

Aus der Klinik für Neurochirurgie
(Prof. Dr. med. V. Rhode)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Untersuchung über die Feingewebs-
Fremdkörperinteraktion an internen
Bauteilen und Oberflächen von Liquor-
Shuntventilen**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
(für Zahnheilkunde)
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Constantin Reitemeyer

aus

Berlin

Göttingen 2022

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuer: Prof. Dr. med. H.-C. Ludwig

Ko-Betreuer: Prof. Dr. med. M. Sigler

Prüfungskommission

Referent: Prof. Dr. med. H.-C. Ludwig

Ko-Referent/in: Prof. Dr. Arndt Schilling

Drittreferent/in: PD Dr. Sabine Sennhenn-Kirchner

Datum der mündlichen Prüfung: 17.02.2023

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Untersuchung über die Feingewebs-Fremdkörperinteraktion an internen Bauteilen und Oberflächen von Liquor-Shuntventilen“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis.....	5
Tabellenverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	8
1 Einleitung	9
1.1 Allgemeine Einführung.....	9
1.2 Hydrocephalus	11
1.2.1 Zentralnervensystem.....	11
1.2.2 Liquor cerebrospinalis	11
1.2.3 Definition.....	12
1.2.4 Pathophysiologie und Ätiologie.....	12
1.2.5 Epidemiologie.....	13
1.2.6 Klinik und Diagnostik.....	13
1.3 Therapie des Hydrocephalus.....	14
1.3.1 Historische Entwicklung der Hydrocephalustherapie.....	14
1.3.2 Liquorableitung mittels Shunt	15
1.3.3 Ventiltypen	16
1.4 Shuntrevisionen	18
1.4.1 Ursachen für Revisionen.....	19
1.4.2 Gewebeuntersuchung von okkludierten Shuntsystemen	20
1.5 Überlegungen und Fragestellung	20
2 Material und Methoden	22
2.1 Patienten	22
2.1.1 Datenerhebung.....	22
2.1.2 Datensicherheit	23
2.2 Shunt-Material	23
2.3 Präparateherstellung.....	23
2.3.1 Verwendete Verbrauchsmaterialien.....	24
2.3.2 Maschinen und Hilfsgeräte	24

2.3.3	Einbettung in Kunstharz	25
2.3.4	Einbettung in Paraffin.....	26
2.3.5	Herstellung der Schliffe	26
2.4	Übersichtsfärbung nach Richardson	27
2.4.1	Verwendete Verbrauchsmaterialien und Hilfsgeräte	28
2.4.2	Färbung	28
2.5	Immunhistochemie	28
2.5.1	Allgemeine Verbrauchsmaterialien	29
2.5.2	Vorbehandlung und Antikörper	29
2.5.3	Färbeprotokoll der Präparate	31
2.5.4	Kontrollfärbungen an Geweben einer Arachnoidalzyste	31
2.5	Virtuelle Mikroskopie und Software	33
2.6	Auswertung der Übersichtsfärbungen	33
2.7	Auswertung der immunhistochemischen Färbungen.....	34
3	Ergebnisse	35
3.1	Klinische Daten	35
3.2	Histologische Auswertung.....	38
3.2.1	Präparat 1	38
3.2.2	Präparat 2	44
3.2.3	Präparat 3	48
3.2.4	Präparat 4	51
3.2.5	Präparat 5	55
3.2.6	Kontrollmaterial.....	59
3.2.7	Übersicht über die histologische Auswertung	62
4	Diskussion.....	67
4.1	Okklusion durch physiologische Gewebe des ZNS.....	68
4.2	Okklusion durch Entzündungsgewebe.....	69
4.3	Okklusion durch pathologische Gewebe	71
4.4	Auswirkungen des internen Shunt-Designs auf Okklusionen.....	71
4.5	Limitationen und Fehlerevaluation.....	73

4.6	Ausblick.....	74
5	Zusammenfassung	76
6	Literaturverzeichnis	78

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Explantiertes Shuntsystem bestehend aus einer Vorkammer (oben links), einem miniNAV Ventil (oben rechts) und einem proSa Ventil (unten) der Firma Miethke.....	17
Abbildung 2: Öffnung im Ventilboden eines ProSa Ventils (Miethke).....	25
Abbildung 3 : Zentraler Längsschnitt durch den Block eines ProSa Ventils (Miethke).....	26
Abbildung 4: Dünnschnitt eines ProSa Ventils (Miethke).....	27
Abbildung 5: Arachnoidalzyste eines zehnjährigen Patienten.....	32
Abbildung 6: Geschlechterverteilung des Patientenkollektivs (n = 19).....	35
Abbildung 7: Anteil Früh- und Reifgeborener (n = 19).....	35
Abbildung 8: Äthiologie des Hydrocephalus im Patientenkollektiv (n = 19).....	36
Abbildung 9: Postoperative Diagnosen nach Shuntrevision (n = 19).....	37
Abbildung 10: Übersicht ProSA Ventil (Miethke) und Ausschnitte (1 - 4), Richardson Färbung	39
Abbildung 11: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Gewebemarkierung (blau), Richtung des Liquorflusses (gelber Pfeil), Kugel (roter Pfeil) und Gravitationseinheit (grüne Pfeile).....	40
Abbildung 12: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-Laminin Färbung und Ausschnitt (1).....	41
Abbildung 13: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-Vimentin Färbung und Ausschnitten (1 - 2).....	42
Abbildung 14: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-GFAP Färbung und Ausschnitt (1).....	42
Abbildung 15: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-VWF und Ausschnitt (1).....	43
Abbildung 16: Übersicht ProSA Ventil (Miethke) mit Ausschnitten (1 - 3), Richardson Färbung.....	45
Abbildung 17: Ausschnitt 4 zu Abbildung 16, Übersicht ProSA Ventil (Miethke), Richardson Färbung.....	46
Abbildung 18: ProSa Ventil (Miethke) mit Gewebemarkierung (blau), Richtung des Liquorflusses (gelber Pfeil), Kugel (roter Pfeil) und Gravitationseinheit (grüne Pfeile)	46
Abbildung 19: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-KiMIP Färbung (1), Anti- Collagen IV Färbung (2), Anti-Vimentin Färbung (3) und Anti-GFAP Färbung (4).....	47
Abbildung 20: Übersicht ProSA Ventil (Miethke) mit zugehörigen Ausschnitten (1 - 2), Artefakte (grüne Pfeile), Richardson Färbung.....	49

Abbildung 21: Übersicht miniNAV Ventil (Miethke) mit Ausschnitten (1 + 2), Richardson Färbung	50
Abbildung 22: Ausschnitte 3 + 4 zu Abbildung 21.....	50
Abbildung 23: Übersicht Codman Medos Vorkammer (Johnson & Johnson) mit Ausschnitten (1 + 2).....	52
Abbildung 24: Übersicht Codman Medos Hauptkammer (Johnson & Johnson) mit Ausschnitten (1 - 3).....	53
Abbildung 25: Übersicht Ventilmechanismus Codman Medos Ventil (Johnson & Johnson) mit Ausschnitten (1 - 3).....	54
Abbildung 26: Übersicht ProSa Ventil (Miethke) mit Ausschnitten (1 -3)	56
Abbildung 27: Zugehöriger Ausschnitt 4 zu Abbildung 26, einschichtiger Zellverband (blauer Pfeil), Epithel (grüne Pfeile)	57
Abbildung 28: ProSa Ventil (Miethke) mit Gewebemarkierung (blau), Richtung des Liquorflusses (weißer Pfeil), Kugelsitz (roter Pfeil) und Gravitationseinheit (grüne Pfeile)	57
Abbildung 29: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-Fibronektin (1), Anti-Laminin (2), Anti-GFAP (3) und Anti-KiM1P Färbung (4)	58
Abbildung 30: SHUNTASSISTANT (Miethke) im Längsschnitt mit dazugehörigen Ausschnitten (1 + 2), Richardson Färbung.....	60
Abbildung 31: Vorkammer (Miethke) Längsschnitt mit dazugehörigen Ausschnitten (1 + 2), Richardson Färbung	61
Abbildung 32: Kontrollfärbungen an einer Arachnoidalzyste mit Anti-Laminin (1), - Fibronektin (2), Anti-KiM1P (3), Anti-Kollagen IV (4), Anti-GFAP (5), Anti-CD68 (6), Anti-Vimentin (7), Anti-CD42b (8) und Anti-VWF (9), Einbettung in Technovit 9100.....	62

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien für die Präparateherstellung	24
Tabelle 2: Maschinen und Hilfsgeräte für die Präparateherstellung	24
Tabelle 3: Verbrauchsmaterialien für Richardson-Färbung	28
Tabelle 4: Verwendete Verbrauchsmaterialien	29
Tabelle 5: Vorbehandlung, verwendete 1. und 2. Antikörper	29
Tabelle 6: Vorbehandlung bei verwendeten 1. und 2. Antikörpern	31
Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien für Negativkontrollen an Präparaten der Arachnoidalzyste ...	32
Tabelle 8: Färbeprotokoll für Präparate der Arachnoidalzyste	33
Tabelle 9: Übersicht über die klinischen Daten	37
Tabelle 10: Klinische Übersicht zu Präparat 1	39
Tabelle 11: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 1	43
Tabelle 12: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 2	48
Tabelle 13: Klinische Übersicht zu Präparat 3	48
Tabelle 14: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 3	51
Tabelle 15: Klinische Übersicht zu Präparat 4	51
Tabelle 16: Ergebnisse der Übersichtsfärbung von Präparat 4	55
Tabelle 17: Klinische Übersicht zu Präparat 5	55
Tabelle 18: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 5	59
Tabelle 19: Übersicht der Standardfärbungen (Richardson)	64
Tabelle 20: Übersicht der immunhistologischen Färbungen	66

Abkürzungsverzeichnis

aqua dest	aqua destillata
CRP	C-reaktives Protein
CT	Computertomographie
GFAP	<i>glial fibrillary acid protein</i>
IVH	Intraventrikuläre Hämorrhagie
MEA	2-Methoxyethyl-Acetat
MMA	Methylmethacrylat
MRT	Magnetresonanztomographie
NG2	<i>neural /glial antigen 2</i>
PK	Peritonealkatheter
TBS	<i>tri buffered saline</i>
TTBS	<i>tri buffered saline + 0,25 % Tween</i>
VK	Ventrikelkatheter
VPS	ventrikulo-peritonealer Shunt
VWF	Von-Willebrand-Faktor
ZNS	Zentralnervensystem

1 Einleitung

1.1 Allgemeine Einführung

Der Hydrocephalus ist eine schwerwiegende Erkrankung des Zentralnervensystems (ZNS), die in jedem Lebensalter auftreten und unbehandelt zum Tod führen kann. Es handelt sich um einen Aufstau von Liquor cerebrospinalis in den Hirnventrikeln, der zu einem gesteigerten Hirndruck und vor allem im Säuglingsalter zu einer Makrozephalie führen kann (Trepel 1995). Der Hydrocephalus kann kongenital (Moyes 1968) und durch Matrixblutung, Trauma, Tumoren, Infektionen oder eine Spina bifida entstehen (Flannery und Mitchell 2014). Die Prävalenz liegt weltweit in allen Altersklassen bei durchschnittlich 85/100.000 Einwohner (Isaacs et al. 2018). Vor allem im Kindesalter ist die Früherkennung und rechtzeitige Einleitung der Therapie entscheidend für die regelrechte psychische und physische Entwicklung der Kinder. 60 % der Patienten besuchen die Regelschule, 50 % arbeiten im ungeschützten Arbeitsmarkt (Bock et al. 2018).

Der Begriff Hydrocephalus wurde von Hippokrates geprägt. Erst seit 1955 existiert eine adäquate Therapie in Form der Implantation eines ventrikulo-peritonealen Shunts (VPS) zur Ableitung von überflüssigem Liquor cerebrospinalis. Der Shunt besteht aus einem Silikonkatheter und einem Ventil und verbindet die Hirnventrikel mit dem Peritoneum oder dem rechten Herzvorhof. Über die letzten Jahrzehnte haben sich verschiedene Ventiltypen, wie Differenzdruckventile, Flow-gesteuerte Ventile und Gravitationsventile etabliert, die in der Lage sind, den Liquorfluss den verschiedenen Körperpositionen anzupassen.

Der Hydrocephalus ist bei Kindern die häufigste Ursache für neurochirurgische Eingriffe (Hydrocephalus Association 2018). In den USA hat das Krankheitsbild zwischen 1997 - 2003 jährlich 38.200 – 39.900 aller Hospitalisierungen verursacht, die mit unverhältnismäßig hohen Kosten von 1,4 – 2,0 Mrd. US-Dollar verbunden waren (Simon et al. 2008). Die Versagensrate von Shuntsystemen ist relativ hoch, weshalb Shuntkomplikationen für fast dreimal so viele Hospitalisationen gesorgt haben, wie die initiale Shuntanlage (Simon et al. 2008). Nach einem Jahr funktionieren nur noch etwa 62 % der Shunts, nach zwei Jahren nur noch 52 % (Kestle et al. 2000).

Wenn ein Shunt implantiert wird, erfahren die Bauteile laufend Interaktionen mit den umliegenden Geweben und Medien, zum einen durch den Ventrikelkatheter (VK) im Hirnparenchym, als auch durch die Silikon- oder Titanbestandteile im subkutanen Bindegewebe. Schon seit längerer Zeit hat es Hersteller und interessierte Neurochirurgen bewegt, die Art der Interaktion und die diversen beteiligten Zelltypen zu verstehen.

Die heute häufig verwendeten Titanventile haben den erwarteten Vorteil der geringeren Allergietoleranzen, längeren Lebensdauer und MRT-Tauglichkeit. Bewiesen wurden diese Vorteile bisher wissenschaftlich nicht. Häufig kommt es zu Shunt-Störungen durch Okklusionen des Katheters oder des Ventils, Infektionen oder die häufige Migration der Shunt-Komponenten in Folge des Größenwachstums, vor allem im Kindesalter. Ein weiterer Faktor für langfristiges Shunt-Versagen sind Biodegradation, Verkalkungen und Vernarbungen um die Oberfläche der Shunt-Materialien. Um dem entgegen zu wirken wurden unterschiedliche Oberflächenbehandlungen des sehr elektrostatischen Silikons durch Silberbeschichtungen, Antibiotikadotierung und Hydrophilisierung der Oberflächen angewandt.

Dabei hat man sich in der Literatur bisher auf die äußere Oberfläche der Materialien konzentriert und diese überwiegend mit rasterelektronenmikroskopischen Verfahren untersucht, da Dünnschnittverfahren für derartige Fragestellungen bisher nicht zur Verfügung standen.

Seit einiger Zeit stehen Verfahren aus der Kardiologie (Prof Sigler, Universitätsmedizin Göttingen) zur Untersuchung von Herzklappen und endovaskulären Stents zur Verfügung, die die Bindegewebsinteraktion beleuchten. Wir haben diese Technik genutzt und an einer Reihe von verschiedenen Shunt-Ventilen angewendet, die aufgrund von Okklusionen oder anderer Komplikationen explantiert werden mussten. Die so entstandenen Dünnschliffe wurden von uns auf die innere Gewebebesiedlung, die Art der Zelltypen und die möglichen Auswirkungen auf die Funktion histologisch untersucht, beschrieben und verglichen.

Es gibt bereits mehrere Ansätze um Okklusionen im Shuntsystem zu umgehen und dennoch findet sich diese Komplikation noch immer häufig im Klinikalltag wieder. Wir versuchen, die Mechanismen einer Shunt-Okklusion zu verstehen, um sie zukünftig vermeiden zu können. Dabei möchten wir herausfinden, welche Gewebe und Zellen innerhalb eines okkludierten Ventils zu finden sind und welche Faktoren die Entstehung begünstigen.

1.2 Hydrocephalus

1.2.1 Zentralnervensystem

Das ZNS des menschlichen Körpers besteht aus dem Gehirn und dem Rückenmark und ist umhüllt von den Meningen. Geschützt wird es durch die Schädelknochen und die Wirbelsäule sowie durch die federnde Lagerung im Liquor cerebrospinalis, der die Hirnventrikel und den Spinalkanal ausfüllt. Das ZNS besteht aus der grauen und der weißen Substanz und ist unterteilt in Rinde, Mark und Kerne (Trepel 1995).

1.2.2 Liquor cerebrospinalis

Der Liquor cerebrospinalis füllt die kommunizierenden Hohlräume, die das Gehirn umgeben. Dazu gehören die vier Ventrikel, der Subarachnoidalraum und der Zentralkanal. Der Liquor ist eine klare, zellarme Flüssigkeit, die bei einem gesunden Erwachsenen bis zu 5 Leukozyten/ μl , ein Glukosegehalt von 60 - 80 % im Plasma und ein Proteingehalt von 20 - 40 mg/100 ml enthält (Filis et al. 2017). Bei Neugeborenen kann der Zellgehalt höher sein. Der Liquor cerebrospinalis macht ein Volumen von etwa 125 - 150 ml aus, bei Kindern entsprechend weniger. Die Sekretionsrate beträgt im Durchschnitt 0,5 ml/min, sodass der gesamte Liquor circa vier bis fünfmal pro Tag ausgetauscht wird (Segal 1993). Der überwiegende Anteil des Liquors wird in den Plexus choroidei der vier Ventrikel produziert (Johanson et al. 2008). Die Resorption erfolgt im Subarachnoidalraum über die Arachnoidalzotten und an den Austrittsstellen der Spinalnerven im Wirbelkanal (Trepel 1995). Vor einigen Jahren sind außerdem lymphatische Gefäße in den Meningen beschrieben worden, die die pialen Kapillaren begleiten und sich teilweise in die pialen Einziehungen fortsetzen und so den perikapillären Virchow-Robin-Raum erreichen (Brinker et al. 2014).

Zu den Funktionen des Liquor cerebrospinalis zählt der Schutz des Gehirns vor mechanischen Einflüssen. Dies gelingt durch die schwebende Lagerung des Gehirns im Liquor, die für eine erhebliche Reduktion des effektiven Gewichtes und somit für eine Dämpfung sorgt (Segal 1993). Eine wichtige Rolle ist die Homöostase der cerebralen Bedingungen. Dazu gehört zum einen das Ausscheiden von schädlichen Stoffwechselprodukten, die durch die Zirkulation des Liquors in den subarachnoidalen Raum transportiert werden, um dann das zentrale Nervensystem über die Sinus verlassen zu können (Kandel et al. 2000). Zum

Anderen, das Ausbalancieren der biochemischen Zusammensetzung, um den osmotischen Druck und die cerebrale Perfusion zu erhalten, der Transport von Botenstoffen, die Gewebersorgung mit Nährstoffen und die Immunabwehr (Adigun und Al-Dhahir 2018).

Die Funktionen des Liquors sind sehr komplex und noch nicht abschließend erforscht. Der physiologische intrakranielle Druck liegt zwischen 3 - 4 mmHg bei Kindern und 10 - 15 mmHg bei Erwachsenen (Sakka et al. 2011).

1.2.3 Definition

Es haben sich verschiedene Ansätze entwickelt, um den Hydrocephalus zu definieren. Eine neue Definition, die dem aktuellen wissenschaftlichen Kenntnisstand über die pathophysiologischen Prozesse der Erkrankung gerecht wird, lautet folgendermaßen: „Hydrocephalus is an active distension of the ventricular system of the brain resulting from inadequate passage of cerebrospinal fluid from its point of production within the cerebral ventricles to its point of absorption into the systemic circulation.“ (Rekate 2008)

Durch die Formulierung gelingt eine Abgrenzung zu Erkrankungen, bei denen trotz erhöhtem intrakraniellen Druck keine Ventrikelerweiterung stattfindet, wie bei der idiopathischen intrakraniellen Hypertension (Friedman et al. 2013). Auch ein pathologischer Vorgang wie bei einer cerebralen Atrophie, bei der die Ventrikulomegalie nicht aktiv entsteht, wird ebenfalls abgegrenzt.

1.2.4 Pathophysiologie und Ätiologie

Ist das Gleichgewicht zwischen Liquorproduktion und –resorption gestört oder liegt eine Behinderung des Liquorflusses vor, kommt es zu einer Erweiterung der Ventrikel und zu einer Erhöhung des intrakraniellen Drucks (Langner et al. 2017). Auf dieser Erkenntnis beruht auch die weit verbreitete Einteilung des Hydrocephalus nach Dandy von 1919 (Dandy 1919), die diese beiden Entstehungsmechanismen voneinander trennt und zwischen kommunizierendem und nicht kommunizierendem Hydrocephalus unterscheidet. Bei einem kommunizierenden Hydrocephalus ist das Verhältnis von Liquorproduktion und –resorption gestört, beispielsweise nach einer intraventrikulären Blutung (Rekate 2011). Der nicht kommunizierende Hydrocephalus, auch Hydrocephalus occlusus genannt, entsteht durch Behinderungen des Liquorflusses, wie bei einer kongenitalen Aquäduktstenose, Atresie der Luschka oder Magendie Foramina, sowie bei Tumoren (Moyes 1968).

Der Hydrocephalus kann kongenital aber auch im Laufe des Lebens entstehen. Eine genauere Einteilung erfolgt aufgrund der Ätiologie. Ursachen für das kongenitale Vorliegen können Aquäduktstenose, Spina bifida und Arnold-Chiari Malformationen sein. Erworbene Ursachen umfassen Infektionen, intrakranielle Blutungen, Traumata und Hirntumore (Flannery und Mitchell 2014).

1.2.5 Epidemiologie

Die weltweite Prävalenz des Hydrocephalus bei Kindern liegt bei 85/100.000, in der Gruppe der Erwachsenen bei 11/100.000 und steigt bei über 65-jährigen auf 175/100.000, wobei die Anzahl der Betroffenen in wirtschaftlich schwächeren Staaten signifikant höher ist (Isaacs et al. 2018).

1.2.6 Klinik und Diagnostik

Welche Symptome den Hydrocephalus begleiten, ist abhängig von der Entstehungsform und -dynamik (Fink und Benjert 2015). Eine wichtige Rolle spielt auch das Alter des Patienten. Besteht der Hydrocephalus bereits im Kleinkindalter, vor Verknöcherung der Suturen, kann eine imponierende Makrozephalie und Vorwölbung der Fontanelle entstehen. Das Sonnenuntergangsphänomen, gekennzeichnet durch einen Abwärtsblick der Augen, und eine deutliche Venenzeichnung am Kopf, können ebenfalls auftreten (Moyes 1968). Aufgrund des erhöhten Hirndrucks treten Symptome wie Kopfschmerzen, Übelkeit und Erbrechen, Benommenheit, Konzentrationsstörungen und Verschlechterung des Sehvermögens auf. Steigt der intrakranielle Druck rapide, kann es zu einer Einklemmung des Temporallappens im Tentoriumschlitz oder der Kleinhirntonsillen in das Foramen Magnum kommen. In der Folge können lebensbedrohliche Symptome, wie Bewusstseinsstörungen, Ausfälle der Hirnstammreflexe oder komatöse Zustände auftreten (Langner et al. 2017).

In der Diagnostik wegweisend sind die Symptome einer intrakraniellen Druckerhöhung und eine perzentilen-flüchtige Zunahme des Kopfumfanges bei Kindern (Moyes 1968). Da diese Symptome eher unspezifisch und die Differentialdiagnosen breit gefächert sind, ist die bildgebende Diagnostik entscheidend. Mittels Computertomographie (CT) und Magnetresonanztomographie (MRT) kann eine Ventrikeldilatation, Malformation, Stenose oder Obstruktion erkannt und die weitere Therapie geplant werden (Langner et al. 2017).

1.3 Therapie des Hydrocephalus

Ziel der Hydrocephalus Therapie ist es, ein altersgerechtes Liquorvolumen und physiologische, intrakranielle Druckverhältnisse einzustellen und zu erhalten, um Ventrikelerweiterungen und Folgeschäden zu vermeiden. Dies gelingt primär durch eine Druckentlastung mittels Liquorableitung. Abhängig von der Indikation stehen dafür verschiedene Verfahren zur sofortigen oder langfristigen Drainage zur Verfügung. Dazu gehören Shuntsysteme, externe Drainagen, Punktionskapseln, Lumbalpunktionen und endoskopische Verfahren. Weitere Therapieansätze wie Stammzelltherapie, medikamentöse Therapien, sowie die endoskopische Lavage sind Gegenstand aktueller Forschungen.

1.3.1 Historische Entwicklung der Hydrocephalustherapie

Der Hydrocephalus begleitet die Menschheit schon seit Jahrtausenden. Archäologische Funde von hydrozephalen Schädeln reichen bis in das Jahr 10.000 v. Chr. zurück (Richards und Anton 1991). Aufgrund der starken körperlichen und psychischen Beeinträchtigungen, die die Krankheit begleiten können, hat es engagierte Mediziner schon lange bewegt, die Prozesse der Erkrankung zu verstehen. Erstmals wissenschaftlich beschrieben wurde der Hydrocephalus von Hippokrates (466-377 v. Chr.), der das Krankheitsbild mit der Symptomkombination aus Kopfschmerzen, Sehstörungen und Erbrechen assoziierte. Jedoch ging er davon aus, dass es zu einer Verflüssigung des Gehirnes durch epileptische Anfälle kommt. Auch der Terminus, der sich aus dem Griechischen ableitet und „Wasserkopf“ bedeutet, stammt aus dieser Epoche (Aschoff et al. 1999).

Frühe Versuche den Hydrocephalus mittels konservativer Behandlungsmethoden wie fest angelegten Kopfverbänden oder Medikamenten zur Dehydratation oder Verringerung der Liquorsekretion zu heilen, hatten häufig keinen Effekt oder endeten fatal (Aschoff et al. 1999). Ein weiterer Behandlungsansatz war es, durch Trepanation des Schädels einen Liquorabfluss zu schaffen. Versuche über Ventrikelpunktionen und der Einlage von Drainageröhrchen oder Pferdehaar den Liquor abzuleiten, resultierten häufig in zu schneller Drainage oder schweren Infektionen (Haynes 1913). Erfolgversprechend wurden diese Behandlungsansätze erst mit der Einführung aseptischer Operationsbedingungen und Anwendung von atraumatischen Silberkanülen Anfang des 20. Jahrhunderts (Aschoff et al. 1999).

Schon zur gleichen Zeit wurden die ersten Versuche unternommen, Liquor mittels implantierten Gummischläuchen in den Peritonealraum oder in die Venen abzuleiten (Kausch 1908). Jedoch sorgte erst die Entwicklung und Verwendung von äußerst biokompatiblen und langlebigem Silikon in der Mitte des 20. Jahrhunderts dafür, dass sich die Implantation von Kathetern in Kombination mit Shunt-Ventilen als Goldstandard der Hydrozephalus-Therapie durchsetzen konnte (Aschoff et al. 1999).

Der erste erfolgreiche Einsatz eines Shunt-Ventils in Kombination mit einem Katheter gelang Frank Nulsen und Eugene Spitz 1949 in Philadelphia (Nulsen und Spitz 1951). Das System bestand aus einem Ventil mit zwei Kugel-Konus-Ventil Einheiten, Platin Federn und einer Pumpkammer sowie einem Polyethylen Schlauch (Boockvar et al. 2001).

Eine Massenproduktion und Implantation von Ventilen gelang jedoch erst mit der Erfindung der Spitz-Holter Doppel-Schlitz-Silikon-Ventile im Jahr 1956 (Aschoff et al. 1999). Im gleichen Jahrzehnt wurde ein Ventil, welches aus einer Kombination von Kugel- und Schlitzventil bestand sowie ein Membranventil patentiert (Aschoff et al. 1999). Die vier grundlegenden technischen Prinzipien für die Herstellung von Shunt-Ventilen waren somit bereits in den späten 1950er Jahren entwickelt und gelten noch heute.

1.3.2 Liquorableitung mittels Shunt

Um die Aufstauung von Liquor in den Ventrikeln zu vermeiden, kann dieser langfristig über einen Shunt in eine andere Körperhöhle geleitet werden. Das Shuntsystem besteht aus einem proximalen Katheter mit multiplen Perforationen für die Ableitung aus dem Ventrikel, einem distalen Katheter für die Zuführung an den Zielort, sowie einem Ventil, welches den Liquorfluss steuert und beide Katheter miteinander verbindet. Abhängig von dem gewählten Ventiltyp und der Indikation kann das Ventil aus einer oder aus mehreren Einheiten bestehen. Zusätzlich werden indikationsabhängig weitere Bauteile mittels Verbindungskatheter dazwischengeschaltet. Vorkammern oder Reservoirs werden eingesetzt, um postoperativ den intraventrikulären Druck zu messen, Medikamente zu injizieren, Liquor zu entnehmen, sowie Ventilkontrollen durchzuführen (Miethke 2021c). Die Verbindungsstellen zwischen den einzelnen Komponenten werden mit Ligaturen fixiert.

Die operative Shuntanlage wird unter Vollnarkose in Rückenlage vorgenommen. Aseptische Operationsbedingungen sind zwingend erforderlich, um das Infektionsrisiko zu minimieren,

zusätzlich erfolgt eine antibiotische Abschirmung (Ratilal et al. 2008). Zuerst wird die Haut auf Höhe des Kocher-Cushing-Punktes bogenförmig inzidiert, um ein Bohrloch in der Schädeldecke anzulegen. Dies kann beidseits erfolgen, in der Regel wird aber der laterale rechte Ventrikel als Zugang für den proximalen Katheter bevorzugt (Dulebohn und Mesfin 2018). Nach vorheriger Koagulation wird die Dura inzidiert und der Katheter mit dem Mandrin in das Vorderhorn des Ventrikels geschoben. Als Zielort der Liquordrainage wird in der Regel das Peritoneum oder der Herzvorhof gewählt (Miyake 2016). Auch andere Körperhöhlen könnten als Auffangort genutzt werden, sofern sie mit Epithelzellen ausgekleidet und in der Lage sind, Liquor aufzunehmen (Dulebohn und Mesfin 2018). Bei peritonealer Ableitung ist ein Bauchschnitt nötig, um den distalen Katheter zu platzieren. Dieser wird subkutan vorgeschoben und am Peritoneum fixiert. Beide Katheter werden an das Ventil angeschlossen und eine Funktionsprüfung des Systems wird durchgeführt. Das Ventil kommt in der Regel retroaurikulär zu liegen. Postoperativ erfolgt eine radiologische Kontrolle des Shuntverlaufs.

1.3.3 Ventiltypen

Seit den 1950er Jahren entwickelten sich auf Basis der Grundprinzipien, einige verschiedene Ventiltypen. Sie unterscheiden sich aufgrund des Funktionsprinzips, der verwendeten Materialien, der internen und externen Ventildesigns, sowie des Preises. Eine grobe Einteilung erfolgt in Differenzdruck-, Gravitations- und Anti-Siphon Ventile. Zur Zeit gibt es etwa 159 Ventiltypen auf dem Weltmarkt, mit über 550 Druckstufen und mehr als 2200 Varianten (Aschoff 2014).

Shuntventile der 1. Generation sind einfache Differenzdruckventile, die nur über eine statische Druckstufe verfügen (Miyake 2016). Dazu gehören Kugel-Konus-, Membran- und Schlitzventile. Da sich diese Ventile nicht den verschiedenen Druckverhältnissen anpassen können, besteht das Risiko einer Überdrainage. Um dieser Problematik entgegen zu wirken, sind die Ventile weiterentwickelt worden. Zu der neuen Generation zählen einstellbare, selbsteinstellende, Anti-Siphon- und Gravitationsventile (Aschoff et al. 1999).

Das ProSa Ventil der Firma Miethke (Abbildung 1) ist das erste einstellbare Shuntventil, bei dem der Öffnungsdruck für die aufrechte Körperposition postoperativ verstellt werden kann.

Das Ventil besteht aus einem Titangehäuse mit integrierter Kugel-Konus-Einheit, einer Einlass- und einer Auslasstülle. Eine Saphirkugel verschließt den Auslass und ist durch eine Stabfeder mit einem Tantalgewicht verbunden, welches sie in Position hält. Mit einem drehbar gelagerten Rotor kann die Vorspannung der Feder und somit der Öffnungsdruck zwischen 0 und 40 cm H₂O für die aufrechte Körperposition eingestellt werden. Die Einstellung kann mittels magnetischem Verstellinstrument durch die Haut verändert werden. Richtet sich der Patient auf, verändert sich auch die Gewichtskraft und somit auch der Ventilöffnungsdruck innerhalb des eingestellten Bereiches. Der Öffnungsdruck im Liegen beträgt 0 cm H₂O. Um den Liquorfluss auch bei liegender Körperposition zu steuern, muss zusätzlich eine Differenzdruckeinheit, beispielsweise das Miethke miniNAV, an das Shuntsystem angeschlossen werden (Miethke 2021b).



Abbildung 1: Explantiertes Shuntsystem bestehend aus einer Vorkammer (oben links), einem miniNAV Ventil (oben rechts) und einem proSa Ventil (unten) der Firma Miethke

Das miniNAV der Firma Miethke ist ein nicht verstellbares Differenzdruckventil, welches in vier Druckstufen zwischen 0 und 15 cm H₂O erhältlich ist. Es besteht aus einem Titangehäuse mit einer Einlass- und einer Auslasstülle, einer Saphirkugel und einer Spiralfeder. Die Spiralfeder hält die Saphirkugel im Konus und verschließt den Auslass. Sobald der intraventrikuläre Druck den Öffnungsdruck übersteigt, wird die Kugel angehoben und der Liquor kann passieren (Miethke 2021a). Die Druckstufe liegt statisch bei 5 cm H₂O, so dass sich in

stehender Position die Einstellung des miniNAV sowie die jeweilige Einstellung des proSA addieren.

Ein geeignetes Shunt-Ventil für die Hydrocephalus Therapie sollte individuell für jeden Patienten und abhängig von der Ätiologie des Hydrocephalus ausgesucht werden. Dabei soll auch das langfristige postoperative Management berücksichtigt werden (Reddy et al. 2014). Im Kindesalter hat das gewählte Ventil die besondere Aufgabe, für alle Lebenslagen aber vor allem für die Zunahme des Körperwachstums und damit variable physikalische Bedingungen geeignet zu sein.

1.4 Shuntrevisionen

Die Hydrocephalustherapie mittels Shuntsystem geht häufig mit Komplikationen einher, die erneute chirurgische Eingriffe erforderlich machen. Zum Teil ist es ausreichend, einzelne Teile des Shunts auszutauschen, teils muss das gesamte System ersetzt werden. Die durchschnittliche Revisionsrate von Shuntsystemen liegt bei 46,3 % (Reddy et al. 2014). Ein Großteil der Komplikationen tritt innerhalb von 6 Monaten nach Implantation auf, wobei bei Kindern (< 17 Jahre) signifikant mehr Revisionen (78,2 %) durchgeführt werden als bei Erwachsenen (Reddy et al. 2014). Das Versagen eines Shuntsystems kann verschiedene Ursachen haben:

- 1.) Die Komplexität und Variabilität der Erkrankung selbst.
 - 2.) Shuntinfektion
 - 3.) Mechanische Fehlfunktionen wie Diskonnektionen, wachstumsbedingte Migration des Katheters oder Ventildefekt
 - 4.) Überdrainage
 - 5.) Okklusion des Ventils oder Katheters
- (Harris und McAllister 2012)

Während Shuntinfektionen vor allem kurzfristig nach Implantation auftreten, handelt es sich bei mechanischen Fehlfunktionen und Okklusionen häufig um Langzeitkomplikationen (Blegvad et al. 2013). Die häufigste Komplikation ist die Okklusion des Shuntsystems, die für 56,1 % aller Fehlfunktionen verantwortlich ist (Sainte-Rose et al. 1991). Entstehung und Folgen der häufigsten Komplikationen werden im Folgenden erläutert.

1.4.1 Ursachen für Revisionen

Shuntinfektionen treten bei 11,7 % der Patienten und 7,2 % aller Operationen und gehäuft in den ersten Monaten nach Implantation auf (Simon et al. 2009). Sie können Kopfschmerzen, Übelkeit, Erbrechen und Lethargie verursachen (Dawod et al. 2016). Bei Infektverdacht erfolgt eine Blutuntersuchung und Liquorentnahme aus dem Reservoir. Die Liquordiagnostik beinhaltet Keimkultur, Zellzahl, Differenzierung, Protein, Glukose, Gramfärbung und Laktat und bestimmt die weitere Therapie. Eine wichtige Rolle in der Entstehung von Shuntinfektionen spielt ein bakterieller Biofilm, der sich auf der Innen- und Außenseite des Shuntsystems bilden kann und einer Antibiotikatherapie nicht zugänglich ist. Zu 50 - 80 % sind Staphylococcus aureus und Koagulase negative Staphylokokken, insbesondere Staphylococcus epidermidis, Auslöser der Infektion (Dawod et al. 2016). Eine erfolgversprechende Therapieoption besteht aus antibiotischer Behandlung und Externalisierung oder Kompletentfernung des Shuntsystems (Tamber et al. 2014). Nach erfolgreicher Therapie erfolgt eine erneute Shuntanlage.

Eine Überdrainage liegt vor, wenn mehr Liquor abgeleitet wird als notwendig. Der Druck im Schädelinneren sinkt. Subdurale Hämatome, vorzeitige Verknöcherungen der Suturen, Aquäduktstenose, Schlitzventrikelsyndrom und reduzierter intrakranieller Druck können die Folge sein (Pudenz und Foltz 1991).

Das Auftreten einer Überdrainageproblematik kann durch den Einsatz einer Gravitationseinheit signifikant verringert werden (Kiefer et al. 2002). Vor allem im frühen Kindesalter ist ein solches System von hoher Bedeutung (Bock et al. 2018).

Eine Okklusion bezeichnet eine Verstopfung des Shunts durch Gewebe, Zellen oder Blut, die im gesamten Shuntverlauf auftreten kann. Betroffen sind häufiger der VK und die Ventile, als der Peritonealkatheter (PK) (Browd et al. 2006). Die Okklusion führt zu einer Einschränkung oder zum Erliegen des Liquorflusses. Eine dadurch entstehende Akkumulation von Liquor in den Ventrikeln kann Symptome einer intrakraniellen Drucksteigerung verursachen und macht eine chirurgische Revision erforderlich. Um die Lokalisation der Okklusion festzustellen, werden die einzelnen Bauteile intraoperativ auf ihre Durchlässigkeit überprüft. Das Ventil kann durch ein vorgeschaltetes Manometer und eine Flüssigkeitssäule geprüft werden. Ist es funktionsfähig, passiert die Flüssigkeit, bis der Druck der Wassersäule

dem voreingestellten Öffnungsdruck gleicht. Ein okkludiertes Ventil erlaubt keinen oder nur einen verzögerten Durchfluss (Browd et al. 2006).

1.4.2 Gewebeuntersuchung von okkludierten Shuntsystemen

Eine Okklusion kann in allen Einheiten eines Shuntsystems auftreten. Gewebeobstruktionen in Shunt-Ventilen können auf verschiedenen Wegen entstehen. Lösen sich Gewebeteile, die in die Katheterperforationen eingewachsen sind, können sie mit dem Liquorfluss in das Ventil gelangen und dort einen Verschluss herbeiführen (Hanak et al. 2017). Andererseits finden sich verschiedene Zellen im Liquor, die in den Ventilen akkumulieren und proliferieren könnten (Hanak et al. 2017). Verschiedene Theorien wurden über die letzten Jahrzehnte zusammengetragen. In einer frühen Studie aus den 1960er Jahren wurde der Plexus choroideus zu 80 % als Ursache für eine Ventrikelkatheterokklusion identifiziert. Durch das Einführen des VK kommt es zu einer unidirektionalen Flussveränderung, die dazu führen kann, dass sich der Plexus choroideus ausdehnt und in die Katheterperforationen gesogen wird (Hakim 1969). In den 1980er Jahren konnte bei 91 okkludierten VK der Plexus choroideus nur zu 38,5 % als Ursache nachgewiesen werden. Häufiger waren Gliazellen (39,5 %), chronische Immunreaktionen (49,5 %) oder Bindegewebe (53,8 %) (Sekhar et al. 1982). Jüngere Studien bestätigen, dass die sehr proliferativen Astrozyten und chronische oder granulomatöse Entzündungsreaktionen eine größere Rolle in der Okklusionsentstehung spielen, als der Plexus choroideus (Del Bigio 1998). Sowohl bei Obstruktion in den Kathetern als auch in den Shuntventilen sind Gliazellen und Entzündungsgewebe beteiligt (Blegvad et al. 2013).

1.5 Überlegungen und Fragestellung

Aus der klinischen Arbeit und der Erfahrung mit okkludierten Kathetern und Shuntventilen konnte die Hypothese generiert werden, dass ein wichtiger Aspekt der Shunt-Funktion und des Shunt-Versagens auch im internen Shunt-Design, in der Kontaktfläche zwischen den Ventilanteilen und ihren beweglichen Verstellmechanismen aber auch in der internen Fluss- und Strömungsbahn bedingt sein kann. Ferner kann das verwendete Material und dessen Oberflächenbehandlung eine wichtige Rolle spielen. Als weitere Risikofaktoren vermuten wir Frühgeburtlichkeit, einen ungünstigen Verlauf der Erkrankung und bereits durchgeführte Revisionsoperationen.

In unserer Studie möchten wir die Auswirkungen dieser mechanischen Aspekte und der Risikofaktoren auf das Vorhandensein und die Menge von Zellverbänden im Ventillinneren darstellen. Dabei interessiert uns besonders, wie die Stelle der Okklusion im histologischen Schnitt aussieht, ob es präferierte Regionen für Zellansammlungen gibt und welchen Ursprung diese Zellen haben. Inwiefern unterscheiden sich die Erkenntnisse bei den verschiedenen Ventiltypen und Materialkombinationen?

Aus der Literatur kennen wir, dass es durch verschiedene Faktoren zu einer Membran- und Gewebbildung durch Astrogliazellen an inneren Shunt-Ventiloberflächen kommt, die die Funktion des Ventils mit zunehmendem Wachstum bis hin zu einer vollständigen Okklusion einschränken kann. Mit den von uns durchgeführten immunhistochemischen Färbungen wollen wir den Zellursprung genauer bestimmen, um diese Theorie zu überprüfen.

2 Material und Methoden

Für die Studie stand explantiertes Shunt-Material von 19 kinderneurochirurgischen Patienten der Universitätsmedizin Göttingen zur Verfügung. Insgesamt wurden 30 explantierte und vier nicht implantierte Shunt-Ventile und -Bauteile untersucht. Die Shunt-Ventile wurden in Technovit 9100® (Kulzer Mitsui Chemicals Group) eingebettet und mittels Trenn-Dünnschliff-Technik nach Donath (Donath und Breuner 1982) auf eine Dicke von 10 - 30 µm geschliffen. Dabei wurden die Methylmethacrylat (MMA) - Blöcke, welche zuvor auf einen Objektträger aufgeklebt wurden, mit der Bandsäge (300 CL, Exakt GmbH) in ca. 300 µm dicke Scheiben gesägt und danach mit dem Mikroschleifsystem (400 CS, Exakt GmbH) auf eine Stärke von 10 - 30 µm heruntergeschliffen. An diesen Präparaten wurde eine Übersichtsfärbung nach Richardson durchgeführt. An zehn explantierten Shuntventilen wurden zusätzlich immunhistochemische Färbungen mit verschiedenen Antikörpern durchgeführt. Die Präparate wurden eingescannt und mittels eines virtuellen Mikroskopie Systems (Olympus dotslide Virtual Slide System) qualitativ ausgewertet. Die Herstellung der Präparate erfolgte durch die Medizinisch-technischen Assistenten im Forschungslabor der Kinderherz-klinik der Universitätsmedizin Göttingen.

2.1 Patienten

Das Patientengut der Studie beruhte auf 19 Patienten der pädiatrischen Neurochirurgie der Universitätsmedizin Göttingen. Die klinischen Daten wurden aus Akten, Arztbriefen, Operationsberichten, Untersuchungsbefunden und Ergebnissen der Labordiagnostik erfasst. Der Zugriff erfolgte über die elektronischen Datenbanken ixserv und Clinscout der Universitätsmedizin Göttingen. Die Patienten wurden nicht von mir klinisch untersucht.

2.1.1 Datenerhebung

Zunächst wurden die klinischen Grunddaten erfasst: Geschlecht, Schwangerschaftswoche der Geburt, Hydrocephalus-Typ, intraventrikuläre Hämorrhagie (IVH), Begleiterkrankungen, Anzahl Revisionsoperationen, Anzahl kinderneurochirurgischer Operationen und endoskopische Operationen.

Des Weiteren wurden spezifische klinische Daten aus einer Datenbank heraus erfasst: Postoperative Diagnose, Liegedauer, Indikation der Anlage und der Explantation, Patientenalter bei Anlage und bei Explantation, Bestandteile des Shuntsystems, Shuntableitung, Ventiltyp und Druckstufe, Befunde bildgebender Untersuchungen (Röntgen, CT, MRT, Schädelsonographie), Liquor- und Blutdiagnostik.

Die Daten konnten nahezu vollständig erhoben werden. Die Anzahl und Art der Untersuchungsbefunde variierte, da die verschiedenen Diagnostika indikationsabhängig eingesetzt wurden.

2.1.2 Datensicherheit

Eine Datenzugriffsvereinbarung für die Verwendung der elektronischen Datenbanken wurde von mir vor der Datenerhebung unterschrieben. Die erhobenen Daten und histologischen Präparate wurden für die Auswertung und Verwendung anonymisiert.

2.2 Shunt-Material

Wir haben 19 ehemals implantierte Shuntsysteme mit 17 Ventilen und zwei Rickham-Kapseln untersucht. Bei einem Großteil der Ventile in der Patientengruppe ($n = 12$) handelte es sich um gravitationsunterstützte Titanventile der Firma Miethke, Potsdam (acht ProSa, zwei proGAV, zwei paediGAV, zwei Reservoirs). Vier Ventile waren programmierbare Medos Ventile von Codman (Johnson and Johnson, New Brunswick, NJ, USA). Ein Explantat war ein contour flex Ventil (Integra, Plainsboro, New Jersey, USA). Desweiteren wurden ein PS Medical middle pressure Ventil und ein Reservoir der Firma Medtronic (Minneapolis, USA) präpariert. Neben den Ventilen wurden elf weitere, gleichzeitig explantierte Shuntbauteile, untersucht (zwei VK, ein Bohrlochumlenker, vier miniNAV Ventile, ein Shuntassistent und drei Vorkammern). Die Kontrollgruppe bestand aus vier fabrikneuen Shuntbauteilen der Firma Miethke (proGAV 2.0, Shuntassistent, miniNAV, Vorkammer).

2.3 Präparateherstellung

Für die Einbettung der Shunt-Ventile wurde das Kunststoffeinbettssystem Technovit 9100® (Kulzer Mitsui Chemicals Group) verwendet. Die Schlauchstücke wurden zum Teil in Technovit 9100® und zum Teil in Paraffin eingebettet.

2.3.1 Verwendete Verbrauchsmaterialien

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien für die Präparateherstellung

Material	Hersteller	Artikel Nr.
4 % gepuffertes Formalin Roti®-Histo-fix	Carl Roth	P087.3
Ethanol 99 %	Chemsolute®	2212.5000
Xylol Isomere	Carl Roth	CN80.2
Kunststoffeinbettssystem Technovit® 9100	Kulzer Mitsui Chemicals Group	64715444
Einkomponentenkleber Technovit 7210 VLC	Kulzer Mitsui Chemicals Group	64709017
Silikonkautschuk Elastosil® E 41	Wacker Chemie AG	60003726
Plastikobjektträger		
Glasobjektträger M20 Stärke: 1,8-2,0 mm	R.Langenbrink Labor und Medizintechnik	
Schleifpapier P500, P1200, K4000		
Aqua. Dest.		
Paraffin 56°/58°C Schmelztemperatur	Engelbrecht	17932A
SuperFrost™ plus Adhäsionsobjektträger	Thermo Scientific	J1800AMNZ

2.3.2 Maschinen und Hilfsgeräte

Tabelle 2: Maschinen und Hilfsgeräte für die Präparateherstellung

Bezeichnung	Hersteller
Diamant Bandsäge 300 CL	Exakt GmbH, Norderstedt
Mikro Schleifgerät 400 CS	Exakt GmbH, Norderstedt
Vakuum-Klebevorrichtung	
Präzisionsklebepresse	Exakt GmbH, Norderstedt
Mikrometermeßschraube	
Fühllehre 0,005 bis 0,050 mm	
Haarlineal	

Bezeichnung	Hersteller
Gewebeeinbettautomat Shandon-Citadel 1000	Thermo Scientific
Rotations-Mikrotom RM2165	Leica
DotSlide Scanning Mikroskop	Olympus Life Science

2.3.3 Einbettung in Kunstharz

Nach der Explantation wurden die Präparate in 4 % Formalin fixiert. Um eine vollständige Benetzung des Ventilinneren zu ermöglichen, wurde ein Teil des Ventilbodens herausgesägt (Abbildung 2) und die Präparate erneut in Formalin gegeben. Die Gesamtfixierungsdauer betrug ca. fünf Tage.



Abbildung 2: Öffnung im Ventilboden eines ProSa Ventils (Miethke)

Nach Auswaschung des Formalins mit aqua destillata (aqua dest) erfolgte die Entwässerung in einer Reihe mit aufsteigender Ethanol Konzentration für jeweils zwei Tage bei Raumtemperatur. Daran anschließend wurde die Infiltration des Gewebes mit dem Intermedium Xylol, Xylol und Basislösung, sowie Prä- und Infiltrationslösungen bei 4°C für je zwei Tage mit den Lösungen aus dem Technovit 9100® Kombipack durchgeführt.

Danach wurden die Präparate in Teflon- bzw. Kunststoffformen überführt und mit dem Polymerisationsgemisch aus Stammlösung A + Stammlösung B (9:1) übergossen. Für zehn Minuten wurden die Proben in den Exsikkator gestellt, um Luftblasen zu entfernen und dann wurden die Gefäße luftdicht mit Deckeln verschlossen. Anschließend erfolgte die Polymerisation bei -2°C - -4°C im Tiefkühlschrank. Abschließend wurden die Einbettformen für eine

Stunde bei 4° - 8°C in den Kühlschrank gestellt, bevor sie auf Raumtemperatur erwärmt wurden (Kulzer Technik 2017).

2.3.4 Einbettung in Paraffin

Ein Teil der Präparate, der Katheter und der Arachnoidalzyste wurden in Paraffin eingebettet.

Die Entwässerung und Einbettung der Schlauchstücke erfolgte mit Hilfe des Gewebeeinbettautomaten (Shandon-Citadel 1000 Thermo Scientific, Programm A). Zunächst erfolgte die Entwässerung der Präparate in einer Reihe mit aufsteigender Ethanol Konzentration und die Behandlung mit Xylol. Abschließend wurden die Präparate mit Paraffin infiltriert und in Blöcke ausgegossen. Die Paraffinblöcke wurden am Rotationsmikrotom in 3 µm dicke Scheiben geschnitten, auf Thermo Scientific™ SuperFrost™ plus Adhäsionsobjektträger (Thermo Scientific J1800AMNZ) aufgezogen und bei 50°C für 30 Minuten getrocknet.

2.3.5 Herstellung der Schliffe

Nach der Aushärtung wurden mit der Trenn-Dünnschliff-Technik nach Donath aus jedem Präparat Schliffe gefertigt. Zunächst wurde mit der Diamantbandsäge ein Schnitt durch den Block angefertigt. Der Verlauf der Schneidebewegung verlief dabei parallel zu der Probenlängsachse (Abbildung 3).

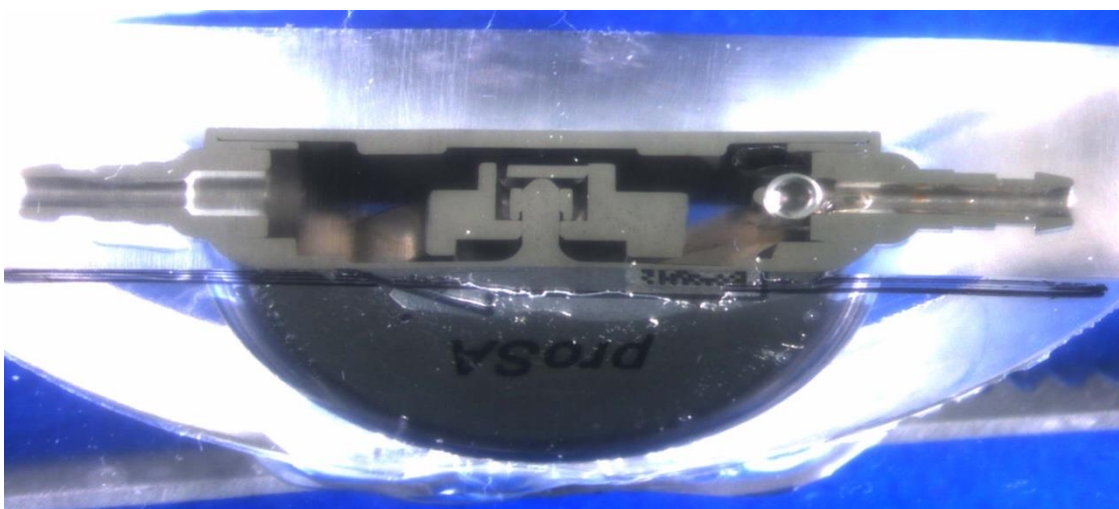


Abbildung 3 : Zentraler Längsschnitt durch den Block eines ProSa Ventils (Miethke)

Für Schnitte, die mit der Übersichtsfärbung gefärbt wurden, wurde der Block mit Einkomponentenkleber Technovit 7210 VLC auf einem Plastikobjektträger fixiert und mit UV-Licht ausgehärtet (Klebepresse Exakt). Für die Immunhistochemie wurden Glasobjektträger (M20 R.Langenbrink Labor und Medizintechnik, Stärke: 1,8 - 2,0 mm) und ein Silikonkautschuk Kleber (Elastosil® E 41, Wacker Chemie AG) verwendet. Die Schnitte wurden aufgeklebt, mit einer Spannklemme fixiert und für 24 Stunden getrocknet. Anschließend wurde mit der Bandsäge eine Scheibe mit einer Stärke von 200 bis 300 μm geschnitten (Abbildung 4).

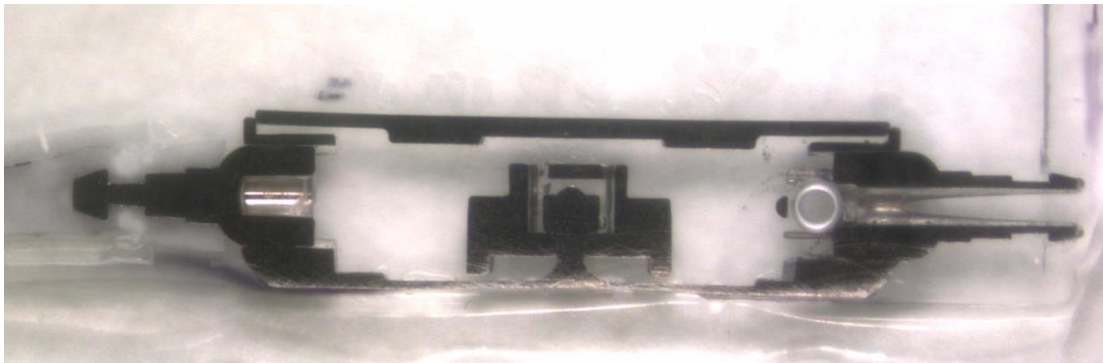


Abbildung 4: Dünnschnitt eines ProSa Ventils (Miethke)

Im Anschluss wurden die Präparate mit dem Mikro-Schleif-System auf eine Stärke von 10 - 30 μm heruntergeschliffen. Präparate für die Immunhistochemie wurden, je nach Gewebearprägung auf dem Schnitt, auf eine durchschnittliche Dicke von ca. 49 μm reduziert. Das Abschleifen erfolgte erst mit größerem Schleifpapier der Körnung P500 und anschließend mit feinerem P1200 Schleifpapier. Die Politur der Oberfläche erfolgte mit Schleifpapier der Körnung K4000. Nach jedem Arbeitsschritt wurde die Präparatdicke gemessen und in ein Schleifprotokoll eingetragen.

2.4 Übersichtsfärbung nach Richardson

Die Färbung nach Richardson arbeitet mit einem blauen Farbstoff aus Methylblau und Azur II. Basophile und osmiophile Strukturen färben sich blau, metachromatische Substanzen rotviolett.

2.4.1 Verwendete Verbrauchsmaterialien und Hilfsgeräte

Tabelle 3: Verbrauchsmaterialien für Richardson-Färbung

Material	Hersteller	Artikel Nr.
Aqua dest.		
Methylenblau	Carl Roth	A514.1
Borax = Natriumtetraborat-10-hydrat	Honeywell, Riedel-de Haen™	31457
Azur II	Waldeck	1A-284
Entellan® neu	Merck KGaA	1.07961.0100
Färbeküvette		

2.4.2 Färbung

Die Färbung erfolgte in der Färbeküvette bei 60°C im Wasserbad für etwa zwei Minuten, abhängig von der Präparatdicke. Anschließend wurden die Präparate für fünf Minuten mit Leitungswasser gespült, luftgetrocknet und mit Entellan® neu eingedeckt.

2.5 Immunhistochemie

Anhand der Übersichtsfärbungen wurden Schliffe für eine immunhistochemische Untersuchung mit verschiedenen Antikörpern (s. 2.5.2), ausgewählt. Die in Technovit eingebetteten Schliffe wurden zunächst entplastet. Anschließend erfolgte die Färbung mittels indirekter Methode. Kontrollfärbungen wurden an Gewebe einer Arachnoidalzyste durchgeführt.

2.5.1 Allgemeine Verbrauchsmaterialien

Tabelle 4: Verwendete Verbrauchsmaterialien

Material	Hersteller	Artikel Nr.
Xylol Isomere	Carl Roth	CN80.2
2-Methoxyethyl-Acetat (MEA)	Merck KGaA	8.06061.2500
Aceton	Carl Roth	9372.5
Tri buffered saline (TBS) + 0,25 % Tween (TTBS-Puffer)		
Peroxidase Blocking Reagent, Dako Real	Agilent Technologies	S2023
Zytochem Plus HRP Polymer System	Zytomed Systems	POLHRP-100
Zytochem DAB Substrat Kit High Contrast	Zytomed Systems	DAB5000plus
Dako Real Antibody Diluent	Agilent Technologies	2022
Ethanol 99%	Chemsolute®	2212.5000
Entellan® neu	Merck KGaA	1.07961.0100
Hämatoxylin	Merck	1.04302.0025
Na-Jodat	Merck	1.06525.0100
Kaliumaluminiumsulfat	Carl Roth	P724.2
Chloralhydrat	Carl Roth	K318.1
Citronensäure	Merck KGaA	1.00244.0500
Aqua dest		

2.5.2 Vorbehandlung und Antikörper

Tabelle 5: Vorbehandlung, verwendete 1. und 2. Antikörper

	Reagenz	Hersteller	Artikel Nr.
Vorbehandlung	Proteinase K, 1:50 verdünnt mit 0,05 M TRIS7HCL pH 7,6	Dako, Agilent Technologies	S3004
	Citrat Puffer pH 6,0	Dako, Agilent Technologies	S2031
	Target Retrieval Puffer pH 6,1	Dako, Agilent Technologies	S1699

	Reagenz			Hersteller	Artikel Nr.
Vorbe- handlung	Target Retrieval high pH			Dako, Agilent Technologies	K8004
	Reagenz	Konz. (µg/ml)	Verdü- nung	Hersteller	Artikel Nr.
1. Antikör- per	Polyclonal Rabbit Anti-Laminin	12,7	1:300	Dako, Agilent Technologies	Z0097
	Polyclonal Rabbit Anti -Fibronectin	/	1:4000	Sigma-Aldrich	F3648
	Monoclonal Mouse Anti-Hu- man Collagen IV Clone CIV 22	0,8	1:100	Dako, Agilent Technologies	M0785
	Monoclonal Mouse Anti- glial fibrillary acid pro- tein (GFAP)	2,83	1:100	Thermo Fischer	S.880.0
	Mouse Anti Vi- mentin Clone V9	3,2	1:100	Dako, Agilent Technologies	M0725
	Monoclonal Mouse Anti- KiM1P	/	1:50	Pathologie UMG	/
	Monoclonal Mouse Anti-Hu- man CD68 Clone PG-M1	0,2	1:200	Dako, Agilent Technologies	M0876
	Rabbit Anti- Hu- man Von-Wil- lebrand-Factor (VWF)	/	1:400	Dako, Agilent Technologies	A0082
	Monoclonal Rab- bit Anti-CD42b	/	1:200	abcam	227669
	Reagenz	Konz. (µg/ml)	Verdü- nung	Hersteller	Artikel Nr.
2. Antikör- per	Swine Anti-Rabbit Immunglobulin	/	1:100	Dako, Agilent Technologies	P0399
	Rabbit Anti- Mouse Im- munglobulin	/	1:100	Dako, Agilent Technologies	P0260
	EnVision dual link	/	unver- dünnt	Dako, Agilent Technologies	K4063

2.5.3 Färbeprotokoll der Präparate

Die Art der Vorbehandlung, sowie der Einsatz des 2. Antikörpers erfolgte abhängig von dem verwendeten 1. Antikörper (Tabelle 6).

Tabelle 6: Vorbehandlung bei verwendeten 1. und 2. Antikörpern

Vorbehandlung	1. Antikörper	2. Antikörper
Proteinase K	Anti-Laminin	Anti-Rabbit
Proteinase K	Anti-Fibronektin	Anti-Rabbit
Target Retrieval pH 6,1	Anti-Collagen IV	Anti-Mouse
Citrat pH 6,0	Anti-GFAP	Anti-Mouse
Citrat pH 6,0	Anti-Vimentin	Anti-Mouse
Citrat pH 6,0	Anti-KiM1P	Anti-Mouse
Target Retrieval pH high	Anti-CD68	En Vision dual link
Citrat pH 6,0	Anti-VWF	Anti-Rabbit
Target Retrieval pH high	Anti-CD42b	Anti-Rabbit

Nach der Entplastung der Präparate durch Spülung mit Xylol, MEA, Aceton und entionisiertem H₂O erfolgte die Vorbehandlung mit Proteinase K, Citrat, Target Retrieval pH 6,1 und pH high. Anschließend erfolgte ein Waschgang mit tris-buffered saline (TBS) und 0,25 % Tween (TTBS) sowie die Blockung der endogenen Peroxidase. Nach weiteren Waschvorgängen und unter Beachtung der Inkubationszeiten erfolgte der Einsatz der 1. und der 2. Antikörper (Tabelle 6). Im Anschluss wurden Polymer Verstärkungsreagenzien und ein Substrat Chromogensystem eingesetzt. Abschließend erfolgte eine Gegenfärbung mit Hämatoxylin sauer nach Mayer und eine Entwässerung.

2.5.4 Kontrollfärbungen an Geweben einer Arachnoidalzyste

Die Antikörper wurden zunächst an einer resezierten Arachnoidalzyste (Abbildung 5) eines zehnjährigen Jungen getestet. Es wurden Positiv- und Negativkontrollen durchgeführt. Die

Färbungen wurden sowohl an in Paraffin als auch an in Technovit 9100 eingebetteten Präparaten durchgeführt.



Abbildung 5: Arachnoidalzyste eines zehnjährigen Patienten

Für die Negativkontrollen wurden Mouse- und Rabbit-spezifische Reagenzien verwendet (Tabelle 7).

Tabelle 7: Verbrauchsmaterialien für Negativkontrollen an Präparaten der Arachnoidalzyste

Substitution	Reagenz	Konz. ($\mu\text{g/ml}$)	Verdünnung	Hersteller	Artikel Nr.
Anti-Laminin	Negativ	15.000	1 : 300	Dako, Agilent	X0936
Anti-Fibronectin	Control		1 : 4.000	Technologies	
Anti-VWF	Rabbit		1 : 100		
Anti-CD42b	IgG		1 : 200		
Anti-Collagen IV	Negativ	100	1 : 100		X0931
Anti-GFAP	Control				
Anti-Vimentin	Mouse				
Anti-CD68	IgG1				
Anti-KiM1P					

Die Antikörper für die Positivkontrollen wurden in der gleichen Verdünnung wie bei den Präparaten der Ventile (Tabelle 5), eingesetzt. Die Reagenzien für die Vorbehandlung und die verwendeten Antikörper wurden gemäß dem Färbeprotokoll verwendet (Tabelle 8).

Tabelle 8: Färbeprotokoll für Präparate der Arachnoidalzyste

Vorbehandlung	1. Antikörper	2. Antikörper
Proteinase K	Anti-Laminin / Substitution (Subst.)	Anti-Rabbit
Proteinase K	Anti-Fibronektin / Subst.	Anti-Rabbit
Target Retrieval pH 6,1	Anti-Collagen IV / Subst.	Anti-Mouse
Citrat pH 6,0	Anti-GFAP / Subst.	Anti-Mouse
Citrat pH 6,0	Anti-Vimentin / Subst.	Anti-Mouse
Citrat pH 6,0	Anti-KiM1P / Subst.	Anti-Mouse
TR high	Anti-CD68 / Subst.	EnVision dual link
Citrat pH 6,0	Anti-VWF / Subst.	Anti-Rabbit
Target Retrieval pH high	Anti-CD42b / Subst.	Anti-Rabbit

2.5 Virtuelle Mikroskopie und Software

Die Schliffe wurden mit dem Olympus dotslide Virtual Slide System (Olympus AS110 Fluorescence Virtual Slide Microscope Scanner, Olympus Europa Holding GmbH, Hamburg, Deutschland) eingescannt und mittels virtueller Mikroskopie Software ausgewertet: OlyVIA Software Version 2.9.1 (Olympus Life Science).

Für die Bearbeitung der Diagramme und Abbildungen wurde weitere Software verwendet: Microsoft Word und Excel Version 16.16.5, Snipping Tool Version 3.4.1.0 (Hersteller: Rene Zeidler), ImageJ Version 1.8.0_172 (Hersteller: Wayne Rasband (NIH)) und Paint.net Version 4.1.6 (Hersteller: dotPDN LLC).

2.6 Auswertung der Übersichtsfärbungen

Die histologische Auswertung der Präparate mit Färbung nach Richardson erfolgte auf qualitativer, deskriptiver Basis und wurde nach folgendem Schema durchgeführt: Shuntbauteil und Schnittführung, Gewebemenge und -art, Gewebelokalisation (Gehäuse, Rotor, Kugel-Konus-Einheit), Zellorganisation und Zellkerne, Fehlstellen/Artefakte und Besonderheiten.

2.7 Auswertung der immunhistochemischen Färbungen

Die immunhistochemischen Färbungen wurden qualitativ ausgewertet und das Ergebnis in vier Kategorien unterteilt: positiv, negativ, kein Gewebe und nicht beurteilbar.

3 Ergebnisse

3.1 Klinische Daten

Das Patientengut der Studie besteht aus 19 Patienten, von denen 58 % (n = 11) männlich und 42 % (n = 8) weiblich gewesen sind (Abbildung 6). Das durchschnittliche Alter betrug zum Zeitpunkt der Shunt-Explantation sechs Jahre. Der jüngste Patient war zwei Monate, der älteste 16 Jahre alt gewesen.

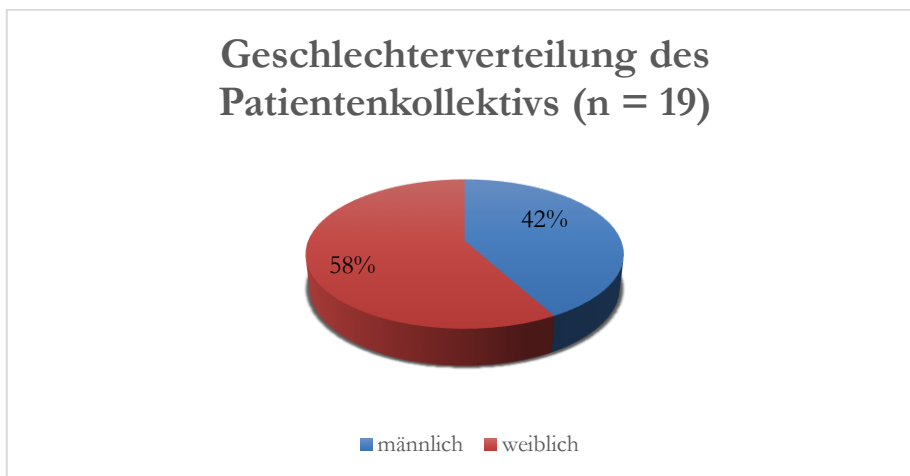


Abbildung 6: Geschlechterverteilung des Patientenkollektivs (n = 19)

Das durchschnittliche Gestationsalter der Patienten betrug 28 Wochen. Die Verteilung lag bei 63 % (n = 12) Frühgeborenen und 37 % (n = 7) Reifgeborenen (Abbildung 7).

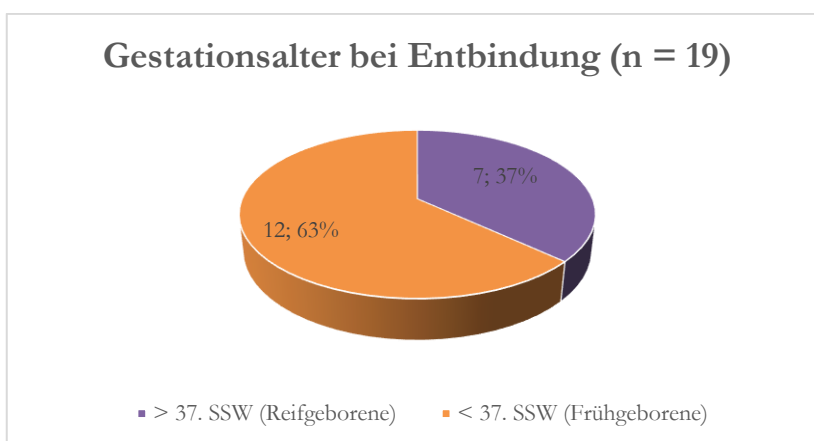


Abbildung 7: Anteil Früh- und Reifgeborener (n = 19)

Die Entstehung des Hydrocephalus war bei neun Kindern der Studie posthämorrhagisch bedingt (Abbildung 8). Sie litten an einer intraventrikulären Blutung Grad I-III oder einer periventrikulären Infarzierung. Eine Spina bifida oder eine CNS-Malformation war bei jeweils vier Patienten ursächlich. Jeweils einmal war der Hydrocephalus nach Hemisphärektomie oder bei Normaldruck aufgetreten. Bei keinem Kind lag ein post-infektiöser Hydrocephalus vor.

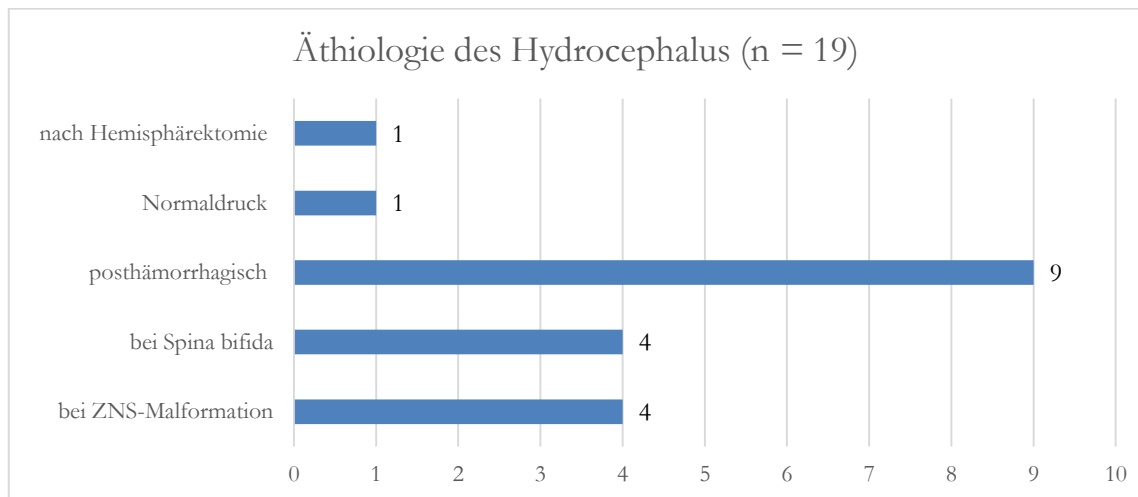


Abbildung 8: Äthiologie des Hydrocephalus im Patientenkollektiv (n = 19)

Die häufigste Revisionsursache bei den untersuchten Shuntsystemen war die Okklusion des Ventils oder eine Unterdrainage als Folge subtotaler Okklusion (n = 10) bei funktionierendem PK (Abbildung 9). Die Leitsymptome bei Unterdrainage waren Kopfschmerz und Übelkeit, wachsender Kopfumfang sowie subgaleale Liquoransammlung. Fünf der zehn Ventillokklusionen wurden nach mehr als einem Jahr als Spätkomplikation revidiert. Drei Ventile wurden aufgrund einer Shuntinfektion innerhalb der ersten drei Monate explantiert. Vier Shuntsysteme ohne Gravitationskontrolle wurden als Folge einer Überdrainage revidiert. Ein Ventil ließ sich aufgrund einer mechanischen Komplikation nicht mehr verstellen und musste ausgetauscht werden. In einem Fall wurde ein Shunt mit einem Rickham-Reservoir zur Behandlung eines chronischen Subduralhämatoms eingesetzt. Beides konnte nach erfolgreich abgeschlossener Therapie entfernt werden.

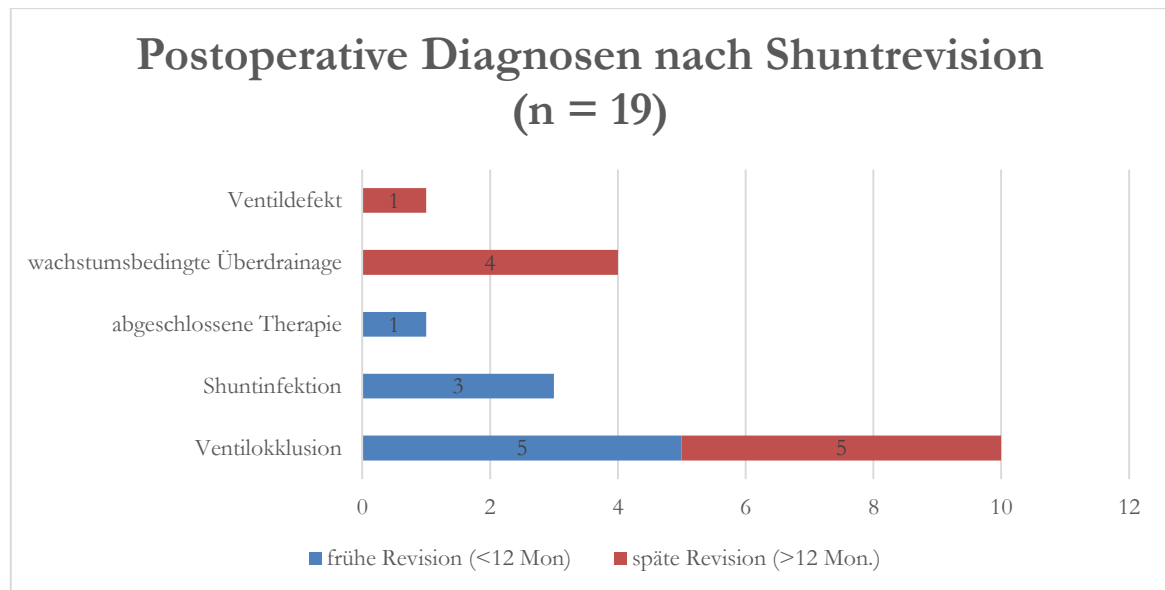


Abbildung 9: Postoperative Diagnosen nach Shuntrevision (n = 19)

Eine Übersicht über die erhobenen Daten und die untersuchten Shuntsysteme findet sich in Tabelle 9. Den größten Anteil an den Ventilen in der Studie hatte das ProSa Ventil (Miethke) mit acht Präparaten. Der Implantationszeitraum der Shuntventile und Reservoirs variierte zwischen sechs Tagen und 15 Jahren und betrug im Durchschnitt 4,9 Jahre. Dabei wurden sieben Shunts bereits im ersten Jahr nach der Implantation revidiert.

Tabelle 9: Übersicht über die klinischen Daten

Nr.	Ventiltyp	Frühgeburt	HC-Typ	AlterI (Monate)	AlterE (Monate)	IZeit (Monate)	Indikation
1	proSa	Nein	konnatal	13	21	7	Okklusion
2	proSa	Ja	PHHC	32	39	7	Okklusion
3	proSa	Ja	PHHC	15	15	0	Infektion
4	PS Medical	Ja	PHHC	1	182	181	Okklusion
5	proSa	Nein	PHHC	12	13	1	Okklusion
6	Medos prog.	Nein	Okkl	15	159	144	Überdrainage
7	proGAV	Nein	NDH	144	193	49	Okklusion
8	Reservoir	Ja	PHHC	1	2	1	Okklusion
9	ProGAV	Nein	postop	31	84	53	Defekt
10	proSa	Ja	PHHC	3	5	2	Okklusion
11	proSa	Ja	PHHC	2	50	48	Okklusion
12	proSa	Ja	PHHC	50	50	0	Infektion

Nr.	Ventiltyp	Frühgeburt	HC-Typ	AlterI (Monate)	AlterE (Monate)	IZeit (Monate)	Indikation
13	proSa	Ja	PHHC	6	11	5	Infektion
14	Medos prog	Ja	PHHC	4	126	122	Überdrainage
15	Reservoir	Ja	CSDH	6	12	6	Entfernung
16	PaediGAV	Ja	konnatal	7	115	108	Okklusion
17	Contour Flex	Ja	PHHC	0	83	83	Überdrainage
18	Medos prog	Nein	konnatal	0	159	159	Okklusion
19	Medos	Nein	konnatal	0	110	110	Überdrainage

PHHC, posthämorrhagischer Hydrocephalus; CSDH, chronisches Subduralhämatom; NDH, Normaldruck Hydrocephalus; AlterI, Patientenalter bei Implantation; AlterE, Patientenalter bei Explantation; IZeit, Implantationszeitraum

3.2 Histologische Auswertung

Im Folgenden werden fünf Präparate unter Berücksichtigung des klinischen Hintergrundes histologisch ausgewertet. Eine Zusammenfassung aller histologischen Ergebnisse findet sich unter 3.2.7.

3.2.1 Präparat 1

3.2.1.1 Klinische Übersicht

Die weibliche Patientin war eine Reifgeburt der 38. Schwangerschaftswoche und litt an einem konnatalen Hydrocephalus bei Aquäduktstenose. Das untersuchte Shuntsystem bestand aus einem ProSa Ventil und einer Vorkammer (Miethke) sowie VK und PK und wurde im Lebensalter von dreizehn Monaten implantiert (Tabelle 10). Aufgrund von einer unverhältnismäßigen Kopfumfangszunahme, mit Verdacht auf Shunt Dysfunktion, wurde nach einem Implantationszeitraum von sieben Monaten eine Revision durchgeführt. Intraoperativ bestätigte sich eine Ventilokklusion, woraufhin das Ventil ausgetauscht wurde.

Tabelle 10: Klinische Übersicht zu Präparat 1

Shunt-Komponenten	VK, PK, ProSa Ventil und Vorkammer (Miethke)
Revisionsdiagnose	Ventilokklusion
Implantationszeitraum (Monate)	7

3.2.1.2 Übersichtsfärbung

Beide mit Richardson Färbung gefärbten Schnitte des ProSa Ventils (Miethke) zeigten ausgeprägte Gewebevorkommen innerhalb des Ventils (Abbildung 10). In der Vorkammer fand sich ein durchgängig angefärbter Randsaum an der Innenseite des Silikondeckels.

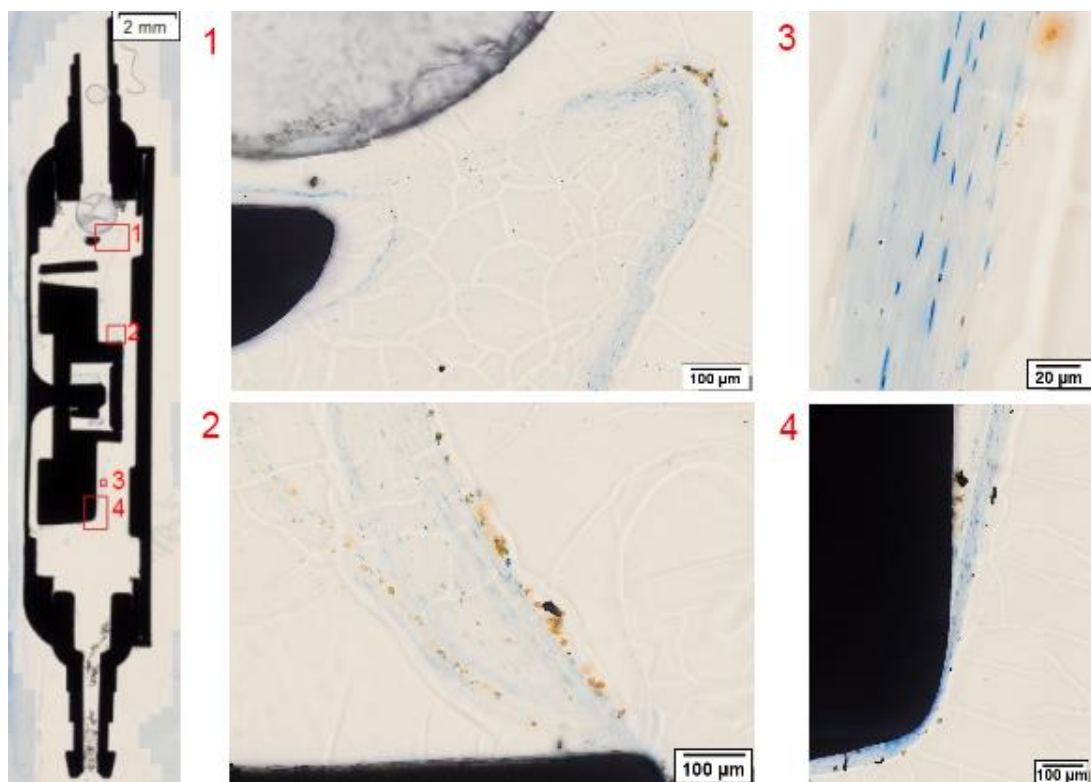


Abbildung 10: Übersicht ProSA Ventil (Miethke) und Ausschnitte (1 - 4), Richardson Färbung

Die Flussrichtung des Liquors war dem Übersichtsbild zufolge absteigend. Intraluminal befand sich eine ausgeprägte, netzartige Gewebebesiedlung (Abbildung 10, Ausschnitt 1), die an mehreren Stellen randständig anlag (Ausschnitt 2 und 4). Die Zelldichte war an den Rand-

bereichen deutlich größer als innerhalb des Gewebes, wodurch sich dort eine kräftigere Anfärbung zeigte (Ausschnitt 1). Das Gewebe bestand überwiegend aus mehrschichtigen Zellverbänden mit länglichen Zellkernen (Ausschnitt 2). Die zellulären Merkmale entsprachen denen von Bindegewebe.

Aufgrund der zarten hellblauen Färbung war das Gewebe im nicht vergrößerten Übersichtsausschnitt nur schwer zu erkennen (Abbildung 10). Die farbliche Markierung des Gewebes (Abbildung 11, blau) erleichtert eine Übersicht über die Gewebeverteilung innerhalb des Ventils zu gewinnen. Das Gewebe zog sich netzartig durch den Ventilkörper und umschloss die zentralen Bauteile. An mehreren Punkten lag es an den metallischen Oberflächen an. Die Kugel-Konus Einheit (roter Pfeil), die den Liquorfluss (gelber Pfeil) durch das Ventil freigab, war großflächig von Gewebe umgeben. Die Gravitationseinheit (grüne Pfeile), die durch Rotation den Öffnungsdruck des Ventils veränderte, war von Gewebesträngen eingekleidet. Die inneren Ventilwände waren größtenteils frei von Gewebe.

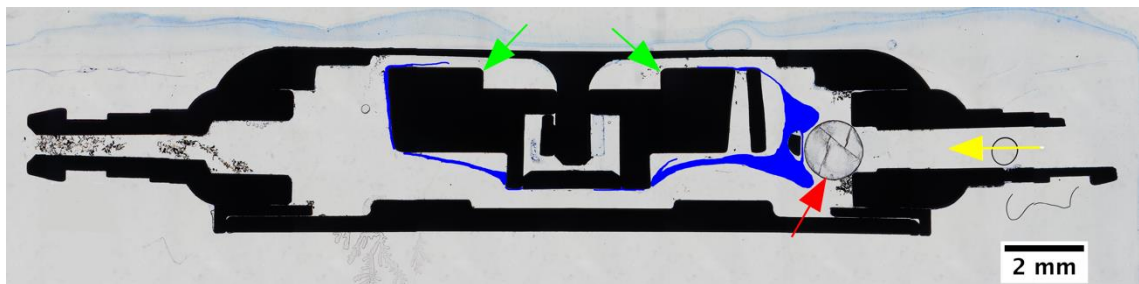


Abbildung 11: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Gewebemarkierung (blau), Richtung des Liquorflusses (gelber Pfeil), Kugel (roter Pfeil) und Gravitationseinheit (grüne Pfeile)

3.2.1.3 Immunhistochemie

Die Antikörperfärbung mit Laminin zeigte sich an allen Geweben im Längsschnitt des ProSa Ventils positiv, variierte jedoch stark in ihrer Intensität (Abbildung 12). Die großflächigste Gewebefläche befand sich in dieser Schnittebene an der Kugel-Konus-Einheit (Abbildung 12, Ausschnitt 1). Die Intensität der Färbung ist an den Geweberändern am stärksten gewesen. An diesen Bereichen zeigten sich durch Gewebeschrumpfung entstandene Spalten zu den Ventiloberflächen.

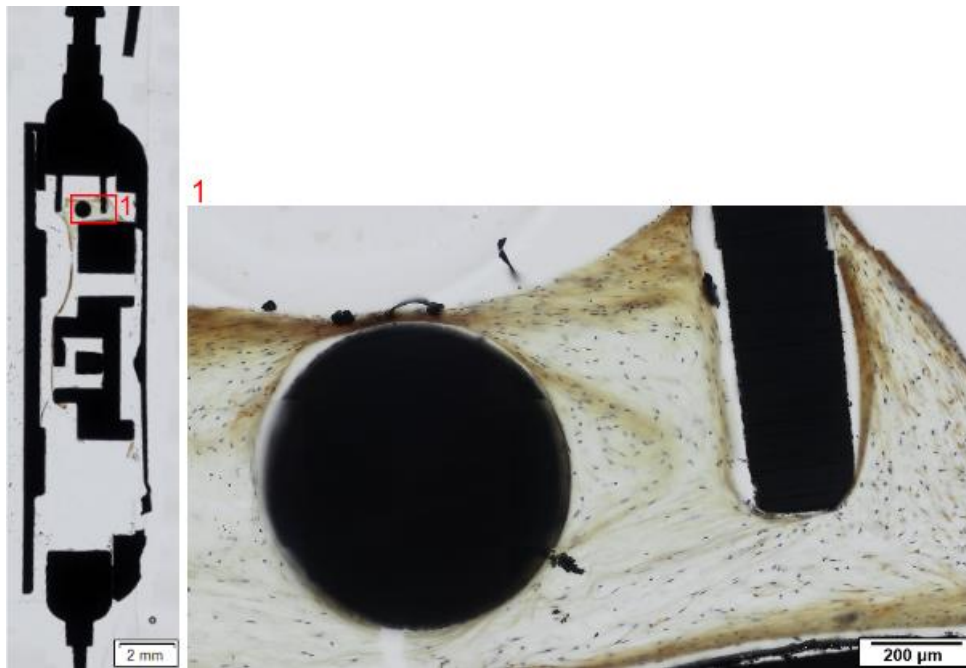


Abbildung 12: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-Laminin Färbung und Ausschnitt (1)

Die Antikörperfärbung mit Vimentin (Abbildung 13, Ausschnitt 1 und 2) zeigte positive Anfärbungen an den Geweben im Inneren des Ventils. Die angefärbten Strukturen waren überwiegend länglich und verzweigt und glichen faserähnlichen Fortsätzen (Abbildung 13, Ausschnitt 1). Die Anfärbungsdichte war an den Geweberändern am höchsten (Abbildung 13, Ausschnitt 2).

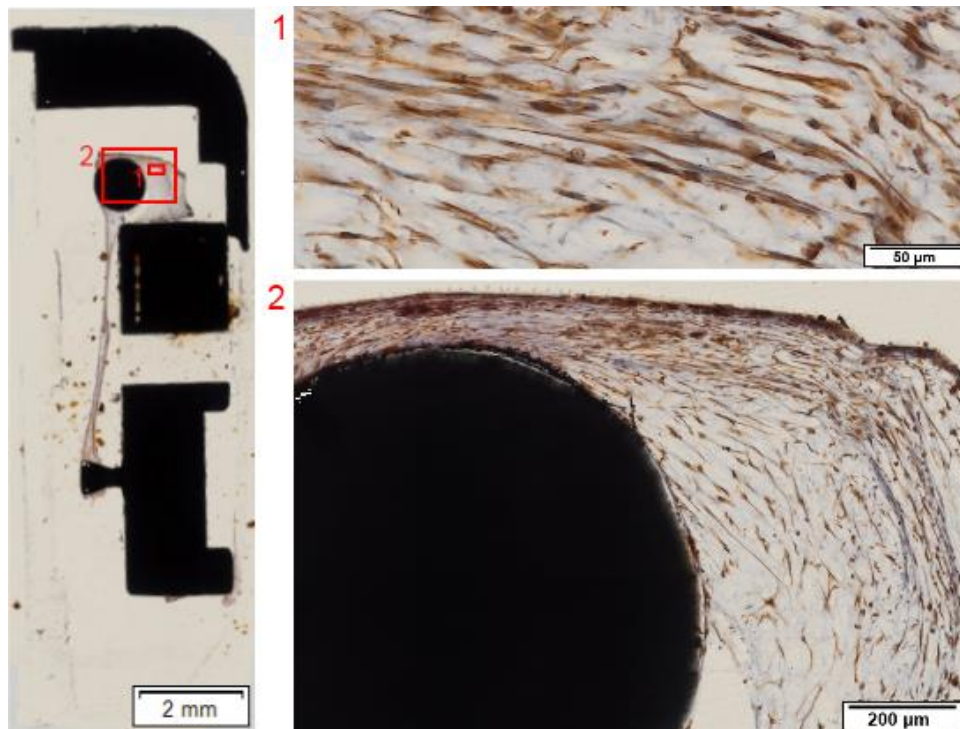


Abbildung 13: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-Vimentin Färbung und Ausschnitten (1 - 2)

In dem strangartigen Gewebeverband, der am Rotor haftete, befanden sich positive Anfärbungen auf GFAP (Abbildung 14, Abbildung 1).



Abbildung 14: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-GFAP Färbung und Ausschnitt (1)

Die Färbung gegen den Von-Willebrand-Faktor (VWF) zeigte sich im ProSa Ventil (Abbildung 15, Ausschnitt 1) negativ.

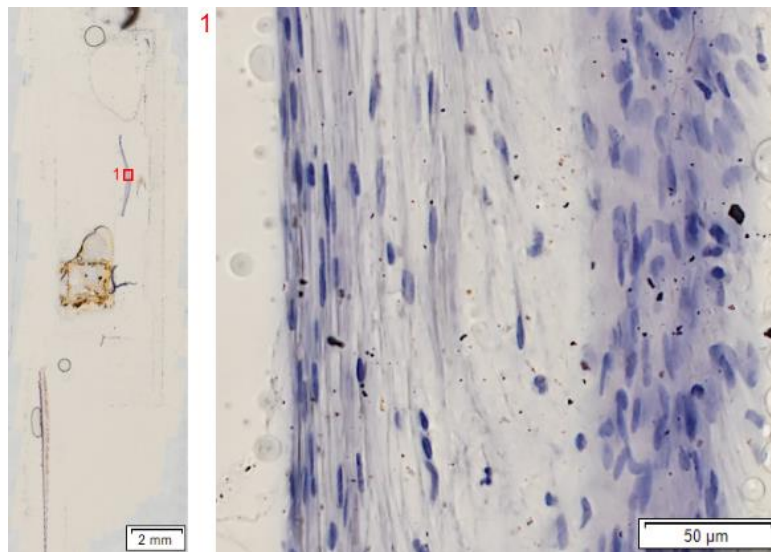


Abbildung 15: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-VWF und Ausschnitt (1)

3.2.1.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Das ProSa Ventil (Miethke) wies nach einer Liegedauer von sieben Monaten in allen sechs Längsschnitten ein ausgeprägtes Gewebevorkommen auf (Tabelle 11). Die Schichtstärke und die Verteilung des Gewebes an der Kugel-Konus Einheit und dem Rotor korrelierten mit der klinischen Diagnose der Ventilokklusion. Die immunhistochemischen Färbungen mit Anti-GFAP, Anti-Laminin und Anti-Vimentin waren positiv, die mit Anti-vW negativ. Alle drei Schnitte der Vorkammer zeigten einen dünnen Randsaum an der Innenseite des Silikondeckels.

Tabelle 11: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 1

Shunt-Komponente	Schnitte	Färbung	Gewebe / Ergebnis
ProSa Ventil	2	Richardson	Plaques
	1	Anti-GFAP	vorhanden / positiv
	1	Anti-Laminin	vorhanden / positiv
	1	Anti-Vimentin	vorhanden / positiv
	1	Anti-VWF	vorhanden / negativ

Shunt-Komponente	Schnitte	Färbung	Gewebe / Ergebnis
Vorkammer	2	Richardson	Spuren
	1	Anti-Vimentin	kein Gewebe

3.2.2 Präparat 2

3.2.2.1 Klinische Übersicht

Die weibliche Patientin war eine Frühgeburt der 29. Schwangerschaftswoche und litt an einem posthämorrhagischen, postinfektiösen, multilokulären Hydrocephalus (IVH Grad 4). Das untersuchte Shuntsystem bestand aus einer Vorkammer, einem ProSa und einem miniNAV Ventil (Miethke), sowie VK und PK und wurde im Lebensalter von zwei Monaten implantiert (Tabelle 11). Nach einem Implantationszeitraum von etwa vier Jahren trat eine Eintrübung der Patientin auf, die sich durch mehrmalige Punktionen der Vorkammer verbesserte. Die CT-Untersuchung ergab eine Erweiterung der Ventrikel. Der in der Liquordiagnostik bestimmte Gesamtproteinwert betrug 146 mg/L, der Albuminwert 60,4 mg/L. Bei der daraufhin durchgeführten Revision wurde eine Ventilokklusion diagnostiziert, woraufhin das Ventil und der VK ausgetauscht wurden. Das dabei eingesetzte Shuntsystem war ebenfalls Teil der Studie und findet sich im Abschnitt 3.2.3 Präparat 3.

Tabelle 15: Klinische Übersicht zu Präparat 2

Shunt-Komponenten	VK, PK, ProSa Ventil, miniNAV Ventil und Vorkammer (Miethke)
Post-OP Diagnose	Ventilokklusion
Implantationszeitraum (Monate)	48

3.2.2.2 Übersichtsfärbung

Die Übersichtsfärbungen des ProSa und des miniNAV Ventils wiesen in allen Schnitten ein Vorkommen von Gewebe auf, welches teilweise sehr ausgeprägt war.

Abbildung 16 zeigt einen Längsschnitt des ProSa Ventils (Miethke) in Richardson Färbung. Die Flussrichtung des Liquors war dem Übersichtsbild zufolge aufsteigend. Auf der Unterseite des Rotors (Abbildung 16, Ausschnitt 1) haftete ein straff organisierter Zellverband. Am Ventilboden befand sich parallel zur Flussrichtung des Liquors ausgerichtetes Gewebe (Abbildung 16, Ausschnitt 2).

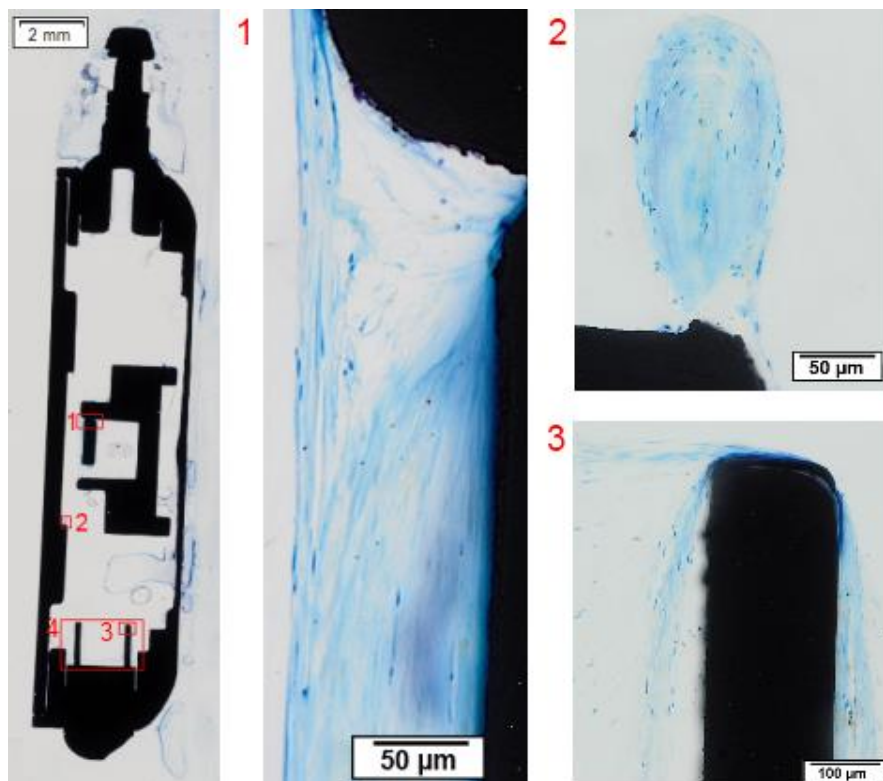


Abbildung 16: Übersicht ProSA Ventil (Miethke) mit Ausschnitten (1 - 3), Richardson Färbung

Der Bereich des Kugelsitzes (Abbildung 16, Ausschnitt 3 und Abbildung 17, Ausschnitt 4) war von einem großflächigen Gewebenetz umgeben.

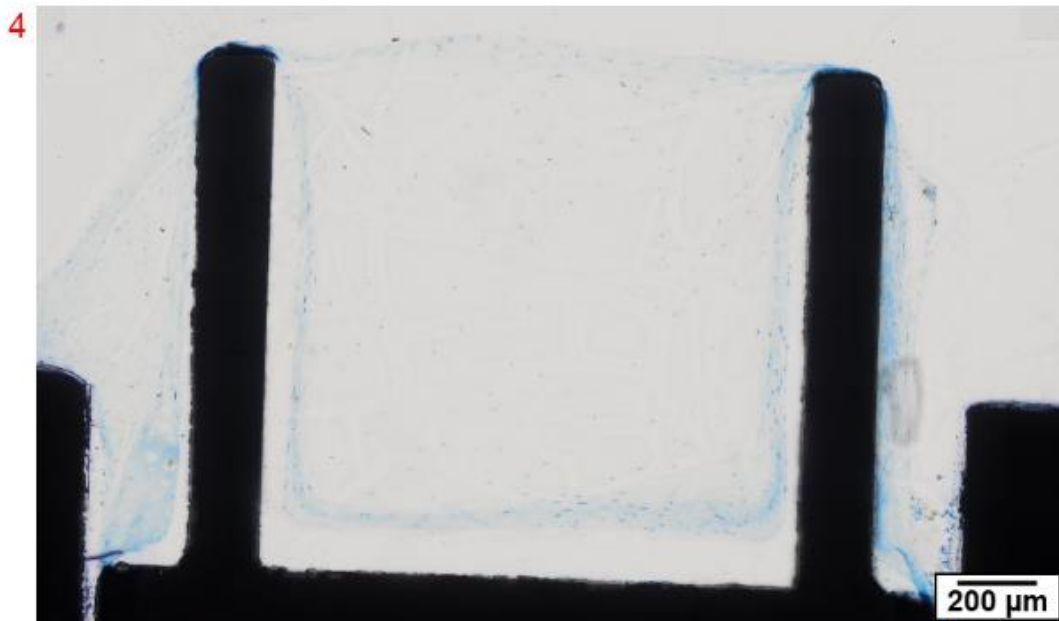


Abbildung 17: Ausschnitt 4 zu Abbildung 16, Übersicht ProSA Ventil (Miethke), Richardson Färbung

Der Längsschnitt des ProSA Ventils zeigte eine ungleiche Verteilung des Gewebes (Abbildung 18, blaue Markierung). Die Bereiche um den Kugelsitz (roter Pfeil) wiesen die höchste Ausprägung auf. Der Rotor (grüne Pfeile) und das Gehäuse waren zum Teil mit ein- und mehrschichtigen Gewebesträngen bedeckt.

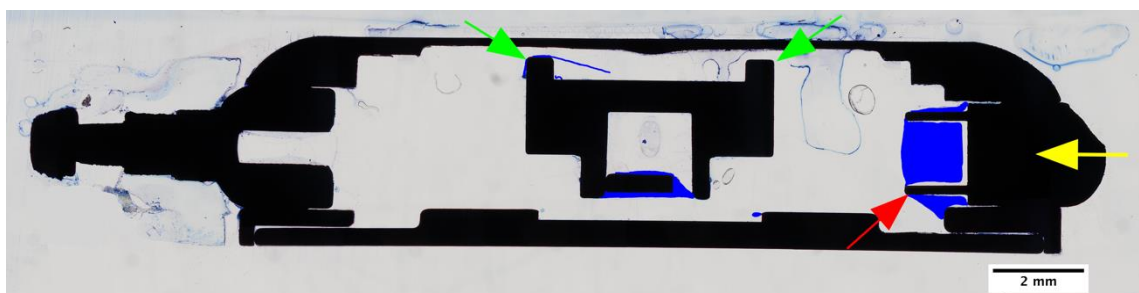


Abbildung 18: ProSa Ventil (Miethke) mit Gewebemarkierung (blau), Richtung des Liquorflusses (gelber Pfeil), Kugel (roter Pfeil) und Gravitationseinheit (grüne Pfeile)

3.2.2.3 Immunhistochemie

Die Färbung mit Anti-KiM1P (Abbildung 19, Ausschnitt 1) fiel bei diesem Präparat negativ aus. Die Färbung des Schliffs mit Antikörpern gegen Kollagen IV, welches sich in der Ba-

sallamina findet, war positiv (Abbildung 19, Ausschnitt 2). Die Färbungen mit Anti-Vimentin Färbung (Abbildung 19, Ausschnitt 3) und Anti-GFAP Färbung (Abbildung 19, Ausschnitt 4) zeigten sich vereinzelt positiv.

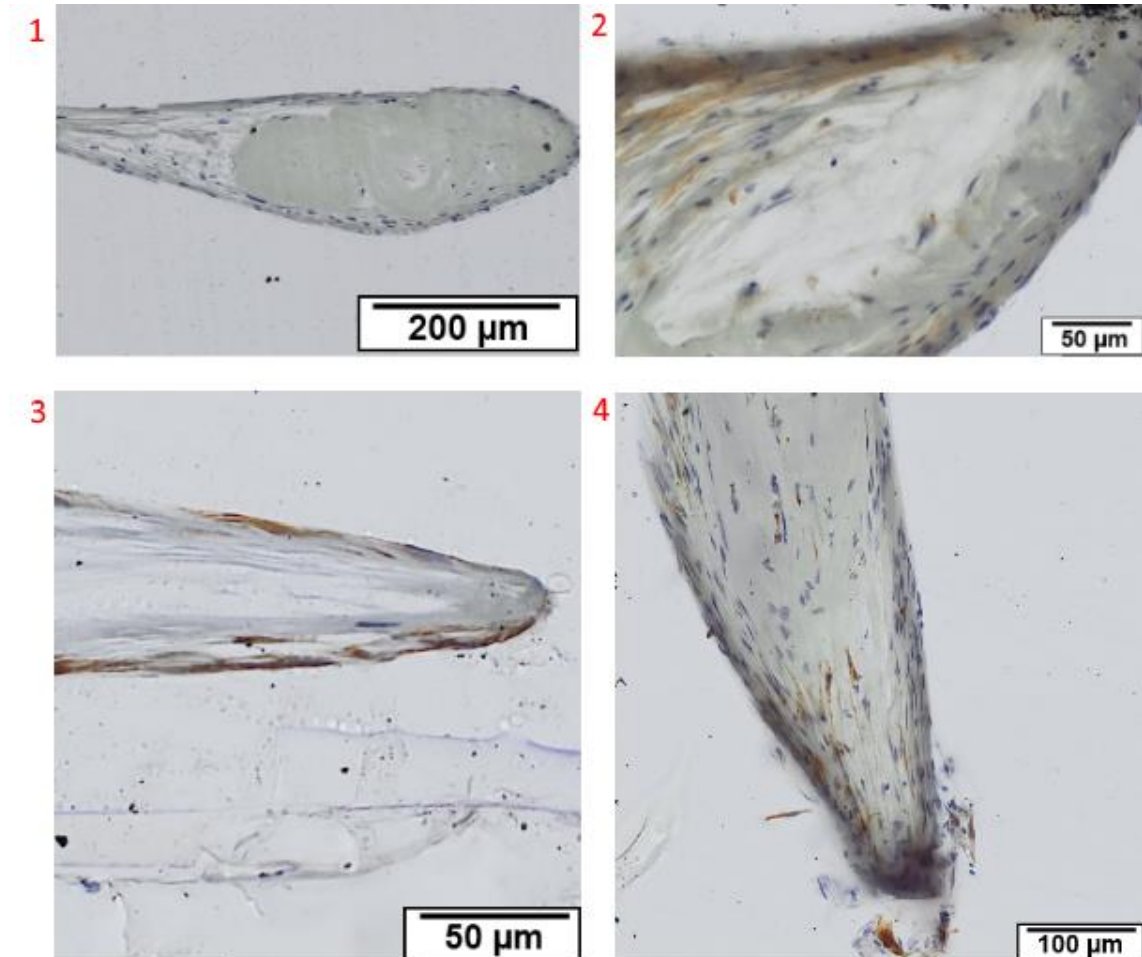


Abbildung 19: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-KiM1P Färbung (1), Anti-Collagen IV Färbung (2), Anti-Vimentin Färbung (3) und Anti-GFAP Färbung (4)

3.2.2.4 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die zentralen Schnitte des ProSa und miniNAV Ventils (Miethke) wiesen nach einer in-vivo Liegedauer von vier Jahren ein ausgeprägtes Gewebevorkommen auf (Tabelle 16). Der histologische Befund korrelierte mit der postoperativen Diagnose der Ventilokklusion. Die Färbungen mit Anti-Collagen IV, Anti-GFAP und Anti-Vimentin fielen positiv, die mit Anti-KiM1P negativ aus. Die Färbungen mit Anti-VWF, -CD 42b, -Laminin und -CD 68 waren nicht beurteilbar, da die peripheren Schnitte deutlich weniger Gewebe enthielten und mehr Artefakte aufwiesen.

Tabelle 12: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 2

Shunt-Komponente	Schnitte	Färbung	Gewebe / Ergebnis
ProSa Ventil	2	Richardson	Plaques
	1	Anti-Collagen IV	vorhanden / positiv
	1	Anti-GFAP	vorhanden / positiv
	1	Anti-Vimentin	wenig / positiv
	1	Anti-KiM1P	wenig / negativ
	1	Anti-CD 68	nicht vorhanden
miniNAV Ventil	3	Anti-VWF, -CD 42b, -Laminin	nicht beurteilbar
	2	Richardson	Plaques

3.2.3 Präparat 3

3.2.3.1 Klinische Übersicht

Die allgemeine klinische Vorgeschichte der Patientin ist unter 3.2.2 Präparat 2 beschrieben. Im Rahmen der vorangegangenen Revision wurde eine Vorkammer, ein ProSa und ein miniNAV Ventil (Miethke), sowie ein VK und PK im Lebensalter von vier Jahren implantiert (Tabelle 13). Nach einer Woche trat eine Shuntinfektion auf. Die Liquordiagnostik ergab eine Infektion mit Staphylococcus Epidermidis Bakterien sowie eine erhöhte Anzahl an Leukozyten im Liquor. Die Blutdiagnostik zeigte einen C-reaktives Protein Wert (CRP-Wert) von 137 mg/L auf. Der Shunt wurde vollständig entfernt und temporär durch eine externe Ventrikeldrainage ersetzt. Zusätzlich wurde eine Antibiotikatherapie mit Vancomycin eingeleitet.

Tabelle 13: Klinische Übersicht zu Präparat 3

Shunt-Komponenten	VK, PK, ProSa Ventil, miniNAV Ventil und Vorkammer (Miethke)
Post-OP Diagnose	Shuntinfektion
Implantationszeitraum (Monate)	0

3.2.3.2 Übersichtsfärbung

Die Schliffe des ProSa und des miniNAV Ventils zeigten vereinzelte Anhäufungen von Zellkolonien. Der Schnitt der Vorkammer enthielt keine Zellen.

Das ProSa Ventil wies an den Innenwänden vereinzelte Zellkolonien auf, die aus bis zu zehn Zellen bestanden (Abbildung 20, Ausschnitt 1 + 2). Die Zellkerne waren rundlich, bei einer Größe von 2 – 5 μm . Durch den Säge- und Schleifprozess entstandene Artefakte legten sich zum Teil über die interessanten Bereiche (Abbildung 20, Ausschnitt 1, grüne Pfeile).

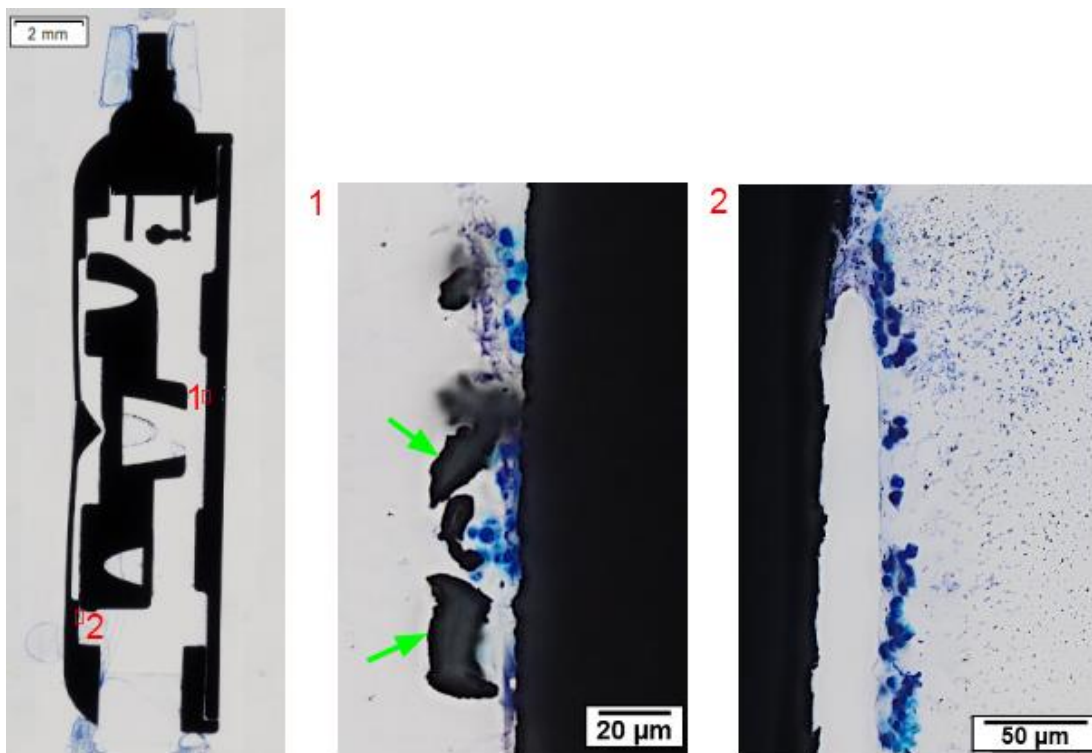


Abbildung 20: Übersicht ProSA Ventil (Miethke) mit zugehörigen Ausschnitten (1 - 2), Artefakte (grüne Pfeile), Richardson Färbung

Sehr ähnliche Zellformationen befanden sich auch im miniNAV Ventil (Abbildung 21, Ausschnitt 1 + 2). Die Zellen lagen ebenfalls an den randständigen Oberflächen. Bei diesem Schnitt ging, der sonst schwarz erscheinende metallische Ventilkörper durch das Schleifen partiell verloren und war nur noch als Kontur erkennbar.

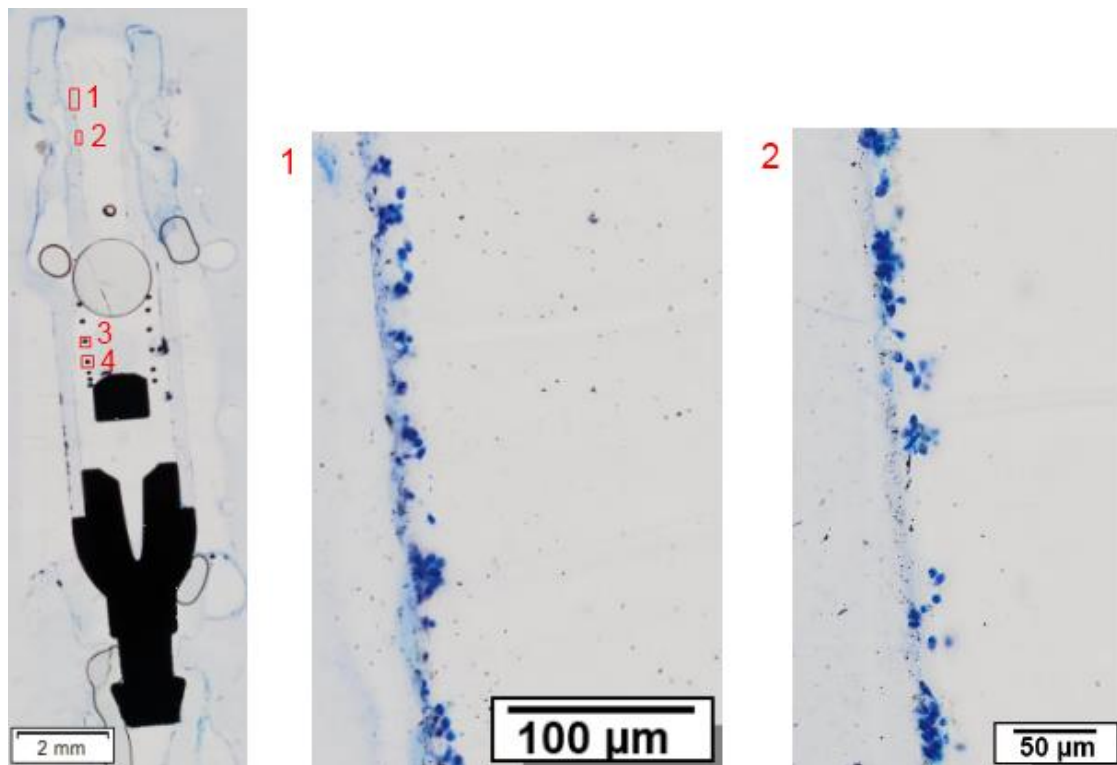


Abbildung 21: Übersicht miniNAV Ventil (Miethke) mit Ausschnitten (1 + 2), Richardson Färbung

Bei den runden Metallstrukturen in der Mitte des Ventils handelte es sich um Querschnitte durch die Spiralfeder (Abbildung 22, Ausschnitt 3 + 4). Etwa an der Hälfte dieser Oberflächen befanden sich Zellansammlungen. Der intraluminale Ventilteil war frei von Zellen.

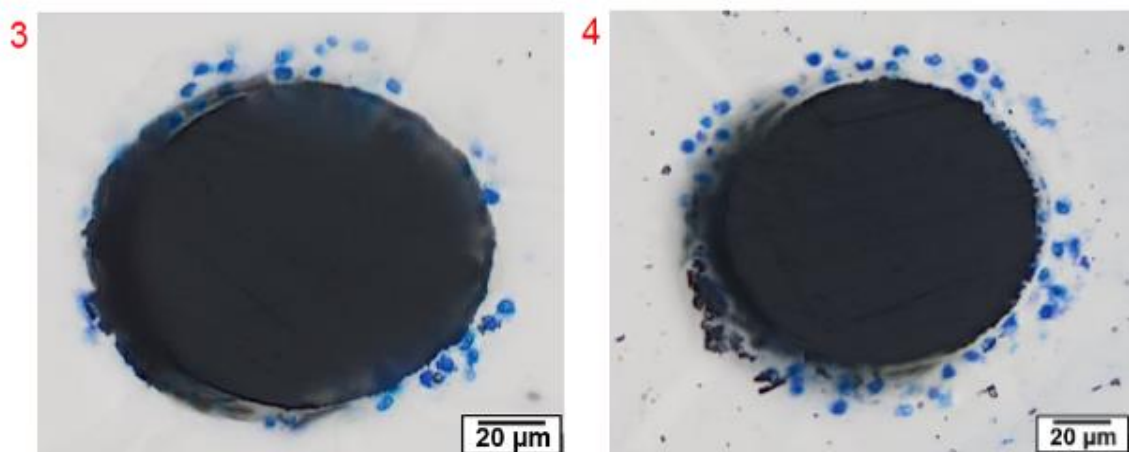


Abbildung 22: Ausschnitte 3 + 4 zu Abbildung 21

3.2.3.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Nach einer Implantationsdauer von sechs Tagen wiesen beide untersuchten Ventile an verschiedenen internen Oberflächen, Zellansammlungen auf (Tabelle 14). Diese waren einzeln oder in Kolonien von bis zu zehn Zellen organisiert. Zusammenhängende mehrschichtige Gewebe fanden sich nicht.

Tabelle 14: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 3

Shunt-Komponente	Schnitte	Färbung	Gewebe
ProSa	2	Richardson	vereinzelte Zellen
miniNAV	2	Richardson	vereinzelte Zellen
Vorkammer	1	Richardson	vereinzelte Zellen

3.2.4 Präparat 4

3.2.4.1 Klinische Übersicht

Der männliche Patient war eine Frühgeburt der 25. Schwangerschaftswoche und litt an einem posthämorrhagischen Hydrocephalus (Tabelle 15). Das untersuchte Shuntsystem bestand aus einem Medos Ventil von Codman mit Vorkammer sowie VK und PK und wurde im Lebensalter von vier Monaten implantiert. Aufgrund von wiederkehrenden Kopfschmerzen, mit Verdacht auf eine Überdrainage des Liquors, wurde nach einem Implantationszeitraum von zehn Jahren und zwei Monaten eine vollständige Revision durchgeführt.

Tabelle 15: Klinische Übersicht zu Präparat 4

Shunt-Komponenten	VK, PK, Codman Medos Ventil mit Vorkammer (Johnson & Johnson)
Post-OP Diagnose	Überdrainage
Implantationszeitraum (Monate)	122

3.2.4.2 Übersichtsfärbung

Das Codman Medos Ventil (Johnson & Johnson) bestand aus einer zusammenhängenden Einheit von Vor- und Hauptkammer. Der Ventilkörper bestand aus Silikon, die mechanischen Einheiten im Ventilinneren aus Metall. Der Liquorfluss wurde durch eine Kugel-Konus-Einheit mit Rubinkugel gesteuert. Die Vorkammer (Abbildung 23, Ausschnitt 1) zeigte einen durchgängig gefärbten Saum und vereinzelte Zellen an der Innenseite der Silikonhülle. Die Metalloberflächen wiesen keine zellulären Spuren auf (Abbildung 23, Ausschnitt 2).

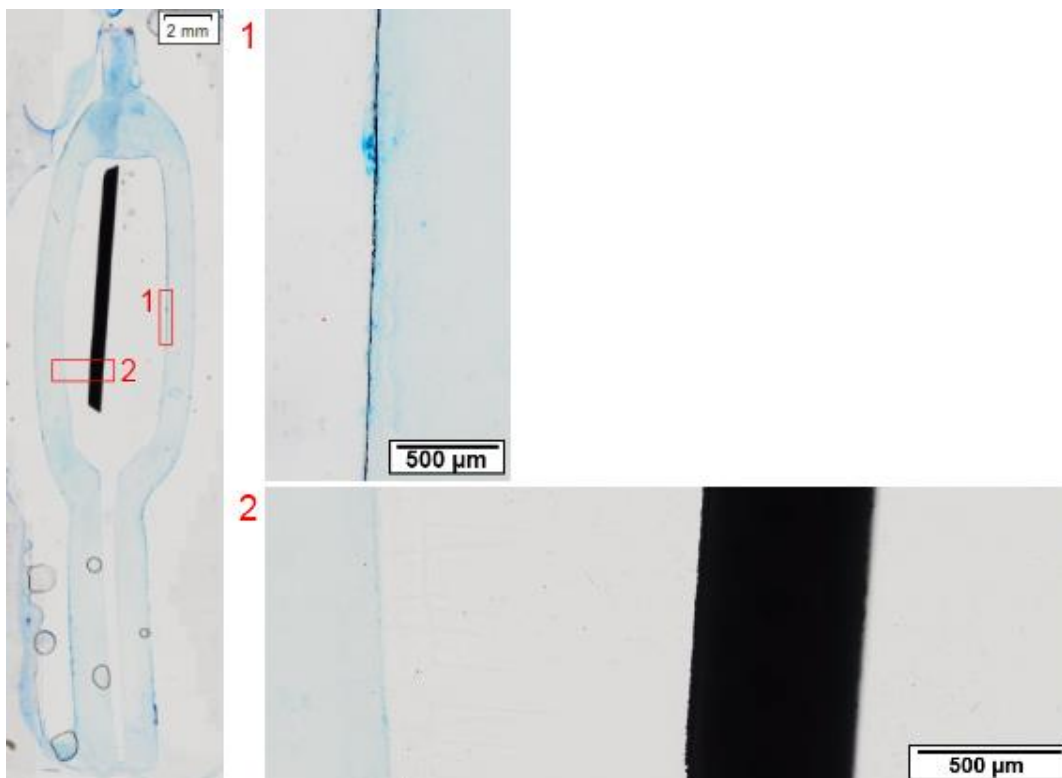


Abbildung 23: Übersicht Codman Medos Vorkammer (Johnson & Johnson) mit Ausschnitten (1 + 2)

Der Längsschnitt der Codman Medos Hauptkammer (Johnson & Johnson) gibt eine Übersicht über die Ventilkomponenten (Abbildung 24). Der Liquor gelang im Übersichtsbild von rechts durch den Einlass an der Rubinkugel in die Ventilhauptkammer und über den Auslass

links in den PK. Etwa an der Hälfte der aus Silikon bestehenden Ventilwände fanden sich starke Anfärbungen. Diese sind sowohl an der Ventilaußenwand (Abbildung 24, Ausschnitt 1) als auch an der -innenwand sichtbar (Abbildung 24, Ausschnitt 2). Die restlichen Silikonoberflächen wiesen einen durchgängig angefärbten Randsaum auf (Abbildung 24, Ausschnitt 3). Die intraluminalen Bereiche zeigten keine zellulären Spuren.

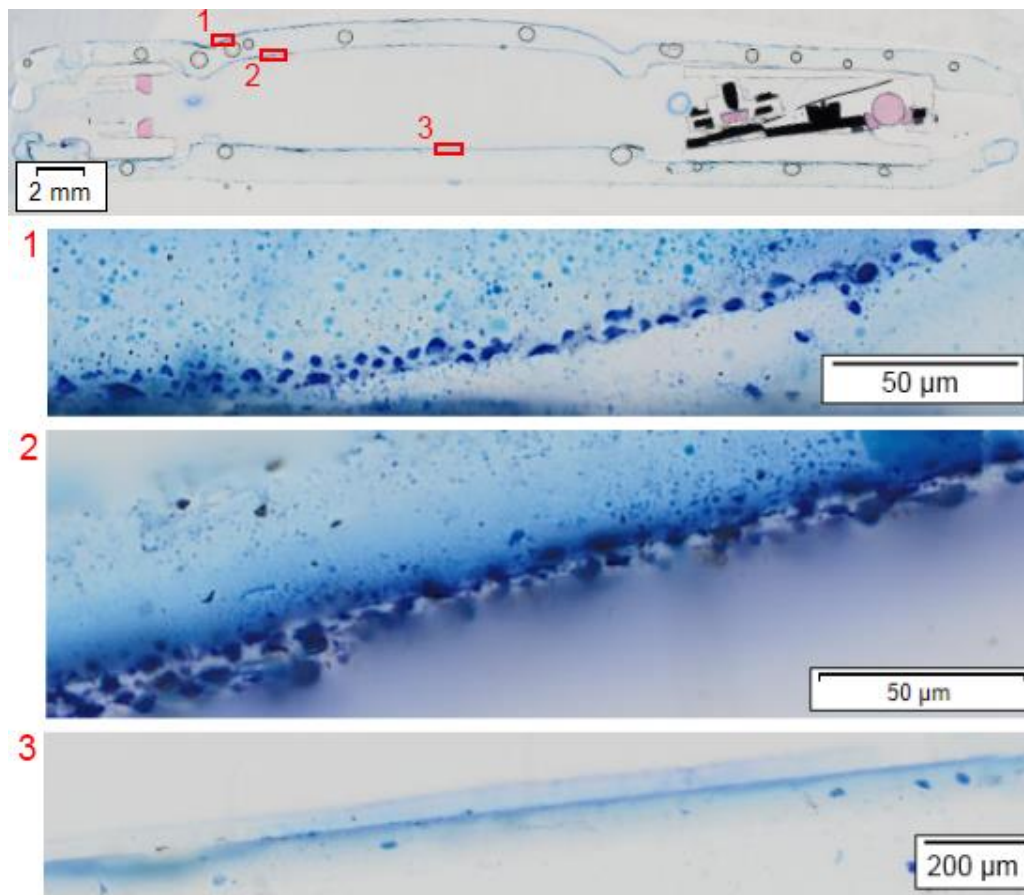


Abbildung 24: Übersicht Codman Medos Hauptkammer (Johnson & Johnson) mit Ausschnitten (1 - 3)

Dünne Gewebeschichten fanden sich vereinzelt an metallischen Bauteilen des Ventilmechanismus (Abbildung 25, Ausschnitt 1). Der überwiegende Anteil der angeschnittenen metallischen Oberflächen (Abbildung 25, Ausschnitt 2) wies keine Anfärbungen auf. Die Bereiche um die Kugel-Konus-Einheit zeigten ebenfalls keine Anzeichen einer Gewebebesiedlung (Abbildung 25, Ausschnitt 3).

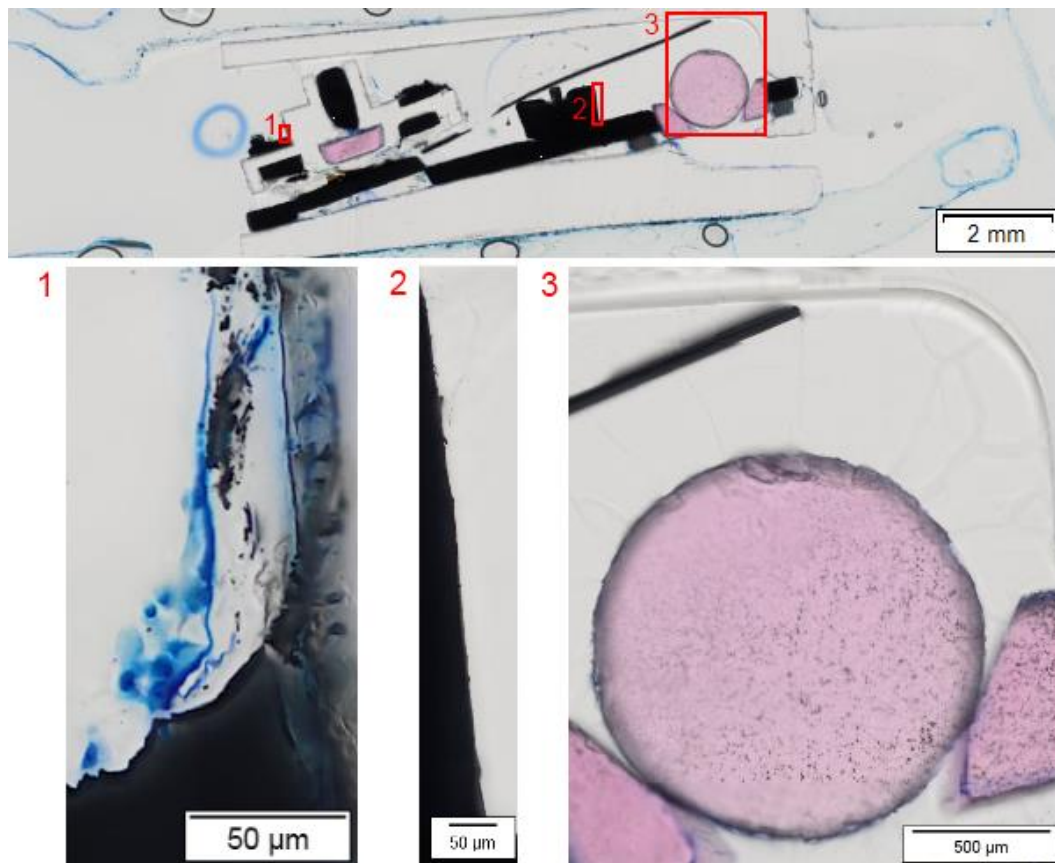


Abbildung 25: Übersicht Ventilmechanismus Codman Medos Ventil (Johnson & Johnson) mit Ausschnitten (1 - 3)

3.2.4.3 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die Schnitte des Medos Codman Ventils (Johnson & Johnson) wiesen nach einem Implan-
tationszeitraum von zehn Jahren und zwei Monaten vereinzelt Zellen und einschichtiges Ge-
webe auf (Tabelle 16). Die metallischen Oberflächen sind größtenteils gewebefrei gewesen,
während die Silikonoberflächen einen deutlich gefärbten Randsaum aufwiesen. Die für den
Liquorfluss relevanten Bauteile waren nicht durch Gewebe in ihrer Funktion beeinträchtigt,
sodass sich histologisch keine Anzeichen einer Okklusion zeigten.

Tabelle 16: Ergebnisse der Übersichtsfärbung von Präparat 4

Shunt-Komponente	Schnitte	Färbung	Gewebe
Medos Vorkammer	2	Richardson	Spuren
	1	Richardson	Schicht
Medos Hauptkammer	2	Richardson	Spuren
	1	Richardson	Schicht

3.2.5 Präparat 5

3.2.5.1 Klinische Übersicht

Der männliche Patient war eine Frühgeburt der 24. Schwangerschaftswoche und litt an einem posthämorrhagischen Hydrocephalus (Tabelle 17). Das untersuchte Shuntsystem bestand aus einem ProSa Ventil sowie VK und PK und wurde im Lebensalter von zwei Jahren und zwei Monaten nach Okklusion des ersten Ventils implantiert. Nach einem Implantationszeitraum von sieben Monaten wurde eine craniale MRT durchgeführt. Die Untersuchung ergab eine Dilatation aller inneren Liquorräume und Verlegung der äußeren Liquorräume sowie die Ballonierung des 4. Ventrikels mit Verdrängung der Kleinhirnhemisphären nach dorsal und Kompression des Hirnstammes. Daraufhin wurde eine Revision des Ventils und des VK durchgeführt. Postoperativ bestätigte sich die Verdachtsdiagnose der Ventilokklusion.

Tabelle 17: Klinische Übersicht zu Präparat 5

Shunt-Komponenten	VK, PK und ProSa Ventil (Miethke)
Post-OP Diagnose	Ventilokklusion
Implantationszeitraum (Monate)	7

3.2.5.2 Übersichtsfärbung

Alle drei untersuchten Schnitte des ProSa Ventils wiesen ein ausgeprägtes Vorkommen von mehrschichtigem Gewebe auf (Abbildung 2).

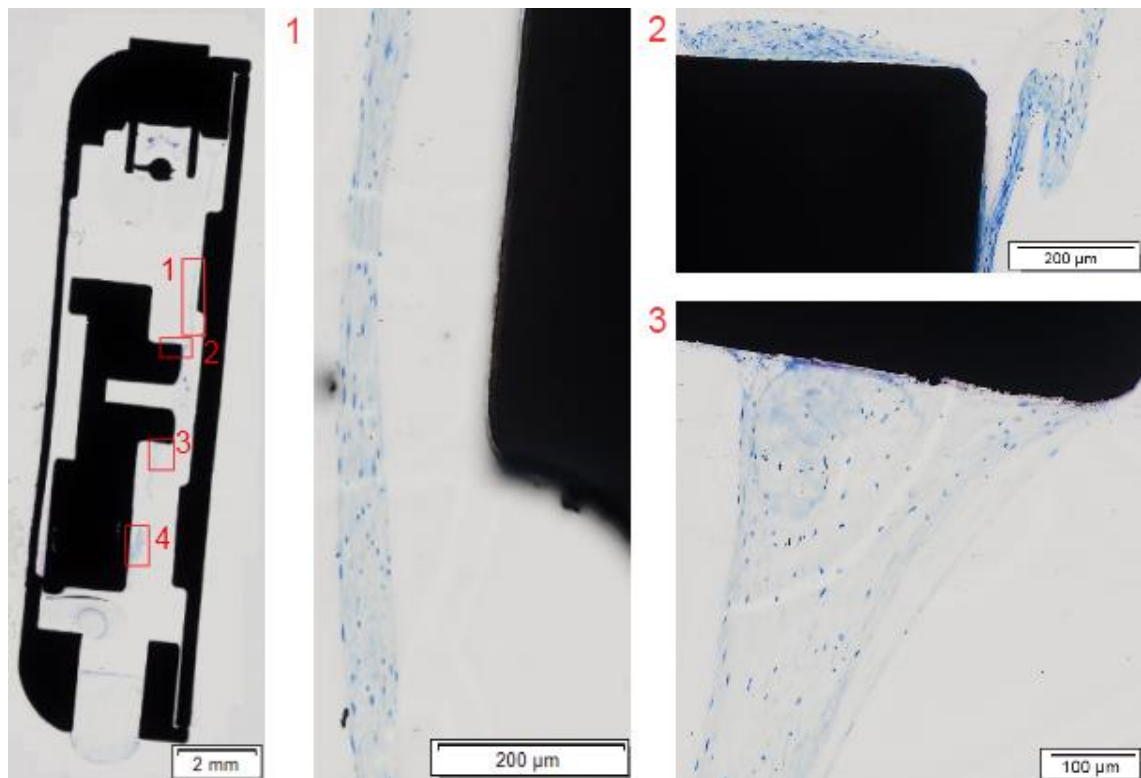
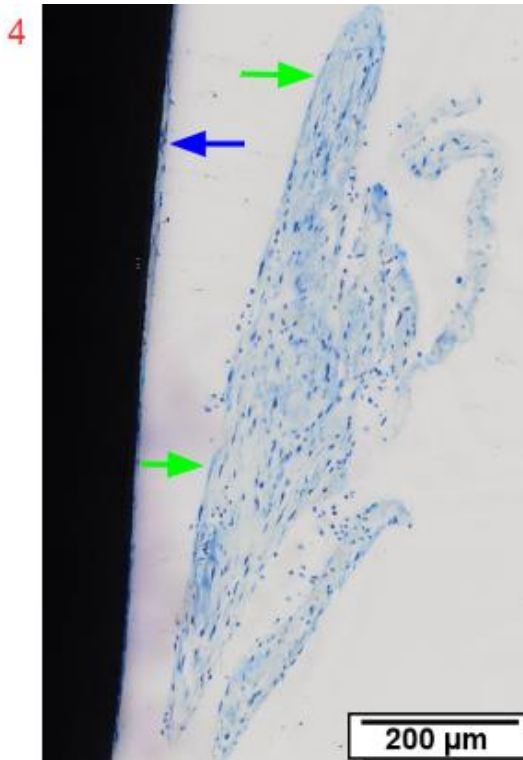


Abbildung 26: Übersicht ProSa Ventil (Miethke) mit Ausschnitten (1 -3)

Der Liquorfluss war der Abbildung zufolge absteigend. Auf dem Schnittbild war ein Gewebestrang erkennbar (Abbildung 26, Ausschnitt 1), der sich mit Unterbrechungen vom Bereich des Kugelsitzes bis zum distalen Bereich des Rotors zog. An mehreren Punkten lag das Gewebe an der Oberfläche an (Abbildung 26, Ausschnitt 2 + 3).



Eine größere Gewebeinsel (Abbildung 27, Ausschnitt 4) fand sich innerhalb des Ventilkörpers. Die Konstitution war netzartig und locker organisiert und glich der von Bindegewebe. Die Zellkerne zeigten sich unter stärkerer Vergrößerung sowohl länglich als auch rundlich bei einer Größe von 5 - 7 µm. An den Rändern war das Gewebe zum Teil deutlich durch ein Epithel abgegrenzt (grüne Pfeile). Die Rotoroberfläche (blauer Pfeil) war mit einem einschichtigen Zellverband belegt.

Abbildung 27: Zugehöriger Ausschnitt 4 zu Abbildung 26, einschichtiger Zellverband (blauer Pfeil), Epithel (grüne Pfeile)

Intraluminal wies der Schnitt durch das ProSa Ventil (Miethke) einen Gewebestrang auf (Abbildung 28, blaue Markierung), der den Rotor (grüne Pfeile) und die Ventilwand miteinander verband. Dieser setzte lateral des Kugelsitzes (roter Pfeil) an und verlief parallel zum Liquorfluss (gelber Pfeil). Der Rotor war von allen Seiten mit Gewebe umgeben.

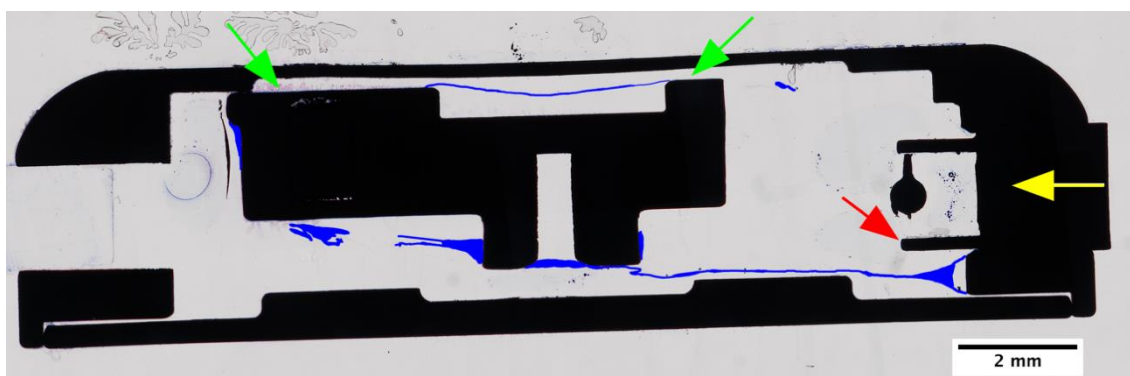


Abbildung 28: ProSa Ventil (Miethke) mit Gewebemarkierung (blau), Richtung des Liquorflusses (weißer Pfeil), Kugelsitz (roter Pfeil) und Gravitationseinheit (grüne Pfeile)

3.2.5.3 Immunhistochemie

Die Färbung mit Anti-Fibronectin war im Bereich der epithelialen Begrenzung des Gewebes positiv (Abbildung 29, Ausschnitt 1). Die Färbung mit Anti-Laminin zeigte sich unspezifisch und sehr stark positiv (Abbildung 29, Ausschnitt 2). Die Färbungen gegen GFAP Epitope (Abbildung 29, Ausschnitt 3), KiM1P Epitope (Abbildung 29, Ausschnitt 4) und CD 68 Epitope fiel positiv aus.

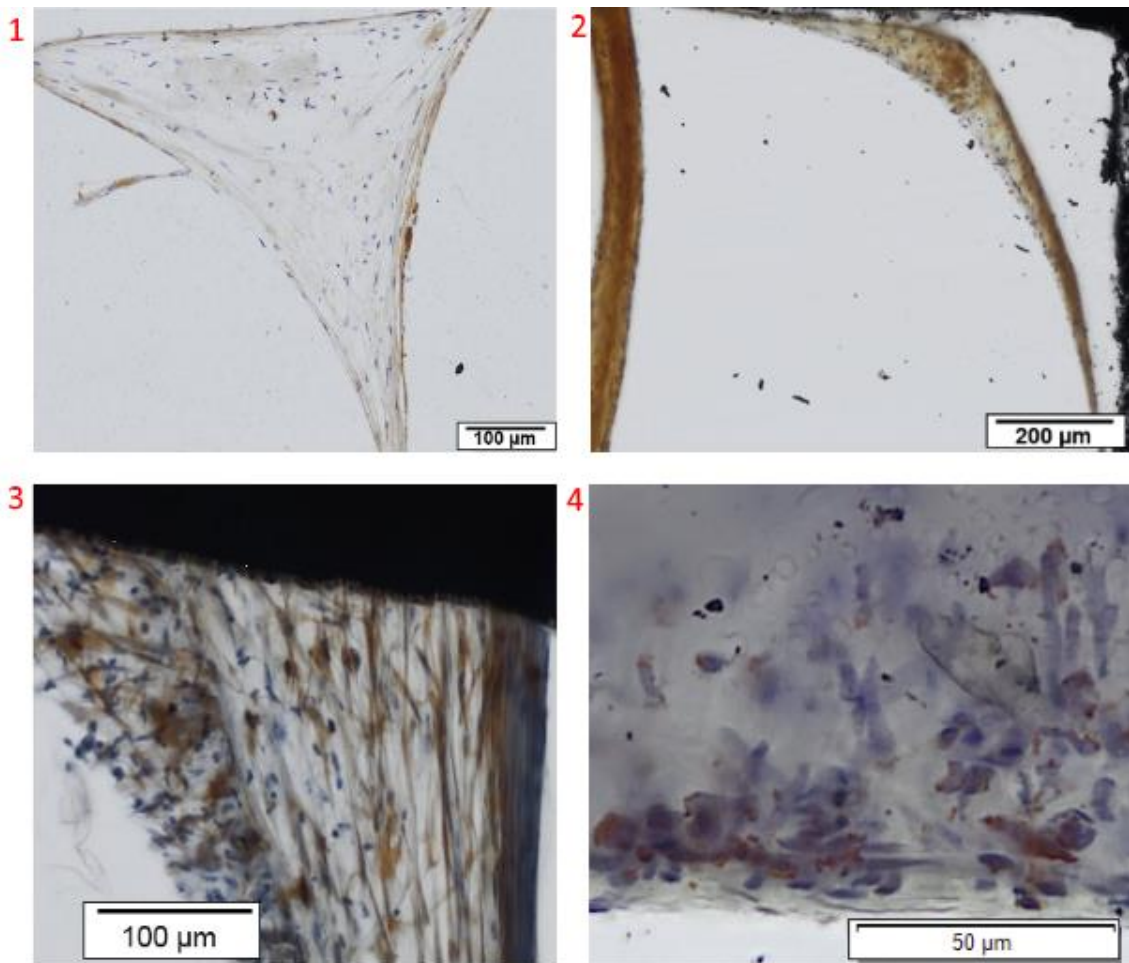


Abbildung 29: ProSa Ventil (Miethke) im Längsschnitt mit Anti-Fibronectin (1), Anti-Laminin (2), Anti-GFAP (3) und Anti-KiM1P Färbung (4)

3.2.5.5 Zusammenfassung der Ergebnisse

Die zentralen Schnitte des ProSa Ventils (Miethke) wiesen nach einem Implantationszeitraum von sieben Monaten ein ausgeprägtes Gewebevorkommen auf (Tabelle 18). Der his-

tologische Befund korrelierte mit der postoperativen Diagnose der Ventilokklusion. Die Färbungen mit Anti-Laminin, Anti-Fibronectin, Anti-GFAP, Anti-KiM1P und Anti-CD 68 waren positiv.

Tabelle 18: Ergebnisse der Färbungen von Präparat 5

Shunt-Komponente	Schnitte	Färbung	Gewebe / Ergebnis
ProSa Ventil	3	Richardson	Plaques
	1	Laminin	vorhanden / positiv
	1	Fibronectin	vorhanden / positiv
	1	GFAP	vorhanden / positiv
	1	KiM1P	vorhanden / positiv
	1	CD 68	vorhanden / positiv

3.2.6 Kontrollmaterial

Die Kontrollgruppe bestand aus vier fabrikneuen, nicht implantierten Shuntbauteilen der Firma Miethke (proGAV 2.0, Shuntassistent, miniNAV, Vorkammer). Die Präparate wurden nach dem gleichen Vorgehensschema, welches für die explantierten Ventile genutzt wurde, aufbereitet und mit Richardson Färbung gefärbt.

Die immunhistochemischen Färbungen wurden an einer resezierten Arachnoidalzyste eines zehnjährigen Patienten getestet. Es wurden Positiv- und Negativkontrollen durchgeführt.

3.2.6.1 Kontrollfärbungen Shunt-Material

Die histologische Auswertung ergab, dass intraluminale Ventilanteile in fabrikneuen Präparaten größtenteils frei von Anfärbungen waren. Vereinzelt zeigten sich Anfärbungen an Übergängen zwischen Ventilbauteilen und an zackigen Metallrändern, die durch den Sägeprozess entstanden sind (Abbildung 30, Ausschnitte 1 + 2).

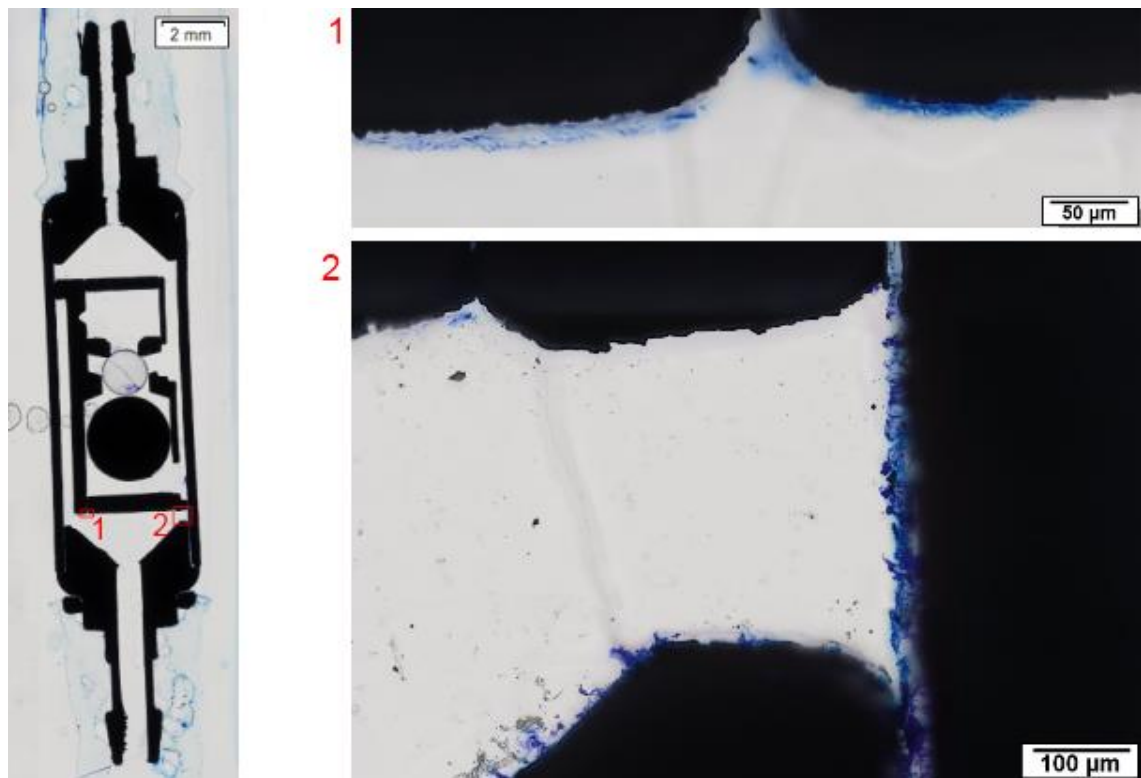


Abbildung 30: SHUNTASSISTANT (Miethke) im Längsschnitt mit dazugehörigen Ausschnitten (1 + 2), Richardson Färbung

Glatte, sauber angeschnittene Metalloberflächen wiesen keine Anfärbungen auf (Abbildung 31, Ausschnitt 1). Silikonoberflächen, wie die der Vorkammerkapsel (Abbildung 31, Ausschnitt 2) wiesen einen sehr dünnen, nahezu durchgängig angefärbten Randsaum auf. Zellulärer Charakter zeigte sich in keinem der Kontrollpräparate.

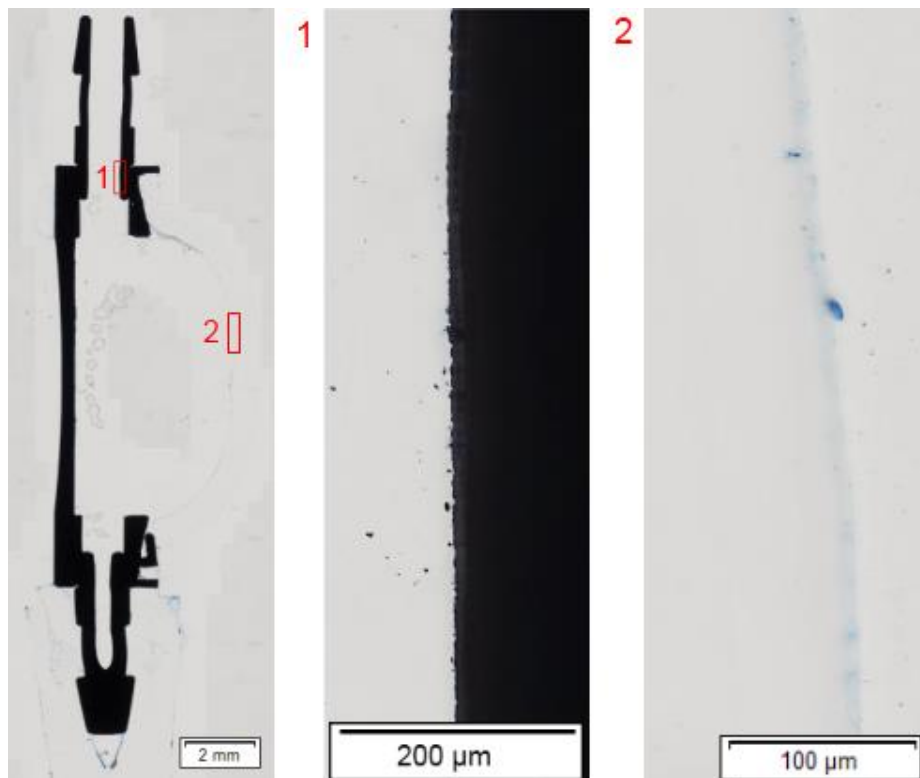


Abbildung 31: Vorkammer (Miethke) Längsschnitt mit dazugehörigen Ausschnitten (1 + 2), Richardson Färbung

3.2.6.2 Immunhistochemische Kontrollfärbungen

Die Präparate der Arachnoidalzyste wurden in Paraffin und in Technovit 9100 eingebettet und nach den gleichen Maßgaben, die für die immunhistochemischen Färbungen der explantierten Ventile galten, aufbereitet und gefärbt.

Die Kontrollfärbungen (Abbildung 32) mit Anti-Laminin (1), -Kollagen IV (4), -GFAP (5), -Vimentin (7), -CD42b (8) und -VWF (9) fielen großflächig positiv aus. Bei den Markern gegen KiM1P Epitope (3) und CD 68 Epitope (6) färbten sich die entsprechenden, im Gewebe vereinzelt vorhandenen, Zellen positiv. Die Färbung mit Anti-Fibronectin (2) war schwach positiv.

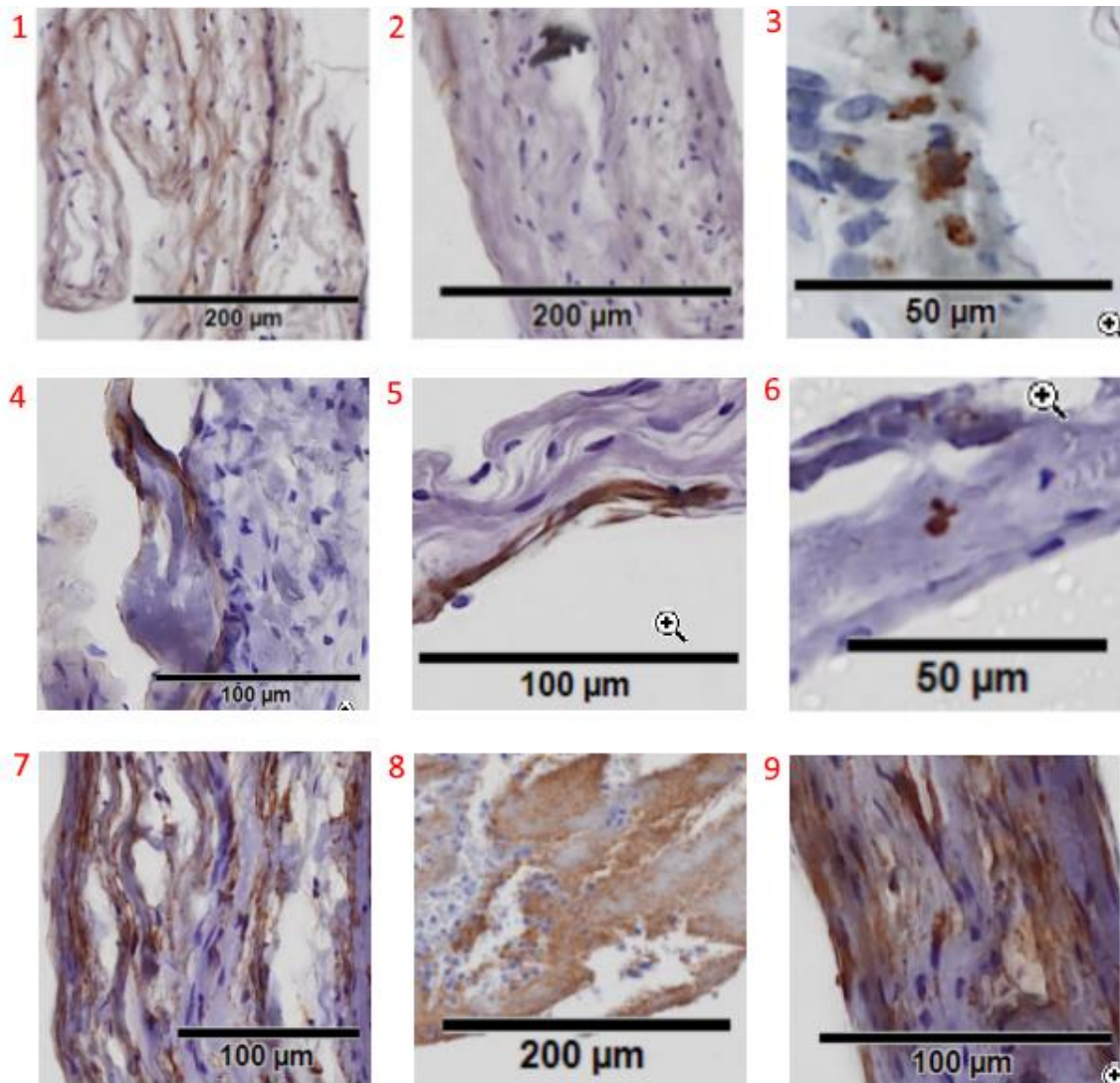


Abbildung 32: Kontrollfärbungen an einer Arachnoidalzyste mit Anti-Laminin (1), -Fibronectin (2), Anti-KiM1P (3), Anti-Kollagen IV (4), Anti-GFAP (5), Anti-CD68 (6), Anti-Vimentin (7), Anti-CD42b (8) und Anti-VWF (9), Einbettung in Technovit 9100

3.2.7 Übersicht über die histologische Auswertung

In nahezu allen Ventilen wurden zelluläre Gewebe nachgewiesen (Tabelle 19). In acht von neun Fällen, in denen die klinische Diagnose auf eine Okklusion hindeutete, konnte histologisch eine subtotale oder totale Verstopfung des Ventils nachgewiesen werden. Ein Zusammenhang zwischen Gewebemenge und Frühgeburtlichkeit konnte nicht festgestellt werden. Die Dicke und Beschaffenheit der Gewebeschicht korrelierte vor allem mit der Implantationsdauer. Implantate, die nach wenigen Tagen explantiert wurden, wiesen lediglich einzelne Zellen oder zelluläre Spuren auf. Zwei Shuntventile, die aufgrund einer Infektion im ersten Monat revidiert wurden, waren von Bakterien befallen, aber gewebefrei. Bei

längeren Implantationszeiträumen fanden sich mehrschichtige Gewebeverbände in Form von Schichten, Plaques oder Konglomeraten. Lokalisiert waren diese vor allem an Ecken und Kanten des Ventilgehäuses oder des Rotors, an der Kugel, oder in den Nischen neben der Kugel-Konus-Einheit. Ventilsysteme, die aufgrund einer Überdrainage revidiert wurden, zeigten histologisch keine Anzeichen einer Okklusion.

Tabelle 19: Übersicht der Standardfärbungen (Richardson)

Nr.	Ventiltyp	Zeit (M)	Indikation	Gewebe	Freie Mb	Ossifikation	Schicht	Gehäuse	Adjustierbarkeit	Rotor	Kugel-Konus	Funktion
1	proSa	7	Okkl	Plaques			1	1		1	1	0
2	proSa	7	Okkl	Plaques			1	1	1	1	1	0
3	proSa	0	Inf	Bakterien					1	1	1	1
4	PS Medical	181	Okkl	Kalzifizierung		1	1	1	N/A	N/A	1	1
5	proSa	1	Okkl	Spuren							1	0
6	Medos prog.	144	Über	Konglomerat			1	1		1	1	0
7	proGAV	49	Okkl	Schicht					1	1	1	1
8	Reservoir	1	Okkl	Schicht			1	1	N/A	N/A	N/A	1
9	ProGAV	53	Defekt	Konglomerat			1	1		1	1	0
10	proSa	2	Okkl	Plaques			1	1	1	1	1	1
11	proSa	48	Okkl	Plaques				1		1	1	0
12	proSa	0	Inf	Bakterien				0	0		1	1
13	proSa	5	Inf	Plaques	1			1	1			1
14	Medos prog	122	Über	Schicht	1		1	1	1		1	1
15	Reservoir	6	Entf	0			1	1	1	N/A	N/A	1
16	PaediGAV	108	Okkl	Schicht			1	1	N/A	N/A	1	1
17	Contour Flex	83	Über	Schicht		1	1	1	N/A	N/A	1	1
18	Medos prog	159	Okkl	Schicht		1	1	1		1	1	0
19	Medos	110	Über	Plaques				1	1	1	1	1

Zeit, Implantationszeitraum; M, Monate; Indikation, Indikation für Explantation; Okkl, Okklusion; Inf, Infektion; Über, Überdrainage; Entf, Entfernung; Mb, Membranen; 0, kein Gewebe; N/A, nicht anwendbar; Spuren, einzelne Zellen und/oder Spuren von Bestandteilen der extrazellulären Matrix (EZM); Schicht, konfluente zelluläre Schichten mit einer Dicke von bis zu drei Zellen und wenig EZM Bestandteilen; Plaque, Schicht mit einer Dicke von >3 Zellen in Gruppenanordnung mit EZM Proteinen an den inneren Ventilbestandteilen; Konglomerat, Gewebepropfen, überwiegend im Bereich der Kugel-Konus Einheit und angrenzenden Bauteilen

Um nähere Aussagen über den zellulären Gewebeansprung treffen zu können, wurden zehn Shuntventile für immunhistochemische Färbungen ausgesucht. Die Auswahl fiel auf Präparate, die ausreichend Gewebe enthielten und bei denen genug Material für mehrere Schnitte vorhanden war. Dennoch konnten nicht bei jedem Präparat alle Antikörper eingesetzt werden (Tabelle 20).

Laminine sind Glykoproteine und ein Bestandteil der zellulären Basalmembran. Färbungen gegen Laminin fielen in fünf von zehn, gegen Fibronectin in drei von drei Fällen positiv aus. Färbungen gegen Collagen IV, ebenfalls Bestandteil der Basalmembran, waren zweimal positiv (2/2).

Der Marker gegen KiM1P Epitope weist Makrophagen und Mikrogliazellen nach und zeigte in vier von fünf Präparaten positive Anfärbungen.

Als Intermediärfilament ist GFAP Teil des Zytoplasmas von Gliazellen, vor allem von Astrozyten. In vier Fällen fiel die Färbung gegen GFAP (4/7) positiv aus.

Vimentin, als Marker für Zellen mesenchymalen Ursprungs, konnte zweimal nachgewiesen werden (2/2).

Der Monozytenmarker CD68 wurde dreimal nachgewiesen (3/4).

Der VWF, der von Endothelzellen gebildet wird, ist als Trägerprotein des Gerinnungsfaktors VIII an der Blutkoagulation beteiligt. Die Färbungen gegen den VWF-Faktor und gegen das auf Thrombozyten vorhandene Oberflächenprotein CD42b waren negativ, enthielten kein Gewebe oder waren nicht beurteilbar.

Tabelle 20: Übersicht der immunhistologischen Färbungen

Nr.	Ventiltyp	KiM1P	Laminin	Fibronektin	Collagen IV	GFAP	CD 68	Vimentin	CD42b	VWF
1	proSa		+			+		+		N/A
2	proSa	+	+	+		+	+			
3	proSa									
4	PS Medical									
5	proSa									
6	Medos prog.									
7	proGAV		+			+				
8	Reservoir		0			0				
9	ProGAV	+	N/A	+		-	N/A			
10	proSa	+	+	+		-	+		-	
11	proSa	N/A	N/A		+	+	0	+	N/A	0
12	proSa									
13	proSa	+	+		+	-	+		0	0
14	Medos prog									
15	Reservoir		N/A			0				
16	PaediGAV		-							
17	Contour Flex									
18	Medos prog									
19	Medos									

VWF, Von-Willebrand-Faktor; +, positiv; -, negativ; 0, kein Gewebe; N/A, nicht beurteilbar

4 Diskussion

In einem Zeitraum von mehreren Monaten sammelten wir Shunt-Ventile von pädiatrischen Patienten der Universitätsmedizin Göttingen, die aufgrund verschiedener Komplikationen explantiert wurden.

Nach der Aufbereitung durch die Medizinisch-technischen Assistenten im Forschungslabor der Kinderherzklirik begannen wir mit den histologischen Untersuchungen. In 17 der 19 Ventile fanden wir Gewebe in Form von Schichten, komplexen Plaques, Konglomeraten oder Biofilm. In einem Ventil, welches aufgrund einer Infektion explantiert wurde - sowie in den Kontrollpräparaten - fanden sich keine signifikanten Anfärbungen. Sowohl in Silikon- als auch in Titanventilen konnten wir Zellverbände finden. Dabei stellte sich heraus, dass mehrschichtiges Gewebe gehäuft in Titanventilen oder an den metallischen Bauteilen der Silikonventile haftete. Die Silikonhülle war häufiger nur von dünneren Gewebeschichten umschlossen oder mit einem durchgängigen, zellkernfreien Biofilm belegt. Eine zuverlässige Aussage über die tatsächliche Menge des Gewebes kann nicht getroffen werden, da ein einzelner Schliff nur einen kleinen Ausschnitt des Ventils repräsentiert. Zusätzlich lässt sich nicht ausschließen, dass zelluläres Material durch den Aufbereitungsprozess herausgespült wurde.

Bisher wird angenommen, dass eine Okklusion im Shuntsystem häufiger den VK als das Ventil betrifft (Hanak et al. 2017), weshalb die Mechanismen der Okklusion für VK häufiger untersucht wurden. Da beide Bauteile eng miteinander zusammenhängen, ist es wichtig alle pathophysiologischen Prozesse, die zu einer Okklusion führen können, zu verstehen. In der Vergangenheit wurden bereits mehrfach okkludierte VK histologisch untersucht. Innerhalb der Shuntsysteme konnten Bindegewebe (53,8 %), chronische Entzündungsgewebe (49,5 %), Gliagewebe (39,6 %) und Plexus choroideus (38,5 %) (Sekhar et al. 1982) sowie Mineralablagerungen (Sgouros und Dipple 2004) identifiziert werden. Dies impliziert, dass sowohl physiologisch im Gehirn vorkommende, als auch pathologische Gewebe Obstruktionen verursachen können.

Als Ziel der Implantation von Biomaterialien wird häufig eine reizfreie Integration in das Implantationsgebiet beschrieben. Der Begriff Integration impliziert, dass das Implantat in die umliegenden Strukturen eingebaut wird. Obwohl es sich dabei um eine physiologische Reaktion handelt und diese Reaktion an der Außenhülle eines Shuntsystems die Funktion

meist nicht einschränkt, ist sie an der Innenseite nicht erwünscht, da sie eine Okklusion fördert. Das zentrale Problem besteht also darin, eine reaktionsfreie Integration des Shuntsystems in die umliegenden Gewebe zu erreichen, ohne dass die entscheidenden Bauteile in ihrer Funktion gestört werden.

Es ist entscheidend, zu verstehen, wie Gewebe oder einzelne Zellen das Shuntsystem infiltrieren. Verschiedene Mechanismen sind denkbar.

4.1 Okklusion durch physiologische Gewebe des ZNS

In der Literatur werden physiologische Gewebe des ZNS als Ursache für Obstruktionen von VK identifiziert. Vor allem fehlerhafte Katheterpositionen sowie das Vorhandensein von Schlitzventrikeln werden als Risikofaktoren diskutiert (Thomale et al. 2010). So könnten Zellen der Leptomeningen oder Ependymzellen durch die Katheterinsertion oder durch Kontakt mit den Ventrikelwänden abgeschert werden und somit in den Katheter gelangen (Harris und McAllister 2012). Es könnten aber auch ganze Gewebeanteile des Plexus choroideus, der weißen oder der grauen Substanz in den VK gesogen werden (Harris und McAllister 2012). Dies führt zu Verstopfungen der distalen Durchlässe des VK. Mit dem Liquorfluss könnten diese Zellen oder Zellklumpen auch in das Ventil gelangen und dort für Okklusionen sorgen. Staut sich das zelluläre Material an einer Engstelle auf, kommt es zu einem passiven, embolischen Verschluss.

Alternativ dazu stehen unsere Beobachtungen, die diese Theorie nicht stützen. Sie sprechen größtenteils für eine aktive Zellproliferation im Ventillinneren, da die Ventilbestandteile sehr formgetreu mit Zellverbänden beschichtet sind. Zudem zeigt sich eine ausgeprägte Adhäsion zu den Ventiloberflächen und eine an den Liquorfluss angepasste Gewebeform.

Unsere Beobachtungen unterstützen die Hypothese, dass Zellen und Proteine die Oberflächen besiedeln und im Laufe der Zeit zu größeren Verbänden proliferieren. Dabei stellt sich die Frage, welchem Schema die Besiedlung der Fremdkörper folgt. Ist es das natürliche Bestreben des Körpers, liquorgefüllte Räume auszukleiden oder geschieht dies im Rahmen der Heilung als Reaktion auf eine Verletzung und der damit verbundenen Ausbildung einer Glianarbe? Welche Zellen sind beteiligt?

4.2 Okklusion durch Entzündungsgewebe

In einer Studie über die Pathophysiologie des Shunt-Versagens, wurden in Ventilen Gliazel-
len, Makrophagen, Lymphozyten und Monozyten nachgewiesen (Blegvad et al. 2013). Bei
allen untersuchten Ventilen und Kathetern, die eine Okklusion aufwiesen, bestand Kontakt
zwischen dem VK und dem Parenchym oder der Ventrikelwand (Blegvad et al. 2013).

Jedoch gelangen Zellen nicht nur durch mechanische Abscherung in das Shuntsystem son-
dern passieren dieses auch unter physiologischen Bedingungen in hohem Maß. Eine opti-
male Katheterposition kann also nicht die alleinige Lösung der Problematik sein.

Bei einem gesunden Erwachsenen beträgt die Anzahl der Leukozyten im Liquor cerebrospi-
nalis weniger als fünf Zellen/ μl (Filis et al. 2017), bei Neugeborenen etwas mehr. Bei einer
durchschnittlichen Produktion von 500 ml Liquor cerebrospinalis pro Tag passieren mehrere
hunderttausend Leukozyten, sowie Zellen anderen Ursprungs das Shuntsystem. Wir vermuten,
dass sich diese Zellen in Astrogliazellen umwandeln und die Ventiloberflächen besie-
deln. Dafür sprechen die positiv ausgefallenen Antikörperfärbungen gegen Laminin (5/10),
Fibronectin (3/3) und Collagen IV (2/2).

Diese extrazellulären Matrixproteine sind Bestandteile der Basalmembran. Sie werden von
den Astrozytenfortsätzen exprimiert und bilden unter physiologischen Bedingungen die
Blut-Hirn-Schranke sowie den Virchow-Robin Raum. Laminin wurde bei Säugetieren nach
einer Hirnverletzung auch in reaktiven Astrozyten der grauen Substanz nachgewiesen (Liesi
et al. 1984). Daher liegt es nahe, dass das Protein von Astrozyten gebildet wird und eine
wichtige Rolle bei der Geweberegeneration spielt (Liesi et al. 1984).

Eine weitere Theorie der Okklusionsentstehung beruht auf der Präsenz und Proliferationsfä-
higkeit von Entzündungszellen im Liquor cerebrospinalis. Dazu gehört einerseits eine
Fremdkörperreaktion, die zu einer lokalen Entzündung mit Narbenbildung führt und ande-
rerseits eine erhöhte Präsenz von Entzündungszellen durch die vom Hydrocephalus verur-
sachten Verletzungen (Harris und McAllister 2012).

Kommt es durch ein Trauma, eine neurochirurgische Operation, eine Infektion oder Ischä-
mie zu einer Verletzung der Hirnstrukturen sind Astrogliazellen an der Ausbildung einer
Glianarbe beteiligt (Adams und Gallo 2018). Bei schwerwiegenden Astrogliosen kommt es
zu zellulärer Hypertrophie, Proliferation und Glianarbenbildung (Sofroniew 2009) durch re-
aktive Astrozyten, neural/glial antigen 2 (NG2) Glia- und Mikrogliazellen (Adams und Gallo

2018). Astrozyten übernehmen unter physiologischen Bedingungen viele Funktionen, reaktive Astrozyten reagieren vor allem auf Krankheiten und Verletzungen. Dieser Reparaturmechanismus soll der Wiederherstellung der Blut-Hirn-Schranke dienen, die eine wichtige Rolle bei der Funktion des zentralen Nervensystems spielt. Nur durch intakte Barrieren zwischen den einzelnen Kompartimenten und einem geregelten Stoff- und Wassertransport gelingt die Homöostase der ionischen Zusammensetzung des Liquors sowie des Liquorvolumens. Hinzu kommt die Läsion der Ependymzellschicht durch das Hämoglobin in Folge einer intraventrikulären Blutung. Durch das Hämoglobin werden die N-Cadherin Verbindungen zwischen den Ependymzellen aufgebrochen und die lineare Anordnung der Ependymzellen geht dauerhaft verloren (McAllister et al. 2017). Die darunter liegenden Astrozyten übernehmen einen Teil der Funktionen des Ependyms, reagieren aber auch mit der Herstellung einer Glianarbe durch die Proliferation von Matrixproteinen (Laminin, Fibronectin, Kollagen IV). Die bei der Neuroendoskopie in den Ventrikeln Frühgeborener mit Matrixblutungen auffallenden Briden und Septen sind Folge dieser astrozytären Narbenbildung. Dieser Ependymschaden und die astrozytäre Gewebsreaktion umfasst einen großen Teil der für Säuglinge so einschneidenden Läsion mit einer resultierenden periventrikulären Leukomalazie und einer Zerstörung der Subventrikularzone, dem Sitz der Stammzellen und ihrer Reparaturfunktion (Ludwig et al. 2020; Ludwig et al. 2021b; Ludwig et al. 2021a)

Nach der Implantation eines Shuntsystems könnte also folgendes passieren: Extrazellulär-, Liquor- und Serumproteine binden an den VK und erleichtern Zellen die Adhäsion an die Oberfläche (Harris und McAllister 2012). Das mikrovaskuläre Trauma durch die Implantation und der andauernde Fremdkörperreiz sorgen für eine Aktivierung von Astrozyten und Mikrogliazellen sowie eine chronische Entzündungsreaktion (Harris und McAllister 2012). VK mit einem kurzen Implantationszeitraum – unter einem Monat – sind vor allem mit Mikrogliazellen besiedelt, während bei längeren Zeiträumen Astrozyten vorherrschen (Hanak et al. 2016). Durch die stetige Ansammlung von Zellen kommt es zu ausgeprägten Gewebeschichten, die wir in einigen Ventilen beobachten konnten. In diesen Geweben konnten wir Mikrogliazellen mittels Antikörpern gegen KiM1P (4/5) und Astrozyten mittels Antikörpern gegen GFAP (4/9) nachweisen. GFAP ist ein Marker für Astrozyten, insbesondere für reaktive Astrozyten, die bei einer Astroglieose zu finden sind (Liesi et al. 1984). In Astrozyten des gesunden ZNS ist GFAP immunhistochemisch nicht immer nachweisbar, da es nicht oder nur in geringen Mengen exprimiert wird (Sofroniew und Vinters 2010).

Die Proliferationsfähigkeit von Astrozyten in VK wurde bereits vor vielen Jahren nachgewiesen (Sekhar et al. 1982). An Oberflächen anderer Implantate, beispielsweise einer Mikroelektrode (Sridharan et al. 2013), wurden gleiche Effekte beobachtet.

Ein interessanter Faktor ist, dass sich die Komponenten der Gliaarbe bei posttraumatischem Hydrocephalus auch im Liquor cerebrospinalis in signifikant erhöhter Konzentration befinden (Hao et al. 2016). Wir vermuten daher, dass die Fibrosierung innerhalb eines Ventils auch ohne jeden Wandkontakt des VK entstehen und zum Versagen des gesamten Systems führen kann.

4.3 Okklusion durch pathologische Gewebe

Es ist denkbar, dass auch pathologische Gewebe innerhalb des Liquor cerebrospinalis Okklusionen verursachen können. Wir haben verschiedene immunhistochemische Marker für die Identifizierung pathologischer Zellen innerhalb des Shuntsystems eingesetzt und folgende Ergebnisse erzielt: Makrophagen konnten mit dem Marker CD 68 vereinzelt identifiziert werden (3/6). Andere Zellmarker wie VWF (0/3) und CD 42B (0/3) gegen Endothelzellen und Thrombozyten zeigten keine Anfärbungen. Aufgrund der geringen Anzahl an Präparaten ist die Aussagekraft dieser Untersuchungen begrenzt.

In vorherigen Untersuchungen wurden innerhalb von VK, rote und weiße Blutkörperchen, Thrombozyten, Lymphozyten, Mastzellen und Makrophagen identifiziert (Czernicki et al. 2010). Verletzungen von Gefäßen bei der Shuntinsertion, eine intraventrikuläre Blutung und andere Reize können zur Migration der Zellen in den Liquor führen. Durch Ansammlung an Engstellen oder Proliferationen kann es folglich zu Okklusionen kommen.

4.4 Auswirkungen des internen Shunt-Designs auf Okklusionen

Es gab bereits Versuche durch Modifikation der Durchlässe des proximalen Katheters, die Anfälligkeit für Okklusionen zu verringern. Weitgehend unerforscht ist, inwiefern das interne Shunt-Design des Ventils, Einfluss auf Ablagerungen und Verstopfungen hat.

Wir vermuten, dass verschiedene Faktoren maßgeblich sind: Die interne Anordnung der Bauteile, die verwendeten Materialien und deren Oberflächenbehandlung, die Dynamik und Fließgeschwindigkeit des Liquors sowie die Ätiologie der Erkrankung.

Wir haben festgestellt, dass sich vor allem im Bereich der Kugel-Konus-Einheit, des Rotors sowie an Kanten und Ecken vermehrt Gewebe anlagern.

Wir vermuten, dass Hindernisse und Engstellen im Flussverlauf des Liquors den Ablagerungsprozess fördern. Der naheliegendste Einfluss ist die durch die Bauform begründete Passagezeit und der Passageweg mit schnellen und langsamen Strömungskomponenten, Wirbelzonen und oszillierenden Anteilen.

Interessanterweise sind die am häufigsten verwendeten Shunt-Ventile so aufgebaut, dass der Liquor immer mit den für die Funktion elementaren Bauteilen in Berührung kommt. Sofern technisch möglich, könnte auch die Abschirmung der kritischen Bauteile vom Liquor cerebrospinalis eine Option darstellen. Weitere Optimierungen des Designs und der Oberflächen sind nötig, um Ablagerungen im Ventilinneren zu verringern.

Das verwendete Material der Shunt-Komponenten und deren Oberflächenbehandlung ist äußerst wichtig und hat einen großen Einfluss auf die Biokompatibilität.

Oberflächenbehandlungen können die Belagerung von Katheter- oder Ventiloberflächen durch Zellen vermindern. Eine Modifizierung der Polymeroberflächen mit Trypsin kann die Adhäsion von Proteinen verhindern und reduziert die Belagerung durch Fibroblasten, Astrozyten, Mikrogliazellen und Endothelzellen erheblich (Achyuta et al. 2010).

Ein weiterer Ansatz ist die Behandlung der hydrophoben Katheteroberflächen mit Plasma-Gas, um diese zu hydrophilisieren und zu verkleinern, was deren Besiedlung erschwert (Taheran et al. 2016).

Eine Belagerung durch Bakterien – zum Beispiel *Escherichia coli* – kann dadurch signifikant verringert werden (Taheran et al. 2016).

Ein Großteil der von uns untersuchten Shunt-Ventile besteht aus Titan. Bei der Oberflächenbehandlung von Titan konzentriert sich die Literatur vor allem auf Maßnahmen zur Verbesserung der Osseointegrität, beispielsweise bei Dentalimplantaten. Dabei wird davon ausgegangen, dass eine raue Oberfläche die Osseointegrität verbessert (Jemat et al. 2015). Verschiedene Techniken wie Sandstrahlen, Säureätzung oder Plasma-Beschichtung stehen zur Verfügung. Im Bereich der Shunt-Ventiltechnik ist jedoch eine möglichst glatt polierte Oberfläche sinnvoller, da sie die Adhäsion von Zellen signifikant verringern kann (Okubo et al. 2020).

4.5 Limitationen und Fehlerevaluation

In der Literatur findet sich die Aussage, dass das Ventil-Design bei der Shunt-Behandlung des Hydrocephalus keinen Einfluss auf das Behandlungsergebnis hat. Es gilt jedoch zu beachten, dass die vielen Subtypen des Hydrocephalus unterschiedliche Herausforderungen mit sich bringen und der Erfolg der Shuntsysteme deshalb nicht ohne weiteres miteinander verglichen werden kann (Hoshide et al. 2017). Die Shuntrevisionsrate korreliert stark mit dem Patientenalter, bereits durchgeführten Revisionen, der Ätiologie und des Hydrocephalus-Typs (Reddy et al. 2014). In unserer Studie untersuchen wir die Feingewebs-Interaktion an Ventilbestandteilen bei fünf Hydrocephalus-Typen, neun Ventiltypen, einem Patientenalter von 0 - 18 Jahren, fünf Revisionsursachen sowie einer verschieden großen Anzahl an vorangegangenen Revisionen. Durch die vielen Faktoren sind Aussagen in Bezug auf die Okklusionsneigung bei den Ventiltypen, der Bauart oder den verwendeten Materialien nicht vergleichbar. Um signifikante Ergebnisse zu erhalten, müssen mehr Studien erstellt werden, die das gleiche Shuntsystem innerhalb einer untereinander festgelegten, besser zu vergleichenden Patientengruppe einzeln betrachten. Aufgrund geringer Fallzahlen gestaltet sich das in der Praxis oft schwierig.

Wenn die Risiken für das Shunt-Versagen noch besser verstanden werden, kann die Auswahl des richtigen Ventils individueller erfolgen und an die Gegebenheiten der Erkrankung angepasst werden.

Die verwendete Herstellungstechnik der Präparate bringt viele Vorteile mit sich, ist aber auch sehr zeitaufwendig und anspruchsvoll. Die verschiedenen Ventiltypen haben unterschiedliche Ausmaße, sodass wir nicht aus jedem Ventil eine standardisierte Anzahl aus Schliffen herstellen konnten. Dadurch konnten wir nicht an jedem Präparat alle immunhistochemischen Färbungen durchführen. Um dennoch möglichst viele Färbungen durchzuführen haben wir auch Schnitte aus den Randbereichen der Ventile verwendet, die häufig deutlich weniger Gewebe erhielten. Das kann das Ergebnis der Färbung erheblich beeinflussen und impliziert, dass jedes Präparat im Kontext des dazugehörigen Patientenfalls individuell betrachtet werden sollte.

Ein großer Vorteil der angewandten Trenn-Dünnschliff-Technik ist, dass Gewebe, die an Ventilbestandteilen haften, fixiert werden. Dadurch lassen sich relativ verlässliche Aussagen

über die Gewebelokalisation treffen. Jedoch muss beachtet werden, dass durch den Aufbereitungsprozess nicht fest anhaftende Gewebe und Zellen verschoben oder gänzlich herausgespült werden können und somit das Erscheinungsbild der Gewebe im Ventillinneren möglicherweise verfälschen. Vereinzelt fanden wir Spuren von abgetrennten Zellverbänden, die teilweise an anderer Stelle im Präparat zu sehen waren. Die in den Präparaten häufig zu sehenden Spalten zwischen anhaftenden Geweben und Ventiloberflächen sind auf eine Gewebeschrumpfung, die durch die Fixierung entstanden ist, zurückzuführen.

4.6 Ausblick

Eine entscheidende Aufgabe für die Zukunft ist die Verringerung von Komplikationen bei der Therapie des Hydrocephalus mittels Shunt sowie die Verringerung der Shuntabhängigkeit.

Viele Vorkehrungen, die das Risiko der Shunt-Okklusion senken können, werden in der Literatur diskutiert oder bereits großflächig angewandt. Dazu gehört die Vermeidung von Infektionen durch aseptische Operationsbedingungen und die Einhaltung von Hygienechecklisten (Dawod et al. 2016). Selbstverständlich sollte sein, dass Kontaminationen des OP Gebiets durch Talkum, Baumwollfasern oder Haare (Sekhar et al. 1982) penibel vermieden werden. Um das Infektionsrisiko bei Shunt-Eingriffen zu senken, kann eine antibiotische Abschirmung, beispielsweise durch intravenöse Cephalosporingabe sinnvoll sein (Arts et al. 2019). Auch mit Rifampicin oder Clindamycin beschichtete Katheter wirkten sich positiv im Vergleich zu normalen oder mit Silber beschichteten Kathetern aus (Mallucci et al. 2019) (Raffa et al. 2015).

Für die optimale Positionierung des VK wird eine stereotaktische (Hanak et al. 2017) oder navigatorische (Thomale Guide, Firma Miethke) Führung empfohlen.

Als eine der wichtigsten Schlussfolgerungen unserer Studie sehen wir eine frühe Therapie einer intraventrikulären Blutung durch endoskopische Spülung, um eine spätere Narben- oder Membranbildung, die zu einem Shunt-Versagen führen kann, zu verhindern. Eine rechtzeitige Spülung mit Ringer-Lösung, um Zelldebris und Blut aus den Ventrikeln zu entfernen, kann die Entwicklung eines multilokulierten Hydrocephalus signifikant verringern (Volkan et al. 2018). Eines der wichtigen Ziele der endoskopischen Lavage ist die Reduktion des

Hämoglobins und der Schutz der Ependym-Zellschicht. Dadurch verringert sich die Notwendigkeit einer Shunt-Therapie. Falls sie dennoch notwendig wird, ist sie komplikationsärmer durch die Reduktion der Glianarbe und der Matrixproteine im Liquor cerebrospinalis. Trotz guter Behandlungserfolge wird es auch zukünftig Krankheitsverläufe des Hydrocephalus geben, bei denen die Anlage eines Shunts alternativlos sein wird. Daher ist es entscheidend den Mechanismus der Ventilokklusion noch besser zu verstehen, um die Versagensrate von Shuntsystemen weiter zu senken. Die gewonnenen Erkenntnisse sollten für die Optimierung des operativen Managements sowie des Shunt-Designs genutzt werden.

5 Zusammenfassung

Der Hydrocephalus begleitet die Menschheit schon seit Jahrtausenden. Archäologische Funde von hydrozephalen Schädeln reichen bis in das Jahr 10.000 v. Chr. zurück (Flannery und Mitchell 2014). Es handelt sich um eine schwerwiegende Erkrankung des ZNS, die in jedem Lebensalter auftreten und unbehandelt zum Tod führen kann. Der Liquor cerebrospinalis in den Hirnventrikeln staut sich auf, führt zu einem gesteigerten Hirndruck und im Säuglingsalter zu einer Makrozephalie (Trepel 1995). Das führt zu Symptomen wie Kopfschmerzen, Erbrechen, Übelkeit und kognitiven Einschränkungen. Erst seit 1955 existiert eine adäquate Therapie in Form der Implantation eines VPS zur Ableitung von überflüssigem Liquor cerebrospinalis. Der Shunt besteht aus einem Silikonkatheter und einem Ventil und verbindet die Hirnventrikel mit dem Peritoneum oder dem rechten Herzvorhof.

Durchschnittlich muss ca. jedes zweite Shuntsystem im Laufe seiner Lebenszeit aufgrund von einer Komplikation ausgetauscht werden (Reddy et al. 2014). Dabei ist die Okklusion von VPS für 56,1 % aller Fehlfunktionen verantwortlich (Sainte-Rose et al. 1991).

Die Drainage des überschüssigen Liquor cerebrospinalis kommt zum Erliegen, wodurch der Hirndruck steigt und Symptome einer intrakraniellen Drucksteigerung auslöst. Eine Revisionsoperation, bei der die betroffenen Bauteile oder der gesamte Shunt ausgetauscht werden, ist dann unumgänglich.

Ziel unserer Untersuchungen war es, die Mechanismen einer Shunt-Okklusion besser zu verstehen. In der Literatur wurden Gewebeproliferationen (Blegvad et al. 2013), Kalzifikationen und Mineralisationen (Echizenya et al. 1987) an inneren und äußeren Oberflächen von Shuntkathetern und Ventilen als Auslöser einer Okklusion bereits beschrieben. Jedoch konnten wir durch Anwendung der Trenn-Dünnschliff-Technik erstmalig Gewebe innerhalb von Titanventilen darstellen und Kenntnisse über die Quantität und Lokalisation gewinnen. In nahezu allen Ventilen wurden zelluläre Gewebe nachgewiesen (Tabelle 19). In acht von neun Fällen, in denen die klinische Diagnose auf eine Okklusion hindeutete, konnte histologisch eine subtotale oder totale Verstopfung des Ventils nachgewiesen werden. Die Dicke und Beschaffenheit der Gewebeschicht korrelierte vor allem mit der Implantationsdauer. Implantate, die nach wenigen Tagen explantiert wurden, wiesen lediglich einzelne Zellen oder zelluläre Spuren auf. Bei längeren Implantationszeiträumen fanden

sich mehrschichtige Gewebeverbände in Form von Schichten, Plaques oder Konglomeraten. Lokalisiert waren diese vor allem an Ecken und Kanten des Ventilgehäuses oder des Rotors, an der Kugel, oder in den Nischen neben der Kugel-Konus-Einheit.

Durch die immunhistologische Untersuchung der Präparate gelang der Nachweis der Proteine Laminin, Fibronectin und Collagen IV. Diese extrazellulären Matrixproteine sind Bestandteile der Basalmembran. Sie werden von den Astrozytenfortsätzen exprimiert und bilden unter physiologischen Bedingungen die Blut-Hirn-Schranke sowie den Virchow-Robin-Raum. Wir konnten zeigen, dass einzelne Zellen und ganze Zellverbände an den Ventiloberflächen hafteten. In der Literatur wurde bereits beschrieben, dass mikrovaskuläre Traumata durch Implantationen und der andauernde Fremdkörperreiz für eine Aktivierung von Astrozyten und Mikrogliazellen sowie eine chronische Entzündungsreaktion sorgen (Harris und McAllister 2012). Wir vermuten, dass die Fibrosierung innerhalb des Ventils dadurch initiiert wird und nach einer längeren Implantationsdauer zum Versagen des gesamten Systems führen kann.

Als Konsequenz unserer Studie kommen wir zu der Schlussfolgerung, dass eine frühzeitige Therapie einer intraventrikulären Blutung mittels Neuro-Endoskopie sehr wichtig ist, um Reize für Membran- und Narbenbildungen zu reduzieren. Damit wird sich auch die Shunt-Abhängigkeit verringern. Da sich die Insertion eines Shunts in absehbarer Zeit aber nicht gänzlich vermeiden lässt, ist eine Optimierung der Shunt-Therapie nötig, um die Revisionsraten weiter zu senken. Die Lavage ist deshalb gegenwärtig Gegenstand einer weltweiten Studie (Trophy-Registry).

6 Literaturverzeichnis

- Achyuta AKH, Stephens KD, Lewis HGP, Murthy SK (2010): Mitigation of Reactive Human Cell Adhesion on Poly(dimethylsiloxane) by Immobilized Trypsin. *Langmuir* 26, 4160–4167
- Adams KL, Gallo V (2018): The diversity and disparity of the glial scar. *Nat neurosci* 21, 9–15
- Adigun OO, Al-Dhahir MA (2018): Anatomy, Head and Neck, Cerebrospinal Fluid. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL)
- Arts SH, Boogaarts HD, Lindert EJ van (2019): Route of antibiotic prophylaxis for prevention of cerebrospinal fluid-shunt infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2019, 1–56
- Aschoff A (2014): Ventilssysteme - ein Überblick. Vortrag im Rahmen der Tagung des ASBH, Köln, 21.03.2014
- Aschoff A, Kremer P, Hashemi B, Kunze S (1999): The scientific history of hydrocephalus and its treatment. *Neurosurg Rev* 22, 67–93
- Blegvad C, Skjolding AD, Broholm H, Laursen H, Juhler M (2013): Pathophysiology of shunt dysfunction in shunt treated hydrocephalus. *Acta Neurochir* 155, 1763–1772
- Bock HC, Feldmann J, Ludwig HC (2018): Early surgical management and long-term surgical outcome for intraventricular hemorrhage-related posthemorrhagic hydrocephalus in shunt-treated premature infants. *J Neurosurg Pediatr* 22, 61–67
- Boockvar JA, Loudon W, Sutton LN (2001): Development of the Spitz—Holter valve in Philadelphia. *J Neurosurg* 95, 145–147
- Brinker T, Stopa E, Morrison J, Klinge P (2014): A new look at cerebrospinal fluid circulation. *FBCNS* 11, 1–16
- Browd SR, Ragel BT, Gottfried ON, Kestle JRW (2006): Failure of Cerebrospinal Fluid Shunts: Part I: Obstruction and Mechanical Failure. *Pediatr Neurol* 34, 83–92
- Czernicki Z, Strzałkowski R, Walasek N, Gajkowska B (2010): What can be found inside shunt catheters. *Acta Neurochir Suppl* 106, 81–85
- Dandy WE (1919): Experimental Hydrocephalus. *Ann Surg* 70, 129–142
- Dawod J, Tager A, Darouiche RO, Al Mohajer M (2016): Prevention and management of

internal cerebrospinal fluid shunt infections. *J Hosp Infect* 93, 323–328

Del Bigio MR (1998): Biological Reactions to Cerebrospinal Fluid Shunt Devices: A Review of the Cellular Pathology. *Neurosurgery* 42, 319–326

Donath, Breuner (1982): A method for the study of undecalcified bones and teeth with attached soft tissues. The Säge-Schliff (sawing and grinding) technique. *J Oral Pathol* 11, 318–326

Dulebohn S, Mesfin F: *Ventriculoperitoneal Shunt*. StatPearls Publishing LLC, Treasure Island FL 2018

Echizenya K, Satoh M, Murai H, Ueno H, Abe H, Komai T (1987): Mineralization and biodegradation of CSF shunting systems. *J Neurosurg* 67, 584–591

Filis AK, Aghayev K, Vrionis FD (2017): Cerebrospinal Fluid and Hydrocephalus: Physiology, Diagnosis, and Treatment. *Cancer Control* 24, 6–8

Fink KR, Benjert JL (2015): Imaging of Nontraumatic Neuroradiology Emergencies. *Radiol Clin North Am* 53, 871–890

Flannery AM, Mitchell L (2014): Pediatric hydrocephalus: systematic literature review and evidence-based guidelines. Part 1: Introduction and methodology. *J Neurosurg Pediatr* 14, 3–7

Friedman DI, Liu GT, Digre KB (2013): Revised diagnostic criteria for the pseudotumor cerebri syndrome in adults and children. *Neurology* 81, 1159–1165

Hakim S (1969): Observations on the Physiopathology of the CSF Pulse and Prevention of Ventricular Catheter Obstruction in Valve Shunts. *Developmental Medicine & Child Neurology* 11, 42–48

Hanak BW, Ross EF, Harris CA, Browd SR, Shain W (2016): Toward a better understanding of the cellular basis for cerebrospinal fluid shunt obstruction: report on the construction of a bank of explanted hydrocephalus devices. *J Neurosurg Pediatr* 18, 213–223

Hanak BW, Bonow RH, Harris CA, Browd SR (2017): Cerebrospinal Fluid Shunting Complications in Children. *Pediatr Neurosurg* 52, 381–400

Hao X, Junwen W, Jiaqing L, Ran L, Zhuo Z, Yimin H, Wei J, Wei S, Ting L (2016): High fibrosis indices in cerebrospinal fluid of patients with shunt-dependent post-traumatic chronic hydrocephalus. *Transl Neurosci* 7, 92–97

Harris CA, McAllister JP (2012): What We Should Know About the Cellular and Tissue

Response Causing Catheter Obstruction in the Treatment of Hydrocephalus: Neurosurgery 70, 1589–1602

Haynes IS (1913): Congenital internal hydrocephalus.: Its treatment by drainage of cisterna magna into the cranial sinuses. *Ann Surg* 57, 449–484

Hoshide R, Meltzer H, Dalle-Ore C, Gonda D, Guillaume D, Chen CC (2017): Impact of ventricular-peritoneal shunt valve design on clinical outcome of pediatric patients with hydrocephalus: Lessons learned from randomized controlled trials. *Surg Neurol Int* 8, 49

Hydrocephalus Association. <https://www.hydroassoc.org/about-hydrocephalus/>; abgerufen am 17.09.2021

Isaacs AM, Riva-Cambrin J, Yavin D, Hockley A, Pringsheim TM, Jette N, Lethebe BC, Lowerison M, Dronyk J, Hamilton MG (2018): Age-specific global epidemiology of hydrocephalus: Systematic review, metanalysis and global birth surveillance. *PLoS one* 13, e0204926

Jemat A, Ghazali MJ, Razali M, Otsuka Y (2015): Surface Modifications and Their Effects on Titanium Dental Implants. *Biomed Res Int* 6, 791725

Johanson CE, Duncan JA, III, Klinge PM, Brinker T, Stopa EG, Silverberg GD (2008): Multiplicity of cerebrospinal fluid functions: New challenges in health and disease. *Cerebrospinal Fluid Res* 5, 10

Kandel E, Schwartz J, Jessell T: Principles of neural science. 4. Auflage; McGraw-Hill 2000

Kausch W (1908): Die Behandlung des Hydrocephalus der kleinen Kinder. *Arch Clin Chir* 87, 709–796

Kestle J, Drake J, Milner R, Sainte-Rose C, Cinalli G, Boop F, Piatt J, Haines S, Schiff S, Cochrane D, et al. (2000): Long-Term Follow-Up Data from the Shunt Design Trial. *Pediatric Neurosurgery* 33, 230–236

Kiefer M, Eymann R, Meier U (2002): Five Years Experience with Gravitational Shunts in Chronic Hydrocephalus of Adults. *Acta Neurochir (Wien)* 144, 755–767

Kulzer Technik. https://www.kulzer-technik.de/de_kt/kt/histologie/produktbereiche_1/polymerisationssysteme_1/technovit_9100.aspx; abgerufen am 17.09.2021

Langner S, Fleck S, Baldauf J, Mensel B, Kühn J, Kirsch M (2017): Diagnosis and Differential Diagnosis of Hydrocephalus in Adults. *RöFo* 189, 728–739

- Liesi P, Kaakkola S, Dahl D, Vaheri A (1984): Laminin is induced in astrocytes of adult brain by injury. *EMBO J* 3, 683–686
- Ludwig H, Reitemeyer M, Bock HC, Sigler M (2020): Hydrocephalus shunt therapy: current titanium shunt valve implants obstructed by internal tissue proliferations identified as extracellular matrix membranes. *Childs Nerv Syst* 36, 2717–2742
- Ludwig H, Bock HC, Gärtner J, Schiller S, Frahm J, Dreha-Kulaczewski S (2021a): Hydrocephalus Revisited: New Insights into Dynamics of Neurofluids on Macro- and Microscales. *Neuropediatrics* 52, 233–241
- Ludwig H, Dreha-Kulaczewski S, Bock HC (2021b): Neurofluids-Deep inspiration, cilia and preloading of the astrocytic network. *J neurosci Res* 99, 2804–2801
- Mallucci CL, Jenkinson MD, Conroy EJ, Hartley JC, Brown M, Dalton J, Kearns T, Moitt T, Griffiths MJ, Culeddu G, et al. (2019): Antibiotic or silver versus standard ventriculoperitoneal shunts (BASICS): a multicentre, single-blinded, randomised trial and economic evaluation. *Lancet* 394, 1530–1539
- McAllister JP, Guerra MM, Ruiz LC, Jimenez AJ, Dominguez-Pinos D, Sival D, Dunnen W den, Morales DM, Schmidt RE, Rodriguez EM, Limbrick DD (2017): Ventricular Zone Disruption in Human Neonates With Intraventricular Hemorrhage. *J Neuropathol Exp Neurol* 76, 358–375
- Miyake H (2016): Shunt Devices for the Treatment of Adult Hydrocephalus: Recent Progress and Characteristics. *Neurol Med Chir* 56, 274–283
- Miethke. <https://www.miethke.com/produkte/voreingestellte-ventile/mininav>; abgerufen am 17.09.2021a
- Miethke. <https://www.miethke.com/produkte/verstellbare-ventile/prosa>; abgerufen am 17.09.2021b
- Miethke. <https://www.miethke.com/produkte/zubehoer/vorkammern>; abgerufen am 17.09.2021c
- Moyes PD (1968): Hydrocephalus. *Canad Med Ass J* 98, 354–358
- Nulsen FE, Spitz EB (1951): Treatment of hydrocephalus by direct shunt from ventricle to jugular vein. *Surg Forum* 399–403
- Okubo T, Ikeda T, Saruta J, Tsukimura N, Hirota M, Ogawa T (2020): Compromised Epi-

- thelial Cell Attachment after Polishing Titanium Surface and Its Restoration by UV Treatment. *Materials* 13, 3946
- Pudenz RH, Foltz EL (1991): Hydrocephalus: Overdrainage by ventricular shunts. A review and recommendations. *Surg Neurol* 35, 200–212
- Raffa G, Marseglia L, Gitto E, Germanò A (2015): Antibiotic-impregnated catheters reduce ventriculoperitoneal shunt infection rate in high-risk newborns and infants. *Childs Nerv Syst* 31, 1129–1138
- Ratilal B, Costa J, Sampaio C (2008): Antibiotic prophylaxis for surgical introduction of intracranial ventricular shunts: a systematic review. *J Neurosurg Pediatr* 1, 48–56
- Reddy GK, Bollam P, Caldito G (2014): Long-Term Outcomes of Ventriculoperitoneal Shunt Surgery in Patients with Hydrocephalus. *World Neurosurgery* 81, 285–287
- Rekate HL (2008): The definition and classification of hydrocephalus: a personal recommendation to stimulate debate. *Cerebrospinal Fluid Res* 5, 2
- Rekate HL (2011): A consensus on the classification of hydrocephalus: its utility in the assessment of abnormalities of cerebrospinal fluid dynamics. *Childs Nerv Syst* 27, 1535–1541
- Richards GD, Anton SC (1991): Craniofacial configuration and postcranial development of a hydrocephalic child (ca. 2500B.C.-500A.D.): With a review of cases and comment on diagnostic criteria. *American Journal of Physical Anthropology* 85, 185–200
- Sainte-Rose C, Piatt JH, Renier D, Pierre-Kahn A, Hirsch JF, Hoffman HJ, Humphreys RP, Hendrick EB (1991): Mechanical Complications in Shunts. *Pediatric Neurosurgery* 17, 2–9
- Sakka L, Coll G, Chazal J (2011): Anatomy and physiology of cerebrospinal fluid. *Eur Ann Otorhinolaryngol Head Neck Dis* 128, 309–316
- Segal MB (1993): Extracellular and cerebrospinal fluids. *J Inher Metabol Dis* 16, 617–638
- Sekhar LN, Moossy J, Norman Guthkelch A (1982): Malfunctioning ventriculoperitoneal shunts. *J Neurosurg* 56, 411–416
- Sgouros S, Dipple S (2004): An investigation of structural degradation of cerebrospinal fluid shunt valves performed using scanning electron microscopy and energy-dispersive x-ray microanalysis. *J Neurosurg* 100, 534–540

- Simon TD, Riva-Cambrin J, Srivastava R, Bratton SL, Dean JM, Kestle JRW (2008): Hospital care for children with hydrocephalus in the United States: utilization, charges, comorbidities, and deaths. *J Neurosurg Pediatr* 1, 131–137
- Simon TD, Hall M, Riva-Cambrin J, Albert JE, Jeffries HE, LaFleur B, Dean JM, Kestle JRW (2009): Infection rates following initial cerebrospinal fluid shunt placement across pediatric hospitals in the United States. *J Neurosurg Pediatr* 4, 156–165
- Sofroniew MV (2009): Molecular dissection of reactive astrogliosis and glial scar formation. *Trends neurosci* 32, 638–647
- Sofroniew MV, Vinters HV (2010): Astrocytes: biology and pathology. *Acta Neuropathol* 119, 7–35
- Sridharan A, Rajan SD, Muthuswamy J (2013): Long-term changes in the material properties of brain-tissue at the implant-tissue interface. *J neural eng* 10, 066001
- Taheran L, Zarrini G, Khorram S, Zakerhamidi MS (2016): Plasma surface modification as a new approach to protect urinary catheter against *Escherichia coli* biofilm formation. *Iran J Microbiol* 8, 257–262
- Tamber MS, Klimo P, Mazzola CA, Flannery AM (2014): Pediatric hydrocephalus: systematic literature review and evidence-based guidelines. Part 8: Management of cerebrospinal fluid shunt infection. *J Neurosurg Pediatr* 14, 60–71
- Thomale UW, Hosch H, Koch A, Schulz M, Stoltenburg G, Haberl E-J, Sprung C (2010): Perforation holes in ventricular catheters - is less more? *Childs Nerv Syst* 26, 781–789
- Trepel M: Neuroanatomie. Struktur und Funktion. 2. Auflage; Urban & Schwarzenberg 1995
- Volkan E, Kahilogullari G, Karabagli H, Agahan U (2018): Early Endoscopic Ventricular Irrigation for the Treatment of Neonatal Posthemorrhagic Hydrocephalus: A Feasible Treatment Option or Not? A Multicenter Study. *Turk neurosurg* 28, 137–141

Danksagung

Mein Dank gilt denen, die mich bei der Anfertigung dieser Dissertation unterstützt haben.

Besonders bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Hans-Christoph Ludwig, der mich mit großer Begeisterung in das Thema einführte und sein Wissen mit mir teilte. Er stand mir jederzeit mit neuen Ideen und zielführenden Ratschlägen zur Seite und begleitete mich sehr gut durch die einzelnen Phasen der Dissertation. Die Betreuung war hervorragend.

Ebenso bin ich sehr dankbar für die gute Unterstützung durch meinen Betreuer Herrn Prof. Dr. med. Matthias Sigler. Er hat es uns ermöglicht, technische Verfahren aus der kardiologischen Forschung zu nutzen, um neue und wichtige Erkenntnisse für die Neurochirurgie zu gewinnen.

Einen großen Beitrag zu dieser Arbeit haben die Mitarbeiterinnen des Forschungslabors der Klinik für pädiatrische Kardiologie, Intensivmedizin und Neonatologie, geleistet. Frau Andrea Poppe und ihre Kolleginnen haben sorgfältig eine große Anzahl an Präparaten verarbeitet und daraus hervorragende und aussagekräftige Dünnschliffe hergestellt. Bei Fragen bezüglich des Herstellungsverfahrens oder der Auswertung standen sie mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite. Daher möchte ich mich auch bei Ihnen herzlich für die Unterstützung bedanken.