

Aus dem Fachbereich Medizin  
der Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

Herz- und Kreislaufzentrum Rotenburg a. d. Fulda  
Leitender Chefarzt: Prof. Dr. med. Christian Vallbracht

Biokompatibilität von koronaren Zinkstents mit verschiedenen Beschichtungen  
in den Iliakalgefäßen von weißen Neuseeland-Kaninchen

Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin  
des Fachbereichs Medizin  
der Goethe-Universität  
Frankfurt am Main

vorgelegt von  
Johannes Philipp Trabert  
aus Zweibrücken

Frankfurt am Main, 2011

Dekan: Prof. Dr. med. Josef Pfeilschifter

Referent: Prof. Dr. med. Martin Unverdorben

Korreferent:

[ggf 2.Korreferent:

Tag der mündlichen Prüfung:

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b> .....	<b>6</b>
<b>1. 1. Epidemiologie der Atherosklerose</b> .....	<b>6</b>
<b>1. 2. Prävention der Atherosklerose</b> .....	<b>6</b>
<b>1. 3. Pathogenese der Atherosklerose</b> .....	<b>6</b>
<b>1. 4. Therapie der koronaren Herzkrankheit (KHK)</b> .....	<b>8</b>
1. 4. 1. Entwicklung der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) und der Stenttherapie .....	8
1. 4. 2. Alternativen und ergänzende Verfahren zur PTCA .....	9
1. 4. 3. Verwendung von Stents.....	10
1. 4. 3. 1. Bare Metal Stents .....	10
1. 4. 3. 2. Beschichtete Stents .....	10
1. 4. 3. 3. Drug-Eluting Stents .....	11
1. 4. 3. 4. Radioaktive Stents.....	12
1. 4. 3. 5. Healing Stents.....	12
1. 4. 3. 6. Bioresorbierbare Stents .....	13
<b>1. 5. Fragestellung</b> .....	<b>14</b>
<b>2. Methodik</b> .....	<b>15</b>
<b>2. 1. Das weiße Neuseeland Kaninchen</b> .....	<b>15</b>
2. 1. 1. Implantation.....	15
2. 1. 2. Verweildauer und Explantation .....	18
<b>2. 2. Verwendete Stents</b> .....	<b>19</b>
2. 2. 1. Zinkstents .....	19
2. 2. 2. 316L Referenzstent .....	21
<b>2. 3. Stentbearbeitung</b> .....	<b>24</b>
2. 3. 1. Schnittpositionen .....	24
2. 3. 2. Schnitttechnik .....	25
2. 3. 3. Färbung .....	25
<b>2. 4. Histologische Untersuchung</b> .....	<b>26</b>
2. 4. 1. Mikroskop .....	26
2. 4. 2. Messparameter.....	26
2. 4. 2. 1. Lumen- und Gefäßdurchmesser.....	27

2. 4. 2. 2. Intima und Mediabreite .....	29
2. 4. 2. 3. Inflammation Score .....	31
2. 4. 2. 4. Gunn Score .....	32
2. 4. 2. 5. Late Lumen Loss .....	33
2. 4. 2. 6. Verwendung von beschädigten Präparaten.....	34
<b>2. 5. Statistische Auswertung: .....</b>	<b>35</b>
2. 5. 1. Vorgehen bei der statistischen Auswertung.....	35
2. 5. 1. 1. Schnittposition 2 und 3.....	35
2. 5. 1. 2. Schnittposition 1 .....	36
<b>3. Ergebnisse .....</b>	<b>37</b>
<b>3. 1. Vergleich der Variablen innerhalb der einzelnen Stentgruppen .....</b>	<b>38</b>
3. 1. 1. Ergebnisse des Referenzstents 316L.....	38
3. 1. 2. Ergebnisse Teststent ZINK .....	40
3. 1. 3. Ergebnisse Teststent Zna.....	42
3. 1. 4. Ergebnisse Teststent ZnTia .....	44
3. 1. 5. Ergebnisse Teststent ZnAuTia .....	46
3. 1. 6. Ergebnisse Teststent ZnAua.....	48
<b>3. 2. Direktvergleich der Stents untereinander .....</b>	<b>50</b>
3. 2. 1. Ergebnisse Woche 10.....	51
3. 2. 1. 1. Lumendurchmesser.....	51
3. 2. 1. 2. Intimabreite.....	52
3. 2. 1. 3. Inflammation Score .....	53
3. 2. 1. 4. Gunn Score .....	54
3. 2. 1. 5. Intimabreite stentextern .....	55
3. 2. 2. Ergebnisse Woche 26.....	56
3. 2. 2. 1. Lumendurchmesser.....	56
3. 2. 2. 2. Intimabreite.....	57
3. 2. 2. 3. Inflammation Score .....	58
3. 2. 2. 4. Gunn Score .....	59
3. 2. 2. 5. Intimabreite stentextern .....	60
<b>3. 3. Korrelationen zwischen Inflammation Score und stentinterner Intimabreite.....</b>	<b>61</b>
<b>4. Diskussion .....</b>	<b>63</b>

<b>5. Zusammenfassung</b> .....	<b>69</b>
<b>5. 1. Deutsche Zusammenfassung</b> .....	<b>69</b>
<b>5. 2. English Summary</b> .....	<b>70</b>
<b>6. Literatur</b> .....	<b>71</b>
<b>7. Anhang</b> .....	<b>91</b>
<b>8. Übersichten</b> .....	<b>95</b>
<b>8.1. Abbildungen</b> .....	<b>95</b>
<b>8.2. Tabellen</b> .....	<b>97</b>
<b>9. Danksagung</b> .....	<b>98</b>
<b>10. Curriculum Vitae</b> .....	<b>99</b>
<b>11. Ehrenwörtliche Erklärung</b> .....	<b>100</b>

# **1. Einleitung**

## ***1. 1. Epidemiologie der Atherosklerose***

Die Atherosklerose stellt eines der größten medizinischen Probleme der westlichen Industrienationen dar. Aus ihr ergeben sich zahlreiche Folgekrankheiten wie Herzinfarkt, Schlaganfall oder periphere Durchblutungsstörungen (pAVK).

Ischämische Herzerkrankungen waren 2009 in Deutschland mit insgesamt 15,2% die häufigste Todesursache, dabei lag die chronische ischämische Herzkrankheit (8,6%) vor dem akuten Myokardinfarkt (6,6%) und vor allen Krebserkrankungen <sup>1</sup>.

## ***1. 2. Prävention der Atherosklerose***

Präventive Maßnahmen umfassen im wesentlichen körperliche und geistige Gesundheit: Körperliche Ertüchtigung <sup>2-5</sup>, ausgewogene Ernährung mit Vermeidung LDL-reicher Fette <sup>5-8</sup>, die Vermeidung von Risikofaktoren wie z.B. Rauchen und Alkohol <sup>5, 9</sup>, medikamentöse Einstellung von Diabetes mellitus und Bluthochdruck <sup>5</sup>, sowie adäquate geistige Beanspruchung und Zufriedenheit <sup>2, 3, 10</sup>.

## ***1. 3. Pathogenese der Atherosklerose***

Obwohl der Straßburger Pathologe Jean-Frédéric Lobstein bereits 1829 die Atherosklerose erstmals beschrieben hatte <sup>11</sup>, konnte ihre Entstehung bis heute nicht eindeutig geklärt werden.

Verschiedene Ansätze postulieren entzündliche Reaktionen <sup>12</sup>, Ernährungs- <sup>11, 13</sup> oder Perfusionsstörungen <sup>14</sup> der Gefäßwand, thrombotische Ablagerungen <sup>15</sup>, Abnutzungserscheinungen <sup>16</sup>, Lipidinfiltrationen <sup>17, 18</sup>, Mesenchymdegeneration <sup>19</sup>, toxische Reaktionen <sup>20, 21</sup>, Thrombozytenaggregation <sup>22</sup>, die Proliferation glatter Muskelzellen <sup>23</sup> oder die injurious reactions nach Ross, die entzündlichen Reaktionen der Gefäßwand auf Verletzungen <sup>24, 25</sup>.

Dabei spielt das Endothel als Verbindung zwischen Lumen und Gefäßwand eine besondere Rolle <sup>26, 27</sup>. Toxische, autoimmunologische, inflammatorische und physische Einflüsse modulieren negativ dessen Eigenschaften wie die Permeabilität, die Funktion von NO-Synthase <sup>28, 29</sup> oder die Sekretion von EPC <sup>30</sup>, den endothelialen Vorläuferzellen die sowohl ischämiebedingte Revaskularisation als auch die endotheliale Regeneration nach Verletzung induzieren. Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren hatten erniedrigte EPC-Level <sup>31</sup>.

Eine infektiöse Pathogenese wurde vermehrt diskutiert, nachdem das Bakterium *Chlamydia Pneumoniae* vermehrt in atherosklerotisch degenerierten Gefäßen nachgewiesen werden konnte <sup>32-35</sup>. Bisher konnte jedoch nicht gezeigt werden, dass eine langfristige Antibiose die Progression der Atherosklerose beeinflusst <sup>36</sup>.

Bewiesen atherogen wirksam ist das LDL. LDL sowie auch HDL können das Endothel passieren, somit ist die Konzentration in der Intima proportional zur Konzentration im Blut. Wenn der Abbauprozess des LDL gestört oder durch zu viele anfallende Metaboliten überfordert ist, gelangt LDL in das subendotheliale Gewebe und wird dort enzymatisch zu E-LDL transformiert <sup>37</sup>. Über die wohl aus Lysosomen freigesetzten Proteasen und Cholinesterasen wird über die Aktivierung des C-reaktiven Proteins (CRP) die Komplementaktivierung und somit die Invasion von Monozyten aus dem Blut in Gang gesetzt. Die Monozyten nehmen das E-LDL auf und werden zu sogenannten Schaumzellen <sup>38, 39</sup>.

Das Cholesterin in den Schaumzellen wird normalerweise über einen HDL-abhängigen Transport entfernt, doch wenn das System überstrapaziert wird, werden proinflammatorisch wirkende Zytokine freigesetzt, die Makrophagen gehen zugrunde, wodurch es wiederum zur Komplementaktivierung und zur chronischen Entzündung kommt. Daraus resultiert direkt die Proliferation glatter Muskelzellen und der extrazellulären Matrix <sup>38, 39</sup>.

Ein weiterer wichtiger Faktor ist die Thrombozytenaggregation. In Studien an cholesterinreich gemästeten Mäusen konnte demonstriert werden, dass die Adhäsion von Thrombozyten an das Endothel schon nach 12 Wochen signifikant erhöht war, die Leukozytenadhäsion nahm erst sehr viel später zu. Die Thrombozyten wirken stimulierend auf proinflammatorische und proliferative Mediatoren und tragen so wesentlich zur atherosklerotischen Degeneration bei <sup>27</sup>.

Letzten Endes tragen wohl alle vorgestellten Faktoren je nach Individuum mehr oder weniger zur Pathogenese der Atherosklerose bei.

## ***1. 4. Therapie der koronaren Herzkrankheit (KHK)***

Für die Behandlung der KHK stehen verschiedene Therapieverfahren zur Verfügung, sowohl medikamentöse (Nitrate, Betablocker, Aggregationshemmer, ACE-Hemmer, Statine, etc.) als auch operative. In der Folge sollen vor allem die interventionellen Verfahren dargestellt werden.

### **1. 4. 1. Entwicklung der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) und der Stenttherapie**

Dotter und Jüdkins begründeten die Geschichte der Angioplastie 1964<sup>40</sup>, als sie erstmalig transkutan eine Femoralarterienstenose erweiterten. Grüntzig verfeinerte das Verfahren und entwickelte 1977<sup>41</sup> den PTCA-Katheter, der als Grundstein der perkutanen transluminalen Angioplastie gesehen werden kann.

Palmaz et al. stellten 1985 die PTCA-gestützte Stentimplantation vor<sup>42</sup>. Die Methode nach Palmaz wurde von Schatz et al. weiterentwickelt und resultierte in dem ersten in der Kardiologie kommerziell erfolgreichen Stent, dem Palmaz-Schatz-Stent<sup>43</sup>.

Schließlich waren Jean Puel in Toulouse und Ulrich Sigwart in Lausanne die ersten, die fast zeitgleich im März 1986 den ersten Stent im Menschen implantierten<sup>44</sup>.

Der Namensgeber für den Begriff Stent war der englische Zahnarzt Charles Thomas Stent<sup>45, 46</sup>, der 1856 das Stentmaterial ursprünglich zur Abformung von Kiefer und Zähnen entwickelte.

Problematisch war und ist auch immer noch die wegen des hohen Thromboserisikos<sup>47-52</sup> notwendige Antikoagulation und Antiaggregation, wodurch es zu einem stark erhöhtem Blutungsrisiko kam mit gehäuften chirurgischen Interventionen bei bis zu 13,5% der Patienten ohne Senkung der Thrombosekomplikationen<sup>53, 54</sup>.

1994 konnten Colombo et al. in einer Studie mittels intravaskulärer Ultraschallkontrolle zeigen, dass implantierte Stents häufig nicht optimal dilatiert werden und sich so nicht ideal der Gefäßwand anpassen. Hochdruckdilatation bis zu 20 bar konnte das Resultat erheblich verbessern<sup>48, 50, 55</sup>.

Auf die Antikoagulation kann dadurch verzichtet werden<sup>48, 56</sup>. Eine lebenslängliche Einnahme von Antiaggregationshemmern als Prophylaxe gegen eine weitere Progression in den Koronararterien kann jedoch nicht vermieden werden<sup>57</sup>.

1993 wurde in zwei Studien, der 520 Patienten umfassenden Belgium-Netherlands-Stent Studie (BENESTENT)<sup>53</sup> und der aus 410 Patienten bestehenden North American Stent Restenosis Study (STRESS)<sup>54</sup>, die Stent-Therapie im Vergleich zur Ballonangioplastie als überragend dargestellt und somit als Goldstandard in der interventionellen Therapie der KHK etabliert.

#### **1. 4. 2. Alternativen und ergänzende Verfahren zur PTCA**

Weitere Überlegungen zur Behandlung von Stenosen wandten sich ab vom Aufweiten der Engstellen hin zu einer endgültigen Entfernung der Plaques, um so die Restenoserate zu senken. In Verfahren wie der Atherektomie<sup>58</sup>, dem Herausschälen des atherosklerotischen Wandmaterials durch scharfe Skalpellklingen, der Hochfrequenzablation unter Verwendung einer sich mit 180.000 Umdrehungen pro Minute drehenden diamantbesetzten Olive, der Laserangioplastie<sup>59, 60</sup> oder dem Cutting-Balloon<sup>61</sup> wurde Wandmaterial abgetragen. Der initiale Erfolg war jedoch oft mit schlechten Langzeitergebnissen und hohen Komplikationsraten verbunden, außerdem musste beim größten Teil der Fälle nachträglich mittels PTCA interveniert werden.

Diskutiert werden diese Verfahren für spezifische Indikationen wie Bifurkations-<sup>62, 63</sup> oder Ostiumstenosen<sup>64</sup>, In-Stent-Restenosen<sup>59, 60, 65, 66</sup>, kalzifizierte Läsionen<sup>58, 67</sup> oder chronische Verschlüsse<sup>68-70</sup>.

Beim Vergleich verschiedener Therapieformen für die Behandlung der Koronaren Herzkrankheit ist die PTCA, die Intervention mittels Ballonkatherter und Stentimplantation, als Verfahren der Wahl hervorzuheben<sup>71</sup>.

### **1. 4. 3. Verwendung von Stents**

Die Implantation von Stents war seit Einführung als interventionelle Maßnahme ein thrombogener und gewebe proliferativ wirksamer Prozess, verursacht durch die Interaktion zwischen den Gerinnungsfaktoren im Blut und der Metalloberfläche des Stents<sup>72</sup>. Die Eigenschaften des Metallstents haben Auswirkung auf die Proteinablagerung, die Aktivierung von Plättchen, Komplementsystem und Koagulationsfaktoren und nicht zuletzt auf die Anlagerung von Thromben und der Bildung einer Endothelschicht auf der Oberfläche des Stents.

#### **1. 4. 3. 1. Bare Metal Stents**

Bare Metal Stents (BMS) waren die ersten patentierten Stents und werden bis heute routinemäßig eingesetzt<sup>73</sup>.

Edelstahl hat abgesehen vom Thromboserisiko<sup>74-76</sup> eine sehr gute Biokompatibilität und weist weder lokale noch systemische Toxizität auf<sup>77</sup>. Allerdings haben BMS im Vergleich zu Drug-Eluting Stents (DES) bei den meisten Indikationen eine höhere Rezidivrate<sup>78</sup>.

Eine allergene Wirkung wurde bei BMS durch das Freisetzen von Nickel und Chrom beobachtet, was allerdings durch Ausbildung einer Chromoxidschicht begrenzt wird<sup>79</sup>.

Im Rahmen von Entzündungsprozessen, die mit einem verstärkt sauren Milieu einhergehen, kommt es allerdings zu erhöhten Korrosionswerten<sup>80</sup>.

Der BMS ist im Vergleich zu beschichteten Stents oder DES wesentlich billiger, was ihn ökonomisch interessant macht. Letztere sind allerdings durch niedrigere Reinterventionsraten höherwertig und insofern auch wiederum kosteneffektiv<sup>81,82</sup>.

#### **1. 4. 3. 2. Beschichtete Stents**

Um die Gefahr der Restenose herabzusetzen, wurden Stents mit verschiedenen Beschichtungen getestet<sup>83</sup>. Biologisch inerte Substanzen wie Carbon<sup>84</sup>, Platin oder Gold<sup>85</sup> wurden auf Edelstahlstents aufgetragen, um die Angriffsfläche für die Bildung von Thromben und

Restenosierung herabzusetzen, was in klinischen Studien jedoch nicht immer erfolgreich war. Die Beschichtung mit Gold hat die Restenoserate im Tierversuch und im Menschen sogar erhöht <sup>85</sup>.

Andere hypothrombogene Metallbeschichtungen wie z.B. Siliziumcarbid (SiC) konnten sich in klinischen Versuchen als ebenbürtig, oder sogar besser als BMS erweisen <sup>86-88</sup>, mit niedrigeren Rezidiv- und Komplikationsraten.

Neben Metalllegierungen wurde geprüft, ob sich die Beschichtung mit anti-thrombogen wirksamen medikamentösen Substanzen im Stentlumen bewährt. Pharmaka wie Heparin werden bereits als Thromboseprophylaxe im klinischen Alltag routinemäßig eingesetzt. In Studien wie der Belgium-Netherlands-stent-study (BENESTENT-II) zeigte sich eine wesentlich niedrigere Restenoserate von Heparin-beschichteten Stents im Vergleich zu Balldilatation (11% vs. 21%) <sup>89-91</sup>.

### **1. 4. 3. 3. Drug-Eluting Stents**

Mit großem Erfolg werden heute Drug-Eluting Stents (DES) eingesetzt, die aktiv wirkende Pharmaka lokal freisetzen. Populäre Vertreter sind der Sirolimus-Eluting Stent (SES) und der Paclitaxel-Eluting Stent (PES).

Sirolimus ist ein makrozyklisches Immunsuppressivum mit starker antiinflammatorischer und antiproliferativer Wirkung, das durch die Hemmung des mTor-Rezeptors den Zellzyklus von T-Zellen hemmt <sup>92,93</sup>. Der SES hat sich unter anderem in der randomisierten, doppelblinden SES in de Novo Coronary Lesions Studie (SIRIUS) <sup>78</sup> gegen den PES durchgesetzt. Die Studie untersuchte die Sicherheit und Effizienz des Stents in einfachen, vorher unbehandelten koronaren Gefäßen. Dabei wurde nach 5 Jahren eine signifikant niedrigere Reinterventionsrate festgestellt als in ansonsten vergleichbaren BMS (9,4% v.s 24,2%,  $p < 0,001$ ).

Paclitaxel hemmt direkt den Abbau von Mikrotubuli und wirkt sich so hemmend auf den Zellzyklus aus. Wie Sirolimus ist die Wirkung stark antiproliferativ.

Im Vergleich von SES und PES zeigten sich Vorteile des SES gegenüber dem PES <sup>94,95</sup>.

Allerdings haben DES insgesamt langfristig den Nachteil der verminderten oder verzögerten Endothelialisierung <sup>96,97</sup> und dadurch ein erhöhtes Thromboserisiko, weswegen aktuell

eine zusätzlich zu ASS eine langfristige aggregationshemmende Behandlung mit Clopidogrel empfohlen wird <sup>96</sup>.

#### **1. 4. 3. 4. Radioaktive Stents**

Im Tierversuch an Schweinen konnte eine signifikante Reduzierung der Intimafläche und der Restenoserate durch radioaktive Stents erreicht werden <sup>98</sup>.

Auch im Versuch an den Iliakalgefäßen von Kaninchen konnte mit <sup>32</sup>P-betastrahlenden Stents, die Strahlungsstärken von 6 und 24 µCi hatten, die Intimaproliferation im Vergleich zu nichtradioaktiven Kontrollen deutlich gesenkt werden <sup>99</sup>.

Nachteilig ist die Strahlenbelastung im Sinne einer gestörten Endothelfunktion <sup>99</sup>, die sowohl vermindertes Wachstum als auch verringerte Permeabilität betrifft und somit thrombogen wirkt.

Eine Metaanalyse bestätigt diesen Effekt mit einer Erhöhung der Spätthromboserate um 6%, oft verbunden mit letalem Ausgang.

Ein weiteres Gegenargument ist das vor allem bei höheren Strahlendosen auftretende „Candy Wrapper-Phänomen“, das eine erhöhte Rezidivrate am Stentende beschreibt. Dies wird auf eine ungleichmäßige Verteilung der Radioaktivität zurückgeführt <sup>100-103</sup>.

Zu diesen Patienten bezogenen Faktoren kommt der logistische Aufwand, der mit der Radioaktivität einhergeht <sup>104</sup>; allerdings wird die Strahlenbelastung der Personals als sehr gering eingestuft.

#### **1. 4. 3. 5. Healing Stents**

Ein neuartiger Ansatz stellen antikörperbeschichtete Stents dar. Auf Edelstahlstents wird eine Schicht von Antikörper aufgetragen, die spezifisch für die Oberflächenantigene von Endothel-Vorläuferzellen sind. So wird so ein schnelles gleichmäßiges Einwachsen von Endothel im Stentlumen erreicht, was deutlich das Thrombose- und Restenoserisiko senken sollte <sup>105-109</sup>.

In den Healing I und II Studien konnte die sichere Anwendbarkeit des Genous Stents be-

wiesen werden <sup>31, 106, 110</sup>. Weitere Studien zeigten niedrigere Thromboseraten gegenüber DES <sup>105</sup>.

### **1. 4. 3. 6. Bioresorbierbare Stents**

Es ist bekannt, dass durch Stents offen gehaltene Gefäße nach etwa 4-6 Wochen durch neu gebildetes Gewebe soweit stabilisiert sind, dass der Stent nicht weiterhin erforderlich ist. Auf Grund dieser Tatsache wurden Stents entwickelt, die nach gewisser Zeit vom Körper aufgelöst und resorbiert werden können.

Die mechanische Reizung, die bei jeder Herzaktion auf den Stent wirkt <sup>111</sup>, könnte so vermieden, und dadurch die langfristige Restenoserate erheblich gesenkt werden.

Problematisch an bioresorbierbaren Stents sind die durch die Resorption bedingten entzündlichen Prozesse und die vermehrte Neointimabildung <sup>112-115</sup>.

Das Problem der Inflammation und der damit verbundenen Neointimabildung wurde durch Beschichtung mit immunsuppressiven Substanzen angegangen. In der prospektiven ABSORB Studie wurde ein bioresorbierbarer DES (Everolimus) erfolgreich an 30 Patienten mit stabiler oder instabiler Angina pectoris getestet, und auch andere bioresorbierbare DES zeigten vielversprechende Ergebnisse <sup>112, 116</sup>.

Auch temporäre Metallstents wurden in den letzten Jahren entwickelt: 2001 präsentierten Peuster et al. einen Eisenstent, der in bis zu 18 Monaten vollständig resorbiert war. In Tierversuchen wurden keine Intimaproliferationen oder Entzündungsprozesse beobachtet, und in der histologischen Untersuchung der Organe fanden sich keine durch Eisenablagerung oder direkte toxische Wirkung des Eisens bedingte Schädigungen <sup>117</sup>.

In Hannover wird seit einiger Zeit Magnesium als Stentmaterial verwendet <sup>118</sup>. In der 2004 durchgeführten PROGRESS-AMS-Studie wurde erstmals ein Magnesium Stent erfolgreich in ein Koronargefäß implantiert. Die Erfolgsrate der prospektiven, multizentrischen, nicht-randomisierten Studie bezüglich der Implantation betrug 100%, bei 67% der Patienten musste im Verlauf nachdilatiert werden, und bei 13% wurde ein zweiter Stent implantiert.

## ***1. 5. Fragestellung***

Bei allen Metallimplantaten kommt es zwangsläufig zu Korrosion <sup>119</sup>, die allerdings bei Untersuchungen in vitro und in vivo unterschiedlich ausfällt <sup>118, 120, 121</sup>. Um klare Aussagen zu Unterschieden zwischen bioresorbierbaren und nicht bioresorbierbaren Materialien zu erhalten, ist der Tierversuch deshalb unumgänglich.

Die aktuelle Studie befasst sich mit Zinkstents, die mit verschiedenen Legierungen beschichtet wurden. Insgesamt werden fünf verschiedene auf Zink basierende Stents an Neuseelandkaninchen mit dem Referenzstent aus 316L Edelstahl verglichen, um zu prüfen, ob Zink als Stentmaterial geeignet ist.

Zink hat hypothrombogene <sup>122</sup>, antiinflammatorische <sup>123, 124</sup> und antiproliferative <sup>125, 126</sup> Eigenschaften, ist in vivo nur in sehr hohen Dosen toxisch <sup>127</sup> und kann vom Körper vollständig metabolisiert werden, was es als ideales Material für die Entwicklung neuer Stents erscheinen lässt.

Durch Zulegieren verschiedener biokompatibler Metalle (Au, Ti, Li) soll zusätzlich die Bruchdehnbarkeit und die Härte des Stents verbessert werden. Allerdings bleibt der Anteil der Legierung dabei so gering, dass sie sich nicht auf die Korrosionseigenschaften auswirkt.

Durch diese Eigenschaften des Stentmaterials kommen wir zu der Überlegung, dass Zink vor allem die langfristige Restenoserate im Vergleich zu dem Referenzstent aus medizinischem Edelstahl senkt und außerdem den durch Fremdkörperreaktion des Gewebes aufkeimenden Entzündungsprozess niedriger hält.

So soll insbesondere der Effekt der verschiedenen Zinkstents auf das Lumen und auf die Gefäßwand untersucht werden.

## **2. Methodik**

### ***2. 1. Das weiße Neuseeland Kaninchen***

Die Stents wurden ausnahmslos an weißen Neuseeland Kaninchen geprüft. Insgesamt 47 Tiere wurden verwendet, alle vom gleichen Züchter, um eine einheitliche Grundlage für die Studie zu haben. Die Iliakalgefäße dieser Kaninchen sind in ihrer anatomischen Morphologie vergleichbar mit den menschlichen Koronargefäßen. Außerdem ist die Implantation einfacher als bei Koronargefäßen größerer Tiere und die Haltung billiger.

Zur Hemmung der Blutgerinnung erhielten alle Versuchstiere postoperativ alle drei Tage Aspirin (90 mg) für vier Wochen. Zur Reduzierung möglicher operativ bedingter Entzündungsreaktionen und zur Infektionsprophylaxe erfolgte die zweimalige Gabe eines Langzeit-Antibiotikums.

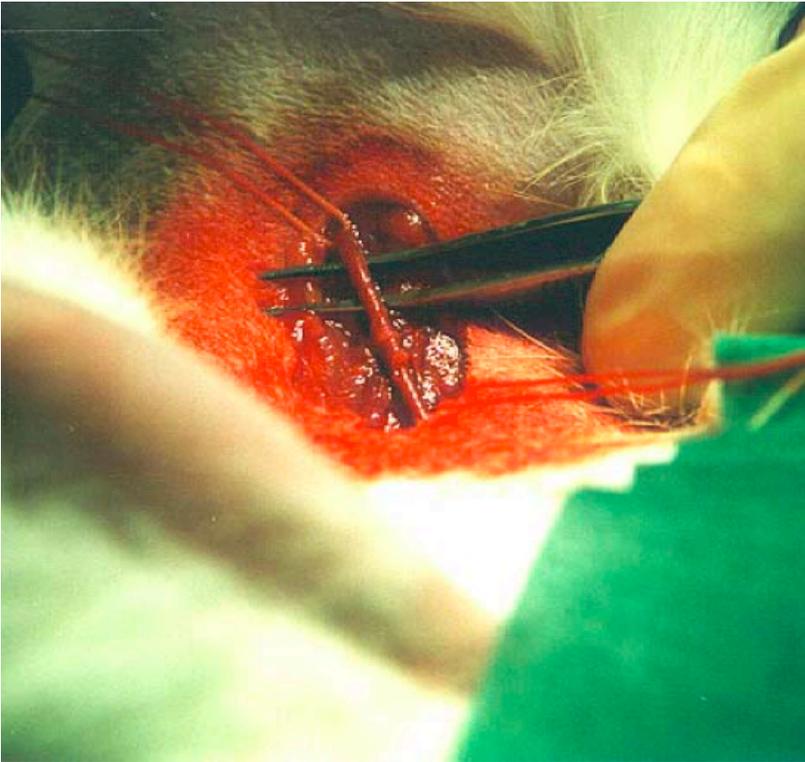
#### **2. 1. 1. Implantation**

Die interventionellen Eingriffe wurden von Prof. Dr. Martin Unverdorben am Herz- und Kreislaufzentrum Rotheburg a. d. Fulda durchgeführt.

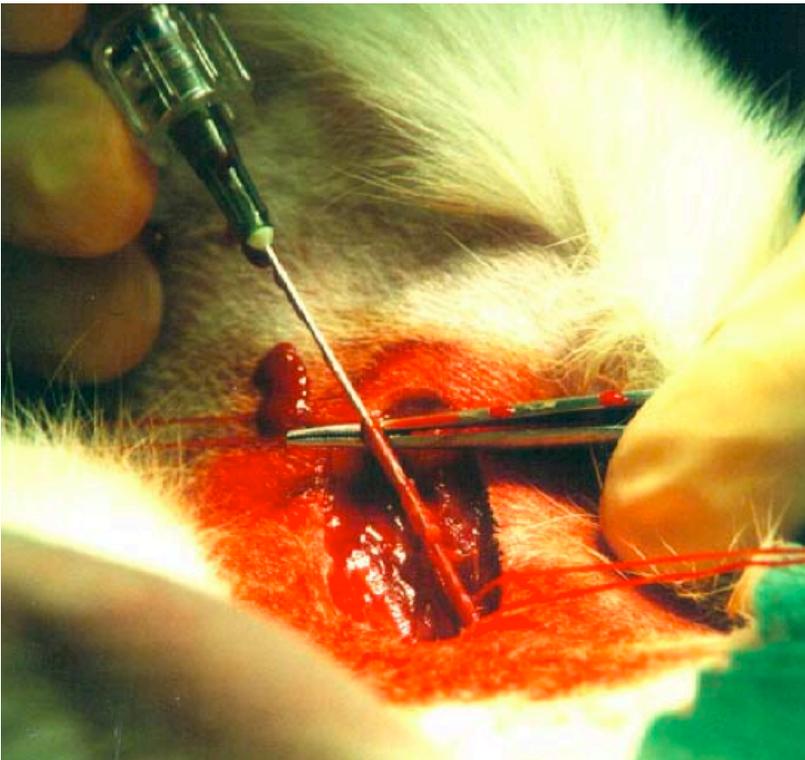
Die Vollnarkose der weiblichen Neuseelandkaninchen erfolgte mit Xylazin und Ketamin.

Nach Rasur und stumpfem Freipräparieren der Leistengefäße wurden die Stents durch eine Schleuse über einen Floppy-Führungsdraht unter Röntgenkontrolle in die Arteriae iliacae communes platziert und mit 10 bar über 60 Sekunden insuffliert. Nach Entfernen von Ballonkatheter und Draht sowie Verschluss der Femoralarterie mittels einer Gefäßnaht, wurde die Wunde schichtweise mit Subkutan- und Hautnaht verschlossen.

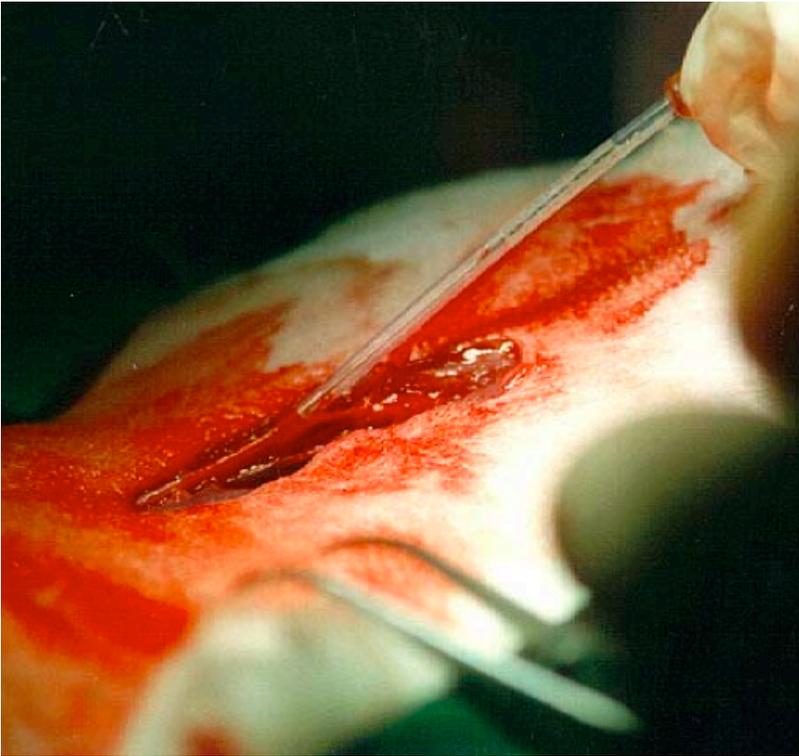
**Abbildung 1: Freipräparierte A. femoralis <sup>128</sup>.**



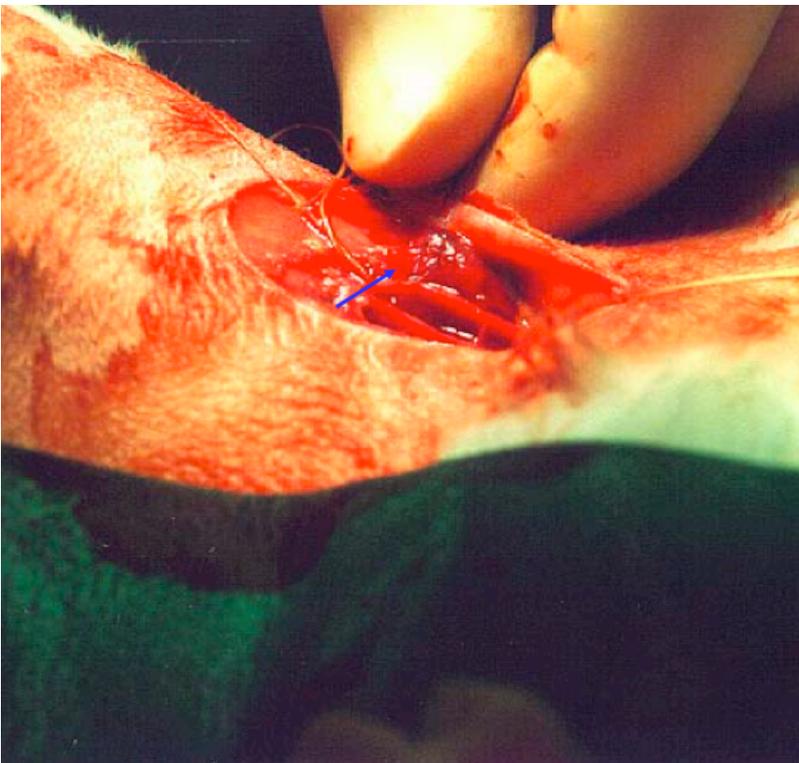
**Abbildung 2: Inzision der A. femoralis mit einer Punktionskanüle, durch die ein Floppy Führungsdraht vorgeschoben wird <sup>128</sup>.**



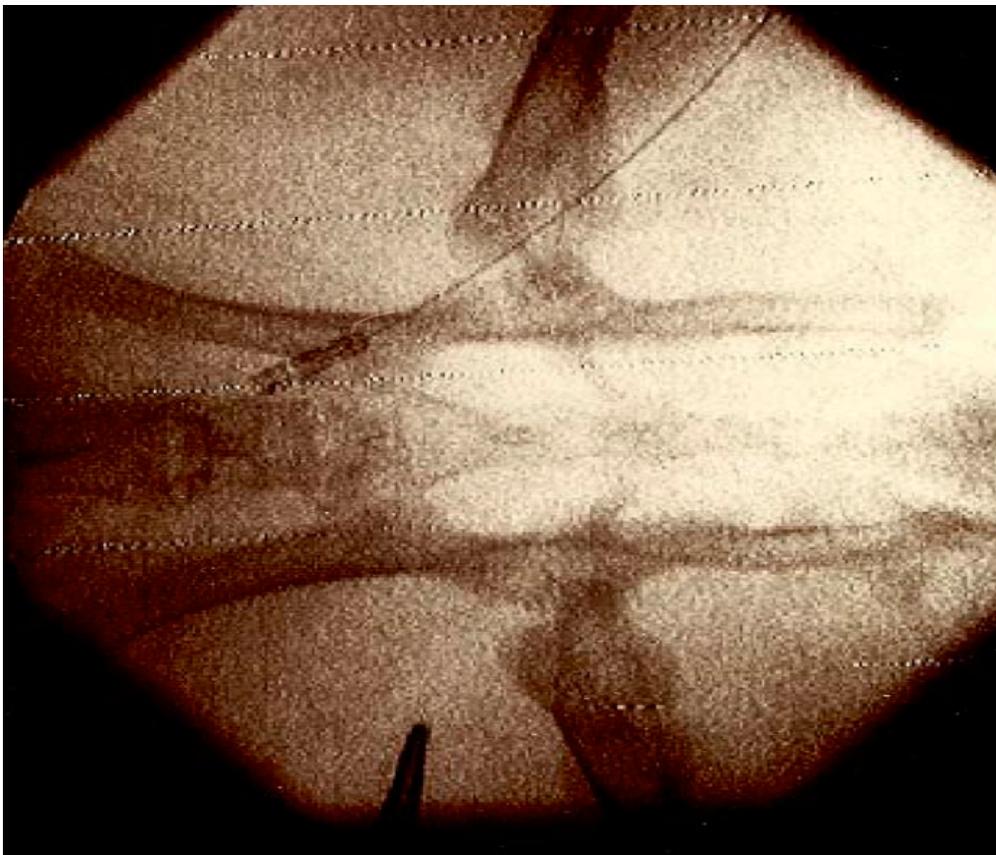
**Abbildung 3: Platzierung des Stents nach Platzierung einer Schleuse <sup>128</sup>.**



**Abbildung 4: die Gefäßnaht (blauer Pfeil) zeigt keine Anzeichen von Einschnürung der Arterie <sup>128</sup>.**



**Abbildung 5: Radiologische Kontrolle der Stentposition <sup>128</sup>.**



### **2. 1. 2. Verweildauer und Explantation**

Den Tieren wurden nach 10 Wochen und nach 26 Wochen die Stents explantiert.

Zur Explantation wurden die Kaninchen mittels Xylazin (10 mg i.m.) und Ketamin (50 mg i.v.) in Allgemeinnarkose versetzt. Freipräpariert wurden die Arteriae femorales, die Arteriae iliacae communes sowie die Aorta abdominalis, danach wurde das gesamte Gefäßpräparat unter Druckperfusion entnommen. Anschließend wurden die Kaninchen durch die intravenöse Applikation von Methohexital bis zum Herzstillstand getötet.

## **2. 2. Verwendete Stents**

Alle im Tiermodell untersuchten Stents hatten einen Durchmesser von 3 mm und eine Stentlänge von 10,70 mm. Das Crossing Profile war bei den Zinkstents etwas größer (1,35 mm) im Vergleich zu den 316L-Stents (1,20 mm). Der Flächenanteil der Struts ist mit 21% bei allen Stents gleich. Zur Dilatation des Gefäßes und Implantation der Stents wurde ein Ballonkatheter mit einer Ballonlänge von 20 mm verwendet. Die Unterschiede beim Elastic Recoil sind vernachlässigbar gering.

Alle Stents entsprachen dem Slotted Tube Profil, die Strutdicke lag bei 200 µm tangential und 200 µm radial bei den Zinkstents beziehungsweise 100 µm radial bei den 316L-Stents.

### **2. 2. 1. Zinkstents**

Die in der Studie verwendeten Stents basieren auf Zink, welches als physiologisch im Körper vorkommendes Metall sehr geeignet erscheint.

Die Zinkstents bestehen bis zu 99,99% aus Reinzink und wurden mit zusätzlichen Legierungen, Gold(Au) und Titan(Ti), beschichtet. Beide Legierungen sollen die Härte erhöhen und dabei gleichzeitig die Bruchdehnung steigern. So lassen sich Stents herstellen, die eine hohe Festigkeit aufweisen und gleichzeitig gut plastisch verformt werden können. Die Legierungen werden in Gewichtsprozent angegeben.

Zink hat ein negatives Standardpotential von -0,76V, was eine Festkörperreaktion durch den Elektronenübergang auf Fibrinogen im Sinne der Aktivierung der Blutgerinnung verhindert. Hierbei weist es ähnliche hypothrombogene Eigenschaften <sup>122</sup> auf wie halbleitende Beschichtungen wie zum Beispiel Siliziumcarbid, die bereits erfolgreich im klinischen Einsatz getestet wurden <sup>113</sup>. Das negative Standardpotential lässt den Stent außerdem in wässriger Elektrolytlösung gleichmäßig korrodieren <sup>129</sup> anders als Gold(Au), Platin(Pt) oder Lithium(Li), und die anfallenden Zinkionen werden komplex durch Albumin gebunden <sup>130, 131</sup> oder durch mehr als 300 Enzyme im Körper direkt verstoffwechselt <sup>132</sup>. Das Gewicht des Stents von etwa 20-40 mg bleibt hierbei unter der empfohlenen täglichen Dosis von Zink für Erwachsene von bis zu 40mg, wobei der Abbauprozess zudem noch über einen längeren Zeitraum andauert. Dadurch kann ein potentiell systemisch toxischer Effekt weitgehend

ausgeschlossen werden. Zusätzlich zu der guten Verstoffwechslung des Stentmaterials hat Zink positive antiinflammatorische<sup>123, 126, 133</sup> und antiproliferative<sup>125</sup> Eigenschaften.

ZINK und Zna sind einfache Zinkstents und abgesehen von der Außenvergoldung bei Zna identisch. Sie haben keine weiteren Legierungszusätze und sind dadurch theoretisch rigider und spröder im Vergleich zu den anderen Teststents. Sie sollen als Referenz innerhalb der Teststents dienen, ohne den zusätzlichen Einfluss der Legierungen.

Die Stents ZnAua, ZnTia und ZnAuTia sollten durch die Legierungen mechanisch stabiler sein als die reinen Zinkstents, insbesondere eine höhere Festigkeit aufweisen und gleichzeitig gut plastisch verformbar sein<sup>134</sup>. Dadurch wurden geringere Wandverletzungen erwartet.

Die galvanische Außenvergoldung bei den Stents Zna, ZnAua, ZnAuTia und ZnTia soll die Korrosionsgeschwindigkeit verlangsamen<sup>135</sup>, um so den Reiz auf das Gefäß zu verringern und Entzündungsreaktionen zu minimieren<sup>115</sup>.

Der Korrosionsschutz von Titan<sup>121, 134</sup> fällt wegen der geringen Menge der Legierung nicht ins Gewicht.

**Abbildung 6: ZINK Stent**



### **2. 2. 2. 316L Referenzstent**

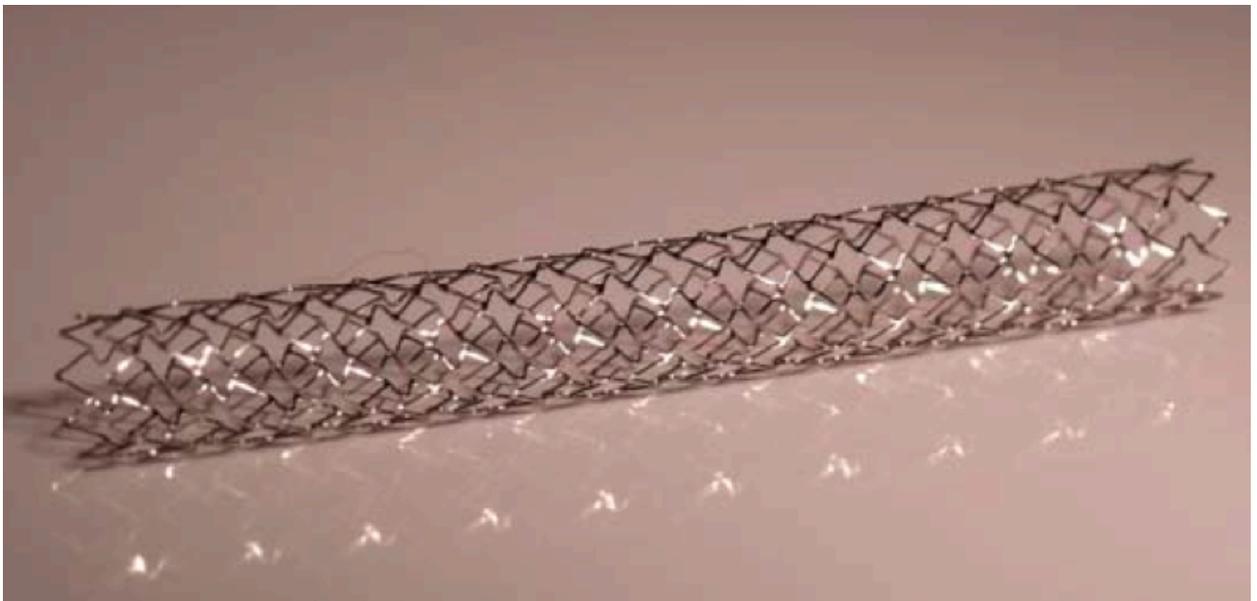
Der Referenzstent besteht aus üblichem medizinischem 316 L Edelstahl. 316L ist eine Legierung aus Eisen, Chrom und Nickel und weiteren Substanzen wie zum Beispiel Kohlenstoff<sup>136</sup>, die jedoch nur einen Bruchteil ausmachen. Chrom ist wichtig für die Ausbildung einer vor Korrosion schützenden Chromoxidschicht<sup>79, 136</sup>. Diese schützende Schicht sollte auch vor toxischen und allergischen Reaktionen schützen. In sauren Milieus, wie zum Beispiel bei Entzündungen wurden jedoch Korrosionen beschrieben<sup>80</sup>.

Abgesehen von der erhöhten Thrombogenität<sup>74-76</sup> hat Edelstahl eine gute Biokompatibilität und keine eigene Toxizität<sup>77</sup>.

**Abbildung 7: 316L Stent, auf Ballon aufmontiert <sup>128</sup>.**



**Abbildung 8: 316L Stent <sup>128</sup>.**



**Tabelle 1: Referenz- und Teststents**

Stent	ZINK	Zna	ZnAua	ZnAuTi	ZnTia	316L
Grundmaterial	Zink	Zink	Zink	Zink	Zink	316L
Außenlegierung		Gold (1µm)	Gold (1µm)	Gold (1µm)	Gold (1µm)	
Zusätzliche Legierung			1,0% Gold	1,0% Gold 0,5% Titan	0,5% Titan	
Design	Slotted Tube					
Strutdicke	200 µm	200/100 µm				
Aufdehnung	3mm	3mm	3mm	3mm	3mm	3mm
Crossing Profile	Typisch: 1,35 mm Max. 1,25mm	Typisch: 1,20 mm max. 1,25mm				
Flächenanteil der Struts	21%	21%	21%	21%	21%	21%
Radialkraft	0,9 bar	0,9 bar	>1,5 bar	>1,5 bar	>1,5 bar	ähnlich
Elastic recoil	1	1	2,3%	1,7%	2,7%	1
Foreshortening	1	1	2,8%	2,0%	5,5%	1
Röntgen-sichtbarkeit	Sehr gut	Gut				

---

1: wurde nicht gemessen, sollte aber gleich sein wie ZnAua, ZnAuTia und ZnTia

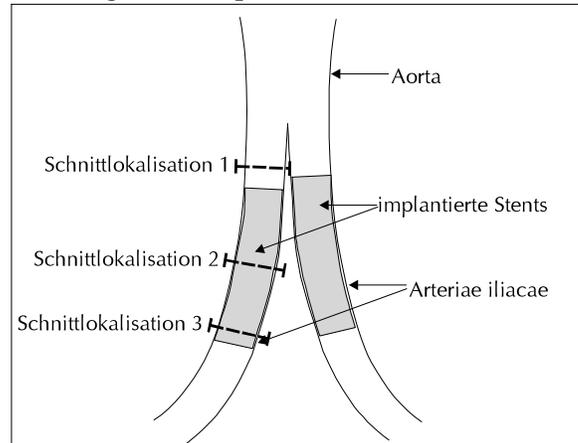
## 2. 3. Stentbearbeitung

### 2. 3. 1. Schnittpositionen

Zur Auswertung der Gefäße wurden pro Stent 3 Schnittpositionen festgelegt:

Da Schnittpositionen 2 und 3 innerhalb des Stents liegen und gleichwertig durch den Stent dilatiert wurden, sind sie als Gruppe zu betrachten. Die Schnittposition 1 liegt außerhalb des Stents, wurde nicht dilatiert und dient als Referenz für das umgebende native Gefäß.

Abbildung 9: Schnittpositionen



Schnittposition 1 (SP1): Proximal des Stents; "unbehandelter" Gefäßabschnitt; dieser Abschnitt der Arterie bleibt bei der Implantation unberührt und dient somit als Referenz für die Auswertung der gestenteten Abschnitte.

Schnittposition 2 (SP2): Stentmitte

Schnittposition 3 (SP3): Randbereich des Stents auf der distalen Seite; für die Beurteilung des Stentrandbereiches wurde die distale Seite ausgewählt, da es auf der proximalen Stentseite beim Zurückziehen des Ballonkatheters zu Gefäßirritationen kommen kann.

### **2. 3. 2. Schnitttechnik**

Als Vorbereitung für das Schneiden der Präparate und als Vorbeugung gegen Schrumpfar-  
tefakte und Verformungen der Gefäße wurden diese druckperfundiert.

Die zu explantierenden Gefäße wurden selektiert durch Klemmen abgetrennt und mit einer  
Lösung die fixierende Eigenschaften aufweist, durchspült. Dadurch wurde auch nach Ex-  
plantation der intravaskuläre Druck aufrechterhalten, was einer Deformierung der Gefäße  
vorbeugt.

### **2. 3. 3. Färbung**

Für die histologische Färbung der Präparate wurde die Elastica van Gieson Färbung ge-  
wählt. Kollagene Fasern werden rot dargestellt, elastische Fasern blau bis schwarz und glat-  
te Muskelzellen gelb. Kerne und andere Strukturen sind nicht erkennbar.

## **2. 4. Histologische Untersuchung**

### **2. 4. 1. Mikroskop**

Die Präparate wurden mit dem Mikroskop Axiovert der Firma Carl-Zeiss aus Jena untersucht. Die Bilder wurden mit einer Schwarz-Weiß-Kamera vom Typ AVT-BC2 der Firma Horn in Aalen digitalisiert und durch die Software KS400 der Firma Carl-Zeiss weiter verarbeitet.

Zusätzlich wurden Farbaufnahmen gemacht mit dem Mikroskop Axioplan und einer Axio-Cam MRc Farb-Kamera, beide von der Firma Carl-Zeiss.

### **2. 4. 2. Messparameter**

**Tabelle 2: Messparameter.**

Lumendurchmesser mittels Flächenberechnung:	<b>vLD</b>
Lumendurchmesser mittels Distanzmessung:	<b>mLD</b>
Gefäßdurchmesser mittels Flächenberechnung:	<b>vGD</b>
Gefäßdurchmesser mittels Distanzmessung:	<b>mGD</b>
Intimabreite mittels Flächenberechnung:	<b>vIB</b>
Intimabreite mittels Distanzmessung:	<b>mIB</b>
Mediabreite mittels Flächenberechnung:	<b>vMB</b>
Mediabreite mittels Distanzmessung:	<b>mMB</b>
Gunn Score:	<b>GS</b>
Inflammation Score:	<b>IS</b>

## 2. 4. 2. 1. Lumen- und Gefäßdurchmesser

Die Messung vom Lumendurchmesser wurde in der Vergangenheit in der Regel durch die einfache Distanzmessung zwischen gegenüberliegenden Endothel-Lumengrenzen vorgenommen<sup>137</sup>. Aus zum Beispiel 3 Messungen an 3 verschiedenen Stellen im Lumenkreis (z.B. 12 Uhr, 4 Uhr, 8 Uhr) wurde der Mittelwert errechnet und als Lumendurchmesser verwendet.

Das Gleiche gilt für den Gefäßdurchmesser durch Messung zwischen den gegenüberliegenden Membranae Elastica Externae.

Es ist jedoch bekannt, dass Stents nach Explantation beim Fixierungs- und Schneidevorgang sich verformen können, was auch durch in der vorliegenden Studie angewendete Techniken wie Druckperfusion vor Fixierung nicht immer vermieden werden kann.

Daher ergibt sich die Überlegung, nicht die Distanzen zu messen, sondern die Fläche A von Lumen und Gefäß zu bestimmen. Unter der Annahme, dass sich das Lumen zwar verformt, dabei aber die Gesamtfläche des Lumens weder zu- oder abgenommen hat, kann man über folgende Formel den Lumen- und Gefäßdurchmesser bestimmen.

$$\text{Formel 1 } A_{Lumen} = \pi \times \text{Radius}^2, \text{ beziehungsweise } \text{Lumendurchmesser} = 2 \times \sqrt{\frac{A_{Lumen}}{\pi}}$$

$$\text{Formel 2 } A_{Gefäß} = \pi \times \text{Radius}^2, \text{ beziehungsweise } \text{Gefäßdurchmesser} = 2 \times \sqrt{\frac{A_{Gefäß}}{\pi}}$$

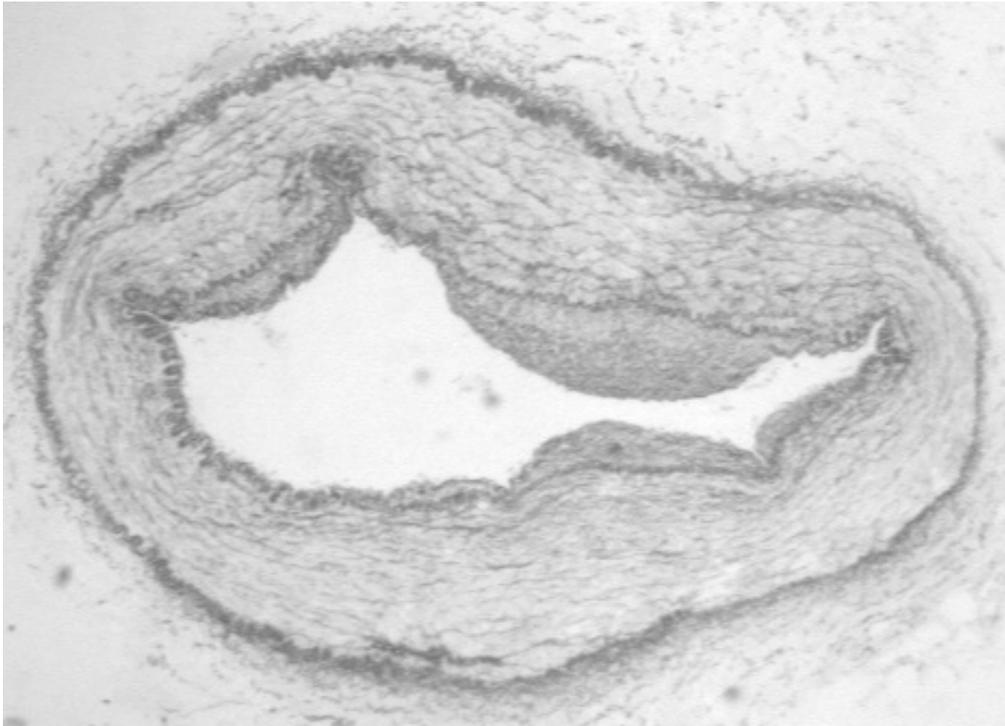
Durch diese Methode werden alle Verformungen berücksichtigt, die bei der ansonsten üblichen einfachen Distanzmessung das Ergebnis potentiell verzerren.

Im direkten Vergleich mit stichprobenartigen Messungen des Lumens mit dreifacher Distanzmessung von gleichen Präparaten konnte eine starke Übereinstimmung bestimmt werden (Abbildung 35 Tabelle 27).

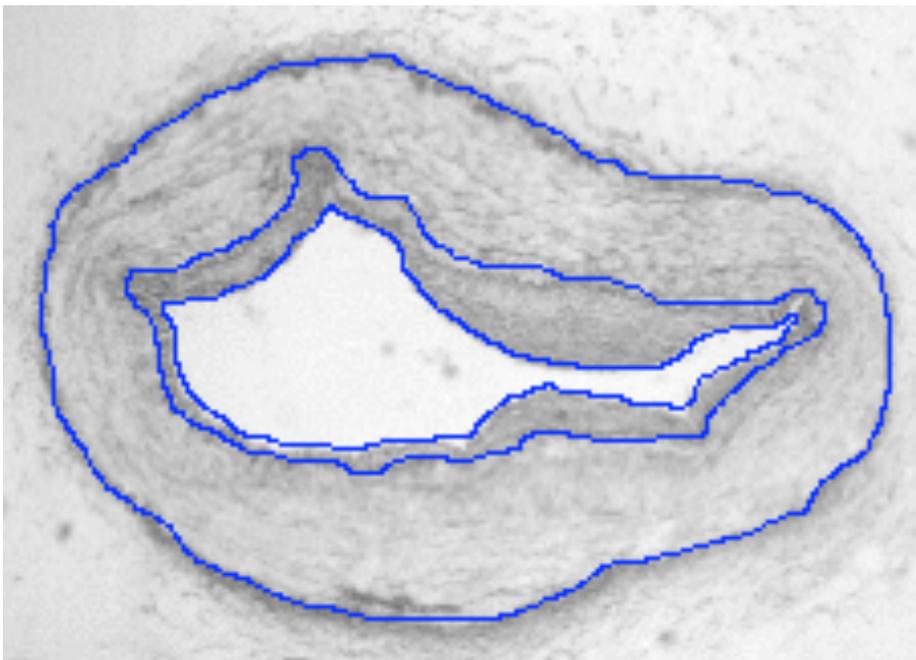
Die Messung erfolgt bei einer 50-fachen Vergrößerung bei allen Stents bei Schnittposition 1 und bei einer 25-fachen Vergrößerung bei Schnittposition 2 und 3.

Die Software zur Flächenberechnung wird auf die spezielle Vergrößerung geeicht, wodurch die Vergrößerung letztlich keine Rolle spielt, jedoch ist die 50-fache Vergrößerung präziser weswegen sie nach Möglichkeit, also bei kleineren Gefäßen, verwendet wurde.

**Abbildung 10: Gefäß mit deutlicher Abgrenzung zwischen Intima und Media.**



**Abbildung 11: Markierungen am Lumen, Lamina elastica interna und Lamina elastica externa für die weitere elektronische Vermessung.**



## 2. 4. 2. 2. Intima und Mediabreite

Intima und Media werden durch eine Distanzmessung an 3 Positionen (12 Uhr, 4 Uhr und 8 Uhr), bei einer 200-fachen Vergrößerung bestimmt. Aus den 3 Werten wird der Mittelwert bestimmt.

Die Messung der Intima erfolgt zwischen der Grenzfläche Endothel-Lumen und der Membrana elastica interna (→).

Die Messung der Media erfolgt zwischen Membrana elastica interna und der Membrana elastica externa (→).

Abbildung 12: Messung von Intima- und Mediabreite.



Für Schnittposition 1 wird im Gegensatz zu den Positionen 2 und 3 die Intimabreite auch aus der Flächenberechnung bestimmt. Die durchschnittliche Intimabreite wird über einen

Umweg über die ebenfalls aus der Fläche A bestimmten Mediabreite, Lumen- und Gefäßdurchmesser berechnet.

Zuerst wird die Mediabreite aus dem Gefäßdurchmesser und dem Durchmesser der Summe von Lumen- und Intimafläche berechnet.

$$\text{Formel 3 } \text{Mediabreite} = \frac{GD - 2 \times \sqrt{\frac{(A_{Lumen} + A_{Intima})}{\pi}}}{2}$$

Im nächsten Schritt wird die Intimabreite aus Gefäßdurchmesser, Lumendurchmesser und Mediabreite bestimmt.

$$\text{Formel 4 } \text{Intimabreite} = \frac{GD - LD - (2 \times MB)}{2}$$

Diese aus der Fläche errechnete Intimabreite wird parallel zu der Distanzmessung verwendet. Dies wird zum einen dadurch gerechtfertigt dass an Position 1 die stentbedingte Mediakompression ausbleibt was eine adäquate Differenzierung zwischen Intima und Media in der Flächenberechnung unmöglich macht. Zum anderen ist die Proliferation meist nicht global, sondern fokal über einzelne Endothelabschnitte verteilt, womit Proliferationsherde in der 120 Grad Messung potentiell zu stark oder zu schwach bewertet werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die aus der Fläche berechnete Intimabreite und die durch dreifache Distanzmessung bestimmte Intimabreite eine hohe Übereinstimmung aufweisen (Abbildung 34). Dadurch wird bestätigt, dass beide Verfahren verwendet werden können und die berechnete Intimabreite sogar vorteilhaft sein kann.

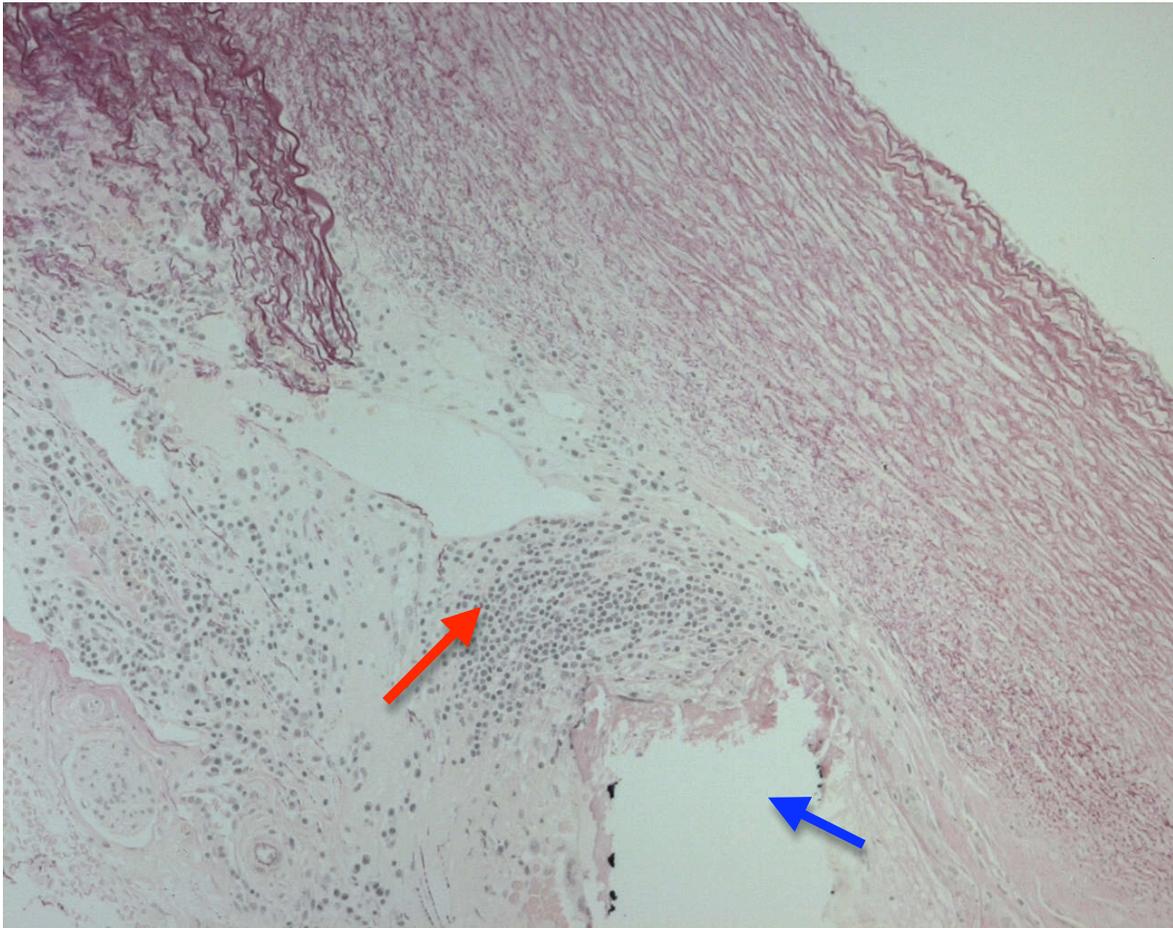
**Tabelle 3: Zusammenfassung der morphometrischen Messmethoden.**

Aus $A_{Gef\ddot{a}\beta}$ wird der Gefäßdurchmesser berechnet.	$Gef\ddot{a}\beta\text{durchmesser} = 2 \times \sqrt{\frac{A_{Gef\ddot{a}\beta}}{\pi}}$
Aus $A_{Lumen}$ kalkuliert man den Lumendurchmesser.	$Lumendurchmesser = 2 \times \sqrt{\frac{A_{Lumen}}{\pi}}$
Aus dem Gefäßdurchmesser und dem Lumendurchmesser lässt sich die Breite der Gefäßwand bestimmen.	$Gef\ddot{a}\beta\text{wandbreite} = \frac{GD - LD}{2}$
Durch den Gefäßdurchmesser, $A_{Lumen}$ und $A_{Intima}$ berechnet man die Mediabreite.	$Mediabreite = \frac{GD - 2 \times \sqrt{\frac{(A_{Lumen} + A_{Intima})}{\pi}}}{2}$
Aus dem Gefäßdurchmesser, dem Lumendurchmesser und der Mediabreite bestimmt man die Intimabreite.	$Intimabreite = \frac{GD - LD - (2 \times MB)}{2}$

### 2. 4. 2. 3. Inflammation Score

- |                      |                                                                                                                                                                                                                                                |
|----------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 1: 0 bis 10 Zellen   | Der Inflammation Score ist eine einfache quantitative Bestimmung von Entzündungszeichen in der Gefäßwand, ohne Berücksichtigung von Zellart (Lymphozyten, Makrophagen, etc.), der in Zusammenarbeit mit Kollegen der Anatomie entworfen wurde. |
| 2: 10 bis 50 Zellen  |                                                                                                                                                                                                                                                |
| 3: 50 bis 250 Zellen |                                                                                                                                                                                                                                                |
| 4: > 250 Zellen      | Die Zellen werden in 3 Abschnitten (12 Uhr, 4 Uhr und 8 Uhr) bei einer 200fachen Vergrößerung gezählt und aus allen 3 Beobachtungen wird der Mittelwert errechnet.                                                                             |

Abbildung 13: Injury Score Grad 4. Resorbierte Stentstrebe (→), Entzündungszellen (→).



## 2. 4. 2. 4. Gunn Score

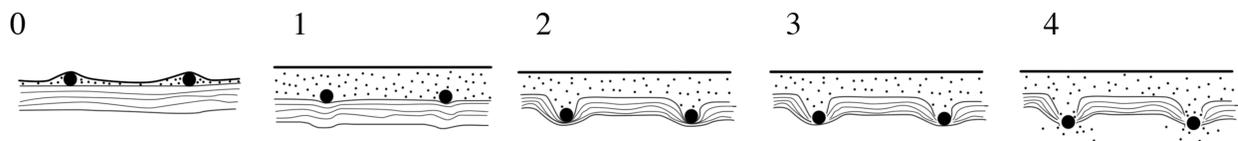
Um die Verletzung des Gewebes durch den Stent qualitativ zu untersuchen, wird der Gunn Score <sup>138</sup> verwendet, ein modifizierter Injury Score als Kombination aus dem Schwartz <sup>139</sup> und dem Waale Score <sup>140</sup>.

Der Schwartz Score beurteilt die Ruptur der Lamina elastica interna und externa.

Durch den Waale Score wird der Eindringswinkel des Struts in die Media evaluiert.

Der Gunn Score vereinigt diese beiden Variablen, es entstehen 5 Grade. Für den Gunn Score eines Präparates werden alle sichtbaren Struts bei einer 50 fachen Vergrößerung nach obigen Kriterien evaluiert und die Werte gemittelt <sup>138</sup>.

Abbildung 14: Gunn Score



- 0: kein Eindringen in die Tunica media.
- 1: Deformation der Lamina elastica interna um  $<45^\circ$
- 2: Deformation der Lamina elastica interna um  $>45^\circ$
- 3: Verletzung der Lamina elastica interna
- 4: Vollständige Penetration der Tunica media

## 2. 4. 2. 5. Late Lumen Loss

Der Late Lumen Loss (LLL) wird definiert als der minimale Lumendiameter (MLD) direkt nach Intervention minus des MLD bei follow-up.

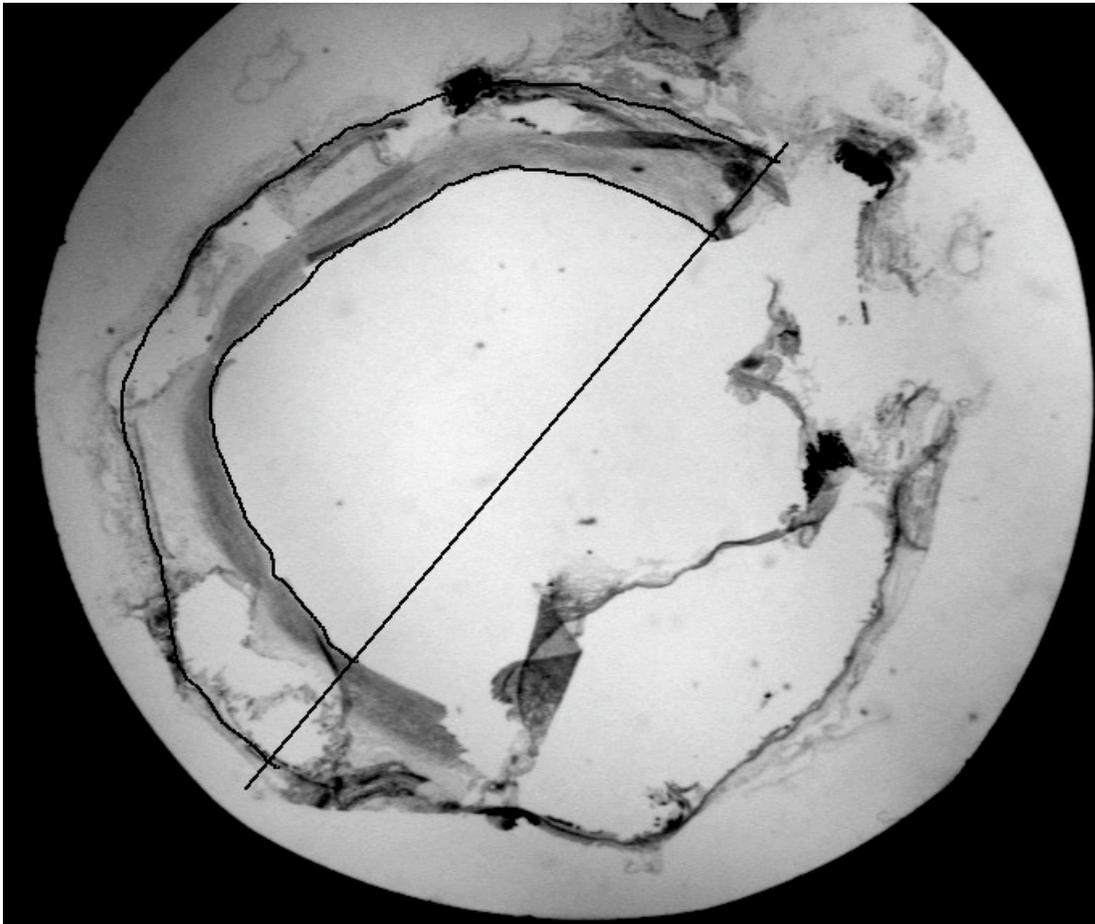
**Formel 5**  $LLL = MLD_{post-OP} - MLD_{follow-up}$

Da alle Stents auf 3mm aufgedehnt werden, wird der LLL nicht verwendet, sondern nur der weitere Verlauf des Lumens zwischen Woche 10 und Woche 26 untersucht.

### 2. 4. 2. 6. Verwendung von beschädigten Präparaten

Bei der histologischen Aufarbeitung kommt es ständig zu Verformungen, aber auch zu Einrissen in der Gefäßwand. Um zerstörte Gefäße dennoch adäquat messen zu können, wurden die betroffenen Gefäße halbiert, in der Fläche vermessen und die Werte entsprechend verdoppelt. Dieser Vorgang betrifft Lumen- und Gefäßdurchmesser, die anderen Parameter wurden mit der üblichen Vorgehensweise ermittelt.

**Abbildung 15:** das Gefäß ist deutlich zerstört, durch die Verwendung der intakten Hälfte ist die weitere Vermessung dennoch möglich.



## **2. 5. Statistische Auswertung:**

Die Auswertung wurde mit dem Statistikprogramm XL-Stat 2009 Version 4.05 der Firma Addinsoft durchgeführt.

Bei nicht-parametrischer Datenverteilung wurde der Kruskal-Wallis-Test und der Mann-Whitney-U-Test zur Bestimmung der Signifikanz der Werte verwendet.

Bei  $p < 0,05$  wird der Unterschied zweier Stichproben als signifikant angenommen. Ist der p-Wert zwischen 0,05 und 0,06 wird der Unterschied als grenzwertig signifikant bewertet und bei p-Werten zwischen 0,06 und 0,1 als Trend.

Für Zusammenhänge zwischen Werten wird die Korrelationsanalyse und das Bland-Altman Verfahren verwendet.

### **2. 5. 1. Vorgehen bei der statistischen Auswertung**

#### **2. 5. 1. 1. Schnittposition 2 und 3**

Die einzelnen Variablen werden auf zeitliche Veränderungen zwischen den beiden Explantationszeiträumen miteinander jeweils für jede Stentgruppe einzeln verglichen.

Die Stentgruppen werden außerdem zu den verschiedenen Variablen jeweils innerhalb der zwei Explantationszeiträume miteinander verglichen, um die qualitativen Unterschiede zwischen den einzelnen Teststents zu untersuchen. Merkmale sind hierbei Lumenveränderung, Intimaproliferation, Entzündungs- und Verletzungszeichen. Die Zink Stents werden zuerst mit dem Referenzstent und dann nocheinmal im Gruppenvergleich untereinander verglichen, um Unterschiede zwischen den einzelnen Teststents genauer darzustellen.

Außerdem wird auch die Korrelation zwischen Inflammation Score und Intimabreite untersucht, um eventuelle Zusammenhänge der beiden Parameter zu beweisen. Wegen der geringen Gruppengrößen wird die Korrelation insgesamt für alle Stents zusammen geprüft, eine Aussage über unterschiedliche Zusammenhänge bei den einzelnen Stents ist insofern nicht möglich.

### **2. 5. 1. 2. Schnittposition 1**

Wie oben beschrieben liegt SP1 außerhalb des Stents und ist somit nicht von der Dilatation und folgender Gefäßverletzung und Entzündungsreaktionen betroffen. Es zeigte sich aber eine vermehrte Intimaproliferation in diesem Bereich, weswegen für diese Schnittposition nur die Intimabreite gemessen wird. Das Lumen wird nicht weiter berücksichtigt, da es zu große interindividuelle Unterschiede zwischen den nativen Gefäßen der verschiedenen Neuseelandkaninchen gibt.

### **3. Ergebnisse**

Bei der Auswertung der histologischen Präparate gibt es drei wesentliche Erkenntnisse:

- Der Referenzstent aus 316L Edelstahl zeigt in allen Bereichen bessere Ergebnisse als die Teststents aus Zink. Das Lumen ist am weitesten und im Verlauf konstant und die Intima am geringsten verbreitert, dementsprechend hat der 316L Stent die geringste Restenosisierung.
- Die Zinkstents haben hohe Inflammation- und Gunn Scores im Vergleich zu den Edelstahlstents.
- Die Stents mit Titanlegierung haben signifikante Intimaproliferationen im Gefäß proximal vom Stent.

Eine detaillierte Aufschlüsselung der Ergebnisse soll im Folgenden dargestellt werden.

### ***3. 1. Vergleich der Variablen innerhalb der einzelnen Stentgruppen***

Es werden die einzelnen Variablen innerhalb der einzelnen Stents im zeitlichen Verlauf verglichen.

#### **3. 1. 1. Ergebnisse des Referenzstents 316L**

Für den Referenzstent aus 316L Edelstahl wurden 59/60 (98,3%) Präparaten verwendet, da ein Präparat bei der Fixierung zu sehr beschädigt wurde.

**Tabelle 4: Anzahl und Verteilung 316L auf die Schnittpositionen (SP)**

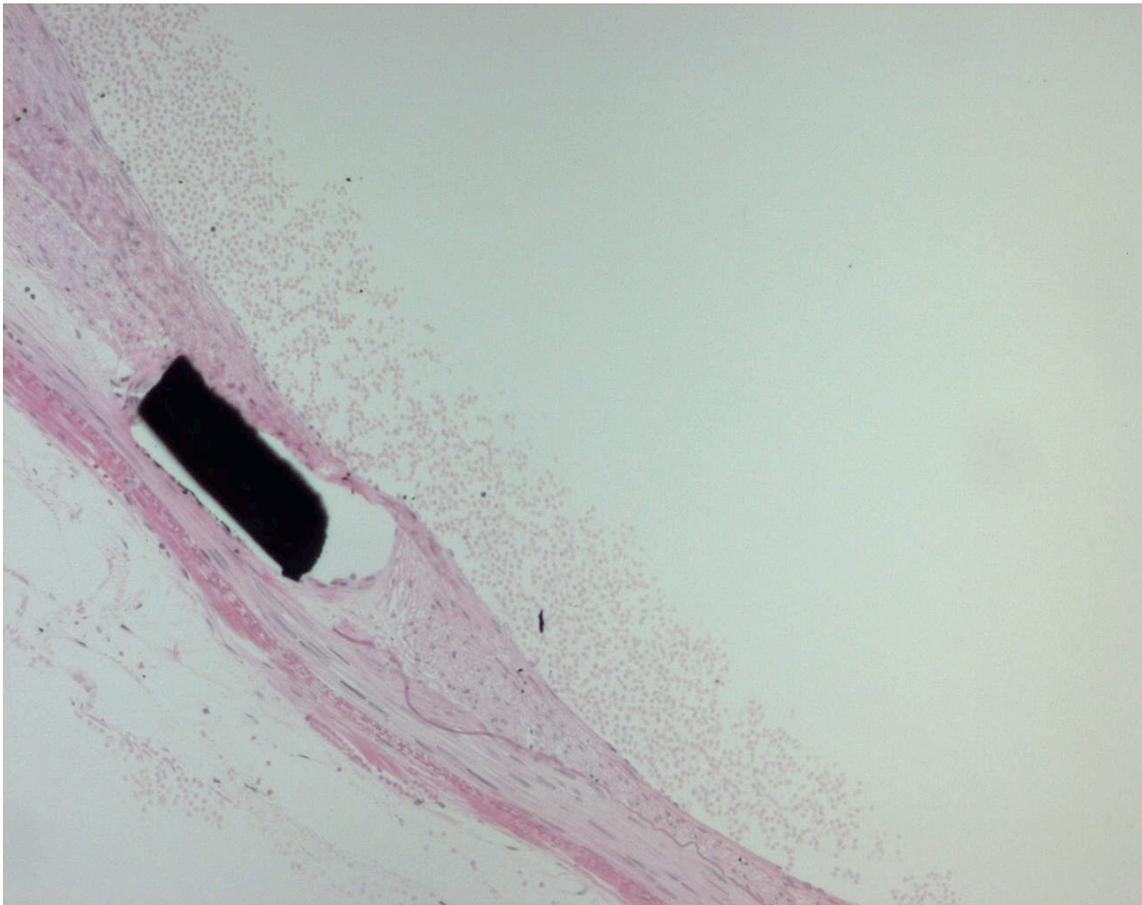
	Gesamt	SP1	SP2	SP3
untersucht/ursprünglich (Woche 10)	24/24	8/8	8/8	8/8
untersucht/ursprünglich (Woche 26)	35/36	12/12	11/12	12/12

Das Gefäßlumen veränderte sich nicht ( $p=0,830$ ), was dazu passt, dass die Intima kaum Zeichen von progredienter Proliferation aufweist ( $p=0,899$ ). Die Entzündungs- und Injury-Scores zeigen ebenfalls im zeitlichen Verlauf keine signifikante Veränderung (IS  $p=0,550$ , GS  $p=0,103$ ), was die Vermutung zulässt, dass der Stent im Verlauf stabil ist und sich nicht auf das Gewebe auswirkt. Die Intimaproliferation außerhalb des Stents ist konstant und nicht progredient ( $p=0,944$ ).

**Tabelle 5: Ergebnisse für den Referenzstent 316L: außer der Media gibt es keine Veränderung der gemessenen Parameter von Woche 10 zu 26.**

	Wochen 10	SD	Woche 26	SD	P =
n=	24/24		35/36		
Lumendurchmesser (mm)	2,606	0,116	2,617	0,175	0,830
Intimabreite (mm)	0,098	0,035	0,104	0,055	0,899
<b>Mediabreite (mm)</b>	<b>0,077</b>	<b>0,070</b>	<b>0,135</b>	<b>0,161</b>	<b>0,030</b>
Inflammation Score	0,33	0,471	0,391	0,457	0,550
Gunn Score	1.016	0,377	1,239	0,496	0,103
Intimabreite außen (mm)	0,017	0,017	0,021	0,018	0,636

**Abbildung 16: SP2 des 316L Edelstahlstents, die Membrana Elastica Interna ist intakt.**



### 3. 1. 2. Ergebnisse Teststent ZINK

Der ZINK-Stent umfasst 51/60 (85%) Präparate, die 9 verworfenen Präparate wiesen zu starke Veränderungen durch den Fixierungsprozess auf und konnten nicht vermessen werden.

**Tabelle 6: Anzahl und Verteilung ZINK auf die Schnittpositionen (SP)**

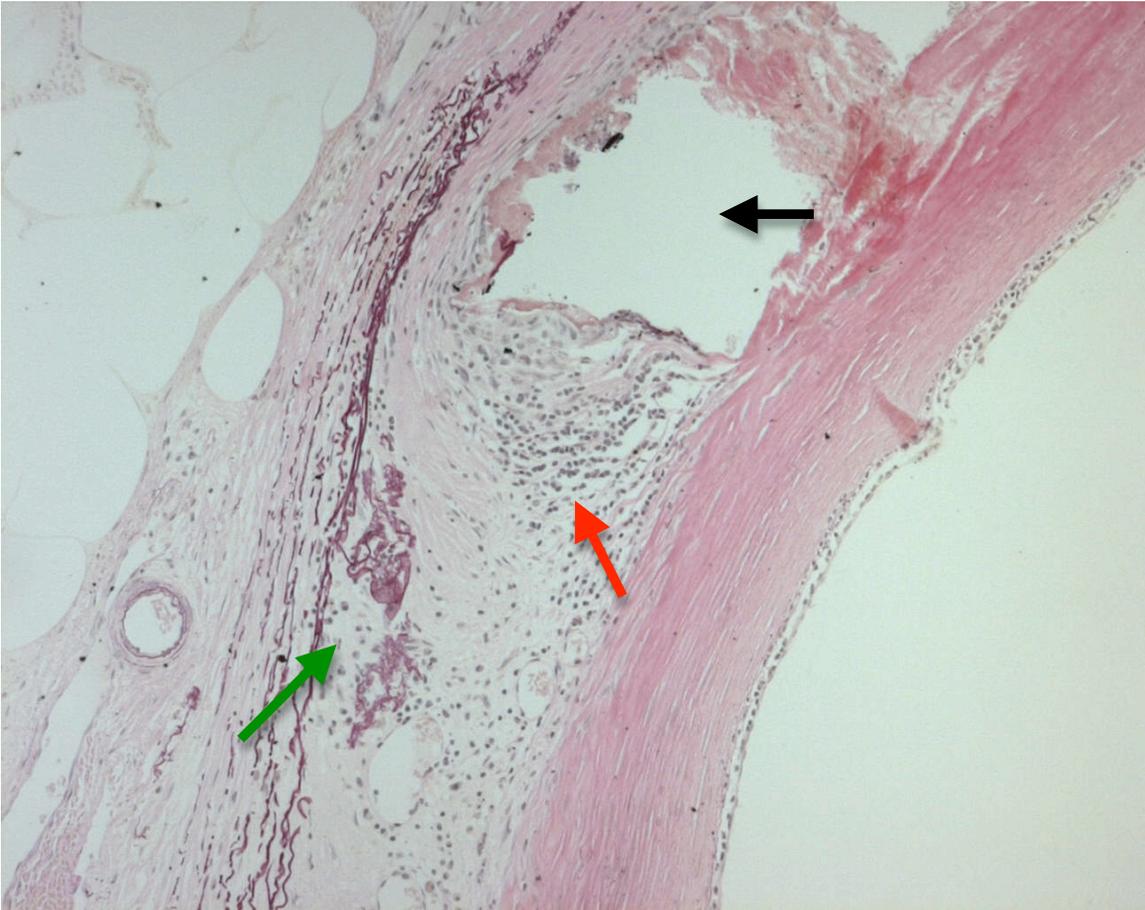
	Gesamt	SP1	SP2	SP3
untersucht/ursprünglich (Woche 10)	23/24	7/8	8/8	8/8
untersucht/ursprünglich (Woche 26)	28/36	10/12	7/12	11/12

Das vaskuläre Lumen der Gefäße mit Zink-Stents zeigt im zeitlichen Verlauf eine signifikante Erweiterung um 14.85% ( $p=0,042$ ), die Intima bleibt dabei konstant, wirkt also nicht gegenläufig zur Gefäßerweiterung ( $p=0,433$ ). Der Gunn Score zeigt im zeitlichen Verlauf eine starke Zunahme ( $p<0,0001$ ), was darauf hindeutet, dass die Struts die Gefäßwand penetrieren. Dabei gibt es allerdings keine Progredienz hinsichtlich Entzündungsprozessen in der Gefäßwand ( $p=0,358$ ), diese bleiben im Verlauf konstant. Auch außerhalb finden sich keine signifikanten Proliferationszeichen im Sinne einer Intimaverbreiterung ( $p=0,877$ ).

**Tabelle 7: Ergebnisse für den ZINK Stent: Das Gefäßlumen nimmt zu und der Gunn Score steigt signifikant.**

	Wochen 10	SD	Woche 26	SD	P =
n=	23/24		28/36		
<b>Lumendurchmesser (mm)</b>	<b>2,148</b>	<b>0,473</b>	<b>2,467</b>	<b>0,296</b>	<b>0,042</b>
Intimabreite (mm)	0,248	0,078	0,271	0,090	0,433
<b>Mediabreite (mm)</b>	<b>0,048</b>	<b>0,015</b>	<b>0,100</b>	<b>0,065</b>	<b>0,006</b>
Inflammation Score	1,958	0,918	1,611	1,133	0,358
<b>Gunn Score</b>	<b>1,067</b>	<b>0,144</b>	<b>1,761</b>	<b>0,717</b>	<b>0,0001</b>
Intimabreite außen (mm)	0,022	0,022	0,042	0,053	0,887

**Abbildung 17: SP2 vom ZINK Stent nach 26 Wochen; der Stentstrut ist resorbiert (→), an der Stentnarbe sind vermehrt Entzündungszellen zu sehen (→), die Membrana Elastica Interna ist teilweise perforiert (→).**



### 3. 1. 3. Ergebnisse Teststent Zna

Wir untersuchten insgesamt 33/44 (75%) Stentschnitte. 9 Präparate waren nicht beurteilbar, weil sie bei der Fixierung zu sehr beschädigt wurden.

**Tabelle 8: Anzahl und Verteilung Zna auf die Schnittpositionen (SP)**

	Gesamt	SP1	SP2	SP3
untersucht/ursprünglich (Woche 10)	20/24	5/8	8/8	7/8
untersucht/ursprünglich (Woche 26)	13/20	6/10	7/10	0/0

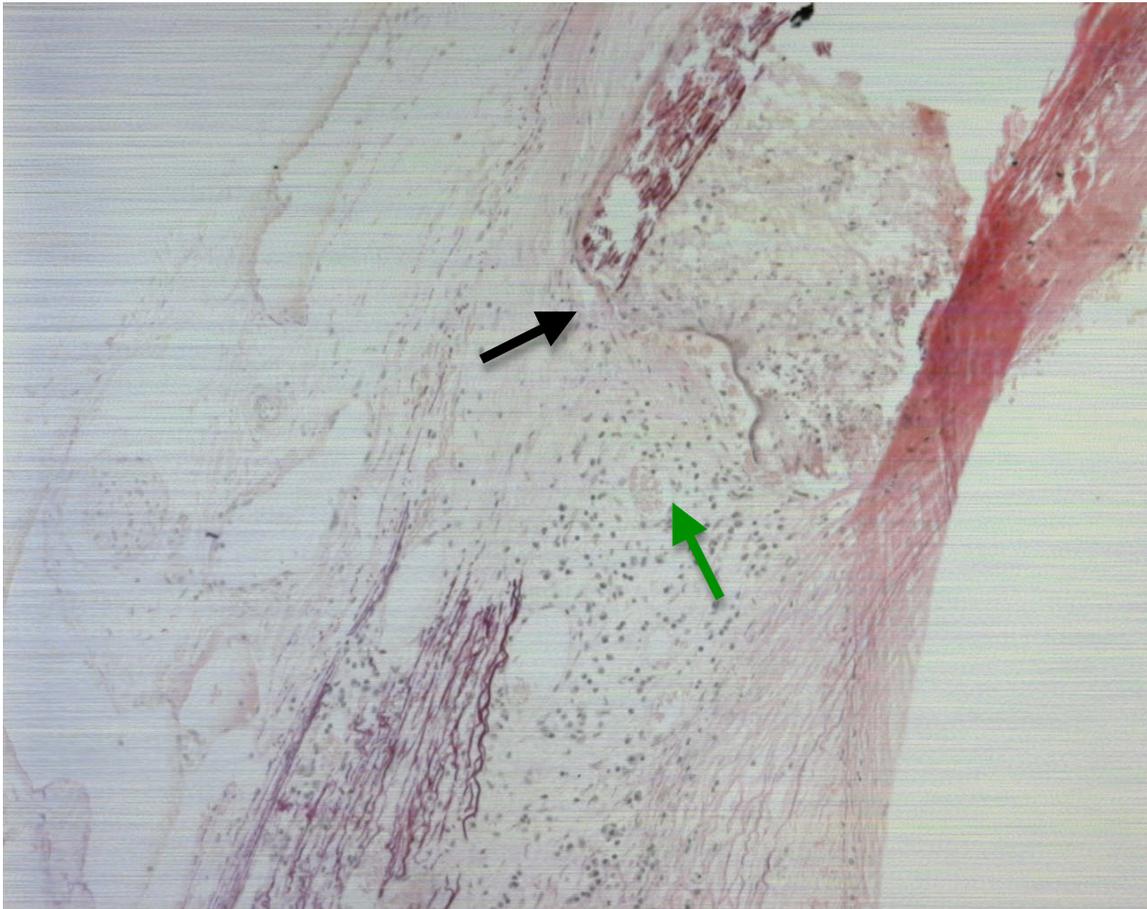
Das Lumen des Stents hat sich grenzwertig signifikant verändert im Sinne einer diskreten Lumenvergrößerung im Vergleich von Woche 10 zu 26 ( $p=0,056$ ). Die Intima, in Woche 10 schon mit kräftiger Proliferation, verändert sich im Verlauf nicht signifikant.

Die Gefäßwand zeigt ebenfalls keine signifikanten Veränderungen zwischen Woche 10 und Woche 26, weder Entzündungs- noch Verletzungszeichen. In Bezug hierzu steht die unveränderte Intimaproliferation im Bereich außerhalb des Stents.

**Tabelle 9: Ergebnisse für den Zna Stent: das Lumen wird größer.**

	Wochen 10	SD	Woche 26	SD	P =
n=	20/24		13/20		
<b>Lumendurchmesser (mm)</b>	<b>2,268</b>	<b>0,343</b>	<b>2,546</b>	<b>0,269</b>	<b>0,056</b>
Intimabreite (mm)	0,328	0,063	0,289	0,048	0,123
Mediabreite (mm)	0,085	0,065	0,068	0,022	0,860
Inflammation Score	1,533	1,139	1,571	1,213	0,844
Gunn Score	1,624	0,651	1,529	0,792	0,855
Intimabreite außen (mm)	0,025	0,036	0,054	0,066	0,342

**Abbildung 18: SP2 vom Zna Stent nach 26 Wochen; die Perforationen von Membrana Elastica Interna und Externa sind deutlich sichtbar (→), um die Perforationsstelle sind vermehrt Entzündungszellen angesiedelt (→).**



### 3. 1. 4. Ergebnisse Teststent ZnTia

Für die ZnTia-Stents gab es 35/40 (87,5%) Präparate. Durch Schäden bei der Fixierung mussten 5 Präparate verworfen werden.

**Tabelle 10: Anzahl und Verteilung ZnTia auf die Schnittpositionen (SP)**

	Gesamt	SP1	SP2	SP3
untersucht/ursprünglich (Woche 10)	16/16	8/8	8/8	0/0
untersucht/ursprünglich (Woche 26)	19/24	10/12	9/12	0/0

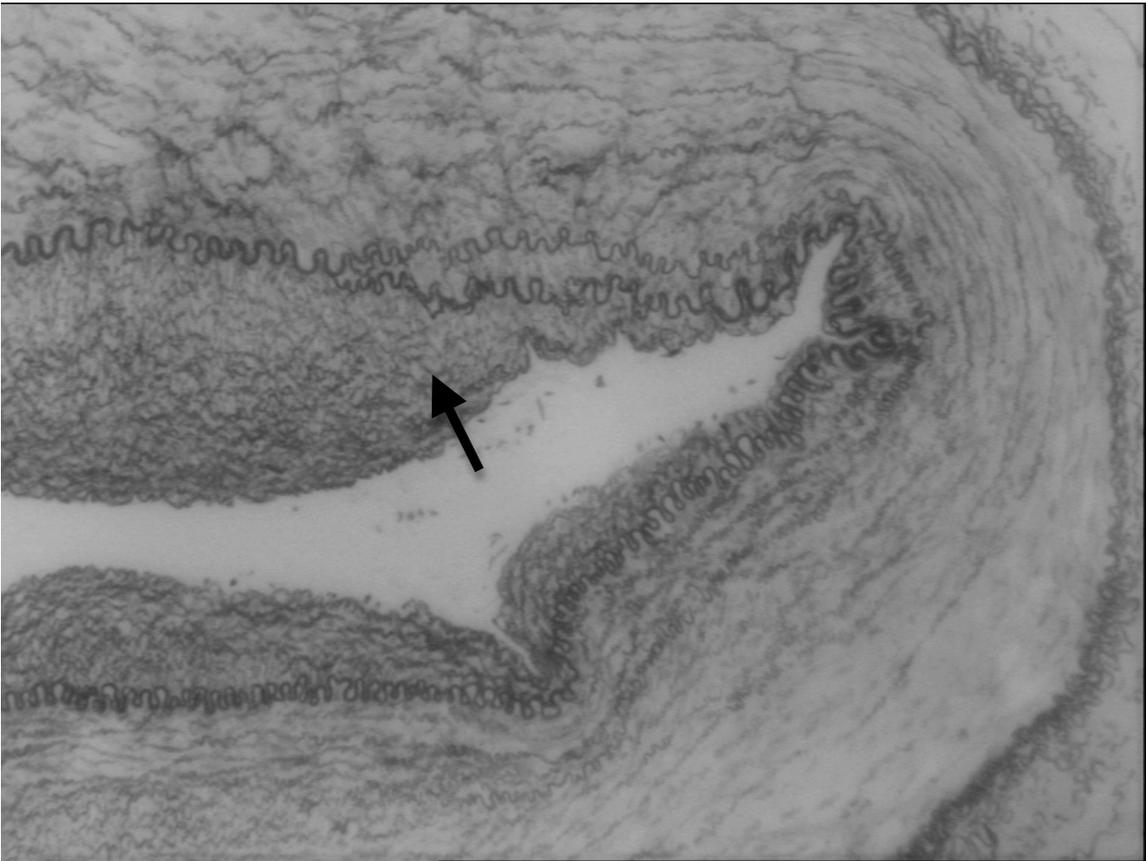
Bei den ZnTia-Stents gibt es keine signifikante Veränderung des Lumens im zeitlichen Verlauf ( $p=0,114$ ) ebenso wie bei der Intima, die zwar leichte Proliferationen aufweist, diese verändern sich jedoch nicht im Verlauf ( $p=0,200$ ). Es gibt allerdings eine stark progrediente Verletzung der Gefäßwand durch die Stentstruts, der Gunn Score nimmt im Verlauf um 50% zu ( $p=0,047$ ), ohne dabei eine verstärkte Inflammation zu bewirken, der Inflammation Score verändert sich nicht signifikant ( $p=0,136$ ).

Außerhalb des Stents bleibt die Intimaproliferation konstant ( $p=0,491$ ).

**Tabelle 11: Ergebnisse für den ZnTia Stent: die Verletzung der Gefäßwand durch die Struts nimmt zu.**

	Wochen 10	SD	Woche 26	SD	P =
n=	16/16		19/24		
Lumendurchmesser (mm)	2,302	0,070	2,416	0,203	0,114
Intimabreite (mm)	0,208	0,058	0,259	0,093	0,200
Mediabreite (mm)	0,038	0,006	0,124	0,171	0,068
Inflammation Score	0,833	0,909	1,519	0,852	0,136
<b>Gunn Score</b>	<b>1,092</b>	<b>0,133</b>	<b>1,467</b>	<b>0,523</b>	<b>0,047</b>
Intimabreite außen (mm)	0,102	0,086	0,070	0,066	0,491

Abbildung 19: SP1 vom ZnTia Stent; die Neointima ist stark ausgeprägt (→).



### 3. 1. 5. Ergebnisse Teststent ZnAuTia

Beim Teststent ZnAuTia wurden 33/36 (91,6%) Präparate untersucht. Schäden bei der histologischen Aufarbeitung sind für den Ausfall der 3 Schnitte verantwortlich.

**Tabelle 12: Anzahl und Verteilung ZnAuTia auf die Schnittpositionen (SP)**

	Gesamt	SP1	SP2	SP3
untersucht/ursprünglich (Woche 10)	12/12	6/6	6/6	0/0
untersucht/ursprünglich (Woche 26)	21/24	12/12	9/12	0/0

Die ZnAuTia-Stents zeigen eine progrediente Vergrößerung des Gefäßes, die im Verlauf des Lumendurchmessers ( $p=0,034$ ) deutlich wird. Dementsprechend gibt es eine zunehmende Komprimierung der initial schon stark proliferierten Intima ( $p=0,003$ ). Die Aufdehnung wird begleitet von einer starken Wanddestruktion im zeitlichen Verlauf, der Gunn Score steigt signifikant um mehr als 30% ( $p=0,023$ ). Dieser destruktive Wandprozess korreliert nicht mit Entzündungsreaktionen; initial ist der Inflammation Score zwar hoch, bleibt im zeitlichen Verlauf allerdings konstant ( $p=0,571$ ).

Stentextern gibt es geringe Intimaproliferationen, die sich aber ebenfalls nicht signifikant verändern (0,626).

**Tabelle 13: Ergebnisse für den ZnAuTia Stent: das Lumen wird größer, die Intima wird komprimiert. Gunn Score und Inflammation Score haben nach 26 Wochen jeweils signifikant höhere Werte.**

	Wochen 10	SD	Woche 26	SD	P =
n=	12/12		21/24		
<b>Lumendurchmesser (mm)</b>	<b>2,255</b>	<b>0,199</b>	<b>2,440</b>	<b>0,273</b>	<b>0,034</b>
<b>Intimabreite (mm)</b>	<b>0,417</b>	<b>0,122</b>	<b>0,263</b>	<b>0,059</b>	<b>0,003</b>
Mediabreite (mm)	0,082	0,070	0,111	0,145	0,776
Inflammation Score	2,0	1,223	2,185	1,029	0,517
<b>Gunn Score</b>	<b>1,207</b>	<b>0,548</b>	<b>1,619</b>	<b>0,454</b>	<b>0,023</b>
Intimabreite außen (mm)	0,043	0,046	0,068	0,074	0,626

Abbildung 20: SP1 vom ZnAuTia Stent nach 26 Wochen; man sieht eine starke Proliferation der Intima (→).



### 3. 1. 6. Ergebnisse Teststent ZnAua

Bei den ZnAua-Stents wurden 30/36 (83,3%) ausgewertet. 6 Präparate sind bei dem Fixierungsprozess beschädigt worden. Details zu der Verteilung sind der folgenden Tabelle zu entnehmen.

**Tabelle 14: Anzahl und Verteilung ZnAua auf die Schnittpositionen (SP)**

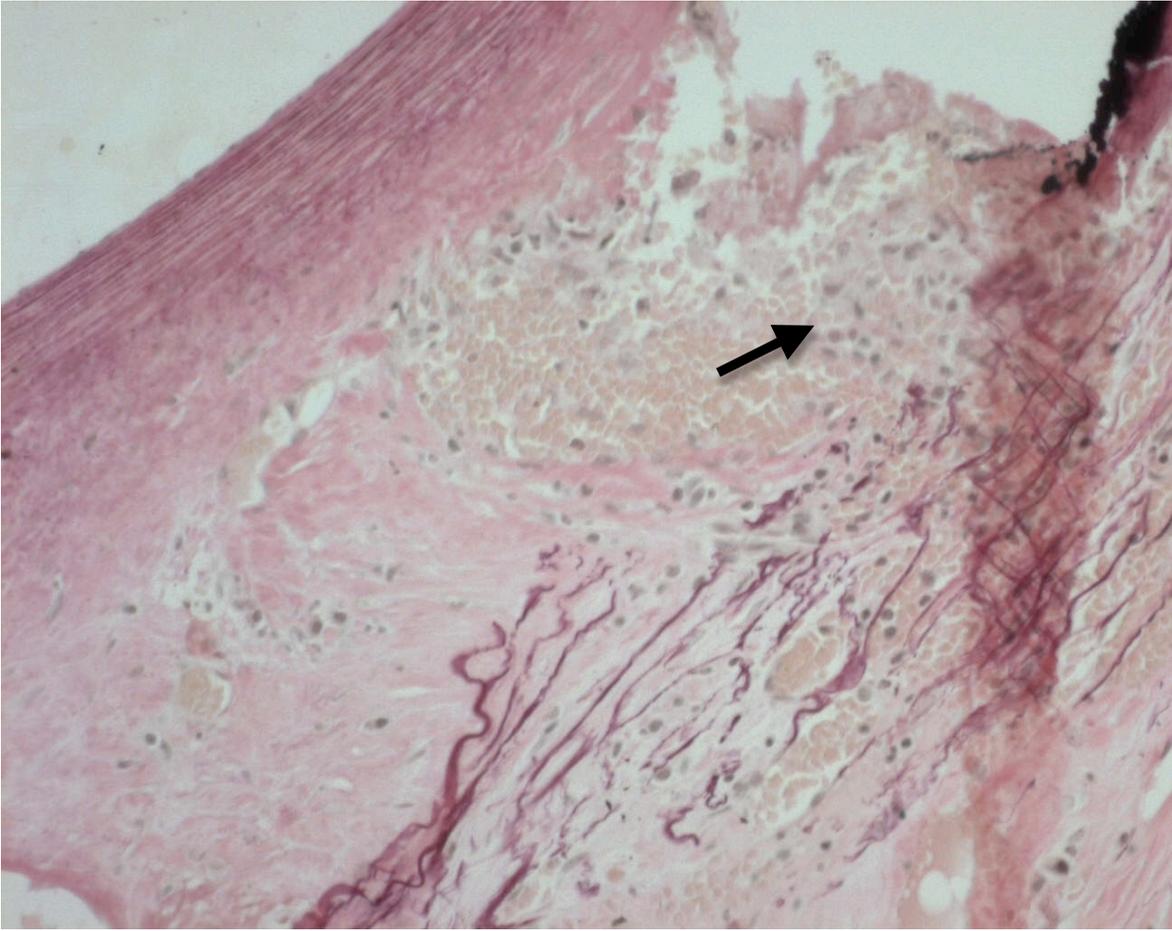
	Gesamt	SP1	SP2	SP3
untersucht/ursprünglich (Woche 10)	11/12	5/6	6/6	0/0
untersucht/ursprünglich (Woche 26)	19/24	8/12	11/12	0/0

Die ZnAua-Stents zeigen keine wesentliche Veränderung des vaskulären Lumens ( $p=0,350$ ), auch die Intima bleibt unverändert ( $p=0,591$ ). Der Gunn Score bleibt konstant, es kommt also nicht zu einer zunehmenden Verletzung der Gefäßwand ( $p=0,130$ ). In den Stents findet man eine leichte entzündliche Aktivität, die nicht signifikant zunimmt ( $p=0,289$ ). Entsprechend gibt es im stentexternen Bereich eine leichte, aber nicht zunehmende Proliferation der Intima ( $p=0,430$ ).

**Tabelle 15: Ergebnisse für den ZnAua Stent: die Werte bleiben konstant.**

	Wochen 10	SD	Woche 26	SD	P =
n=	11/12		19/24		
Lumendurchmesser (mm)	2,126	0,199	2,280	0,257	0,350
Intimabreite (mm)	0,306	0,103	0,303	0,061	0,591
Mediabreite (mm)	0,116	0,092	0,072	0,028	0,482
Inflammation Score	1,278	0,880	1,818	1,089	0,289
Gunn Score	1,211	0,414	1,642	0,634	0,130
Intimabreite außen (mm)	0,054	0,035	0,046	0,074	0,430

Abbildung 21: SP3 vom ZnAua Stent; die Entzündungszellen sind deutlich sichtbar (→).



### ***3. 2. Direktvergleich der Stents untereinander***

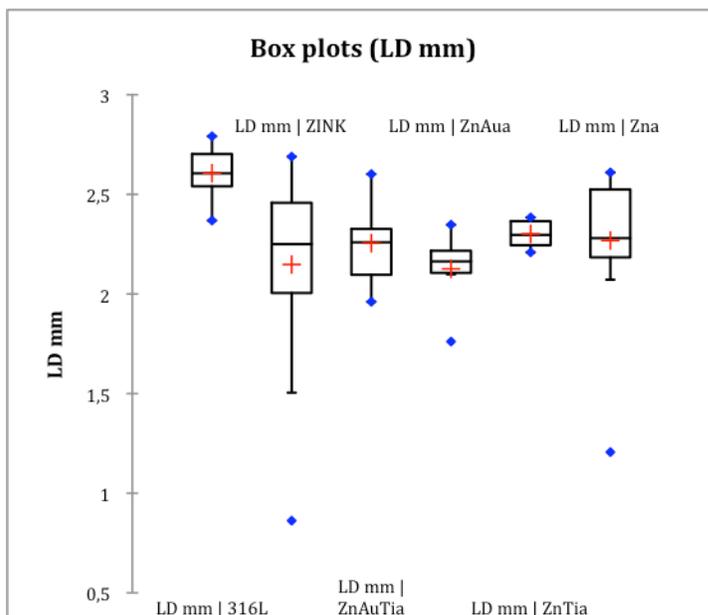
Im direkten Vergleich werden die verschiedenen Stentarten untereinander verglichen. Zuerst werden alle Teststents aus Zink mit dem Referenzstent 316L verglichen, im nächsten Schritt werden die Teststents noch einmal miteinander verglichen, jeweils zuerst in Woche 10, dann in Woche 26.

### 3. 2. 1. Ergebnisse Woche 10

#### 3. 2. 1. 1. Lumendurchmesser

In der unten dargestellten Grafik ist zu sehen, dass der Referenzstent 316L nach 10 Wochen das größte Gefäßlumen hat ( $p < 0,0001$ ), die Teststents haben alle ein etwa 15% kleineres vaskuläres Lumen und zeigen untereinander keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,510$ ).

**Abbildung 22: Lumendurchmesser (LD) in Woche 10,  $p < 0,0001$ , der Referenzstent hat das deutlich größte Lumen, bei den Teststents hat der ZnAua Stent mit 2,126mm das kleinste Lumen.**



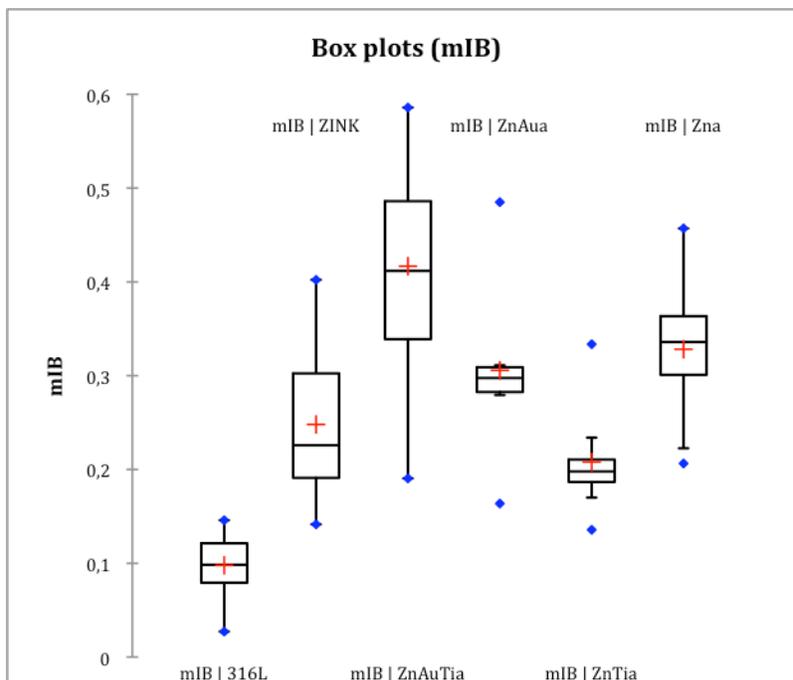
**Tabelle 16: Lumendurchmesser (LD) in Woche 10,  $p < 0,0001$ . Alle Werte in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
LD mm   316L	16	2,369	2,791	2,606	0,116
LD mm   ZINK	16	0,862	2,689	2,148	0,473
LD mm   ZnAuTia	12	1,961	2,602	2,255	0,199
LD mm   ZnAua	6	1,761	2,347	2,126	0,199
LD mm   ZnTia	8	2,209	2,384	2,302	0,070
LD mm   Zna	15	1,206	2,610	2,268	0,343

### 3. 2. 1. 2. Intimabreite

Beim Referenzstent 316L gibt es die geringsten Intimaproliferationen ( $p < 0,0001$ ) im Vergleich zu den Teststents aus Zink. Im Vergleich untereinander zeigen die Zinkstents auch starke Unterschiede ( $p < 0,0001$ ), wobei der ZnAuTi Stent mit 0,417mm die stärksten Proliferationszeichen aufweist und der ZnTi stent am besten abschneidet.

**Abbildung 23: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 10,  $p < 0,0001$ , beim ZnAuTi Stent sieht man eine 0,417mm dicke, starke proliferierte Intima.**



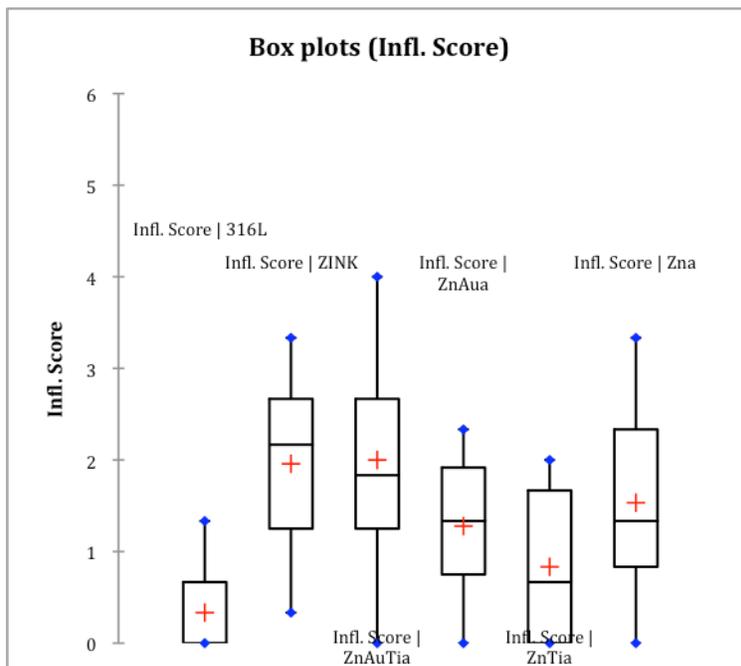
**Tabelle 17: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 10,  $p < 0,0001$ . Alle Werte in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
mIB   316L	16	0,027	0,146	0,098	0,035
mIB   ZINK	16	0,142	0,402	0,248	0,078
mIB   ZnAuTia	12	0,191	0,586	0,417	0,122
mIB   ZnAuA	6	0,164	0,485	0,306	0,103
mIB   ZnTia	8	0,136	0,334	0,208	0,058
mIB   Zna	15	0,206	0,457	0,328	0,063

### 3. 2. 1. 3. Inflammation Score

Der Referenzstent weist signifikant geringere Entzündungswerte auf als die Teststents aus Zink ( $p < 0,0001$ ). Teststentintern gibt keine Unterschiede zwischen den einzelnen Zinkstents ( $p = 0,110$ ).

**Abbildung 24: Inflammation Score in Woche 10,  $p < 0,0001$ , der Referenzstent hat deutlich bessere Entzündungswerte.**



**Tabelle 18: Inflammation Score (IS) in Woche 10,  $p < 0,0001$ .**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
IS   316L	16	0,000	1,333	0,333	0,471
IS   ZINK	16	0,333	3,333	1,958	0,918
IS   ZnAuTia	12	0,000	4,000	2,000	1,223
IS   ZnAuA	6	0,000	2,333	1,278	0,880
IS   ZnTia	8	0,000	2,000	0,833	0,909
IS   Zna	15	0,000	3,333	1,533	1,139

### 3. 2. 1. 4. Gunn Score

Der 316L Edelstahl-Stent weist den niedrigsten Gunn Score auf ( $p=0,020$ ), wobei der ZINK Stent und der ZnTia Stent beinahe ebenbürtig sind. Diese Merkmale vom ZINK Stent und vom ZnTia Stent werden auch im stentinternen Vergleich deutlich, dort weisen die Teststents ZnAuTia, ZnAua und vor allem der Zna Stent signifikant schlechtere De- struktionsparameter auf ( $p=0,049$ ).

Abbildung 25: Gunn Score in Woche 10,  $p=0,020$ , der Zna Stent hat starke Verletzungszeichen.

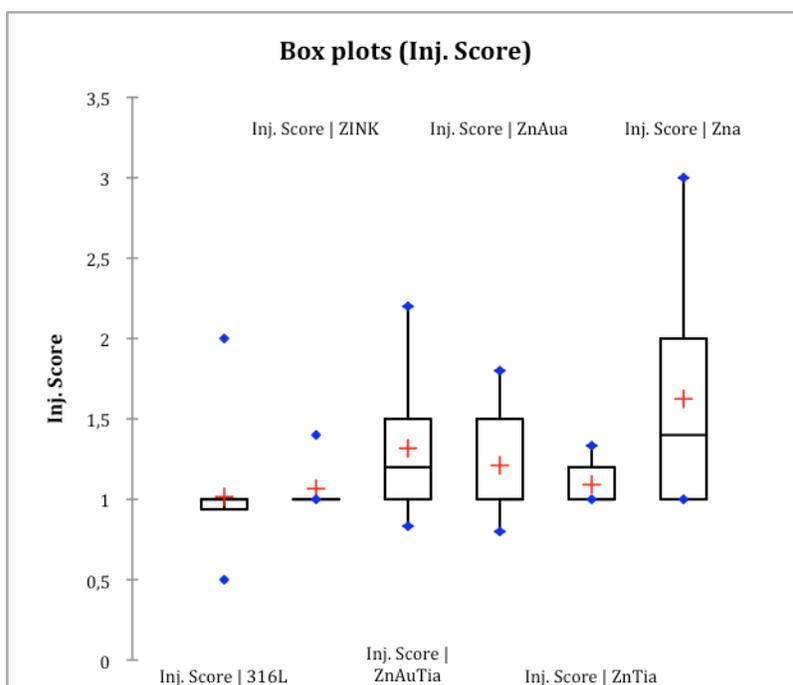


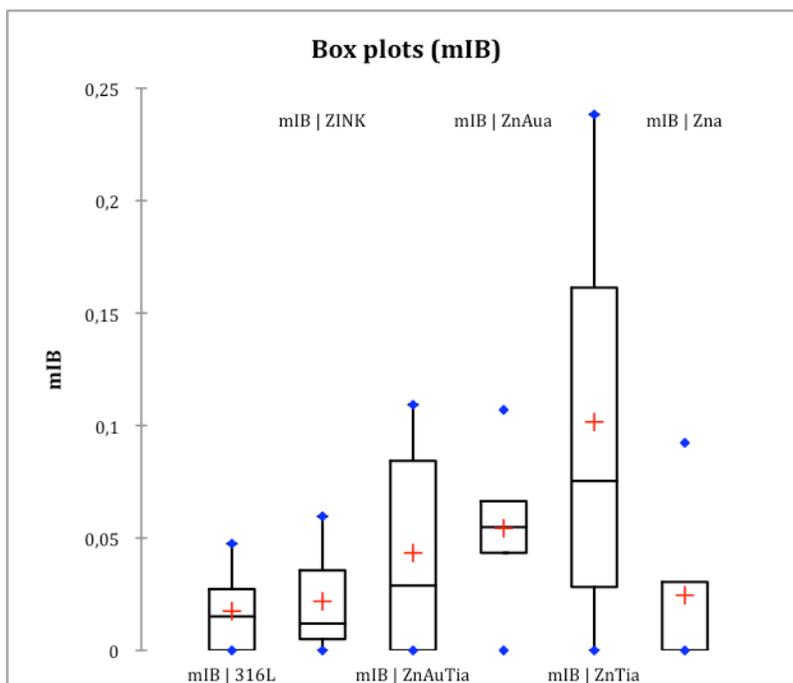
Tabelle 19: Gunn Score (GS) in Woche 10,  $p=0,020$ .

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
GS   316L	16	0,500	2,000	1,016	0,377
GS   ZINK	16	1,000	1,400	1,067	0,144
GS   ZnAuTia	12	0,000	2,200	1,207	0,548
GS   ZnAua	6	0,800	1,800	1,211	0,414
GS   ZnTia	8	1,000	1,333	1,092	0,133
GS   Zna	15	1,000	3,000	1,624	0,651

### 3. 2. 1. 5. Intimabreite stentextern

Zwischen den verschiedenen Stentgruppen gibt es keine Unterschiede hinsichtlich der Intimaproliferation außerhalb des Stents, an SP1 ( $p=0,160$ ). Man könnte eine leichte Veränderung zu Ungunsten des ZnTia Stents feststellen, welche allerdings nicht signifikant ist. Im Vergleich der virtuellen Intimabreite an SP1 in Woche 10 wird dies deutlicher, dort gibt es eine signifikant stärkere Intimaproliferation beim ZnTia Stent im Vergleich zu den anderen Stents ( $p=0,007$ ). Weitere Details zur virtuellen Intimabreite finden sich in Abbildung 36 und Tabelle 28 im Anhang.

**Abbildung 26:** mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 10,  $p=0,160$ , die ZnTia und ZnAuTia Stents zeigen eine starke Intimaproliferation außerhalb des Stents.



**Tabelle 20:** mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 10,  $p=0,160$ , alle Messungen in Millimeter.

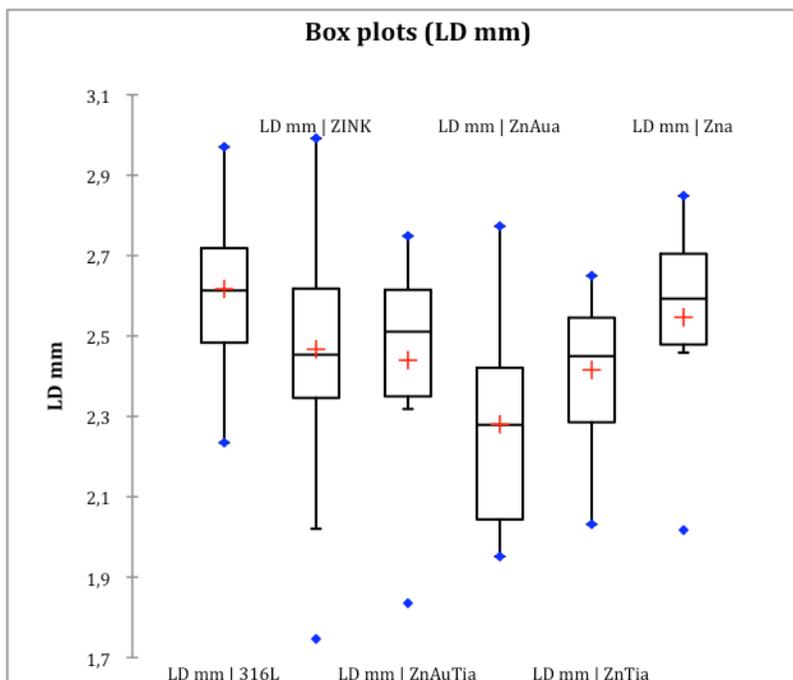
Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
mIB   316L	8	0,000	0,047	0,017	0,018
mIB   ZINK	7	0,000	0,060	0,022	0,022
mIB   ZnAuTia	6	0,000	0,109	0,043	0,050
mIB   ZnAuA	5	0,000	0,107	0,054	0,039
mIB   ZnTia	8	0,000	0,238	0,102	0,092
mIB   Zna	5	0,000	0,092	0,025	0,040

### 3. 2. 2. Ergebnisse Woche 26

#### 3. 2. 2. 1. Lumendurchmesser

Das vaskuläre Lumen ist beim Referenzstent im Vergleich zu den Teststents nach 26 Wochen am größten ( $p=0,011$ ). Untereinander gibt es bei den Teststents keine signifikanten Unterschiede ( $p=0,201$ ).

**Abbildung 27: Lumendurchmesser (LD) in Woche 26,  $p=0,011$ , das Lumen des 316L Stents ist etwas größer als das der Teststents.**



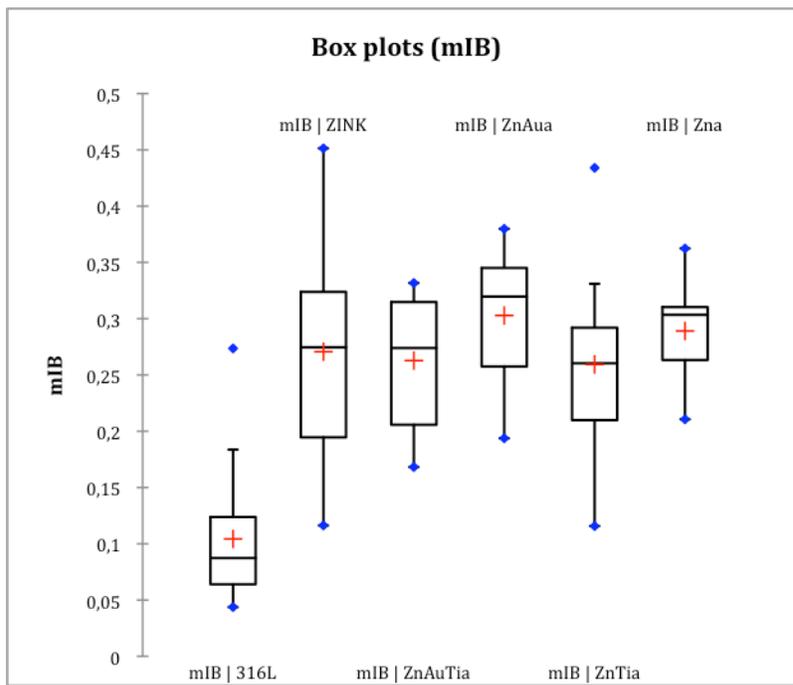
**Tabelle 21: Lumendurchmesser (LD) in Woche 26,  $p=0,011$ , alle Messungen in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
LD mm   316L	23	2,235	2,970	2,617	0,175
LD mm   ZINK	18	1,746	2,992	2,467	0,296
LD mm   ZnAuTia	9	1,835	2,749	2,440	0,273
LD mm   ZnAuA	11	1,951	2,773	2,280	0,257
LD mm   ZnTia	9	2,032	2,650	2,416	0,203
LD mm   Zna	7	2,017	2,849	2,546	0,269

### 3. 2. 2. 2. Intimabreite

Auch in Woche 26 gibt es beim Edelstahlstent die geringste Intimaproliferation ( $p < 0,0001$ ). Die Intimabreite des Referenzstent beträgt weniger als 50% der Intima der Teststents. Untereinander weisen die Teststents keine signifikanten Unterschiede auf ( $p = 0,500$ ).

**Abbildung 28: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 26,  $p < 0,0001$ , die Intimaschichten der Teststents sind alle mehr als doppelt so breit als die des Edelstahl Stents.**



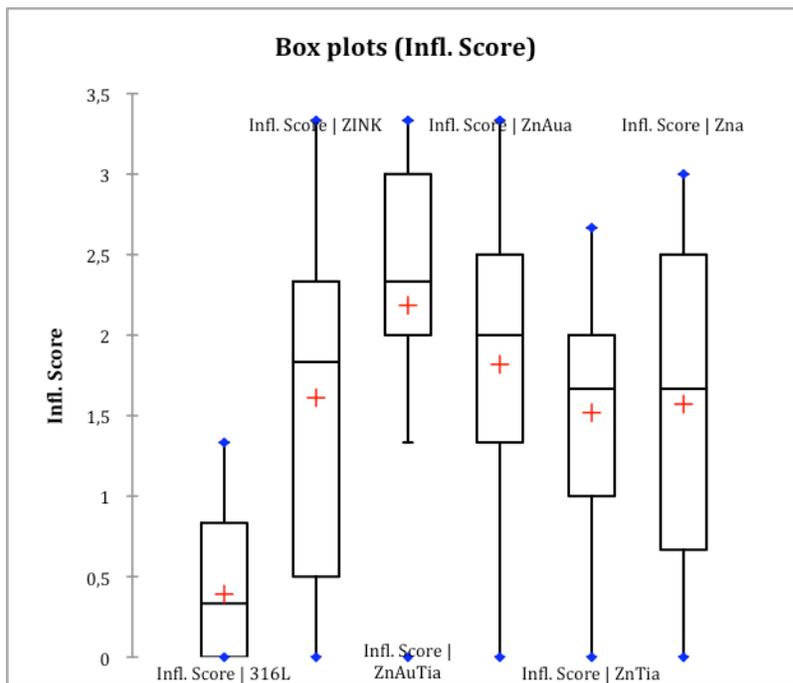
**Tabelle 22: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 26,  $p < 0,0001$ , alle Messungen in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
mIB   316L	23	0,044	0,274	0,104	0,055
mIB   ZINK	18	0,116	0,451	0,271	0,090
mIB   ZnAuTia	9	0,168	0,332	0,263	0,059
mIB   ZnAuA	11	0,194	0,380	0,303	0,061
mIB   ZnTia	9	0,116	0,434	0,259	0,093
mIB   Zna	7	0,211	0,362	0,289	0,048

### 3. 2. 2. 3. Inflammation Score

Die Teststents weisen beim Inflammation Score nach 26 Wochen signifikant höhere Werte auf als der Referenzstent ( $p < 0,0001$ ), doch im Vergleich untereinander gibt es zwischen den Zinkstents keine signifikanten Unterschiede ( $p = 0,577$ ).

**Abbildung 29: Inflammation Score in Woche 26,  $p < 0,0001$ , ZnAuTia und ZnAua haben die höchsten Entzündungswerte. Der Inflammation Score des 316L Stents beträgt weniger als ein Drittel der Vergleichswerte.**



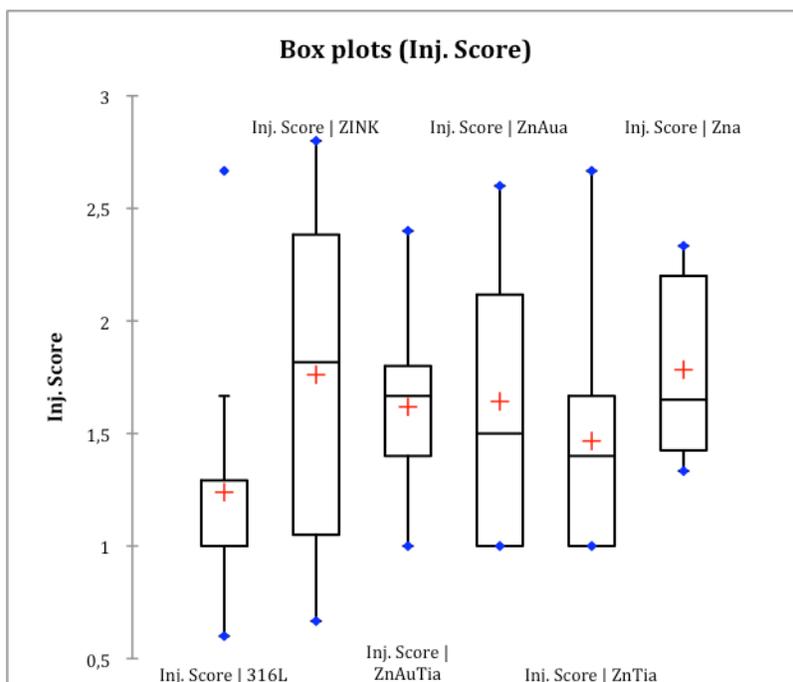
**Tabelle 23: Inflammation Score (IS) in Woche 26,  $p < 0,0001$ .**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
IS   316L	23	0,000	1,333	0,391	0,457
IS   ZINK	18	0,000	3,333	1,611	1,133
IS   ZnAuTia	9	0,000	3,333	2,185	1,029
IS   ZnAua	11	0,000	3,333	1,818	1,089
IS   ZnTia	9	0,000	2,667	1,519	0,852
IS   Zna	7	0,000	3,000	1,571	1,213

### 3. 2. 2. 4. Gunn Score

Im Vergleich der Gefäßwanddestruktion der Stents untereinander in Woche 26 gibt es einen grenzwertig signifikanten Unterschied zu Gunsten des Referenzstents 316L, der den niedrigsten Gunn Score hat ( $p=0,052$ ). Die Zinkstents weisen alle mehr als 50% stärkere Gefäßwandschädigungen auf, unterscheiden sich aber nicht signifikant untereinander ( $p=0,838$ ).

**Abbildung 30: Gunn Score in Woche 26,  $p=0,052$ , bei den ZINK und Zna Stents ist der Gunn Score besonders hoch, beim ZINK Stent ist der Gunn Score im Vergleich zu Woche 10 von 1,067 auf 1,761 stark gestiegen.**



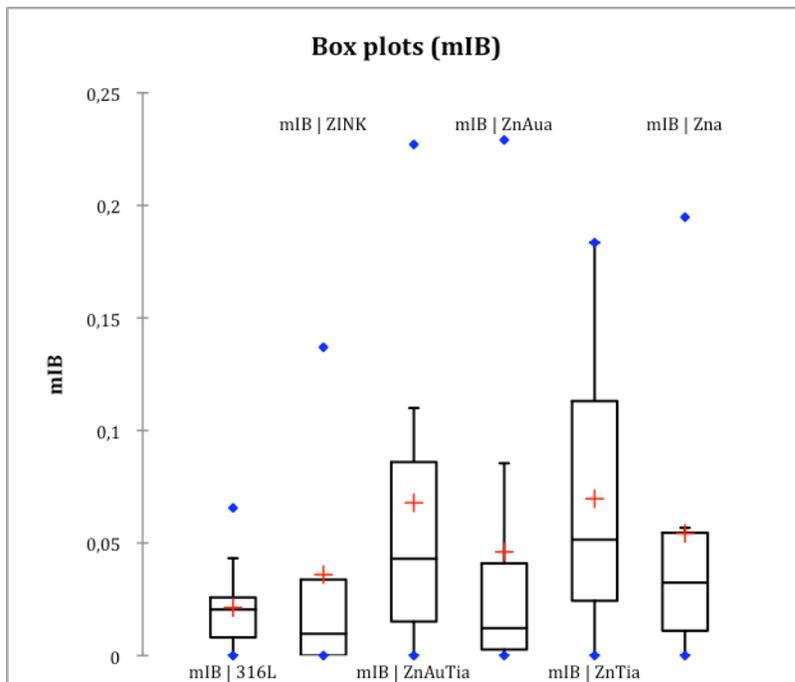
**Tabelle 24: Gunn Score (GS) in Woche 26,  $p=0,052$ .**

Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
GS   316L	23	0,600	2,667	1,239	0,496
GS   ZINK	18	0,667	2,800	1,761	0,717
GS   ZnAuTia	9	1,000	2,400	1,619	0,454
GS   ZnAua	11	1,000	2,600	1,642	0,635
GS   ZnTia	9	1,000	2,667	1,467	0,523
GS   Zna	7	1,333	2,333	1,783	0,455

### 3. 2. 2. 5. Intimabreite stentextern

Stentextern gibt es keine signifikante Unterschiede bei den verschiedenen Stents hinsichtlich der Intimaproliferation ( $p=0,426$ ). Beschreiben kann man eine nicht signifikant stärkere Proliferation von den ZnAuTia und den ZnTia Stents. Diese Beobachtung wird bestätigt durch signifikante Unterschiede bei der virtuellen Intimabreite ( $p=0,046$ ), bei der alle Stentgruppen außer dem Referenzstent und dem ZnAua Stent eine stärkere Proliferation aufweisen. Weitere Details zu den Werten von der virtuellen Intimabreite finden sich in Abbildung 37 und Tabelle 29 im Anhang.

**Abbildung 31: mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 26,  $p=0,426$ , die ZnAuTia und ZnTia Stents haben die breiteste Intima außerhalb des Stentbereichs.**



**Tabelle 25: mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 26,  $p=0,426$ , alle Messungen in Millimeter.**

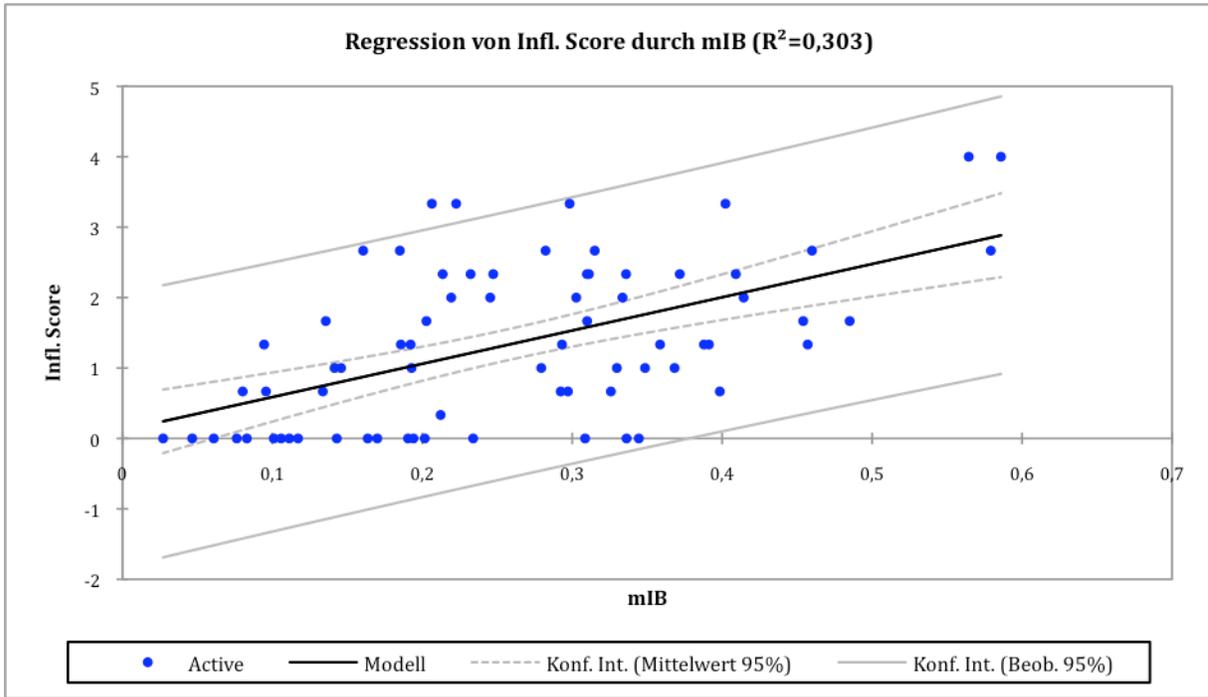
Variable	Beobachtungen	Min.	Max.	Mittelwert	SD
mIB   316L	12	0,000	0,066	0,021	0,019
mIB   ZINK	10	0,000	0,137	0,042	0,053
mIB   ZnAuTia	12	0,000	0,227	0,068	0,077
mIB   ZnAua	8	0,000	0,229	0,046	0,079
mIB   ZnTia	11	0,000	0,183	0,070	0,069
mIB   Zna	6	0,000	0,195	0,054	0,072

### ***3. 3. Korrelationen zwischen Inflammation Score und stentinterner Intimabreite***

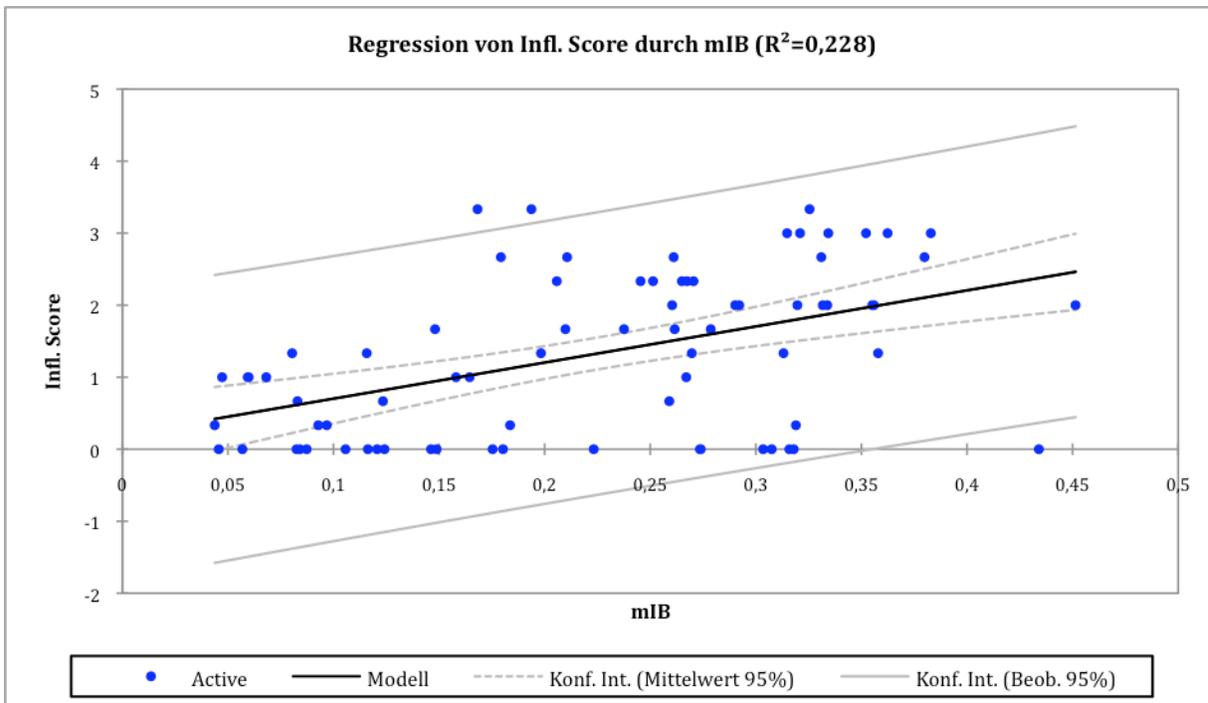
Es finden sich eine positive Korrelation zwischen dem Inflammation Score und der mittleren Intimabreite, wie sie an SP2 und SP3 gemessen wurden.

Diese Korrelation ist auf Grund der geringen Fallzahl kritisch zu betrachten, zeigt jedoch einen Zusammenhang zwischen der Neointimabildung und hohen Entzündungswerten. Die Abbildung 32 und 33 zeigen dickere Intimaschichten bei höheren Entzündungswerten.

**Abbildung 32: Korrelation Inflammation Score und stentinterner mittlerer Intimabreite (mIB) in Woche 10,  $R=0,303$ ; es gibt eine leichte Korrelation zwischen Inflammation Score und der Intimabreite.**



**Abbildung 33: Korrelation Inflammation Score und stentinterner mittlerer Intimabreite (mIB) in Woche 26,  $R=0,228$ ; in Woche 26 ist die Korrelation zwischen Entzündung und Intimabreite nicht mehr so deutlich, aber immer noch zu sehen.**



## 4. Diskussion

Werden Stents zur Therapie atherosklerotischer koronarer Gefäßläsionen implantiert, dann werden in der überwiegenden Zahl der Eingriffe Drug-Eluting Stents (DES) verwendet, da diese in den meisten Indikationen eine niedrigere Rezidivrate im Vergleich zu den technisch weniger aufwendigen Bare-Metal Stents (BMS) aufweisen<sup>78, 141</sup>. Es gibt jedoch Indikationen, für die der Einsatz von BMS nach wie vor empfohlen wird, so zum Beispiel kurze Läsionen großkalibriger Gefäße<sup>81, 142</sup>, bevorstehende non-kardiale chirurgische Eingriffe und damit verbundenes Aussetzen der erforderlichen zweifachen Antikoagulation mit ASS und Clopidogrel<sup>96, 143</sup> oder allergische Reaktionen auf Stentbeschichtungen<sup>96, 144, 145</sup>. Ein weiterer Faktor sind die niedrigeren Produktionskosten von BMS im Vergleich zu DES, welche allerdings teilweise durch niedrigere Reinterventionsraten bei DES relativiert werden<sup>146</sup>.

In der vorliegenden Arbeit wurden die histologischen Reaktionen auf verschiedene BMS im Tiermodell (New Zealand White Rabbit) untersucht. Dabei zeigte sich, dass die getesteten bioresorbierbaren Stents im Vergleich zu nicht resorbierbaren BMS bei allen gemessenen Parametern zu statistisch signifikant schlechteren histologischen Ergebnissen führten.

Im Detail verglichen wir fünf Stents gleicher Architektur aber verschiedener Materialien und Legierungen mit einem Referenzstent aus 316L Edelstahl: ein reiner Zinkstent (ZINK), ein Zink-Stent mit einer 1µm dünnen Außenvergoldung (ZnAu), sowie Zinkstents mit der gleichen 1µm dünnen Außenvergoldung und zusätzlichen Legierungen mit Gold (ZnAuAu) und Titan (ZnAuTi) und Titan (ZnTi).

Zink kann im Körper resorbiert werden, wodurch ein permanentes Verweilen im Gefäß vermieden wird. Das negative Standardpotential lässt den Stent in wässriger Elektrolytlösung gleichmäßig korrodieren<sup>129</sup>. Diese Tatsache sollte langfristig Vorteile bieten gegenüber nicht resorbierbaren Stents<sup>147</sup> wie dem Stent aus 316L Edelstahl, die nach wie vor bei selektierten Indikationen neben DES bei Koronarinterventionen routinemäßig verwendet werden<sup>73</sup>. Zink hat durch sein negatives Standardpotential außerdem gute hypothrombogene Eigenschaften wie bei ähnlich halbleitenden Beschichtungen<sup>122</sup> wie Siliziumcarbid<sup>148, 149</sup>, die bereits erfolgreich klinisch eingesetzt wurden<sup>113</sup>.

Die verschiedenen Degradationsprozesse körperfremder Implantate in Gefäßwänden (chemisch, mechanisch und biologisch)<sup>119, 150</sup> können jedoch zu überschießender Intimaprolife-

ration und Thromboztenauflagerungen bis hin zu Gefäßverschlüssen führen<sup>113</sup>. So lösten beispielsweise im gleichen Tiermodell und unter gleichen Bedingungen implantierte Polyhydroxybutyrat-Stents durch die zu schnelle Resorption eine überschießende Inflammation<sup>113, 114</sup> mit ausgeprägter Intimaproliferation und Thrombosen aus<sup>113</sup>. Zink sollte eine langsamere Resorption und somit weniger fulminante Reaktion induzieren und dadurch schließlich geringere Entzündungsreaktionen verursachen.

Der Korrosionsschutz von Titan<sup>121, 134</sup> fällt wegen der geringen Menge der Legierung nicht ins Gewicht.

ZINK und Zna sind einfache Zinkstents und abgesehen von einer dünnen Außenvergoldung bei Zna identisch. Sie haben keine weiteren Legierungszusätze und sind dadurch theoretisch rigider und spröder im Vergleich zu den anderen Teststents. Sie sollen als Referenz innerhalb der Teststents dienen ohne den zusätzlichen Einfluss der Legierungen.

Die Stents ZnAua, ZnTia und ZnAuTia sollten durch die Legierungen mechanisch stabiler sein als die reinen Zinkstents, insbesondere eine höhere Festigkeit aufweisen und gleichzeitig gut plastisch verformbar sein<sup>134</sup>. Dadurch werden geringere Wandverletzungen erwartet. Ziel der Studie war es, über den gesamten Beobachtungszeitraum von 26 Wochen ein möglichst großes vaskuläres Lumen nach Implantation der Stents zu garantieren und den Verlauf der möglichen Entzündungsreaktion zu untersuchen. Dem entspricht eine gering ausgeprägte Proliferation von Neointima<sup>151</sup>. Diese ist unter anderem abhängig von der Stentarchitektur<sup>152-154</sup>, den mechanischen Eigenschaften, der Aufdehnung des Stents<sup>155</sup> und der Reaktion des umliegenden Gewebes, ausgelöst durch die mechanischen und physikochemischen Eigenschaften der Stents<sup>156, 157</sup>.

Da alle Stents auf 3 mm aufgedehnt wurden, wurde der Late Lumen Loss nicht verwendet, sondern nur der weitere Verlauf des Lumens zwischen Woche 10 und Woche 26 untersucht (die Unterschiede beim Elastic recoil sind vernachlässigbar gering, Tabelle 1).

Ab der 10. Woche wurde bei keinem Stent eine weitere Lumenabnahme beobachtet. Viele Gruppen weisen im Gegenteil sogar eine signifikante bis grenzwertig signifikante Erweiterung des Lumendurchmessers auf (ZINK  $p=0,042$ , ZnAuTia  $p=0,034$ , Zna  $p=0,056$ ).

Dabei blieben die Stents selbst wandadhärent, lösten sich also nicht aus dem erweiterten Lumen heraus. Dieser Prozess wird als positives Remodelling bezeichnet<sup>158, 159</sup> und beschreibt einen relativen Dilatationsprozess des Gefäßlumens, vor allem bedingt durch Ge-

fäßwandproliferation. Aktuelle Studien bringen dieses Phänomen in Zusammenhang mit verstärkter Inflammation, vermehrter Plaque-Bildung und Ruptur mit entsprechend erhöhtem Risiko von Restenosierung und Thrombosen <sup>158,160</sup>.

Die Ursache für das positive Remodelling ist unklar. Möglich wäre eine zunehmende Instabilität des Stents (korrelierend mit der Resorption) und damit verbunden einem zunehmenden Integritätsverlust. Diese Theorie wird bestätigt durch die Beobachtungen am 316L Referenzstent: Nur bei diesem Stent kommt es nicht zu einer Vergrößerung des vaskulären Lumens.

Bei allen Teststents gilt unabhängig von den Legierungen, dass die radialen Struts doppelt so dick sind wie die entsprechenden Struts des Referenzstents (Tabelle 1). Die Studien ISAR-Stereo 1 und 2 zeigten, dass dickere Struts mit stärkerer Restenosierung korrelieren, sowohl klinisch als auch angiographisch <sup>153,154</sup>.

Die Intimaproliferation ist ein wesentlicher Faktor für die Restenosierung des Lumens und wird als Folge von Entzündungs- und Verletzungsreaktionen der Gefäßwand angesehen. <sup>138,161</sup>.

Anders als bei der Intimaproliferation bei den titanfreien Zinkstents liegt der Focus der Proliferation bei den mit Titan legierten Zinkstents eher in dem Abschnitt des Nativgefäßes proximal des Stents, also außerhalb des Devices. Deswegen sollte differenziert werden zwischen stentinterner (intra-Stent) und stentexterner Proliferation. Die wesentlichen Proliferationen im gestenteten Gefäßbereich finden bei allen Zinkstents bis Woche 10 statt. Signifikante Unterschiede gibt es nur im Vergleich zum Referenzstent ( $p < 0.0001$ ), dessen durchschnittliche Intimabreite in beiden Zeiträumen weniger als 50% der Intimabreiten der Zinkstents beträgt (Abbildung 23, Abbildung 28).

Dass die Proliferation bei den Zinkstents sich also nach 10 Wochen nicht verändert, bedeutet, dass der eigentliche Prozess der Intimaproliferation bei den Teststents nur in den ersten 10 Wochen abläuft und danach nicht weiter fortschreitet.

Diese zeitliche Verteilung der Intimaproliferation könnte durch eine initial stärkere Stentresorption erklärt werden, deren Mechanismus zu untersuchen nicht Thema vorliegender Arbeit war.

In früheren Studien wurden Zusammenhänge zwischen dem Degradationsprozess, den dabei anfallenden Abbauprodukten des Stents und lokaler Intimaproliferation beschrieben <sup>115</sup>.

Somit konnte unsere Hypothese nicht belegt werden, dass Zink durch seine hypothrombogenen und antiproliferativen Eigenschaften im Tiermodell Vorteile als resorbierbares Stentmaterial bietet. Beim Abbau von Zink kommt es vielmehr zu stärkerer Restenosierung im Vergleich zum nicht resorbierbaren Referenzstent.

Eine bemerkenswerte Beobachtung ist die stärkere Intimaproliferation im Gefäß proximal des Stents bei den mit Titan legierten Stents (ZnTia und ZnAuTia), jeweils in Woche 10 und Woche 26. Ein möglicher Pathomechanismus könnte die Freisetzung von Metallpartikeln aus dem Stent sein, die in der Umgebung eine erhöhte entzündliche Aktivität und somit auch eine stärkere Intimaproliferation verursachen. Für die Intimaproliferation zeigte sich eine leichte positive Korrelation (Woche 10:  $R^2=0,303$ , Abbildung 32; Woche 26:  $R^2=0,228$ , Abbildung 33) mit dem Inflammation Score, und auch in der Literatur werden Zusammenhänge zwischen Inflammation und Intimaproliferation beschrieben<sup>161</sup>. In verschiedenen Publikationen der Orthopädie wird regelmäßig auf das Phänomen der Nano- oder Mikropartikel hingewiesen. Dort wurde die Beobachtung gemacht, dass die Abbauprodukte von Titanimplantaten in der Umgebung anaphylaktische Reaktionen verursachen<sup>121</sup> und inflammatorisch aktive Enzyme aktivieren oder stimulieren<sup>162, 163</sup>. Die Stärke der inflammatorischen Antwort korreliert dabei mit der Gewebekonzentration des Abbauprodukts<sup>163</sup>. Eine mögliche Theorie wäre, dass bioresorbierbare BMS mehr Metallpartikel freisetzen als dies bei nicht-resorbierbaren BMS der Fall ist. Diese vermehrt anfallenden Nanopartikel könnten eine ähnliche inflammatorische Wirkung entfalten, wie sie in den orthopädischen Publikationen beschrieben wurde<sup>121, 162, 163</sup>. In der Folge käme es dadurch zu zusätzlicher Intimaproliferation auch in unmittelbarer Umgebung der Stents. Die Theorie, dass in unserer Studie, entsprechend den oben beschriebenen Forschungsergebnissen, vor allem der Titananteil bei den Legierungen unserer Stents die wesentliche Ursache von vermehrter Neointimabildung ist, wird möglicherweise durch die Ergebnisse der Intimauntersuchung im Gefäß proximal der Stents gestützt: Die Neointima ist nämlich entsprechend breiter bei den Stents mit Titanlegierung (Abbildung 26, Abbildung 31)

Die Verletzung der Gefäßwand war bei allen Zinkstents grenzwertig signifikant stärker ausgeprägt als beim Edelstahlstent ( $p=0,052$ ), obwohl aufgrund der oben beschriebenen

Legierungen eine bessere mechanische Stabilität erwartet wurde. Die schlechten Ergebnisse könnten durch einen Integritätsverlust der Teststents durch die Resorption verursacht worden sein, ähnlich wie beim positiven Remodelling.

Edelstahlstents sind nicht resorbierbar, behalten also ihre Struktur und führen deswegen zu geringeren Verletzungszeichen.

Lokale Entzündungszeichen sind übliche Phänomene nach Implantation von BMS, ob im Tiermodell oder in klinischen Studien am Menschen <sup>164, 165</sup>. Im Vergleich zum Referenzstent aus Edelstahl haben alle Zinkstents höhere Inflammationsparameter ( $p < 0,0001$ ). Diese Ergebnisse, sowohl für die bioresorbierbaren Stents als auch für den Edelstahlstent, entsprechen früheren Untersuchungsergebnissen <sup>113, 118</sup>. Die Entzündungsreaktion wird dabei mit zu schnellen Degradationsprozessen in Verbindung gebracht <sup>118</sup>.

Der Zinkstent, der hinsichtlich Biokompatibilität ähnliche Eigenschaften <sup>122, 148, 149</sup> wie der Siliziumcarbid-Stent haben sollte, führte zu wesentlich stärker ausgeprägter Inflammation. Damit bestätigt sich diese Überlegung nicht.

Es lässt sich argumentieren, dass der Versuch nur im Tiermodell erfolgte und nicht am Menschen. Nachteilig ist außerdem die geringe Anzahl an Präparaten und die Beschränkung auf Neuseelandkaninchen. Dem ist entgegen zu halten, dass die gleiche Forschungsgruppe in der Vergangenheit Studien an dem gleichen Tiermodell unter identischen Bedingungen durchgeführt hat <sup>113</sup>, deren Ergebnisse am Menschen reproduziert werden konnten <sup>166</sup>.

Zusammenfassend haben alle Teststents schlechter abgeschnitten als der Referenzstent aus 316L Edelstahl.

Als Ursache für das Versagen der Stents ist die starke inflammatorische Antwort, die schwache mechanische Integrität und die mit diesen Faktoren verbundene Intimaproliferation anzusehen.

Beim Lumen war die Restenosierung bei allen Zinkstents stärker, das heißt die Lumina waren kleiner als beim Referenzstent.

Deutliche Intimaproliferationen fanden sich entsprechend der Restenosierung bei allen Teststents, jedoch besonders stark bei den Stents mit Titanlegierung, entgegen den Erwartungen, dass die Gefäßwand durch diese Legierung weniger gereizt wird.

Die Verletzung der Gefäßwand durch die Stentstruts sollte bei den mit Titan und Gold legierten Stents weniger stark ausfallen als bei den anderen Teststents, zeigte jedoch keine Unterschiede.

Bei allen Teststents gab es eine vermehrte inflammatorische Aktivität.

Als wichtigstes Fazit der Untersuchung ist festzuhalten, dass auf Titanlegierung in biore-sorbierbaren Stents verzichtet werden sollte, wegen der erhöhten Induktion von inflammatorischen Prozessen, was bereits in anderen Bereich wie der Orthopädie beschrieben wurde.

Desweiteren ist es wichtig, gleiche technische Voraussetzungen bei den verschiedenen Stents zu schaffen, denn die teilweise unterschiedlichen Strutstärken können sich auf die Ergebnisse auswirken.

Zuletzt wird empfohlen, die Resorptionszeit der Zinkstents zu verlängern, um den Reiz auf die Gefäßwand durch anfallende Abbauprodukte des Stents und die Reaktion des Immunsystems darauf möglichst gering zu halten.

## **5. Zusammenfassung**

### ***5.1. Deutsche Zusammenfassung***

Diese Studie untersuchte die Biokompatibilität von Zink als mögliches Material für bioresorbierbare Stents im Vergleich zu Referenzstents aus 316L medizinischem Edelstahl.

94 Zinkstents (2 Stents ohne Legierung, 3 Stents mit Titan- und/oder Goldlegierung) bei ansonsten gleicher Architektur wurden in die Iliakalgefäße von 47 weißen Neuseeland-Kaninchen implantiert und mit 316L Edelstahlstents gleicher Architektur als Referenz verglichen. Die Stents wurden nach 10 und 26 Wochen entnommen und histologisch auf Lumenveränderung (Planimetrie), Intimaproliferation (Intimabreite), Gefäßwandverletzung (Gunn Score) und -entzündung (Inflammation Score) untersucht.

Der Vergleich der einzelnen gemessenen Parameter gibt Aufschluss über proliferative, entzündliche und mechanische Vorgänge beim biologischen Abbau der Stents sowie über Vor- und Nachteile der einzelnen Legierungen.

Beim Vergleich der Teststents untereinander zeigte sich eine stärkere Intimabildung bei den Zinkstents mit Titanlegierung außerhalb des gestenteten Bereichs.

Keiner der untersuchten Zinkstents zeigte Vorteile gegenüber dem 316L Edelstahlstent bezüglich der Gewebeveränderung über einen Zeitraum von 26 Wochen nach Implantation.

Somit ist der Einsatz der Zinkstents aus dieser Studie in der gegenwärtigen Form im Menschen nicht angezeigt.

## ***5. 2. English Summary***

The aim of the study was to analyse the biocompatibility of zinc as a potential material for biodegradable stents compared to 316L stainless steel stents.

94 zinc stents of the same architecture coated with different alloys (2 bare stents, 3 stents with gold and/or titanium alloy) were implanted into the iliac arteries of 47 New Zealand White rabbits and compared to a 316L stainless steel stent of the same architecture as reference. After 10 and 26 weeks, the rabbits were euthanized, the vessel segments fixated in formalin, cut into slices and histologically analyzed for restenosis (planimetry), inflammation (inflammation score), vascular destruction (Gunn Score) and neointima formation (intima thickness).

The comparison of these parameters serves to determine the proliferative, inflammatory and mechanic processes during the degradation of the stents and thus the advantages and disadvantages of the different alloys.

All titanium-coated stents revealed significant intima thickening in the vessel proximal to the stent.

None of the zinc-based stents exhibited any advantage compared to the 316L stent regarding the vascular healing processes for a period of 26 weeks after deployment.

Hence, the use of zinc stents as investigated in this study is not recommended for use in humans.

## 6. Literatur

1. Todesursachen. *Statistisches Bundesamt Deutschland*, 2009.
2. Ornish D, Scherwitz LW, Billings JH, et al. Intensive lifestyle changes for reversal of coronary heart disease. *J Am Med Assoc*. 1998;280:2001-2007.
3. Ornish D. Avoiding revascularization with lifestyle changes: The Multicenter Lifestyle Demonstration Project. *Am J Cardiol*. 1998;82:72T-76T.
4. O'Connor G, Buring J, Yussuf S. An overview of randomized trials of rehabilitation with exercise after myocardial infarction. *Circulation*. 1989;80:234-244.
5. Chrysant SG. Stopping the cardiovascular disease continuum: Focus on prevention. *World J Cardiol*. 2010;2:43-49.
6. Rossouw J, Lewis B, Riefkind B. The value of lowering cholesterol after myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1990;323:1112-1119.
7. The Lipid Research Clinics Program. The lipid research clinics coronary primary prevention trial results. II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *J Am Med Assoc*. 1984;251:365-374.
8. Rose G, Shipley M. Plasma cholesterol concentration and death from coronary heart disease. *Br Heart J*. 1986;293:306-308.
9. Britton KA, Gaziano JM, Sesso HD, et al. Relation of alcohol consumption and coronary heart disease in hypertensive male physicians. *Am J Cardiol*. 2009;104:932-935.

10. Hu FB. Diet and lifestyle influences on risk of coronary heart disease. *Curr Atheroscler Rep.* 2009;11:257-263.
11. Lobstein J. *Traite d'anatomie pathologique.* Vol 2. Paris; 1829.
12. Virchow R. Über die parenchymatöse Entzündung. *Arch Path Anat.* 1852;4:261.
13. Keys A. Human atherosclerosis and diet. *Circulation.* 1952;5:515.
14. Doerr W. Morphologische Untersuchungen zur Entstehung der Aortensklerose. *Dtsch Med Wschr.* 1960;85:1401.
15. Rokitansky C. *Über eine der wichtigsten Krankheiten der Arterien.* KK Hof- und Staatsdruckerei, Wien: KK Hof- und Staatsdruckerei; 1852.
16. Aschoff L. Arteriosklerose. *Med Klin.* 1914;Beiheft 1:1.
17. Anitschkow N. Über die Atherosklerose der Aorta beim Kaninchen und über deren Entstehungsbedingungen. *Beitr Path Anat.* 1914;53.
18. Biermann L, Ross R. Aging and atherosclerosis. *Atherosclerosis Rev.* 1977;2:79-85.
19. Hueck W. Über das Mesenchym: Die Bedeutung seiner Entwicklung und seines Baues für die Pathologie. *Beitr Path Anat.* 1920;66:330.
20. Hauss W, Junge-Hülsing G. Über die universelle unspezifische Mesenchymreaktion. *Dtsch Med Wschr.* 1961;86:763.
21. Hauss W, Junge-Hülsing G. Veränderungen des Bindegewebsstoffwechsels durch toxische, infektiöse und allergische Einflüsse. *Z Rheumaforsch.* 1961;20:101.

22. Duguid J. Thrombosis as a factor of pathogenesis of coronary atherosclerosis. *J Pathol Bacteriol.* 1948;58:207-211.
23. Ross R, Glomset J, Kariya B, et al. A platelet-dependent serum factor that stimulates the proliferation of arterial smooth muscle cells in vitro. *Proc Natl Acad Sci.* 1976;71:1207-1211.
24. Munro J, Cotran R. The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation. *Lab Invest.* 1988;58:249-261.
25. Ross R, Glomset J, Harker L. Response to injury and atherogenesis. *Am J Pathol.* 1977;86:675-684.
26. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2001;104:2673-2678.
27. Aoki R, Ikarugi H, Naemura A, et al. Endothelial dysfunction precedes atherosclerotic lesions and platelet activation in high fat diet induced prothrombotic state. *Thromb Res.* 2006;117:529-535.
28. Javanmard SH, Nematbakhsh M, Mahmoudi F, et al. L-Arginine supplementation enhances eNOS expression in experimental model of hypercholesterolemic rabbits aorta. *Pathophysiology.* 2009;16:9-13.
29. Perticone F, Sciacqua A, Maio R, et al. Endothelial dysfunction, ADMA and insulin resistance in essential hypertension. *Int J Cardiol.* 2009;142:236-241.
30. Vasa M, Fichtlscherer S, Aicher A, et al. Number and migratory activity of circulating endothelial progenitor cells inversely correlate with risk factors for coronary artery disease. *Circ Res.* 2001;89:e1-7.

31. Duckers HJ, Silber S, de Winter R, et al. Circulating endothelial progenitor cells predict angiographic and intravascular ultrasound outcome following percutaneous coronary interventions in the HEALING-II trial: evaluation of an endothelial progenitor cell capturing stent. *EuroIntervention*. 2007;3:67-75.
32. Maass M, Gieffers J, Solbach W. Atherogenetically relevant cells support continuous growth of *Chlamydia pneumoniae*. *Herz*. 2000;25:68-72.
33. Maass M. Persistence of *Chlamydia pneumoniae* in human arteriosclerotic plaque substance. Evidence and consequences. *Herz*. 1998;23:178-184.
34. Ramirez JA. Isolation of *Chlamydia pneumoniae* from the coronary artery of a patient with coronary atherosclerosis. The *Chlamydia pneumoniae/Atherosclerosis* Study Group. *Ann Intern Med*. 1996;125:979-982.
35. Högdahl M, Söderlund G, Kihlström E. Expression of chemokines and adhesion molecules in human coronary artery endothelial cells infected with *Chlamydia pneumoniae*. *APMIS*. 2008;116:1082-1088.
36. Joensen JB, Juul S, Henneberg E, et al. Can long-term antibiotic treatment prevent progression of peripheral arterial occlusive disease? A large, randomized, double-blinded, placebo-controlled trial. *Artherosclerosis*. 2008;196:937-942.
37. Stoyanova E, Tesch A, Armstrong V, et al. Enzymatically degraded low density lipoproteins are more potent inducers of egr-1 mRNA than oxidized or native low density lipoproteins. *Clin Biochem*. 2001;34:483-490.
38. Bhakdi S, Torzewski M, Klouche M, et al. Complement and atherogenesis: binding of CRP to degraded, nonoxidized LDL enhances complement activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19:2348-2354.

39. Torzewski M, Klouche M, Hock J, et al. Immunohistochemical demonstration of enzymatically modified human LDL and its colocalization with the terminal complement complex in the early atherosclerotic lesion. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:369-378.
40. Dotter C, Judkins M. Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: Description of a new technique and a preliminary report of its application. *Circulation.* 1964;30:654-670.
41. Grüntzig AR, Senning A, Siegenthaler WE. Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med.* 1979;301:61-68.
42. Palmaz JC, Sibbitt RR, Reuter SR, et al. Expandable intraluminal graft: a preliminary study. Work in progress. *Radiology.* 1985;156:73-77.
43. Schatz RA, Palmaz JC, Tio F, et al. Balloon expandable intracoronary stent in the adult dog. *Circulation.* 1987;76:450-457.
44. Sigwart U, Puel J, Mirkovith V, et al. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med.* 1987;317:701-706.
45. Meier B. Stenting, quite a legacy of Charles, Charles, and Arthur. *Cathet Cardiovasc Intervent.* 1998;45:223-234.
46. Ring ME. How a dentist's name became a synonym for a life-saving device: the story of Dr. Charles Stent. *J Hist Dent.* 2001;49:77-80.
47. Kimura T, Abe K, Shizuta S, et al. Long-term clinical and angiographic follow-up after coronary stent placement in native coronary arteries. *Circulation.* 2002;105:2986-2991.

48. Colombo A, Hall P, Nakamura A, et al. Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance. *Circulation*. 1995;91:1676-1688.
49. Foley J, Brown R, Penn I. Thrombosis and restenosis after stenting in failed angioplasty: comparison with elective stenting. *Am Heart J*. 1994;128:12-20.
50. Goldberg S, Colombo A, Nakamura S, et al. Benefit of intracoronary ultrasound in the deployment of Palmaz-Schatz stents. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24:996-1003.
51. Mak K, Belli G, Ellis S, et al. Subacute stent thrombosis: evolving issues and current concepts. *J Am Coll Cardiol*. 1996;27:494-503.
52. Cutlip DE, Baim DS, Ho KK, et al. Stent thrombosis in the modern era: a pooled analysis of multicenter coronary stent clinical trials. *Circulation*. 2001;103:1967-1971.
53. Serruys P, de Jaegere P, Kiemeneij F, et al. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1994;331:489-495.
54. Fischman D, Leon M, Baim D, et al. A randomized comparison of coronary stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. The STRESS Trial. *N Engl J Med*. 1994;331:496-501.
55. Hall P, Colombo A, Almagor Y, et al. Preliminary experience with intravascular ultrasound guided Palmaz-Schatz coronary stenting: the acute and short-term results on a consecutive series of patients. *J Interv Cardiol*. 1994;7:141-159.

56. Goods C, Arthur A, Liu M, et al. Intracoronary stenting using slotted tubular stents without intravascular ultrasound and anticoagulation. *Cathet Cardiovasc Diagn.* 1996;39:341-345.
57. Pham SV, Pham PC, Pham PM, et al. Antithrombotic strategies in patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute coronary syndrome. *Drug Des Devel Ther.* 2010;4:203-220.
58. Brown DL, George CJ, Steenkiste AR, et al. High-speed rotational atherectomy of human coronary stenoses: acute and one-year outcomes from the New Approaches to Coronary Intervention (NACI) registry. *Am J Cardiol.* 1997;80:60K-67K.
59. Bossi I, Klersy C, Black A, et al. Improved angiographic results following excimer laser debulking for in-stent restenosis are not associated with improved clinical outcome. *Am J Cardiol.* 1999;84:88P.
60. Koster R, Hamm CW, Terres W, et al. Akutergebnisse der Ablation koronarer In-Stent-Restenosen mit exzentrischen Excimer-Laserkathetern. *Z Kardiol.* 1998;87:537-544.
61. Chevalier B, Royer T, Guyon P, et al. Treatment of in-stent restenosis: short and mid-term results of a pilot randomized study between balloon and cutting balloon. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33(Suppl A):62A.
62. Gambhir DS, Singh S, Sinha SC, et al. High speed rotablation to treat in-stent restenosis in both branches of a coronary bifurcation stenosis. *Indian Heart J.* 1997;49:311-312.
63. Dahm JB, Dörr M, Scholz E, et al. Cutting-balloon angioplasty effectively facilitates the interventional procedure and leads to a low rate of recurrent stenosis in

ostial bifurcation coronary lesions: A subgroup analysis of the NICECUT multicenter registry. *Int J Cardiol.* 2008;124:345-350.

64. Muramatsu T, Tukahara R, Ho M, et al. Efficacy of cutting balloon angioplasty for lesions at the ostium of the coronary arteries. *J Invas Cardiol.* 1999;11:201-206.
65. Albiero R, Nishida T, Karvouni E, et al. Cutting balloon for the treatment of in-stent restenosis. *Cathet Cardiovasc Intervent.* 2000;50:452-459.
66. Giri S, Ito S, Lansky AJ, et al. Clinical and angiographic outcome in the laser angioplasty for restenotic stents (LARS) multicenter registry. *Cathet Cardiovasc Intervent.* 2001;52:24-34.
67. Furuichi S, Sangiorgi GM, Godino C, et al. Rotational atherectomy followed by drug-eluting stent implantation in calcified coronary lesions. *EuroIntervention.* 2009;5:370-374.
68. Kaltenbach M, Hartmann A, Vallbracht C. Procedural results and patient selection in recanalization of chronic coronary occlusions by low speed rotational angioplasty. *Eur Heart J.* 1993;14:826-830.
69. Hartmann A, Kaltenbach M. Reopening of chronic coronary occlusions by low-speed rotational angioplasty. *Cardiol Clin.* 1994;12:623-629.
70. Oesterle SN, Bittl JA, Leon MB, et al. Laser wire for crossing chronic total occlusions: "learning phase" results from the U.S. TOTAL trial. Total Occlusion Trial With Angioplasty by Using a Laser Wire. *Cathet Cardiovasc Diagn.* 1998;44:235-243.
71. Hasdai D, Berger PB, Bell MR, et al. The changing face of coronary interventional practice. The Mayo Clinic experience. *Arch Intern Med.* 1997;157:677-682.

72. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, et al. Platelet activation and coronary stent implantation: effect of antithrombotic therapy. *Circulation*. 1996;94:279-285.
73. Malenka DJ, O'Connor GTO, Quinton H. Differences in outcomes between women and men associated with percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation*. 1996;94:II-99-II104.
74. Park J. Metallic Biomaterials. In: Branzino J, ed. *The Biomedical Engineering Handbook*. Boca Raton: CRC Press; 1995:537-571.
75. Ratner B, Hoffmann A, Schoen F, et al. *An introduction to materials in medicine*. San Diego, London, Boston, New York, Sydney, Tokyo, Toronto: Academic press; 1996.
76. Taylor A. Metals. In: Sigwart U, ed. *Endoluminal Stenting*. London, Philadelphia, Toronto, Sydney, Tokyo: W.B.Saunders; 1996:28-33.
77. Robinson K, Roubin G, King S. Long-term intracoronary stent placement: arteriographic and histologic results after 7 years in a dog model. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1996;38:32-37.
78. Weisz G, Leon MB, Holmes DR, et al. Five-year follow-up after sirolimus-eluting stent implantation results of the SIRIUS (Sirolimus-Eluting Stent in De-Novo Native Coronary Lesions) Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:1488-1497.
79. Ferreira MGS, Dawson JL. Electrochemical studies of the passive film on 316 stainless steel in chloride media. *J Electrochem Soc*. 1985;132:760-765.
80. Walczak JP, Shahgaldi BF, Heatley FW. Corrosion of retrieved stainless steel hip prosthesis. Orthop. Acad. Unit UMDS the Rayne Institute, St. Thomas Hospital.: <http://fibula.mech.kuleuven.ac.be/~wimvp/esb96/walczak2/coroleuv.htm>; 1996.

81. Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP, Rickenbacher P, et al. Long-term benefit-risk balance of drug-eluting vs. bare-metal stents in daily practice: does stent diameter matter? Three-year follow-up of BASKET. *Eur Heart J.* 2009;30:16-24.
82. Brunner-La Rocca HP, Kaiser C, Pfisterer M. Targeted stent use in clinical practice based on evidence from the Basel Stent Cost Effectiveness Trial (BASKET). *Eur Heart J.* 2007;28:719-725.
83. Hehrlein C, Zimmermann M, Metz J, et al. Influence of surface texture and charge on the biocompatibility of endovascular stents. *Coron Artery Dis.* 1995;6:581-586.
84. Wöhrle J, Nusser T, Langenwalder S, et al. Carbon-coated stents in patients with acute coronary syndromes. *Clin Cardiol.* 2009;32:E1-6.
85. Kastrati A, Schomig A, Dirschinger J, et al. Increased risk of restenosis after placement of gold-coated stents: results of a randomized trial comparing gold-coated with uncoated steel stents in patients with coronary artery disease. *Circulation.* 2000;101:2478-2483.
86. Carrie D, Khalife K, Hamon M, et al. Initial and follow-up results of the Tenax coronary stent. *J Interv Cardiol.* 2001;14:1-5.
87. Hansi C, Arab A, Rzany A, et al. Differences of platelet adhesion and thrombus activation on amorphous silicon carbide, magnesium alloy, stainless steel, and cobalt chromium stent surfaces. *Catheter Cardio Int.* 2009;73:488-496.
88. Monnick SH, van Boven AJ, Peels HO, et al. Silicon-carbide coated coronary stents have low platelet and leukocyte adhesion during platelet activation. *J Invest Med.* 1999;47:304-310.

89. Hårdhammer P, van Beusekom H, Emanuelsson H, et al. Reduction in thrombotic events with heparin-coated Palmaz-Schatz stents in normal porcine coronary arteries. *Circulation*. 1996;93:423-430.
90. Serruys P, van Hout B, Bonnier H, et al. Randomised comparison of implantation of heparin-coated stents with balloon angioplasty in selected patients with coronary artery disease (BENESTENT II). *Lancet*. 1998;352:673-681.
91. Gupta V, Aravamuthan BR, Baskerville S, et al. Reduction of subacute stent thrombosis (SAT) using heparin-coated stents in a large-scale, real world registry. *J Invasive Cardiol*. 2004;16:304-310.
92. Roque M, Cordon-Cardo C, Fuster V, et al. Modulation of apoptosis, proliferation, and p27 expression in a porcine coronary angioplasty model. *Artherosclerosis*. 2000;153:315-322.
93. Gallo R, Padurean A, Jayaraman T, et al. Inhibition of intimal thickening after balloon angioplasty in porcine coronary arteries by targeting regulators of the cell cycle. *Circulation*. 1999;99:2164-2170.
94. Dibra A, Kastrati A, Mehilli J, et al. Paclitaxel-eluting or sirolimus-eluting stents to prevent restenosis in diabetic patients. *N Engl J Med*. 2005;353:663-670.
95. Kastrati A, Dibra A, Eberle S, et al. Sirolimus-eluting stents vs paclitaxel-eluting stents in patients with coronary artery disease: meta-analysis of randomized trials. *J Am Med Assoc*. 2005;294:819-825.
96. Joner M, Finn AV, Farb A, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:193-202.

97. Finn AV, Kolodgie FD, Harnek J, et al. Differential response of delayed healing and persistent inflammation at sites of overlapping sirolimus- or paclitaxel-eluting stents. *Circulation*. 2005;112:270-278.
98. Rivard A, Bouchard M, Janicki C, et al. Low-dose-beta-emitting radioactive stents inhibit neointimal hyperplasia in porcine coronary arteries: an IVUS assessment. *Circulation*. 1996;94(Suppl.):I-210.
99. Farb A, Tang AL, Shroff S, et al. Neointimal responses 3 months after (32)P beta-emitting stent placement. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;48:889-898.
100. Fischell TA, Hehrlein C, Fischell RE, et al. The impact of stent design and delivery upon the long-term efficacy of radioisotope stents. *J Invasive Cardiol*. 2000;12:162-167.
101. Giap HB, Bendre DD, Huppe GB, et al. Source displacement during the cardiac cycle in coronary endovascular brachytherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2001;49:273-277.
102. Albiero R, Nishida T, Adamian M, et al. Edge restenosis after implantation of high activity (32)P radioactive beta-emitting stents. *Circulation*. 2000;101:2454-2457.
103. Giap H, Teirstein P, Massullo V, et al. Barotrauma due to stent deployment in endovascular brachytherapy for restenosis prevention. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2000;47:1021-1024.
104. Silber S, von Rottkay P, Lossl P, et al. Sicherheit und Durchführbarkeit der intrakoronaren Brachytherapie mit dem Novoste-System im Rahmen von internationalen Multicenter-Studien. *Z Kardiol*. 2000;89:323-329.

105. Bejik MA, Klomp M, Verouden NJ, et al. Genous™ endothelial progenitor cell capturing stent vs. the Taxus Liberte stent in patients with de novo coronary lesions with a high-risk of coronary restenosis: a randomized, single-centre, pilot study. *Eur Heart J.* 2009;31:1055-1064.
106. Aoki J, Serruys PW, van Beusekom HM, et al. Endothelial progenitor cell capture by stents coated with antibody against CD34: the HEALING-FIM (Healthy Endothelial Accelerated Lining Inhibits Neointimal Growth-First In Man) Registry. *J Am Coll of Cardiol.* 2005;45:1574-1579.
107. Kong D, Melo LG, Mangi AA, et al. Enhanced inhibition of neointimal hyperplasia by genetically engineered endothelial progenitor cells. *Circulation.* 2004;109:1769-1775.
108. Werner N, Junk S, Laufs U, et al. Intravenous transfusion of endothelial progenitor cells reduces neointima formation after vascular injury. *Circ Res.* 2003;93:E17-24.
109. Rowland S, Cottone R, Davis HR, et al. Genous bio-engineered R-stent: development, and HEALING clinical evaluations. *Handbook of Drug-Eluting Stents.* 2005.
110. Duckers HJ, Soullie T, den Heijer P, et al. Accelerated vascular repair following percutaneous coronary intervention by capture of endothelial progenitor cells promotes regression of neointimal growth at long-term follow-up: final results of the Healing II trial using an endothelial progenitor capturing stent (Genous R stent). *EuroIntervention.* 2007;3:350-358.
111. Heublein B. Catheter-based Cardiovascular Therapy - The Impact of Stenting in Coronary Artery Disease. *Progr Biomed Res.* 1999;4:1-5.
112. Vogt F, Stein A, Rettmeier G, et al. Long-term assessment of a novel biodegradable paclitaxel-eluting coronary polylactide stent. *Eur Heart J.* 2004;25:1330.

113. Unverdorben M, Spielberger A, Schywalsky M, et al. A polyhydroxybutyrate biodegradable stent: preliminary experience in the rabbit. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2002;25:127-132.
114. Van der Giessen W, Lincoff M, Schwartz R, et al. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and non-biodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation*. 1996;94:1690-1697.
115. Asplund B, Sperens J, Mathisen T, et al. Effects of hydrolysis on a new biodegradable co-polymer. *J Biomat Sci Polym Ed*. 2006;17:615-630.
116. Serruys PW, Ormiston JA, Onuma Y, et al. A bioabsorbable everolimus-eluting coronary stent system (ABSORB): 2-year outcomes and results from multiple imaging methods. *Lancet*. 2009;373:897-910.
117. Peuster M, Wohlsein P, Brüggmann M, et al. A novel approach to temporary stenting: degradable cardiovascular stents produced from corrodible metal - results 6-18 months after implantation into New Zealand white rabbits. *Heart*. 2001;86:563-569.
118. Heublein B, Rohde R, Kaese V, et al. Biocorrosion of magnesium alloys: a new principle in cardiovascular implant technology. *Heart*. 2003;89:651-656.
119. Cadosch D, Al-Mushaiqri MS, Gautschi OP, et al. Metal is not inert: Role of metal ions released by biocorrosion in aseptic loosening - Current concepts. *J Biomed Mater Res A*. 2009;91A:1252-1262.
120. Witte F, Fischer J, Nellesen J, et al. In vitro and in vivo corrosion measurements of magnesium alloys. *Biomaterials*. 2006;27:1013-1018.
121. Singh R, Dahotre NB. Corrosion degradation and prevention by surface modification of biometallic materials. *J Mater Sci Mater Med*. 2007;18:725-751.

122. Sawyer PN, Brattain WH, Boddy PJ. Electrochemical precipitation of human blood cells and its possible relation to intravascular thrombosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1961;51:428-432.
123. Prasad AS. Clinical, immunological, anti-inflammatory and antioxidants roles of zinc. *Exp Gerontol.* 2008;43:370-377.
124. Sandstead HH, Prasad AS, Penland JG, et al. Zinc deficiency in Mexican American children: influence of zinc and other micronutrients on T-cells, cytokines and anti-inflammatory plasma proteins. *Am J of Clin Nutr.* 2008;88:1067-1073.
125. Bae SN, Lee YS, Kim MY, et al. Antiproliferative and apoptotic effects of zinc-citrate compound (CIZAR(R)) on human epithelial ovarian cancer cell line, OVCAR-3. *Gynecol Oncol.* 2006;103:127-136.
126. Kovala-Demertzi D, Hadjipavlou-Litina D, Staninska M, et al. Anti-oxidant, in vitro, in vivo anti-inflammatory activity and antiproliferative activity of mefenamic acid and its metal complexes with manganese (II), cobalt (II), nickel (II), copper (II), zinc (II). *J Enzym Inhib.* 2008;24:742-752.
127. Fosmire GJ. Zinc toxicity. *Am J Clin Nutr.* 1990;51:225-227.
128. Unverdorben M. *Tierexperimentelle und klinische Untersuchungen koronarer Stents aus unterschiedlichen Materialien zur Reduktion der Restenoserate nach perkutanen transluminalen Gefäßinterventionen.* Frankfurt: Fachbereich Medizin, Goethe-Universität Frankfurt am Main; 2001.
129. Heusler KE. Fundamental aspects of the corrosion of alloys. *Corrosion Science.* 1997;39:1177-1191.
130. Lide DR. *Handbook of Chemistry and Physics.* Vol 73; 1992.

131. Borovansky J. Zinc in pigmented cells and structures, interactions and possible roles. *Sb Lek.* 1994;95:309-320.
132. Food and Nutrition Board IoM. *Dietary reference intakes for vitamin A, vitamin K, arsenic, boron, chromium, copper, iodine, iron, manganese, molybdenum, nickel, silicon, vanadium and zinc*: National Academy Press; 2001.
133. Prasad AS, Bao B, Beck FW, et al. Zinc enhances the expression of interleukin-2 and interleukin-2 receptors in HUT-78 cells by way of NF-kappaB activation. *J Lab Clin Med.* 2002;140:272-289.
134. Niinomi M. Mechanical properties of biomedical titanium alloys. *Mater Sci Eng A.* 1998;243:231-236.
135. Cortada M, Giner LI, Costa S, et al. Galvanic corrosion behavior of titanium implants coupled to dental alloys. *J Mater Sci Med.* 2000;11:287-293.
136. Gotman I. Characteristics of metals used in implants. *J of Endourol.* 1997;11:383-389.
137. Unverdorben M, Spielberger A, Schywalsky M, et al. First results in an animal model on stents sheathed with a polytetrafluoroethylene membrane. *Rofo.* 2001;173:836-841.
138. Gunn J, Arnold N, Chan KH, et al. Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima. *Heart.* 2002;88:401-405.
139. Schwartz R, Holmes DR. Pigs, dogs, boboons and man: lessons for stenting from animal studies. *J Interv Cardiol.* 1994;7:355-368.

140. Waale WHE, van der Veen FH, Leeuwen CV, et al. Modulation of healthy pig coronary arteries by self-expanding stents. *J Interv Cardiol.* 1996;9:45-52.
141. Caixeta A, Leon MB, Lansky AJ, et al. 5-year clinical outcomes after sirolimus-eluting stent implantation insights from a patient-level pooled analysis of 4 randomized trials comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54:894-902.
142. Pache J, Dibra A, Mehilli J, et al. Drug-eluting stents compared with thin-strut bare stents for the reduction of restenosis: a prospective, randomized trial. *Eur Heart J.* 2005;26:1262-1268.
143. Assali A, Vaknin-Assa H, Lev E, et al. The risk of cardiac complications following noncardiac surgery in patients with drug eluting stents implanted at least six months before surgery. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2009;74:837-843.
144. Chen JP, Hou D, Pendyala L, et al. Drug-eluting stent thrombosis: The Kounis hypersensitivity-associated acute coronary syndrome revisited. *J Am Coll Cardiol Intv.* 2009;2:583-593.
145. Soufras GD, Ginopoulos PV, Papadaki PJ, et al. Penicillin allergy in cancer patients manifesting as Kounis syndrome. *HEART VESSELS.* 2005;20:159-163.
146. Ryan J, Cohen DJ. Are drug-eluting stents cost-effective?: It depends on whom you ask. *Circulation.* 2006;114:1736-1743.
147. Daemen J, Boersma E, Flather M, et al. Long-term safety and efficacy of percutaneous coronary intervention with stenting and coronary artery bypass surgery for multivessel coronary artery disease: a meta-analysis with 5-year patient-level data from the ARTS, ERACI-II, MASS-II, and SoS trials. *Circulation.* 2008;118:1146-1154.

148. Bolz A, Schaldach M. Physikalische Mechanismen an der Phasengrenze a-SiC:H-Fibrinogen. *Biomed Technik*. 1992;37:244-253.
149. Bolz A, Harder C, Unverdorben M, et al. Development of a new hybrid coronary stent design with optimized biocompatible properties. In: Wise D, Trantolo D, Lewandrowski K, Gresser J, Cattaneo M, Yaszemski M, eds. *Biomaterials, Engineering and Devices: Human Applications*. Vol 1 Fundamentals and Vascular and Carrier Applications. Totowa, NJ: Humana Press; 2001:201-222.
150. Jacobs JJ, Gilbert JL, Urban RM. Current concepts review - corrosion of metal orthopaedic implants. *J Bone Joint Surgery*. 1998;80:268-282.
151. Sha PK. Inflammation, neointimal hyperplasia, and restenosis. *Circulation*. 2003;107:2175-2177.
152. Kjelsberg MA, Seifert P, Edelman ER, et al. Design-dependent variations in coronary stent stenosis measured as precisely by angiography as by histology. *J Invasive Cardiol*. 1998;10:142-150.
153. Pache J, Kastrati A, Mehilli J, et al. Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO-2) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1283-1288.
154. Kastrati A, Mehilli J, Dirschinger J, et al. Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO) trial. *Circulation*. 2001;103:2816-2821.
155. Garasic JM, Edelman ER, Squire JC, et al. Stent and artery geometry determine intimal thickening independent of arterial injury. *Circulation*. 2000;101:812-818.

156. De Scheerder I, Wang K, Zhou XR, et al. Neointimal hyperplasia and late pathologic remodeling in a porcine coronary stent model. *J Invasive Cardiol.* 1999;11:9-12.
157. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, et al. In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:224-230.
158. Hong YJ, Jeong MH, Choi YH, et al. Positive remodeling is associated with more plaque vulnerability and higher frequency of plaque prolapse accompanied with post-procedural cardiac enzyme elevation compared with intermediate/negative remodeling in patients with acute myocardial infarction. *J Cardiol.* 2009;53:278-287.
159. Prati F, Arbustini E, Larbellate A, et al. Eccentric atherosclerotic plaques with positive remodelling have a pericardial distribution: a permissive role of epicardial fat? *Eur Heart J.* 2003;24:329-336.
160. Worthley SG, Farouqu HM, Cameron JD, et al. Arterial remodeling correlates positively with serological evidence of inflammation in patients with chronic stable angina pectoris. *J Invasive Cardiol.* 2006;18:28-31.
161. Luo T, Gao RL, Ruan YM, et al. Relationship between inflammation and neointimal proliferation after coronary stent implantation in porcine model. *Zhongguo Yi Xue Yuan Xue Bao.* 2009;31:365-369.
162. Wei X, Zhang X, Flick LM, et al. Titanium particles stimulate COX-2 expression in synovial fibroblasts through an oxidative stress-induced, calpain-dependent, NF-kappa-B pathway. *Am J Physiol - Cell Ph.* 2008;297:310-320.
163. Goncalves DM, Chiasson S, Girard D. Activation of human neutrophils by titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles. *Toxicol in Vitro.* 2010;24:1002-1008.

164. Farb A, Sangiorgi G, Carter A, et al. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation*. 1999;99:44-52.
165. Schwartz RS, Edwards WD, Bailey KR, et al. Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs; implications for restenosis model. *Arterioscl Thromb*. 1994;14:395-400.
166. Unverdorben M, Sattler K, Degenhardt R, et al. Comparison of a silicon carbide coated stent versus a noncoated stent in humans: the Tenax- versus Nir-Stent Study (TENISS). *J Interv Cardiol*. 2003;16:325-333.

## 7. Anhang

Abbildung 34: Bland-Altman Diagramm zur Übereinstimmung zwischen mittlerer Intimabreite und virtueller Intimabreite.

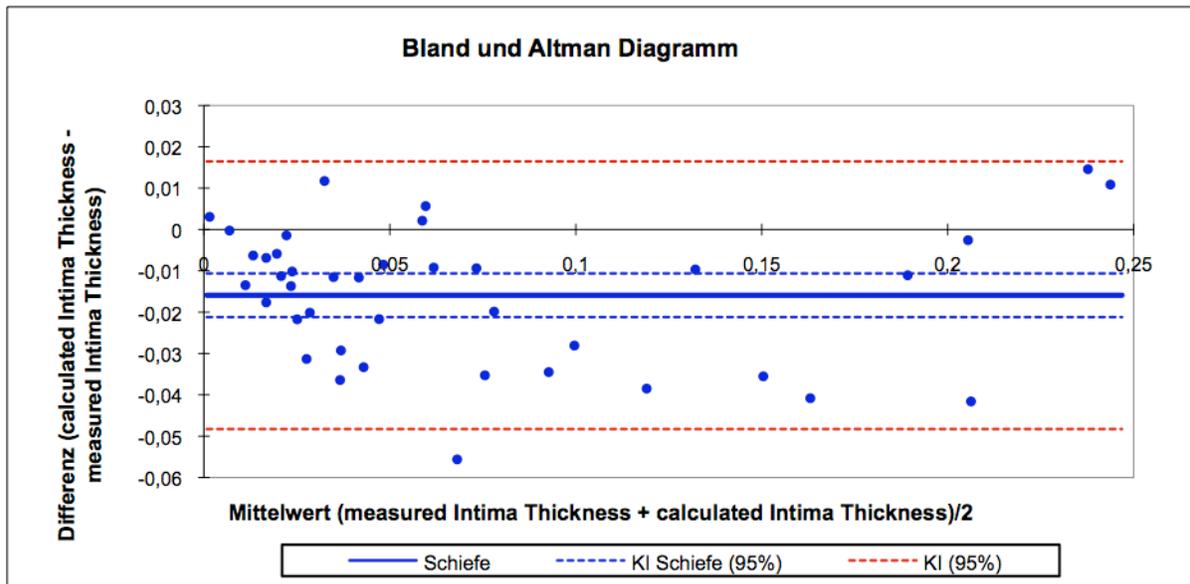
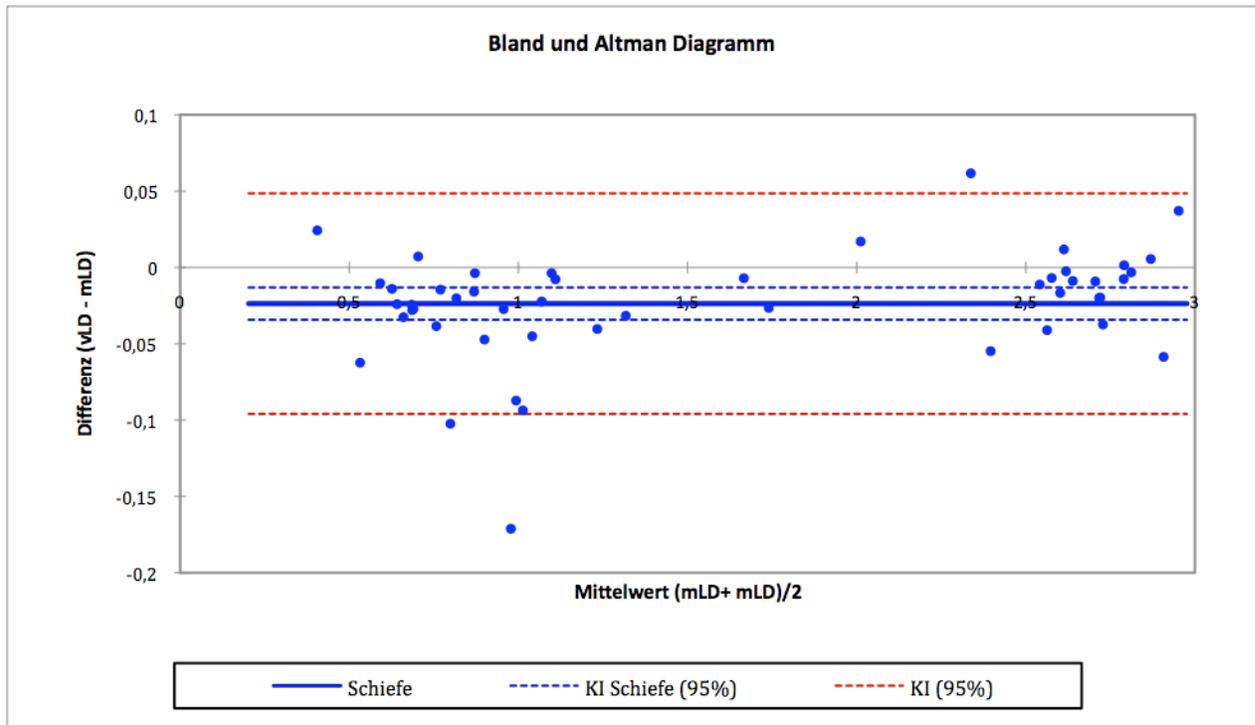


Tabelle 26: Korrelation mittlere Intimabreite (mIB) und virtuelle Intimabreite (vIB). Alle Werte in Millimeter.

Variable	Beobachtungen	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
mIB	98	0,000	0,238	0,048	0,061
vIB	98	0,000	0,451	0,038	0,071

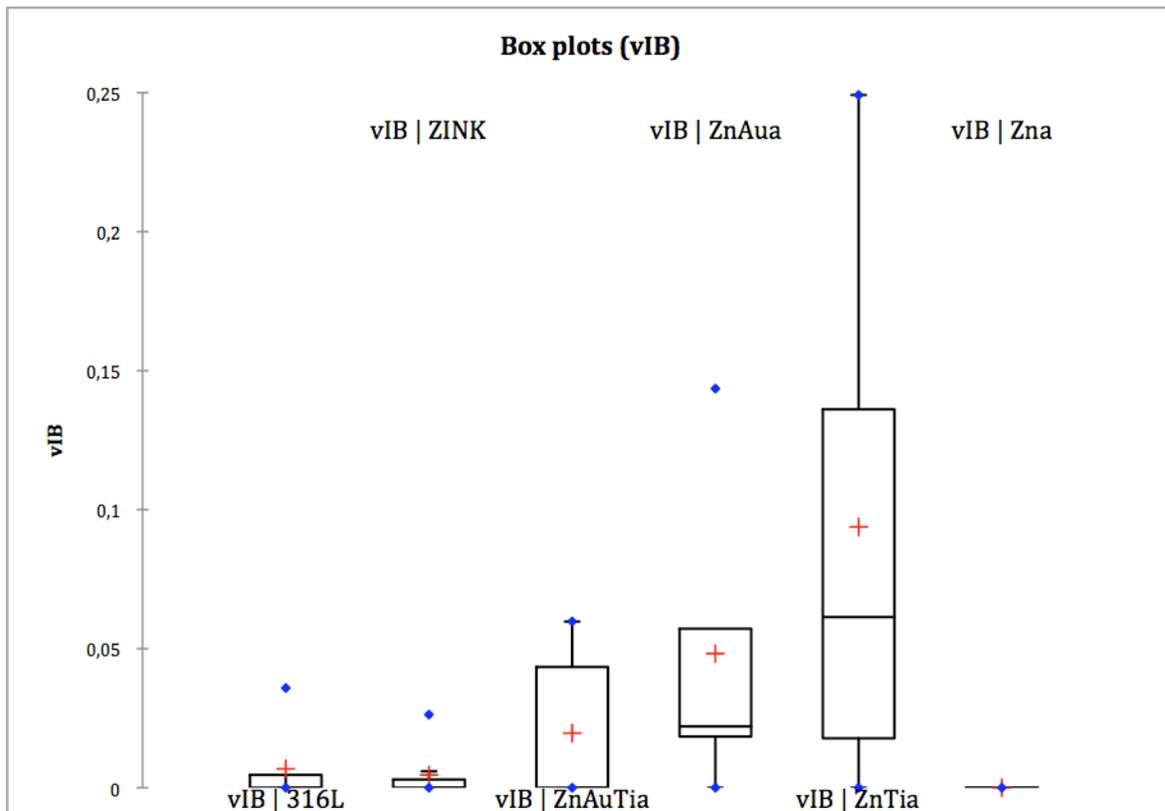
**Abbildung 35: Differenz zwischen mittlerem Lumendurchmesser (mLD) und virtuellem Lumendurchmesser (vLD) mittels Bland-Altman's Diagramm: Die Differenzen zwischen beiden gemessenen Parametern liegen fast ausnahmslos im 95% Konfidenzintervall. Die graue Linie markiert die Differenz Null.**



**Tabelle 27: Differenz zwischen mittlerem Lumendurchmesser (mLD) und virtuellem Lumendurchmesser (vLD). Alle Werte in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
vLD	49	0,393	2,937	1,626	0,900
mLD	49	0,418	2,970	1,603	0,912

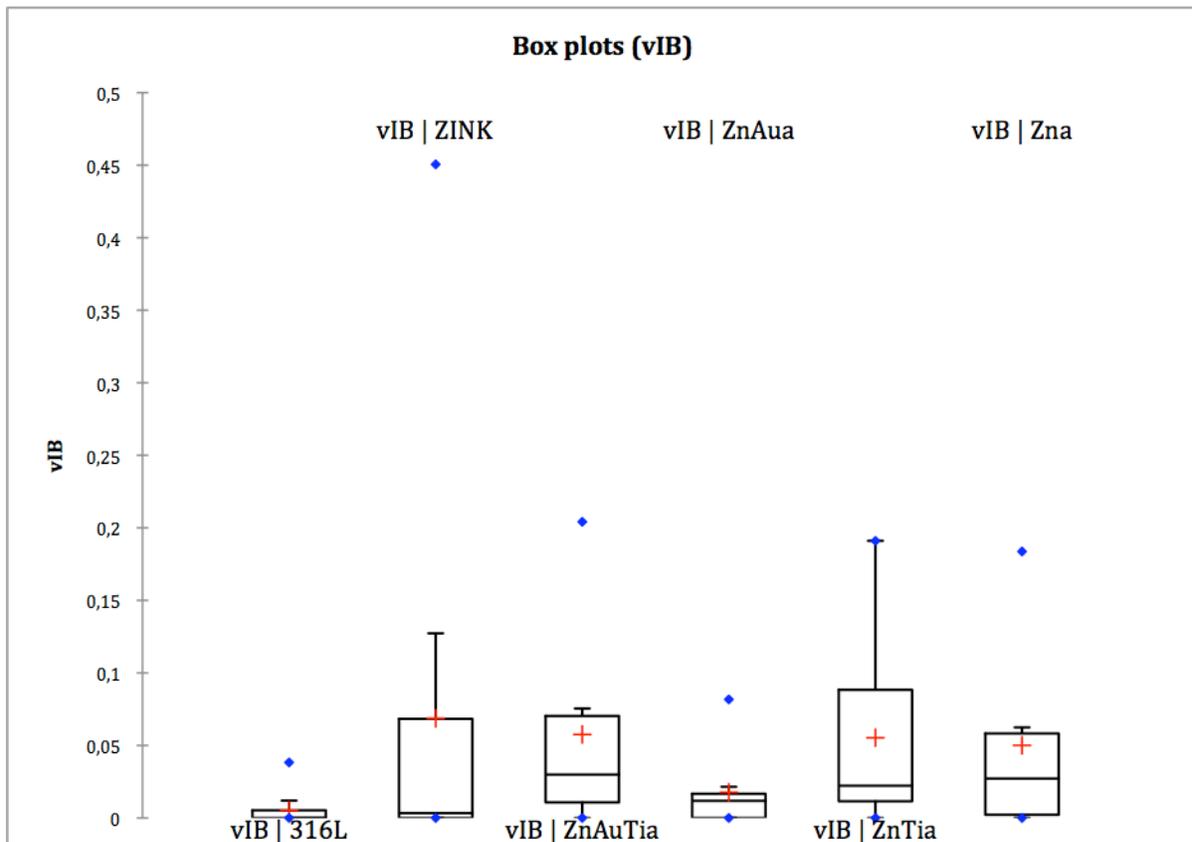
**Abbildung 36: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 10,  $p=0,007$ ; der ZnTia Stent zeigt starke Proliferationen der Intima außerhalb des Stents.**



**Tabelle 28: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 10,  $p=0,007$ . Alle Werte in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
vIB   316L	8	0,000	0,036	0,007	0,013
vIB   ZINK	7	0,000	0,026	0,005	0,010
vIB   ZnAuTia	6	0,000	0,060	0,020	0,030
vIB   ZnAua	5	0,000	0,144	0,048	0,057
vIB   ZnTia	8	0,000	0,249	0,094	0,100
vIB   Zna	5	0,000	0,000	0,000	0,000

**Abbildung 37: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 26,  $p=0,046$ ; die ZnTia, ZnAuTia und ZINK Stents zeigen stärkere Intimaproliferationen als die anderen Stents.**



**Tabelle 29: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 26,  $p=0,046$ . Alle Werte in Millimeter.**

Variable	Beobachtungen	Minimum	Maximum	Mittelwert	SD
vIB   316L	12	0,000	0,038	0,005	0,011
vIB   ZINK	10	0,000	0,451	0,069	0,141
vIB   ZnAuTia	12	0,000	0,204	0,058	0,069
vIB   ZnAua	8	0,000	0,082	0,018	0,027
vIB   ZnTia	11	0,000	0,191	0,055	0,067
vIB   Zna	6	0,000	0,184	0,050	0,070

## 8. Übersichten

### 8.1. Abbildungen

Abbildung 1: Freipräparierte A. femoralis <sup>128</sup> .....	16
Abbildung 2: Inzision der A. femoralis mit einer Punktionskanüle, durch die ein Floppy Führungsdraht vorgeschoben wird <sup>128</sup> .....	16
Abbildung 3: Platzierung des Stents nach Platzierung einer Schleuse <sup>128</sup> .....	17
Abbildung 4: die Gefäßnaht (blauer Pfeil) zeigt keine Anzeichen von Einschnürung der Arterie <sup>128</sup> .....	17
Abbildung 5: Radiologische Kontrolle der Stentposition <sup>128</sup> .....	18
Abbildung 6: ZINK Stent.....	20
Abbildung 7: 316L Stent, auf Ballon aufmontiert <sup>128</sup> .....	22
Abbildung 8: 316L Stent <sup>128</sup> .....	22
Abbildung 9: Schnittpositionen.....	24
Abbildung 10: Gefäß mit deutlicher Abgrenzung zwischen Intima und Media. ....	28
Abbildung 11: Markierungen am Lumen, Lamina elastica interna und Lamina elastica externa für die weitere elektronische Vermessung.....	28
Abbildung 12: Messung von Intima- und Mediabreite. ....	29
Abbildung 13: Injury Score Grad 4. Resorbierte Stentstrebe (→), Entzündungszellen (→). ....	31
Abbildung 14: Gunn Score .....	32
Abbildung 15: das Gefäß ist deutlich zerstört, durch die Verwendung der intakten Hälfte ist die weitere Vermessung dennoch möglich.....	34
Abbildung 16: SP2 des 316L Edelstahlstents, die Membrana Elastica Interna ist intakt. ....	39
Abbildung 17: SP2 vom ZINK Stent nach 26 Wochen; der Stentstrut ist resorbiert (→), an der Stentnarbe sind vermehrt Entzündungszellen zu sehen (→), die Membrana Elastica Interna ist teilweise perforiert (→). ....	41
Abbildung 18: SP2 vom Zna Stent nach 26 Wochen; die Perforationen von Membrana Elastica Interna und Externa sind deutlich sichtbar (→), um die Perforationsstelle sind vermehrt Entzündungszellen angesiedelt (→).....	43
Abbildung 19: SP1 vom ZnTi Stent; die Neointima ist stark ausgeprägt (→). ....	45
Abbildung 20: SP1 vom ZnAuTi Stent nach 26 Wochen; man sieht eine starke Proliferation der Intima (→). ....	47
Abbildung 21: SP3 vom ZnAu Stent; die Entzündungszellen sind deutlich sichtbar (→). ....	49
Abbildung 22: Lumendurchmesser (LD) in Woche 10, p<0,0001, der Referenzstent hat das deutlich größte Lumen, bei den Teststents hat der ZnAu Stent mit 2,126mm das kleinste Lumen. ....	51

Abbildung 23: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 10, $p < 0,0001$ , beim ZnAuTia Stent sieht man eine 0,417mm dicke, starke proliferierte Intima. ....	52
Abbildung 24: Inflammation Score in Woche 10, $p < 0,0001$ , der Referenzstent hat deutlich bessere Entzündungswerte. ....	53
Abbildung 25: Gunn Score in Woche 10, $p = 0,020$ , der Zna Stent hat starke Verletzungszeichen. ....	54
Abbildung 26: mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 10, $p = 0,160$ , die ZnTia und ZnAuTia Stents zeigen eine starke Intimaproliferation außerhalb des Stents. ....	55
Abbildung 27: Lumendurchmesser (LD) in Woche 26, $p = 0,011$ , das Lumen des 316L Stents ist etwas größer als das der Teststents. ....	56
Abbildung 28: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 26, $p < 0,0001$ , die Intimaschichten der Teststents sind alle mehr als doppelt so breit als die des Edelstahl Stents. ....	57
Abbildung 29: Inflammation Score in Woche 26, $p < 0,0001$ , ZnAuTia und ZnAua haben die höchsten Entzündungswerte. Der Inflammation Score des 316L Stents beträgt weniger als ein Drittel der Vergleichswerte. ....	58
Abbildung 30: Gunn Score in Woche 26, $p = 0,052$ , bei den ZINK und Zna Stents ist der Gunn Score besonders hoch, beim ZINK Stent ist der Gunn Score im Vergleich zu Woche 10 von 1,067 auf 1,761 stark gestiegen. ....	59
Abbildung 31: mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 26, $p = 0,426$ , die ZnAuTia und ZnTia Stents haben die breiteste Intima außerhalb des Stentbereichs. ....	60
Abbildung 32: Korrelation Inflammation Score und stentinterner mittlerer Intimabreite (mIB) in Woche 10, $R = 0,303$ ; es gibt eine leichte Korrelation zwischen Inflammation Score und der Intimabreite. ....	62
Abbildung 33: Korrelation Inflammation Score und stentinterner mittlerer Intimabreite (mIB) in Woche 26, $R = 0,228$ ; in Woche 26 ist die Korrelation zwischen Entzündung und Intimabreite nicht mehr so deutlich, aber immer noch zu sehen. ....	62
Abbildung 34: Bland-Altman Diagramm zur Übereinstimmung zwischen mittlerer Intimabreite und virtueller Intimabreite. ....	91
Abbildung 35: Differenz zwischen mittlererem Lumendurchmesser (mLD) und virtuellem Lumendurchmesser (vLD) mittels Bland-Altman's Diagramm: Die Differenzen zwischen beiden gemessenen Parametern liegen fast ausnahmslos im 95% Konfidenzintervall. Die graue Linie markiert die Differenz Null. ....	92
Abbildung 36: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 10, $p = 0,007$ ; der ZnTia Stent zeigt starke Proliferationen der Intima außerhalb des Stents. ....	93
Abbildung 37: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 26, $p = 0,046$ ; die ZnTia, ZnAuTia und ZINK Stents zeigen stärkere Intimaproliferationen als die anderen Stents. ....	94

## 8.2. Tabellen

Tabelle 1: Referenz- und Teststents.....	23
Tabelle 2: Messparameter.....	26
Tabelle 3: Zusammenfassung der morphometrischen Messmethoden. ....	30
Tabelle 4: Anzahl und Verteilung 316L auf die Schnittpositionen (SP).....	38
Tabelle 5: Ergebnisse für den Referenzstent 316L: außer der Media gibt es keine Veränderung der gemessenen Parameter von Woche 10 zu 26.....	39
Tabelle 6: Anzahl und Verteilung ZINK auf die Schnittpositionen (SP).....	40
Tabelle 7: Ergebnisse für den ZINK Stent: Das Gefäßlumen nimmt zu und der Gunn Score steigt signifikant. ....	40
Tabelle 8: Anzahl und Verteilung Zna auf die Schnittpositionen (SP).....	42
Tabelle 9: Ergebnisse für den Zna Stent: das Lumen wird größer. ....	42
Tabelle 10: Anzahl und Verteilung ZnTia auf die Schnittpositionen (SP).....	44
Tabelle 11: Ergebnisse für den ZnTia Stent: die Verletzung der Gefäßwand durch die Struts nimmt zu. ....	44
Tabelle 12: Anzahl und Verteilung ZnAuTia auf die Schnittpositionen (SP).....	46
Tabelle 13: Ergebnisse für den ZnAuTia Stent: das Lumen wird größer, die Intima wird komprimiert. Gunn Score und Inflammation Score haben nach 26 Wochen jeweils signifikant höhere Werte. ....	46
Tabelle 14: Anzahl und Verteilung ZnAua auf die Schnittpositionen (SP) .....	48
Tabelle 15: Ergebnisse für den ZnAua Stent: die Werte bleiben konstant.....	48
Tabelle 16: Lumendurchmesser (LD) in Woche 10, $p < 0,0001$ . Alle Werte in Millimeter.....	51
Tabelle 17: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 10, $p < 0,0001$ . Alle Werte in Millimeter.....	52
Tabelle 18: Inflammation Score (IS) in Woche 10, $p < 0,0001$ .....	53
Tabelle 19: Gunn Score (GS) in Woche 10, $p = 0,020$ .....	54
Tabelle 20: mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 10, $p = 0,160$ , alle Messungen in Millimeter. ....	55
Tabelle 21: Lumendurchmesser (LD) in Woche 26, $p = 0,011$ , alle Messungen in Millimeter. ....	56
Tabelle 22: mittlere Intimabreite (mIB) in Woche 26, $p < 0,0001$ , alle Messungen in Millimeter.....	57
Tabelle 23: Inflammation Score (IS) in Woche 26, $p < 0,0001$ .....	58
Tabelle 24: Gunn Score (GS) in Woche 26, $p = 0,052$ .....	59
Tabelle 25: mittlere Intimabreite (mIB) an SP1 in Woche 26, $p = 0,426$ , alle Messungen in Millimeter. ....	60
Tabelle 26: Korrelation mittlere Intimabreite (mIB) und virtuelle Intimabreite (vIB). Alle Werte in Millimeter. ....	91
Tabelle 27: Differenz zwischen mittlerem Lumendurchmesser (mLD) und virtuellem Lumendurchmesser (vLD). Alle Werte in Millimeter.....	92
Tabelle 28: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 10, $p = 0,007$ . Alle Werte in Millimeter. ....	93
Tabelle 29: virtuelle Intimabreite (vIB) in Woche 26, $p = 0,046$ . Alle Werte in Millimeter. ....	94

## **11. Ehrenwörtliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die dem Fachbereich Medizin der Johann Wolfgang Goethe-Universität Frankfurt am Main zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel "Biokompatibilität von koronaren Zinkstents mit verschiedenen Beschichtungen in den Iliakalgefäßen von Neuseeland-Kaninchen" in dem Herz- und Kreislaufzentrum Rotenburg a. d. Fulda unter Betreuung und Anleitung von Herrn Prof. Dr. Martin Unverdorben mit Unterstützung durch Herrn Prof. Dr. Faramarz Dehghani vom Institut für Anatomie der Universität Leipzig und vom Dr. Senckenbergischen Institut für Anatomie der Goethe-Universität Frankfurt ohne sonstige Hilfe selbst durchgeführt und bei der Abfassung der Arbeit keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel benutzt habe. Darüber hinaus versichere ich, nicht die Hilfe einer kommerziellen Promotionsvermittlung in Anspruch genommen zu haben.

Ich habe bisher an keiner in- oder ausländischen Universität ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht. Die vorliegende Arbeit wurde bisher nicht als Dissertation eingereicht.

Frankfurt, den 10. März 2011