

**Klinik und Poliklinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie  
der Technischen Universität München  
Klinikum rechts der Isar  
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff)**

**Evaluation der Indocyanin-Grün Videoangiographie zur Validierung der  
Anwendung auf mikrovaskuläre Prozeduren im Rattenmodell**

Dr. med. Thomas Mücke

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der Zahnheilkunde genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff
2. Univ.-Prof. Dr. H.-G. Machens
3. Univ.-Prof. Dr. H. Deppe

Die Dissertation wurde am 28.03.2012 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 26.09.2012 angenommen.

Teile der Arbeit wurden vorgetragen bzw. veröffentlicht in:

1. Mücke T, Wolff KD, Wagenpfeil S, Hölzle F, Scholz M.

Reliability of Near-Infrared Angiography and Micro-Doppler

Sonography Evaluating Microvascular Anastomoses

Plastic and Reconstructive Surgery 2010 Nov;126(5):1506-14.

2. T. Mücke, K.-D. Wolff, F. Hölzle, D.J. Loeffelbein, A. Harders, M. Scholz.

Evaluation der Sensitivität und Spezifität von Indocyan-Grün-Fluoreszenz und Doppler-Sonographie zur Detektion von mikrovaskulären Stenosen und Komplikationen

Chiemseesymposium, 16. Mai 2009

3. T. Mücke, K.D. Wolff, F. Hölzle, A. Borgmann, M. Kesting, S. Wagenpfeil, D.

Loeffelbein, M. Scholz

Reliabilität der ICG-Videoangiografie (IR 800) in vivo - Vergleichsstudie mit Mikro-Doppler-Sonographie zur Detektion von mikrovaskulären Stenosen

60. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (DGMKG), München, Deutschland, 2010, 26. Mai

4. T. Mücke, K.D. Wolff, F. Hölzle, M. Kesting, A. Fichter, M. Scholz

Reliabilität der ICG-Videoangiografie (IR 800) in vivo - Vergleichsstudie mit Mikro-Doppler-Sonographie zur Detektion von mikrovaskulären Stenosen

48. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Plastische und Wiederherstellungschirurgie (DGPW), Leipzig, Deutschland, 2010, 09. September

5. T. Mücke, K.-D. Wolff, A. Borgmann, A. Fichter, M. Kesting

Reliability of near-infrared angiography evaluating microvascular anastomoses

3rd European Plastic Surgery Research Council, Hamburg, 2011, 26. August

# INHALTSVERZEICHNIS

<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>- 7 -</b>
<b>1.1. Mikrovaskuläre Chirurgie</b> .....	<b>- 7 -</b>
<b>1.2 Bildgebende Verfahren</b> .....	<b>- 9 -</b>
1.2.1 Digitale Subtraktionsangiographie .....	- 10 -
1.2.2 CT-Angiographie .....	- 10 -
1.2.3 MR-Angiographie.....	- 11 -
1.2.4 Mikro-Doppler-Sonographie.....	- 12 -
1.2.5 Indocyanin-Grün Angiographie .....	- 12 -
<b>1.3 Zielsetzung der Arbeit</b> .....	<b>- 15 -</b>
<b>2. MATERIAL UND METHODIK</b> .....	<b>- 17 -</b>
<b>2.1 Versuchsmodell</b> .....	<b>- 17 -</b>
<b>2.2 Studienaufbau</b> .....	<b>- 17 -</b>
2.2.1 Versuchstiere und Haltung .....	- 17 -
2.2.2 Narkose .....	- 17 -
2.2.3 Operationen.....	- 18 -
2.2.4 Technische Apparaturen .....	- 22 -
<b>2.3 Experimentelles Protokoll</b> .....	<b>- 24 -</b>
2.3.1 Hintergrund.....	- 24 -
2.3.2 Versuchsmodell .....	- 25 -
<b>2.4 Statistische Methoden</b> .....	<b>- 28 -</b>
<b>3. ERGEBNISSE</b> .....	<b>- 30 -</b>
<b>3.1 Eignungstest der ICG-Angiographie am Rattenmodell</b> .....	<b>- 30 -</b>
<b>3.2 Bestimmung der Sensitivität und Spezifität</b> .....	<b>- 31 -</b>
3.2.1 ICG-Angiographie.....	- 31 -
3.2.2 Mikro-Doppler-Sonographie.....	- 37 -

3.2.3 Vergleich der ICG-Angiographie mit der Mikro-Doppler-Sonographie ....	- 43 -
<b>3.3 Analyse der ICG-Angiographie zur intravaskulären Flussmessung .....</b>	<b>- 44 -</b>
3.3.1 Analyse der ICG-Angiographie – Aorta .....	- 46 -
3.3.2 Analyse der ICG-Angiographie – Carotis.....	- 49 -
3.3.2 Analyse der ICG-Angiographie – Femoralis .....	- 52 -
<b>3.4 Statistische Analyse des emittierten ICG-Angiographie-Signals .....</b>	<b>- 55 -</b>
3.4.1 Alle Gefäße.....	- 55 -
3.4.2 Aorta .....	- 56 -
3.4.3 Carotis .....	- 58 -
3.4.4 Femoralis.....	- 60 -
<b>3.5 Lineare Regressionsanalyse.....</b>	<b>- 62 -</b>
3.5.1 Variablen zum Einschluss in die lineare Regressionsanalyse .....	- 62 -
3.5.2 Testung der verschiedenen Variablen in der linearen Regressionsanalyse ...	- 65 -
.....	- 65 -
<b>3.6 Farbkodierte Auswertung der Intensität und Transition Time des ICG-</b>	<b>- 66 -</b>
<b>Signales .....</b>	<b>- 66 -</b>
3.6.1 Farbkodierte Auswertung an der Aorta .....	- 68 -
3.6.2 Farbkodierte Auswertung an der A. carotis.....	- 70 -
3.6.3 Farbkodierte Auswertung an der A. femoralis.....	- 71 -
<b>4. DISKUSSION .....</b>	<b>- 73 -</b>
4.1 Monitoring bei mikrovaskulären Prozeduren.....	- 74 -
4.2 Anwendung und Nebenwirkungen der ICG-Angiographie .....	- 78 -
4.3 Reliabilität der ICG-Angiographie .....	- 79 -
4.4 Reliabilität der Mikro-Doppler-Sonographie .....	- 81 -
4.5 Anwendung der quantitativen und qualitativen Analyse der ICG-	- 82 -
Angiographie durch Flow®800.....	- 82 -
<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>- 86 -</b>

<b>5. LITERATURVERZEICHNIS.....</b>	<b>- 87 -</b>
<b>6. ANHANG.....</b>	<b>- 101 -</b>
Abbildungsverzeichnis .....	- 101 -
Tabellenverzeichnis .....	- 104 -
<b>7. CURRICULUM VITAE .....</b>	<b>- 106 -</b>
<b>8. DANKSAGUNG .....</b>	<b>- 107 -</b>



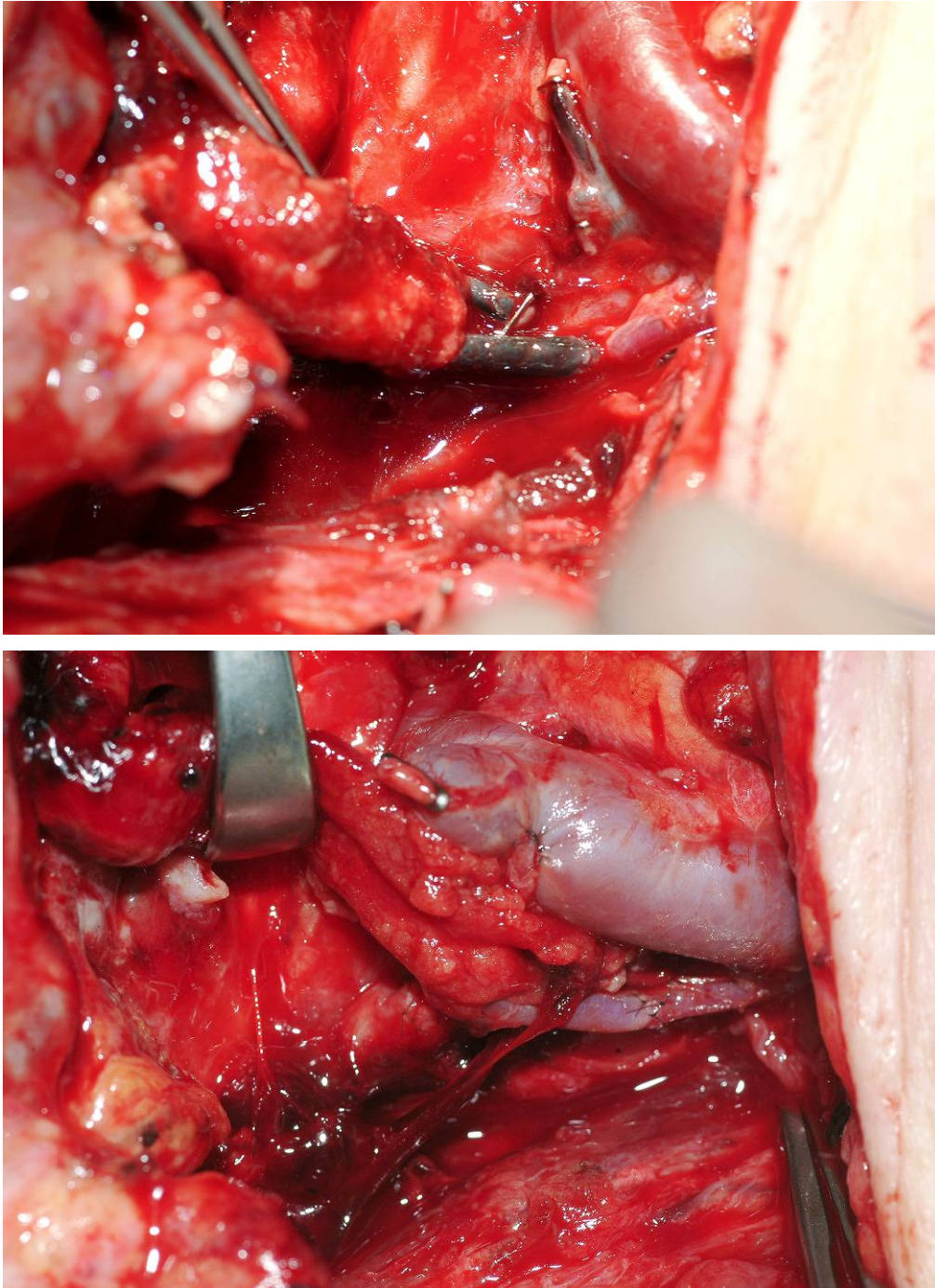
## **1. EINLEITUNG**

### **1.1. Mikrovaskuläre Chirurgie**

Die mikrovaskuläre Chirurgie stellt seit der ersten mikrochirurgischen Anastomose durch Murphy im Jahre 1897 die wesentliche Grundlage für verschiedene Fachbereiche in der Medizin dar. Mikrochirurgische Techniken zur operativen Versorgung von Patienten sind seit der Einführung des Operationsmikroskopes wesentlicher Bestandteil in verschiedenen Fachdisziplinen geworden (Jacobson und Suarez 1960). Insbesondere in der Neurochirurgie, Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie und der plastischen und Replantationschirurgie werden zahlreiche mikrochirurgische Operationen durchgeführt. Neben den mikrovaskulären Operationen zur Therapie von vaskulären Malformationen oder intrakraniellen Aneurysmen in der Neurochirurgie stellt die rekonstruktive Chirurgie einen weiteren, wesentlichen Anwendungsbereich in vielen anderen Fachbereichen dar (Kleinert und Kasdan 1963; Taylor *et al.* 1975; Camp 1982; Sekhar und Nelson 1983; Slavin 1983; Mücke *et al.* 2010).

Bei der Anwendung der mikrovaskulären Chirurgie zeigt sich jedoch ein starker Zusammenhang zwischen der Erfahrung des Operateurs und dem Behandlungserfolg (Khoury 1992; Blackwell *et al.* 1997; Hallock 2008; Pechlivanis *et al.* 2009). Mikroanastomosen von Gefäßen zeigen eine hohe Variabilität der Erfolgsquote, sodass Erfolgsraten in der rekonstruktiven Chirurgie durch freie mikrochirurgische Gewebetransplantate von 74-95 % in der Literatur beschrieben worden sind (Blackwell *et al.* 1997; Hallock 2008; Wolff *et al.* 2008). Die Erfolgsquote mikrochirurgischer Operationen kann vor allem durch vorherige Behandlungen im Gefäßgebiet oder durch bestehende systemische Erkrankungen des Patienten erschwert werden. So kann die anatomisch bedingte sehr gute Durchblutung im Kopf/Hals-Bereich durch vorherige Operationen und Behandlungen, wie z.B. einer Bestrahlungstherapie, zu einer starken Veränderung der vaskulären Situation mit in der Folge geringeren Behandlungserfolgen von mikrochirurgischen Gewebetransplantaten führen (Wei *et al.* 1999; Martin *et al.* 2005; Hanasono *et al.* 2009; Bourget *et al.* 2011). Da diese Operationen jedoch häufig aus onkologischen oder traumatischen Gründen erfolgt waren und die dadurch entstandenen Defektregionen aus funktionellen und ästhetischen Gründen eine Rekonstruktion

erforderlich machen, bestehen Bestrebungen, diese Patienten mit teilweise sehr aufwändigen Planungen und Operationen zu rehabilitieren (Ethunandan *et al.* 2007; Jacobson *et al.* 2008; Wolff *et al.* 2009; Wong *et al.* 2010).



**Abbildung 1.** Darstellung einer Thrombosierung bedingt durch eine Verdrehung des mikrovaskulären Gefäßstiels im Bereich der venösen Anastomose (oben), die klinisch durch eine venöse Stauung des Gewebetransplantates imponierte. Nach Thrombektomie und erneuter Reanastomosierung (unten) konnte der venöse Abfluss des Transplantates wieder regelrecht erfolgen und das Transplantat zeigte einen unauffälligen Heilungsverlauf.



Um die Erfolgsquote von mikrovaskulären Eingriffen zu erhöhen, unterscheidet man in der Planung zwischen präoperativem und postoperativem, sowie zwischen einem intraoperativem und postoperativem Management des Patienten. Während es bei der präoperativen Planung vor allem um die Detektion von vorgeschädigten Gefäßarealen durch bildgebende Verfahren geht, ist die Stabilisation des Patienten unter intensivmedizinischen Bedingungen für die postoperative Planung für die Vermeidung von Komplikationen wichtig (Hanasono *et al.* 2009; Rosenberg *et al.* 2009; Kruse *et al.* 2010; Pattani *et al.* 2010). Das intraoperative Management dient vor allem der individuell adaptierten Anwendung verschiedener mikrochirurgischer Techniken zur Vermeidung von Embolien im Operationsbereich und der adäquaten Gefäßauswahl bei der Durchführung von mikrovaskulären Anastomosen (Hanasono *et al.* 2009; Kruse *et al.* 2010; Bourget *et al.* 2011). Auch spielt die unmittelbare Phase nach erfolgter Anastomosierung eine besonders große Rolle, da technisch bedingte Kompromittierungen des Blutflusses frühzeitig festgestellt werden können (Wolff *et al.* 2008). Aber auch fehlerhaft durchgeführte Rekonstruktionen, die zu einer Veränderung der Lagestabilität des versorgenden Gefäßes führen, gefolgt von einer Einschränkung des Blutflusses (z.B. das sog. Kinking, Verdrehung des Gefäßstiels, u.a.) können meist frühzeitig festgestellt werden (Wolff *et al.* 2008) (Abb. 1).

Die Entwicklung von sofort verfügbaren Techniken zur Darstellung des erzielten Operationsergebnisses durch ein entsprechendes Monitoring (Hölzle *et al.* 2006) oder durch die Anwendung der Mikro-Doppler-Sonographie (Gilsbach und Hassler 1984; Deverall *et al.* 1988), Angiographie (Hassler *et al.* 1983) sowie der Indocyanin-Grün-Angiographie (Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Holm *et al.* 2009) erlaubt die intraoperative Evaluation des erzielten Ergebnisses und ist deutlich valider als die rein klinische Beurteilung. Die frühzeitige Detektion von Komplikationen im Operationssaal sowie deren unmittelbare Beseitigung stellen hierbei für alle Beteiligten einen entscheidenden Vorteil dar. Durch die sofortige Kontrolle ergeben sich so zuverlässige und objektive Beurteilungsmaßstäbe, die zu einer Erhöhung der Sicherheit für den Patienten und den Chirurgen gefolgt von verbesserten Behandlungsergebnissen führen.

## **1.2 Bildgebende Verfahren**

Um die Erfolgsquote von mikrovaskulären Prozeduren zu erhöhen und einen intraoperativ reibungslosen Ablauf des Eingriffes zu gewährleisten, werden bei

vorbehandelten oder systemisch erkrankten Patienten präoperativ bildgebende Verfahren empfohlen, um die vaskuläre Situation individuell zu erfassen und so den Behandlungserfolg zu erhöhen (Colen und Musson 1987; Witt *et al.* 1998; Barkhordarian und Dardik 2004; Tan *et al.* 2007). Intraoperativ sind insbesondere die Mikro-Doppler Sonographie und Indocyanin-Grün Angiographie geeignete Verfahren, da der technische und personelle Aufwand bei der digitalen Subtraktionsangiographie, Magnetresonanz-Angiographie und Computertomographie-Angiographie zu hoch ist und dieser als nicht geeignet für eine intraoperative Diagnostik erscheint.

### 1.2.1 Digitale Subtraktionsangiographie

Mittels der digitalen Subtraktionsangiographie kann der Gefäßstatus nach der selektiven, intraarteriellen Injektion jodhaltigen Kontrastmittels beurteilt werden. Mit den im sagittalen und lateralen Strahlengang angefertigten Röntgenbildern können die arteriellen, kapilläre und venösen Phasen dargestellt werden. Bei der intraarteriellen DSA wird mit Hilfe eines Computers ein Leerbild von dem Füllungsbild einer angiographischen Aufnahme subtrahiert (Abb. 2). Dadurch wird der Gefäßkontrast so angehoben, dass man mit sehr viel geringerer Kontrastmittelkonzentration ausgezeichnete Darstellungen auch kleiner Gefäße gewinnt. Stenosierende Gefäßprozesse und Gefäßverschlüsse zeigen sich als Lumeneinengung, Abbrüche oder fehlende Darstellung von Arterien (Abb. 2).



**Abbildung 2.** Darstellung einer DSA der supraaortalen Gefäße mit multiplen Gefäßstenosen, die sich als Gefäßverengungen zeigen.

### 1.2.2 CT-Angiographie

Die CT-Angiographie (CTA) gewinnt für die Darstellung von Gefäßen und Planung

zur Behandlung weiter an Bedeutung. Besonders durch die 3-Dimensionale Rekonstruktion des Gefäßbaumes und die damit verbundene Darstellung der bestehenden anatomischen Situation sowie bestehender pathologischer Veränderungen erleichtern die weiteren Interventionsschritte. Weiterhin wird für dieses Verfahren weniger Kontrastmittel als bei der digitalen Subtraktions-Angiographie benötigt, so dass auch die Komplikationen durch Kontrastmittelreaktionen geringer sind. Auch die Bedienung der Geräte sowie die personellen Anforderungen stellen einen geringeren Aufwand dar als bei der Angiographie (Rubin *et al.* 1993; Gonzalez-Darder *et al.* 2001). Hierbei ist vor allem die weitere chirurgische Planungsfähigkeit in der weiteren Behandlung durch den Nutzen der 3D-CTA von großer Bedeutung, da zum einen die sensitive und spezifische Darstellung der Gefäßpathologien, zum anderen die Bildgebung im Raum erfolgt. Hinzu kommt, dass das Verfahren der CTA weniger invasiv ist als die Angiographie und vergleichbare Ergebnisse in der Darstellung der Gefäße durch die Angiographie und CTA zu erzielen sind (Pechlivanis *et al.* 2005).

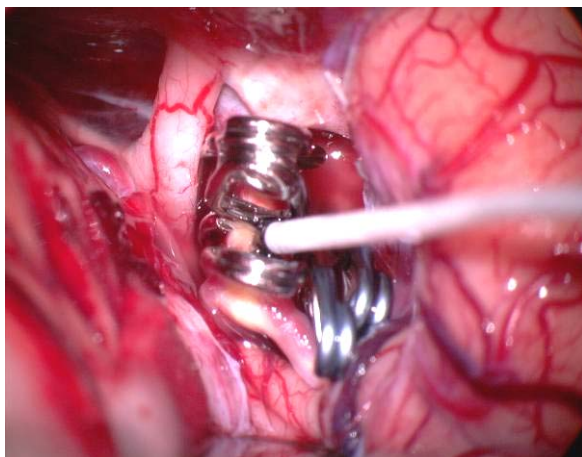
Weitere Vorteile der CTA bestehen in der genauen Darstellung der Gefäße bis zu 1 mm, so dass auch geringgradige Pathologien zur Darstellung gebracht werden können. Auch Kalzifikationen der Wände kommen gut zur Darstellung (Kato *et al.* 2002). Die Nachteile der CTA bestehen vor allem in der geringen Verfügbarkeit in nur wenigen Zentren, so dass die DSA auch weiterhin als Goldstandard in der Diagnostik und präoperativen Vorbereitung gilt. Die Nachteile der CTA bestehen jedoch in gleicher Weise auch bei der DSA, so dass in der Gegenüberstellung der 3D-CT-Angiographie gegenüber der Angiographie die Vorteile überwiegen (Ogawa *et al.* 1996).

### **1.2.3 MR-Angiographie**

Die MR-Angiographie (MRA) hat sich als ein valides und sensitives Mittel etabliert, um vaskuläre Veränderungen aufzuzeigen (van Everdingen *et al.* 1998; Hölzle *et al.* 2003; Hölzle *et al.* 2011). Das Prinzip der time-of-flight Angiographie (Al-Kwifl *et al.* 2002; Yang *et al.* 2002) beruht darauf, dass in ein bestimmtes Gewebsvolumen, das von einem Gefäß durchkreuzt wird, ständig frische, ungesättigte Protonen einströmen, deren Signal zur Bildgebung verwendet wird. Diese Technik der Gefäßdarstellung stellt somit eine flussabhängige funktionelle Untersuchung dar.

Daraus ergeben sich aber auch Schwierigkeiten, da bei sehr langsamen Flussgeschwindigkeiten und bei turbulenten Stenosen zahlreiche Artefaktmöglichkeiten bestehen. Daher wird das Ausmaß einer Stenose in der MRA häufig stärker ausgeprägt dargestellt als es sich in der intraoperativen Situation zeigt. Andererseits kann auch Gadolinium-Kontrastmittel intravenös injiziert werden und eine strukturelle Gefäßdarstellung erzielt werden, entsprechend dem Verfahren der CTA. Mit der MRA steht also eine weitere nichtinvasive und schonende, gefäßdarstellende Methode zur Verfügung, die problemlos auch bei Patienten angewandt werden kann, denen man eine konventionelle Angiographie nicht zumuten will oder bei denen durch verschiedene Artefakte eine CTA nicht den gewünschten Bereich exakt genau darstellen kann. Die MRA ist durch das Verfahren bedingt mit einem längeren Zeitaufwand verbunden als die CTA.

#### 1.2.4 Mikro-Doppler-Sonographie



**Abbildung 3.** Anwendung des Mikro-Dopplers im Rahmen einer neurochirurgischen Versorgung der A. carotis interna nach Aneurysmaruptur und bereits erfolgter Clipapplikation. Der Mikro-Doppler wird zur intraoperativen Kontrolle des Blutflusses verwendet.

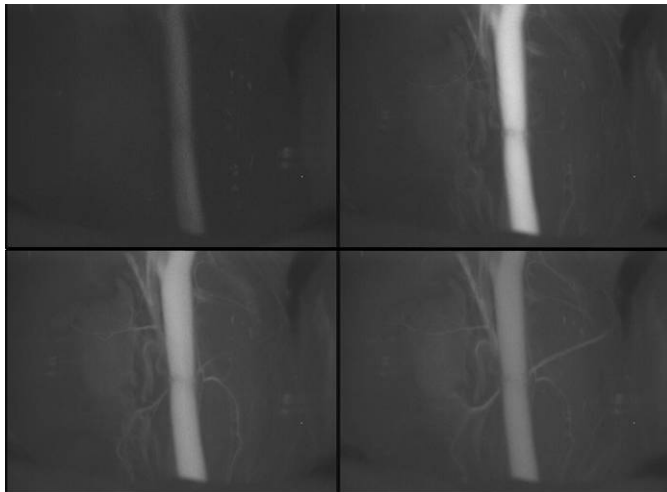
Der Mikro-Doppler stellt bisher den sog. Gold-Standard vor allem in der Neurochirurgie dar (Abb. 3), wird aber auf Grund der einfachen Anwendung und guten Erlernbarkeit auch in der Gefäßchirurgie häufig verwendet (Gilsbach 1983; Gilsbach und Hassler 1984; Laborde *et al.* 1988; Lam und Newell 1996; Bailes *et al.* 1997; Firsching *et al.* 2000; Thornton *et al.* 2000; Proust *et al.* 2002; Sanzenbacher 2005; Mücke *et al.* 2008). Der Nachteil bei der Anwendung des Mikro-Doppler-Systems stellt die geringe Sensitivität bei Stenosen

der Gefäße zwischen 30-50% dar (Gilsbach 1983; Gilsbach und Hassler 1984), so dass die zusätzliche Beurteilung der Anastomose durch ein weiteres, sensitiveres Verfahrens empfohlen wird.

#### 1.2.5 Indocyanin-Grün Angiographie

Die Fluoreszenzangiographie ist ein non-invasives bildgebendes Verfahren zur

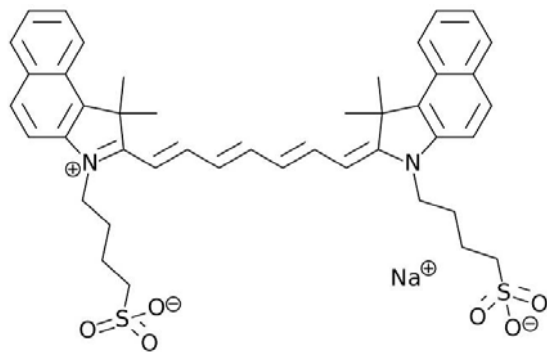
Darstellung von Gefäßen und der Durchblutung von Gewebe. Bei diesem Verfahren wird ein fluoreszierender Farbstoff in die Blutbahn injiziert und an der zu untersuchenden Lokalisation durch Beleuchtung mit einer Infrarot-Lichtquelle zur Fluoreszenz angeregt (Abb. 4-6). Der Spektralbereich der Lichtemission ist im Vergleich zur Wellenlänge des Beleuchtungslichtes im Allgemeinen zu einem längeren Wellenbereich hin verschoben.



**Abbildung 4.** Darstellung einer Carotis der Ratte mit der ICG-Videoangiographie mit der früharteriellen, arteriellen und venösen Phase, analog der Darstellung bei der konventionellen Angiographie.

Durch diesen Effekt der Wellenverschiebung der Signale ist es mit speziellen Lichtfiltern möglich, dass das Anregungslicht blockiert und das emittierte Fluoreszenzsignal detektiert wird. Die am häufigsten verwendeten Fluoreszenzmarker dieses Verfahrens sind die klinisch zugelassenen Farbstoffe Fluoreszein und Indocyanin-Grün (ICG, Abb. 5).

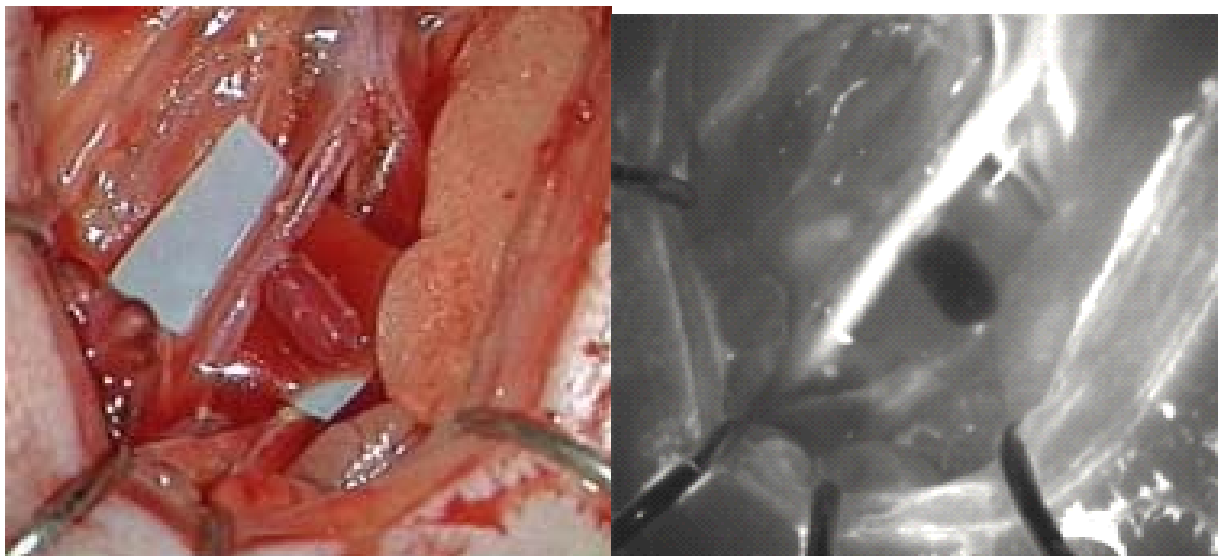
ICG wurde 1956 für die kardiologische Diagnostik entwickelt und beschrieben (Fox *et al.* 1956). Um das Herzzeitvolumen mit Hilfe von Indikator-Verdünnungskurven zu bestimmen, wurde dieser Farbstoff angewendet, ohne eine Abhängigkeit vom Hämoglobinspiegel oder der bestehenden Sauerstoffsättigung im Kreislaufsystem aufzuweisen (Fox *et al.* 1957). Durch die spezielle Pharmakokinetik des fluoreszierenden Farbstoffes, welcher ausschließlich biliär eliminiert wird, erfolgte die Anwendung zu weiteren diagnostischen Tests auch in der Hepatologie (Wheeler *et al.* 1958; Caesar *et al.* 1961). Darüber hinaus weist ICG keine enterohepatische Rezirkulation auf und eignet sich daher zur Messung des hepatischen Blutflusses zur weitergehenden Diagnostik bei zirrhotischen Veränderungen und deren Einfluss auf den intrahepatischen Kreislauf, sowie zur Verlaufskontrolle und Bestimmung des



**Abbildung 5.** Strukturformel von ICG

Neurochirurgie zur Darstellung des intraoperativen Blutflusses sowie von Kollateralgefäßen (Abb. 3) (Feindel *et al.* 1967a; Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005), in der rekonstruktiven Chirurgie zur Evaluation der Mikroanastomosen bei freien Gewebetransplantaten (Rubben *et al.* 1994; Holm *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a; Holm *et al.* 2010b) und anderen Fachbereichen, waren die Folge der klinischen Etablierung der ICG-Angiographie.

Blutflusses (Wheeler *et al.* 1958; Caesar *et al.* 1961; Leevy *et al.* 1967; Paumgartner 1975). Die weiteren Anwendungsbereiche dieses Diagnostikums in der Ophthalmologie, zur Messung des choroidalen und retinalen Blutflusses (Bischoff und Flower 1985; Destro und Puliafito 1989), in der



**Abbildung 6.** Darstellung eines experimentellen Aneurysmas in der Ratte (Mücke *et al.* 2008; Scholz *et al.* 2008) (links) und Applikation der ICG-Videoangiographie zur Visualisierung des Blutflusses (rechts). Das dargestellte Aneurysma erscheint nicht perfundiert, was durch das fehlende Fluoreszenzsignal angezeigt wird.

ICG ist ein wasserlöslicher Fluoreszenz-Farbstoff mit einem Molekulargewicht von 774,96 Dalton und ist in Wasser, Methanol und Ethanol löslich. Der Farbstoff darf nicht mit salzhaltigen Lösungen verdünnt werden, da es sonst zu Ausfällung kommen kann. Im Blut bindet ICG zu 95% an beta-Apolipoprotein B und zu einem geringeren Anteil an Albumin. Die Ausscheidung des Farbstoffes aus dem Blut erfolgt biphasisch

mit einer Halbwertszeit von 3-4 min und wird ausschließlich über die Galle unmetabolisiert ausgeschieden (Ott 1998). Durch die schnelle Elimination aus dem Blut nach Leberpassage ist eine mehrmalige Applikation des Farbstoffes in kurzen Zeitintervallen problemlos möglich (Raabe *et al.* 2005; Holm *et al.* 2009).

ICG ist nicht-toxisch und gut verträglich (Paumgartner 1975). Bei Dosierung entsprechend der Herstellerangaben (0,1 bis 0,3 mg/kg Körpergewicht, ICG Pulsion, München) sind Nebenwirkungen sehr selten (Paumgartner 1975). Nebenwirkungen wie Halsschmerzen und Hitzewallungen oder Unverträglichkeitsreaktionen wie anaphylaktischer Schock, Hypotension, Tachykardie, Dyspnoe und Urtikaria wurden nur in einzelnen Fällen beobachtet (Benya *et al.* 1989). Die tägliche Gesamtdosis sollte jedoch nach Herstellerangaben 5 mg/kg Körpergewicht nicht überschreiten.

Entsprechend dem Effekt der Wellenverschiebung liegt das Absorptionsmaximum von ICG in einem unterschiedlichen Bereich als das Fluoreszenzmaximum. Das Absorptionsmaximum ist abhängig von der Farbstoffkonzentration und den Eigenschaften des Lösungsmediums. In Wasser und Methanol liegt das Absorptionsmaximum bei 780 nm, in Albumin bei 800 nm und in Plasma bei 805 nm (Sutterer *et al.* 1966; Gentile *et al.* 1985). Das Fluoreszenzmaximum von ICG liegt je nach Lösungsmedium zwischen 810 und 834 nm (Benson und Kues 1978).

### **1.3 Zielsetzung der Arbeit**

Die intraoperative Anwendung der ICG-Videoangiographie hat in den letzten Jahren in einigen Bereichen zunehmend an Bedeutung gewonnen und stellt in verschiedenen Fachbereichen ein wichtiges intraoperatives Instrumentarium zur Kontrolle des erzielten operativen Ergebnisses dar (Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2006; Unno *et al.* 2008; Holm *et al.* 2009; Waseda *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a). Obwohl dieses Verfahren zunehmend an Bedeutung gewinnt, ist die Sensitivität und Spezifität der Methode bis zum heutigen Zeitpunkt in keinem standardisierten Modell evaluiert worden (Holm *et al.* 2010b), so dass die Zuverlässigkeit der ICG-Angiographie bisher für den Anwender nicht abschätzbar ist. Obwohl es bereits klinische Studien unter Anwendung der ICG-Angiographie an Patienten gibt (Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; Woitzik *et*

*al.* 2006; Unno *et al.* 2008; Holm *et al.* 2009; Waseda *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a; Holm *et al.* 2010b), existieren bisher keine tierexperimentelle Studien, welche die Limitationen der ICG-Angiographie und deren Anwendung durch ein standardisiertes Modell erlaubt. Des Weiteren erlaubt die ICG-Videoangiographie eine Beurteilung der aktuellen Flussverhältnisse durch die fluoreszierende Darstellung der intravasalen Blutzirkulation (Holm *et al.* 2010a). Diese wurde jedoch bisher ausschließlich subjektiv durch den Anwender oder mit Hilfe zusätzlicher Parameter wie der zeitlichen Anflutung des Fluoreszenzsignals in der betrachteten Region beurteilt (Holm *et al.* 2010a). Da diese Methoden durch ihre Subjektivität sehr fehlerbehaftet sind, sollte die Anwendung eines objektiven Softwaretools die Beurteilung der Anflutung und die Intensität des Fluoreszenzsignals weiter verbessern. Die Anwendung dieses Softwareprogramms, dem sogenannten FLOW 800, unter standardisierten Bedingungen und die Anwendung in verschiedenen mikrochirurgischen Situationen durch Einschränkungen des Blutflusses war weiterer Gegenstand der vorliegenden Arbeit. Eine mögliche Korrelation des Fluoreszenzsignals mit der vorliegenden Durchgängigkeit des Gefäßes zur weitergehenden Detektion von Stenosierungen im Rahmen der mikrochirurgischen Anastomosierung von Gefäßen wurde an verschiedenen Gefäßtypen getestet. Als Diskussionsgrundlage für die zuverlässige und aussagekräftige klinische Anwendung der ICG-Angiographie soll zudem der Vergleich mit der Mikro-Doppler Sonographie dienen. Daraus leiten sich folgende Fragestellungen ab:

1. Ist die zuverlässige und sichere Beurteilung einer vaskulären Mikroanastomose unter Berücksichtigung verschiedenen Stenosierungen möglich?
2. Ist die Sensitivität und Spezifität des Verfahrens vergleichbar mit dem bisherigen Gold-Standard der Mikro-Doppler Sonographie?
3. Gelingt die Anwendung der Analysesoftware FLOW 800 zur objektiven Beurteilung des Blutflusses an verschiedenen Gefäßtypen gleichermaßen?
4. Können verschiedene, randomisiert erstellte Stenosierungen unterschiedlicher Ausprägung durch das FLOW 800 detektiert werden?
5. Ist durch die präoperative Bestimmung des Blutflusses im nicht operierten Gefäß an Hand der gemessenen Flusskurven eine intraoperative Bestimmung des Stenosegrades des anastomosierten Gefäßes möglich?



## **2. MATERIAL UND METHODIK**

### **2.1 Versuchsmodell**

Als Versuchsmodell wird das mikrochirurgische Gefäßmodell der Ratte verwendet, bei dem es sich um das am häufigsten in mikrovaskulären tierexperimentellen Studien verwendete Tiermodell handelt (Cooley und Gould 1987; Ilie *et al.* 2007; Mücke *et al.* 2008; Scholz *et al.* 2008).

### **2.2 Studienaufbau**

#### **2.2.1 Versuchstiere und Haltung**

Als Versuchstiere werden 28 männliche Wistar Ratten (Fa. Charles River, Sulzfeld, Deutschland) zwischen 300 und 350 g verwendet. Alle Tiere werden gemäß der EU-Richtlinien behandelt. Das Tierversuchsvorhaben ist gemäß § 8 des Deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Arnsberg genehmigt worden (Aktenzeichen 50.8735.2.1-06/1). Die Ratten werden in Gruppen von vier Tieren in Standard Makrolon® Typ IV Käfigen bei einem künstlichen 12 h Tag-Nacht-Rhythmus in der zentralen Versuchstierhaltung der Medizinischen Fakultät der Ruhr-Universität Bochum gepflegt. Pellets (Altromin International, Laage) und Wasser werden *ad libitum* bereitgestellt. Nach Lieferung wird den Tieren eine Eingewöhnungszeit von mindestens 14 Tagen vor Versuchsbeginn gewährt.

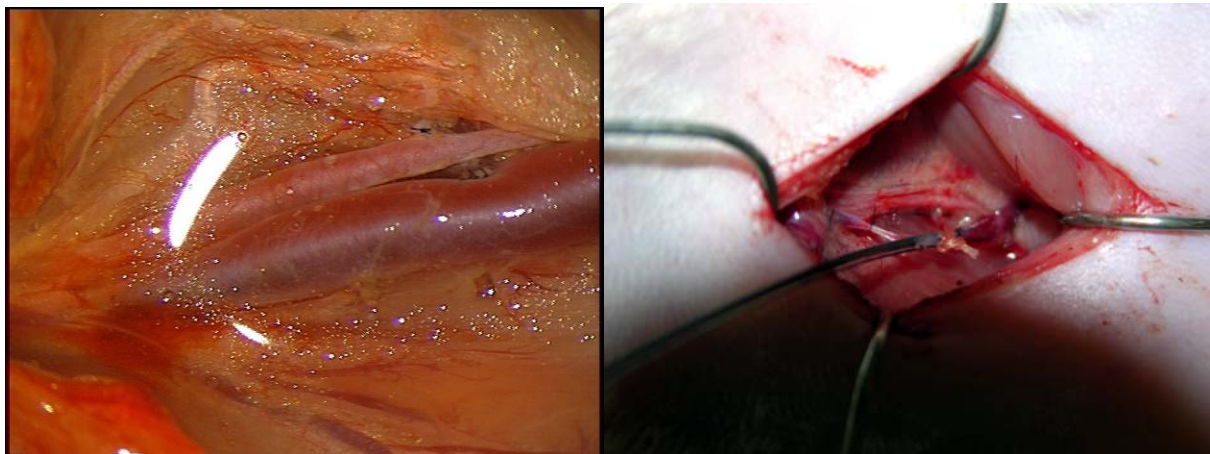
#### **2.2.2 Narkose**

Die Narkose erfolgte mit Ketamin (Ketamin 10%, CP-Pharma (Burgdorf, Deutschland)), und Xylazin (Xylazin 2%, CP-Pharma (Burgdorf, Deutschland)) intraperitoneal in einer Dosis von 1 ml Ketamin 10%/kg Körpergewicht und 0,3 ml Xylazin 2%/kg Körpergewicht als Gemisch. Die Operationen zur Anastomosierung der Gefäße an den Tieren wurden in einer Sitzung randomisiert an den verschiedenen Lokalisationen durchgeführt. Das Narkosestadium wurde regelmäßig kontrolliert und bei Bedarf vertieft. Während der Narkose wurde das Versuchstier mit einer Rektalsonde versehen auf einer automatisch regulierbaren Wärmematte positioniert, wobei Atmung und Puls zusätzlich über ein Pulsoxymeter überwacht wurden. Nach Durchführung der Experimente wurden die Tiere noch während der Narkose getötet. Nach Einleitung der Narkose und Erreichen der chirurgischen Toleranz (III<sup>2</sup>) erfolgte zunächst die Rasur im medianen Halsbereich, der Leistenregion beidseitig und des Abdomens der Ratte.

## 2.2.3 Operationen

### 2.2.3.1 Kanülierung der V. femoralis

Nach Aufsuchen der V. saphena in der Leistenregion der rechten Seite der Ratte, die durch die Haut durchschimmert, wurde in der Verlängerung nach medial von medio-kranial nach latero-kaudal ein circa 2 – 3 cm langer Hautschnitt durchgeführt. Anschließend wurde Haut und Subkutis sukzessive präpariert, bis auf die oberflächliche Muskelfaszie. Die oberflächliche Faszie wurde eröffnet und in die Tiefe zwischen M. vastus medialis und M. adductor longus präpariert. In dieser Region wurde die Arteria und Vena femoralis aufgesucht und dargestellt, die unterhalb des Leistenbandes zwischen Mm. adductor longus, adductor magnus und M. vastus medialis sowie M. rectus femoris bis zum Abgang der A. und V. epigastricae freigelegt wurden.



**Abbildung 7.** Darstellung der A. und V. femorales (links) zur Vorbereitung auf die dauerhafte Kanülierung durch einen Venenverweilkatheter (rechts).

Die Ligatur der Seitenäste wurde durch einen Ethilon 8-0 Faden (Ethilon®, Ethicon, Norderstedt, Deutschland) durchgeführt, insbesondere auf die Unterbindung des in die tiefe Muskulatur einstrahlenden Astes der A. und V. iliaca circumflexa profunda femoris wurde geachtet (Abb. 7). Anschließend erfolgten das temporäre Clippen der Vene am proximalen Leistenband und die distal möglichste Ligatur der Vene. Nach longitudinaler Venotomie des Gefäßes wurde ein Venenverweilkatheter in die V. femoralis eingebracht und 4-5 cm vorgeschoben. Die Sicherung des Venenverweilkatheters erfolgte durch die Ligatur etwas proximal an der Eintrittsstelle durch einen Vicryl 5-0 Faden sowie einem Ethilon 8-0 Faden (Abb. 8)



**Abbildung 8.** Darstellung des zentralen Venenverweilkatheters zur Applikation des ICG-Farbstoffes und der Narkose.

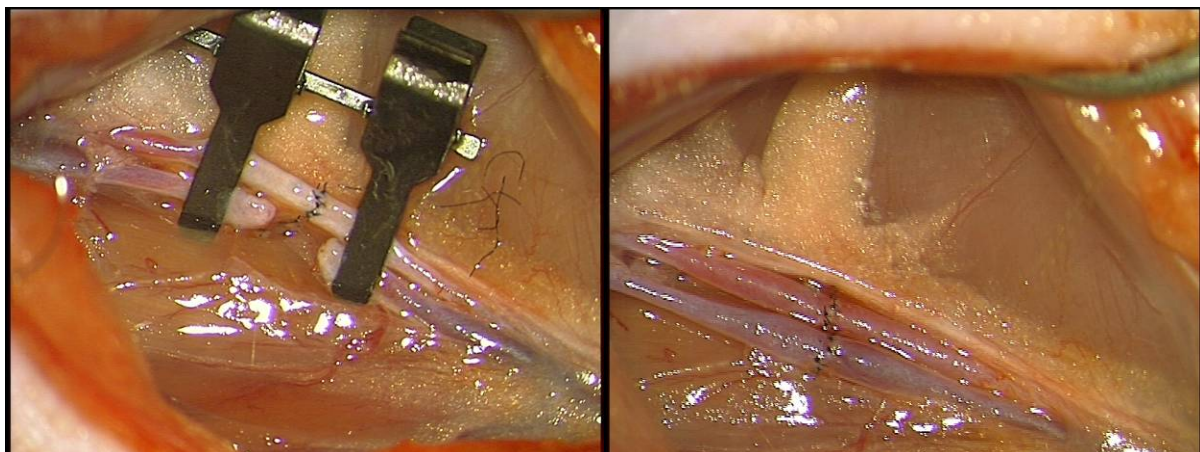
zentralen Venenverweilkatheter fortgeführt.

(Ethilon®, Ethicon, Norderstedt, Deutschland). Nachdem der Katheter gesichert wurde, erfolgte die fortlaufende Hautnaht mit Ethilon 6-0 (Ethilon®, Ethicon, Norderstedt, Deutschland). In der Folge wurde sowohl die Applikation des ICG zur Durchführung der Fluoreszenzangiographie als auch die Narkose intravenös über einen Dreiwegehahn über den gelegten

## 2.2.3.2 Mikrovaskuläre Anastomosierungen

### 2.2.3.2.1 Anastomosierung der A. femoralis

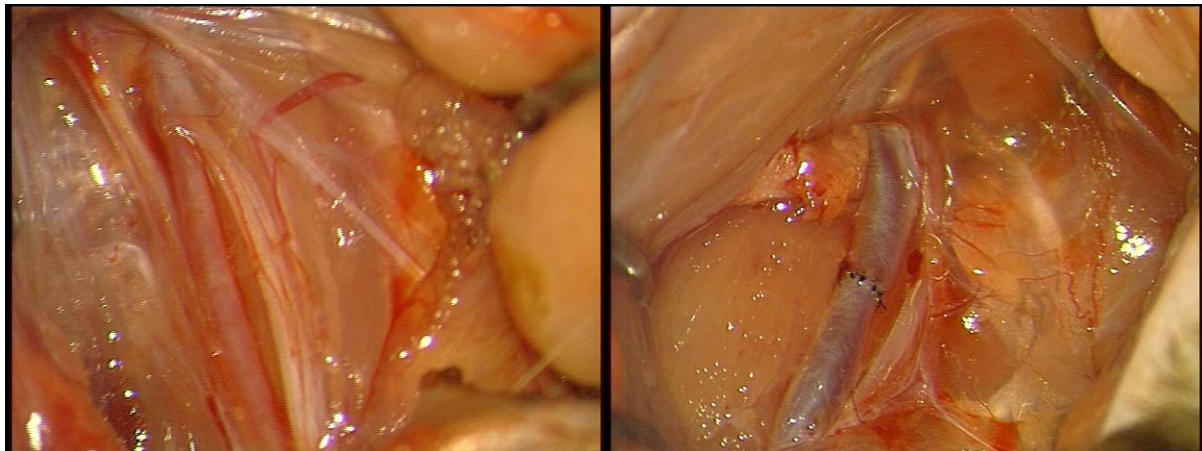
Die Präparation der A. und V. femoralis erfolgte auf der linken Seite der Ratte in analoger Weise wie die Darstellung und Präparation der Gefäße für die Kanülierung durch den Venenverweilkatheter unter 2.2.3.1 beschrieben. Nach Ligatur der Seitenäste der Gefäße und Vorbereitung des Operationsfeldes wurde die A. femoralis oder alternativ die V. femoralis mit Hilfe eines Approximatorclips vom Blutstrom ausgespart und das Gefäß in mikrochirurgischer End-zu-End-Technik mit Ethilon 10-0 Einzelknopfnähten anastomosiert (Abb. 9).



**Abbildung 9.** Darstellung der Anastomosierung der A. und V. femorales mit Hilfe eines Approximatorclips (links). Die Arterie wurde bereits komplett reanastomosiert, die Vene wurde durchtrennt. Nach Reanastomosierung dargestellte A. und V. femorales (rechts).

#### 2.2.3.2.2 Anastomosierung der A. carotis

Zur Freilegung der A. carotis erfolgte ein ca. 1,5 – 3 cm langer Hautschnitt vom Manubrium sterni zur Regio submentalis in der Medianlinie. Das Platysma wurde längst durchtrennt. Nachfolgend wurde sukzessive in die Tiefe präpariert, sodass die oberflächlichen Muskeln zur Darstellung kamen. Der medial gelegene M. sternohyoideus sowie die weiter lateral verlaufenden M. sternocleidomastoideus und M. omohyoideus wurden lateral der Trachea aufgesucht. Die umgebende Halsfaszie mit Zugang zur cervikalen Gefäßscheide wurde durchtrennt und zwischen den Faszienblättern ein Zugang zur A. carotis communis geschaffen (s. Abb. 10). Die A. carotis communis wurde zirkulär frei präpariert, das Nervengeflecht geschont. Ausgespart wurden zum einen die drei zervikalen Ganglien, zum anderen aber auch der lateral der A. carotis communis verlaufende N. vagus. Anschließend wurde die A. carotis communis proximal und distal mit einem Approximatorclip ausgeclippt, durchtrennt und in mikrochirurgischer End-zu-End-Technik mit Ethilon 10-0 Einzelknopfnähten anastomosiert (Abb. 10).

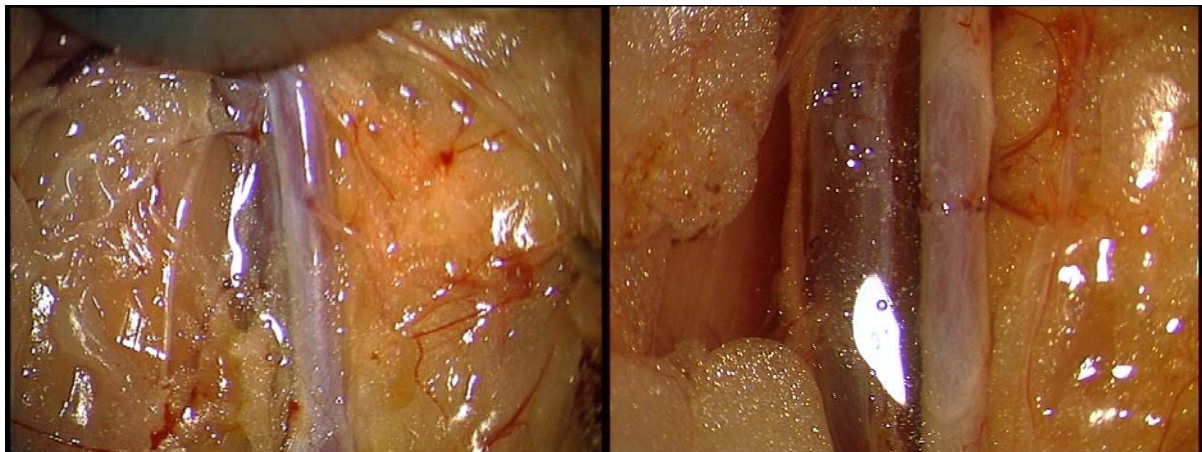


**Abbildung 10.** Darstellung der freigelegten A. carotis communis der Ratte vorbereitet zur Anastomosierung (links). Nach erfolgter Anastomose wurde der Approximatorclip entfernt und der Blutfluss wieder freigegeben (rechts).

#### 2.2.3.2.2 Anastomosierung der Aorta

Die Medianlinie wurde aufgesucht und die Haut ca. 2 cm oberhalb der Symphyse auf einer Strecke von 2 – 4 cm inzidiert. Die Bauchwandmuskulatur wurde an der Linea alba durchtrennt und das Abdomen eröffnet. Nachfolgend wurden die freigelegten Organe schonend und vorsichtig ohne Druck in den oberen Teil des Abdomens mit Hilfe eines herkömmlichen Wattestäbchens geschoben, bis der Retroperitonealraum

mit den großen Bauchgefäßen sichtbar wurde. Unter Zuhilfenahme eines weiteren Wattestäbchens wurde das retroperitoneale Fett vorsichtig präpariert, so dass die Aorta und V.cava im Retroperitoneum sichtbar wurden (Abb. 11). Um die Bauchorgane schonend zu fixieren, wurden diese durch 1-2 mit Kochsalzlösung getränkte Tupfer vom Typ Telatrast Teasling® No.2 walnussgroß, No. 451 103/6 von Hartmann (Heidenheim, Deutschland) in den Oberbauch geschoben. Die Präparation der Aorta und V.cava wurde durch die mikrochirurgische Eröffnung der Gefäßscheide fortgesetzt. Beide Gefäße wurden voneinander schonend separiert und kleinere Seitenäste ligiert. Der erste größere Ast, der Abgang der A.vesicalis superior wurde belassen und nicht weiter dargestellt. Meist wurden 1-3 kleinere Äste vorgefunden, die in jedem Fall unterbunden wurden. Nach kompletter Präparation der Aorta wurde diese temporär ausgeclipt und in mikrochirurgischer End-zu-End-Technik mit Ethilon 10-0 Einzelknopfnähten anastomosiert (Abb. 11).



**Abbildung 11.** Darstellung der freigelegten Aorta und V. cava (links). Nach temporärem Ausclippen der Aorta wurde diese anastomosiert (rechts).

## 2.2.4 Technische Apparaturen

### 2.2.4.1 Mikro-Doppler-Sonographie



**Abbildung 12.** Darstellung des verwendeten DWL Smart Dop®.

Die Gefäße und die zu evaluierenden mikrochirurgischen Anastomosen an den verschiedenen Regionen wurden mit Hilfe eines Dopplergerätes, einem DWL Smart Dop® der Firma Compumedics Germany GmbH (Singen, Deutschland) und einer Mikro-Dopplersonde mit einer Frequenz von 16 MHz geschallt (Abb. 12). Hierbei wurden verschiedene Tiefen-,

Empfindlichkeits- und Richtungseinstellungen getestet und der jeweiligen Region entsprechend dem optimalen Schallsignal angepasst (Mücke *et al.* 2008). Der Einstellungswinkel der Mikro-Dopplersonde wurde auf 45-60 Grad eingestellt (Gilsbach und Hassler 1984; Mücke *et al.* 2008). Die signalstärkste Einstellung wurde dann zur Kontrolle wiederholt und dokumentiert. Wichtige Informationen, wie vor allem die Flusstärke, Puls und Durchgängigkeit wurden bei den verschiedenen Prozessvorgängen kontrolliert und dokumentiert. Die qualitative Analyse bestand aus der Aufzeichnung des akustischen Signals sowie der abgeleiteten Dopplerkurve und dem maximalen Gefäßfluss. Nach der operativen Darstellung des Gefäßes wurde zunächst eine Analyse des Gefäßes vorgenommen und nach erfolgter mikrochirurgischer Anastomosierung mit der Ausgangsmessung verglichen. Nach jedem Schritt wurde eine erneute Messung zur Evaluation der vorherrschenden Flusssituation durchgeführt.

Die quantitative Analyse der Flusskurven wurde durch Bestimmung der systolischen, mittleren und diastolischen sonographischen Werte der Flusskurve durchgeführt. Zusätzlich wurde der Resistance Index bestimmt. Das Doppler-Signal wurde proximal, distal und am Anastomosenkomplex abgeleitet und nach Vergleich mit dem Ausgangssignal in folgende Einteilung klassifiziert:

1. Regelrechtes Flusssignal (normal)
2. Abnormales Flusssignal (erhöhter Fluss oder turbulent)

3. Eingeschränktes Flusssignal (Basisdifferenz durch erniedrigte Flusswerte verursacht durch eine Stenosierung)
4. Abwesendes Signal im Gefäß (Stenosierung oder mikrochirurgischer Gefäßverschluss)

#### 2.2.4.2 Operationsmikroskop Pentero mit integrierter ICG-Angiographie



**Abbildung 13.** Darstellung des OPMI Pentero Mikroskopes mit integrierter ICG-Angiographie (Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Germany).

Für die Durchführung der Versuche wurde ein OPMI Pentero von Zeiss verwendet (Abb. 13) (Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Germany). Als Okulare wurde ein 12,5x Vergrößerungsokular Typ 18B für die Operationen verwendet. Als integrierte digitale Videokette diente eine 3CCD-Videokamera mit Videoausgabe auf einem Touchscreen-Monitor zur Bearbeitung und Analyse der

gewonnenen Daten und ICG-Angiographie. Zur Echtzeit-Darstellung der ICG-Angiographie wurde ein externer Monitor verwendet und durch ein digitales Videorecording-System aufgezeichnet und unmittelbar nach Beendigung einer Versuchsreihe ausgewertet. Als Analysesoftware wurde das Computersystem mit dem FLOW<sup>®</sup> 800 tool (INFRARED 800, Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Deutschland) zur qualitativen und quantitativen Bestimmung des Fluoreszenzsignals ausgestattet. Die Auswertung erfolgte ebenfalls nach Beendigung einer Versuchsreihe.

## 2.3 Experimentelles Protokoll

### 2.3.1 Hintergrund

In der klinischen Routine erfolgt eine mögliche Quantifizierung von Gefäßstenosen durch die direkte visuelle Beurteilung der Anastomose, in speziellen Fällen wird dies auch postoperativ durch die zusätzliche bildgebende Darstellung durch eine diagnostische Angiographie gewährleistet (Gonzalez-Darder *et al.* 2001; Raabe *et al.* 2003; Woitzik *et al.* 2005; Holm *et al.* 2009; Waseda *et al.* 2009). Die angiographische Beurteilung orientiert sich jedoch am Stenosegrad durch den Vergleich des Durchmessers des stenotischen Gefäßabschnittes mit dem Durchmesser der angrenzenden, nicht erkrankten Gefäßabschnitte. Entsprechend der prozentualen Querschnittsminderung werden im klinischen Bereich vier Grade der Stenosen unterschieden (Chen *et al.* 1998):

- Grad 0 0-24%
- Grad I 25-49%
- Grad II 50-74% (signifikante Stenose)
- Grad III 75-99% (kritische Stenose)
- Grad IV 100% (kompletter Verschluss des Gefäßes)

Bei Angabe des relativen Stenosegrades ist zu beachten, dass Durchmesser und Querschnittsfläche entsprechend der Kreisformel nicht linear, sondern quadratisch voneinander abhängig sind und die nachfolgende mathematische Formel die Einschränkung des Blutflusses beschreibt:

$$A = \pi \cdot (d/2)^2$$

A ist hierbei der flächige Gefäßdurchmesser, d stellt den linearen Durchmesser des Gefäßes dar. Graphisch veranschaulicht ergibt sich bei der Betrachtung der zunehmenden prozentualen Einengung des Gefäßlumens nicht ein linearer Zusammenhang im Sinne einer Gerade, sondern eine Parabel. Somit entspricht eine Halbierung des Durchmessers einer 75%igen Reduktion der Querschnittsfläche und damit definitionsgemäß bereits einer kritischen Stenose. Bei einer Viertelung des Durchmessers, d.h. einer Reduktion des Durchmessers um 75% liegt bereits eine mehr als 90%ige Reduktion der Querschnittsfläche vor (Tab. 1).



<b>Tabelle 1.</b> Darstellung der Abhängigkeit des Flächeninhaltes, Umfanges und Blutflusses vom prozentualen und absoluten Durchmesser des Gefäßes			
Gefäßdurchmesser [% (absolut [mm])]	Flächeninhalt [absolut mm <sup>2</sup> (%)]	Umfang [mm <sup>2</sup> ]	Blutfluss [%]
100% (1)	0,785	3,142	100
75% (0,75)	0,442 (56%)	2,356	31
50% (0,5)	0,196 (25%)	1,571	6
25% (0,25)	0,049 (6%)	0,785	0,4
0% (0)	0	0	0

Das Hagen-Poiseuill'sche Gesetz dient der Bestimmung des Strömungswiderstandes sowie der Berechnung der Viskosität und gilt nur für laminare Strömungen. Nach dem Gesetz von Hagen-Poiseuille ändert sich die Stromstärke einer Flüssigkeit ( $I=dV/dt$ ) durch ein zylindrisches Rohr mit dem Radius  $r$  mit der 4. Potenz des Radius. Übertragen auf das vorliegende Modell einer Gefäßstenose würde dies bedeuten, dass sich der Blutfluss ebenfalls mit der vierten Potenz verändert. Wird bei einem starren Gefäß der Radius halbiert, so reduziert sich der Blutfluss auf ein Sechzehntel (Tab. 1). Da Arterien nicht starr sind und in ihnen nicht immer eine laminare Strömung herrscht, gilt dieses Gesetz nur als grobe Annäherung, dient jedoch als Richtwert für die physiologische Situation bei Gefäßkompromittierungen. Jedoch sind die Gefäße sowie das Kapillarbett in der Lage, durch Vasodilatation den Flusswiderstand zu senken. Damit kann die Zunahme des Flusswiderstands durch die Stenose bis zu einem gewissen Grad entsprechend der arteriellen Flussreserve ausgeglichen werden. Stenosen innerhalb der Flussreserve, die jedoch im mikrochirurgischen Bereich sehr gering ist, führen nicht zu einer Flussreduktion.

### **2.3.2 Versuchsmodell**

Zur Evaluation der ICG-Angiographie von mikrochirurgischen Gefäßen wurde an unter 2.2.3.2 beschriebenen Lokalisationen und Gefäßen die mikrochirurgische Anastomosierung durchgeführt. Zunächst erfolgte die Präparation und Darstellung, gefolgt von der Mikro-Doppler-Sonographie der Gefäße und der ICG-Angiographie unter Dokumentation der physiologischen Basiswerte. Der Ratte werden pro Einzelversuch eine Dosis von 0,3 mg ICG/kg Körpergewicht intravenös verabreicht

(ICG-PULSION, PZN 0536232, PULSION Medical Systems AG, München, Deutschland). Diese Aufnahmen wurden als Referenz für die weiteren Untersuchungen verwendet.

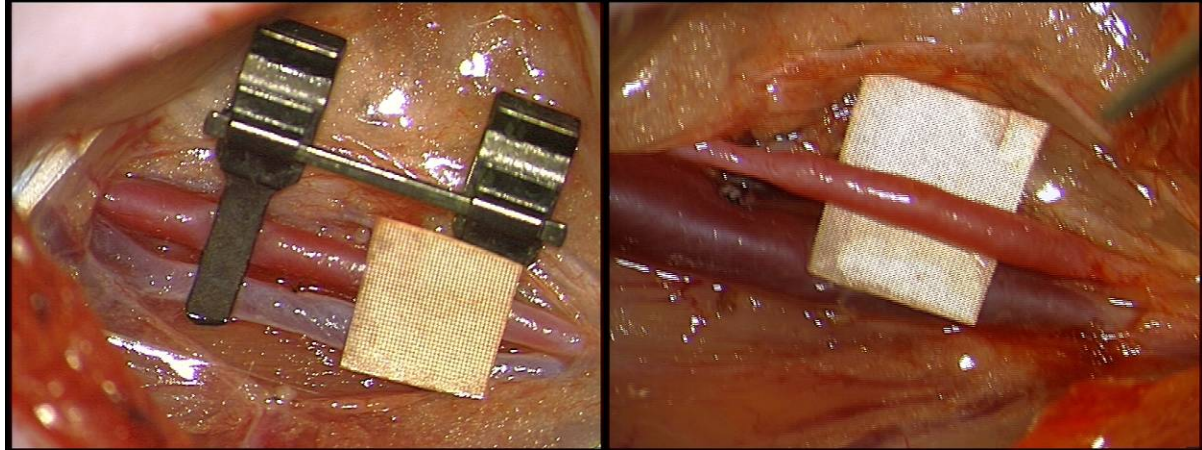


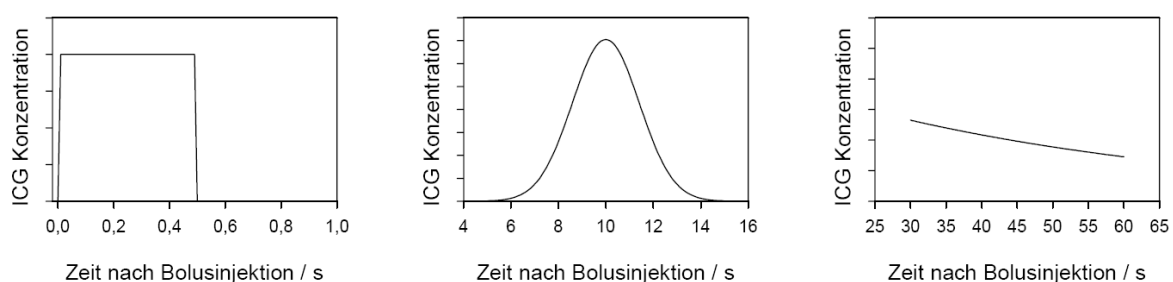
Abbildung 14. Darstellung der mehrfachen Vermessung der Gefäße mit Hilfe des 1/10 Millimeterpapiers.

Nach mikrochirurgischer Anastomosierung der Gefäße erfolgte erneut die Durchführung der Mikro-Doppler-Sonographie und der ICG-Angiographie in beschriebener Art und Weise. Anschließend wurden die Gefäßanastomosen mit Hilfe eines etablierten Stenosesystems (Leistad *et al.* 2001) anhand eines durch einen Computer randomisiert generierten Protokolls mit Hilfe eines 9-0 monofilen Fadens auf 75, 50, 25 und 0% s des Gefäßlumens verengt. Dieser Vorgang wurde zum einen durch die Kalkulation des Umfanges des Gefäßes sowie praktisch durch die Ligatur mit Hilfe des Fadens zum Erreichen der notwendigen Stenosierung gewährleistet, zum anderen durch die visuelle Abmessung durch speziell hergestelltes 1/10 Millimeterpapier kontrolliert (Abb. 14). Die beschriebenen apparativen Untersuchungen wurden nach jeder Veränderung des Gefäßdurchmessers erneut zur Anwendung gebracht und genau dokumentiert. Der Blutfluss wurde neben der apparativen Untersuchung auch klinisch durch den Milkman-Test (Kersh *et al.* 1989; Tonken *et al.* 1995) ergänzt und bei inkongruentem oder nicht eindeutigem Ergebnis durch die Durchtrennung des Gefäßes zur Feststellung der bestehenden Durchgängigkeit und des konsekutiven Blutflusses überprüft.

Anhand der so gewonnenen Ergebnisse soll die Zuverlässigkeit des Mikro-Dopplers mit der ICG-Angiographie ermittelt und miteinander verglichen werden. Neben der Beurteilung beider Verfahren im Vergleich sowie unter Berücksichtigung der

Kontrollmethode wird die Sensitivität, Spezifität, der positiv und negativ prädiktive Wert ermittelt. Zusätzlich sollen klinische und anwendungsbezogene Fehlerquellen im Rahmen der Studiendurchführung detektiert werden.

Im zweiten Abschnitt dieser Arbeit sollen die ermittelten Flusswerte des ICG-Signals mit Hilfe der FLOW<sup>®</sup> 800 Software in zeitlichen Kurven quantifiziert werden. Die gewonnenen Kurven sollen anschließend mit Hilfe der gewonnenen quantitativen und qualitativen Parameter der Kurven, das bedeutet das erste und zweite Maximum, ferner die Fläche unter der Kurve sowie die Steigung und das Gefälle des Fluoreszenzsignals mit der Basismessung und untereinander verglichen werden. Bei Fluoreszenzverfahren hängt die Fluoreszenzintensität immer von der Konzentration des ICG im betrachteten Blutvolumen ab. Für die Fluoreszenzintensität und Anflutungsgeschwindigkeit im Falle der ICG-Angiographie ist daher eine Abhängigkeit des ICG-Farbstoffes im zirkulierenden Blutvolumen zu erwarten. Diese lässt sich als Funktion der Zeit aus der Blutmenge und dem standardisierten Bolus der verabreichten ICG Konzentration ermitteln. Der Bolus wird durch die Durchmischung bei der Herz-Lungen Passage im Blut normalverteilt. Der zeitliche Verlauf der ICG-Anflutung im Gefäß ist durch diese Normalverteilung vorgegeben. Während des weiteren Verlaufs geht die zeitliche Abhängigkeit der ICG-Konzentration durch die zunehmende Vermischung während der Zirkulation in einen exponentiellen Abfall durch die hepatische Clearance über. Die Abbildung 15 zeigt den Verlauf der Anflutung des ICG-Farbstoffes, sowie dessen Bedeutung für die jeweilige Konzentration im Blut. Während es zunächst entsprechend dem injizierten Bolus an ICG-Farbstoff im Blut kommt (Abb. 15 links), so kommt es nach erfolgter Passage durch Herz und Lunge zu einer Umverteilung des Volumens (Abb. 15, Mitte). Nach Passage der Leber mit der hier erfolgenden Elimination kommt es anschließend zu einer Konzentrationsabnahme des ICG-Farbstoffes im Blut (Abb. 15, rechts).



**Abbildung 15.** Darstellung der ICG-Konzentration im Blutvolumen nach Injektion. Durch die verschiedenen pharmakodynamischen Abläufe kommt es zu unterschiedlichen Verteilungen in den verschiedenen Kompartimenten: links wird die lokale Konzentration nach Injektion in die Vene dargestellt, mittig wird die Verteilung im Blut nach Passage durch das Herz – und Lungensystem entsprechend einer Gauss'schen Verteilungskurve dargestellt. Rechts wird die Elimination durch die hepatische Passage gezeigt.

Bei der Bildgebung wird die Fluoreszenzintensität durch auf dem Monitor sichtbare Grauwerte repräsentiert, wobei helle Werte eine hohe Fluoreszenzintensität anzeigen. Die Quantifizierung des Blutflusses durch die Anastomose mit der ICG-Angiographie und dem FLOW 800 Tool erfolgt mit Hilfe des im Mikroskop integrierten Computersystems auf der Basis einer Grauwertanalyse. Die Grauwerte wurden in einer vorher festgelegten „Region of Interest“ (ROI) im Bereich der Gefäßabschnitte vor und hinter der Anastomose zeitabhängig gemessen. An die so gewonnene Messkurve wurden die verschiedenen Grauwerte bestimmt.

Die Auswertung der Fluoreszenzintensität für die Quantifizierung der Blutflusspassage durch die Anastomose erfolgte durch die maximale Fluoreszenzintensität in den einzelnen ROIs. Um eine Überlagerung durch die Restfluoreszenz der vorangegangenen ICG-Applikation zu vermeiden, wurde in dem entsprechenden ROI jeweils die Untergrundfluoreszenz von der maximalen Fluoreszenzintensität subtrahiert. Die so ermittelten Differenzen repräsentieren somit die relative Fluoreszenzintensität zum jeweiligen Messzeitpunkt.

Anschließend wurden die Flusskurven zum Grad der Stenosierung korreliert, um die Möglichkeit der non-invasiven, quantitativen und qualitativen Analyse und die Detektion der möglicherweise vorliegenden Stenose durch die Ableitung der FLOW<sup>®</sup> 800 Kurven zu prüfen. Diese Korrelation wurde durch eine Randomisierung der Versuche sowie einer Verblindung des Versuchsprotokolls in Bezug auf die Flusskurve erreicht. Nach entsprechender Beurteilung der Basisflusskurve und der verschiedenen abgeleiteten Flusskurven, bei denen eine Stenosierung vorlag, wurde eine mögliche Zuordnung vorgenommen und überprüft.

## **2.4 Statistische Methoden**

Zur Darstellung der Ergebnisse wurde die deskriptive Statistik verwendet. Die Sensitivität, Spezifität, der positiv prädiktive Wert und der negativ prädiktive Wert

wurden für beide Verfahren auf Basis der Referenzmessung anhand folgender Formeln berechnet:

### **Sensitivität**

$$P(\text{positiv erkannt}|\text{tatsächlich positiv}) = \frac{\text{Anzahl der richtig positiven}}{\text{Anzahl der richtig positiven} + \text{Anzahl der falsch negativen}}$$

### **Spezifität**

$$P(\text{negativ erkannt}|\text{tatsächlich negativ}) = \frac{\text{Anzahl der richtig negativen}}{\text{Anzahl der richtig negativen} + \text{Anzahl der falsch positiven}}$$

### **Relevanz (Wirksamkeit, positiver Vorhersagewert)**

$$P(\text{richtig positiv erkannt}|\text{positiv erkannt}) = \frac{\text{Anzahl der richtig positiven}}{\text{Anzahl der richtig positiven} + \text{Anzahl der falsch positiven}}$$

### **Segreganz (Trennfähigkeit, negativer Vorhersagewert)**

$$P(\text{richtig negativ erkannt}|\text{negativ erkannt}) = \frac{\text{Anzahl der richtig negativen}}{\text{Anzahl der richtig negativen} + \text{Anzahl der falsch negativen}}$$

Der  $\chi^2$ - und Fisher Exakt Test wurden verwendet, um die falsch positiven und falsch negativen Werte für den Mikro-Doppler und die ICG-Angiographie in Bezug auf die unterschiedlichen Stenosegrade miteinander zu vergleichen. Der  $\chi^2$ -Test wurde als globales Testverfahren verwendet, der Fisher Exakt Test wurde für den Vergleich der richtig positiven und richtig negativen Ergebnisse herangezogen. Die statistische Analyse für den  $\chi^2$ - und Fisher Exakt Test wurde mit StatXact an Hand einer Kreuztabelle durchgeführt (StatXact for Windows, version 5, Cytel Software Corporation, Cambridge, USA).

Die Werte der Fluoreszenzkurve, das erste und zweite Maximum, die Fläche unter der Kurve, die Steigung und das Gefälle des Fluoreszenzsignals, wurden quantitativ jeweils für die verschiedenen Stenosegrade mit Hilfe des Wilcoxon Tests evaluiert. Als Software wurde das "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS for Windows, release 18.0.0. 2010, SPSS Inc., Chicago, USA) verwendet. Abbildungen wurden mit Hilfe von SPSS erstellt.

In allen statistischen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von  $p < 0,05$  festgelegt, wobei alle p-Werte über diesem Wert als statistisch nicht signifikant, p-Werte kleiner als 0,05 hingegen als statistisch signifikant angesehen wurden. Das Konfidenzintervall wurde mit 95% angegeben.

### 3. ERGEBNISSE

#### 3.1 Eignungstest der ICG-Angiographie am Rattenmodell

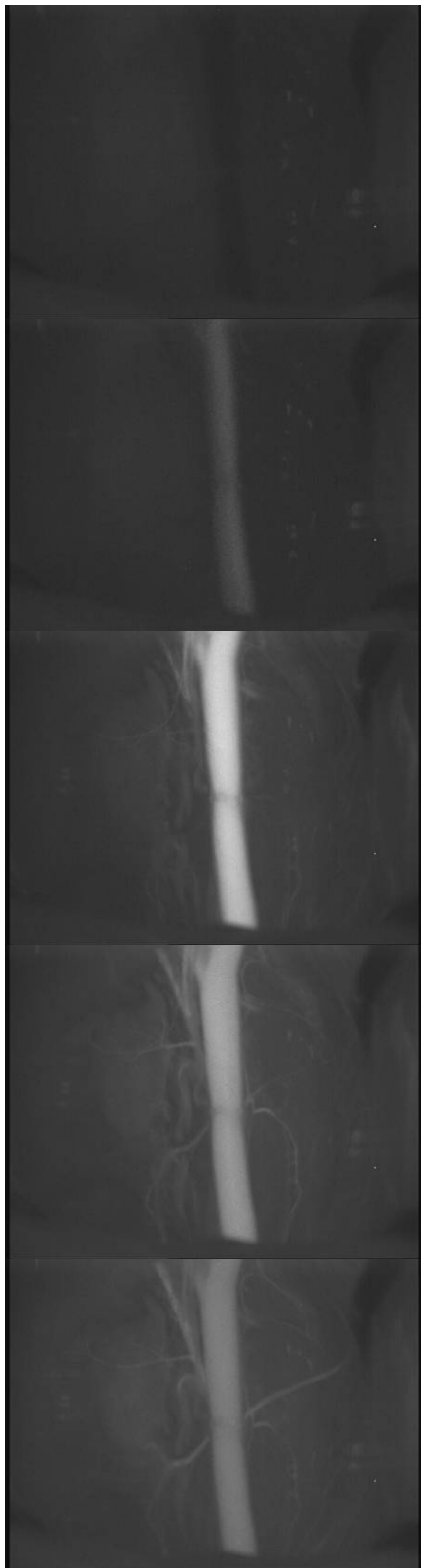


Abbildung 16. Darstellung der verschiedenen Phasen der ICG-Angiographie.

Voraussetzung für die Auswertung der Studie waren standardisierte Versuchsbedingungen sowie stabile hämodynamische Verhältnisse während des gesamten Versuchsablaufs. Zwischen den einzelnen Injektionen erfolgten Stabilisierungsphasen zum Zwecke der Analyse und der Dokumentation der aktuellen hämodynamischen Kreislauftsituation, um vergleichbare Ausgangsbedingungen für die verschiedenen Tests zu gewährleisten. Vor Injektionsbeginn wurden stabile Flusswerte in den Gefäßen sowie stabile hämodynamische Parameter hergestellt, die durch die Narkosesteuerung und das entsprechende Monitoring gewährleistet wurden. Mit der ICG-Angiographie erfolgte die Darstellung der Gefäßdurchblutung bei insgesamt drei Wistar-Ratten. Bei allen Tieren konnten die Mikrogefäße der A. und V. femoralis, der A. carotis und der Aorta einschließlich ihrer Seitenäste mit der ICG-Fluoreszenzangiographie auf dem Monitor dargestellt werden. Bereits ein bis drei Sekunden nach intravenöser ICG-Bolusgabe über den venösen Verweilkatheter in der rechten Leistenregion konnte ein schnell anflutendes Fluoreszenzsignal in dem Gefäß beobachtet werden (Abb. 16). Das arterielle Anfluten des ICG-Farbstoffes im Gefäßsystem ließ sich als helle Kontrastierung auf dunklem Untergrund darstellen. Im Anschluss daran konnte nach wenigen Sekunden eine diffuse Fluoreszenz in den umgebenden Geweben wie der Muskulatur, der

Haut oder dem Fettgewebe (Abb. 16) beobachtet werden. Diese diffuse Fluoreszenz im Kapillargebiet stellt einen Parameter für die bestehende Perfusion des Endstromgebietes dar. Nach weiteren 3 bis 10 Sekunden kam es zu einer Abschwächung der Fluoreszenzintensität im arteriellen Stromgebiet bei gleichzeitiger Zunahme der Fluoreszenz in den venösen Gefäßen. Somit konnte die chronologische Abfolge analog der konventionellen Angiographie dargestellt werden. Die diffuse Fluoreszenz im Anschluss an die arterielle Phase repräsentiert die Durchblutung des kapillären Endstromgebietes. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit des Fluoreszenzfarbstoffes war drei bis fünf Minuten nach ICG Applikation nur noch eine geringe Restfluoreszenz im Kapillarbett zu verzeichnen, die am ehesten durch die Präparationstraumata bedingt wurden. Dadurch wurde es möglich, den Fluoreszenzfarbstoff in kurzen Zeitintervallen mehrfach zu injizieren, ohne dass ein Qualitätsverlust der ICG-Angiographie und deren Beurteilbarkeit und Darstellung erfolgte.

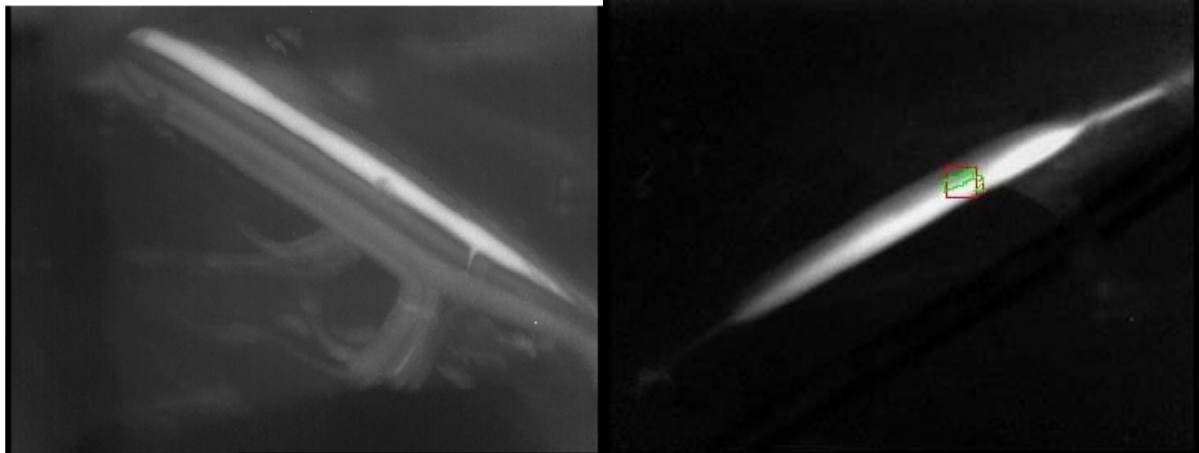
### **3.2 Bestimmung der Sensitivität und Spezifität**

Bei den verschiedenen Messungen und nach Herstellung der unterschiedlichen Stenosegraden wurden vor Injektionsbeginn stabile Flusswerte in den Gefäßen sowie stabile hämodynamische Parameter gewährleistet, die durch das kontinuierliche Monitoring kontrolliert wurden. Bei der Durchführung der Experimente zeigte sich bei drei Ratten ein permanent bestehendes Fluoreszenzsignal, welches auch nach prolongiertem Abwarten von mehr als 30 Minuten persistierte und nach diesem Zeitraum kein wesentliches Abschwächen des Fluoreszenzsignals festzustellen war. Der Grund für das permanente Signal (Hypothese der nicht erfolgten biliären Sekretion, fehlende Leberpassage o.Ä.) konnte im Rahmen der Experimente nicht festgestellt werden. Die Ratten wurden aus der Studie ausgeschlossen und im Rahmen der vorliegenden Studie keinen weiteren Experimenten unterzogen.

#### **3.2.1 ICG-Angiographie**

In den 25 weiteren verwendeten Wistar-Ratten zeigten sich keine Auffälligkeiten bezüglich der ICG-Angiographie. Der operative und technische Ablauf gestaltete sich problemlos, auch erwiesen sich das Pentero-Mikroskop und die Mikro-Doppler-

Sonographie als zuverlässig. An den 21 Ratten wurden insgesamt 68 Anastomosen erstellt und insgesamt jeweils 424 ICG-Angiographien und Mikro-Doppler-Untersuchungen durchgeführt. Die minimale Zeitspanne zwischen den verschiedenen Untersuchungen lag bei 10 Minuten.

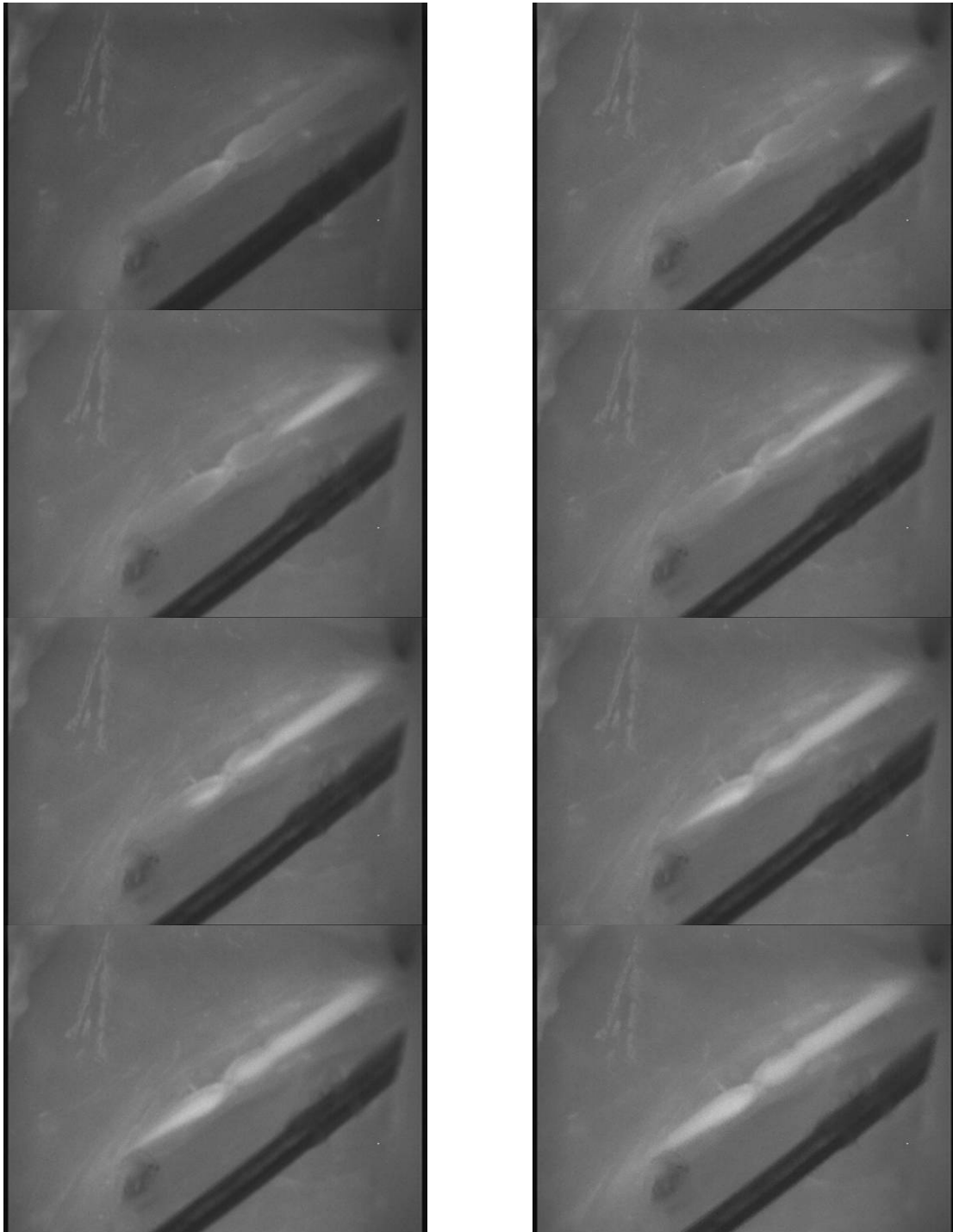


**Abbildung 17.** ICG-Angiographie der A. und V. femoralis der Ratte mit punktueller Flussausparung (links) durch eine Ligatur der A. iliaca circumflexa profunda femoris. Im rechten Bild zeigt sich ein Vasospasmus der A. femoralis im proximalen Anteil. Nach mikrochirurgischer Skelettierung des Gefäßes löste sich der Vasospasmus komplett.

Die Untersuchungen an den verschiedenen stenosierten Gefäßen und die korrespondierenden Ergebnisse sind in Tabelle 3 dargestellt. Insgesamt wurden 16 falsch negative Ergebnisse und kein falsch positives Ergebnis im Rahmen der ICG-Angiographie ermittelt. Bei 24 Untersuchungen zeigte sich bei den durchgeführten Stenosierungen trotz subtotaler Lumeneinengung ein fehlender Blutfluss, wovon 7 dieser Beobachtungen an 2 Anastomosen der V. femoralis bei einer 100% gegebenen Durchgängigkeit gemacht wurden. Nach der operativen Revision der Anastomose und der intraoperativen Inspektion zeigte sich zunächst eine Endothelläsion, die nicht suffizient beseitigt werden konnte. Die weiteren Untersuchungen zeigten analog eine erneute Thrombosierung ohne Korrelat für eine mechanische Einschränkung des Blutflusses. Nach erfolgter Evaluation der Anastomose wurden auf Grund der bestehenden Thrombosierung, und des ausbleibenden Erfolges bei der Beseitigung der zu Grunde liegenden Pathologie die weiteren Versuche mit höheren Stenosierungen des Anastomosenkomplexes nicht weiter durchgeführt. Die Perfusion der verschiedenen Anastomosen an den unterschiedlichen Regionen zeigte einen zeitlich und bildgebend sehr vergleichbaren Verlauf, auch wenn die Darstellung durch die ICG-Angiographie auch von dem Typ



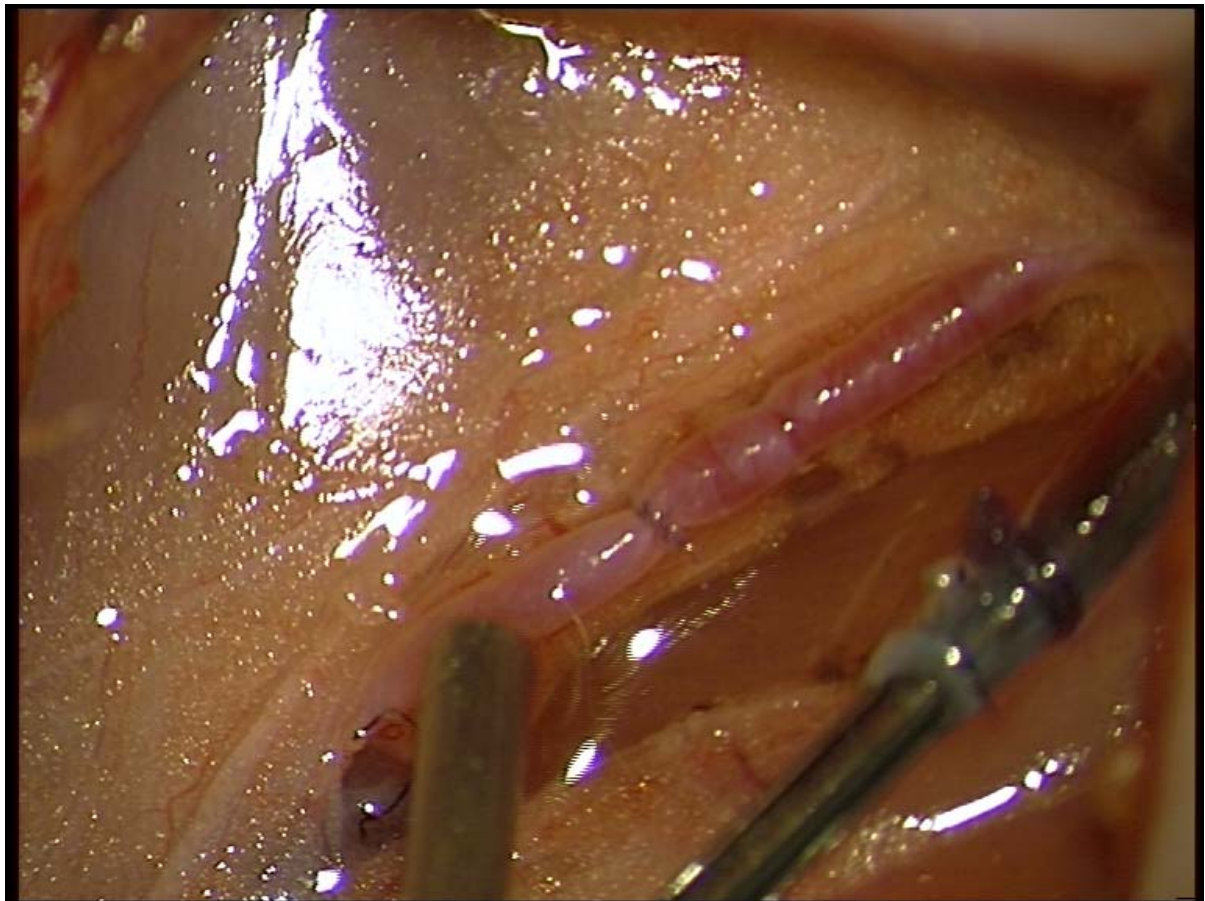
der Arterie und deren Durchmesser abhängig war. Bei der A. femoralis konnten auf Grund des geringen Durchmessers bereits sehr feine Flussstörungen durch die Ligatur umliegender Gefäßäste detektiert werden (Abb. 17,18), auch Gefäßspasmen wurden sehr deutlich dargestellt (Abb. 17).



**Abbildung 18.** ICG-Angiographie der A. femoralis der Ratte und sequentielle Darstellung des Fluoreszenzsignals. Die Abstände zwischen den Bildern entsprechen 0,25 Sekunden.

Auch bei höhergradigen Stenosen der Anastomose konnte der Blutfluss durch die

ICG-Angiographie gut dargestellt werden. Durch die rasche Anflutung des Fluoreszenzsignals konnte die Anastomose sowie die erzeugte Stenose sehr gut sichtbar gemacht werden. Das Flusssignal konnte problemlos durch die parallel erfolgte Aufzeichnung der Angiographie als Filmdatei mehrfach analysiert und sequentiell ausgewertet werden (Abb. 18). Die Angiographie ermöglichte auch die Darstellung von intravasalen Turbulenzen sowie von thrombotischen Anlagerungen von Blutbestandteilen an der Anastomose. Die Visualisierung durch die aufgezeichneten Videos konnte mehrfach wiederholt und dadurch bedingt genauer kontrolliert werden. Auch das Abspielen von Zeitlupenaufnahmen wurde durch das Computersystem ermöglicht.



**Abbildung 19.** Klinische Situation des unter Abb. 18 als ICG-Videoangiographie dargestellten Gefäßes.

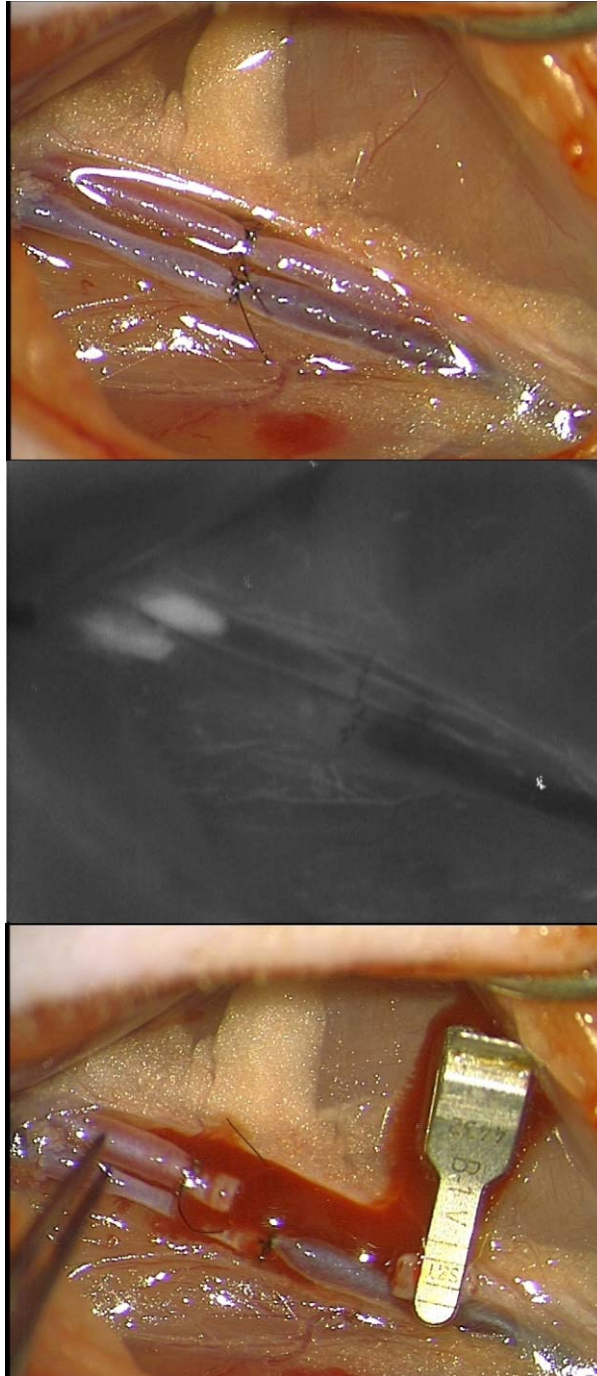
Die parallel zur angiographischen Darstellung ablaufende Aufzeichnung des klinischen Bildes zeigt neben der Echtzeitaufnahme den Vor- und Nachteil der alleinigen klinischen Kontrolle. Die zunehmende Stenosierung der Gefäße äußerte

sich in der zunehmenden pulssynchronen Bewegung in Flussrichtung der Anastomose, ein klassisches Zeichen für eine höhergradige Stenose (Abb. 19).

Auf Grund des durchgeführten Versuchsprotokolls und der Testung mit Hilfe des Mikro-Dopplers sowie der direkten Flussmessung durch den Milkman-Test und der direkten lagestabilen Durchtrennung distal der Anastomose konnten die in Tabelle 2 dargestellten Untersuchungsergebnisse ermittelt werden.

Tabelle 2. Darstellung der Untersuchungsergebnisse der ICG-Angiographie an Hand der verschiedenen Stenosierungen der Anastomosen.						
Stenosierungsrate [%]	Richtig negativ	Falsch positiv	Richtig positiv	Falsch negativ	Sensitivität [%]	Spezifität [%]
0	7	0	172	5	97,2	100
25	0	0	57	3	95	100
50	2	0	54	4	93,1	100
75	15	0	41	4	91,1	100
100	60	0	X	X	X	100
total	84	0	324	16	95,3	100

Aus diesen resultierte insbesondere bei höhergradiger Stenosierung im Bereich der Anastomose eine Zunahme der relativen falsch negativen Untersuchungsergebnisse. Klinisch konnte dies auf Grund der in Tabelle 1 dargestellten geringen Flusswerte nur unzureichend detektiert werden. Allerdings konnte durch den durchgeführten Milkman-Test ein falsch negatives Ergebnis bereits vermutet werden und unter Hinzunahme der Mikro-Doppler-Sonographie wurde dieser Verdacht weiter bekräftigt. Um eine endgültige und valide Beurteilung zu erhalten, wurde dann die Anastomose durchtrennt, was in Abbildung 20 zur Darstellung kommt. Somit lag die Spezifität für die ICG-Angiographie in dieser Studie insgesamt bei 100%, die Sensitivität bei 95,3%.



**Abbildung 20.** Darstellung eines falsch negativen Ergebnisses durch die ICG-Videoangiographie. Oben wird die klinische Situation bei einer Stenosierung der Anastomose von 50% illustriert, in der Mitte zeigt sich das korrespondierende ICG-Angiographiesignal. Nach positivem Milkman-Test sowie positivem Doppler-Signal wurde das Gefäß distal der Anastomose durchtrennt. Diese zeigt einen Blutfluss aus dem proximalen Anastomosenanteil (unten).

### 3.2.2 Mikro-Doppler-Sonographie

Die Dopplersonographische Untersuchung an den Gefäßen erfolgte in einen Winkel von ungefähr 40 – 60° gegen die Flussrichtung des Gefäßes. Es wurde zunächst eine Flusskurve als Referenzkurve des Gefäßes erstellt und entsprechend auf der integrierten Festplatte des DWL Smart Dop® gespeichert.

Die Flussrate innerhalb eines Gefäßes, entsprechend auch den Blutgefäßen, unterliegt physikalischen Gesetzen. So wird der Fluss innerhalb von starren Röhren durch das Hagen-Poiseuille Gesetz wie folgt beschrieben:

$$\dot{i} = \frac{\Delta p \cdot r^4 \cdot \pi}{8 \cdot \eta \cdot l}$$

wobei  $\dot{i}$  = Volumendurchfluss in ml/s,  $\Delta p$  ist die Differenz des Druckes zwischen Anfang und Ende des Rohres,  $r$  ist der Radius,  $\eta$  die Viskosität und  $l$  die Länge.

Die Durchflussrate in cm/s, auch als flow velocity bezeichnet, wird nach folgender Formel berechnet:

$$v = \frac{\dot{i}}{\pi \cdot r^2}$$

Ersetzt man nun  $\dot{i}$  durch das Hagen-Poiseuille Gesetz, so resultiert für die flow velocity die Formel

$$v = \frac{\Delta p \cdot r^2}{8 \cdot \eta \cdot l}$$

Mit Hilfe der flow velocity können nun Aussagen über den Durchfluss des Gefäßes gemacht und mit weiteren Analysen entsprechende Angaben zu intraluminalen

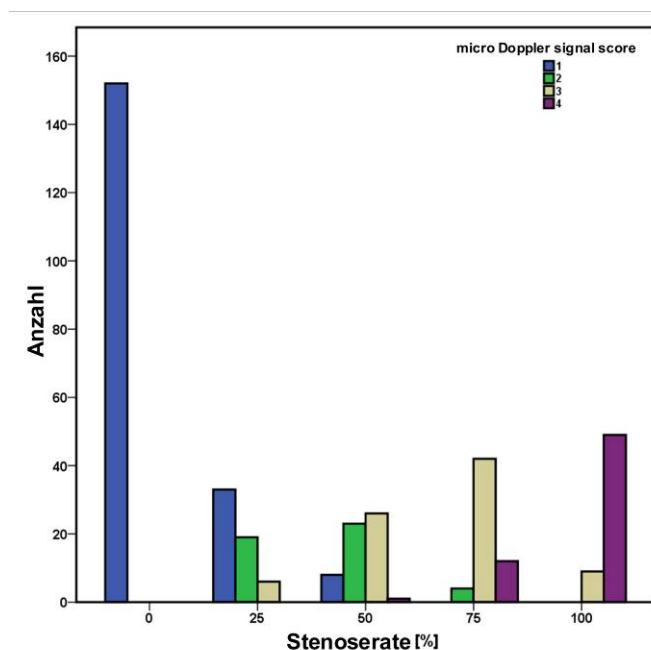
Strömungsverhältnissen gemacht werden.

Die Änderung der flow velocity wurde im Verhältnis des vorherigen Gefäßabschnittes berechnet. Im Bereich der Anastomose wurde die Durchflussrate vor und hinter der mikrochirurgischen Naht gemessen.

Die Änderung der flow velocity wurde mit der Formel

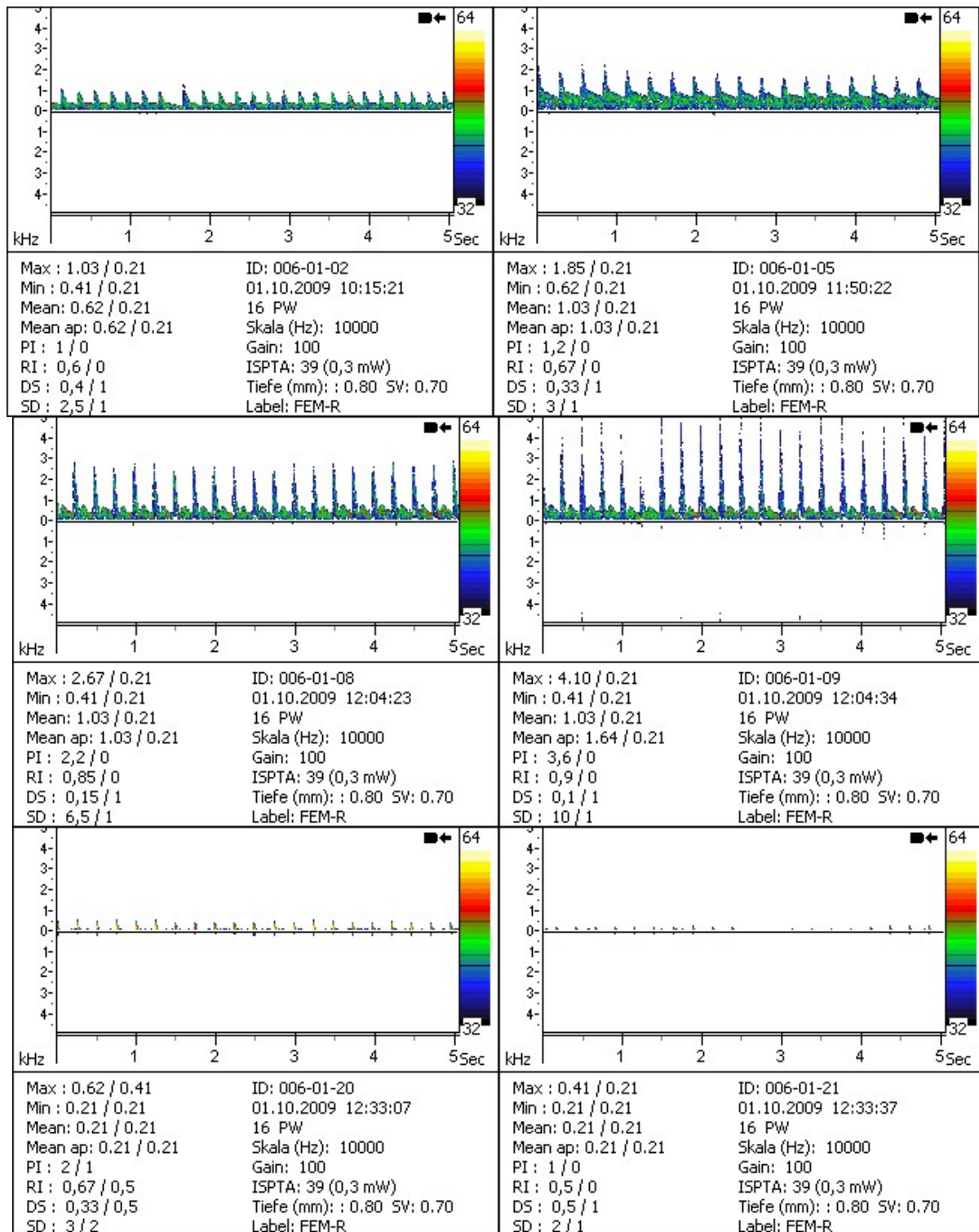
$$Q_{[\text{in } \%]} = \frac{V_{\text{distal}}}{V_{\text{proximal}}} \cdot 100$$

berechnet.



**Abbildung 21.** Beurteilung der Mikro-Doppler-Sonographie an Hand des intraoperativen Doppler-Signals korreliert mit den erzeugten Stenosegraden der Anastomosen.

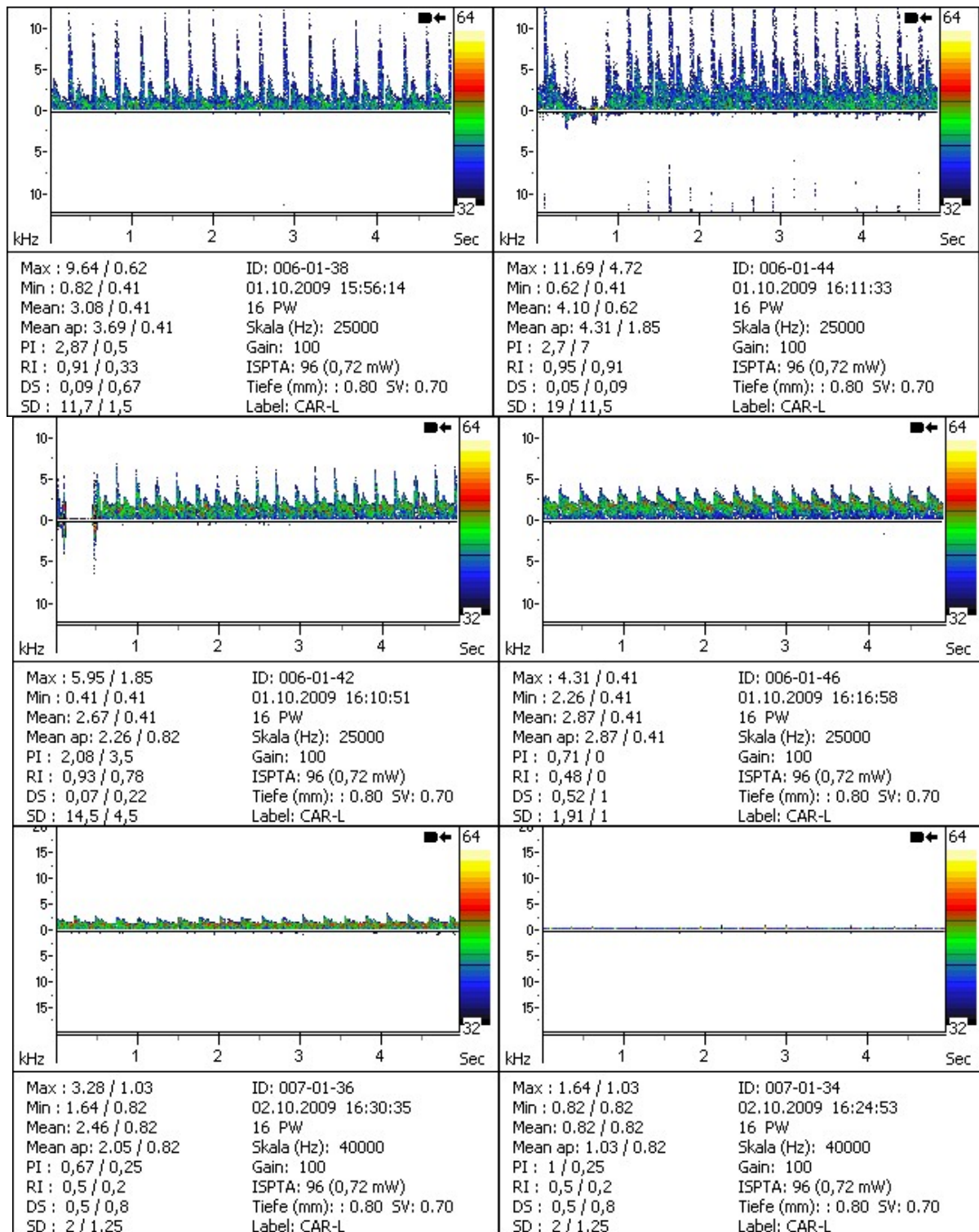
Auf dieser Basis wurde unter Berücksichtigung der jeweiligen Flussverhältnisse die oben näher erläuterte Einteilung in die zunehmend okkludierten Signale von 1 – 4 vorgenommen. Die unterschiedlichen Signale sind graphisch in Abb. 21 dargestellt.



**Abbildung 22.** Doppler-Kurven einer Anastomose mit zunehmender Stenosierung im Bereich der A. femoralis. Die obere Zeile zeigt die Basisaufnahme (links) und nach erfolgter Anastomosierung (rechts). Im mittleren Teil ist die Anastomose zu 25% (links) und 50% (rechts) stenosiert, im unteren Teil zu 75% (links) sowie zu 100% (rechts). Die Einstellungen des Dopplers sind unterhalb der Kurve protokolliert.

Mit zunehmender Stenosierung wiesen die Untersuchungen im Rahmen der

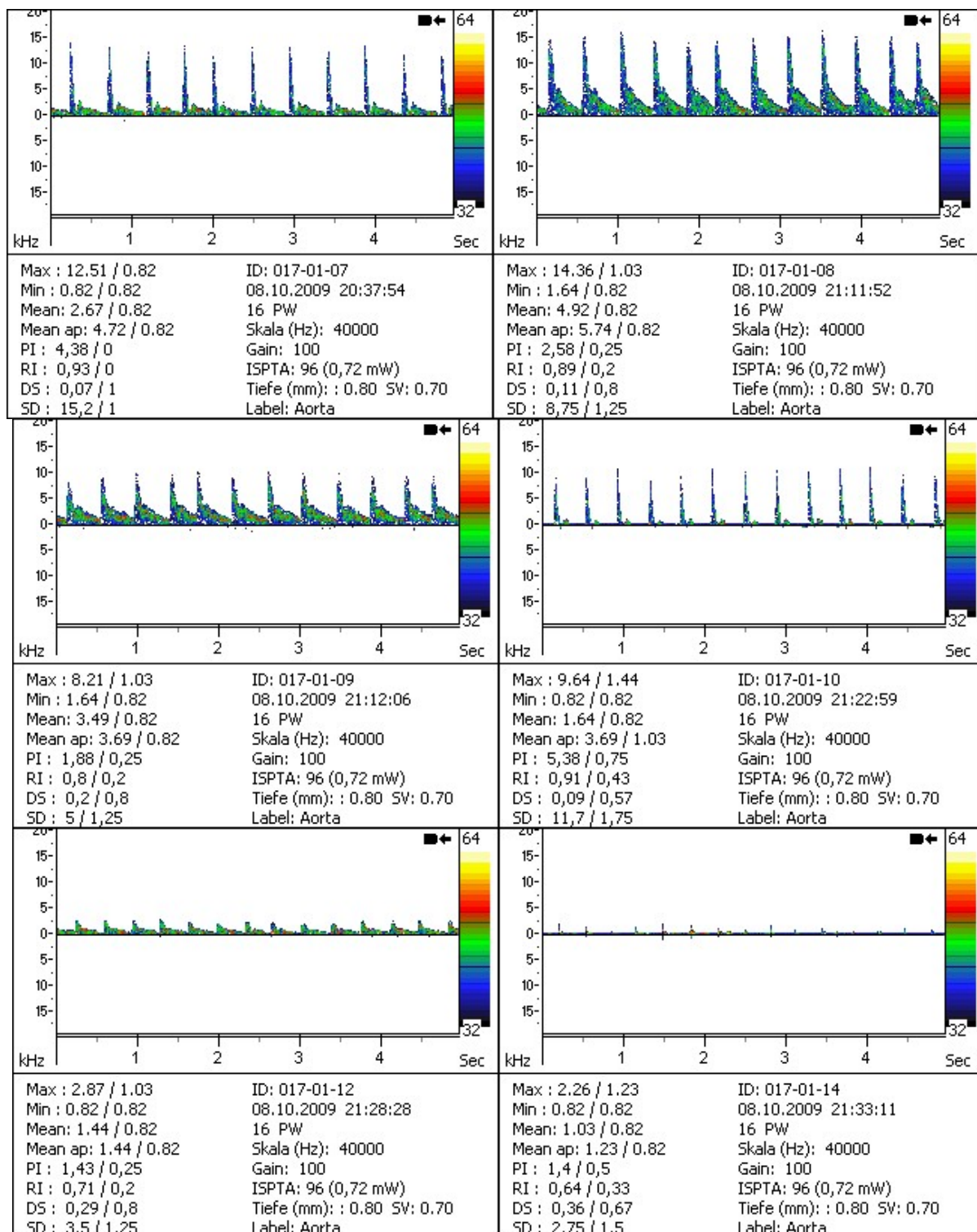
durchgeführten Mikro-Doppler-Sonographie eine zunehmend stärkere Veränderung des Flusssignals auf, welche sich jedoch sehr unterschiedlich präsentierte (Abb. 22-24).



**Abbildung 23.** Doppler-Kurven einer Anastomose mit zunehmender Stenosierung im Bereich der A. carotis communis. Die obere Zeile zeigt die Basisaufnahme (links) und nach erfolgter Anastomosierung (rechts). Im mittleren Teil ist die Anastomose zu 25% (links) und 50% (rechts) stenosiert, im unteren Teil zu 75% (links) sowie zu 100% (rechts).



Während es bei der fertig gestellten Anastomose immer zu einem regelrechten Doppler-Signal kam, zeigte sich bei einer Stenosierung von 25% nun ein zunehmend pathologisch verändertes Flusssignal in der Dopplerkurve (Abb. 22-24).



**Abbildung 24.** Doppler-Kurven einer Anastomose mit zunehmender Stenosierung im Bereich der Aorta. Die obere Zeile zeigt die Basisaufnahme (links) und nach erfolgter Anastomosierung (rechts). Im mittleren Teil ist die Anastomose zu 25% (links) und 50% (rechts) stenosiert, im unteren Teil zu 75% (links) sowie zu 100% (rechts).

Jedoch waren die meisten Dopplerkurven durch eine regelrechte Flusskurve gekennzeichnet. Bei einer Stenosierung von 50% kehrte sich dieses Bild allerdings um: Die Signale waren mehrheitlich von eingeschränkter Qualität, sodass auf eine deutliche Minderung des Blutflusses geschlossen werden konnte. Zwar ließ sich in einigen Fällen noch ein regelrechtes Doppler-Signal ermitteln, bzw. eines mit turbulenter Flusskurve, jedoch war bei der Stenosierung von 75% kein normales Signal mehr feststellbar. Zunehmend erwies sich das Signal des Mikro-Dopplers als pathologisch oder fehlend. Dieser Effekt wurde durch die komplette Okklusion der Anastomose verstärkt, wobei allerdings in einigen Fällen ein abnormes Signal dargestellt wurde. Allerdings hätte der Fluss sicher unterbunden werden können. Dieses Signal kam durch die Pulsation des Gefäßes selbst zustande, die jedoch in den meisten Fällen von einem Signal mit Flussanteilen diskriminiert werden konnte, da sich nur kleine und schmale peaks zeigten. Zusätzlich wurde das akustische Signal des Dopplers in die Beurteilung mit einbezogen, auch wenn dieses meist nur subjektiv beurteilbar war. In den nachfolgenden klinischen Kontrollen des Blutflusses durch den Milkman-Test und die Durchtrennung des distalen Anteils (Abb. 20) wurde in diesen Fällen der Fluss entsprechend verifiziert oder falsifiziert.

**Tabelle 3.** Darstellung der Untersuchungsergebnisse der Mikro-Doppler-Sonographie an Hand der verschiedenen Stenosierungen der Anastomosen.

Stenosierungsrate [%]	Richtig negativ	Falsch positiv	Richtig positiv	Falsch negativ	Sensitivität [%]	Spezifität [%]
0	7	0	177	0	100	100
25	0	0	60	0	100	X
50	2	0	58	0	100	100
75	13	2	45	0	100	86,7
100	51	9	X	X	X	85
total	73	11	340	0	100	86,9

Auf Grundlage der so gewonnenen Untersuchungsergebnisse zeigten sich die in Tabelle 3 dargestellten Resultate mit der entsprechenden Sensitivität und Spezifität. Da es nie zu einem falsch negativen Ergebnis kam, lag die Sensitivität des mikro-Dopplers immer bei 100%, während die Spezifität des Mikro-Dopplers dagegen

durch die zunehmend falsch positiven Ergebnisse bei Stenosierungen von 75% und 100% zu einer Reduktion derselben führte (Tabelle 3). Somit lag die Spezifität für den mikro-Doppler in dieser Studie insgesamt bei 86,9%, die Sensitivität bei 100%.

### 3.2.3 Vergleich der ICG-Angiographie mit der Mikro-Doppler-Sonographie

<b>Statistik</b>	<b>Ergebnis Doppler [%]</b>	<b>Ergebnis IR 800 [%]</b>
Sensitivität	100	95,3
Spezifität	86,9	100
Relevanz (positiver Vorhersagewert)	96,9	100
Segreganz (negativer Vorhersagewert)	100	84

**Abbildung 25.** Gegenüberstellung der Sensitivität, Spezifität, negativer und positiver prädiktiver Wert für beide Untersuchungsmethoden.

In der Gegenüberstellung der beiden Verfahren zeigt sich, bedingt durch die jeweiligen falsch positiven Werte bei höhergradigen Stenosierungen, ab 75% bei der Mikro-Doppler Sonographie sowie den falsch negativen Werten der ICG-Angiographie eine negative Beeinflussung des positiv prädiktiven Wertes von 96,9% beim mikro-Doppler, jedoch auch ein Einfluss auf den negativ prädiktiven Wert von 84% bei der ICG-Angiographie (Abb. 25). In der Analyse beider Verfahren mit dem  $\chi^2$ -Test bestand für beide Untersuchungsmethoden kein signifikanter Unterschied ( $p=0,7$ ) bezüglich der inkorrekten Detektion von Anastomosenfehlern bei Stenosierung oder komplett durchgängigem Gefäß. Auch aus dem Fisher exact Test resultierte kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden dargestellten Verfahren für diese Bezugsgröße ( $p=0,59$ ).

Im Vergleich der Reliabilität der beiden Verfahren ergab sich im  $\chi^2$ -Test ebenfalls kein signifikanter Unterschied ( $p=0,27$ ). Im Fisher exact Test zeigte sich zwar ein hinweisender Vorteil, letztlich aber keine Signifikanz bezüglich der ICG-Angiographie

(p=0,12).

### **3.3 Analyse der ICG-Angiographie zur intravaskulären Flussmessung**

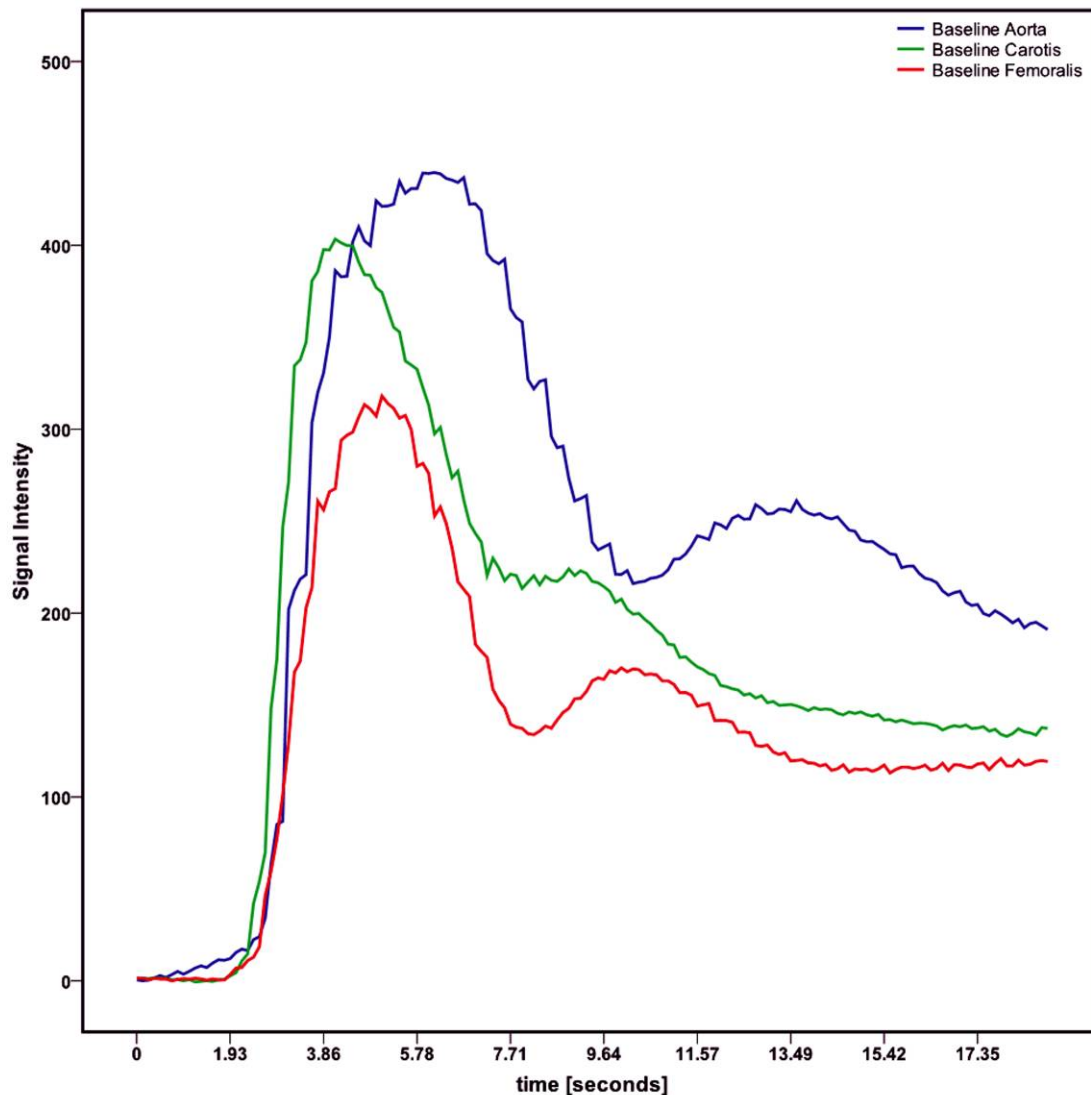
Die Analyse des zirkulierenden ICG-Farbstoffes im Blut erfolgte über die Anwendung der FLOW 800 Software, um die Intensität des Fluoreszenzfarbstoffes mit dem zirkulierenden Blutvolumen zu korrelieren. Da das Versuchstier während der Experimente ein konstantes Volumen und ein identisches intravasales und extravasales Flüssigkeitsvolumen aufwies, konnte ein Rückschluss auf die Menge des intravasalen Flusses gezogen werden. Die Formel für eine durch ein Medikament angereicherte Lösung lautet:

$$n = c1 * V1$$

Hierbei stellt n die Stoffmenge des applizierten Medikamentes, d.h. den ICG-Farbstoff, dar, c1 die Konzentration im Blut und V1 das entsprechende intravasale Blutvolumen. Da jedoch die konstant gleiche Stoffmenge n für die jeweilige Versuchsdurchführung verabreicht wurde, das Volumen und dadurch auch die korrespondierende Konzentration konstant blieb, können die Variablen der Gleichung als permanent angesehen werden. Durch diesen Umstand sind die gewonnenen Ergebnisse des jeweiligen emittierten Fluoreszenzsignals durch die ICG-Angiographie miteinander vergleichbar und können für quantitative Messungen verwendet werden. Um diese emittierten Fluoreszenzintensitäten statistisch verwenden zu können, wurden verschiedene Parameter der Kurve verwendet:

1. erstes Maximum
2. zweites Maximum
3. maximale Steigung bis zum ersten Peak
4. maximale Steigung bis zum zweiten Peak
5. maximale Abflutung
6. minimale Abflutung
7. Fläche unter der Kurve

Diese Messwerte wurden nach Korrektur des Hintergrundsignals entsprechend aufgearbeitet und als Messpunkte statistisch bestimmt. Die Basiswerte für die verschiedenen Gefäßtypen sind in Abb. 26 dargestellt.



**Abbildung 26.** Basiskurven der verschiedenen Gefäßlokalisationen mit dem emittierten Floureszenzsignal und den korrespondierenden Flusskurven. Durch die Leberpassage mit der Elimination des ICG-Farbstoffes kommt es zu einem zweiten, deutlich kleinerem Peak. Die Kurven sind auf Grundlage aller ICG-Flussbestimmungen an den Gefäßen zusammenfassend dargestellt.

Die vorliegenden Kurven wurden im Rahmen der Studie für die weitere Analyse zur Beurteilung der Anastomosenqualität als Bezugsgrößen herangezogen und entsprechend mit den verschiedenen Tests statistisch korreliert. Die Anastomose wies nach Anastomosierung in keinem Fall eine Reduktion des Blutflusses auf. Im Rahmen der statistischen Analyse konnte kein signifikanter Unterschied des Blutflusses festgestellt werden. Auf eine ausführliche Darstellung dieser Ergebnisse soll daher an dieser Stelle verzichtet werden.

### 3.3.1 Analyse der ICG-Angiographie – Aorta

Nach Auswertung aller 24 operierten Aorten wurden die Basismessaufnahmen entsprechend der Tabelle 4 ermittelt.

**Tabelle 4.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben sind die Ausgangswerte von mikrochirurgischer Intervention.

	Basiswerte			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	250,40	60,64	197,64	363,85
Area under the curve	26344,20	3845,16	22613,51	33429,64
Max. Steigung bis Peak	47,27	19,11	27,93	74,76
Zweites Maximum	147,41	53,22	104,09	239,38
Max Steigung bis zweitem Peak	8,24	7,77	1,91	26,86
Max Abflutung	-10,57	8,77	-27,93	-2,32
Min Abflutung	17,65	9,24	7,85	43,14

Nach Anastomosierung der Carotis zeigten sich die Werte in ähnlicher Weise wie in Tabelle 5 dargestellt.

**Tabelle 5.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach erfolgreicher Anastomosierung des Gefäßes.

	Anastomose			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	285,15	134,67	175,25	493,65
Area under the curve	29590,60	8914,78	21464,76	43795,25
Max. Steigung bis Peak	67,64	32,99	40,55	141,88
Zweites Maximum	168,86	81,45	100,95	301,94
Max Steigung bis zweitem Peak	10,47	10,72	1,83	36,59
Max Abflutung	-13,17	13,30	-36,59	-1,99
Min Abflutung	22,99	9,20	13,90	38,54

Die entsprechenden Werte bei einer Stenosierung der Anastomose um 25%, 50%,

75% und 100% sind in den Tabellen 6-9 dargestellt.

**Tabelle 6.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 25%.

	Anastomose 25% eingeengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	271,82	110,76	172,50	456,74
Area under the curve	30670,45	4358,37	25254,38	38468,22
Max. Steigung bis Peak	68,11	45,43	26,51	139,48
Zweites Maximum	193,28	71,49	128,65	322,07
Max Steigung bis zweitem Peak	12,32	10,96	3,23	34,84
Max Abflutung	-12,30	10,96	-34,84	-2,41
Min Abflutung	22,30	15,06	8,48	52,90

**Tabelle 7.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 50%.

	Anastomose 50% eingeengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	239,06	111,78	158,02	435,08
Area under the curve	24126,47	5300,63	19884,31	32723,69
Max. Steigung bis Peak	42,21	11,77	26,57	59,39
Zweites Maximum	144,69	56,93	100,44	240,27
Max Steigung bis zweitem Peak	10,95	12,09	2,62	39,50
Max Abflutung	-17,50	13,89	-54,81	-3,13
Min Abflutung	17,59	15,21	4,80	45,98

**Tabelle 8.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 75%.

	Anastomose 75% eingengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	153,40	93,01	74,23	301,27
Area under the curve	20826,00	7414,38	11523,17	32366,73
Max. Steigung bis Peak	21,00	13,30	7,07	50,00
Zweites Maximum	134,86	74,44	59,87	256,64
Max Steigung bis zweitem Peak	8,70	7,94	3,02	25,60
Max Abflutung	-11,04	9,75	-36,44	-2,20
Min Abflutung	11,14	7,82	2,13	29,03

**Tabelle 9.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 100%.

	Anastomose 100% eingengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	48,21	10,61	35,41	70,67
Area under the curve	5687,02	1682,71	3346,52	7938,00
Max. Steigung bis Peak	12,97	9,89	2,38	33,30
Zweites Maximum	46,64	10,75	33,89	70,67
Max Steigung bis zweitem Peak	10,62	8,11	2,41	28,13
Max Abflutung	-11,06	8,90	-28,13	,00
Min Abflutung	11,44	9,39	,00	29,85

Auf die statistische Analyse der verschiedenen Werte in Korrelation mit den unterschiedlichen Stenosierungsgraden soll an dieser Stelle noch nicht eingegangen werden. Diese Analyse wird zu einem späteren Zeitpunkt dargestellt.



### 3.3.2 Analyse der ICG-Angiographie – Carotis

Nach Auswertung aller 50 operierten Carotisarterien wurden die Basismessaufnahmen entsprechend der Tabelle 10 ermittelt.

**Tabelle 10.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben sind die Ausgangswerte vor mikrochirurgischer Intervention.

	Basiswerte			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	367,30	175,93	83,32	575,81
Area under the curve	18954,05	8994,24	2738,05	34611,62
Max. Steigung bis Peak	86,84	50,51	7,73	171,75
Zweites Maximum	252,06	85,96	121,71	365,10
Max Steigung bis zweitem Peak	17,78	10,54	4,67	36,60
Max Abflutung	-17,42	14,35	-48,95	-2,45
Min Abflutung	22,77	10,57	2,45	47,33

Nach erfolgter Anastomose der Aorta zeigten sich die Werte in Tabelle 11 in ähnlicher Weise im Vergleich zu den Basisaufnahmen. Es fällt jedoch auf, dass sich einige Werte etwas stärker verändert haben als dies bei der Aorta der Fall war.

**Tabelle 11.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach erfolgreicher Anastomosierung des Gefäßes.

	Anastomose			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	302,68	183,18	78,87	619,80
Area under the curve	16968,98	8255,77	4411,19	37740,69
Max. Steigung bis Peak	57,41	34,75	-2,05	135,62
Zweites Maximum	195,87	90,09	83,78	364,13
Max Steigung bis zweitem Peak	12,08	9,23	1,62	38,77
Max Abflutung	-11,99	8,00	-42,32	-1,85
Min Abflutung	20,52	13,74	2,66	56,34

Die entsprechenden Ergebnisse der jeweiligen Flusswerte bei einer Stenosierung der Anastomose um 25%, 50%, 75% und 100% sind in den Tabellen 12-15 dargestellt.

**Tabelle 12.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 25%.

	Anastomose 25% eingengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	270,69	167,36	75,93	613,29
Area under the curve	14979,74	6327,01	5013,93	27460,25
Max. Steigung bis Peak	44,84	33,96	-2,00	117,70
Zweites Maximum	160,85	60,79	53,94	267,19
Max Steigung bis zweitem Peak	8,75	7,59	1,69	30,76
Max Abflutung	-12,28	11,50	-58,81	-,21
Min Abflutung	19,42	13,19	1,43	51,95

**Tabelle 13.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 50%.

	Anastomose 50% stenosierte			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	235,64	146,95	65,29	549,64
Area under the curve	12945,46	5896,84	3417,29	29955,86
Max. Steigung bis Peak	40,32	26,75	2,76	98,93
Zweites Maximum	152,49	58,22	72,22	243,45
Max Steigung bis zweitem Peak	6,54	5,80	-,16	20,88
Max Abflutung	-13,10	10,66	-51,66	-,29
Min Abflutung	16,21	10,02	,68	35,94

**Tabelle 14.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 75%.

	Anastomose 75% stenosiert			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	149,48	98,30	28,43	464,55
Area under the curve	7387,85	3537,98	1090,49	16930,88
Max. Steigung bis Peak	29,29	29,01	,34	131,24
Zweites Maximum	107,23	46,06	28,43	193,58
Max Steigung bis zweitem Peak	12,80	14,51	,44	58,85
Max Abflutung	-14,79	10,82	-55,12	-,96
Min Abflutung	12,84	11,26	-,39	53,82

**Tabelle 15.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 100%.

	Anastomose 100% stenosiert			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	32,60	12,65	10,20	60,29
Area under the curve	1619,38	1154,52	234,42	4292,66
Max. Steigung bis Peak	12,14	9,82	,12	37,25
Zweites Maximum	29,22	13,81	10,20	54,15
Max Steigung bis zweitem Peak	7,18	6,18	1,80	22,68
Max Abflutung	-9,08	7,89	-34,82	,00
Min Abflutung	9,23	8,92	-5,51	31,61

### 3.3.2 Analyse der ICG-Angiographie – Femoralis

Nach Auswertung aller 22 operierten Femoralisarterien wurden die Basismessaufnahmen entsprechend der Tabelle 16 ermittelt.

**Tabelle 16.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben sind die Ausgangswerte vor mikrochirurgischer Intervention.

	Basiswerte			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	202,63	139,68	84,10	449,11
Area under the curve	20167,86	10623,43	7765,66	37690,48
Max. Steigung bis Peak	44,37	27,76	13,42	98,59
Zweites Maximum	151,37	80,11	73,06	294,57
Max Steigung bis zweitem Peak	8,81	7,00	1,86	23,72
Max Abflutung	-8,46	4,33	-17,17	-2,37
Min Abflutung	16,81	10,34	3,96	38,99

Nach erfolgter Anastomose der Femoralarterie zeigten sich die Werte in Tabelle 17 in ähnlicher Weise im Vergleich zu den Basisaufnahmen. Es wurde deutlich, dass der Fluss hier etwas stärker war als vor Anastomosierung.

**Tabelle 17.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach erfolgreicher Anastomosierung des Gefäßes.

	Anastomose			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	253,49	141,42	117,66	596,02
Area under the curve	24312,84	8950,45	11778,30	38570,90
Max. Steigung bis Peak	39,03	29,79	8,57	109,54
Zweites Maximum	221,61	84,29	114,42	403,02
Max Steigung bis zweitem Peak	8,48	6,50	2,57	30,52
Max Abflutung	-8,50	6,47	-24,55	-2,73
Min Abflutung	15,63	11,23	4,65	43,45

Die entsprechenden Ergebnisse der jeweiligen Flusswerte bei einer Stenosierung der Anastomose um 25%, 50%, 75% und 100% sind in den Tabellen 18-21 dargestellt.

**Tabelle 18.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 25%.

	Anastomose 25% eingeengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	214,85	132,98	113,35	541,39
Area under the curve	20617,39	8674,85	10931,82	40208,88
Max. Steigung bis Peak	28,42	24,03	6,05	73,11
Zweites Maximum	174,43	69,89	102,86	304,73
Max Steigung bis zweitem Peak	8,18	6,40	2,17	29,93
Max Abflutung	-8,06	5,20	-18,33	-2,34
Min Abflutung	13,61	8,71	2,70	30,09

**Tabelle 19.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 50%.

	Anastomose 50% eingeengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	176,35	70,19	86,91	344,39
Area under the curve	18710,51	8483,33	8510,07	37624,52
Max. Steigung bis Peak	28,76	29,97	3,99	98,93
Zweites Maximum	160,07	55,44	70,10	270,83
Max Steigung bis zweitem Peak	6,27	3,55	2,01	16,12
Max Abflutung	-7,11	4,28	-15,49	-1,45
Min Abflutung	10,81	8,06	2,06	29,29

**Tabelle 20.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 75%.

	Anastomose 75% eingengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	102,75	36,97	39,54	148,96
Area under the curve	9078,42	4889,59	1740,39	19928,67
Max. Steigung bis Peak	11,63	5,95	2,26	23,89
Zweites Maximum	88,00	37,95	13,09	141,85
Max Steigung bis zweitem Peak	8,41	6,79	1,25	20,27
Max Abflutung	-7,43	6,16	-19,84	-1,07
Min Abflutung	6,72	4,82	,81	16,71

**Tabelle 21.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 100%.

	Anastomose 100% eingengt			
	Mittelwert	Standardabweichung	Minimum	Maximum
Maximum	30,91	11,46	10,21	54,94
Area under the curve	2827,77	2145,96	644,49	7818,56
Max. Steigung bis Peak	5,62	5,22	,98	15,41
Zweites Maximum	23,71	9,89	5,80	40,39
Max Steigung bis zweitem Peak	5,95	6,05	,66	18,14
Max Abflutung	-7,83	10,25	-34,83	-,83
Min Abflutung	6,95	9,28	,69	31,25

### 3.4 Statistische Analyse des emittierten ICG-Angiographie-Signals

Bei der statistischen Analyse wurde die fertig gestellte Anastomose als statistischer Referenzwert zu Grunde gelegt, um die stenosierten Anastomosen zu vergleichen. Als Test wurde der Wilcoxon-Test verwendet, um mögliche signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Werten festzustellen.

#### 3.4.1 Alle Gefäße

Zunächst wurden alle 576 Untersuchungen zusammengefasst, um festzustellen, ob ein genereller Unterschied zwischen den einzelnen Anastomosen an den drei verschiedenen Gefäßen besteht. Daher wurden zunächst alle 96 Anastomosen mit den unterschiedlichen Stenosierungen statistisch evaluiert.

<b>Tabelle 22.</b> Analyse der Variablen mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose.					
<b>Gefäß</b>	<b>Gefäßstenosierung</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>
	<b>Variable</b>	<b>p value</b>			
<b>Alle</b>	Area under the curve	0,002 *	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Maximum	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Zweites Maximum	0,017 *	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis Peak	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis zweitem Peak	0,682	0,009 *	0,331	0,021 *
	Max. Abflutung	0,621	0,054	0,375	0,006 *
	* Werte signifikant $p < 0.05$				

Als besonders interessante Variable (Tabelle 22) in der statistischen Analyse zeigten sich die Area under the curve, welche bereits im Unterschied zur fertig gestellten Anastomose in allen nachfolgenden Stenosierungen einen statistisch signifikanten Unterschied aufwies. Daneben zeigten sich das erste und zweite Maximum, sowie die Steigung bis zum ersten Maximum als statistisch signifikante Variablen bei allen verschiedenen Stenosierungen des Anastomosenkomplexes. Die Steigung bis zum zweiten Peak war nur bei einer Stenosierung von 50 und 100% signifikant, die Abflutung dagegen nur bei 100%, so dass diese Variablen scheinbar nicht zur

Diskriminierung von Gefäßstenosen geeignet sind.

### 3.4.2 Aorta

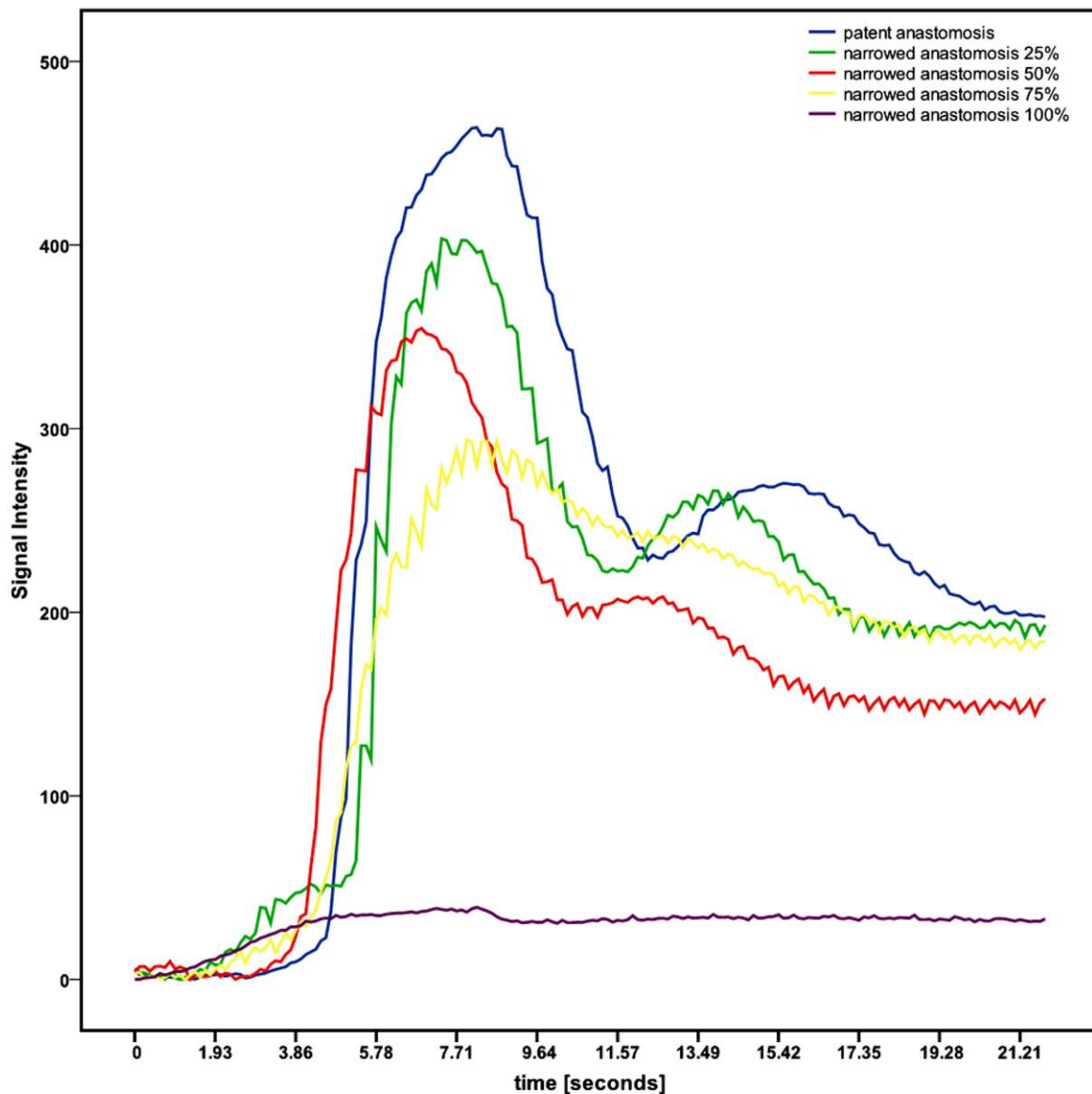
Die statistischen Werte für die verschiedenen Testergebnisse für die Aorta sind in Tabelle 23 dargestellt. Hier zeigt sich zwar ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Basiswerten und der 25% Stenosierung beim zweiten Maximum und der Steigung bis zum zweiten Maximum, jedoch sind die weiteren Werte zwischen dieser Kategorie nicht signifikant unterschiedlich.

<b>Tabelle 23.</b> Analyse der Variablen der Aorta mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose.					
<b>Gefäß</b>	<b>Gefäßstenosierung</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>
<b>Aorta</b>	<b>Variable</b>	<b>p-value</b>			
	Area under the curve	0,863	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Maximum	0,168	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Zweites Maximum	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis Peak	0,39	0,002 *	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis zweitem Peak	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Abflutung	0,474	0,001 *	0,01 *	0,015 *
* Werte signifikant p < 0.05					

Allerdings zeigen sich hochsignifikante Werte zwischen den verschiedenen Stenosierungen, insbesondere ab 50% Einengung des Anastomosenkomplexes, bei der Area under the curve, dem ersten und zweiten Maximum und der maximalen Steigung bis zum zweiten Peak. Des Weiteren sind jedoch auch die maximale Steigung bis zum ersten Peak sowie die Abflutung ab einer Stenosierung von 50% signifikant unterschiedlich (Tabelle 23).

Die verschiedenen Flusskurven für die Aorta korrespondierend zu den verschiedenen Stenosierungen sind in Abbildung 27 dargestellt. Hier lässt sich eine Veränderung der Flusskurven durch die unterschiedliche Anastomoseneinengung erkennen.





**Abbildung 27.** Flusskurven der Aorta mit den verschiedenen Stenosierungen. Durch die verschiedenen Grade der Lumeneinengung kommt es zu einer Veränderung der Kurvenkonfiguration des Fluoreszenzsignals, welches sich im vorliegenden Bild typisch darstellt.

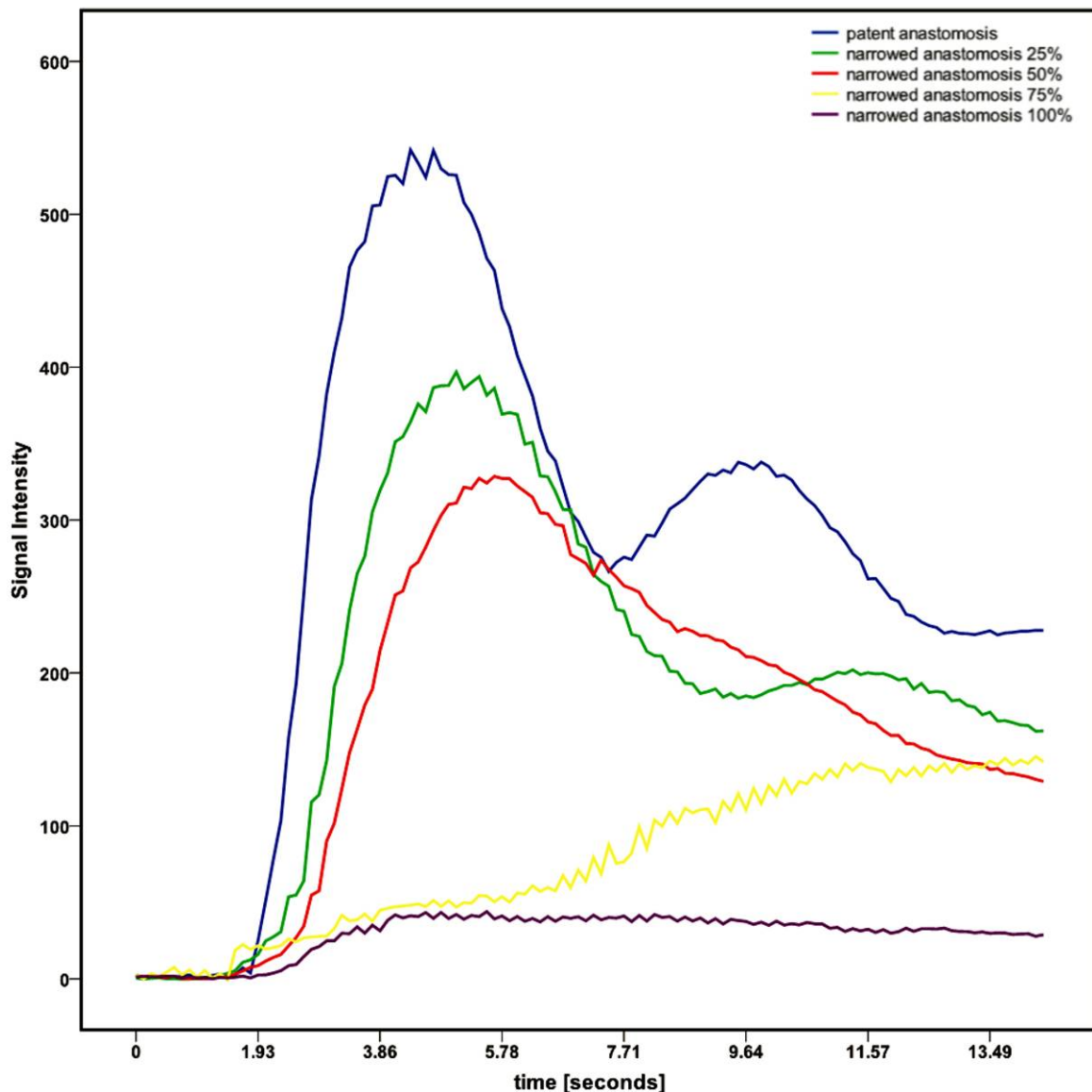
Die Veränderungen der Flusskurven ergaben sich insbesondere durch die Reduktion des Maximums sowie einer Reduzierung der Anstiegsgeschwindigkeit des Fluoreszenzsignals. Zusätzlich flutete das Signal weniger schnell ab und ging stärker in den zweiten Peak über, was insbesondere bei einer Stenose der Anastomose von 75% stark auffällt. Der Anteil der Flusskurve hinter dem ersten Peak wurde dadurch flacher, und das zweite Maximum konnte weniger abgegrenzt werden (Abb. 27).

### 3.4.3 A. Carotis

Die statistischen Ergebnisse des Wilcoxon-Tests für die A. carotis sind in Tabelle 24 dargestellt. Hier zeigen sich bei der Area under the curve, beim ersten und zweiten Maximum und der Steigung bis zum ersten Maximum hochsignifikante Werte in den Unterschieden zur genähten Anastomose. Auch die Steigung bis zum zweiten Maximum zeigt ab einer Einengung von 50% signifikante Werte. Die Abflutung hingegen zeigt kein Signifikanzniveau.

<b>Tabelle 24.</b> Analyse der Variablen der A. carotis mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose.					
<b>Gefäß</b>	<b>Gefäßstenosierung</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>
<b>Carotis</b>	<b>Variable</b>	<b>p-value</b>			
	Area under the curve	0,001 *	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Maximum	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Zweites Maximum	0,001 *	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis Peak	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis zweitem Peak	0,059	0,004 *	0,001 *	0,006 *
	Max. Abflutung	0,897	0,495	0,209	0,079
* Werte signifikant p < 0.05					

Die Flusskurven für die verschiedenen Stenosierungen der Anastomose sind in Abbildung 28 dargestellt. Die statistisch ermittelten Werte lassen sich anhand der dargestellten Kurve gut nachvollziehen:



**Abbildung 28.** Flusskurven der A. carotis mit den verschiedenen Stenosierungen. Durch die verschiedenen Grade der Lumeneinengung kommt es zu einer Veränderung der Kurvenkonfiguration des Flusssignals, ähnlich wie an der Aorta, jedoch deutlicher ausgeprägt. Der zweite Peak flacht mit zunehmender Lumeneinengung stärker ab, ein Anstieg nach dem ersten Maximum ist ab einer Stenosierung von 50% nicht mehr zu erkennen.

Das Maximum zeigt deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Flusskurven, auch die Steigung zum ersten Maximum ist deutlich unterschiedlich. Die Area under the curve weist durch die Konfiguration der Flusskurve starke Unterschiede auf, ebenso die Steigung bis zum zweiten Peak, die sich durch den Übergang zwischen dem ersten und zweiten Maximum als zunehmend flacher Kurvenanteil ohne die typische Talkurve darstellt. Das zweite Maximum ist deutlich abgeflacht und wird mit

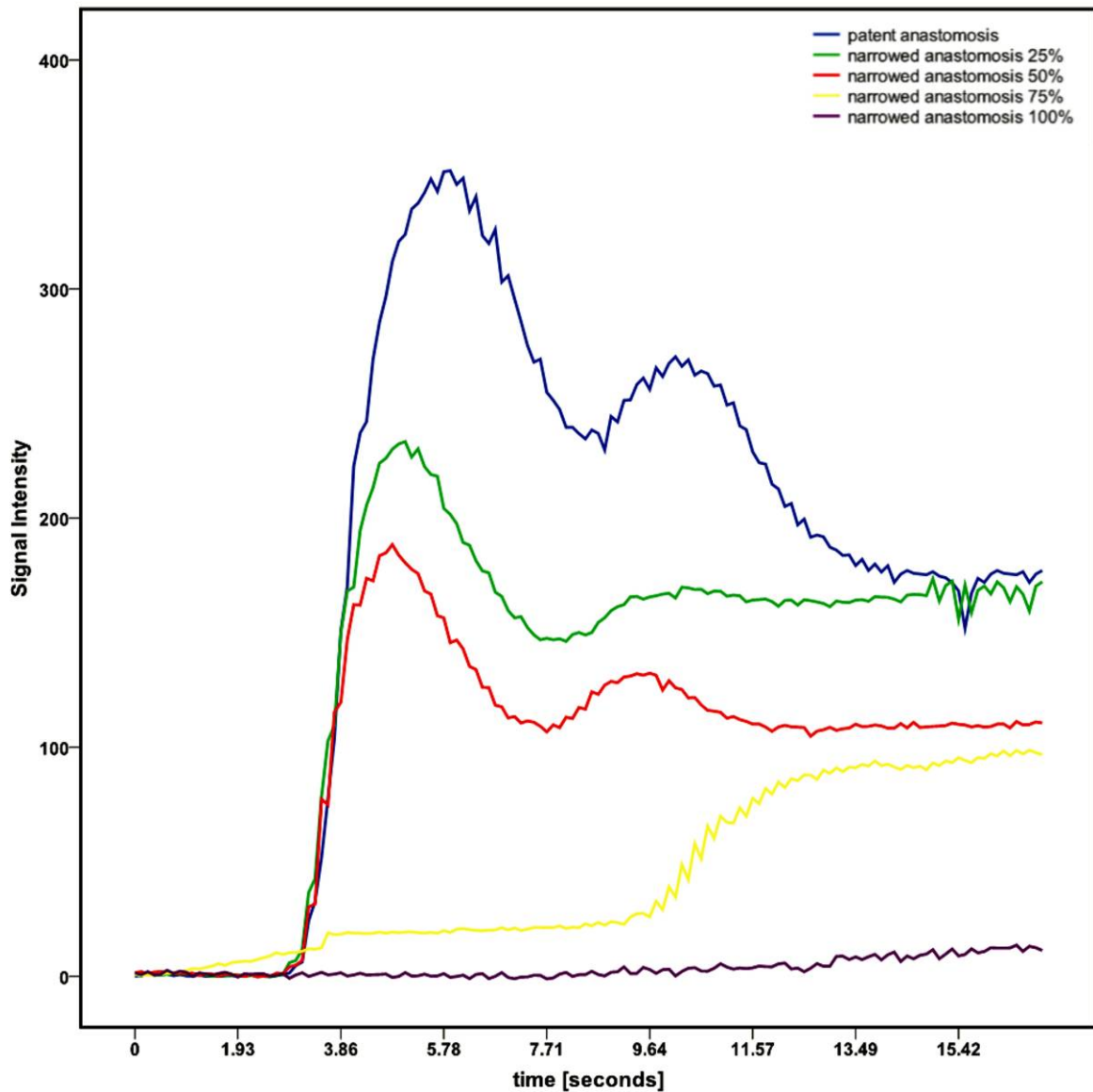
steigender Einengung der Anastomose zunehmend schlechter abgrenzbar.

### 3.4.4 A. Femoralis

Die statistischen Ergebnisse des Wilcoxon-Tests für die A. femoralis sind in Tabelle 25 dargestellt. Hier zeigen sich im Vergleich zur genähten Anastomose die Area under the curve, das erste und zweite Maximum und die Steigung bis zum ersten Maximum hochsignifikant unterschiedlich. Die Steigung bis zum zweiten Maximum und die Abflutung bleiben ohne Signifikanzniveau. Diese Ergebnisse differieren also von den bisherigen statistisch ermittelten Signifikanzen bei der Aorta und A. carotis.

<b>Tabelle 25.</b> Analyse der Variablen der A. femoralis mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose.					
<b>Gefäß</b>	<b>Gefäßstenosierung</b>	<b>25%</b>	<b>50%</b>	<b>75%</b>	<b>100%</b>
<b>Femoralis</b>	<b>Variable</b>	<b>p-value</b>			
	Area under the curve	0,001*	0,001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Maximum	< 0,0001*	0,001 *	< 0,0001*	< 0,0001*
	Zweites Maximum	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*	< 0,0001*
	Max. Steigung bis Peak	0,006 *	0,003 *	0,001 *	< 0,0001*
	Max. Steigung bis zweitem Peak	0,527	0,14	0,808	0,062
	Max. Abflutung	1,0	0,615	0,2	0,465
* Werte signifikant p < 0.05					

Unter Berücksichtigung der Flusskurven der Femoralarterie sind diese Unterschiede jedoch nachvollziehbar. Das erste und zweite Maximum zeigen einen deutlichen Unterschied zwischen den einzelnen Flusskurven, ebenso wie die Area under the curve (Abb. 29). Während sich bei der Steigung bis zum ersten Maximum noch statistisch signifikante Unterschiede feststellen lassen, ist der Übergang zwischen dem ersten und zweiten Maximum in der Kurvenkonfiguration nicht stark ausgeprägt. Dies stellt auch die statistische Analyse dar (Tab. 25).



**Abbildung 29.** Flusskurven der A. femoralis mit den verschiedenen Stenosierungen. Die Lumeneinengung wirkt sich etwas anders aus als bei der Aorta oder Carotis. Das Maximum der Flusskurve ist stärker betroffen als der Übergang zwischen erstem und zweitem Maximum der Kurve.

Nachfolgend soll auf diese Unterschiede der Flusskurven in den verschiedenen Gefäßen und deren Bedeutung für die Interpretationsmöglichkeit eingegangen werden.

### **3.5 Lineare Regressionsanalyse**

Um eine gültige Aussage über die verschiedene Kombination von Messparametern der unterschiedlichen Flusskurven treffen zu können, soll eine lineare Regressionsanalyse vorgenommen werden. Diese soll dazu dienen, dass unter Berücksichtigung der verschiedenen Variablen eine hohe Vorhersagbarkeit der Flusskompromittierung, unabhängig vom vorliegenden Gefäßtyp erreicht werden kann.

Die in dieser Arbeit ausgewählten Gefäße stellen verschiedene Gefäßtypen dar:

1. zentrale Arterie, gekennzeichnet durch einen hohen Blutfluss und geringen Gefäßwiderstand (Aorta)
2. zentrale Arterie, gekennzeichnet durch einen hohen Blutfluss und mittleren Gefäßwiderstand (Carotis)
3. muskuläre Arterie, gekennzeichnet durch einen fakultativ hohen Blutfluss, der durch Spasmen der Media kompromittiert werden kann, d.h. hoher Gefäßwiderstand (Femoralis).

#### **3.5.1 Variablen zum Einschluss in die lineare Regressionsanalyse**

Die verschiedenen Variablen sind in der Übersicht in den nachfolgenden Abbildungen dargestellt. Die Area under the curve (Abb. 30) wird für die verschiedenen Gefäße in der Gegenüberstellung gezeigt.

Die verschiedenen Werte für die unterschiedlichen Lumeneinengungen werden anhand des Fehlerbalkendiagramms verdeutlicht und spiegeln die unterschiedlichen Flusskurven wider. Insbesondere bei der Femoralarterie zeigt sich der eher flache Kurvenverlauf durch hohe Werte in diesem Diagramm. Dagegen ist der Blutfluss in der A. carotis zwar durch ein ebenso hohes Volumen gekennzeichnet, durch den hohen Durchfluss ist das emittierte Flusssignal in seiner Summe jedoch geringer, da es schnell wieder zu einer Elimination aus dem Gefäß kommt. Die Aorta ist analog der Carotisarterie durch einen hohen Blutfluss gekennzeichnet, durch den hohen Umsatz liegen die Werte für die Area under the curve daher höher (Abb. 31). Die Darstellung der Fehlerbalken macht auch deutlich, dass die Unterschiede bis auf den Wert der Aorta von 0% und 25% alle hochsignifikant sind.

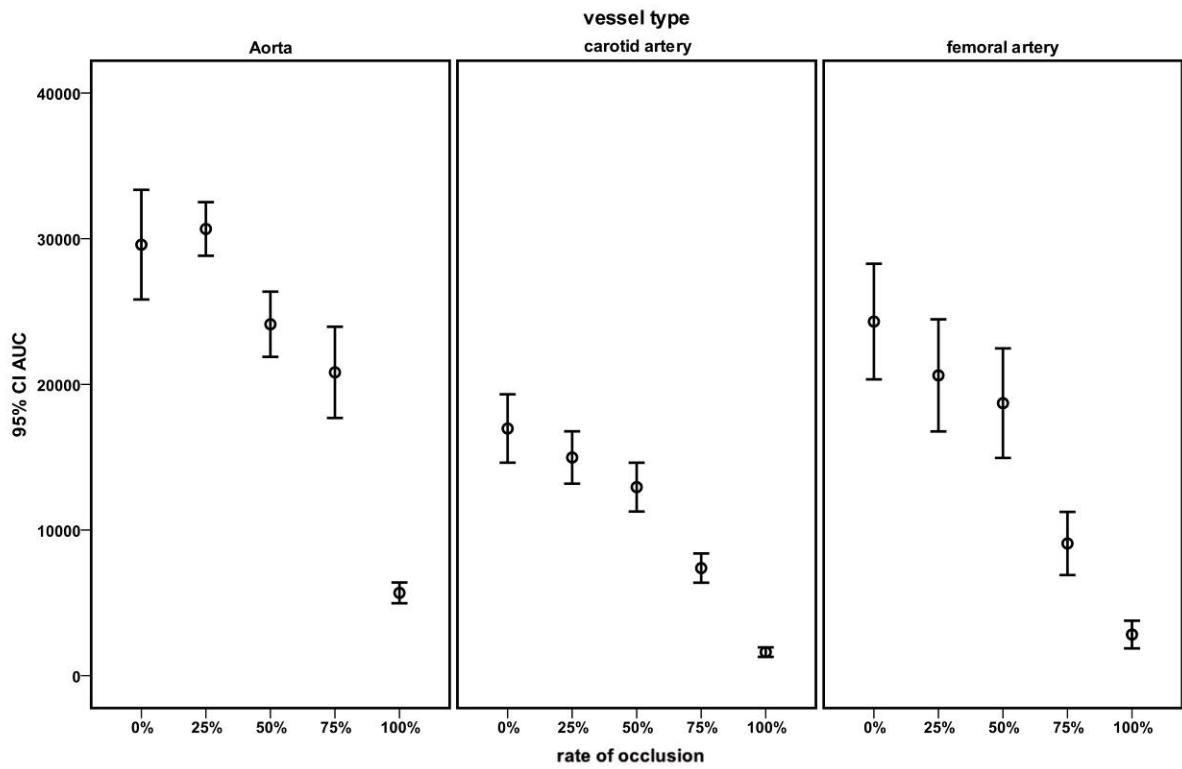


Abbildung 30. Darstellung der Area under the curve für die verschiedenen Gefäßtypen.

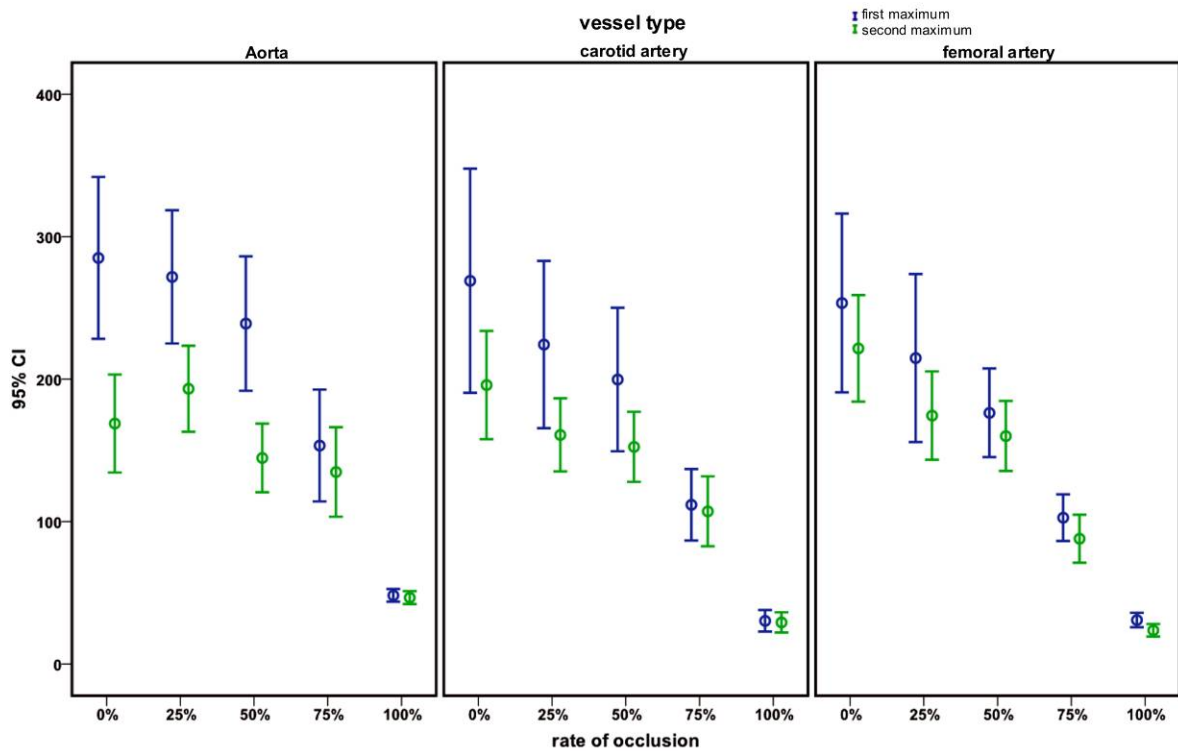
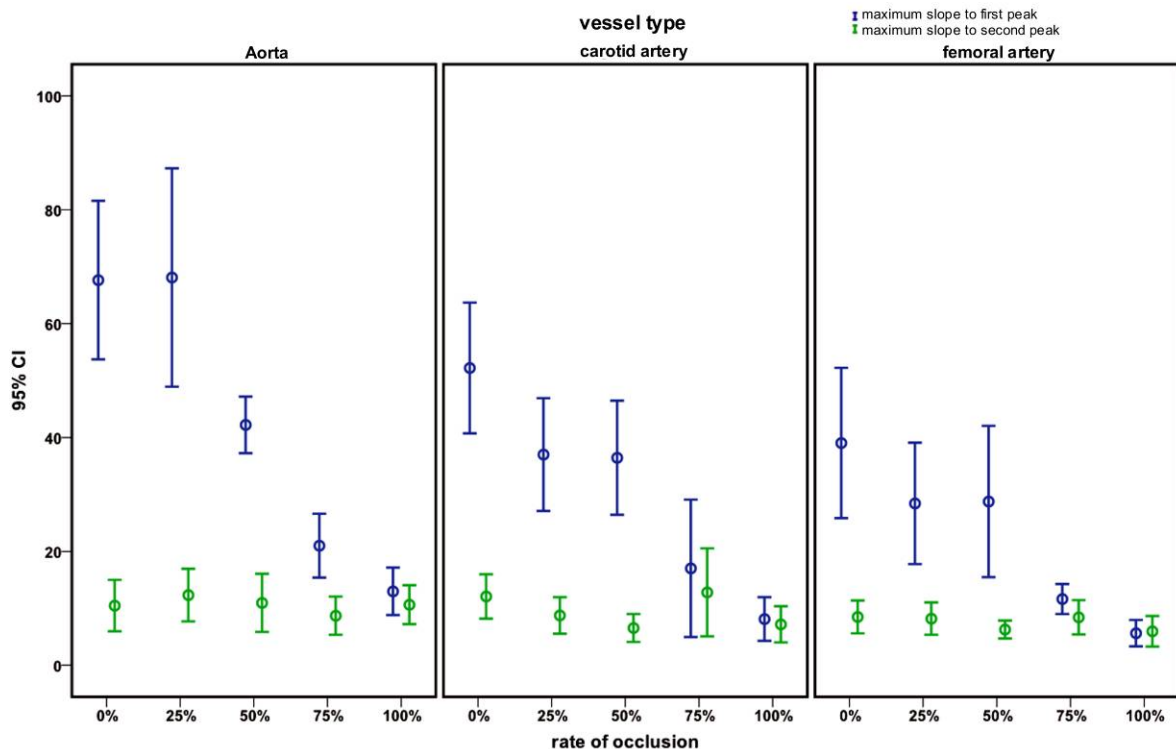


Abbildung 31. Darstellung des ersten und zweiten Maximums als Fehlerbalkendiagramm.

Bei der Betrachtung des ersten und zweiten Maximums der korrespondierenden Flusskurven lässt sich, insbesondere bei der Betrachtung des ersten Maximums, ein Unterschied zwischen den verschiedenen Stenosegraden feststellen. Lediglich durch die ähnliche Lage des Fehlerbalkens von 0% und 25% der Aorta wird das Signifikanzniveau für diesen Wert nicht erreicht. Die weiteren Werte weisen alle ein relativ hohes Signifikanzniveau auf (Abb. 32).

Die Analyse und Darstellung der Fehlerbalken mit der Steigung zum ersten und zweiten Maximum zeigen zwar relativ offensichtliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Stenosegraden des Anstiegs bis zum ersten Peak, die Steigung des zweiten Peaks dagegen erscheint nicht unterschiedlich (Abb. 30-32). Dies spiegelt sich auch in der statistischen Analyse der verschiedenen Gefäße, wie unter 3.4.1 – 3.4.4 beschrieben, wider.



**Abbildung 32.** Darstellung der Steigung zum ersten und zweiten Peak in der Gegenüberstellung. Während die Fehlerbalken der Steigung zum ersten Peak relativ deutliche Unterschiede aufweisen, zeigen sich in der Steigung zum zweiten Peak geringere Unterschiede auf.



Auf Grund der unterschiedlichen Messparameter in Abhängigkeit der verschiedenen Gefäßtypen wurde nun eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt, um einen hohen Regressionskoeffizienten  $R^2$ , der eine Erklärung für die Abhängigkeit des Modells und deren Interpretationssicherheit liefert, zu erhalten. Als mögliche Einschlussvariablen wurden nur diese gewählt, die sich auch im Wilcoxon-Test bei den verschiedenen Gefäßtypen als statistisch signifikante Parameter herausgestellt haben. Dies waren nur die dargestellte Area under the curve, das erste und zweite Maximum, sowie die Steigung zum ersten und zweiten Maximum.

### **3.5.2 Testung der verschiedenen Variablen in der linearen Regressionsanalyse**

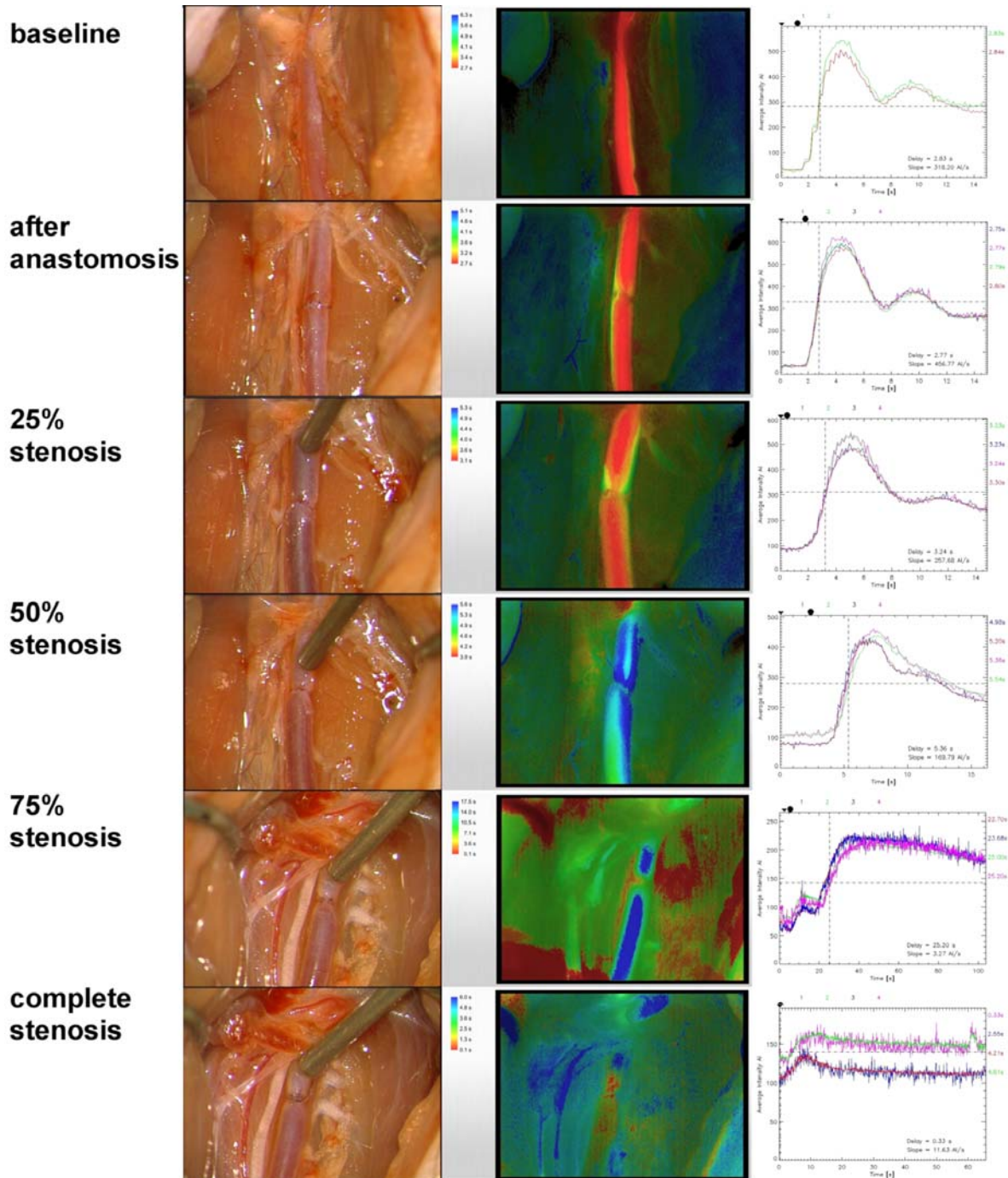
Bei der Testung der unterschiedlichen Variablen zeigte sich bei der Testung nur einer Variable ein Regressionskoeffizient  $R^2$  zwischen 0,005 (maximale Abflutung nach dem ersten Maximum) bis 0,374 (Area under the curve). Auch das erste Maximum ( $R^2 = 0,329$ ) und das zweite Maximum (0,317) zeigten einen hohen Regressionskoeffizienten. Die Kombination von zwei Variablen dagegen zeigte, insbesondere bei der Berücksichtigung des ersten Maximums und der Area under the curve, den höchsten Regressionskoeffizienten ( $R^2 = 0,423$ ), gefolgt von der Kombination aus Area under the curve und zweites Maximum ( $R^2 = 0,418$ ), Area under the curve und Steigung bis zum ersten Maximum ( $R^2 = 0,413$ ). Die dreifache Kombination aus Area under the curve, Steigung bis zum ersten Maximum und dem zweiten Maximum ( $R^2 = 0,426$ ) zeigte einen ähnlichen Regressionskoeffizienten wie die Kombination aus erstem Maximum, Area under the curve und Steigung bis zum ersten Maximum ( $R^2 = 0,424$ ) oder dem ersten Maximum, Area under the curve und dem zweiten Maximum ( $R^2 = 0,418$ ). Bei der Kombination aus erstem Maximum, Area under the curve, Steigung bis zum ersten Maximum und dem zweiten Maximum ( $R^2 = 0,436$ ) zeigte sich für die Analyse an allen Gefäßen der höchste Regressionskoeffizient.

Bei der isolierten Beurteilung der verschiedenen Gefäßtypen mit den korrespondierenden Ergebnissen lag der höchste Regressionskoeffizient bei der Aorta in der Kombination aus Area under the curve, Steigung bis zum ersten und zweiten Maximum und dem zweiten Maximum ( $R^2 = 0,686$ ). Hier zeigte sich ein sehr hoher und im Vergleich zu den anderen Kombinationen hochsignifikanter Wert auf ( $p < 0,0001$ ). Bei der A. carotis lag der Regressionskoeffizient in dieser Konstellation

ebenfalls ( $R^2=0.519$ ), wie bei der A. femoralis, in einem sehr hohen Bereich ( $R^2=0.485$ ), so dass das Modell hierdurch eine valide Beurteilungsmöglichkeit zur Diskrimminierung der verschiedenen Flusskurven liefert. Bei allen drei Tests lag der Unterschied zu den sonstigen Kombinationsmöglichkeiten sowie zur Diskrimminierung der verschiedenen Flusskurven im hochsignifikanten Bereich ( $p<0,0001$ ).

### **3.6 Farbkodierte Auswertung der Intensität und Transition Time des ICG-Signales**

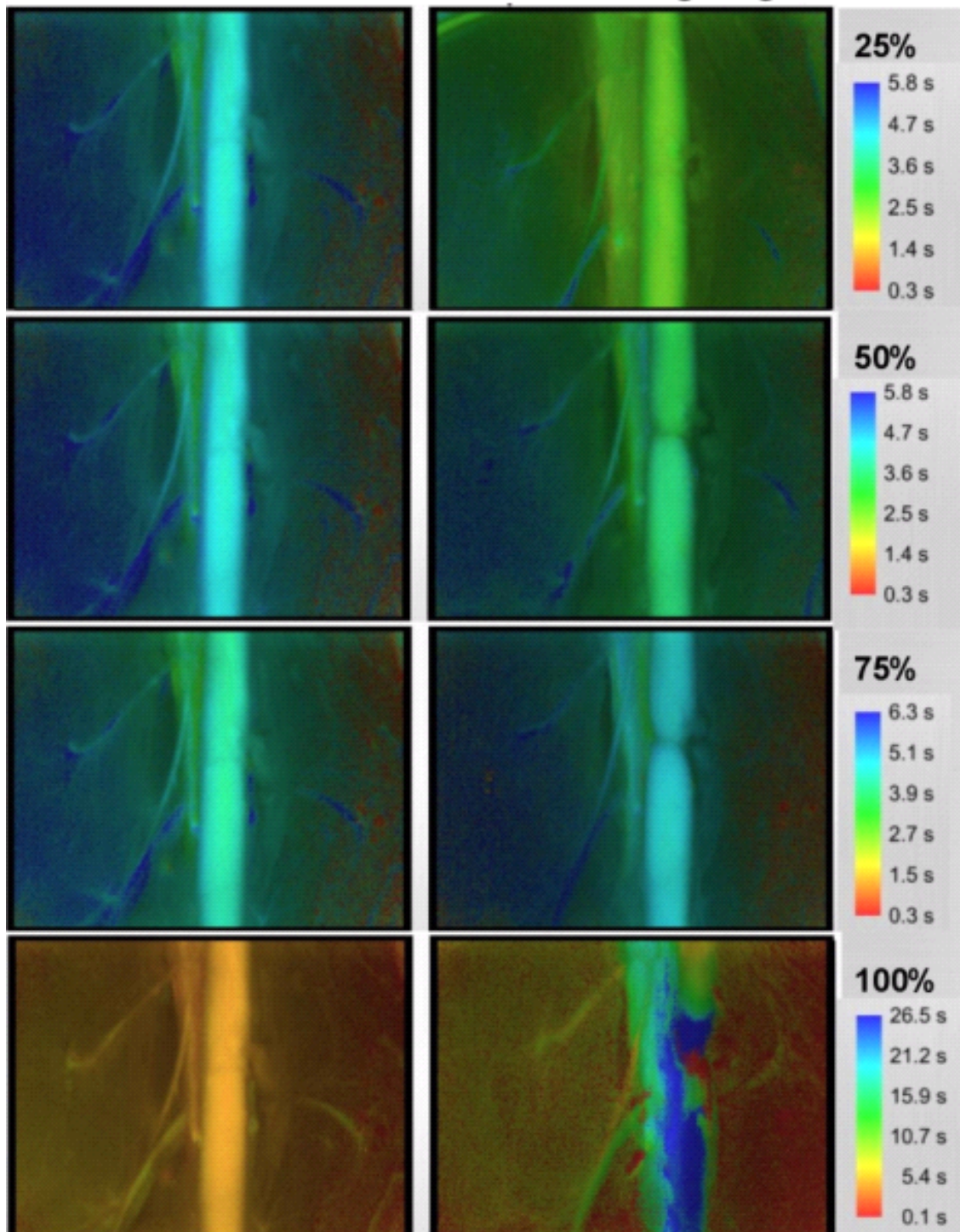
Die Auswertung des ICG – Signales über die Detektion der Fluoreszenz erfolgte nach manueller Bestimmung des interessierenden Punktes innerhalb des aufgezeichneten Videos bzw. Bildes im Rahmen der digitalen Dokumentation. Durch die Bestimmung eines bestimmten Punktes, der region of interest (ROI) wurde das Signal über ein Software-Programm FLOW<sup>®</sup> 800 (INFRARED 800, Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Deutschland) analysiert und ausgewertet. Die Untersuchungen konnten beliebig oft wiederholt und die Analyse über acht verschiedene Punkte gleichzeitig durchgeführt werden. Die jeweiligen Analysen können sowohl in Bezug zu dem jeweiligen klinischen Bild, der entsprechenden Flusskurve oder auch im Verhältnis untereinander dargestellt werden (Abb. 33).



**Abbildung 33.** Darstellung der korrespondierenden farbkodierten Auswertungen im Vergleich zur klinischen Situation bei verschiedenen Stenosegraden (linke Spalte) und unter Darstellung der ICG-Flusskurve (rechte Spalte) am Beispiel einer A. carotis.

### 3.6.1 Farbkodierte Auswertung an der Aorta

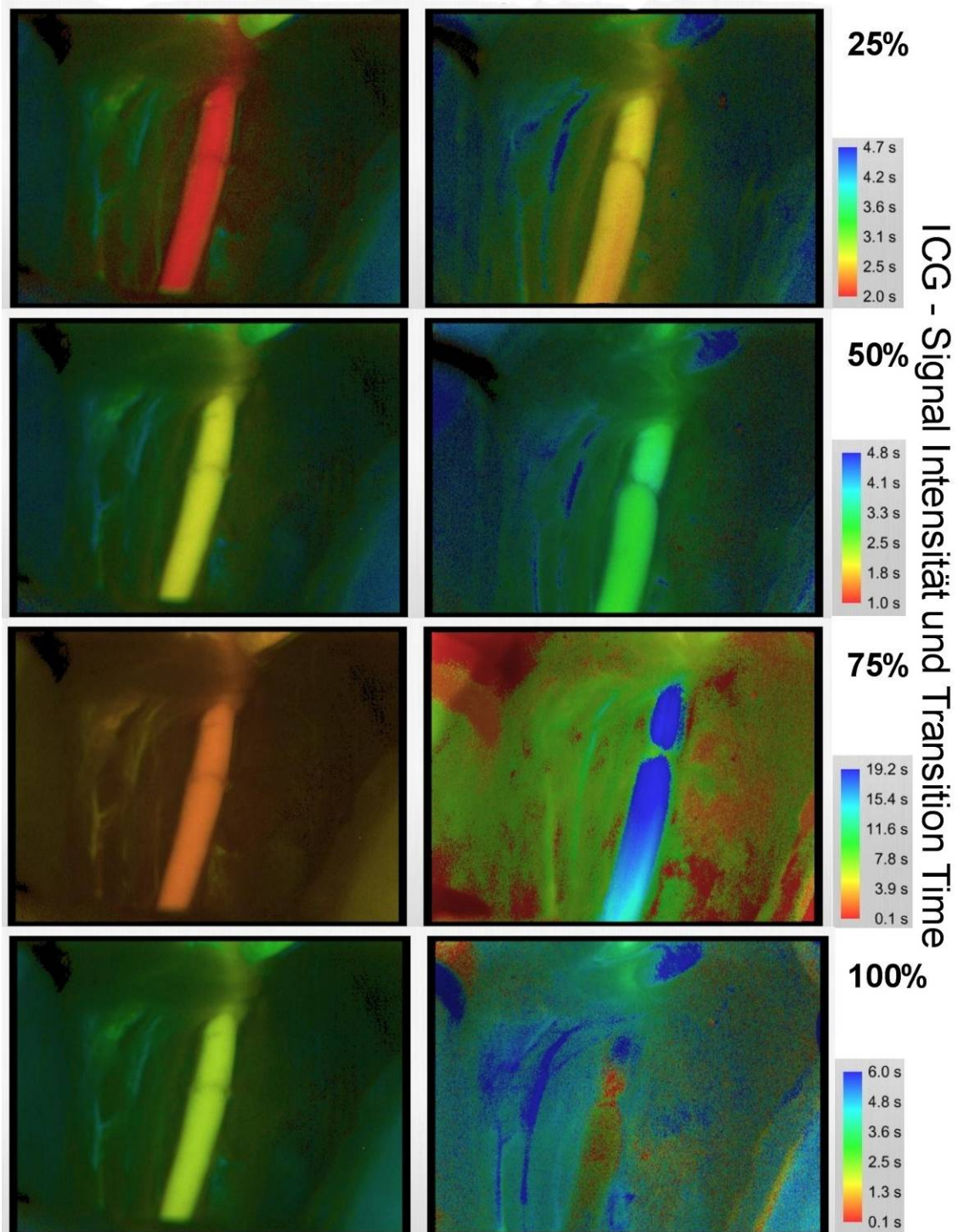
nach Anastomose    nach Einengung



**Abbildung 34.** Gegenüberstellung der verschiedenen Anastomosen an der Aorta mit unterschiedlichen Stenosegraden (rechte Spalte) im Vergleich mit der fertig gestellten Anastomose (linke Spalte). Die Anpassung der Farbkodierung ist an den verschiedenen Skalierungen orientiert (rechts unter je Zeile), der Fluss innerhalb der Anastomose ist jedoch immer identisch und wird nur im Verhältnis zur ICG-Durchflussgeschwindigkeit im jeweilig analysierten Gefäß farblich dargestellt.

Nach erfolgter Anastomosierung zeigten die farbkodierten Darstellungen der Aorta die in Relation gesetzten Ergebnisse der Flussanalyse der stenosierten Gefäßanastomosen einen unmittelbaren Unterschied zwischen den ermittelten Werten. Die Darstellung legte insbesondere dar, dass eine Flussreduktion im Bereich der Aorta offensichtlich erst ab einer Stenosierung von 75% aufgetreten ist. Dies wird am Signal der verschiedenen Gefäße deutlich (Abb. 34). Bei den Stenosierungen kleiner oder gleich 50% zeigte sich im Vergleich zu den 25%igen Stenosierungen zwar ein etwas geringerer Durchfluss durch die Aorta, im Vergleich zu der Basisuntersuchung nach alleiniger Anastomosierung war jedoch eine höhere „Transition Time“ feststellbar. Dieses Phänomen an der Aorta stellte somit einen wichtigen Faktor bei der Beurteilung der Durchflussgeschwindigkeit gemessen an der ICG-Signalintensität dar, um mittelgradige von höhergradigen Stenosen zu unterscheiden. Bei der Untersuchung der weiteren Anastomosen und deren Einengungen im Bereich der Aorta zeigte sich analog eine Darstellung der unterschiedlichen Flusssignale. Das vorliegende ICG-Signal mit den unterschiedlichen Durchflussgeschwindigkeiten wurde dadurch erzeugt, dass das Blut-Zeit-Volumen an dieser Stelle einem hohen Umsatz unterliegt und die Stenosierungen zunächst eine lokale Beschleunigung des Blutstromes erzeugt. Während dieser Mechanismus durch die Windkesselfunktion der Aorta bewirkt wird, kann ab einer höhergradigen Stenosierung, wie sie ab 75% Außendurchmesser vorliegt, zu keiner weiteren Kompensation mehr kommen und es erfolgt ein Volumenrückstau mit einer Flussreduktion im distalen Gefäßanteil hinter der eingengten Anastomose (Abb. 34). Das Signal bei einer 100%igen Stenose war eindeutig identifizierbar und zeigte im proximalen Gefäßanteil meist nur eine lokale Farbkodierung mit geringerer Flusstärke, welches einem turbulenten Signal entsprach.

3.6.2 Farbkodierte Auswertung an der A. carotis  
 nach Anastomose nach Einengung



**Abbildung 35.** Gegenüberstellung der verschiedenen Anastomosen mit unterschiedlichen Stenosegraden (rechte Spalte) im Vergleich mit der fertig gestellten Anastomose (linke Spalte). Die Anpassung der Farbkodierung ist an den verschiedenen Skalierungen orientiert (rechts unter je Zeile), der Fluss innerhalb der Anastomose ist jedoch immer identisch und wird nur im Verhältnis zur ICG-Durchflussgeschwindigkeit im jeweilig analysierten Gefäß farblich dargestellt.

Die farbkodierte Abbildung der anastomosierten Arterien zeigte im Vergleich zu den stenosierten Gefäßanastomosen eine zunehmende Flussreduktion, welche durch das veränderte ICG-Fluoreszenz-Signal in Abhängigkeit vom Grad der Stenosierung dargestellt wurde. Bereits bei 25%iger Stenosierung des Anastomosenkomplexes wurde bei diesem Gefäß eine Reduktion deutlich sichtbar. Bei zunehmender Stenosierung wurde dieser Unterschied durch die unterschiedliche Farbkodierung des emittierten ICG-Fluoreszenz-Signals weiter deutlich. Ab einer höhergradigen Stenosierung von 75% wurde dieser Unterschied auch von einer Verlängerung der detektierten „Transition Time“, sichtbar an der verlängerten Skalierung der emittierten Signalstärke, offensichtlich (Abb. 35).

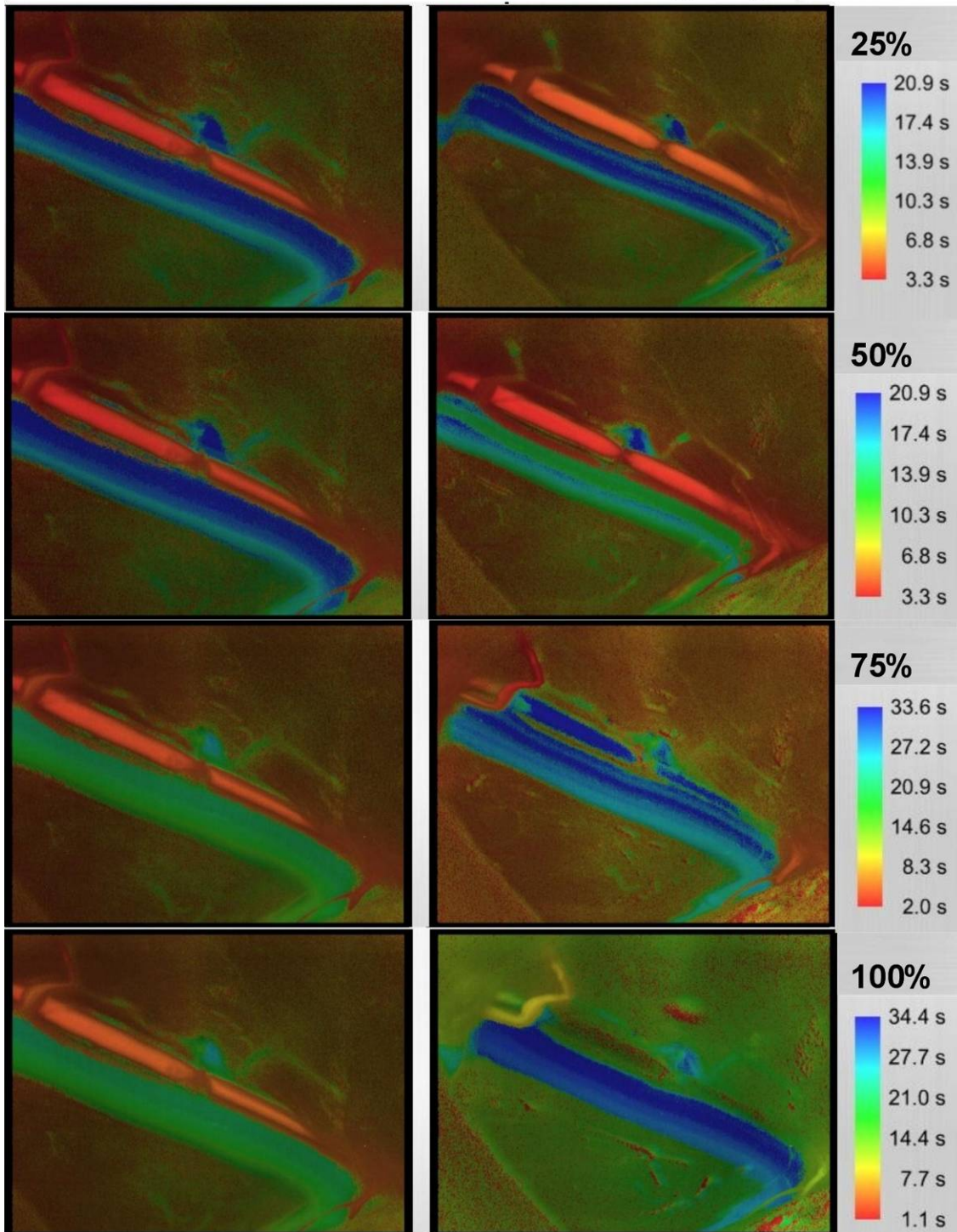
Das Signal bei einer 100%igen Stenose war eindeutig identifizierbar und zeigte im distalen Gefäßanteil meist nur eine lokale Farbkodierung mit geringerer Flussstärke, welches durch einen retrograden Blutfluss durch den Umgehungskreislauf über den Circulus arteriosus Willisii und der A. sphenopalatina der Ratte entstand.

### **3.6.3 Farbkodierte Auswertung an der A. femoralis**

Analog zu der A. carotis zeigte sich auch bei der A. femoralis eine kontinuierliche Reduktion des emittierten Farbsignals unter Zunahme des Stenosegrades (Abb. 36). Die Unterschiede zwischen den Stenosierungen um 25 und 50% waren jedoch nicht stärker ausgeprägt und spiegeln sich auch in den unter 3.4.4 dargestellten Flusskurven wider, bei denen es zu einer regelrechten Konfiguration der Flusskurve kam. Diese wiesen im Vergleich untereinander dennoch Intensitätsunterschiede auf. Dies ist auch bei den vorliegenden farbkodierten ICG-Analysen der Fall, jedoch sind die Unterschiede nicht so auffällig wie bei den anderen Lokalisationen. Ab einer Stenose von 75% ist das Flusssignal allerdings deutlich eingeschränkt, was sich auch durch eine entsprechende Verlängerung der Skala widerspiegelt. Die Stenosierung von 100% konnte ebenfalls deutlich dargestellt werden. Im Bereich des proximalen Anteils der A. femoralis in der Region des Leistenbandes konnte hier regelmäßig ein Fluoreszenzsignal detektiert werden, welches an dieser Stelle jedoch sistierte. Da an dieser Stelle einige Seitenäste in den umgebenden Bewegungsapparat abgegeben werden, kann hier von turbulenten Strömungen ohne Durchflusspassage durch die vorbestehende Blutsäule in der A. femoralis als

Ausdruck des ICG-Fluoreszenzsignals ausgegangen werden (Abb. 36).

## nach Anastomose    nach Einengung



**Abbildung 36.** Gegenüberstellung der verschiedenen Anastomosen mit unterschiedlichen Stenosegraden (rechte Spalte) im Vergleich mit der fertig gestellten Anastomose (linke Spalte). Die Anpassung der Farbkodierung ist an den verschiedenen Skalierungen orientiert (rechts unter je Zeile), der Fluss innerhalb der Anastomose ist jedoch immer identisch und wird nur im Verhältnis zur ICG-Durchflussgeschwindigkeit im jeweilig analysierten Gefäß farblich dargestellt.



#### 4. DISKUSSION

Wie in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, ist die Anwendung der ICG-Angiographie für die rekonstruktive und mikrovaskuläre Chirurgie von großer klinischer Bedeutung. Durch die non-invasive Darstellung des intravasalen Blutflusses sowie der Durchblutung im nachfolgenden Versorgungsgebiet der zuführenden Gefäße bietet sich sowohl die Möglichkeit des Monitorings der mikrovaskulären Anastomose als auch des resultierenden Blutflusses im Versorgungsgebiet des Gefäßes.

Obwohl die klinische Anwendung der ICG-Angiographie in vielen Fachbereichen bereits eine breite Anwendung findet, insbesondere in der Herzchirurgie (Detter *et al.* 2002; Detter *et al.* 2007; Waseda *et al.* 2009), Neurochirurgie (Feindel *et al.* 1967a; Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2006) und auch in der plastischen und rekonstruktiven Chirurgie (Holm *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a; Holm *et al.* 2010b), war die Sensitivität und Spezifität dieses Verfahrens bisher noch völlig unklar. Durch die Testung der ICG-Angiographie an einem standardisierten Modell wie im vorliegenden Tiermodell sowie im Vergleich zum bisherigen Goldstandard, der Mikro-Doppler-Sonographie (Gilsbach und Hassler 1984; Deverall *et al.* 1988), ist die entsprechende Validität dieses Verfahrens gewährleistet. Im Vergleich zeigte sich zwar kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Methoden zur Detektion von mikrovaskulären Flussbehinderungen und konsekutiven Durchblutungsstörungen, jedoch erlaubt die Darstellung und Analysemöglichkeit durch das Flow®800 System im Vergleich zur Voraufnahme eine zusätzliche schnelle Visualisierung von verschiedenen Flussparametern. In der vorliegenden Arbeit zeigte sich, dass insbesondere die Kombination der Area under the curve und die Steigung bis zum ersten und zweiten Maximum sowie dem zweiten Maximum der jeweiligen Flusskurven zuverlässige Parameter zur Diskriminierung der unterschiedlichen Flussverhältnisse an den verschiedenen getesteten Gefäßen sind. Der entsprechende Wert der linearen Regressionsanalyse zeigte mit  $R^2 = 0,485 - 0,686$  einen sehr hohen Determinationskoeffizienten, der einen hohen Zusammenhang zwischen den abhängigen und unabhängigen Variablen des hier getesteten Modells aufzeigt. Somit ist die nachgewiesene Variabilität in dem getesteten Modell sehr gering. Der Wert des Flow®800 Systems wird deutlich, wenn man die vielen, weiteren möglichen Einflüsse eines mikrochirurgischen Verfahrens,

die bei der Analyse des Blutflusses impliziert werden könnten, berücksichtigt (Ilie *et al.* 2007; Hallock 2008; Scholz *et al.* 2008; Hanasono *et al.* 2009; Pattani *et al.* 2010). Neben den physiologischen Parametern des Blutflusses spielt vor allem die Erfahrung des Operateurs die größte Rolle, doch sind auch eine ganze weitere Reihe von verschiedenen Einflussfaktoren (z.B. Temperatur, Gefäßspasmus, Gefäßzustand, usw.) bekannt. Erfolgsraten mikrochirurgischer Operationen von 74-95 % sind in der Literatur beschrieben (Wolff, 2008; Hallock, 2008).

#### **4.1 Monitoring bei mikrovaskulären Prozeduren**

Der Mikrodoppler stellt bisher den sog. Gold-Standard, vor allem in der Neurochirurgie, aber auch in der Gefäßchirurgie, dar und wird neben der technischen aufwändigen Angiographie häufig verwendet (Gilsbach 1983; Gilsbach und Hassler 1984; Laborde *et al.* 1988; Lam und Newell 1996; Bailes *et al.* 1997; Firsching *et al.* 2000; Thornton *et al.* 2000; Proust *et al.* 2002; Sanzenbacher 2005). Einen Nachteil bei der Anwendung des Mikro-Doppler-Systems stellt die geringe Sensitivität bei Stenosen der Gefäße zwischen 30-50% dar (Gilsbach 1983; Gilsbach und Hassler 1984), so dass auf Grund der Komplikationsraten und des deutlich stärkeren Aufwandes der intraoperativen Angiographie die weitere Notwendigkeit der unmittelbaren Beurteilung der Anastomose mittels eines sensitiveren Verfahrens besteht. Dennoch existieren weitere Verfahren zur Testung und Bestimmung der Durchblutung von Geweben oder Gefäßen. Hierbei kann man zwischen direkten Verfahren, d.h. der Bestimmung des Blutflusses in einem Gefäß, und indirekten Verfahren, d.h. der Bestimmung von Parametern im Gewebe, wie zum Beispiel die Oxygenierung, unterscheiden.

Die verschiedenen Verfahren sollen nachfolgend dargestellt und mit ihren Vor- und Nachteilen entsprechend erläutert werden:

Die klinische Beurteilung gilt nach wie vor als Basisverfahren in der Beurteilung von Anastomosen und deren Durchgängigkeit (Acland und Sabapathy 2008). Zusätzlich wird der sogenannte „Milkman-Test“ angewandt, bei dem das Gefäß distal der Anastomose entsprechend ausgestrichen wird, um den einströmenden Blutfluss in das distale Segment der Anastomose zu überprüfen (Kersh *et al.* 1989; Tonken *et al.*

1995). Je nach Schnelligkeit des Blutflusses erhält man eine Einschätzung über den Grad der Durchgängigkeit der Anastomose (Kersh *et al.* 1989; Tonken *et al.* 1995; Acland und Sabapathy 2008).

Das Prinzip der Mikro-Doppler Sonographie ist die Frequenzverschiebung von Schallwellen durch die Relativbewegung korpuskulärer Elemente im strömenden Blut (Gilsbach und Hassler 1984; Mücke *et al.* 2008). Das Verfahren hat sich in vielen klinischen Bereichen als Goldstandard zur Detektion von Stenosen etabliert. Dennoch bleibt als limitierender Faktor, dass der Blutfluss innerhalb des Gefäßes nur ab einer höhergradigen Stenosierung als turbulentes Signal erfasst wird, bzw. kann die Einengung des Lumens im Bereich der Anastomose erst ab Einengungen von 50% sicher detektiert werden kann (Gilsbach und Hassler 1984), auch wenn der Mikro-Doppler zunehmend verbessert wird (Cui *et al.* 2011). Die zugrunde liegenden Arbeiten sind insbesondere von Gilsbach *et al.* beschrieben worden (Gilsbach und Hassler 1984). Obwohl die Mikro-Doppler-Sonographie in der Neurochirurgie und auch in der Gefäßchirurgie ein Standardverfahren darstellt, hat sie sich in der Mikrochirurgie nicht als Goldstandard durchgesetzt. Dies hängt wahrscheinlich mit der Schwierigkeit der korrekten Schallkopfpositionierung und der Erfahrung des Untersuchers zusammen. Nachdem der Operationssitus verschlossen ist, ist die weitere Untersuchung des Gefäßpulses nicht sicher möglich, da die eindeutige Zuordnung der akustischen Signale, insbesondere bei kleinlumigen Gefäßen, schwierig ist und das Signal deutlich abgeschwächt und verändert ist (Russo *et al.* 2001; Akdemir *et al.* 2007; Cui *et al.* 2011).

Die farbkodierte Duplexsonographie ermöglicht durch eine zusätzliche Farbkodierung der Doppler-Spektren die Bestimmung der Blutflussrichtung. Perfusions- und Widerstandsindizes liefern Informationen über regionale Perfusionsverhältnisse. Bei diesem Verfahren handelt es sich um die Verarbeitung der Dopplerkurven durch ein integriertes Analysesystem, welches jedoch von der korrekten Bestimmung des Untersuchers abhängig ist. Bei einem Anastomosendurchmesser von mehr als 2 mm erwies sich dieses Verfahren als zuverlässig (Wu und Young 1995; Schön *et al.* 2002).

Bei der elektromagnetischen Flowmetrie wird in unmittelbarer Umgebung des Gefäßes ein elektromagnetisches Feld erzeugt. Der intravaskuläre Blutstrom erzeugt ein elektrisches Potential, das direkt proportional zur Blutflussgeschwindigkeit ist. Obwohl zuverlässige und präzise Messergebnisse zur Erfassung des Blutflusses erzielt wurden (Banis *et al.* 1980; Eriksson und Heden 1988), bleibt die Methode aufgrund der aufwändigen Messtechnik und der nicht möglichen Quantifizierung des Blutvolumens für die breite klinische Anwendung ungeeignet (Machens *et al.* 1994).

Als Beispiel für die indirekte Beurteilung des Blut- und Gewebepерfusionstatus ist die Laser Doppler Flowmetrie zu nennen, die auf dem Doppler Shift von Laserlicht beruht (Hovius *et al.* 1993; Mailaender *et al.* 1994; Hölzle *et al.* 2006). Die Anwendung wird für das Monitoring von Gewebetransplantaten als praktikabel und zuverlässig bezeichnet (Hölzle *et al.* 2006; Mücke *et al.* 2011). Es handelt sich um ein noninvasives Verfahren, welches über das Laser-Doppler-Prinzip qualitative Messungen ermöglicht, die insbesondere bei der Bestimmung von Ausgangswerten eine sehr hohe Aussagemöglichkeit erlauben. Der Nachteil dieses Verfahrens besteht vor allem in dem durch das Fehlen von Absolutwerten und der dadurch erschwerten Interpretation der Messergebnisse, der geringen Eindringtiefe ins Gewebe und der hohen Anfälligkeit für Bewegungsartefakte durch die Dislokation von Messsonden (Mailaender *et al.* 1994; Yoshino *et al.* 1996; Hölzle *et al.* 2006). Weitere Verfahren der indirekten Bestimmung der Gewebepерfusion stellen die Dermofluorometrie als auch das sogenannte Clearing-Verfahren dar, welche durch das Ausmaß und der Schnelligkeit der Gewebeanreicherung geeigneter Indikatorsubstanzen Rückschlüsse auf die Gewebepерfusion ermöglichen.

Venös injizierte fluoreszierende Farbstoffe dienen als Indikatorsubstanzen bei der Dermofluorometrie. Als limitierende Faktoren dieses Verfahrens galten bisher vor allem die begrenzte Wiederholbarkeit durch die langen Halbwertszeiten der Indikatorsubstanzen und die potenzielle Gefahr anaphylaktischer Reaktionen. Durch die Verwendung von weiter entwickelten fluoreszierenden Indikatorsubstanzen mit günstigeren Eigenschaften, wie auch das Indocyaningrün, konnte die klinische Anwendbarkeit verbessert und auch in ihrer Anwendungsmöglichkeit deutlich erweitert werden (Caesar *et al.* 1961; Feindel *et al.* 1967a; Leevy *et al.* 1967; Benson und Kues 1978; Destro und Puliafito 1989; Mailaender *et al.* 1994; Ott 1998; Leistad

*et al.* 2001; Detter *et al.* 2002; Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; Hölzle *et al.* 2006; Woitzik *et al.* 2006; Detter *et al.* 2007; Unno *et al.* 2008; Holm *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a; Holm *et al.* 2010b). Durch diese Weiterentwicklung, insbesondere der Halbwertszeit und Applikationsform des Farbstoffes, konnte eine repetitive, intraoperative oder auch rein klinische Untersuchung der Gefäßperfusion ermöglicht werden. Hierdurch ergab sich auch die Möglichkeit der angiographischen Darstellung von Gefäßen, dem Gold-Standard in der Beurteilung von Gefäßen und deren Pathologien (Mills *et al.* 1992; Zhang *et al.* 1995; Salcuni *et al.* 1996; Karasch und Rubin 1998; Reiter *et al.* 2007; Zhang *et al.* 2011).

Die Angiographie, eine bewährte Methode der Gefäßdiagnostik, ermöglicht bei mikrovaskulären Eingriffen eine zuverlässige Beurteilung der Anastomosendurchgängigkeit. Sie ist als bisheriges Standardverfahren aufgrund der hohen Invasivität, der hohen apparativen sowie personellen Notwendigkeiten und zum Teil schwerwiegenden Komplikationen bedingt durch die Kontrastmittelapplikation nicht für die intraoperative Diagnostik geeignet (Machens *et al.* 1999). Für die Fluoreszenz-Angiographie wurde allerdings die erfolgreiche intraoperative Anwendung in verschiedenen Fachbereichen als Diagnostikum zur Detektion von vaskulärer Kompromittierung des Blutflusses und dessen Endstromgebiet beschrieben (Caesar *et al.* 1961; Feindel *et al.* 1967a; Leevy *et al.* 1967; Benson und Kues 1978; Destro und Puliavito 1989; Mailaender *et al.* 1994; Ott 1998; Leistad *et al.* 2001; Detter *et al.* 2002; Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; Hölzle *et al.* 2006; Woitzik *et al.* 2006; Detter *et al.* 2007; Unno *et al.* 2008; Holm *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a; Holm *et al.* 2010b).

Weitere Monitoringverfahren sind in der Anwendung zur Detektion von Durchblutungsstörungen im Gewebe, aber auch in Gefäßen beschrieben. Die Vielzahl dieser Verfahren zeigt zum einen den Wunsch nach intraoperativer Qualitätssicherung des erzielten Ergebnisses, zum anderen auch die Optimierung von mikrochirurgischen Verfahren. Des Weiteren ist ein solches Monitoringtool zum Nachweis von der Funktionalität experimenteller Techniken erwünscht und auch zur frühzeitigen Detektion von Komplikationen geeignet (Detter *et al.* 2002; Woitzik *et al.* 2005; Hölzle *et al.* 2006; Detter *et al.* 2007; Mücke *et al.* 2011).

## 4.2 Anwendung und Nebenwirkungen der ICG-Angiographie

Die ICG-Fluoreszenzangiographie ist ein bildgebendes Verfahren zur Darstellung von Gefäßen und der Perfusion von Gewebe ohne Kontrastmittel und Strahlenbelastung. Bei diesem Verfahren wird der fluoreszierende Farbstoff Indocyaningrün venös appliziert und am Zielort durch Beleuchtung mit einer Infrarot-Lichtquelle zur Fluoreszenz angeregt. Sobald der Farbstoff über den Blutkreislauf das mit Infrarotlicht beleuchtete Areal erreicht, tritt eine breitbandige Fluoreszenz auf. Dieses Fluoreszenzlicht wird mit der Infrarot-Kamera in Verbindung mit einem optischen Bandpassfilter detektiert, der das sehr intensive Anregungslicht abblockt und so eine Überstrahlung des Fluoreszenzsignals unterdrückt. ICG ist ein nicht-toxischer, gut verträglicher Farbstoff (Cherrick *et al.* 1960; Paumgartner 1975; Hope-Ross *et al.* 1994). Die nur leichten Nebenwirkungen von ICG wie Halsschmerzen und Hitzewallungen (Benya *et al.* 1989) sind meist auf eine Verunreinigung durch Natriumjodid zurückzuführen und sehr selten (Cherrick *et al.* 1960; Paumgartner 1975). Hier spielt insbesondere auch die korrekte Aufbereitung des Farbstoffes eine wichtige Rolle, bei der es durch die Anwendung von kristallinen Flüssigkeiten zu einer Ausfällung von Salzen kommen kann, so dass subjektive Missempfindungen bei dem Patienten häufiger vermutet werden. Garski beschrieb insgesamt jedoch nur vier Unverträglichkeitsreaktionen von ICG nach insgesamt 240.000 Applikationen (Garski *et al.* 1978). In einer Literaturübersicht 34 Jahre nach Einführung von ICG als Diagnostikum zur Darstellung von Gefäßkompromittierungen wurde nur über 17 Unverträglichkeitsreaktionen einschließlich zwei Todesfällen berichtet (Garski *et al.* 1978). Beide Todesfälle traten bei schwerkranken Patienten auf, bei denen eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt wurde, so dass auch die genaue Ursache für die Todesfälle unklar bleibt. Schwere Unverträglichkeitsreaktionen wie anaphylaktischer Schock, Hypotension, Tachykardie, Dyspnoe und Urtikaria wurden bei insgesamt sieben Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz beobachtet. Daher wird empfohlen, die Applikation von ICG bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu vermeiden (Garski *et al.* 1978). Auch im Rahmen einer prospektiven Studie zur fluoreszenzangiographischen Untersuchung der Retina unter Applikation von ICG bei 1226 Patienten wurde nur über acht Unverträglichkeitsreaktionen berichtet, darunter nur eine schwerwiegende Komplikation (Hope-Ross *et al.* 1994).

### 4.3 Reliabilität der ICG-Angiographie

Dies ist die erste Studie, welche die Sensitivität, Spezifität, den positiv und negativ prädiktiven Wert der Methode anhand eines standardisierten Tiermodells ermittelt hat. Bisher sind keine Versuche diesbezüglich vorgenommen worden, obwohl bereits eine Reihe von Versuchen in verschiedenen Studienmodellen in der Literatur beschrieben wurden (Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; de Oliveira *et al.* 2008; Holm *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010b). Durch die Beobachtung und Anwendung der ICG-Angiographie der Gefäßanastomosen kann die Detektion von Komplikationen erhöht werden. Holm *et al.* beschreiben durch die Anwendung der intraoperativen ICG-Angiographie eine Steigerung der Erfolgsrate beim mikrochirurgischen Gewebettransfer von 10% aller behandelten Patienten, weitere 6% jedoch erlitten in ihrer Studie einen Verlust des Transplantates (Holm *et al.* 2009). Ungewöhnlicherweise wurde die Technik der Angiographie mit Hilfe von Indocyanin-Grün bis zu diesem Zeitpunkt noch nicht evaluiert, so dass es im Rahmen dieser Studie unklar bleibt, ob auch falsch negative angiographische Darstellungen zu einer Revision der mikrochirurgischen Anastomosen geführt haben könnten (Holm *et al.* 2009). In einer Folgestudie beschreiben Holm *et al.* nach klinischer Evaluation der Revisionsbehandlung eine Sensitivität von 100% und eine Spezifität von 86% an Hand der von ihnen beobachteten vaskulären Komplikationen (Holm *et al.* 2010b). Hier zeigte sich bei 200 behandelten Patienten eine Komplikationsrate von 10%, wobei der Großteil dieser Fälle eine Thrombosierung (55%) des Gefäßstiels aufwies. Weiterhin zeigte sich bei einem Patienten eine falsche Anastomosierung von Arterie und Vene (5%); der Rest wies jedoch intakte Gefäßanastomosen mit einem regulären Gefäßstrom auf (40%). Auf Basis dieser Daten lässt sich vermuten, dass intraoperativ ein falsch negatives Signal zu einer Revision geführt hat oder auch die alleinige Manipulation am Gefäßstiel mit der entsprechenden Freilegung zu einer Rekanalisierung des Gefäßstiels des Transplantates führte (Holm *et al.* 2010b). Anhand der hier beschriebenen Studie zeigt sich der wesentliche Nachteil von klinischen Studien dieser Art: Durch die Verwendung von nicht standardisierten Daten lässt sich kein valides Urteil über die Genauigkeit der Methode treffen, so dass die Anwendung solcher Diagnostika auf der Grundlage eines standardisierten Tiermodells obligat erscheint, um

entsprechende Aussagen über die Vor- und Nachteile der Anwendungsmöglichkeiten zuzulassen. Somit zeigt die Sensitivität von 95,3% bei einer Spezifität von 100% der ICG-Angiographie unter standardisierten Bedingungen, wie in dieser Studie ermittelt, dass es sich um ein sehr zuverlässiges Diagnostikum zur Detektion von mikrovaskulären Flussbehinderungen handelt.

Die Integration der ICG-Angiographie in das Operationsmikroskop verbessert so dessen Anwendung im klinischen Gebrauch, da hierdurch das Verfahren in sehr kurzer Zeit angewendet werden kann, ohne dass ein hoher wirtschaftlicher oder personeller Aufwand betrieben werden muss, wie dies für die konventionelle Angiographie der Fall ist (Mills *et al.* 1992; Ogawa *et al.* 1996; Yang *et al.* 2002; Raabe *et al.* 2003; Raabe *et al.* 2005; Woitzik *et al.* 2005; Amin-Hanjani *et al.* 2007; Mack 2008; Uhl *et al.* 2009; Fischer *et al.* 2010; Holm *et al.* 2010b). Durch die Integration der Methodik der ICG-Angiographie in das OP-Mikroskop konnte sich diese zunächst noch nicht als Standardverfahren durchsetzen. Durch wesentliche Arbeiten von Feindel *et al.* und die Verbesserung der intraoperativ zu applizierenden Technik wurde die Darstellung und Anwendung wesentlich vereinfacht (Feindel *et al.* 1967a; Feindel *et al.* 1967b). Wie die hier vorliegende Studie zeigt, kann auch die unterschiedliche Ausprägung von Flussbehinderungen bei einer hohen Reliabilität des Verfahrens eindeutig belegt werden. Zunehmend wird die ICG-Angiographie intraoperativ nach Aneurysmaclipping mit kleinen residualen Gefäßanteilen des Aneurysmas eingesetzt, um die Qualität des Clippings zu verbessern (Romani *et al.*; el-Beltagy *et al.* 2010). Als Gold-Standard für die intraoperative Diagnostik wird jedoch wegen der geringen Verbreitung der ICG-Angiographie zunächst weiterhin die konventionelle Angiographie gelten. Der Nachteil der Invasivität und des bereits erläuterten hohen personellen und wirtschaftlichen Aufwandes sind jedoch wesentliche Gründe dafür, dass die Angiographie zunehmend durch die ICG-Angiographie abgelöst werden könnte. Auch wenn die Angiographie generell als relativ sicheres Verfahren gilt, so ist ihre Komplikationsrate mit 1-3% relativ hoch (Li *et al.* 2005), insbesondere im Vergleich zu non-invasiven Verfahren wie der mikro-Doppler-Sonographie und der hier dargestellten ICG-Fluoreszenz-Angiographie (Cherrick *et al.* 1960; Paumgartner 1975; Garski *et al.* 1978; Gilsbach und Hassler 1984; Benya *et al.* 1989; Li *et al.* 2005). Des Weiteren ist die Auflösung der konventionellen Angiographie häufig limitiert, so dass diese zunehmend durch die digitale Subtraktionsangiographie abgelöst wurde. Für die Detektion von kleinen



perforierenden Gefäßen zeigte der Mikro-Doppler eine höhere Genauigkeit als die DSA (Barrow *et al.* 1992; Derdeyn *et al.* 1995; Netuka *et al.* 2006). Die Problematik, dass eine zunehmenden Stenosierung sicher erkannt werden kann, ist sowohl für die konventionelle Angiographie, der digitalen Subtraktionsangiographie als auch der Mikro-Doppler-Sonographie hinreichend beschrieben worden (Netuka *et al.* 2006). Dies kann auch durch die hier beschriebenen Studienergebnisse nachvollzogen werden. So überrascht es nicht, dass die ICG-Fluoreszenzangiographie die gleiche Problematik bei höhergradigen Stenosierungen aufweist (Netuka *et al.* 2006).

#### **4.4 Reliabilität der Mikro-Doppler-Sonographie**

Die Mikro-Doppler-Sonographie stellt aktuell in der intraoperativen Diagnostik und Flussanalyse, insbesondere in der Neurochirurgie aber auch in anderen Fachbereichen, das am häufigsten verwendete Verfahren dar (Gilsbach und Hassler 1984; Deverall *et al.* 1988; Bailes *et al.* 1997; Chen *et al.* 1998; van Everdingen *et al.* 1998; Akdemir *et al.* 2006; Netuka *et al.* 2006; Mack 2008; Cui *et al.* 2011). So ist es nicht überraschend, dass gerade bei intrakraniellen Aneurysmen der routinierte Einsatz des Mikro-Dopplers gefordert wird, da so eine hohe Anzahl an klinisch nicht festgestellten Stenosierungen der arteriellen Gefäße des Circulus arteriosus Willisii diagnostiziert werden können (Gilsbach und Hassler 1984; Bailes *et al.* 1997; Mücke *et al.* 2008). Auch nicht sichtbare Gefäße, die in der Umgebung verlaufen, jedoch durch Gewebestrukturen verdeckt sind, können durch das Doppler-Signal erkannt werden. Zusätzlich besteht der Vorteil, dass die Ergebnisse des Dopplers sofort zur Verfügung stehen und ohne weiteren personellen Aufwand mit Hilfe der eigenen Erfahrung nach einer kurzen Lernphase interpretiert werden können (Gilsbach und Hassler 1984; Firsching *et al.* 2000; Stendel *et al.* 2000; Akdemir *et al.* 2006). Insbesondere Stenosierungen können durch die typische Veränderung der Dopplerkurve mit einem Anstieg des systolischen Blutflusses sowie des durchschnittlichen Blutflusses im Gefäß diagnostiziert werden (Gilsbach und Hassler 1984). Nachteilig hierbei ist jedoch, dass kleinere Gefäßstenosen nicht sicher festgestellt werden können und komplexe anatomische Regionen durch die verschiedenen Flussrichtungen innerhalb von Bifurkationen schwieriger zu beurteilen sind (Gilsbach und Hassler 1984).

Die Ergebnisse zur Reliabilität dieser Arbeit sind vergleichbar mit den Angaben in der Literatur und spiegeln sowohl die Zuverlässigkeit des Systems, als auch die gute Eignung des Modells der Ratte für das Versuchsmodell wider (Laborde *et al.* 1988; Stendel *et al.* 2000; Li *et al.* 2005). Jedoch zeigen die Ergebnisse auch, dass der Mikro-Doppler nicht signifikant schlechter ist als die evaluierte ICG-Angiographie, so dass dessen Anwendung weiterhin empfohlen werden kann. Insbesondere in dem Wissen, dass bei der Mikro-Doppler-Sonographie falsch positive zu einer geringeren Spezifität führen, diese jedoch bei der ICG-Angiographie bei 100% liegt, legt eine Anwendung beider Systeme zur Verbesserung der intraoperativen Detektion von Komplikationen nahe. Während aus unserer Sicht zunächst die ICG-Angiographie zur Anwendung kommen sollte, kann nachfolgend die Mikro-Doppler-Sonographie in Fällen ohne Darstellung eines angiographischen Signals empfohlen werden. Dieses sollte für die Beurteilung schließlich maßgeblich sein, so dass statistisch ein höheres Ergebnis der Validität und operativen Qualität resultiert.

#### **4.5 Anwendung der quantitativen und qualitativen Analyse der ICG-Angiographie durch Flow@800**

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Analyse der verschiedenen Flusswerte der verschiedenen mikrovaskulären Anastomosen sowie deren Stenosierung durch die ICG-Angiographie stellt ebenfalls die erste Vergleichstudie in der Literatur dar. Schon früh wurde diese Möglichkeit jedoch in der Literatur als notwendige objektive Vergleichsmöglichkeit unterschiedlicher Flussmessungen diskutiert und gefordert (Detter *et al.* 2007; Kamp *et al.* 2011). Die Anwendung war jedoch meist auf tierexperimentelle Modelle ohne Vergleichsmöglichkeit oder weiterer Interpretationsmöglichkeit der ermittelten Flusskurven (Detter *et al.* 2007) oder auf Grund einer nicht möglichen Standardisierung des Versuchsaufbaus durch die Testung am Patienten limitiert (Kamp *et al.* 2011). Der Vorteil dieser Studien liegt jedoch darin, dass die Daten mit dem jeweiligen Goldstandard des jeweiligen Fachgebietes, also der direkten quantitativen real-time-Flussmessung in der Kardiologie (el-Beltagy *et al.* 2010) (Detter *et al.* 2007) oder der postoperativen digitalen Subtraktionsangiographie in der Aneurysmachirurgie (Kamp *et al.* 2011) verglichen wurden.

Die Anwendung des FLOW®800 unter standardisierten Bedingungen zeigt einen spezifischen Kurvenverlauf für die jeweiligen Gefäßtypen mit den unterschiedlichen Eigenschaften. Diese lassen sich wegen der erzielten analytischen Daten sehr gut verwenden, um Komplikationen nach entsprechenden mikrovaskulären Prozeduren zu detektieren. Umgekehrt ist es jedoch auch theoretisch möglich eine Verbesserung des Blutflusses mit Hilfe dieses Instrumentes festzustellen, um den Einfluss eines operativen Verfahrens zu evaluieren. So könnte die Anwendung nach erfolgter Thrombarterektomie an den verschiedenen Gefäßlokalisationen durch eine prä- und postinterventionelle Analyse Aufschluss über den erzielten Effekt liefern. Exemplarisch wurde dies bereits in der Literatur an Hand von Technikbeschreibungen erläutert (Haga *et al.* 2011). Die Quantifizierung des erzielten Ergebnisses kam jedoch auch hier noch nicht zur Anwendung.

Die Anwendungsmöglichkeit des FLOW®800 gehen insbesondere auf den Verdünnungseffekt des Fluoreszenzfarbstoffes und dessen Durchflusszeit durch das Gefäß zurück. Diese Möglichkeit der intraoperativen Analyse an Mikroanastomosen wurde bereits durch Holm *et al.* sowie weitere Autoren beschrieben (Holm *et al.* 2009; Waseda *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a). Auch Handa *et al.* konnten einen starken Zusammenhang zwischen der klinischen und angiographischen Signalintensität sowie der Durchflusszeit des detektierten Farbstoffes feststellen und zeigten einen signifikanten Bezug zwischen der Anastomose und den ermittelten Flusswerten auf (Handa *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a). Auch die Bestimmung der Signalintensität des Fluoreszenzfarbstoffes innerhalb des Gewebes konnte für die neugebildeten Kollateralgefäße als valider Parameter festgestellt und verwendet werden (Wuestenfeld *et al.* 2008). Die hierdurch erzielte Quantifizierung des Blutflusses wurde zwar semiquantitativ erzielt, zeigte aber einen validen Zusammenhang zur klinischen Situation in Abhängigkeit zur regionalen Durchblutung auf. Auch eine Standardisierung bzw. eine Kalibrierung zu einem Referenzwert konnte nicht gewährleistet werden. Sie spiegelt somit die Notwendigkeit der möglichen Vergleichbarkeit der verschiedenen Perfusionskriterien der ICG-Angiographie wider.

Die Objektivierung der Flusswerte der ICG-Angiographie mit Hilfe des FLOW®800-Tools kann nun eine solche Vergleichsmöglichkeit, wie bereits von Kamp *et al.* durchgeführt (Kamp *et al.* 2011), gewährleistet werden. Diese Möglichkeit ist sowohl

von klinischer als auch experimenteller Relevanz, um die verschiedenen Änderungen der Durchblutung objektiv zu erfassen (Liss und Liss 2000; Chen *et al.* 2006; Woitzik *et al.* 2006; Chen und Lee 2008; Rozen *et al.* 2008; Unno *et al.* 2008; Wolff *et al.* 2008; Wuestenfeld *et al.* 2008; Waseda *et al.* 2009; Holm *et al.* 2010a). Wie bereits dargelegt, sind andere Messverfahren meist sehr ungenau, untersucherabhängig oder zu teuer für die routinierte klinische Anwendung (Liss und Liss 2000; El-Saden *et al.* 2001; Netuka *et al.* 2006). Allerdings sind weitere Verbesserungen des vorhandenen Systems notwendig, um die geforderte Vergleichsmöglichkeit zu gewährleisten. Im Rahmen dieser Studie wurden die Flusskurven normiert, d.h. die Hintergrundaktivität des Fluoreszenzsignals wurde zunächst nach bereits erfolgten ICG-Angiographien gemessen und von der folgenden Untersuchung subtrahiert, da es sonst zu einem Anstieg der Flusskurve um diesen Wert gekommen wäre. Durch diese Art der Kalibrierung wurde die Vergleichbarkeit der verschiedenen Fluoreszenzkurven untereinander gewährleistet. Des Weiteren muss die ICG-Angiographie auch in pathologischen Flussbedingungen weiter evaluiert und deren Anwendungsmöglichkeiten getestet werden. Das Auftreten von Blutungen unterschiedlicher Intensität stellt während der ICG-Angiographie ein weiteres Problem dar, da der Fluoreszenzfarbstoff so im Gewebe angereichert und miterfasst wird. Dessen Elimination kann jedoch auf einfache Weise durch die Anwendung von Spüllösungen erfolgen, so dass die erneute ICG-Angiographie angewendet werden kann. Allerdings müssen auch spezifische operative Prozeduren auf die Anwendung der ICG-Angiographie kritisch in ihrer Validität sowie für das FLOW®800 Tool geprüft werden (Rao *et al.* 1983; Mahabir *et al.* 2001; Unno *et al.* 2010).

Weitere physiologische Fehlerquellen in der Vergleichbarkeit der Flusskurven liegen auch in dem unterschiedlichen Herz-Zeit-Volumen, dem unterschiedlichen Blutdruck des Patienten oder auch in lagebedingten Kreislaufveränderungen, die während der operativen Eingriffe mitberücksichtigt werden müssen (Aps *et al.* 1985; Macdonald 1985; Sigurdsson 1995). Jedoch ist dies im Rahmen der durchgeführten Narkoseverfahren meist gut steuerbar und von geringerer Relevanz.

Die Beurteilung des intravasalen Blutflusses ist für viele operative Verfahren von besonderer Bedeutung. Überwiegend bei mikrovaskulären Eingriffen ist vor allem die technische Fehlerquote als Ursache für postoperative Komplikationen relativ hoch.

Die frühzeitige Detektion dieser Komplikationen im Operationssaal sowie deren unmittelbare Beseitigung stellen hierbei für alle Beteiligten einen entscheidenden Vorteil dar. Durch die sofortige Kontrolle ergeben sich so zuverlässige und objektive Beurteilungsmaßstäbe, die zu einer Erhöhung der Sicherheit für den Patienten und den Chirurgen und somit zu verbesserten Behandlungsergebnissen führen. Der Behandlungserfolg ist neben wirtschaftlichen Verbesserungen somit deutlich erhöht, da der Patient keinem weiteren operativen Eingriff unterzogen werden muss und die Voraussetzungen für einen raschen Heilerfolg deutlich besser sind. Die bisherigen Monitoringverfahren sind sehr kostenintensiv, aufwändig oder unpraktikabel, so dass nun zunehmend die fluoreszenzbasierte Indocyanin-Grün-Angiographie als mögliches Verfahren in den Fokus rückt. Die Anwendung der ICG-Angiographie kann insgesamt als ein sicheres Verfahren bezeichnet werden. Es weist eine hohe Sensitivität und Spezifität auf. Durch die zusätzliche Anwendung des FLOW@800 Tools wird deren Anwendung zunehmend objektiviert. Vornehmlich die Beurteilung der Area under the curve, der Steigung bis zum ersten und zweiten Maximum, sowie des ersten Maximums zeigen sich in der linearen Regressionsanalyse als sehr aussagekräftige Parameter, die eine hohe Diskriminierung zwischen den verschiedenen Flussverhältnissen innerhalb der Gefäße zulassen. Hierdurch sind objektive Parameter mit einer hohen Aussagefähigkeit identifiziert worden, die es dem Beurteilenden auf Grund weniger Parameter ermöglichen, eine Aussage über die Qualität und Quantität des vorherrschenden Blutflusses zu treffen. Die hierdurch gewonnenen Informationen sollen dabei helfen, bereits intraoperativ kritisch das erzielte Ergebnis zu beurteilen und die Qualität der operativen Prozedur weiter zu verbessern oder quantitativ zu erfassen und in seiner Qualität zu bestätigen.

## ZUSAMMENFASSUNG

Die ICG-Angiographie bietet durch seine Integration in das Operationsmikroskop die Möglichkeit mikrovaskuläre Prozeduren unmittelbar nach Beendigung angiographisch zu kontrollieren. Da jedoch Validierungsstudien zur Sensitivität und Spezifität der Methode fehlen, war es Ziel der vorliegenden Studie diese Werte anhand eines standardisierten Rattenmodells zu ermitteln. Zusätzlich sollte die Möglichkeit der quantitativen und qualitativen Analyse des Fluoreszenzsignals überprüft werden, um die verschiedenen Flusswerte miteinander zu vergleichen und eine objektive Aussage über den Einfluss der operativen Interventionen treffen zu können. Dazu erfolgte die standardisierte Testung der ICG-Angiographie an 28 männlichen Wistar Ratten, deren A. femoralis, A. carotis und die Aorta präpariert sowie in End-zu-End-Technik anastomosiert wurden. Als vergleichende Untersuchung wurde der Mikro-Doppler verwendet, da er als Goldstandard in verschiedenen operativen Fachbereichen Verwendung findet. Anschließend wurden die Anastomosen künstlich stenosierte, um die Einengung des Gefäßes zu simulieren. Die ermittelte Sensitivität der ICG-Angiographie lag zusammenfassend bei 95,3% bei einer Spezifität von 100%. Der Doppler wies eine Sensitivität von 100% bei einer Spezifität von 86,9% auf. Bei höhergradigen Stenosierungen wiesen beide Verfahren eine Abnahme der Zuverlässigkeit der Untersuchungen auf, was auch mit den Angaben in der Literatur übereinstimmt. Die quantitative und qualitative Analyse des ICG-Fluoreszenzsignals anhand der verschiedenen Stenosegrade der Anastomose zeigte eine zuverlässige Diskriminierung zwischen den einzelnen Okklusionsraten. Auf Grund der linearen Regressionsanalyse konnten die Beurteilung der Area under the curve, der Steigung bis zum ersten und zweiten Maximum, sowie das erste Maximum als besonders wichtige objektive Variablen identifiziert werden, um eine genaue Analyse der verschiedenen Flusskompromittierungen zu gewährleisten. Das Verfahren der ICG-Angiographie weist eine hohe Zuverlässigkeit mit vielen Anwendungsmöglichkeiten auf. In Zukunft könnte mit Hilfe dieses neuen Verfahrens die intraoperative Qualitätskontrolle bei mikrovaskulären Operationen verbessert werden.

## 5. LITERATURVERZEICHNIS

- Acland, R. D. and Sabapathy, S. R. (2008). Practice Manual for Microvascular Surgery.
- Akdemir, H., Oktem, I. S., Tucer, B., Menku, A., Basaslan, K. and Gunaldi, O. (2006). "Intraoperative microvascular Doppler sonography in aneurysm surgery." Minim Invasive Neurosurg 49(5): 312-6.
- Akdemir, H., Oktem, S., Menku, A., Tucer, B., Tugcu, B. and Gunaldi, O. (2007). "Image-guided microneurosurgical management of small arteriovenous malformation: role of neuronavigation and intraoperative Doppler sonography." Minim Invasive Neurosurg 50(3): 163-9.
- Al-Kwif, O., Emery, D. J. and Wilman, A. H. (2002). "Vessel contrast at three Tesla in time-of-flight magnetic resonance angiography of the intracranial and carotid arteries." Magn Reson Imaging 20(2): 181-7.
- Amin-Hanjani, S., Shin, J. H., Zhao, M., Du, X. and Charbel, F. T. (2007). "Evaluation of extracranial-intracranial bypass using quantitative magnetic resonance angiography." J Neurosurg 106(2): 291-8.
- Aps, C., Cox, R. G., Mayou, B. J. and Sengupta, P. (1985). "The role of anaesthetic management in enhancing peripheral blood flow in patients undergoing free flap transfer." Ann R Coll Surg Engl 67(3): 177-9.
- Bailes, J. E., Tantuwaya, L. S., Fukushima, T., Schurman, G. W. and Davis, D. (1997). "Intraoperative microvascular Doppler sonography in aneurysm surgery." Neurosurgery 40(5): 965-70; discussion 970-2.
- Banis, J. C., Jr., Schwartz, K. S. and Acland, R. D. (1980). "Electromagnetic flowmetry--an experimental method for continuous blood flow measurement using a new island flap model." Plast Reconstr Surg 66(4): 534-44.
- Barkhordarian, S. and Dardik, A. (2004). "Preoperative assessment and management to prevent complications during high-risk vascular surgery." Crit Care Med 32(4 Suppl): S174-85.
- Barrow, D. L., Boyer, K. L. and Joseph, G. J. (1992). "Intraoperative angiography in the management of neurovascular disorders." Neurosurgery 30(2): 153-9.
- Benson, R. C. and Kues, H. A. (1978). "Fluorescence properties of indocyanine

- green as related to angiography." Phys Med Biol 23(1): 159-63.
- Benya, R., Quintana, J. and Brundage, B. (1989). "Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature." Cathet Cardiovasc Diagn 17(4): 231-3.
- Bischoff, P. M. and Flower, R. W. (1985). "Ten years experience with choroidal angiography using indocyanine green dye: a new routine examination or an epilogue?" Doc Ophthalmol 60(3): 235-91.
- Blackwell, K. E., Brown, M. T. and Gonzalez, D. (1997). "Overcoming the learning curve in microvascular head and neck reconstruction." Arch Otolaryngol Head Neck Surg 123(12): 1332-5.
- Bourget, A., Chang, J. T., Bin Shiun Wu, D., Chang, C. J. and Wei, F. C. (2011). "Free flap reconstruction in the head and neck region following radiotherapy: a cohort study identifying negative outcome predictors." Plast Reconstr Surg.
- Caesar, J., Shaldon, S., Chiandussi, L., Guevara, L. and Sherlock, S. (1961). "The use of indocyanine green in the measurement of hepatic blood flow and as a test of hepatic function." Clin Sci 21: 43-57.
- Camp, P. E. (1982). "The newer microsurgical techniques in neurosurgery." Head Neck Surg 4(6): 514-7.
- Chen, C. S. and Lee, A. W. (2008). "Management of acute central retinal artery occlusion." Nat Clin Pract Neurol 4(7): 376-83.
- Chen, H. C., Coskunfirat, O. K., Ozkan, O., Mardini, S., Cigna, E., Salgado, C. J. and Spanio, S. (2006). "Guidelines for the optimization of microsurgery in atherosclerotic patients." Microsurgery 26(5): 356-62.
- Chen, J. C., Salvian, A. J., Taylor, D. C., Teal, P. A., Marotta, T. R. and Hsiang, Y. N. (1998). "Predictive ability of duplex ultrasonography for internal carotid artery stenosis of 70%-99%: a comparative study." Ann Vasc Surg 12(3): 244-7.
- Cherrick, G. R., Kerr, D. N., Read, A. E. and Sherlock, S. (1960). "Colloid osmotic pressure and hydrostatic pressure relationships in the formation of ascites in hepatic cirrhosis." Clin Sci 19: 361-75.
- Colen, L. and Musson, A. (1987). "Preoperative assessment of the peripheral vascular disease patient for free tissue transfers." J Reconstr Microsurg 4(1): 1-14.



- Cooley, B. C. and Gould, J. S. (1987). "Experimental models for evaluating antithrombotic therapies in replantation microsurgery." Microsurgery 8(4): 230-3.
- Cui, H., Wang, Y., Yin, Y., Wan, J., Fei, Z., Gao, W. and Jiang, J. (2011). "Role of intraoperative microvascular Doppler in the microsurgical management of intracranial aneurysms." J Clin Ultrasound 39(1): 27-31.
- de Oliveira, J. G., Beck, J., Seifert, V., Teixeira, M. J. and Raabe, A. (2008). "Assessment of flow in perforating arteries during intracranial aneurysm surgery using intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography." Neurosurgery 62(6 Suppl 3): 1300-10.
- Derdeyn, C. P., Moran, C. J., Cross, D. T., Grubb, R. L., Jr. and Dacey, R. G., Jr. (1995). "Intraoperative digital subtraction angiography: a review of 112 consecutive examinations." AJNR Am J Neuroradiol 16(2): 307-18.
- Destro, M. and Puliafito, C. A. (1989). "Indocyanine green videoangiography of choroidal neovascularization." Ophthalmology 96(6): 846-53.
- Detter, C., Russ, D., Iffland, A., Wipper, S., Schurr, M. O., Reichensperner, H., Buess, G. and Reichart, B. (2002). "Near-infrared fluorescence coronary angiography: a new noninvasive technology for intraoperative graft patency control." Heart Surg Forum 5(4): 364-9.
- Detter, C., Wipper, S., Russ, D., Iffland, A., Burdorf, L., Thein, E., Wegscheider, K., Reichensperner, H. and Reichart, B. (2007). "Fluorescent cardiac imaging: a novel intraoperative method for quantitative assessment of myocardial perfusion during graded coronary artery stenosis." Circulation 116(9): 1007-14.
- Deverall, P. B., Padayachee, T. S., Parsons, S., Theobald, R. and Battistessa, S. A. (1988). "Ultrasound detection of micro-emboli in the middle cerebral artery during cardiopulmonary bypass surgery." Eur J Cardiothorac Surg 2(4): 256-60.
- el-Beltagy, M., Muroi, C., Roth, P., Fandino, J., Imhof, H. G. and Yonekawa, Y. (2010). "Recurrent intracranial aneurysms after successful neck clipping." World Neurosurg 74(4-5): 472-7.
- El-Saden, S. M., Grant, E. G., Hathout, G. M., Zimmerman, P. T., Cohen, S. N. and Baker, J. D. (2001). "Imaging of the internal carotid artery: the dilemma of total versus near total occlusion." Radiology 221(2): 301-8.

- Eriksson, E. and Heden, P. (1988). "Method for skin blood flow studies in the pig." Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg 22(3): 229-32.
- Ethunandan, M., Cole, R. and Flood, T. R. (2007). "Corlett loop for microvascular reconstruction in a neck depleted of vessels." Br J Oral Maxillofac Surg 45(6): 493-5.
- Feindel, W., Yamamoto, Y. L. and Hodge, C. P. (1967a). "Intracarotid fluorescein angiography: a new method for examination of the epicerebral circulation in man." Can Med Assoc J 96(1): 1-7.
- Feindel, W., Yamamoto, Y. L. and Hodge, P. (1967b). "The human cerebral microcirculation studied by intra-arterial radio-active tracers, Coomassie Blue and fluorescein dyes." Bibl Anat 9: 220-4.
- Firsching, R., Synowitz, H. J. and Hanebeck, J. (2000). "Practicability of intraoperative microvascular Doppler sonography in aneurysm surgery." Minim Invasive Neurosurg 43(3): 144-8.
- Fischer, G., Stadie, A. and Oertel, J. M. (2010). "Near-infrared indocyanine green videoangiography versus microvascular Doppler sonography in aneurysm surgery." Acta Neurochir (Wien) 152(9): 1519-25.
- Fox, I., Brooker, G., Heseltine, D., Essex, H. and Wood, E. (1956). "New dyes for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation." Circulation(14): 937-938.
- Fox, I. J., Brooker, L. G., Heseltine, D. W., Essex, H. E. and Wood, E. H. (1957). "A tricarbocyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation." Proc Staff Meet Mayo Clin 32(18): 478-84.
- Garski, T. R., Staller, B. J., Hepner, G., Banka, V. S. and Finney, R. A., Jr. (1978). "Adverse reactions after administration of indocyanine green." Jama 240(7): 635.
- Gentile, S., Bajema, B. L., Baldini, G., Lunazzi, G., Groothuis, G. M., Tiribelli, C., Meijer, D. K. and Sottocasa, G. L. (1985). "Measurement of the association of cholephylic organic anions with different binding proteins." Biochem Pharmacol 34(14): 2439-44.
- Gilsbach, J. M. (1983). Intraoperative Doppler Sonography in Neurosurgery. Wien, New York, Springer-Verlag.
- Gilsbach, J. M. and Hassler, W. E. (1984). "Intraoperative Doppler and real time

- sonography in neurosurgery." Neurosurg Rev 7(2-3): 199-208.
- Gonzalez-Darder, J. M., Pseudo-Martinez, J. V. and Feliu-Tatay, R. A. (2001). "Microsurgical management of cerebral aneurysms based in CT angiography with three-dimensional reconstruction (3D-CTA) and without preoperative cerebral angiography." Acta Neurochir (Wien) 143(7): 673-9.
- Haga, S., Nagata, S., Uka, A., Akagi, Y., Hamada, Y. and Shono, T. (2011). "Near-infrared indocyanine green videoangiography for assessment of carotid endarterectomy." Acta Neurochir (Wien) 153(8): 1641-4; discussion 1644.
- Hallock, G. G. (2008). "Is there a "learning curve" for muscle perforator flaps?" Ann Plast Surg 60(2): 146-9.
- Hanasono, M. M., Barnea, Y. and Skoracki, R. J. (2009). "Microvascular surgery in the previously operated and irradiated neck." Microsurgery 29(1): 1-7.
- Handa, T., Katare, R. G., Sasaguri, S. and Sato, T. (2009). "Preliminary experience for the evaluation of the intraoperative graft patency with real color charge-coupled device camera system: an advanced device for simultaneous capturing of color and near-infrared images during coronary artery bypass graft." Interact Cardiovasc Thorac Surg 9(2): 150-4.
- Hassler, W., Gilsbach, J. and Gaitzsch, J. (1983). "Results and value of immediate postoperative angiography after operations for arteriovenous malformations." Neurochirurgia (Stuttg) 26(5): 146-8.
- Holm, C., Dornseifer, U., Sturtz, G., Basso, G., Schuster, T. and Ninkovic, M. (2010a). "The intrinsic transit time of free microvascular flaps: clinical and prognostic implications." Microsurgery 30(2): 91-6.
- Holm, C., Dornseifer, U., Sturtz, G. and Ninkovic, M. (2010b). "Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration." J Reconstr Microsurg 26(5): 311-6.
- Holm, C., Mayr, M., Hofter, E., Dornseifer, U. and Ninkovic, M. (2009). "Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study." Microsurgery 29(7): 509-14.
- Hölzle, F., Franz, E. P., von Diepenbroick, V. H. and Wolff, K. D. (2003). "[Evaluation of the lower leg vessels before microsurgical fibula transfer.

- Magnetic resonance angiography versus digital subtraction angiography]."  
Mund Kiefer Gesichtschir 7(4): 246-53.
- Hölzle, F., Loeffelbein, D. J., Nolte, D. and Wolff, K. D. (2006). "Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry." J Craniomaxillofac Surg 34(1): 25-33.
- Hölzle, F., Ristow, O., Rau, A., Mücke, T., Loeffelbein, D. J., Mitchell, D. A., Stimmer, H., Wolff, K. D. and Kesting, M. R. (2011). "Evaluation of the vessels of the lower leg before microsurgical fibular transfer. Part II: magnetic resonance angiography for standard preoperative assessment." Br J Oral Maxillofac Surg.
- Hope-Ross, M., Yannuzzi, L. A., Gragoudas, E. S., Guyer, D. R., Slakter, J. S., Sorenson, J. A., Krupsky, S., Orlock, D. A. and Puliafito, C. A. (1994). "Adverse reactions due to indocyanine green." Ophthalmology 101(3): 529-33.
- Hovius, S. E., van Adrichem, L. N., Mulder, H. D., van Strik, R. and van der Meulen, J. C. (1993). "The predictive value of the laser Doppler flowmeter for postoperative microvascular monitoring." Ann Plast Surg 31(4): 307-12.
- Ilie, V., Ilie, V., Ghetu, N., Popescu, S., Grosu, O. and Pieptu, D. (2007). "Assessment of the microsurgical skills: 30 minutes versus 2 weeks patency." Microsurgery 27(5): 451-4.
- Jacobson, A. S., Eloy, J. A., Park, E., Roman, B. and Genden, E. M. (2008). "Vessel-depleted neck: techniques for achieving microvascular reconstruction." Head Neck 30(2): 201-7.
- Jacobson, J. H. and Suarez, E. L. (1960). "Microsurgery in anastomosis of small vessels." Surg Forum 11: 243-245.
- Kamp, M. A., Slotty, P., Turowski, B., Etminan, N., Steiger, H. J., Hanggi, D. and Stummer, W. (2011). "Microscope integrated quantitative analysis of intra-operative indocyanine green fluorescence angiography for blood flow assessment: First experience in 30 patients." Neurosurgery.
- Karasch, T. and Rubin, J. (1998). "Diagnosis of renal artery stenosis and renovascular hypertension." Eur J Ultrasound 7 Suppl 3: S27-39.
- Kato, Y., Nair, S., Sano, H., Sanjaykumar, M. S., Katada, K., Hayakawa, M. and Kanno, T. (2002). "Multi-slice 3D-CTA - an improvement over single slice

- helical CTA for cerebral aneurysms." Acta Neurochir (Wien) 144(7): 715-22.
- Kersh, R. A., Handren, J., Hergueter, C. and May, J. W., Jr. (1989). "Microvascular surgical experimental thrombosis model: rationale and design." Plast Reconstr Surg 83(5): 866-72; discussion 873-4.
- Khouri, R. K. (1992). "Avoiding free flap failure." Clin Plast Surg 19(4): 773-81.
- Kleinert, H. E. and Kasdan, M. L. (1963). "Restoration of Blood Flow in Upper Extremity Injuries." J Trauma 3: 461-76.
- Kruse, A. L., Luebbers, H. T., Gratz, K. W. and Obwegeser, J. A. (2010). "Factors influencing survival of free-flap in reconstruction for cancer of the head and neck: a literature review." Microsurgery 30(3): 242-8.
- Laborde, G., Gilsbach, J. and Harders, A. (1988). "The microvascular Doppler--an intraoperative tool for the treatment of large and giant aneurysms." Acta Neurochir Suppl (Wien) 42: 75-80.
- Lam, A. M. and Newell, D. W. (1996). "Intraoperative use of transcranial Doppler ultrasonography." Neurosurg Clin N Am 7(4): 709-22.
- Leevy, C. M., Smith, F., Longueville, J., Paumgartner, G. and Howard, M. M. (1967). "Indocyanine green clearance as a test for hepatic function. Evaluation by dichromatic ear densitometry." Jama 200(3): 236-40.
- Leistad, E., Ohmori, K., Peterson, T. A., Christensen, G. and DeMaria, A. N. (2001). "Quantitative assessment of myocardial perfusion during graded coronary artery stenoses by intravenous myocardial contrast echocardiography." J Am Coll Cardiol 37(2): 624-31.
- Li, J. C., Ji, Z. G., Cai, S., Jiang, Y. X., Dai, Q. and Zhang, J. X. (2005). "Evaluation of severe transplant renal artery stenosis with Doppler sonography." J Clin Ultrasound 33(6): 261-9.
- Liss, A. G. and Liss, P. (2000). "Use of a modified oxygen microelectrode and laser-Doppler flowmetry to monitor changes in oxygen tension and microcirculation in a flap." Plast Reconstr Surg 105(6): 2072-8.
- Macdonald, D. J. (1985). "Anaesthesia for microvascular surgery. A physiological approach." Br J Anaesth 57(9): 904-12.
- Machens, H. G., Mailaender, P., Rieck, B. and Berger, A. (1994). "Techniques of postoperative blood flow monitoring after free tissue transfer: an overview." Microsurgery 15(11): 778-86.

- Machens, H. G., Mailander, P., Kremer, M., Reimer, R. and Berger, A. (1999). "[Techniques for postoperative monitoring of tissue circulation after free microvascular tissue transplantation]." Handchir Mikrochir Plast Chir 31(2): 107-12.
- Mack, M. J. (2008). "Intraoperative coronary graft assessment." Curr Opin Cardiol 23(6): 568-72.
- Mahabir, R. C., Williamson, J. S., Carr, N. J. and Courtemanche, D. J. (2001). "Vascular resistance in human muscle flaps." Ann Plast Surg 47(2): 148-52.
- Mailaender, P., Machens, H. G., Waurick, R., Rieck, B. and Berger, A. (1994). "Routine monitoring in patients with free tissue transfer by laser-Doppler flowmetry." Microsurgery 15(3): 196-202.
- Martin, J. D., Buckley, A. R., Graeb, D., Walman, B., Salvian, A. and Hay, J. H. (2005). "Carotid artery stenosis in asymptomatic patients who have received unilateral head-and-neck irradiation." Int J Radiat Oncol Biol Phys 63(4): 1197-205.
- Mills, J. L., Fujitani, R. M. and Taylor, S. M. (1992). "Contribution of routine intraoperative completion arteriography to early infrainguinal bypass patency." Am J Surg 164(5): 506-10; discussion 510-1.
- Mücke, T., Borgmann, A., Wagenpfeil, S., Günzinger, R., Nöbauer, C., Lange, R., Slotta-Huspenina, J., Hölzle, F. and Wolff, K. D. (2011). "Autonomization of epigastric flaps in rats." Microsurgery 31(6): 472-8.
- Mücke, T., Scholz, M., Kesting, M. R., Wolff, K. D., Schmieder, K. and Harders, A. G. (2008). "Microsurgically induced aneurysm models in rats, Part II: clipping, shrinking and micro-Doppler sonography." Minim Invasive Neurosurg 51(1): 6-10.
- Mücke, T., Wolff, K. D., Wagenpfeil, S., Mitchell, D. A. and Hölzle, F. (2010). "Immediate microsurgical reconstruction after tumor ablation predicts survival among patients with head and neck carcinoma." Ann Surg Oncol 17(1): 287-95.
- Netuka, D., Benes, V., Mandys, V., Hlasenska, J., Burkert, J. and Benes, V., Jr. (2006). "Accuracy of angiography and Doppler ultrasonography in the detection of carotid stenosis: a histopathological study of 123 cases." Acta Neurochir (Wien) 148(5): 511-20; discussion 520.

- Ogawa, T., Okudera, T., Noguchi, K., Sasaki, N., Inugami, A., Uemura, K. and Yasui, N. (1996). "Cerebral aneurysms: evaluation with three-dimensional CT angiography." AJNR Am J Neuroradiol 17(3): 447-54.
- Ott, P. (1998). "Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding." Pharmacol Toxicol 83 Suppl 2: 1-48.
- Pattani, K. M., Byrne, P., Boahene, K. and Richmon, J. (2010). "What makes a good flap go bad? A critical analysis of the literature of intraoperative factors related to free flap failure." Laryngoscope 120(4): 717-23.
- Paumgartner, G. (1975). "The handling of indocyanine green by the liver." Schweiz Med Wochenschr 105(17 Suppl): 1-30.
- Pechlivanis, I., Kuebler, M., Harders, A. and Schmieder, K. (2009). "Perioperative complication rate of lumbar disc microsurgery depending on the surgeon's level of training." Cen Eur Neurosurg 70(3): 137-42.
- Pechlivanis, I., Schmieder, K., Scholz, M., Konig, M., Heuser, L. and Harders, A. (2005). "3-Dimensional computed tomographic angiography for use of surgery planning in patients with intracranial aneurysms." Acta Neurochir (Wien) 147(10): 1045-53; discussion 1053.
- Proust, F., Debono, B., Gerardin, E., Hannequin, D., Derrey, S., Langlois, O., Weber, J. and Freger, P. (2002). "Angiographic cerebral vasospasm and delayed ischemic deficit on anterior part of the circle of Willis. Usefulness of transcranial Doppler." Neurochirurgie 48(6): 489-99.
- Raabe, A., Beck, J., Gerlach, R., Zimmermann, M. and Seifert, V. (2003). "Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow." Neurosurgery 52(1): 132-9; discussion 139.
- Raabe, A., Nakaji, P., Beck, J., Kim, L. J., Hsu, F. P., Kamerman, J. D., Seifert, V. and Spetzler, R. F. (2005). "Prospective evaluation of surgical microscope-integrated intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography during aneurysm surgery." J Neurosurg 103(6): 982-9.
- Rao, V. K., Morrison, W. A., Angus, J. A. and O'Brien, B. M. (1983). "Comparison of vascular hemodynamics in experimental models of microvascular anastomoses." Plast Reconstr Surg 71(2): 241-7.
- Reiter, M., Horvat, R., Puchner, S., Rinner, W., Polterauer, P., Lammer, J., Minar,

- E. and Bucek, R. A. (2007). "Plaque imaging of the internal carotid artery - correlation of B-flow imaging with histopathology." AJNR Am J Neuroradiol 28(1): 122-6.
- Romani, R., Lehto, H., Laakso, A., Horcajadas, A., Kivisaari, R., von und zu Fraunberg, M., Niemela, M., Rinne, J. and Hernesniemi, J. "Microsurgery for previously coiled aneurysms: experience with 81 patients." Neurosurgery 68(1): 140-53; discussion 153-4.
- Rosenberg, A. J., Van Cann, E. M., van der Bilt, A., Koole, R. and van Es, R. J. (2009). "A prospective study on prognostic factors for free-flap reconstructions of head and neck defects." Int J Oral Maxillofac Surg 38(6): 666-70.
- Rozen, W. M., Phillips, T. J., Ashton, M. W., Stella, D. L., Gibson, R. N. and Taylor, G. I. (2008). "Preoperative imaging for DIEA perforator flaps: a comparative study of computed tomographic angiography and doppler ultrasound." Plast Reconstr Surg 121(1 Suppl): 1-8.
- Rubben, A., Eren, S., Krein, R., Younossi, H., Bohler, U. and Wienert, V. (1994). "Infrared videoangiography of the skin with indocyanine green--rat random cutaneous flap model and results in man." Microvasc Res 47(2): 240-51.
- Rubin, G. D., Walker, P. J., Dake, M. D., Napel, S., Jeffrey, R. B., McDonnell, C. H., Mitchell, R. S. and Miller, D. C. (1993). "Three-dimensional spiral computed tomographic angiography: an alternative imaging modality for the abdominal aorta and its branches." J Vasc Surg 18(4): 656-64; discussion 665.
- Russo, G., Di Maro, D., Grasso, U. and Daniele, B. (2001). "Carotid endarterectomy: a retrospective analysis. Microendarterectomy and transcranial Doppler ultrasound monitoring." J Neurosurg Sci 45(4): 206-12; discussion 212.
- Salcuni, M., Fiorentino, P., Pedicelli, A. and Di Stasi, C. (1996). "Diagnostic imaging in deep vein thrombosis of the limbs." Rays 21(3): 328-39.
- Sanzenbacher, K. E. (2005). "Intraoperative Monitoring during Aneurysm Surgery as a Neuroprotective Activity with Reference to Evoked Potential and Microvascular Doppler Techniques." Ann N Y Acad Sci 1053: 28-9.
- Scholz, M., Mücke, T., During, M., Pechlivanis, I., Schmieder, K. and Harders, A.



- G. (2008). "Microsurgically induced aneurysm models in rats, part I: techniques and histological examination." Minim Invasive Neurosurg 51(2): 76-82.
- Schön, R., Gutwald, R., Schramm, A., Duker, J., Gellrich, N. C. and Schmelzeisen, R. (2002). "[Color duplex ultrasound in monitoring vascularized fibula transplants]." Mund Kiefer Gesichtschir 6(5): 319-22.
- Sekhar, L. N. and Nelson, P. B. (1983). "A technique of clipping giant intracranial aneurysms with the preservation of the parent artery." Surg Neurol 20(5): 361-8.
- Sigurdsson, G. H. (1995). "Perioperative fluid management in microvascular surgery." J Reconstr Microsurg 11(1): 57-65.
- Slavin, S. A. (1983). "Microvascular reconstruction of the hand." Clin Plast Surg 10(1): 139-43.
- Stendel, R., Pietila, T., Al Hassan, A. A., Schilling, A. and Brock, M. (2000). "Intraoperative microvascular Doppler ultrasonography in cerebral aneurysm surgery." J Neurol Neurosurg Psychiatry 68(1): 29-35.
- Sutterer, W. F., Hardin, S. E., Benson, R. W., Krovetz, L. J. and Schiebler, G. L. (1966). "Optical behavior of indocyanine green dye in blood and in aqueous solution." Am Heart J 72(3): 345-50.
- Tan, O., Kantarci, M., Parmaksizoglu, D., Uyanik, U. and Durur, I. (2007). "Determination of the recipient vessels in the head and neck using multislice spiral computed tomography angiography before free flap surgery: a preliminary study." J Craniofac Surg 18(6): 1284-9.
- Taylor, G. I., Miller, G. D. and Ham, F. J. (1975). "The free vascularized bone graft. A clinical extension of microvascular techniques." Plast Reconstr Surg 55(5): 533-44.
- Thornton, J., Bashir, Q., Aletich, V. A., Debrun, G. M., Ausman, J. I. and Charbel, F. T. (2000). "What percentage of surgically clipped intracranial aneurysms have residual necks?" Neurosurgery 46(6): 1294-8; discussion 1298-300.
- Tonken, H. P., Zhang, F., Yim, K. K., Gencosmanoglu, R., Sudekum, A. E., Campagna-Pinto, D., Newlin, L., Buncke, H. J. and Lineaweaver, W. C. (1995). "Experimental microvenous thrombosis following anastomosis with a knotted suture." Microsurgery 16(2): 98-102.

- Uhl, E., Zausinger, S., Morhard, D., Heigl, T., Scheder, B., Rachinger, W., Schichor, C. and Tonn, J. C. (2009). "Intraoperative computed tomography with integrated navigation system in a multidisciplinary operating suite." Neurosurgery 64(5 Suppl 2): 231-9; discussion 239-40.
- Unno, N., Nishiyama, M., Suzuki, M., Tanaka, H., Yamamoto, N., Sagara, D., Mano, Y. and Konno, H. (2010). "A novel method of measuring human lymphatic pumping using indocyanine green fluorescence lymphography." J Vasc Surg 52(4): 946-52.
- Unno, N., Suzuki, M., Yamamoto, N., Inuzuka, K., Sagara, D., Nishiyama, M., Tanaka, H. and Konno, H. (2008). "Indocyanine green fluorescence angiography for intraoperative assessment of blood flow: a feasibility study." Eur J Vasc Endovasc Surg 35(2): 205-7.
- van Everdingen, K. J., Visser, G. H., Klijn, C. J., Kappelle, L. J. and van der Grond, J. (1998). "Role of collateral flow on cerebral hemodynamics in patients with unilateral internal carotid artery occlusion." Ann Neurol 44(2): 167-76.
- Waseda, K., Ako, J., Hasegawa, T., Shimada, Y., Ikeno, F., Ishikawa, T., Demura, Y., Hatada, K., Yock, P. G., Honda, Y., Fitzgerald, P. J. and Takahashi, M. (2009). "Intraoperative fluorescence imaging system for on-site assessment of off-pump coronary artery bypass graft." JACC Cardiovasc Imaging 2(5): 604-12.
- Wei, F. C., Demirkan, F., Chen, H. C., Chen, I. H., Liao, C. T. and Hau, S. P. (1999). "Management of secondary soft-tissue deficits following microsurgical head and neck reconstruction by means of another free flap." Plast Reconstr Surg 103(4): 1158-66.
- Wheeler, H. O., Cranston, W. I. and Meltzer, J. I. (1958). "Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green in the dog." Proc Soc Exp Biol Med 99(1): 11-4.
- Witt, P. D., Miller, D. C., Marsh, J. L., Muntz, H. R. and Grames, L. M. (1998). "Limited value of preoperative cervical vascular imaging in patients with velocardiofacial syndrome." Plast Reconstr Surg 101(5): 1184-95; discussion 1196-9.
- Woitzik, J., Horn, P., Vajkoczy, P. and Schmiedek, P. (2005). "Intraoperative control of extracranial-intracranial bypass patency by near-infrared

- indocyanine green videoangiography." J Neurosurg 102(4): 692-8.
- Woitzik, J., Pena-Tapia, P. G., Schneider, U. C., Vajkoczy, P. and Thome, C. (2006). "Cortical perfusion measurement by indocyanine-green videoangiography in patients undergoing hemispherectomy for malignant stroke." Stroke 37(6): 1549-51.
- Wolff, K. D., Holzle, F., Wysluch, A., Mucke, T. and Kesting, M. (2008). "Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery." Microsurgery 28(3): 143-6.
- Wolff, K. D., Mücke, T., Lehmbrock, J., Loeffelbein, D. J., Kesting, M. R. and Hölzle, F. (2009). "Rapid autotransfer of a combined fibular- and anterolateral thigh flap transferred by a wrist carrier to an irradiated and vessel depleted neck." J Surg Oncol 99(2): 123-6.
- Wong, K. K., Higgins, K. M. and Enepekides, D. J. (2010). "Microvascular reconstruction in the vessel-depleted neck." Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg 18(4): 223-6.
- Wu, D. E. and Young, D. M. (1995). "Duplex diagnosis of venous insufficiency in a free flap." Ann Plast Surg 34(6): 635-6.
- Wuestenfeld, J. C., Herold, J., Niese, U., Kappert, U., Schmeisser, A., Strasser, R. H. and Braun-Dullaeus, R. C. (2008). "Indocyanine green angiography: a new method to quantify collateral flow in mice." J Vasc Surg 48(5): 1315-21.
- Yang, J. J., Hill, M. D., Morrish, W. F., Hudon, M. E., Barber, P. A., Demchuk, A. M., Sevick, R. J. and Frayne, R. (2002). "Comparison of pre- and postcontrast 3D time-of-flight MR angiography for the evaluation of distal intracranial branch occlusions in acute ischemic stroke." AJNR Am J Neuroradiol 23(4): 557-67.
- Yoshino, K., Nara, S., Endo, M. and Kamata, N. (1996). "Intraoral free flap monitoring with a laser Doppler flowmeter." Microsurgery 17(6): 337-40.
- Zhang, Q., Houghton, A. D., Derodra, J., King, D. H., Reidy, J. F. and Taylor, P. R. (1995). "Impedance analysis compared with Quickscan in the detection of graft-related stenoses." Eur J Vasc Endovasc Surg 9(2): 218-21.
- Zhang, Z., Takarada, S. and Molloy, S. (2011). "Quantification of coronary microvascular resistance using angiographic images for volumetric

blood flow measurement: in vivo validation." Am J Physiol Heart Circ Physiol 300(6): H2096-104.

## 6. ANHANG

### ABBILDUNGSVERZEICHNIS

#### *Abbildungen*

- Abbildung 1.** Darstellung einer Thrombosierung bedingt durch eine Verdrehung des mikrovaskulären Gefäßstiels im Bereich der venösen Anastomose (oben), die klinisch durch eine venöse Stauung des Gewebetransplantates imponierte. Nach Thrombektomie und erneuter Reanastomosierung (unten) konnte der venöse Abfluss des Transplantates wieder regelrecht erfolgen und das Transplantat zeigte einen unauffälligen Heilungsverlauf. .... - 8 -
- Abbildung 2.** Darstellung einer DSA der supraaortalen Gefäße mit multiplen Gefäßstenosen, die sich als Gefäßverengungen zeigen. .... - 10 -
- Abbildung 3.** Anwendung des Mikrodopplers im Rahmen einer neurochirurgischen Versorgung der A. carotis interna nach Aneurysmaruptur und bereits erfolgter Clipapplikation. Der Mikrodoppler wird zur intraoperativen Kontrolle des Blutflusses verwendet. .... - 12 -
- Abbildung 4.** Darstellung einer Carotis der Ratte mit der ICG-Videoangiographie mit der früharteriellen, arteriellen und venösen Phase, analog der Darstellung bei der konventionellen Angiographie. .... - 13 -
- Abbildung 5.** Strukturformel von ICG ..... - 14 -
- Abbildung 6.** Darstellung eines experimentellen Aneurysmas in der Ratte (Mücke *et al.* 2008; Scholz *et al.* 2008) (links) und Applikation der ICG-Videoangiographie zur Visualisierung des Blutflusses (rechts). Das dargestellte Aneurysma erscheint nicht perfundiert, was durch das fehlende Fluoreszenzsignal angezeigt wird. .... - 14 -
- Abbildung 7.** Darstellung der A. und V. femorales (links) zur Vorbereitung auf die dauerhafte Kanülierung durch einen Venenverweilkatheter (rechts). .... - 18 -
- Abbildung 8.** Darstellung des zentralen Venenverweilkatheters zur Applikation des ICG-Farbstoffes und der Narkose. .... - 19 -
- Abbildung 9.** Darstellung der Anastomosierung der A. und V. femorales mit Hilfe eines Approximatorclips (links). Die Arterie wurde bereits komplett reanastomosiert, die Vene wurde durchtrennt. Nach Reanastomosierung dargestellte A. und V. femorales (rechts). .... - 19 -
- Abbildung 10.** Darstellung der freigelegten A. carotis communis der Ratte vorbereitet zur Anastomosierung (links). Nach erfolgter Anastomose wurde der Approximatorclip entfernt und der Blutfluss wieder freigegeben (rechts). .... - 20 -
- Abbildung 11.** Darstellung der freigelegten Aorta und V. cava (links). Nach temporärem Ausclippen der Aorta wurde diese anastomosiert (rechts). .... - 21 -
- Abbildung 12.** Darstellung des verwendeten DWL Smart Dop®. .... - 22 -
- Abbildung 13.** Darstellung des OPMI Pentero Mikroskopes mit integrierter ICG-Angiographie (Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Germany). .... - 23 -
- Abbildung 14.** Darstellung der mehrfachen Vermessung der Gefäße mit Hilfe des 1/10 Millimeterpapiers. .... - 26 -
- Abbildung 15.** Darstellung der ICG-Konzentration im Blutvolumen nach Injektion. Durch die

verschiedenen pharmakodynamischen Abläufe kommt es zu unterschiedlichen Verteilungen in den verschiedenen Kompartimenten: links wird die lokale Konzentration nach Injektion in die Vene dargestellt, mittig wird die Verteilung im Blut nach Passage durch das Herz – und Lungensystem entsprechend einer Gauss’schen Verteilungskurve dargestellt. Rechts wird die Elimination durch die hepatische Passage gezeigt. .... - 28 -

Abbildung 16. Darstellung der verschiedenen Phasen der ICG-Angiographie..... - 30 -

**Abbildung 17.** ICG-Angiographie der A. und V. femoralis der Ratte mit punktueller Flussausparung (links) durch eine Ligatur der A. iliaca circumflexa profunda femoris. Im rechten Bild zeigt sich ein Vasospasmus der A. femoralis im proximalen Anteil. Nach mikrochirurgischer Skelettierung des Gefäßes löste sich der Vasospasmus komplett. .... - 32 -

**Abbildung 18.** ICG-Angiographie der A. femoralis der Ratte und sequentielle Darstellung des Fluoreszenzsignals. Die Abstände zwischen den Bilder entsprechen 0,25 Sekunden. .... - 33 -

**Abbildung 19.** Klinische Situation des unter Abb. als ICG-Videoangiographie dargestellten Gefäßes. - 34 -

**Abbildung 20.** Darstellung eines falsch negativen Ergebnisses durch die ICG\_Videoangiographie. Oben wird die klinische Situation bei einer Stenosierung der Anastomose von 50% illustriert, in der Mitte zeigt sich das korrespondierende ICG\_Angiographiesignal. Nach positivem Milkman-Test sowie positivem Doppler-Signal wurde das Gefäß distal der Anstomose durchtrennt. Diese zeigt einen Blutfluss aus dem proximalen Anastomosenanteil (unten). .... - 36 -

**Abbildung 21.** Beurteilung der Mikro-Doppler-Sonographie an Hand des intraoperativen Doppler-Signals korreliert mit den erzeugten Stenosegraden der Anastomosen..... - 38 -

**Abbildung 22.** Doppler-Kurven einer Anastomose mit zunehmender Stenosierung im Bereich der A. femoralis. Die obere Zeile zeigt die Basisaufnahme (links) und nach erfolgter Anastomosierung (rechts). Im mittleren Teil ist die Anastomose zu 25% (links) und 50% (rechts) stenosierte, im unteren Teil zu 75% (links) sowie zu 100% (rechts). Die Einstellungen des Dopplers sind unterhalb der Kurve protokolliert. .... - 39 -

**Abbildung 23.** Doppler-Kurven einer Anastomose mit zunehmender Stenosierung im Bereich der A. carotis communis. Die obere Zeile zeigt die Basisaufnahme (links) und nach erfolgter Anastomosierung (rechts). Im mittleren Teil ist die Anastomose zu 25% (links) und 50% (rechts) stenosierte, im unteren Teil zu 75% (links) sowie zu 100% (rechts)..... - 40 -

**Abbildung 24.** Doppler-Kurven einer Anastomose mit zunehmender Stenosierung im Bereich der Aorta. Die obere Zeile zeigt die Basisaufnahme (links) und nach erfolgter Anastomosierung (rechts). Im mittleren Teil ist die Anastomose zu 25% (links) und 50% (rechts) stenosierte, im unteren Teil zu 75% (links) sowie zu 100% (rechts). .... - 41 -

**Abbildung 25.** Gegenüberstellung der Sensitivität, Spezifität, negativer und positiver prädiktiver Wert für beide Untersuchungsmethoden. .... - 43 -

**Abbildung 26.** Basiskurven der verschiedenen Gefäßlokalisationen mit dem emittierten Fluoreszenzsignal und den korrespondierenden Flusskurven. Durch die Leberpassage mit der Elimination des ICG-Farbstoffes kommt es zu einem zweiten, deutlich kleinerem Peak. Die Kurven sind auf Grundlage aller ICG-Flussbestimmungen an den Gefäßen zusammenfassend dargestellt.- 45

-

**Abbildung 27.** Flusskurven der Aorta mit den verschiedenen Stenosierungen. Durch die verschiedenen Grade der Lumeneinengung kommt es zu einer Veränderung der Kurvenkonfiguration des Flusssignals, welches sich im vorliegenden Bild typisch darstellt. .... - 57 -

**Abbildung 28.** Flusskurven der A. carotis mit den verschiedenen Stenosierungen. Durch die verschiedenen Grade der Lumeneinengung kommt es zu einer Veränderung der Kurvenkonfiguration des Flusssignals, ähnlich wie an der Aorta, jedoch deutlicher ausgeprägt. Der zweite Peak flacht mit zunehmender Lumeneinengung stärker ab, ein Anstieg nach dem ersten Maximum ist ab einer Stenosierung von 50% nicht mehr zu erkennen. .... - 59 -

**Abbildung 29.** Flusskurven der A. femoralis mit den verschiedenen Stenosierungen. Die Lumeneinengung wirkt sich etwas anders aus als bei der Aorta oder Carotis. Das Maximum der Flusskurve ist stärker betroffen als der Übergang zwischen erstem und zweitem Maximum der Kurve. - 61 -

**Abbildung 30.** Darstellung der Area under the curve für die verschiedenen Gefäßtypen. .... - 63 -

**Abbildung 31.** Darstellung des ersten und zweiten Maximums als Fehlerbalkendiagramm. .... - 63 -

**Abbildung 32.** Darstellung der Steigung zum ersten und zweiten Peak in der Gegenüberstellung. Während die Fehlerbalken der Steigung zum ersten Peak relativ deutliche Unterschiede aufweisen, zeigen sich in der Steigung zum zweiten Peak geringere Unterschiede auf. .... - 64 -

**Abbildung 33.** Darstellung der korrespondierenden farbkodierten Auswertungen im Vergleich zur klinischen Situation bei verschiedenen Stenosegraden (linke Spalte) und unter Darstellung der ICG-Flusskurve (rechte Spalte) am Beispiel einer A. carotis. .... - 67 -

**Abbildung 34.** Gegenüberstellung der verschiedenen Anastomosen an der Aorta mit unterschiedlichen Stenosegraden (rechte Spalte) im Vergleich mit der fertig gestellten Anastomose (linke Spalte). Die Anpassung der Farbkodierung ist an den verschiedenen Skalierungen orientiert (rechts unter je Zeile), der Fluss innerhalb der Anastomose ist jedoch immer identisch und wird nur im Verhältnis zur ICG-Durchflussgeschwindigkeit im jeweilig analysierten Gefäß farblich dargestellt. - 68 -

**Abbildung 35.** Gegenüberstellung der verschiedenen Anastomosen mit unterschiedlichen Stenosegraden (rechte Spalte) im Vergleich mit der fertig gestellten Anastomose (linke Spalte). Die Anpassung der Farbkodierung ist an den verschiedenen Skalierungen orientiert (rechts unter je Zeile), der Fluss innerhalb der Anastomose ist jedoch immer identisch und wird nur im Verhältnis zur ICG-Durchflussgeschwindigkeit im jeweilig analysierten Gefäß farblich dargestellt. .... - 70 -

**Abbildung 36.** Gegenüberstellung der verschiedenen Anastomosen mit unterschiedlichen Stenosegraden (rechte Spalte) im Vergleich mit der fertig gestellten Anastomose (linke Spalte). Die Anpassung der Farbkodierung ist an den verschiedenen Skalierungen orientiert (rechts unter je Zeile), der Fluss innerhalb der Anastomose ist jedoch immer identisch und wird nur im Verhältnis zur ICG-Durchflussgeschwindigkeit im jeweilig analysierten Gefäß farblich dargestellt. .... - 72 -

## TABELLENVERZEICHNIS

<b>Tabelle 1.</b> Darstellung der Abhängigkeit des Flächeninhaltes, Umfanges und Blutflusses vom prozentualen und absoluten Durchmesser des Gefäßes.....	- 25 -
<b>Tabelle 2.</b> Darstellung der Untersuchungsergebnisse der ICG-Angiographie an Hand der verschiedenen Stenosierungen der Anastomosen. ....	- 35 -
<b>Tabelle 3.</b> Darstellung der Untersuchungsergebnisse der Mikro-Doppler-Sonographie an Hand der verschiedenen Stenosierungen der Anastomosen. ....	- 42 -
<b>Tabelle 4.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben sind die Ausgangswerte von mikrochirurgischer Intervention. ....	- 46 -
<b>Tabelle 5.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach erfolgreicher Anastomosierung des Gefäßes. ....	- 46 -
<b>Tabelle 6.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 25%.....	- 47 -
<b>Tabelle 7.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 50%.....	- 47 -
<b>Tabelle 8.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 75%.....	- 48 -
<b>Tabelle 9.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der Aorta. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 100%.....	- 48 -
<b>Tabelle 10.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben sind die Ausgangswerte vor mikrochirurgischer Intervention.....	- 49 -
<b>Tabelle 11.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach erfolgreicher Anastomosierung des Gefäßes.....	- 49 -
<b>Tabelle 12.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 25%.....	- 50 -
<b>Tabelle 13.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 50%.....	- 50 -
<b>Tabelle 14.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 75%.....	- 51 -
<b>Tabelle 15.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. carotis communis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 100%.....	- 51 -
<b>Tabelle 16.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben sind die Ausgangswerte vor mikrochirurgischer Intervention. ....	- 52 -
<b>Tabelle 17.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach erfolgreicher Anastomosierung des Gefäßes. ....	- 52 -
<b>Tabelle 18.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 25%.....	- 53 -
<b>Tabelle 19.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 50%.....	- 53 -
<b>Tabelle 20.</b> Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden	



die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 75%..... - 54 -

**Tabelle 21.** Darstellung der emittierten Messwerte im Bereich der A. femoralis. Angegeben werden die ermittelten Werte nach Anastomosierung und Einengung des Gefäßes um 100%..... - 54 -

**Tabelle 22.** Analyse der Variablen mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose. .... - 55 -

**Tabelle 23.** Analyse der Variablen der Aorta mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose. .... - 56 -

**Tabelle 24.** Analyse der Variablen der A. carotis mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose. .... - 58 -

**Tabelle 25.** Analyse der Variablen der A. femoralis mit Hilfe des Wilcoxon Test zum Vergleich der erhaltenen Werte nach Stenosierung der Gefäße im Verhältnis zur genähten Anastomose. .... - 60 -

## 7. CURRICULUM VITAE



**Name** Thomas Mücke

**Geburtstag** Am 19.08.1979 in Bochum

### **Studium**

2000-2006 Studium der Humanmedizin an der Ruhr Universität Bochum

2007 Studium der Zahnheilkunde an der Westfälischen  
Wilhelmsuniversität Münster

2007- 2011 Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-  
Universität München

### **Wissenschaftliche Ausbildung**

2007 Medizinische Dissertation  
Thema: Mikrochirurgische Aneurysmamodelle an der Ratte –  
Trainingsmöglichkeiten und histologische Analyse

### **Tätigkeiten**

2006-2007 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Klinik für Mund-, Kiefer-  
und Plastische Gesichtschirurgie im Klinikum Bochum-  
Langendreer der Ruhr-Universität Bochum (Ärztlicher  
Direktor Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff)

Seit 2007 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Klinik für Mund-, Kiefer-  
und Gesichtschirurgie am Klinikum rechts der Isar der  
Technischen Universität München (Ärztlicher Direktor: Univ.-  
Prof. Dr. Dr. Dr. K.-D. Wolff)

## 8. DANKSAGUNG

Zunächst möchte ich allen Personen danken, die mich in der Zeit meiner Dissertationsarbeit begleitet und unterstützt haben. Dadurch erst konnte diese Arbeit überhaupt gelingen. Für das entgegengebrachte Vertrauen bin ich in ganz besonderer Weise dankbar und hoffe es stets rechtfertigen zu können.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Wolff, Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Frank Hölzle und Prof. Dr. med. Martin Scholz möchte ich vor allem für die Unterstützung bei der Umsetzung des Projektkonzeptes danken. Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. dent. Wolff gilt zudem mein Dank für die stetige Ermunterung zur Bearbeitung der wissenschaftlichen Themen und die großartige Unterstützung und Betreuung. Ohne ihn wäre diese Arbeit für mich nicht möglich gewesen.

Frau Prof. Dr. med. Monika von Düring gilt mein besonderer Dank für die erfrischenden Diskussionen und gemeinsamen Stunden am Operationsmikroskop. Durch ihre herzliche Art und die motivierende Unterstützung war die Arbeit immer mit viel Freude verbunden.

Herrn Prof. Stefan Wagenpfeil danke ich für die Unterstützung und Korrektur der statistischen Auswertung und der steten konstruktiven Diskussion der Ergebnisse. Seine Tipps haben mir sehr geholfen.

Dem Team des Tierstalls und der Anatomie des KAFFZ der Ruhr-Universität Bochum, insbesondere Herrn Brüning und Frau Schneider, möchte ich für die tolle und vor allem unkomplizierte Unterstützung danken. Auch den verwendeten Versuchstieren möchte ich an dieser Stelle meinen Respekt und meine Wertschätzung zum Ausdruck bringen.

Allen Industriepartnern, die mir die Geräte für die Erstellung der vorliegenden Arbeit kostenlos zur Verfügung gestellt haben, möchte ich an dieser Stelle für die reibungslose und zwanglose Zusammenarbeit danken.

Meiner lieben Doris Martino danke ich für die germanistische Korrektur dieser Arbeit. Hierdurch ist diese Promotion für alle Beteiligten besser verständlich und interessanter zu lesen geworden. Ich hoffe daher, und bin diesbezüglich auch zuversichtlich, dass der Leser an dieser Stelle Freude durch den Inhalt und Stil der Arbeit empfunden hat.