

Aus der Klinik für Diagnostische und Interventionelle Neuroradiologie
Des Universitätsklinikums des Saarlandes
Leiter: Prof. Dr. med. W. Reith

Aktuelle experimentelle Entwicklungen endovaskulärer Therapien intrakranieller Aneurysmen

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors in Theoretischer Medizin
der medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes
2013

vorgelegt von Diplom Biologin Désirée Ley (geb. Junk)
geboren am 03.03.1981
in Neunkirchen/Saar, Deutschland

Inhaltsverzeichnis

	Seite
Abbildungen	4
Tabellen	5
Diagramme	5
Materialien	5
Abkürzungen	7
1. Historischer Hintergrund und Zielsetzung der Arbeit	9
2. Zusammenfassung/ Abstract	11
2.1. Zusammenfassung	11
2.2. Abstract	13
3. Einleitung	15
3.1. Theoretischer Teil	15
3.1.1. Aneurysmen	15
3.1.2. Klinisches Auftreten von Aneurysmen	19
3.1.3. 3.1.3.Therapiemöglichkeiten	22
3.1.3.1. Operativer Verschluss	22
3.1.3.2. Endovaskuläre Therapie	23
3.2. Praktischer Teil	29
3.2.1. In vitro	29
3.2.1.1. Zellviabilität	29
3.2.1.2. Nekrotische Membranschädigungen	30
3.2.2. In vivo/ex vivo	32
3.2.2.1. Grundprinzip der Röntgenstrahlung	32
3.2.2.2. Angiographie	33
3.2.2.3. Mikro-CT	33
3.2.2.4. Magnetresonanztomographie	34
4. Material und Methoden	36
4.1. In vitro	36
4.1.1. Zelllinien	36
4.1.2. WST-Assay	37
4.1.3. LDH-Assay	27
4.2. In vivo	38
4.2.1. Aktuelle Studie	39
4.2.2. Aneurysmainduktion	39
4.2.3. Antikoagulation	43
4.2.4. Endovaskulärer Verschluss der Aneurysmen	43
4.2.5. Kontrollangiographien	46
4.2.6. Abschlusskontrollen	46
4.2.7. Euthanasie und Entnahme der Präparate	47
4.3. Ex vivo	48
4.3.1. Magnetresonanztomographie	48
4.3.2. Mikro-CT	52
4.3.3. Histologie	52
4.3.4. Statistische Auswertung	53
5. Ergebnisse	54
5.1. In vitro	54
5.1.1. Zellviabilität	54
5.1.2. Untersuchung auf nekrotische Membranschädigungen	54
5.2. In vivo	55
5.2.1. Aneurysmainduktion	55

5.2.2.	Flow Diverter Eigenschaften	56
5.2.3.	Angiographische Ergebnisse	57
5.2.3.1.	Durchschnittlicher Restfluss ins Aneurysma über den Versuchszeitraum.....	57
5.2.3.2.	Okklusionsrate der Aneurysmen	58
5.2.3.3.	Stentverschlüsse	60
5.3.	Ex vivo	64
5.3.1.	Magnetresonanztomographie	64
5.3.2.	Mikro-CT	65
5.3.3.	Histologie	66
5.3.3.1.	Aneurysmaokklusion	66
5.3.3.2.	Durchgängigkeit abgehender Gefäße	67
5.3.3.3.	Neubildung der Neointima	67
5.3.3.4.	Durchmesserstenosen	69
5.3.3.5.	Deviceverschlüsse	69
5.3.3.6.	Ossäre Metaplasien und entzündliche Prozesse	70
6.	Diskussion	71
7.	Fazit	77
8 .	Literatur	78
9.	Publikationen	95
10.	Danksagung	96
11.	Lebenslauf	97

Abbildungen

Nummer	Inhalt	Seite
1	Aneurysmaformen	16
2	Aneurysmaauftreten	17
3	Prozentuale Aneurysmahäufigkeit im Bereich des Circulus arteriosus Willisii	18
4	Selektives Rupturrisiko für Aneurysmen	19
5	Manifestierung von Aneurysmen bezüglich verschiedener Altersgruppen	20
6	Clipping	23
7	Coiling	24
8	Stentassistiertes Coiling	26
9	Aktuell auf dem Markt erhältliche Flow Diverter	27
10	Metabolische Umwandlung von WST-1 in Forazan	29
11	Mechanismen des Zelltodes	30
12	Wirkmechanismus des LDH-Assays	32
13	Freipräparierte Arteria carotis communis (rechts)	40
14	Freipräparierte rechte Arteria carotis communis mit eingeführter 4 French Gefäßschleuse	40
15	Dilatierter Ballon in der A.carotis communis	41
16	Skizze der supraaortalen Gefäße, Lage der Schleuße, des Ballonkatheters und der Elastase während der Aneurysmainduktion	42
17	Skizze der supraaortalen Gefäße und des Aneurysmas nach der Aneurysmainduktion	43
18	Angiographische Aufnahme eines induzierten Aneurysmas	44
19	Angiographische Aufnahmen direkt nach der Implantation des Flow Diverter	45
20	Kontrollangiographien	47
21	Explantierter Flow Diverter	48
22	MRT-Aufnahmen eines Präparates mit verschiedenen Flipwinkeln	50
23	MRT-Aufnahmen eines Präparates mit unterschiedlichen Inversionszeiten	51
24	Schnittstellen der Flow Diverter die über die Aneurysmen gelegt wurden	52
25	Schnittstellen der Flow Diverter die in die Bauchaorta gelegt wurden	53
26	Einfluss des Flow Diverter Materials auf die Zellviabilität	54
27	Einfluss des Flow Diverter Materials auf Zellnekrose	55
28	Sichtbarkeit der Devices bei Durchleuchtung	57
29	Prozentuale Verteilung der Okklusionsrate der Aneurysmen drei Monate nach der Implantation	59
30	Prozentuale Verteilung der Okklusionsrate der Aneurysmen sechs Monate nach der Implantation	60
31	Prozentuale Verschlussrate aller implantierten Flow Diverter	61
32	Durchleuchtungsaufnahme von zwei in die Bauchaorta implantierten Flow Divertern	62

33	3D-Rekonstruktion von zwei in die Baucharterie implantierten Flow Divertern	62
34	Durchleuchtungsaufnahme von zwei über den Aneurysmen implantierten Flow Divertern	63
35	Durchleuchtungsaufnahme von Aneurysmen, die mit einem Flow Diverter überstentet wurden	63
36	MRT Aufnahme eines in die Baucharterie implantierten Flow Diverters	64
37	MRT Aufnahme eines verschlossenen Flow Diverters	64
38	Mikro-CT-Aufnahmen von Flow Divertern die in der Baucharterie abgesetzt wurden	65
39	Mikro-CT-Aufnahmen von Flow Divertern die über dem Aneurysma abgesetzt wurden	65
40	Mikro-CT-Aufnahmen von Flow Divertern die über dem Aneurysma abgesetzt wurden und die bei der Nachkontrolle verschlossen waren	66
41	Querschnitt durch Aneurysmen, nach histologischer Aufbereitung	66
42	Querschnitt durch Flow Diverter und überstentete Gefäße	67
43	Neointiale Proliferation entlang der Stentstreben	67
44	Neointima im Gefäßlumen	68
45	Querschnitt durch verschlossene Flow Diverter	69

Tabellen

Nummer	Inhalt	Seite
1	Genetische und erworbene Risikofaktoren	17
2	Flow Diverter Größen des Derivo®	36
3	Verteilung der Größenverhältnisse der Aneurysmen	56
4	Durchschnittliche Aneurysmagröße	56
5	Klassifikation der Okklusionsrate	58
6	Übersicht der Okklusionsraten	60
7	Neointimadicke im Flow Diverterlumen	68
8	Durchmesserstenose in den implantierten Flow Divertern	69

Diagramme

Nummer	Inhalt	Seite
1	Stärke des Signal-to-Noise-Ratio bei Messung mit verschiedenen Flipwinkeln	49
2	Intensität des Contrast-to-Noise Signals bei unterschiedlichen Inversionszeiten	51
3	Durchschnittlicher Restfluss ins Aneurysma über den Versuchszeitraum	58

Materialien

Geräte	
Angioanlage	[Ziehm Vision]
Brutschrank	BBD6220 [Heraeus]
ELISA-Reader	Infinite F200 [TECAN]
Falcon Tubes	15ml, 50ml BD Falcon TM Tubes [BD Bioscience Bedford]

	MA, USA]
Kleintier-MRT	PharmaScan 9,4Tesla [Brucker, USA]
Mikro-CT	Skyscan 1172 [Brucker, USA]
Mikroskop	Eclipse 80i [Nikon, Düsseldorf, Deutschland]
Multipipette	1200 µl, 100 µl [Eppendorf]
Perfusor	Perfusor® [B.Braun, Melsungen, Deutschland]
Pinzetten	[FST Fine Science Tools, Heidelberg, Deutschland]
Pipetten	0,5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl [Brand]
Rasierapparat	Aesculap Favorita [B.Braun AG Melsungen, Deutschland]
Scheren	[FST Fine Science Tools, Heidelberg, Deutschland]
Skalpell	[FST Fine Science Tools, Heidelberg, Deutschland]
Spektralphotometer	SLT RainBow [SLT Laboratories GmbH]
Spektralphotometer	Spectr Fluor [TECAN]
Sterilbank	Steril GARD A/B3 [The Baker Company]
Tischzentrifuge	Biofuge pico [Heraeus]
Statistikprogramm	IBM SPSS Statistics [SPSS Inc. Chicago]
Verbrauchsmaterialien	
Aspirationspipette	[Greiner Bio-One GmbH, Bestell Nr.710183]
Bepanthen Augensalbe	[Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland]
Culture slides	[Greiner Bio-One GmbH, Bestell Nr.96170202]
Dauerverweilkanüle	Optiva 2,22G, Durchmesser 0,9mm []
Deckgläser	[Marienfeld GmbH&Co KG, Bad Mergentheim, Deutschland]
Flächendesinfektion	Bacillol AF [Varitec]
Fogartyballon	[Baxter Healthcare, Irvine, Calif]
Gefäßschleuse	[Cordis Endovascular Miami lakes, Florida,USA]
Handschuhe	Vasco Nitril White [B.Braun Melsungen AG, Deutschland]
Kanülen	BD Microlance™3 Becton [Dickison and Company Limited, Drogheda Co Louth, Ireland]
Kontrastmittel	Ultravist [Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland]
Mehr-Wege-Hahn	Discofix® C 3SC [B.Braun Melsungen Ag, Deutschland]
Mersilenefaden	Ethicon Vicryl V908E 5PH.Eur. [Johnson&Johnson intl. c/o European Logistics Centre, Belgium]
Mikrokatheter	Tracker Exel 14 2-Tip [Boston Scientific, Fremont, Ca/USA]
Mikrotiterplatten	96 Well, F-bottom, transparent [Greiner Bio-One GmbH]
Mullkompressen	[Fink&Walter GmbH, Merchweiler, Deutschland]
Objektträger	[Menzel-Gläser, Braunschweig, Deutschland]
PP-Reaktionsgefäß (Eppi)	1 ml; 1,5 ml; 2 ml [Greiner Bio-One GmbH]
Pipettenspitzen	0,5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 20-200 µl, 100-1000 µl [Eppendorf]
Pipetten	1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 25 ml [Greiner Bio-One GmbH]
PP-Probenröhrchen	15 ml, 50 ml [Greiner Bio-One GmbH]
Schleuse	Avanti+Introducer [Cordis Endovascular, Miami lakes,

	Florida, USA]
Spritzen	3ml, 5ml; Syringe Luer-Lok™ Tip [BD, Franklin Lakes, NJ, USA]
Spritzen	10ml, Omnifix Luer-Lock Solo [B.Braun Melsungen AG, Deutschland]
Y-Connector	The BigEasy Rotation Y-Connector 90F/3mm [ev3, Plymouth, Minnesota, USA]
Reagenzien	
Cell Proliferation Reagent WST-1	[Roche Diagnostics, Bestell Nr. 11644807001]
Cytotoxicity Detection Kit (LDH)	[Roche Diagnostics, Bestell Nr. 11644793001]
Elastase	Schweine-Elastase [Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland]
Eosin	[Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland]
Ethanol	[JT Backer, Deventer, Niederlande]
Formaldehyd	[Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland]
Hämatoxylin n. Mayer	[Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland]
Hautdesinfektionsmittel	Softasept N [B.Braun Melsungen AG, Deutschland]
Heparin-Natrium	25000I.E./5ml [B.Braun Melsungen AG, Deutschland]
Methanol	[JT Backer, Deventer, Niederlande]
Methylmethacrylat	Technovit 9100 [Heraeus, Hanau, Deutschland]
NaCl (isotone Kochsalzlösung 0,9%)	B.Braun Infusionslösung [Braun Melsungen AG, Deutschland]
Paraffin	[Merk KGaA, Darmstadt, Deutschland]
PBS-Lösung	[PAA Laboratories GmbH, Pasching, Österreich]
TritonX-100	[SERVA, Bestell Nr. 37240]
Ultravist-370	[Bayer Vital, Leverkusen, Deutschland]
Xylol	[JT Backer, Deventer, Niederlande]
Zellkulturmedium	RPMI 1640 [Invitrogen, Bestell Nr. 21875-034]
Medikamente	
Carprofen	Rimadyl cattle 50mg/ml [Pfizer, Berlin, Deutschland]
Ketamin	Ursotamin® 100mg/ml [Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland]
Xylazin	Rompun® 2% [Bayer vital GmbH]
Pentobarbital	Narcoren [Merck GmbH, Halbergmoos, DE]
Plavix (Clopidrogel)	75mg [Sanofi-Aventis, Deutschland]
ASS +C	Brausetabletten [Ratiopharm GmbH, Deutschland]

Abkürzungen

A. abdominalis	Arteria abdominalis
A. dissecans	Aneurysma dissecans
A. spurium	Aneurysma spurium
A. subclavia	Arteria subclavia
Abb.	Abbildung
AV-Fistel	Ateriovenöse Fistel

ca.	circa
°C	Grad Celsius
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
D (2D, 3D)	dimensional
d	Tage
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
eER	Endoplasmatisches Retikulum
F	French
g	Erdbeschleunigung/Gravitation
GDC	Guglielmi-Detachable-Coils
h	Stunden
HE	Hämatoxylin-Eosin
IE	Internationale Einheit
i.m.	intra muskulär
INT	Iodotetrazoliumchloride
i.v.	intra venös
kg	Kilogramm
kV	Kilovolt
LDH	Lactatdehydrogenase
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MRT	Magnetresonanztomograph
ms	Millisekunden
MTP-Reader	Mikrotiterplatter-Reader
n	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NAD ⁺	Nicotinamidadenindinukleotid (oxidierte Form)
NADH	Nicotinamidadenindinukleotid (reduzierte Form)
nm	Nanometer
NSAID	Non steroidal antiinflammatory drugs
PBS	Phosphate buffered saline
SAB	Subarachnoidalblutung
SNR	Signal-to-Noise-Ratio
TE	Echozeit
TOF	Time of flight
TR	Pulswiederholzeit
U	Unit
WST	Water soluble tetrazolium
z.B.	Zum Beispiel

1. Historischer Hintergrund und Zielsetzung der Arbeit

Die ersten schriftlichen Berichte über Aneurysmen gehen bis ins Alte Ägypten zurück (30), präzise anatomische Schilderungen sind aber erst im 16. und 17. Jahrhundert zu finden (51, 54). 1804 wurden Aneurysmen zum ersten Mal anatomisch unterteilt. Erste Behandlungsversuche durch Exstriktion beschrieb ein Arzt namens Antyllos im 3. Jahrhundert (121). Erst im 18. Jahrhundert begannen erste Ligaturversuche von Aneurysmen.

Studien belegen, dass etwa 2% der Bevölkerung Träger eines Aneurysmas sind (124). In Autopsiestudien konnte sogar belegt werden, dass bis zu 7,8% der gesamten Bevölkerung und 11,6% der 40-49jährigen Aneurysmen haben (92). Hauptsächlich wird eine spontane Subarachnoidalblutung (SAB) durch die Ruptur eines Aneurysmas der basalen Hirngefäße verursacht, wodurch arterielles Blut in den Subarachnoidalraum eintritt. Dreißig Prozent der Patienten bei denen eine Ruptur des Aneurysmas stattgefunden hat, versterben bereits vor Erreichen des Krankenhauses. Von den Patienten, die das Krankenhaus noch rechtzeitig erreichen, versterben dreißig Prozent noch im Krankenhaus und ein weiteres Drittel trägt eine dauerhafte Behinderung davon.

Heute stehen zur Behandlung von Aneurysmen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen besteht die Möglichkeit das Aneurysma chirurgisch mit Hilfe eines Gefäßclips zu verschließen. Dies ist aber oftmals wegen einer vorhandenen Hirnschwellung sowie des Blutes im Subarachnoidalraum schwierig, hinzu kommt, dass manche Aneurysmen auch anatomisch ungünstig liegen. Eine weitere Möglichkeit zur Behandlung von Aneurysmen stellen die, in den 70er Jahren entwickelten, endovaskulären Therapien dar. Zu Beginn arbeitete man mit ablösbaren Latexballons, die an Mikrokathetern befestigt waren. Im Laufe der Jahre wurden Design und Materialverbesserungen entwickelt, um die Trägergefäße besser zu schützen. Ein wirklicher Durchbruch aber gelang erst Anfang der 90er Jahre durch Guglielmi (47) mit der Entwicklung von elektrolytisch ablösbaren Platinspiralen (GDC). Mit Hilfe dieser endovaskulären Therapie zur Behandlung intrakranieller Aneurysmen besteht unmittelbar nach der diagnostischen Angiographie die Möglichkeit, einen speziell markierten Mikrokatheter koaxial durch einen Führungskatheter in nahezu jedes intrakranielle Aneurysma zu leiten.

Mittlerweile stellt die endovaskuläre Behandlung von intrakraniellen Aneurysmen zwar einen minimal invasiven Eingriff dar, jedoch ist dieser nicht frei von Risiken. Zu

diesen gehören vor allem thromboembolische Komplikationen mit distalen Gefäßverschlüssen oder zerebralen Infarkten. Die Ursachen sind zum Teil materialbedingt oder haben eine mechanische Ursache wie das Herausschwemmen von Thromben aus dem Aneurysma. Ebenfalls stellt sich die Rekanalisation von initial nicht vollständig verschlossenen Aneurysmen oftmals als problematisch dar.

Seit einigen Jahren bietet die aktive Beeinflussung des Blutstroms durch sogenannte Flow Diverter eine gute alternative Behandlungsmöglichkeit zu bisher verwendeten Coils, Stents oder Stent-Coil-Kombinationen. Ein Flow Diverter besteht aus einem dichten Netzwerk aus dünnen Drähten, die die Strömungsverhältnisse ins Aneurysma so beeinflussen, dass es nach kurzer Zeit zur Stase des Blutes und anschließender Thrombogenesis im Aneurysma kommt, die dünnen Drahtmaschen verhindern dabei ein Abfließen des Gerinnsels aus dem Aneurysma.

Vor diesem Hintergrund war es das Ziel dieser Studie die aktuellen Entwicklungen eines Flow Diverters aufzuzeigen und gleichzeitig unter Betrachtung verschiedener Parameter die Stärken und Schwächen dieses Flow Diverters (Derivo®) im Vergleich zu vorangegangenen Modellen zur endovaskulären Behandlung von Aneurysmen aufzuzeigen .

Hierbei sind folgende Fragen zu beantworten:

- Hat das Material des Flow Diverters cytotoxische Auswirkungen auf ihn umgebende Zellen
- Welche Risiken birgt die endovaskuläre Aneurysmathherapie mit Flow Divertern?
- Welche Komplikationen sind während oder nach dem Eingriff aufgetreten?
- Wie oft treten Komplikationen auf?
- Wie häufig ist es möglich das Aneurysma direkt bei der Behandlung komplett zu verschließen?
- Wie viel Zeit wird benötigt bis zum kompletten Verschluss des Aneurysmas?
- In wie vielen Fällen ist es überhaupt möglich das Aneurysma zu verschließen?
- Wie oft treten thromboembolische Komplikationen auf?
- Wie beeinflusst der Stent die Gefäßwand?
- Kommt es zur Ausbildung einer „neuen“ Neointima im Lumen des Flow Diverters?

2.1. Zusammenfassung

Aktuelle Studien belegen, dass etwa 3% aller Erwachsenen Träger eines Aneurysmas sind, die Häufigkeit erhöht sich mit zunehmendem Lebensalter (117, 141). Viele Aneurysmen werden als Zufallsbefund diagnostiziert. Auch wenn die meisten, auf diese Weise entdeckten Aneurysmen nicht platzen (143), besteht dennoch Handlungsbedarf, da nicht vorhergesagt werden kann welche Aneurysmen platzen und welche nicht. Dabei spielen auch entsprechende Risikofaktoren wie beispielsweise Rauchen, Bluthochdruck oder Alkoholmissbrauch eine wichtige Rolle (35). Zur Behandlung von Aneurysmen stehen verschiedene Möglichkeiten zur Verfügung. Neben dem operativen Verschluss durch Clipping des Aneurysmas, können Aneurysmen auch interventionell verschlossen werden. Interventionell kann ein Aneurysma mittels Coil, Coil-Stent-Kombination, Flüssig-Embolysat oder auch durch einen Flow Diverter verschlossen werden. Gerade in den letzten Jahren kommen vermehrt Flow Diverter zum Einsatz. Ein Flow Diverter ist ein Stent mit einem sehr engen Maschengeflecht oder zum Teil verschlossenen Poren. Das Prinzip beruht auf der Flussumleitung des Blutes, wodurch das Aneurysma im Idealfall vom Blutstrom komplett abgetrennt wird und sich so ein Thrombus im Aneurysma bildet. Im Laufe der Zeit kommt es dann zu einem organisierten Thrombus im Aneurysma und einer Neubildung der Neointima über dem Aneurysmahals.

In dieser Studie wurde ein neu entwickelter Flow Diverter (Derivo®) sowohl in vitro als auch in vivo getestet und bezüglich seiner Wirksamkeit bewertet. Die durchgeführten Biokompatibilitätstests belegten eine gute Verträglichkeit des Materials. Es konnte gezeigt werden, dass der Flow Diverter weder die Zellviabilität beziehungsweise Zellproliferation beeinflusst, noch nekrotische Auswirkungen auf die ihn umgebenden Zellen hat.

Das in vivo verwendete Tiermodell (Elastase-induziertes-Aneurysmamodell) in New Zealand White Rabbits wurde 1999 entwickelt und ist seit 2005 an unserem Institut etabliert. Die Handhabung des Flow Diverters erwies sich als unkompliziert und die Sichtbarkeit des Devices während den angiographischen Kontrollen war über den Verlauf des gesamten Versuchszeitraums gut.

Den Tieren wurde sowohl ein Flow Diverter über das Aneurysma platziert als auch, um die Durchgängigkeit abgehender Gefäße beurteilen zu können, in die Bauchorta. Der verwendete Flow Diverter zeigte schon nach drei Monaten bei 88%

der Tiere einen kompletten Verschluss der Aneurysmen, lediglich bei 11% war ein Restfluss (Okklusionsrate Grad II) ins Aneurysma festzustellen. Bereits nach sechs Monaten waren alle Aneurysmen bis auf eins (Grad III) komplett verschlossen. Die histologische Auswertung zeigte in allen Aneurysmen teilorganisierte Thromben, nach sechs Monaten in fünf von neun Fällen sogar komplett organisierte Thromben. Die zusätzlich durchgeführten Mikro-MRT und Mikro-CT Untersuchungen belegten zum einen die histologischen Ergebnisse. Des Weiteren waren während des gesamten Versuchszeitraums, auch unter starker mechanischer Beanspruchung des Flow Diverters, keine Brüche von Stentstreben nachzuweisen.

Der in dieser Studie getestete Flow Diverter (Derivo®) stellt auf Grund der Ergebnisse gute Möglichkeiten für die Behandlung von nicht rupturierten Aneurysmen im Menschen in Aussicht.

2.2. Abstract

Current studies show that about 3% of all adults have an aneurysm; the frequency increases with age (117, 141). Many aneurysms are diagnosed as incidental findings. While most of these aneurysms don't burst (143) there is need for action, because it is not possible to predict which aneurysms will burst and which ones won't (143). Corresponding risk factors like smoking, high blood pressure or alcohol abuse also play an important role (35). For therapy there are different options. Besides operational occlusion by clipping of the aneurysm, it is possible to occlude the aneurysm interventionally. Interventional occluding can be performed with the help of coils, coil-stent-combinations, liquid embolization or with the help of a flow diverter. The latter have been used more and more over the past years. A flow diverter is a stent with a tight mesh web or partially closed pores. The principle is based on blood stream diversion, which ideally will completely cut off the aneurysm from the blood stream and a thrombus will form in the aneurysm. Gradually an organized thrombus will develop in the aneurysm and a new neointima will grow growth over the neck of the aneurysm.

In this study a newly developed flow diverter (Derivo) was tested in vitro as well as in vivo and evaluated regarding its effectiveness. The biocompatibility tests performed showed a good compatibility of the material. It could be shown that the flow diverter does not influence the cell viability or the cell proliferation, nor does it have necrotic effects on the ambient cells.

The in vivo animal model used (elastase induced aneurysm model) in New Zealand White Rabbits was developed in 1999 and has been established since 2005 in our institute. The handling of the flow diverter proved uncomplicated and the visibility of the device was good during the entire experiment.

All animals received a flow diverter over the aneurysm as well as in the A. abdominalis for judging the patency of outgoing branches. The flow diverter used showed after 3 months already complete occlusion of the aneurysms in 88% of all animals, merely 11% showed a slight blood flow in the aneurysm (occlusion grade II). After 6 months all aneurysms except one (occlusion grade III) were completely closed. The histological analysis showed in all aneurysms partially organized thrombi, after 6 months even completely organized thrombi in 5 of 9 cases.

The micro-MRT and micro-CT analyses performed in addition confirmed the histological findings. There were also no breaks found of the stent struts over the entire experiment, even under strong mechanical strain.

On the basis of these results the flow diverter tested in this study offers a perspective of good therapy possibilities for unruptured aneurysms in humans.

3. Einleitung

3.1. Theoretischer Teil

3.1.1. Aneurysmen

Unter einem Aneurysma versteht man eine Ausstülpung der arteriellen Gefäßwand (unterschiedlicher Genese). Aneurysmen lassen sich in unterschiedliche Größen und Formen einteilen.

Anatomisch unterteilt man ein Aneurysma in Hals (Eingang des Aneurysmas), der meist schmaler ist als der distale Teil und Dom (distaler, luminaler Anteil).

Sacculäre Aneurysmen (Abbildung 1) sind mit ihrer typischen Sackform mit 60-90% aller vorkommenden Aneurysmen die Häufigsten (71)

Die Ausdehnung von Aneurysmen reicht von 2 Millimetern bis zu mehreren Zentimetern. Bei Aneurysmen bis zu einer Größe von 1,5 Zentimetern Durchmesser spricht man auch von „Berry Aneurysms“ (32). Größere Aneurysmen bis zu 2,5 Zentimetern werden immer noch als kleine sacculäre Aneurysmen bezeichnet und Aneurysmen mit einer Größe über 2,5 Zentimetern nennt man „Giant Aneurysms“ (42). Sacculäre Aneurysmen kann man anhand der Anatomie des Aneurysmahalses wiederum in schmalbasige (<4mm) und breitbasige (>4mm) Aneurysmen unterteilen. Ein weiterer häufig vorkommender Aneurysmatyp ist das fusiforme Aneurysma, dies stellt eine umschriebene, dilatative Erweiterung eines Gefäßabschnittes dar. Diese Erweiterung ist im typischen Fall spindelförmig, tritt aber auch in unregelmäßiger Form auf (Aneurysma diffusum, serpentinum) (Abbildung 1).

Von diesen Aneurysmen (Aneurysma verum) abzugrenzen sind Aneurysmen, die durch Gefäßverletzungen mit begleitendem perivaskulärem Hämatom entstanden sind (Aneurysma falsum oder spurium (weniger als 1%) (24). Durch Veränderungen der Adventiva und der angrenzenden Gewebe entsteht eine Art Kapsel oder Pseudowand zwischen Hämatom und Gefäßwand, die Resorption des Hämatoms mit durch den Blutfluss bedingten Auswascheffekten führt zur Bildung eines Lumens (Abbildung 1).

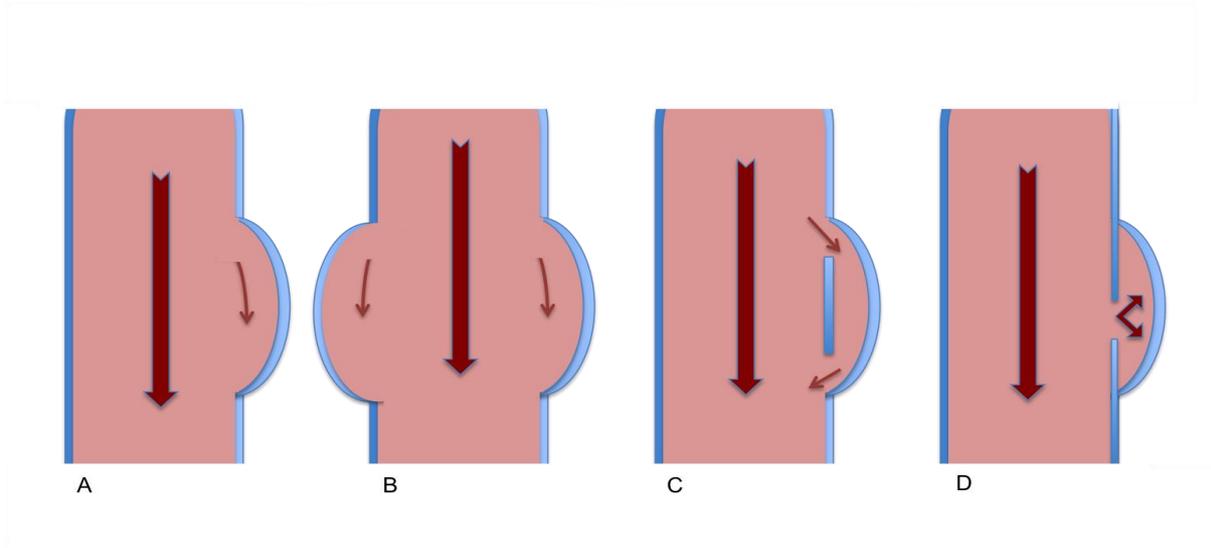


Abbildung 1: Aneurysmaformen: A) und B) echte Aneurysmen A) sackförmig, B) spindelförmig/ fusiform, C) dissezierendes Aneurysma (A. dissecans), D) falsches Aneurysma (A.spurium)/ Dissektionsaneurysma

Des Weiteren besteht die Möglichkeit Aneurysmen begrifflich symptomatisch zu unterscheiden. Erstens das rupturierte Aneurysma, der sogenannte apoplektische Typ (Abbildung 2C). Zweitens das paralytische Aneurysma, einhergehend mit Subarachnoidalblutung und Lokalsymptomen durch Druck, oftmals auch einhergehend mit Hirnnervenlähmungen. Drittens das inzidentelle Aneurysma, das meist nur als Zufallsbefund entdeckt wird und bisher noch keine Symptome hervorgerufen hat (Abbildung 2B). Die Entstehung solcher Aneurysmen ist bisher noch relativ unklar, es bestehen hierzu allerdings mehrere Theorien. Zum einen wird angenommen, dass ein angeborener Gendefekt die Ursache ist und zum anderen besteht die Hypothese, dass ein postnatal entstandener Defekt dem Aneurysma zugrunde liegt; allerdings besteht auch die Möglichkeit der Verbindung dieser beider Theorien (18). Die Verbindung beider Theorien geht davon aus, dass eine angeborene Schwäche der Lamina muscularis und der elastica interna im Bereich der Abgänge von Hirngefäßen oder Teilungsstellen vorliegt. Durch hämodynamische Faktoren wie Pulsation, „Wasserhammer-Effekt“ und Hypertonie (45) sowie degenerative Veränderungen kann es nun zu einer zunehmenden Aussackung der Gefäßwand kommen. Beispielsweise an Gefäßbifurkationen kommt es durch den zentralen Blutstrom zu hohem axialem Druck auf das Endothel. Durch diesen permanenten hämodynamischen Stress kann es zu einer lokalen Degeneration der Lamina elastica interna kommen und folglich begünstigt dies ein Aneurysma. In einer

bereits kleinen Aussackung können Turbulenzen entstehen, die letztendlich dann zu einer Größenzunahme oder sogar Ruptur des Aneurysmas führen können (37) (Abbildung 2).

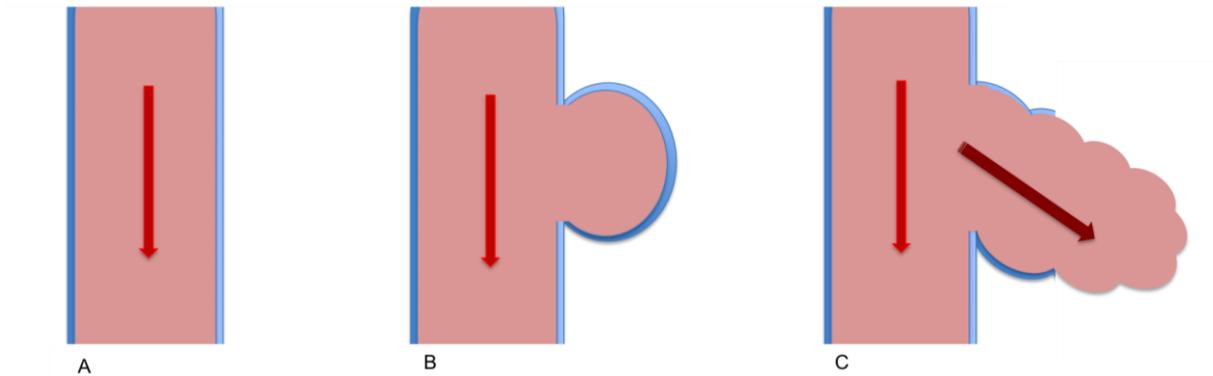


Abbildung 2: A) Intaktes Gefäß, B) unrupturiertes Aneurysma, C) rupturiertes Aneurysma

Allgemein kann man zwischen zwei prädisponierenden Faktoren unterscheiden, zum einen die genetischen und zum anderen die erworbenen Risikofaktoren (Tabelle 1)

Tabelle 1: Genetische und erworbene Risikofaktoren

Genetische Risikofaktoren	Erworbene Risikofaktoren
Alpha-antitrypsin Mangel	Alkoholabusus
Alpha-glucosidase Mangel	Hypertonus
Autosomal dominante polyzystische Nierenerkrankung	Infektion der Gefäßwand
Ehlers-Danlos-Syndrom Typ IV	Kokainabusus
Fibromuskuläre Dysplasie	Kraniales Trauma
Geschlecht	Rauchen
Klinefelter's Syndrom	zunehmendes Alter
Marfan-Syndrom	
Neurofibromatose Typ I	
Noonan's Syndrom	
Pheochromozytom	
Tuberöse Sklerose	
Arteriosklerose	

Aneurysmen können mit der Zeit ihre Größe und Form verändern (2). Beispielsweise können durch Teilthrombogenesisierungen im Lumen neue Aussackungen entstehen (148). Kommt es zu einer Überschreitung der grenzwertigen Wandspannung rupturiert das Aneurysma. Welche Aneurysmen letztendlich zu einer Blutung führen ist nicht absehbar. Makroskopische Untersuchungen ergaben, dass Aneurysmenwände von rupturierten Aneurysmen häufig (> 57%) unregelmäßige Ausbuchtungen aufweisen, sogenannte Loculi, während diese Loculi bei nicht rupturierten Aneurysmen wesentlich seltener zu finden sind (<16%) (25, 65, 117, 150). Die Häufigkeit des Auftretens der Loculi nimmt mit zunehmender Aneurysmagröße zu. Studien zu Folge gibt es nicht nur Unterschiede in der Rupturrate von Aneurysmen verschiedener Größe, auch ob es sich um symptomatische oder asymptotische Aneurysmen handelt, steht in Zusammenhang mit dem Rupturrisiko. Eine internationale Studie „Study of unruptured intracranial aneurysms“ (61, 63) ergab bei nicht symptomatischen Aneurysmen eine wesentlich niedrigere Rupturrate als bei symptomatischen Aneurysmen (19, 60, 61, 146, 147, 150).

Unterschiedliche Studien belegen, dass Aneurysmen vorzugsmäßig in bestimmten Bereichen des Circulus arteriosus Willisii sowie den benachbarten basalen Hirnarterien auftreten. Dabei ist das Vorkommen an Gefäßabgängen oder Gefäßaufzweigungen weitaus häufiger (101) (siehe Abbildung 3). Auch anatomische Variationen des Circulus Willisii können auf Grund der veränderten hämodynamischen Gegebenheiten zu Aneurysmen führen (70).

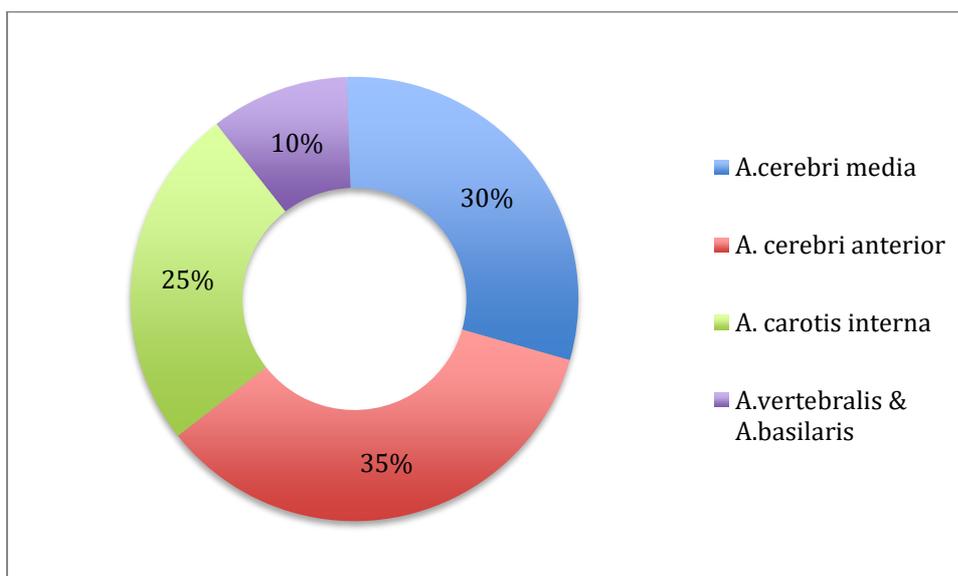


Abbildung 3: Prozentuale Aneurysmahäufigkeit im Bereich des Circulus arteriosus Willisii

Die schon oben angeführte ISUIA-Studie konnte auch zeigen, dass die Lokalisation des Aneurysmas auch ein Indikator für das Rupturrisiko darstellt. Aneurysmen des Arteria communicans-posterior-Segments weisen ein niedrigeres selektives Rupturrisiko auf als Aneurysmen der Basilarispitze (55, 64) sowie vertebrobasiläre Aneurysmen (38, 55), die wesentlich höhere Rupturrisiken aufweisen (Abbildung 4), allerdings sind die Zusammenhänge noch nicht ganz ersichtlich (19, 21, 147).

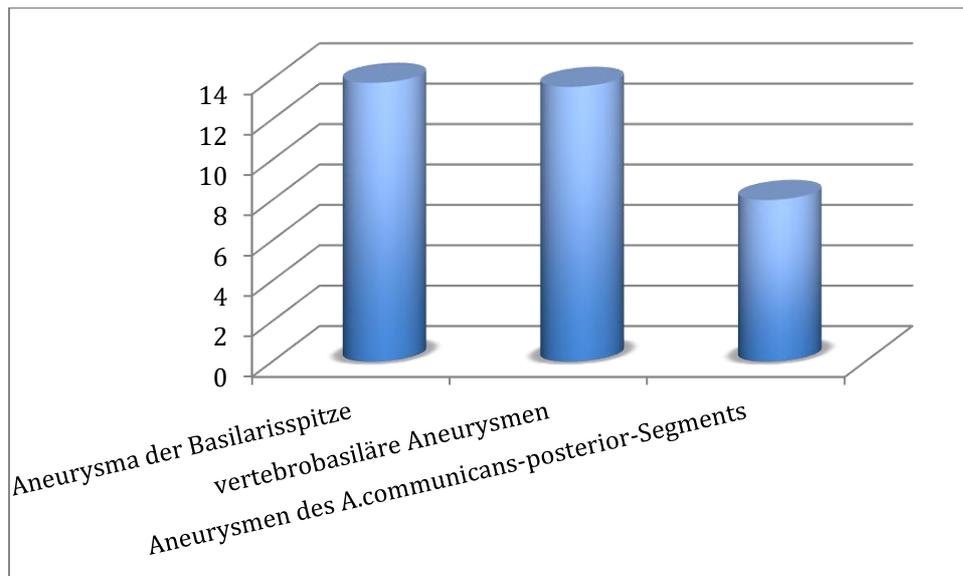


Abbildung 4: Selektives Rupturrisiko für Aneurysmen

3.1.2. Klinisches Auftreten von Aneurysmen

Nicht-rupturierte intrakranielle Aneurysmen

Oft handelt es sich bei der Diagnose von nicht-rupturierten Aneurysmen um Zufallsbefunde, die bei der Abklärung anderer Befunde diagnostiziert werden (115). Durch die immer fortschreitende Weiterentwicklung bildgebender nichtinvasiver Verfahren wie der MRT, der CT sowie der MR-Angiographie und der CT-Angiographie nimmt die Zahl der diagnostizierten asymptomatischen, nicht-rupturierten Aneurysmen deutlich zu.

Mehrere Autopsiestudien belegen ein Vorkommen von Aneurysmen bei Erwachsenen mit einer Rate von 1-6% (59, 92), wobei die Prävalenz von inzidentellen intrakraniellen Aneurysmen bei Erwachsenen (nach Durchführung einer zerebralen Angiographie) zwischen 0,5% und 1% liegt (149). Mehrere Studien, sowohl klinische als auch Autopsiestudien zeigen den Inzidenzanstieg von arteriellen Aneurysmen mit zunehmendem Alter. Abbildung 5 verdeutlicht die Manifestierung von

Aneurysmen im Bezug auf verschiedene Altersgruppen (85). Bei 20% bis 30% der Patienten ist es möglich multiple intrakranielle Aneurysmen nachzuweisen (24, 118). Geschlechterbezogene Unterschiede in der Häufigkeit von Aneurysmen konnten bisher nicht belegt werden (102)

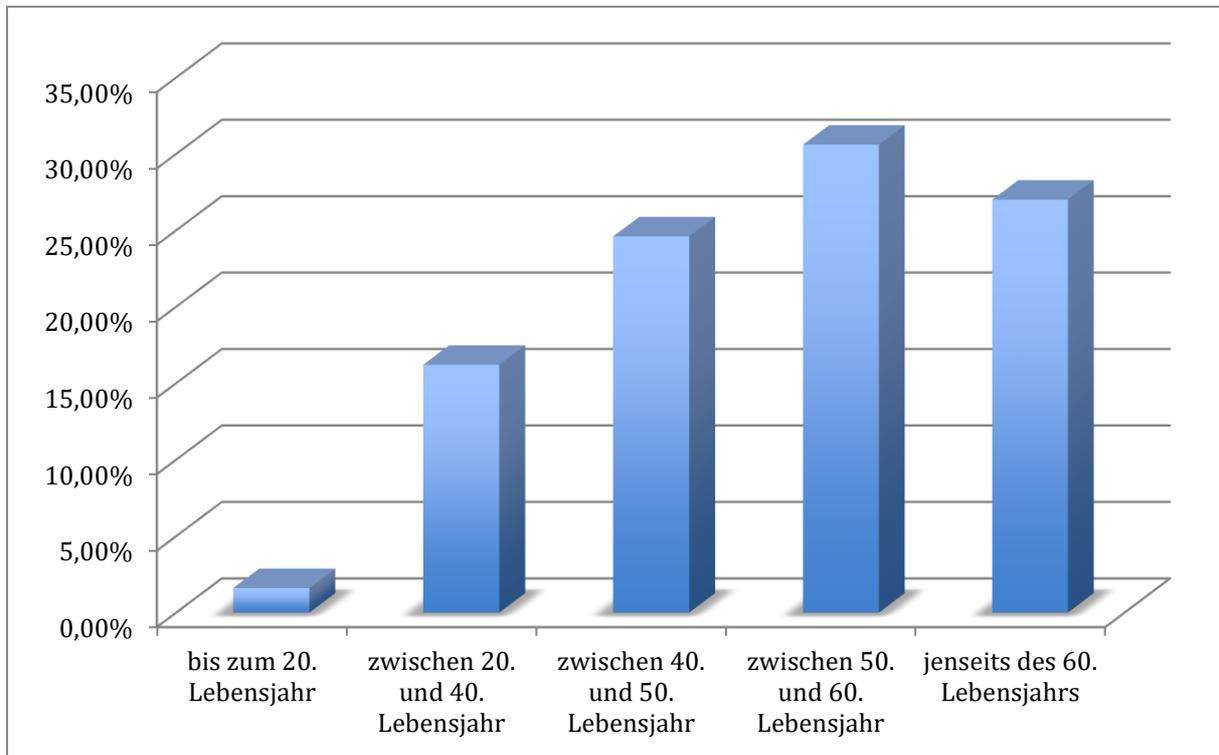


Abbildung 5: Manifestierung von Aneurysmen bezüglich verschiedener Altersgruppen

Komplikationen

Symptomatische, asymptomatische und rupturierte Aneurysmen unterscheiden sich auch bezüglich ihrer Komplikationsrate. In einer 2004 erschienenen Publikation liegt die prozedurbedingte Morbidität asymptomatischer Aneurysmen bei 7,1%, die Mortalität bei 0,7% (79). Durch Material- und Technikverbesserungen sanken diese aber in der darauf folgenden Zeit ab. Die Morbidität liegt nun bei 4,5% (10, 11, 98).

Eine weitere Komplikation sind zerebrale Ischämien, die distal des Aneurysmas auftreten (110). Bei zerebralen Ischämien handelt es sich um embolisch durch intraaneurysmatische Thromben verursachte Ischämien.

Subarachnoidalblutung

Subarachnoidalblutungen entstehen durch intrakranielle Blutungen, die Anschluss an den Subarachnoidalraum finden. Meist liegt die Ursache in der Ruptur eines

Aneurysmas der basalen Hirnarterie. Die vorher schon pathogen veränderte und verdünnte Aneurysmawand kann durch Überdehnung reißen und dies führt dann zur Einblutung in den Subarachnoidalraum. Hinzu kann eine Ventrikelblutung, eine umschriebene Blutung im Parenchym (in 40-70% der Fälle ein intrazerebrales Hämatom) oder ein Einbruch in den Subduralraum kommen (47). Weitere Ursachen sind neben Traumata, Sinus- und Venenthrombosen auch Vaskulitiden, Angiome, intrazerebrale Tumore, durale AV-Fisteln oder Gerinnungsstörungen.

Bei 2-5% aller Patienten mit akutem Hirnschlag liegt eine Subarachnoidalblutung als Ursache zu Grunde (131). Bei 51% der Patienten führt die Subarachnoidalblutung zum Tod, ein Drittel der Überlebenden ist lebenslänglich auf Pflege angewiesen (58). Liegt der Subarachnoidalblutung ein Aneurysma zu Grunde, besteht die Gefahr einer Rezidivblutung, deren Todesrate bei 80% liegt (85).

Raumfordernde Wirkung /paralytische Aneurysmen

Auch ohne den Nachweis einer Subarachnoidalblutung können Aneurysmen auf Grund ihrer raumfordernden Wirkung symptomatisch werden. Dabei handelt es sich meist um relativ große sogenannte Riesen- oder Giantaneurysmen (siehe vorne und 114). Symptome einer raumfordernden Wirkung von Aneurysmen sind meist Kopfschmerzen (114), Gesichtsausfälle, Trigemiusneuralgie, Hirnstammdysfunktion, Krampfanfälle, hypothalamische/hypophysische Dysfunktionen sowie das Sinus Cavernosus-Symptom, Tinnitus oder auch fasziale Schwäche (103). Bei nicht-rupturierten-intrakraniellen Aneurysmen mit raumfordernder Wirkung besteht ein Rupturrisiko von 6% pro Jahr (146)

Intrakranielle Dissektionsaneurysmen/traumatische Aneurysmen

Traumatische intrakranielle Aneurysmen, wie Dissektionsaneurysmen (Abbildung 1) treten hauptsächlich nach Schädelverletzungen auf oder können durch direkte Manipulation an der Gefäßwand entstehen. Wenn Blut durch einen Riss der Tunica intima in die Arterienwand eindringt und sich dort über eine Fläche verteilt, führt dies zu einer Abhebung der Tunica intima von der Tunica media.

Sie können in den unterschiedlichsten Formen zu finden sein. Der klinische Verlauf von traumatischen Aneurysmen ist wie die Aneurysmen selbst sehr unterschiedlich.

Mykotische bzw. Infektassozierte intrakranielle Aneurysmen

Infektassozierte Aneurysmen können verschiedene Ursachen haben wie beispielsweise eine Virusinfektion, eine Pilzinfektion oder auch als Folge einer septischen Embolie auftreten. Auch extravasale Infektionen wie beispielsweise Meningitiden können durch eine lokale Schwächung der Gefäßwand infektassozierte Aneurysmen verursachen. Nicht rupturierte infektassozierte Aneurysmen sollten bezüglich ihrer Größe ständig kontrolliert und erst nach Abklingen der Infektion behandelt werden (14, 105).

Neoplastische Aneurysmen

Diese Aneurysmen entstehen durch die intravasale Verschleppung von Tumorzellen, was letztendlich zur Infiltration der Gefäßwand führen kann.

3.1.3. Therapiemöglichkeiten

Es stehen aktuell grundsätzlich zwei unterschiedliche Behandlungsansätze zur Verfügung.

3.1.3.1. Operativer Verschluss

Der operative Verschluss durch Platzieren eines Clips auf den Hals des Aneurysmas stellt die klassische Methode dar und beweist ihre Effektivität seit mehr als 50 Jahren. Der Aneurysmaverschluss wird über eine Kraniotomie durchgeführt. Dabei wird, um das Aneurysma in seinem Abgang darzustellen der knöcherne Schädel sowie die Hirnhaut geöffnet und das Gehirn retrahiert, die basalen Hirnnerven werden unter dem Mikroskop präpariert, anschließend wird der Aneurysmahals mit einem Clip verschlossen (Abbildung 6).

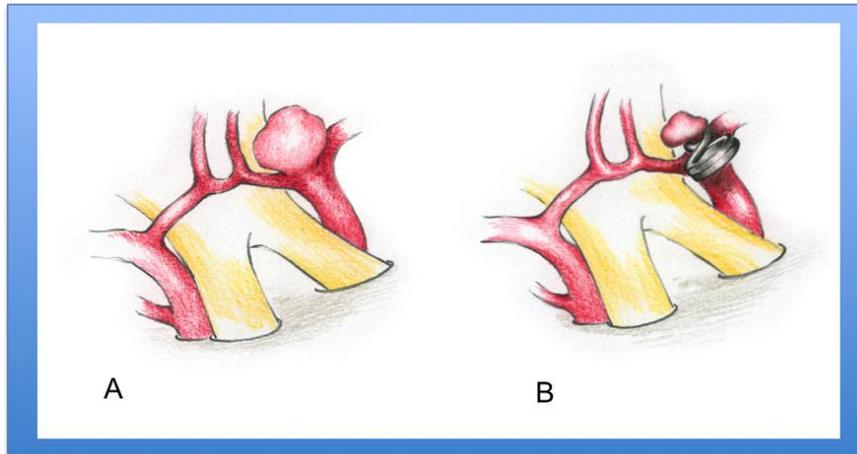


Abbildung 6: Clipping: A) zeigt ein Aneurysma an der Teilungsstelle der Arteria carotis interna in unmittelbarer Nähe zum Sehnerv (gelb). B) zeigt das Aneurysma nach Anbringen eines Titanclips, der die Blutzufuhr ins Aneurysma unterbindet. Quelle: Klinikum Stuttgart

Die prozentuale Morbidität und Mortalität bei diesem Verfahren sind stark abhängig von der Lokalisation und Größe des Aneurysmas und liegen durchschnittlich zwischen 2,6% und 10,9% (112). Des Weiteren weist dieses Verfahren immer noch einige Nachteile auf. Es kann durch die Retraktion des durch die Blutung unter Druck stehenden Gehirns zu irreversiblen Parenchymschädigungen kommen. Bei sehr starker (maligner) Hirnschwellung kann das Aneurysma unter Umständen gar nicht behandelt werden. Außerdem sind nicht alle Aneurysmen (insbesondere die auf Niveau der Schädelbasis) operativ erreichbar. Studien zeigen, dass nach dem Clippen eines Aneurysmas in 5,2% der Fälle noch ein Restaneurysma besteht oder ein inkompletter Verschluss des Halses vorliegt (137). Die im Jahr 2001 erschienene ISAT-Studie hat gezeigt, dass sowohl die Mortalität als auch der Grad der Behinderung nach einem Jahr durch endovasculäre Therapie besser als nach einem Clipping ist (62).

3.1.3.2. Endovasculäre Therapie

Die ersten endovasculären Therapieversuche zeigten, dass zum einen die Möglichkeit der Sondierung von Aneurysmen besteht und es zum anderen möglich ist mit Hilfe von Spezialballons das komplette Aneurysma „still zu legen“. Allerdings brachten die ersten Langzeitstudien keine zufriedenstellenden Ergebnisse. In den darauffolgenden Jahren wurden verschiedene endovasculäre Therapien entwickelt.

Coils

Zuerst arbeitete man mit freien Spiralen, die später durch elektrolytisch ablösbare Platinspiralen (13, 49, 50, 89, 94) ersetzt wurden. Diese haben den Vorteil, dass sie bei einer Fehlplatzierung problemlos wieder entfernt werden können. Durch das Einbringen der Platinspiralen soll das Aneurysma möglichst dicht bepackt werden, sodass kein Restfluss ins Aneurysma mehr möglich ist, letztendlich soll es dann durch Thrombogenität zum kompletten Verschluss des Aneurysmas kommen. Mittlerweile werden diese Guglielmo Detachable Coils (GDC) weltweit angewandt und haben einen festen Stellenwert in der Behandlung von intrakraniellen Aneurysmen (13, 33, 89, 94, 128). Aktuell stehen mehrere Arten von Coils zur Verfügung, die sich zum einen in der Steifigkeit und dem Formgedächtnis und zum anderen die Beschichtung betreffend unterscheiden wie beispielsweise reine Platincoils, hydrogengecovertete Coils oder andere bioaktive Coils (93, 108, 144, 145). Auch kann man zwischen sogenannten 3D- (Framing- bzw. Rahmen-) Coils, die ein „Gerüst“ bilden sollen und den 2D-(Füllungs-) Coils, die zur Füllung dienen, unterscheiden (Abbildung 7). Studien ergaben, dass durch das Einbringen von Coils eine Packungsdichte von 20-30% des Aneurysmavolumens erreicht werden kann (116).

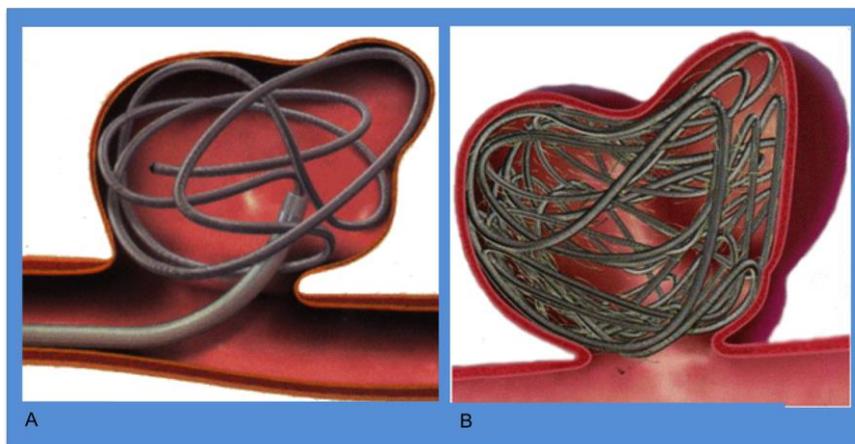


Abbildung 7: Coiling: A) Füllung des Aneurysmas mit 3D-Coil, B) Vollständig mit 2D-Coils gefülltes Aneurysm. *Quelle: Hospital 9 de Octubre, Allee Valle de la Ballestera 59, 46015 Valencia, Spanien*

Auch verschiedene Ablösungsmechanismen stehen mittlerweile zur Verfügung. Außer elektrolytisch ablösbaren Coils werden auf dem Markt auch hydraulisch, mechanisch und thermisch ablösbare Coils angeboten. Zum Einbringung der Coils ins Aneurysma stehen unterschiedliche Möglichkeiten zur Verfügung. Zum einen

können Coils durch das sogenannte Ballon assistierte Coiling eingebracht werden (96) und zum anderen durch das sogenannte Stent assistierte Coiling (91, 107, 133, 139).

Allerdings weist auch die Behandlung von Aneurysmen mittels Coiling noch ungelöste Probleme auf und auf Dauer sind die Ergebnisse nicht einhundertprozentig zufriedenstellend (23, 39, 96). Durch histologische Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass häufig kein kompletter Verschluss durch Fibrosierung sondern nur durch einen unorganisierten Thrombus erreicht wird, dazu kommt eine gewisse Rekanalisierung des Aneurysmas. Des Weiteren ist es wichtig darauf zu achten, dass keine Coilschlingen aus dem Aneurysma heraus ins Gefäß ragen, da dies zu thromboembolischen Komplikationen führen kann.

Flüssig-Embolysat

Bei dem auf dem Markt erhältlichen Onyx handelt es sich um ein flüssiges Embolysat, welches anstelle von Coils in das Aneurysma gespritzt wird. Dort härtet es aus und verschließt somit das Aneurysma. Um das Trägergefäß zu schützen wird bei dieser Methode mit einem Ballon gearbeitet. Studien ergaben vergleichbare Ergebnisse wie bei herkömmlichen Behandlungsmethoden (95, 97, 109, 120).

Stents

Zu Beginn der 90er Jahre fanden Stents ihren Einzug in die Behandlung neurovaskulärer Erkrankungen. Bis dahin war das Haupteinsatzgebiet von Stents die Behandlung koronarer Erkrankungen, daher wurden die ersten neurovaskulären Behandlungen auch mit Coronarstents durchgeführt (36). Da die Behandlung von neurovaskulären Erkrankungen andere Ansprüche an einen Stent stellt als die Behandlung von kardiologischen Erkrankungen, wurden die Stents dementsprechend weiterentwickelt. Die ersten intrakraniellen Stents wurden 1997 eingesetzt (12, 56). Heute werden in der intrakraniellen Behandlung meistens selbstexpandierende Nitinolstents verwendet. Mittlerweile sind verschiedene Stents zur intrakraniellen Aneurysmabehandlung auf dem Markt (135, 142) erhältlich.

Um die Effektivität des Aneurysmaverschlusses zu verbessern wurden zunehmend Flussanalysen in vitro als auch in vivo durchgeführt (6, 76, 83). Es wurde sowohl der hemodynamische Effect im Aneurysma bei Behandlung (84, 123, 136) als auch der Einfluss der Devices selbst auf die Hemodynamik untersucht (16, 17, 82, 151). In

diesen Untersuchungen wurden sowohl das Stentdesign, die Porosität, die Porengröße als auch die Flexibilität und deren Einfluss auf die Hämodynamic untersucht.

Stentassistiertes Coiling

Das stentassistierte Coiling ist eine Kombination aus der Behandlung mittels Stent und Coils. Dabei wird ein Stent mit dünnen Streben und weitem Maschensystem über das Aneurysma gesetzt. Anschließend wird über einen Mikrokatheter durch die Stentmaschen das Aneurysmalumen sondiert und Coils im Inneren platziert (Abbildung 8).

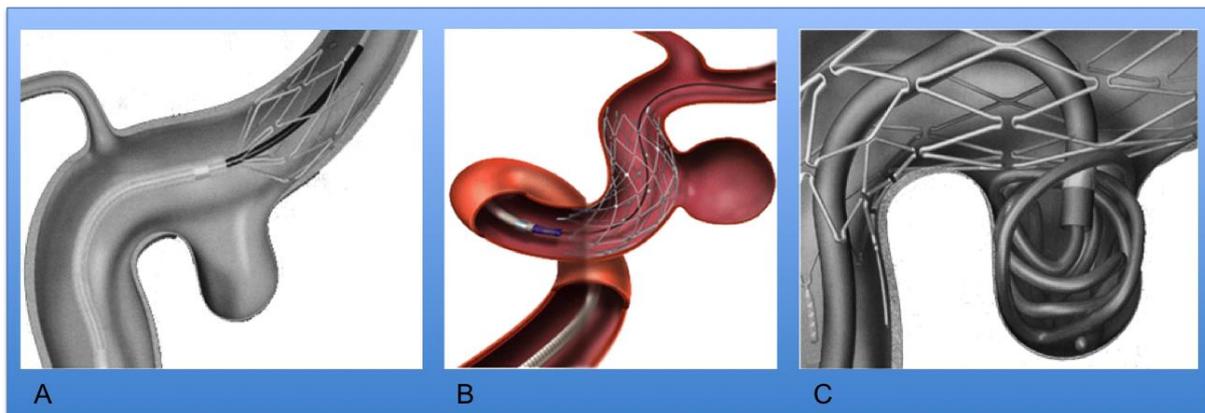


Abbildung 8: Stentassistiertes Coiling: A) Einbringung des Stents in das Trägergefäß B) Entlassen des Stents über dem Aneurysmahals C) Coiling des Aneurysmas durch die Stentmaschen. Quelle: Hospital 9 de Octubre, Allee Valle de la Ballestera 59, 46015 Valencia, Spanien

Der Vorteil von stentassistiertem Coiling zu reinem Coiling ist zum einen, dass das Trägergefäß durch die Aufstellkraft des Stents offen gehalten wird und zum anderen wird durch die Stentstreben die über dem Aneurysmahals liegen ein Herausrutschen der Coils ins Trägergefäß verhindert. Eine mögliche Langzeitkomplikation stellen Stenosen dar (39).

Flow Diverter

Seit einigen Jahren kommen vermehrt sogenannte Flow Diverter zum Einsatz, darunter versteht man Stents mit einem sehr engen Maschengeflecht oder zum Teil verschlossenen Poren, die sich das Prinzip der Blutflussumleitung zu Nutze machen (29, 67, 68, 43, 126, 127, 138).

Das Grundprinzip besteht darin, das Aneurysma vom Blutstrom komplett abzutrennen, es somit direkt zu verschließen und den Blutfluss entlang der Longitudinalachse des Gefäßes umzuleiten (29). Die dadurch entstehende Stase im Aneurysma führt nach kurzer Zeit zur Thrombogeniesierung. Durch das enge Maschengeflecht wird ein Lösen des Thrombus in die Blutbahn verhindert. Des Weiteren bildet sich über dem Aneurymahals eine Gewebsschicht aus Fibroblasten und glatten Muskelzellen, die sogenannte Neointima, was letztendlich zur Rekonstruktion des ursprünglichen Gefäßes führt.

Ein großer Vorteil dieser Behandlungsmethode ist die fehlende Manipulation im Aneurysma, wodurch das periinterventionelle Risiko einer Aneurysmaruptur erheblich sinkt. Ebenso erweitert sich durch die Behandlung von Aneurysmen mit Flow Divertern das Spektrum der interventionellen Neuroradiologie um Aneurysmen, die bisher nur neurochirurgisch erreichbar waren. Des Weiteren konnten Studien belegen, dass bei der Überstentung von Blutgefäßen mit einem Flow Diverter die Blutversorgung dieser Gefäße weiter gewährleistet ist bzw. nur sehr gering eingeschränkt wird (3, 126, 127). Aktuell gibt es auf dem Markt mehrere Flow Diverter, die erfolgreich implantiert werden. Zum Beispiel den SILK (Bald Extrusion, Montmoency, France) (5, 15) und zum anderen den Pipeline (Covidien/ev3, Irvine, California) (15, 134) (Abbildung 9).

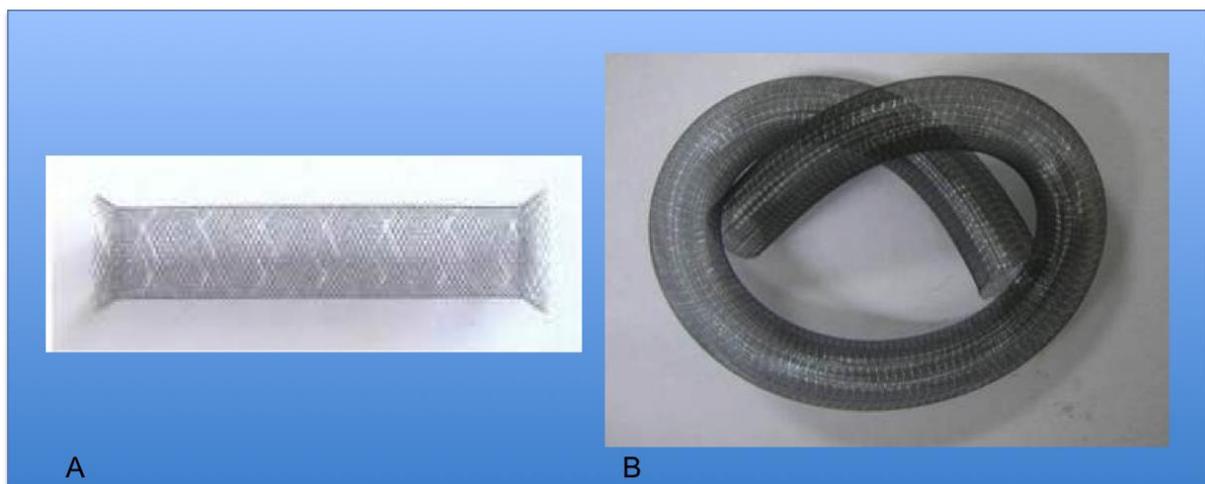


Abbildung 9: Aktuell auf dem Markt erhältliche Flow Diverter A) Silk (Bald Extrusion, Montmoency, France) B) Pipeline (Covidien/ev3, Irvine, California)

Allerdings weist auch diese Behandlungsmethode noch erhebliche Nachteile auf. Bei engmaschigen Devices ist es schwer oder sogar unmöglich nach dem Setzen ein

sekundäres Coiling im Aneurysma vorzunehmen. Bei Devices mit größeren Maschen, wie beispielsweise SILK dagegen, besteht die Möglichkeit auch noch nach Entlassung des Devices Coils einzubringen, allerdings hat die Weitmaschigkeit den Nachteil, dass oft mehrere Devices übereinander gelegt werden müssen (87). Auch ist die Verwendung von Flow Divertern bei akuter SAB durch die vorübergehende Antikoagulation, zur Vermeidung von thromboembolitischen Ereignissen oder Stentthrombosen erschwert. Ein weiteres Problem kann nach erfolgreicher Versorgung des Aneurysmas mit einem Flow Diverter eine nach geraumer Zeit eintretende Aneurysmaruptur darstellen. Eine Studie aus dem Jahr 2011 belegt, dass es durch Konformationsänderungen und Widerstandserhöhungen im Trägergefäß zu einem erhöhten Druck im Aneurysma kommen kann und dieses schließlich rupturiert (20, 140).

Zusammenfassend ist zu sagen, dass Flow Diverter das Spektrum zur Behandlung der interventionellen Neuroradiologie erweitern. Allerdings sind noch weitere große Studien notwendig um Flow Diverter in der interventionellen neuroradiologischen Behandlung zunehmend zu etablieren.

3.2. Einleitung praktischer Teil der Arbeit

3.2.1. In Vitro

Um den direkten Einfluss des Materials des Flow Diverters auf Zellen zu untersuchen wurden in vitro Cytotoxizitäts-Tests durchgeführt.

3.2.1.1. Zellviabilität

Unter der Zellviabilität versteht man die Gesamtzellaktivität einer Zellpopulation. Der hier verwendete WST-1 Assay dient zum Nachweis der metabolischen Aktivität, die auf einer intakten Atmungskette basiert. Es wird ein Farbumschlag des schwach rot gefärbten Tetrazoliumsalzes WST-1 (**w**ater **s**oluble **t**etrazolium) in das dunkelrote Formazan spektralphotometrisch gemessen (Abbildung 10). Diese enzymatische Umsetzung erfolgt durch das mitochondriale Succinat-Tetrazolium Dehydrogenase System (Komplex II), welches bei viablen Zellen aktiv ist. Dort wird NADH in NAD⁺ umgewandelt, wobei Wasserstoff auf das elektronen-gekoppelte Reagenz des Assays übertragen wird, welches schließlich die Formazanbildung herbeiführt. Die Absorption der Formazanbildung ist direkt proportional zur Anzahl der viablen Zellen in der untersuchten Zellpopulation.

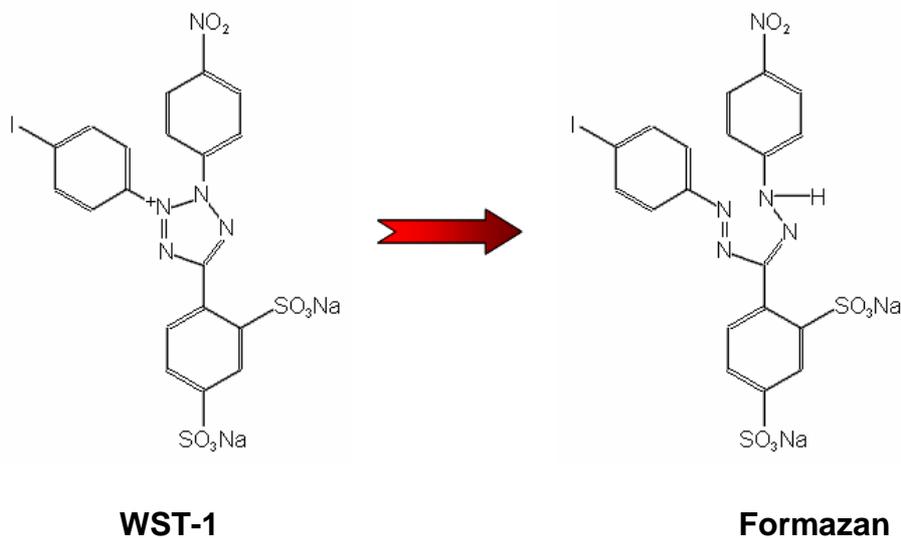


Abbildung 10: Metabolische Umwandlung von WST-1 in Formazan. Am mitochondrialen Succinat-Tetrazolium Dehydrogenase System der Atmungskette von viablen Zellen erfolgt die enzymatische Umsetzung von WST-1 in Formazan. Der damit einhergehende Farbumschlag wird spektralphotometrisch gemessen.

3.2.1.2. Nekrotische Membranschädigungen

Apoptose und Nekrose - Mechanismen des Zelltodes

Man unterscheidet zwei Mechanismen des Zelltodes, zum einen der pathologische Zelltod, die so genannte Nekrose und zum anderen der programmierte Zelltod, die so genannte Apoptose (Abbildung 11).

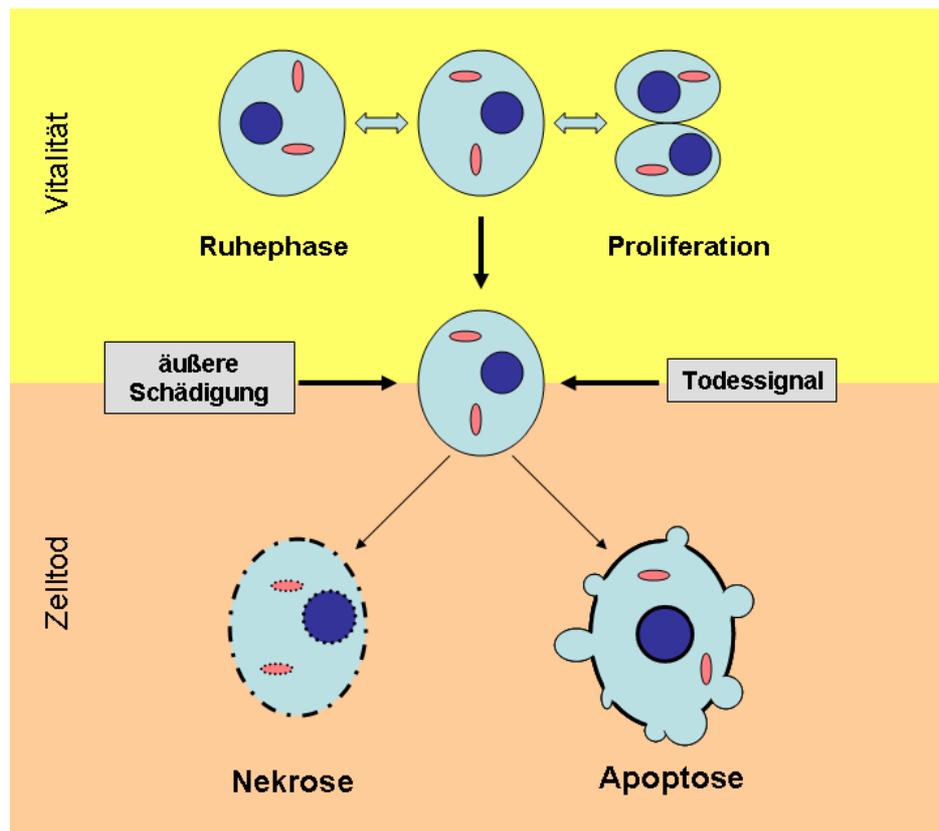


Abbildung 11: Mechanismen des Zelltodes. Man unterscheidet zwei Mechanismen des Zelltodes: Apoptose (programmierter Zelltod) und Nekrose (pathologischer Zelltod).

Die Apoptose stellt einen geordneten Ablauf dar, der zum einen die Bildung von apoptotischen Körperchen und zum anderen deren Phagozytose und Abbau durch andere Zellen (75) beinhaltet. Die Nekrose dagegen verläuft ungeordnet und führt schließlich zum Platzen der Zelle.

Nekrose

Nekrose (gr. Νέκρωσις *nékrosis* „Absterben“) ist der pathologische Zelltod und stellt im Gegensatz zur Apoptose keinen geordneten Ablauf dar. Bei nekrotisch sterbenden Zellen geht der osmotische Gradient über der Zellmembran verloren, es kommt folglich zu einem vermehrten Ionen- sowie nachfolgendem Wassereinstrom. Die daraus resultierende Volumenzunahme führt schließlich zum Platzen der Zelle. Ebenfalls charakteristisch ist der ungeordnete Abbau von makromolekularen Strukturen, wodurch die Zelle irreversibel geschädigt wird und lysiert. Durch das unkontrollierte Entlassen des Zellinhalts in die Umgebung wird auch das umliegende Gewebe beeinflusst, was schließlich zu entzündlichen Prozessen führt (81). Durch den Verlust der Membranintegrität nekrotischer Zellen gelangen auch Zellbestandteile wie z.B. das Enzym Lactatdehydrogenase (LDH) in die extrazelluläre Flüssigkeit.

Nachweis nekrotischer Membranschädigungen mittels LDH-Assay

Da eine intakte Plasmamembran unpermeabel gegenüber LDH ist, dient der LDH-Nachweis im extrazellulären Bereich als Indikator des nekrotischen Zelltods (77). LDH ist Bestandteil aller Säugerzellen und kommt gelöst im Cytoplasma vor. Es katalysiert die Oxidation von Lactat zu Pyruvat bei gleichzeitiger Reduktion von NAD^+ zu NADH/H^+ . NADH/H^+ steht dann unter Verwendung des LDH-Assays der Umwandlung des Iodonitrotetrazolium durch das Enzym Diaphorase in Formazan zu Verfügung (Abbildung 12). Die Umwandlung in Formazan führt ihrerseits wieder einen Farbumschlag mit sich, der dann spektralphotometrisch gemessen wird.

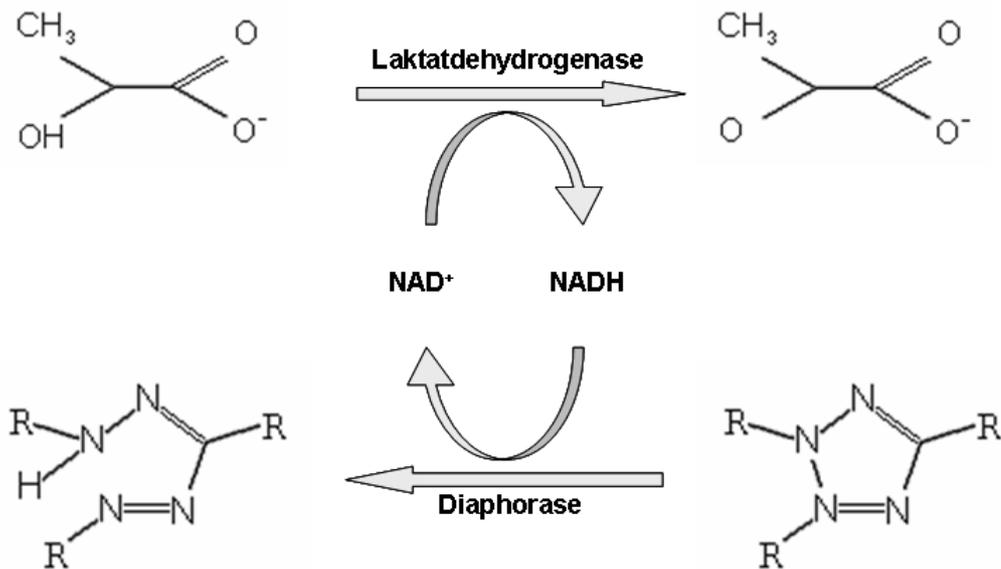


Abbildung 12: Wirkmechanismus des LDH-Assays. Die Umwandlung von Lactat in Pyruvat wird durch das an die Umwandlung von NAD⁺ in NADH gekoppelte Enzym Laktatdehydrogenase katalysiert. Das entstandene NADH steht nun dem Enzym Diaphorase zu Verfügung, welches die Umwandlung von Iodonitrotetrazolium in Formazan katalysiert. Der daraus resultierende Farbumschlag wird spektralphotometrisch gemessen.

3.2.2. in vivo/ex vivo

3.2.2.1. Grundprinzip der Röntgenstrahlung

Das Prinzip der Röntgenstrahlung beruht auf der Beschleunigung von Elektronen durch Anheizen der Kathode bei Anlegen einer Anodenspannung (zwischen 50kV und 200kV) auf ein Metall mittlerer oder hoher Massenzahl (beispielsweise Kupfer, Wolfram...). In diesem Metall findet eine Geschwindigkeitsverzögerung der Elektronen statt, wobei Energie freigesetzt wird, die dann in Bremsstrahlung und Wärme umgewandelt wird. Dieser plötzlichen Abbremsung entspricht nach Fourier ein kontinuierliches Spektrum. Aus diesem Grund sollte sich das klassische Spektrum der Röntgen-Bremsstrahlung über alle Frequenzen erstrecken. Da Strahlung aber in Photonen auftritt, kann ein Photon höchstens die Gesamtenergie des Elektrons aufnehmen. Bei hinreichend hoher Elektronenenergie wird das Bremsspektrum durch ein Linienspektrum überlagert, welches charakteristisch für das Antikathodenmaterial ist. Die Entstehung des Bremsspektrums lässt sich durch das Eindringen der schnellen Elektronen in die Hülle der getroffenen Atome erklären

und hängt vom Aufbau der inneren Hülle ab. Im Gegensatz zur Primärstrahlung ist der Hauptanteil der Sekundärstrahlung wesentlich weicher, außerdem ist ihr Absorptionskoeffizient unabhängig von der Röhrenspannung. Bei der Sekundärstrahlung handelt es sich um die charakteristische Strahlung des beschossenen Elementes.

3.2.2.2. Angiographie

Unter Angiographie versteht man die röntgenologische Darstellung von Blutgefäßen mittels Injektion eines Röntgenkontrastmittels. Die ersten in der Literatur belegten Versuche von Haschek und Lindenthal, Gefäße mittels Röntgenstrahlung darzustellen, gehen bis ins Jahr 1896 zurück. Die ersten Angiographien am Menschen wurden allerdings erst mit der Entwicklung verträglicher Kontrastmittel, in den 20er Jahren möglich.

In den 70er Jahren war die Bildverarbeitung soweit fortgeschritten, dass die digitale Subtraktionsangiographie möglich wurde. Die digitale Subtraktionsangiographie (DSA) bietet die Möglichkeit mittels Recheneinheit im Röntgenbild Knochen und Weichteile von der dargestellten Kontrastmittelsäule abzuziehen, sodass letztendlich nur noch ein Abbild der Blutgefäße übrig bleibt. Die dadurch entstehenden Bilder sind allerdings nur zweidimensional. Um dreidimensionale Bilder zu erhalten, ist es notwendig dass die Röntgenröhre und der Bildverstärker während der Kontrastmittelgabe um den „Patienten“ rotieren.

3.2.2.3. Mikro-CT

Mittels CT können zweidimensionale Bilder, inklusiver vollständiger dreidimensionaler Information angefertigt werden. Dies bietet die Möglichkeit, komplette dreidimensionale Strukturen ohne Präparation oder chemische Behandlung der Probe sichtbar zu machen und zu quantifizieren.

Unter Mikro-Computertomographie versteht man ein Schnittbildverfahren, welches auf den gleichen technischen und physikalischen Grundlagen wie die Computertomographie beruht. Durch das Anfertigen von Schnittbildern findet keine Überlagerung verschiedener Strukturen statt (44, 53).

Ein wesentlicher Unterschied zwischen einem Mikro-CT und einem in der Medizin verwendeten CT besteht in der unterschiedlichen Aufnahmegeometrie. Im Gegensatz zu einem medizinischen CT, bei dem sich die Röntgenquelle und der

Detektor um den Patienten bewegen, sind beim Mikro-CT die Röntgenquelle sowie der Detektor fest positioniert und das Untersuchungsobjekt wird gedreht. Dies bietet die Möglichkeit mit einer deutlich höheren Ortsauflösung zu arbeiten (31, 57, 66). Im allgemeinen werden Geräte mit einer Ortsauflösung von mindestens 100 μm als Mikro-CT bezeichnet (57, 121, 130). Im Mikro CT wird die Probe auf einem Präzisionsteller belichtet und die Projektion von einer Röntgenkamera aufgenommen. Nach jeder Belichtung dreht sich der Präzisionsteller um einen festvorgeschriebenen Winkel weiter, bis die Probe um 360° gedreht ist. Mittels komplexer Algorithmen können aus den Schichtbildern Projektionsbilder rekonstruiert werden, diese basieren auf der Röntgenstrahldichte (52). Mit Hilfe dieser einzelnen 2D-Schichtbilder ist es anschließend möglich, im Computermodell die Oberfläche oder das komplette Volumen darzustellen. Somit besteht in unserem Fall die Möglichkeit die komplette Stentstruktur zu betrachten und auf mögliche Brüche der Stentstreben zu untersuchen.

3.2.2.4.Magnetresonanztomographie

Erste experimentelle Beobachtungen über kernmagnetische Resonanz als spektroskopisches Verfahren machten 1946 Bloch (9) und Purcell (111) unabhängig voneinander. 1952 bekamen sie für ihre Beobachtungen den Nobelpreis verliehen. Einige Jahre später (1973) zeigte Lauterbur die Möglichkeit das Kernresonanzsignal zur Erzeugung von Schnittbildern zu nutzen (80). Nach ausgiebigen Tierversuchen von Damadian kam es 1977 zum ersten mal zum Einsatz eines MR-Tomographen zur Erzeugung von Bildern des menschlichen Körpers (27). Im Laufe der Zeit erfolgten weitere Verbesserungen, wie beispielsweise durch Mansfield, der durch die Ausnutzung des Gradienten die Akquisitionszeit deutlich verkürzte. 2003 erhielten Lauterbur und Mansfield den Nobelpreis in Medizin.

Bei der Magnetresonanztomographie handelt es sich um ein Schnittbildverfahren, welches zur Darstellung von Funktion und Struktur von Geweben und Organen genutzt werden kann. Physikalisch basiert die Magnetresonanztomographie auf dem Prinzip der Kernspinresonanz. Man macht sich zu Nutzen, dass Wasserstoffatome (Protonen) eine Eigendrehung (Spin) besitzen und ohne äußere Einwirkung über ein statistisch verteiltes magnetisches Moment verfügen. Der Gleichgewichtszustand, die sogenannte Längsmagnetisierung, lässt sich durch Anlegen eines äußeren Magnetfeldes, welches die Protonen ausrichtet erzeugen (die Sequenz der

rotierenden Bewegung der Protonen ist proportional zur Stärke des äußeren Magnetfeldes). Werden von außen elektromagnetische Wellen in Form von Hochfrequenzpulsen eingestrahlt, stört dies den gerichteten Gleichgewichtszustand und die Quermagnetisierung tritt ein. Nach Beendigung des Hochfrequenzpulses kehren die Protonen wieder in die Längsmagnetisierung zurück (vom äußeren Magnetfeld vorgegeben), dabei erfolgt die Aussendung von elektromagnetischen Wellen. Die Signalintensität der aufgenommenen Energie des zuvor eingestrahlteten Hochfrequenzimpulses kann durch Detektorspulen aufgefangen werden. Durch eine geschickte Anordnung der Spulen kann diese letztendlich in ein dreidimensionales Bild umgewandelt werden.

Auf Grund zweier Wechselwirkungen findet eine messbare Minderung der Signalintensität statt: Erstens die Spin-Gitter-Wechselwirkung (durch den Energieaustausch der Protonen mit ihrer Umgebung); diese beschreibt als longitudinale Relaxationszeit T1 den Zustand der Längsmagnetisierung (Rückkehr in den Gleichgewichtszustand). Zweitens beschreibt die Spin-Spin-Wechselwirkung (durch den Energieaustausch von Protonen untereinander) als Relaxationszeit T2 den Zustand der Quermagnetisierung.

Von unterschiedlichen Weichteilgeweben gehen unterschiedliche Signalintensitäten aus, auf Grunde dessen eine gute Darstellbarkeit der verschiedenen Organe und Gewebe gegeben ist. Muskelgewebe beispielsweise hat eine lange T1- und kurze T2-Phase (870 ± 160 ms bzw. 42 ± 13 ms) im Gegensatz zu Fettgewebe mit einer kurzen T1- und einer längeren T2-Phase (84 ± 36 ms bzw. 260 ± 70 ms). Diese Unterschiede ergeben in der Bildgebung unterschiedliche Farbintensitäten. Gewebe mit kurzer T1-Phase erscheinen in der T1 gewichteten Sequenz hyperintens (hell) und Gewebe mit langer T1 Phase hypointens (dunkel). Muskelgewebe (mit kurzer T2 Phase) erscheint in der T2 gewichteten Sequenz hypointens, Wasser dagegen (mit langer T2-Phase) hyperintens.

4. Material und Methoden

Flow Diverter Eigenschaften

Bei dem in dieser Studie verwendeten Flow Diverter (Derivo[®]) handelt es sich um einen selbst-expandierenden, aus 14 Drähten gewebten Nitinolstent. Am distalen Ende verlaufen die Drähte in Schleifen, sodass lediglich das proximale Ende offene Enden hat. Um eine gute Sichtbarkeit zu gewährleisten verlaufen zum einen doppelgewobene Drähte mit Platinkern sinusförmig durchgehend durch den kompletten Flow Diverter und zum anderen befinden sich an jedem Ende drei röntgendichte Platinum-Iridium-Marker. Der Flow Diverter hat eine neu entwickelte BlueXide[®] Oberfläche, welche eine 50nm dicke Schicht aus Oxiden und Oxinitriden beinhaltet. Der Flow Diverter ist in verschiedenen Größen erhältlich und die entsprechenden Porositäten sind der Tabelle zu entnehmen (Tabelle 2)

Tabelle 2: Flow Diverter Größen des Derivo[®] mit der entsprechender Porosität und Anzahl der Zellen pro Fächeneinheit

Derivo 4,0		
Gefäßdurchmesser [mm]	Porosität [%]	Zellen pro mm²
4,16	50,50	26,17
4,00	62,52	18,93
3,50	71,87	13,77
3,00	73,13	13,10
Derivo 4,5		
Gefäßdurchmesser [mm]	Porosität [%]	Zellen pro mm²
4,66	55,09	20,77
4,50	65,45	15,39
4,00	74,21	11,16
3,50	75,86	10,39
Derivo 5,0		
Gefäßdurchmesser [mm]	Porosität [%]	Zellen pro mm²
5,16	58,92	16,88
5,00	67,93	12,77
4,50	76,11	9,27
4,00	77,98	8,49

4.1. in vitro

4.1.1. Zelllinien:

In den Versuchen wurden folgende Zelllinien verwendet:

L929: L929 ist eine permanente Zelllinie, die aus normalen areolaren und adipotischen Gewebe einer männlichen C3H/An Maus stammt. Normalparameter wie

beispielsweise Mitoseaktivität oder Morphologie sind untersucht und bekannt. Die Zelllinie ist einfach zu kultivieren und wird bereits routinemäßig für Zytotoxizitätstests eingesetzt. Des Weiteren hat sich die L929 Zelllinie bereits zur Prüfung von Bioverträglichkeit von Materialien etabliert und stellt ein sensibles in vitro Testsystem dar. Die Ergebnisse sind gut reproduzierbar.

eEND2: eEND2 ist eine permanente Zelllinie aus murinem Endothel und hat sich ebenfalls auf dem Gebiet der Prüfung der Bioverträglichkeit von Materialien bewährt.

4.1.2.WST-1-Assay

Der WST-1 Assay dient zum Nachweis einer intakten Atmungskette. Am mitochondrialen Succinat-Tetrazolim Dehydrogenase-System der Atmungskette von viablen Zellen erfolgt die enzymatische Umsetzung von WST-1 in Formazan. Der damit einhergehende Farbumschlag wird spektralphotometrisch gemessen (Abschnitt 3.2.1.1.). Gemessen wurde die Absorption bis zum Erreichen eines Wertes von 2,0, da in diesem Bereich die Absorption linear zur Konzentration des gebildeten Formazan verläuft (Roche Applied Science, 2004).

Die Aussaat der eEND2 und L929 Zellen erfolgte in den Dichten 10000 Zellen/well (ca.300 Zellen/mm²) in transparente 96 Well-Platten mit 100 μ l Medium/well. Die Aussaat der Kontrollen erfolgte direkt auf den Wellboden. In das Medium der Zellen des zu testenden Flow Diverters wurde ein Stentgeflecht eingebracht, das direkt vor der spektralphotometrischen Messung entfernt wurde. Die Kultivierung erfolgte bei 37 °C, 5 % CO₂ und 95 % Luftfeuchtigkeit im Brutschrank.

Nach 24h bzw. 30d (Mediumwechsel alle 3 Tage) wurden die Zellen mit WST-1-Reagenz inkubiert. Mittels MTP-Reader (Spektralphotometer) wurde alle 30min nach WST-1-Reagenz-Zugabe (10 μ l) eine Absorptionsmessung bei einer Wellenlänge von 450nm und einer Referenzwellenlänge von 650nm durchgeführt, bis eine optische Dichte von 2,0 erreicht war.

4.1.3.LDH-Assay

Lactatdehydrogenase (LDH) ist ein intrazelluläres Enzym, das in allen Zellen gelöst im Zytoplasma vorkommt und die Oxidation von Lactat zu Pyruvat unter gleichzeitiger Reduktion von NAD⁺ zu NADH/H⁺ katalysiert. Der LDH-Assay beruht darauf, dass bei Schädigung von Zellen die Integrität der Zellmembran verloren geht

und sie folglich permeabel für große Moleküle wird, sodass LDH in den Extrazellularraum gelangt (Abschnitt 3.2.1.2.).

Die Aussaat der eEND2 und L929 Zellen erfolgte in den Dichten 10000 Zellen/well (ca.300 Zellen/mm²) in transparente 96 Well-Platten mit 100µl Medium/well. Die Aussaat der Kontrollen erfolgte direkt auf den Wellboden, die Aussaat der Zellen des zu testenden Flow Diverters erfolgte auf ein auf dem Wellboden ausgebreitetes Stentgeflecht. Die Kultivierung erfolgte bei 37°C, 5% CO₂ und 95% Luftfeuchtigkeit im Brutschrank.

Zwei Stunden vor Ablauf der entsprechenden Inkubationszeiten (24h, 30d) wurden die Positivkontrollen mit 1%igem TritonX-100 inkubiert (Inkubation im Brutschrank). Die Negativkontrolle wurde nicht behandelt. Nach Ablauf der Inkubationszeit wurde der Überstand jedes Wells in ein 2ml Tube überführt und bei 161g 10min zentrifugiert. Der Überstand wurde in 96 Well-Platten (100µl/Well) überführt und jeweils 100µl Reaktionslösung dazupipettiert. Die Messung erfolgte bei 492nm (Referenzmessung 620nm).

Katalysatorlösung:

Diaphorase/NAD⁺ Gemisch gelöst in 1ml destilliertem Wasser

Reaktionslösung:

Verdünnung der Katalysatorlösung 1:45 mit Färbelösung (Iodotetrazolium chloride (INT) und Sodium Lactat)

4.2. in vivo

Entwicklung eines geeigneten Tiermodells

Für die Entwicklung und Überprüfung implantierbarer Materialien ist ein geeignetes Tiermodell unabdingbar. Sowohl eigene Überlegungen als auch Literaturstudien ergaben, dass das Aneurysmamodell an New Zealand White Rabbits für die oben genannte Fragestellung aus folgenden Gründen am geeignetsten ist. Dieses Tiermodell simuliert sowohl die Gegebenheiten als auch die Schwierigkeiten der Aneurysmabehandlung beim Menschen (1, 22, 41, 72, 73, 74, 78).

Die extrazerebralen hirnversorgenden Arterien sind in ihrer Größe identisch mit den zerebralen Gefäßen des Menschen. Es besteht die Möglichkeit

Aneurysmamorphologien und Aneurysmen an Gefäßaufzweigungen mit entsprechenden Abscherkräften zu konstruieren, die den Verhältnissen beim Menschen entsprechen. Nach der Aneurysmainduktion bleiben diese über einen langen Zeitraum unbehandelt offen (22) und das Verfälschen der Ergebnisse durch Narbenbildung am Aneurysmahals oder Heilungsprozesse wird verhindert. Des Weiteren entsprechen die hämatologischen Eigenschaften dieser Tiere denen des Menschen beziehungsweise sind beide Systeme gut miteinander vergleichbar (90,106, 132).

4.2.1. Aktuelle Studie

In dieser Studie wurde bei insgesamt 18 Kaninchen ein Aneurysma induziert. Die Tiere wurden anschließend in zwei Gruppen aufgeteilt, diese unterschieden sich lediglich in der Länge der Sitzzeit nach Implantation der Flow Diverter. Gruppe 1 (n=9) wurde nach 3 Monaten euthanasiert und die entnommenen Präparate analysiert, bei Gruppe 2 (n=9) erfolgte die Eutanasierung und Analyse der Präparate nach 6 Monaten.

Die Bewilligung dieser Tierexperimente durch die Ethikkommission der Universität des Saarlandes liegt vor.

4.2.2. Aneurysmainduktion

Die Aneurysmainduktion erfolgte bei New Zealand White Rabbits (nach einer Eingewöhnungsphase von 2 Wochen) mit einem Gewicht von 3-3,5kg. Die gesamte Operation erfolgte unter Vollnarkose, hierzu wurde den Tieren ein Gemisch aus Ketamin (Ketavet; Vedco St. Joseph, Mo; Dosierung 60mg pro kg Körpergewicht) und Xylazin (Tranquivet; Vedco; Dosierung 6mg pro kg Körpergewicht) intramuskulär appliziert. Nach etwa 10 Minuten lagen die Tiere in Narkose und es wurde eine Dauerverweilkanüle (Optiva 2,22G, Durchmesser 0,9mm) in die Ohrvene gelegt, um die Narkose mit dem gleichen Medikamentengemisch (in 10ml NaCl 0,9%) über einen Perfusor mit kontinuierlichen, dem Tier angepassten Dosierungen, weiterzuführen (mittlere Flussrate 3,0ml/h, Standardabweichung: 1,0ml). Um das Austrocknen der empfindlichen Bindehaut der Kaninchen zu verhindern, wurden die Augen vorsorglich mit Bepanthen Augensalbe behandelt. Da die Arbeit unter sterilen Bedingungen durchgeführt wurde, wurde nach der Rasur am Hals, sowie der

Hautdesinfektion das Operationsgebiet mit einem sterilen Lochtuch abgedeckt. Nach einem Hautschnitt über eine Strecke von etwa 3cm wurden die Muskelfaszien gespalten und die rechte Arteria carotis communis zwischen dem Musculus sternocleidomastoideus und dem Musculus sternothyroideus über eine Strecke von etwa 2cm freigelegt (Abbildung 13).

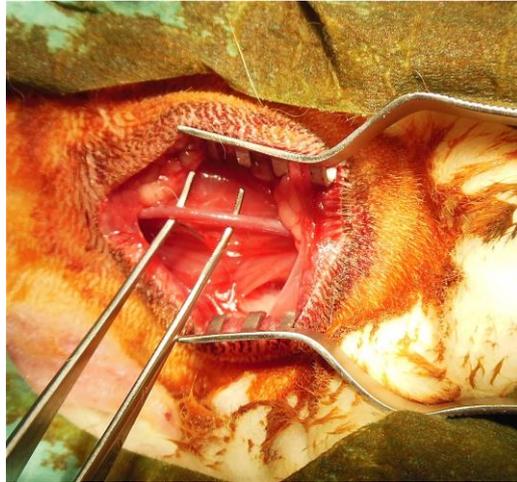


Abbildung 13: Freipräparierte Arteria carotis communis (rechts)

Nun wurde das Gefäß sowohl kranial als auch kaudal am Rand der Freilegung mit einem nichtresorbierbaren Mersilenefaden der Stärke 3-0 angeschlungen. Unterdessen wurde die Arterie im kranialen Abschnitt direkt unterbunden. Kaudal der Ligaturstelle wurde anschließend ein etwa 2mm großer fischmaulförmiger Schnitt in die Gefäßwand vorgenommen. Unmittelbar darauf erfolgte in retrograder Flussrichtung das Einführen einer 4 French Gefäßschleuse (Cordis Endovascular, Miami lakes, Fla), die mittels eines 3-0 Mersilenefadens fixiert wurde. (Abbildung 14)



Abbildung 14: Freipräparierte rechte Arteria carotis communis, mit kranialer Ligatur und eingeführter 4 French Gefäßschleuse (mit 3-0 Fäden zur Fixierung der Gefäßschleuse)

Zum Einschwemmen eines 3 French Fogartyballons (Baxter Healthcare, Irvine, Calif) und zum Darstellen des Gefäßes wurde durch die Schleuse 2ml Kontrastmittel (Ultravist, Bayer) injiziert. Unter angiographischer Kontrolle wurde der Ballon bis zum Abgang der Arteria carotis communis vorgeschoben und dort so platziert, dass diese bis zur Entfernung des Ballons an dieser Stelle komplett verschlossen war (Abbildung 15).

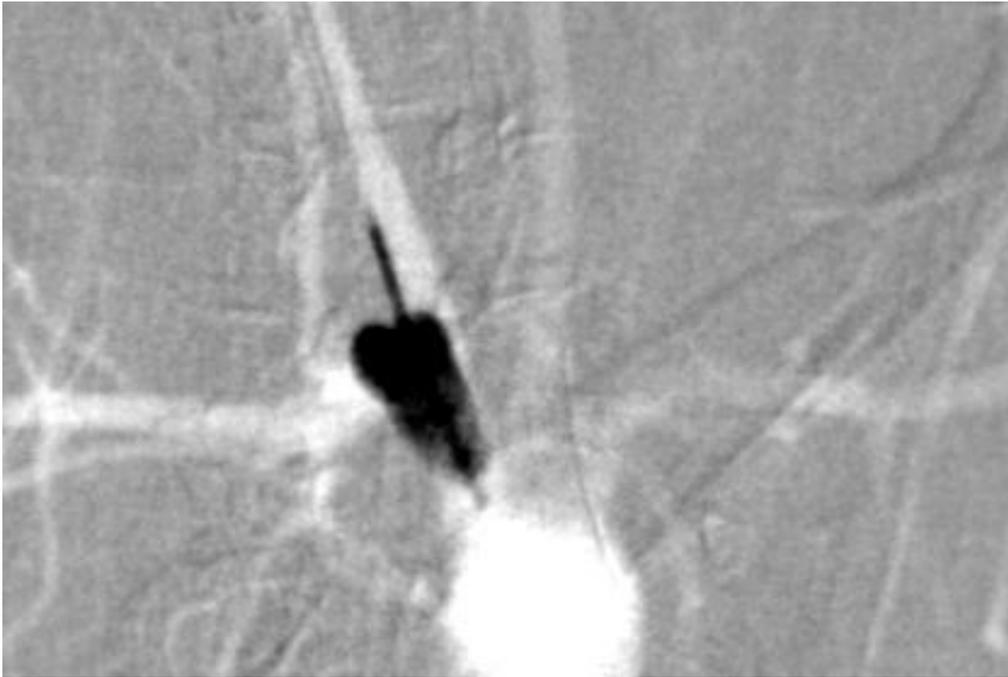


Abbildung 15: Dilatierter ballon in der A. carotis communis. Die Abbildung zeigt den geöffneten Ballon am Abgang der A. carotis communis. Der Blutfluss in die A. carotis communis ist komplett unterbunden.

Nun wurden 80U Schweineelastase (Worthinton Biochemical, Lakewood, NJ) in 0,1ml NaCl gelöst und oberhalb des Ballons in das Gefäßlumen eingebracht (Abbildung 16).

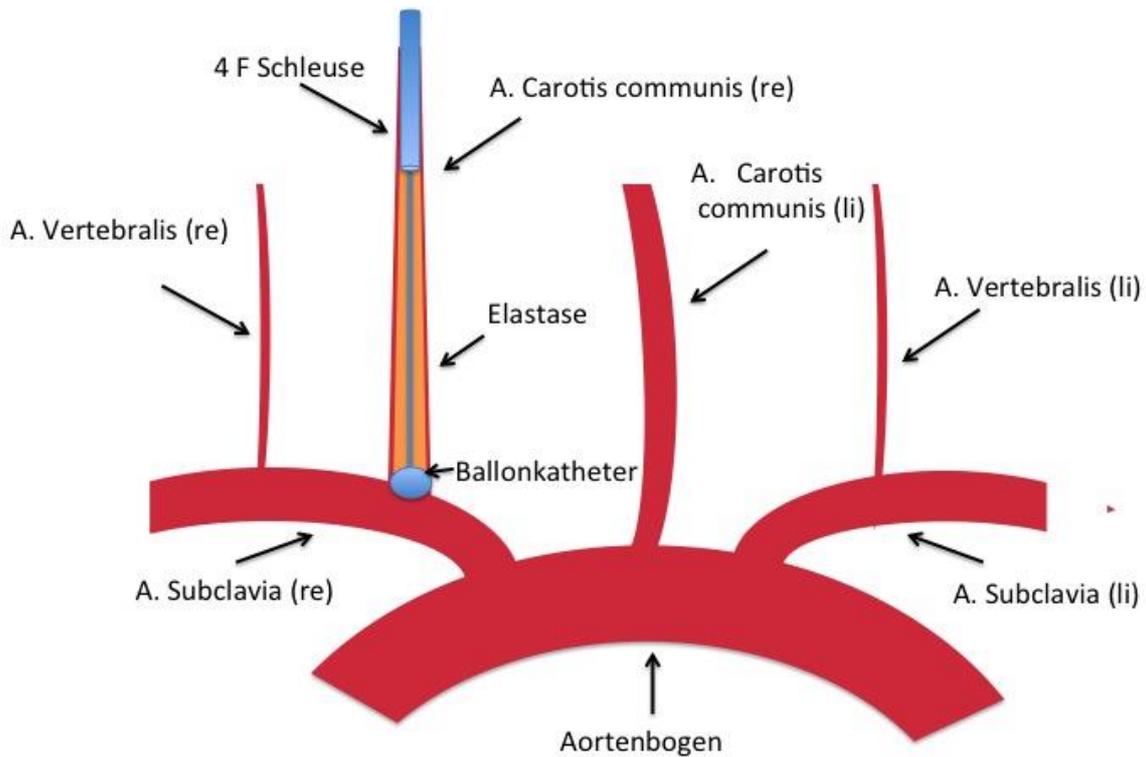


Abbildung 16: Skizze der supraaortalen Gefäße, Lage der Schleuse, des Ballonkatheters und der Elastase während der Aneurysmainduktion.

Nach 20 Minuten Inkubationszeit wurde die Elastase abgelassen, der Ballonkatheter entblockt, anschließend das gesamte Kathetersystem entfernt und die Arterie im mittleren Abschnitt so ligiert, dass ein sackförmiges Aneurysma entstand (Abbildung 17). Anschließend wurde die Faszie mittels Fasziennaht und die Haut mittels Subcutannaht wieder verschlossen und die Narkose ausgeleitet. Der gesamte Eingriff dauerte etwa 60 Minuten. Postoperative Schmerzen wurden mittels NSAID (Carprofen 5mg pro kg Körpergewicht, subcutan) behandelt.

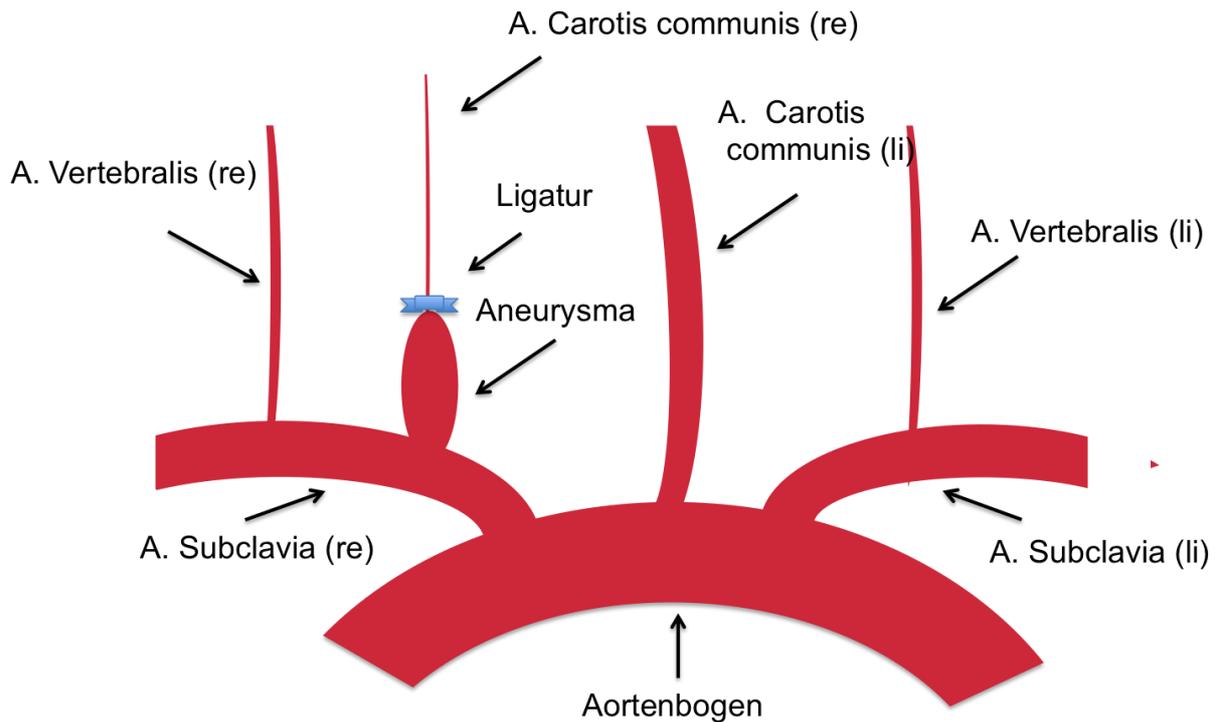


Abbildung 17: Skizze der supraaortalen Gefäße und des Aneurysmas nach der Induktion

4.2.3. Antikoagulation

Als Prävention von Stentthrombosen erhielten alle Tiere eine antikoagulative Therapie. Diese begann drei Tage vor Deviceplatzierung und endete erst bei Euthanasie der Tiere, dies erwies sich in früheren Studien schon als erfolgreich (67, 123). Alle Tiere erhielten täglich übers Trinkwasser eine Kombination von Clopidogrel (10mg/kg Körpergewicht) und Aspirin (10mg/kg Körpergewicht). Unmittelbar vor der Deviceimplantation erhielten die Tiere eine einmalige Gabe von 300IE Heparin i.v. über die Ohrvene. Während der Eingriffe wurde mit einer mit Heparin angereicherten Kochsalzlösung (500IE Heparin in 500ml NaCl-Lösung) gespült.

4.2.4. Endovaskulärer Verschluss des Aneurysmas

Da in Studien belegt werden konnte, dass Aneurysmen nur in den ersten drei Wochen nach der Induktion an Größe zunehmen (22), erfolgte vier Wochen nach der Aneurysmainduktion der endovaskuläre Verschluss des Aneurysmas. Die Narkose und Augenbehandlung wurden wie oben schon beschrieben durchgeführt und die Tiere auf den Rücken gelegt. Nach der Rasur und Desinfektion der rechten Leiste wurde durch einen etwa 2cm langen Hautschnitt entlang der Hautspaltlinien (Langer-

Linien) die rechte Leistenarterie (Arteria femoralis) freipräpariert. Mittels Mersilenefaden der Stärke 4-0 wurde das Gefäß proximal angeschlungen und distal ligiert. Anschließend wurde mit Hilfe einer Mikroschere ein fischmaulförmiger Schnitt in die Gefäßwand geschnitten, durch den eine 4 French Schleuse eingeführt wurde. Durch diese Schleuse wurde nun ein Tracker Excel 14 2-Tip Mikrokatheter (Boston Scientific Target, Fremont, Ca /USA) sowie ein 0.10 Transend Draht (Boston Scientific Target, Fremont, Ca/USA) eingeführt und bis zum Aneurysma vorgeschoben, sodass dies mittels Kontrastmittelgabe nun in Form und Größe dargestellt werden konnte (Abbildung 18).

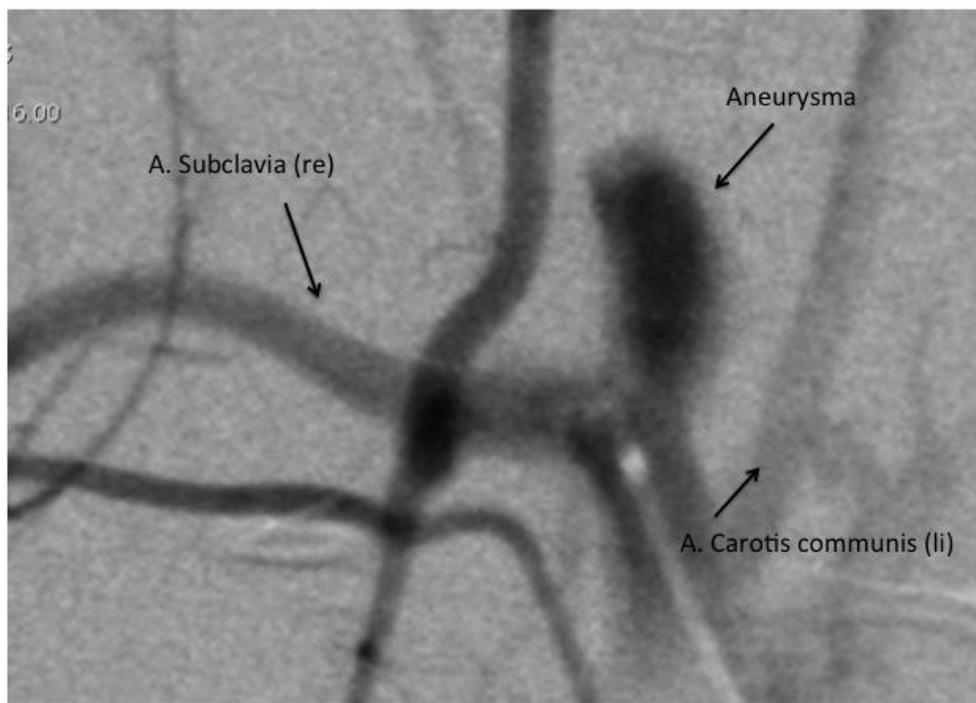


Abbildung 18: Angiographische Aufnahme eines induzierten Aneurysmas (vier Wochen nach der Induktion)

Um den Flow Diverter abzusetzen wurde der Führungsdraht entfernt und der auf ein Führungssystem montierte Flow Diverter in den Mikrokatheter eingeführt.

Der Flow Diverter ist auf einem Transportdraht vormontiert und befindet sich zusammengefaltet in einem sogenannten Introducer. Unter angiographischer Kontrolle wurde der Flow Diverter mittels 3F-Mikrokatheter über dem Aneurysmahals platziert, dies ist auf Grund des Durchmessers problemlos möglich. Durch

Vorschieben des Transportdrahtes bei gleichzeitigem Zurückziehen des Mikrokatheters entfaltet sich das Device. Eine optimale Positionierung des Flow Diverters war möglich, da der Flow Diverter solange wieder eingezogen werden kann wie der proximale Röntgenmarker sich auf einer Höhe mit der Katheterspitze befindet. Dies bedeutet, es besteht die Möglichkeit bei einer Fehlplatzierung nach einer fast vollständigen Entfaltung (ca. 95%) das Device wieder vollständig zurückzuziehen und erneut an optimaler Position abzusetzen. Das Absetzen erfolgt wenn die distale Spitze des Mikrokatheters die proximalen Röntgenmarker des Flow Diverters passieren.

Direkt nach Absetzen des Flow Diverters über dem Aneurysmahals wurde das Führungssystem entfernt und die Restflussrate ins Aneurysma angiographisch kontrolliert (Abbildung 19A). Die Länge des jeweiligen Flow Divertes wurde so gewählt, dass der Aneurysmahals proximal mindestens 10mm und distal mindestens 5mm überdeckt ist. Anschließend wurde ein weiterer Flow Diverter in der Baucharterie platziert (Abbildung 19B). Dies wurde durchgeführt, um eine Aussage bezüglich der Offenheitsrate übersteneter Gefäße treffen zu können.

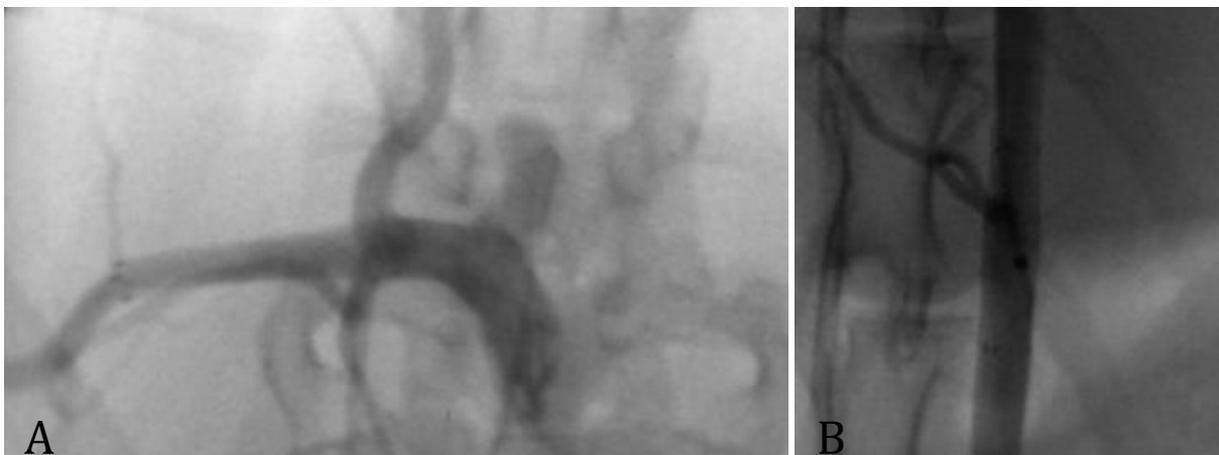


Abbildung 19: Angiografische Aufnahmen direkt nach der Implantation des Flow Diverters A) über dem Aneurysma (Restfluss ist noch erkennbar) und B) In der Baucharterie (Durchfluss abgehender Gefäße ist noch gewährleistet)

Nach erfolgreicher Platzierung der Devices wurde der Katheter wieder entfernt und die Arterie proximal der Einschnittsstelle mit dem vorgelegten Faden ligiert. Die Haut wurde mittels Subkutannaht verschlossen. Um postoperative Schmerzen zu vermeiden beziehungsweise zu mindern, wurden alle Tiere vorsorglich mit NSAID (Carprofen 5mg pro kg Körpergewicht, subcutan) behandelt. Anschließend wurde die

Narkose ausgeleitet.

4.2.5. Kontrollangiographien

Die Durchführung von Kontrollangiographien erfolgte direkt nach dem Setzen der Devices sowie einen Monat, drei Monate und sechs Monate nach dem Setzen der Implantate. Um Kontrollangiographien mit Wiedererwachen der Tiere nach einem und drei Monaten durchführen zu können, mussten die Tiere mittels intramuskulärer Narkosemittelgabe (Zusammensetzung siehe Aneurysmainduktion) narkotisiert werden. Da diese Narkose für etwa 30 bis 40 Minuten vorhält, war die Notwendigkeit einer venösen Dauernarkose nicht gegeben. Bei den Kontrollen nach einem Monat und drei Monaten (bei Tieren der 6-Monatsgruppe) erfolgte die Kontrastmittelgabe (6-8ml Omnipaque 300 (Nycomed Amersham, Princeton, NJ) und die direkt anschließende Gabe von Kochsalzlösung (6-8ml NaCl-Lösung zur besseren Verteilung des Bolus) über eine Dauerverweilkanüle (Optiva 2, 22G, Durchmesser 0,9mm), die in die äußere Ohrvene des linken Ohrs gelegt wurde. Der Vorteil des linken Ohrs liegt darin, dass so der Kontrastmittelfluss über die linke Vena jugularis keine Überlagerung mit der rechten Halsseite und somit dem Überdecken des Aneurysmas zeigt. Durch die starke Kontrastmittelverdünnung und die verringerte Flussgeschwindigkeit (durch die Passage des venösen Blutsystems) ist diese Art von Kontrollangiographie in erster Linie zur Überprüfung der Durchgängigkeit der eingebrachten Flow Diverter geeignet, eine genaue Bestimmung der Aneurysmaokklusionsrate ist eher schwierig (Abbildung 20A).

4.2.6. Abschlusskontrollen

Die Abschlusskontrollen (bei Tieren der 3-Monatsgruppe nach 3 Monaten, bei Tieren der 6-Monatsgruppe nach 6 Monaten) erfolgten über die linke A. carotis communis (Abbildung 20B). Die Narkose wurde wie bereits bei der Induktion beschrieben, durchgeführt. Der Hals der Tiere wurde freirasiert und eine Hautdesinfektion durchgeführt. Durch einen Hautschnitt über eine Strecke von 4cm auf der linken Halsseite wurden die Muskelfaszien gespalten und die linke Arteria carotis communis freipräpariert.

Anschließend wurde das Gefäß sowohl kranial als auch kaudal am Rand der Freilegung mit einem nichtresorbierbaren Mersilenefaden der Stärke 4-0 angeschlungen und die Arterie im kranialen Abschnitt direkt unterbunden. Kaudal der

Ligaturstelle wurde daraufhin ein etwa 2mm großer fischmaulförmiger Schnitt in die Gefäßwand vorgenommen und in retrograder Flussrichtung eine 4 French Gefäßschleuse (Cordis Endovascular, Miami lakes, Fla) eingeführt, die mittels eines 4-0 Mersilenefadens fixiert wurde. Über diese wurde nun eine Angiographie erstellt, dazu wurden 5-7ml Kontrastmittel (6-8ml Omnipaque 300 (Nycomed Amersham, Princeton, NJ) und direkt anschließend Kochsalzlösung (6-8ml NaCl-Lösung) gespritzt (Abbildung 20).

Die entsprechenden Gefäßabschnitte wurden mittels DSA Technik dargestellt.

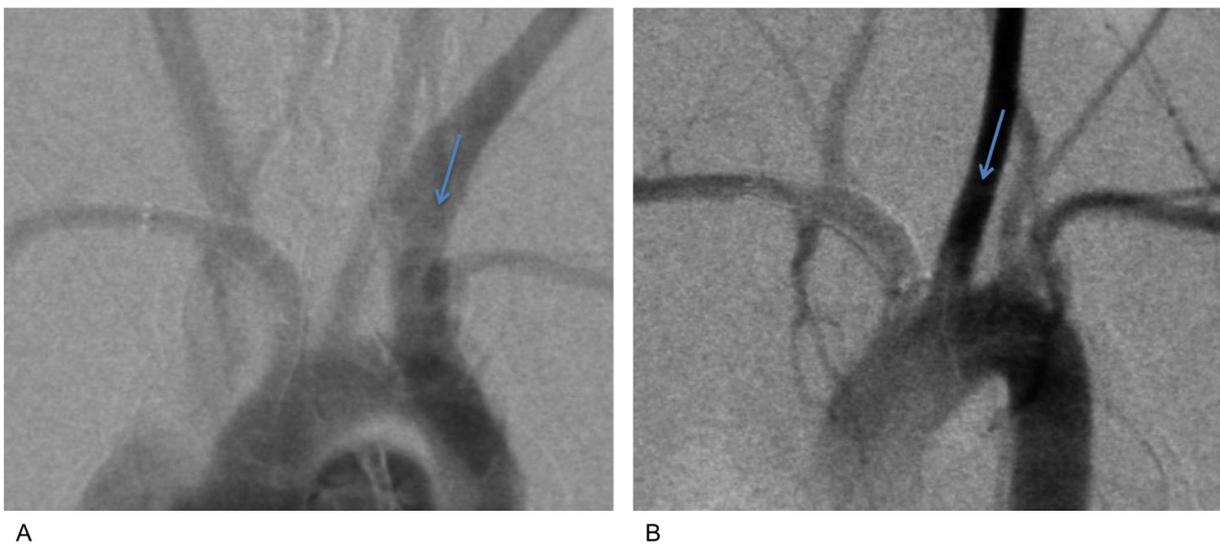


Abbildung 20: Kontrollangiographien. Die Abbildung zeigt die Aufnahme einer Kontrollangiographie über die Ohrvene des linken Ohrs (A) und eine Abschlusskontrolle über die linke Arteria carotis communis (B)

4.2.7. Euthanasie und Entnahme der Präparate

Alle Kaninchen wurden nach der entsprechenden Sitzzeit im Anschluss an die abschließende Kontrollangiographie mittels einer intravenösen Überdosis Pentobarbital euthanasiert (6-8ml Narcoren, Merial GmbH, Halbergmoos, DE). Anschließend wurden die Devices mit dem sie umgebenden Gefäßen und dem Aneurysma entnommen. (Abbildung 21) Die Lagerung erfolgte bis zur histologischen Aufbereitung in 3%-PBS gepufferter Formalinlösung.



Abbildung 21: Explantierter Flow Diverter. Die Abbildung zeigt einen entnommenen Flow Diverter (in der A. Subclavia) und das vom Flow Diverter überdeckte Aneurysma.

4.3. Ex vivo

4.3.1. Magnetresonanztomographie (9,4 Tesla MRT)

Mittels MRT ist es möglich die inneren Strukturen (auf Grund ihrer Verschiedenheit der Signalintensität) des Flow Diverters genauer zu bestimmen. Gegenüber der histologischen Untersuchungen das Stentinnere betreffend, ist es mittels MRT-Diagnostik möglich, das Stentinnere über die gesamte Stentlänge zu beurteilen, während bei histologischen Untersuchungen lediglich einzelne Abschnitte untersucht werden können.

Zur Untersuchung der Präparate im MRT wurden die Präparate nach der Entnahme in 3%-PBS gepufferter Formalinlösung konserviert. Vor Beginn der eigentlichen Messungen wurden Testmessungen zur Optimierung bestimmter Parameter durchgeführt. Ziel dieser Testmessungen war es ein möglichst hohes SNR („Signal-to-noise-Ratio“) zu erzielen. Unter dem SNR versteht man die Wechselwirkung zwischen MR-Signal und der Stärke des Rauschens und es stellt ein wichtiges Maß für die Bildqualität bezüglich Pixelrauschen dar (34, 66). Das SNR wird durch bestimmte Parameter bestimmt. Dazu gehören die Schichtdicke und Bandbreite, das Gesichtsfeld („Field-of-View“), die Größe der Bildmatrix, die Anzahl der Messungen, Bildparameter (TR, TE, Flip-Winkel), die Magnetfeldstärke sowie die Wahl der Sende- und Empfangsspule (RF-Spule).

Testmessungen zur Optimierung des SNR (Signal-to-Noise-Ratio).

Zur Optimierung des Signal-to-Noise-Ratio wurden Messungen mit unterschiedlichen Flipwinkeln durchgeführt (Diagramm1 , Abbildung 22).

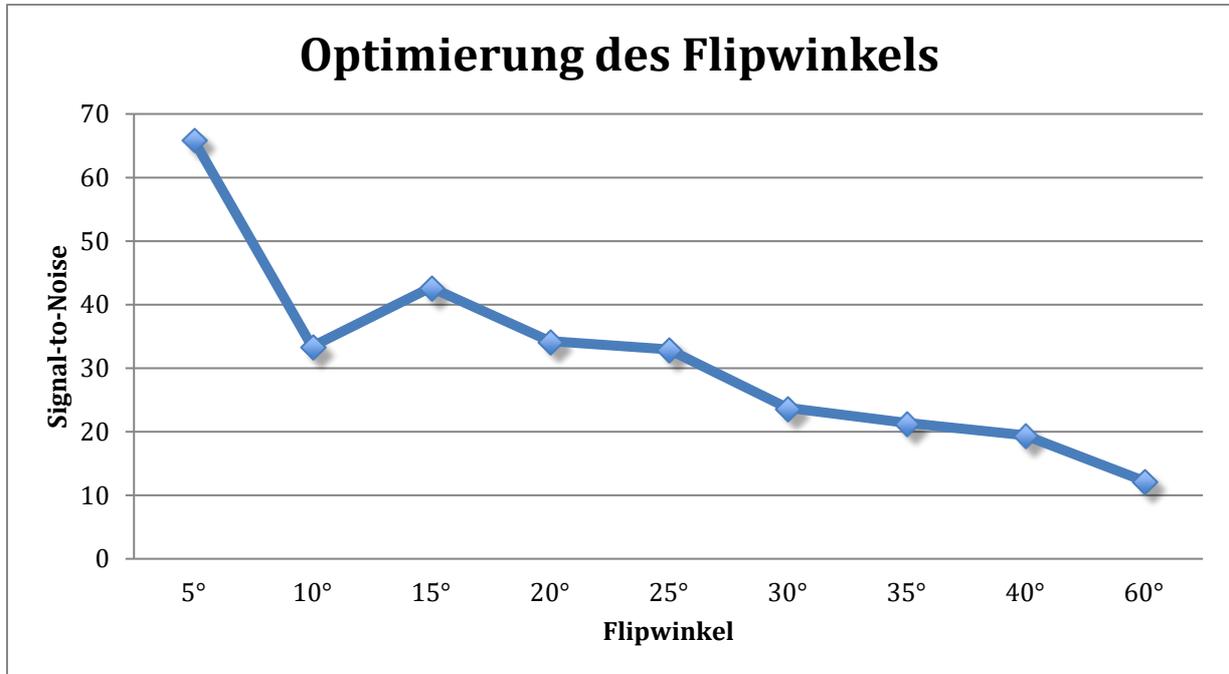


Diagramm1: Stärke des Signal-to-Noise-Ratio bei Messung mit verschiedenen Flipwinkeln.

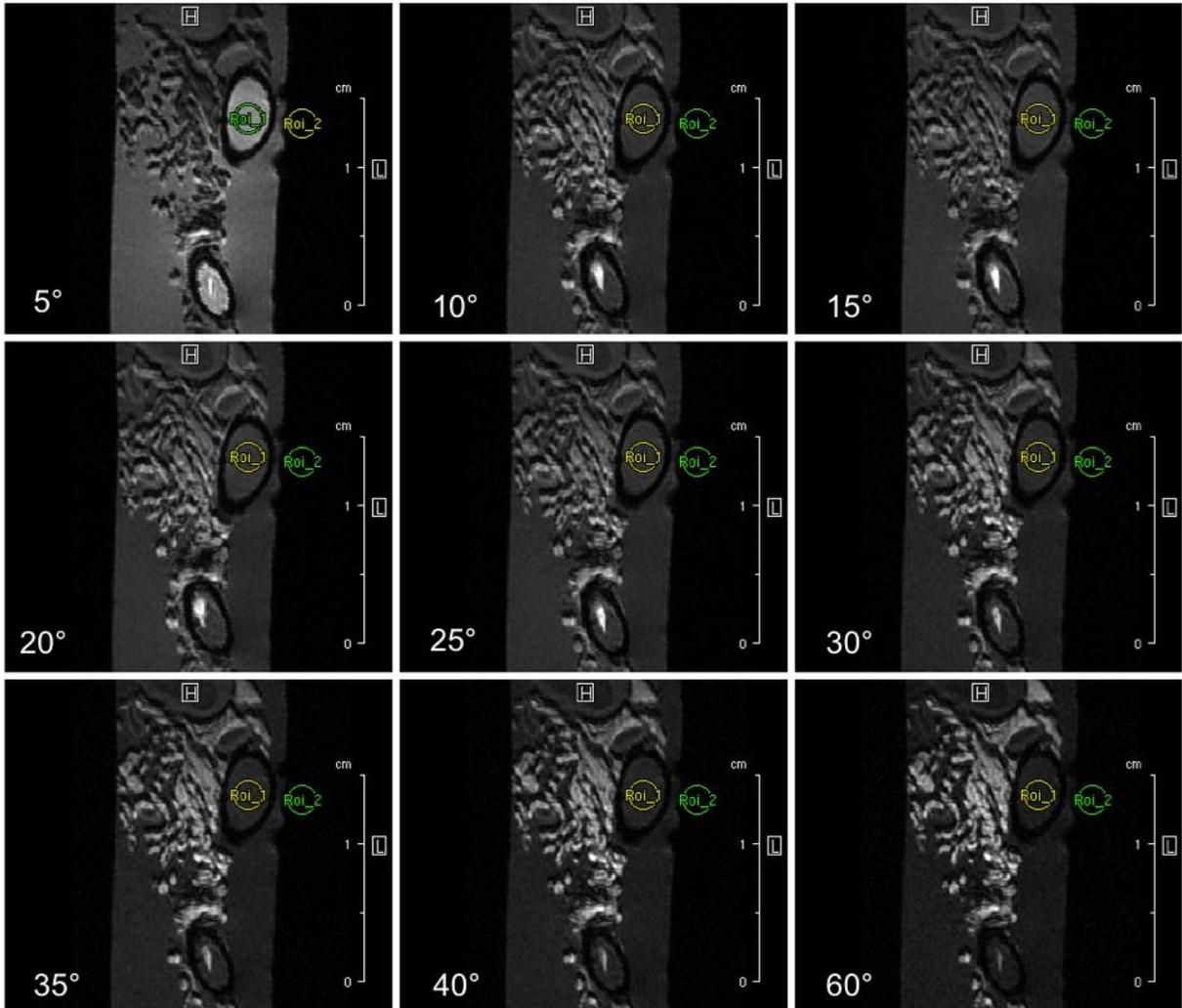


Abbildung 22: MRT-Aufnahmen eines Präparates mit verschiedenen Flipwinkeln (jeweils unten links im Bild).

Die Messungen ergaben, dass für unsere Fragestellung ein Flipwinkel von 15° optimal ist. Auf Grunde dessen wurden alle Präparate mit einem Flipwinkel von 15° gemessen.

Testmessungen zur Optimierung des Contrast-to-Noise

Zur Optimierung des Contrast-to-Noise-Signals wurden Messungen mit unterschiedlichen Inversionszeiten durchgeführt und verglichen (Diagramm 2, Abbildung 23)

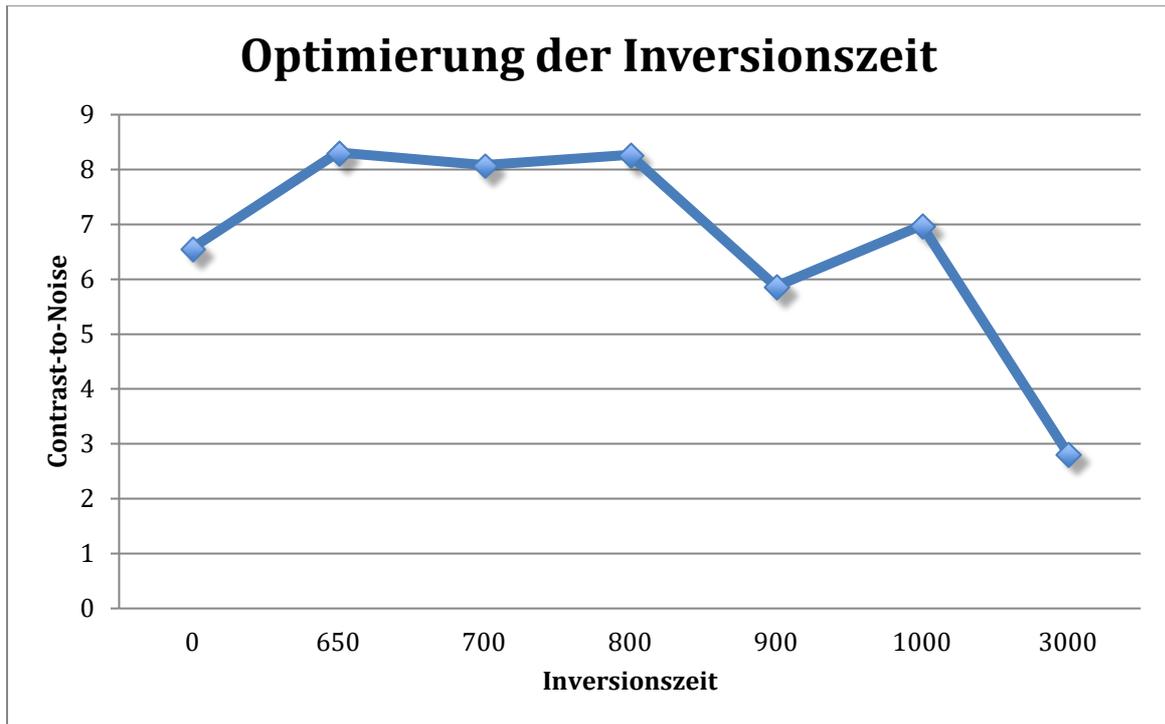


Diagramm 2: Intensität des Contrast-to-Noise Signals bei unterschiedlichen Inversionszeiten

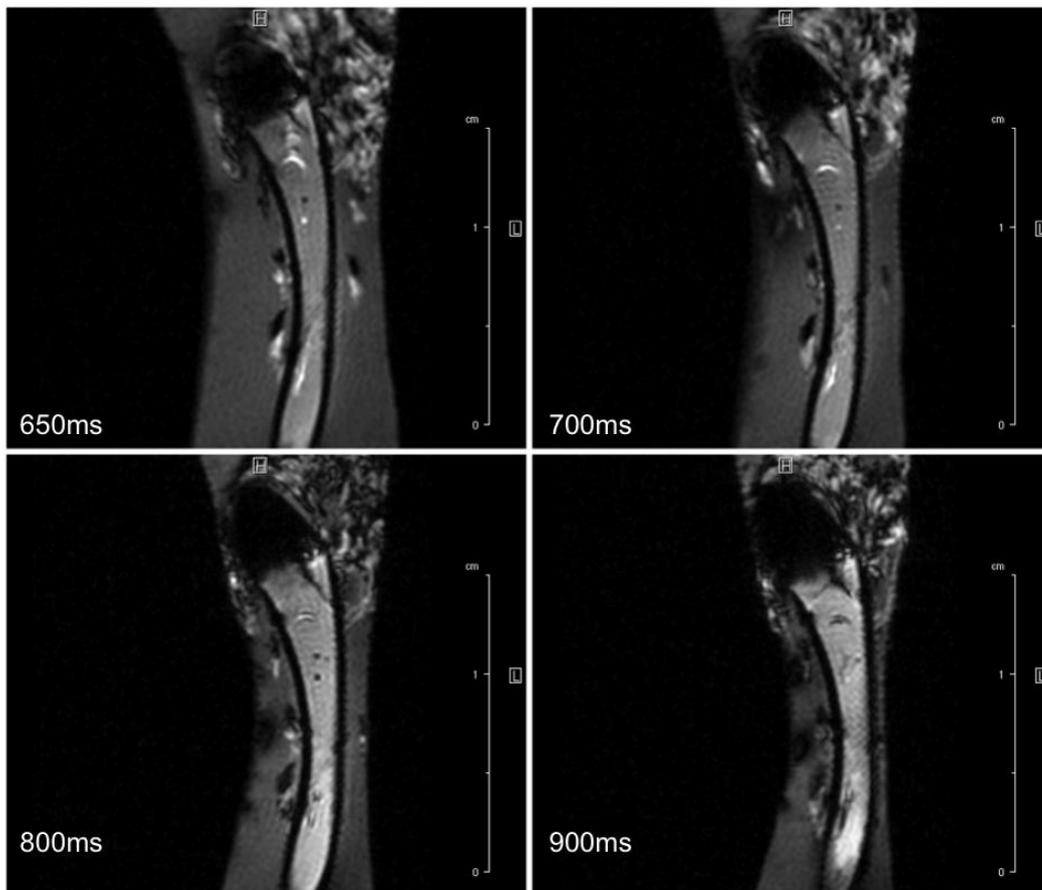


Abbildung 23: MRT-Aufnahmen eines Präparates mit unterschiedlichen Inversionszeiten (jeweils unten links im Bild).

Aufgrund der Messergebnisse wurde eine Inversionszeit von 800ms als optimal ermittelt und alle Präparate wurden zur besseren Vergleichbarkeit mit dieser Inversionszeit gemessen.

4.3.2. Mikro-CT

Mit Hilfe des SKYSCAN Mikro-CT ist es möglich, nach der Entnahme der Präparate die genaue Struktur, beispielsweise auf eventuelle Drahtbrüche der Flow Diverter mit einer Auflösung bis zu $0,7\mu\text{m}$ zu untersuchen.

Zur Untersuchung der Präparate im Mikro-CT wurden die Präparate nach der Entnahme in 3%-PBS gepufferter Formalinlösung konserviert und mittels Polypropylen-Schwamm in einem 10ml Falcon Tube fixiert.

4.3.3. Histologie

Um die verschiedenen Strukturen der Gewebeschnitte anzufärben, wurden die entnommenen Präparate fixiert, geschliffen und anschließend mittels Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) angefärbt. Zur Fixierung wurden die Präparate nach der Formalinfixierung für 48h in Parafin eingebettet anschließend erfolgt die Aushärtung in Methylmethacrylat (Technovit 9100, Heraeus, Hanau, Deutschland). Die daraus entstandenen Kunststoffblöcke wurden mittels Bogensäge geschnitten und anschließend wurden die Schnitte geschliffen, poliert und auf Objektträger geklebt.

Die Devices, die über das Aneurysma gelegt wurden, wurden wie folgt geschnitten: Ein Querschnitt vor dem Aneurysma, ein Querschnitt durch das Aneurysma und ein Querschnitt nach dem Aneurysma (Abbildung 24). Von den Flow Divertern, die in die Bauchorta gelegt wurden, wurden ebenfalls jeweils drei Schnitte angefertigt: Ein Querschnitt am proximalen Stentende, ein Querschnitt durch die Stentmitte und ein Längsschnitt durch das distale Stentende (Abbildung 25).

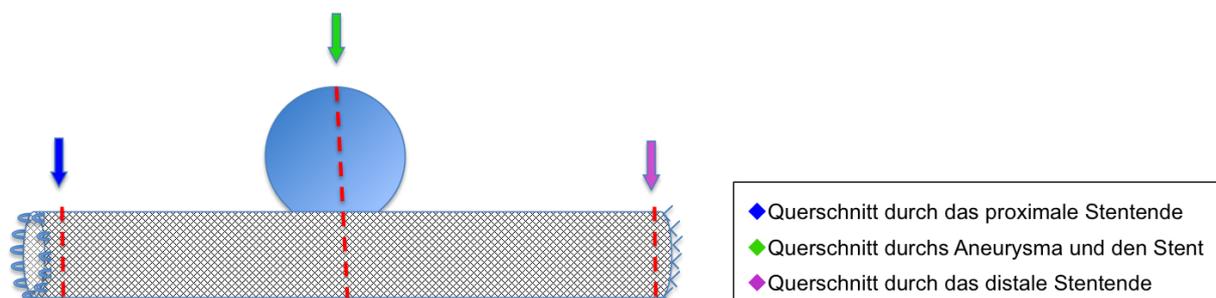


Abbildung 24: Schnittstellen der Flow Diverter, die über die Aneurysmen gelegt wurden.

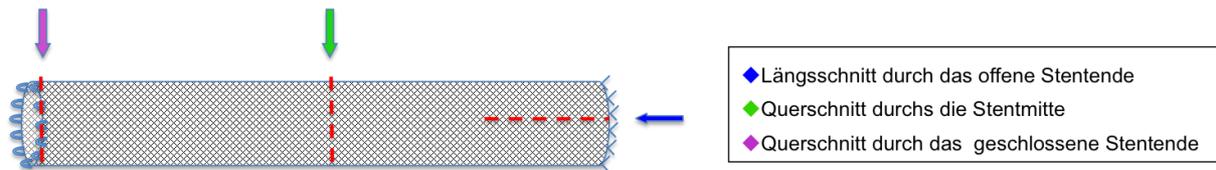


Abbildung 25: Schnittstellen der Flow Diverter die in die Bauchorta gelegt wurden.

Nach dem Schneiden der entsprechenden Präparatabschnitte erfolgt die HE-Färbung. Durch die HE-Färbung ist es möglich die verschiedenen Strukturen deutlich zu unterscheiden. Hämatoxylin färbt in aufbereiteter Form (Hämalaun) basophile Strukturen blau. Dies bedeutet Strukturen wie der Zellkern sowie das raue endoplasmatische Retikulum (rER) sind deutlich blau gefärbt. Eosin dagegen färbt alle acidophilen/basischen Strukturen rot, dadurch erscheinen nach Abschluss der Färbung alle Zellplasmaproteine, Mitochondrien, Kollagen sowie das glatte endoplasmatische Retikulum (sER) rot.

Die Beurteilung der Präparate erfolgte mittels Mikroskop (Eclipse 80i; Nikon, Düsseldorf, Deutschland) und wurde anschließend digitalisiert.

Die Beurteilung erfolgt hinsichtlich verschiedener Aspekte. Zum einen wurde die Neointima sowie die daraus resultierende Gefäßstenose vermessen, ebenso wurde die Ausbildung der Neointima über dem Aneurysmahals und entlang der Stentstreben beurteilt. Im Aneurysma wurde Augenmerk auf den Fortschritt der Thrombusorganisation gelegt. Des Weiteren wurde die Offenheit der überstenteten Gefäßabschnitte beurteilt.

4.3.4. Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe von „IBM SPSS Statistics“ (SPSS Inc., Chicago)

5. Ergebnisse

5.1. In Vitro

5.1.1. Untersuchung der Zellviabilität

Mit Hilfe des WST-Assay konnte gezeigt werden, dass der Flow Diverter die Zellviabilität der ihn umgebenden Zellen beeinflusst, allerdings ist die Zellviabilität sowohl nach 24 Stunden als auch nach 30 Tagen auf der Flowdiverteroberfläche um weniger als 10% gesenkt und nicht signifikant (Abbildung 26).

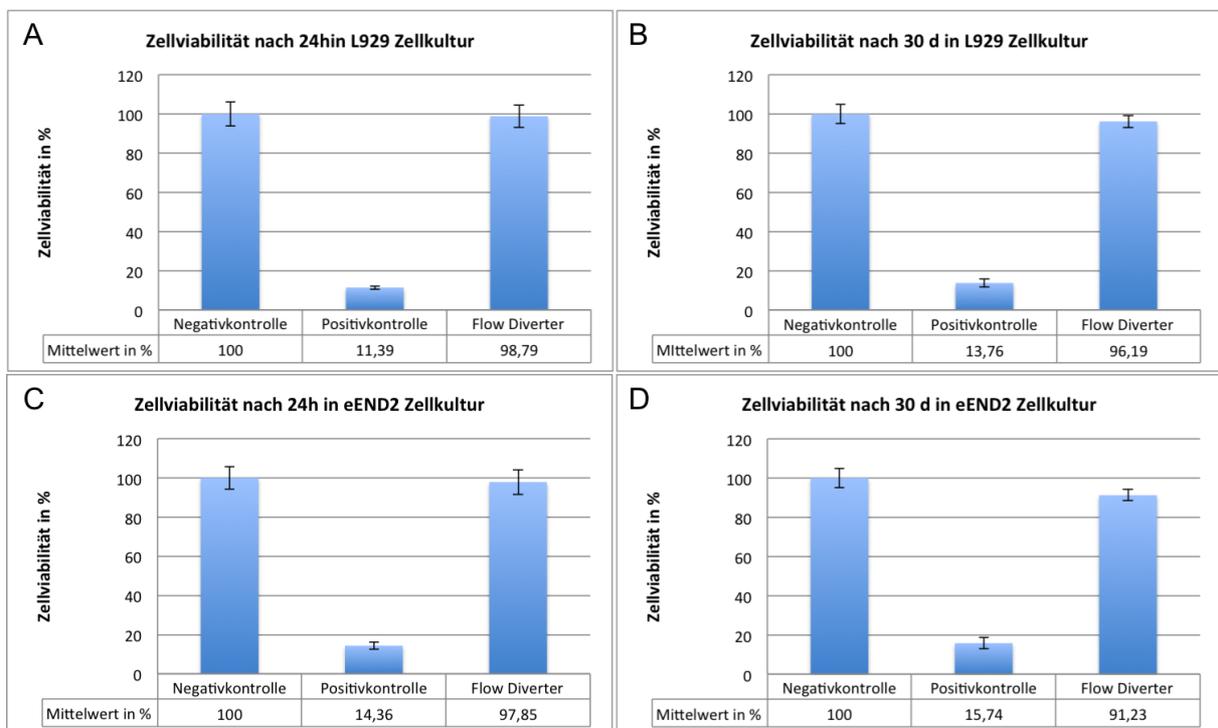


Abbildung 26: Einfluss des Flow Diverter Materials auf die Zellviabilität: A) von L929 Zellen nach 24 Stunden Inkubation, B) von L929 Zellen nach 30 Tagen Inkubation, C) von eEND2 Zellen nach 24 Stunden Inkubation, D) von eEND2 Zellen nach 30 Tagen Inkubation

5.1.2. Untersuchung auf nekrotische Membranschädigungen

LDH-Messung:

Zur Untersuchung ob der Flow Diverter einen direkten Einfluss auf nekrotischen Zelltod von ihm umgebenden Zellen hat, wurde eine LDH Messung mit L929 und eEND2 Zellen nach 24h und 30d Inkubation durchgeführt. Die Messwerte zeigen keine signifikante Beeinflussung des Zellsterbens durch das Flow Diverter Material. Nach 24h Inkubationszeit liegt bei beiden Zelllinien die LDH Konzentration im

Medium sowohl bei der Negativkontrolle als auch bei der Testung des Flow Diverters bei unter 5% und somit im Normbereich (Abbildung 27). Nach 30 Tagen liegt die Nekroserate etwas höher, allerdings immer noch im Normbereich, außerdem ist kein signifikanter Unterschied zwischen der LDH Konzentration im Testmedium zur Negativkontrolle feststellbar (Abbildung 27).

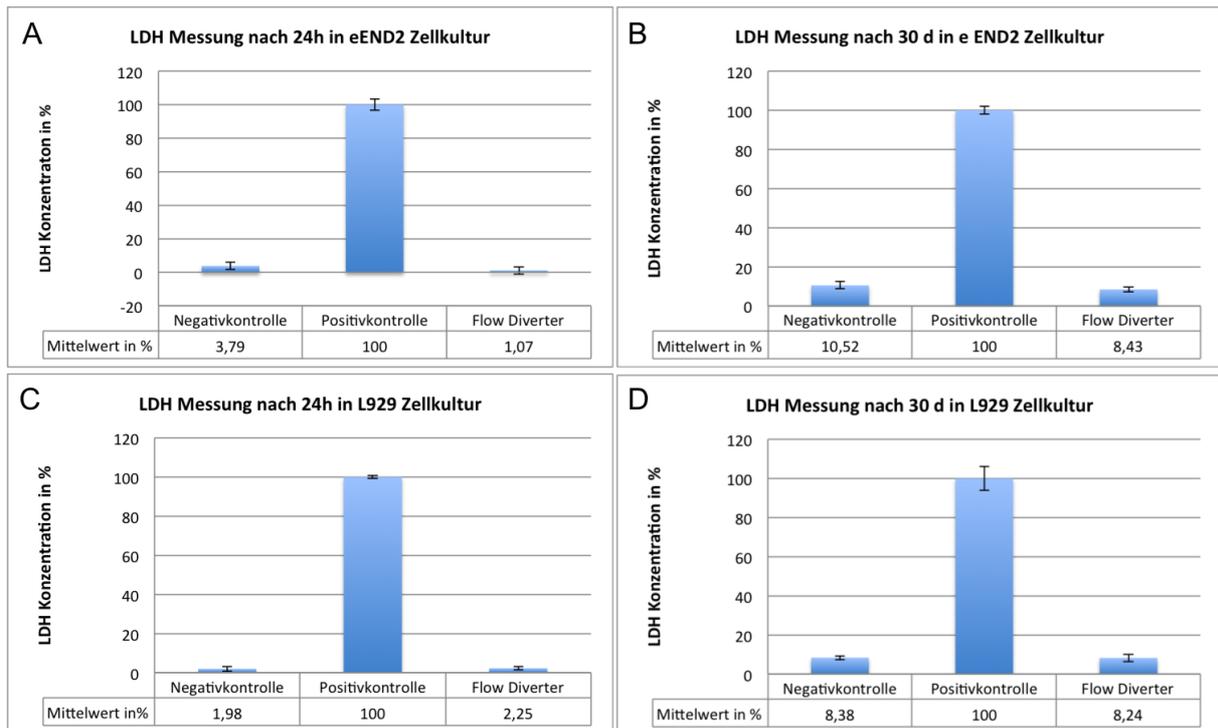


Abbildung 27: Einfluss des Flow Diverter Materials auf Nekrose. Die Diagramme zeigen prozentual die LDH Konzentration im Medium in eEND2 Zellkultur nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden (A) und 30 Tagen (B) sowie in L929 Zellkultur nach einer Inkubationszeit von 24 Stunden (C) und 30 Tagen (D).

5.2. In Vivo

5.2.1. Aneurysmainduktion

Es konnten in allen 18 Tieren erfolgreich Aneurysmen induziert werden. Die Devices konnten problemlos sowohl über den Aneurysmen als auch in der Bauchorta abgesetzt werden. Dies wurde auch bei 17 Tieren problemlos toleriert, ein Kaninchen entwickelte nach der Deviceimplantation eine Hemiparese, erholte sich davon aber relativ schnell (etwa 3 Wochen). Im Durchschnitt hatten die unbehandelten Aneurysmen eine Fläche von $1,2 \text{ cm}^2$. Die durchschnittliche Breite lag bei 2,5 mm (Standardabweichung: 0,8), die durchschnittliche Höhe bei 6,0 mm

(Standardabweichung: 1,5). Die detaillierten Größenverhältnisse sind der Tabelle zu entnehmen (Tabelle 3). In der 3-Monats-Gruppe sind lediglich die Größen von acht Aneurysmen angegeben, da auch nur bei acht der neun Tiere ein Flow Diverter über dem Aneurysma abgesetzt wurde.

Tabelle 3: Verteilung der Größenverhältnisse der Aneurysmen in den unterschiedlichen Gruppen

	3-Monats-Gruppe			6-Monats-Gruppe		
Tier	Aneurysmahals [mm]	Aneurysmbreite [mm]	Aneurysmahöhe [mm]	Aneurysmahals [mm]	Aneurysmbreite [mm]	Aneurysmahöhe [mm]
1	3,1	2,2	5,07	1,99	1,35	3,19
2	2,84	1,62	5,88	3,01	1,92	4,76
3	2,15	1,74	4,69	2,96	1,78	4,58
4	4,35	2,54	7,42	4,17	2,59	5,21
5	3,26	3,11	5,02	3,22	3,32	6,11
6	4,41	2,82	7,47	4,13	5,00	9,18
7	4,25	4,49	8,94	4,5	2,00	10,12
8	1,58	1,11	2,36	3,93	1,42	5,53
9				4,92	3,07	6,7

Die durchschnittliche Aneurysmagröße der Aneurysmen der 3- und der 6-Monatgruppe zeigten keinen signifikanten Unterschied (Tabelle 4)

Tabelle 4: Durchschnittliche Aneurysmagröße in den unterschiedlichen Gruppen

	Aneurysmahals [mm]	Aneurysmbreite [mm]	Aneurysmahöhe [mm]
3-Monatgruppe	3,13 ± 0,8	2,5 ± 0,9	5,75 ± 2,1
6-Monatsgruppe	3,56 ± 0,9	2,44 ± 1,2	6,22 ± 2,2
<i>P value</i>	0,319	0,919	0,652

5.2.2. Flow Diverter-Eigenschaften: Sichtbarkeit, Flexibilität, Positionierbarkeit

Alle 35 implantierten Flow Diverter erwiesen sich als gut absetzbar. Die Möglichkeit den Flow Diverter nach einer fast vollständigen Entfaltung (95%) wieder in den Mikrokatheter zurückziehen zu können, machte jederzeit eine Positionskorrektur möglich und gewährleistete eine optimale Absetzposition. Eine gute Sichtbarkeit des Flow Diverter war sowohl durch die distalen als auch durch die proximalen

Röntgenmarker gegeben und war während des gesamten Experiments konstant (Abbildung 28).

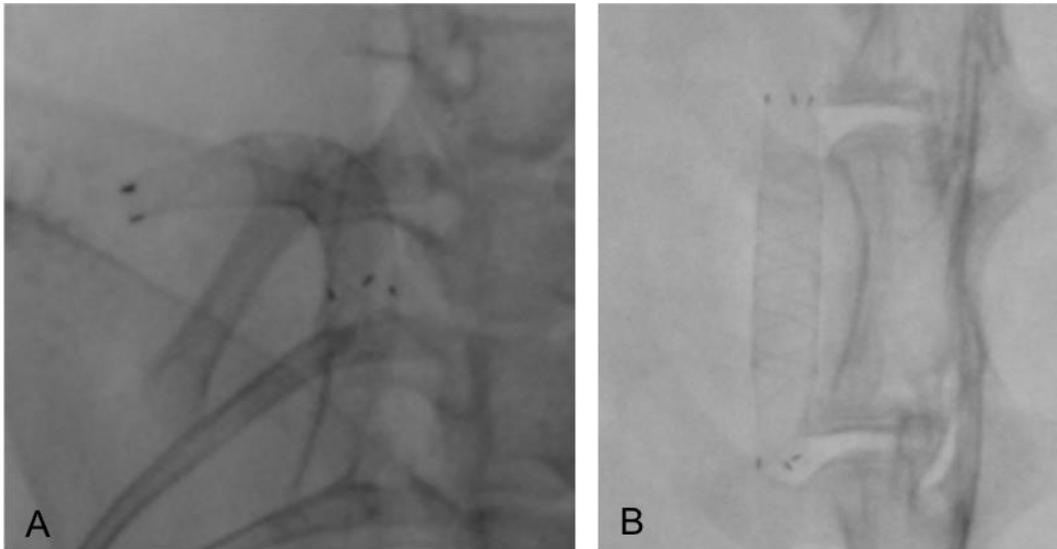


Abbildung 28: Sichtbarkeit der Devices bei Durchleuchtung. A) abgesetzt in der A. Subclavia (re) und B) in der Baucharterie

5.2.3. Angiographische Ergebnisse

5.2.3.1. Durchschnittlicher Restfluss ins Aneurysma über den Versuchszeitraum

Direkt nach der Implantation konnte noch ein durchschnittlicher Restfluss im Aneurysma von 55% ermittelt werden, nach einem Monat sank die Restflussrate bereits auf 32%. Die Drei-Monats-Kontrollen ergaben einen durchschnittlichen Restfluss ins Aneurysma von 14%, nach 6 Monaten lag der durchschnittliche Restfluss ins Aneurysma bei 1%, wobei die meisten Aneurysmen komplett verschlossen waren (Diagramm 3).

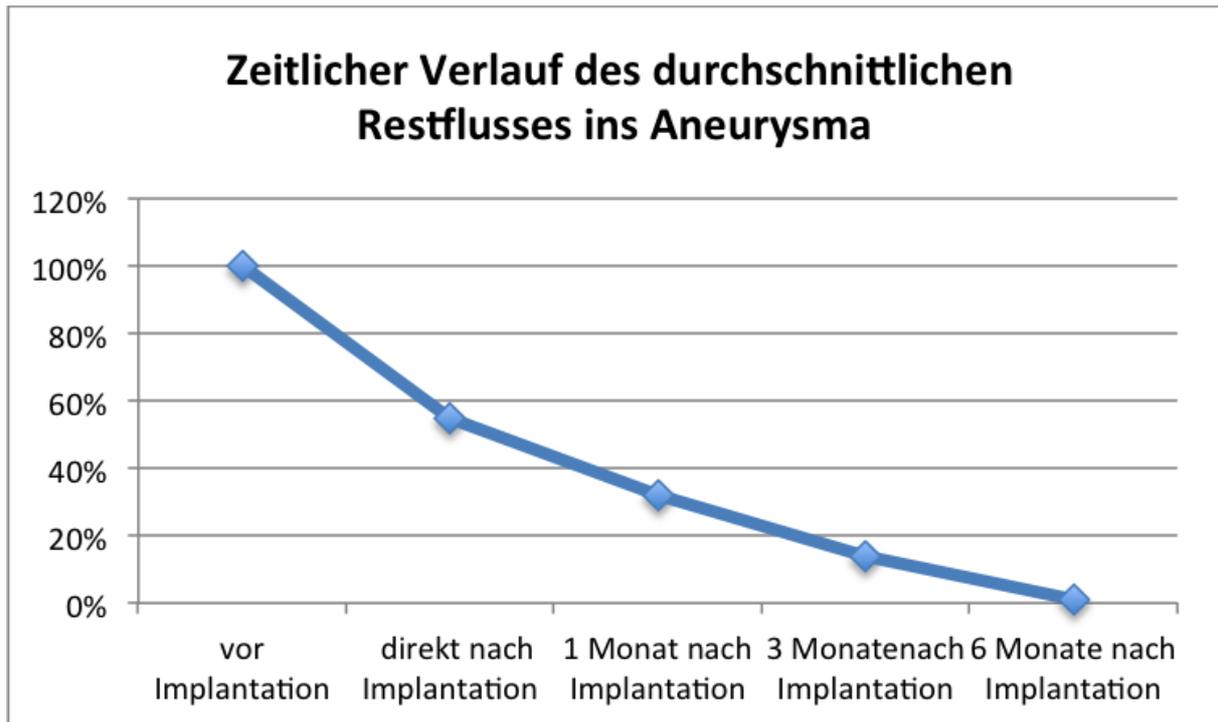


Diagramm3: Durchschnittlicher Restfluss ins Aneurysma über den Versuchszeitraum.

5.2.3.2. Okklusionsrate der Aneurysmen

Um nach der Deviceimplantation den Blutrestfluss ins Aneurysma besser beurteilen und vergleichen zu können, besteht die Möglichkeit die Okklusionsrate in verschiedene Grade einzuteilen (Tabelle 5)

Tabelle 5: Klassifikation der Okklusionsrate

Klassifikation der Okklusionsrate	
Grad 0	Aneurysma vollständig offen
Grad 1	<50% des Aneurysmas sind verschlossen
Grad 2	50-80% des Aneurysmas sind verschlossen
Grad 3	Mehr als 80% des Aneurysmas sind verschlossen (Restfüllung lediglich am Aneurysmahals)
Grad 4	Vollständiger Verschluss des Aneurysmas, keine Restfüllung

Einteilung der Okklusionsrate in Anlehnung an Kamran et al. (Kamran2011)

Im folgenden werden nur die Okklusionsraten nach 3 und 6 Monaten näher besprochen, da direkt nach der Implantation die Aussagekraft der Restflussrate noch sehr gering ist. Auch auf die Ergebnisse der 1-Monatskontrolle wird nicht näher eingegangen, da diese Kontrolle über die Ohrvene gemacht wurde und daher die

Ergebnisse nicht in direkte Relation zur 3- und 6-Monatskontrolle gesetzt werden können, sondern lediglich einer ersten Orientierung dienen.

Okklusionsrate der Aneurysmen nach drei Monaten

Die angiographische Kontrolle nach drei Monaten ergab lediglich bei einem von acht Tieren noch einen Restfluss ins Aneurysma, dieser lag bei Grad 2 (Tabelle 5). Die restlichen Tiere wiesen schon nach drei Monaten einen kompletten Aneurysmaverschluss auf (Abbildung 29).

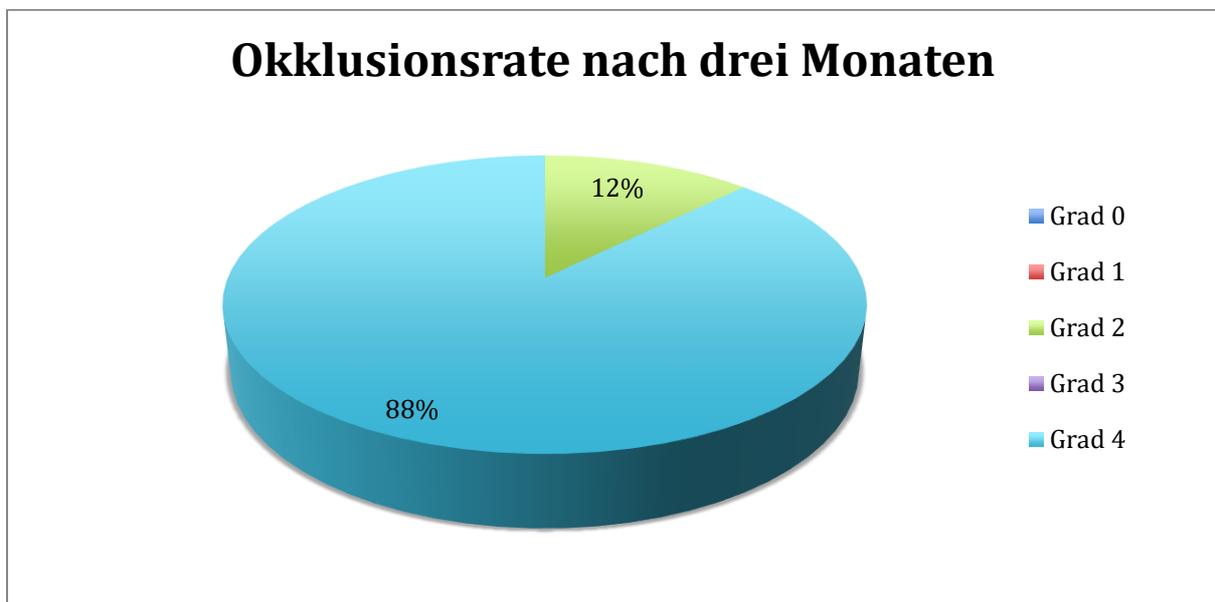


Abbildung 29: Prozentuale Verteilung der Okklusionsrate der Aneurysmen drei Monate nach der Implantation der Flow Diverter

Okklusionsrate der Aneurysmen nach 6 Monaten

Die Verschlussrate der noch nicht komplett verschlossenen Aneurysmen stieg im Vergleich der 6-Monatsgruppe zur 3-Monats-Gruppe um 1 Grad an. Lediglich ein Tier wies noch einen Restfluss ins Aneurysma auf, der lag allerdings nur bei etwa 10% Restfluss ins Aneurysma (Grad 3). Insgesamt konnte bei allen bis auf ein Tier ein kompletter Aneurysmaverschluss festgestellt werden (Abbildung 30). Die detaillierte Übersicht über die Okklusionsraten ist Tabelle 6 zu entnehmen.

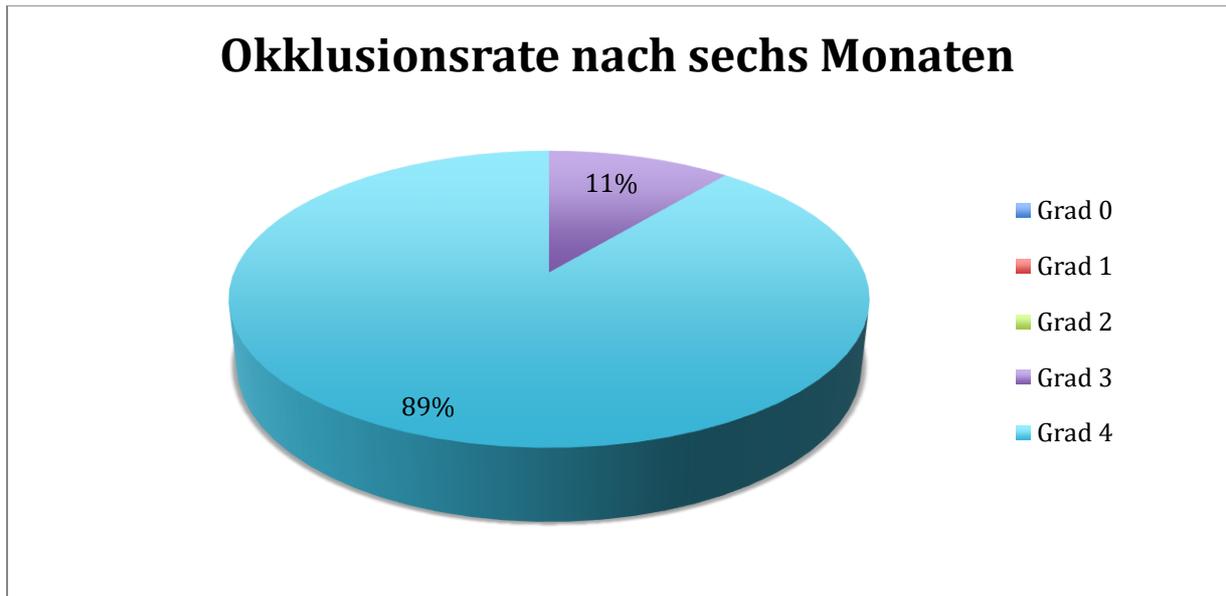


Abbildung 30: Prozentuale Verteilung der Okklusionsrate der Aneurysmen sechs Monate nach der Implantation der Flow Diverter

Tabelle 6: Übersicht der Okklusionsraten

Tier	3-Monats-Gruppe		6-Monats-Gruppe	
	Okklusionsrate	Okklusionsrate	Okklusionsrate	Okklusionsrate
	Grad	In %	Grad	In %
1	IV	100	IV	100
2	IV	100	IV	100
3	IV	100	IV	100
4	IV	100	IV	100
5	IV	100	IV	100
6	II	57	III	90
7	IV	100	IV	100
8	IV	100	IV	100
9			IV	100
Mittelwert		94,6		99,9
Standardabweichung		15,2		30

Die Tabelle zeigt die Okklusionsraten der Aneurysmen der 3- und 6-Monatsgruppe im Vergleich (nach der oben beschriebenen 5-Punkte Skala und in Prozent)

5.2.3.3. Stentverschlüsse

Um die Thrombogenität, die Verschlussrate sowie das Verhalten gegenüber abgehender Gefäße besser beurteilen zu können, wurde jedem Tier zusätzlich zum

Flow Diverter über dem Aneurysma ein Flow Diverter in die Baucharterie gesetzt und damit auch abgehende Gefäße überstentet (Abbildung 32 und 33). Von insgesamt 35 implantierten Stents waren 2 komplett verschlossen und es haben sich bereits Kollateralen ausgebildet um die Blutversorgung hinter dem Verschluss weiter zu gewährleisten (Abbildung 34). Abbildung 31 zeigt den prozentualen Anteil der Flow Diverter Verschlüsse in Relation zu allen eingesetzten Devices. Bei den restlichen Flow Divertern konnte keine Durchflussbeeinträchtigung festgestellt werden (Abbildung 35) Auch die durch die Flow Diverter in der Baucharterie überstenteten Gefäße waren weiterhin offen (Abbildung 32). Der Durchmesser der abgehenden Gefäße lag bei $1,4 \pm 0,3\text{mm}$ (Arteriaea vertebrales), $1,2 \pm 0,3\text{mm}$ (Arteriaea lumbales und $2,3 \pm 0,1\text{mm}$ (Arteriaea renales).

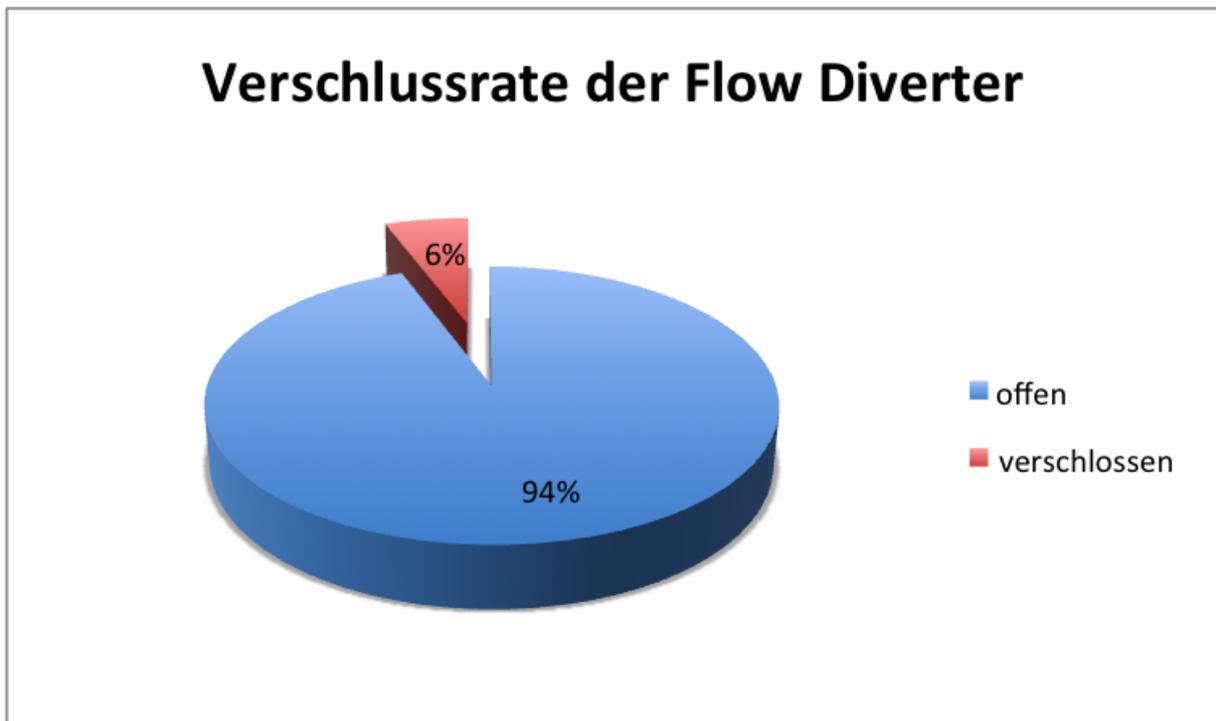


Abbildung 31: Prozentuale Verschlussrate aller implantierten Flow Diverter

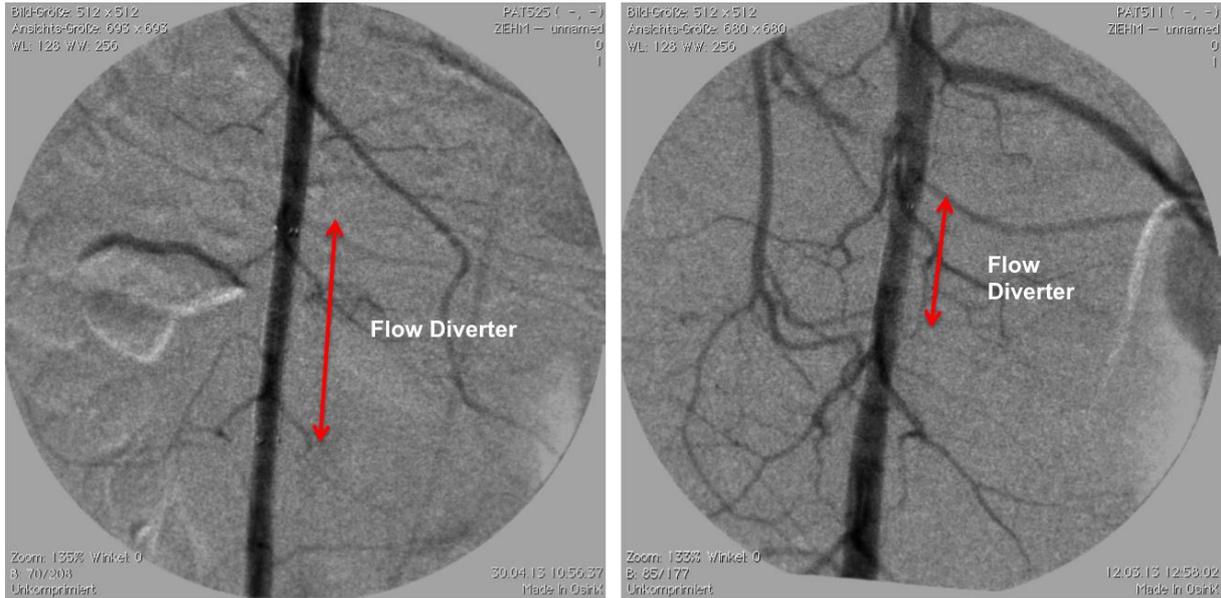


Abbildung 32: Durchleuchtungsaufnahme von in die Baucharterie implantierten Flow Divertern. Deutlich zu erkennen ist, dass der Blutfluss abgehender Gefäße weiterhin gewährleistet ist.



Abbildung 33: 3D-Rekonstruktion von zwei in die Baucharterie implantierten Flow Divertern. Der Blutfluss abgehender Gefäße ist weiterhin gewährleistet ist.

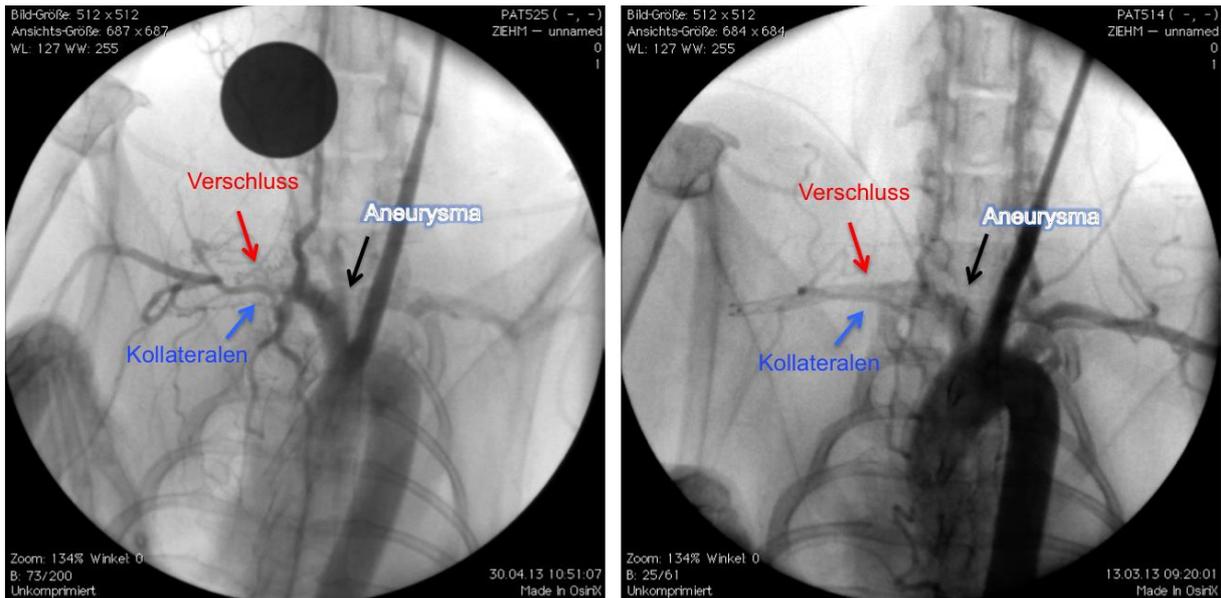


Abbildung 34: Durchleuchtungsaufnahme von zwei über den Aneurysmen implantierten Flow Divertern, die bereits nach drei Monaten einen kompletten Verschluss aufwiesen, deutlich zu erkennen sind Kollateralen die sich auf Grund des Verschlusses neu gebildet haben.

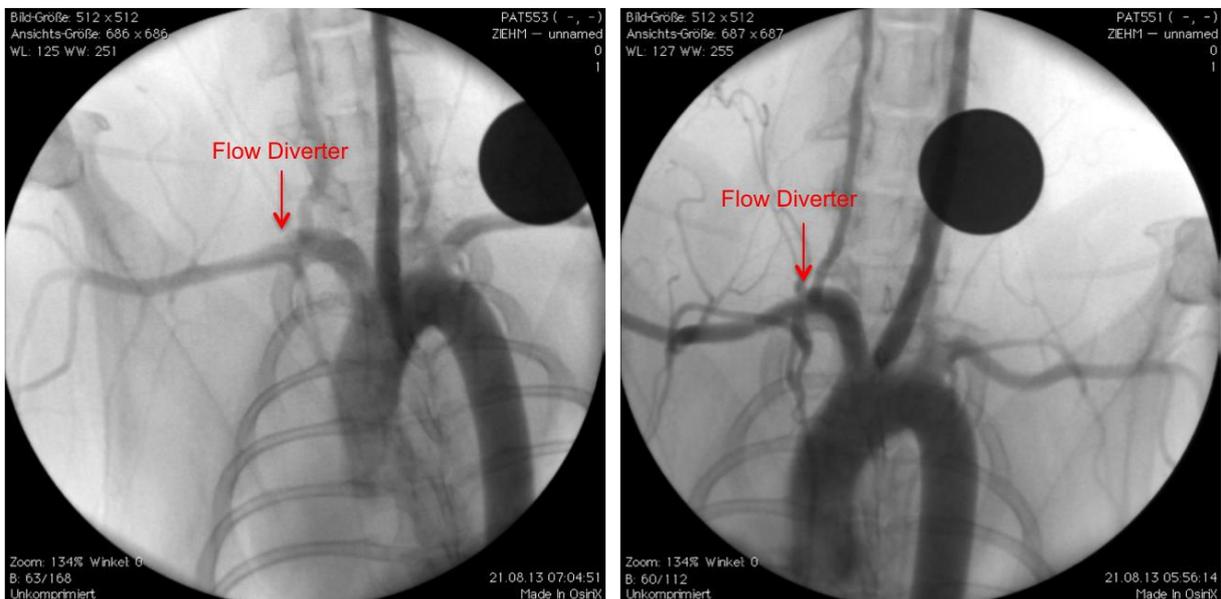


Abbildung 35: Durchleuchtungsaufnahmen von Aneurysmen, die mit einem Flow Diverter überstentet wurden. Der Durchfluss durch den Stent ist uneingeschränkt gegeben. Die Aneurysmen vollständig verschlossen.

5.3. Ex vivo

5.3.1. Magnetresonanztomographie (9,4 Tesla MRT)

Alle Flow Diverter wurden nach der Explantation mittels MRT untersucht. Dabei wurde besonderes Augenmerk auf die durchgängige Offenheit und eventuelle Ablagerungen an der Innenseite der Flow Diverter, gelegt. Des Weiteren konnten so Abschnitte bestimmt werden, die dann im Anschluss histologisch aufgearbeitet wurden. Die Ergebnisse deckten sich mit den voraus gegangenen angiographischen Untersuchungen und wurden durch die histologische Aufarbeitung belegt. Daher wird hier nur beispielhaft auf einzelne Aufnahmen eingegangen. Bei allen in die Baucharterie eingesetzten Flow Divertern war eine durchgängige Offenheit erkennbar, auch Ablagerungen am inneren des Flow Divertern waren nicht zu finden (Abbildung 36). Bei den Flow Divertern, die schon in der Angiographie einen Verschluss zeigten, konnten auch im MRT Bild deutlich Ablagerungen erkannt werden (Abbildung 37)

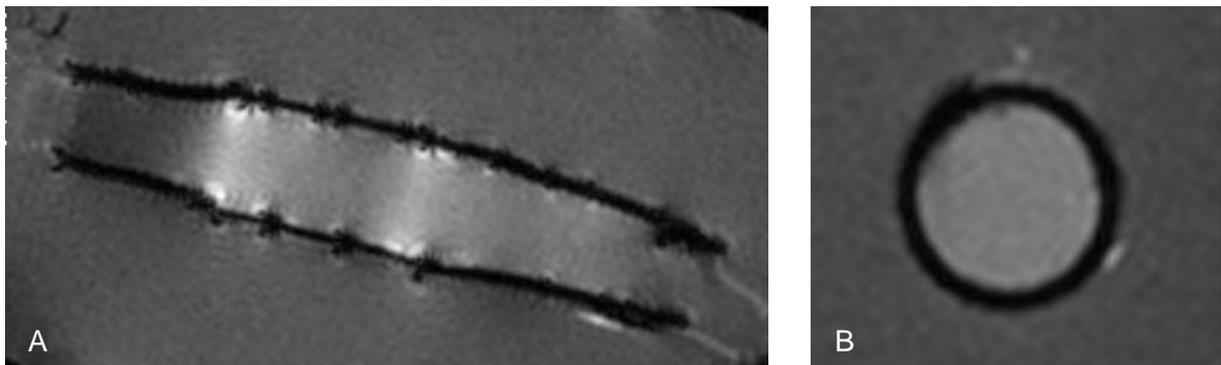


Abbildung 36: MRT Aufnahme eines in die Baucharterie implantierten Flow Diverter. Der Flow Diverter ist vollkommen offen. A Querschnitt B: Durchschnitt

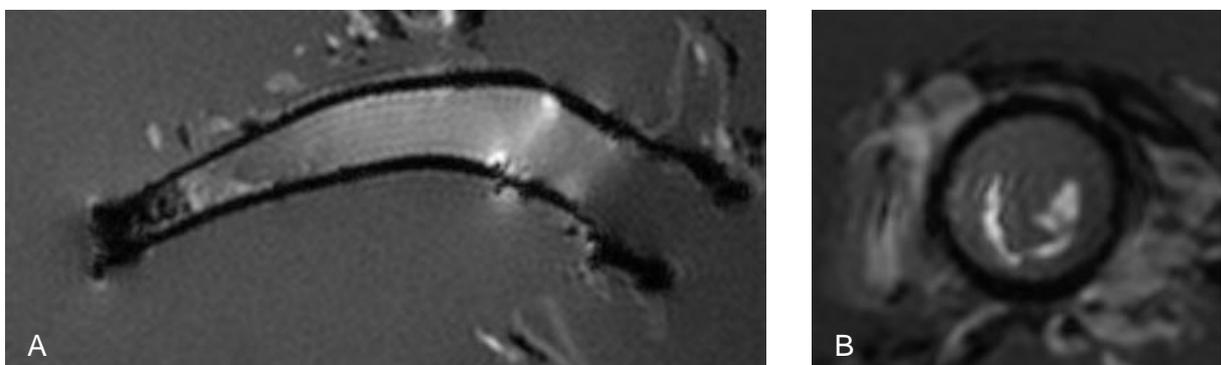


Abbildung 37: MRT Aufnahme eines verschlossenen Flow Diverter im A Querschnitt und B Durchschnitt. Es sind deutlich Ablagerungen erkennbar.

5.3.2. Mikro CT

Da frühere Studien mit Devices im Mikro-CT Brüche der Stentstreben aufwiesen, wurden sowohl die in der Baucharterie implantierten (Abbildung 38), als auch die über dem Aneurysma (Abbildung 39) abgesetzten Flow Diverter mittels Mikro-CT auf mögliche Brüche der Stentstreben untersucht. Dabei konnten bei keinem der eingesetzten Implantate Brüche festgestellt werden. Deutlich zu erkennen sind die Röntgenmarker, mit Hilfe derer kontrolliert werden kann ob sich der Flow Diverter vollständig geöffnet hat. Auch die Anpassung an Kalibersprünge des Gefäßes ist gut nachzuverfolgen. Bei den vorgekommenen Stentverschlüssen war im Mikro-CT ein relativ großer Gefäßkalibersprung zu erkennen (Abbildung 40).

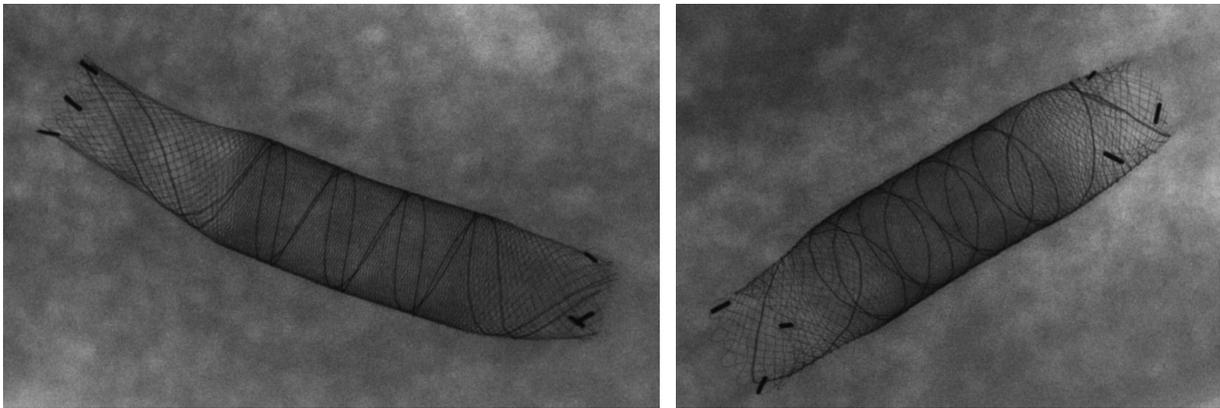


Abbildung 38: Mikro-CT-Aufnahmen von Flow Divertern die in der Baucharterie abgesetzt wurden.

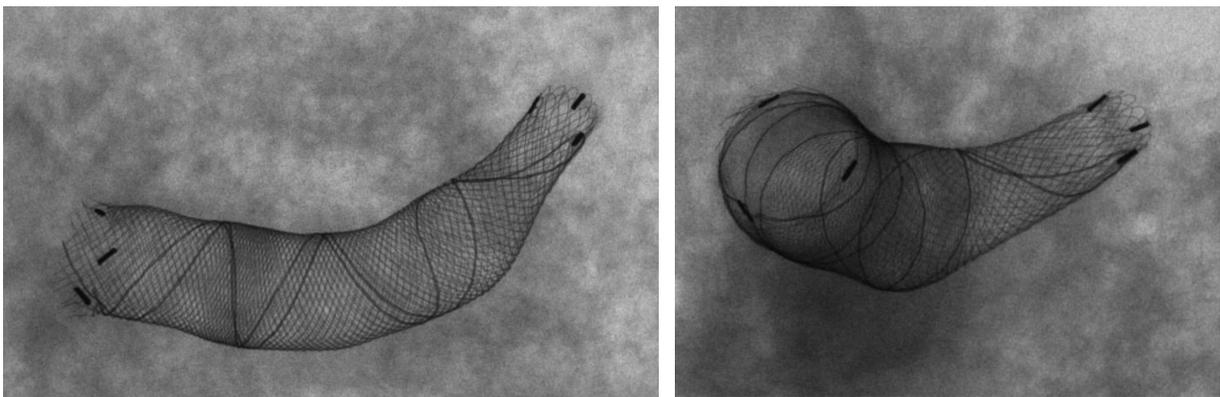


Abbildung 39: Mikro-CT Aufnahme von Flow Divertern, die über Aneurysmen implantiert wurden.

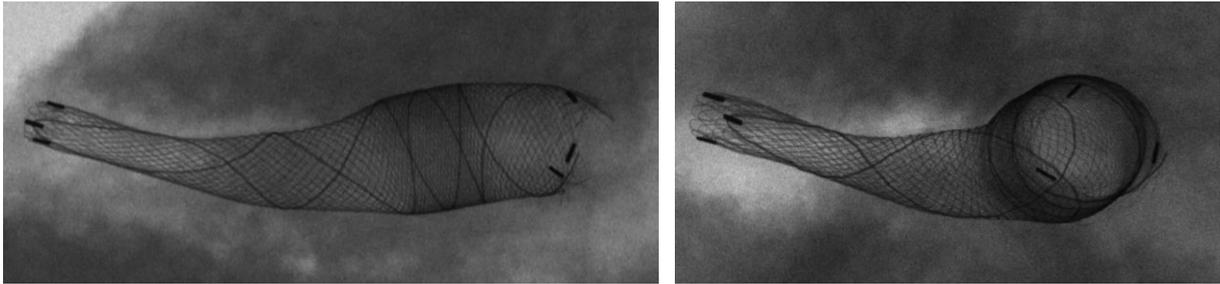


Abbildung 40: Mikro-CT-Aufnahmen von Flow Divertern, die über einem Aneurysma abgesetzt wurden und die bei der Nachkontrolle verschlossen waren. Ein starker Kalibersprung ist deutlich erkennbar.

5.3.3.Histologie

5.3.3.1.Aneurysmaokklusion

Mittels histologischer Schnitte durch das Aneurysma konnten die Thromben im Aneurysma genauer untersucht werden. In allen Aneurysmen waren Thromben zu finden (Abbildung 41). Nach drei Monaten handelt es sich um teilorganisierte Thromben, die nach sechs Monaten bereits in fünf von neun Fällen organisiert waren. Beides erfolgte mit Nachweis eines ausgeprägten Hämosiderin-Depots. Die Aneurysmen, die nicht vollständig verschlossen waren, zeigten im Bereich des Aneurysmahalses frische Blutanteile.

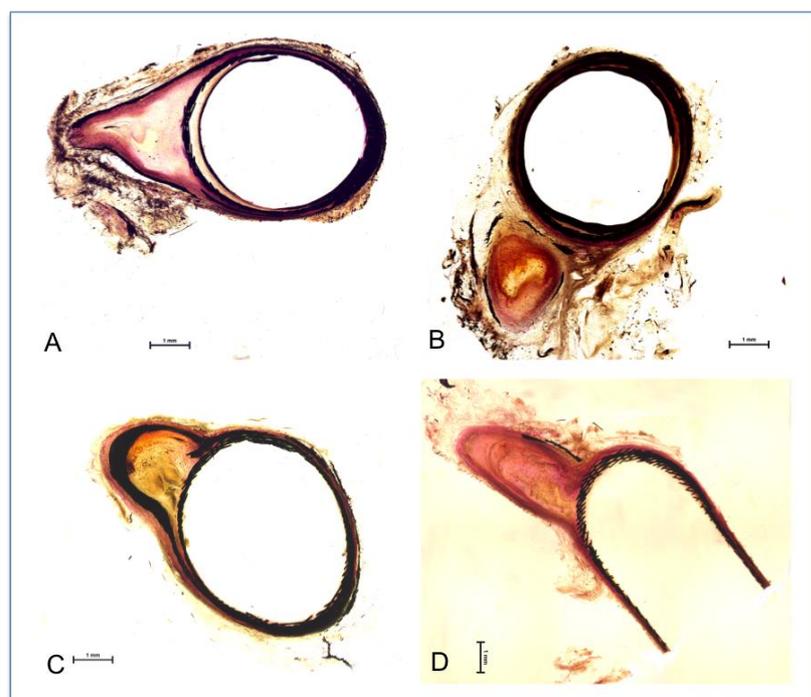


Abbildung 41: Querschnitt durch Aneurysmen nach histologischer Aufbereitung.

5.3.3.2. Durchgängigkeit abgehender Gefäße

Auch die histologischen Schnitte konnten belegen, dass überstentete Gefäße weiterhin durchlässig für den Blutfluss sind (Abbildung 42)

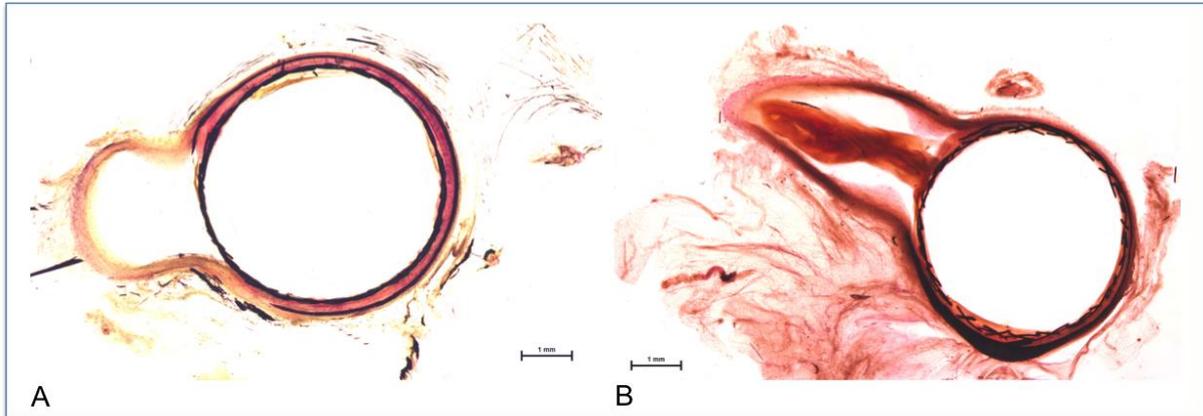


Abbildung 42: Querschnitt durch Flow Diverter und überstentete Gefäße

5.3.3.3. Neubildung der Neointima

Durch die Implantation der Flow Diverter kam es zu einer Manipulation der Gefäßwand und zunehmend zum Einwachsen der Flow Diverter, was letztendlich zur Ausbildung einer Neointima im Inneren der Flow Diverter führte (Abbildung 43).

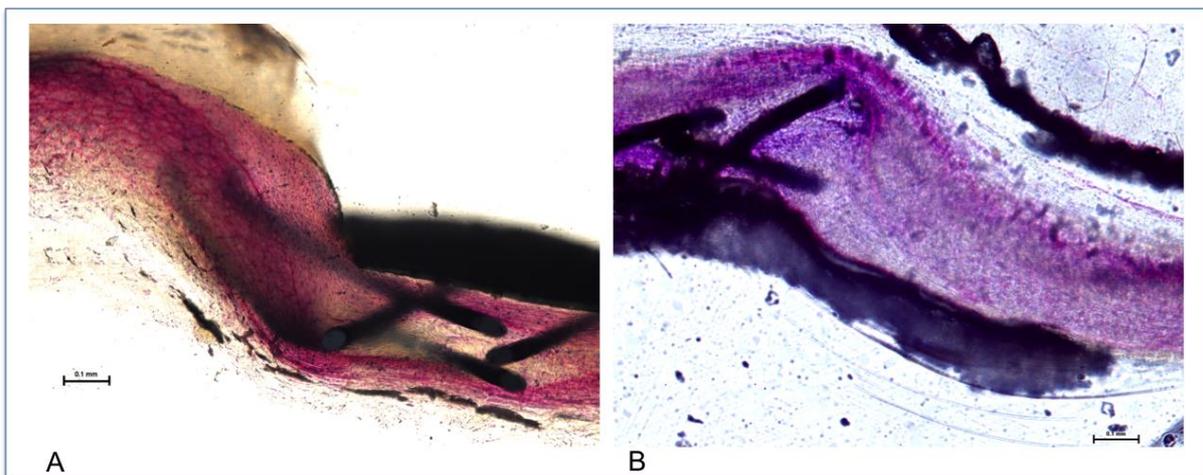


Abbildung 43: Neointimale Proliferation entlang der Stentstreben

Anhand der histologischen Schnitte konnte die Neointima ausgemessen (Tabelle 7) und die daraus resultierende Gefäßstenose berechnet werden (Tabelle 8). Alle Präparate zeigten eine dünn ausgebildete Neointima. Allerdings konnte ein signifikanter Unterschied in der Ausbildung der Neointimadicke der in der A.subclavia abgesetzten zu denen in der Aorta abdominalis abgesetzten Flow

Divertern festgestellt werden (Abbildung 44). In den Flow Divertern, die in der Aorta abdominalis abgesetzt wurden, war die ausgebildete Neointima in etwa halb so dick wie im Lumen der in der A. subclavia abgesetzten Devices (Tabelle 7).

Tabelle 7: Neointimadicke im Flow Diverterlumen

Neointimadicke in μm					
	A.subclavia proximal	A.subclavia über Aneurysma	A.subclavia distal	Bauchaorta mitte	Bauchaorta proximal
Nach 3 Monaten					
Mittelwert	155,9	140,7	136,4	74,8	71,1
Standardabweichung	30,3	35,5	16,3	9,9	5,4
Nach 6 Monaten					
Mittelwert	149,3	132,2	125,3	63,8	60,6
Standardabweichung	38,5	41,6	53,3	10,6	8,5
p-Wert	0,716	0,673	0,667	0,042	0,015

Betrachtet man die Dicke der Neointima nach drei Monaten im Vergleich zu sechs Monaten ist eine leicht abnehmende Tendenz erkennbar (Tabelle 7).

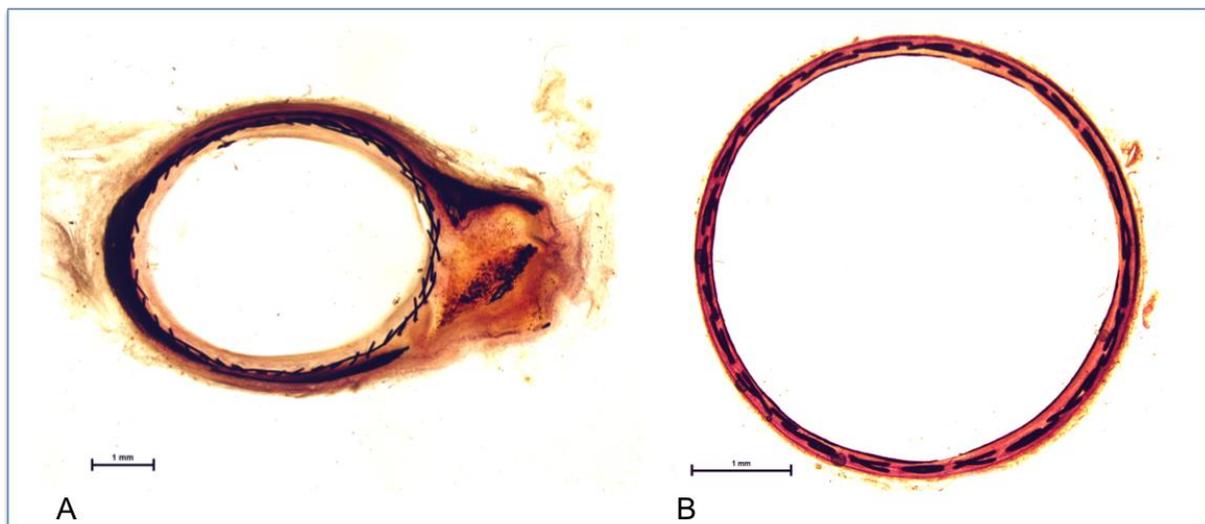


Abbildung 44: Neointima im Gefäßlumen. A Querschnitt durch einen in der A. subclavia abgesetzten Flow Diverter B Querschnitt eines in der Bauchaorta abgesetzten Flow Diverters. Deutlich zu erkennen ist die dickere Neointima im in der A. Subclavia abgesetzten Device gegenüber dem in der Bauchaorta abgesetzten.

5.3.3.4. Durchmesserstenosen

Da die Durchmesserstenose in direkter Korrelation zur neugebildeten Neointimadicke steht, korrelieren die gemessenen Ergebnisse direkt miteinander. Die Durchmesserstenose der A. subclavia ist prozentual in etwa doppelt so hoch wie in der A. abdominalis. Dies zeigt sich sowohl nach drei als auch nach sechs Monaten allerdings ist nach sechs Monaten ein leichter Rückgang erkennbar (Tabelle 8).

Tabelle 8: Durchmesserstenose in den implantierten Flow Divertern nach 3 und 6 Monaten

Durchmesserstenose in %					
	A.subclavia proximal	A.subclavia über Aneurysma	A.subclavia distal	Bauchaorta mitte	Bauchaorta proximal
Nach 3 Monaten					
Mittelwert	9,0	7,7	8,6	5,1	4,9
Standardabweichung	2,0	2,1	0,5	1,2	0,8
Nach 6 Monaten					
Mittelwert	8,1	6,6	7,8	3,5	3,4
Standardabweichung	1,7	2,8	3,1	0,8	0,5
p-Wert	0,389	0,374	0,598	0,007	0,001

5.3.3.5. Deviceverschlüsse

Die zwei aufgetretenen Deviceverschlüsse zeigten in der histologischen Auswertung eine vollständige Obliteration des Stentlumens durch Bindegewebe (Abbildung 45). In diesen Fällen war die Bestimmung der neugebildeten Neointima nicht möglich.

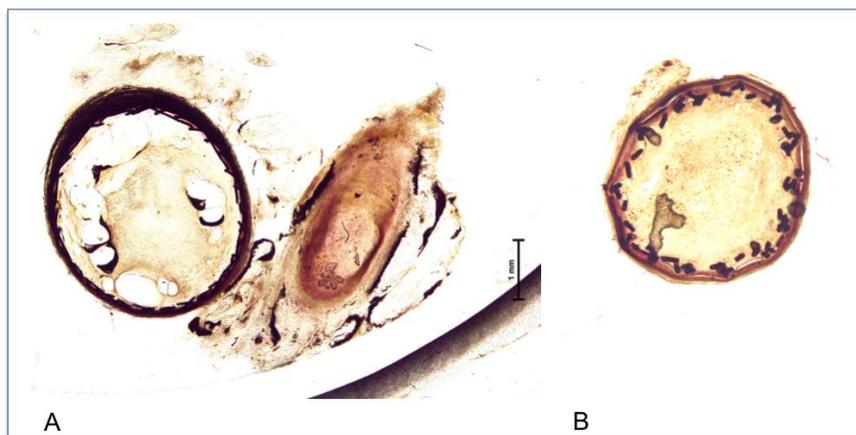


Abbildung 45. Querschnitt durch verschlossene Flow Diverter

5.3.3.6. Ossäre Metaplasien und entzündliche Prozesse

Ossäre Metaplasien entstehen durch die Umwandlung von Bindegewebe in Geflechtknochen. Ossäre Metaplasien konnten in den Devices der 3-Monats-Gruppe keine festgestellt werden, weder in den in der Subclavia implantierten, noch in den in der Bauchorta implantierten Flow Divertern. Nach 6 Monaten wiesen lediglich vier der Schnitte der in der Subclavia implantierten Devices ossäre Metaplasien auf.

In den Devices, die in die Bauchorta implantiert wurden, konnten auch nach 6 Monaten keine ossären Metaplasien nachgewiesen werden.

Entzündungsreaktionen durch die implantierten Flow Diverter konnten weder nach drei noch nach sechs Monaten festgestellt werden.

6. Diskussion

Aneurysmen können angeboren sein oder im Laufe des Lebens entstehen. Studien besagen, dass etwa 2% der Bevölkerung Träger eines Aneurysmas sind (124). Die Behandlungsmöglichkeiten reichen von operativen Methoden, wie Clipping bis zum endovaskulären Verschluss mittels Coils (13, 49, 50, 89, 94), Stents (12, 36, 56), einer Kombination aus Coil und Stent (91, 107, 133, 139), über Flüssig-Embolysat (109) zum Verschluss des Aneurysmas bis hin zu Flow Divertern (5, 15, 134). Gerade in den letzten Jahren wird auch vermehrt an der Entwicklung neuer Flow Diverter gearbeitet. Mittlerweile sind schon mehrere Flow Diverter bzw. blutflussbeeinflussende Devices auf dem Markt erhältlich und haben sich in verschiedenen Studien bewehrt (7, 28, 40, 67, 68, 88, 123).

Bei dem in dieser Studie verwendeten Flow Diverter (Derivo®) handelt es sich um einen selbst-expandierenden, aus 14 Drähten gewebten Nitinolstent. Am distalen Ende verlaufen die Drähte in Schleifen, sodass lediglich das proximale Ende offene Enden hat. Um eine gute Sichtbarkeit zu gewährleisten, verlaufen zum einen, doppelgewobene Drähte mit Platinkern sinusförmig durchgehend durch den kompletten Flow Diverter und zum anderen befinden sich an jedem Ende drei röntgendichte Platin-Iridium-Marker. Der Flow Diverter hat eine neu entwickelte BlueXide® Oberfläche, welche eine 50nm dicke Schicht aus Oxiden und Oxinitriden beinhaltet.

Um zu untersuchen ob die Oberfläche des Flow Diverters direkten Einfluss auf das Zellverhalten der ihn umgebenden Zellen hat, wurden Testreihen bezüglich der Zellviabilität und eventueller nekrotischer Schädigungen durchgeführt. Beide Testreihen wurden mit zwei schon in Biokompatibilitätstests etablierten Zelllinien ausgeführt. Der zur Überprüfung der Zellviabilität eingesetzte WST-Test ist ein anerkannter Test zur Toxizitätsprüfung von Material und dessen Einfluss auf Zellen. Die enzymatische Umsetzung des WST-1 in Formazan findet in den Mitochondrien am Succinat-Tetrazolium-Dehydrogenase System statt, dabei handelt es sich um einen von vier Komplexen der Atmungskette (8). Pro Zeiteinheit setzt eine vitale Zelle eine bestimmte Menge WST-1 in Formazan um, wodurch ein Farbumschlag des Mediums herbeigeführt wird. Ist die Zellviabilität gestört, ist dies direkt im Farbumschlag zu erkennen. Der Viabilitätstest ergab für beide Zelllinien nach 24 Stunden als auch nach 30 Tagen keine signifikante Beeinflussung der Zellen durch das Material des Flow Diverters. Die Zellviabilität der Zellen, die direkt mit dem Flow

Diverter in Kontakt stehen ist zwar etwas geringer als im Kontrollmedium, allerdings nicht signifikant. Somit konnte gezeigt werden, dass durch die Flow Diverter Oberfläche die Zellviabilität nur sehr gering beeinflusst wird, und durch die leicht verminderte Zellviabilität lassen sich auch Rückschlüsse auf keine gesteigerte Zellproliferation durch das Material vermuten. Proliferierende Zellen zeigen grundlegende Unterschiede in ihrer metabolischen Aktivität gegenüber Zellen, die nicht proliferieren. Proliferierende Zellen, die sich in der G2- und Mitose-Phase befinden, weisen eine gesteigerte Nährstoffaufnahme auf und sind biosynthetisch hoch aktiv, was somit auch zu einer messbaren Steigerung der Zellviabilität geführt hätte.

Auch die Untersuchungen bezüglich nekrotischer Auswirkungen durch die Flow Diverter Oberfläche ergaben keine signifikanten Unterschiede zwischen dem Testmaterial und der Kontrolle. In beiden Gruppen liegt die Nekroserate im Normbereich. Äußere Einflüsse wie mechanische Zellschädigung oder chemische Noxen können Zellen so starken Stress bereiten, dass dies letztendlich zum pathologischen Zelltod (Nekrose) führt (86). Aber auch schon der Stress zu Versuchsbeginn, durch mechanische und chemische Behandlung, kann bei einigen Zellen Schädigungen oder Verletzungen hervorgerufen haben, die die Zelle nicht mehr kompensieren konnte und schließlich zu Grunde ging. Da prozentual aber zwischen Testmaterial und Kontrolle kein großer Unterschied in der Anzahl nekrotischer Zellen festzustellen war, konnte gezeigt werden, dass das Material des Flow Diverters keinen Einfluss auf nekrotische Membranschädigungen hat.

Um die Funktionalität und den Einfluss des Flow Diverters auf das ihn direkt umgebende Gewebe und den gesamten Organismus zu untersuchen, wurde der Flow Diverter im Tiermodell getestet. Reproduzierbare Tiermodelle sind in der Entwicklung neuer Devices und endovaskulärer Okklusionstechniken unabdingbar (110). Bereits die ersten Untersuchungen zu Guglielmi Detachable Coils wurden an einem Schweinmodell mit lateralen Seitwandaneurysmen getestet (104). Allerdings reproduziert dieses Modell nicht die hämodynamischen Kräfte wie in menschlichen intrakraniellen Aneurysmen. Auch Hunde, Schafe oder Katzen eignen sich in diesem Fall nicht als Tiermodell, da diese nur eine hypoplastische Arteria carotis interna besitzen und die Versorgung des Gehirns über ein ausgedehntes Netz (Rete mirabile) mit Zuflüssen aus der Arteria vertebralis, der Arteria spinalis anterior und der Arteria carotis externa erfolgt.

Das in unseren Versuchen verwendete Elastase-induzierte Aneurysmamodell in New Zealand White Rabbits wurde bereits im Jahr 1999 entwickelt (1, 8, 67, 68) und ist seit 2005 an unserem Institut etabliert (48). Der Vorteil dieses Modells ist zum einen, dass die aneurysmatragenden Gefäße in ihrer Größe eine gute Vergleichbarkeit mit dem Circulus arteriosus Willisii des Menschen haben. Zum anderen sind auch die hämodynamischen Verhältnisse im Kaninchen sowie das Gerinnungssystem ähnlich wie im Menschen (41, 72, 73, 74, 78, 90, 106, 132). In früheren Studien konnte gezeigt werden, dass antikoagulatorische Reaktionen im Menschen und im Kaninchen sehr ähnlich sind (119). Da in der Behandlung von Aneurysmen mittels Flow Divertern die antikoagulative Medikation eine wichtige Rolle spielt, wurden auch die Kaninchen dementsprechend medikamentös betreut. Alle Tiere erhielten drei Tage vor Deviceimplantation bis zur Beendigung der Experimente übers Trinkwasser sowohl Aspirin als auch Clopidogrel. Dies ist in der Humanmedizin ein oft angewandtes und bereits seit Jahren etabliertes Vorgehen.

Auch ist in diesem Tiermodell gewährleistet, dass das Aneurysma nach vier Wochen vollständig ausgebildet ist und sich nicht von selbst wieder verkleinert oder verschließt (125 und siehe vorne). Die Größe der von uns induzierten Aneurysmen lag im Durchschnitt bei einer Halsbreite von 3,24-3,65mm, einer Aneurysmabreite von 2,45-2,49mm und einer Aneurysmahöhe von 5,86-6,15mm und ist somit gut mit intrakraniellen Aneurysmen vergleichbar.

Die Handhabung des Flow Diverters erwies sich als unproblematisch und gut einsetzbar. Die Möglichkeit des Zurückziehens in den Mikrokatheter nach fast vollständiger Entfaltung (95%) sicherte die optimale Positionierung des Flow Diverters über dem Aneurysma. Die Problematik der Sichtbarkeit der Devices stellt nach wie vor oftmals ein Problem dar, welches letztendlich zu Komplikationen führen kann (99, 100, 113). In unserer Studie war die Sichtbarkeit des Flow Diverters während des gesamten Versuchszeitraums konstant und durch die distalen und proximalen Röntgenmarker sehr gut. Auch waren die Röntgenmarker sehr hilfreich hinsichtlich der kompletten Entfaltung des Flow Diverters. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass in unserer Studie das Aneurysma an einer Stelle liegt, wo es kaum zu Bildüberlagerungen durch Knochen kommt, wie dies allerdings bei intrakraniellen Aneurysmen von Menschen der Fall ist. Daraus ergibt sich, dass es eventuell zu einer Verschlechterung der Sichtbarkeit des Flow Diverters beim Einsatz im intrakraniellen Bereich kommen kann. Die Flexibilität des Flow Diverters erwies

sich als gut. Es kam zu keinen deutlichen Gefäßstreckungen. Die Flexibilität eines Devices wird zum einen durch die Porosität und zum anderen durch die Porendichte (46, 122, 136) bestimmt. Da beides aber letztendlich die Blutströmung beeinflusst, musste hier der optimale Mittelweg gefunden werden. Studien belegen, dass eine Porosität von etwa 70% noch eine so hohe Flexibilität gewährleistet, dass der Blutfluss in gewünschtem Maße beeinflusst werden kann (123, 126).

Anhand der angiographischen Kontrollen über den kompletten Versuchszeitraum, konnte schon direkt nach der Implantation eine Flussminderung ins Aneurysma von fast 45% festgestellt werden und sank kontinuierlich über den Versuchszeitraum ab. Der Restfluss ins Aneurysma ist bereits nach einem Monat auf ein Drittel gesunken, und nach 3 Monaten ist lediglich ein durchschnittlicher Restfluss ins Aneurysma von 14 % zu ermitteln, nach 6 Monaten waren alle Aneurysmen fast komplett verschlossen, woraus sich ein durchschnittlicher Restfluss von 1% ergab. Dies zeigt, dass durch den implantierten Flow Diverter der Blutfluss so vom Aneurysma weg gelenkt wird, dass sich im Aneurysma ein Blutclot bilden kann. Dieser entwickelt sich im Laufe der Zeit zu einem organisierten Thrombus und somit nimmt auch der Grad der Aneurysmaokklusion zu. Allerdings kann diese erste Übersicht lediglich einen Anhaltspunkt bezüglich der Aneurysmaokklusion geben, da die 1-Monatskontrollen über die Ohrvene gemacht wurden und daher die Ergebnisse nicht in direkter Relation zu den 3- und 6-Monatskontrollen gesetzt werden können.

Die Ermittlung der Okklusionsrate nach 3 Monaten erfolgte angiographisch über die linke A.carotis communis. Bereits nach drei Monaten waren 88% der Aneurysmen vollständig verschlossen (Grad 4), in lediglich 11% konnte eine Okklusionsrate von Grad 2 ermittelt werden. Dies entspricht einer durchschnittlichen Okklusionsrate von 94,6%. Nach sechs Monaten waren alle Aneurysmen bis auf eines verschlossen und dieses zeigte lediglich noch einen Restfluss von Grad 3. Daraus resultiert nach 6 Monaten eine durchschnittliche Okklusionsrate von 99,9%. Dies zeigt, dass eine vollständige Aneurysmaokklusion nicht direkt, sondern erst nach einer bestimmten Zeit eintritt. Die histologische Aufbereitung zeigt nach drei Monaten in allen Aneurysmen bereits teilorganisierte Thromben, und nach 6 Monaten waren bereits 5 von 9 Aneurysmen mit organisierten Thromben gefüllt. Lediglich die nicht komplett verschlossenen Aneurysmen zeigten im Halsbereich noch Anteile von frischem Blut. Obwohl zwei der Flow Diverter am distalen Ende verschlossen waren, bildete sich dennoch ein teilorganisierter Thrombus im Aneurysma und der Blutfluss wurde durch

die Ausbildung von Kollateralen überbrückt. Bei den verschlossenen Devices handelt es sich um relativ lange Flow Diverter, die dann durch die extreme Überdimensionalisierung im distalen Subclaviaabschnitt (durch den relativ großen Kalibersprung der A.subclavia) zu einem Verschluss führten. Daher kann aus diesen Fällen die Konsequenz gezogen werden, dass beim Einsatz dieses Flow Diverter im Menschen Gefäße mit größeren Kalibersprüngen besser gemieden werden sollten, da sonst mit einem Gefäßverschluss zu rechnen wäre.

Die Durchgängigkeit von Gefäßabgängen sowohl in der A.subclavia als auch in der Aorta abdominalis war in allen Fällen gegeben. Vorrangegangene Studien haben bereits die Aussagefähigkeit dieses Versuchsaufbaus bestätigt (26, 67, 123,). Allerdings ist unsere Studie auf Gefäßabgängen mit einem Durchmesser von 2,1-1,2mm limitiert. Auch die anschließenden Untersuchungen belegten die Offenheit der Gefäßabgänge. Zum einen zeigten die histologischen Schnitte entlang der Stentstreben über den Gefäßabgänge eine diskontinuierliche Neointima und zum anderen belegten die MRT Untersuchungen deutlich die Offenheit abgehender Gefäße. Im allgemeinen waren die magnetresonanztomographischen Untersuchungen sehr hilfreich, da man zum einen gut Ablagerungen im Stentlumen erkennen konnte und zum anderen bot sich die Möglichkeit vorab eine genaue Aussage über histologisch interessante Abschnitte zu treffen, die dann histologisch genauer untersucht werden konnten. Die Durchgängigkeit der abgehenden Gefäße wurde anschließend auch histologisch belegt.

Da in früheren Studien gezeigt werden konnte, dass durch die hohe mechanische Belastung (durch die Pulsation des Herzens) die in der A. subclavia abgesetzten Devices zum Teil Brüche an den Stentstreben aufwiesen, wurden auch die in dieser Studie eingesetzten Flow Diverter mittels Mikro-CT auf eventuelle Brüche untersucht. Keiner der Flow Diverter wies Brüche an Stentstreben auf, was wiederum auf eine gute Flexibilität zurück zu führen ist.

Mit Hilfe der histologischen Präparate konnte die neugebildete Intima im Lumen der Flow Diverter sowie die damit zusammenhängende Gefäßstenose berechnet werden. Alle Präparate wiesen eine Neubildung der Neointima über den Flow Diverterstreben auf, diese liegt wie die mit ihr einhergehende Gefäßstenose im Vergleich mit anderen Studien im Normbereich (26, 67, 123, 127). Desweiteren konnte ein Unterschied in der Ausbildung der Neointima in den einzelnen Subclaviaabschnitten (Abbildung 24) und zum anderen zwischen A.subclavia und A.

abdominalis festgestellt werden. Die Dicke der Neointima in der A.subclavia nimmt von proximal zu distal ab, dies kann mit der mechanischen Beanspruchung des Devices durch den pulsierenden Herzschlag zusammenhängen. Das proximale Flow Diverterende ist wesentlich höherer Beanspruchung ausgesetzt und zeigt daher auch eine stärkere Ausbildung der Neointima, diese ist allerdings nicht signifikant. Die Intimadicke im Lumen der in der A.subclavia abgesetzten Flow Diverter ist allerdings wesentlich höher als die der in der A.abdominalis abgesetzten. Auch dies hängt mit der mechanischen Beanspruchung zusammen. Der Flow Diverter in der Aorta abdominalis wird mechanisch kaum belastet und zeigt daher nur eine relativ dünne Neointimazubildung. Da beim Einsatz des Flow Diverters im Menschen nicht mit einer so hohen mechanischen Belastung zu rechnen ist, sollte die Neubildung der Neointima kein großes Problem darstellen, dennoch ist es wichtig in der klinischen Anwendung dies durch regelmäßige Kontrollangiographien zu beobachten.

Vorangegangene Studien zeigten, dass die neugebildete Neointima in ihrer Dicke nach 6 Monaten wieder abnimmt (4, 123). Auch in unseren Präparaten konnte nach 6 Monaten eine Abnahme der Intimadicke gegenüber den 3-Monats-Präparaten beobachtet werden, diese ist allerdings statistisch nicht signifikant, lässt aber den Trend zur weiteren Intimadickenabnahme mit der Zeit vermuten.

Wie in vergleichbaren Studien konnten auch in dieser Studie ossäre Metaplasien festgestellt werden. Leider gibt es noch keine eindeutige Erklärung für die Entstehung ossilärer Metaplasien bei der Implantation von Flow Divertern in der Literatur. Die Vermutung liegt nahe, dass ossäre Metaplasien auch durch die mechanische Belastung des Flow Diverters hervorgerufen werden. In unserer Studie konnten lediglich nach 6 Monaten und dabei nur bei in der A.subclavia implantierten Flow Divertern die Ausbildung ossärer Metaplasien festgestellt werden.

Entzündungsreaktionen konnten in keinem der implantierten Flow Diverter festgestellt werden.

7. Fazit

In der Entwicklung neuer Flow Diverter zum Einsatz im intrakraniellen Bereich muss gewährleistet sein, dass durch die Implantation des Flow Diverters zum einen das Aneurysma zuverlässig verschlossen werden kann, und zum anderen darf die Implantation des Flow Diverters im Trägergefäß nicht zu starken Beeinträchtigungen führen. Der in dieser Studie getestete Flow Diverter (Derivo[®]) erwies sich in in vitro Untersuchungen als biokompatibel und zeigte in den durchgeführten in vivo Studien seine Zuverlässigkeit den Aneurysmaverschluss betreffend. Es zeigte sich, dass mittels Flow Diverter eine direkte Blutflussumleitung zustande kommt, die dann mit zunehmender Zeit zu einer vollständigen Okklusion im Aneurysma führt. Da direkt nach der Implantation immer noch ein Blutfluss ins Aneurysma stattfindet, eignet sich der Flow Diverter eher zur Behandlung nicht rupturierter Aneurysmen.

Die Handhabung erwies sich als gut, einerseits durch die Möglichkeit des Zurückziehens des Flow Diverters in den Mikrokatheter nach einer Entfaltung von bis zu 95% und andererseits durch die gute Sichtbarkeit (vor allem der Röntgenmarker). Die Flexibilität erwies sich als hoch und zeigte sich durch hohe Anpassung an das Gefäß, allerdings besteht die Gefahr eines Gefäßverschlusses bei extremer Überdimensionalisierung des Flow Diverters. Daher eignet sich der Flow Diverter nicht für Gefäße mit starken Kalibersprüngen, da dies im intrakraniellen Bereich beim Menschen, der für diese Behandlungsmethode in Frage kommt aber nicht der Fall ist, besteht diesbezüglich keine Gefahr.

Die Studie zeigte über den gesamten Versuchszeitraum keinerlei entzündliche Prozesse, die durch die Implantation hervorgerufen werden könnten. Auch ossäre Metaplasien konnten nur bei wenigen Präparaten nach 6 Monaten festgestellt werden, was sehr wahrscheinlich mit der starken mechanischen Belastung des Flow Diverters zusammenhängt, dennoch sollte dieses Phänomen weiter untersucht werden.

Sowohl die Neubildung der Neointima als auch die Durchmesserstenose im Flow Diverter lagen im Vergleich mit anderen Studien im Normbereich.

Somit stellt der neu entwickelte Flow Diverter gute Ergebnisse in der Behandlung von nicht rupturierten Aneurysmen im Menschen in Aussicht. Dies muss allerdings durch klinische Studien belegt werden.

8.Literatur:

1. Altes TA, Cloft HJ, Short JG, DeGast A, Do HM, Helm GA, Kallmes DF (2000) ARRS Executive Council Award. Creation of saccular aneurysms in the rabbit: a model suitable for testing endovascular devices. *AJR Am J Roentgenol* 174: 349–354
2. Anda T, Yonekura M, Baba H, Suyama K, Toda K, Kamada K, Ono T, Yoshida K, Baba S, Onizuka M (2006) Factors affecting rapid growth of unruptured cerebral aneurysms during the acute stage of subarachnoid hemorrhage. *Neurol. Res* mar 28(2):165-71
3. Appanaboyina Sunil MF, Lohner R, Scrivano E, Miranda C, Lylyk P, Putman C (2008) Computational modelling of blood flow in side arterial branches after stenting of cerebral aneurysm. *Int J Comput Fluid Dynamics*. 22:669-676
4. Asakura M, Ueda Y, nanto S, Hirayama A, Adachi T, Kitakaze M, Hori M, Kodama K (1998) Remodeling of in-stent neointima, which became thinner and transparent over 3 years: serial angiographic and angioscopic follow-up. *Circulation* 97:2003-2006
5. Aurboonyawat T, Blanc R, Schmidt P(2011) An in vitro study of Silk stent morphology. *Neuroradiology* 53:659-67.
6. Barath K, Casot F, Rufenacht DA, Fasel JH (2004) Anatomically shaped internal carotid aneurysm in vitro model for flow analysis to evaluate stent effect. *AJNR Am J Neuroradiol* 25(10):1750-9
7. Becske T, Kallmes DF, Saatci I, Mc Dougall CG, Szikora I, Lanzino G, Moran CJ, Woo HH, Lopes Dk, Berez AI, Cher DJ, Siddiqui Ah, Levy EI, Albuquerque FC, Fiorella DJ, Berentei Z, Marosfoi M, Cekirge SH, Nelson PK (2013) Pipeline for Uncoilable or Failed Aneurysms: Results from a Multicenter Trial. *Radiology* 267:858-868
8. Berg ter HW, Bijlsma JB, Veiga Pires JA Ludwig JW, van der Heiden C,

- Tulleken CA, Willemse J (1986) Familial association of intracranial aneurysms and multiple congenital anomalies. *Arch neurol* 43:30-33
9. Bloch, F. (1946). "Nuclear Induction." *Phys. Rev.* 460
10. Bonafé A, Picot MC, Jean B et al (2005) Acutely ruptured intracranial aneurysms treated with GDC coils. Results from a single center over a period of 5 years. *Neurochirurgia* 51(3–4):155–164
11. Bradac GB, Bergui M, Stura G et al (2007) Periprocedural morbidity and mortality by endovascular treatment of cerebral aneurysms with GDC: a retrospective 12-year experience of a single center. *Neurosurg Rev* 30:117–126
12. Brassel F, Rademaker J, Haupt C, Becker H (2001) Intravascular stent placement for a fusiform aneurysm of the posterior cerebral artery: case report. *Eur Radiol* 11: 1250–1253.
13. Byrne JV, Adams CB, Ker RS, Molyneux AJ (1995) Endosaccular treatment of inoperable intracranial aneurysms with platinum coils. *Br J Neurosurg* 9 (5):585-92
14. Byrne J, Guglielmi G (1998) Endovascular treatment of intracranial aneurysms. *Springer, Heidelberg*.
15. Byrne J, Szikora I (2012) Flow Diverters in the Management of Intracranial Aneurysms: A Review. *EJMINT Original Article*: 1225000057.
16. Cantón G, Levy DI, Lasheras JC. Hemodynamic changes due to stent placement in bifurcating intracranial aneurysms. *J Neurosurg* 2005;103, 146-155
17. Cantón G, Levy DI, Lasheras JC, Nelson PK. Flow changes caused by the sequential placement of stents across the neck of sidewall cerebral aneurysms. *J Neurosurg* 2005; 103(5), 891-902
18. Carmichael R (1959) The pathogenesis of non-inflammatory cerebral

aneurysm. *J Pathol Bacterol* 62:1-19

19. Carter BS, Sheth S, Chang E, Seth M, Ogilvy CS (2006) Epidemiology of the size distribution of intracranial bifurcation aneurysms: smaller size of distal aneurysms and increasing size of unruptured aneurysms with age. *Neurosurgery* Feb 58(2):217-23
20. Cebral JR, Mut F, Raschi M, Scrivano E, Ceratto R, Lylyk P, Putman CM (2011) Aneurysm rupture following treatment with flow-diverting stents: computational hemodynamics analysis of treatment. *AJNR Am J Neuroradiol* 32: 27–33.
21. Chang HS (2006) Simulation of the natural history of cerebral aneurysm based on data from the International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms. *J Neurosurg*, Feb 104 (2):188-94
22. Cloft HJ, Altes TA, Marx WF, Raible RJ, Hudson SB, Helm GA, Mandell JW, Jensen ME, Dion JE, Kallmes DF (1999) Endovascular creation of an in vivo bifurcation aneurysm model in rabbits. *Radiology* 213: 223–228.
23. Coley S, Sneade M, Clarke A, Mehta Z, Kallmes D, Cekirge S (2012) Cerecyte Coil Trial: Procedural safety and clinical outcomes in patients with ruptured and unruptured intracranial aneurysms. *A J Neuroradiol*, epub Dec 2012
24. Crawford T (1959) Some observations of the pathogenesis and natural history of intracranial aneurysms. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 22:259-266
25. Crompton MR (1966) Mechanism of growth and rupture in cerebral berry aneurysms. *British medical journal* 1:1138-1142
26. Dai D, Ding YH, Kadirvel R, Rad AE, Lewis DA, Kallmes DF (2012) Patency of branches after coverage with multiple telescoping flow-diverter devices: an in vivo study in rabbits. *AJNR Am J Neuroradiol* 33. 171-174

27. Damadian, R., M. Goldsmith, et al. (1977). "NMR in cancer: XVI. FONAR image of the live human body." *Physiol Chem Phys* 9(1): 97-100, 108
28. Diaz O, Gist TI, manjatez G, Orozco F, Almeida R (2013) Treatment of 14 intracranial aneurysms with thr FRED system. *J Neurointerv. Surg* doi:10.1136/neurointsurg-2013-010917
29. D'Urso PI, Lanzino G, Cloft HJ, Kallmes DF. Flow Diversion for Intracranial Aneurysms. *Stroke* 2011; 42: 2363-8
30. Ebbell B (1993) The Papyrus Ebers. The greatest Egyptian medical document translated by B. Ebbell, Koopenhagen
31. Engelke K, Karolczak M, Lutz A, Seibert U, Schaller S, Kalender W. (1999) Micro-CT: Tech-nology and applications for assessing bone structure. *Radiologe* 39 (3): 203-212
32. Eppilger H: Pathologisch Anatomische Studien. *Langenbeck's Arch Klin Chir* 35 (Suppl)
33. Eskridge JM, Song JK (1998) Endovascular embolisation of 150 basilar tip aneurysms with Guglielmi detachable coils: results of the Food and Drug Administration multicenter clinical trial. *J Neurosurg* Jul,89(1):81-6
34. Ewen, K (Hrsg.). *Moderne Bildgebung*; 1998 *Thieme Verlag*, Stuttgart, New York, pp. 6-11, 46-48, 50-55, 59-60, 72-76, 153-159
35. Feigin V, Rinkel GJ, Lawes CMM et al, (2005) Risk factors for subarachnoid hemorrhage. An update systematic review of epidemiological studies. *Stroke* 36:2773-2780
36. Feldman RL, Trigg L, Gaudler J, Galat J (1996) Use of coronary Palmaz-Schatz stent in the percutaneous treatment of an intracranial carotid artery stenosis. *Cathet Cardiovasc Diagn* 38:316–319.

37. Ferguson GG (1972) Physical factors in the initiation, growth, and rupture of human intracranial saccular aneurysms. *J Neurosurg* 37: 666–677.
38. Fine JM, Flamm ES (1989) Cerebrovascular surgery vol. 3, *Springer Verlag* New York, Berlin, Heidelberg, Tokyo
39. Fiorella D, Albuquerque FC, Deshmukh VR, McDougall CG (2005) Usefulness of the neuroform stent for the treatment of cerebral aneurysms: results at initial (3–6-Mo) follow-up. *Neurosurgery* 56(6):1191–1202
40. Fiorella D, Woo HH, Albuquerque FC, Nelson PK (2008) Definitive reconstruction of circumferential, fusiform intracranial aneurysms with the pipeline embolization device. *Neurosurgery* 62:1115-1120
41. Forrest MD, O'Reilly GV (1989) Production of experimental aneurysms at a surgically created arterial bifurcation. *AJNR Am J Neuroradiol* 10: 400–402.
42. Fox AJ, Vinuela F, Pelz DM, Peerless SJ, Ferguson GG, Drake CG, Debrun G (1987) Use of detachable balloons for proximal artery occlusion of unclipable cerebral aneurysms. *J Neurosurgery* 66:40-46;10;14
43. Geremia G, Haklin M, Brennecke L (1994) Embolization of experimentally created aneurysms with intravascular stent devices. *AJNR Am J Neuroradiol* 15: 1223–1231.
44. Gielen I, Van Bree H. Computertomographie^[1]_{SEP}in: Kramer M (Hrsg.). Kompendium der Allgemeinen Veterinärchirurgie: Für Studium und Praxis; 2003 *Schlütersche Verlagsgesellschaft*, Hannover, pp. 110-113
45. Gonzales CF, Cho YI, Ortega HV, Moret J (1992) Intracranial aneurysms: Flow analysis of their origin and progression. *Am J Neuroradiol* 13:181-188
46. Gross BA, Frerichs KU (2013) Stent usage in the treatment of intracranial aneurysms: past, present and future. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 84:244-253

47. Grunwald IQ, Holst B, Möller V, Reith W, (2002) Clinic, Diagnosis, and therapy of subarachnoidal hemorrhage. *Radiologe* Nov.:42(11):860-70
48. Grunwald IQ, Romeike BFM, Roth C, Struffert T, Eymann R, Reith W (2005) Antikoagulation regimes and their influence on the occlusion rate of aneurysms:an experimental study in rabbits. *Neurosurgery* 57: 1048-1055
49. Guglielmi G, Vinuela F, Sepetka I, Macellari V (1991) Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 1: Electrochemical basis, technique, and experimental results. *Journal of Neurosurgery* 75:1-7
50. Guglielmi G, Vinuela F, Dion J, Duckwiler G (1991) Electrothrombosis of saccular aneurysms via endovascular approach. Part 2: Preliminary clinical experience. *Journal of Neurosurgery* 75:8-14
51. Harvey William (1628) „On The Motion Of The Heart And Blood In Animals“ *Lyncos-bibliotek*, 18
52. Hassan YA (1991) Full-field bubbly flow velocity measurements using multi-frame particle-tracking technique, *Experiments in fluids*, vol.12:49-60
53. Hathcock JT, Stickle RL (1993) Principles and concepts of computed tomography. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 23(2):299-415
54. Heseler Baldasar (1508/1567) Book in English 1959. Andreas Vesalius´first public anatomy at Bologna 1540:an eyewitness report by Baldasar Heseler, together with his notes on Matthaeus Curtius´lectures on anatomia Mundini
55. Hieshimer GB, Higashida RT, Wapenski J, HalbachVV, Cahan L, Bentson JR (1986) Balloon embolization of elarge distal basilar artery aneurysm. *J Neurosurg* 65 (3) 413-416
56. Higashida RT, Smith W, Gress D, Urwin R, Dowd CF, Balousek PA, Halbach

- VV (1997) Intravascular stent and endovascular coil placement for a ruptured fusiform aneurysm of the basilar artery. Case report and review of the literature. *J Neurosurg* 87: 944–949.
57. Holdsworth DW, Thornton MM. Micro-CT in small animal and specimen imaging. *Trends in Biotechnology* 2002; 20 (8 (Suppl.)): S34 - S39
58. Hop JW, Rinkel GJ, Algra A van GjinJ (1997) Case-fatality rates and functional outcome after subarachnoid hemorrhage: a systematic review. *Stroke* 28:660-664
59. Inagawa T, Hirano A (1990) Autopsy study of unruptured incidental intracranial aneurysms. *Surgical Neurology* 34:361-365
60. Inagawa T, Hada H, Katoh H (1992) Unruptured intracranial aneurysms in elderly patients. *Surgical Neurology* 38:364-370
61. International Study of Unruptered Intracranial Aneurysms Investigators (1998) Unruptured intracranial aneurysms-risk of rupture and risk of surgical intervention. *N Eng J Med* 339 (24):1725-1733
62. International Subarachnoid Aneurysm Trial (ISAT) Collaborative Group (2002) International Sub- arachnoid Aneurysm Trial (ISAT) of neurosurgical clipping versus endovascular coiling in 2143 pati- ents with ruptured intracranial aneurysms: a ran- domised trial. *Lancet* 360:1267–1274
63. ISUIA – The International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet* 2003; 362: 103–110
64. Jane JA, Winn HR, Richardson AE (1977) The natural istoeoy of intracranial aneurysms. Rebleeding rates during the acute and long-term period and implications from surgical management. *Clin Neurosurg* 24:176-184

65. Juvelas S (2003) Prehemorrhage risk factors for fatal intracranial aneurysm rupture. *Stroke* Aug 34(8) 1852-7
66. Kalender WA, Computertomographie- Grundlagen, Gerätetechnologie, Bildqualität, Anwendungen, 2.Auflage 2006 *publicis verlag*, Erlangen 21-37,51-63, 102-137, 237-245
67. Kallmes DF, Ding YH, Dai D, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ (2007) A new endoluminal, flowdisrupting device for treatment of saccular aneurysms. *Stroke* 38: 2346–2352.
68. Kallmes DF, Ding YH, Dai D, Kadirvel R, Lewis DA, Cloft HJ (2009) A second-generation, endoluminal, flow-disrupting device for treatment of saccular aneurysms. *AJNR Am J Neuroradiol* 30: 1153–1158.
69. Kamran M, Yarnold J, Grunwald IQ, Byrne JV (2011) Assessment of angiographic outcomes after flow diversion treatment of intracranial aneurysms: a new grading schema. *Neuroradiology* 53: 501–508.
70. Kayembe KN, Sasahara M, Hazama F (1984) Cerebral aneurysms and variations in the circle of Willis. *Stroke* 15: 846–850.
71. Keedy A (2006) An overview of intracranial aneurysms. *Mcgill J Med* 9: 141–146.
72. Kerber CW, Heilman CB (1992) Flow dynamics in the human carotid artery: I. Preliminary observations using a transparent elastic model. *AJNR Am J Neuroradiol* 13: 173–180.
73. Kerber CW, Liepsch D (1994) Flow dynamics for radiologists. I. Basic principles of fluid flow. *AJNR Am J Neuroradiol* 15: 1065–1075.
74. Kerber CW, Liepsch D (1994) Flow dynamics for radiologists. II. Practical

- considerations in the live human. *AJNR Am J Neuroradiol* 15: 1076–1086.
75. Kerr JFR, Wyllie AH, Currie AR (1972) Apoptosis: A basic biological phenomenon with wideranging implications in tissue kinetics. *Br. J. Cancer* 26: 239-257
76. Kim M, Taulbee DB, Tremmel M, Meng H (2008) Comparison of two stents in modifying cerebral aneurysm hemodynamics. *Ann Biomed Eng* 36:726-41
77. Koh Y.J., Choi D.W., Quantitative determination of glutamate mediated cortical neuronal injury in cell culture by lactate dehydrogenase efflux assay, (1987) *Journal of Neuroscience Methods* 20 (1): 83-90
78. Kondo S, Hashimoto N, Kikuchi H, Hazama F, Nagata I, Kataoka H (1997) Cerebral aneurysms arising at nonbranching sites. An experimental Study. *Stroke* 28: 398–403; discussion 403–404.
79. Lanterna LA, Tredici G, Dimitrov BD, Biroli F (2004) Treatment of unruptured cerebral aneurysms by embolization with Guglielmi detachable coils: case-fatality, morbidity, and effectiveness in preventing bleeding – a systematic review of the literature. *Neurosurgery* 55:767–778
80. Lauterbur, PC., (1973). "Image foundation of induced local interactions: examples employing NMR." *Nature* 242: 190-191
81. Leist M., Jaattela M., Four deaths and a funeral: from caspases to alternative mechanisms, (2001), *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2(8): 589-598
82. Lieber BB, Stancampiano AP, Wakhloo AK (1997) Alteration of hemodynamics in aneurysm models by stenting: influence of stent porosity. *Ann Biomed Eng*; 25:460-469
83. Lieber BB, Livescu V, Hopkins LN, Wakhloo Ak (2002) particle image velocimetry assessment of stent design influence on intra-aneurysmal flow. *Ann Biomed Eng* 30:768-777

84. Liou TM, Li YC, Juan WC. Numerical and experimental studies on pulsatile flow in aneurysms arising laterally from a curved parent vessel at various angles. *J Biomech* 2007;40(6), 1268-75
85. Locksley HB (1966) Natural history of subarachnoidhemorrhage, intracranial aneurysms and arteriovenous malformations. Based on 6368 cases in the cooperative study. *Journal of Neurosurgery* 25:219-239
86. Long A.C., Colitz C.M.H., Bomser J.A. (2004) Apoptotic and Necrotic Mechanisms of Stress-Induced Human Lens Epithelial Cell Death. *Experimental Biology and Medicine* 229: 1072-1080
87. Lubicz B, Collignon L, Raphaeli G, Pruvo J-P, Bruneau M, De Witte O, et al. Flow-Diverter Stent for the Endovascular Treatment of Intracranial Aneurysms. *Stroke* 2010; 41: 2247-53
88. Lylyk P, Miranda C, Ceratto R, Ferrario A, Scrivano E, Luna HR, Berez AL, Tran Q, Nelson PK, Fiorella D (2009) Curative endovascular reconstruction of cerebral aneurysms with the pipeline embolization device: The Buenos Aires experience. *Neurosurgery* 64:632-642
89. Malisch TW, Guglielmi G, Vinuela F, Duckwiler G, Gobin YP, Martin NA, Frazee JG (1997) Intracranial aneurysms treated with the Guglielmi detachable coil: midterm clinical results in a consecutive series of 100 patients. *J Neurosurg* Aug 87(2):176-83
90. Manning P, Ringler D (1994) The biology of the laboratory rabbit. 2nd ed. San Diego, California. *Academic Press* 471.
91. Massoud TF, Turijam F, Ji C, Vinuela F, Guglielmi G, gobin YP, Duckwiler GR (1995) Endovascular treatment of fusiform aneurysms with stents and coils: technical feasibility in a swine model. *AJNR Am J Neuroradiol* 16(19):1953-63
92. McCormick WF, Nofzinger JD (1965) Saccular Intracranial Aneurysms: an

Autopsy Study. *Journal of neurosurgery* 22:155-159

93. McDougall CG, Claiborne Johnson S, Gholkar A, Barnwell SI, Vazquez Suarez JC, Masso Romero J, Chaloupka JC, Bonafe A, Wakhloo AK, Tampieri D, Dowd CF, Fox AJ, Imm SJ, Carroll K, Turk AS (2014) Bioactive versus Bare Platinum Coils in the Treatment of intracranial Aneurysms: The MAPS (Matrix and Platinum Science) Trial. *AJNR Am J Neuroradiol*
94. Molyneux AJ, Byrne J, Renowden S (1995) Guglielmi coils in ruptured aneurysms. *AJNR Am J Neuroradiol* 16 (3):612-13
95. Molyneux AJ, Cekirge S, Saatci I, Gal G (2004) Cerebral Aneurysm Multicenter European Onyx (CAMEO) trial: results of a prospective observational study in 20 European centers. *AJNR Am J Neuroradiol* 25: 39-51
96. Moret J, Cognard C, Weill A, Castaing L, Rey A (1997) The „Remodelling Technique“ in the treatment of wide neck Intracranial Aneurysms. ANgiographic Results and Clinical Follow-up in 56 Cases. *Interv. Neuroradiol* mar 30,3(1).21-35
97. Murayama Y, Vinuela F, Tateshima S, Vinuela F Jr, Akiba Y (2000) Endovascular treatment of experimental aneurysms by use a combination of liquid embolic agents and protective devices. *AJNR Am J Neuroradiol* 21:1726-1735
98. Murayama Y, Nien YL, Duckwiler G et al (2003) Guglielmi detachable coil embolization of cerebral aneurysms: 11 years' experience. *J Neurosurg* 98:959–966
99. Murthy SB, Shah S, Shastri A, Venkatasubba Rao CP, Bershah EM, Suarez JI (2013) The SILK flow diverter in the treatment of intracranial aneurysms. *J Clin Neurosci* doi:10.1016/j.jocn.2013.07.006
100. Murthy SB, Shah S, Venkatasubba Rao CP, Bershah EM, Suarez JI (2013) Treatment of unruptured intracranial aneurysms with the pipeline embolization

- device. *J Clin Neurosci* doi:10.1016/j.jocn.2013.03.014
101. Ojini FI (2005) Natural history of cerebral saccular aneurysms. *West Afr J Med* Jan-Mar;24 (1):70-4
102. Okamoto K, Horisawa R, Ohno Y(2005) Thee relationship of gender, cigarette smocking and hypertension with the risk of anoirismal subarachnoid hemorrhage: a case-control study in Nagoya, Japan. *Ann Epidemiol* Nov.15(10):744-8
103. Papanagiotou P, Grunwald IQ, Politi M, Struffert T, Ahlhelm F, Reith W (2006) Vascular anomalies of the cerebellopontine angle. *Radiologe* 46: 216–222.
104. Phillips LH, 2nd,Whisnant JP, O’Fallon WM, Sundt TM, Jr (1980) The unchanging pattern of subarachnoid hemorrhage in a community. *Neurology* 30:1034-1040
105. Phuong LK, Link M, Wijdicks E (2002) Management of intracranial infectious aneurysms: a series of 16 cases. *Neurosurgery* 51: 1145–51; discussion 1151–1142.
106. Pile-Spellman J, Wu J (1997) Coil embolization of aneurysms: angiographic and histologic changes. *AJNR Am J Neuroradiol* 18: 43-44.
107. Piotin M, Blanc R, Spelle L, Mounayer C, Piantino R, Schmidt PJ, Moret J (2010) Stent-assisted coiling of intracranial aneurysms: clinical and angiographic results in 216 consecutive aneurysms. *Stroke* Jan 41(1):110-5
108. Piotin M, Pistocchi S, Bartolini B, Blanc R (2012) Intracranial aneurysm coiling with PGLA-coated coils versus bare platinum coils: long-term anatomic follow-up. *Neuroradiology* 54(4):345-8
109. Piske RL, Kanashiro LH, Paschoal E, Agner C, Lima SS, Aguiar PH (2009)

- Evaluation of Onyx HD-500 embolic system in the treatment of 84 wide-neck intracranial aneurysms. *Neurosurgery* 64: 865–875.
110. Przelomski MM, Fisher M, Davidson RI, Jones HR, Marcus EM (1986) Unruptured intracranial aneurysm and transient focal cerebral ischemia: a follow-up study. *Neurology* 36:584-587
111. Purcell, EM, Torrey HC, Pound RV (1946) "Resonance Absorption by Nuclear Magnetic Moments in a Solid" *Phys. Rev.* 37
112. Raaymakers TW, Rinkel GJ, Limburg M, Algra A (1998) Mortality and morbidity of surgery for unruptured intracranial aneurysms: a meta-analysis. *Stroke* 29:1531-1538
113. Rajpal G, Estrade L, Kadzioloka K, Pierot L (2013) Flow diverter neurovascular stents – Reconstructive endovascular treatment of intracranial aneurysms – Single centre experience. *Indian J Neurosurg* 2:182
114. Raps EC, Rogers JD, Galetta SL, Solomon RA, Lennihan L, Klebanoff LM, Fink ME (1993) The clinical spectrum of unruptured intracranial aneurysms. *Archives of neurology* 50:265-68
115. Reith W, Grunwald IQ (2002) Nonruptured intracranial aneurysms: therapeutic recommendations. *Der Radiologe* 42:885-891
116. Reith W (2011) Endovascular therapy options for aneurysmal subarachnoid hemorrhage. *Der Radiologe* 51:113-119
117. Rinkel GJ, Djibuti M, van Gijn J (1998) Prevalence and risk of rupture of intracranial aneurysms: a systemic review. *Stroke* 29-251-256
118. Rinne J, Hernesniemi J, Puranen M, Saari T (1994) Multiple intracranial aneurysms in a defined population. Prospective angiographic and clinical study. *Neurosurgery* 35:803-808

119. Roy D, Milot G, Raymond J (2001) Endovascular treatment of unruptured aneurysms. *Stroke* 32:1998-2004
120. Saatci I, Cekirge HS, Ciceri EF, Mawad ME, Pamuk AG, Besim A (2003) CT and Mr Imaging findings and their implications in the follow-up of patients with intracranial aneurysms treated with endosaccular occlusion with onyx. *AJNR Am J Neuroradiol* 24:567-578
121. Sachs M (2000) Die methoden der Blutstillung in ihrer historischen Entwicklung. *Hämostaseologie* 20:2:83-89
122. Sadasivan C, Lieber Bb, Gounis MJ, Lopes DK, Hopkins LN (2002) Angiographic quantification of contrast medium washout from cerebral aneurysms after stent placement. *AJNR Am J Neuroradiol* 23:1214-1221
123. Sadasivan C, Cesar L, Seong J, Rakian A, Hao Q, Tio FO, Wakhloo AK, Lieber BB (2009) An original flow diversion device for the treatment of intracranial aneurysms: evaluation in the rabbit elastase-induced model. *Stroke* 40(3):952-58
124. Sahs AL, Nishioka H, Torner JC, Graf CJ, Kassel NF, Goettler LC, (1984) Cooperative study of intracranial aneurysms an subarachnoid hemorrhage: a long-term prognostic study. *Arch Neurol*. Nov:41(11):1140-1
125. Schievink WI, Katzman JA, Piepgras DG, Schaid DJ (1996) Alpha-1-antitrypsin phenotypes among patients with intracranial aneurysms. *Journal of Neurosurgery* 84:781-784
126. Seong J, Wakhloo AK, Lieber BB (2007) In vitro evaluation of flow diverters in an elastase-induced saccular aneurysm model in rabbit. *J Biomech Eng*;129:863-872
127. Simgen A, Ley D, Roth C, Yilmaz U, Körner H, Mühl-Benninghaus R, Kim Y-

- J, Scheller B, Reith W. (2013) Evaluation of a newly designed flow diverter for the treatment of intracranial aneurysms in an elastase-induced aneurysm model, in New Zealand white rabbits. *Neuroradiology* 2013, November 14
128. Solander S, Ulhoa A, Vinuela F, Duckwiler GR, Gobin YP, Martin NA, Frazee JG, Guglielmi G (1999) Endosaccular treatment of multiple intracranial aneurysms by using Guglielmi detachable coils. *J Neurosurg* May 90(5):857-64
129. Stepina E. Optimierung von Dosis und Bildqualität in der Mikro-CT an Kleintieren. 2006, Medizinische Fakultät der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg, pp.5-16, Diss.
130. Stock SR. Microcomputed Tomography-Methodology and Applications; 2009 CRC Press, Taylor and Francis Group, Boca Raton, London, New York, pp. 1-5, 15-17, 39-44, 89-90
131. Sudlow CL, Warlow CP (1997) Comparable studies of the incidence of stroke and its pathological types: results from an international collaboration. International Stroke Incidence Collaboration. *Stroke* 28:491-499
132. Svendsen E, Tindall AR (1981) Raised blood pressure and endothelial cell injury in rabbit aorta. *Acta Pathol Microbiol Scand A* 89: 325–334.
133. Szikora I, Guterman LR, Wells KM, Hopkins LN (1994) Combined use of stents and coils to treat experimental wide-necked carotid aneurysms: preliminary results *AJNR Am J Neuroradiol* Jun 15(6):1091-102
134. Szikora I, Berentei Z, Kulcsar Z, Marosfoi M, Vajda ZS, Lee W, Berez A, Nelson PK (2010) Treatment of intracranial aneurysms by functional reconstruction of the parent artery: the Budapest experience with the pipeline embolization device. *AJNR Am J Neuroradiol* 31: 1139–1147.
135. Tähtinen OI, Vanninen RL, Manninen HI et al (2009) Wide-necked

- intracranial aneurysms: treatment with stent-assisted coil embolization during acute (<72 hours) subarachnoid hemorrhage – experience in 61 consecutive patients. *Radiology* 253(1):199–208
136. Tenjin H, Asakura F, Nakahara Y (1998) Evaluation of intraaneurysmal blood velocity by time-density curve analysis and digital subtraction angiography. *Am J Neuroradiol* 19:1303-07
137. Thornton J, Bashir Q, Aletich VA, Debrun GM, Ausman JI, Charbel FT (2000) What percentage of surgically clipped intracranial aneurysms have residual necks? *Neurosurgery* Jun. 46(6) 1294-8
138. Trager AI, Sadasivan C, Seong J, Lieber BB (2009) Correlation between angiographic and particle image velocimetry quantifications of flow diverters in an in vitro model of elastase-induced rabbit aneurysms. *JBiomech Eng* 131(3) doi 10.1115/1.3049528
139. Turjman F, Massoud TF, Ji C, Guglielmi G, Vinuela F, Robert J (1994) Combined stent implantation in endosaccular coil placement for treatment of experimental wide-necked aneurysms: a feasibility study in swine *AJNR Am J Neuroradiol* Jun15(6):1087-90
140. Turowski B, Macht S, Kulcsár Z, Hänggi D, Stummer W (2011) Early fatal hemorrhage after endovascular cerebral aneurysm treatment with a flow diverter (SILK-Stent): do we need to rethink our concepts? *Neuroradiology* 53: 37–41.
141. Vlak MH, Algra A, Brandenburg R et al (2011) Prevalence of unruptured intracranial aneurysms with emphasis on sex, age, comorbidity, country, and time period: a systemic review and meta-analysis. *Lancet Neurol* 10:626-636
142. Weber W, Bendszus M, Kis B et al (2007) A new self-expanding nitinol stent (Enterprise) for the treatment of wide-necked intracranial aneurysms: initial clinical and angiographic results in 31 aneurysms. *Neuroradiology* 49:555–561

143. Werner MJ, van der Schaaf IC, Algra et al (2007) Risk of rupture of unruptured intracranial aneurysms in relation to patient and aneurysm characteristics: an updated meta-analysis. *Stroke* 38:1404-1410
144. White PM, Lewis SC, Nahser H et al (2008) Hydro-coil endovascular aneurysm occlusion and packing study (HELPS trial): procedural safety and operator-assessed efficacy results. *Am J Neuroradiol* 29 (2):217–223
145. White PM, Lewis SC, Gholkar A, Nahser H, Cognard C, Forrester L, et al. Hydrogel-coated coils versus bare platinum coils for the endovascular treatment of intracranial aneurysms (HELPS): a randomised controlled trial. *Lancet* 2011;377:1655-1662
146. Wiebers DO, Whisnant JP, Sundt TM O'Fallon WM (1987) The significance of unruptured intracranial saccular aneurysms. *JNeurosurg* 66:23-29
147. Wiebers DO, Whisnant JP, Huston J, Meissner I, Brown RD, Piepgras DG, Forbes GS, Thielen K, Nichols D, O'Fallon WM, Peacock J, Jeager L, Kassell NF, Kongable-Beckman GL, Torner JC (2003) International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms Investigators. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet* Jul 12;362(9378):103-10
148. Winn HR, Berger SL, Richardson AE (1981) Long-term evaluation of patients with multiple cerebral aneurysms. *Anal Neurol* 10:106
149. Winn HR, Jane JA Taylor J, Kaiser D, Britz GW (2002) Prevalence of asymptomatic incidental aneurysms: review of 4568 arteriograms. *Journal of Neurosurgery* 96:43-49
150. Yasui N, Suzuki A, Nishimura H, Suzuki K, Abe T (1993) Long-term follow-up study of unruptured intracranial aneurysms. *Neurosurgery* 95:205-214
151. Yu SC, Zhao JB. (1999) A steady flow analysis on the stented and non-stented sidewall aneurysm models. *Med Eng Phys*; 21(3), 133-141

9. Publikationen

- Roth C, Junk D, Papanagiotou P, Keuler A, Körner H, Schumacher M, Reith W (2012) A comparison of 2 stroke devices: a new Aperio clot-removal device and the solitaire AB/FR. *AJNR Am J Neuroradiol* 33 (7):1317-20
- Dietrich P, Roth C, Simgen A, Junk D, Reith W. (2012) Treatment of high grade intracranial stenoses. *Radiologe* 52:1112–1117.
- Simgen A, Junk D, Reith W. (2012) Flow Diverter - A new therapy option for intracranial aneurysms. *Radiologe* 52:1118–1124.
- Simgen A, Ley D, Roth C, Yilmaz U, Körner H, Mühl-Benninghaus R, Kim Y-J, Scheller B, Reith W. (2013) Evaluation of a newly designed flow diverter for the treatment of intracranial aneurysms in an elastase-induced aneurysm model, in New Zealand white rabbits. *Neuroradiology*, November 14

Poster

A. Simgen, D. Ley, R. Mühl-Benninghaus, U. Yilmaz, H. Körner, W. Mailänder, A. Müller, Y.-J. Kim, W. Reith.

Evaluierung eines neuentwickelten Flow-Diverter zur Behandlung von intrakraniellen Aneurysmen in einem induzierten Elastase-Aneurysmamodell in New Zealand white rabbits,

48. Jahrestagung der DGNR, Köln, Oktober 2013.

10.Danksagung

Ein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Wolfgang Reith für die Möglichkeit meine Doktorarbeit in seiner Abteilung anzufertigen, sowie für die Betreuung und Durchsicht meiner Arbeit.

Ein großes Dankeschön geht an Dr. med. Andreas Simgen und Dr. med. Ruben Mühl-Benninghaus für die ständige Unterstützung bei den Operationen.

Bei Herr Prof. Dr. Michael Menger und dem Team der Experimentellen Chirurgie bedanke ich mich für die gute Arbeitsatmosphäre und freundliche Unterstützung.

Frau Dr. med.vet. Monika Frings danke ich für die immer freundliche Unterstützung mit Rat und Tat.

Herrn Prof. Dr. med. Bruno Scheller und seinen Mitarbeitern danke ich für die Unterstützung bei der Anfertigung der histologischen Präparate. Ebenso geht ein Dankeschön an Herrn PD. Dr.med. Yoo-Jin Kim für die freundliche Hilfe bei der histologischen Auswertung.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Mann Torben der mich fortlaufend unterstützt und meine Arbeit mit Anteilnahme verfolgt hat.

