

Aus dem Institut für Klinisch-Experimentelle Chirurgie,

Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg /Saar

(Direktor: Prof. Dr. med. Michael D. Menger)

**Über die Perigraftreaktion von implantierten bovinen und porcinen Perikard-Patches
in einem Vergleich zu ePTFE-Prothesen. Eine quantitative Analyse am
tierexperimentellen Rückenhautkammermodell der Maus.**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES**

2024

vorgelegt von: Annamaria Brezina, geb. Stolmar

geboren am: 30.09.1987 in Bad Soden am Taunus

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. dent. Matthias Hannig

1. Gutachter: Prof. Dr. med. Mohammed Reza Moussavian

2. Gutachter: Prof. Dr. med. Hashim Abdul-Khaliq

Datum der Promotion: 23.09.2025

Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung.....	3
Summary.....	5
2. Einleitung	7
2.1 Risikofaktoren von atherosklerotisch bedingten kardiovaskulären Erkrankungen...	7
2.2 Definition und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit	8
2.3 Übersicht von Gefäßersatz und Gefäßtransplantation.....	11
2.4 Gefäßprotheseninfektionen und deren Präventionsmaßnahmen.....	14
2.4.1 Therapie von Gefäßprotheseninfektion	16
2.5 Biokompatibilität von implantiertem Material	17
2.6 Porcine und bovine Gefäßpatches	17
2.7 Weitere Anwendungsgebiete von porcinen und bovinen Perikardien	19
2.8 Fragestellung	21
3. Material und Methoden.....	23
3.1 Versuchstiere	23
3.2 Implantiertes Material.....	24
3.2.1 Vascutek Porcine Pericardial Patch:.....	24
3.2.2 XenoSure® Biologic Patch:	24
3.2.3 Gore-Tex® Stretch Vascular Graft:	25
3.3 Präparation der Rückenhautkammer.....	27
3.4 Implantation des Gefäßprothesenfragments	31
3.5 Intravitale Fluoreszenzmikroskopie	32
3.5.1 Analyse der Mikrozirkulation	34
3.5.2 Funktionelle Kapillardichte	34
3.5.3 Gefäßdurchmesser (d)	35
3.5.4 Blutzellgeschwindigkeit (v)	36
3.5.5 Mikrovaskulärer Blutfluss (Q)	36
3.5.6 Scherrate (y)	37
3.5.7 Leukozyten-Endothel-Interaktion.....	37

3.6	Histologie und Immunhistochemie	38
3.6.1	Konventionelle Histologie	39
3.6.2	Immunhistochemie	39
3.7	Versuchsprotokoll.....	41
3.7.1	Versuchsgruppen	41
3.7.2	Versuchsablauf	41
3.8	Statistik	42
4.	Ergebnisse	43
4.1	Periprothetische Vaskularisation	43
4.1.1	Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard.....	44
4.1.2	Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE	45
4.2	Mikrohämodynamik der postkapillären Venolen	48
4.2.1	Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard.....	49
4.2.2	Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE	49
4.3	Leukozyten-Endothel-Interaktion der postkapillären Venolen	50
4.3.1	Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard.....	51
4.3.2	Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE	51
4.4	Inkorporation der Prothesen.....	54
4.5	Zellproliferation und Apoptose.....	55
4.5.1	Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard.....	55
4.5.2	Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE	55
5.	Diskussion.....	58
5.1	Intravitale Fluoreszenzmikroskopie am Rückenhautkammermodell der Maus.....	58
5.2	Schweineperikard-Patch im Vergleich zu Rinderperikard-Patch	59
5.3	Rinderperikard-Patch im Vergleich zu ePTFE	64
6.	Literaturverzeichnis	68
7.	Abkürzungsverzeichnis	83
8.	Publikation.....	85
9.	Danksagung	86
10.	Lebenslauf	87

1. Zusammenfassung

Über die Perigraftreaktion von implantierten bovinen und porcinen Perikard-Patches in einem Vergleich zu ePTFE-Prothesen. Eine quantitative Analyse am tierexperimentellen Rückenhautkammermodell der Maus.

Die wachsende Zahl von kardiovaskulären Erkrankungen durch die zunehmend älter werdende Bevölkerung steigert den klinischen Bedarf an Ersatzmaterialien im Bereich der Herz-Thorax- und Gefäßchirurgie. Seit vielen Jahren werden potenzielle Alternativen für autologe oder allogene Transplantate als biomimetische Materialien verwendet. Hierzu gehören Gefäß- und Herzklappenprothesen aus alloplastischen und xenogenen Ersatzmaterialien. Die Einsatzmöglichkeiten dieser alternativen Prothesen sind unterschiedlich und letztlich trifft der Chirurg aus medizinischen Gesichtspunkten die Entscheidung über das einsetzbare Material. Langzeitergebnisse und operative Erfahrungen können bei der Entscheidungsfindung helfen, jedoch ist eine adäquate Integration eines Implantates in seinem Empfängergewebe nötig, um das Risiko postoperativer Infektionen zu verringern. Bisher gibt es keine Richtlinien und Behandlungsstrategien einer Fachgesellschaft oder evidenzbasierte Dokumentationen über alloplastische und xenogene Materialien in Hinblick auf ihr Einwachsverhalten 14 Tage nach der Implantation.

Das Ziel der vorliegenden Studie war es, den Integrationsprozess von bovinen und porcinen Perikard-Patches in ihrem Empfängergewebe unmittelbar nach der Implantation zu untersuchen und Unterschiede festzuhalten, die zur Entscheidungsfindung bezüglich eines geeigneten Ersatzmaterials beitragen könnten. Ebenfalls auf das Einwachsverhalten wurde eine Gefäßprothese aus expandiertem Polytetrafluorethylen (ePTFE) untersucht und mit den Ergebnissen der xenogenen Patches verglichen.

Für diese tierexperimentelle Studie verwendeten wir das Rückenhautkammermodell der Maus. Dafür wurden zugeschnittene bovine und porcine Perikard-Patches sowie ePTFE-Prothesen in die Rückenhautkammer von C57BL/6-Mäusen implantiert. Innerhalb von 14 Tagen konnte intravitalmikroskopisch die unmittelbare Umgebung des Implantates auf Angiogenese, Mikrohämodynamik und Entzündungsreaktion wiederholt untersucht werden. Nach Ablauf der zwei Wochen wurden histologische und immunhistochemische Querschnittspräparate angefertigt, um zusätzlich die Apoptose, die Zellproliferation, die Qualität der Angiogenese sowie das Ausmaß der Entzündungsreaktion im Rückenhautkammergewebe zu analysieren.

Unsere In-vivo-Experimente zeigten unter ähnlichen mikrozirkulatorischen Parametern zwischen beiden xenogenen Gruppen keine signifikanten Unterschiede in der funktionellen Kapillardichte. Das neu gebildete Granulationsgewebe breitete sich in beiden xenogenen Gruppen vergleichbar adäquat um und teilweise in die Prothesen aus.

Ausgeprägte leukozytäre Entzündungsreaktionen sowie ein Unterschied in der Anzahl von proliferativen und apoptotischen Zellen zwischen beiden xenogenen Gruppen waren nicht nachweisbar. Beim bovinen Perikard-Patch konnte verglichen mit dem porcinen Perikard-Patch und der ePTFE-Prothese eine signifikant höhere Anzahl von CD-31-positiven (*Cluster of Differentiation*) Zellen als Marker für die Angiogenese nachgewiesen werden. Am ePTFE-Prothesenrand war im Vergleich zu den xenogenen Patches eine signifikant höhere Kapillardichte erkennbar. Auch die Entzündungsreaktion der ePTFE-Prothese war im Vergleich zu den xenogenen Patches im letzten Drittel der Beobachtungszeit signifikant stärker ausgeprägt, was durch eine erhöhte Anzahl von adhären und rollenden Leukozyten ersichtlich war. Zudem war in der ePTFE-Gruppe die Anzahl von proliferierenden Zellen niedriger und von apoptotischen Zellen signifikant niedriger als in der xenogenen Gruppe. Die mikrozirkulatorischen Parameter, wie Gefäßdurchmesser, Blutzellgeschwindigkeit, volumetrischer Blutfluss und Scherrate, zeigten keine signifikanten Unterschiede in allen drei Gruppen.

Unsere Versuchsergebnisse zeigen, dass alle drei Prothesen mit einer guten Ausbildung eines Gefäßnetzwerkes im Granulationsgewebe sowie einer physiologischen Entzündungsreaktion als biokompatibel eingestuft werden können. Die erhöhte funktionelle Kapillardichte der ePTFE-Prothese im Vergleich mit den stärker ausgebildeten CD-31-Mikrogefäßen der bovinen Patches deutet darauf hin, dass die Materialzusammensetzung und die Oberflächenbeschaffenheit mit der Ausbreitung aber nicht mit der Qualität der Inkorporation eines Materials in Zusammenhang stehen.

Mit der Studie können wir zum ersten Mal belegen, dass die Vaskularisation 14 Tage nach der Implantation beim bovinen Perikard-Patch dem porcinen Perikard-Patch überlegen ist und demzufolge einen gewissen Vorteil für eine bessere und schnellere Inkorporation im Empfänger- und Empfängergewebe hat.

Summary

Perigraft reaction and incorporation of porcine and bovine pericardial patches compared to ePTFE prostheses. A quantitative analysis using the dorsal skinfold chamber of mice.

The increasing number of advanced age-related cardiovascular patients suggest a clinically approved alternative is needed for heart, thoracic and vascular surgery. Over the years possible alternative autologous or allogenic bio identical materials have been studied; these include vascular and prosthetic heart valves from alloplastic and xenogenic materials. The applications of these alternatives differ; therefore, the surgeon chooses the replacement material based on their medical viewpoint. Factors influencing the decision are long-term results and surgical experience as well as the body's tissue acceptance in minimizing the postoperative risk of complications such as infection. Currently, there are no legal guidelines, approved medical treatment strategy or documented evidence of alloplastic and xenogeneic materials with respect to biocompatibility post implantation.

The goal of this study is to examine and differentiate the tissue acceptance of bovine and porcine pericardium patches thereby contributing to the decision-making process of which tissue graft is better suited. The tissue integration of the polytetrafluoroethylene (ePTFE) stent was examined and compared to the xenogeneic patches.

This animal study used the dorsal skin fold chamber model of the mouse. Bovine and porcine pericardial patches as well as ePTFE prostheses were inserted in a C57BL/6 mouse. Within fourteen days, the surrounding tissue of the implant was repeatedly observed using an inter-vital microscope for angiogenesis, micro hemodynamics, and infection reaction. After the initial two weeks, histological and immunohistochemical samples were observed for apoptosis, cell proliferation, the quality of angiogenesis and the degree of inflammatory response were analyzed.

The comparison of in-vivo microcirculation parameters in both xenogeneic groups exhibited no significant difference in capillary function. The newly formed granulation tissue spread similarly in both xenogeneic groups and partially in the prosthesis. A noticeable leukocyte inflammatory response as well as pronounced difference with apoptosis or an increase cell reproduction could not be verified with either xenogeneic group. However, by contrast, the bovine pericardium patch showed a significant increase in CD-31 (Cluster of Differentiation) positive cells indicating angiogenesis: this was not so with the porcine pericardial patch or the ePTFE

prosthesis. On the ePTFE boarder was a significantly distinct increase in capillary density compared to the xenogeneic patches.

By the end of the observation period, the infection reaction of the ePTFE prosthesis displayed a more pronounced increased number of leukocytes compared to the xenogeneic patches. Moreover, the numbers of proliferating cells in the ePTFE group were less and the numbers of cells undergoing apoptosis were significantly less than the xenogeneic group. The micro circulatory parameters, i.e. vascular diameter, blood volume blood profusion and blood count showed no measurable difference between the groups.

The test results indicate all three prostheses to be biochemically compatible as long as there is adequate preparation of the vascular network, the granulation tissue and the physiological infection reaction. The higher capillary function of the ePTFE prosthesis as compared with the xenogeneic patches indicates the composition of the material as well as the texture of the surface is related but not the quality of implantation.

Our results demonstrate the bovine pericardial patch is superior to the porcine pericardial patch with vascularization occurring 14 days after implantation clearly indicating the bovine pericardial patch is a better and faster material for tissue incorporation.

2. Einleitung

2.1 Risikofaktoren von atherosklerotisch bedingten kardiovaskulären Erkrankungen

Durch die wachsende Gesamtbevölkerung und die älter werdende Gesellschaft vor allem in den Industrienationen steigt auch die Zahl von atherosklerotisch bedingten kardiovaskulären Erkrankungen (*Atherosclerotic cardiovascular diseases* [ASCVD]) und somit auch der Einsatz von Gefäßersatz- oder Herzklappenprothesen in der Gefäß- und Herz-Thoraxchirurgie (Song et al., 2019). Unter dem Begriff ASCVD werden Krankheiten des Herzens und der Blutgefäße definiert, die sich als Folge von Endothelläsionen mit Fett- und Cholesterinablagerungen in der Intima und später in der Media der Arterien manifestieren. Im Verlauf können diese Atherome Stenosen in den Arterien bilden oder durch Fibroblastenproliferation sogenannte Sklerose-Plaques entstehen (Müller, 2012). ASCVD können durch beeinflussbare sowie nicht-beeinflussbare Risikofaktoren begünstigt werden. Zu den beeinflussbaren Risikofaktoren gehören Bluthochdruck, Fettstoffwechselstörung, Diabetes mellitus, Fettleibigkeit (Body-Mass-Index $\geq 30 \text{ kg/m}^2$), Rauchen und übermäßiger Alkoholkonsum. Alter, Geschlecht und genetische Veranlagung zählen zu den nicht-beeinflussbaren Faktoren.

Vor elf Jahren hat sich die Weltgesundheitsorganisation (*World Health Organization* [WHO]) bis 2025 das Ziel gesetzt, einen weiteren Anstieg der erwähnten beeinflussbaren Risikofaktoren zu verhindern, die für ASCVD ursächlich sind (WHO, 2013). Jedoch hat sich in den letzten 30 Jahren die Prävalenz von Fettleibigkeit und Diabetes mellitus um das Zwei- bis Dreifache in den 57 institutionellen Mitgliedsländern der *European Society of Cardiology* (ESC) erhöht (Timmis et al., 2020). Während der Trend bei Bluthochdruck, Rauchen und Alkoholkonsum in dieser Statistik noch im Jahr 2019 rückläufig war, entwickelte sich ein erneuter Anstieg im Rahmen der *Corona Virus Disease 2019*-Pandemie (COVID-19). Das Suchtverhalten, vor allem der Tabakkonsum während der Ausgangssperre, hat sich nach aktuellen Erhebungen der „Deutschen Befragung zum Rauchverhalten“ nicht zum Positiven verändert. Demnach stieg die Prävalenz aktueller Tabakraucher in Deutschland seit dem Ausbruch der COVID-19-Pandemie um fast 10 % an (DEBRA Study, 2023). Demzufolge wird auch die Inzidenz von atherosklerotisch bedingten Folgeerkrankungen des Herzens und der Blutgefäße in naher Zukunft weiter zunehmen (Darius et al., 2008). Des Weiteren haben COVID-19-bedingt aufgeschobene Operationen bei Patienten mit einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) zu einer mangelhaften Versorgung geführt. Bereits in der ersten

und vergleichsweise milden Welle der COVID-19-Pandemie wurden deutlich weniger Patienten mit überwiegend höhergradigen pAVK-Stadien stationär behandelt (Scheurig-Muenkler et al., 2022). In der Folge stiegen in den Krankenhäusern die Mortalitätsraten und die Amputationsraten aufgrund von nicht behandelten kritischen Beinischämien.

Die Nachfrage nach alloplastischen wie auch xenogenen Materialien ist besonders in der post-COVID-19-Zeit höher denn je. Durch den hohen Einsatz der verschiedenen Prothesen spielt vor allem das Integrationsverhalten im Empfängergewebe und damit die Prophylaxe einer Gefäßprotheseninfektion eine wichtige Rolle.

2.2 Definition und Therapie der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit

Definiert wird die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) durch eine akute oder chronische Durchblutungsstörung in den versorgenden Arterien der Extremitäten. Die akute Erscheinungsform tritt selten auf und entsteht meistens durch Embolien oder durch atherothrombotisch bedingte Gefäßverletzungen. Die chronische pAVK hingegen gehört zu den häufigsten Erkrankungen unserer Zeit. Bei 95 % der chronischen pAVK ist die überwiegende Ursache ein lang andauernder arteriosklerotischer Prozess, der zunächst asymptomatisch beginnt. Entzündliche oder genetische Ursachen kommen in nur 5 % der Fälle vor (Lawall et al., 2016).

Erstes Leitsymptom einer fortgeschrittenen atherothrombotisch bedingten pAVK ist ein bewegungsabhängiger Schmerz unterhalb der arteriellen Verschlussregion. Am häufigsten betroffen ist der femoropopliteale Bereich mit der charakteristischen Symptomatik einer Schaufensterkrankheit, der sogenannten Claudicatio intermittens. Je nach Stadium nimmt die freie Gehstrecke bei den Betroffenen ab und es kommt zum Ischämieschmerz in den Beinen, der aber nach einer kurzen Ruhephase wieder abnimmt (Müller, 2012). Vor allem in der Regio suralis ist der Sauerstoffbedarf bei Belastung hoch, weswegen ein Sauerstoffdefizit zu dem typischen Schmerz in der Wade führt (Kemp et al., 2001; Chehuen et al., 2012). Diese Belastungsinsuffizienz kann sich auch im Verlauf und je nach Verschlussregion zu Oberschenkel- oder Glutealschmerzen wie der Claudicatio glutealis entwickeln. Bilden sich bei einer chronischen Durchblutungsstörung mit wiederkehrenden Ischämieschmerzen durch den Sauerstoffmangel keine adäquaten Kollateralgefäße aus, treten später auch Schmerzen in Ruhe auf. In der Spätphase kann es dann zu einer kritischen Beinischämie kommen, die zu irreversiblen Beinnekrosen und Gangrän führen können (Diehm et al., 2004). Die Einteilung

der Stadien erfolgt nach der pAVK-Symptomatik. Während in Deutschland die Vier-Stadien-Einteilung nach Fontaine benutzt wird, ist im englischsprachigen Raum die Rutherford-Klassifikation von 0 bis 6 gebräuchlich (Lawall et al., 2016).

Die chronische pAVK ist eine Erkrankung mit einer alters-, geschlechts- und regionalabhängigen Prävalenz sowie einer steigenden Inzidenz (Kullo et al., 2003; Henry et al., 2011). Weltweit beträgt die Prävalenz der pAVK 3–10 % (Lawall et al., 2016). Da die Erkrankung durch ihren langsamen Verlauf lange symptomlos und dadurch unterbehandelt bleibt, wird in den westlichen Ländern bei jedem fünften Patienten über 70 Jahre eine pAVK diagnostiziert (Diehm et al., 2004). Seit dem letzten Jahrzehnt ist die Inzidenz nicht nur in den Ländern mit hohen Einkommen um 13,1 % weiter angestiegen, sondern auch um 28,7 % in den Ländern mit niedrigen bis mittleren Einkommen (Fowkes et al., 2016). Das Bundesamt für Statistik zeigt einen Anstieg der Krankenhausinzidenz in Deutschland zwischen 2005 und 2018 um 33 % (Kühnl et al., 2020). Davon sind die unter 70-Jährigen am häufigsten mit pAVK im Stadium IIb betroffen, wohingegen die über 70-Jährigen häufig das Stadium IV erreicht haben. Der Anteil der Patienten im Alter von 71 bis 80 Jahren stieg bei den pAVK-Patienten um etwa 10 % an (Kreutzburg et al., 2020). Von den diagnostizierten pAVK-Patienten haben etwa 70 % eine Behandlungsindikation. Die Anzahl der endovaskulären Eingriffe in diesem Beobachtungszeitraum stieg um 140 % an. Demnach hat sich seit 2005 der Einsatz von künstlichen Gefäßersatzprothesen verdoppelt und die operative Versorgung der Ober- und Unterschenkelarterien verdreifacht (Criqui et al., 2015; Kühnl et al., 2020).

Die pAVK ist nicht heilbar, dennoch ist eine frühzeitige Diagnose wichtig für die Umsetzung einer Sekundärprophylaxe (Müller, 2012). Im Fokus liegt hierbei die Reduktion der Hauptrisikofaktoren sowie eine medikamentöse Prävention. Neben der klinischen Untersuchung gehören zur nicht-invasiven Standarddiagnostik die Messungen der systolischen Blutdruck-Werte an Armen und Beinen und der daraus errechnete *Ankle-Brachial-Index* (ABI). Dieser sollte auch bei einer asymptomatischen pAVK frühzeitig berechnet werden, da ein pathologischer ABI-Befund von unter 0,9 ein unabhängiger Parameter für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität ist. Nach der get-ABI-Studie liegt die 3-Jahres-Mortalität bei Patienten mit einer asymptomatischen pAVK bei 9 % und nach fünf Jahren bei 19,1 %. Bei Patienten mit einer symptomatischen pAVK liegt sie bei 12,8 % und bei 23,9 % (Diehm et al., 2002).

Multimorbide Patienten sind am häufigsten durch hohe Amputations- und Mortalitätsraten betroffen (Barnes et al., 2020). Vor allem pAVK-Patienten mit einem Diabetes mellitus und einer diabetischen Angiopathie haben eine ungünstigere Heilungsprognose. Dadurch können die Schmerzen in den Extremitäten sogar im fortgeschrittenen Stadium in Kombination mit der Polyneuropathie nur vermindert wahrgenommen werden (Hinchliffe et al., 2016). Die eingeschränkte Schmerz Wahrnehmung führt zu einem verspäteten Therapiebeginn und

steigert das Risiko für eine Gliedmaßen-Amputation (Faglia et al., 2006; Reinecke et al., 2015). Daher wird eine regelmäßige Kontrolle bei Diabetikern empfohlen, um die Möglichkeit einer initialen Revaskularisation binnen acht Wochen nutzen zu können. In diesem Zeitraum kann eine höhere Heilungswahrscheinlichkeit von ischämischen Fußulzera nachgewiesen werden (Elgzyri et al., 2014).

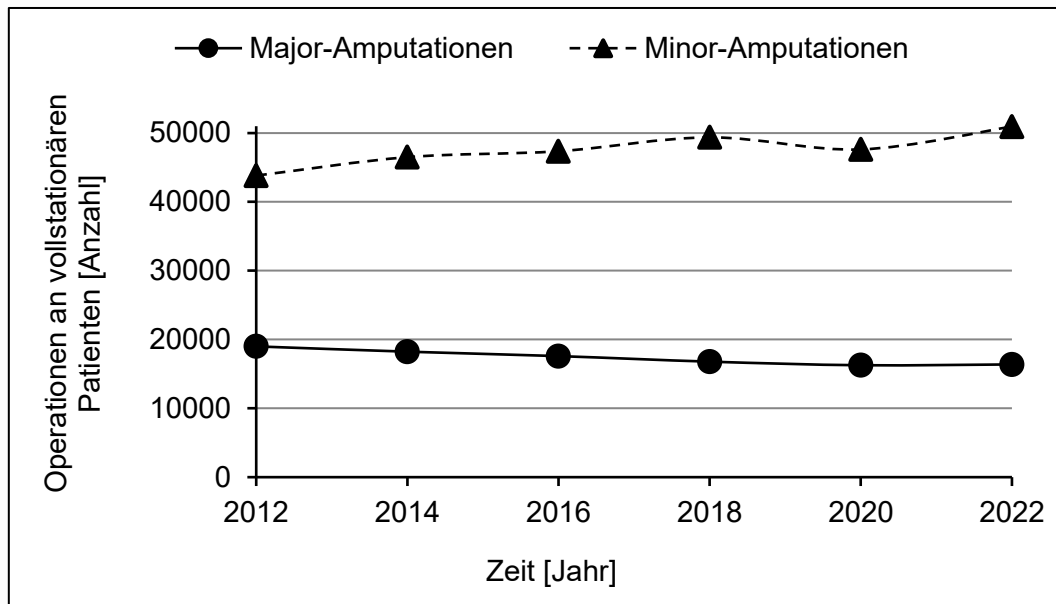


Abb. 1: Anzahl der Major- und Minor-Amputationen in Deutschland, die unter anderem durch eine pAVK und/oder einen Diabetes mellitus (diabetisches Fußsyndrom) verursacht worden waren. Vermerk: Im Jahr 2020 wurden weniger Operationen wegen der COVID-19-Pandemie durchgeführt. Eigene Darstellung mit Daten aus dem Statistischem Bundesamt 2012–2022 (Statistisches Bundesamt Deutschland - GENESIS-Online, 2024). COVID-19, *Corona Virus Disease-2019*; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit.

Solche Eingriffe werden nötig, weil es wegen der chronischen Mikrozirkulationsstörung und verschlechterten zellulären Sauerstoffversorgung zu einer endothelialen Dysfunktion kommt. Die Ursachen für die unzureichende Angiogenese sind unter anderem verringerte Wachstumsfaktoren und Zytokine sowie veränderte Immunzellreaktionen (Kolluru et al., 2012). Die damit eingeschränkte Bioverfügbarkeit von Stickstoffmonoxid (NO) bedeutet, dass NO seine protektive Wirkung auf Arteriosklerose nicht mehr entfalten kann. Diese Unterregulation in Korrelation mit einer pAVK kann schlussendlich auch zu einer diabetischen Wundheilungsstörung mit einer hohen Infektionsrate und möglichen Amputation führen (Barnes et al., 2020). In Deutschland weisen etwa 65 % aller pAVK-Amputierten einen Diabetes mellitus auf, von denen 50 % Major- und 75 % Minor-Amputationen sind (Malyar et

al., 2016). In den vergangenen zehn Jahren ist die Rate an Minor-Amputationen, zu denen Amputationen an Mittelfuß und Zehen zählen, gestiegen (Abb. 1). Diabetiker mit einer pAVK sind 15-mal häufiger von einer Minor-Amputation betroffen als pAVK-Patienten ohne Diabetes mellitus (Kamitani et al., 2021). Die Ursache für den Rückgang der Major-Amputationen ist nicht geklärt. Jedoch könnte dies auf eine frühe und erfolgreiche operative Behandlungsstrategie für eine fortgeschrittene pAVK hindeuten (Kröger et al., 2017).

Kann eine konservative Therapie den symptomatischen pAVK-Progress mittels gefäßerweiternder und gerinnungshemmender Medikamente nicht mehr aufhalten, muss meist eine interventionelle oder operative Revaskularisation durchgeführt werden, um das hohe Amputationsrisiko zu verringern (Aboyans et al., 2018). Gemäß der Studie *Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg* (BASIL) beeinflussen gleichermaßen Bypass-chirurgische als auch Katheter-assoziierte Interventionen die Überlebensrate und das amputationsfreie Überleben von Patienten mit einer kritischen Beinischämie (Bradbury et al., 2005). Für die Gesamtgruppe betrug die Überlebensrate ohne Amputation nach einem Jahr 70 % und nach drei Jahren 55 %. Endovaskuläre Eingriffe haben im Vergleich zu Bypass-Operationen eine Tendenz in der Anwendung, da ein geringeres Infektionsrisiko bei vergleichbarem Behandlungserfolg festzustellen ist (Eckstein et al., 2014).

Amputationsgefährdete Patienten mit einer pAVK haben eine unverändert schlechte Heilungsprognose. Ursachen dafür können die mangelnde Umsetzung von evidenzbasierenden Therapieempfehlungen und Sekundärpräventionen sowie die inkonsequente Reduzierung der Risikofaktoren sein (Malyar et al., 2018). Der Anstieg von pAVK-Betroffenen mit einer kritischen Beinischämie führt letztlich auch zu einem erhöhten Bedarf an Gefäßersatzmaterialien, die zur operativen Rekonstruktion als letzte Therapieoption nötig sind, um die Major-Amputation mit hohen Morbiditäts- und Mortalitätsraten zu vermeiden (Elgzyri et al., 2013; Thomas et al., 2022).

2.3 Übersicht von Gefäßersatz und Gefäßtransplantation

Die am häufigsten zur Verfügung stehenden Gefäßersatzprothesen sind aus Kunststoff oder biologischem Material. Alloplastischer Gefäßersatz aus Polyethylenterephthalat (PET) wie Dacron™ und Polytetrafluorethylen (PTFE) haben sich als Kunststoffprothesen im täglichen operativen Gebrauch hinreichend bewährt (Johnson & Lee, 1999). Diese können als Alternativen zu biologischen Ersatzmaterialien verwendet werden, da sie in unbegrenzter Menge zur Verfügung stehen und mit ihrer einfachen Handhabung durch zusätzliche

Ringverstärkung auch bei großkalibrigen Arterienrekonstruktionen eingesetzt werden können. Am häufigsten werden sie als Bypass-Materialien für die periphere Gefäßchirurgie femoropopliteal verwendet (Roll et al., 2008; Takagi et al., 2010). Aber auch bei thoraxchirurgischen Eingriffen finden sie beispielsweise als Hybridprothesen bei Aortenbogen-Rekonstruktionen immer häufiger Verwendung (Lühr et al., 2016).

Nach S3-Leitlinien-Empfehlung sollten bei elektiven Eingriffen und je nach Möglichkeit biologische Gefäßprothesen bevorzugt gegenüber alloplastischen verwendet werden (Lawall et al., 2016). Besonders autologe Gefäßrekonstruktionen mittels der körpereigenen Vena saphena magna oder parva haben sich durch ihre besseren Durchgängigkeits- und niedrigeren Infektionsraten gegenüber dem alloplastischen Material durchgesetzt (Klinkert et al., 2003).

Allogene Transplantate, wie Nabelschnurvenen von Organspendern, stehen selten zur Verfügung und xenogene Bypass-Materialien von vorbehandelten Kalb- oder Rinderarterien finden in der Gefäßchirurgie kaum noch Verwendung (Bannazadeh et al., 2009).

Eine breitere klinische Relevanz haben bovine und porcine Gefäß-Patches. Sie werden aus Rinder- oder Schweineperikard hergestellt und kommen im gefäßchirurgischen Alltag vorzugsweise als Patch-Plastik oder als vorgenähte Röhrentransplantate zum Einsatz (Weiss et al., 2017).

Der Gebrauch von alloplastischem oder biologischem Material hat Vor- und Nachteile und kann unter Umständen zu schwerwiegenden postoperativen Komplikationen führen. Autologe Bypässe haben gemäß Studien den Vorteil, dass sie nach der Implantation eine bessere Offenheitsrate und ein niedrigeres Restenose-Risiko aufweisen (Klinkert et al., 2004). Die primäre Durchgängigkeitsrate lag bei autologen femoropoplitealen Bypässen nach einem Jahr bei 77 % und bei PTFE-Bypässen bei 76 %. Nach fünf Jahren lag die Durchgängigkeit bei PTFE-Prothesen bei 43 %, wohingegen die autologe Vene weiterhin mit 77 % konstant blieb. Die sekundäre Offenheitsrate bei der autologen Vene blieb innerhalb von 5 Jahren unverändert bei 84 % und bei PTFE reduzierte es sich von 89 % auf 50 %. Es wird deutlich, dass die mittel- und langfristige Durchgängigkeit von PTFE-Gefäßprothesen im Gegensatz zur autologen Vene reduziert ist (Loh et al., 2013).

Autologe Venen eignen sich aber nicht immer für einen Gefäßersatz. Für eine konventionelle Carotis-Thrombendarteriektomie (TEA) wird nach Leitlinienempfehlung immer eine Patch-Plastik empfohlen, da eine Direktnaht zu höheren Komplikationsraten führen kann (Eckstein et al., 2020). Demnach treten bei einer Carotis-TEA häufiger Pseudoaneurysmen und Rupturen nach einer autologen Venen-Patchplastik als nach einer PTFE-Patchplastik auf (Berner et al., 2017; Texakalidis et al., 2018). Das Risiko für eine postoperative infektiologische Komplikation bei bovinen Patch-Plastiken tritt im Vergleich zu alloplastischen weniger gehäuft

auf (Liesker et al., 2023). Bei einer Carotis-TEA werden mittlerweile immer häufiger xenogene Patches angewendet, da sie einem unverändert stabilen Qualitätsstandard entsprechen. Die Evidenz für oder gegen die verschiedenen Patchmaterialien bleibt jedoch gering (Muto et al., 2009). Der Einsatz des Materials ist mitunter von der persönlichen Erfahrung des Operateurs und von dem Wunsch des Patienten abhängig. Letzteres kann zum Beispiel durch einen veganen Lebensstil oder den religiösen Glauben beeinflusst werden (Hodge et al., 2021). Neben technisch bedingten Stenosen kann eine neointimale Hyperplasie im Bereich des Bypasses oder der Anastomose zu einer später auftretenden Restenose führen (Davies & Hagen, 1995). Generell haben pAVK-Patienten aufgrund ihres prothrombotischen Zustandes eine ausgeprägte Thrombozyten-Aktivierung und damit ein besonders hohes Thromboserisiko in den ersten 24 Stunden nach der Implantation, sodass bei allen Bypass-Typen eine adjuvante antithrombotische Therapie indiziert ist (Cassar et al., 2003). Eine geringere thrombogene Wirkung zeigen die mit Endothel ausgekleideten autologen Bypässe, sodass eine duale Plättchenhemmung nicht notwendig ist.

Wenngleich die Vorteile einer autologen Vene überwiegen, ist der Einsatz durch den begrenzten Venenbestand limitiert. Durch das ausgeprägte kardiovaskuläre Risikoprofil von pAVK-Patienten mit mäßigem Gefäßstatus stehen brauchbare Venen nicht immer zur Verfügung. Jeder zweite pAVK-Patient hat nachweislich eine Koronare Herzkrankheit (KHK) oder eine zerebrale Durchblutungsstörung und jeder vierte hat einen Herzinfarkt überlebt (Heintzen, 2013; Tiefenbacher, 2019). Körpereigenes Venenmaterial wird deshalb für die möglichen Herz-Bypass-Operationen oder auch Unterschenkel-Bypass-Rekonstruktionen als Material der ersten Wahl gerne zurückbehalten. Ein weiterer limitierender Faktor für die Verwendung einer autologen Vene ist das Leiden an einer Varikosis. In den Beinen entstandene Krampfadern sind bei jedem zweiten über 50-Jährigen unterschiedlich stark ausgeprägt und sind für Bypass-Operationen unbrauchbar (Tiesenhausen et al., 2011; Müller, 2012).

Ein weiterer Nachteil entsteht bei der operativen Entnahme der körpereigenen Vene. Neben dem zusätzlichen Operationsschnitt und der daraus resultierenden verlängerten Operationszeit ist mit einer höheren postoperativen Wundinfektionsrate zu rechnen (Neufang & Savvidis, 2016). Nach einer Operationsdauer von einer Stunde beträgt die Wahrscheinlichkeit einer postoperativen infektiösen Wundheilungsstörung 1,4 %, das sich pro weiterer Operationsstunde verdoppelt (Cruse & Foord, 1980; Brandt et al., 2004). Dies kann Einfluss auf die Entscheidung des Gefäßchirurgen nehmen, ob der Einsatz von autologen Venen indiziert ist. Beträgt die Operationszeit mehr als vier Stunden, so kommt es vor allem bei Revaskularisierungseingriffen an der unteren Extremität zu Wundinfektionen (Greenblatt et al., 2011; Gupta et al., 2014). Gemäß weniger Studien hat eine verlängerte Operationszeit bei gefäßchirurgischen Eingriffen keinen Einfluss für eine erhöhte Mortalität

nach 30 Tagen (Brahmbhatt et al., 2016; Debus et al., 2022). Allerdings hat eine verlängerte Operationsdauer Auswirkung auf eine erhöhte Morbiditätsrate. Das hängt mitunter damit zusammen, dass pAVK-Betroffene als Risikogruppe für perioperative Komplikationen höher eingestuft werden. Diabetes mellitus, Rauchen, Malnutrition und Alter über 70 Jahre sind die Risikofaktoren, die gehäuft bei pAVK-Patienten vorkommen und laut Robert Koch-Institut mit einem erhöhten Risiko für postoperative Komplikationen assoziiert sind (KRINKO, 2018). Nach der *American Society of Anesthesiologists*-Klassifikation (ASA) sind pAVK-Patienten präoperativ ASA 3 von 6 eingestuft, wobei sie durch die Schwere ihrer Vorerkrankungen häufig postoperativ auf der Intensivstation nachbetreut werden müssen (LaMuraglia et al., 2009; Gupta et al., 2014).

Wann ein pAVK-Patient im Frühstadium operiert werden muss, hängt von den Symptomen wie der geringen Belastbarkeit oder von der eingeschränkten Lebensqualität ab. Liegt eine schmerzhaftes Claudicatio intermittens vor, ist eine relative operative Indikation gegeben. Ab Fontaine-Stadium III bis IV bei ischämischen Ruheschmerz bis hin zur kritischen Beinischämie besteht eine absolute Indikation für eine Operation (Müller, 2012).

2.4 Gefäßprotheseninfektionen und deren Präventionsmaßnahmen

Eine der schwerwiegendsten postoperativen Komplikationen der Gefäßersatztherapie ist die Gefäßprotheseninfektion (GPI). Diese kann mit einer Häufigkeit von 0,5–5 % und bis zu zwei Jahre nach der Implantation auftreten (Diener et al., 2017). Die Hälfte aller GPI entstehen im Frühstadium innerhalb von 30 Tagen nach der Implantation (Szilagyi et al., 1972; Zühlke, 2006). Protheseninfektionen können möglicherweise durch eine hämatogene Streuung auch nach Jahren klinisch apparent werden und zu einer Spätinfektion führen. Ob frühe Infektionen durch intraoperative Kontamination verursacht werden und Spätinfektionen hämatogen entstehen, ist bislang nicht vollständig geklärt. Jedoch sei eine intraoperative Kontamination von Erregern bezüglich der Infektionswege offenbar die Hauptursache (Hicks & Greenhalgh, 1997). Bei der Häufigkeit der GPI sollte jedoch die operierte Region in Betracht gezogen werden. Beispielsweise treten in der Leistenregion aufgrund der erhöhten Feuchtigkeit und der bakteriellen Flora tiefere Wundinfektionen (Szilagyi Grad III) bis zu einer Rate von 5 % mehr auf als nach einer Carotis-TEA (Derksen et al., 2009).

Neben prädisponierenden Faktoren wie Alter, Diabetes mellitus oder Fettleibigkeit begünstigen gewisse Virulenzfaktoren der auslösenden Erreger eine Protheseninfektion (Chang et al., 2003; Cruse & Foord, 1980). Der Schweregrad einer GPI wird von der

Eindringtiefe der Keime bestimmt (Szilagyi et al., 1972). Dabei spielt das Integrationsverhalten des implantierten Materials für den inflammatorischen Verlauf zusätzlich eine Rolle. Während auf biologischen Gefäßprothesen aufgrund ihrer epithelialisierten Neointima bakterielle Besiedlungen weniger häufig auftreten und eher oberflächliche Infektionen induzieren, kommt es bei alloplastischen Implantaten zu tieferen Protheseninfektionen. Hierbei kann die aus Fibrin bestehende Neointima eine bakterielle Kolonisation begünstigen (Moore et al., 1980; Olofsson et al., 1995). Je höher die Adhärenzfähigkeit des Erregers ist, desto mehr extrazelluläre Polysaccharidadhäsine werden an der Gefäßprothese gebildet. Dieser Biofilm dient als Schutzschild und hilft dem Erreger, auf der Prothese haften zu bleiben, um sich langsam zu vermehren, ohne vom Körper eliminiert zu werden (von Eiff et al., 2000). Durch die Ausbildung dieses charakteristischen Virulenzfaktors ist es koagulasepositiven Staphylokokken möglich, sich an Materialien jeglicher Art festzusetzen. Mit 80 % gehört *Staphylococcus aureus* zu dem häufigsten Erreger in der Frühphase einer GPI, die unmittelbar oder binnen vier Monaten nach der Implantation eintreten kann (FitzGerald et al., 2005). Davon sind etwa 20 % Methicillin-resistente *Staphylococcus aureus* (MRSA)-positive Infektionen vor allem bei alloplastischen Gefäßimplantaten mit einer erhöhten Mortalität nachweisbar (Murphy et al., 2001; Kujath & Scheele, 2006). Zu den Erregern einer Spätinfektion gehören neben *Escherichia coli* und Pilzen auch koagulasenegative Staphylokokken wie der Hautkeim *Staphylococcus epidermidis*.

Um Wund- und Gefäßprotheseninfektionen zu verringern, gibt es verschiedene Präventionsmaßnahmen. Das Robert Koch-Institut empfiehlt primär eine präoperative Liegezeit von unter 48 Stunden auf Station, um die Ausbreitung von resistenten Krankenhauskeimen auf der Haut zu verringern (RKI, 2018). Die Umsetzung im klinischen Alltag ist allerdings von der Art des Eingriffes sowie des pAVK-Stadiums abhängig und bei Patienten mit präoperativ manifesten, chronischen Wunden nicht immer realisierbar. Bei kritisch instabilen Patienten fällt die Wahl meist nicht auf den autologen Gefäßersatz, da die längere Präparationszeit der Vene eine schnelle Versorgung der Ischämie einschränken und somit eine Infektion begünstigen kann (KRINKO, 2018). Eine weitere Präventionsmaßnahme ist die Gabe einer perioperativen Antibiotikaphylaxe sowie der frühzeitige Beginn einer lokalen oder systemischen Therapie bei ersten Infektionszeichen (Arbeitskreis „Krankenhaus- und Praxishygiene“ der AWMF, 2009). Auch Kunststoffprothesen mit antibakterieller oder antiseptischer Beschichtung können nachweislich das Infektionsrisiko minimieren. In-vitro-Untersuchungen ergaben in dem Zusammenhang, dass Silber-Ionen eine antibakterielle Wirkung auf fast alle Bakterien haben (Hardman et al., 2004). Tierexperimentelle Studien unterstützen dieses Ergebnis und zeigen, dass silberazetatbeschichtete Kunststoffprothesen eine Gefäßneubildung im umliegenden Gewebe ohne Entzündungsreaktion begünstigen können (Jeanmonod et al., 2013).

2.4.1 Therapie von Gefäßprotheseninfektion

Kommt es trotz Präventionsmaßnahmen zu einer GPI, bleibt je nach Infektionstiefe als letzte Therapieoption nur ein Ausbau der infizierten Prothese (Zegelman et al., 2006). Gefäßersatzprothesen können bei einer oberflächlichen Infektion nach Szilagyi Grad I und II mittels systemischer Antibiotikatherapie und Wundspülungen oder Schwenklappenplastik vor einem kompletten Ausbau gerettet werden. Ab einer Grad III-Infektionen werden Prothesen in der Regel explantiert. Bei einer Komplettentfernung besteht eine Mortalitätsrate zwischen 10 und 30 % sowie eine Amputationsrate von bis zu 10 % (Seeger et al., 2000; Mussa et al., 2007). Durch eine In-situ-Rekonstruktion wird die niedrigste 30-Tage-Mortalität von 13,5 % und das beste einjährige Überleben von 73,6 % erreicht (Post & Vos, 2019). Deshalb sollte man patientenindividuell entscheiden, ob eine vollständige oder partielle Entfernung der alten Prothese nötig ist und welches Prothesenmaterial für eine Rekonstruktion in einem infizierten Gebiet geeigneter wäre (Diener et al., 2017). Auch in der septischen Gefäßchirurgie ist das Material der ersten Wahl nach wie vor durch ihre hohe Infektionsresistenz und Langzeitstabilität die autologe Vene (Bandyk et al., 2001). Steht diese nicht zur Verfügung oder lässt die zeitlich kritische Situation des Patienten die Entnahme der Vene nicht zu, so können modifiziert beschichtete alloplastische Prothesen eingesetzt werden, die jedoch einer autologen Vene in Bezug auf die genannten Eigenschaften weit unterlegen sind (Moussavian et al., 2016; Siracuse et al., 2013). Die Reinfektionsrate bei alloplastischen Materialien beträgt 10–20 %. Sind diese vorher mit Rifampicin imprägniert, weisen sie geringere Infektionsraten auf (Bandyk et al., 2001; Young et al., 1999).

Hinsichtlich der therapeutischen Perspektiven der Auto- oder Allotransplantationen stellen die Komorbiditäten der Patienten und die Spenderknappheit kritische Einschränkungen dar, sodass xenogene Gefäßprothesen in der gefäßchirurgischen Therapie immer mehr an Bedeutung zugenommen haben. Sie gelten zwar nicht als Schutz vor einer GPI, werden jedoch zunehmend als Heilansatz zum Beispiel bei einer infizierten PTFE-Prothese regelmäßig angewendet (Czerny et al., 2011). Beispielsweise haben bovine Röhrentransplantate als GPI-Ersatzmaterial in der thorako-abdominalen Aorta oder aorto-bifemoralen Rekonstruktion gute Ergebnisse bezüglich einer niedrigen früheren Sterblichkeit erzielt. Hierbei liegt die 30-Tage-Mortalität bei 10,5 % und die Gesamtmortalität nach einem Jahr bei 32 %. In Studien wurden wenige bis keine Reinfektionen beobachtet (Dulbecco et al., 2010; Almási-Sperling et al., 2020).

2.5 Biokompatibilität von implantiertem Material

Unabhängig vom Prothesenmaterial sind eine gute Verträglichkeit zwischen dem Implantat und dem umliegenden Gewebe sowie ein komplikationsfreies Einwachsen sehr wichtig (Anderson et al., 2008). Diese Biokompatibilität ist für die Langzeitstabilität, die Infektionsrate und für die Offenheitsrate von Gefäßprothesen entscheidend (Menger et al., 1990).

Die Inkorporation beginnt ab dem Zeitpunkt der Implantation und erfolgt in drei Phasen. Zuerst kommt es in der zweiwöchigen Frühphase zu einer angeborenen oder unspezifischen Fremdkörperreaktion. Dabei kleiden Wirtsproteine wie Fibronektin, Fibrinogen und Laminin die Innen- und Außenwand der Prothese sowie die Anastomose aus. Zeitgleich bildet sich um die Prothese durch die Aktivierung von Monozyten und Makrophagen ein Granulationsgewebe (Zimmerli & Sendi, 2011). Durch die frühe Bildung dieses Granulationsgewebes ist es pathologischen Erregern fast unmöglich, sich an und um die Prothese anzusiedeln (Menger et al., 1992). Haftet dennoch eine geringe Bakterienmenge an der Prothesenwand, wandern Leukozyten in den gebildeten Biofilm ein und beseitigen wirksam den Erreger (Leid et al., 2002). Induziert durch die periprothetische Hypoxie werden Wachstumsfaktoren und Leukozyten aktiviert, die die Bildung von Gefäßsprossen, den sogenannten *sprouts*, aus bereits vorhandenen Gefäßen anregen (Carmeliet, 2003; Kreuger & Phillipson, 2016; Risau, 1997). Diesen Vorgang nennt man Neoangiogenese und er ist ein wichtiger Schritt, damit das Implantat frühzeitig mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgt werden kann (Bae et al., 2012). Nach zwei Wochen beginnt die zweite Phase, die Inkorporationsphase. In dieser Zeit wachsen weitere Gefäßsprossen in die Prothesenwand ein und es entsteht eine gut ausgeprägte extrazelluläre Matrix (EZM), die vorwiegend aus Kollagen besteht (Müller & Dasbach, 1994). Die dritte Phase ist die Spätphase und beginnt etwa sechs Monate nach Implantation. Dabei bildet sich im Protheseninneren und in der Außenschicht ein faserreiches Bindegewebe (Stöwe et al., 2021). Insgesamt fördert eine gut ausgebildete periprothetische Neoangiogenese die Einheilung der Prothese in das umliegende Gewebe, wohingegen seröse oder hämorrhagische Exsudate eine adäquate Inkorporation verlängern (Menger et al., 1990).

2.6 Porcine und bovine Gefäßpatches

Wie bereits erwähnt, werden zunehmend als Alternative zu autologen Venen xenogene Gefäßprothesen für periphere Gefäßrekonstruktionen oder Revisionsoperationen bei Kunststoffprotheseninfektion verwendet (Salles et al., 1991; Czerny et al., 2011). Sie haben

gegenüber alloplastischen Prothesen den Vorteil, dass sie aufgrund ihrer Perikard-Struktur einer autologen Arterienwand gleichen und dadurch eine anatomisch ähnliche Rekonstruktion ermöglichen (Töpel et al., 2016). Anders als autologe Venen stehen vom Schwein stammende – porcine – oder vom Rind stammende – bovine – Perikard-Patches in höheren Mengen sowie in verschiedenen Größen zur Verfügung. Sie können durch ihre unkomplizierte Handhabung individuell zugeschnitten oder in Röhrentransplantate umgenäht werden (Lutz et al., 2017). Durch ihre robuste Materialeigenschaft neigen Perikard-Patches weder zur Blutung an der Nahtlinie noch zu einer ausgeprägten Aneurysma-Bildung (Bürger & Gebauer, 2013). Dies ist vor allem im gefäßchirurgischen Bereich, beispielsweise bei einem Verschluss von peripheren Endarteriektomien, von Vorteil (Papakostas et al., 2014). Insgesamt schneiden nach einer infizierten Gefäßrekonstruktion Röhrenprothesen aus Rinderperikard mit guten Langzeitstudienresultaten bezüglich ihrer Reinfektionsrate und dem Heilungsverhalten ab (McMillan et al., 2012; Weiss et al., 2017; Kreibich et al., 2018).

In der Literatur sind Untersuchungen mit Perikard von verschiedenen Tierarten vielfältig. Durch die gezielte Rinder- und Schweinezucht in prionenfreien Ländern ist Perikard aus der Nutztierhaltung in großer Zahl verfügbar und schließt damit eine Kontamination mit Zoonosen oder Schweine-Retroviren aus (Prusiner, 1998). Angaben über infizierte Perikardien mit übertragbaren Krankheiten von Schweinen oder Rindern liegen bislang nicht vor (Gauvin et al., 2013).

Zwischen Schweine- und Rinderperikard gibt es aufgrund ihrer ähnlichen Gewebestruktur kaum Unterschiede in den Materialeigenschaften. Wissenschaftliche Erkenntnisse aus dem Bereich der Biomaterialien geben darüber Aufschluss, dass porcine und bovine Patches bestimmte mechanische Merkmale haben. Neben einer ausgeprägten Bruchfestigkeit und einem nichtlinearen Spannungs-Dehnungs-Verhalten zeichnen sie sich aufgrund ihres Kollagengehaltes als elastisches, aber stabiles Material aus (García Páez et al., 2003; Bagno et al., 2018). Ihre kollagene Struktur wird bei der Herstellung durch eine Glutaraldehyd-Lösung stabilisiert, die auch teilweise die tierspezifischen Antigene eliminiert (Speer et al., 1980). Jedoch entfernen nur spezielle Dezellularisierungs-Verfahren restlos alle Komponenten, die zu einer immunologischen Reaktion führen können (Aguiari et al., 2016). Zu diesen Komponenten gehören unter anderem Glykosaminoglykane (GAG), die wichtigsten Bestandteile der EZM. Zu ihren Funktionen zählen vor allem die Bindung von Wasser, die lokale Eindämmung von Infektionen und die Regulation der Blutgerinnung am Endothel (Linhardt & Toida, 2004). Dazu können sie durch ihre hohe negative Ladung den Verkalkungsprozess durch Chelat-Komplex-Bindung von Calcium-Ionen am Bindegewebe verhindern (Cigliano et al., 2012). Nachweislich kommt es durch diese chemischen Fixierungen zu einer makroskopischen und mikroskopischen Veränderung in beiden tierischen Patches mit unterschiedlichen Folgen. Makroskopisch besitzt sowohl das porcine als auch das

bovine Perikard zwei Oberflächenseiten: eine faserige Außenschicht mit verschiedenen Bindegewebsmengen und eine glatte Oberfläche, die seröse Innenschicht (Abb. 21, A, B). Mikroskopisch enthält die Perikardwand neben elastischen Fasern, Blutkapillaren und Nerven auch mehrere Schichten Kollagenbündel. Hier unterscheidet sich die bovine Schichtarchitektur von der porcinen. Während das Rinderperikard aus einer dickeren Schicht von Kollagenbündeln mit symmetrischen Anordnungen besteht, weist das Schweineperikard Wellenstrukturen zwischen den Kollagenschichten auf, die aus elastischen Fasern bestehen (Gauvin et al., 2013). Klinischen Studien zufolge hat dadurch das Rinderperikard eine signifikant überlegene mechanische Festigkeit verglichen mit dem Schweineperikard (Liao et al., 1992). Eine weitere Beeinträchtigung, die durch den Herstellungsprozess entsteht, ist die verminderte Haltbarkeit der Patches. Durch die Abnahme von GAG in der EZM kann eine Mineralisierung nicht verhindert werden, sodass die Patches nach 10–15 Jahren an Elastizität verlieren und zunehmend brüchig werden. Auch die Oberflächen-Thrombogenität wird durch verminderte GAG beeinflusst. Normalerweise ist die glatte seröse Oberfläche, die dem Blutstrom anliegt, resistent gegenüber der Aufnahme von Blutplättchen. Jedoch kann nach einer Glutaraldehyd-Fixierung sich vor allem beim Schweineperikard signifikant die Oberfläche verändern, sodass sie eher zur Thrombosenbildung neigt als das Rinderperikard (Gauvin et al., 2013).

Trotz der chemischen Vorbehandlung und ihren Folgen wird eine ausgesprochen hohe Biokompatibilität erreicht, die ein rasches Einwandern der Fibroblasten und anderen Empfängerzellen für eine schnelle Integration in die rekonstruierte Arterie gewähren (Menger et al., 1992; Töpel et al., 2016). Somit hat der xenogene Perikard-Patch durch seine Eigenschaften, wie höhere Infekteresistenz, rasche Endothelialisierung und gute Compliance, die Vorteile einer autologen Vene. Im direkten Vergleich sind sich porcine und bovine Patches durch ihre Struktur und das Herstellungsverfahren sehr ähnlich. Jedoch hat das Rinderperikard durch seine hohe Prävalenz in Studien und in der Klinik eine breitere Akzeptanz erhalten und das Schweineperikard damit als vergleichbare Alternative in den Hintergrund gestellt.

2.7 Weitere Anwendungsgebiete von porcinen und bovinen Perikardien

Seit der Einführung der Transkatheter-Aortenklappenimplantation (TAVI) ist der Bedarf an xenogenem Perikard in den letzten Jahren gestiegen. Beim Einführen durch die Leiste ist das Material extremen Scherkräften ausgesetzt. Um diesen Stand halten zu können, ist ein obligatorisches Falten des Materials unumgänglich. Teilweise wurden sogar Materialien aus Eselsperikard getestet, um die Leistung nach Einführung durch den Katheter zu verbessern

(Mao et al., 2019). Jedoch gibt es auch in der Herz-Thorax-Chirurgie keine einheitlichen Anwendungsstrategien von xenogenen Patches, obwohl sie seit vielen Jahren auf unterschiedliche Weise eingesetzt werden. Neben der Verwendung von alloplastischen Ersatzprothesen, wie beispielsweise aus PTFE, wird xenogenes Material in der Herzchirurgie auch zum Verschluss von angeborenen Herzfehlern oder als biologische Aorten- oder Mitralklappen-Ersatzprothesen verwendet (Crawford et al., 1986; Us et al., 2004; Holzhey et al., 2016). Auch auf diesem Fachgebiet hat sich im Zuge der älter werdenden Bevölkerung eine Zunahme um 5,8 % in atherosklerotisch bedingten Herzklappenerkrankungen manifestiert. Die meisten biologischen Herzklappen werden entweder aus Perikard vom Rind oder aus nativen Aortenklappen vom Schwein hergestellt. In einer großen Vergleichsstudie kamen Hickey et al. zu dem Ergebnis, dass es keinen signifikanten Unterschied in der 10-Jahres-Überlebensrate zwischen implantierten Rinder- und Schweineklappen (49,0 % versus 50,3 %) gab (Hickey et al., 2014). In anderen Veröffentlichungen in Hinblick auf hämodynamische Eigenschaften und postoperative Komplikationen wie ischämische zerebrale Ereignisse erzielte jedoch die Rinderperikard-Prothese bessere Ergebnisse als die Schweineklappenprothese (Kurt et al., 2005; Yap et al., 2013). In diesem Zusammenhang wird auch in der Herzchirurgie dem bovinen Perikard in Bezug auf die Biokompatibilität ein Vorteil gegenüber dem porcinen Perikard zugesprochen (Jorge-Herrero et al., 2010).

Xenogene Patches finden auch in der Thoraxchirurgie als Alternative zum synthetischen Fremdmaterial Verwendung (Miyazaki et al., 2018). Neben Defekt-Rekonstruktionen des Zwerchfells gehört bovines Rinderperikard zu einer alternativen Methode, um infizierte Brustwandstellen wiederherzustellen (Miller et al., 2013; Milea et al., 2017). Auch in der thoraxchirurgischen Tumorthherapie haben sich sowohl porcine als auch bovine Patches bewährt. Sie können praktisch als Conduit in ein tumorinfiltriertes Lungenarteriensegment eingesetzt werden und erzielen damit gute Resultate, um das Risiko einer Pneumektomie zu verringern (D'Andrilli et al., 2018).

Als gefäßchirurgischer Standard von kurzstreckigen isolierten Stenosen in peripheren Arterien wie im Bereich der Arteria femoralis communis oder der Arteria carotis gilt die TEA (Kang et al., 2008; Grimsley et al., 2022). Zum Verschluss der Arterie gibt es nach erfolgter Längsarteriotomie zwei Möglichkeiten: die Direktnaht oder die Erweiterungsplastik. Da es bei der arteriellen Direktnaht zu einer erneuten Gefäßeinengung und zu einer Intimahyperplasie kommen kann, wird diese Technik kaum mehr empfohlen (Rantner & Fraedrich, 2017). Die Erweiterungsplastik ist heutzutage die Methode der Wahl, wobei die Arterie mittels einer Patch-Plastik verschlossen wird. Dadurch wird eine verbesserte Perfusion durch Vermeidung einer erneuten Stenose gewährleistet (Eckstein et al., 2012). Nach einer Patch-Plastik im Bereich der Arteria carotis kommen im Gegensatz zu einer Direktnaht signifikant weniger

postoperative Schlaganfälle, Revisionsoperationen, Restenosen oder Todesfälle vor (Bondet et al., 2004). Bislang gibt es keine Vergleichsstudien über porcine und bovine Patch-Plastiken bei Verschluss nach einer TEA.

Eine kürzlich veröffentlichte Studie mit einer mittelfristigen Nachbeobachtungszeit von 12 Monaten beschäftigte sich mit In-situ-Rekonstruktionen mittels porcinen Perikardschläuchen bei abdominellen Aortentransplantat-Infektionen. Dabei lag die 30-Tage-Sterblichkeit und die 1-Jahres-Sterblichkeit bei 12,5 % bzw. 37,5 %. Die Reinterventionsrate war bei 28,5 % (Znaniacki et al., 2023). Da in den vergleichbaren xenogenen Patch-Studien häufig das Rinderperikard im Vordergrund steht, zeigt diese Studie eine vielversprechende Alternative mit einer guten mittelfristigen Haltbarkeit des porcinen Patches. Eine vergleichbare Studie mit bovinen Perikardschläuchen haben Burghuber et al. mit einer mittelfristigen Nachbeobachtungszeit von 24 Monaten veröffentlicht. Dabei lag die 30-Tage-Sterblichkeit und die 1-Jahres-Sterblichkeit bei 9,5 % bzw. 14 %. Die Reinterventionsrate lag bei 11 % und die 2-Jahres-Offenheitsrate bei 86 % (Burghuber et al., 2021).

Die Verwendung von xenogenem Material in den verschiedenen Fachgebieten ist unterschiedlich und nicht immer direkt miteinander vergleichbar. Biologische Herzklappen sind beispielsweise anderer Hämodynamik ausgesetzt als xenogene Patches nach einer Carotis-TEA. Im Zusammenhang mit dieser Arbeit sind jedoch die Anwendungsgebiete in der arteriellen Rekonstruktion und deren Integrationsverhalten interessant.

2.8 Fragestellung

Xenogenes Ersatzmaterial aus Schweine- oder Rinderperikard wird häufig in der Herz-Thorax- und Gefäßchirurgie verwendet. Theoretisch können porcine und bovine Patches aufgrund ihrer ähnlichen Gewebestruktur gleichermaßen im operativen Alltag eingesetzt werden. Praktisch hat sich jedoch das bovine Perikard besonders bei Revisionsoperationen nach alloplastischen Gefäßprotheseninfektionen etabliert (McMillan et al., 2012; Almási-Sperling et al., 2020). In der Vergangenheit konnten durch Studienergebnisse bisher die Materialeigenschaften beider Perikard-Patches miteinander verglichen und eine gewisse Tendenz dem bovinen Patch als biokompatibleres Material zugesprochen werden (Liao et al., 1992; Bürger & Gebauer, 2013). Die wichtigsten Faktoren für eine adäquate Inkorporation einer Patch- oder Gefäßprothese sind die physiologische Entzündungsreaktion und die Gefäßneubildung in das umliegende Gewebe in den ersten zwei Wochen nach der Implantation (Menger et al., 1992). Bisher ließen

sich nur die bovine Wandstärke und die Gewebehydratation als Kriterium für ein besseres Einwachsverhalten gegenüber porcinen Patches nachweisen (Zouhair et al., 2020).

Wir beschäftigten uns deshalb mit der Frage, welche unterschiedlichen Auswirkungen porcine und bovine Patches 14 Tage nach Implantation auf das umliegende Gewebe haben, um bei einer signifikant besseren Biokompatibilität gegebenenfalls eine Empfehlung für die Praxis abgeben zu können. Darüber hinaus haben wir die Biokompatibilität dieser xenogenen Patches mit einer weiteren Gruppe aus unserer kunststoffhaltigen Versuchsreihe, der ePTFE-Prothese, verglichen. Wenngleich ihr operativer Einsatz teilweise ein anderer ist, wurden in jüngster Zeit gehäuft positive Studienergebnisse über die Anwendung von bovinen Perikard-Patches als Röhrentransplantate bei einer infizierten PTFE-Prothese veröffentlicht (Czerny et al., 2011). Diesen und ähnlichen Veröffentlichungen wollten wir mit unseren experimentellen Ergebnissen von beiden unterschiedlichen Materialien nachgehen.

Der Untersuchungszeitraum der implantierten porcinen, bovinen und ePTFE-Prothesen im tierexperimentellen Rückenhautkammermodell der Maus betrug 14 Tage. In diesem Zeitraum war es uns möglich, mithilfe eines intravitalen Fluoreszenzmikroskops das progressive Einwachsverhalten der Implantate quantitativ zu analysieren. Um die peri- und subprothetischen zellulären Strukturen untersuchen zu können, wurden nach Ablauf der zwei Wochen zusätzlich immunhistochemische Querschnittspräparate angefertigt und ausgewertet.

3. Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Die tierexperimentellen Untersuchungen mittels Rückenhautkammermodell sind an C57BL/6-Mäusen (Charles River Laboratories GmbH, Sulzfeld, Deutschland) ausgeführt worden. In unserer Forschungsgruppe gehörten C57BL/6-Mauskolonien zu den am häufigsten verwendeten *Knock-out*-Mäusen, da sie durch ihre genetische Identität ein hohes Maß an Gleichmäßigkeit auf unsere experimentellen Behandlungen garantierten. Alle Eingriffe und Behandlungen erfolgten nach den aktuellen Tierschutzrichtlinien für Versuchstiere sowie dem in Deutschland geltenden Tierschutzgesetz nach § 10 (National Research Council, Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, 2011). Die Tierschutzbehörde des Landesamtes für Gesundheit und Verbraucherschutz hat nach § 8 Absatz 1 die Experimente genehmigt.

Die sowohl männlichen als auch weiblichen Versuchstiere waren zwischen 8 und 24 Wochen alt und besaßen ein Körpergewicht zwischen 21 und 25 g. In ihren Einzelkäfigen hatten sie stets Zugang zum Standardlaborfutter (Altromin 1324 – 10 mm Pellets, Altromin GmbH, Lage, Deutschland) und zu Wasser (Abb. 2). Unter Einhaltung eines 12-stündigen Tag-Nacht-Rhythmus wurden die Mäuse von den Mitarbeitern der Versuchstierpflege in der Tierhaltung des Institutes für Klinisch-Experimentelle Chirurgie des Universitätsklinikums des Saarlandes bei Raumtemperaturen zwischen 22 und 24 °C sowie bei einer relativen Luftfeuchtigkeit von 60 bis 65 % gepflegt.



Abb. 2: Farbmaus vom Stamm C57BL/6 (Black 6). Männlich, 10 Monate, 22 g, im Einzelkäfig mit solidem Boden auf Einstreu. Eigenes Bildmaterial.

3.2 Implantiertes Material

3.2.1 Vascutek Porcine Pericardial Patch:

Bei diesem xenogenen 60 x 80 mm großen Patch handelt es sich um ein steriles in 0,5%ige Glutaraldehyd-Lösung eingelegtes Schweineperikard (Seite 26, Abb. 3, A). Aufbewahrt wird es in einem luftdicht wiederverschließbaren Kunststoffbehälter, welches zwischen 5 °C und 25 °C gelagert werden kann. Wie jedes Perikard besitzt sie auf der einen Seite eine glatte seröse und auf der gegenüberliegenden Seite eine faserige fibrinöse Oberfläche (Seite 54, Abb. 21, A). Vor der Verwendung soll gemäß Gebrauchsanweisung das Perikard zehn Minuten mit einer sterilen 0,9%igen Kochsalzlösung gespült werden. Der Hersteller (Vascutek LTD, Inchinnan, Großbritannien) wirbt mit einer besonderen Handhabung, einer vorteilhaften Flexibilität und einer mittleren Wandstärke von 0,32 mm sowie einer gleichmäßigen Nahtretention. Häufige Anwendungen von *Vascutek Porcine Pericardial Patches* sind die Reparaturen von Herzklappen sowie der Arteria Carotis nach einer Endarteriektomie und der Verschluss von Perikard-Defekten (Lau et al., 2008).

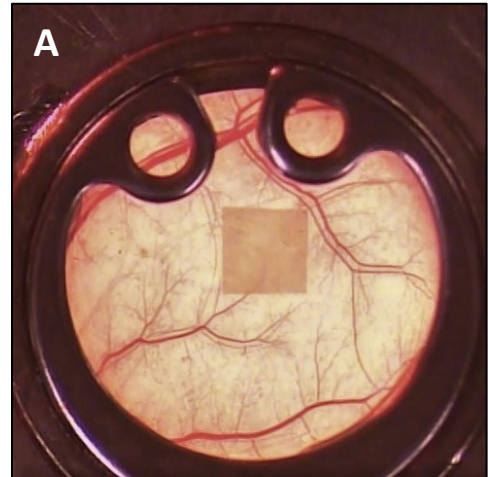
3.2.2 XenoSure® Biologic Patch:

Auch hierbei handelt es sich um einen xenogenen Gefäß-Patch. Für den medizinischen Gebrauch wird es aus Rinderperikard (Seite 26, Abb. 3, B) ebenso mit Glutaraldehyd aufbereitet und auf eine Größe von 10 x 100 mm zugeschnitten. In einem luftdicht wiederverschließbaren Kunststoffbehälter wird es mit einer sterilen phosphatgepufferten Kochsalzlösung sowie 0,2%iger Glutaraldehydlösung zwischen 5 °C und 25 °C aufbewahrt. Vor Benutzung muss auch die hier vom Hersteller (LeMaitre® Vascular, Inc., Burlington/MA, Vereinigte Staaten) empfohlene dreiminütige Spülung mit 500 ml steriler Kochsalzlösung durchgeführt werden. Dadurch kann die mittlere Wandstärke von 0,55 mm um 0,1 mm zunehmen. Dieses Produkt wirbt mit ihrer Biokompatibilität, der außergewöhnlichen Reißfestigkeit mit ihrer Wandstärke von 0,55 mm $\pm$ 0,1 mm und ihrer leichten Handhabe. Laut Hersteller wird der bovine Patch vor allem für gefäßchirurgische Eingriffe wie Carotis-Endarteriektomien, Iliakal-Arterien-Stenting, Femur-, Iliaca-, Nieren- und Tibia-Patching, Profunda-Plastiken und arteriovenöse Zugriffsrevisionen empfohlen (LeMaitre® Vascular, 2019).

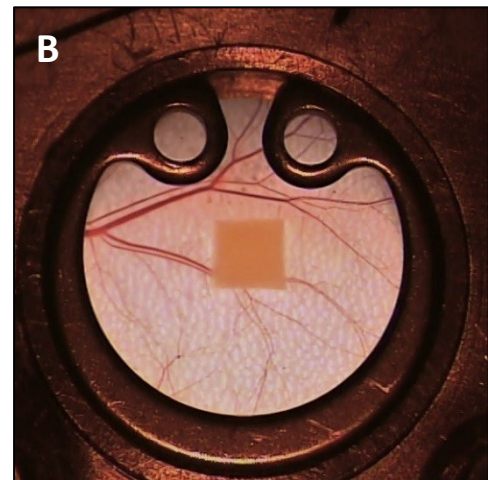
3.2.3 Gore-Tex® Stretch Vascular Graft:

Diese synthetisch hergestellte Rohr-Gefäßprothese (Seite 26, Abb. 3, C) aus expandiertem Polytetrafluorethylen (ePTFE) wird vor allem bei Operationen mit Patienten mit peripheren Gefäßverschlüssen oder peripheren Aneurysmen eingesetzt. Besonders häufig finden Streck-ePTFE-Prothesen bei Dialysepatienten Verwendung, da sie im Vergleich zu Standard-ePTFE-Transplantaten bessere Durchgängigkeitsraten und weniger postoperative Stenosen aufweisen (Tordoir et al., 1995). Bei der Herstellung wird das ePTFE in einem thermischen Prozess gereckt. Hierbei werden während der Verarbeitung die Molekülfasern des ePTFE orientiert verändert, sodass dadurch eine verbesserte Dichtigkeit und Festigkeit bei einer mittleren Wandstärke von 0,4 mm erzeugt wird. Die ePTFE-Prothesen sollten nach Herstellerempfehlung (W. L. Gore & Associates, Inc., Newark/DE, Vereinigte Staaten) nicht als Patch-Prothesen verwendet werden, da ihnen die nötige Querversteifung fehlt. *Gore-Tex® Stretch Vascular Graft*-Prothesen sind ohne Vorbehandlung sofort einsetzbar und können mit externen Plastik-Stützringen verstärkt werden, um eine scharfe Biegung im freipräparierten Operationsgebiet zu verhindern.

(A) Porciner Perikard-Patch: 0,32 mm



(B) Boviner Perikard-Patch: 0,55 mm



(C) Kunststoff-Rohrprothese ePTFE: 0,4 mm

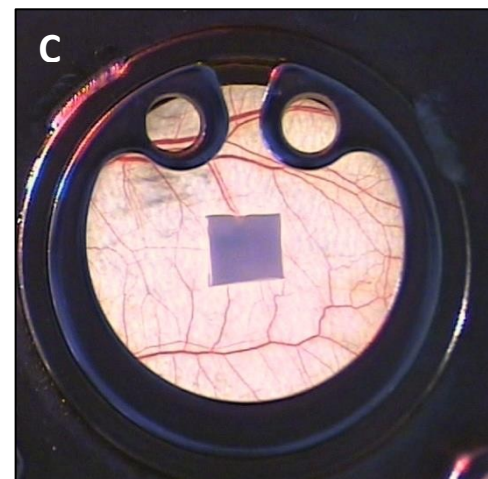


Abb. 3: Lichtmikroskopische Videoaufnahmen im Standbildmodus in 10-facher Vergrößerung der untersuchten 2 x 2 mm großen zugeschnittenen Gefäßprothesenfragmente im jeweiligen Beobachtungsfeld der Rückenhautkammer der Maus. **(A–C):** Implantiertes Material am Tag der Implantation (Tag 0) und ihre mittlere Wandstärke. Eigenes Bildmaterial.

3.3 Präparation der Rückenhautkammer

Das Modell der Rückenhautkammer (RHK) wurde anfangs an Syrischen Goldhamstern angewendet (Menger & Lehr, 1993). Heutzutage ist es auch an Mäusen durch eine modifizierte Verkleinerung der RHK möglich neben In-vivo-Experimenten mit Zellpräparaten oder Gewebetransplantaten auch die implantierten Gefäßprothesenfragmente unserer Versuchsreihe 14 Tage lang auf das Einwachsverhalten zu untersuchen. Der freipräparierte Musculus panniculus carnosus der Maus-Hautfalte (Seite 30, Abb. 6, A) eignet sich hierbei als ideale Skelettmuskelschicht, welches auf eine Verletzung mit Revaskularisierung und kapillaren Umbau adäquat reagiert (Naldaiz-Gastesi et al., 2018).

Für die Präparationsschnitte der RHK wurde zunächst die Haut der Versuchsm Maus in zwei Schritten vorbereitet. Im ersten Schritt wurde die Maus mittels einer Küchenwaage gewogen und das körp ergewichtsadaptierte Analgosedativum [0,1 ml + 10 % pro 10 g Körpergewicht] mit einer 26 G Injektionskanüle intraperitoneal verabreicht. Das zuvor frisch vorbereitete Narkosemittel aus 0,75 ml Ketaminhydrochlorid 12 % (Ketavet®; Pharmacia GmbH, Erlangen, Deutschland) und 1 ml Xylazinhydrochlorid 2 % (Rompun®; Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) wurde in 8,25 ml steriler 0,9%iger Kochsalzlösung (NaCl 0,9 %; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gelöst. Vor jedem weiteren Schritt wurde die Narkosetiefe regelmäßig mithilfe einer anatomischen Pinzette überprüft. Konnte ein sichtbarer Schmerzreflex an der Hinterpfote der Maus ausgelöst werden, wurde mit je 0,1 ml Narkoselösung intraperitoneal nachinjiziert. War eine ausreichende Narkosetiefe eingetreten, wurde eine Augensalbe (Bepanthen® Augen- und Nasensalbe; Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) aufgetragen, die eine Austrocknung der Horn- und Bindehäute der Maus verhindern sollte.

Im zweiten Schritt wurde mit der Enthaarung der Rückenhaut begonnen. Zunächst wurde mit einem Elektrorasierer für Kleintiere (Elektra II GH 204; Aesculap AG, Tuttlingen, Deutschland) das Fell entfernt. Im Anschluss wurden die restlichen Haare mit einer Enthaarungscreme (asid®-med; ASID BONZ GmbH, Herrenberg, Deutschland) bedeckt (Seite 28, Abb. 4, A) und diese nach einer zehnminütigen Einwirkzeit mit einem kleinen Spatel abgetragen. Die Reste von der Enthaarungscreme wurden mit lauwarmem Wasser gründlich abgewaschen und darauf geachtet, dass die empfindlichen Ohren und Augen der Maus nicht mit Feuchtigkeit in Berührung kamen. Anschließend wurde die abgetrocknete, enthaarte Rückenhaut mit einer alkoholischen Lösung aus 74,1 % Ethanol und 10 % 2-Propanol (Softasept® N™; B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) ausreichend unter Einhaltung der Einwirkzeit desinfiziert.

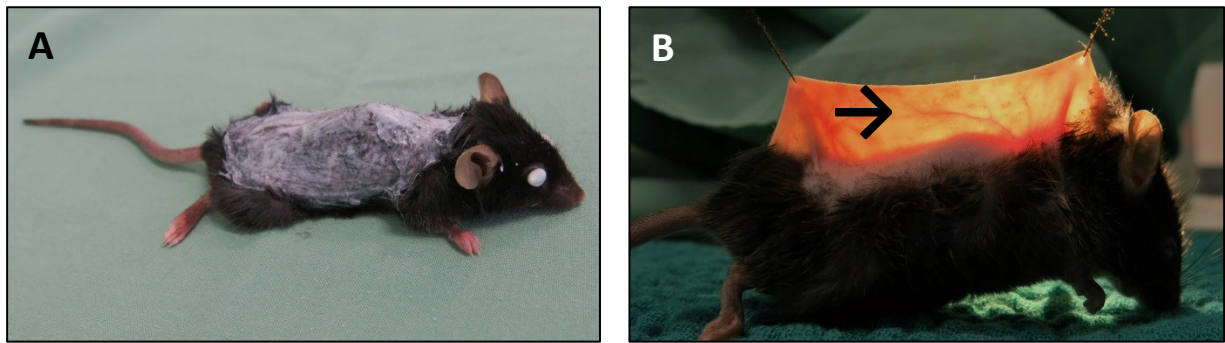


Abb. 4: (A) Analgosedierte C57BL/6-Maus während der chemischen Depilation und (B) nach der Enthaarung. B: Die mediale Rückenhaul der Maus wurde in Narkose mit Haltefäden an die Haltevorrichtung aufgespannt, um die Hauptstammgefäße der Rückenhaul (schwarzer Pfeil) sichtbar zu machen. Eigenes Bildmaterial.

Für die Präparation der RHK wurden primär OP-Instrumente aus der Augenchirurgie, wie Mikroscheren, Hartmann-Mosquitoklemmen und Mikropinzetten, verwendet. Diese wurden zusammen mit dem Titangestell vor jedem Einsatz im Ultraschallbad gereinigt und in eine Desinfektionslösung gelegt.

Um eine intraoperative Auskühlung zu verhindern, wurde die Versuchsmaus vor dem ersten Präparationsschnitt auf ein elektrisches Wärmekissen gebettet oder mit einer wärmenden Rotlichtlampe (Osram™ Siccatherm 150 W, 240 V HG) bestrahlt. Die enthaarte elastische Rückenhaul wurde zunächst entlang der dorsalen Medianlinie mit Hilfe einer chirurgischen Nadel und zwei Haltefäden an eine Haltevorrichtung gespannt. Eine Kaltlichtquelle diente hierzu als Gegenlichtkontrolle, um die Hauptstammgefäße der Rückenhaul als Orientierungspunkte für die korrekte Positionierung der Haltefäden aufzusuchen (Abb. 4, B). Anschließend wurden nacheinander die Einzelteile (Seite 29, Abb. 5, A) des Titangestells der RHK mit einem Gesamtgewicht von 3,2 g auf die senkrecht aufgespannte Rückenhaul zusammengebaut. Hierzu wurde die Haut-Umschlagsfalte an den hinteren Titanrahmen mit sechs Einzelknopfnähten fixiert. Nachdem zwei kleine Schnitte in der Rückenhaulfalte gemacht wurden, konnten zwei Schrauben durch beide Hautfalten hindurchgeführt werden (Seite 29, Abb. 5, B). An diesen Schrauben konnte das vordere Titangestell als Gegenstück in einem späteren Schritt befestigt werden.

Im darauffolgenden Arbeitsschritt wurde das Beobachtungsfeld der Rückenhaul freigelegt. Dieses wurde zunächst unter Gegenlichtkontrolle mithilfe eines wasserfesten Feinmarkers gekennzeichnet.

Um eine Kompression des Gewebes nach Anbringen des vorderen Titangestells zu umgehen, wurde der Kreisdurchmesser des Operationsfeldes etwas größer als das des Beobachtungsfensters der RHK gekennzeichnet. Anschließend wurde die Maus in Seitenlage auf das hintere Titangestell unter einem Stereo-Operationsmikroskop (Wild M650/Leica; Leica Camera AG, Wetzlar, Deutschland) positioniert und entlang der vormarkierten Stelle die oberste Hautschicht (Cutis) mit einem Durchmesser von 15 mm kreisrund mittels mikrochirurgischem Operationsbesteck herausgeschnitten (Abb. 5, B). Danach wurden mit einer feinen Mikroschere die einzelnen subkutanen Gewebeschichten bis zum Hautmuskel, dem *Musculus panniculus carnosus*, freigelegt (Seite 30, Abb. 6, A). Dieser Muskel ist willkürlich innerviert und kann die Rückenhaut der Maus in Falten werfen, sodass eine Längsanspannung möglich ist.

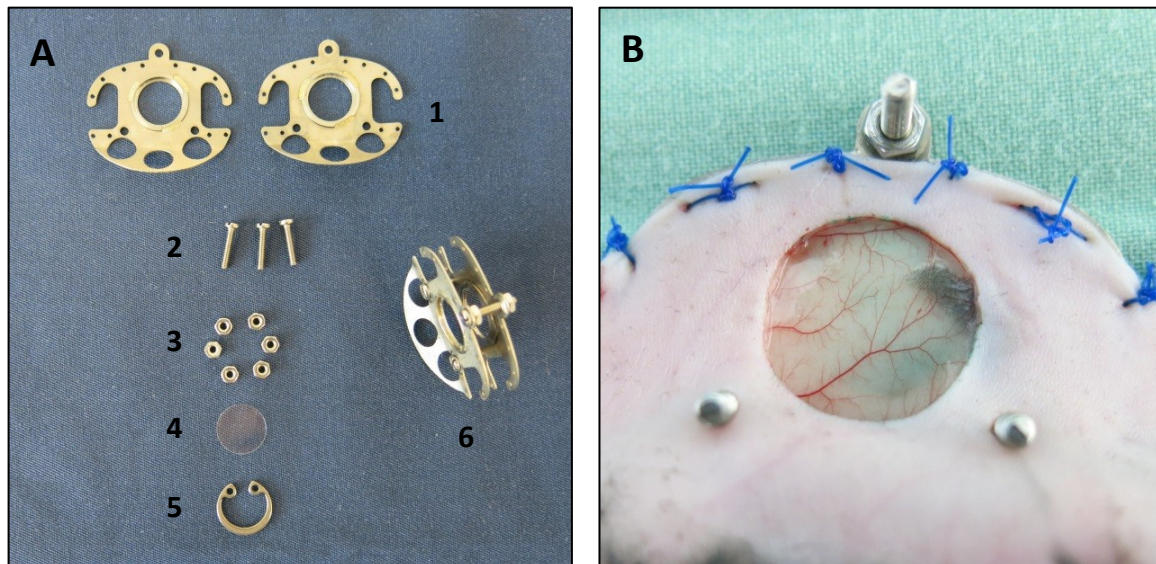


Abb. 5: (A) Einzelne Bauteile einer Rückenhautkammer. Links im Bild von oben nach unten: zwei symmetrische Titanrahmen (1) mit rundem Beobachtungsfenster, Bohrungen für Verbindungsschrauben und Fixationsfäden, drei Verbindungsschrauben (2), sechs Distanzschraubenmutter (3), ein Deckglas (4) mit einem Durchmesser von 11,8 mm und einer Stärke von 1, ein Sprengring (5). Rechts im Bild: zusammengesetzte Rückenhautkammer (6) aus zwei Titanrahmen (1) verbunden mit drei Schrauben (2) und sechs Distanzschraubenmutter (3). (B) Präpariertes Operationsfeld (15 mm Durchmesser) mit gut sichtbaren Hauptstammgefäßen in längsgespannter Rückenhaut der Labormaus auf einem hinteren Titanrahmen. Eigenes Bildmaterial.

Die im Operationsfeld durch Traumatisierung entstandenen Blutungen wurden sorgsam vermieden und während der Präparation wiederholt mit steriler 0,9%iger Kochsalzlösung gespült. Überlaufende Kochsalzlösung wurde seitlich der Wunde mit einem sterilen Tupfer aufgesaugt, ohne das Operationsfeld zu berühren. Nach erfolgter Blutstillung wurde der

vordere Titanrahmen mithilfe von zwei Distanzschraubenmuttern auf die drei Verbindungsschrauben zur Kammerrückseite angebracht. Die Distanzschraubenmuttern dienten als Platzhalter, um eine Komprimierung der versorgenden Blutgefäße zu verhindern und eine physiologische Blutversorgung des Gewebes sicher zu stellen. Im letzten Schritt wurden die verbleibenden Gewebeschichten erneut mit Kochsalzlösung gespült und mit einem wiederentfernbar Deckgläschen (Durchmesser: 11,8 mm, Stärke: 1) geschützt sowie einem Sprengring am Titanrahmen fixiert, sodass eine intravitalmikroskopische Beobachtung der gegenüberliegenden Hautmuskulatur und Subcutis möglich war (Abb. 6, B).

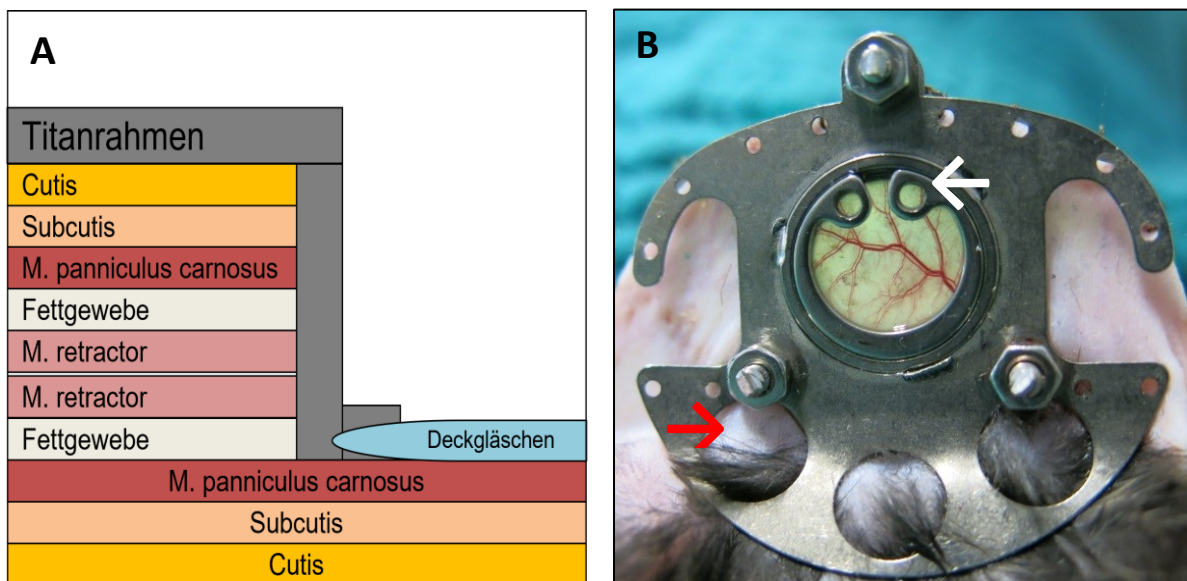


Abb. 6: (A) Schematische Darstellung der verschiedenen Gewebeschichten einer präparierten Rückenhautkammer. (B) Implantiertes Titangestell mit Sprengring (weißer Pfeil), Deckglas und gut sichtbaren Hauptstammgefäßen im runden Beobachtungsfeld. Roter Pfeil: Materialaussparung zur Reduktion des Titanrahmengewichtes. Eigene Darstellung und Bildmaterial.

Nach der RHK-Präparation wurde die Maus in einen Einzelkäfig gelegt (Seite 23, Abb. 2) und mit einer Rotlichtlampe gewärmt, um eine postoperative Auskühlung in der Aufwachphase zu verhindern. Die operierte Versuchsmaus wurde erst bei wiedereintretendem Bewegungsdrang in die Versuchstierhaltung zurückgebracht und bekam die Möglichkeit sich für 48 Stunden von der Narkose sowie dem Eingriff zu erholen. Die Mäuse tolerierten die RHK gut und zeigten unbeeinträchtigte Schlaf- und Fressgewohnheiten (Seite 31, Abb. 7).



Abb. 7: Wache C57BL/6 Maus mit Futter 48 Stunden nach der Präparation der Rückenhautkammer. Eigenes Bildmaterial.

3.4 Implantation des Gefäßprothesenfragments

Zwei Tage nach der RHK-Präparation der Maus wurden die Gefäßprothesen implantiert. Während die steril verpackten ePTFE-Prothesen ohne Vorbehandlung einsatzbereit waren, wurden die bovinen und porcinen Gefäß-Patches vor der Implantation gemäß der Gebrauchsanleitung mit steriler 0,9%iger Kochsalzlösung zehn Minuten lang gespült, bevor sie in eine Einheitsform von 2 mm² zugeschnitten werden konnten. In einer sterilen Kochsalzlösung-gefüllten Petrischale konnten die 2 x 2 mm großen Gefäßprothesenfragmente mittels einer Kästchen-Schablone als Unterlage und einem Skalpell unter einem Operationsmikroskop ausgeschnitten werden. Nach diesem Arbeitsschritt wurde die Maus erneut analgosediert und bei adäquater Narkosetiefe auf eine Plexiglasbühne (Seite 33, Abb. 9, B), welches auf einem elektrischen Wärmekissen lag, in Seitenlage mit Fäden fixiert. Anschließend wurde der Sprengring und das Deckgläschen entfernt und die vorher zugeschnittenen Gefäßprothesenfragmente auf ihre fibrinöse Außenseite (Seite 54, Abb. 21, A) mithilfe einer sterilen anatomischen Pinzette in das Zentrum des Beobachtungsfeldes positioniert (Seite 32, Abb. 8). Nach erfolgter Implantation wurde die RHK zügig wieder mit einem Deckgläschen und Sprengring luftdicht verschlossen, um die erste intravitale fluoreszenzmikroskopische Untersuchung durchführen zu können.

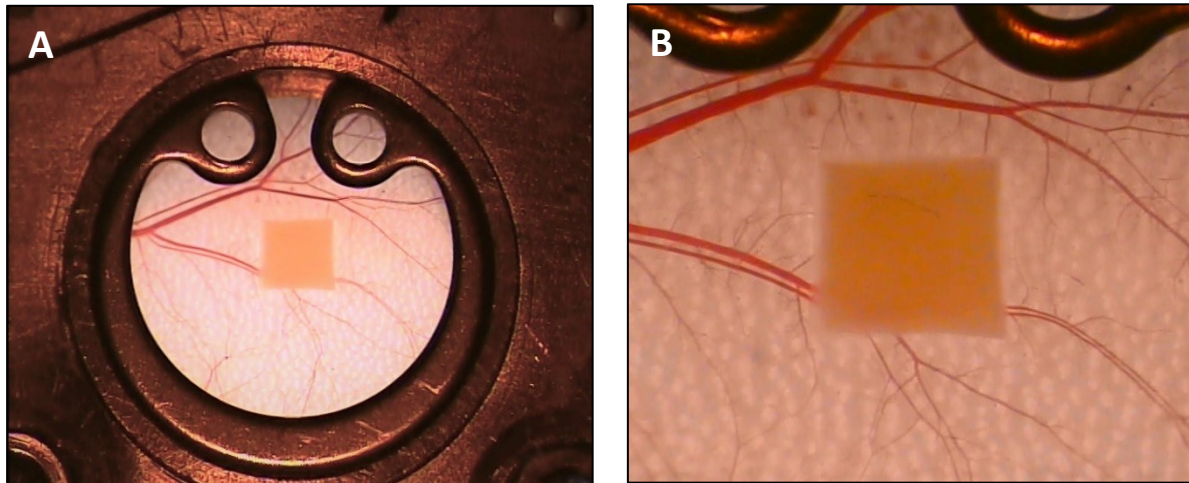


Abb. 8: Beobachtungsfenster der RHK am Tag der Implantation (Tag 0) mit einem 2 mm² großen bovinen Gefäß-Patch. Lichtmikroskopische Videoaufnahmen im Standbildmodus **(A)** in 10-facher Vergrößerung und **(B)** in 40-facher Vergrößerung. Eigenes Bildmaterial. RHK, Rückenhautkammer.

3.5 Intravitale Fluoreszenzmikroskopie

Durch die intravitale Fluoreszenzmikroskopie war es möglich über mehrere Wochen wiederholt an der analgosedierten Maus die Neoangiogenese, die Mikrozirkulation sowie die Leukozyten-Endothel-Interaktion zu untersuchen. Hierzu wurden zunächst die aufgetauten Fluoreszenzfarbstoffe FITC-Dextran (5 % Fluoreszin-Isothiocyanat-markiertes Dextran, Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) und Rhodamin 6G (Sigma-Aldrich, Taufkirchen, Deutschland) im Verhältnis von 1:1 miteinander vermischt, bevor sie in den retrobulbären Venenplexus der Maus injiziert wurden. Während der Plasmamarker FITC-Dextran durch sein Molekulargewicht von 150.000 Da die Intravasalräume darstellte, färbte Rhodamin 6G Granulozyten und Monozyten ein, die die Leukozyten-Interaktion mit dem Gefäßendothel sichtbar machte (Baatz et al., 1995; Faye et al., 2012).

Der durchgehend analgosedierten Maus wurden 0,1 ml von dem vorher zubereiteten Fluoreszenzfarbstoff-Gemisch in den retrobulbären Venenplexus gespritzt und anschließend in Seitenlage auf eine Plexiglasplatte mit einem Faden fixiert (Seite 33, Abb. 9, B), um das Beobachtungsfenster der RHK mit einem modifizierten Zeiss AxioTech Mikroskop (Zeiss; Oberkochen, Deutschland) untersuchen zu können. Dieses modifizierte Intravitalmikroskop war neben einer 100 Watt Quecksilberhöchstdrucklampe und einem Auflicht-Illuminator, zusätzlich mit einem Reflektorschieber mit drei zwischengeschalteten Filterblöcken ausgestattet (Seite 33, Abb. 9, A). Diese drei Filterblöcke ermöglichten durch Zuschaltung eine

Anregung des Untersuchungsfeldes mit blauem (Anregungswellenlänge: 450–490 nm, Emissionswellenlänge: >520 nm), grünem (530–560 nm, >580 nm) und ultraviolettem Licht (330–390 nm, >430 nm).

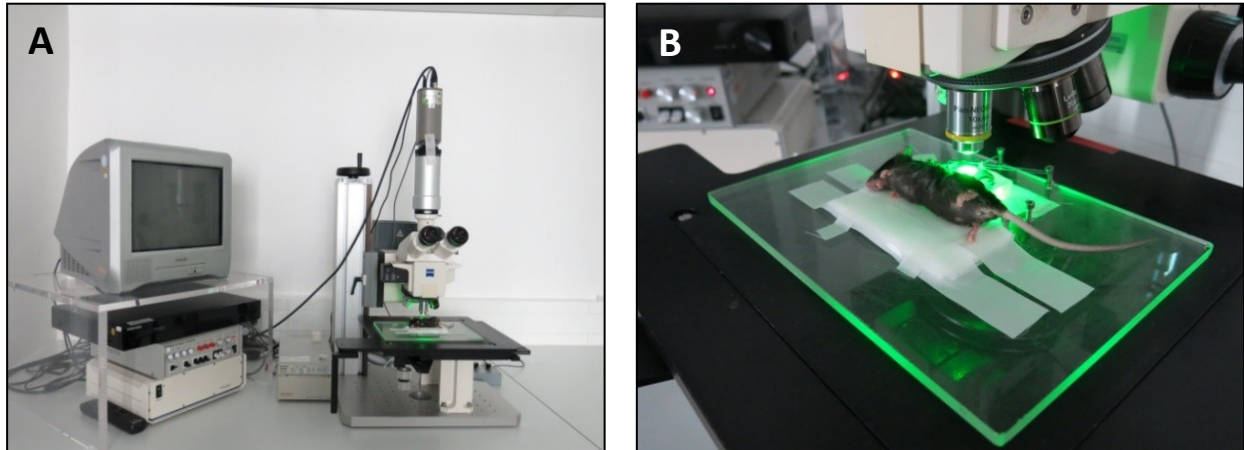


Abb. 9: (A) Arbeitsplatz zur intravitalen fluoreszenzmikroskopischen Untersuchung mit Intravitalmikroskop, Monitor, DVD-Rekorder, *Videotimer*, Vorschaltgerät, Kamera, Filterblock, Mikroskopier-Tisch, Helligkeitsregler, Kameraregler. **(B)** Analgosedierte C57BL/6 Maus auf einer Plexiglasbühne in Grünlicht-Epi-Illumination. Eigenes Bildmaterial. DVD, *Digital Video Disc*.

Eingesetzt wurden zur ausführlichen Dokumentation ein *Videotimer* (VTG 33; FOR-A Company Limited, Tokio, Japan) und eine *Charge-coupled Device*-Videokamera (FK6990; Pieper, Schwerte, Deutschland), die an das Intravitalmikroskop integriert waren. Mit einem DVD-Rekorder (DVD-R 121; Samsung Electronics GmbH, Schwalbach, Deutschland) wurden die Bilder, die während der mikroskopischen Untersuchung entstanden waren, auf eine DVD zur späteren Auswertung aufgezeichnet.

3.5.1 Analyse der Mikrozirkulation

Das aufgezeichnete Bildmaterial der intravitalen Fluoreszenzmikroskopie über den Untersuchungszeitraum von zwei Wochen konnte mithilfe des Bildverarbeitungsprogramms *Cap-Image* (Dr. Zeintl, Heidelberg, Deutschland) ausgewertet werden. *Cap-Image* ermöglichte eine quantitative Analyse der Neoangiogenese, der Mikrohämodynamik sowie der Leukozyten-Endothel-Interaktion. Um eine Vergleichbarkeit der Ergebnisse an den jeweiligen Untersuchungstagen zu sichern, wurden vorher Felder (Abb. 10) um die Implantate herum bei jeder Maus gleich festgelegt. Für die Auswertung der Neoangiogenese als funktionelle Kapillardichte (cm/cm^2) wurden acht definierte Felder, die *Region of Interest (ROI)*, mit einer Fläche von $0,4 \text{ mm}^2$ im direkten Randbereich der Gefäßprothese mit einem 20-fachen Objektiv unter Blaulicht-Epi-Illumination aufgezeichnet. Auch für die Analyse der Mikrohämodynamik und Leukozyten-Endothel-Interaktion wurden bei jeder Maus stets die vier gleichen postkapillären Venolen aufgesucht, die sich jeweils in unmittelbarer Nähe der Prothese befanden und mit Grünlicht-Epi-Illumination aufgenommen wurden.

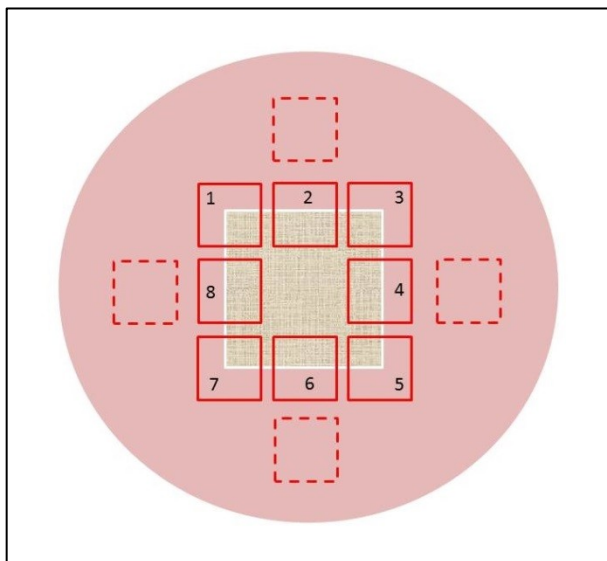


Abb. 10: Schematische Darstellung der standardisierten Auswertung mit *Cap-Image*. Zu sehen sind die vordefinierten Untersuchungsfelder (ROI) sowie ein zentral gelegenes Prothesenimplantat (beigefarbenes Quadrat). Rosafarbener Kreis: Beobachtungsfeld der RHK. Acht rote Quadrate: Felder zur Analyse der funktionellen Kapillardichte im Randbereich der Prothese (siehe dazu Seite 35, Abb. 11, A). Vier gestrichelte rote Quadrate: Felder zum Aufsuchen der postkapillären Venolen zur Analyse der Mikrohämodynamik und Leukozyten-Endothel-Interaktion. Eigene Darstellung. RHK, Rückenhautkammer; ROI, *Region of Interest*.

3.5.2 Funktionelle Kapillardichte

Zur Berechnung der funktionellen Kapillardichte wurde vorher jedes aufgezeichnete ROI-Feld im Videostandbild mithilfe von *Cap-Image* analysiert. Neu gebildete FITC-Dextran-positive

Kapillarsprossungen, die sogenannten *sprouts*, wurden der Länge nach mit einer Computermouse nachgezeichnet (Abb. 11, A). Die funktionelle Kapillardichte (cm/cm^2) errechnete sich als Quotient aus der Gesamtlänge der neu gebildeten Gefäße und der Fläche des Beobachtungsfeldes (Menger et al., 1992). Die Auswertung der nachzuzeichnenden *sprouts* war von der Kontrastmitteleinlagerung und der Bildqualität abhängig, die sich teilweise vor allem zum Ende des Beobachtungszeitraumes durch periprotektische Ödembildung verschlechterte.

3.5.3 Gefäßdurchmesser (d)

Die Färbung mit FITC-Dextran bewirkte im Plasma eine genaue Abgrenzung zwischen dunkler Gefäßwand und hell leuchtendem Plasma. Zur Messung des Gefäßdurchmessers wurden mit *Cap-Image* die vier gleichen postkapillären Venolen in der Nähe der Prothese (Seite 34, Abb. 10) zu jeder Untersuchung aufgesucht. Hierzu wurden zwei gegenüberliegende Randpunkte eines Gefäßes miteinander verbunden (Abb. 11, B) und die dadurch senkrecht zum Gefäß ausgerichtete Strecke (μm) als Gefäßdurchmesser d bestimmt.

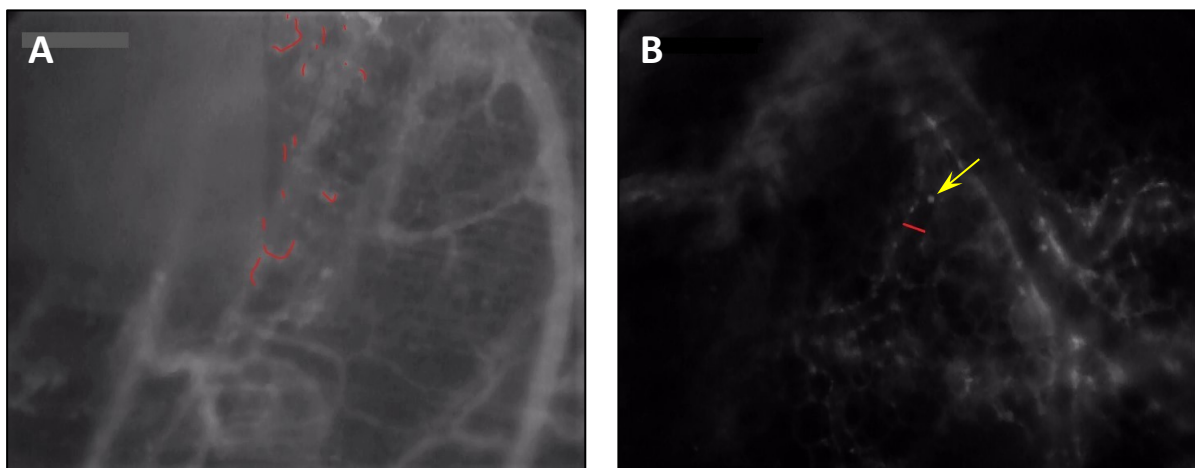


Abb. 11: Intravitalmikroskopische Videoaufnahmen im Standbildmodus in **(A)** Blaulicht-Epi-Illumination und **(B)** Grünlicht-Epi-Illumination. **(A)** Zeigt ein Untersuchungsfeld im direkten Randbereich einer porcinen Prothese in 10-facher Vergrößerung (vergleiche Abb. 10: rotes 5. Quadrat) am 14. Untersuchungstag mit rot nachgezeichneten *sprouts* zur Bestimmung der funktionellen Kapillardichte. **(B)** Zeigt ein Untersuchungsfeld mit einer postkapillären Venole prothesennah in 20-facher Vergrößerung (vergleiche Abb. 10: gestricheltes rotes Quadrat) zur Messung der Mikrohämodynamik und Leukozyten-Endothel-Interaktion. Gelber Pfeil: mit Rhodamin 6G-markierter Leukozyt am Gefäßendothel. Roter Strich: Messstrecke zur Bestimmung des Gefäßdurchmessers. Eigenes Bildmaterial.

3.5.4 Blutzellgeschwindigkeit (v)

Die Blutzellgeschwindigkeit (v) wurde anhand der *Cap-Image*-assistierten *Line-Shift*-Diagramm-Methode errechnet und an den vier gleichen postkapillären Venolen erfasst, an denen auch die Gefäßdurchmesser zuvor bestimmt wurden. Dafür wurde im Videostandbild eine zentrale Messlinie in das Gefäßlumen zur Flussrichtung eingezeichnet und anschließend die DVD in Echtzeit zehn Sekunden lang abgespielt. In dieser Zeit wurden verschiedene Grauwertprofile aufgezeichnet und in einem separaten Bildspeicher hinterlegt. Aus diesen Grauwerten erstellte das *Cap-Image*-Programm das *Line-Shift*-Diagramm, welches aus schrägen Linien mit verschiedenen Grautönen bestand (Klyszcz et al., 1997). Dunkle schräge Linien im Bereich der Messlinie stellten die Erythrozyten-Bewegung im Kontrast zum hell angefärbten Blutplasma dar. Die hellen Linien bildeten sich aus Plasmalücken. Mindestens fünf der dunklen parallel verlaufenden schrägen Linien wurden markiert. Die Blutzellgeschwindigkeit in $\mu\text{m/s}$ errechnete sich aus dem Mittelwert der Steigungen dieser schrägen Linien.

3.5.5 Mikrovaskulärer Blutfluss (Q)

Volumen, welches innerhalb einer bestimmten Zeit durch ein Gefäß fließt, wird als mikrovaskulärer Volumenfluss (Q) bezeichnet. Generell weisen postkapilläre Venolen aufgrund der korpuskularen Blutbestandteile ein parabolisches Geschwindigkeitsprofil auf, sodass die Blutzellgeschwindigkeit im zentralen Blutstromgebiet der Venole höher als im Randbereich ist. Da wir die Blutzellgeschwindigkeit (v) nur im Gefäßzentrum gemessen haben, musste für die Berechnung des mikrovaskulären Blutflusses der Baker-Wayland-Proportionalitätsfaktor miteinbezogen werden (Baker & Wayland, 1974). Die Formel für den Volumenfluss Q setzte sich wie folgt zusammen:

$$Q = \pi * (d/2)^2 * v/1,6 \text{ [pl/s]}$$

Q = mikrovaskulärer volumetrischer Blutfluss; d = Gefäßdurchmesser;

v = Blutzellgeschwindigkeit; 1,6 = Baker-Wayland-Faktor

3.5.6 Scherrate (γ)

Die Diskrepanz zwischen gemessener Blutzellgeschwindigkeit im zentralen Blutstrom und der durchschnittlichen Blutzellgeschwindigkeit werden durch Reibungskräfte bedingt, die auch fördernd für das Gefäßwachstum sein können (Galie et al., 2014). Die Scherrate (γ) gilt als Maß für die Scherkräfte, die auf die Gefäßzellen einwirken und wurde auf der Basis der Newton'schen Definition ausgerechnet.

$$\gamma = 8 * v/d \text{ [s}^{-1}\text{]}$$

γ = Scherrate; v = Blutzellgeschwindigkeit; d = Gefäßdurchmesser

3.5.7 Leukozyten-Endothel-Interaktion

Die Einteilung in rollende und adhärente Leukozyten entsprach ihrem Bewegungsprofil am Gefäßendothel (Rücker et al., 2006).

Während frei fließende Leukozyten (Seite 35, Abb. 11, B) sich im Gefäßlumen mit dem Fluss des Blutstromes fortbewegten und sich nur kurzzeitig an das Gefäßendothel banden, kamen rollende Leukozyten mit einer Geschwindigkeit voran, die weniger als 2/5 der Blutzellgeschwindigkeit (v) an dem einen Referenzpunkt in der Venole gemessen wurden. Diese wurden in rollende Leukozyten/Minute (n/min) angegeben (Menger et al., 1992).

Adhärente Leukozyten bewegten sich während einer Beobachtungszeit von 20 Sekunden in einem 100 μm langen Abschnitt nicht fort. Das Ergebnis wurde in der Anzahl von Zellen pro mm^2 Endotheloberfläche angegeben (n/mm^2), wobei sich die Endotheloberfläche aus dem Gefäßdurchmesser (d) und der analysierten Venolenlänge mit der Voraussetzung berechnete, dass ein Blutgefäß eine zylindrische Form hat (Laschke et al., 2011).

$$\text{Leukozyten/mm}^2 = n/\pi * d * 100 * 10^{-6}$$

n = Anzahl von Leukozyten; d = Gefäßdurchmesser

3.6 Histologie und Immunhistochemie

Am 14. Implantationstag und nach der letzten intravitalmikroskopischen Untersuchung wurde das Rückenhautkammerngewebe einschließlich Implantat aus dem Kadaver herauspräpariert (Abb. 12, A). Dieses Präparat wurde dann in 4%iger Formaldehydlösung (Roth, Karlsruhe, Deutschland) eingelegt. Nach einer 24-stündigen Fixation im Formaldehyd-Bad wurden die herauspräparierten Gewebe für die histologischen sowie immunhistochemischen Untersuchungen aufbereitet. Hierzu wurden die Präparate in Paraffin eingebettet und 3 µm dicke Serienquerschnitte hergestellt. Die Auswertungen der histologischen und immunhistochemischen Präparate wurden im Hell- und Dunkelfeld betrachtet sowie an einem konventionellen Durchlichtmikroskop (BX 60 Olympus, Hamburg, Deutschland) in 20- sowie 40-facher Vergrößerung untersucht. Die Analyse der Gewebeschnitte fand anhand eines unserer Arbeitsgruppe vorher festgelegten Mikroskopier-Schemas statt (Abb. 12, B).

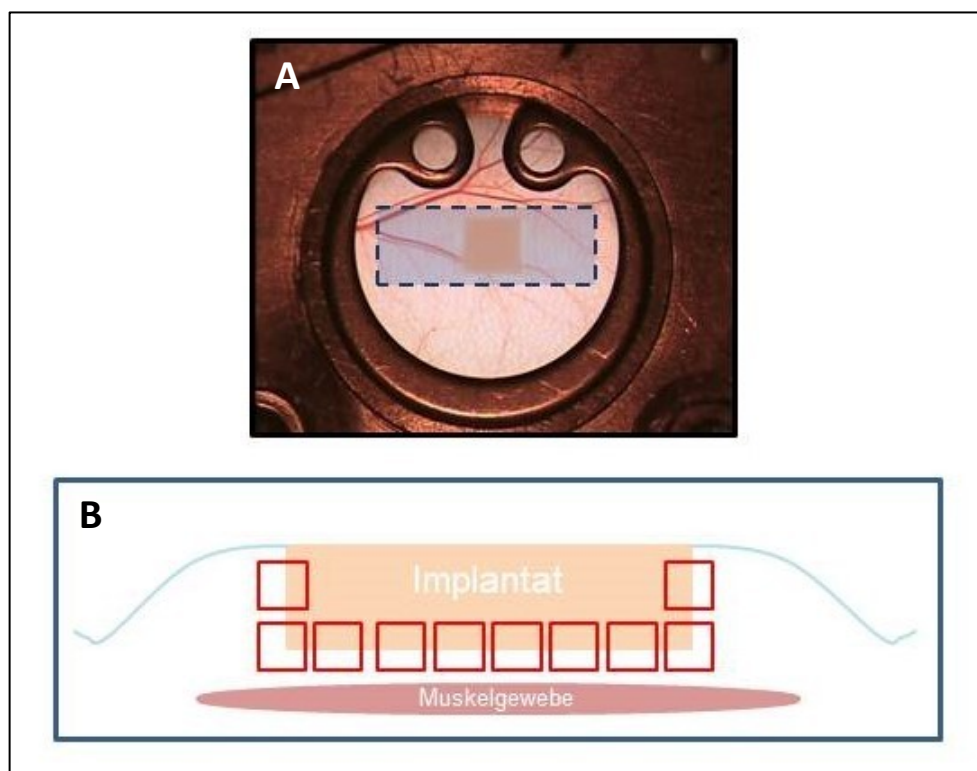


Abb. 12: (A) Gekennzeichnetes Areal (gestricheltes blaues Rechteck) mit Implantat und Rückenhautkammerngewebe, welches post mortem herauspräpariert wurde. (B) Schematische Darstellung eines Präparats im Querschnitt mit festgelegtem Mikroskopier-Schema: die zehn roten Quadrate um das Gefäßprothesenimplantat zeigen die Hauptgesichts-Analysefelder (*high-power field* [HPF]) zur Schnittanalyse. Eigene Darstellung und Bildmaterial.

3.6.1 Konventionelle Histologie

Zunächst wurden zur ersten Orientierung alle Präparate mit der Standard-Übersichtsfärbung Hämatoxylin-Eosin (HE) gefärbt. Da Hämatoxylin saure Strukturen blau und Eosin basische Strukturen rot anfärbt, konnten dadurch die Gefäßprothesenimplantate und das umliegende Gewebe sowie das neu gebildete Granulationsgewebe analysiert werden.

3.6.2 Immunhistochemie

Zur spezifischeren Beurteilung wurden immunhistochemische Querschnittspräparate hergestellt, um mithilfe der entstandenen Antigen-Antikörper-Komplex-Farbreaktionen die einzelnen Gewebestrukturen genauer zu untersuchen. Als immunhistologische Marker wurden Caspase-3 (*Cysteine-dependent Aspartate-specific Protease*), PCNA (*Proliferating Cell Nuclear Antigen*), MPO (Myeloperoxidase) sowie CD-31 (*Cluster of Differentiation*) verwendet. Jedes Präparat (Seite 38, Abb. 12, B) mit dem jeweiligen Marker wurde in den Hauptgesichts-Analysefeldern (high-power field [HPF]) in 20- und 40-facher Vergrößerung ausgewertet.

Die Caspase-3 immunhistochemischen Schnitte dienten zum spezifischen Nachweis von apoptotischen Zellen im Gewebe. Als Primärantikörper wurden für die Präparate zunächst polyklonale Kaninchen-Antikörper, dem anti-casp 3 (1:100, New England Biolabs, Frankfurt, Deutschland), verwendet. Dieser identifiziert die aktive *cleaved* Caspase-3 in der Maus. Als Sekundärantikörper wurde ein mit Biotin konjugierter Ziege-anti-Kaninchen-Antikörper (abcam; Cambridge, Großbritannien) eingesetzt, der sich mit dem Kaninchen-Antikörper verbindet.

Zum spezifischen Nachweis einer PCNA-abhängigen Zellproliferation hauptsächlich in der späten G1- und S-Phase wurde als Primärantikörper ein monoklonaler Maus-anti-PCNA-Antikörper (1:100, Dako GmbH, Hamburg, Deutschland) benutzt. Um die PCNA-positiven Zellen sichtbar zu machen, wurde als Sekundärantikörper ein Ziege-anti-Maus-Antikörper, der mit Streptavidin- oder Meerrettich-Peroxidase konjugiert wurde, angewendet. 3,3'-Diaminobenzidin (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, Vereinigte Staaten) wurde als Chromogen verwendet. Sowohl die Caspase-3 als auch die PCNA-Gewebeschnitte wurden nach Mayer mit Hämalun (Merck KGaA, Darmstadt, Deutschland) gegengefärbt. Dadurch konnten die PCNA-positiven Zellen in den zehn HPFs (Seite 38, Abb. 12, B) in 40-facher lichtmikroskopischer Vergrößerung gezählt und diese als Prozent der absoluten Zellzahl eines HPF angegeben werden.

Zum immunhistochemischen Nachweis von MPO-positiven neutrophilen Granulozyten und Monozyten wurde auch hier die indirekte Avidin-Biotin-Komplex-Färbung angewendet. Als Primärantikörper diente ein polyklonaler Kaninchen-anti-MPO-Antikörper (1:100; Abcam, Cambridge, Großbritannien). Die MPO-positiven Zellen wurden in den vier Gesichtsfeldern im Implantatbereich bei 40-facher lichtmikroskopischer Vergrößerung ausgezählt und diese pro Fläche in mm² angegeben.

Für die Identifikation von CD-31-positiven Gefäßen wurden die Gewebeschnitte mit einem monoklonalen Ratten-anti-Maus-Antikörper (1:30; Dianova GmbH, Hamburg, Deutschland) gegen CD-31 bebrütet. Um Endothelzellen-Adhäsionen sichtbar zu machen, wurde als Sekundärantikörper ein Ziege-anti-Ratten-Cy3 (Cyanine Dyes) -Antikörper (1:50; Dianova GmbH, Hamburg, Deutschland) eingesetzt und die Zellkerne mit Hoechst (1:500; Sigma-Aldrich) abgebildet. Die im Dunkelfeldmikroskop rotleuchtenden positiven Gefäße wurden in 20-facher Vergrößerung in sieben HPFs gezählt und das Ergebnis mit der Fläche des jeweiligen Ausschnitts ins Verhältnis gesetzt (Gefäßdichte als mm² pro Bildausschnitt).

3.7 Versuchsprotokoll

3.7.1 Versuchsgruppen

Für die Durchführung der Versuche wurden vierundzwanzig C57BL/6-Mäuse (Charles River Laboratories GmbH, Sulzfeld, Deutschland) mit jeweils einer Rückenhautkammer präpariert und anschließend in drei Gruppen eingeteilt:

1. Gruppe Schweineperikard: Vascutek Porcine Pericardial Patch (n=8)
2. Gruppe Rinderperikard: XenoSure® Biologic Patch (n=8)
3. Gruppe PTFE: Gore-Tex® Stretch Vascular Graft (n=8)

3.7.2 Versuchsablauf

Zunächst wurde die RHK der Maus präpariert (Tag -2) und nach einer Erholungsphase von 48 Stunden die zugeschnittenen Gefäßprothesen implantiert.

Am Tag der Implantation (Tag 0) sowie an den Tagen 3, 6, 10 und 14 erfolgten die intravitalen fluoreszenzmikroskopischen (IVM) Untersuchungen. Diese wurden aufgezeichnet und gespeichert, um sie später auf Neoangiogenese, mikrohämodynamische Parameter und Leukozyten-Endothel-Interaktion auswerten zu können.

Am 14. Implantationstag und der damit letzten intravitalmikroskopischen Untersuchung wurden die analgosedierten Mäuse per cervicaler Dislokation tierschutzgerecht geopfert. Danach wurde das Implantat mit dem umliegenden Gewebe herauspräpariert, um sie histologisch und immunhistologisch zu untersuchen (Seite 42, Abb. 13).

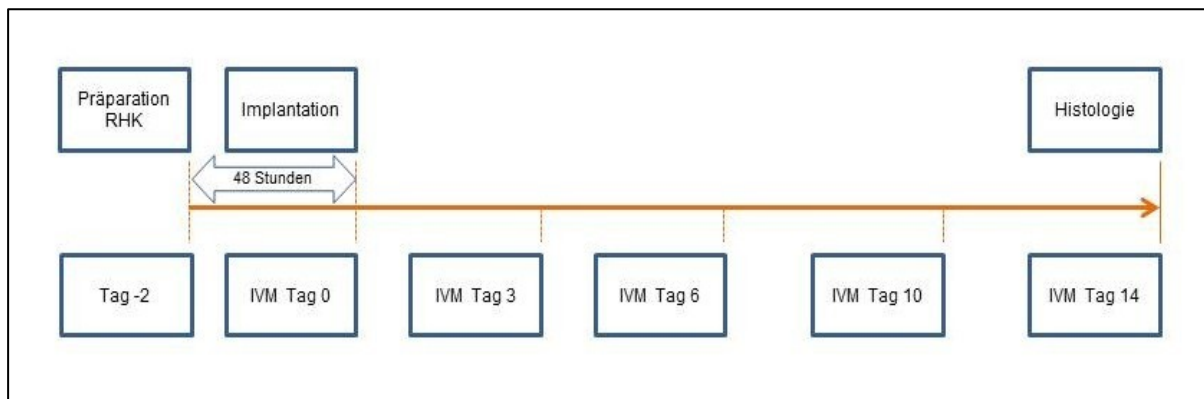


Abb. 13: Die schematische Darstellung des Versuchsablaufs zeigt den Zeitpunkt der Präparation der RHK, die Gefäßprothesen-Implantation nach 48 Stunden und die darauffolgenden intravitalmikroskopischen Untersuchungen (IVM) an Tag 0, 3, 6, 10, 14 sowie die Explantation zur histologischen Präparat-Herstellung an Tag 14. Eigene Darstellung. RHK, Rückenhautkammer.

3.8 Statistik

Für die Auswertung der Ergebnisse wurden sämtliche Daten auf Normalverteilung und Varianz kontrolliert. Mit einer *analysis of variance*, dem einfachen ANOVA-Test (SigmaStat; Jandel Corporation, San Rafael, Kalifornien, Vereinigte Staaten), wurden die Unterschiede zwischen den Gruppen überprüft. Sämtliche Werte wurden als Mittelwert $\pm$ Standardfehler des Mittelwertes (*Standard Error of the Mean* [SEM]) angegeben. Bei einem p-Wert ab $< 0,05$ lag eine statistische Signifikanz vor. Die statistische Analyse wurde unter Verwendung des statistischen Softwarepakets SPSS (Version 26; IBM, Armonk, New York, Vereinigte Staaten) durchgeführt.

4. Ergebnisse

4.1 Periprothetische Vaskularisation

An den Untersuchungstagen 0, 3, 6, 10, und 14 wurde die Vaskularisation der implantierten Gefäßprothesen in der RHK einer C57BL/6 Maus mittels intravitaler Fluoreszenzmikroskopie (Seite 44, Abb. 14) in vivo aufgezeichnet sowie mit dem Bildanalyseprogramm *Cap-Image* (Dr. Zeintl, Heidelberg, Deutschland) zur funktionellen Kapillardichtemessung analysiert. Die IVM-Untersuchungen ergaben, dass die Gefäßprothesen drei Tage nach der Implantation eine angiogenetisch wirksame Reaktion im Empfängergewebe durch Bildung von Gefäßaussprossungen, den sogenannten *sprouts*, bewirkten. Diese neu gebildeten *sprouts* entsprangen aus den Venolen und Kapillaren am Prothesenrand und in der unmittelbaren Prothesenumgebung. Während unserer zweiwöchigen Untersuchung konnte eine stetige Zunahme von *sprouts* in allen Versuchsgruppen nachgewiesen werden, die sich als Netzwerk aus den neu gebildeten Gefäßen im Granulationsgewebe formierten. Gemessen wurden diese mikrovaskulären Netzwerke als funktionelle Kapillardichte in cm/cm^2 . Innerhalb der Prothesen konnte bei keiner Versuchsgruppe eine Vaskularisation nachgewiesen werden.

Zur mikroskopischen Beurteilung der periprothetischen Vaskularisation wurde zusätzlich eine immunhistochemische Untersuchung mit CD-31 als Marker für Neoangiogenese im Dunkelfeldmikroskop durchgeführt und ausgewertet.

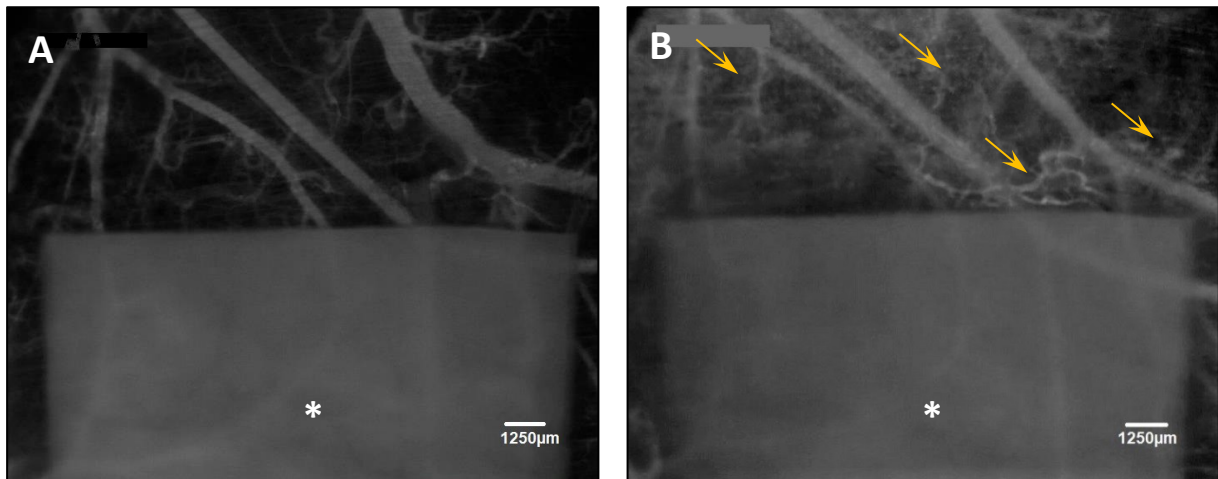


Abb. 14: IVM-Übersichtsaufnahmen im Videostandbildmodus einer porcinen Gefäßprothese in 5-facher Vergrößerung in Blaulicht-Epi-Illumination mit 5 % FITC-markiertem Dextran zum Vergleich am Tag der Implantation (Tag 0). **(A)** und am letzten Untersuchungstag **(B)**. Gelbe Pfeile in **B**: Am 14. Implantationstag ist eine Neubildung von Gefäßnetzwerken (*sprouts*) im Granulationsgewebe im gesamten Randbereich der Prothese zu erkennen. Eigenes Bildmaterial. FITC, Fluoreszin-Isothiocyanat; IVM, Intravitalmikroskop

4.1.1 Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard

Insgesamt neigten die Rinderperikard-Patches zu einer besseren Angiogenese und Vaskularisation als Schweineperikard-Patches. Wenngleich der Unterschied nicht signifikant war, zeigten Rinderperikard Patches ab dem 10. Implantationstag einen höheren Anstieg der funktionellen Kapillardichte in der Prothesenrandzone (Seite 45, Abb. 15 A, B und Seite 47, Abb. 17, A). In der immunhistochemischen Untersuchung mittels CD-31-Färbung (Seite 45, Abb. 15 C, D und Seite 47, Abb. 17, B) konnte eine signifikant höhere Mikrogefäßdichte im Granulationsgewebe an den Prothesenrändern der Rinderperikard-Patches im Vergleich zum Schweineperikard nachgewiesen werden ($23,3 \pm 4,3 \text{ mm}^2$ gegenüber $16,5 \pm 5,8 \text{ mm}^2$; $p < 0,001$).

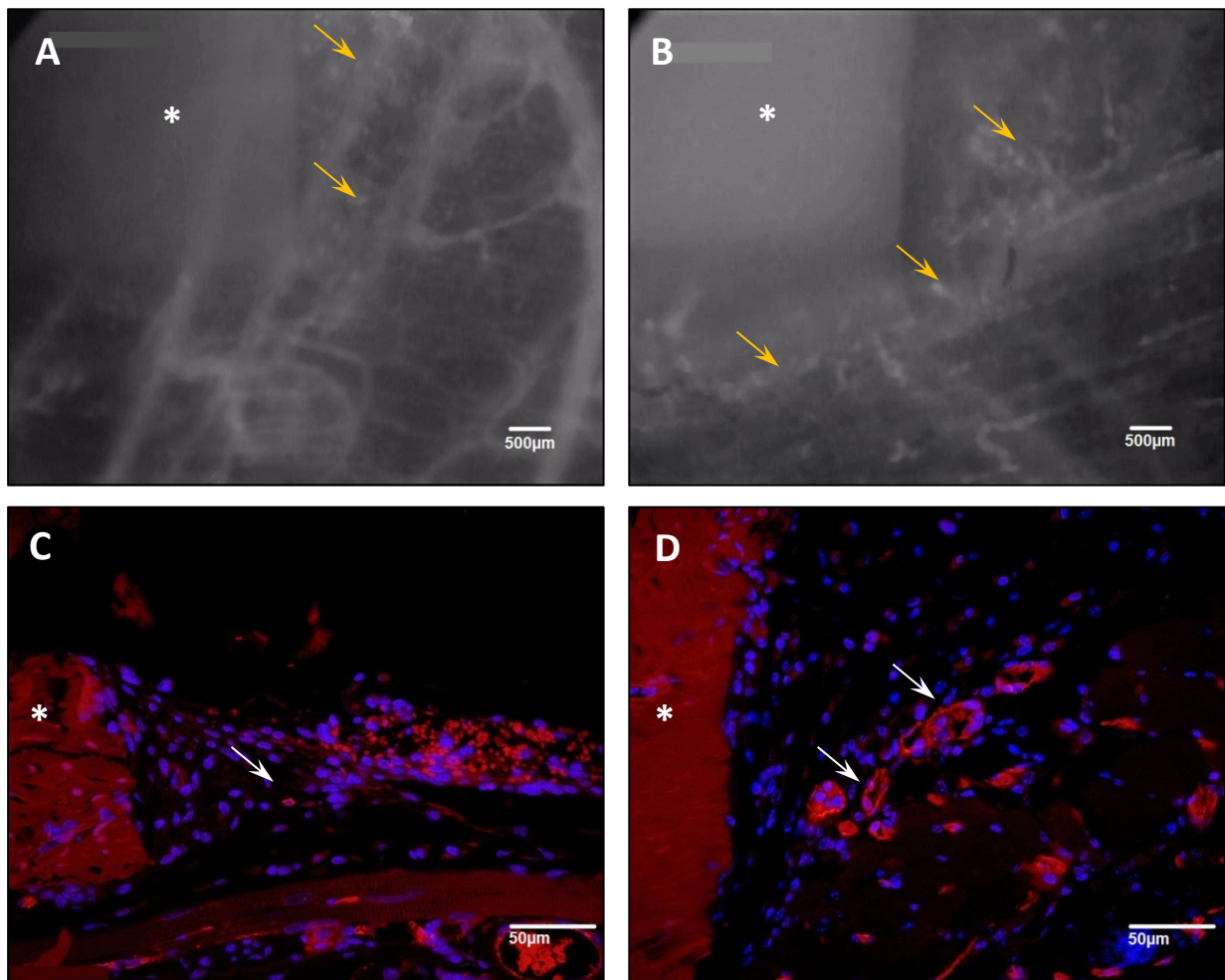


Abb. 15: IVM-Aufnahmen im Videostandbildmodus von einer porcinen (**A**) und bovinen (**B**) Patch-Prothese unter Blaulicht-Epi-Illumination unter Kontrastmittelverstärkung mit 5% FITC-markiertem Dextran 14 Tage nach der Implantation. Gelbe Pfeile markieren neu gebildete *sprouts* im Randbereich der Prothesen. **C** und **D**: Immunhistochemische Untersuchung der Neoangiogenese im Dunkelfeldmikroskop in 40-facher Vergrößerung am Prothesenrand von einer porcinen (**C**) und bovinen (**D**) Patch-Prothese mittels CD-31-Marker zur Darstellung von Zellkernen (blau) und Mikrogefäßen (rot). Im Vergleich konnte eine signifikant höhere Dichte von Mikrogefäßen (weiße Pfeile) in der bovinen Gruppe (**D**) dargestellt werden. Eigenes Bildmaterial. CD-31, *Cluster of Differentiation*; FITC, Fluoreszin-Isothiocyanat.

4.1.2 Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE

Als kunststoffhaltiges Material konnte auch ePTFE eine angiogenetische Reaktion in der RHK ab dem dritten Tag nach Implantation induzieren. Ab dem zehnten Tag der IVM-Untersuchung zeigte ePTFE im Gegensatz zu Schweineperikard eine signifikant erhöhte funktionelle Kapillardichte, ab dem 14. Tag (Seite 46, Abb. 16 A, B und Seite 47, Abb. 17, A) auch zu

Rinderperikard (Tag 10: $16,5 \pm 1,2 \text{ cm/cm}^2$ gegenüber $11,9 \pm 3,6 \text{ cm/cm}^2$, $p = 0,005$; Tag 14: $38,7 \pm 9 \text{ cm/cm}^2$ gegenüber $14,7 \pm 4,5 \text{ cm/cm}^2$ und $16 \pm 5 \text{ cm/cm}^2$, $p = 0,0001$). Immunhistochemisch (Abb. 16 C, D und Seite 47, Abb. 17, B) konnten in der Rinderperikard-Gruppe verglichen zu ePTFE signifikant vermehrt CD-31-positive Gefäße am Prothesenrand nachgewiesen werden ($23,3 \pm 4,3 \text{ mm}^2$ gegenüber $16,5 \pm 5,8 \text{ mm}^2$; $p < 0,001$).

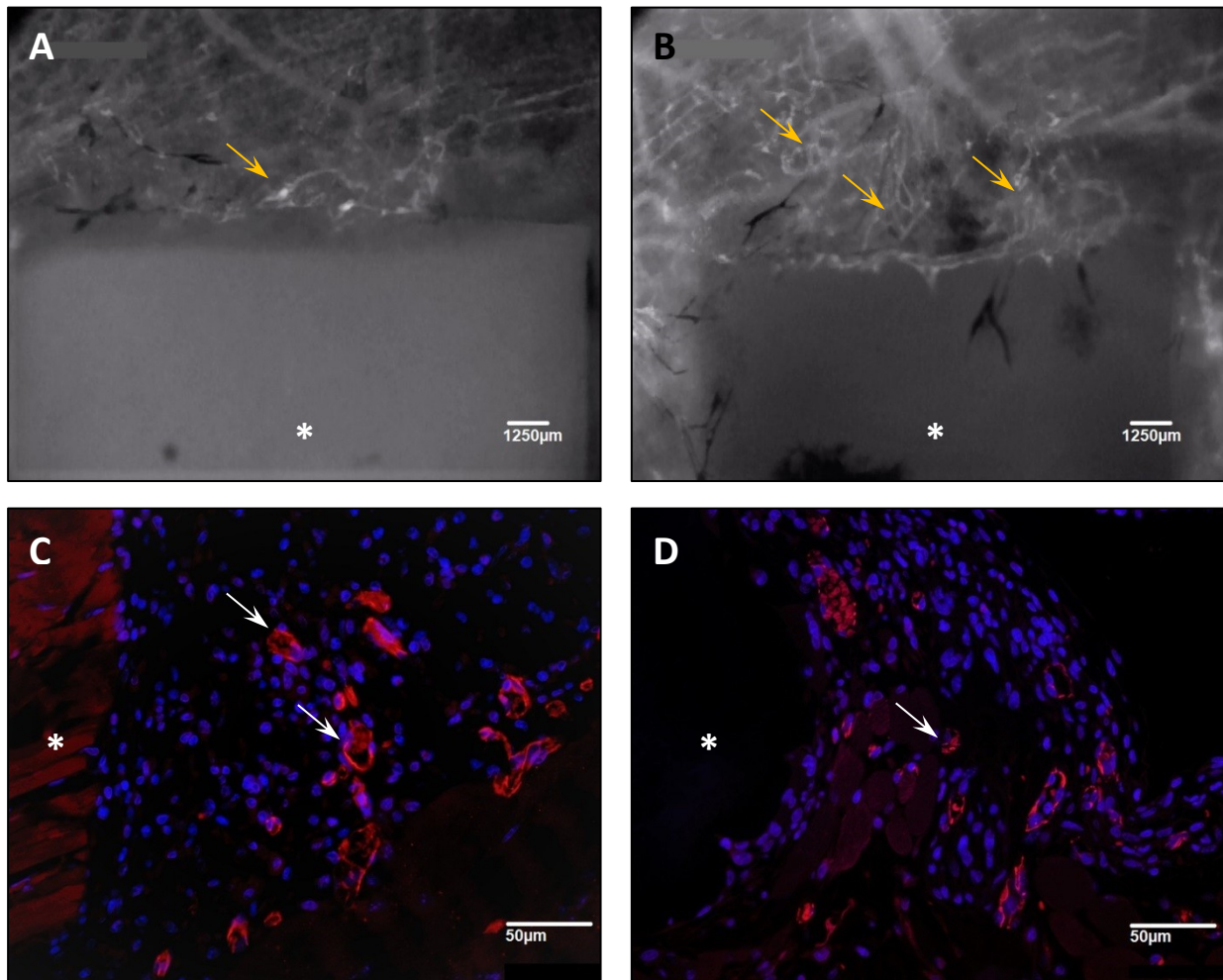


Abb. 16: IVM-Übersichtsaufnahmen im Videostandbildmodus einer bovinen (A) und ePTFE-Gefäßprothese (B) unter Blaulicht-Epi-Illumination mit 5% FITC-markiertem Dextran am 14. Implantationstag. An den Randzonen der ePTFE-Prothese (B) ist im Vergleich zu Rinderperikard (A) eine signifikant höhere Dichte mit neu gebildeten *sprouts* (gelbe Pfeile) sichtbar. C und D zeigen einen immunhistochemischen Nachweis der Neoangiogenese im Dunkelfeldmikroskop in 40-facher Vergrößerung am Prothesenrand vom bovinen Patch (C) und ePTFE-Prothese (D) mittels CD-31-Marker zur Darstellung von Zellkernen (blau) und Mikrogefäßen (rot). Im Vergleich konnte eine signifikant höhere Dichte von Mikrogefäßen (weiße Pfeile) in der bovinen Gruppe (C) dargestellt werden. Eigenes Bildmaterial. CD-31, *Cluster of Differentiation*; ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; FITC, Fluoreszindoisothiocyanat, IVM, Intravitalmikroskop.

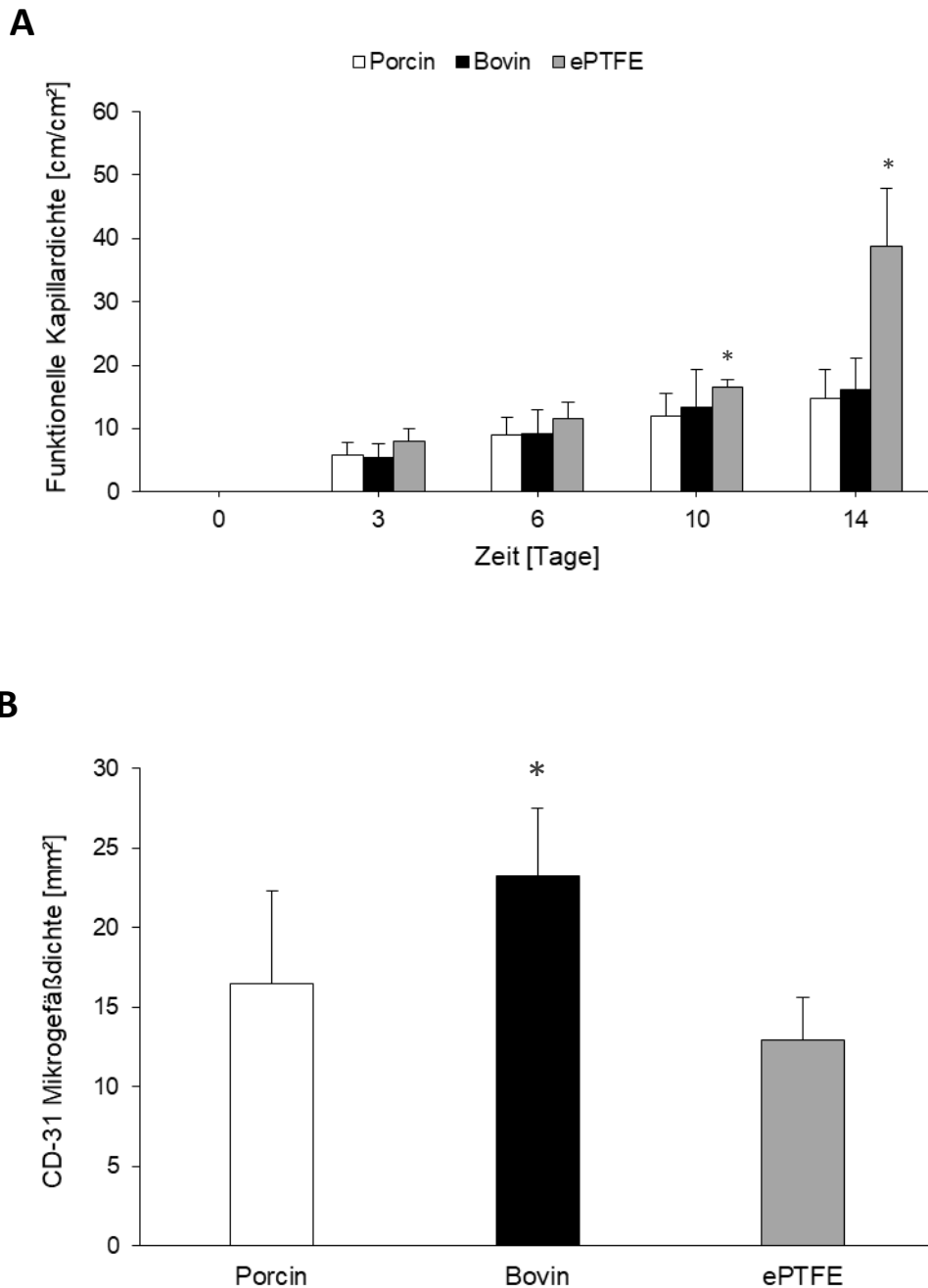


Abb. 17: **A** zeigt ein Balkendiagramm aus der *Cap-Image*-gestützten Auswertung zur funktionellen Kapillardichte (cm/cm^2) in allen drei Versuchsgruppen an den Untersuchungstagen 0, 3, 6, 10, und 14. Ein Anstieg der funktionellen Kapillardichte ist in allen drei Gruppen zu erkennen. Insgesamt zeigt ePTFE eine höhere funktionelle Kapillardichte als die xenogenen Patches: ab dem 10. Tag eine signifikant höher gegenüber der porcinen Gruppe und ab dem 14. Tag gegenüber beiden xenogenen Gruppen. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. * $p < 0,05$ vs. Porcin an Tag 10 sowie Porcin und Bovin an Tag 14. **B** zeigt ein Balkendiagramm nach immunhistochemischer Auswertung der CD-31-positiven Mikrogefäße. Im Vergleich zur porcinen und ePTFE-Gruppe konnte eine signifikant höhere Dichte von Mikrogefäßen (mm^2) in der bovinen Gruppe nachgewiesen werden. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. * $p < 0,05$ vs. Porcin und ePTFE. Eigene Darstellung. CD-31, *Cluster of Differentiation*; ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; SEM, Standardfehler des Mittelwertes.

4.2 Mikrohämodynamik der postkapillären Venolen

Um das charakteristische Einwachsverhalten von den implantierten Gefäßprothesen innerhalb der Versuchsgruppen undifferenziert miteinander vergleichen zu können, wurden die mikrohämodynamischen Parameter (Tab. 1) der postkapillären Venolen und Sammelvenolen bestimmt. Hierzu wurden bei jedem Versuchstier jeweils die vier gleichen Venolen an Tag 0, 3, 6, 10 und 14 nach Implantation mittels IVM aufgesucht, die sich in unmittelbarer Nähe der Prothese befanden (Seite 34, Abb. 10). Mithilfe des Bildanalyseprogramms *Cap-Image* (Dr. Zeintl, Heidelberg, Deutschland) konnten Gefäßdurchmesser (d) und Blutzellgeschwindigkeit (v) in den aufgezeichneten Venolen gemessen werden. Unter Verwendung von beiden Parametern und den dazugehörigen Formeln wurden zusätzlich volumetrischer Blutfluss (Q) und Scherrate (γ) ausgerechnet (siehe Seiten 36 und 37).

	Tag 0	Tag 3	Tag 6	Tag 10	Tag 14
Gefäßdurchmesser (μm)					
Porcin	22,3 $\pm$ 1,1	19,7 $\pm$ 1,1	20,8 $\pm$ 1,0	21,3 $\pm$ 1,0	21,5 $\pm$ 1,3
Bovin	23,2 $\pm$ 1,2	20,1 $\pm$ 1,2	22,5 $\pm$ 0,9	23,7 $\pm$ 1,6	22,8 $\pm$ 1,5
ePTFE	24,8 $\pm$ 1,5	22,0 $\pm$ 1,1	20,8 $\pm$ 1,2	22,9 $\pm$ 0,9	24,3 $\pm$ 0,6
Blutzellgeschwindigkeit ($\mu\text{m/s}$)					
Porcin	234,9 $\pm$ 24,8	363,6 $\pm$ 52,4	408,4 $\pm$ 35,8	388,5 $\pm$ 32,6	394,1 $\pm$ 27,6
Bovin	299,8 $\pm$ 55,0	418,7 $\pm$ 69,6	375,1 $\pm$ 45,7	295,5 $\pm$ 38,1	426,2 $\pm$ 38,7
ePTFE	301,6 $\pm$ 39,8	487,3 $\pm$ 108,9	464,3 $\pm$ 75,6	419,6 $\pm$ 67,0	546,1 $\pm$ 81,1
Volumetrischer Blutfluss (pL/s)					
Porcin	62,3 $\pm$ 9,8	75,3 $\pm$ 13,1	92,7 $\pm$ 14,9	84,0 $\pm$ 13,0	88,4 $\pm$ 8,0
Bovin	80,4 $\pm$ 19,7	83,7 $\pm$ 21,1	99,6 $\pm$ 24,7	66,3 $\pm$ 12,7	123,3 $\pm$ 27,0
ePTFE	103,5 $\pm$ 22,1	124,6 $\pm$ 39,9	112,5 $\pm$ 28,5	131,3 $\pm$ 40,6	153,9 $\pm$ 26,8
Scherrate (s^{-1})					
Porcin	84,8 $\pm$ 8,8	148,5 $\pm$ 20,7	161,5 $\pm$ 15,6	150,5 $\pm$ 23,1	152,4 $\pm$ 25,1
Bovin	113,1 $\pm$ 23,1	185,8 $\pm$ 33,7	125,6 $\pm$ 21,3	109,0 $\pm$ 18,0	153,8 $\pm$ 18,0
ePTFE	98,4 $\pm$ 12,4	169,5 $\pm$ 34,8	176,5 $\pm$ 22,9	139,0 $\pm$ 19,6	180,2 $\pm$ 24,5

Tab. 1: Übersicht von Gefäßdurchmesser (μm), Blutzellgeschwindigkeit ($\mu\text{m/s}$), volumetrischem Blutfluss (pL/s) und Scherrate (s^{-1}) der benachbarten postkapillären Venolen der porcinen (n=8), bovinen (n=8) und ePTFE (n=8) Gefäßprothesen an den IVM-Untersuchungstagen 0, 3, 6, 10, und 14. In der Auswertung gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den drei Versuchsgruppen. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. Eigene Darstellung. ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; IVM, Intravitalmikroskop; SEM, Standardfehler des Mittelwertes.

4.2.1 Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard

Ohne signifikante Unterschiede innerhalb der beiden Versuchsgruppen wurden Werte von Gefäßdurchmessern zwischen 20 und 24 μm sowie Blutzellgeschwindigkeiten zwischen 235 und 426 $\mu\text{m/s}$ gemessen. Ab dem dritten Tag nach der Implantation konnte eine geringfügige Abnahme des Gefäßdurchmessers in der porcinen und bovinen Gruppe mit gleichzeitigem minimalem Anstieg der Blutzellgeschwindigkeit beobachtet werden. Im Untersuchungsverlauf stiegen bei allen Gruppen Gefäßdurchmesser annähernd zum Ausgangswert wieder an. Der volumetrische Blutfluss betrug zwischen 62 und 123 pL/s , die Scherrate lag zwischen 85 und 124 s^{-1} . Beide Werte stiegen ohne signifikante Unterschiede zwischen den beiden Versuchsgruppen im Verlauf um ein Geringes an. Durch die ähnlichen mikrohämodynamischen Bedingungen in beiden Versuchsgruppen, war es möglich die Leukozyten-Endothel-Reaktion in den postkapillären Venolen weiter zu untersuchen. Dies ist für die Beurteilung einer Entzündungsreaktion in den Versuchstieren auf die Gefäßprothese von Bedeutung.

4.2.2 Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE

In Bezug auf Gefäßdurchmesser (20–25 μm), Blutzellgeschwindigkeit (60–546 $\mu\text{m/s}$), volumetrischem Blutfluss (66–154 pL/s) und Scherrate (109–180 s^{-1}) gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Auch hier war es möglich aufgrund der vergleichbaren mikrohämodynamischen Parameter eine Analyse der Leukozyten-Endothel-Reaktion auf das Empfängergewebe durchzuführen.

4.3 Leukozyten-Endothel-Interaktion der postkapillären Venolen

Während des Untersuchungszeitraumes wurden Messungen von adhärenenten und rollenden Leukozyten in den postkapillären Venolen (Seite 34, Abb. 10 und Abb. 18) mittels IVM durchgeführt und mit den mikrohämodynamischen Parametern sowie dem Bildanalyseprogramm *Cap-Image* (Dr. Zeintl, Heidelberg, Deutschland) ausgewertet. Insgesamt sieht man in allen drei Gruppen in der Beobachtungszeit eine geringe Abnahme der adhärenenten Leukozyten, während die Anzahl der rollenden Leukozyten nahezu konstant bleibt (Seite 52, Abb. 19).

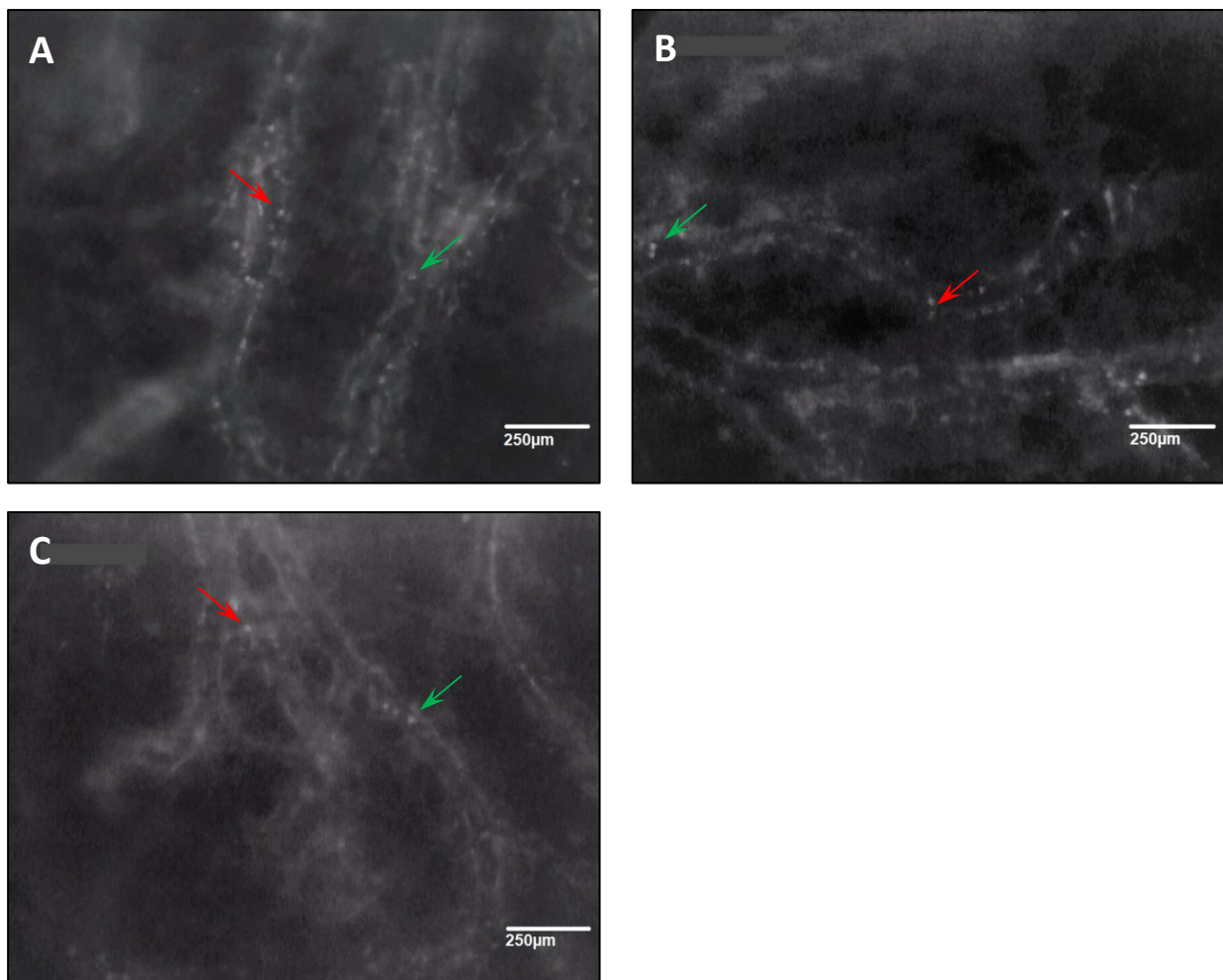


Abb. 18: IVM-Aufnahmen im Videomodus/Bildschirmfoto in 20-facher Vergrößerung zeigen am 3. Tag nach Implantation unter Grünlicht-Epi-Illumination mit Rhodamin 6G markierte rollende (grüne Pfeile) und adhärenente (rote Pfeile) Leukozyten in den periprothetischen postkapillären Venolen der porcinen (A), bovinen (B) und ePTFE (C) Versuchsgruppe. Eigenes Bildmaterial. ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; IVM, Intravitalmikroskop.

4.3.1 Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard

Weder bei den adhärenenten Leukozyten noch bei den rollenden Leukozyten konnte in der Auswertung (Seite 52, Abb. 19) ein signifikanter Unterschied zwischen beiden xenogenen Gruppen nachgewiesen werden. Folglich deuten die Ergebnisse auf eine nicht-inflammatorische Gewebereaktion auf die Prothesenimplantate mit einer physiologischen Leukozyten-Endothel-Wechselwirkung hin (Rücker et al., 2006).

Die ergänzende immunhistochemische Untersuchung mit MPO-Markern (Seite 53, Abb. 20 A, B, D) zum spezifischen Nachweis einer Entzündungsreaktion ergab auch hier keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen in der Anzahl der MPO-positiven neutrophilen Granulozyten.

4.3.2 Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE

Zwischen den Gruppen gab es bei der Anzahl der rollenden Leukozyten keinen signifikanten Unterschied. Am 14. Tag nach der Implantation war die Anzahl der gemessenen adhärenenten Leukozyten jedoch in der ePTFE-Gruppe im Vergleich zu Schweine- und Rinderperikard signifikant erhöht (Abb. 19, A). Daraus lässt sich schließen, dass im umliegenden Gewebe der ePTFE-Prothese eine deutlich stärkere Entzündungsreaktion und eine damit verbundene wirksamere Leukozyten-Aktivierung erfolgt ist ($314 \pm 19 \text{ mm}^{-2}$ gegenüber $168 \pm 90 \text{ mm}^{-2}$ und $89 \pm 69 \text{ mm}^{-2}$, $p < 0,05$).

In der immunhistochemischen Untersuchung mittels MPO-Färbung (Seite 53, Abb. 20) konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen nachgewiesen werden.

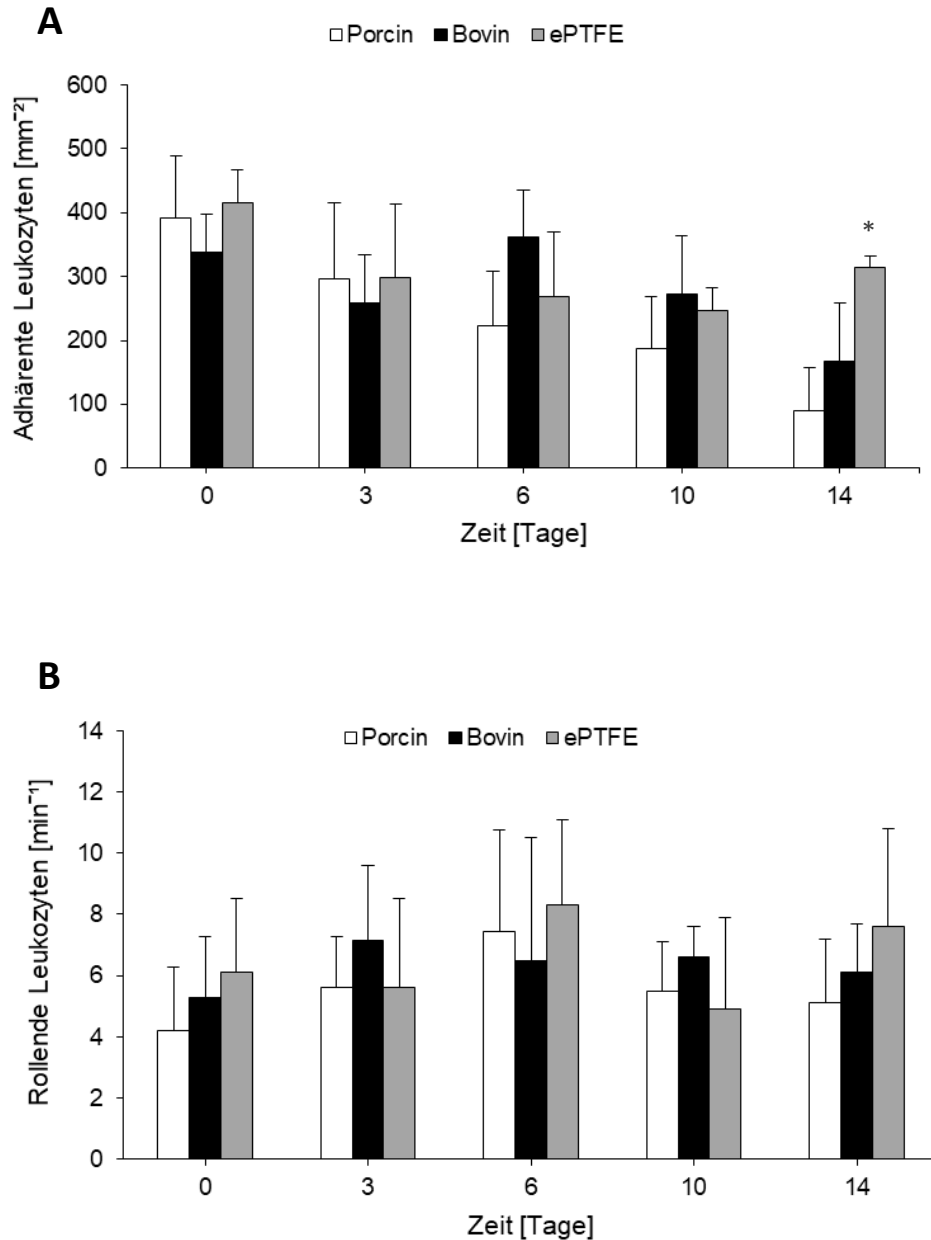


Abb. 19: Zeigen Balkendiagramme der *Cap-Image*-gestützten Auswertung in allen drei Versuchsgruppen an den Untersuchungstagen 0, 3, 6, 10, und 14. Die Balkendiagramme stellen die Anzahl der gezählten adhärennten (n/mm^2) (**A**) und rollenden Leukozyten (n/min) (**B**) in den postkapillären Venolen von den porcinen, bovinen und ePTFE-Gefäßimplantaten dar. **A:** Die Anzahl der adhärennten Leukozyten war in der ePTFE im Vergleich zur porcinen und bovinen Gruppe am 14. Implantationstag signifikant erhöht. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. * $p < 0,05$ vs. Porcin und Bovin

B: Innerhalb der drei Versuchsgruppen und den IVM-Untersuchungstagen gibt es im Vergleich keinen signifikanten Unterschied bei den gezählten rollenden Leukozyten. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. Eigene Darstellung. ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; SEM, Standardfehler des Mittelwertes; IVM, Intravitalmikroskop.

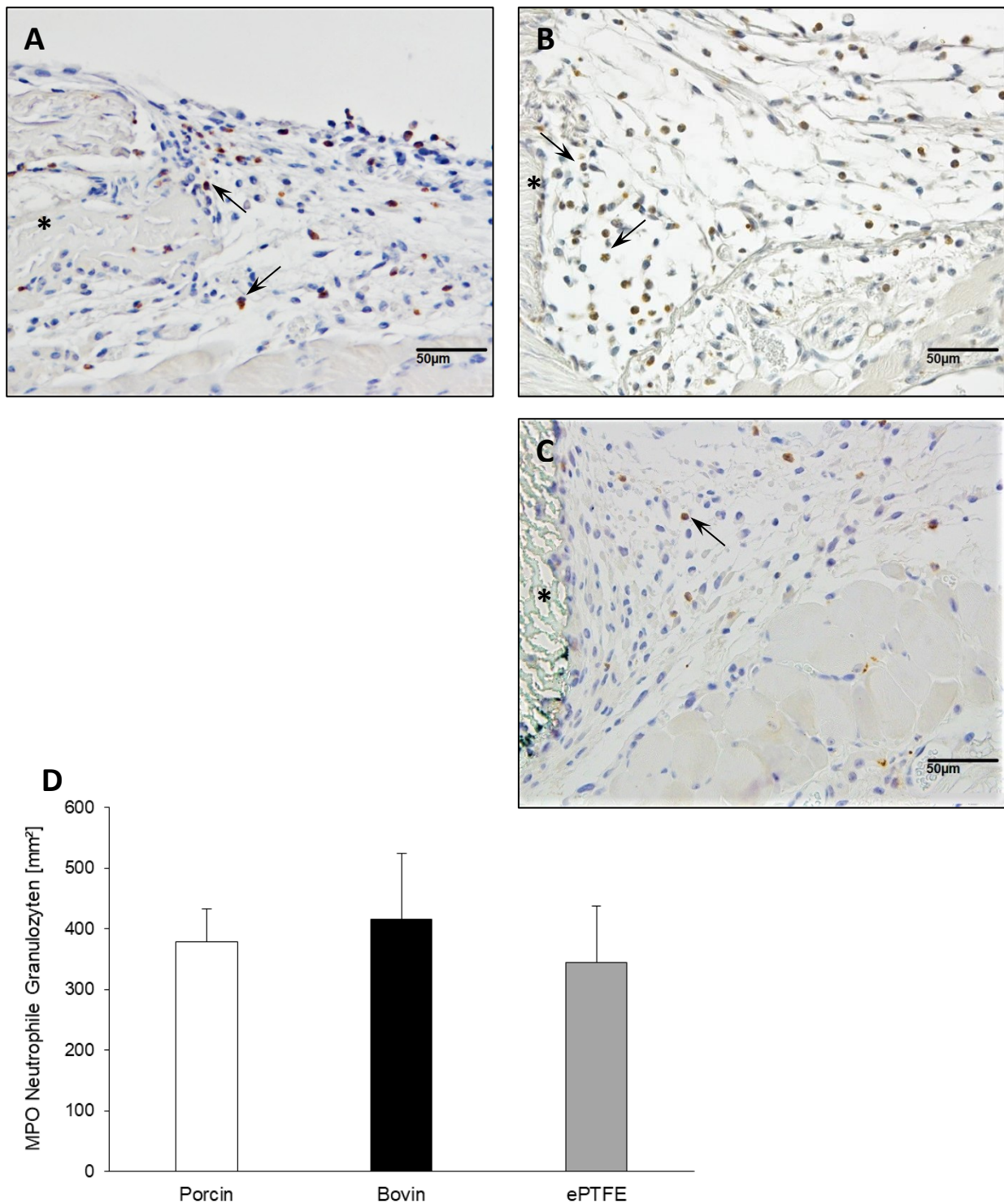


Abb. 20: A–C: Immunhistochemischer Nachweis von MPO-positiven Leukozyten (schwarze Pfeile) in den Randzonen der porcin (A), bovin (B) und ePTFE (C) Gefäßprothesen im Querschnitt des RHK-Gewebes 14 Tage nach Implantation. Balkendiagramm **D:** Auswertung der immunhistochemisch gezählten MPO-positiven Zellen (Zellzahl/mm²) in den Randzonen der porcin, bovin und ePTFE-Prothesen. Zwischen den Versuchsgruppen konnte kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. Eigene Darstellung und Bildmaterial. ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; SEM, Standardfehler des Mittelwertes; MPO, Myeloperoxidase, RHK, Rückenhautkammer.

4.4 Inkorporation der Prothesen

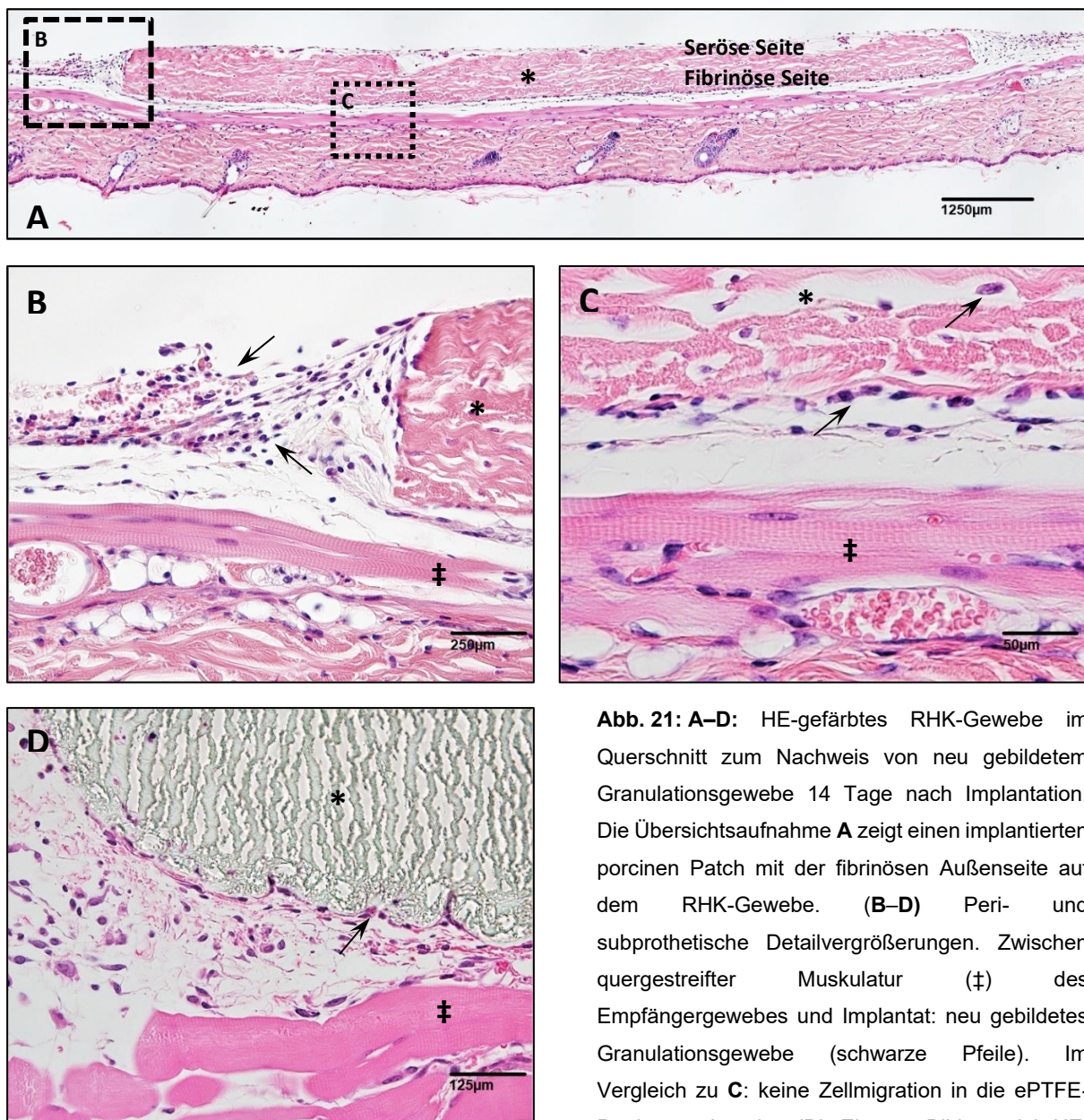


Abb. 21: A–D: HE-gefärbtes RHK-Gewebe im Querschnitt zum Nachweis von neu gebildetem Granulationsgewebe 14 Tage nach Implantation. Die Übersichtsaufnahme **A** zeigt einen implantierten porcinen Patch mit der fibrinösen Außenseite auf dem RHK-Gewebe. (**B–D**) Peri- und subprothetische Detailvergrößerungen. Zwischen quergestreifter Muskulatur (‡) des Empfängergewebes und Implantat: neu gebildetes Granulationsgewebe (schwarze Pfeile). Im Vergleich zu **C**: keine Zellmigration in die ePTFE-Prothese erkennbar (**D**). Eigenes Bildmaterial. HE, Hämatoxylin-Eosin; RHK, Rückenhautkammer; ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen

Zum Nachweis eines periprothetischen Granulationsgewebes 14 Tage nach Implantation wurden histologische Schnitte angefertigt (Abb. 21) und zur ersten Orientierung lichtmikroskopisch analysiert. Alle untersuchten Prothesen waren von einem neu gebildeten Granulationsgewebe umgeben. Im Gegensatz zu ePTFE wanderten Zellen aus dem vaskularisierten Granulationsgewebe von den porcinen und bovinen Patches auch in die

Zwischenräume der Gefäßprothesenfasern ein. Die Bildung von Granulationsgewebe und eine Zellmigration in das Implantat fördern die Inkorporation der Gefäßprothesen in das RHK-Gewebe.

4.5 Zellproliferation und Apoptose

Zum Nachweis von proliferierenden und apoptotischen Zellen wurden immunhistochemische Querschnittpräparate von der RHK 14 Tage nach Implantation angefertigt und untersucht. Als Proliferations-Marker wurden PCNA-positive Zellen und als Apoptose-Marker Caspase-3-positive Zellen gezählt und ausgewertet (Seite 56, Abb. 22 und Seite 57, Abb. 23).

4.5.1 Schweineperikard im Vergleich zu Rinderperikard

Die Analyse der immunhistochemischen Zellaktivität im periprothetischen Granulationsgewebe ergab ohne statistische Signifikanz eine höhere Anzahl von PCNA-positiven proliferierenden und Caspase-3-positiven apoptotischen Zellen in der Schweineperikard-Gruppe als in der Rinderperikard-Gruppe.

4.5.2 Schweine- und Rinderperikard im Vergleich zu ePTFE

Die Zellproliferation ist im Vergleich zu allen drei Gruppen nicht unterschiedlich. Jedoch wurden in der Schweineperikard-Gruppe wenngleich ohne Signifikanz deutlich mehr Zellproliferationsmarker gezählt als in der Rinderperikard- und ePTFE-Gruppe.

In der Auswertung konnten signifikant weniger Apoptose-Marker in der ePTFE-Gruppe als in der Schweine- und Rinderperikard-Gruppe gezählt werden ($0,43 \pm 0,9 \%$ gegenüber $1,97 \pm 1,6 \%$, $p < 0,001$; gegenüber $1,4 \pm 1,2 \%$, $p = 0,02$).

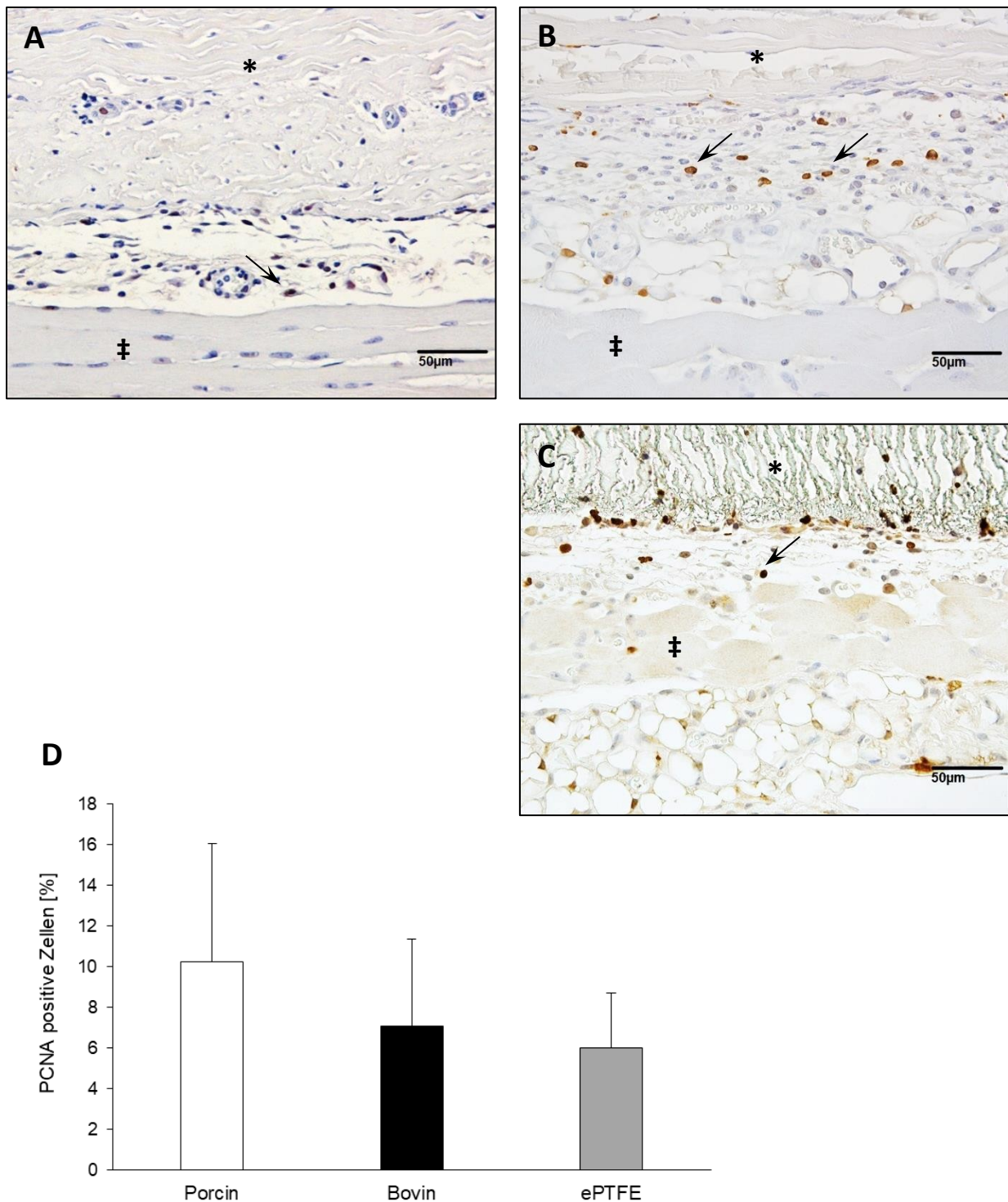


Abb. 22: A–C: Immunhistochemische Querschnittspräparate der RHK von PCNA-positiven Zellen (schwarze Pfeile) zum Nachweis von proliferierenden Zellen im periprosthetischen (hier subprosthetischer Ausschnitt) Granulationsgewebe 14 Tage nach Implantation zwischen porciner (A), boviner (B), ePTFE (C)-Prothese und Muskelgewebe (‡). Das Balkendiagramm (D) zeigt die immunhistochemisch gezählten PCNA-positiven Zellen in % im Vergleich zu den drei Versuchsgruppen. Zwischen den implantierten Prothesen gibt es keinen signifikanten Unterschied. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. Eigene Darstellung und Bildmaterial. ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen; SEM, Standardfehler des Mittelwertes; PCNA, *Proliferating Cell Nuclear Antigen*; RHK, Rückenhautkammer.

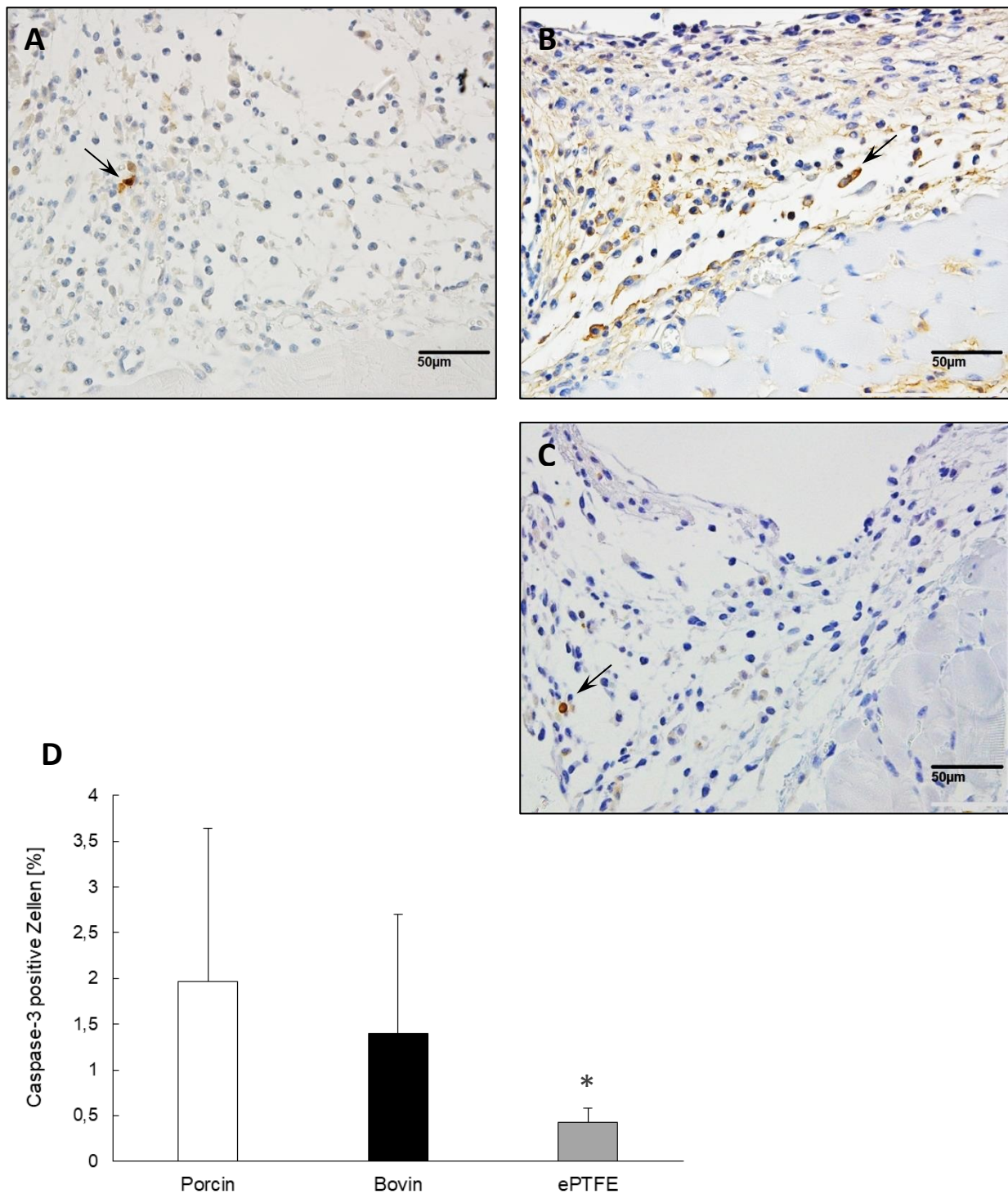


Abb. 23: A–C: Immunhistochemische Querschnittspräparate der RHK von Caspase-3-positiven Zellen (schwarze Pfeile) zum Nachweis von apoptotischen Zellen im periprothetischen Granulationsgewebe. Hier im Vergleich unmittelbar neben porciner (A), boviner (B) und ePTFE (C)-Prothese. Das Balkendiagramm (D) zeigt die mikroskopisch gezählten Caspase-3-positiven Zellen in % zwischen den Versuchsgruppen mit einer signifikant niedrigeren Anzahl von Caspase-3-positiven Zellen in der ePTFE-Gruppe gegenüber beiden xenogenen Patches. Alle Werte sind Mittelwerte $\pm$ SEM. * $p < 0,05$ vs. Porcin und Bovin. Eigene Darstellung und Bildmaterial. RHK, Rückenhautkammer; Caspase, *Cysteine-dependent Aspartate-specific Protease*; ePTFE, expandiertes Polytetrafluorethylen.

5. Diskussion

5.1 Intravitale Fluoreszenzmikroskopie am Rückenhautkammermodell der Maus

Das Rückenhautkammermodell (RHK) der Maus hat sich für unsere tierexperimentelle Forschungsarbeit zum Nachweis und Vergleich der Biokompatibilität von xenogenen Patches und ePTFE-Gefäßprothesen bewährt. Seit Jahren kommt diese In-vivo-Methode in experimentellen Studien erfolgreich zum Einsatz, da sie eine direkte und wiederholte Untersuchung von mikrozirkulatorischen Prozessen im Empfängergewebe in den ersten 14 Tagen nach der Implantation ermöglicht (Laschke et al., 2011). Nicht nur verschiedene Gefäßprothesen lassen sich anhand des RHK-Modells an Mäusen oder Syrischen Goldhamstern zu ihrer Vaskularisation untersuchen, sondern auch bestimmte medizinische Biomaterialien können mittels dieser In-vivo-Analyse zu einer Optimierung in ihrer medizinischen Anwendung beitragen (Menger et al., 1990; Ehrmantraut et al., 2012).

Durch die hohe Auswahl an *Knock-out*-Mausstämmen mit ihren spezifischen Antikörpern ist in den jeweiligen Versuchsgruppen eine ähnliche Voraussetzung gegeben, sodass die Ergebnisse der Neoangiogenese sowie einer frühen Entzündungsreaktion zuverlässig miteinander zu vergleichen sind. Bedingt der Schwerkraft ist jedoch der Untersuchungszeitraum auf zwei Wochen beschränkt. Nach Ablauf dieser Zeit nimmt durch das Titangestell der RHK die Hautelastizität der Maus zunehmend ab. Ein Abknicken der RHK im Verlauf kann zu einer Durchblutungsstörung im Gewebe und folglich zu einer gestörten intravitalmikroskopischen Untersuchung führen (Laschke et al., 2011). Der Titanrahmen selbst hat auf die Neoangiogenese nachweislich keinen Einfluss, jedoch kann es durch die Titanlegierung in den ersten Stunden nach der RHK-Präparation zur erhöhten Leukozyten-Endothel-Wechselwirkung kommen (Kraft et al., 2001; Rücker et al., 2006). Neben der Gefahr dieser leukozytären Reaktion, die den mikrohämodynamischen Prozess beeinflussen kann, und wegen des Operationstraumas wurden die Gefäßprothesen erst zwei Tage nach der RHK-Präparation implantiert.

Für unsere intravitalmikroskopischen Untersuchungen verwendeten wir die Epi-Illuminationstechnik (Menger & Lehr, 1993). Bei dieser Methode befinden sich Lichtquelle und das intravitale Fluoreszenzmikroskop auf der gleichen Seite, sodass lichtundurchlässige Strukturen im Empfängergewebe und das Implantat dennoch ausführlich analysiert werden konnten. Dabei war es wichtig, dass die intravitalmikroskopische Beobachtungszeit so gering wie möglich gehalten wurde, da durch zu häufige und lange Anwendung von fluoreszierenden

Farbstoffen in Zusammenhang mit der Epi-Illumination Sauerstoffradikale und Wärme freigesetzt werden konnten. Diese Störfaktoren hätten durch eine phototoxische Reaktion die mikrovaskuläre Durchblutung und die Leukozyten-Endothel-Wechselwirkung beeinflussen können (Steinbauer et al., 2000). Durch die Einhaltung einer Maximalmenge an Farbstoff-Injektionen wurde jedoch eine vermehrte Ablagerung in den Gewebestrukturen weitestgehend verhindert, um die Auswertung von dynamischen Vorgängen zum Beispiel bei neu gebildeten Gefäßaussprossungen nicht zu verzerren. Rückblickend galt die funktionelle Kapillardichte als einer der schwierigsten Parameter in der Auswertung, da eine zunehmende periprothetische Ödembildung im Verlauf stellenweise eine detaillierte mikroskopische Analyse erschwerte. Subprothetische Strukturen, die nicht vom Intravitalmikroskop durchleuchtet werden konnten, wurden in der histologischen Auswertung erfasst.

In unseren Versuchsgruppen wurden die Gefäßprothesen mit ihrer Außenseite (Seite 54, Abb. 21, A) auf das Rückenhautkammergebe implantiert. Dadurch konnten die unterschiedlichen Materialien in direkten Kontakt mit den umliegenden Strukturen gebracht werden, um die Auswirkung auf den Organismus beobachten zu können. An dieser Stelle ist deutlich zu erwähnen, dass diese Nachbildung nur ansatzweise einer realen In-situ-Implantation nachkommt und nicht mit einer kardiovaskulären Operation an Menschen gleichzustellen ist.

5.2 Schweineperikard-Patch im Vergleich zu Rinderperikard-Patch

Wie bereits erwähnt, wird in der heutigen Medizin xenogenes Ersatzmaterial aus Rinder- oder Schweineperikard ohne einen experimentellen Nachweis ihrer Biokompatibilität häufig sehr unterschiedlich angewendet. Zum einen kommen sie bevorzugt als Gefäß-Patches bei Endarteriektomien oder bei Gefäß-Ersatztherapien als genähte Röhrentransplantate vermehrt zum Einsatz (Lutz et al., 2017; Texakalidis et al., 2018). Zum anderen dienen sie als biologische Herzklappenprothesen vor allem beim perkutanen Aortenklappenersatz, dem TAVI (Liao et al., 1992; Convelbo et al., 2018). Bisher wurden vielfache Studien zu Gunsten von bovinem Ersatzmaterial veröffentlicht, in denen die Offenheitsrate, Haltbarkeit, Verkalkung und Materialeigenschaft untersucht wurden (Gauvin et al., 2013; Yap et al., 2013; D'Andrilli et al., 2018). Mit unserer experimentellen Studie über die Biokompatibilität von porcinen und bovinen Patches ist es zum ersten Mal möglich, die Ergebnisse einiger Veröffentlichungen zu diskutieren.

Unsere Ergebnisse der vorliegenden Versuche zeigen, dass Rinderperikard-Patches 14 Tage nach der Implantation in die RHK eine signifikant bessere Vaskularisation erzielen als

Schweineperikard-Patches. Die frühe Ausbildung eines periprothetischen Gefäßnetzwerkes ist für die Versorgung des Implantates mit Nährstoffen, Sauerstoff und Zellen essenziell (Bae et al., 2012). Unmittelbar nach der Implantation beginnt die Einheilungsphase in das umliegende Gewebe. Die rasche Ausbildung eines Gefäßnetzwerkes im Granulationsgewebe fördert das Einwachsen der Prothese im Empfängerorganismus (Zimmerli & Sendi, 2011). Dieser Prozess und die gute Verträglichkeit zwischen Implantat und Empfänger sind besonders für die Durchgängigkeit, Langzeitstabilität und Beständigkeit gegenüber Infektionen von Gefäßprothesen enorm wichtig (Menger et al., 1990).

Dabei spielen mitunter die zellulären Strukturen sowie die Oberflächenbeschaffenheit, die einer autologen Arterie fast gleichkommen, eine wesentliche Rolle (Töpel et al., 2016). Bei Kunststoffprothesen weiß man, dass eine poröse Oberfläche gegenüber einer glatten die Einheilung der Prothese positiv beeinflussen kann, da mit Endothel ausgekleidete Mikrogefäße in und um die Prothese leichter einwachsen können (Wu et al., 1996). Auch eine Beschichtung der Prothesen-Außenseite beispielsweise mit Silberazetat kann durch ihre antimikrobielle Wirkung den Einheilungsprozess unterstützen (Jeanmonod et al., 2013). Gauvin et al. haben 2013 mit ihren Messungen die Oberflächenbeschaffenheit sowie die Materialeigenschaften und Thrombogenität von porcinem und bovinem Perikard verglichen (Gauvin et al., 2013). Dabei wurden beide Patches mithilfe einer Perfusionskammer einem 15-minütigen Blutfluss ausgesetzt und anschließend ausgewertet. Hierbei konnte auf der faserigen fibrinösen Perikard-Seite bei beiden Gruppen eine signifikant höhere Thrombozyten-Ablagerung als auf der glatten serösen Perikard-Seite nachgewiesen werden. Dieses Ergebnis legt nahe, dass eine raue Prothesenoberfläche eine Ablagerung und folglich die Aufnahme von Zellen begünstigen könnte. Zudem konnten Gauvin et al. durch eine rasterelektromikroskopische Bildgebung einen gewissen Unterschied in der zellulären Anordnung an der fibrinösen Außenseite zwischen porcinem und bovinem Perikard nachweisen. Das bovine Perikard hat vermehrt größere zelluläre Anordnungen an der Außenseite und erscheint dadurch tendenziell poröser. In unseren Versuchen wurden beide Patches mit ihrer faserigen fibrinösen Perikard-Seite auf das RHK-Gewebe gelegt. Diese raue Oberflächenbeschaffenheit der Perikard-Patch-Außenseite könnte auch das Einwachsverhalten und die Bildung von periprothetischen zellulären Strukturen, wie das Granulationsgewebe, positiv beeinflussen. Das würde die bessere Vaskularisation von Rinderperikard gegenüber Schweineperikard ansatzweise erklären.

Demgegenüber zeigten die Thrombozyten-Ablagerungs-Messungen nach Gauvin et al. auf der glatten serösen Perikard-Seite auch Blutplättchen-Cluster, jedoch nur in der Schweineperikard-Gruppe. Die höhere Resistenz gegenüber Ablagerungen auf der glatten serösen Rinderperikard-Seite lässt vermuten, dass dieses Oberflächenphänomen möglicherweise auch mit der dickeren Wandstärke (Seite 26, Abb. 3, A, B) und der signifikant

überlegenen mechanischen Festigkeit in Zusammenhang stehen könnte (Liao et al., 1992; Bürger & Gebauer, 2013). Wie bei unseren histologischen und histochemischen Querschnitts-Präparaten zu sehen ist (Seiten 53, 54, 56, Abb. 20–22), bestehen die Perikard-Patches aus mehreren unterschiedlich angeordneten Kollagenschichten. Das Rinderperikard besteht aus einer deutlich dickeren Kollagenschicht mit vornehmlich symmetrischen Anordnungen, wohingegen das Schweineperikard-Innere eine Wellenstruktur aus elastischen Fasern aufweist. Diese elastischen Fasern hinterlassen bis zur serösen und fibrinösen Außenseite ein wellenförmiges Relief (Seite 52, Abb. 21 A). Ob sich diese Oberflächenstruktur der Schweineperikard-Patches auf die Inkorporation in das umliegende Gewebe und auf die Thrombogenität auswirkt, lässt sich nur vermuten. Allerdings verfolgen einige kardiochirurgische Studien die Annahme, dass die hämodynamische Eigenschaft einer xenogenen Herzklappe mit dem Kollagengehalt in Zusammenhang stehen könnte. So wiesen Schweineklappen-Prothesen eine höhere Thrombogenität mit vermehrten postoperativen Komplikationen wie zerebralen Ereignissen auf (Kurt et al., 2005; Yap et al., 2013). Nach unseren Ergebnissen neigte das Rinderperikard mit seinen symmetrisch angeordneten Kollagenschichten nachweislich zu einer höheren funktionellen Kapillardichte, wenngleich ohne eine statistische Signifikanz. Dieser kollagenstrukturelle Unterschied gegenüber dem Schweineperikard könnte eine wichtige Voraussetzung für eine bessere Vaskularisation und eine damit wirksamere Inkorporation sein, die für die Durchgängigkeit und die Infektoresistenz wichtig ist. Zudem kommen gefäßchirurgische Veröffentlichungen zu dem ähnlichen Ergebnis, dass der routinemäßige Einsatz einer bovinen Patch-Plastik nach einer Arteriotomie, etwa bei einer Carotis-TEA oder Femoralisgabel-Rekonstruktion, positive Resultate im Bereich der neurologischen Komplikationsrate, lokalen Infektionsrate sowie Restenoserate erzielen konnte (Li et al., 2011; Dorweiler et al., 2014; Papakostas et al., 2014).

Ein weiterer Unterschied zwischen beiden Patches entsteht beim Herstellungsprozess. Um porcines und bovines Perikard einsetzen zu können, muss ein spezielles Dezellularisierungsverfahren zur Verringerung der Antigenität durchgeführt werden (Aguari et al., 2016). Dabei bleibt zwar die kollagene Struktur erhalten, jedoch ändert sich die biomechanische Eigenschaft von beiden Perikardien unterschiedlich (Zouhair et al., 2020). Durch die Fixierung mit Glutaraldehyd werden wichtige Bestandteile der EZM eliminiert. Zu diesen gehören die Glykosaminoglykane (GAG), die zum einen Wasser binden, lokale Infektionen eindämmen und die endotheliale Blutgerinnung regulieren und zum anderen den Verkalkungsprozess durch Chelat-Komplex-Bindung am Bindegewebe weitestgehend aufhalten können (Linhardt & Toida, 2004; Cigliano et al., 2012). Nachweislich kommt es durch diese chemische Fixierung in beiden Gruppen zu einer Verminderung der Haltbarkeit sowie mit der Zeit zu einer degenerativen Verkalkung, sodass die Perikardien an Elastizität verlieren (Lee et al., 2017). Dies ist im Vergleich ein kleines Problem in der gefäßchirurgischen Patch-

Plastik, aber ein sehr großes bei bioprothetischen Xenotransplantat-Herzklappen-Operationen (Liao et al., 1992; Yap et al., 2013). Zouhair et al. konnten in ihrer Studie einen biomechanischen Unterschied zwischen beiden Patches nachweisen. Demnach war die Zunahme von Wassergehalt und Wandstärke sowie die Abnahme von GAG in der ECM in der Rinderperikard-Gruppe signifikant höher als in der Schweineperikard-Gruppe (Zouhair et al., 2020). Diese veränderte biomechanische Eigenschaft nach einer Dezellularisierung könnte auch einen unterschiedlichen Einfluss auf die frühe und bessere Inkorporation im Empfängergerewebe haben.

Im Widerspruch mit den veröffentlichten Vergleichsstudien aus der Vergangenheit steht jedoch die nachweisliche Abnahme von GAG in der Rinderperikard-Gruppe. Demnach müsste mit einer Reduzierung von GAG in der EZM auch folglich eine verminderte Angiogenese, erhöhte bakterielle Entzündungsreaktion, höhere Thrombogenität sowie schnellere Verkalkung im bovinen Perikard stattfinden. Jedoch gab es beispielweise in Vergleichsstudien von Herzklappenprothesen keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Gruppen und sogar eine Tendenz zu biologischen Herzklappen aus Rinderperikard, die im Vergleich zu Schweineperikard weniger Anzeichen einer degenerativen Verkalkung hatten (Yap et al., 2013; Hickey et al., 2014; Kim et al., 2015; Webb et al., 2018). Damit ist nicht ganz geklärt, ob einerseits die Abwesenheit von GAG in der EZM von Perikard-Gewebe entscheidend für ein schnelles Einwachsen ist oder ob andererseits wie bei Rinderperikard die mechanische Festigkeit, dickere Wandstärke oder der höhere Kollagen- und Wassergehalt ausschlaggebend dafür ist.

In unseren immunhistochemischen Analysen konnten wir eine signifikant höhere Anzahl von CD-31-positiven Mikrogefäßen in der Rinderperikard-Gruppe als in der Schweineperikard-Gruppe nachweisen. Ähnliche Ergebnisse erzielten Khorramirouz et al. in ihrer Studie mit dezellularisierten Schweineklappenprothesen im subkutanen Rattenmodell (Khorramirouz et al., 2019). Sie postulierten, dass eine höhere CD-31-Expression die Rekrutierung von angiogenetischen Faktoren erhöhen könnte, was zu einer schnelleren Re-Endothelialisierung führe. Dies würde bedeuten, dass es einen gewissen Vorteil beim Einbau von Rinderperikard-Patches im Hinblick auf eine schnellere Angiogenese beispielsweise bei arteriellen Gefäßrekonstruktionen geben würde (Muto et al., 2009). CD-31 ist der wichtigste Marker von Endothelzellen. Sie hält die Verbindungen der Endothelzellen aufrecht und stellt nach entzündlichen Prozessen die gestörte Gefäßpermeabilitätsbarriere wieder her (Lertkiatmongkol et al., 2016). Damit hätte der bovine Patch die ideale Voraussetzung für ein schnelleres Einwachsenverhalten im umliegenden Gewebe mit geringerem Reinfektionsrisiko bei beispielsweise einer In-Situ Rekonstruktion von entzündetem Gefäßprothesenmaterial (Martin et al., 2021).

In diesem Zusammenhang weiß man aber auch, dass eine physiologische Entzündungsreaktion ebenfalls einen Anreiz für die Ausschüttung von Wachstumsfaktoren zur Ausbildung von Mikrogefäßen geben kann (Kreuger & Phillipson, 2016). Eine pathologische Leukozyten-Reaktion konnte weder mikrohämodynamisch noch immunhistochemisch in unseren Versuchsgruppen nachgewiesen werden. Ausgeprägte Entzündungszeichen mit einer massiv erhöhten Anzahl von mehr als 30/min rollenden Leukozyten und mehr als 700 adhärenenten Leukozyten pro mm² in den postkapillären Venolen wie in einer ähnlichen Studie von Rücker et al. konnte mit unseren Ergebnissen nicht erfasst werden (Rücker et al., 2006). Allerdings wurde in unserer bovinen Gruppe wenngleich ohne Signifikanz im Vergleich zur porcinen Gruppe an fast allen Untersuchungstagen (Seite 52, Abb. 19) eine höhere Zahl von rollenden und adhärenenten Leukozyten gemessen. Demnach fand ein wirksamerer Entzündungsprozess in der RHK der Rinderperikard-Gruppe statt, was zu einer dichteren Ausbildung von Mikrogefäßen und nachweislich zu einer höheren CD-31-Expression geführt haben könnte. Der zusätzliche Nachweis von neutrophilen Granulozyten mittels immunhistochemischen MPO-Markern bestätigt, dass in beiden xenogenen Gruppen keine fulminante Entzündungsreaktion stattfand. Auch eine ausgeprägte periprothetische Apoptose oder Zellproliferation konnten wir nicht nachweisen. Der gleichzeitige Anstieg des Proliferationsmarkers PCNA und des Apoptosemarkers Caspase-3 in der Schweineperikardgruppe war zwar im Vergleich zu Rinderperikard höher, jedoch ist diese Reaktion nicht typisch für eine schlechtere oder bessere Biokompatibilität (Menger et al., 1992). Insgesamt konnten wir in unseren Messungen eine unspezifische und physiologische Fremdkörperreaktion in beiden Perikard-Patches darstellen. Diese stimmen auch mit den jüngsten Veröffentlichungen über die postoperative Immunantwort bei xenogenem Material in der kardiovaskulären Chirurgie überein (Boni et al., 2012; Neufang, 2016; Umashankar et al., 2017).

Zusammenfassend können xenogene Materialien nicht ohne eine adäquate Vorbehandlung zur Verminderung einer Graft-versus-Host-Reaktion im medizinischen Bereich eingesetzt werden. Dies führt jedoch zu einer herabgesetzten Haltbarkeit und Elastizität, was den Patienten im Verlauf gefährden kann. Ein schnelles Einwachsen von Fibroblasten in das Empfängergewebe und eine rasche Ausbildung von Endothel spricht für eine gute Biokompatibilität eines Materials (Menger et al., 1990). Unsere vorliegende Studie zeigt, dass sowohl porcine als auch bovine Patches eine ähnlich frühe periprothetische Reaktion ohne eine schwer verlaufende Inflammation oder zytotoxische Reaktion in der RHK aufweisen. Insgesamt zeigen jedoch Rinderperikard-Patches aufgrund ihrer signifikant höheren Anzahl von CD-31-positiven Zellen eine gewisse Tendenz zur besseren Vaskularisation. Dies kann zu einem schnelleren und verbesserten Einbau von Rinderperikard in das umliegende Gewebe im Vergleich zu Schweineperikard führen.

5.3 Rinderperikard-Patch im Vergleich zu ePTFE

In unserer ersten Versuchsreihe wurden Patches aus Schweine- und Rinderperikard miteinander verglichen. Da die Rinderperikard-Gruppe im Endergebnis eine bessere Tendenz zur Biokompatibilität gezeigt hatte, versuchten wir nun aufgrund ihrer vergleichbaren mikrohämodynamischen Parameter, ePTFE-Prothesen mit bovinen Patches gegenüberzustellen. Der Einsatzbereich von beiden Materialien ist im arteriellen Gefäßsystem ähnlich. Sie werden beide als Gefäßersatzprothesen in Bereich der Aorta, der iliakalen oder der femoropoplietalen Arterien eingesetzt (Eidt et al., 2006). Allerdings werden ePTFE-Prothesen vornehmlich zur Interposition von orthotopen oder extraanatomischen Rekonstruktionen verwendet, wohingegen bovine Patches häufiger zum Verschluss einer Längsarteriotomie nach TEA eingesetzt werden (Klinkert et al., 2003; Ladowski & Ladowski, 2011). Da die Gefäßprotheseninfektion eine der gefürchteten postoperativen Komplikationen ist, haben sich in den letzten Jahren Studien gehäuft damit beschäftigt, welches Material denn nun für eine Revisionsoperation geeigneter ist, wenn ein autologer Venenersatz nicht zur Verfügung steht. Demnach wirkt xenogenes Material gegenüber alloplastischem weniger thrombogen und induziert kaum Transplantat-Entzündungen (Ennker & Lauruschkat, 2001; Lutz et al., 2017). Doch es wird immer wieder betont, dass Rinderperikard-Patches kein absoluter Schutz vor einer anhaltenden retroperitonealen Infektion sind und daher mit engmaschigen Nachsorgen einhergehen sollten. Deshalb wäre es ein Vorteil zu wissen, welches Material mit seiner besseren Biokompatibilität durch die schnellere Inkorporation in das umliegende Gewebe zur Verringerung der Infektionsrate und besseren Durchgängigkeitsrate führen kann (Menger et al., 1990).

Im Verlauf unserer IVM-Untersuchungen konnten wir insgesamt in der ePTFE-Gruppe eine höhere Anzahl an neu gebildeten Gefäßaussprossungen, den *sprouts*, im Vergleich zur xenogenen Gruppe messen. Am 14. Tag nach Implantation war in der ePTFE-Gruppe eine signifikant höhere funktionelle Kapillardichte nachweisbar. Wie schon in unserer ersten Versuchsreihe erläutert, kann die Oberflächenbeschaffenheit der Implantate die Ausbildung von neuen Gefäßnetzwerken beeinflussen. Demzufolge werden poröse Materialien besser und schneller vaskularisiert als glatte Implantate (Wu et al., 1996). Die in unserer Studie verwendete *Gore-Tex® Stretch Vascular Graft*-Prothese gehört zu der Gruppe der expandierten PTFE-Prothesen (ePTFE). Beim Herstellungsprozess werden die Molekülfasern orientiert verarbeitet, sodass neben einer höheren Zugfestigkeit eine feinporige Struktur entsteht, weil die Dichte des Materials reduziert wird (Tordoir et al., 1995). Auch in unseren Versuchen beeinflusst diese Materialeigenschaft möglicherweise den Integrationsprozess. Das bovine Perikard zeigte zwei Wochen nach der Implantation mit seiner vermutlich weniger

porösen Oberfläche im Gegensatz zur feinporigen ePTFE-Prothese signifikant geringere makroskopische Gefäßaussprossungen.

Ähnliche Ergebnisse im Zusammenhang mit alloplastischem Material und der Oberflächenbeschaffenheit wurden mit Studien über die Dacron-Prothese erzielt (Jeanmonod et al., 2013; Moussavian et al., 2016). Diese poröse Oberflächeneigenschaft begünstigt eine schnelle Ausbildung von neuen Gefäßen in das Empfängergewebe und ist besonders für eine Kunststoffprothese wichtig, da sie nachweislich ein höheres thrombogenes Potential im Gegensatz zu biologischem Material aufweist (D'Andrilli et al., 2018; Texakalidis et al., 2018). Wir stellten jedoch fest, dass die von uns zusätzlich zur funktionellen Kapillardichte-Messung durchgeführte immunhistochemische Untersuchung nicht die Erwartungen unserer IVM-Ergebnisse erfüllten. Eine signifikant höhere Anzahl von CD-31-positiven Zellen konnten wir lediglich in der Rinderperikard-Gruppe und nicht in der ePTFE-Gruppe nachweisen. Um die porige Struktur der Materialoberflächen miteinander vergleichen zu können, bedarf es einer rasterelektronenmikroskopischen Untersuchung. Damit könnte man die fibrinöse Seite des bovinen Patches genauer untersuchen, das auf dem RHK-Kammergewebe implantiert wurde. Wir vermuten ein falsch-positives Ergebnis der IVM-Auswertung der ePTFE-Gruppe, da dieses nicht passend zu dem CD-31 Ergebnis ist. Dabei könnten die technischen Hintergründe und die Materialdicke von beiden Prothesen eine Rolle spielen. Möglicherweise war der Abstand von der Glasplatte der RHK zu den acht Feldern der *Region of Interest* (ROI) für die Auswertung der funktionellen Kapillardichte zu groß. Die mittlere Wandstärke vom bovinen Patch betrug 0,55 mm ($\pm 0,1$ mm) im Gegensatz zur ePTFE Prothese von 0,4 mm.

Daraus lässt sich schlussfolgern, dass nicht nur die Quantität, sondern auch die Qualität der Neoangiogenese beim Integrationsprozess eine Rolle spielt. Eine adäquate Ausbildung von Mikrogefäßen ist für die Versorgung mit Sauerstoff und Nährstoffen der implantierten Prothese essenziell, um unter anderem die Infektionsrate zu verringern (Bae et al., 2012). Unser Ergebnis unterstützt demnach Veröffentlichungen, die xenogenes Material, besonders das Rinderperikard, als biokompatibleres Material bei einer Entzündungsreaktion postulieren. In diesen Studien konnte nachweislich eine fulminante alloplastische Protheseninfektion erfolgreich und langfristig mit Rinderperikard bei einer gefäßchirurgischen Revisionsoperation behoben werden (Czerny et al., 2011; McMillan et al., 2012; Töpel et al., 2016; Weiss et al., 2017; Kreibich et al., 2018).

In diesem Zusammenhang könnte der qualitative Unterschied von periprothetischen Mikrogefäßen auch in der Herz-Thorax-Chirurgie eine Rolle spielen, da der örtliche Beginn einer Endokarditis nachweislich vom Material abhängig ist. Während sich bei biologischen Herzklappenprothesen der Entzündungsprozess meist auf die Klappensegel fokussiert, ist bei synthetischen Prothesen häufig der Nahring und die umgebende Struktur betroffen (Tao et al., 2017). Dies lässt eine Interpretation analog zu unseren Ergebnissen zu, die besagt, dass

eine gute Neoangiogenese im umliegenden Gewebe eine bakterielle Ansiedlung verringern kann (Leid et al., 2002).

Indes konnten wir in unserer Beobachtungszeit von zwei Wochen weder in der ePTFE noch in der xenogenen Versuchsgruppe eine fulminante Entzündungsreaktion feststellen. Der immunhistochemische Nachweis von neutrophilen Granulozyten mittels MPO-positiven Zellen war in allen Gruppen nicht signifikant auffällig. Allerdings konnten wir am letzten Untersuchungstag signifikant höhere adhärente Leukozytenzahlen pro mm² in der ePTFE-Gruppe als in der Rinderperikard-Gruppe auswerten. Ableitend zeigt ePTFE im Gegensatz zum bovinen Patch eine stärker ausgeprägte leukozytäre periprothetische Entzündungsreaktion, wenngleich die gemessenen Werte noch deutlich unterhalb der Anzahl von Leukozyten stehen, die für eine fulminante Entzündungsreaktion sprechen würden (Rücker et al., 2006; Laschke et al., 2011).

Interessanterweise konnten wir in unseren histologischen Schnittbildern eine unterschiedliche Zellmigration in den Prothesen beider Gruppen darstellen (Seite 54, Abb. 21 C, D). Während in der xenogenen Versuchsgruppe die Zellen aus dem periprothetischen Granulationsgewebe erkennbar in die Patches eingewandert waren, blieb dieser Effekt bei der ePTFE-Prothese sowohl histologisch als immunhistochemisch gänzlich aus. Dies könnte vermutlich damit zusammenhängen, dass das Rinderperikard durch seine aufgelockerte Kollagenstruktur einen gewissen biologischen Vorteil für eine Zelleinwanderung in die Prothese hatte (Liao et al., 1992). Folglich würde das auch bedeuten, dass nicht nur die Ausbildung von periprothetischem, sondern auch von intraprothetischem Granulationsgewebe eine bakterielle Ansiedlung direkt an der Prothese zusätzlich beschwerlicher macht und eine GPI weniger wahrscheinlich wird (Olofsson et al., 1995). Der bovine Patch wird in der Herstellung mit einer Glutaraldehydlösung behandelt, wodurch die Kollagenfasern querverbunden werden und die Antigenizität reduziert wird. Damit ist der Patch, der aus überwiegend Typ I Kollagen besteht, relativ azellulär. Vermutlich wird dadurch die Zellmigration von Leukozyten in die Prothese erleichtert und folglich die Biofilmbildung von Bakterien erschwert. Die Ausbildung eines adäquat gebildeten Granulationsgewebes um die Prothese ist nachweislich eine gute Immunabwehr und kann bei Fehlen möglicherweise eine Integration der Prothese erschweren oder Spätinfekte begünstigen (Töpel et al., 2016).

Im Hinblick auf die immunhistochemische Analyse der Zellproliferation gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Versuchsgruppen. Aufgrund der ähnlichen Anzahl von PCNA-positiven Zellen lässt sich eine proliferationshemmende Wirkung von beiden Materialien ausschließen. Eine moderat zytotoxische Reaktion auf das umliegende Gewebe deutet auf die höhere Anzahl von Caspase-3-positiven Zellen, die in der xenogenen Gruppe gezählt wurden. Somit hat ePTFE eine signifikant niedrigere apoptotische Wirkung auf die umliegenden Zellstrukturen als porcine oder bovine Patches.

Mit unserer zweiwöchigen Versuchsreihe lassen sich alle drei Prothesen als biokompatibel einordnen, sodass eine eindeutige Anwendungsstrategie für oder gegen eine Prothese zum gefäß- oder herzchirurgischen Einsatzbereich aktuell noch nicht möglich ist. Zusammenfassend lassen sich alle drei Materialien mit einer guten Integration ohne eine fulminante Infektion innerhalb von 14 Tagen charakterisieren. Xenogene Materialien waren in dieser Zeit vollständig mit Zellstrukturen umkleidet. Hier zeigte vor allem der bovine Patch eine ausgeprägtere Neoangiogenese. Im Gegensatz dazu war ePTFE auch nach zwei Wochen im Hauptkörperbereich nicht mit Zellen umkleidet. In Zusammenschau von jüngsten Veröffentlichungen, S3-Leitlinien und unseren Daten sollten xenogene Materialien in der gefäßchirurgischen Rekonstruktion bevorzugt genutzt werden.

Um eine klare Aussage darüber treffen zu können, bedarf es wahrscheinlich einer länger als 14 Tage andauernden Beobachtungszeit. Es bleibt jedoch abzuwarten, welche Ergebnisse sich aus Studien zu neu entwickelten Dezellularisierungsverfahren oder anderen Herstellungsverfahren ergeben, um die Haltbarkeit von xenogenen Patch- oder Xenotransplantat-Herzklappenprothesen zu verlängern. Aus medizinischer Sicht sind weiterführende Studien wünschenswert, damit Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung längerfristig geheilt oder symptomlos bleiben können.

6. Literaturverzeichnis

1. Aboyans V, Ricco JB, Bartelink M-LLEL, Björck M, Brodmann M, Cohnert T, Collet JP, Czerny M, Carlo M De, Debus S, Espinola-Klein C, Kahan T, Kownator S, Mazzolai L, Naylor AR, Roffi M, Röther J, Sprynger M, Tendera M, Tepe G, Venermo M, Vlachopoulos C, Desormais I (2018) 2017 ESC Guidelines on the diagnosis and treatment of peripheral arterial diseases, in collaboration with the European Society for Vascular Surgery (ESVS). European Heart Journal
2. Aguiari P, Fiorese M, Iop L, Gerosa G, Bagno A (2016) Mechanical testing of pericardium for manufacturing prosthetic heart valves. Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery 22: 72-84
3. Almási-Sperling V, Heger D, Meyer A, Lang W, Rother U (2020) Treatment of aortic and peripheral prosthetic graft infections with bovine pericardium. Journal of Vascular Surgery 71: 592-598
4. Anderson JM, Rodriguez A, Chang DT (2008) Foreign body reaction to biomaterials. Seminars in Immunology 20: 86-100
5. Arbeitskreis „Krankenhaus- und Praxishygiene“ der AWMF (2009) Leitlinien zur Hygiene in Klinik und Praxis. Perioperative Antibiotikaphylaxe: publiziert bei AWMF online. Zitiert am 01.07.2023. Verfügbar unter: <https://euprevent.eu/wp-content/uploads/2017/01/AWMF-Leitlinie-Perioperative-Antibiotikaphylaxe.pdf>
6. Baatz H, Steinbauer M, Harris AG, Krombach F (1995) Kinetics of white blood cell staining by intravascular administration of rhodamine 6G. International Journal of Microcirculation-Clinical and Experimental 15: 85-91
7. Bae H, Puranik AS, Gauvin R, Edalat F, Carrillo-Conde B, Peppas NA, Khademhosseini A (2012) Building vascular networks. Science Translational Medicine 4: 160-183
8. Bagno A, Aguiari P, Fiorese M, Iop L, Spina M, Gerosa G (2018) Native bovine and porcine pericardia respond to load with additive recruitment of collagen fibers. Artificial Organs 42: 540-548
9. Baker M, Wayland H (1974) On-line volume flow rate and velocity profile measurement for blood in microvessels. Microvascular Research 7: 131-143
10. Bandyk DF, Novotney ML, Back MR, Johnson BL, Schmacht DC (2001) Expanded application of in situ replacement for prosthetic graft infection. Journal of Vascular Surgery 34: 411-420
11. Bannazadeh M, Sarac TP, Bena J, Srivastava S, Ouriel K, Clair D (2009) Reoperative lower extremity revascularization with cadaver vein for limb salvage. Annals of Vascular Surgery 23: 24-31

12. Barnes JA, Eid MA, Creager MA, Goodney PP (2020) Epidemiology and risk of amputation in patients with diabetes mellitus and peripheral artery disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 40: 1808-1817
13. Berner M, Lattmann T, Stalder P, Wigger P (2017) Vein patch closure using below the knee greater saphenous vein for femoral endarterectomy procedures is not always a safe choice. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery Short Reports* 37: 22-24
14. Bond R, Rerkasem K, AbuRahma AF, Naylor AR, Rothwell PM (2004) Patch angioplasty versus primary closure for carotid endarterectomy. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2: Art. No.: CD000160
15. Boni L, Chalajour F, Sasaki T, Snyder RL, Boyd WD, Riemer RK, Reddy VM (2012) Reconstruction of pulmonary artery with porcine small intestinal submucosa in a lamb surgical model: Viability and growth potential. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 144: 963-969.e1
16. Bradbury AW, Adam DJ, Beard JD, Cleveland T, Forbes JF, Fowkes FGR, Gillespie I, Ruckley C V., Raab G, Storkey H (2005) Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg (BASIL): Multicentre, randomised controlled trial. *The Lancet* 366: 1925-1934
17. Brahmbhatt R, Gander J, Duwayri Y, Rajani RR, Veeraswamy R, Salam A, Dodson TF, Arya S (2016) Improved trends in patient survival and decreased major complications after emergency ruptured abdominal aortic aneurysm repair. *Journal of Vascular Surgery* 63: 39-48
18. Brandt C, Hansen S, Sohr D, Daschner F, Rden H, Gastmeier P (2004) Finding a method for optimizing risk adjustment when comparing surgical-site infection rates. *Infection Control and Hospital Epidemiology* 25: 313-318
19. Brger T, Gebauer T (2013) Boviner Perikardpatch als Bypassmaterial in der Infektsituation. *Gefässchirurgie* 18: 126-130
20. Burghuber CK, Konzett S, Eilenberg W, Nanobachvili J, Funovics MA, Hofmann WJ, Neumayer C, Domenig CM (2021) Novel prefabricated bovine pericardial grafts as alternate conduit for septic aortoiliac reconstruction. *Journal of Vascular Surgery* 73: 2123-2131.e2
21. Carmeliet P (2003) Angiogenesis in health and disease. *Nature Medicine* 9: 653-660
22. Cassar K, Bachoo P, Ford I, Greaves M, Brittenden J (2003) Platelet activation is increased in peripheral arterial disease. *Journal of Vascular Surgery* 38: 99-103
23. Chang JK, Calligaro KD, Ryan S, Runyan D, Dougherty MJ, Stern JJ (2003) Risk factors associated with infection of lower extremity revascularization: Analysis of 365 procedures performed at a teaching hospital. *Annals of Vascular Surgery* 17: 91-96
24. Chehuen M da R, Cucato GG, Barbosa JP dos AS, Costa LAR, Ritti-Dias RM, Wolosker N, Forjaz CL de M (2012) Ventilatory threshold is related to walking tolerance in patients

- with intermittens claudication. *Vasa – The European Journal of Vascular Medicine* 41: 275-281
25. Cigliano A, Gandaglia A, Lepedda AJ, Zinellu E, Naso F, Gastaldello A, Aguiari P, Muro P De, Gerosa G, Spina M, Formato M (2012) Fine structure of glycosaminoglycans from fresh and decellularized porcine cardiac valves and pericardium. *Biochemistry Research International* 2012: Article ID 979351
 26. Convelbo C, Hafci H El, Petite H, Zegdi R (2018) Traumatic leaflet injury: Comparison of porcine leaflet self-expandable and bovine leaflet balloon-expandable prostheses. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 53: 1062-1067
 27. Crawford FA, Sade RM, Spinale F (1986) Bovine pericardium for correction of congenital heart defects. *Annals of Thoracic Surgery* 41: 602-605
 28. Criqui MH, Aboyans V (2015) Epidemiology of peripheral artery disease. *Circulation Research* 116: 1509-1526
 29. Cruse PJE, Foord R (1980) The epidemiology of wound infection: A 10-Year prospective study of 62,939 wounds. *Surgical Clinics of North America* 60: 27-40
 30. Czerny M, Allmen R Von, Opfermann P, Sodeck G, Dick F, Stellmes A, Makaloski V, Bhlmann R, Derungs U, Widmer MK, Carrel T, Schmidli J (2011) Self-made pericardial tube graft: A new surgical concept for treatment of graft infections after thoracic and abdominal aortic procedures. *Annals of Thoracic Surgery* 92: 1657-1662
 31. D'Andrilli A, Maurizi G, Ciccone AM, Andreetti C, Ibrahim M, Menna C, Vanni C, Venuta F, Rendina EA (2018) Long-segment pulmonary artery resection to avoid pneumonectomy: Long-term results after prosthetic replacement, 331-335. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 53: 331-335
 32. Darius H, Trampisch HJ, Pittrow D, Allenberg JR, Haberl RL, Mahn M, Tepohl HG, Burghaus I, Diehm C (2008) Risiken der Koronaräquivalente Diabetes mellitus und Periphere arterielle Verschlusskrankheit im Vergleich. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 133: 2317-2322
 33. Davies MG, Hagen PO (1995) Pathophysiology of vein graft failure: A Review. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 9: 7-18
 34. DEBRA study – German Study on Tobacco Use (2023) Univ.-Prof. Dr. Daniel Kotz, Institute of General Practice Addiction Research and Clinical Epidemiology Unit Medical Faculty of the Heinrich-Heine-University Duesseldorf. Zitiert am 01.07.2023. Verfügbar unter: <https://www.debra-study.info/>
 35. Debus ES, Metzger MW, Grundmann RT (2022) On the relationship between operation time and perioperative complications in vascular surgery procedures – a call for studies. *Gefäßschirurgie* 27: 35-38

36. Derksen WJM, Verhoeven BAN, Mortel RHW Van De, Moll FL, Vries JPPM De (2009) Risk factors for surgical-site infection following common femoral artery endarterectomy. *Vascular and Endovascular Surgery* 43: 69-75
37. Diehm C, Schuster A, Allenberg JR, Darius H, Haberl R, Lange S, Pittrow D, Stritzky B von, Tepohl G, Trampisch HJ (2004) High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: Cross-sectional study. *Atherosclerosis* 172: 95-105
38. Diehm C, Schuster A, Spengel FA, Trampisch HJ, Allenberg JR, Darius H, Haberl R, Tepohl G, Fricke R, Holland-Letz T, Lange S, Collet W, Dank N, Lindauer E, Baron von Bilderling P, Betzel G, Bolte J, Bröker H, Büdinger Z, Dresler R, Emter M, Faltz H, Heres S, Herman G, Huber K, Hupp T, Joel A, Keil U, Kister M, Köhler A, Kopp H, Ludwig N, Manz J, Marshall M, Mietaschk A, Noppeney T, Pfister R, Piehler U, Ranft J, Rütthlein V, Schäfer R, Sternitzky R, Tepohl G, Thum J, Turowski A, Nettelblatt E Von, Waldhausen P, Wrobel J, Ackermann I, Adams R, Afschar H, Alder C, Arzt G, Aßmann E, Auer H, Aulich H, Bacher-Zeller I, Bangemann M, Bannasch I, Batz T, Bauer B, Baumeister B, Bausch T, Bawidamann G, Beermann H, Behnen E, Berndt M, Bertram W, Bier P, Biskowitz M, Blasko E, Blume J, Boch G, Bodamer S, Bode K, Bogner G, Böhm E, Boll B, Bondke C, Brauer D, Braun B, Braun F, Bräutigam B, Breitmeier B, Brömme K, Büchsel H, Büdke M, Bünthe R, Bünthe W, Busse Grawitz M, Carls-Ott A, Cassel H, Claßen W, Cremer B, Curdes H, Czenkusch R, Dan J, Diehl M, Diehls K (2002) getABI: German epidemiological trial on ankle brachial index for elderly patients in family practice to detect peripheral arterial disease, significant marker for high mortality. *Vasa – The European Journal of Vascular Medicine* 31: 241-248
39. Diener H, Assadian O, Zegelman M, Steinbauer M, Debus ES, Larena-Avellaneda A (2017) Gefäßprotheseninfektionen. Operative und interventionelle Gefäßmedizin. Springer, Berlin Heidelberg, pp 1-25
40. Dorweiler B, Kayser C, Zipp F, Gröschel K, Vahl C-F (2014) Long-Term performance of the bovine pericardium patch in conventional carotid endarterectomy. *The Thoracic and Cardiovascular Surgeon* 63: 168-174
41. Dulbecco E, Camporotondo M, Blanco G, Haberman D (2010) In situ reconstruction with bovine pericardial tubular graft for aortic graft infection. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular* 25: 249-252
42. Eckstein H-H, Assadian A, Kühnl A, Berger H (2012) Supraaortale Gefäße. Operative und interventionelle Gefäßmedizin. Springer, Berlin, Heidelberg, pp 381-421
43. Eckstein HH, Knipfer E, Trenner M, Kühnl A, Söllner H (2014) Epidemiologie und Behandlung der pAVK und der akuten Extremitätenischämie in deutschen Krankenhäusern von 2005 bis 2012. *Gefäßchirurgie* 19: 117-126

44. Eckstein H, Kühnl A, Berkefeld J, Dörfler A, Kopp I, Langhoff R, Lawall H, Ringleb P, Sander D, Storck M, Czerny M, Engelhard K, Fraedrich G, Fründ A, George S, Görtz H, Gross-Fengels W, Hanl J, Hörstgen A, Huppert P, Litz R, Lüdeking C, Mudra H, Na-vabi D, Ploenes C, Rantner B, Rittig K, Schamberger R, Schnell O, Schulte S, Schwerdtfeger K, Steinbauer M, Stingele R, Zeller T, Fachgesellschaften B, Steuergruppe M der (2020) S3-Leitlinie zur Diagnostik, Therapie und Nachsorge der extrakraniellen Carotisstenose 2. Auflage. Zitiert am 01.07.2023. Verfügbar unter: https://register.awmf.org/assets/guidelines/004-028k_extracranielle-Carotisstenose-Diagnostik-Therapie-Nachsorge_2020-02_1.pdf
45. Ehrmantraut S, Naumann A, Willnecker V, Akinyemi S, Körbel C, Scheuer C, Meyer-Lindenberg A, Menger MD, Laschke MW (2012) Vitalization of porous polyethylene (Medpor®) with chondrocytes promotes early implant vascularization and incorporation into the host tissue. *Tissue Engineering - Part A* 18: 1562-1572
46. Eidt D, Roll S, Kulp W, Müller-Nordhorn J, Greiner CVW, Willich SN, Graf Von Der Schulenburg J-M (2006) Bypassmaterialien in der Gefäß-chirurgie. *Medizinwissen HTA-Bericht* 31. DIMDI – Deutsches Institut für Medizinische Dokumentation und Information
47. Eiff C von, Kipp F, Peters G (2000) Pathogenese, Diagnostik und Prävention von fremdkörperassoziierten Infektionen. *Der Internist* 41: 1180-1188
48. Elgzyri T, Larsson J, Thörne J, Eriksson KF, Apelqvist J (2013) Outcome of ischemic foot ulcer in diabetic patients who had no invasive vascular intervention. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 46: 110-117
49. Elgzyri T, Larsson J, Nyberg P, Thörne J, Eriksson KF, Apelqvist J (2014) Early revascularization after admittance to a diabetic foot center affects the healing probability of ischemic foot ulcer in patients with diabetes. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 48: 440-446
50. Ennker J, Lauruschkat A (2001) Mechanische vs. biologische Herzklappen. *Zeitschrift für Kardiologie* 90: 39-47
51. Faglia E, Clerici G, Clerissi J, Gabrielli L, Losa S, Mantero M, Caminiti M, Curci V, Lupattelli T, Morabito A (2006) Early and five-year amputation and survival rate of diabetic patients with critical limb ischemia: Data of a cohort study of 564 patients. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 32: 484-490
52. Faye N, Fournier L, Balvay D, Thiam R, Orliaguet G, Clément O, Dewachter P (2012) Macromolecular capillary leakage is involved in the onset of anaphylactic hypotension. *Anesthesiology* 117: 1072-1079
53. FitzGerald SF, Kelly C, Humphreys H (2005) Diagnosis and treatment of prosthetic aortic graft infections: Confusion and inconsistency in the absence of evidence or consensus. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 56: 996-999

54. Fowkes FGR, Aboyans V, Fowkes FJL, McDermott MM, Sampson UKA, Criqui MH (2016) Peripheral artery disease: epidemiology and global perspectives. *Nature Reviews Cardiology* 14: 156-170
55. Galie PA, Nguyen DHT, Choi CK, Cohen DM, Janmey PA, Chen CS (2014) Fluid shear stress threshold regulates angiogenic sprouting. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 111: 7968-7973
56. García Páez JM, Herrero EJ, Carrera Sanmartín A, Millán I, Cordon A, Martín Maestro M, Rocha A, Arenaz B, Castillo-Olivares JL (2003) Comparison of the mechanical behaviors of biological tissues subjected to uniaxial tensile testing: Pig, calf and ostrich pericardium sutured with Gore-Tex. *Biomaterials* 24: 1671-1679
57. Gauvin R, Marinov G, Mehri Y, Klein J, Li B, Larouche D, Guzman R, Zhang Z, Germain L, Guidoin R (2013) A comparative study of bovine and porcine pericardium to highlight their potential advantages to manufacture percutaneous cardiovascular implants. *Journal of Biomaterials Applications* 28: 552-565
58. Greenblatt DY, Rajamanickam V, Mell MW (2011) Predictors of surgical site infection after open lower extremity revascularization. *Journal of Vascular Surgery* 54: 433-439
59. Grimsley BR, Wells JK, Pearl GJ, Garrett W V., Shutze WP, Talkington CM, Gable DR, Smith BL, Thompson JE (2022) Bovine pericardial patch angioplasty in carotid endarterectomy. *The American Surgeon* 67: 890-895
60. Gupta PK, Fernandes-Taylor S, Ramanan B, Engelbert TL, Kent KC (2014) Unplanned readmissions after vascular surgery. *Journal of Vascular Surgery* 59: 473-482
61. Hardman S, Cope A, Swann A, Bell PRF, Naylor AR, Hayes PD (2004) An in vitro model to compare the antimicrobial activity of silver-coated versus rifampicin-soaked vascular grafts. *Annals of Vascular Surgery* 18: 308-313
62. Heintzen MP (2013) Periphere arterielle Verschlusskrankheit – Neue ESC-Leitlinie zu Diagnose, Therapie und klinischen Szenarien. *Kliniker* 42: 138-143
63. Henry AJ, Hevelone ND, Belkin M, Nguyen LL (2011) Socioeconomic and hospital-related predictors of amputation for critical limb ischemia. *Journal of Vascular Surgery* 53: 330-339
64. Hickey GL, Grant SW, Bridgewater B, Kendall S, Bryan AJ, Kuo J, Dunning J (2014) A comparison of outcomes between bovine pericardial and porcine valves in 38 040 patients in England and Wales over 10 years. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 47: 1067-1074
65. Hicks RCJ, Greenhalgh RM (1997) The pathogenesis of vascular graft infection. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 14: 5-9
66. Hinchliffe RJ, Brownrigg JRW, Apelqvist J, Boyko EJ, Fitridge R, Mills JL, Reekers J, Shearman CP, Zierler RE, Schaper NC (2016) IWGDF guidance on the diagnosis,

- prognosis and management of peripheral artery disease in patients with foot ulcers in diabetes. *Diabetes/Metabolism Research and Reviews* 32: 37-44
67. Hodge S, Greaves N, Murray D (2021) The Use of Bovine Pericardial Patches in Vascular Surgery: Where do we draw the line in obtaining informed consent? *Annals of Vascular Surgery* 76: 536-541
 68. Holzhey D, Mohr FW, Walther T, Möllmann H, Beckmann A, Kötting J, Figulla HR, Cremer J, Kuck KH, Lange R, Sack S, Schuler G, Beyersdorf F, Böhm M, Heusch G, Meinertz T, Neumann T, Papoutsis K, Schneider S, Welz A, Hamm CW (2016) Current results of surgical aortic valve replacement: Insights from the German aortic valve registry. *Annals of Thoracic Surgery* 101: 658-666
 69. Jeanmonod P, Laschke MW, Gola N, Heesen M Von, Glanemann M, Dold S, Menger MD, Moussavian MR (2013) Silver acetate coating promotes early vascularization of Dacron vascular grafts without inducing host tissue inflammation. *Journal of Vascular Surgery* 58: 1637-1643
 70. Johnson WC, Lee KK (1999) Comparative evaluation of externally supported Dacron and polytetrafluoroethylene prosthetic bypasses for femorofemoral and axillofemoral arterial reconstructions. *Journal of Vascular Surgery* 30: 1077-1083
 71. Jorge-Herrero E, Fonseca C, Barge AP, Turnay J, Olmo N, Fernández P, Lizarbe MA, García Páez JM (2010) Biocompatibility and calcification of bovine pericardium employed for the construction of cardiac bioprotheses treated with different chemical crosslink methods. *Artificial Organs* 34: E168-E176
 72. Kamitani F, Nishioka Y, Noda T, Myojin T, Kubo S, Higashino T, Okada S, Akai Y, Ishii H, Takahashi Y, Imamura T (2021) Incidence of lower limb amputation in people with and without diabetes: a nationwide 5-year cohort study in Japan. *BMJ open* 11: e048436
 73. Kang JL, Patel VI, Conrad MF, LaMuraglia GM, Chung TK, Cambria RP (2008) Common femoral artery occlusive disease: contemporary results following surgical endarterectomy. *Journal of Vascular Surgery* 48: 872-877
 74. Kemp GJ, Roberts N, Bimson WE, Bakran A, Harris PL, Gilling-Smith GL, Brennan J, Rankin A, Frostick SP (2001) Mitochondrial function and oxygen supply in normal and in chronically ischemic muscle: A combined ³¹P magnetic resonance spectroscopy and near infrared spectroscopy study in vivo. *Journal of Vascular Surgery* 34: 1103-1110
 75. Khorramirouz R, Go JL, Noble C, Morse D, Lerman A, Young MD (2019) In vivo response of acellular porcine pericardial for tissue engineered transcatheter aortic valves. *Scientific Reports* 9: 1-11
 76. Kim MS, Jeong S, Lim HG, Kim YJ (2015) Differences in xenoreactive immune response and patterns of calcification of porcine and bovine tissues in α -Gal knock-out and wild-type

- mouse implantation models, 392-399. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 48: 392-399
77. Klinkert P, Schepers A, Burger DHC, Bockel JH Van, Breslau PJ (2003) Vein versus polytetrafluoroethylene in above-knee femoropopliteal bypass grafting: Five-year results of a randomized controlled trial. *Journal of Vascular Surgery* 37: 149-155
 78. Klinkert P, Post PN, Breslau PJ, Bockel JH van (2004) Saphenous vein versus PTFE for above-knee femoropopliteal bypass. A review of the literature. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 27: 357-362
 79. Klyscz T, Jünger M, Jung F, Zeintl H (1997) Cap Image – ein neuartiges computerunterstütztes Videobildanalysesystem für die dynamische Kapillarmikroskopie. *Biomedizinische Technik* 42: 168-175
 80. Kolluru GK, Bir SC, Kevil CG (2012) Endothelial dysfunction and diabetes: Effects on angiogenesis, vascular remodeling, and wound healing. *International Journal of Vascular Medicine* 2012: Article ID 918267, 30 pages
 81. Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) (2018) Prävention postoperativer Wundinfektionen. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* 61: 448-473
 82. Kraft CN, Burian B, Diedrich O, Wimmer MA (2001) Implications of orthopedic fretting corrosion particles on skeletal muscle microcirculation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 12: 1057-1062
 83. Kreibich M, Siepe M, Morlock J, Beyersdorf F, Kondov S, Scheumann J, Kari FA, Berger T, Schröfel H, Rylski B, Czerny M (2018) Surgical treatment of native and prosthetic aortic infection with xenopericardial tube grafts. *Annals of Thoracic Surgery* 106: 498-504
 84. Kreuger J, Phillipson M (2016) Targeting vascular and leukocyte communication in angiogenesis, inflammation and fibrosis. *Nature Reviews Drug Discovery* 15: 125-142
 85. Kreutzburg T, Peters F, Rieß HC, Hischke S, Marschall U, Kriston L, L'Hoest H, Sedrakyan A, Debus ES, Behrendt CA (2020) Comorbidity patterns among patients with peripheral arterial occlusive disease in Germany: A trend analysis of health insurance claims data. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 59: 59-66
 86. Kröger K, Berg C, Santosa F, Malyar N, Reinecke H (2017) Lower limb amputation in Germany – An analysis of data from the German Federal Statistical Office between 2005 and 2014. *Deutsches Ärzteblatt International* 114: 130-136
 87. Kühnl A, Knipfer E, Lang T, Bohmann B, Trenner M, Eckstein HH (2020) Hospital incidence, in-patient care and outcome of peripheral arterial occlusive disease and arterial thrombosis/embolism in Germany 2005–2018. *Gefäßchirurgie* 25: 433-445
 88. Kujath P, Scheele J (2006) Auftreten und Virulenzfaktoren bakterieller Erreger bei Gefäßinfektionen. *Gefäßchirurgie* 11: 393-401

89. Kullo IJ, Bailey KR, Kardia SLR, Mosley TH, Boerwinkle E, Turner ST (2003) Ethnic differences in peripheral arterial disease in the NHLBI Genetic Epidemiology Network of Arteriopathy (GENOA) study. *Vascular Medicine* 8: 237-242
90. Kurt M, Litmathe J, Boeken U, Feindt P, Gams E (2005) Aortenklappenersatz mit perikardialen Bioprothesen – Hämodynamische Eigenschaften. *Zeitschrift für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie* 19: 156-161
91. Ladowski JM, Ladowski JS (2011) Retrospective analysis of bovine pericardium (Vascu-Guard) for patch closure in carotid endarterectomies. *Annals of Vascular Surgery* 25: 646-650
92. LaMuraglia GM, Conrad MF, Chung T, Hutter M, Watkins MT, Cambria RP (2009) Significant perioperative morbidity accompanies contemporary infrainguinal bypass surgery: An NSQIP report. *Journal of Vascular Surgery* 50: 299-304.e4
93. Laschke MW, Vollmar B, Menger MD (2011) The dorsal skinfold chamber: Window into the dynamic interaction of biomaterials with their surrounding host tissue. *European Cells and Materials* 22: 147-167
94. Lau KKW, Bochenek-Klimczyk K, Galiñanes M, Sosnowski AW (2008) Replacement of the ascending aorta, aortic root, and valve with a novel stentless valved conduit. *The Annals of Thoracic Surgery* 86: 278-281
95. Lawall H, Huppert P, Dohmen A, Espinola-Klein, Ploenes C, Rümenapf PDrG (2016) S-3 Leitlinie PAVK – Diagnostik, Therapie und Nachsorge der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. *Vasa – The European Journal of Vascular Medicine* 45: 17-21
96. Lee C, Lim HG, Lee CH, Kim YJ (2017) Effects of glutaraldehyde concentration and fixation time on material characteristics and calcification of bovine pericardium: Implications for the optimal method of fixation of autologous pericardium used for cardiovascular surgery. *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 24: 402-406
97. Leid JG, Shirliff ME, Costerton JW, Stoodley and P (2002) Human leukocytes adhere to penetrate and respond to staphylococcus aureus biofilms. *Infection and Immunity* 70: 6339-6345
98. LeMaitre® Vascular Inc (2019) XenoSure® Biologic Patch Instructions. Zitiert am 01.07.2023. Verfügbar unter: <https://www.lemaitre.com/sites/default/files/downloads/product-ifu/R2398-01%20Rev.%20O.pdf>
99. Lertkiatmongkol P, Liao D, Mei H, Hu Y, Newman PJ (2016) Endothelial functions of platelet/endothelial cell adhesion molecule-1 (CD31). *Current Opinion in Hematology* 23: 253-259

100. Li X, Guo Y, Ziegler KR, Model LS, Eghbalieh SDD, Brenes RA, Kim ST, Shu C, Dardik A (2011) Current Usage and Future Directions for the Bovine Pericardial Patch. *Annals of Vascular Surgery* 25: 561-568
101. Liao K, Seifter E, Hoffman D, Yellin EL, Frater RWM (1992) Bovine pericardium versus porcine aortic valve: Comparison of tissue biological properties as prosthetic valves. *Artificial Organs* 16: 361-365
102. Liesker DJ, Gareb B, Looman RS, Donners SJA, Borst GJ de, Zeebregts CJ, Saleem BR (2023) Patch angioplasty during carotid endarterectomy using different materials has similar clinical outcomes. *Journal of Vascular Surgery* 77: 559-566.e1
103. Linhardt RJ, Toida T (2004) Role of glycosaminoglycans in cellular communication. *Accounts of Chemical Research* 37: 431-438
104. Loh SA, Howell BS, Rockman CB, Cayne NS, Adelman MA, Gulkarov I, Veith FJ, Maldonado TS (2013) Mid- and long-term results of the treatment of infrainguinal arterial occlusive disease with precuffed expanded polytetrafluoroethylene grafts compared with vein grafts. *Annals of Vascular Surgery* 27: 208-217
105. Lühr M, Peterß S, Hagl C, Pichlmaier M (2016) Der Frozen-Elephant-Trunk: Indikation, Technik und Ergebnisse. *Gefäßchirurgie* 21: 232-239
106. Lutz B, Reeps C, Biro G, Knappich C, Zimmermann A, Eckstein HH (2017) Bovine pericardium as new technical option for in situ reconstruction of aortic graft infection. *Annals of Vascular Surgery* 41: 118-126
107. Malyar N, Freisinger E, Meyborg M, Lüders F, Gebauer K, Reinecke H, Lawall H (2016) Amputations and mortality in in-hospital treated patients with peripheral artery disease and diabetic foot syndrome. *Journal of Diabetes and Its Complications* 30: 1117-1122
108. Malyar N, Freisinger E, Reinecke H (2018) Peripheral arterial disease – trends in morbidity and mortality. *Deutsche Medizinische Wochenschrift* 143: 766-770
109. Mao J, Rassoli A, Tong Y, Rouse EN, Le-Bel G, How D, Germain L, Fatouraee N, Zhang Z, Reed RR, Guidoin R (2019) Donkey pericardium compares favorably with commercial xenopericardia used in the manufacture of transcatheter heart valves. *Artificial Organs* 43: 976-987
110. Martin GH, Saqib NU, Safi HJ (2021) Treatment of an infected, bovine pericardial carotid patch: Excision and reconstruction with a superficial femoral arterial interposition graft. *Annals of Vascular Surgery* 70: 565.e1-565.e5
111. McMillan WD, Leville CD, Hile CN (2012) Bovine pericardial patch repair in infected fields. *Journal of Vascular Surgery* 55: 1712-1715
112. Menger MD, Hammersen F, Walter P, Messmer K (1990) Neovascularization of prosthetic vascular grafts. Quantitative analysis of angiogenesis and microhemodynamics by means of intravital microscopy. *Thoracic and Cardiovascular Surgeon* 38: 139-145.

113. Menger MD, Hammersen F, Messmer K (1992) In vivo assessment of neovascularization and incorporation of prosthetic vascular biografts. *Thoracic and Cardiovascular Surgeon* 40: 19-25
114. Menger MD, Lehr HA (1993) Scope and perspectives of intravital microscopy – bridge over from in vitro to in vivo. *Immunology Today* 14: 519-522
115. Milea S, Kösek V, Milea A, Waele M De, Rasch A, Wiebe K (2017) Rekonstruktion von Zwerchfeldefekten mit allogenem, biologischem Gewebe. *Zentralblatt für Chirurgie – Zentralblatt für Allgemeine, Viszeral-, Thorax- und Gefäßchirurgie* 142(S01): 67-112
116. Miller DL, Force SD, Pickens A, Fernandez FG, Luu T, Mansour KA (2013) Chest wall reconstruction using biomaterials. *Annals of Thoracic Surgery* 95: 1050-1056
117. Miyazaki T, Yamagishi M, Maeda Y, Taniguchi S, Fujita S, Hongu H, Yaku H (2018) Long-term outcomes of expanded polytetrafluoroethylene conduits with bulging sinuses and a fan-shaped valve in right ventricular outflow tract reconstruction. *Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 155: 2567-2576
118. Moore WS, Malone JM, Keown K (1980) Prosthetic arterial graft material: Influence on neointimal healing and bacteremic infectibility. *Archives of Surgery* 115: 1379-1383
119. Moussavian MR, Laschke MW, Schlachtenberger G, Heesen M von, Wagner M, Glanemann M, Menger MD (2016) Perigraft vascularization and incorporation of implanted Dacron prostheses are affected by rifampicin coating. *Journal of Vascular Surgery* 64: 1815-1824
120. Müller K-M, Dasbach G (1994) The Pathology of Vascular Grafts. Current topics in pathology. *Ergebnisse der Pathologie* 86: 273-306
121. Müller M (2012) *Chirurgie für Studium und Praxis*. Medizinische Verlags- und Informationsdienste, Breisach
122. Murphy GJ, Pararajasingam R, Nasim A, Dennis MJ, Sayers RD (2001) Methicillin-resistant staphylococcus aureus infection in vascular surgical patients. *Annals of the Royal College of Surgeons of England* 83: 158-163
123. Mussa FF, Hedayati N, Zhou W, El-Sayed HF, Kougias P, Darouiche RO, Lin PH (2007) Prevention and treatment of aortic graft infection. *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 5: 305-315
124. Muto A, Nishibe T, Dardik H, Dardik A (2009) Patches for carotid artery endarterectomy: Current materials and prospects. *Journal of Vascular Surgery* 50: 206-213
125. Naldaiz-Gastesi N, Bahri OA, López de Munain A, McCullagh KJA, Izeta A (2018) The panniculus carnosus muscle: an evolutionary enigma at the intersection of distinct research fields. *Journal of Anatomy* 233: 275-288

126. National Research Council (2011) Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. Institute for Laboratory Animal Research (2011) Guide for the care and use of laboratory animals. National Academies Press, Washington D.C.
127. Neufang A (2016) Xenogene Materialien. Operative und interventionelle Gefäßmedizin. Springer, Berlin Heidelberg
128. Neufang A, Savvidis S (2016) Operative technique and morbidity of superficial femoral vein harvest. *Gefäßchirurgie* 21: 45-54
129. Olofsson P, Rabahie GN, Matsumoto K, Ehrenfeld WK, Ferrell LD, Goldstone J, Reilly LM, Stoney RJ (1995) Histopathological characteristics of explanted human prosthetic arterial grafts: Implications for the prevention and management of graft infection. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 9: 143-151
130. Papakostas JC, Avgos S, Arnaoutoglou E, Nassis C, Peroulis M, Bali C, Papadopoulos G, Matsagkas MI (2014) Use of the Vascul-Guard bovine pericardium patch for arteriotomy closure in carotid endarterectomy. Early and long-Term results. *Annals of Vascular Surgery* 28: 1213-1218
131. Post ICJH, Vos CG (2019) Systematic review and meta-analysis on the management of open abdominal aortic graft infections. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 58: 258-281
132. Prusiner SB (1998) Prions. *PNAS – Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. *National Academy of Sciences* 95: 13363-13383
133. Rantner B, Fraedrich G (2017) Arteriosklerotische Stenosen der extrakraniellen A. carotis: Operative Therapie. Operative und interventionelle Gefäßmedizin. Springer, Berlin Heidelberg
134. Reinecke H, Unrath M, Freisinger E, Bunzemeier H, Meyborg M, Lüders F, Gebauer K, Roeder N, Berger K, Malyar NM, 1Division (2015) Peripheral arterial disease and critical limb ischaemia: still poor outcomes and lack of guideline adherence. *European Heart Journal* 36: 932-938
135. Risau W (1997) Mechanisms of angiogenesis. *Nature* 386: 671-674
136. RKI (2018) Prävention postoperativer Wundinfektionen: Empfehlung der Kommission für Krankenhaushygiene und Infektionsprävention (KRINKO) beim Robert Koch-Institut. *Bundesgesundheitsblatt – Gesundheitsforschung – Gesundheitsschutz* 61: 448-473
137. Roll S, Müller-Nordhorn J, Keil T, Scholz H, Eidt D, Greiner W, Willich SN (2008) Dacron® vs. PTFE as bypass materials in peripheral vascular surgery – Systematic review and meta-analysis. *BMC Surgery* 8: 1-8
138. Rücker M, Laschke MW, Junker D, Carvalho C, Schramm A, Mülhaupt R, Gellrich N-C, Menger MD (2006) Angiogenic and inflammatory response to biodegradable scaffolds in dorsal skinfold chambers of mice. *Biomaterials* 27: 5027-5038

139. Salles CA, Puig LB, Casagrande IS, Vieira GL, Kalil RA, Souza LSS, Andrade MAM (1991) Early experience with crimped bovine pericardial conduit for arterial reconstruction. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 5: 23-278
140. Scheurig-Muenkler C, Schwarz F, Kroencke TJ, Decker JA (2022) Impact of the COVID-19 Pandemic on in-patient treatment of peripheral artery disease in Germany during the first pandemic wave. *Journal of Clinical Medicine* 11: 1-9
141. Seeger JM, Pretus HA, Welborn MB, Ozaki CK, Flynn TC, Huber TS (2000) Long-term outcome after treatment of aortic graft infection with staged extra-anatomic bypass grafting and aortic graft removal. *Journal of Vascular Surgery* 32: 451-461
142. Siracuse JJ, Nandivada P, Giles KA, Hamdan AD, Wyers MC, Chaikof EL, Pomposelli FB, Schermerhorn ML (2013) Prosthetic graft infections involving the femoral artery. *Journal of Vascular Surgery* 57: 700-705
143. Song P, Rudan D, Zhu Y, Fowkes FJL, Rahimi K, Fowkes FGR, Rudan I (2019) Global, regional, and national prevalence and risk factors for peripheral artery disease in 2015: an updated systematic review and analysis. *The Lancet Global Health* 7: e1020-e1030
144. Speer DP, Chvapil M, Eskelson CD, Ulreich J (1980) Biological effects of residual glutaraldehyde in glutaraldehyde-tanned collagen biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research* 14: 753-764
145. Statistisches Bundesamt Deutschland, Wiesbaden, vertreten durch den Präsidenten (2024) Zitiert am 17.05.2024. Statistik-Code: 23141-0101. Verfügbar unter: <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=ergebnistabelleQualitaetSeparatAN&levelindex=3&levelid=1715897172487&downloadname=23141-0101#abreadcrumb>. OPS-Code: 5-864, 5-865
146. Steinbauer M, Harris AG, Abels C, Messmer K (2000) Characterization and prevention of phototoxic effects in intravital fluorescence microscopy in the hamster dorsal skinfold model. *Langenbeck's Archives of Surgery* 385: 290-298
147. Stöwe I, Pissarek J, Moosmann P, Pröhl A, Pantermehl S, Bielenstein J, Radenkovic M, Jung O, Najman S, Alkildani S, Barbeck M (2021) Ex Vivo and In Vivo Analysis of a Novel Porcine Aortic Patch for Vascular Reconstruction. *International Journal of Molecular Sciences* 22:14
148. Szilagyi DE, Smith RF, Elliott JP, Vrandecic MP (1972) Infection in arterial reconstruction with synthetic grafts. *Annals of Surgery* 176: 321-333
149. Takagi H, Goto S nosuke, Matsui M, Manabe H, Umemoto T (2010) A contemporary meta-analysis of Dacron versus polytetrafluoroethylene grafts for femoropopliteal bypass grafting. *Journal of Vascular Surgery* 52: 232-236

150. Tao E, Wan L, Wang W, Luo Y, Zeng J, Wu X (2017) The prognosis of infective endocarditis treated with biological valves versus mechanical valves: A meta-analysis. *PLoS ONE* 12: 1-14
151. Texakalidis P, Giannopoulos S, Charisis N, Giannopoulos S, Karasavvidis T, Koullias G, Jabbour P (2018) A meta-analysis of randomized trials comparing bovine pericardium and other patch materials for carotid endarterectomy. *Journal of Vascular Surgery* 68: 1241-1256.e1
152. Thomas JP, So KL, Turner JT, Malanowski AJ, Colvard BD (2022) Optimal conduit choice for open lower extremity bypass in chronic limb-threatening ischemia. *Seminars in Vascular Surgery* 35: 172179
153. Tiefenbacher C (2019) Periphere arterielle Verschlusskrankheit, Karotis- und Nierenarterienstenose. *Kliniker* 48: 176
154. Tiesenhausen K, Konstantiniuk P, Hessinger M (2011) Externe Verstärkung variköser Venen in der Gefäßchirurgie. *Gefäßchirurgie* 16: 266-272
155. Timmis A, Townsend N, Gale CP, Torbica A, Lettino M, Petersen SE, Mossialos EA, Maggioni AP, Kazakiewicz D, May HT, Smedt D De, Flather M, Zuhlke L, Beltrame JF, Huculeci R, Tavazzi L, Hindricks G, Bax J, Casadei B, Achenbach S, Wright L, Vardas P (2020) European Society of Cardiology: Cardiovascular disease statistics 2019. *European Heart Journal* 41: 12-85
156. Töpel I, Uhl C, Ayx I, Steinbauer M (2016) Xenografts in septic vascular surgery. *Gefäßchirurgie* 21: 55-58
157. Tordoir JHM, Hofstra L, Leunissen KML, Kitslaar PJEHM (1995) Early experience with stretch polytetrafluoroethylene grafts for haemodialysis access surgery: Results of a prospective randomised study. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 9: 305-309
158. Umashankar PR, Sabareeswaran A, Shenoy SJ (2017) Long-term healing of mildly cross-linked decellularized bovine pericardial aortic patch. *Journal of Biomedical Materials Research – Part B Applied Biomaterials* 105: 2145-2152
159. Us MH, Sungun M, Sanioglu S, Poca S, Cebeci BS, Ogus T, Ucak A, Guler A (2004) A retrospective comparison of bovine pericardium and polytetrafluoroethylene patch for closure of ventricular septal defects. *Journal of International Medical Research* 32: 218-221
160. Webb J, Parkin D, Tøndel K, Simitsis P, Roxburgh J, Chambers JB (2018) A comparison of early redo surgery rates in Mosaic porcine and Perimount bovine pericardial valves. *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery* 54: 724-728

161. Weiss S, Tobler EL, Tengg-Kobligk H von, Makaloski V, Becker D, Carrel TP, Schmidli J, Wyss TR (2017) Self made xeno-pericardial aortic tubes to treat native and aortic graft infections. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery* 54: 646-652
162. World Health Organization (2013) Global action plan for the prevention and control of noncommunicable diseases 2013-2020. WHO Document Production Services, Genf
163. Wu MH De, Shi Q, Onuki Y, Kouchi Y, Sauvage LR (1996) Histologic observation of continuity of transmural microvessels between the perigraft vessels and flow surface microostia in a porous vascular prosthesis. *Annals of Vascular Surgery* 10: 11-15
164. Yap KH, Murphy R, Devbhandari M, Venkateswaran R (2013) Aortic valve replacement: Is porcine or bovine valve better? *Interactive Cardiovascular and Thoracic Surgery* 16: 361-373
165. Young RM, Cherry KJ, Davis PM, Gloviczki P, Bower TC, Panneton JM, Hallett JW (1999) The results of in situ prosthetic replacement for infected aortic grafts. *American Journal of Surgery* 178: 136-140
166. Zegelman M, Guenther G, Eckstein HH, Kreißler-Haag D, Langenscheidt P, Mickley V, Ritter R, Schmitz-Rixen T, Wagner R, Zühlke H (2006) In-situ-Rekonstruktion mit alloplastischen Prothesen beim Gefäßinfekt. Evaluation mit Silberacetat beschichteter Prothesen. *Gefässchirurgie* 11: 402-407
167. Zimmerli W, Sendi P (2011) Pathogenesis of implant-associated infection: The role of the host. *Seminars in Immunopathology* 33: 295-306
168. Znaniecki Ł, Brzeziński J, Halman J, Marciniuk P, Michalski P, Wojciechowski J (2023) Early and mid-term results of native and aortic graft infections treatment via surgeon-constructed porcine pericardial aortic tubes. *Journal of Vascular Surgery* 77: 14S
169. Zouhair S, Sasso ED, Tuladhar SR, Fidalgo C, Vedovelli L, Filippi A, Borile G, Bagno A, Marchesan M, Rossi G De, Gregori D, Wolkers WF, Romanato F, Korossis S, Gerosa G, Iop L (2020) A comprehensive comparison of bovine and porcine decellularized pericardia: New insights for surgical applications. *Biomolecules* 10: 371
170. Zühlke H (2006) Autologe Verfahren zur Therapie von Gefäßinfektionen. *Gefässchirurgie* 11: 408-422

7. Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ABI	Ankle-Brachial-Index
ASA	American Society of Anesthesiologists
ASCVD	Atherosclerotic cardiovascular disease
BASIL	Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg
Caspase-3	Cysteine-dependent Aspartate-specific Protease-3
CD-31	Cluster of Differentiation-31
COVID-19	Corona Virus Disease 2019
EZM	Extrazelluläre Matrix
ESC	European Society of Cardiology
ePTFE	expandiertes Polytetrafluorethylen
FITC-Dextran	Fluorescein isothiocyanate-Dextran
GAG	Glykosaminoglykane
GPI	Gefäßprotheseninfektion
HE	Hämatoxylin-Eosin
HPF	high-power field
IVM	Intravitalmikroskopie
KHK	Koronare Herzkrankheit
MPO	Myeloperoxidase
MRSA	Methicillin-resistenter Staphylococcus aureus
NO	Stickstoffmonoxid
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCNA	Proliferating Cell Nuclear Antigen
PET	Polyethylenterephtelat
RHK	Rückenhautkammer
RKI	Robert Koch-Institut
ROI	Region of Interest

SEM	Standard Error of the Mean, deutsch: Standardfehler des Mittelwertes
Tab.	Tabelle
TAVI	Transcatheter Aortic Valve Implantation
TEA	Thrombendarteriektomie
WHO	World Health Organization

8. Publikation

Schlachtenberger G, Doerr F, Brezina A, Menghesha H, Heldwein MB, Bennink G, Menger MD, Moussavian M, Hekmat K, Wahlers T. Perigraft reaction and incorporation of porcine and bovine pericardial patches. Interactive CardioVascular and Thoracic Surgery 32: 638-647

9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich meinen aufrichtigen Dank an all jene richten, die mich auf meinem Weg zur Fertigstellung dieser Doktorarbeit unterstützt haben.

Meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. med. M. R. Moussavian, danke ich von Herzen für seine wertvolle Unterstützung und Anleitung während meiner Forschungsarbeit. Die freundliche Überlassung des interessanten Forschungsthemas und seine Betreuung sowie sein Verständnis für meine Fragen haben mich und meine Arbeit maßgeblich beeinflusst. Sein Fachwissen und sein Engagement waren mir eine große Stütze.

Des Weiteren möchte ich meinen herzlichen Dank an die wissenschaftlichen Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter sowie das Sekretariat des Instituts für Klinisch-Experimentelle Chirurgie der Universität des Saarlandes richten, insbesondere an die Institutsleitung, Herrn Prof. Dr. med. M. D. Menger. Ohne ihre großzügige Unterstützung bei der Bereitstellung von Räumlichkeiten, Versuchstieren und Expertise wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ein herzliches Dankeschön geht auch an Frau J. Becker für die Herstellung der histologischen Präparate.

Ein besonderer Dank gebührt meiner Arbeitsgruppe und meinen Betreuern, Herrn PD Dr. M. von Heesen und Herrn Dr. P. Jeanmonod, für ihre fachkundige Anleitung und ihre Unterstützung bei der Durchführung der Experimente.

Außerdem möchte ich meinem Promotionskollegen, Herrn Dr. G. Schlachtenberger, der mir während meiner Doktorarbeit und jetzt als geschätzter Kollege zur Seite steht, meinen herzlichsten Dank aussprechen. Seine mentale Unterstützung und seine wertvollen sachlichen Anregungen haben maßgeblich zu meiner Arbeit beigetragen.

Abschließend möchte ich meine tiefe Dankbarkeit für die Liebe und Unterstützung meiner Familie zum Ausdruck bringen. Besonders meinem Ehemann möchte ich dafür danken, dass er mein größter Rückhalt war und mir unermüdlich zur Seite stand.

10. Lebenslauf