

Aus dem Medizinischen Zentrum für Strahlendiagnostik

Direktor: Prof. Dr. K. J. Klose

des Fachbereichs Medizin der Philipps-Universität Marburg



**Evaluation verschiedener Applikationsparameter im Rahmen der lokalen
intraarteriellen Pharmakotherapie zur Restenoseprophylaxe nach
Ballonangioplastie – eine vergleichende tierexperimentelle Studie**

Inaugural–Dissertation zur Erlangung
des Doktorgrades der gesamten Humanmedizin
dem Fachbereich der Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg
vorgelegt von

Christine Hamann

aus Mainz

Marburg 2006

Angenommen vom Fachbereich Humanmedizin
der Philipps-Universität Marburg am 19.04.2007

gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs

Dekan: Prof. Dr. B. Maisch
Referent: PD Dr. M. Kalinowski
Koreferent: Prof. Dr. S. Vogt

1. Inhalt

| | Seite |
|---|--------------|
| 1. Einleitung | |
| 1.1 Epidemiologische Bedeutung der Atherosklerose..... | 1 |
| 1.2 Definition der Atherosklerose..... | 2 |
| 1.3 Pathomechanismus der Restenose..... | 6 |
| 1.3.1 Neointimabildung..... | 8 |
| 1.3.2 Rolle von glatten Muskelzellen..... | 8 |
| 1.3.3 Rolle von Endothelzellen..... | 9 |
| 1.3.4 Extrazelluläre Matrix..... | 10 |
| 1.3.5 Humorale Faktoren..... | 11 |
| 1.3.7 Mechanische Faktoren..... | 13 |
| 1.4 Perkutane transluminale Angioplastie..... | 14 |
| 1.5 Lokale Pharmakotherapie | 20 |
| 1.5.1 Antithrombotische Substanzen..... | 20 |
| 1.5.2 Antiproliferative Substanzen..... | 21 |
| 1.5.3 Genterapeutische Ansätze..... | 22 |
| 2. Fragestellung | 24 |
| 3. Material und Methoden | |
| 3.1 Tiermodell..... | 25 |
| 3.2 Charakteristika des Channeled Balloon Katheter..... | 26 |
| 3.3 Lokale Applikation..... | 28 |
| 3.4 Kalibrationsangiographie und Histologiegewinnung..... | 29 |
| 3.5 Fixierung, Einbettung und Schneiden der Gefäßpräparate..... | 30 |
| 3.6 Hämatoxylin-Eosin-Färbung | 30 |
| 3.7 Morphometrie..... | 31 |
| 3.8 Angiographische Auswertung..... | 31 |
| 3.9 Statistische Auswertung..... | 32 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 4. | Ergebnisse | |
| 4.1 | Angiographische Auswertung..... | 34 |
| 4.2 | Morphometrische Auswertung..... | 35 |
| 4.2.1 | Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsdruck..... | 35 |
| 4.2.2 | Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsvolumen..... | 37 |
| 5. | Diskussion | |
| 5.1 | Kathetersysteme..... | 45 |
| 5.1.1 | Katheter mit passivem Applikationsmechanismus und beschichtete Stents..... | 46 |
| 5.1.2 | Beschichtete Stents..... | 48 |
| 5.1.2 | Katheter mit aktiver, druckabhängiger Pharmakoapplikation..... | 49 |
| 5.1.3 | Der Channeled Balloon Katheter..... | 51 |
| 5.1.3 | Katheter zur mechanischen Pharmakoapplikation..... | 52 |
| 5.2 | Bedeutung für den klinischen Einsatz..... | 54 |
| 6. | Zusammenfassung | 58 |
| 7. | Literaturverzeichnis | 60 |
| 8. | Abkürzungsverzeichnis | 82 |
| 9. | Anhang | |
| 9.1 | Lebenslauf..... | 83 |
| 9.2 | Verzeichnis der akademischen Lehrer..... | 85 |
| 9.3 | Danksagung..... | 85 |
| 9.4 | Eidesstattliche Erklärung..... | 85 |

1. Einleitung

1.1 Epidemiologische Bedeutung der Atherosklerose

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) ist eine Erkrankung der Arterienwand, die zu stenosierenden oder obliterierenden Veränderungen des Arterienlumens und damit zu Durchblutungsstörungen in den versorgungsabhängigen Geweben und Organen führt. Ätiologisch liegt in den meisten Fällen eine Atherosklerose zugrunde, aber auch auf dem Boden einer Thrombangiitis obliterans, einer Arteriitis oder einer Thrombembolie kann es zu den klinischen Zeichen einer arteriellen Verschlusskrankheit kommen. Infolge von Verengungen bzw. einem Verschluss von versorgenden Arterien kommt es bei der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit zu Durchblutungsstörungen an Beinen und Armen, zur Claudicatio intermittens bis zur Gangrän der betroffenen Extremität. In den meisten Fällen (90%) sind die Beine betroffen. Analoge Veränderungen am Herzen führen zu einer koronaren Herzkrankheit, der Angina pectoris und dem akuten Myokardinfarkt. Die Manifestation der Atherosklerose an den Zerebralfäßen kann zum Apoplex mit ischämischem Hirninfarkt führen.

Die Atherosklerose, die mit etwa 95% die ätiologisch bedeutendste Form der pAVK, des akuten Myokardinfarktes und des Schlaganfalls spielt, ist eine Erkrankung, die vor allem in den Industrienationen durch eine hohe Prävalenz, Inzidenz und Mortalität gekennzeichnet ist. Nach den aktuellen Angaben des statistischen Bundesamtes starben 2002 393778 Menschen an Krankheiten des Kreislaufsystems. Damit sind diese Erkrankungen noch vor den malignen Erkrankungen für die meisten Todesfälle in der Bundesrepublik verantwortlich (1).

Zur Wiederherstellung einer ausreichenden Blutversorgung gibt es verschiedene Ansätze. Im Rahmen der konservativen Therapie (z. B. Bewegungstherapie, Krankengymnastik, Hydrotherapie) wird die Ausbildung von Kollateralkreisläufen gefördert. Zur medikamentösen Therapie stehen u. a. Prostaglandin-Infusionen zur Verfügung.

Die invasive Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit umfasst zwei Strategien. Bei der chirurgischen Therapie werden die stenosierte Gefäßabschnitte mit venösen oder arteriellen autologen Bypässen überbrückt oder lokal erweiternde Maßnahme, z. B. die

Thrombendariektomie, durchgeführt. Bei der nicht operativen Therapieoption wird die Stenose durch eine perkutane transluminale (koronar-) Angioplastie aufgedehnt (PT(C)A) (2). 1999 sind in Deutschland alleine 2022 PTCA-Untersuchungen pro Millionen Einwohner durchgeführt worden und damit so viele wie in keinem anderen Land in Europa (3).

1.2 Definition der Atherosklerose

Die Atherosklerose mit ihren pathologischen Veränderungen der Arterien, wie Elastizitätsverlust, Verhärtungen, Verkalkungen und Lumeneinengungen, ist die häufigste Erkrankung des Gefäßsystems. Die Atherosklerose tritt fokal in prädisponierten Regionen auf. In dem peripheren Gefäßsystem sind neben den Extremitäten bevorzugt die proximalen Abschnitte der Nierenarterie und die Karotisbifurkation betroffen. Häufig treten atherosklerotische Läsionen an Teilungsstellen von Arterien auf, da hier besonders Wirbelbildungen des Blutstromes sowie Zug- und Scherkräfte die Integrität des Endothels verletzen können.

Der Begriff Atherosklerose ist definiert als eine variable Kombination von Intimaveränderungen mit fokaler Akkumulation von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutprodukten, fibrösem Gewebe und Kalziumablagerungen mit Veränderungen der Media in großen und mittleren elastischen und muskulären Arterien (4).

Die Entstehung einer Atherosklerose kann als ein multifaktorielles Geschehen verstanden werden. Die zentrale Größe in dem, in der Regel kombinierten Auftreten von verschiedenen Risikofaktoren, stellen die erhöhten, cholesterinreichen Lipoproteine (LDL) dar. Als weitere wichtige Risikofaktoren gelten Nikotinabusus, Hypertonus, Diabetes mellitus, Alter, männliches Geschlecht, Adipositas und Lipoprotein(a) (5). Bei einem Zusammentreffen mehrerer dieser Risikofaktoren steigt das Risiko, eine Atherosklerose zu entwickeln offenbar nicht additiv, sondern potenziell.

Seit der Erstbeschreibung der hypothetischen Mechanismen zur Pathogenese der Atherosklerose von Rokitanski (1852) und Virchow (1856) formulierte Ross 1986 (6) die Response-to-injury-Theorie. Er führte damit die früher postulierte „Lipidtheorie“ und die „Gerinnungshypothese“ zu einer Theorie zusammen: eine initiale Verletzung bzw.

Denudation des Endothels stellt den Triggerreiz für eine chronisch-entzündliche proliferative Reaktion der Gefäßwand dar. Der Ausgangspunkt der Atherosklerose ist die endotheliale Dysfunktion, die Integrität der Endothelschicht wird zerstört und das Endothel ist trotz seiner vielfältigen Funktionen nicht mehr in der Lage, die Entstehung der Atherosklerose zu verhindern.

Das Endothel erfüllt über die Freisetzung von Endothelium derived relaxing factor (EDRF) Aufgaben wie Gefäßdilatation, Hemmung der Thrombozytenaggregation und der Leukozytenadhäsion sowie die Hemmung der Proliferation und Migration von glatter Gefäßmuskulatur (7, 8). Ferner hemmt ein intaktes Endothel die Permeabilität für Plasmalipide.

Begünstigt durch eine Dysfunktion des Endothels kommt es zur Akkumulation von LDL in der Gefäßwand. LDL gilt als Stimulationsfaktor für die Adhäsion und Migration von Monozyten in die Intima (6). Dadurch kommt es zur Einwanderung von Monozyten in die Gefäßwand und zur Aktivierung und Umwandlung der Monozyten zu Makrophagen. Zu Beginn nehmen die Makrophagen das LDL-Cholesterin über Apolipoprotein B- (Apo B) und Apolipoprotein E- (Apo E) Rezeptoren auf. Die Apo B- und E- Rezeptoren unterliegen einer Downregulation, jedoch besitzen Makrophagen einen zusätzlichen LDL-Rezeptor für modifiziertes (oxigeniertes) LDL, den so genannten Scavenger-Rezeptor. Dieser Rezeptor unterliegt keiner Downregulation, somit kommt es zu einer massiven Überladung der Makrophagen mit LDL (sog. Schaumzellen) (9).

Die Modifikation des LDL umfasst die Oxidation, die in der glatten Gefäßmuskulatur, dem Endothel und den Makrophagen stattfindet, und die nicht enzymatische Glykosylierung bei Diabetikern (10). Das oxidierte LDL induziert inflammatorische Prozesse in der Gefäßwand. Dazu gehört die gesteigerte Freisetzung von Colony-stimulating factor (CSF) aus Endothelzellen. CSF ist ein Chemotaxisfaktor für Makrophagen, d.h. die Einwanderung der Makrophagen in die Gefäßwand wird gesteigert. Aktivierte Makrophagen ihrerseits sezernieren Interleukine und das Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) und stimulieren so weitere Entzündungsreaktionen.

Neben Monozyten gelangen auch Lymphozyten in die Gefäßwand, und halten die Entzündungsreaktion aufrecht. Die Penetration in die Gefäßwand wird durch die

Adhäsionsmoleküle VCAM (Vascular cell adhesion molecule-1) und ICAM (Intercellular adhesion molecule-1) ermöglicht. Diese Moleküle gehören der Immunglobulin-Gen-Superfamilie an. Die Expression von VCAM 1 wird durch Lysophosphatidylcholin, ein Bestandteil des oxidativ veränderten LDL stimuliert. VCAM 1 wird von Endothelzellen exprimiert und ermöglicht die Penetration von Monozyten und Lymphozyten durch die Endothelzellschicht in die Intima (11, 12).

Die Dysfunktion des Endothels hat auch eine verminderte Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) zur Folge. Dies und die vermehrte Bildung von Superoxid (O_2^-) führt zur Aktivierung des Transkriptionsfaktors NF- κ B, welcher die Expression von VCAM und ICAM reguliert. Die Pathophysiologie der Restenose ist in der folgenden Abbildung schematisch dargestellt:

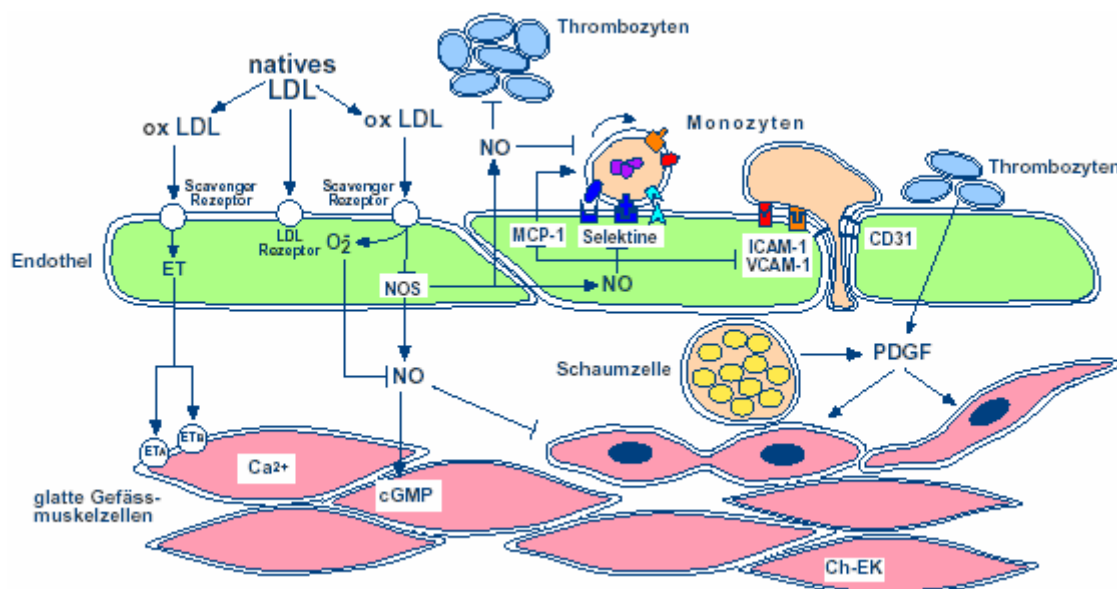


Abb.1 Abbildung modifiziert nach T. Quaschnig, FT Ruschitzka, W. Maier, T.F.Lüscher: Die Rolle des Endothels bei der Entstehung und Behandlung von Gefäßerkrankungen. Der Internist 2000; 41:355-362

Erstes morphologisches Korrelat der Atherosklerose sind die so genannten „fatty streaks“, die zum Teil schon im Jugendalter gefunden werden können (6). Diese kleinen herdförmig in der Intima auftretenden Fettstreifen bestehen aus in die Intima eingewanderte glatten Muskelzellen und Makrophagen, die durch aufgenommenes LDL zu so genannten Schaumzellen transformiert worden sind. Mit zunehmender Einwanderung von Makrophagen und glatten Muskelzellen wandelt sich die Läsion zum atherosklerotischen Plaque.

Die endotheliale Dysfunktion schreitet durch den intimalen Entzündungsprozess fort, so dass es zu einer weiteren Akkumulation von Lipiden innerhalb der Intima kommt, da die Barrierefunktion des Endothels durch Rarefizierung des Glykokalyxmantels verloren geht (13).

Innerhalb des Plaques findet man eine zentrale Nekrosezone aus abgestorbenen Makrophagen mit lipidhaltigem Detritus (6). Um diese zentrale Nekrosezone lagern sich Gefäßmyozyten an, die an der Oberfläche des Plaques eine aus mehreren Lagen bestehende fibröse Kappe bilden, das so genannte Cap.

Phänotypisch werden zwei Typen von Gefäßmyozyten unterschieden: der kontraktile, ruhende Typ, der in der normalen Media vorkommt und der proliferative, synthetische Typ, der durch Mediatoren wie dem Platelet derived growth factor (PDGF) aktiviert wird. Den proliferativen, synthetischen Typ findet man in atherosklerotischen Läsionen, wie auch in Restenosegewebe. Er ist für die Synthese der extrazellulären Matrix verantwortlich, die das Bindegewebe des Plaques darstellt (14).

Unter dem Einfluss von Mediatoren wie PDGF bilden die synthetisch aktiven Myozyten eine Matrix aus Proteoglykanen und Kollagen. Das PDGF wird von geschädigten Endothelzellen und Thrombozyten gebildet, die sich an geschädigtes Endothel anlagern (6). Unter dem Einfluss weiterer Mediatoren wie Angiotensin II, Insulin-like growth factor-1 (IGF-1), Fibroblast growth factor (FGF) und den von Makrophagen produzierten Zytokinen Interleukin-1 (IL-1) und Tumor necrosis factor- α (TNF α) wandern immer mehr glatte Muskelzellen und Fibroblasten in die Läsionen ein (15). Ein Gegenspieler dieser proliferationsfördernden Mediatoren und Zytokinen ist der Transforming growth factor- β (TGF- β) (16). TGF- β wird von Makrophagen, Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Thrombozyten gebildet. Er kann sowohl stimulierend als auch inhibierend auf die Migration der glatten Muskelzellen wirken (17), seine Hauptfunktion besteht zudem in der Aktivierung der Extrazellulärmatrixproduktion (18).

Durch weitere Faktoren wie die Synthese von Proteoglykanen und Kollagen durch die glatten Muskelzellen schreitet der atherosklerotische Prozess fort. Mit der Zeit bildet sich ein komplexer Plaque, der zunehmend kalzifiziert, das so genannte Fibroatherom. Ein Einreißen der fibrösen Kapsel führt zur komplizierten Läsion, die durch Oberflächendefekte,

Einblutungen und Thrombusbildung gekennzeichnet ist. Zu einer akuten Stenosierung einer Arterie kommt es durch Einriss der fibrösen Kappe (Cap). Voraussetzung ist das Einwirken mechanischer Zug- und Scherkräfte (beispielsweise bei arterieller Hypertonie), die durch wiederholtes Auftreten zum Stabilitätsverlust der fibrösen Kapsel führen können (19). Histologisch ist ein hoher Gehalt an Makrophagen besonders am Rande des Atheroms, d.h. an der Schulter des Plaques auffällig, die als vulnerable Stelle gilt. Ursächlich für die Instabilität dieser Stelle ist die Phagozytose bzw. Freisetzung proteolytischer Enzyme wie Metalloproteinasen durch Makrophagen (20).

Während es sich bei der Entstehung der Atherosklerose um eine chronische Erkrankung handelt, die sich über Jahrzehnte bis zu ihrer klinischen Manifestation entwickelt, ist die Restenose ein Prozess, der innerhalb von 4 bis 6 Monaten nach PTA in etwa 30-60% der Fälle zu einem erneuten Verlust an Lumen führt.

1.3 Pathomechanismus der Restenose

Obwohl schon seit über 20 Jahren die Ballonangioplastie in der Therapie der pAVK und der koronaren Herzkrankheit angewandt wird, und ihr Einsatzspektrum sich ständig erweitert, stellt die Restenose weiterhin den wichtigsten limitierenden Faktor dieser Therapieform dar.

Je nach Studie liegt die Restenosehäufigkeit nach Angioplastie zwischen 30 – 60%, wobei Unterschiede v. a. auf Patientenkollektiv, Begleittherapie, Angioplastiemethode und Gefäßprovinz beruhen. Die Restenosehäufigkeit in den Koronararterien lässt sich durch Stentimplantation von 30 – 40% auf ca. 20 – 25% senken (21). Eine Restenose ist definitionsgemäß eine innerhalb von 4-6 Monaten nach der Intervention auftretende erneute Stenosierung von über 50% des Lumens im dilatierten Segment, oder ein „late loss“, d. h. einen Verlust von über 50% des Akutergebnisses (21). Im peripheren Gefäßsystem wird eine primäre Erfolgsrate von 94% beschrieben (22), die Restenoserate beträgt 30-60%. Auch hier ergeben sich Unterschiede je nach Lokalisation, Länge und Typ der Obstruktion (18). Die wesentlichen Pathomechanismen der Restenose werden im Folgenden nur skizziert.

Der Prozess der Restenose wird als eine Art „Wundheilung“ betrachtet, als Reaktion auf das durch die Ballondilatation induzierte Gefäßwandtrauma. Während der Angioplastie wird der Plaque frakturiert oder komprimiert, wobei es zur Mediadissektion kommen kann. Die Media

wird durch den hohen Druck überdehnt, vor allem bei exzentrisch gelegenen Plaques an der Plaque-freien Gefäßwand und die Endothelintegrität wird dadurch zerstört (23). Durch die Verletzung der Zellen und die Auflösung des Zellverbandes kommt es zur Freisetzung von Mediatoren, die eine chronisch-entzündliche Reaktion hervorrufen. Im zeitlichen Ablauf können verschiedene Antworten des Gefäßes auf das Trauma auftreten, die zu einer Lumeneinengung führen.

Das „elastic recoil“ ist eine akute Lumenverengung nach Dilatation, bedingt durch elastische Rückstellkräfte der Gefäßwand. Vor allem bei den Koronararterien, weniger im peripheren Gefäßsystem kann es so zu klinisch relevanten akuten Restenosen kommen (18). Auch ein Gefäßspasmus oder ein Thrombus können durch die Ballonangioplastie ausgelöst werden und zu einer akuten Lumenreduktion bis hin zum akuten Gefäßverschluss führen (23).

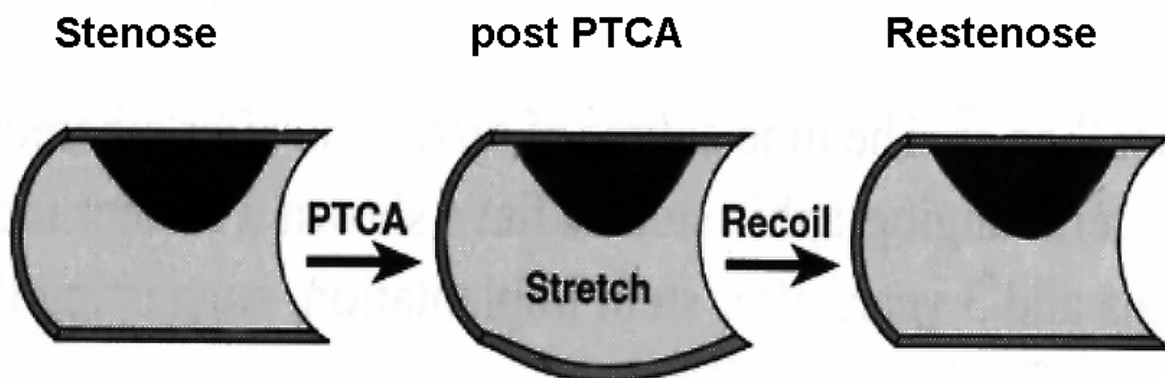


Abb. 2 Elastic recoil nach perkutaner transluminaler Angioplastie

Neben diesen akuten Ereignissen kommt es durch chronische Umbauvorgänge in der Gefäßwand zu einem irreversiblen Lumenverlust, dieser chronische Lumenverlust kann durch zwei pathophysiologische Grundprinzipien erklärt werden (24).

Die Intimahyperplasie ist der dominierende Mechanismus, der zur Entstehung der Restenose nach einer Ballonangioplastie beiträgt (25). Es kommt nach der von Ross postulierten „response to injury“ Hypothese zu einer reaktiven Proliferation sowie Migration der glatten Muskelzellen von der Media in die Intima und zu einem Übergang der glatten Muskelzellen vom ruhenden, kontraktiven Phänotyp zum synthetisierenden Phänotyp (25).

Neben der Neointimahyperplasie spielt auch das Remodeling bei der Entstehung der Restenose eine Rolle. Tierexperimentelle Beobachtungen von Lafont et al. (26) zeigten, dass neben der Intimahyperplasie auch das Remodeling am resultierenden Gefäßlumen nach einer Ballonangioplastie beteiligt ist. Das Remodeling kann durch Umbauvorgänge in der extrazellulären Matrix sowohl zu einer Zunahme des Gefäßlumens nach der Angioplastie als auch zu einem Lumenverlust führen (24).

Mehrere Faktoren sind an den vielfältigen Umbauvorgängen in der Gefäßwand beteiligt: die Aktivierung der glatten Muskelzellen, ihre Proliferation und Migration, die Produktion von extrazellulärer Matrix sowie humorale Faktoren, Wachstumsfaktoren und mechanische Faktoren. Die folgenden Daten beruhen überwiegend auf tierexperimentellen Erkenntnissen, die jedoch durch am Menschen gewonnene Daten zum Teil bestätigt wurden.

Neointimabildung

Die Neointimaformation läuft nach der derzeit gängigen Haupttheorie vereinfacht in zwei verschiedenen Phasen ab (27,28):

- Eine akute Phase, charakterisiert durch die Interaktion von Thrombozyten, Thrombin und Leukozyten mit der Gefäßwand. Dabei wird eine große Menge biologisch aktiver Substanzen (vor allem PDGF und FGF, s.o.) freigesetzt, was zu einer Aktivierung glatter Muskelzellen führt.
- In einer zweiten Phase kommt es zu Proliferation und Aktivierung glatter Muskelzellen sowie zur Migration der glatten Muskelzellen aus der Media in die Intima.

Drei Bestandteile der Gefäßwand sind von entscheidender Bedeutung bei der Entstehung der Restenose: die glatten Muskelzellen, die Endothelzellen und die extrazelluläre Matrix.

Glatten Muskelzellen

Die Intimahyperplasie oder die Proliferation der glatten Muskelzellen, die ihren Ursprung in der Media oder der Intima haben, wird als Hauptkomponente des Restenoseprozesses gesehen. Bereits 1975 hat Spaet (28) beschrieben, dass neointimale Zellen von glatten Muskelzellen abstammen. Den direkten Beweis für die Rolle der glatten Muskelzellen

ergaben spätere Studien an durch Atherektomie gewonnen Gefäßen, welche zuvor mit PTA behandelten worden sind. Die untersuchten Gefäßabschnitte bestanden fast ausschließlich aus hyperplastischen glatten Muskelzellen (29).

Die übermäßige Zunahme der Proliferationsaktivität der glatten Muskelzellen ist ein sehr kurzes und schnell nach der Verletzung eintretendes Phänomen. Schon nach 2-3 Tagen treten im Tiermodell viele glatte Muskelzellen in den Wachstumszyklus ein und nach nur 7 Tagen haben die meisten von ihnen ihre Proliferationsphase abgeschlossen (30).

Die Proliferationsreaktion der glatten Muskelzellen erfolgt sehr schnell nach dem Gefäßtrauma, innerhalb von zwei Wochen haben sie ihre maximale Zahl in der Intima erreicht und diese Zahl ändert sich auch im weiteren Verlauf kaum noch. Aber dennoch wird die maximale Intimadicke erst nach 8 Wochen im Tierversuch bzw. nach 2-3 Monaten beim Menschen erreicht (31).

In den ersten zwei Wochen nimmt überwiegend die Zellzahl zu, während in den darauf folgenden Phasen die Synthese und Akkumulation von extrazellulärem Matrixproteinen und Bindegewebe die prädominierenden Prozesse darstellen.

In der proliferativen Phase und der Phase der Matrixproduktion vollziehen die glatten Muskelzellen einen Phänotypenwechsel. Sie wandeln sich vom kontraktiven, ruhenden Typ zum proliferativen, synthetisierenden Typ. Nach 2-3 Monaten kehren die Muskelzellen wieder in den kontraktiven Zustand zurück und es erfolgt keine wesentliche Intimaverdickung mehr (32).

Auf diese Änderungen bei den Muskelzellen haben viele verschiedene Faktoren einen Einfluß, wovon die wichtigsten nachfolgend ausführlicher aufgeführt werden: Dazu gehören Plasmafaktoren, wie Angiotensin II, Epidermal growth factor (EGF) und Insulin-like growth factor-1 (IGF-1), außerdem Faktoren, die von dem sich kurz nach der Angioplastie bildenden Thrombus ausgeschüttet werden, wie Fibrin, Fibronectin und Thrombin, sowie verschiedene mitogene Faktoren, die von den Thrombozyten selbst stammen, wie Serotonin, Thrombospondin, die unterschiedlichen Dimere von PDGF und dem Transforming growth factor- β (TGF- β).

Die Endothelzellen

Das Endothel der Gefäße spielt eine zentrale Rolle bei der Aufrechterhaltung der normalen Wandstruktur und der Gefäßfunktionen wie die Modulation des Gefäßtonus, Koagulationsreaktionen, Fibrinolyse und Entzündungsreaktionen. Durch die Produktion einer Vielzahl biologisch aktiver Substanzen werden diese Funktionen moduliert und machen zugleich auch die zentrale Rolle der Endothelzellen an der Entstehung der Restenose deutlich (11).

Bei einer Angioplastie kommt es oft zu einer vollständigen Endotheldenudation, schon kurze Zeit später treten Endothelzellen am Rande des Defektes in einen Replikationszyklus ein, um die Kontinuität dieser Schicht wieder herzustellen. Die dafür notwendigen Proliferations- und Migrationsstimuli gehen von Wachstumsfaktoren aus, die sowohl von den Endothelzellen selbst, als auch von den glatten Muskelzellen und zirkulierenden Zellen ausgeschüttet werden (17). Schon innerhalb der ersten 24 Stunden nach der Denudation beginnt der Reendothelialisierungsprozess. Sein Ausmaß ist abhängig von der Schwere der Verletzung. Ist ein kurzer Abschnitt betroffen, so ist eine Wiederherstellung der Endothelintimität möglich (33), bei größeren Denudationsdefekten ist dies nicht immer in vollem Umfang möglich.

Es entsteht ein morphologisch sowie funktionell verändertes Endothel, welches an der Restenoseentstehung mitbeteiligt ist. Der Aufbau der vormals gleichmäßig ausgerichteten polygonalen Zellen ist aufgehoben und das Zytoplasma der Endothelzellen wölbt sich in das Gefäßlumen vor (34).

Funktionell beschreiben Weidinger et al. (35) eine Endotheldysfunktion, die vor allem die Regulation des Gefäßtonus durch die von den Endothelzellen ausgeschütteten Faktoren beeinflusst. Trotz nachwachsender Neoendothelzellen ist die Relaxationsfähigkeit des Gefäßes eingeschränkt. Diese Funktionseinschränkung ist abhängig von der Schwere der Verletzung. Neben der Gefäßrelaxationsstörung ist auch die Neointimaproduktion mit dem Ausmaß der Endothelverletzung korreliert: An den Stellen der schnell regenerierten Endotheldefekte ist die Akkumulation von glatten Muskelzellen nicht so ausgeprägt zu beobachten wie an den Stellen der verlangsamt abgelaufenen Regeneration (24).

Das Endothel hat neben einem regulatorischen Effekt auf den Gefäßtonus und die Thrombozytenaggregation auch einen Einfluss auf die Proliferation der glatten Muskelzellen. Stickstoffmonoxid (NO), welches von den geschädigten Endothelzellen in geringerer Menge als von normalen Zellen gebildet wird, hat einen wachstumshemmenden Effekt auf die

glatten Muskelzellen. Fällt dieser Inhibitor weg, so führt dies zu einer gesteigerten Muskelzellproliferation.

Extrazelluläre Matrix

Schwartz et al. (36) haben nachgewiesen, dass die extrazelluläre Matrix einen größeren Anteil am Neointimavolumen der Restenose ausmacht, als das eigentliche Zellvolumen, sie haben es mit 90 % angegeben.

Die extrazelluläre Matrix besteht als ein Netzwerk von unlöslichen Fibrillen und löslichen Polymeren als Bindegewebe zwischen den Zellen.

Zu ihren Funktionen zählt, die Form und Stabilität des Gefäßes zu gewährleisten, und die Modulation verschiedener biologischer Prozesse. Diese vielfältigen Funktionen werden durch die Fähigkeit der Interaktion mit verschiedenen Wachstumsfaktoren, Zellen und anderen Molekülen ermöglicht.

Aufgebaut ist die extrazelluläre Matrix im Wesentlichen durch zwei große Molekülklassen, die zum großen Teil auch direkt von den eigenen Zellen synthetisiert werden (37):

- Fibrilläre Proteine, wie z.B. Kollagen und Elastin
- Polysaccharide und Glykosaminoglykane, die normalerweise kovalent gebunden an Proteoglykane (Chondroitin, Dermatan, Heparin und Keratinsulfaten) vorkommen (38).

Die Kollagenfasern stützen und haben ihre Funktion in der Organisation der Matrix. Durch das Elastin erhält diese Gefäßwandschicht die nötige Elastizität. Die adhäsiven Moleküle, wie Fibronectin und Laminin, helfen den migrierenden Zellen, in die Matrix zu gelangen und sie auch wieder zu verlassen. Die Glykosaminoglykane und die Proteoglykane sorgen durch ihre strukturellen Eigenschaften für eine gut hydrierte, gel-ähnliche Grundsubstanz (39, 40).

Die Veränderungen, die in Folge eines Gefäßwandtraumas in der extrazellulären Matrix ablaufen, werden über Zytokine reguliert und können in zwei Phasen eingeteilt werden. Die Reaktion innerhalb der ersten 1-4 Wochen nach dem Trauma ist charakterisiert durch das vermehrte Auftreten von Hyaluronsäure und Glykoproteinen (41). Prädominierende Marker

der späten Reaktion, die nach über vier Wochen nachzuweisen sind, ist Kollagen, Elastin und Proteoglykane (38,41).

Humorale Faktoren

Die pathologische Zellproliferation und Zellmigration stellen die wesentlichen Komponenten der Atherogenese dar. Bei der Entstehung einer Restenose stehen die Migration und die beschleunigte Proliferation der glatten Muskelzellen im Mittelpunkt des Prozesses sowie die Bildung extrazellulärer Matrix (42, 43). In diesem Zusammenhang spielen folgende Wachstumsfaktoren eine essentielle Rolle. Der Platelet derived growth factor (PDGF), der Basic fibroblast derived growth factor (bFGF), Transforming growth factor- β (TGF β), Epidermal growth factor (EGF) und der Insulin-like growth factor-1 (44).

Im atherosklerotischen Prozess und besonders bei der erhöhten proliferativen Aktivität im Restenoseprozess ist PDGF ein wichtiger Mediator (43). Ross entdeckte schon 1974 den wachstumsfördernden Effekt auf die glatten Muskelzellen, der von einem Faktor ausging, der in den Granula der Blutplättchen enthalten war. Wegen seines Ursprungsortes wurde er Platelet-derived growth factor genannt (45).

Unmittelbar nach dem Gefäßtrauma, das mit einer Endotheldenudation einhergeht, bildet sich an dieser Stelle ein Thrombus. Es kommt zur Plättchenadhäsion, Plättchenaggregation und schließlich zur Degranulation der α -Granula der Thrombozyten. In ihnen sind die mitogenen Faktoren enthalten, unter ihnen auch der PDGF. Obwohl den Plättchen als Ursprungsort des PDGF eine besondere Rolle zugeschrieben wird, kommen auch andere Zellen als Quelle des PDGF in Frage, wie Endothelzellen, einwandernde Makrophagen und die glatten Muskelzellen. Letztere produzieren PDGF als Folgereaktion auf ein Gefäßtrauma.

PDGF scheint mehr auf die Migration, als auf die Proliferation der glatten Muskelzellen zu wirken, denn Ferns et al. (46) konnten in Versuchen mit Antikörpern gegen PDGF die Migration der glatten Muskelzellen hemmen, nicht aber ihre mitogene Aktivität. Für die Proliferation der glatten Muskelzellen spielt dagegen der Fibroblast growth factor (FGF) eine wichtige Rolle, seine Wirkung als Mitogen für die glatten Muskelzellen und Fibroblasten wird durch die Kofaktoren Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) und Epidermal growth factor (EGF) erreicht.

Basic fibroblast growth factor (bFGF) wirkt ebenfalls als Mitogen. Durch seine mitogene Wirkung sowohl auf die glatten Muskelzellen, als auch auf die Endothelzellen ist er in den Prozess der Restenose involviert (24). Einen Reiz für die Ausschüttung des bFGF kann z.B. die Dehnung der Gefäßwand mit einem übergroßen Ballonkatheter darstellen. In diesem Falle schütten die glatten Muskelzellen selbst bFGF aus (24). Über zwei Mechanismen greift der bFGF in den Mechanismus der Restenose ein. Er fördert zum einen die mitogene Aktivität der Muskelzellen (47) und er beschleunigt zum anderen das Endothelwachstum nach der Denudation, wodurch eine natürliche Migrationsbarriere für die glatten Muskelzellen wieder hergestellt wird (24).

Neben der Proliferation und Migration der glatten Muskelzellen stellt die Synthese der extrazellulären Matrix einen weiteren Hauptbestandteil der Intimahyperplasie dar. Transforming growth factor- β (TGF β) wird von glatten Muskelzellen, Endothelzellen und Thrombozyten gebildet und trägt über die Bildung der extrazellulären Matrix zu der Entstehung der Restenose bei. Er stimuliert die Kollagen-Bildung durch die glatten Muskelzellen (48) und moduliert die Expression von Fibronektin (49).

Die Renin-Angiotensin-Aldosteron-Achse ist von Dzau (50, 51) als beteiligtes System an der Ausbildung der Restenose favorisiert worden. Angiotensin II hat in *in vivo*-Studien zu einer deutlichen Proliferation der glatten Muskelzellen in der Intima geführt. Versuche mit ACE-Hemmern konnten diesen Effekt durch die Verminderung der myointimalen Proliferation tierexperimentell bestätigen (52). In mehreren größeren klinischen Studien ist dieses Therapiekonzept jedoch gescheitert, da die notwendigen hohen systemischen Dosen durch ihre hypotensive Wirkung limitiert sind (53, 54).

Auch Serotonin und andere vasoaktive Hormone wie die Katecholamine oder Vasopressin können die Proliferation der glatten Muskelzellen beeinflussen (55). Besonders Interesse gilt auch dem von den Endothelzellen gebildeten Faktor Endothelin. Wie bereits oben beschrieben, wirkt Endothelin auf die glatten Muskelzellen. Es induziert die Bildung von Onkogenen und führt dadurch zu einer gesteigerten mitogenen Aktivität (56).

Mechanische Faktoren

Für die Wirkung mechanischer Faktoren gibt es kein einheitliches Schema, ihre Rolle bei der Restenoseentstehung ist jedoch unbestritten. Auch in der vorliegenden Arbeit soll der Einfluss verschiedener Applikationsparameter, also mechanischer Faktoren auf die Neointimabildung bzw. die Bildung der Restenose untersucht werden. Hier sind vor allem die Endothelzellen und die von ihnen ausgehenden Mediatoren (s.o.) sowie durch direkte mechanische Verletzung die glatten Muskelzellen betroffen. Bei einer weit ausgedehnten Endotheldenudation mit verzögerter Regeneration auch ohne Trauma der Mediazellen kommt es zu einer moderaten Neointimabildung (57). Im Gegensatz dazu kommt es bei einem nur geringflächigen Endotheldefekt dafür aber mit einem substantiellen Mediatrauma zu einer sehr viel stärkeren Neointimabildung (58).

Es scheint also nicht nur der Grad der Endotheldenudation für das Ausmaß der Neointimabildung verantwortlich zu sein, sondern auch der direkte mechanische Einfluss auf die glatten Muskelzellen. Diese mechanische Verletzung hat zur Folge, dass die lokale Freisetzung von Wachstumsfaktoren durch nekrotische glatte Muskelzellen gesteigert wird und intrazelluläre Stoffwechselwege aktiviert werden, die zu einer Proliferation der noch vorhandenen lebenden glatten Muskelzellen führen.

1.4 Perkutane transluminale Angioplastie

Die Radiologen Dotter und Judkins haben 1964 erstmals eine Katheterbehandlung der arteriellen Verschlusskrankheit für die untere Extremität durchgeführt. Durch den von Grüntzig im Jahre 1974 entwickelten Ballonkatheter wurde die Angioplastie als Therapieoption der arteriellen Verschlusskrankheit etabliert. Neben dem peripheren Gefäßsystem führte er auch am Koronarsystem mittels eines Ballonkatheters die erste perkutane transluminale Koronarangioplastie durch (59). Der damals von Grüntzig verwendete Katheter bestand aus einem Inflations- und einem Injektionsvolumen und wurde noch ohne Führungsdraht platziert.

Die perkutane transluminale Angioplastie ist eine symptomatische Behandlungsform der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, sie ist charakterisiert durch eine minimale Invasivität, eine hohe Effektivität und eine geringe Komplikationsrate (60). Mit einem

Ballonkatheter werden die Gefäßverschlüsse aufgedehnt und dadurch die Blutzirkulation wieder hergestellt. Der primäre Therapieerfolg der PTA wird von Grenacher et al. (22) mit 94% angegeben. In 30-50% kommt es allerdings nach 3-6 Monaten zu einer Restenose (61).

Bislang gibt es keine klinisch wirksamen Therapieoptionen zur Reduktion der Restenose. Insbesondere durch eine systemische medikamentöse Therapie ist es nicht gelungen, die Restenoserate zu verringern (62). Medikamentöse Therapieansätze galten bisher vorwiegend der Verhinderung der Thrombozytenaggregation sowie der Blockierung der Proliferation und der Migration der glatten Muskelzellen (60). Obwohl eine Reihe von Substanzen im Tierversuch wirksam waren, konnte in klinischen Studien die Restenoserate nicht wesentlich beeinflusst werden. Ursächlich für das Scheitern in den klinischen Studien scheint die unterschiedliche Dosierung der medikamentösen Therapie im Tierversuch und in den klinischen Studien zu sein (60).

Eine möglicherweise geeignete Therapieoption stellt die lokale intraarterielle Pharmakoapplikation dar, die in Kombination mit einer Ballonangioplastie durchgeführt wird. Hierbei kann durch eine hohe lokale Pharmakokonzentration am gewünschten Wirkort eine Hemmung der Restenose erreicht werden, die systemischen Wirkungen des Pharmakons werden hingegen minimiert (62). Diese Möglichkeit der Therapie und der Restenoseprophylaxe wurde durch die Entwicklung von Kathetern ermöglicht, die eine lokale Pharmakoapplikation erlauben.

Bei der Bewertung der verschiedenen lokalen Applikationssysteme zur Behandlung der Restenose, ist der heterogene Aufbau des Zielgewebes zu berücksichtigen. In der Intima eines atherosklerotisch veränderten Gefäßes finden sich Lipidablagerungen, Verkalkungen und Thromben, die darunter liegende meist weniger veränderte Media ist der Ursprungsort der migrierenden glatten Muskelzellen (63).

Bei der Einteilung der Katheter mit der Möglichkeit der simultanen Pharmakoapplikation, unterscheidet man drei große Gruppen, die nach ihrem Applikationsmechanismus eingeteilt werden:

- die Pharmaka gelangen durch einfache passive Diffusion in die Gefäßwand
- die Pharmaka gelangen aktiv oder durch Druck in die Gefäßwand
- die mechanische Applikation direkt in die Gefäßwand

Die erste Gruppe ist dadurch charakterisiert, dass das Pharmakon überwiegend durch passive Diffusion in die luminalen, oberflächlichen Schichten des atherosklerotischen Plaques eingebracht wird. Die Diffusion von Substanzen in die Gefäßwand beruht auf dem zeitlich längeren Kontakt des Applikationssystems mit der Gefäßwand. Dieses Prinzip scheint z. B. für die lokale Anwendung von Thrombozytenaggregationshemmern und Antikoagulantien geeignet, bei denen ein zu tiefes Eindringen möglicherweise eine intramurale Einblutung zur Folge hätte (60).

Der Doppelballon-Katheter besteht aus zwei inflatableren Ballonkammern zwischen denen bei Inflation ein Lumen entsteht, das eine Applikation der Substanz erlaubt. Der benötigte Applikationsdruck ist bei diesem Verfahren niedrig, so dass druckinduzierte Gefäßwandschäden unwahrscheinlich sind. Durch die Länge der Kammer kann es jedoch zu Gefäßverschlüssen während der Applikation und zu ungewolltem Abfließen des Pharmakons über Seitenäste kommen(64).

Ein weiterer Katheter aus dieser Gruppe ist die Infusionsspirale (Dispatch coronary infusion catheter). Dieses System hat gegenüber dem Doppelballon den großen Vorteil, dass es über ein zentrales Perfusionslumen verfügt und somit auch längere Applikationszeiten ohne Ischämie toleriert werden.

Der hydrogelbeschichtete Ballonkatheter ist aus einem gewöhnlichen Ballon-Katheter aufgebaut, der mit einer hydrophilen Polymerbeschichtung überzogen ist. In diese Beschichtung können verschiedene Substanzen (Heparin, DNA und an Adenoviren gekoppelte DNA) eingebracht werden, die nach Kontakt mit der Gefäßwand abgegeben werden (64) und somit lokal die Neointimabildung verhindern sollen. Es besteht jedoch eine erhebliche Diskrepanz zwischen der auf den Ballon geladene Menge an Pharmakon und der in die Gefäßwand applizierte Menge. Durch das „Wash off-Phänomen“ geht ein Anteil des

Pharmakons durch den Blutstrom verloren (65), was letztlich zu einer reduzierten lokalen Substanzkonzentration und einer relativ geringen transmuralen Penetration führt. Von Vorteil ist bei diesem System jedoch die Möglichkeit der simultanen Applikation und Dilatation, wodurch ein zusätzliches Gefäßtrauma vermieden wird.

Eine alternative Möglichkeit zur lokalen Pharmakotherapie mit Ballonkathetern stellen die beschichteten Stents dar. Nicht beschichtete Stents reduzieren vor allem durch die Verhinderung des Auftretens von frühen elastischen Rückstellkräften die mechanischen Komponenten der Restenose, die zellulären Mechanismen der Restenose sind jedoch meist stärker ausgeprägt (66). Diese Limitationen schienen durch die Entwicklung medikamentenbeschichteter Stents als überwindbar zu sein. Beschichtet sind die Stents meist mit Regulatorsubstanzen des Zellzyklus, um so eine Proliferation der Mediazellen zu verhindern. In klinischen Studien konnten für das Immunsuppressivum Rapamycin (Sirolimus) eine Reduktion der Restenoserate in der RAVEL-Studie gezeigt werden (67). Stone et al. (68) konnten eine Reduktion der Restenoserate von mit Paclitaxel beschichteten Stents gegenüber unbeschichteten Stents zeigen. Ein Nachteil der Therapie mit beschichteten Stents ist eine unzureichende Medikamentenapplikation an den Stenträndern oder auch zwischen den Stentstreben. Hierdurch ist die Effektivität vermindert und führt, wie in der SIRIUS-Studie gezeigt, zu einer erhöhten Rate an Restenosen an den Stenträndern (69).

Mit all den bisher genannten Methoden konnte nur eine geringe Eindringtiefe in die Gefäßwandschichten erreicht werden. Mit der druckabhängigen Pharmakoapplikation ist es möglich, das Pharmakon direkt in tiefere Wandabschnitte zu applizieren. Durch den neuen Mechanismus können somit einige der Nachteile der passiven Applikation überwunden werden. Die Dilatation und die Applikation können dadurch simultan stattfinden, die Eindringtiefe könnte in Abhängigkeit vom Applikationsdruck variiert werden. Hierdurch wäre es möglich, die tieferen Wandschichten, vor allem die Media und die Adventitia zu erreichen, wodurch die Restenoseprophylaxe am Ort der Entstehung wirksam werden könnte. Als Nachteil dieser Systeme sind jedoch die druckabhängigen Gefäßwandschäden zu sehen.

In die Gruppe der Kathetersysteme mit druckabhängiger Pharmakoapplikation werden der poröse und der mikroporöse Ballonkatheter, der Schleifeninfusionskatheter (Infusion sleeve-Katheter) und der Channeled Balloon Katheter gezählt. Mit dem Channeled Balloon Katheter ist auch diese Arbeit durchgeführt worden.

Wolinsky und Thung haben 1990 (70) einen perforierten Ballonkatheter entwickelt. Dieser besitzt auf der Oberfläche Poren von 25 μm , über die die Substanz bei Inflation des Ballons in die Gefäßwand injiziert wird. Bei Untersuchungen, die mit diesem Katheter durchgeführt worden sind, sind die geringe Effektivität sowie die druckabhängigen Gefäßwandschäden (Jet-Effekt) als nachteilig beschrieben worden. Schon während der Inflation des Ballons geht durch ein Leck Substanz verloren, eine weitere Ursache für die geringe Effektivität ist das Abfließen in die Seitenäste sowie in das distale Stromgebiet (70, 71), wodurch es zu einer unerwünschten systemischen Verteilung des Pharmakons kommt.

Um die druckabhängigen Gefäßwandschäden, die mit dem perforierten Ballonkatheter beobachtet worden sind, zu vermeiden, hat man diesen Katheter weiterentwickelt. Der mikroporöse Ballonkatheter hat auf seiner Oberfläche eine erhöhte Porendichte, jedoch eine verminderte Porengröße, wodurch eine weniger traumatische Applikation möglich sein soll. Das System ist aus einem inneren Ballon mit mehreren 25 μm großen Poren aufgebaut, die von einem äußeren Ballon mit sehr viel kleinern Poren (0,8 μm) umgeben sind, die sehr zahlreich an der Oberfläche verteilt sind und somit eine gleichmäßige Applikation in die Gefäßwand gewährleisten.

Ein neueres Kathetersystem, mit dem auch diese Arbeit durchgeführt wurde, ist der Channeled balloon. Aufgebaut ist er aus 18 zirkulären Kanälen, die um einen Angioplastiekatheter angeordnet sind. Jeder dieser Kanäle hat insgesamt 18 Poren mit einem Durchmesser von 30 μm die helikal um den Katheter angeordnet sind.

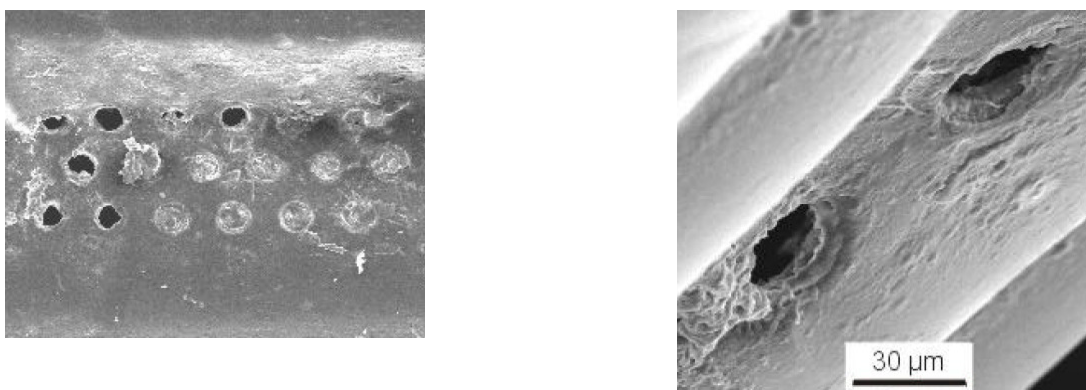


Abb. 3 Channeled Balloon , rasterelektronenmikroskopisches Bild der Katheteroberfläche mit den Poren auf der Oberfläche

Der große Vorteil dieses Systems ist die Möglichkeit, die Dilatation mit der Pharmakoapplikation durch den speziellen Aufbau in einem Interventionsschritt zu kombinieren. Der Katheter verfügt über zwei getrennte Zugänge, über den einen wird der Dilatationsdruck aufgebaut, über den zweiten ist es möglich, den Applikationsdruck zu regulieren. Durch die Trennung der Applikationskanäle vom eigentlichen Dilatationskatheter ist eine Pharmakoapplikation möglich, die im Applikationsdruck unabhängig von dem Druck der Dilatation ist. Dadurch ist es möglich, den Applikationsdruck wesentlich niedriger als den Dilatationsdruck zu halten und damit die bei den anderen Systemen die häufig beschriebenen druckabhängigen Gefäßwandschädigungen zu vermeiden.

Kimura et al. (73) zeigten die Korrelation zwischen dem Applikationsdruck und der Gefäßverletzung. Sie untersuchten histologisch die Iliakalgefäße von New Zealand White Rabbits 14 Tage nach der PTA-Behandlung mit einem Applikationsdruck von 0, 3, 5, 7 und 12 atm. Sowohl die Intimaverletzungen als auch die Neointimabildung waren bei den höheren Drücken (7 und 12 atm) deutlich erhöht. Bei den niedrigeren Drücken (0, 3, 5 atm) war insgesamt eine geringere Neointimadicke nachweisbar, sowie eine geringere Zunahme der Neointimafläche mit steigendem Druck.

Als weiteren wichtigen Parameter, den man bei der Applikation mit dem Channeled Balloon beachten sollte, ist neben der Pharmakokonzentration das Verhältnis zwischen dem Ballondurchmesser und dem Gefäßdurchmesser zu werten.

Mitchel et al. (74) führten ihre Versuche mit radioaktiv markierter Urokinase sowohl mit einem Ballon/Gefäßquotienten von 1,1:1 als auch 1,3:1 durch. Die erreichte lokale Pharmakokonzentration war bei einem Verhältnis von Ballon/Gefäßdurchmesser von 1,3:1 mit 0,35% etwa um den Faktor 2 größer als bei einem Verhältnis von Ballon/Gefäßdurchmesser von 1,1:1. Auch nach Applikation mit diesem Kathetersystem besteht ein erhebliches Wash-off-Phänomen, 64% der ursprünglich in der Gefäßwand vorhandenen Urokinase konnte nicht länger als 1 h in der Gefäßwand nachgewiesen werden, nach 5 h waren schon 79% nicht mehr nachweisbar.

Einen weiteren Parameter, der für eine erfolgreiche Pharmakoapplikation zu beachten ist, stellt die Teilchengröße der zu applizierenden Substanz dar.

Hong et al. (75) haben in ihren Versuchen festgestellt, dass mit Partikeln von 15 μm eine transmurale Applikation noch möglich ist, jedoch weniger Substanz in der Gefäßwand als im Vergleich zu Versuchen mit kleineren Teilchen nachzuweisen ist. Wählt man zu große

Partikel zur Applikation, so kann es vorkommen, dass die Poren verstopfen und daraus eine inhomogene Verteilung durch die noch offenen Poren resultiert.

Als Nachteile dieses Systems werden ein schlechter Gefäßwandkontakt bei atheromatös veränderten Gefäßen sowie eine mögliche systemische Verteilung des Pharmakons bei Deflation des Ballons beschrieben.

Der große Vorteil aber und den Umstand, der den Katheter von den meisten bisher beschriebenen Kathetertypen unterscheidet ist, dass eine Dilatation mit hohem Druck und eine Applikation mit niedrigem Druck simultan möglich ist, wodurch die Effizienz der Angioplastie nicht durch die mit dem hohen Applikationsdruck verbundenen Gefäßwandschädigungen gemindert wird.

Vertreter aus der Gruppe der Katheter, die das Pharmakon mechanisch in die Gefäßwand applizieren sind der Nadelinjektionskatheter sowie der iontophoretische Ballon. Der Nadelinjektionskatheter ist aus kreisförmig angeordneten Nadeln aufgebaut, die bei der Applikation aus einer Schutzhülle ausgefahren werden und somit die Substanz direkt in die Gefäßwand applizieren (72). Mit diesem Katheterdesign wurde versucht, die Nachteile der bisher genannten Modelle zu umgehen. Die Applikationseffektivität konnte durch die direkte Injektion in die Gefäßwand um das 10-100fache gesteigert werden (72), auch die systemische Verteilung durch das Wash-off Phänomen konnte deutlich reduziert werden. Es zeigte sich jedoch, dass es durch die mechanische Applikation zu einem stärkeren lokalen Gefäßtrauma mit nachfolgender Hyperplasiereaktion kommt (60). Durch den Aufbau eines elektrischen Feldes soll bei Verwendung des Iontophoretic balloon die Permeabilität der Gefäßwand gesteigert werden. Eine extern angelegte Anode, die über der Haut einen geringen Strom leitet, und eine Kathode, die im Katheter platziert ist, stellen ein elektrisches Feld dar, über das die Applikation polarisierter Substanzen erfolgt (76). Probleme für den Einsatz im klinischen Alltag stellen hier der Aufbau des elektrischen Feldes dar sowie die Applikation, die auf wenige polarisierte Substanzen beschränkt ist (72).

1.5 Lokale Pharmakotherapie

Durch die Weiterentwicklung der Applikationssysteme ist die Grundlage der lokalen Pharmakotherapie zur Prophylaxe der Restenose geschaffen worden. Mit dieser Methode soll ein hochkonzentrierter lokaler Wirkspiegel erreicht werden, ohne dass systemische Nebenwirkungen auftreten. Mögliche therapeutische Strategien, die in Kombination mit der Angioplastie vorgenommen werden können, umfassen klassische Medikamente zur Restenosesuppression wie Antithrombotika, Thrombozytenaggregationshemmer, Kalziumantagonisten, anti-inflammatorische und anti-proliferative Substanzen aber auch gentherapeutische Ansätze. Hierbei ist vor allem die Hemmung von Wachstumsmodulatoren durch Antisense-Oligonukleotide bzw. die Verstärkung inhibierender Faktoren möglich (77).

Antithrombotische Substanzen

Mit dem Einsatz antithrombotischer Substanzen war die Hoffnung verbunden, in die Entstehung der Restenose eingreifen zu können. Die Ausbildung eines Thrombus an der verletzten Gefäßwand kann zu einem akuten Gefäßverschluß führen. Außerdem ist der Thrombus durch die Bildung von Wachstumsfaktoren, wie etwa PDGF, b-FGF, EGF oder Thrombin an der Stimulation der Migration der glatten Muskelzellen aus der Media in die Intima und somit der Neointimaformation beteiligt. Die Effekte von Heparin, Hirudin und Fibrinolytika sind aus diesen Überlegungen heraus untersucht worden.

Heparin hat zusätzlich zur antithrombotischen Wirkung auch noch eine antiproliferative Wirkung auf die glatten Muskelzellen (78). Gimple et al. (79) konnten nach Applikation von Heparin über den Porous balloon im Kaninchenmodell die Restenoserate nicht senken. Anders das niedermolekulare Heparin. Ebenfalls über den Porous balloon appliziert, konnten hier im Kaninchenmodell ein antiproliferativer und restenosehemmender Effekt erzielt werden (80). Tomaru et al. (81) bestätigten diese Ergebnisse mit lokal appliziertem niedermolekularem Heparin.

Eine weitere Studie mit Enoxaparin, einem niedermolekularen Heparin, wurde von Hong et al. (82) mit dem channeled balloon durchgeführt. Bei der alleinigen lokalen Behandlung mit Enoxaparin konnte kein positiver Effekt auf die Ausbildung der Restenose gefunden werden. In der Gruppe, die sowohl lokal mit Enoxaparin behandelt wurden als auch noch weiter

systemisch mit Enoxaparin über eine Woche, konnte hingegen eine Reduktion der Restenoserate durch Wachstumshemmung der glatten Muskelzellen nachgewiesen werden. Bei der systemischen Gabe von Heparin muss aber mit einer Verlängerung der PTT gerechnet werden und somit mit einer erhöhten Blutungsneigung.

Antiproliferative Substanzen

Die Migration und Proliferation der glatten Muskelzellen spielen in der Entstehung der Restenose eine entscheidende Rolle. In Studien wurden Zytostatika, ACE-Hemmer und Cortison zur Unterdrückung der lokalen Entzündungsreaktion und Immunsuppressiva wie Sirolimus eingesetzt.

Vor allem bei den antiproliferativen Substanzen ist der Vorteil der lokalen Applikation besonders deutlich, die systemischen Nebenwirkungen werden dadurch so gering wie möglich gehalten. Es wurden Studien mit Methotrexat, Doxorubicin und Kolchzin (83, 60, 84) durchgeführt, die jedoch keine Reduktion der Restenose zeigen konnten. Mit der lokalen Applikation von Paclitaxel, einem Mitosehemmer, über den porösen Ballonkatheter appliziert, konnte ebenso keine Reduktion der Restenoserate erzielt werden (85). Als Erklärung für den fehlenden Erfolg der Studien wird die zu kurze Verweildauer bei einmaliger Applikation gesehen. Eine langfristige Hemmung der Proliferation der glatten Muskelzellen ist dadurch nicht möglich. Eine protrahierte Freisetzung ist über ein Polymersystem möglich. Die lokale Applikation von Dexamethason über ein solches System konnte eine Reduktion der Restenose zeigen (86).

Angiotensin II stimuliert die Migration und Proliferation der glatten Muskelzellen. Mit dem Einsatz von ACE-Hemmern soll an diesem Schritt in die Entstehung der Restenose eingegriffen werden. Bei der lokalen Gabe von Ramipril über den mikroporösen Ballonkatheter konnte jedoch keine Reduktion der Restenoserate gezeigt werden (87), im Gegensatz zur oralen Therapie mit Ramipril, dies wird auf das zusätzliche Gefäßtrauma durch die lokale Applikation zurückgeführt.

Sirolimus ist ein Immunsuppressivum, das ursprünglich in der Nephrologie zur Verhinderung von Transplantatabstoßungen eingesetzt wurde. Nachdem 2002 in der RAVEL-Studie eine

Reduktion der Restenoserate auf 0% nach 6 Monaten durch den Einsatz Sirolimus-beschichteter Stents erzielt (67, 88) wurde, zeigte auch die lokale Applikation über Ballonangioplastiekatheter eine signifikante Reduktion der Neointimabildung (89, 90).

Gentherapeutische Ansätze

Ein anderer Ansatz der lokalen Therapie besteht in der Übertragung von genetischem Material mit antiproliferativer oder antithrombotischer Aktivität an den Ort der Intervention. Eine verminderte Neointimabildung konnte in Rattengefäßen nachgewiesen werden, in denen das Gen für die NO-Synthetase überexprimiert wurde. Das dadurch vermehrt gebildete NO wirkt auch auf die angrenzenden Zellen (91).

Ein anderer Ansatz ist die Anwendung von Antisense-Oligonukleotiden. Durch Antisense-Oligonukleotide wird die Expression von Genen gezielt blockiert. So ist es möglich, Protoonkogene, die in dem Zellzyklus eine wichtige regulierende Stellung einnehmen, gezielt zu blockieren. Es konnte in Studien eine verminderte Neointimabildung nach dem Einsatz von Antisense-Oligonukleotiden gegen die Protoonkogene c-myb, c-myc nachgewiesen werden (92, 93). Auch gegen die zellzyklusregulierenden Gene cdk2-Kinase und cdc2-Kinase sind Antisense-Oligonukleotide erfolgreich eingesetzt worden (94, 95).

2. Fragestellung

Die perkutane transluminale Angioplastie hat sich zunehmend als sichere und primär erfolgreiche Therapieform der pAVK sowie der koronaren Herzkrankheit etabliert. Nach dem initialen Erfolg stellt jedoch das Auftreten der Restenose den wesentlichen limitierenden Faktor dieser Methode im klinischen Alltag dar.

Die Einflußfaktoren auf die Ausbildung der Restenose nach der Ballonangioplastie sind vielfältig, aber in ihrer Bedeutung noch nicht im Detail identifiziert. In der Literatur sind als Ursache verschiedene Parameter diskutiert. Dazu gehört vor allem der Dilatationsdruck als direkter Proliferationsreiz der Mediazellen: Bei der simultanen Pharmakoapplikation hat neben dem Dilatationsdruck auch der Applikationsdruck der Substanz einen Einfluss auf die Ausbildung der Restenose. Eine wichtige Rolle scheint auch die Zeit der Dilatation, bei der simultanen Pharmakoapplikation zudem auch die Applikationszeit zu spielen, ebenso wie die Menge des applizierten Pharmakons. Zudem beeinflusst das Katheterdesign und die damit verbundenen verschiedenen Arten der Applikation das Auftreten der Restenose.

Mit einem etablierten Tiermodell (New Zealand White Rabbit) und dem Channeled Balloon, der eine simultane Applikation und Dilatation ermöglicht, wurden verschiedene Einflußfaktoren auf die Ausbildung der Restenose untersucht:

1. Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsdruck
2. Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsvolumen
3. Neointimabildung in Abhängigkeit von der applizierten Substanz (Ringer/NaCl)

In dieser vorliegenden Arbeit soll insbesondere untersucht werden, wie hoch der Applikationsdruck und die Menge der lokal zu applizierenden Substanz gewählt werden kann, ohne ein zusätzliches Gefäßtrauma durch die Applikation zu erzeugen. Ziel ist es, die Applikationsparameter so zu optimieren, dass eine möglichst große Menge an Substanz in die Gefäßwand injiziert werden kann, ohne dadurch einen zusätzlichen Reiz für die Neointimaproliferation zu schaffen.

3. Material und Methodik

3.1 Tiermodell

Als Versuchstiere dienten 60 männliche New Zealand White Rabbits (Charles River, Kißlegg) mit einem Körpergewicht zwischen 2,5 und 3 kg. Jedes der Tiere wurde in einem Einzelkäfig in einem Tierstall der Philipps-Universität gehalten. Trinkwasser sowie Futter stand den Tieren ad libitum zur Verfügung, ab der zweiten Woche bekamen die Tiere eine 1%ige Cholesterindiät zur Induktion einer atherosklerotischen Läsion.

Die Abbildung 4 gibt einen schematischen Überblick über den Versuchsaufbau.

Die Randomisierung erfolgte mittels einer Computer-generierten Zufallsliste. Hierbei wurden die Tiere auf 12 verschiedene Gruppen aufgeteilt, die Gruppenzugehörigkeit legte den Applikationsdruck (2 atm, 4 atm), die Applikationssubstanz (Ringerlösung, 0,9%ige NaCl-Lösung), die Menge dieser Substanz (1 ml, 2 ml, 5 ml) und die Applikationsseite (rechte oder linke A. iliaca communis) fest. Der Dilatationsdruck des Channeled Balloon war mit 8 atm bei allen Gruppen konstant. Der Versuchsablauf war für alle Gruppen identisch (s. Abb. 4). Im ersten Eingriff erfolgte die lokale Applikation, ein zweiter Eingriff erfolgte zur Angiographie und Entnahme der Gefäße zur histologischen Aufarbeitung.

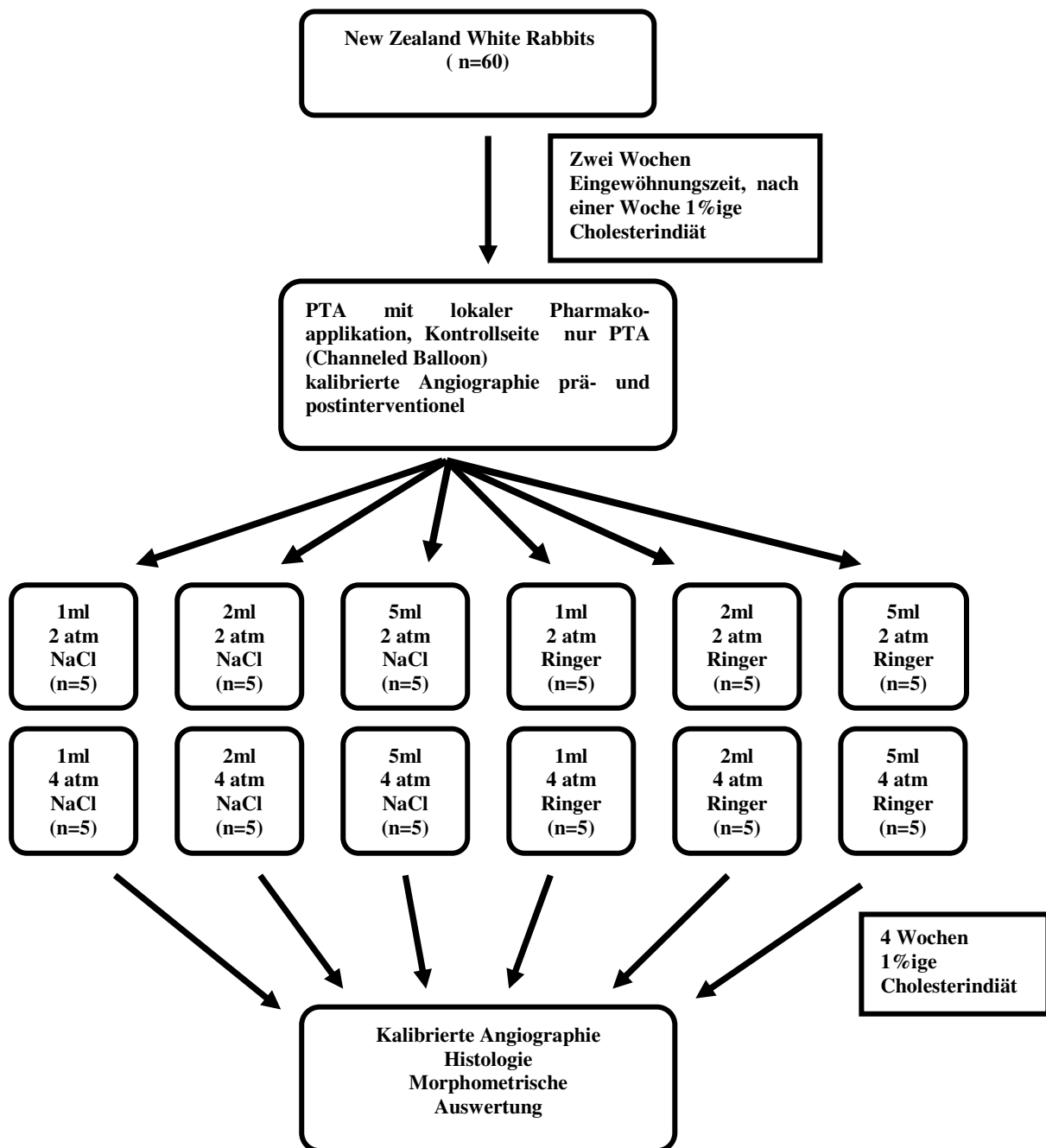


Abb. 4 Schematischer Überblick über den Versuchsaufbau

Alle Eingriffe wurden in Allgemeinnarkose der Tiere durchgeführt. Hierzu erhielten die Tiere als Prämedikation ein Gemisch aus Ketamin (Ketamin 500 mg Curamed, Wirkstoff: Ketaminhydrochlorid, CuraMED Pharma GmbH, Karlsruhe) und Rompun (Rompun 2%, Wirkstoff: Xylazainhydrochlorid, Bayer Vital GmbH, Leverkusen) im Verhältnis 7:3. Die Injektion erfolgte als i.m. Injektion von 1,5-2 ml, entsprechend dem Körpergewicht der Tiere,

in die Glutealmuskulatur. Durch die Kombination aus Narkotikum und Sedativum waren die Tiere analgisiert und sediert, wobei die Spontanatmung erhalten blieb.

Über eine Venenverweilkanüle in der Ohrvene wurde über die Dauer der Intervention die Narkose mit Ketamin aufrechterhalten, zusätzlich erfolgte die Gabe von 2-3 l Sauerstoff/min über eine Sauerstoffmaske. Zur Prävention einer akuten Thrombusbildung erhielt jedes Tier 100 IE Heparin/kg Körpergewicht i.v. verabreicht.

3.2 Der Channeled Balloon Katheter

Die Applikation erfolgte über den Channeled Balloon (Boston Scientific, Warrington, MA, USA). Er ist aus einem zentralen Ballon aufgebaut, der zirkulär von 18 Kanälen umgeben ist (s. Abb. 5). Die Kanäle verfügen über ein separates Lumen, über dieses kann unabhängig vom Dilatationsdruck des eigentlichen Angioplastieballons ein separater Druck für die lokale Pharmakoapplikation aufgebaut werden. Eine Trennung des Dilatationsdruckes vom Applikationsdruck des Pharmakons ist somit möglich. Jeder dieser Kanäle hat eine Gruppe von Poren, die mit einem Durchmesser von 30 μm helikal um die gesamte Länge des Katheters angeordnet sind. So wird eine gleichmäßige Applikation in die Gefäßwand ermöglicht. Insgesamt verfügt der Katheter über 3 voneinander unabhängige Lumina, eines über welches das Pharmakon in die Kanäle gelangt und über das der Applikationsdruck reguliert wird, ein zweites, um den Dilatationsballon mit einem unabhängigen Druck zu dilatieren und ein drittes, durch das der Führungsdraht läuft. Der Katheterschaft betrug 3,4 French, der Katheter hat eine Gesamtlänge von 20 mm und einen Durchmesser von 2,5 mm.

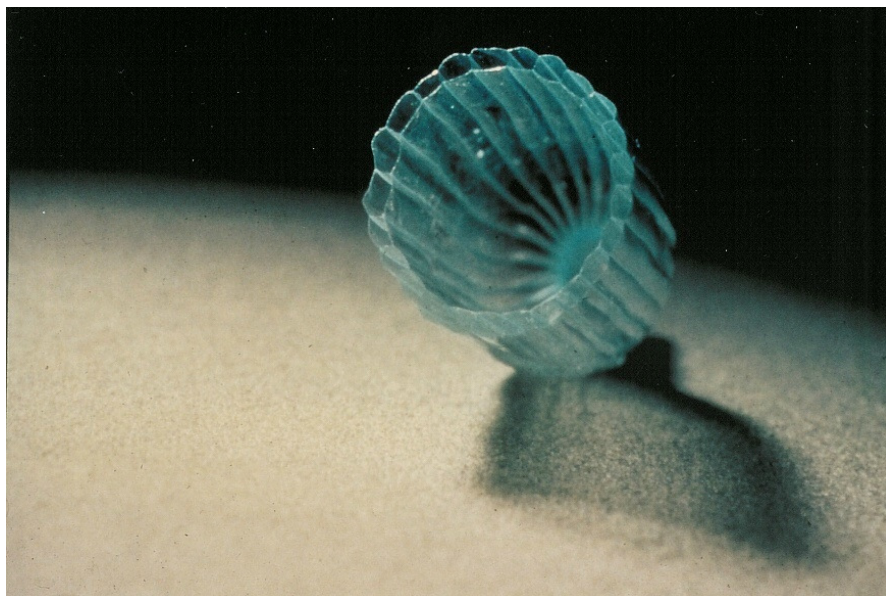


Abb. 5 Channeled balloon, Ansicht in den aufgeschnittenen Ballonkatheter, den zentralen Katheter sowie die zirkulär angeordneten Kanäle

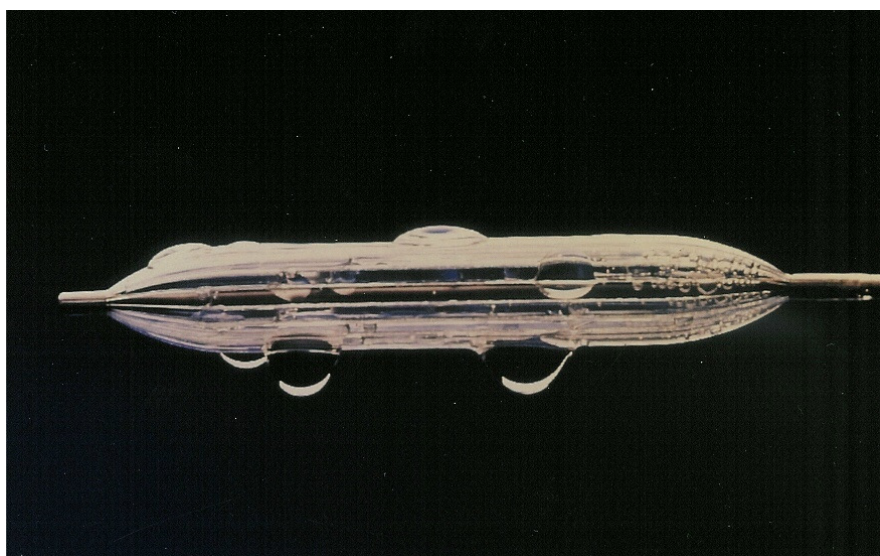


Abb. 6 Channeled balloon Seitansicht

3.3 Lokale Applikation

Um zu untersuchen, ob sich NaCl-Lösungen oder Ringer-Laktat-Lösungen hinsichtlich des post-interventionellen Gefäßtraumas unterscheiden, wurden beide Lösungen direkt miteinander verglichen. Zwei Studien deuten auf einen geringfügigen protektiven Effekt von Ringer-basierten Lösungen gegenüber NaCl-Lösungen möglicherweise aufgrund der besseren Pufferkapazität hin (96, 97), wobei eindeutige Studien zu dieser Fragestellung fehlen.

Nach einer Eingewöhnungszeit von 2 Wochen erfolgte die lokale Applikation der verschiedenen Substanzen (Ringer oder NaCl) mit unterschiedlichen Drücken (2 oder 4 atm). Nach Desinfektion und steriler Abdeckung der rechten Halsregion, wurde die A. carotis communis rechts über eine Länge von 3-5 cm freipräpariert. Zur besseren Darstellung wurde die A. carotis communis proximal und distal der Punktionsstelle mit Mersilene Nahtmaterial 2/0 (Ethicon, Johnson & Johnson) umschlungen. Es erfolgte die Punktionsstelle der A. carotis communis und die retrograde Einlage einer 4F-Schleuse in Seldingertechnik (Terumo Corporation, Tokyo, Japan). Hierüber wurden unter angiographischer Kontrolle zunächst ein Kalibrationsdraht, dann der Führungsdraht und der Channeled Balloon über die Aorta abdominalis bis zur Bifurkation in die Aa. iliacae communes vorgeschoben.

Je nach Gruppenzugehörigkeit der Tiere wurde zunächst die rechte oder die linke A. iliaca communis sondiert. Es erfolgte eine digitale Subtraktionsangiographie (DSA) um den angiographischen Ausgangsbefund zu dokumentieren, die Kontrastmittelgabe hierzu erfolgte intraarteriell über die Schleuse. Die Angiographie erfolgte mit einliegendem Kalibrationsdraht, dieser ermöglichte die intraarterielle Kalibration der angiographischen Gefäßmessung. Der verwendete Kalibrationsdraht (Graduate TM Führungsdraht zur Gefäßmessung MG 35-180-Grad; Cook® William Cook Europe, Bjaeverskov) hat distal sechs Markierungen im Abstand von einem Zentimeter, proximal vier Markierungen in fünf Zentimetern Abständen. In Seldingertechnik wurde anschließend der Führungsdraht für den Channeled Balloon Katheter eingeführt, über den der Channeled Balloon in die A. iliaca communis vorgeschoben wurde. Als Führungsdraht für den Channeled Balloon Katheter diente ein ACS Hi-Torque Intermediate® Guide Wire (Guidant Temecula; CA; USA) mit Hydrocoat® hydrophiler Beschichtung, einer Länge von 190 cm und einem Durchmesser von 0,014 inch.

Nach angiographisch kontrollierter korrekter Lage des Channeled Balloon Katheters erfolgte die Applikation. Der Dilatationsdruck des Channeled Balloon wurde mit einem Manometer (Encore Boston Scientific, Watertown, MA, USA) bei allen Gruppen konstant auf 8 atm gehalten, die Applikation erfolgte über ein separates Lumen, je nach Gruppenzugehörigkeit der Tiere mit dem gleichen Manometertyp. In Abhängigkeit der randomisierten Gruppenzugehörigkeit wurden 1, 2 oder 5 ml Ringer oder NaCl-Lösung bei einem Applikationsdruck von 2 oder 4 atm appliziert. Die für die Applikation benötigte Zeit wurde gemessen, um die Angioplastie ohne lokale Applikation auf der Kontrollseite zeitlich an die Applikationsdauer der Interventionsseite anpassen zu können. Es zeigte sich eine mittlere Applikationszeit bei 2 atm von 33 sec für 1 ml, 55 sec für 2 ml und 122 sec für 5 ml, bei einem Applikationsdruck von 4 atm betrug die Applikationszeit im Mittel 25 sec für 1 ml, 45 sec für 2 ml und 96 sec für 5 ml.

Anschließend wurde die A. iliaca communis der Gegenseite sondiert, sie diente als Kontrolle. Hier erfolgte die ausschließliche Angioplastie mit dem Channeled Ballon Katheter und einem Dilatationsdruck von 8 atm ohne simultane Applikation, die Dauer der Angioplastie orientierte sich an der Dauer der Applikation der Gegenseite.

Abschließend erfolgte eine weitere Angiographie zur Dokumentation von Akutkomplikationen wie Perforation, Dissektion, Gefäßspasmus und Thrombosierungen. Das Gefäß wurde proximal der Punktionsstelle mit Prolene Nahtmaterial 4/0 (Ethicon, Johnson & Johnson) ligiert, die Schleuse wurde entfernt. Der Wundverschluß erfolgte schichtweise.

Im Anschluß erhielten die Tiere für weitere 4 Wochen eine 1%ige Cholesterindiät.

3.4 Kalibrationsangiographie und Histologiegewinnung

Im Rahmen der zweiten Intervention (4 Wochen nach lokaler Applikation) erfolgte eine erneute kalibrierte Angiographie zur Quantifizierung des Stenosegrades und die Abtötung der Tiere zur Gefäßentnahme.

Die Vorbereitungen und das Narkoseprotokoll waren identisch mit denen der ersten Intervention.

Es wurde wie bei der ersten Intervention die Schleuse in die A. carotis communis links eingebracht, über sie wurde der Führungsdraht in der A. abdominalis platziert, es erfolgt eine Angiographie mit intraarteriell über die Schleuse appliziertem Kontrastmittel.

Durch die kalibrierte Angiographie konnte bei der angiographischen Auswertung der Durchmesser der infrarenalen Aorta, sowie der der Aa. iliacae communes dextra et sinistra ausgemessen werden, um die Stenosen in diesem Bereich zu quantifizieren.

In tiefer Narkose wurde den Tieren i.v. 1 ml T61 (Hoechst Roussel Vet) zur Abtötung injiziert. In der Veterinärmedizin findet T 61 Verwendung zur exzitationslosen Tötung von Hunden, Katzen und anderen Tieren. T 61 ist ein Gemisch aus Embutramid, Mebezoniumjodid und Tetracainhydrochlorid im Verhältnis 40:10:1 in wässriger Lösung. Embutramid hat eine stark narkotisierende und lähmende Wirkung auf das Atemzentrum, Mebezoniumjodid lähmt die quergestreifte Skelett- und Atemmuskulatur und führt zu einem schnellen Kreislaufkollaps. Nach dem Tod der Tiere erfolgte eine Laparotomie, die A. aorta abdominalis und die Aa. iliacae communes sinistra et dextra wurden freipräpariert und en bloc entnommen und nach Durchspülung mit 0,9%iger NaCl-Lösung in 4%iger Formalinlösung fixiert.

3.5 Fixierung, Einbettung und Schneiden der Gefäßpräparate

Die Gefäße wurden vom umgebenden Bindegewebe befreit und in Biopsiekassetten eingeschlossen. In einer aufsteigenden Alkoholreihe (70 - 100%) wurden sie entwässert und nach der Behandlung mit Methylbenzoat (Merck, Darmstadt) und Rotihistol (Roth, Karlsruhe) in Paraffin (Sherwood, St.Louis, USA) eingebettet. Methylbenzoat diente zum Ersatz von Alkohol durch Paraffinlösungsmittel. Bei der Einbettung in geschmolzenes Paraffin wurden alle Spalträume des Gewebes durchtränkt, so dass das Gefäßsegment unbeschädigt schneidbar ist. Von diesen in Paraffin eingebetteten Gefäßsegmenten wurden mit einem Mikrotom Semidünnschnitte mit einer Dicke von 4 µm angefertigt und auf einen Objektträger aufgebracht.

3.6 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

Die Präparate wurden mit Hämalaun und Eosin gefärbt. Für diese Färbung wurden die Schnitte durch Xylol entparaffiniert und in einer absteigenden Alkoholreihe (100-70%) entwässert. Danach verblieben die Schnitte 10 min. zur Kernfärbung in einer Hämalaunlösung (Diagnostica Merck, Darmstadt). Anschließend erfolgte nach gründlicher Spülung unter

fließendem Leitungswasser die Gegenfärbung für weitere 10 min in Eosin B (Certistain Eosin B, Diagnostica Merck, Darmstadt). Bei dieser Färbung werden die basophilen Zell- und Gewebestrukturen blau angefärbt, alle azidophilen Bestandteile (z.B. Zytoplasma, die meisten Interzellulärsubstanzen) rot. Der Überschuss des Farbstoffes wurde unter fließendem Wasser ausgewaschen. Abschließend wurden die Schnitte durch eine aufsteigende Alkoholreihe entwässert, in Xylol aufgehellt und zur Konservierung in Kandabalsam (Roth, Karlsruhe) eingebettet.

3.7 Morphometrie

Zur Auswertung und zur Quantifizierung der Neointimaproliferation erfolgte die Ausmessung der HE-Schnitte als lichtmikroskopische Bilder mit Hilfe einer speziellen Software (Quantimed 600, Leica Germany). Mit Hilfe dieser Software wurden am Computer die Fläche des Lumens, die Fläche, die von der Lamina elastica interna begrenzt wird, und die Fläche, die von der Lamina elastica externa begrenzt wird, ausgemessen. Durch die Subtraktion der verschiedenen Flächen erhält man die Flächen der zu untersuchenden Gefäßschichten.

Neointima = Fläche unter der Lam. elast. int. – Lumen

Media = Fläche unter der Lam. elast. ext. – Fläche unter der Lam. elast. int.

Die Messungen der einzelnen Flächen erfolgte jeweils 3-mal auf dem Computerbildschirm. Mit Hilfe der Software und einer Maus wurden die oben beschriebenen einzelnen Gefäßschichten nachgezogen und die Flächen berechnet. Die Auswertung erfolgte mit dem arithmetischen Mittel der 3 Flächen. Die gemessenen Flächen wurden in mm² gemessen. Während der Messungen war die Gruppenzugehörigkeit der Schnitte nicht bekannt.

3.8 Angiographische Auswertung

Um zusätzlich zu den histologischen Werten auch angiographisch die Restenose nachzuweisen, erfolgte die Auswertung der Angiographiebilder, die während der ersten und der zweiten Intervention angefertigt wurden. Die Auswertung erfolgte an der Arbeitsplatzeinheit der digitalen Subtraktionsangiographie (Siemens Multistar, Erlangen). Die Kalibration erfolgte durch den in die Aorta und die Iliakalgefäße eingeführten

Kalibrationsdraht (Graduate TM Führungsdraht zur Gefäßmessung MG 35-180-Grad; Cook® William Cook Europe, Bjaeverskov).

Die Angiographie vor der Applikation zu Beginn der ersten Intervention diente als Ausgangswert. Gemessen wurden insgesamt 5 Stellen an dem Gefäßsystem: die infrarenale Aorta, an den Aa. iliacae communes dextra et sinistra wurden jeweils der Gefäßabschnitt mit dem größten und der Abschnitt mit dem geringsten Durchmesser ausgemessen. Diese als Ausgangswerte definierten Werte wurden mit den Werten identischer Messorte der kalibrierten Angiographie verglichen, die vor der zweiten Intervention, also 4 Wochen nach der Applikation und Cholesterinfütterung erfolgte. Der Stenosegrad wurde in Prozent angegeben. Wie auch bei der histologischen Auswertung, war bei der Ausmessung der Angiographiebilder die Gruppenzugehörigkeit der Tiere und somit die Seite der Applikation sowie die Applikationssubstanz nicht bekannt.

3.9 Die statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe eines Statistikprogrammes (SPSS für Unix, 6.14). Die Daten wurden mit einer multivarianten Varianz-Analyse (MANOVA) miteinander verglichen. Mit dem Fisher t-Test wurden weitere Untersuchungen zu den Unterschieden von den Mittelwerten der verschiedenen Gruppen gemacht. Als statistisch signifikant wurden Werte von $p < 0,05$ angesehen.

4. Ergebnisse

4.1 Angiographische Auswertung

Die Ballondilatation mit Applikation der Ringer oder NaCl-Lösung konnte bei allen Tieren erfolgreich durchgeführt werden, ebenso erfolgte bei allen Tieren die Abschlussangiographie. Es zeigten sich angiographisch keine Hinweise auf akute Thrombosierungen oder Gefäßperforationen nach erfolgter Applikation.

Angiographisch konnte ein postinterventioneller Spasmus bei 63% der untersuchten Tiere (37/60) festgestellt werden. Präinterventionell betrug der Gefäßdurchmesser der A. iliaca communis angiographisch gemessen im Mittel auf der Kontrollseite $2,3 \pm 0,04$ mm (n=60), auf der Applikationsseite $2,2 \pm 0,03$ mm (n=60). $P > 0,05$

Vier Wochen nach der Applikation, bei der vor der Gefäßentnahme durchgeführten Angiographie, hatte die A. iliaca communis auf der Applikationsseite im Mittel einen Durchmesser von $2,0 \pm 0,03$ mm, der Gefäßdurchmesser der Kontrollseite betrug $2,0 \pm 0,03$ mm. $P > 0,05$

Der gemessene mittlere Stenosegrad der A. iliaca communis betrug auf der Applikationsseite $8,6\% \pm 0,1\%$, auf der Kontrollseite $8,3\% \pm 0,05\%$. $P > 0,05$

Der Stenosegrad in Abhängigkeit der Applikationssubstanz und des Applikationsdruckes ist in folgender Tabelle aufgeführt.

| | NaCl | | Ringer | | |
|------------|-----------------|-----------|-----------------|-----------|-----|
| | Stenosegrad (%) | | Stenosegrad (%) | | |
| | Applikation | Kontrolle | Applikation | Kontrolle | |
| 1 ml 2 atm | 16,5 | 7,3 | 0,2 | 6,3 | n.s |
| 2 ml 2 atm | 9,9 | 16,8 | 6,3 | 0 | n.s |
| 5 ml 2 atm | 7,7 | 1,2 | 14,6 | 4,5 | n.s |
| 1 ml 4 atm | 7,8 | 16,5 | 18,6 | 14,6 | n.s |
| 2 ml 4 atm | 13,3 | 9,7 | 3,1 | 5,6 | n.s |
| 5 ml 4 atm | 0 | 14,2 | 1,8 | 0 | n.s |

Tab. 1 zeigt den Stenosegrad der Applikationsseite sowie der Kontrollseite 4 Wochen nach der Applikation von Ringer bzw. NaCl mit den unterschiedlichen aufgeführten Applikationsparametern, die Werte sind nicht signifikant.

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede der Stenoseausbildung zwischen den einzelnen Gruppen gezeigt werden. Weder der Druck noch das Applikationsvolumen haben einen statistisch signifikanten Einfluss auf die Ausbildung der Restenose in den untersuchten Gefäßen.

Die folgenden Angiographiebilder zeigen Beispiele für die erste Intervention, ein dargestelltes Gefäßsystem mit einliegendem Kalibrationsdraht (Abb. 7) , ein Gefäßsystem unmittelbar nach der Intervention mit dilatierten Gefäßabschnitten (Abb. 8), sowie einen dargestellten postinterventionellen Spasmus (Abb. 9).



Abb. 7 Angiographie vor der ersten Intervention mit einliegendem Kalibrationsdraht

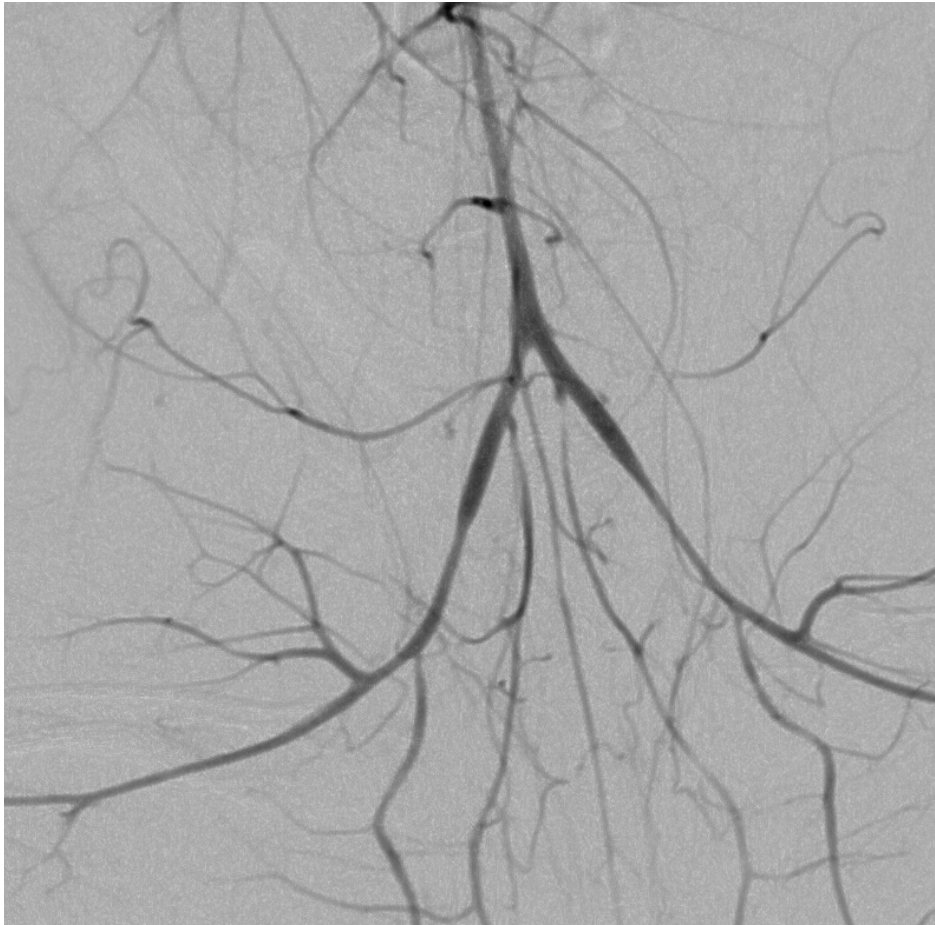


Abb. 8 Angiographie nach der ersten Intervention mit sichtbaren dilatierten Gefäßsegmenten

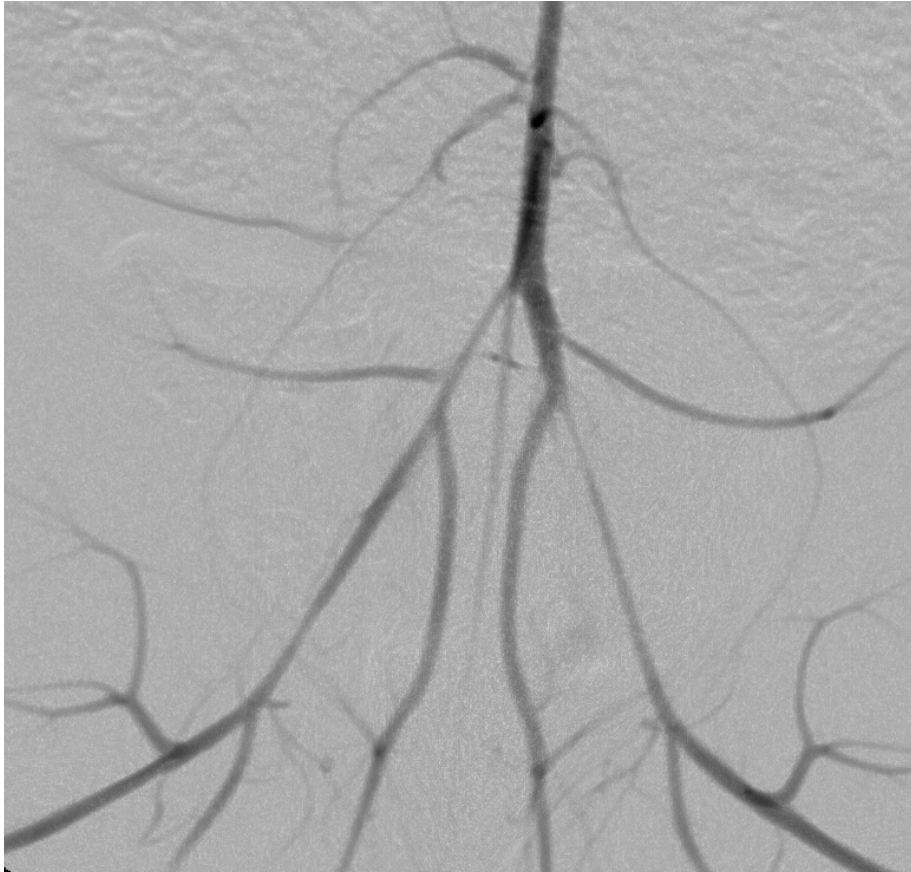


Abb. 9 Beispiel eines postinterventionellen Spasmus

3.2 Morphometrische Auswertung

Die Neointima (Fläche der Lamina elastica interna abzüglich der Fläche des Lumens) ist der Wert, der bei den einzelnen Gruppen miteinander verglichen wird und als histologisches Korrelat der Restenose gilt, gemessen wurde die Neointimafläche in mm^2 .

Die Auswertung erfolgte morphometrisch an den während der zweiten Intervention entnommenen Gefäßen der Applikations- und der Kontrollseite. Dabei wurde die Ausbildung der Restenose der Gefäße der Kontrollseite, d.h. nur mit Ballonangioplastie ohne simultane Applikation behandelt, mit der Ausbildung der Restenose bei den Gefäßen verglichen, die mit den unterschiedlichen Applikationen behandelt worden sind.

Der vorliegende Versuch soll den Einfluss des Druckes, den Einfluss der Menge und der Substanz der Applikation auf die Restenoseausbildung zeigen.

Die Auswirkungen dieser unterschiedlichen Applikationsparameter auf die Restenoseausbildung werden im Vergleich zur Kontrollseite dargestellt.

Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsdruck

Der Applikationsdruck ist der Druck, mit dem die Ringer- oder NaCl-Lösung durch den Channeled Balloon in die Gefäßwand injiziert worden ist, er betrug entweder 2 atm oder 4 atm. Betrachtet man vergleichend die Ausbildung der Neointima bei Applikationen, bei denen nur der Applikationsdruck variiert wurde, wird die Abhängigkeit der Neointimabildung in Bezug auf den Druck dargestellt.

Bei der Applikation von **1 ml Ringer** bei **2 atm** kann eine Neointimabildung von $0,116 \text{ mm}^2 \pm 0,066$ auf der Applikationsseite und $0,136 \text{ mm}^2 \pm 0,099$ auf der Kontrollseite gemessen werden. Auch beim höheren Applikationsdruck von **4 atm** kann keine Zunahme der Neointimabildung auf der Applikationsseite, hervorgerufen durch das Gefäßtrauma, im Vergleich zur Kontrollseite gezeigt werden: die Mittelwerte der Neointimabildung liegen auf der Applikationsseite bei $0,092 \text{ mm}^2 \pm 0,076$, auf der Kontrollseite bei $0,144 \text{ mm}^2 \pm 0,08$.

Bei der Applikation von **2 ml Ringer** sind bei **2 atm** nur geringe Unterschiede der Mittelwerte der Neointimabildung zwischen der Kontrollseite und der Applikationsseite festzustellen: Applikationsseite: $0,092 \text{ mm}^2 \pm 0,056$, auf der Kontrollseite $0,093 \text{ mm}^2 \pm 0,06$.

Bei einem Applikationsdruck von **4 atm** kann eine verstärkte Neointimabildung auf der Applikationsseite gezeigt werden: Mittelwerte der Neointimabildung auf der Applikationsseite: $0,116 \text{ mm}^2 \pm 0,089$, auf der Kontrollseite $0,102 \text{ mm}^2 \pm 0,098$. Bei der Applikation von **5 ml Ringer** setzt sich fort, dass die Neointimabildung auf der Applikationsseite im Vergleich zur Kontrollseite bei dem höheren Applikationsdruck verstärkt ist, nicht jedoch bei 2 atm. Die Neointimabildung der Applikationsseite beträgt bei einem Druck von **2 atm** $0,066 \text{ mm}^2 \pm 0,047$, auf der Kontrollseite $0,11 \text{ mm}^2 \pm 0,069$. Erhebliche Unterschiede sind bei der Applikation von 5 ml Ringer bei **4 atm** zu sehen. Die Neointimabildung ist mit $0,216 \text{ mm}^2$ etwa um das dreifache größer als bei der Kontrollseite: $0,066 \text{ mm}^2 \pm 0,027$.

Die Applikation von NaCl zeigt ähnliche Ergebnisse. Bei der Applikation von **1 ml NaCl** ist eine leicht verstärkte Neointimabildung sowohl bei einem Applikationsdruck von 2 atm, als auch bei 4 atm zu beobachten. Bei der Applikation von 1 ml NaCl bei **2 atm** beträgt die Intimaprolieration auf der Applikationsseite $0,062 \text{ mm}^2 \pm 0,044$, während sie auf der Kontrollseite $0,058 \text{ mm}^2$ beträgt $\pm 0,013$. Bei einem Applikationsdruck von **4 atm** ist die

Intimaneubildung stärker als bei 2 atm und ebenfalls auf der Applikationsseite stärker ausgeprägt als auf der Kontrollseite: $0,165 \text{ mm}^2 \pm 0,146$ zu $0,155 \text{ mm}^2 \pm 0,217$.

Bei der Applikation von **2 ml NaCl** hingegen ist dieser Trend nicht mehr nachzuweisen.

Bei der Applikation von 2 ml bei einem Druck von **2 atm** ist die Neointimabildung auf der Applikationsseite mit $0,116 \text{ mm}^2 \pm 0,076$ geringfügig größer als auf der Kontrollseite ($0,11 \text{ mm}^2 \pm 0,041$). Bei dem Applikationsdruck von **4 atm** ist auf der Kontrollseite eine verstärkte Intimaneubildung im Vergleich zur Applikationsbildung zu beobachten. Außerdem ist die Neointimabildung geringer ausgeprägt, als bei einem geringeren Applikationsdruck und Volumen. Die gemessenen Werte auf der Applikationsseite betragen $0,104 \text{ mm}^2 \pm 0,076$ und auf der Kontrollseite $0,128 \text{ mm}^2 \pm 0,107$.

Bei der Applikation von **5 ml NaCl** bei einem Druck von **2 atm** ist die Gefäßreaktion auf die Applikation an der Applikationsseite stärker ausgeprägt, die Neointimabildung beträgt hier $0,105 \text{ mm}^2 \pm 0,057$, während auf der Kontrollseite die Intimaproliferation mit $0,068 \text{ mm}^2$ gemessen wird $\pm 0,021$.

Bei der Applikation mit dem höheren Druck von **4 atm** ist die Gefäßantwort auf das Trauma geringer ausgeprägt, als auf der Kontrollseite. Auf der Applikationsseite nahm die Intima um $0,204 \text{ mm}^2$ zu, während sie auf der Kontrollseite um $0,26 \text{ mm}^2$ zunimmt, allerdings jeweils mit hohen Standardabweichungen von 0,14 bzw. 0,426.

Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsvolumen

Im Folgenden wird die Restenoseausbildung in Abhängigkeit von dem applizierten Volumen untersucht.

Die nachfolgende Abbildung (Abb. 10) zeigt die Neointimabildung in Abhängigkeit von dem Applikationsvolumen jeweils für die Applikationsseite und die Kontrollseite bei einer Applikation von 1 ml, 2 ml, und 5 ml und einem Applikationsdruck von 2 atm.

Durch den konstanten Druck aber der Applikation verschiedener Volumina wird hier die Neointimabildung in Abhängigkeit der Menge der in die Gefäßwand injizierten Substanz

aufgezeigt.

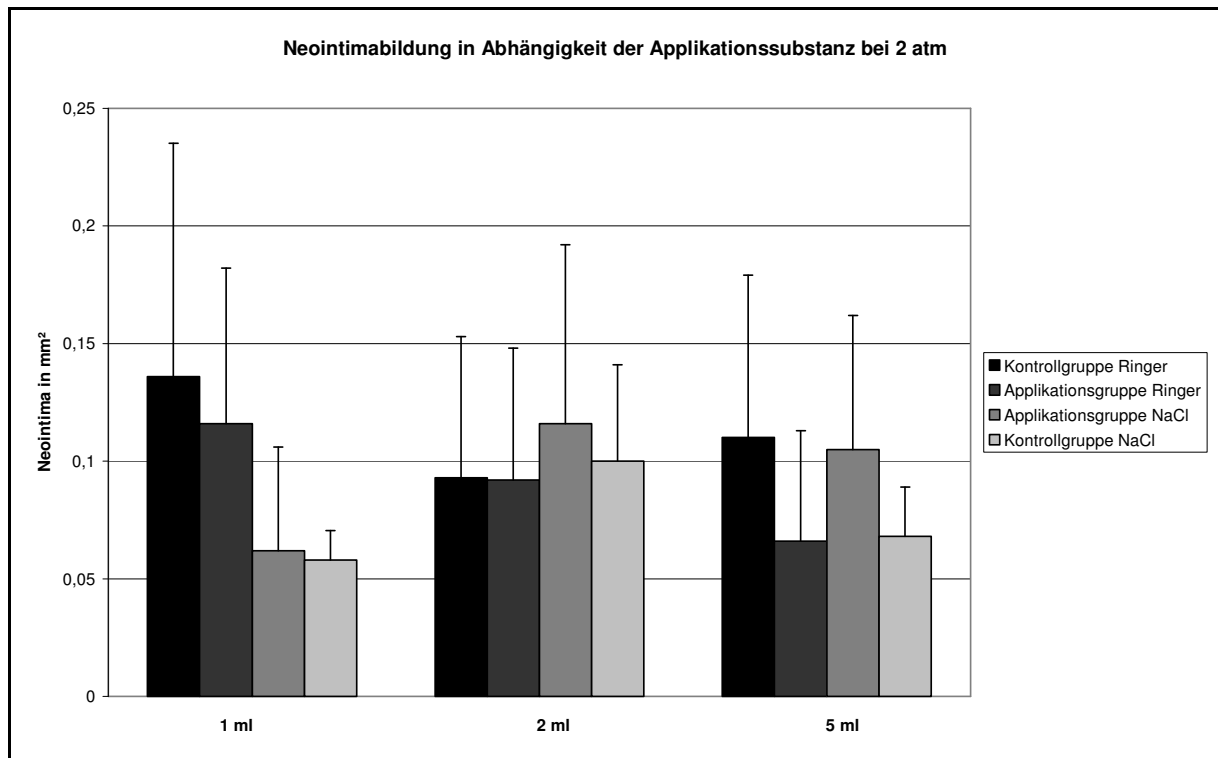


Abb. 10 Neointimabildung bei der Applikation von unterschiedlichen Volumina NaCl bzw Ringer bei 2 atm

Bei dem Applikationsdruck von 2 atm ist kein signifikanter Unterschied der Neointimabildung in Abhängigkeit der verschiedenen Applikationsvolumina bei der Kontroll- und Applikationsgruppe festzustellen.

Für die Applikation von Ringer-Lösung ist die Neubildung der Intima bei 1 ml $0,116 \text{ mm}^2 \pm 0,066$, auf der Kontrollseite im Vergleich $0,136 \text{ mm}^2 \pm 0,099$; bei 2 ml auf der Applikationsseite $0,092 \text{ mm}^2 \pm 0,056$, auf der Kontrollseite $0,093 \text{ mm}^2 \pm 0,06$ und bei 5 ml Ringer beträgt die Neointima auf der Interventionsseite $0,066 \text{ mm}^2 \pm 0,047$, auf der Kontrollseite $0,11 \text{ mm}^2 \pm 0,069$. Die Restenose beträgt bei der Applikation von 1 ml NaCl $0,062 \text{ mm}^2$, bei 2 ml NaCl $0,116 \text{ mm}^2$ und bei 5 ml NaCl $0,105 \text{ mm}^2$, auf der entsprechenden Kontrollseite ist eine Neointimabildung von $0,058 \text{ mm}^2$, $0,1 \text{ mm}^2$ bzw. $0,068 \text{ mm}^2$ zu messen.

Auch bei dem Applikationsdruck von 4 atm ist kein signifikanter Unterschied der Neointimabildung in Abhängigkeit der unterschiedlichen Applikationsvolumina zu erkennen.

Die nachfolgende Abbildung (Abb. 11) zeigt die Neointimabildung in Abhängigkeit der Applikationsvolumina von 2 ml, 4 ml und 5 ml bei dem Applikationsdruck von 4 atm.

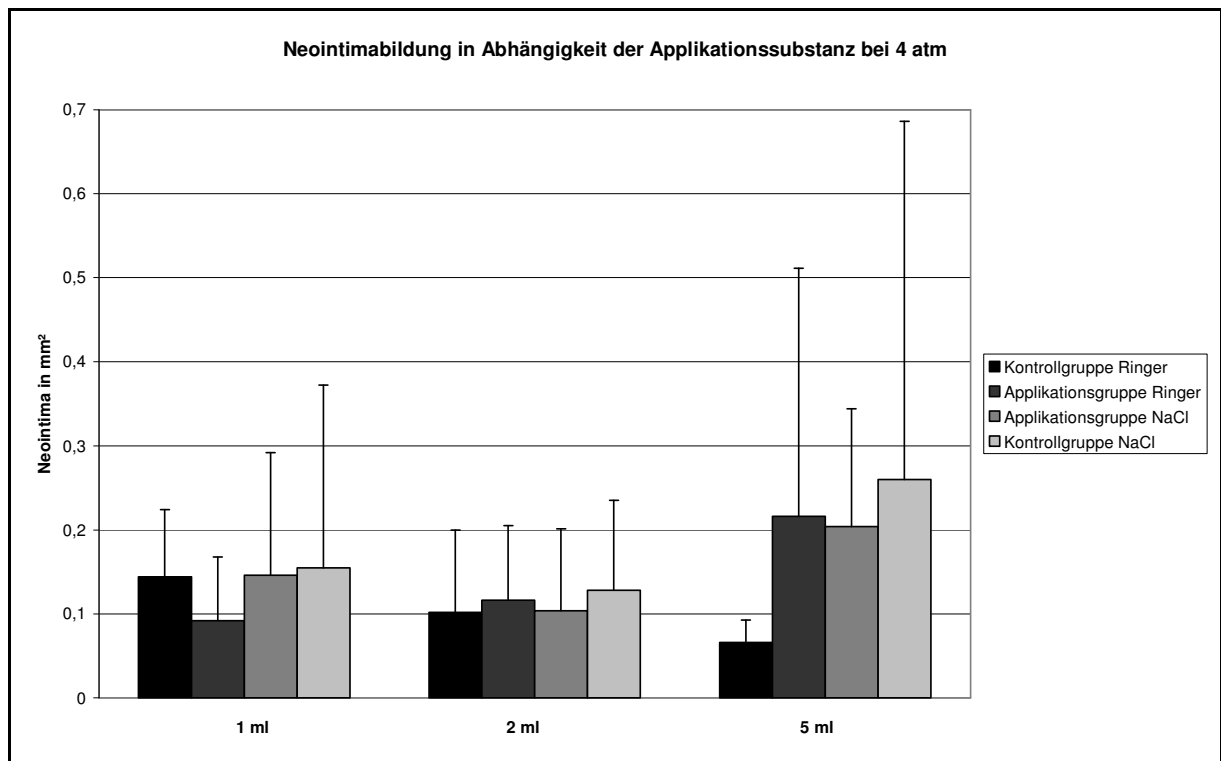


Abb. 11 Neointimabildung bei der Applikation von unterschiedlichen Volumina NaCl bzw Ringer bei 4 atm

Eine Zusammenfassung der bisher beschriebenen Ergebnisse wird in den beiden folgenden Abbildungen (Abb. 12 und 13) dargestellt.

Es wird die Neointimabildung in Abhängigkeit sowohl vom Applikationsdruck als auch vom Applikationsvolumen für NaCl- und für Ringer-Lösung aufgetragen, jeweils für die Kontroll- und Applikationsseite.

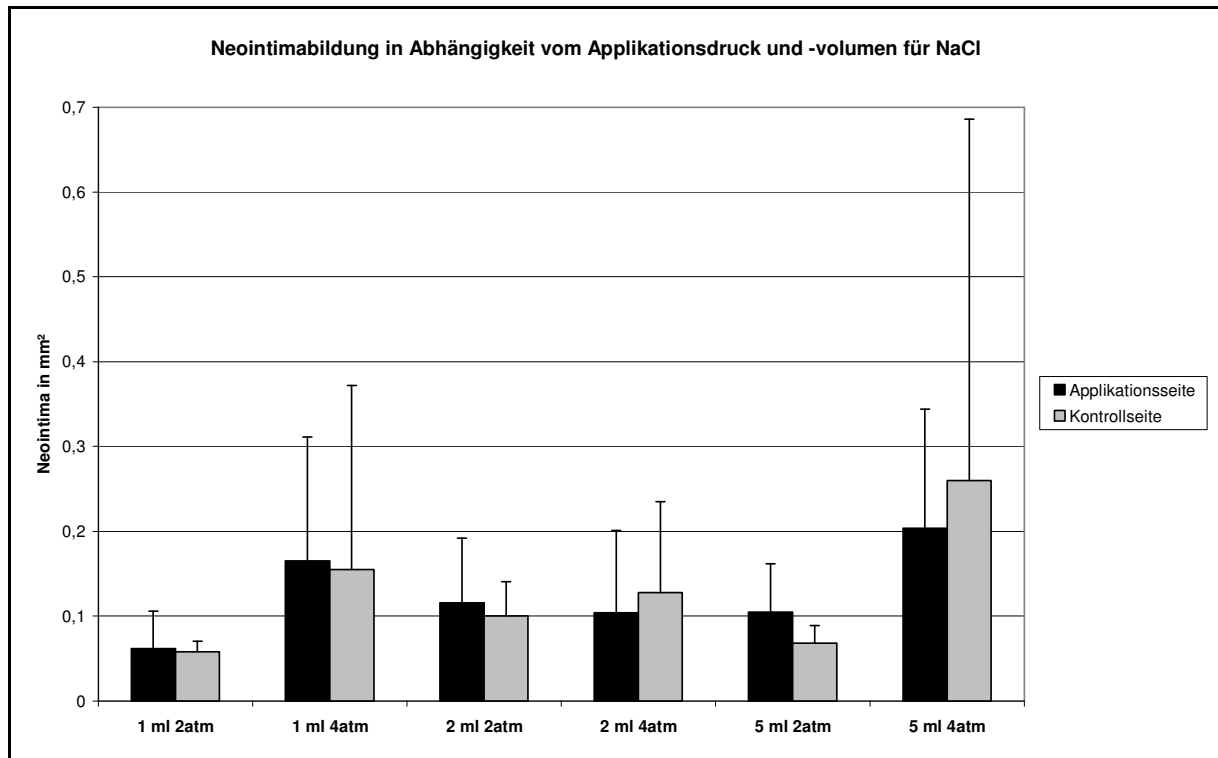


Abb. 12 Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsdruck und Applikationsvolumen für NaCl

Bei der Applikation von 1 ml NaCl mit einem Druck von 2 atm ist die Neointimabildung auf der Applikationsseite leicht stärker als auf der Kontrollseite: 0,062 mm² zu 0,058 mm².

Ebenso bei 1 ml und dem Applikationsdruck von 4 atm, hier ist die Intimaneubildung auf der Applikationsseite 0,165 mm², auf der Kontrollseite 0,155 mm².

Bei der Applikation von 2 ml NaCl mit 2 atm setzt sich die Tendenz fort, die Intima ist auf der Interventionsseite mit 0,116 mm² stärker ausgeprägt als auf der Kontrollseite, hier sind 0,1 mm² gemessen. Bei dem Applikationsdruck von 4 atm hingegen ist der Wert der Kontrollseite 0,128 mm², auf der Applikationsseite dagegen nur 0,104 mm².

Für die Gruppe, bei der 5 ml bei 2 atm appliziert wurden, ist der Mittelwert der Neointima auf der Applikationsseite 0,105 mm², auf der Kontrollseite 0,068 mm².

Die Injektion von 5 ml NaCl mit einem Druck von 4 atm in die Gefäßwand, die von den Applikationen das größte Gefäßtrauma darstellt, zeigt bei der Applikationsseite eine geringere Neointimafläche (0,204 mm²) als auf der Kontrollseite (0,26 mm²).

Der aus vorliegender Grafik hervorgehende Eindruck, dass der höhere Druck einen Einfluss auf die Ausbildung der Restenose hat, kann durch die multivariante Varianzanalyse (MANOVA) nicht bestätigt werden ($p=0,16$).

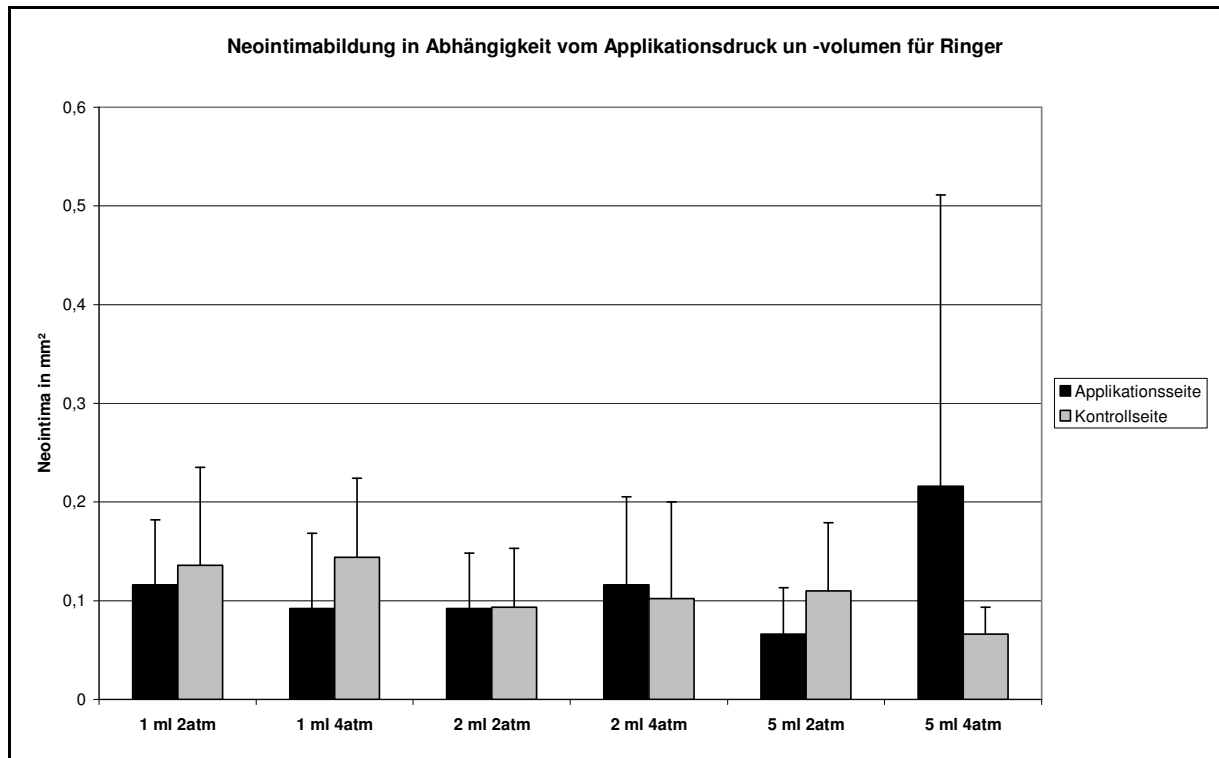


Abb. 13 Neointimabildung in Abhängigkeit vom Applikationsdruck und Applikationsvolumen für NaCl

Die Neointimabildung in dem, mit der Applikation von 1 ml Ringer mit einem Applikationsdruck von 2 atm behandelten Gefäß, ist mit $0,116 \text{ mm}^2 \pm 0,066$ leicht geringer ausgeprägt, als in dem Kontrollgefäß, das nur mit der Ballonangioplastie ohne simultane Applikation behandelt worden ist: $0,136 \text{ mm}^2 \pm 0,099$.

Auch bei der Applikation von 1 ml Ringer-Lösung mit einem Druck von 4 atm in die Gefäßwand, ist der Neointimawert an dem Applikationsgefäß größer als auf der Kontrollseite: $0,092 \text{ mm}^2$ (Applikationsseite) und $0,144 \text{ mm}^2$ (Kontrollseite).

Bei 2 ml Applikationsvolumen und 2 atm Applikationsdruck ist der Wert der Kontrollseite mit $0,092 \text{ mm}^2$ fast gleich mit dem Wert der Neointimabildung auf der Interventionsseite: $0,093 \text{ mm}^2$.

Für die Gruppe, die mit 2 ml Ringer-Lösung und 4 atm behandelt wurden, hat sich auf der Applikationsseite eine Intima von 0,116 mm² ausgebildet, während bei den Gefäßen der Kontrollseite diese nur mit 0,102 mm² gemessen ist.

Die beiden Gruppen, mit dem größten applizierten Volumen von 5 ml zeigten ein unterschiedliches Verhalten bei der Ausbildung einer Neointima. Bei der Gruppe, bei der 5 ml mit 2 atm appliziert wurden, ist die Neointima auf der Kontrollseite mit 0,11 mm² größer als auf der Applikationsseite: 0,06 mm². Wird hingegen das gleiche Volumen mit dem höheren Druck von 4 atm injiziert, so ist die Neointima auf der Applikationsseite mit 0,216 mm² stärker ausgeprägt, als auf der Kontrollseite, hier wird lediglich eine Neointima von 0,066 mm² gemessen.

Auch bei der Applikation von 5 ml bei einem Druck von 4 atm ist weder bei Ringer- noch bei NaCl-Lösung ein statistisch signifikanter Unterschied in der Neointimabildung im Vergleich zu den Gefäßen, die nur mit PTA ohne simultane Pharmakoapplikation behandelt worden sind, festzustellen ($p=0,53$).

Auch die Verwendung von Ringer- im Vergleich zu NaCl-Lösung hat keinen statistisch signifikanten Unterschied in der Ausbildung der Neointima gezeigt ($p=0,46$).

Die folgenden Histologiebilder zeigen verschiedene Gefäße nach unterschiedlichen Applikationen mit der unterschiedlichen Ausprägung der Neointimaausbildung.

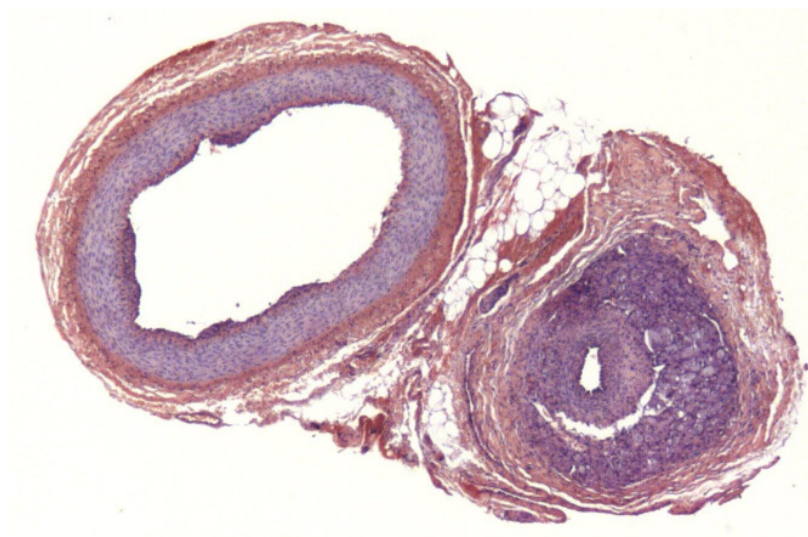


Abb. 14 angeschnittene Arterie und Vene, Kontrollseite ohne wesentliche Neointimabildung, HE Färbung

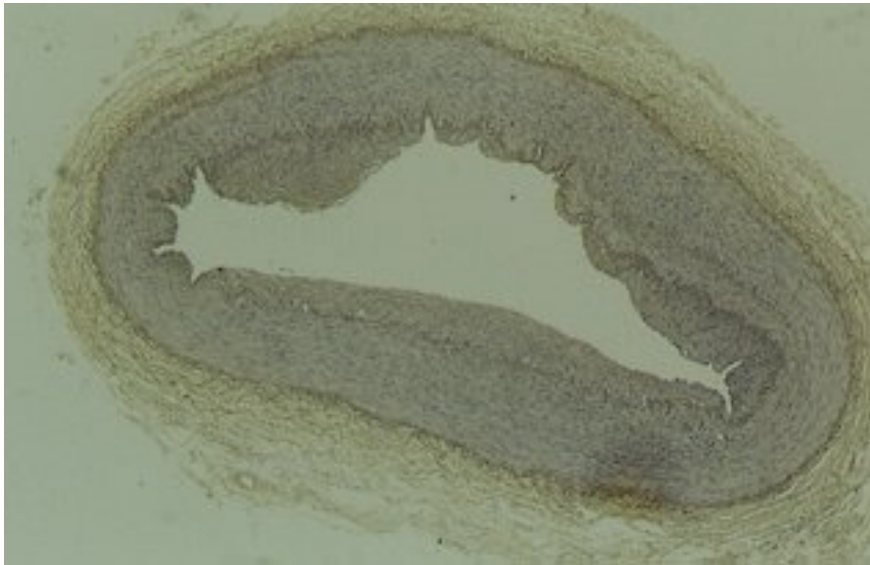


Abb. 15 Gefäßpräparat der Applikationsseite nach Applikation von 2 ml NaCl mit 2 atm, sichtbare Neointimabildung, Elastica Färbung

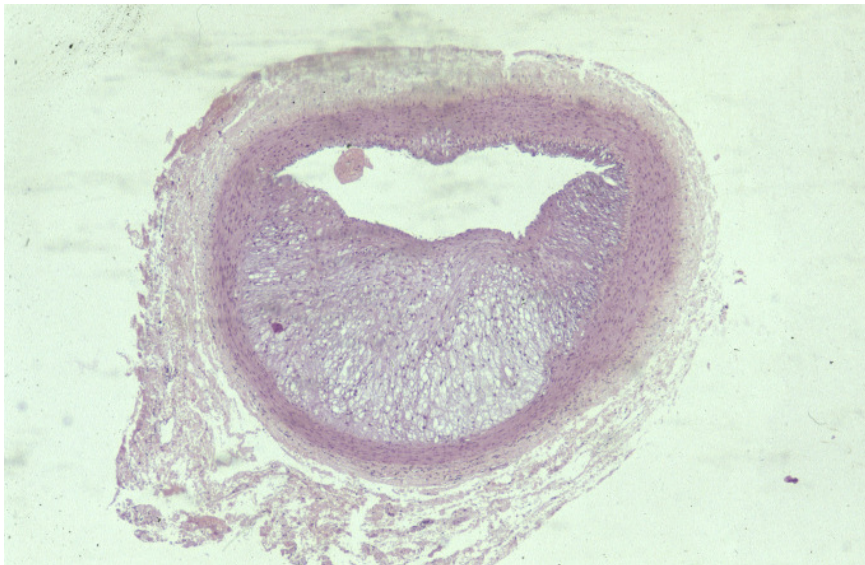


Abb. 16 Gefäßabschnitt mit deutlicher Neointimabildung, Kontrollseite (5 ml NaCl 4 atm) HE Färbung

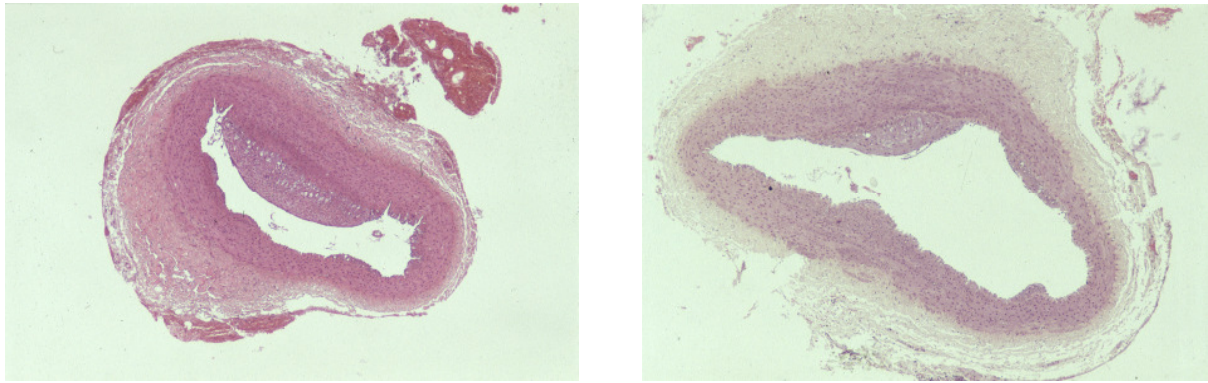


Abb. 17 Vergleich der Kontrollseite (links) mit der Applikationsseite (rechts) (bei einer Applikation von 2 ml NaCl bei 2 atm.

Es zeigt sich auf der Applikationsseite keine gesteigerte Neointimabildung hervorgerufen durch das Gefäßtrauma im Vergleich zur Kontrollseite (HE Färbung)

5. Diskussion

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Charakterisierung und Quantifizierung des entstehenden Gefäßtraumas in Abhängigkeit vom Applikationsdruck und Applikationsvolumen bei einer Ballonangioplastie mit simultaner lokaler Pharmakoapplikation. Bei der lokalen Applikation von Ringer- oder NaCl-Lösung mit einem Applikationsdruck von bis zu 4 atm über den Channeled Balloon-Katheter konnte kein durch die Applikation zusätzlich erzeugtes Gefäßtrauma in Form einer gesteigerten Neointimaprolieration im Vergleich zu den Kontrollgefäßen statistisch signifikant nachgewiesen werden.

Die PT(C)A hat sich im klinischen Alltag als Routineverfahren zur Behandlung von peripheren Gefäßverschlüssen und in der Behandlung der koronaren Herzkrankheit mit einer Häufigkeit von schweren akuten Komplikationen von unter 5% (98) durchgesetzt. Als klinische Limitation bleibt die chronische Komplikation der Restenose, die mit einer Häufigkeit von 30-50% in einem Zeitraum von 6 Monaten den primären Erfolg einschränkt (43).

Bei der kritischen Beurteilung der primären und sekundären Erfolgsraten der Behandlung von Stenosen im Gefäßsystem muss man sowohl zwischen Eingriffen im koronaren Gefäßsystem und im peripheren Gefäßsystem differenzieren, als auch zwischen einer Ballonangioplastie alleine und der Ballonangioplastie mit anschließender Implantation eines (beschichteten) Stents.

In der aktuellen Diskussion haben die neuen Therapieoptionen im Koronarsystem mit beschichteten Stents, hier vor allem die mit dem Immunsuppressivum Rapamycin (Sirolimus) und dem Spindelgift Paclitaxel beschichteten Stents gute primäre Ergebnisse im Vergleich zur Ballonangioplastie erzielt. Kastrati et al. (99) konnten eine Reduktion der angiographischen Restenoserate 6 Monate nach Behandlung von In-stent-Restenosen mit beschichteten Stents (Sirolimus, Paclitaxel) auf 14,3% bzw. 21,7% gegenüber 44,6% im Vergleich zur Ballonangioplastie alleine zeigen. Diese und andere Studien zeigen die Überlegenheit der Stentimplantation im koronaren Gefäßsystem zur Behandlung von Stenosen. Allerdings können die auf den Stents verwendeten Polymerträger auch potentiell thrombogen wirken und Inflamationsreaktionen verursachen (100). Zudem limitiert eine unzureichende

Medikamentenapplikation an den Seitenrändern oder auch zwischen den Stentstreben in gewundenen Gefäßabschnitten die Effektivität medikamentenbeschichteter Stents, was sich beispielsweise in der SIRIUS Studie durch eine erhöhte Restenoserate an den Stenträndern gezeigt hat (101).

Im Gegensatz dazu zeigen Studien für das periphere Gefäßsystem und hier v.a. für die Behandlung von Stenosen im Bereich der infrainguinalen Gefäße die Überlegenheit der Ballonangioplastie ohne Stentimplantation (105, 106). Die Implantation von Stents verhindert zwar den durch elastische Rückstellkräfte verursachten initialen Lumenverlust, wie es nach der Ballonangioplastie beobachtet wird, jedoch überwiegt dieser primäre Nutzen weder die erhöhte Rate an frühen Thrombosen, noch die vermehrten späten neointimalen Hyperplasie, so daß die Restenoserate im peripheren Gefäßsystem nach Stentimplantation höher als nach Ballonangioplastie ist. Zudem wurden seltene Komplikationen wie Migration der Stents (107) und Versagen der Stents durch Kompression im Adduktorenkanal (105) beschrieben.

Daher gilt als Standard für die Behandlung peripherer Stenosen, vor allem der infrainguinalen Gefäße die Ballonangioplastie als Methode der ersten Wahl, und bei Versagen dieser Methode die Stentimplantation (102, 103). Bei langen, verkalkten Läsionen wird jedoch häufig nach der primären Ballonangioplastie eine spätere Stentimplantation notwendig (104). Die Indikation für die primäre Implantation von Stents im peripheren Gefäßsystem besteht jedoch weiterhin für Gefäßverschlüsse durch Tumorkompression von außen, bei Gefäßrupturen und Gefäßaneurysmen.

Als Kriterien für die Wahl der Behandlungsmethode sind die Größe des Gefäßes, sowie die Beschaffenheit und Länge der Läsion von Bedeutung. Für kurze Stenosen gilt die Ballonangioplastie als Mittel der Wahl (105), ebenso für Gefäße mit kleinerem Durchmesser, wie z.B. die A. femoralis, da hier die gesteigerte myointimale Hyperplasie nach Stentimplantation eine größere hämodynamische Rolle spielt, als in Gefäßen mit größerem Durchmesser (106).

Für die interventionelle endoluminale Therapie von Stenosen im Bereich der A. femoralis zeigten sowohl Vroengindewij et al. (108), Do-Dai-Do et al. (109) und Grimm et al. (106) eine höhere Offenheitsrate nach 12 Monaten gegenüber der Stentimplantation. Vroengindewij gaben die Offenheitsrate bei Stentimplantation mit 74% nach einem Jahr, bei

Ballonangioplastie mit 85% an, Do-Dai-do mit 59% nach Stentimplantation und 65% nach Ballonangioplastie, Grimm mit 75% nach Stentimplantation und 84% nach Ballonangioplastie an.

Im Gegensatz zu diesen Studien zeigen Schillinger et al., dass die primäre Implantation eines selbstexpandierenden Nitinol-Stents (Nickel-Titan) bei Verschlüssen der oberflächlichen Femoralarterie mittelfristig bessere Ergebnisse als die PTA mit optionalem Stenting (104). Sie beschreiben eine Restenoserate von 50% nach 6 Monaten nach PTA im Gegensatz zu nur 25% nach Implantation eines Nitinol-Stents. Neben der Restenose ist es als weitere Komplikation, wie auch schon in der SIROCCO I und II-Studie (110,111) beschrieben, zu Stentfrakturen gekommen. Die Rate lag jedoch mit 2% wesentlich niedriger als in der SIROCCO I Studie (18%), was im Wesentlichen auf die Länge des Stents sowie das Design zurückzuführen ist.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Ballonangioplastie in den peripheren Gefäßen, insbesondere in der Behandlung der infrapoplitealen Verschlüsse ein großes Potenzial hat und somit auch die Möglichkeit der simultanen Pharmakoapplikation zur Reduktion der Restenose in den Vordergrund rückt.

Die lokale Applikation von Pharmaka ist als eine Form der Restenoseprophylaxe in den letzten Jahren experimentell und klinisch untersucht worden. Durch die Entwicklung neuer Kathetersysteme ist es möglich geworden, Medikamente, die an den verschiedenen Stellen der Restenoseentstehung therapeutisch eingreifen, so auch eine lokale Gentherapie direkt an den Ort der Restenoseentstehung zu bringen.

5.1 Kathetersysteme

Bei der Einteilung der Katheter mit der Möglichkeit der simultanen Pharmakoapplikation, unterscheidet man drei große Gruppen, die nach ihrem Applikationsmechanismus eingeteilt werden:

- Die Pharmaka gelangen durch einfache passive Diffusion in die Gefäßwand.
- Die Pharmaka gelangen aktiv oder durch Druck in die Gefäßwand.
- Die Pharmaka werden direkt mechanisch in die Gefäßwand appliziert.

Die folgende Abbildung gibt einen Überblick über die verschiedenen Applikationssysteme:

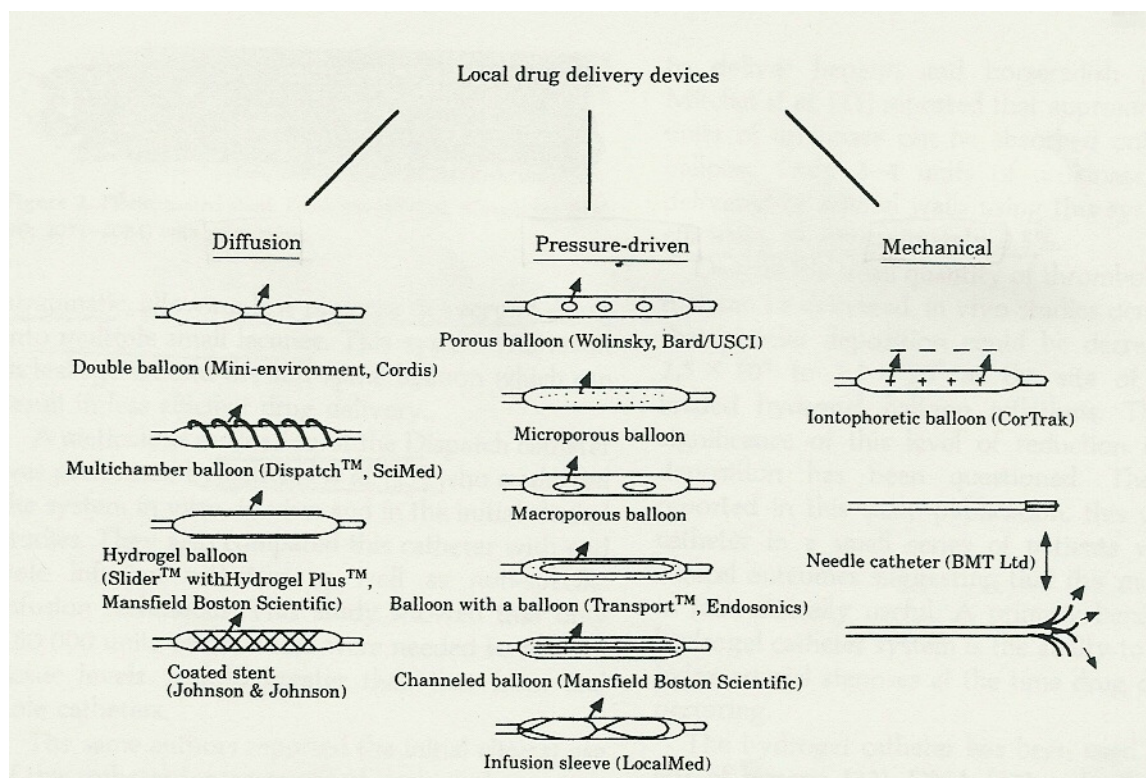


Abb.14: Schematische Abbildung der verschiedenen Kathetertypen (aus: Höfling et al., 1995)
(62)

Katheter mit passivem Applikationsmechanismus und beschichtete Stents

Die erste Gruppe ist dadurch charakterisiert, dass das Pharmakon überwiegend durch passive Diffusion in die luminalen, oberflächlichen Schichten des atherosklerotischen Plaques eingebracht wird. Die Diffusion von Substanzen in die Gefäßwand beruht auf dem zeitlich längeren Kontakt des Applikationssystems mit der Gefäßwand. Dieses Prinzip scheint z.B. geeignet für die lokale Anwendung von Thrombozytenaggregationshemmern und Antikoagulantien, bei denen ein zu tiefes Eindringen möglicherweise eine intramurale Einblutung zur Folge hätte (60).

Ein Beispiel für ein Applikationssystem mit relativ geringer Eindringtiefe ist der Doppelballon-Katheter. Der Doppelballon war der erste Katheter, der für die lokale Pharmakotherapie entwickelt worden ist. Andreas Grüntzig hat das Konzept dieses Systems bereits 1983 etabliert (59), später ist es mehrfach experimentell und auch klinisch angewandt worden, unter anderem von Nabel und Mitarbeitern zur Applikation von DNA in die Gefäßwand (112). Dieser Katheter ist aus zwei aufblasbaren Ballons jeweils am proximalen und distalen Ende des Katheters aufgebaut. Beim Aufblasen entsteht zwischen den Ballons und der Gefäßwand eine Kammer, in welche die zu applizierende Substanz über ein eigenständiges Lumen injiziert wird. Sie gelangt somit durch einfache passive Diffusion oder durch hydrostatischen Druck in die Gefäßwand (113).

Bei diesem Verfahren benötigt man einen sehr geringen Applikationsdruck, eine druckinduzierte Gefäßschädigung wird dadurch weitgehend vermindert. Von Nachteil ist hingegen die Länge der Kammer (> 25 mm), die eine Okklusion der vaskulären Strombahn während der Anwendung bedingt. Insbesondere in den Koronararterien besteht zudem die potentielle Gefahr, dass toxische Substanzen über Seitenäste abfließen und zu einer systemischen Wirkung des Pharmakons führen können. Bedingt durch den Applikationsmechanismus ist die effektive Einbringung des Pharmakons in alle Wandschichten jedoch geringer als bei anderen lokalen Applikationssystemen (64).

Ein weiterer Katheter aus dieser Gruppe ist die Infusionsspirale (Dispatch coronary infusion catheter). Dieses System hat gegenüber dem Doppelballon den großen Vorteil, dass es über ein zentrales Perfusionslumen verfügt und somit auch längere Applikationszeiten ohne Ischämie toleriert werden. Aufgebaut ist sie aus einem Katheter mit einer Spirale, die am Katheterende in einen Hohlraum eingelagert und um eine tubuläre Hülse gewickelt ist. Bei

Inflation entfaltet sich die Spirale und spannt dadurch eine Membran. Die Substanz wird in die entstandenen Räume zwischen der Membran und der Gefäßwand appliziert, dort ist das Pharmakon vor dem Blutfluss geschützt, wodurch sehr hohe lokale Konzentrationen erreicht werden können, die mit einer systemischen Gabe und vielen anderen Kathetersystemen nicht möglich sind (114). Die Substanz gelangt so relativ atraumatisch zunächst in engen Kontakt und dann durch passive Diffusion in die Gefäßwand da nur ein geringer Inflationsdruck nötig ist.

Wie der Doppelballon, kann auch mit der Infusionsspirale eine Dilatation nicht simultan durchgeführt werden, d.h. wenn zur lokalen Pharmakoapplikation auch eine Dilatation notwendig wäre, kommt es zu einem zusätzlichen Gefäßtrauma. Zudem ist der Wandkontakt der Spirale im atherosklerotisch veränderten Gefäß wegen des wenig flexiblen Katheterdesigns nicht in dem Maße möglich, wie am gesunden Gefäß. Es kommt an diesen Stellen zu einer hohen Auswaschrates der Substanz, was die Effektivität der Applikation vermindert (39). Auch kann es entweder durch solche pathologischen Wandveränderungen oder auch durch das Benutzen des Katheters in einem zu kleinen Gefäß zu einer inkompletten Entfaltung der Spirale kommen, was eine inhomogene Applikation zur Folge hat (115).

Ebenfalls zur Gruppe der Katheter mit passiver Pharmakoapplikation gehört der hydrogelbeschichtete Ballonkatheter. Dieses System ist aus einem gewöhnlichen Ballonkatheter aufgebaut, der mit einer hydrophilen Polymerbeschichtung überzogen ist. In diese Beschichtung können verschiedene Substanzen (Heparin, DNA und an Adenoviren gekoppelte DNA) eingebracht werden, die nach Kontakt mit der Gefäßwand abgegeben werden (72).

Es besteht jedoch eine erhebliche Diskrepanz zwischen der auf den Ballon geladenen Menge an Pharmakon und der in die Gefäßwand applizierten Menge. Sobald der Hydrogel-Ballon in den Blutstrom gelangt, kommt es zu einem so genannten Auswaschphänomen (wash-off) (65). Eine Möglichkeit, dieses Problem zu umgehen, besteht darin, eine Schutzschleuse über den Katheter zu stülpen. Das wash-off-Phänomen wird dadurch zwar zunächst verhindert, aber die Zeit, in der die Schutzhaube vom Katheter gezogen wird, bleibt auch weiterhin eine kritische Zeit. Ein möglicher therapeutischer Einsatz wäre jedoch die selektive Therapie der Intima, da mit dem Katheter die Applikation auf die Intima begrenzt bleibt. In tieferen Schichten konnte dagegen kein Pharmakon nachgewiesen werden (114, 115).

Als Nachteile im klinischen Einsatz zeigen sich die geringe Substanzmenge, die auf den Katheter geladen werden kann und die langen Applikationszeiten, da der Katheter nicht mit einem zentralen Perfusionslumen ausgestattet ist. Von Vorteil ist jedoch bei diesem System die Möglichkeit der simultanen Applikation und Dilatation, wodurch ein zusätzliches Gefäßtrauma vermieden wird.

Beschichtete Stents

Eine alternative Möglichkeit zur lokalen Pharmakotherapie mit Ballonkathetern stellen die beschichteten Stents dar. Seit der Einführung der Stentimplantationen im Jahr 1986 ist eine Vielzahl von experimentellen und klinischen Studien zur Beurteilung der Kurz- und Langzeitergebnisse zunächst unbeschichteter Stents durchgeführt worden, um die Restenoserate nach Stentimplantation mit der Restenoserate nach Angioplastie vergleichen zu können. Die STRESS- und BENESTENT-Studien belegen die Überlegenheit dieses Behandlungsprinzips gegenüber der alleinigen Ballonangioplastie im Koronarsystem (21, 116).

Beschichtete Stents stellen eine gute Möglichkeit dar, die zu applizierende Substanz eng und anhaltend in Kontakt mit der Gefäßwand zu bringen. Stents können zum Beispiel mit Heparin beschichtet werden, wodurch die subakute Thromboserate gesenkt werden kann (117). Als Trägersubstanz für die antithrombotisch und antiproliferativ wirksamen Stoffe können Polymere verwendet werden, die entweder nur zur Beschichtung von Metallstents oder zur Herstellung von kompletten Polymerstents benutzt werden. Die komplett abbaubaren Stents haben ein großes therapeutisches Interesse, da man mit ihnen die Wirkungszeit der Substanz auf die Gefäßwand variieren kann, je nachdem, wie schnell der Stent abgebaut wird. Diese Option wurde schon wieder verlassen, da es durch die Abbauprodukte des Stents zu Fremdkörperreaktion und Entzündungsreaktionen kommen kann (60). Mit Fibrin als körpereigene Substanz zur Beschichtung glaubte man, dieses Problem gelöst zu haben. Es konnten durch die neue Trägersubstanz auch einige Nebenwirkungen vermieden werden, die Gewebhyperplasie wurde jedoch verstärkt.

Die Einsatzmöglichkeiten der Stents als Applikationssysteme können sehr vielseitig genutzt werden. Nach Versuchen von Hehrlein et al. (118) zeigte sich, dass radioaktive Stents mit β/γ -Strahlung, die Intimahyperplasie signifikant verringern können. Der Angriffsort dabei ist direkt die Hemmung der Proliferation der glatten Muskelzellen. Außerdem können sie zur Einbringung von genetisch verändertem Material in die Gefäßwand benutzt werden. Dichek et

al. (119) haben *in vitro* aufgearbeitete, genetisch veränderte Endothelzellen auf den Stent aufgebracht, mit dem Ziel, das Thromboserisiko und die Intimahyperplasie zu vermindern. Dieses Konzept ist allerdings ein sehr zeit- und kostenaufwendiger Prophylaxeansatz.

Eine neue Möglichkeit stellen mit Immunsuppressiva, wie Sirolimus oder Tacrolimus, beschichtete Stents dar. Sirolimus ist ein Immunsuppressivum, das ursprünglich in der Nephrologie zur Verhinderung der Abstoßungsreaktion nach Nierentransplantation eingesetzt wurde. Die mit Sirolimus beschichteten Stents zeigen eine Reduktion der angiographisch nachweisbaren Restenosen bei der Anwendung im Koronarsystem (120, 121). Nach der RAVEL-Studie wurde bei keinem der mit Sirolimus beschichteten Stents nach 6 Monaten eine Restenose nachgewiesen. Hingegen wurde bei 26% der Patienten aus der Kontrollgruppe, die mit nicht beschichteten Stents behandelt worden sind, eine Restenose in diesem Zeitraum festgestellt (67).

Katheter mit aktiver, druckabhängiger Pharmakoapplikation

Eine andere Methode, die Substanz direkt in die tieferen Schichten der Gefäßwand zu applizieren, ist die druckabhängige Pharmakoapplikation. Durch dieses Verfahren sollten einige der Nachteile der passiven Applikation aufgehoben werden. Die Dilatation und die Applikation können simultan stattfinden, die Eindringtiefe der Substanz in die Gefäßwand kann in Abhängigkeit vom Applikationsdruck variiert werden. Es sind somit tiefere Schichten der Gefäßwand erreichbar, vor allem die Media und die Adventitia, wodurch die Restenoseprophylaxe am Ort der Entstehung gezielter wirksam werden könnte. Jedoch sind auch hier die Nachteile dieser Systeme nicht zu vernachlässigen, hauptsächlich handelt es sich um druckabhängige Gefäßschädigungen.

Zu dieser Gruppe werden auch der poröse und der mikroporöse Ballon-Katheter gezählt, der Schleifeninfusionskatheter (Infusion sleeve-Katheter) und der Channeled-Balloon-Katheter, mit dem auch diese Arbeit durchgeführt wurde.

Bei den heute verwendeten Systemen handelt es sich im Wesentlichen um Modifikationen des bereits 1990 von Wolinsky und Thung entwickelten perforierten Ballonkatheters (70). Dieser Ballon besitzt in seiner Zirkumferenz 50 durch einen Festkörperlaser in den Ballonkatheter eingebrachte 25 µm große Öffnungen. Durch die Inflation des Ballons mit dem Pharmakon wird dieses in die Gefäßwand injiziert. Vermutlich geht schon während der Inflation des

Ballons Substanzen durch Leckage verloren. Eine weitere Ursache für die geringe Effektivität ist das Abfließen der Wirkstoffe in die Seitenäste sowie in das distale Perfusionsgebiet (64). Neben der unbekannt Menge, die dadurch in die systemische Zirkulation entweicht, gilt auch das lokale Trauma (Jet-Effekt) im Bereich der Austrittsöffnungen als limitierender Faktor dieses Systems. Der Jet-Effekt ist sowohl von der Größe der Poren, als auch von der Infusionsmenge und dem Injektionsdruck abhängig. Schon bei einem Druck von 2 atm haben Herdeg et al. (122) spezifische Läsionen beobachtet, die eindeutig dem Katheter zugeordnet werden konnten. Es fanden sich zirkumskripte Zerstörungen in der inneren elastischen Schicht an den typischen fünf Stellen, die dem Verlauf der Poren an der Ballonoberfläche entsprechen. Diese Jet-Effekt-Verletzungen sind in ihrer Ausprägung von der Höhe des Applikationsdruckes abhängig. Mit steigendem Druck ist eine direkte Korrelation mit der Stärke der Jet-Effekt-Gefäßtraumata zu erkennen.

Um das Problem der druckabhängigen Gefäßwandschäden, die bei der Pharmakotherapie mit dem Porous balloon nicht zu vermeiden sind, anzugehen, hat man als Weiterentwicklung den Microporous balloon geschaffen. Bei diesem Modell ist die Porendichte auf der Oberfläche erhöht und die Porengröße vermindert, wodurch eine weniger traumatische Applikation möglich sein sollte. Das System ist aufgebaut aus einem inneren Ballon mit mehreren 25µm Poren, umgeben von einem äußeren Ballon mit sehr viel kleineren Poren (0,8µm), die sehr zahlreich an der Oberfläche sind und eine kontrollierte Freisetzung der Substanz ermöglichen sollen.

Der Channeled Balloon Katheter

Ein neueres Kathetersystem, mit dem auch diese Arbeit durchgeführt wurde, ist der Channeled balloon. Aufgebaut ist er aus 18 zirkulären Kanälen, die um einen Angioplastiekatheter angeordnet sind. Jeder dieser Kanäle hat eine Gruppe von Poren, die mit einem Durchmesser von 30 µm helikal um die gesamte Länge des Katheters angeordnet sind. So wird eine gleichmäßige Applikation in die Gefäßwand ermöglicht. Insgesamt verfügt der Katheter über 3 voneinander unabhängige Lumina, eines über welches das Pharmakon in die Kanäle gelangt und über das der Applikationsdruck reguliert wird, das zweite, um den Dilatationsballon mit einem unabhängigen Druck zu dilatieren und ein drittes, durch das der Führungsdraht läuft. Der Katheterschaft betrug 3,4 French, der Katheter hat eine Gesamtlänge von 20 mm und einen Durchmesser von 2,5 mm.

Der große Vorteil dieses Systems ist die Möglichkeit, die Dilatation mit der Pharmakoapplikation durch den speziellen Aufbau in einer Intervention zu kombinieren. Der Katheter verfügt über zwei getrennte Zugänge, über den einen wird der Dilatationsdruck aufgebaut, über den zweiten ist es möglich, den Applikationsdruck zu regulieren. Durch die Trennung der Applikationsskanäle von dem eigentlichen Dilatationskatheter ist eine Pharmakoapplikation möglich, die im Applikationsdruck unabhängig vom Druck der Dilatation ist. Dadurch ist es möglich, den Applikationsdruck wesentlich niedriger als den Dilatationsdruck zu halten und damit die bei den anderen Systemen häufig beschriebenen druckabhängigen Gefäßwandschädigungen zu vermeiden.

Kimura et al. (123) zeigten die Korrelation zwischen dem Applikationsdruck und der Gefäßverletzung. Sie untersuchten die Iliakalgefäße von New Zealand White Rabbits 14 Tage nach der PTA-Behandlung mit einem Applikationsdruck von 0, 3, 5, 7 und 12 atm histologisch. Sowohl die Intimaverletzungen als auch die Neointimabildung waren bei den höheren Drücken (7 und 12 atm) deutlich erhöht. Bei den niedrigeren Drücken (0, 3, 5 atm) war insgesamt eine geringere Schichtdicke zu sehen sowie eine geringere Zunahme der Neointimafläche mit steigendem Druck.

Bei der Applikation mit dem Channeled Balloon sollte neben der Pharmakokonzentration das Verhältnis zwischen dem Ballondurchmesser und dem Gefäßdurchmesser beachtet werden. Mitchel et al. (114) führten ihre Versuche mit radioaktiv markierter Urokinase, sowohl mit einem Ballon zu Gefäßquotienten von 1,1:1 als auch 1,3:1 durch. Die erreichte lokale Pharmakokonzentration war bei einem Verhältnis von Ballon- zu Gefäßdurchmesser von 1,3:1 mit 0,35% etwa um den Faktor 2 größer als bei einem Verhältnis von Ballon- zu Gefäßdurchmesser von 1,1:1. Auch nach Applikation mit diesem Kathetersystem besteht ein erhebliches wash-off-Phänomen, 64% der ursprünglich in der Gefäßwand vorhandenen Urokinase konnte nicht länger als 1 h in der Gefäßwand nachgewiesen werden, nach 5 h waren schon 79% nicht mehr nachweisbar.

Einen weiteren Parameter muss man für eine erfolgreiche Pharmakoapplikation beachten, die Teilchengröße der zu applizierenden Substanz. Hong et al. (124) haben in ihren Versuchen festgestellt, dass mit Partikeln von 15 μm eine transmurale Applikation noch möglich ist, jedoch weniger Substanz in der Gefäßwand als im Vergleich zu Versuchen mit kleineren Teilchen nachzuweisen ist. Wählt man zu große Partikel zur Applikation, kann es

vorkommen, dass die Poren verstopfen und daraus eine inhomogene Verteilung durch die noch offenen Poren resultiert. Als Nachteile dieses Systems werden ein schlechter Gefäßwandkontakt bei atheromatös veränderten Gefäßen, sowie eine mögliche systemische Verteilung des Pharmakons bei Deflation des Ballons beschrieben. Der große Vorteil aber und das, was den Katheter von den meisten bisher beschriebenen Kathetertypen unterscheidet, ist, dass eine Dilatation mit hohem Druck und eine Applikation mit niedrigem Druck simultan möglich ist, wodurch die Effizienz der Angioplastie nicht durch die mit dem hohen Applikationsdruck verbundenen Gefäßwandschädigungen gemindert wird.

Systeme zur mechanischen Pharmakoapplikation

Die neueren entwickelten Methoden verzichten auf die druckabhängige Applikation und applizieren mit den entsprechenden Kathetern direkt mechanisch in die Arterienwand. Zu diesen Systemen gehören im Wesentlichen zwei Katheter:

- Nadelinjektionskatheter
- Iontophoretischer Ballon

Der Nadelinjektionskatheter ist aus sechs kreisförmig angeordneten Nadeln aufgebaut, die am Ende des Katheters zirkulär angeordnet sind und in die Gefäßwand ausgefahren werden können (125). Bei der Applikation werden diese Nadeln direkt in die Adventitia eingebracht, dort wird ein Substanzdepot aufgebaut und über die Vasa vasorum kann es dann zu einer gleichmäßigen Rückverteilung der Substanz kommen (126).

Ein großer Vorteil, dieser direkten Applikation, beruht auf der durch das direkte Einspritzen in die Gefäßwand geringeren systemischen Verteilung des Pharmakons, wie sie etwa beim Auf- und Abblasen eines Ballonkatheters vorkommen kann. Somit ist es auch ersichtlich, dass mit diesem Katheter eine Applikationseffektivität von 10 % erzielt werden kann, also etwa 10-100-fach effektiver als im Vergleich zu den anderen Kathetersystemen (72). Doch nicht nur in der Gesamteffektivität ist der Nadelkatheter etwa dem porösen Ballonkatheter überlegen, sondern auch die Pharmakokonzentration, die in den tieferen Schichten erzielt werden kann, ist etwa 20-fach größer (72).

Ein möglicher Nachteil ist die Verletzung der Arterienwand, die durch die Nadelstiche hervorgerufen werden kann mit nachfolgender Hyperplasiereaktion (60).

Nach einem anderen Prinzip appliziert der Iontophoretic balloon die Substanz in die Gefäßwand. Durch den Aufbau eines elektrischen Feldes soll die Permeabilität der

Gefäßwand erhöht werden und somit der atraumatische Transport von geladenen Molekülen in die Gefäßwand erleichtert werden (127). Das elektrische Feld wird mit Hilfe einer Anode aufgebaut, die über der Haut einen geringen elektrischen Strom leitet und einer Kathode, die im Katheter platziert ist. Durch das so entstandene elektrische Feld wird die polarisierte Substanz etwa 80mal effektiver als durch passive Applikation in die Gefäßwand appliziert (76). Der Aufbau des elektrischen Feldes ist für den klinischen Einsatz aber noch nicht befriedigend gelöst, zudem ist der klinische Einsatz auf wenige polarisierte Substanzen beschränkt (72).

Durch die Möglichkeit der lokalen Applikation kann die Konzentration an den Schichten der Gefäßwand, die in den Prozess der Restenose miteinbezogen sind, um ein Vielfaches höher gewählt werden, als bei systemischer Therapie mit gleichzeitig jedoch geringeren systemischen Nebenwirkungen. Voraussetzung für eine erfolgreiche lokale Therapie ist, den Applikationsdruck und das Volumen so zu wählen, dass ein zusätzliches Gefäßtrauma durch die Applikation möglichst vermieden wird, aber dennoch das Volumen so hoch gewählt werden kann, dass die Therapie erfolgreich ist.

5.2 Bedeutung für den klinischen Einsatz

Inhalt mehrerer Studien war die Analyse des Zusammenhangs zwischen dem Applikationsdruck bei der lokalen Pharmakotherapie und dem provozierten Gefäßtrauma.

Santoian et al. (128) konnten zeigen, dass bei der Applikation mit einem Druck von 5 und 10 atm über einen porösen Ballonkatheter ein erhebliches akutes Gefäßtrauma der Koronarien des Schweins resultiert, während bei 2 atm lediglich ein minimales fokales Ödem der Media und eine Desorganisation in dieser Gefäßwandschicht zu beobachten war.

Plante et al. (129) zeigten, dass bei der lokalen Injektion von NaCl-Lösung im Kaninchenmodell auch bei 6 atm noch kein größerer Gefäßschaden in Form der Intimahyperplasie zu messen war.

Diese beiden Studien sind mit dem porösen Ballonkatheter durchgeführt worden. Bei diesem Katheter besteht nicht die Möglichkeit, wie etwa beim Channeled Balloon-Katheter den Applikationsdruck unabhängig vom Dilatationsdruck und Dilatationsvolumen zu wählen.

Der Channeled Balloon bietet den Vorteil, alle diese Parameter durch seinen 3-lumigen Aufbau separat voneinander auf die Ausbildung der Restenose hin zu untersuchen. Dies

ermöglicht die alleinige Beurteilung der direkt durch die Injektion in die Gefäßwand entstandene Schädigung der Wandschichten zu beurteilen. Durch die Applikation mit hohem Druck entstehen Verletzungen der Gefäßwand, sogenannte „Jet-Effekte“. Herdeg et al. (122) haben diese spezifische Läsionen, die dem Verlauf der Poren des porösen Ballon-Katheters zugeordnet werden konnten, schon bei einem Applikationsdruck von 2 atm beobachtet. Es resultiert eine Fragmentation der inneren elastischen Schichten, durch die Freilegung tieferer Gefäßwandschichten steigt die Thrombogenität, was zu akuten thrombotischen Komplikationen führen kann und zudem die Ausbildung einer Restenose fördert.

Die Applikationseffizienz der lokalen Pharmakotherapie liegt meistens unter 1%, (130, 131) ist damit aber etwa um den Faktor 100 größer als bei der systemischen Therapie. Die lokal erreichten Konzentrationen sind abhängig von den Eigenschaften der Applikationssubstanz, ihrer molekularen Größe, der Ladung, eventuell vorhandener Rezeptoren an der Gefäßwand, dem Injektionsdruck sowie der Beschaffenheit der Gefäße. Fram et al. (132) konnten eine lineare Beziehung des Applikationsdruckes und der Applikationsdauer zur Konzentration in der Gefäßwand für Meerrettich-Peroxidase nachweisen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie zeigen, dass das Applikationsvolumen bis zu 5 ml variiert werden kann und der Injektionsdruck bis 4 atm ohne dadurch ein zusätzliches Gefäßtrauma zu provozieren. Diese Ergebnisse stimmen mit der Studie von Kimura et al. (123) überein. Bei der Applikation ebenfalls mit dem Channeled Balloon-Katheter konnten sie zeigen, dass bei einem Druck von 5 atm noch kein zusätzliches Gefäßtrauma entsteht, die Applikation bei höheren Drücken (7 atm und 12 atm) führte jedoch zu einer signifikanten Steigerung der Neointimaproliferation. Allerdings haben Kimura et al. in ihrer Studie nur die Applikationsdrücke variiert, nicht aber das Applikationsvolumen, das konstant bei 3 ml lag.

Mit steigendem Applikationsvolumen steigt die Applikationsdauer und somit das provozierte Gefäßtrauma. In der vorliegenden Studie ist das Applikationsvolumen von 1 ml, 2 ml und 5 ml variiert worden und die alleinige Dilatation auf der Kontrollseite zeitlich jeweils an die Applikationsdauer der Interventionsseite angepasst worden. Es konnte somit gezeigt werden, dass das Applikationsvolumen bis 5 ml frei gewählt werden kann ohne ein zusätzliches Gefäßtrauma zu erzeugen. Diese Ergebnisse spielen eine wichtige Rolle für die Effizienz der lokalen Pharmakotherapie.

Die Effizienz der lokalen Pharmakoapplikation ist ein multifaktorieller Prozess, der von den Applikationsparametern, den chemischen Eigenschaften der Applikationssubstanz und der Beschaffenheit der Gefäßwand abhängig ist. Ein limitierender Faktor dieser Studie ist, wie in den meisten anderen experimentellen Studien die Übertragbarkeit der in Tierversuchen gewonnenen Ergebnisse auf den Menschen. Das Tiermodell muss bestimmte Kriterien erfüllen, um die Ergebnisse auf den Menschen übertragen zu können. Es sollte eine ausreichende Analogie zur menschlichen Restenose bezüglich der Morphologie, Pathogenese und Beeinflussbarkeit durch Medikamente aufweisen (133). In dieser Studie ist als Tiermodell das New Zealand White Rabbit gewählt worden. Die Tiere sind kostengünstig, ihre Haltung ist einfach und die Handhabung aufgrund der geringen Größe leicht. Es entwickelt sowohl spontan als auch nahrungsinduziert eine Atherosklerose. Das New Zealand White Rabbit ist ein gut charakterisiertes und verbreitetes Tier-Modell zu Untersuchungen zur Atherosklerose und Restenose.

Anitschkow hat die ersten Experimente zur Induktion von Cholesterin-induzierten Gefäßveränderungen beim Kaninchen durch die Gabe von Futter mit bis zu 2 %igem Cholesterinanteil gemacht. Diese experimentell erzeugten Gefäßveränderungen waren in ihrem zellulären Aufbau vergleichbar mit menschlichen atherosklerotischen Läsionen (134).

Block et al. (135) haben als erste das Kaninchen als Tiermodell für die Restenose beschrieben und etabliert. Nach einer Ballondenudation und einer 6-12 wöchigen Fütterung mit 2 %iger Cholesterindiät entwickelten die Tiere eine Stenose, nach erneuter Dilatation bildete sich an dieser Stelle eine Restenose aus, die histologisch aus konzentrisch angeordnetem, azellulären, lipidreichen, ödematösen Bindegewebe bestand, wie sie in dieser Form auch bei der humanen Form der Atherosklerose vorkommen. Als Nachteil beschreibt Müller (83), dass im Unterschied zur menschlichen Plaquemorphologie der ursprüngliche Plaque des Kaninchens, wie auch die Restenoseläsion einen hohen Lipidanteil aufweist.

Ein Vorteil des Kaninchenmodelles liegt in der Größe seiner Gefäße. Die Aorta und die Iliakalgefäße sind in Größe und histologischen Aufbau vergleichbar mit einer menschlichen Koronararterie (83, 136, 137). Es können somit die herkömmlichen Angioplastiekatheter verwendet werden, ohne eine Überdehnung der Arterienwand zu provozieren (136).

Die lokale Applikation in der vorliegenden Studie ist an gesunden, nicht vorbehandelten Iliakalgefäßen von Kaninchen durchgeführt worden. Dieser Lokalbefund lässt die

Schwierigkeiten in der Übertragbarkeit auf den Menschen deutlich werden. Bei der Behandlung einer atherosklerotischen Läsion in einem menschlichen Gefäß ist die Wandpermeabilität für die lokal applizierte Substanz durch den Plaque erschwert, zudem ist die Oberfläche der Gefäßwand unregelmäßig und somit der Kontakt des Katheters zur Wand nicht so homogen wie in gesunden Kaninchenarterien. Es kommt vermehrt zu Abdiffusion der Substanz oder zur unregelmäßigen Ablagerung in der Gefäßwand.

Folgende Faktoren können die Ergebnisse der vorliegenden Studie beeinflusst haben:

Bei mehrfacher Benutzung desselben Katheters verändern sich die Oberflächeneigenschaften des Katheters, insbesondere kann es zu einer Verstopfung der zirkulär um den Katheter angeordneten Poren kommen, wodurch unterschiedliche Applikationszeiten resultieren. Der Ballon wird durch den Entfaltungsdruck dicht an die Gefäßwand angelagert, ein vorzeitiger Abtransport der zu applizierenden Substanz wird dadurch vermieden. Es kann sich jedoch ein Reservoir mit Wirksubstanz innerhalb des Ballons bilden, welches nach Deflation des Ballons ausgewaschen werden kann (72). Bei unvollständigem Wandkontakt wird die Substanz einerseits nicht gleichmäßig ins Gewebe abgegeben, andererseits wird sie auch mit dem Blutstrom abtransportiert. Die Verteilung einer Substanz in der Gefäßwand ist zusätzlich von anderen anatomischen Barrieren wie den Plaques, der Gefäßoberfläche und dem Bindegewebe abhängig (138).

Westedt et al. (139) zeigten, dass die Plaques auf der Endotheloberfläche Moleküle ab einer Größe von 57 nm an der Penetration der Gefäßwand hinderten. Entlang der Lamina elastica externa fanden sie 217 nm große Nanopartikel perlschnurartig aufgereiht, die das Bindegewebe nicht durchdringen konnten.

Trotz dieser möglichen Einflußfaktoren hat die vorliegende Arbeit einen Beitrag zur Verbesserung des Verständnisses und der Anwendung der lokalen Pharmakotherapie geliefert. So kann der Vorteil der hohen lokalen Konzentration des applizierten Pharmakons durch das optimale Applikationsvolumen und Applikationsdruck verstärkt werden, ohne dass durch die Applikation ein zusätzliches Gefäßtrauma erzeugt wird.

Im klinischen Einsatz dürfte dies vor allem für die Behandlung infrapoplitealer Gefäßverschlüsse eine Rolle spielen. Hier hat der primäre Einsatz von Stents bei einem kleinen

Patientenkollektiv nicht den erhofften Erfolg gezeigt. Dies ist auf den kleinen Gefäßdurchmesser sowie den geringeren Blutfluß zurückzuführen, was eine erhöhte Rate an Stentthrombosen sowie Intimahyperplasie zur Folge hat (137). Eine eindeutige Studienlage fehlt jedoch für die Behandlung infrapoplitealer Gefäßverschlüsse.

Bei der Behandlung infrainguinaler Gefäßverschlüsse hat die alleinige PTA nach der Einführung der beschichteten Stents an Stellenwert verloren. Hier zeigt die SIROCCO-Studie die Überlegenheit der Behandlung mit einem medikamentenbeschichteten Stent (110). Nach 6 Monaten ist es in der Gruppe, die mit einem mit Rapamycin-beschichteten Stent behandelt worden sind, zu keiner Restenose gekommen, während 17,6% aus der Gruppe, die mit einem unbeschichteten Stent behandelt worden sind, eine Restenose aufwiesen. Nach 18 Monaten waren es 23,5% gegenüber 5,9% in der mit Rapamycin-beschichteten Stent behandelten Gruppe. Bei 6 von 33 Patienten kam es jedoch zu einem Stentbruch. Im Gegensatz zum Koronarsystem sind die peripheren Gefäße und hier vor allem die A. femoralis superficialis externen Kräften ausgesetzt wie Torsionen, Kompression der Stents durch den Adduktorenkanals, Deformierungen bei Bewegung des Beines. Zudem sind die Gefäße des femoropoplitealen Segmentes -ein wesentlicher Unterschied zum Koronarsystem- häufig über einen langstreckigeren Verlauf atherosklerotisch, so dass hier die Stentimplantation an ihre technische Grenzen stößt.

Es zeigt sich, dass trotz der scheinbaren Überlegenheit im klinischen Einsatz die beschichteten Stents nicht in allen Gefäßsystemen uneingeschränkt einsetzbar sind, so dass die Applikation von Pharmaka über Ballonkatheter wie z.B. dem Channeled balloon weiterhin von Bedeutung sein wird.

6. Zusammenfassung

Trotz erheblicher Fortschritte bieten bisherige pharmakologische Therapien keine zufriedenstellende Lösung für häufige kardiovaskuläre Komplikationen nach zunächst erfolgreicher PT(C)A. Vor allem die in etwa 60% auftretende Restenoserate nach zunächst erfolgreichen Eingriffen stellt weiterhin den limitierenden Faktor für den Einsatz dieser Methode im klinischen Alltag dar. Die in den Tiermodellen für eine optimale Wirkung beschriebenen Plasmakonzentrationen antiproliferativer oder antithrombotischer Substanzen sind aus Toxizitätsgründen am Menschen häufig nicht anwendbar. Aus diesem Grund ist das Prinzip der lokalen Pharmakotherapie konzipiert und entwickelt worden. Auch alternative Methoden zur Hemmung der Restenosebildung sind untersucht worden: die zunächst positiven Therapieversuche mit lokaler Brachytherapie über radioaktive Stents konnten in Langzeitstudien jedoch nicht bestätigt werden

Die lokale Pharmakotherapie umfasst ein weites Spektrum, wobei in der vorliegenden Studie hauptsächlich die lokale über Kathetersysteme applizierte Therapie evaluiert wurde. Daneben ist vor allem die Applikation über beschichtete Stents von klinischer Bedeutung, insbesondere die mit Sirolimus beschichteten Stents, die zu einer erheblichen Reduktion der Restenoserate führten. Da aber vor allem in den großen peripheren Gefäßen im Gegensatz zu den Koronargefäßen die alleinige Ballonangioplastie bei Gefäßverschlüssen weiterhin die Therapie der Wahl ist, sind die verschiedenen lokalen Therapieansätze trotz der guten Ergebnisse der beschichteten Stents weiterhin von großer klinischer Bedeutung.

Es gibt verschiedene Ansatzpunkte der lokalen Pharmakotherapie zur Restenoseprophylaxe. Vor allem Medikamente wie Antithrombotika, Thrombozytenaggregationshemmer, Kalziumantagonisten, anti-inflammatorische und anti-proliferative Substanzen sind untersucht worden. Durch den Einsatz von antithrombotischen Substanzen hoffte man auf zwei verschiedenen Wegen modulierend auf die Ausbildung einer Restenose einwirken zu können: die Ausbildung eines Thrombus an der Gefäßwand kann zu einem akuten Gefäßverschluß führen, zudem ist der Thrombus durch die Bildung von Wachstumsfaktoren an der Stimulation und Migration der glatten Muskelzellen aus der Media in die Intima beteiligt. Durch den Einsatz von anti-proliferativen Substanzen wie z.B. Doxorubizin, Methotrexat und Kolchizin sollte vor allem die Proliferation der glatten Muskelzellen unterdrückt werden. Mit

der Verwendung von Sirolimus, einem Immunsuppressivum, das ursprünglich in der Nephrologie zur Verhinderung von Transplantatabstoßungen eingesetzt wurde, ist es gelungen, die Restenoserate deutlich zu verringern. Ein weiterer viel versprechender Therapieansatz ist die lokale Gentherapie. Sie zielt überwiegend auf die Überexpression von Proteinen, die den Zellzyklus vaskulärer glatter Muskelzellen regulieren und die Migration dieser Zellen hemmen. Ein anderer gentherapeutischer Ansatz ist die Verminderung der Expression von Genen, die bei der Proliferation und Migration von glatten Muskelzellen eine Rolle spielen.

Entscheidend für den Erfolg jeglicher Form der lokalen Therapie ist jedoch, dass die Applikationsmenge und der Applikationsdruck so gewählt werden, dass einerseits eine effiziente Applikation erreicht werden kann, andererseits kein zusätzliches Gefäßtrauma erzeugt wird. Diese optimalen Applikationsparameter wurden in der vorliegenden Studie an einem Tiermodell durch Variation von Applikationsdruck und Applikationsvolumen mit dem Channeled balloon Katheter untersucht. Nach der entsprechenden Applikation ist die Restenoserate angiographisch und histologisch quantifiziert worden.

Die vorliegenden Ergebnisse haben einen wichtigen Beitrag zur Verbesserung des Verständnisses und der Anwendung der lokalen Pharmakotherapie geliefert: das Volumen der Applikationssubstanz kann beliebig bis zu 5 ml variiert werden und der Druck bis 4 atm gewählt werden, ohne ein zusätzliches Gefäßtrauma zu provozieren. Dieses Ergebnis ist für die erfolgreiche klinische Anwendung der lokalen Pharmakoapplikation über die verschiedenen Angioplastiekatheter als Alternative zu dem Einsatz von beschichteten Stents von großer Bedeutung.

7. Literaturverzeichnis

Alfke H, Böger RH, Bode-Böger SM. Restenose nach perkutaner transluminaler Angioplastie: I. Ätiologie und klinische Bedeutung. *VASA* 1996; 1:13-20

Alfke H, Wagner HJ, Calmer C, Klose KJ. Local intravascular drug delivery: In vitro comparison of three catheter systems. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1998; 21:50-56

Amento EP, Ehsani N, Palmer H, Libby P. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1991; 11:1223-1230

Azrin MA, Mitchel JF, Fram DB, Pedersen CA, Cartun RW, Barry JJ, Bow LM, Waters DD, McKay RG. Decreased platelet deposition and smooth muscle cell proliferation after intramural heparin delivery with hydrogel-coated balloons. *Circulation* 1994; 90:433-441

Bailey SR, Paige S, Lunn A, Palmaz J. Heparin coating of endovascular stents decreases subacute thrombosis in a rabbit model. *Circulation* 1992; 86 (Suppl 1): I-186

Bailey SR. Local drug delivery: current applications. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 40:183-204

Batchelor WB, Robinson R, Strauss BH. The extracellular matrix in balloon arterial injury: a novel target for restenosis prevention. *Prog Cardiovasc Dis* 1998; 41:35-49

Bauters C, Isner JM. The biology of restenosis. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 40:107-116

Bennett MR, Anglin S, McEwan JR, Jagoe R, Newby AC, Evan GI. Inhibition of vascular smooth muscle cell proliferation in vitro and in vivo by c-myc antisense oligodeoxynucleotides. *J Clin Invest* 1994; 93:820-828

Block PC, Baughman KL, Pasternak RC, Fallon JT. Transluminal angioplasty: Correlation of morphologic and angiographic findings in an experimental model. *Circulation* 1980; 61:778-785

Boger RH, Bode-Boger SM, Alfke H. Restenosis after percutaneous transluminal angioplasty: II. Possibilities for pharmacologic intervention. *VASA* 1996; 25:21-31

Border WA, Rusolahti E. Transforming growth factor- β in disease: The dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 1992; 90:1-7

Bräsen JH, Niendorf A. Atherosklerose, formale Pathogenese, Klassifikation und funktionelle Bedeutung. *Der Pathologe* 1997; 18:218-227

Buerke M, Guckenbiehl M, Schwertz H, Buerke U, Hilker M, Platsch H, Richert J, Bomm S, Zimmerman GA, Lindemann S, Mueller-Werdan U, Werdan K, Darius H, Weyrich AS. Intramural delivery of Sirolimus prevents vascular remodeling following balloon injury. *Biochim Biophys Acta* 2006 (im Druck)

Cascells W. Migration of smooth muscle and endothelial cells. Critical events in restenosis. *Circulation* 1992; 86:723-729

Cejna M, Thurnher S, Illiasch H, Horvath W, Waldenberger P, Hornik K, Lammer J. A versus Palmaz stent placement in femoropopliteal artery obstructions: a multicenter prospective randomized study. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12:23-31

Clowes AW, Clowes MM, Kocher O, Ropraz P, Chaponnier C, Gabbiani G. Arterial smooth muscle cells in vivo: Relationship between actin isoform expression and mitogenesis and their modulation by heparin. *J Cell Biol* 1988; 107:1939-1949

Clowes AW, Schwartz SM. Significance of quiescent smooth muscle migration in the injured rat carotid artery. *Circ Res* 1985; 56:139-145

Clozel M, Fischli W, Guilly C. Specific binding of endothelin on human vascular smooth muscle cells in culture. *J Clin Invest* 1989; 83:1758-1761

Coats WD, Faxon DP. The role of the extracellular matrix in arterial remodelling. *Semin Interv Cardiol* 1997; 2:167-176

de Carvalho H, Dorigo D, Bouskela E. Effects of Ringer-acetate and Ringer-dextran solutions on the microcirculation after LPS challenge: observations in the hamster cheek pouch. *Shock* 2001; 15:157-162

de Jaegere PP, van Domburg RT, Feyter PJ, Ruygrok PN, van der Giessen WJ, van den Brand MJ, Serruys PW. Long-term clinical outcome after stent implantation in saphenous vein grafts. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:89-96

Degertekin M, Serruys PW, Foley DP, Tanabe K, Regar E, Vos J, Smits P, van der Giessen WJ, van den Brand M, de Feyter P, Popma JJ. Persistent inhibition of neointimal hyperplasia after Sirolimus- eluting stent implantation. Long term (up to 2 years) clinical, angiographic, and intravascular ultrasound follow-up. *Circulation* 2002; 106:1610-1613

Dichek DA, Neville RF, Zwiebel JA, Freeman SM, Leon MB, Anderson WF. Seeding of intravascular stents with genetically engineered endothelial cells. *Circulation* 1989; 80:1347-1353

Dissmann W, de Ridder M. The soft science of German cardiology. *Lancet*, 2002 359: 2027-2029

Do-dai-Do, Triller J, Walpoth BH, Stirnemann P, Mahler F. A comparison study of self-expandable stents vs balloon angioplasty alone in femoropopliteal artery occlusions. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1992; 15:306-312

Duda SH, Bosiers M, Lammer J, Scheinert D, Zeller T, Tielbeek A, Anderson J, Wiesinger B, Tepe G, Lansky A, Mudde C, Tielemans H, Beregi JP. Sirolimus-eluting versus bare nitinol stent for obstructive superficial femoral artery disease: the SIROCCO II trial. *J Vasc Interv Radiol* 2005; 16:331-338

Fernandez-Ortiz A, Meyer BJ, Mailhac A, Falk E, Badimon L, Fallon JT, Fuster V, Chesbro JH, Badimon JJ. A new approach for local intravascular drug delivery. Iontophoretic balloon. *Circulation* 1994; 89:1518-1522

Ferns GA, Raines EW, Sprungel KH, Motani AS, Reidy MA, Ross R. Inhibition of neointimal smooth muscle accumulation after angioplasty by an antibody to PDGF. *Science* 1991; 253:1129-1132

Fingerle J, Au YP, Clowes AW, Reidy MA. Intimal lesion formation in rat carotid arteries after endothelial denudation in absence of medial injury. *Arteriosclerosis* 1990; 10:1082-1087

Finking G, Hanke H. Nikolaj Nikolajewitsch Anitschkow (1885-1964) established the cholesterol-fed rabbit as a model for the atherosclerosis research. *Atherosclerosis* 1997; 135:1-7

Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, Detre K, Veltri L, Ricci D, Nobuyoshi M, et al.. 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

Forrester JS, Fishbein M, Helfant R, Fagin J. A paradigm for restenosis based on cell biology: clues for the development of new preventive therapies. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17:758-769

Fram DB, Aretz T, Azrin MA, Mitchel JF, Samady H, Gillam LD, Sahatjian R, Waters D, McKay RG. Localized intramural drug delivery during balloon angioplasty using hydrogel-coated balloons and pressure-augmented diffusion. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:1570-1577

Furchgott RF. The discovery of endothelium-dependent relaxation. *Circulation* 1993; 87(Suppl.5):V-3-8

Fuster V, Ip JH, Badimon L, Badimon JJ, Stein B, Chesebro JH. Importance of experimental models for the development of clinical trials on thromboatherosclerosis. *Circulation* 1991; 83(Suppl6):VI-163-170

Gibbons GH, Dzau VJ. The emerging concept of vascular remodelling. *N Engl J Med* 1994; 330:1431-1438

Gimple LW, Gertz SD, Haber HL, Ragosta M, Powers ER, Roberts WC, Sarembock IJ. Effect of chronic subcutaneous or intramural administration of heparin on femoral artery restenosis after balloon angioplasty in hypercholesterolemic rabbits. A quantitative angiographic and histopathological study. *Circulation* 1992; 86:1536-1546

Gonschior P, Pahl C, Huehns TY, Gerheuser F, Erdemci A, Larisch K, Dellian M, Deil S, Goetz AE, Lehr HA. Comparison of local intravascular drug-delivery catheter systems. *Am Heart J* 1995; 130:1174-1181

Gonschior P, Wilensky R, March K, Höfling B. Lokale Medikamentenapplikationssysteme, präklinische und klinische Anwendung Perspektiven und Limitationen. *Z Kardiologie* 1996; 85:155-165

Grenacher L, Saam T, Geier A, Müller-Hulsbeck S, Cejana M, Kauffmann GW, Richter GM. PTA versus Palmaz stent placement in femoropopliteal artery stenoses: results of a multicenter prospective randomized study (REFSA). *Fortschr Geb Röntgenstr Nuklearmed* 2004; 176:1302-1310

Grimm J, Müller-Hulsbeck S, Jahnke T, Hilbert C, Brossmann J, Heller M. Randomized study to compare PTA alone versus PTA with Palmaz stent placement for femoropopliteal lesions. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12:935-942

Grüntzig A, Hopff H. Percutaneous recanalization after chronic arterial occlusion with a new dilator-catheter (modification of the Dotter technique). *Dtsch Med Wochenschr* 1974; 99:2502-2511

Hamon M, Bauters C, McFadden EP, Wemert N, Lablanche JM, Dupuis B, Bertrand ME. Restenosis after coronary angioplasty. *Eur Heart J* 1995; 16:33-48

Hanke H, Oberhoff M, Hanke S, Hassenstein S, Kamenz J, Schmid KM, Betz E, Karsch KR. Inhibition of cellular proliferation of vascular proliferation after experimental balloon angioplasty by low-molecular-weight heparin. *Circulation* 1992; 85:1548-1556

Hartung O, Grisoli D, Boufi M, Marani I, Hakam Z, Barthelemy P, Alimi YS. Endovascular stenting in the treatment of pelvic vein congestion caused by nutcracker syndrome: lessons learned from the first five cases. *J Vasc Surg* 2005; 42:275-280

Haudenschild CC, Schwartz SM. Endothelial regeneration. II. Restitution of endothelial continuity. *Lab Invest* 1979; 41:407-418

Hehrlein C, Brachmann J, Bode C, Kübler W. Kathetergestützte Verfahren zur Verringerung der Restenose nach Koronarangioplastie: Ein Überblick zur Strahlentherapie. *Z Kardiol* 1998; 87 (Suppl 2):II-166-170

Herdeg C, Oberhoff M, Baumbach A, Blattner A, Kuttner A, Schroder S, Haase KK, Karsch KR. Visualization and comparison of drug effects after local paclitaxel delivery with different catheter types. *Basic Res Cardiol* 1999; 94:454-463

Hilker M, Buerke M, Guckenbiehl M, Schwertz H, Buhler J, Moersig W, Hake U, Oelert H. Rapamycin reduces neointima formation during vascular injury. *VASA* 2003; 32:10-13

Höfling B, Huehens TY, Gonschior P, Nikol S. Medikamentöse und instrumentelle Therapieansätze zur Restenoseprophylaxe. *Z Kardiol* 1995; 84(Suppl 4):IV-151-158

Höfling B, Huehens TY. Intravascular local drug delivery after angioplasty. *Eur Heart J* 1995; 16:437-440

Hombach V, Waltenberger J, Voisard R, Höher M. Rezidivstenose nach Koronarangioplastie. Klinische, zellbiologische und molekulare Aspekte. *Z Kardiol* 1995; 84:5-21

Hong MK, Farb A, Wong SC, Mehlman MD, Virmani R, Barry JJ, Leon MB. Locally delivered microspheres in atherosclerotic arteries via a new channeled balloon PTCA catheter are retained intramurally for at least 24 hours. *J Am Coll Cardiol* 1994; Abstr. 840-843

Hong MK, Wong SC, Barry JJ, Bramwell O, Tjurmin A, Leon MB. Feasibility and efficacy of locally delivered Enoxaparin via the channeled balloon catheter on smooth muscle cell proliferation following balloon injury rabbits. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1997; 41:241-245

Hong MK, Wong SC, Barry JJ, Bramwell O, Tjurmin A, Leon MB. Feasibility and efficacy of locally delivered enoxaparin via the channelled balloon catheter on smooth muscle cell proliferation following balloon injury in rabbits. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1997, 41:241-245

Hong MK, Wong SC, Farb A, Mehlmann MD, Virmani R, Barry JJ, Leon MB. Localized drug delivery in atherosclerotic arteries via a new balloon angioplasty catheter with intramural channels for simultaneous local drug delivery. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1995; 34:263-270

Johnson DE, Robertson G, Simpson JB. Coronary atherectomy: Light microscopic and immunohistochemical study of excised tissues. *Circulation* 1988; 78 (Suppl 2):II-82

Johnston KW. Femoral and popliteal arteries: reanalysis of results of balloon angioplasty. *Radiology* 1992; 183:767-771

Johnston KW. Iliac arteries: reanalysis of results of balloon angioplasty. *Radiology* 1993; 186:207-212

Kalinowski M, Tepe G, Schieber A, Brehme U, Bruck B, Erley CM, Claussen CD, Duda SH. Local administration of ramiprilat is less effective than oral ramipril in preventing restenosis after balloon angioplasty in an animal model. *J Vasc Interv Radiol* 1999; 10:1397-1404

Kalinowski M, Tepe G, Schieber A, Bruck B, Claussen CD, Duda SH. Intra-arterial application of the ACE inhibitor ramipril using a microperforated catheter for the prevention of neointimal proliferation after angioplasty in an animal model. *Fortschr Geb Rontgenstr Nuklearmed* 1998; 169:532-536

Kastrati A, Mehilli J, von Beckerath N, Dibra A, Hausleiter J, Pache J, Schuhlen H, Schmitt C, Dirschinger J, Schomig A; ISAR-DESIRE Study Investigators. Sirolimus-eluting stent or paclitaxel-eluting stent vs balloon angioplasty for prevention of recurrences in patients with coronary in-stent restenosis: a randomized controlled trial. *J Am Med Assoc* 2005; 293:165-171

Kimura T, Miyauchi K, Yamagami S, Daida H, Yamaguchi H. Local delivery infusion pressure is a key determinant of vascular damage and intimal thickening. *Jpn Circ J* 1998; 62:299-304

Kranzhöfer R, Libby P. Interrelation between atherosclerosis and restenosis. *Z Kardiol* 1995; 84:125-128

Krepel VM, van Andel GJ, van Erp WF, Breslau PJ. Percutaneous transluminal angioplasty of the femoropopliteal artery: initial and long-term results. *Radiology* 1985; 156:325-328

Lafont A, Faxon D. Why do animal models of post-angioplasty restenosis sometimes poorly predict the outcome of clinical trials? *Cardiovasc Res* 1998; 39:50-59

Lafont A, Guzman LA, Whitlow PL, Goormastic M, Cornhill JF, Chisolm GM. Restenosis after experimental angioplasty. Intimal, medial, and adventitial changes associated with constrictive remodeling. *Circ Res* 1995; 76:996-1002

Landau C, Lange RA, Hillis LD. Percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med* 1994; 330:981-992

Lindner V, Lappi DA, Baird A, Majack RA, Reidy MA. Role of basic fibroblast growth factor in vascular lesion formation. *Circ Res* 1991; 68:106-113

Lindner V, Reidy MA, Fingerle J. Regrowth of arterial endothelium. Denudation with minimal trauma leads to complete endothelial cell regrowth. *Lab Invest* 1989; 61:556-563

Machan L. Drug eluting stents in the infrainguinal circulation. *Tech Vasc Interv Radiol* 2004; 7:28-32

MacIsaac AI, Thomas JD, Topol EJ. Toward the quiescent coronary plaque. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22:1228-1241

Meyer J, Erdmann E, Riecker G (Hrsg.). *Klinische Kardiologie* 4.Auflg.; Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996 S 421

Mitchel JF, Azrin MA, Schwedick MW, Bow LM, Waters DD, McKay RG. Local delivery of heparin with a novel iontophoretic catheter – Quantitative heparin delivery and effect on platelet deposition following balloon angioplasty. *Circulation* 1994; 90: 2649

Mitchel JF, Fram DB, Azrin MA, Bow L, Alberghini T, Eldin AM, Shwedick M, Waters DD, McKay R. Localized intracoronary delivery of urokinase with the channeled balloon: Pharmacokinetics of drug delivery and washout. *J Am Coll Cardiol* 1995; 347:1001-1023

Mitchel JF, Fram DB, Palme DF II, Foster R, Hirst JA, Azrin MA, Bow LM, Eldin AM, Waters DD, McKay RG. Enhanced intracoronary thrombolysis with urokinase using a novel, local drug delivery system. In vitro, in vivo and clinical studies. *Circulation* 1995; 91:785-793

Morishita R, Gibbons GH, Ellison KE, Nakajima M, von der Leyen H, Zhang L, Kaneda Y, Ogihra T, Dzau VJ. Intimal hyperplasia after vascular injury is inhibited by antisense cdk2 kinase oligonucleotides. *J Clin Invest* 1994; 93:1458-1464

Morishita R, Gibbons GH, Ellison KE, Nakajima M, von der Leyen H, Zhang L, Kaneda Y, Ogihra T, Dzau VJ. Single intraluminal delivery of antisense cdc2 kinase and proliferating-cell nuclear antigen oligonucleotides results in chronic inhibition of neointimal hyperplasia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1993; 90:8474-8478

Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, Caputo RP, Kereiakes DJ, Williams DO, Teirstein PS, Jaeger JL, Kuntz RE; SIRIUS Investigators. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med* 2003; 349:1315-1323

Müller DW, Ellis SG, Topol EJ. Experimental models of coronary artery restenosis. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19:418-432

Nabel EG, Plautz G, Nabel GJ. Site-specific gene expression in vivo by direct gene transfer into the arterial wall. *Science* 1990; 249:1285-1288

Nikol S, Höfling B. Regulation of smooth muscle cell proliferation and its possible role in preventing restenosis post-angioplasty. *Wien Klin Wochenschr* 1995; 107:379-389

O'Keefe JH, McCallister BD, Bateman LV. Ineffectiveness of colchicine for the prevention of restenosis after coronary angioplasty. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19:1597-1560

Oberhoff M, Herdeg C, Baumbach A, Shamet K, Kranzhofer A, Weingartner O, Rubsamen K, Kluge M, Karsch KR. Time course of smooth muscle cell proliferation after local drug delivery of low-molecular-weight heparin using a porous balloon catheter. *Cathet Cardiovasc Diagn* 1997; 41:268-274

Oberhoff M, Kunert W, Herdeg C, Küttner A, Kranzhöfer A, Horch B, Baumbach A, Karsch KR. Inhibition of smooth muscle cell proliferation after local drug delivery of the antithrombotic drug paclitaxel using a porous balloon catheter. *Basic Res Cardiol* 2001; 96:275-282

Phillips-Hughes J, Kandarpa K. Restenosis: Pathophysiology and Preventive Strategies. *J Vasc Interv Radiol* 1996; 7:321-333

Plante S, Dupuis G, Mongeau CJ, Durand P. Porous balloon catheter for local delivery: Assessment of vascular damage in a rabbit iliac angioplasty model. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24:820-824

Poon M, Badimon JJ, Fuster V. Overcoming restenosis with sirolimus: from alphabet soup to clinical reality. *Lancet* 2002; 359:619-622

Powell JS, Clozel JP, Muller RK, Kuhn H, Hefti F, Hosang M, Baumgartner HR. Inhibitors of angiotensin-converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science* 1989; 245:186-188

Pratt RE, Dzau VJ. Pharmacological Strategies to prevent Restenosis. Lessons learned from blockade of the Renin-Angiotensin System. *Circulation* 1996; 93:848-852

Rastogi S, Stavropoulos SW. Infrapopliteal angioplasty. *Tech Vasc Interv Radiol* 2004; 7:33-39

Regar E, Serruys PW, Bode C, Holubarsch C, Guermontprez JL, Wijns W, Bartorelli A, Constantini C, Degertekin M, Tanabe K, Disco C, Wuelfert E, Morice MC; RAVEL Study Group. Angiographic findings of the multicenter Randomized Study With the Sirolimus-Eluting Bx Velocity Balloon-Expandable Stent (RAVEL): sirolimus-eluting stents inhibit restenosis irrespective of the vessel size. *Circulation* 2002; 106:1949-1956

Riessen R, Oberhoff M, Karsch KR. Konzepte zur lokalen Therapie der Restenose. *Z Kardiol* 1996; 85 (Suppl 1):I- 87-98

Riessen R, Wight TN, Pastore C, Henley C, Isner JM. Distribution of hyaluronan during extracellular matrix remodeling in human restenotic arteries and balloon-injured rat carotid arteries. *Circulation* 1996; 93:1141-1147

Ross R, Glomset JA, Kariya B, Harker L. Platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1974; 71:1207-1211

Ross R. Atherosclerosis-An Inflammatory Disease. *N Engl J Med* 1999; 340:115-126

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993; 362:801-819

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: an update. *N Engl J Med* 1986; 314:488-500

Ruoslahti E. Structure and biology of proteoglycans. *Annu Rev Cell Biol* 1988; 4:229-255

Santoian EC, Gravanis MB, Schneider JE, Tarazona N, Cipolla GD, Robinson KA, King SB 3rd. Use of the porous balloon in porcine coronary arteries: Rationale for low pressure and volume delivery. *Cath Cardiovasc Diagn* 1993; 93:1975-1980

Savani RC, Turley EA. The role of hyaluronan and its receptors in restenosis after balloon angioplasty: Development of a potential therapy. *Int J Tissue React* 1995; 17:141-151

Scheller B. Medikamentenbeschichtete Stents. Wo stehen wir 2004? *Z Kardiol* 2004; 93:646-648

Schillinger M, Sabeti S, Loewe C, Dick P, Amighi J, Mlekusch W, Schlager O, Cejna M, Lammer J, Minar E. Balloon angioplasty versus implantation of nitinol stents in the superficial femoral artery. *N Engl J Med* 2006; 354:1879-1888

Schwartz CJ, Valente AJ, Sprangue EA. A modern view of atherogenesis. *Am J Cardiol* 1993; 71:9B-14B

Schwartz RS, Holmes DR, Topol EJ. The restenosis paradigm revisited: An alternative proposal for cellular mechanisms. *J Am Coll Cardiol* 1992; 20:1284-1293

Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, Emanuelsson H, Marco J, Legrand V, Materne P, Belardi J, Sigwart U, Colombo A, Goy JJ, van den Heuvel P, Delcan J, Morel MA for the Benestent study Group. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *N Engl J Med* 1994; 331:489-495

Serruys PW, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ, van den Brand M, Reiber JHC, ten Katen HJV, van Es GA, Hugenholtz PG. Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: A time-related phenomenon: A quantitative angiographic follow-up study in 342 consecutive patients at 1, 2, 3, and 4 months. *Circulation* 1988; 77:361-371

Shah PK, Falk E, Badimon JJ, Levy G, Fernandez-Ortiz A, Fallon J, Fuster V. Human monocyte-derived macrophages express collagenase and induce collagen breakdown in atherosclerotic fibrous caps: implications for plaque rupture. *Circulation* 1993; 88 (Suppl 1):I-254

Simons M, Edelman ER, DeKeyser JL, Langer R, Rosenberg RD. Antisense c-myc oligonucleotides inhibit intimal arterial smooth muscle cell accumulation in vivo. *Nature* 1992; 359:67-70

Sousa EJ, Costa MA, Abizaid AC, Rensing BJ, Abizaid AS, Tanajura LF, Kozuma K, van Langenhove G, Sousa AGMR, Falotico R, Jaeger J, Popma JJ, Serruys PW. Sustained suppression of neointimal proliferation by Sirolimus-eluting stents. One-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up. *Circulation* 2001; 104:2007-2011

Spaet TH, Stemerman MB, Veith FJ, Lejnieks I. Intimal injury and regrowth in the rabbit aorta. Medial smooth muscle cells as a source of neointima. *Circ Res* 1975; 36:58-70

Stadius ML, Collins C, Kernoff R. Local infusion balloon angioplasty to obviate restenosis compared with conventional balloon angioplasty in an experimental model of atherosclerosis. *Am Heart J* 1993; 126:47-56

Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of cholesterol which increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 1989; 320:915-924

Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, Turco M, Caputo R, Bergin P, Greenberg J, Popma JJ, Russell ME; TAXUS-IV Investigators. A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2004; 350:221-231

Thomas CN, Robinson KA, Cipolla GD, Jones M, King SB, Scott NA. In- vivo delivery of heparin to coronary arteries with a microporous infusion catheter. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:187

Thyberg J, Hedin U, Sjolund M, Palmberg L, Bottger BA. Regulation of differentiated properties and proliferation of arterial smooth muscle cells. *Arteriosclerosis* 1990; 10:966-990

Toborek M, Kaiser S. Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis. *Basic Res Cardiol* 1999; 94:295-314

Tomaru T, Fujimori Y, Morita T, Aoki N, Sakamoto Y, Nakamura F, Omata M, Uchida Y. Local delivery of antithrombotic drug prevents restenosis after balloon angioplasty in atherosclerotic rabbit artery. *Jpn Circ J* 1996; 60:918-922

Vanhoutte PM, Houston DS. Platelets, endothelium and vasospasm. *Circulation* 1985; 72:728-734

Villa AE, Gunzman LA, Chen W, Golomb G, Levy RJ, Topol EJ. Local delivery of dexamethasone for prevention of neointimal proliferation in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest* 1994; 93:1243-1249

Voisard R, Jensch V, Baur R, Hoher M, Hombach V. A coronary porcine organ culture system for studies of postangioplasty cell proliferation. *Coron Artery Dis* 1995; 6:657-665.

von der Leyen HE, Gibbons GH, Morishita R, Lewis NP, Zhang L, Nakajima M, Kaneda Y, Cooke JP, Dzau VJ. Gene therapy inhibiting neointimal vascular lesion: in vivo gene transfer of endothelial cell nitric oxide synthetase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92:1137-1141

Vroegindewey D, Vos LD, Tielbeek AV, Buth J, vd Bosch HC. Balloon angioplasty combined with primary stenting versus balloon angioplasty alone in femoropopliteal obstructions: A comparative randomized study. *Cardiovasc Intervent Radiol* 1997; 20:420-425

Wainwright CL, Miller AM, Wadsworth RM. Inflammation as a key event in the development of neointima following vascular balloon injury. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001; 28:891-895

Walker LN, Ramsay MM, Bowyer DE. Endothelial healing following defined injury to rabbit aorta: Depth of injury and mode of repair. *Arteriosclerosis* 1983; 47:123-130

Waller BF. "Crackers, breakers, stretchers, drillers, scrapers, shavers, burners, welders and melters"--the future treatment of atherosclerotic coronary artery disease? A clinical-morphologic assessment. *J Am Coll Cardiol* 1989; 13:969-687

Web-Seite des Statistischen Bundesamtes 2005; Themenbereich Gesundheit; www.destatis.de

Weidinger FF, McLenachan JM, Cybulsky MI, Gordon JB, Rennke HG, Hollenberg NK, Fallon JT, Ganz P, Cooke JP. Persistent dysfunction of regenerated endothelium after balloon angioplasty of rabbit iliac artery. *Circulation* 1990; 81:1667-1679

Westedt U, Barbu-Tudoran L, Schaper AK, Kalinowski M, Alfke H, Kissel T. Deposition of nanoparticles in the arterial vessel by porous balloon catheters. Localization by confocal laser scanning microscopy and transmission electron microscopy. *AAPS J* 2002; 4:E41

Wilensky RL, Gradus-Pizlo I, Sandusky G, March KL. Vascular repair mechanisms after directional atherectomy of percutaneous transluminal coronary angioplasty in atherosclerotic rabbit iliac arteries. *Am Heart J* 1996; 132:13-22

Witztum JL, Berliner JA. Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1998; 9:441-448

Wolinsky H, Thung SN. Use of a perforated balloon catheter to deliver concentrated heparin into the wall of the normal canine artery. *J Am Coll Cardiol* 1990; 15:475-481

World Health Organization Technical Report Series. The classification of atherosclerotic lesions. Report of a study group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 1958; 143:1-20

Zaman AG, Helft G, Badimon JJ. The role of plaque rupture and thrombosis in coronary artery disease. *Atherosclerosis* 2000; 149:251-266

8. Abkürzungsverzeichnis

| | |
|----------------|--|
| ACE | Angiotensin converting enzyme |
| Apo B | Apolipoprotein B |
| Apo E | Apolipoprotein E |
| bFGF | Basic fibroblast growth factor |
| CSF | Colony-stimulating factor |
| EGF | Epidermal growth factor |
| ERDF | Endothelium derived relaxing factor |
| FGF | Fibroblast growth factor |
| ICAM | Intercellular adhesion molecule |
| IGF | Insulin-like growth factor |
| IL-1 | Interleukin-1 |
| LDL | Low density lipoprotein |
| MCP-1 | Monocyte chemoattractant protein 1 |
| NF- κ B | Nuclear factor κ B |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| pAVK | Periphere arterielle Verschußkrankheit |
| PDGF | Plateled derived growth factor |
| PTA | Perkutane transluminale Angioplastie |
| PTCA | Perkutane transluminale coronar Angioplastie |
| PTT | Partielle Thromboplastinzeit |
| TGF- β | Transforming growth factor- β |
| TNF- α | Tumor necrosis factor- α |
| VCAM | Vascular cell adhesion molecule |

9. Anhang

9.2 Verzeichnis der akademischen Lehrer

Meine akademischen Lehrer waren die Damen/Herren

Arnold, Aumüller, Barth, Basler, Baum, Bien, Boudriot, Christ, Daut, Eilers, Fruhstorfer, Gemsa, Geus, Griss, Grzeschik, Gudermann, Happle, Hasilik, Heeg, Hinrichs, Höffken, Hofbauer, Hofmann, Jungclas, Kern, Klenk, Klose, Koolman, Kretschmar, Krieg, Kroll, Lammel, Lang, Lennartz, Leppek, Lill, Löffler M., Lorenz, Maisch, Moll, Moosdorf, Müller, Mueller, Mutters, Neubauer, Oertel, Quante, Renschmidt, Renz, Riera, Röhm, Rothmund, Schäfer, Schmidt, Schmitt, Schüffel, Schwarz, Seitz, Seyberth, Siegel, Steiniger, Sturm, Vogelmeier, Vohland, Voigt, Walter, Weihe, Werner, Westermann, Wilke, Wirth, Wulf.

9.3 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Marc Kalinowski und PD Dr. Heiko Alfke für die jahrelange intensive Betreuung und Unterstützung bei der Durchführung meiner Arbeit und die konstruktive Kritik bei der schriftlichen Ausarbeitung.

Herrn Prof. Dr. Klose, Direktor der Klinik für Strahlendiagnostik des Universitätsklinikums Marburg, danke ich für die Möglichkeit, diese Arbeit in den Einrichtungen seines Institutes zu verwirklichen.

Der Medizinisch-Technischen Assistentin Frau Beate Kleb sei für die Einarbeitung und die Assistenz bei den experimentellen Arbeiten gedankt. Bei Frau Kerstin Viehofer bedanke ich mich für die effektive Zusammenarbeit und die anregenden Diskussionen.

9.4 Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin Marburg zur Promotionsprüfung eingereichte Arbeit mit dem Titel Evaluation verschiedener Applikationsparameter im Rahmen der intraarteriellen Pharmakotherapie zur Restenoseprophylaxe nach Ballonangioplastie – eine vergleichende Tierexperimentelle Studie im Medizinischen Zentrum für Strahlendiagnostik unter Leitung von PD Dr. Marc Kalinowski ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Ich habe bisher an keinem in- und ausländischen Medizinischen Fachbereich ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht noch die vorliegende oder eine andere Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Vorliegende Arbeit wurde in folgenden Publikationsorganen veröffentlicht:

Kalinowski M, Alfke H, Hamann C, Viehofer K, Klose KJ, Barry J, Wagner HJ: Effects of alternating infusion parameters on intimal hyperplasia following local catheter-based delivery into the rabbit iliac artery. *Atherosclerosis* 2004; 172:71-78

Kalinowski M, Viehofer K, Hamann C, Barry JJ, Kleb B, Klose KJ, Wagner HJ, Alfke H: Local administration of NF- κ B decoy oligonucleotides to prevent restenosis after balloon angioplasty: an experimental study in New Zealand white rabbits. *Cardiovascular and Interventional Radiology* 2005; 28:331-337

Marburg, den