteristische Veränderungen in Abhängigkeit von der Dosis. Hierzu zählen eine ausgedünnte Media mit Nekrosen und eine Fibrosierung der Adventitia (106). Ferner zeigten sich in der Intima Areale mit nekrotischen Zellen, Makrophagenansammlungen, welche als Schaumzellen imponierten, und Kalzifizierungen.

Bei der Übertragung der Ergebnisse aus Versuchen zu interventionellen Methoden am Schwein muss jedoch beachtet werden, dass es sich hierbei um gesundes und junges Gewebe handelt. Die humanen Arterien, welche eine Stentimplantation erhalten, sind jedoch in der Regel atherosklerotisch verändert oder schon restenosiert (107). Berücksichtigt werden muss neben dem Alter des Gewebes auch die unterschiedliche Heilungsdauer nach interventioneller Schädigung der Gefäßwand. Menschliche Arterien benötigen etwa 6-12 Monate, um vollständig zu regenerieren (108), verglichen mit etwa einem Monat in Tiermodellen. Hier könnte ein Zusammenhang zwischen der Lebenszeit der Spezies und der Zellproliferation bestehen. Auch wenn eine direkte Extrapolation der zeitlichen Abläufe nicht zulässig ist, so könnten im Menschen die im Tiermodell gefundenen Veränderungen dennoch verzögert beobachtet werden (109, 110).

Wie bereits dargelegt, konnte die Wirksamkeit der Strahlentherapie mit dem Isotop Rhenium-186 im Zellkulturversuch sowie der Kaninchenaorta gezeigt werden (76, 81). Die erneute Evaluation im Schweinmodell erfolgte aufgrund der beschriebenen, teilweise deutlichen, Unterschiede beider Tiermodelle sowie der Frage nach der Effektivität einer Bestrahlung über einen Stent in der Arteria carotis als peripheres Gefäß. Bisher wurden in dieser Region keine Untersuchungen zur Restenoseprophylaxe durch Bestrahlung durchgeführt. Der Gefäßgröße kommt aufgrund der Eindringtiefe der Strahlung jedoch eine große Bedeutung zu. Hier sollte eine Aussage zu möglichen Unterschieden zwischen koronaren und peripheren Arterien gemacht werden.

### **4.4 Versuche mit Radiatio im Kaninchen**

Nach ersten erfolgreichen Tierversuchen mit Iridium-192 Drähten (111) zeigten Untersuchungen am Restenosemodell des Kaninchens, dass die Applikation über eine Stentplattform in der Lage war, die Proliferation von glatten Muskelzellen im Bereich des Maximums nach einer Woche deutlich zu reduzieren. Hehrlein et al. (86) fanden nach intravaskulärer Bestrahlung deutlich weniger proliferierende Zellen ( $0,5 \pm 0,1\%$ ) im Gegensatz zur Kontrollgruppe ( $30 \pm 2\%$ ) zum genannten Zeitpunkt. Die Aktivierung der in dieser Studie verwendeten Palmaz-Schatz Stents erfolgte über Bombardement im Cyclotron. Dies resultierte in einer Mischung aus Cobalt-55, Cobalt-56, Chrom-51, Mangan-52, Nickel-57 und Eisen-55. Hauptsächliches Isotop war Cobalt-55 mit einer HWZ von 17,5 Stunden.

In einer weiteren Studie untersuchte dieselbe Arbeitsgruppe Phosphor-32 Stents mit Aktivitäten von 4 und 13  $\mu\text{Ci}$  nach 4 und 12 Wochen (112). Das Isotop wurde über Neutronen-Bestrahlung von Phosphor-31 erzeugt. Nur die hohen Aktivitäten führten zu den Untersuchungszeitpunkten zu einer deutlichen Inhibition der Neointimabildung. Zwar fand sich auch in der bestrahlten Gruppe eine Endothelschicht, diese war jedoch nicht so dicht wie in der Kontrollgruppe. Längere Beobachtungen über 3 Monate von Phosphor-32 Stents in Iliacalarterien von Kaninchen (113) erbrachten ähnliche Resultate. Die hierbei verwendeten Stents hatten Aktivitäten von 6 und 24  $\mu\text{Ci}$ . Die Neointimafläche der 6  $\mu\text{Ci}$  Stents war um 20,0% geringer als die der Kontrolle. Histologisch bestand die Neointima in der Kontrolle aus glatten Muskelzellen sowie einer proteoglykan- und kollagenreichen Matrix. In der Bestrahlungsgruppe fand sich vermehrtes Fibrinexsudat, die Dichte intimaler Muskelzellen im Sinne  $\alpha$ -actin-positiver Zellen wurde durch Bestrahlung reduziert. Durch Rasterelektronenmikroskopie ließ sich nachweisen, dass insbesondere der mittlere Anteil der 6  $\mu\text{Ci}$ -Stents nicht reendothelialisiert waren, insgesamt nur etwa  $33 \pm 15\%$  der gesamten Stentoberfläche. In der Kontrolle waren dies im Gegensatz dazu  $97 \pm 8\%$ .

Das Endothel und dessen Schädigung während der Implantation von Stents stellt einen entscheidenden Faktor für die Neointimabildung dar. Ein von Rogers et al. durchgeführter Vergleich von Stentimplantation in zuvor denudierte gegenüber Iliacalarterien von Kaninchen mit intaktem Endothel ergab eine um einen Faktor 2

geringere Neointimafläche zum Untersuchungszeitpunkt nach 14 Tagen. Innerhalb dieser Zeit kann eine endotheliale Zellschicht wieder wachsen, auch wenn 60% durch Stentimplantation geschädigt sind (114).

Um den Heilungsverlauf der Gefäße nach Brachytherapie genauer zu untersuchen, führten Farb et al. eine Untersuchung mit dem  $\beta$ -Strahler Phosphor-32 in den Iliacalgefäßen von Kaninchen durch. Die verwendeten Stents hatten Aktivitäten von 6, 24 und 48  $\mu$ Ci. Die kumulative Dosis nach 6 bzw. 12 Monaten betrug in einem Abstand von 0,5 mm 95 Gy, 381 Gy und 763 Gy. Die Untersuchungen fanden nach 6 und 12 Monaten statt. Es zeigte sich zwar eine im Vergleich zur Kontrolle um 50% niedrigere Intimafläche zu beiden Beobachtungszeitpunkten, jedoch kam es durch intimale Hyperplasie und negatives Remodeling an den Stentenden zu einer vermehrten Stenose. Nach 12 Monaten hatten alle radioaktiven Stents eine größere maximale Intimadicke an den Stentenden (115). Dies beschreibt das in verschiedener Ausprägung immer wieder beobachtete und noch nicht gelöste Problem des „Candy-Wrapper“.

Auch Untersuchungen mit reiner  $\gamma$ -Bestrahlung, welche eine deutlich höhere Eindringtiefe aufweist, zeigten eine Unterdrückung der neointimalen Hyperplasie, jedoch eine verzögerte Reendothelialisierung (72). In 72 Iliacalarterien von Kaninchen wurden unbehandelte Stents unter zusätzlicher Strahlenapplikation mittels Iridium-192 implantiert. Die Dosen betragen 0, 15 und 30 Gy in 2 mm Gewebetiefe. Nach einem Zeitraum von 1, 3 und 6 Monaten erfolgte die histologische Untersuchung. Die Gruppen mit 15 und 30 Gy zeigten nach 3 Monaten, die Gruppe mit 30 Gy nach 6 Monaten noch eine verminderte Intimafläche. Nach einem Monat waren  $92\pm 4\%$  des Kontrollsegmentes reendothelialisiert, jedoch nur rund 37% der 15 und 30 Gy-Gruppen. Auch nach 3 und 6 Monaten waren die Ergebnisse signifikant unterschiedlich mit nur etwa 35% Reendothelialisierung in der 30 Gy Gruppe. Auch hier fand sich somit der Hinweis, dass die endotheliale Regeneration durch VBT im Kaninchenmodell auf über 6 Monate verzögert wird.

Außer den unterschiedlichen Strahlenarten und Dosen wurden neben der Stentbeschichtung Ballonfüllungen zur Brachytherapie über Katheter evaluiert. So wurden beispielsweise flüssige Phosphor-32 Strahlenquellen direkt nach Stentimplantation in Iliacalgefäße von Kaninchen eingebracht und hierüber 7, 12, 16

oder 49 Gy an die Gefäßwand abgegeben. Die Dosis von 49 Gy direkt an der Gefäßwand entsprach 16 Gy in 1 mm Tiefe. Diese höchste Dosis reduzierte die intimale Hyperplasie deutlich. Durch Ballonfüllung könnte das eingangs erwähnte Problem der Zentrierung, welches bei Kathetern auftritt, gelöst werden (116).

Die Untersuchung einer extrakorporalen Bestrahlung nach Stentimplantation in die Iliacalarterien des weissen Neuseelandkaninchens mit 8 Gy nach 3 Tagen oder fraktionierten 16 Gy nach 3 und 4 Tagen zeigte jedoch nach 12 Wochen eine vermehrte Restenose. Diese fand sich sowohl in als auch außerhalb des gestenteten Bereiches und beruhte mit auf einer vermehrten Bildung von Extrazellulärmatrix (117).

Diese Kaninchenversuche lieferten grundlegende Erkenntnisse für die Weiterentwicklung der unterschiedlichen Applikationsformen und der in Frage kommenden Isotope. Die Ergebnisse in diesem Modell zeigten somit unabhängig von verwendetem Isotop und Applikationsform die grundsätzliche Anwendbarkeit der VBT zur Restenoseprophylaxe. Es fanden sich jedoch bei den verwendeten Iliacalgefäßen histologisch Zeichen einer vermehrten Schädigung sowie der verzögerten Gefäßregeneration. Teilweise wurde eine vermehrte Einengung an den Stentenden, überwiegend bedingt durch vermehrte Neointimabildung, beobachtet.

Das im vorliegenden Versuch am Schwein als Stentdotierung getestete Isotop Rhenium-186 wurde ebenfalls zuvor im Kaninchen von Tepe et al. untersucht (81). Nach 7 Wochen konnte eine dosisabhängige Unterdrückung neointimaler Hyperplasie gefunden werden. Die applizierten Dosen betragen bis 377 Gy in 0,5 mm Tiefe in der Gruppe mit der höchsten Aktivität von 25,3 MBq zum Implantationszeitpunkt.

### **4.5 Intravaskuläre Strahlentherapie im Schwein**

Durch die mit der humanen Situation vergleichbare Physiologie und Anatomie stellt das Schwein ein häufig genutztes Modell in der Restenoseforschung dar und wurde zur Untersuchung intravaskulärer Brachytherapie bereits vielfach eingesetzt. Auch in der vorliegenden Studie wurden Koronarien und periphere Arterien von Minischweinen als Modell der Restenose verwendet. Das Interesse konzentrierte sich bisher jedoch

hauptsächlich auf die Erforschung der VBT in den Herzkranzarterien, weniger im peripheren Gefäßsystem, welches in dieser Studie zusätzlich untersucht wurde.

Schon 1994 berichteten Wiedermann et al. über positive Resultate in Bezug auf die Neointimabildung nach Applikation von 20 Gy über einen Iridium-192 Draht (111). Als Schädigung wurde eine Überdehnung der Koronararterie durchgeführt. Nach 30 Tagen erfolgte die histopathologische Analyse und Planimetrie. Die Bestrahlung führte zu einer Reduktion der neointimalen Fläche um 71,4%, histologisch fand sich eine mediale Fibrose. Auch nach einem längeren Beobachtungszeitraum von 6 Monaten war die Neointimabildung nach Bestrahlung mit  $0,46 \pm 0,35 \text{ mm}^2$  noch geringer als in der Kontrolle mit  $1,59 \pm 0,78 \text{ mm}^2$  (118).

Wichtig war jedoch die bereits früh gemachte Beobachtung, dass niedrigere Dosen zu einem vermehrten Auftreten neointimaler Hyperplasie führten. Das hieraus abzuleitende uneinheitliche Reaktionsmuster der Gefäße auf Bestrahlung veranlaßte in den nachfolgenden Studien im Tiermodell zur ausgiebigen Suche nach der geeigneten Dosis und einem Isotop mit geeigneter Energie und Eindringtiefe. Bei der Verwendung einer Stentplattform kamen die Fragen der Beschichtungsmethode und der Halbwertszeit, welche einen maßgeblichen Einfluß auf die Bestrahlungsdauer hat, hinzu. Relevant erscheint die Erkenntnis, dass Bestrahlung selbst in der Lage ist, in Gefäßen die Bildung intimaler Hyperplasie auszulösen. Nachfolgend sollen einige Studien mit unterschiedlichen Applikationsformen im Schweinmodell näher erläutert und mit den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit verglichen werden.

### **4.5.1 Intimale Hyperplasie nach intravaskulärer Radiatio**

Die komplexen Zusammenhänge bei der Verwendung von Bestrahlung zur Beeinflussung der neointimalen Hyperplasie wurden schon früh erkannt. So berichteten etwa Carter et al. im Jahr 1996 von einem nicht eindeutig dosisabhängigen Effekt auf die Neointimabildung in porcinen Koronarien nach Implantation von 0,15-23,0  $\mu\text{Ci}$  Phosphor-32 Stents (119). Nach 28 Tagen zeigte sich in den Gruppen mit hoher Dosis eine fibrinreiche Neointima mit teilweiser Granulozyteninfiltration und wenig glatten Muskelzellen. Die Media war, vergleichbar mit den vorliegenden Ergebnissen,

## *Diskussion*

---

ausgedünnt, außerdem war die Endothelialisierung unvollständig. Die Gruppen mit niedriger Aktivität zeigten eine Neointima vergleichbar mit der der Kontrolle. Es fand sich ebenfalls eine geringere Zelldichte in der Media nach Bestrahlung. Insgesamt zeigten insbesondere die mittleren Aktivitätsgruppen eine vermehrte Neointimabildung im Vergleich zu den Gruppen mit niedrigen sowie sehr hohen Aktivitäten und der Kontrollgruppe. Offensichtlich ist eine Proliferationshemmung glatter Muskelzellen in Schweinegefäßen wie im Kaninchen durch  $\beta$ -Radiotherapie über einen Stent grundsätzlich realisierbar, allerdings treten charakteristische histologische Veränderungen auf und es lässt sich keine eindeutige Dosisabhängigkeit nachweisen.

Ein weiterer Versuch der gleichen Arbeitsgruppe verglich daraufhin die beiden  $\beta$ -Strahler Yttrium-90 und Phosphor-32. Das genannte Yttrium Isotop besitzt eine HWZ von ca. 64 Stunden, Phosphor-32 hingegen von 14,3 Tagen. Die Yttrium-Stents hatten Aktivitäten von 0,25 bis 32,0  $\mu\text{Ci}$ , die Phosphor-Stents von 0,1 bis 57,6  $\mu\text{Ci}$ . Die Ergebnisse des Berechnungsmodells für die kumulative Dosis in 0,1 mm Tiefe betragen für einen Yttrium-90-Stent mit 4,0  $\mu\text{Ci}$  und einen Phosphor-32-Stent mit 1,0  $\mu\text{Ci}$  nach 28 Tagen etwa 35 Gy. Die Aktivität des Yttrium-Stents war aufgrund der deutlich geringeren HWZ zu diesem Zeitpunkt schon weitestgehend abgeklungen. Die histopathologische Aufarbeitung sowie die morphometrischen Messungen ergaben wiederum das Bild einer inkompletten Heilung und ausgedünnten Media sowie eine Korrelation der Adventitiadicke mit der initialen Aktivität. Bei über 4  $\mu\text{Ci}$  Yttrium-90 und 14,4  $\mu\text{Ci}$  Phosphor-32 fanden sich eine Mediaverdünnung sowie eine Abnahme der glatten Muskelzellkerne vor allem im Bereich der Stentstreben. Die Dotierung mit Yttrium-90 unterhalb von 2  $\mu\text{Ci}$  und Phosphor-32 mit 0,5  $\mu\text{Ci}$  zeigten ähnliche Ergebnisse wie in der Kontrolle im Sinne einer organisierten und endothelialisierten Neointima. Im Falle der Phosphorstents war der mittlere Vessel injury score für 1,5  $\mu\text{Ci}$  und 28,8  $\mu\text{Ci}$  mit  $1,9 \pm 0,7$  bzw.  $1,5 \pm 0,5$  größer als in der Kontrolle. Für die Neointimafläche ergab sich eine bimodale Antwort: 0,1 und 0,5  $\mu\text{Ci}$  führten zu einer Reduktion, 1,5 bis 28,8  $\mu\text{Ci}$  zeigten eine deutliche Zunahme. Leider fand sich auch hier eine Einengung der Stentenden. Unter anderem folgerten die Autoren, dass eine Dosis von über 55 Gy in diesem Modell zu einer Schädigung des Gefäßgewebes im Sinne einer strahleninduzierten Arteriopathie führt (120). Vergleichbar fand sich in den im

## *Diskussion*

---

Rahmen des vorliegenden Versuches ausgewerteten Koronargefäßen ein erhöhter Vessel Injury Score als Resultat der Bestrahlung, wobei der Schädigungsmechanismus in allen Gruppen methodisch gleich war. Eine konstante Ausprägung der Gefäßschädigung könnte jedoch auch vor dem Hintergrund einer verzögerten Heilung nach Radiatio zu werten sein. Interessanterweise war in den deutlich großlumigeren Gefäßen für diesen Parameter kein eindeutiger Unterschied zwischen Verum und Kontrolle nachzuweisen, obwohl die Gesamtdosis im Falle der D3 über dem oben genannten Wert lag.

Schulz et al. verwendeten ebenfalls in der Koronararterie des Schweines Gold-198 als Stentbeschichtung, ein Isotop mit hohem Fall-off und einer kurzen HWZ von 2,7 Tagen. Zur Aktivierung wurde eine Neutronenbestrahlung verwendet. Das Isotop zeigt mit unter 1,5 mm eine deutlich geringere Gewebeeindringtiefe als Phosphor-32, mit etwa 5 bis 6 mm. Es wurden Aktivitäten von 10,4 bis 55  $\mu\text{Ci}$  gewählt, die kumulative Dosis in 1 mm Abstand von den Stentstreben betrug  $3,3 \pm 0,2$  bis  $17,6 \pm 1,7$  Gy. Bei dieser Dosis wurde nach 3 Monaten ein fördernder Effekt auf die Neointimabildung gefunden. Die neointimale Fläche betrug in der Kontrolle 1,19  $\text{mm}^2$  und in der Verum-Gruppe bis zu 3,22  $\text{mm}^2$ , die Stenose war mit 30,46% in der Kontrolle gegenüber maximal 73,96% in der Radiotherapiegruppe deutlich geringer (121). Die histopathologischen Untersuchungen zeigten ein ähnliches Bild wie unsere Präparate nach 12 Wochen mit histiozytären Zellen in der Umgebung der Stentstreben sowie einer vermehrten Fibrosierung der Adventitia.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen Halbwertszeit, Eindringtiefe sowie initialer Aktivität und Gesamtdosis auf die neointimale Reaktion konnte bisher nicht gefunden werden. Langzeitbeobachtungen zeigten anhaltend schlechte Ergebnisse der Bestrahlung im Vergleich zur Kontrolle. 28 Tage nach vorheriger Induktion einer atherosklerotischen Plaque implantierten Carter et al. Phosphor-32-Stents mit Aktivitäten zwischen 1 und 12  $\mu\text{Ci}$  in die Koronararterien von Schweinen. Die Dosisraten lagen zwischen 3 und 60  $\text{cGy/h}$ , die kumulativen Dosen in 0,5 mm Tiefe bei 10 bis 125 Gy. Im Gegensatz zum Ansatz im vorliegenden Experiment wurde durch mechanische Schädigung und Cholesterin-Vorfütterung eine Plaque induziert, welche

dann in einem anschließenden zweiten Schritt behandelt wurde. 6 Monate später wurden Histomorphometrie und Angiographie durchgeführt. In 3 radioaktiven Stents trat eine Thrombose auf. Für Stents mit Aktivitäten über 3  $\mu\text{Ci}$  zeigte sich eine signifikant größere Neointima mit  $3,57\pm 1,21 \text{ mm}^2$ . In der Kontrolle waren es  $1,78\pm 0,68 \text{ mm}^2$ . Die niedrigen Aktivitäten konnten allerdings teilweise eine neointimale Hyperplasie unterdrücken (77).

Im vorliegenden Fall wurde bei Verwendung des Isotops Rhenium-186 mit geringerer Eindringtiefe und kürzerer Halbwertszeit bei gleichzeitig höheren Gesamtdosen von 166 bis 470 Gy in 0,5 mm Abstand ein ähnliches Reaktionsmuster mit vergleichbaren histopathologischen Veränderungen und Intimaflächen beobachtet. Die Modifikation der Bestrahlungsparameter konnte somit keinen eindeutigen Vorteil erbringen.

Nach VBT über einen mit Rhenium-186 gefüllten Ballonkatheter fanden Coussement et al. bei einer Dosis von 20 sowie 30 Gy nach 6 Monaten eine überschüssige Reaktion in Koronararterien von Schweinen. Die Lumenflächen betragen  $1,55\pm 0,99 \text{ mm}^2$  (20 Gy),  $1,03\pm 0,82 \text{ mm}^2$  (30 Gy) und  $2,05\pm 0,8 \text{ mm}^2$  ohne Bestrahlung. Korrespondierend hierzu ergaben sich für die Neointimafläche  $1,92\pm 1,23 \text{ mm}^2$ ,  $1,51\pm 0,97 \text{ mm}^2$  und  $0,89\pm 0,31 \text{ mm}^2$ , was einem signifikanten Unterschied entsprach. Auch hier wurde das Auftreten einer Edge-Stenose beobachtet. Außerdem kam es zu vermehrter Thrombenbildung sowie größeren Adventitiaflächen (107).

Eine vermehrte Neointimabildung nach intravaskulärer Radiatio wurde auch im vorliegenden Versuch beobachtet. In den Koronargefäßen war die Fläche der Neointima nach Bestrahlung mit  $2,4\pm 0,9 \text{ mm}^2$  im RIVA und  $3,1\pm 1,4 \text{ mm}^2$  im RCX größer als in den Kontrollgruppen mit  $1,8\pm 1,1 \text{ mm}^2$  und  $2,2\pm 0,9 \text{ mm}^2$ . Im Vergleich zur genannten Untersuchung von Coussement et al. war der Nachbeobachtungszeitraum hier nur etwa halb so lang. Es liegt eine Differenz zur angiographischen Nachuntersuchung vor, welche für die Stentmitte der radioaktiv dotierten Gruppen einen größeren Durchmesser aufwies. Diese Diskrepanz konnte ebenfalls im Falle der Carotiden beobachtet werden. Hier zeigten die Dosisgruppen D2 und D3 in der Stentmitte eine geringere Stenosierung als die entsprechende morphometrische Auswertung. Wie in Abbildung 32 erkennbar, korrelieren allerdings einzelne morphometrische und angiographische Resultate gut

miteinander. Insgesamt scheint aber in der angiographischen Untersuchung nach 8 Wochen die Stenose in den mittleren Anteilen der radioaktiv dotierten Stents etwas unterrepräsentiert zu sein. Ein direkter Vergleich ist nicht zulässig, da es sich in einem Fall um einen Durchmesser, im anderen um eine Flächenangabe handelt. Neben der unterschiedlichen Methodik könnte aber über die Zeitspanne zwischen beiden Untersuchungen ein weiteres Nachwachsen der Neointima stattgefunden haben, ein sogenannter „Late Catch-Up“. Dieser Effekt ist in humanen Koronarien im Zeitraum zwischen 6 und 12 Monaten nach intravaskulärer Bestrahlung beschrieben (122). Die oben zitierte Studie von Coussement et al. sowie die durch Carter et al. publizierten Ergebnisse 6 Monate nach Phosphor-32-Stent Implantation (77) zeigten ein vermehrtes Auftreten neointimalen Wachstums. Die Ergebnisse waren mit den vorliegenden vergleichbar, in den Kontrollen fanden sich Neointimaflächen von  $1,78 \pm 0,68 \text{ mm}^2$  (Carter et al.) und  $0,89 \pm 0,31 \text{ mm}^2$  (Coussement et al.), nach Radiatio wurden  $3,94 \pm 1,21 \text{ mm}^2$  (Carter et al., Phosphor-32-Stent, 125 Gy) und  $1,51 \pm 0,97 \text{ mm}^2$  (Coussement et al., Rhenium-186 Ballon, unfraktioniert, 30 Gy) gemessen. Als Erklärung für diesen möglichen „Rebound“ dient die Beobachtung, dass durch Bestrahlung nicht notwendigerweise ein sofortiger Zelltod einsetzt. Teilweise bleibt die Teilungsfähigkeit der Zielzellen erhalten, es kommt also lediglich zu einer kolonigenen Inaktivierung (75, 110), welche den Zeitraum bis zum Auftreten einer Restenose nur verlängert.

Kohärent mit anderen Berichten in der Literatur führte die Bestrahlung auch in unserem Fall zu einer Stenosierung der Randbereiche. Zu erwähnen ist, dass Stents mit ähnlichen Aktivitäten im RIVA zu charakteristischen strahlenbedingten Veränderungen führten, während es bei vergleichbarer Aktivität in den kaliberstärkeren peripheren Gefäßen zu einer diffus verteilten intimalen Hyperplasie kam. Dieses Auftreten einer vermehrten Neointimabildung an den Stentenden, beziehungsweise dem angrenzenden ungestenteten Bereich, konnte bisher nicht eindeutig geklärt werden. Da die kleinste Lumenfläche über das behandelte Segment jedoch letztendlich den klinischen Erfolg bestimmt, ist dies der entscheidende Faktor, welcher gegen einen primären Einsatz insbesondere der stentbasierten Strahlentherapie spricht und einen nachhaltigen Erfolg in klinischen Studien verhindert hat, wie später unter 4.6.2 noch dargestellt wird.

### **4.5.2 Histopathologische Veränderungen nach Bestrahlung**

Die Pathomechanismen, welche zu der teils inhomogenen Reaktion auf Bestrahlung führen, sind nicht vollständig geklärt. Offenbar scheint das Reaktionsmuster der Gefäßwand jedoch weitestgehend unabhängig von der verwendeten Strahlenart zu sein. Marijjanowski et al. verglichen die histopathologischen Veränderungen im Schweinegefäß nach  $\beta$ -,  $\gamma$ - und externer Bestrahlung. Als  $\beta$ -Quelle wurde Strontium/Yttrium-90 verwendet. Die applizierten Dosen betragen 7, 14, 28 und 56 Gy bei 2 mm Gewebetiefe. Als  $\gamma$ -Quelle kam Iridium-192 zum Einsatz. Die hiermit applizierten Dosen lagen bei 3, 5 sowie 7 und 14 Gy. Zum Vergleich wurde eine extrakorporale Bestrahlung der Region mit 14 Gy durchgeführt. Die VBT-Tiere wurden nach 2 Wochen untersucht, Langzeittiere lebten bis 6 Monate nach der Prozedur. Die meisten bestrahlten Gefäße zeigten eine Ansammlung von T-Lymphozyten und anderen Entzündungszellen hauptsächlich in der Adventitia. Externe Bestrahlung führte zu interstitieller und perivaskulärer Fibrose (123).

Die histopathologische Auswertung unserer Präparate erbrachte ebenfalls eine ausgeprägte Fibrose in der Adventitia. Die in dieser Gefäßwandschicht gelegenen vasa vasorum waren ummauert, teilweise fand sich in diesen selbst eine Störung der Gefäßarchitektur im Sinne einer Neointimabildung und Fibrosierung. Eine auffällige Beobachtung in den Carotiden bestand in einer makroskopisch erkennbaren Verbiegung der Stents in den Dosisgruppen D2 und D3.

Als typisches Bild nach Radiatio ist bei insgesamt größerer Neointima eine geringere Zellzahl in der Umgebung der Stentstreben beschrieben. Die Zellen liegen in einer proteoglykanreichen Matrix und weisen lediglich lumenseitig eine Organisation auf (54, 113). Eine eindeutige Zuordnung des Organisationsgrades und des Remodelings der Neointima zu den Kontroll- und Dosisgruppen war in unserem Fall nicht möglich. Eine eher locker organisierte Zellstruktur in der Umgebung der Stentstreben und eine ungleichmäßige Zelldichte in der Intima wurden jedoch beobachtet. Die absolute Zellzahl pro mm<sup>2</sup> erbrachte für die Intima keine nennenswerten Unterschiede zwischen Kontrolle und Bestrahlungsgruppen, wobei die einzelnen Regionen in der Neointima

nicht weiter unterteilt wurden. Hingegen war in der Media entsprechend der Beobachtung einer Ausdünnung eine Abnahme der Zellkerndichte in den bestrahlten Gefäßen gegenüber den Kontrollen von  $2250 \pm 692$  Zellen/mm<sup>2</sup> und  $1689 \pm 392$  Zellen/mm<sup>2</sup> im RIVA sowie  $2377 \pm 504$  Zellen/mm<sup>2</sup> und  $1405 \pm 554$  Zellen/mm<sup>2</sup> im RCX festzustellen. Dosisabhängig fand sich diese Strahlenwirkung auch in den Carotiden mit  $2172 \pm 520$  Zellen/mm<sup>2</sup> und  $1588 \pm 1158$  Zellen/mm<sup>2</sup> in der D2 und D3 gegenüber der Kontrolle mit  $3150 \pm 1028$  Zellen/mm<sup>2</sup>.

### **4.5.3 Gefäßreaktion und Grad des Heilungsprozesses**

Die Anheftung von Thrombozyten stellt die erste Veränderung nach dem Gefäßtrauma im Rahmen der Angioplastie dar. Hieran adhäreren nachfolgend zirkulierende Leukozyten, welche in die Gefäßwand einwandern. Die anschließende Granulationsphase wird getrieben von Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten, Leukozyten und glatten Muskelzellen, was deren Migration aus der medialen Wandschicht in die Intima bewirkt. Die hieraus entstehende Neointima besteht zunächst aus unorganisiert angeordneten Zellen in reichlich vorhandener Extrazellulärmatrix. Diese ist hauptsächlich aus Proteoglykanen, insbesondere Versican und Biglycan und vereinzelt Kollagenfibrillen (52, 124, 125), zusammengesetzt. Über einen Zeitraum von mehreren Wochen kommt es zu einer Umorganisation der Extrazellulärschicht. Der Ersatz von wasserhaltigen Molekülen durch Kollagene führt zu einer mechanischen Schrumpfung, welche insbesondere im Falle der alleinigen Angioplastie mit zu einer Restenose beitragen kann.

Verzögerte Heilung der Neointima nach Bestrahlung ist in Form von persistierenden Fibrinablagerungen und Thrombozytenadhäsion mit unvollständigen Matrixbereichen und inkompletter Reendothelialisierung sowie vermehrter intimaler Zellproliferation beschrieben (107, 115). Ein zusätzlicher Teil der Gefäßreaktion besteht in der Entzündungsreaktion insbesondere in der Adventitia und der Umgebung der Stentstreben. Die histopathologische Auswertung unserer Präparate erbrachte vor allem in den Koronarien nach 12 Wochen eine vermehrte Entzündungsreaktion nach Radiotherapie ausgedrückt in einem vermehrten Inflammation score. Kollum et al. fanden einen ähnlichen Zusammenhang. Porcine Arterien wurden einer

Ballonschädigung unterzogen und erhielten eine Dosis von 0 oder 15 Gy über einen 2 mm langen Iridium-192 Draht. Nach 3, 7 und 14 Tagen wurden die Gefäße auf SMC  $\alpha$ -aktin, T-Zellen (CD3), Makrophagen und Endothelzellen sowie apoptotische Zellkerne untersucht. Die Neointima wurde durch die Bestrahlung reduziert, die Dichte der SMC war erniedrigt. T-Zellen, apoptotische Zellen und Makrophagen der Adventitia und Neointima waren nach Bestrahlung jedoch signifikant erhöht. Außerdem war eine verzögerte Endothelialisierung zu verzeichnen (126).

Nach Schwartz et al. lässt sich ein Zusammenhang zwischen dem initialen Gefäßschaden und der Ausbildung einer Neointima herstellen (56). Schwartz et al. verwendeten jedoch eine rein mechanische Schädigung als Reiz für eine Neointimabildung. Der Schädigungsmechanismus war für alle Tiere der vorliegenden Untersuchung methodisch gleich. Insbesondere in den kleinlumigen Koronargefäßen fand sich jedoch nach 12 Wochen in der Verumgruppe eine deutlichere Schädigung nach den von Schwartz et al. vorgeschlagenen Kriterien. Für die großlumigeren Carotiden war dies nicht der Fall. Korrelierend hierzu ergab die Beurteilung der Entzündungsreaktion, wie oben beschrieben, eine höhere Ausprägung in den bestrahlten Koronarien. Die chronische Schädigung durch die Radiatio selbst sowie ein persistierender inflammatorischer Prozess als Reiz für die Neointimabildung muss somit diskutiert werden. Insgesamt könnte durch die Bestrahlung, zum einen im Randbereich der Dosisabdeckung, zum anderen bei Unterschreiten einer bestimmten Dosisrate ein proinflammatorischer und proliferationsfördernder Effekt eintreten.

Durch VBT kam es neben der unvollständigen Umorganisation der Neointima mit Zeichen einer unvollständigen Heilung zu einer verzögerten Reendothelialisierung des Stents. Ein Problem dieses verzögerten Heilungsprozesses stellt der thrombotische Verschluss dieser Gefäße dar, welcher im Menschen insbesondere nach einer Dauer von 30 Tagen nach Bestrahlung auftreten kann (127, 128). In der vorliegenden Untersuchung fand sich bei langfristiger Thrombozytenaggregationshemmung kein Unterschied zwischen den Gruppen. Das Auftreten von späten Stentthrombosen ist insbesondere für den Fall eines Absetzens einer solchen Medikation beschrieben. Ein Thrombus in einer Koronararterie trat in jeweils einem Tier der Verum- und

Kontrollgruppe auf, die Carotiden waren von thrombotischen Ereignissen nicht betroffen.

Zusammenfassend sind somit die morphometrischen und histopathologischen Beobachtungen aus dem vorliegenden Versuch vergleichbar mit den Ergebnissen der Literatur. Die Wahl des Isotops Rhenium-186 und die Applikation einer hohen Dosis über einen kurzen Zeitraum konnte keinen Vorteil im koronaren Gefäßbett erbringen. Für die periphere Anwendung fehlen insbesondere für die Arteria carotis entsprechende Vergleichsmöglichkeiten. Die dosisabhängig vermehrt auftretende Neointima, die Edge-Stenose sowie die histopathologischen Veränderungen waren jedoch in ähnlichem Maße wie koronar vorhanden. Deshalb ließ sich auch für diese Gefäßetage eine primäre Prophylaxe der Restenose durch radioaktiv beschichtete Stents nicht erreichen.

### **4.6 Klinische Anwendung der intravaskulären Strahlentherapie**

#### **4.6.1 Datenlage zu ionisierender Strahlung in den Koronarien**

Nach den teilweise zwar widersprüchlichen, in Bezug auf die Möglichkeit der Unterdrückung der Proliferation glatter Gefäßwandmyozyten jedoch vielversprechenden Ergebnissen der Tierversuche, wurden zahlreiche klinische Studien durchgeführt. Als Methode der Applikation wurden zum einen katheterbasierte Systeme verwendet, zum anderen auch der Stent als Plattform evaluiert.

Wichtig für die Bewertung der Ergebnisse ist die Indikation zur intravaskulären Radiotherapie. Einerseits wurden Patienten mit unbehandelten, *de novo*-Läsionen eingeschlossen, andererseits solche mit bereits therapiertem, jedoch wieder verschlossenem Gefäßabschnitt. Insgesamt lag das Hauptinteresse auf den Koronargefäßen, sodass im Falle der Brachytherapie im peripheren Gefäßsystem noch nicht auf ähnlich große Patientenkollektive zurückgegriffen werden kann.

Die erste randomisierte Studie zur Behandlung der Restenose und *de novo*-Stenosen war die 1995 gestartete SCRIPPS I (129). Als Strahlungsquelle wurde Iridium-192 verwendet, es wurden insgesamt 55 Patienten mit Restenosen eingeschlossen. Der

mittlere Lumendurchmesser war nach etwa 6 Monaten in der Kontrollgruppe mit  $1,85\pm 0,89$  mm deutlich geringer als in der RT-Gruppe mit  $2,43\pm 0,78$  mm.

Die insgesamt 11 Studien umfassende WRIST-Serie befasste mit sich verschiedenen Aspekten der intravaskulären Radiotherapie. Ursprünglich zielte das Design auf die Evaluation von Iridium-192 zur Therapie der ISR (130) ab. Insgesamt 130 Patienten, 100 davon mit nativen Koronarien und 30 mit Venenbypässen, wurden mit 15 Gy oder Placebo behandelt. Zum Zeitpunkt 6 Monate nach Intervention zeigte sich in der bestrahlten Gruppe eine deutliche Verminderung der Restenose von 58% auf 19%. Die Notwendigkeit zur erneuten Revaskularisierung sank um 79%, MACE wurden um 63% reduziert. Interessanterweise kam es in der nachfolgenden Zeit zwischen 6 und 48 Monaten in der RT-Gruppe zu mehr Verschlüssen in den Zielgefäßen und Zielläsionen, was auf den oben beschriebenen Effekt der Verzögerung, weniger der Unterdrückung neointimaler Hyperplasie, hindeuten könnte. Allerdings waren die MACE auch nach 4 Jahren in der Verum-Gruppe der original WRIST noch geringer als nach Placebo. Ebenfalls mit  $\gamma$ -Strahlung behandelte längere Stenosen der LONG WRIST und LONG WRIST High Dose erhielten 14-15 Gy sowie 18 Gy im Falle langstreckiger Stenosen von 36-80 mm. Außerdem wurde eine verlängerte Thrombozytenaggregationshemmung durchgeführt, was sogar innerhalb der Gruppen zu einer deutlichen Verbesserung der Ergebnisse nach 6 Monaten führte. Die Patienten, welche über den gesamten Zeitraum Clopidogrel erhalten hatten, zeigten 17% MACE im Gegensatz zur Patientengruppe, welche dieses nur für einen Monat einnahm.

Neben der  $\gamma$ -Strahlung wurde im Rahmen der BETA-WRIST die Möglichkeit zur Prophylaxe der ISR mit dem  $\beta$ -Strahler Yttrium-90 unter gleichen Einschlußkriterien evaluiert (131). Angiographisch ließ sich nach 6 Monaten eine Restenose in 22% der Fälle nachweisen. Beim Vergleich mit den Ergebnissen der  $\gamma$ -RT ergaben sich keine Unterschiede.

Die BRIE (Beta Radiation in Europe) evaluierte über das Beta-Cath System eingebrachte Strontium-90 Quellen in Patienten mit *de novo*-Läsionen und Restenosen. Insgesamt wurden 175 Läsionen in 149 Patienten behandelt. Die Restenoserate wurde an drei Stellen bestimmt: Zum einen im Bereich der ursprünglich höchstgradigen Stenose, zum anderen über das bestrahlte Segment. Ferner wurde die maximale Restenose im gesamten analysierten Segment gemessen. Für erstere fand sich eine

Restenose über 50% in 9,9%, im Falle des bestrahlten Segmentes von 28,9% und in 33,6% für das gesamte Gefäß. Das Auftreten eines Edge-Effektes durch zu geringe Bestrahlung des geschädigten Segments - ein sogenannter „geographic miss“ - wurde beobachtet (132).

Neben der katheterbasierten, intravaskulären Brachytherapie wurde auch die Applikationsform über Stents klinisch evaluiert. Wie unter anderem auch aus dem vorliegenden Modell ersichtlich, stellen Stents in diesem Rahmen zusätzliche Herausforderungen dar. Nachdem der erste radioaktive Stent mit dem Potential zur Verminderung intimaler Hyperplasie 1991 von Tim und Robert Fischell zum Patent angemeldet wurde, begann mit der IRIS 1996 die klinische Evaluation mit der Implantation eines Phosphor-32-dotierten Palmaz-Schatz Stents in Patienten mit symptomatischen Koronarstenosen (133). Nach 6 Monaten lag die Restenoserate bei 31%. Insgesamt zeigten die untersuchten Stents deutlicher als die katheterbasierte, intravaskuläre Brachytherapie ein vermehrtes Auftreten intimaler Hyperplasie an den Stentenden, den sogenannten „Edge-Effekt“.

### **4.6.2 Limitationen Edge Effekt und späte Thrombose**

Im Rahmen der Milan Dose response study (80) wurden 122 Phosphor-32-Stents mit Aktivitäten von 0,75-3,0  $\mu\text{Ci}$ , 3,0-6,0  $\mu\text{Ci}$  und 6,0-12,0  $\mu\text{Ci}$  in 91 Läsionen bei 82 Patienten eingesetzt. Nach 6 Monaten fand sich eine Stenose von über 50% in 16% der niedrigen, 3% der mittleren und 0% der hohen Aktivitätsgruppe. Allerdings kam es im behandelten Bereich zu einer Stenosierung von 52% und 50% an den Enden bei 41% in der Stentmitte im Sinne einer Edge-Stenose, wie sie auch im vorliegenden Modell nachweisbar war (siehe angiographische Bildbeispiele in Abbildung 15 und 33).

Die Ursachen für diesen Effekt sind bisher nur teilweise verstanden. Zum einen wird postuliert, dass ein zu schnelles Abfallen der Dosis im Randbereich des Bestrahlungsgebietes einen proliferationsfördernden Effekt hat (123, 134). Hierfür spricht, dass die Implantation von nur zu einer Hälfte radioaktiven Stents zu einer Verlagerung der überschüssigen Neointimabildung in die mittleren Bereiche des Stents führte (134).

Ein weiterer Erklärungsversuch führt den bei der Implantation auftretenden Gefäßschaden als Teilursache an. Die mechanische Traumatisierung bei Stentimplantation erstreckt sich über einen größeren Bereich als den von der RT abgedeckten. Als Konsequenz wurden Stents mit „kalten“ und „heißen“ Enden untersucht. Wardeh et al. (135) implantierten Phosphor-32-Stents mit Aktivitäten von 3-12  $\mu\text{Ci}$  und nicht radioaktiven Enden von 5 mm in 43 *de novo*-Koronarstenosen. Allerdings zeigte sich ähnlich zur genannten Studie von van der Giessen et al. eine Verlagerung des „Candy-Wrapper“ in den Bereich des Dosisabfalls. Die Angiogramme der im vorliegenden Versuch untersuchten peripheren Gefäße im Schwein zeigten ebenfalls eine Edge-Stenose, diese war unmittelbar am Stentende, teilweise sogar innerhalb des Stents lokalisiert. Dies spricht für einen maßgeblichen Einfluß der Dosis auf die Ausbildung dieses Effektes. Vor diesem Hintergrund sind die Diagramme der Dosisraten der peripheren und koronaren Stents zu sehen. Im Randbereich fand sich hier eine teilweise deutlich geringere Dosisrate und somit applizierte Gesamtdosis.

Ein zweites bereits angesprochenes Problem, welches insbesondere nach intravaskulärer Strahlentherapie beobachtet wurde, ist die späte Stentthrombose beziehungsweise der späte Stentverschluss. Als akute Thrombose wird das Auftreten eines thrombotisch bedingten Verschlusses während oder direkt nach einer Intervention bezeichnet. Subakute Ereignisse werden in den ersten 30 Tagen beobachtet. Kurz nach Stentimplantation ist das Auftreten von Thrombozyten und Fibrin in der Stentumgebung Teil des Heilungsprozesses (64, 136). Der genaue Zeitraum, welcher zur vollständigen Reendothelialisierung benötigt wird, ist nicht bekannt, wird jedoch mit etwa 3 Monaten angegeben (137).

In der gängigen klinischen Praxis zeigen Patienten nach PTCA und Stentimplantation bei zusätzlicher Ticlopidinmedikation selten späte Stentthrombosen. Als Faktor, welcher nach Bestrahlung zu einem vermehrten Auftreten von Thrombosen führt, wird vor allem die verzögerte Reendothelialisierung genannt. Allerdings kann es auch unabhängig von einer Bestrahlungstherapie zu einer LST (Late Stent Thrombosis) kommen. Ursächlich hierfür kann das Überstenten von Ostien und großen Seitenästen, eine Plaquezerreißung im nicht gestenteten Segment nahe dem Stentende oder Stentapplikation bei hauptsächlich nekrotischen und lipidreichen Plaques sein (138).

In unserem Modell kam es bei zwei Tieren zu einem thrombotischen Verschluss in den Koronargefäßen, eines gehörte der Kontrollgruppe an. Auch wenn kein Fall von thrombotischen Verschlüssen in den peripheren Arterien auftrat, so ist dieses Problem auch für Bestrahlung nach femoropoplitealer Stentimplantation beschrieben worden. Wichtig ist hier der zeitliche Zusammenhang zwischen der Reduktion der Thrombozytenaggregationshemmung und dem Auftreten thrombotischer Verschlüsse (139).

### **4.6.3 Ionisierende Strahlung in peripheren Arterien**

Neben den aufgeführten Studien, welche sich mit RT im Koronargefäß befassten, wurden weitere Studien im peripheren Gefäßsystem durchgeführt. Ab 1996 verglich die VIENNA-2 (82, 140) prospektiv und randomisiert die Behandlung von entweder Stenosen über 5 mm oder Restenosen nach femoropoplitealer PTA. In diesem Zusammenhang wurde keine Stentimplantation durchgeführt. Von 113 Patienten erhielten 57 zusätzlich zur PTA 12 Gy über eine Iridium-192-Quelle, die übrigen ein Placebo. Eine deutliche Restenose trat nach 6 Monaten bei 54% der Kontrollgruppe gegenüber 28% nach zusätzlicher RT auf. Allerdings profitierten Diabetiker nicht von der Bestrahlung.

Die Vienna-4 Studie befasste sich mit dem Nutzen der Brachytherapie nach PTA und Stentimplantation in femoropoplitale Arterien (141). Allerdings kam es gehäuft zu späten (>30 Tagen) Stenthrombosen, da Clopidogrel nur für einen Monat verschrieben wurde. Hierin kommt die Problematik zum Ausdruck, dass der chronische Reiz des Fremdmaterials kombiniert mit einer verzögerten Gefäßheilung nach Radiatio zu einer deutlich verlängerten Thrombogenität gegenüber der PTA alleine führte.

### **4.7 Endovaskuläre Therapie in der Arteria carotis**

Anfang der 90er Jahre wurde der Vorteil chirurgischer Therapiemaßnahmen gegenüber alleiniger medikamentöser Therapie bei Stenosen der extrakraniellen Arteria carotis durch die NASCET (North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial (142)) und die ACAS (Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study (143)) gezeigt. In der

NASCET erhielten symptomatische Patienten mit einer Stenose von 70-99% randomisiert entweder eine Endarterektomie mit zusätzlicher medikamentöser Therapie oder eine alleinige medikamentöse Therapie. Entsprechend untersuchte die ACAS die Wertigkeit der chirurgischen Therapie in asymptomatischen Patienten mit Stenosen über 60%.

Wie auch im koronaren Gefäßsystem und bei der Behandlung von Stenosen der Nierenarterien und Gefäßen der unteren Extremität wurde die endovaskuläre Therapie als Alternative zur offenen Chirurgie auch in der Carotis evaluiert. Unter anderem zeigte die im Jahr 2001 veröffentlichte CAVATAS (Carotid and Vertebral Artery Transluminal Angioplasty Study, (144)) keine relevanten Unterschiede zwischen Endarterektomie und PTA (in 26% mit zusätzlicher Stentimplantation) nach 4 Jahren Beobachtungszeitraum. Eingeschlossen wurden hier sowohl symptomatische als auch asymptomatische Patienten, welche beiden Therapien zugeführt werden konnten, somit keine Kontraindikation für einen chirurgischen Eingriff bestand. Folgen wie Schlaganfall oder Tod traten nach 30 Tagen bei 6,4% nach CAS (Carotid Angioplasty and Stenting) gegenüber 5,9% nach CEA (Carotid Endarterectomy) auf. Im Beobachtungszeitraum über 1 Jahr wurden schwere ipsilaterale Stenosen (70-99%) nach CAS in 14% und nach CEA in 4% der Fälle beobachtet. Bezogen auf das Auftreten gleichzeitiger Schlaganfälle ergab sich über 3 Jahre kein signifikanter Unterschied. Die Weiterentwicklung der SSCA (Stent Supported Carotid Angioplasty) sowie die Verwendung von Systemen zur Prävention embolischer Komplikationen führten zu einer momentan weiter steigenden Zahl an Interventionen in diesem Gefäßbereich. Als Studie an Hochrisiko-Patienten untersuchte die SAPHIRE (Stenting and Angioplasty with Protection in Patients at High Risk for Endarterectomy (145)) Studie das Auftreten von kardiovaskulären Komplikationen nach einem Jahr bei 334 Patienten. Als Therapie wurde hier randomisiert die Implantation eines Nitinol-Stents zusammen mit der Anwendung des AngioGuard-Protektionssystems oder die chirurgische Endarterektomie durchgeführt. Nach einem Jahr zeigten sich kardiovaskuläre Ereignisse mit einer kumulativen Inzidenz von 12,2% im Falle der CAS-Gruppe gegenüber 20,1% im chirurgisch therapierten Studienarm.

Insgesamt stellt die Restenosierung der genannten Gefäße nach den momentan vorliegenden Ergebnissen keine relevante Limitation dar. Außerdem zeigen die verwendeten Nitinol-Stents in einem anderen Gefäßabschnitt mit hohen mechanischen Belastungen wie der Arteria femoralis gute Ergebnisse, sodass auch hier entsprechende Ergebnisse zu erwarten sind. Allerdings muss davon ausgegangen werden, dass mit steigendem Einsatz der CAS auch vereinzelte Restenosen auftreten werden. Da es sich um einen sensiblen Versorgungsbereich handelt, müssen die Therapieformen hier sorgfältig gewählt werden. Neben der Anwendung von Medikamenten-freisetzenden Stents könnte bei schwierigen Restenosen möglicherweise eine gezielte Bestrahlung durchgeführt werden.

Eine wichtige Beobachtung aus der vorliegenden Studie ist in diesem Zusammenhang neben der vermehrten Intimafläche nach Radiatio die mechanische Verbiegung der Stents durch die ausgeprägte adventitielle Fibrose. Diese umfasste auch die vasa vasorum und die nervalen Strukturen, was bei der Überlegung der intravaskulären Brachytherapie, aber auch bei der Strahlentherapie maligner Erkrankungen im Halsbereich bei Patienten mit bereits gestenteten Carotiden berücksichtigt werden sollte.

### **4.8 Schlussfolgerungen**

Sowohl im Kaninchenmodell als auch im Schwein konnte ein hemmender Einfluß von  $\beta$ -Bestrahlung auf die Neointimabildung nach Stentimplantation beobachtet werden. Allerdings kommt es im Falle niedriger Dosen zu diffuser Restenose sowie bei höherer Dosis zu an den Stentenden lokalisierten Verengungen. Diese Aussagen decken sich mit den in der vorliegenden Studie gemachten Beobachtungen. Auch hier zeigte sich angiographisch ein teils sehr deutlich ausgebildeter Kanteneffekt.

Als Folge der Bestrahlung war sowohl im peripheren als auch im koronaren Gefäß eine Heilungsverzögerung sowie eine deutliche Ausdünnung der Media und zunehmende Fibrose im adventitiellen Bindegewebe zu verzeichnen. Diese Effekte waren aufgrund der hohen Dosen in den Carotiden (bis 470 Gy im Abstand von 0,5 mm von den Stentstreben) sehr deutlich ausgeprägt und führten zu einer makroskopisch erkennbaren Deformierung der verwendeten Stahlstents.

Neben der Variation der Dosis wurden in der Vergangenheit Modifikationen wie beispielsweise radioaktive Stents mit „heißen“ und „kalten“ Enden untersucht, ohne das Problem des „Candy-Wrappers“ beseitigen zu können. Aufgrund der Hypothese, dass nicht allein die applizierte Dosis, sondern vielmehr die Veränderung der Halbwertszeit und Eindringtiefe einen „Candy-Wrapper“ verhindern könnte, wurde das Isotop Rhenium-186 als Beschichtung gewählt. Im Gegensatz zu den guten Resultaten des Kaninchenmodells (81) konnte die Beschichtung im vorliegenden Versuchsdesign jedoch weder eine Verminderung der Neointimabildung in der Stentmitte bewirken noch den Edge-Effekt verhindern.

Eine primäre Prophylaxe der Restenose erscheint also auch für Rhenium-186 auf der Basis der vorliegenden Ergebnisse nicht gerechtfertigt. Allerdings könnte die katheterbasierte Bestrahlung und die Afterloadingtherapie auch im Zeitalter der immer besser werdenden Drug-Eluting-Stents zur Behandlung von Restenosen weiterhin eine Therapieoption darstellen, wenngleich nicht im ursprünglich erwarteten Ausmaß.

### **5 Zusammenfassung**

Abhängig von der Lokalisation besteht beim Einsatz von Stents weiterhin das Problem der Restenose. Die intravaskuläre Strahlentherapie hat sich in Tiermodellen wie in klinischen Studien als Möglichkeit zur Verringerung intimaler Hyperplasie nach Stentimplantation erwiesen. Im Falle der Applikationsform über einen radioaktiven Stent sind jedoch bisher keine durchgreifenden Erfolge erzielt worden. Rhenium-186 als Stentbeschichtung zu evaluieren, war Ziel dieser Studie. Zusätzlich wurde der Einsatz eines  $\beta$ -Strahlers in einem großlumigen Gefäß, der Arteria carotis untersucht.

17 Minipigs wurden mit jeweils 2 peripheren und 2 Koronarstents behandelt. Die Gefäßschädigung als Proliferationsreiz erfolgte durch Ballonschädigung. Die Aktivitäten der Stents betragen im Mittel 10,86 MBq im RIVA, 17,77 MBq im RCX und 10,67 MBq, 77,56 MBq, sowie 136 MBq in den Carotiden. 8 Wochen post interventionem erfolgte eine angiographische Darstellung der Gefäße, nach weiteren 4 Wochen wurden die Präparate entnommen.

Die bestrahlten Koronargefäße zeigten eine teilweise deutlich vermehrte Neointima, ähnlich auch die mittlere Dosisgruppe der Carotiden. Der fibrotische Umbau in der Adventitia war in allen bestrahlten Gefäßen deutlich ausgeprägter. Eine Reduktion der Zellkerndichte in der Tunica media durch Bestrahlung wurde in den Koronarien beobachtet, in den Carotiden am deutlichsten bei hoher Gesamtdosis. Insbesondere der RIVA zeigte eine vermehrte Entzündungsreaktion nach Radiatio. Die Angiographie ergab für den über die Stentstrecke gemittelten Durchmesser weder in den Koronargefäßen, noch in den Carotiden signifikante Unterschiede. Allerdings fand sich eine deutliche Stenose der Stentenden nach Radiatio. Histopathologisch war die Bestrahlung mit einer verzögerten Gefäßheilung verbunden.

Ähnliche Beobachtungen wurden von anderen Arbeitsgruppen auch bei der Verwendung von Phosphor-32 gemacht. Das im vorliegenden Versuch zur Stentbeschichtung verwendete Isotop Rhenium-186 war bei den hohen Gesamtdosen nicht in der Lage, gegenüber der Kontrollgruppe nachhaltig die intimale Hyperplasie zu reduzieren. Ferner kam es auch in unserem Versuch zu einem „Candy-Wrapper“.

## **6 Literaturverzeichnis**

- (1) Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med* 1976;295:369-77.
- (2) Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). *N Engl J Med* 1976;295:420-5.
- (3) De Caterina R, Basta G, Madonna R, Statile D, Zimarino M, Gallina S, Procopio AD. Endothelial cell transfections: a way for studying promoter activity of genes involved in atherogenesis. *Ital Heart J* 2000;1 Suppl 3:S55-S58.
- (4) Anitschkow N. Über die Veränderungen der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. *Beitr Pathol Anat* 1913;56:379-404.
- (5) Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:551-61.
- (6) Bhakdi S. Pathogenesis of atherosclerosis: infectious versus immune pathogenesis. A new concept. *Herz* 2000;25:84-6.
- (7) Bhakdi S, Torzewski M, Klouche M, Hemmes M. Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2348-54.
- (8) Nilsson J, Calara F, Regnstrom J, Hultgardh-Nilsson A, Ameli S, Cercek B, Shah PK. Immunization with homologous oxidized low density lipoprotein reduces neointimal formation after balloon injury in hypercholesterolemic rabbits. *J Am Coll Cardiol* 1997;30:1886-91.
- (9) Boullier A, Bird DA, Chang MK, Dennis EA, Friedman P, Gillotre-Taylor K, Horkko S, Palinski W, Quehenberger O, Shaw P, Steinberg D, Terpstra V. Scavenger receptors, oxidized LDL, and atherosclerosis. *Ann N Y Acad Sci* 2001;947:214-22.
- (10) Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995;92:3893-7.
- (11) Shah PK. Mechanisms of plaque vulnerability and rupture. *J Am Coll Cardiol* 2003;41(4 Suppl S):15S-22S.
- (12) Kannel WB. The Framingham study. *Br Med J* 1976;2:1255.
- (13) Austin RC, Lentz SR, Werstuck GH. Role of hyperhomocysteinemia in endothelial dysfunction and atherothrombotic disease. *Cell Death Differ* 2004;11(Suppl 1):S56-S64.
- (14) Goldman L, Hashimoto B, Cook EF, Loscalzo A. Comparative reproducibility and validity of systems for assessing cardiovascular functional class: advantages of a new specific activity scale. *Circulation* 1981;64:1227-34.

- (15) Weitz JI, Byrne J, Clagett GP, Farkouh ME, Porter JM, Sackett DL, Strandness DEJ, Taylor LM. Diagnosis and treatment of chronic arterial insufficiency of the lower extremities: a critical review. *Circulation* 1996;94:3026-49.
- (16) Rutherford RB, Baker JD, Ernst C, Johnston KW, Porter JM, Ahn S, Jones DN. Recommended standards for reports dealing with lower extremity ischemia: revised version. *J Vasc Surg* 1997;26:517-38.
- (17) Comerota AJ. Endovascular and surgical revascularization for patients with intermittent claudication. *Am J Cardiol* 2001;87:34D-43D.
- (18) Mahler F. History of percutaneous transluminal angioplasty (PTA). *Vasa* 1986;15:329-34.
- (19) Dotter CT, Judkins MP. Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction. Description of a new technic and a preliminary report of its application. *Circulation* 1964;30:654-70.
- (20) Gruntzig A, Hirzel H, Goebel N, Gattiker R, Turina M, Myler R, Stertz S, Kaltenbach M. Percutaneous transluminal dilatation of chronic coronary stenoses. First experiences. *Schweiz Med Wochenschr* 1978;108:1721-3.
- (21) Hamm CW, Reimers J, Ischinger T, Rupprecht HJ, Berger J, Bleifeld W. A randomized study of coronary angioplasty compared with bypass surgery in patients with symptomatic multivessel coronary disease. German Angioplasty Bypass Surgery Investigation (GABI). *N Engl J Med* 1994;331:1037-43.
- (22) Coronary angioplasty versus coronary artery bypass surgery: the Randomized Intervention Treatment of Angina (RITA) trial. *Lancet* 1993;341:573-80.
- (23) First-year results of CABRI (Coronary Angioplasty versus Bypass Revascularisation Investigation). CABRI Trial Participants. *Lancet* 1995;346:1179-84.
- (24) Comparison of coronary bypass surgery with angioplasty in patients with multivessel disease. The Bypass Angioplasty Revascularization Investigation (BARI) Investigators. *N Engl J Med* 1996;335:217-25.
- (25) King SB, Lembo NJ, Weintraub WS, Kosinski AS, Barnhart HX, Kutner MH, Alazraki NP, Guyton RA, Zhao XQ. A randomized trial comparing coronary angioplasty with coronary bypass surgery. Emory Angioplasty versus Surgery Trial (EAST). *N Engl J Med* 1994;331:1044-50.
- (26) Rodriguez A, Bouillon F, Perez-Balino N, Paviotti C, Liprandi MI, Palacios IF. Argentine randomized trial of percutaneous transluminal coronary angioplasty versus coronary artery bypass surgery in multivessel disease (ERACI): in-hospital results and 1-year follow-up. ERACI Group. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:1060-7.
- (27) Califf RM. Evaluating the costs and effectiveness of cardiovascular therapies: who cares about economic analyses? *Stat Med* 2002;21:2889-97.
- (28) Becker GJ, Katzen BT, Dake MD. Noncoronary angioplasty. *Radiology* 1989;170:921-40.

- (29) Tetteroo E, van der Graaf Y, Bosch JL, van Engelen AD, Hunink MG, Eikelboom BC, Mali WP. Randomised comparison of primary stent placement versus primary angioplasty followed by selective stent placement in patients with iliac-artery occlusive disease. Dutch Iliac Stent Trial Study Group. *Lancet* 1998;351:1153-9.
- (30) Dotter CT, Buschmann RW, McKinney MK, Rosch J. Transluminal expandable nitinol coil stent grafting: preliminary report. *Radiology* 1983;147:259-60.
- (31) Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med* 1987;316:701-6.
- (32) Palmaz JC, Sibbitt RR, Reuter SR, Tio FO, Rice WJ. Expandable intraluminal graft: a preliminary study. Work in progress. *Radiology* 1985;156:73-7.
- (33) Savage MP, Fischman DL, Rake R, Leon MB, Schatz RA, Penn I, Nobuyoshi M, Moses J, Hirshfeld J, Heuser R, Baim D, Cleman M, Brinker J, Gebhardt S, Goldberg S. Efficacy of coronary stenting versus balloon angioplasty in small coronary arteries. Stent Restenosis Study (STRESS) Investigators. *J Am Coll Cardiol* 1998;31:307-11.
- (34) Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *N Engl J Med* 1994;331:489-95.
- (35) Beyar R. Novel approaches to reduce restenosis. *Ann N Y Acad Sci* 2004;1015:367-78.
- (36) Topol EJ, Serruys PW. Frontiers in interventional cardiology. *Circulation* 1998;98:1802-20.
- (37) Gray BH, Olin JW. Limitations of percutaneous transluminal angioplasty with stenting for femoropopliteal arterial occlusive disease. *Semin Vasc Surg* 1997;10:8-16.
- (38) Leimgruber PP, Roubin GS, Hollman J, Cotsonis GA, Meier B, Douglas JS, King SBJ, Gruentzig AR. Restenosis after successful coronary angioplasty in patients with single-vessel disease. *Circulation* 1986;73:710-7.
- (39) Califf RM, Fortin DF, Frid DJ, Harlan WR, Ohman EM, Bengtson JR, Nelson CL, Tchong JE, Mark DB, Stack RS. Restenosis after coronary angioplasty: an overview. *J Am Coll Cardiol* 1991;17(6 Suppl B):2B-13B.
- (40) Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M. A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med* 1994;331:496-501.
- (41) Kastrati A, Mehilli J, Dirschinger J, Pache J, Ulm K, Schühlen H, Seyfarth M, Schmitt C, Blasini R, Neumann FJ, Schomig A. Restenosis after coronary placement of various stent types. *Am J Cardiol* 2001;87:34-9.

- (42) Galaria II, Davies MG. Percutaneous transluminal revascularization for iliac occlusive disease: long-term outcomes in TransAtlantic Inter-Society Consensus A and B lesions. *Ann Vasc Surg* 2005;19:352-60.
- (43) Dormandy JA, Rutherford RB. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC). *J Vasc Surg* 2000;31(1 Pt 2):S1-S296
- (44) Kudo T, Chandra FA, Ahn SS. The effectiveness of percutaneous transluminal angioplasty for the treatment of critical limb ischemia: a 10-year experience. *J Vasc Surg* 2005;41:423-35.
- (45) Sabeti S, Schillinger M, Amighi J, Sherif C, Mlekusch W, Ahmadi R, Minar E. Primary patency of femoropopliteal arteries treated with nitinol versus stainless steel self-expanding stents: propensity score-adjusted analysis. *Radiology* 2004;232:516-21.
- (46) Thierry B, Merhi Y, Bilodeau L, Trepanier C, Tabrizian M. Nitinol versus stainless steel stents: acute thrombogenicity study in an ex vivo porcine model. *Biomaterials* 2002;23:2997-3005.
- (47) Scheinert D, Scheinert S, Sax J, Piorkowski C, Braunlich S, Ulrich M, Biamino G, Schmidt A. Prevalence and clinical impact of stent fractures after femoropopliteal stenting. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:312-5.
- (48) Popma JJ, Berger P, Ohman EM, Harrington RA, Grines C, Weitz JI. Antithrombotic therapy during percutaneous coronary intervention: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest* 2004;126(3 Suppl):576S-99S.
- (49) Haude M, Konorza TF, Kalnins U, Erglis A, Saunamaki K, Glogar HD, Grube E, Gil R, Serra A, Richardt HG, Sick P, Erbel R. Heparin-coated stent placement for the treatment of stenoses in small coronary arteries of symptomatic patients. *Circulation* 2003;107:1265-70.
- (50) Apisarnthanarax S, Chougule P. Intravascular brachytherapy: a review of the current vascular biology. *Am J Clin Oncol* 2003;26:E13-E21.
- (51) Hoffmann R, Mintz GS, Dussaillant GR, Popma JJ, Pichard AD, Satler LF, Kent KM, Griffin J, Leon MB. Patterns and mechanisms of in-stent restenosis. A serial intravascular ultrasound study. *Circulation* 1996;94:1247-54.
- (52) Garratt KN, Edwards WD, Kaufmann UP, Vlietstra RE, Holmes DRJ. Differential histopathology of primary atherosclerotic and restenotic lesions in coronary arteries and saphenous vein bypass grafts: analysis of tissue obtained from 73 patients by directional atherectomy. *J Am Coll Cardiol* 1991;17:442-8.
- (53) Costa MA, Simon DI. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. *Circulation* 2005;111:2257-73.
- (54) Farb A, Kolodgie FD, Hwang JY, Burke AP, Tefera K, Weber DK, Wight TN, Virmani R. Extracellular matrix changes in stented human coronary arteries. *Circulation* 2004;110:940-7.

- (55) Schwartz RS, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vliestra RE, Holmes DR. Restenosis after balloon angioplasty. A practical proliferative model in porcine coronary arteries. *Circulation* 1990;82:2190-200.
- (56) Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, Holmes DR. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. *J Am Coll Cardiol* 1992;19:267-74.
- (57) Dangas G, Fuster V. Management of restenosis after coronary intervention. *Am Heart J* 1996;132(2 Pt 1):428-36.
- (58) Casscells W. Migration of smooth muscle and endothelial cells. Critical events in restenosis. *Circulation* 1992;86:723-9.
- (59) Chandrasekar B, Tanguay JF. Platelets and restenosis. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:555-62.
- (60) Hofma SH, Whelan DM, van-Beusekom HM, Verdouw PD, van-der-Giessen WJ. Increasing arterial wall injury after long-term implantation of two types of stent in a porcine coronary model. *Eur Heart J* 1998;19:601-9.
- (61) Edelman ER, Rogers C. Pathobiologic responses to stenting. *Am J Cardiol* 1998;81(7A):4E-6E.
- (62) Wilcox JN, Waksman R, King SB, Scott NA. The role of the adventitia in the arterial response to angioplasty: the effect of intravascular radiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;36:789-96.
- (63) Shi Y, Patel S, Niculescu R, Chung W, Desrochers P, Zalewski A. Role of matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in the regulation of coronary cell migration. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1150-5.
- (64) Carter AJ, Laird JR, Farb A, Kufs W, Wortham DC, Virmani R. Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1398-405.
- (65) Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U, Russell ME. TAXUS I: six- and twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions. *Circulation* 2003;107:38-42.
- (66) Kovalic JJ, Perez CA. Radiation therapy following keloidectomy: a 20-year experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1989;17:77-80.
- (67) Fingerroth RJ, Ahmed AQ. Single dose 6 Gy prophylaxis for heterotopic ossification after total hip arthroplasty. *Clin Orthop Relat Res* 1995;317:131-40.
- (68) Rodemann HP, Bamberg M. Cellular basis of radiation-induced fibrosis. *Radiother Oncol* 1995;35:83-90.
- (69) Langberg CW, Hauer-Jensen M, Sung CC, Kane CJ. Expression of fibrogenic cytokines in rat small intestine after fractionated irradiation. *Radiother Oncol* 1994;32:29-36.

- (70) Miltenyi Z, Keresztes K, Garai I, Edes I, Galajda Z, Toth L, Illes A. Radiation-induced coronary artery disease in Hodgkin's disease. *Cardiovasc Radiat Med* 2004;5:38-43.
- (71) Ahuja A, Blatt GL, Guterman LR, Hopkins LN. Angioplasty for symptomatic radiation-induced extracranial carotid artery stenosis: case report. *Neurosurgery* 1995;36:399-403.
- (72) Cheneau E, John MC, Fournadjiev J, Chan RC, Kim HS, Leborgne L, Pakala R, Yazdi H, Ajani AE, Virmani R, Waksman R. Time course of stent endothelialization after intravascular radiation therapy in rabbit iliac arteries. *Circulation* 2003;107:2153-8.
- (73) Friedman M, Felton L, Byers S. The antiatherogenic effect of iridium-192 upon the cholesterol-fed rabbit. *J Clin Invest* 1964;43:185-92.
- (74) Liermann D, Berkefeld J, Herrmann G, Schopohl B, Strassmann G, Adamitz I, Kollath J. Intervention und Klinik im Zusammenhang mit der endovaskulären Radiatio intimaler Hyperplasien im Gefäßsystem. *Radiologe* 1994;34:524-33.
- (75) Brenner DJ, Miller RC. Long-term efficacy of intracoronary irradiation in inhibiting in-stent restenosis. *Circulation* 2001;103:1330-2.
- (76) Wiskirchen J, Dittmann H, Gebert R, Burgbacher B, Betsch A, Schober W, Johst U, Dohmen BM, Kehlbach R, Rodemann HP, Bares R, Duda SH. Dosisabhängige Auswirkungen des kombinierten beta/gamma Emitters Rhenium186 auf das Wachstum humaner Gefasswandzellen. *Rofo Fortschr Geb Rontgenstr Neuen Bildgeb Verfahr* 2001;173:72-6.
- (77) Carter AJ, Scott D, Bailey L, Hoopes T, Jones R, Virmani R. Dose-response effects of <sup>32</sup>P radioactive stents in an atherosclerotic porcine coronary model. *Circulation* 1999;100:1548-54.
- (78) Di Mario C, Albiero R, Nishida T, Colombo A. Radioactive Stents--A Dead End? *Curr Interv Cardiol Rep* 2000;2:87-8.
- (79) Wardeh AJ, Kay IP, Sabate M, Coen VL, Gijzel AL, Ligthart JM, den Boer A, Levendag PC, van der Giessen WJ, Serruys PW. beta-Particle-emitting radioactive stent implantation. A safety and feasibility study. *Circulation* 1999;100:1684-9.
- (80) Albiero R, Adamian M, Kobayashi N, Amato A, Vaghetti M, Di-Mario C, Colombo A. Short- and intermediate-term results of (<sup>32</sup>P) radioactive beta-emitting stent implantation in patients with coronary artery disease: The Milan Dose-Response Study. *Circulation* 2000;101:18-26.
- (81) Tepe G, Dinkelborg LM, Brehme U, Muschick P, Noll B, Dietrich T, Greschniok A, Baumbach A, Claussen CD, Duda SH. Prophylaxis of restenosis with (<sup>186</sup>re)-labeled stents in a rabbit model. *Circulation* 2001;104:480-5.
- (82) Minar E, Pokrajac B, Maca T, Ahmadi R, Fellner C, Mittlbock M, Seitz W, Wolfram R, Potter R. Endovascular brachytherapy for prophylaxis of restenosis after femoropopliteal angioplasty : results of a prospective randomized study. *Circulation* 2000;102:2694-9.

- (83) Minar E, Schillinger M. Endovascular irradiation after femoropopliteal angioplasty. *Radiology* 2004;233:935-6.
- (84) Bonan R, Meerkin D, Bertrand O. Geographic miss: what is it? *J Invasive Cardiol* 1999;11:749-56.
- (85) Amols HI, Trichter F, Weinberger J. Intracoronary radiation for prevention of restenosis: dose perturbations caused by stents. *Circulation* 1998;98:2024-9.
- (86) Hehrlein C, Gollan C, Donges K, Metz J, Riessen R, Fehsenfeld P, von-Hodenberg E, Kubler W. Low-dose radioactive endovascular stents prevent smooth muscle cell proliferation and neointimal hyperplasia in rabbits. *Circulation* 1995;92:1570-5.
- (87) Bertrand OF, Mongrain R, Thorin E, Lehnert S. Effects of low-dose-rate beta-irradiation on vascular smooth muscle cells: comparison with high-dose-rate exposure. *Cardiovasc Radiat Med* 1999;1:125-30.
- (88) Verin V, Urban P, Popowski Y, Schwager M, Nouet P, Dorsaz PA, Chatelain P, Kurtz JM, Rutishauser W. Feasibility of intracoronary beta-irradiation to reduce restenosis after balloon angioplasty. A clinical pilot study. *Circulation* 1997;95:1138-44.
- (89) Mazur W, Ali MN, Khan MM, Dabaghi SF, DeFelice CA, Paradis P, Butler EB, Wright AE, Fajardo LF, French BA, Raizner AE. 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. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1996;36:777-88.
- (90) Virmani R, Farb A, Carter AJ, Jones RM. Comparative pathology: radiation-induced coronary artery disease in man and animals. *Semin Interv Cardiol* 1998;3:163-72.
- (91) Narayanaswamy M, Wright KC, Kandarpa K. Animal models for atherosclerosis, restenosis, and endovascular graft research. *J Vasc Interv Radiol* 2000;11:5-17.
- (92) Breslow JL. Mouse models of atherosclerosis. *Science* 1996;272:685-8.
- (93) Ferns GA, Avades TY. The mechanisms of coronary restenosis: insights from experimental models. *Int J Exp Pathol* 2000;81:63-88.
- (94) Indolfi C, Esposito G, Di-Lorenzo E, Rapacciuolo A, Feliciello A, Porcellini A, Avvedimento VE, Condorelli M, Chiariello M. Smooth muscle cell proliferation is proportional to the degree of balloon injury in a rat model of angioplasty. *Circulation* 1995;92:1230-5.
- (95) Ferns GA, Raines EW, Sprugel KH, Motani AS, Reidy MA, Ross R. Inhibition of neointimal smooth muscle accumulation after angioplasty by an antibody to PDGF. *Science* 1991;253:1129-32.
- (96) Clowes AW, Reidy MA, Clowes MM. Mechanisms of stenosis after arterial injury. *Lab Invest* 1983;49:208-15.
- (97) Tall AR. Plasma lipid transfer proteins. *J Lipid Res* 1986;27:361-7.

- (98) Groves HM, Kinlough-Rathbone RL, Richardson M, Moore S, Mustard JF. Platelet interaction with damaged rabbit aorta. *Lab Invest* 1979;40:194-200.
- (99) Watanabe Y. Serial inbreeding of rabbits with hereditary hyperlipidemia (WHHL-rabbit). *Atherosclerosis* 1980;36:261-8.
- (100) Ratcliffe HL, Luginbuhl H. The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1971;13:133-6.
- (101) Schwartz RS, Edwards WD, Bailey KR, Camrud AR, Jorgenson MA, Holmes-DR J. Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs. Implications for restenosis models. *Arterioscler Thromb* 1994;14:395-400.
- (102) Post MJ, de Smet BJ, van der Helm Y, Borst C, Kuntz RE. Arterial remodeling after balloon angioplasty or stenting in an atherosclerotic experimental model. *Circulation* 1997;96:996-1003.
- (103) Karas SP, Gravanis MB, Santoian EC, Robinson KA, Anderberg KA, King SB. Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine: an animal model of restenosis. *J Am Coll Cardiol* 1992;20:467-74.
- (104) Schwartz RS, Edwards WD, Huber KC, Antoniades LC, Bailey KR, Camrud AR, Jorgenson MA, Holmes DRJ. Coronary restenosis: prospects for solution and new perspectives from a porcine model. *Mayo Clin Proc* 1993;68:54-62.
- (105) Fajardo LF, Berthrong M. Vascular lesions following radiation. *Pathol Annu* 1988;23:297-330.
- (106) Virmani R, Farb A, Carter AJ, Jones RM. Pathology of radiation-induced coronary artery disease in human and pig. *Cardiovasc Radiat Med* 1999;1:98-101.
- (107) Coussement PK, De Leon H, Ueno T, Salame MY, King SB, Chronos NA, Robinson KA. Intracoronary beta-radiation exacerbates long-term neointima formation in balloon-injured pig coronary arteries. *Circulation* 2001;104:2459-64.
- (108) Virmani R, Kolodgie FD, Farb A, Lafont A. Drug eluting stents: are human and animal studies comparable? *Heart* 2003;89:133-8.
- (109) Fischell TA, Virmani R. Intracoronary brachytherapy in the porcine model: a different animal. *Circulation* 2001;104:2388-90.
- (110) Condado JA, Waksman R, Gurdiel O, Espinosa R, Gonzalez J, Burger B, Villoria G, Acquatella H, Crocker IR, Seung KB, Liprie SF. Long-term angiographic and clinical outcome after percutaneous transluminal coronary angioplasty and intracoronary radiation therapy in humans. *Circulation* 1997;96:727-32.
- (111) Wiedermann JG, Marboe C, Amols H, Schwartz A, Weinberger J. Intracoronary irradiation markedly reduces restenosis after balloon angioplasty in a porcine model. *J Am Coll Cardiol* 1994;23:1491-8.

- (112) Hehrlein C, Stintz M, Kinscherf R, Schlosser K, Huttel E, Friedrich L, Fehsenfeld P, Kubler W. Pure beta-particle-emitting stents inhibit neointima formation in rabbits. *Circulation* 1996;93:641-5.
- (113) Farb A, Tang AL, Shroff S, Sweet W, Virmani R. Neointimal responses 3 months after (32)P beta-emitting stent placement. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;48:889-98.
- (114) Rogers C, Parikh S, Seifert P, Edelman ER. Endogenous cell seeding. Remnant endothelium after stenting enhances vascular repair. *Circulation* 1996;94:2909-14.
- (115) Farb A, Shroff S, John M, Sweet W, Virmani R. Late arterial responses (6 and 12 months) after (32)P beta-emitting stent placement: sustained intimal suppression with incomplete healing. *Circulation* 2001;103:1912-9.
- (116) Wilczek K, Walichiewicz P, Petelenz B, Jache W, Jochem J, Tomasik A, Bilski P, Sniatura M, Wodniecki J. Post-stenting intravascular brachytherapy trials on hypercholesterolemic rabbits using 32P liquid sources: implications for prevention of in-stent restenosis. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2002;25:307-13.
- (117) Hehrlein C, Kaiser S, Riessen R, Metz J, Fritz P, Kubler W. External beam radiation after stent implantation increases neointimal hyperplasia by augmenting smooth muscle cell proliferation and extracellular matrix accumulation. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:561-6.
- (118) Wiedermann JG, Marboe C, Amols H, Schwartz A, Weinberger J. Intracoronary irradiation markedly reduces neointimal proliferation after balloon angioplasty in swine: persistent benefit at 6-month follow-up. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1451-6.
- (119) Carter AJ, Laird JR, Bailey LR, Hoopes TG, Farb A, Fischell DR, Fischell RE, Fischell TA, Virmani R. Effects of endovascular radiation from a beta-particle-emitting stent in a porcine coronary restenosis model. A dose-response study. *Circulation* 1996;94:2364-8.
- (120) Carter AJ, Jenkins S, Sweet W, Bailey L, Jones R, Fischell TA, Virmani R. Dose and dose rate effects of beta-particle emitting radioactive stents in a porcine model of restenosis. *Cardiovasc Radiat Med* 1999;1:327-35.
- (121) Schulz C, Niederer C, Andres C, Herrmann RA, Lin X, Henkelmann R, Panzer W, Herrmann C, Regulla DF, Wolf I, Ulm K, Alt E. Endovascular irradiation from beta-particle-emitting gold stents results in increased neointima formation in a porcine restenosis model. *Circulation* 2000;101:1970-5.
- (122) Feres F, Munoz J, Abizaid A, Staico R, Kuwabara M, Mattos L, Centemero M, Maldonado G, Albertal M, Vaz VD, Ferreira E, Tanajura LF, Chaves A, Sousa A, Sousa JE. Angiographic and intravascular ultrasound findings of the late catch-up phenomenon after intracoronary beta-radiation for the treatment of in-stent restenosis. *J Invasive Cardiol* 2005;17:473-7.
- (123) Marijianowski MM, Crocker IR, Styles T, Forestner DM, Waksman R, Cipolla GD, King SB, Robinson KA. Fibrocellular tissue responses to endovascular and

- external beam irradiation in the porcine model of restenosis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1999;44:633-41.
- (124) Riessen R, Isner JM, Blessing E, Loushin C, Nikol S, Wight TN. Regional differences in the distribution of the proteoglycans biglycan and decorin in the extracellular matrix of atherosclerotic and restenotic human coronary arteries. *Am J Pathol* 1994;144:962-74.
- (125) Wight TN, Lara S, Riessen R, Le Baron R, Isner J. Selective deposits of versican in the extracellular matrix of restenotic lesions from human peripheral arteries. *Am J Pathol* 1997;151:963-73.
- (126) Kollum M, Cottin Y, Chan RC, Kim HS, Bhargava B, Vodovotz Y, Waksman R. Delayed re-endothelialization and T-cell infiltration following intracoronary radiation therapy in the porcine model. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2001;50:495-501.
- (127) Waksman R. Late thrombosis after radiation. Sitting on a time bomb. *Circulation* 1999;100:780-2.
- (128) Waksman R, Bhargava B, Leon MB. Late thrombosis following intracoronary brachytherapy. *Catheter Cardiovasc Interv* 2000;49:344-7.
- (129) Teirstein PS, Massullo V, Jani S, Popma JJ, Mintz GS, Russo RJ, Schatz RA, Guarneri EM, Steuterman S, Morris NB, Leon MB, Tripuraneni P. Catheter-based radiotherapy to inhibit restenosis after coronary stenting. *N Engl J Med* 1997;336:1697-703.
- (130) Waksman R. Vascular brachytherapy: update on clinical trials. *J Invasive Cardiol* 2000;12(Suppl A):18A-28A.
- (131) Waksman R, Bhargava B, White L, Chan RC, Mehran R, Lansky AJ, Mintz GS, Satler LF, Pichard AD, Leon MB, Kent KK. Intracoronary beta-radiation therapy inhibits recurrence of in-stent restenosis. *Circulation* 2000;101:1895-8.
- (132) Serruys PW, Sianos G, van der Giessen WJ, Bonnier HJ, Urban P, Wijns W, Benit E, Vandormael M, Dorr R, Disco C, Debbas N, Silber S. Intracoronary beta-radiation to reduce restenosis after balloon angioplasty and stenting; the Beta Radiation In Europe (BRIE) study. *Eur Heart J* 2002;23:1351-9.
- (133) Coen VL, Knook AH, Wardeh AJ, van der Giessen WJ, de Pan C, Sipkema D, Marijnissen JP, Sabate M, den Boer A, Serruys PW, Levendag PC. Endovascular brachytherapy in coronary arteries: the Rotterdam experience. *Cardiovasc Radiat Med* 2001;2:42-50.
- (134) van der Giessen WJ, Regar E, Harteveld MS, Coen VL, Bhagwandien R, Au A, Levendag PC, Ligthart J, Serruys PW, den Boer A, Verdouw PD, Boersma E, Hu T, van Beusekom HM. "Edge Effect" of (32)p radioactive stents is caused by the combination of chronic stent injury and radioactive dose falloff. *Circulation* 2001;104:2236-41.
- (135) Wardeh AJ, Albiero R, Kay IP, Knook AH, Wijns W, Kozuma K, Nishida T, Ferrero V, Levendag PC, van der Giessen WJ, Colombo A, Serruys PW.

- Angiographical follow-up after radioactive "Cold Ends" stent implantation: a multicenter trial. *Circulation* 2002;105:550-3.
- (136) Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, Virmani R. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation* 1999;99:44-52.
- (137) Grewe PH, Thomas D, Machraoui A, Barmeyer J, Muller KM. Coronary morphologic findings after stent implantation. *Am J Cardiol* 2000;85:554-8.
- (138) Farb A, Burke AP, Kolodgie FD, Virmani R. Pathological mechanisms of fatal late coronary stent thrombosis in humans. *Circulation* 2003;108:1701-6.
- (139) Bonvini R, Baumgartner I, Do DD, Alerci M, Segatto JM, Tutta P, Jager K, Aschwanden M, Schneider E, Amann-Vesti B, Greiner R, Mahler F, Gallino A. Late acute thrombotic occlusion after endovascular brachytherapy and stenting of femoropopliteal arteries. *J Am Coll Cardiol* 2003;41:409-12.
- (140) Pokrajac B, Potter R, Maca T, Fellner C, Mittlbock M, Ahmadi R, Seitz W, Minar E. Intraarterial (192)Ir high-dose-rate brachytherapy for prophylaxis of restenosis after femoropopliteal percutaneous transluminal angioplasty: the prospective randomized Vienna-2-trial radiotherapy parameters and risk factors analysis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000;48:923-31.
- (141) Wolfram RM, Pokrajac B, Ahmadi R, Fellner C, Gyongyosi M, Haumer M, Bucek R, Potter R, Minar E. Endovascular brachytherapy for prophylaxis against restenosis after long-segment femoropopliteal placement of stents: initial results. *Radiology* 2001;220:724-9.
- (142) Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial Collaborators. *N Engl J Med* 1991;325:445-53.
- (143) Endarterectomy for asymptomatic carotid artery stenosis. Executive Committee for the Asymptomatic Carotid Atherosclerosis Study. *JAMA* 1995;273:1421-8.
- (144) Endovascular versus surgical treatment in patients with carotid stenosis in the Carotid and Vertebral Artery Transluminal Angioplasty Study (CAVATAS): a randomised trial. *Lancet* 2001;357:1729-37.
- (145) Yadav JS, Wholey MH, Kuntz RA, Fayad P, Katzen B, Mishkel G.J., Bajwa TK, Whitlow P, Strickman NE, Jaff MR, Popma JJ, Snead DB, Cutlip DE, Firth BG, Ouriel K. Protected carotid-artery stenting versus endarterectomy in high-risk patients. *N Engl J Med* 2004;351:1493-501.

### **7 Danksagung**

Zunächst möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Claussen für die Möglichkeit bedanken, diese Arbeit in der Abteilung für Radiologische Diagnostik durchzuführen zu können.

Ganz herzlich danke ich meinem Doktorvater, Privatdozent Dr. Tepe, für die freundliche Überlassung des Themas sowie die Unterstützung in allen Stadien der Arbeit und die anregenden wissenschaftlichen Gespräche.

Das vorliegende Tierexperiment wurde in Zusammenarbeit mit der Schering AG Berlin durchgeführt. Ich danke Herrn Dr. Dinkelborg und den Mitarbeitern Research Molecular Imaging and New Fields, insbesondere Herrn Dr. Muschick und Frau Haak für die Kooperation und stets freundliche Unterstützung.

Außerdem bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Schmahl, Leiter des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin, in dessen Einrichtung die Auswertung der Präparate stattfinden konnte.

Ferner gilt mein Dank Frau Dr. Brehme, Institut für Arbeits- und Sozialmedizin, für ihre immer freundliche und hilfreiche Unterstützung bei allen Fragen der Auswertung.

Desweiteren bedanke ich mich bei allen Mitarbeiterinnen des Labors im Institut für Arbeits- und Sozialmedizin, Frau Kaletta, Frau Holz, Frau Glückmann und Frau Schatz für ihre tatkräftige Unterstützung bei der Anfertigung der histologischen Präparate.

Ganz herzlich danke ich Herrn Dr. Janzen vom Institut für Pathologie der Universität Tübingen, der mir bei der histopathologischen Auswertung sehr behilflich war.

Bei Herrn Dr. Eichner vom Institut für Medizinische Biometrie bedanke ich mich herzlich für die ausführliche Beratung in Fragen der statistischen Auswertung.

## 8 Lebenslauf

Name Jörg-Martin Schmehl  
Geboren 3. Februar 1977 in Tübingen

### Schulische Ausbildung

1983 - 1987 Grundschule Kilchberg  
1987 - 1996 Ludwig-Uhland-Gymnasium Tübingen  
6/1996 Abitur

### Studium

10/1997 - 5/2004 Studium der Humanmedizin, Eberhard-Karls-Universität  
Tübingen  
8/1999 Ärztliche Vorprüfung  
5/2004 Ärztliche Prüfung (Dritter Abschnitt 18.Mai 2004, Zweiter  
Abschnitt 9.April 2003, Erster Abschnitt 29.August 2000)

### Praktische Tätigkeit

1996 - 1997 Zivildienst beim Rettungsdienst des DRK Tübingen  
7 - 9 / 1998 Pflegepraktikum KH Rissen, Hamburg  
5 - 7/ 1999 Wissenschaftliche Hilfskraft und studentischer Tutor am  
Anatomischen Institut, Universität Tübingen  
2 - 3/2000 Famulatur Abdominalchirurgie, Universitätsklinikum Leipzig  
4/2000 Famulatur Radiologie, LMU München  
3 - 4/2001 Famulatur Unfallchirurgie am Madras Institute of Orthopaedics  
and Traumatology, MIOT, Chennai, Indien  
7/2001 - 8/2002 Wissenschaftliche Hilfskraft in der Abteilung für Radiologische  
Diagnostik, Universität Tübingen.  
9/2001 Famulatur Kardiologie, Klinikum Charité, Berlin  
9/2002 Famulatur Notfallmedizin Universität Pretoria, Südafrika  
4/2003 - 3/2004 Praktisches Studienjahr: Radiologie (Marienhospital Stuttgart),  
Innere Medizin (Marienhospital, Stuttgart), Kardiologie (Bristol  
Royal Infirmary, Bristol, England), Gefäß -, Unfall - und  
Viszeralchirurgie (Universitätsspital Zürich, Schweiz)  
7/2004 - 9/2004 Arzt im Praktikum in der Abteilung für Radiologische  
Diagnostik der Universitätsklinik Tübingen, Direktor Prof. Dr.  
C.D. Claussen  
Seit 10/2004 Wissenschaftlicher Mitarbeiter der Abteilung für Radiologische  
Diagnostik der Universitätsklinik Tübingen, Direktor Prof. Dr.  
C.D. Claussen