

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

Innovative mikrovaskuläre Techniken
– klinische und apparative Untersuchungen, sowie kritische Evaluation

Lucas Maximilian Ritschl

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

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

Prüfer der Dissertation:

1. Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff
2. apl. Prof. Dr. Dr. A. Kolk

Die Dissertation wurde am 24.04.2013 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 13.11.2013 angenommen.

Meinen Eltern und meiner Schwester

„The successful transplantation of a block of composite tissue by reanastomosing the microvascular pedicle has untold experimental and clinical possibilities“

by Harry J. Buncke, Jr.

Inhaltsverzeichnis

Innovative mikrovaskuläre Nahttechniken - Trainingsmöglichkeiten, Analyse und Anwendung -

1. Einleitung.....	1
1.1. Mikrochirurgie und mikrovaskuläre Chirurgie.....	1
1.1.1. Geschichte und Entwicklung zum Goldstandard der rekonstruktiven Defektdeckung im Hals- und Kopfbereich.....	1
1.1.2. Standardtechniken mikrochirurgischer Gefäßanastomosen	3
1.1.3. Hilfsmittel in der mikrovaskulären Chirurgie.....	7
1.2. Prinzipien des motorischen Lernens in der chirurgischen Ausbildung und Einteilung mikrochirurgischer Trainingsmodelle.....	11
1.3. Strömungstechnische Grundlagen	12
1.3.1. Strömungsbegriffe.....	12
1.3.2. Fließeigenschaften von Blut und Besonderheiten der Mikrozirkulation.....	13
1.3.3. Hämorrheologie an Bifurkationen.....	14
1.4. Problematik.....	15
2. Material und Methodik	17
2.1. Shield-Protection-Technique	17
2.1.1. Plättchenherstellung	17
2.1.2. Nahttechnik.....	18
2.1.3. Ablauf der Studie und Evaluation der Anastomose	21
2.1.4. Auswertung.....	22
2.2. neue End-zu-Seit-Technik.....	23
2.2.1. Nahttechnik.....	23
2.2.2. Erläuterung des Versuchaufbaus.....	29
2.2.3. Messwerterfassung und Auswertung.....	36
2.3. Embolienmodell in einer Aorta der Ratte	40
2.3.1. Anästhesie, Operationsvorbereitungen und Operation.....	40
2.3.2. Gruppeneinteilung.....	41
2.3.3. Auswertung.....	44
3. Ergebnisse	49
3.1. Shield-Protection-Technique	49

3.1.1.	arterielle Anastomosen	49
3.1.2.	venöse Anastomosen	50
3.2.	Neue End-zu-Seit-Technik	53
3.2.1.	physiologische Bifurkation	53
3.2.2.	Goldstandard	54
3.2.3.	zu evaluierende End-zu-Seit- (OES-) Technik	56
3.3.	Emboliemodell in einer Aorta einer Ratte.....	60
3.3.1.	Histologische Veränderungen.....	61
3.3.2.	Anastomosendurchgängigkeit und Thrombosemenge	66
4.	Diskussion	73
4.1.	Shield-Protection-Technique	73
4.1.1.	Diskussion der Ergebnisse.....	73
4.1.2.	Vergleich der „Shield-Protection-Technique“ mit weiteren intraluminalen Hilfsmitteln.....	75
4.1.3.	Ausblick.....	76
4.2.	neue End-zu-Seit- (OES-) Technik.....	77
4.2.1.	Relevanz rheologischer Analysen und Vergleich der verwendeten Parameter mit der Literatur	77
4.2.2.	Diskussion der Ergebnisse.....	78
4.2.3.	Vergleich der OES-Technik mit weiteren End-zu-Seit-Techniken	80
4.2.4.	Die Laser-Doppler-Anemometrie im Vergleich mit weiteren, alternativen Messmethoden	81
4.2.5.	Ausblick.....	83
4.3.	Emboliemodell in einer Aorta einer Ratte.....	85
4.3.1.	Diskussion der histologischen Ergebnisse.....	85
4.3.2.	Rolle und Vorkommen von Thrombose und Embolien in der Mikrochirurgie und Vergleich beschriebener Emboliemodelle.....	89
4.3.3.	Polyurethan: Entwicklung und Bedeutung in der Medizin	92
4.3.4.	Ausblick.....	93
5.	Zusammenfassung	95
6.	Literaturverzeichnis	97
7.	Anhang.....	117
7.1.	Veröffentlichungen Teile der Doktorarbeit.....	117
7.2.	neue End-zu-Seit-Technik.....	118

7.2.1. physiologische Bifurkation.....	118
7.2.2. End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard	119
7.2.3. End-zu-Seit-Anastomose nach neuer (OES-) Technik.....	121
7.3. Abbildungsverzeichnis	123
7.4. Tabellenverzeichnis	126
8. Curriculum Vitae	127
9. Danksagung.....	128

Abkürzungen

α	Womersley Parameter
A./a.	Arteria
Abb.	Abbildung
AH	adventitielle Hyperzellularität
bFGF	basic fibroblast growth factor
bzw.	beziehungsweise
DPD	Distal Protecting Device
EGF	epidermal growth factor
EPD	Embolisation Protecting Device
g	Gramm
Gly-Was-Sep	Glycerol-Wasser-Separan
GOLD	Goldstandard
IEI	Irritation der Lamina elastica interna
IH	Intima Hyperplasie
i.p.	intraperitoneal
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kg KG	Kilogramm pro Körpergewicht
kHz	Kilohertz
LAVA	Laser assisted vessel anastomosis
LDA	Laser-Doppler-Anemometrie
MFI	Media Fibrozyten Infiltration
M./m.	Musculus
mg	Milligramm
ml/min	Milliliter pro Minute

m/s	Meter pro Sekunde
mW	Milliwatt
N	Nekrose
nm	Nanometer
NL	Neovaskularisation und Lymphangiogenese
OES	Opened End-to-Side
PDGF	platelet-derived growth factor
Re	Reynoldszahl
Rep. Dyn. Visk.	Repräsentative dynamische Viskosität
s.	siehe
sog.	sogenannt
T	Thrombusmenge
Tab.	Tabelle
Theor. Visk.	Theoretische Viskosität
u.a	unter anderem
u.v.m.	und vieles mehr
Pas	Pascal
PHYSIO	physiologische
V./v.	Vena
VEGF	vascular endothelial growth factor
vs.	versus
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
Z.n.	Zustand nach

1. Einleitung

1.1. Mikrochirurgie und mikrovaskuläre Chirurgie

1.1.1. Geschichte und Entwicklung zum Goldstandard der rekonstruktiven Defektdeckung im Hals- und Kopfbereich

Die Mikrochirurgie ist auf Grund ihrer exakten Möglichkeiten wichtiger Grundbestandteil verschiedener operativer Fächer. Unter Mikrochirurgie versteht man operative Eingriffe, die nicht mehr mit dem bloßen Auge durchführbar sind und daher mit Hilfe eines Operationsmikroskops erfolgen. Repräsentative Fachdisziplinen, in denen mikrochirurgische Techniken regelmäßig zum Einsatz kommen, sind v.a. die Neurochirurgie, Plastische Chirurgie, Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie, Ophthalmologie, Urologie und Hals-, Nasen- und Ohrenheilkunde, jedoch auch weitere Fachdisziplinen [Daniel, 1979].

Die mikrovaskuläre Chirurgie ist ein Bestandteil der Mikrochirurgie, in der kleinste Gefäße mit einem Gefäßdurchmesser $\leq 2,5-3$ mm unter einem Operationsmikroskop miteinander anastomosiert werden. Im Rahmen des mikrochirurgisch anastomosierten Gewebetransfers (z.B. im Sinne einer Defektdeckung) ist die Gefäßanastomose wesentlicher Bestandteil des operativen Eingriffs. Gegenwärtig liegen die Erfolgsraten des Gewebetransfers bei über 90% [Khouri et al., 1998; Wolff et al., 2008a; Kruse et al., 2010].

Bereits im 19. Jahrhundert erfolgten chirurgische Eingriffe am vaskulären System. 1891 berichtete Jassinowsky über die Anwendung von Einzelknopfnähten zur Behandlung von vaskulären Verletzungen und bereits 1896 beschrieb Brieau arterielle Anastomosen in Hunden [Minderjahn et Dahm, 1979]. 1897 führte Murphy erstmals eine End-zu-End Anastomose am Menschen durch [Murphy, 1897]. Die Techniken zur vaskulären Anastomosierung entwickelten sich im Rahmen der Replantations- und Transplantationschirurgie zwischen 1897 und 1912 rasant weiter und wurden v.a. durch die wegbereitenden Arbeiten der Pioniere A. Carrel und C. C. Guthrie maßgebend beeinflusst und verbessert [Carrel et Guthrie, 1906; Guthrie, 1908]. Für seine Arbeiten, welche die Gefäß- und Transplantationschirurgie wesentlich vorantrieben, wurde Alexis Carrel 1912 mit dem Nobelpreis für Medizin und Physiologie ausgezeichnet. 1921 wurden die ersten operativen Eingriffe mit Hilfe von monokulären Mikroskopen, wie z.B. durch den Hals-, Nasen- und

Ohren-Spezialisten Nylén, durchgeführt und gewannen im weiteren Verlauf an steigender Popularität [Nylén, 1954].

Während des zweiten Weltkrieges wurden in der Gefäßchirurgie durch Material- und Hygieneverbesserungen große Fortschritte verzeichnet, jedoch blieben Gefäßdurchmesser kleiner als 3 mm unanastomosiert. 1948 wurde in einer Arbeit von Shumacker und Lowenberg über eine hohe Erfolgsrate von End-zu-End-Anastomosen in Hundearterien mit einem Gefäßdurchmesser von ca. 3,2 mm berichtet [Shumacker et Lowenberg, 1948].

1960 war es Jacobson, der durch seine Arbeit den großen potenziellen Nutzen in der Verwendung eines binokulären Operationsmikroskops bei vaskulären Anastomosen betonte und als Erster die Bezeichnung der „mikrovaskulären Chirurgie“ gebrauchte [Jacobson JH II, 1960; Jacobson JH, 1960; Daniel, 1979]. Die Entwicklung des binokulären Mikroskops in Zusammenarbeit mit Herrn Littmann, einem Physiker von Zeiss, läutete den Beginn der modernen mikrovaskulären Chirurgie ein [Minderjahn et Dahm, 1979]. Es folgten erfolgreiche, experimentelle, freie Gewebetransplantationen mit Gefäßstielen z.T. im Submillimeterbereich in verschiedenen Tiermodellen [Goldwyn et al., 1963; Krizek et al., 1965; Strauch et Murray, 1967]. Die Erlangung dieses mikrovaskulären Meilensteins war von großem Interesse, da dieser Durchmesser in etwa z.B. den Fingergefäßdurchmessern oder den subdermal verlaufenden Gefäßen entspricht, die später als Pedikelstumpf das transferierte freie Gewebe (den sog. „Lappen“) perfundieren sollen [Buncke et Schulz, 1966].

Erst durch die Standardisierung von Techniken und Materialien durch Acland in Zusammenarbeit mit der Industrie zur Transplantation freier Lappenplastiken am Menschen, erstmalig am 20. Januar 1973 von Daniel und Taylor et al. an einem 21-jährigen Mann durchgeführt, wurde über die Technik des freien Gewebetransfers für rekonstruktive Zwecke mit Hilfe von mikrochirurgischen Techniken in der Literatur berichtet [Acland, 1972a; Daniel et Taylor, 1973; Acland, 1974]. Weitere erfolgreiche freie Gewebetransfers mit mikrochirurgisch anastomosierten Transplantaten am Menschen folgten [O'Brien et al., 1973; Harii et al., 1974; O'Brien et al., 1974].

Heutzutage repräsentiert der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer den Goldstandard der rekonstruktiven Chirurgie mit Re-Explorationsraten zwischen 6 und 14% und sogar vergleichbar guten Erfolgsraten im höheren Alter [Bui et al., 2007; Kesting et al., 2011].

1.1.2. Standardtechniken mikrochirurgischer Gefäßanastomosen

1.1.2.1. End-zu-End-Anastomose

Die ersten mikrochirurgischen Anastomosen in operativen Eingriffen wurden typischerweise in End-zu-End-Technik durchgeführt [Godina, 1979]. Im Folgenden wird die für unsere Studien und Versuche verwendete End-zu-End-Technik vorgestellt, welche als Goldstandard gilt.

Zunächst werden zwei Nähte auf einen Winkel von ca. 150° zueinander gesetzt und anschließend wird das Gefäß um 180° mit Hilfe des Approximators rotiert. Es folgt die Anastomosierung der Rückwand, entsprechend der „posterior wall first“-Technik [Nathan et Rose, 1976]. Nach Komplettierung der Rückwand erfolgt die Rückrotation und visuelle Darstellung des Lumens durch die noch nicht anastomosierte Vorderwand. Dadurch kann z.B. ein Annähen der Gefäßwände reduziert werden [Harris et al., 1981]. Während der Anastomosierung wird mit Sorgfalt darauf geachtet, dass eine dem Gefäßdurchmesser adäquate Anzahl von Nähten verwendet wird, dass diese die gesamte Dicke der Gefäßwand greifen und in einem angemessen und regulärem Abstand zur Dissektion liegen und dass die Gefäßenden dicht und ohne Spannung adaptiert sind [Hayhurst et O'Brien, 1975].

Gegen Ende der Anastomose kann es häufiger, bedingt durch die eingeschränkte visuelle Kontrolle, zu technischen Fehlern kommen. Um dennoch die letzten Nähte sicher setzen zu können, sind in der Literatur zwei Techniken beschrieben, die das Risiko technischer Fehler minimieren; einerseits das sog. „Harashina Maneuver“ und andererseits die sog. „open guide suture technique“ [Harashina, 1977; Ozkan et Ozgentas, 2005]. Beide Techniken beruhen letztendlich darauf, durch das Vorlegen einer bzw. mehrerer Einzelknopfnähte gegen Ende der Anastomose die visuelle Kontrolle beizubehalten.

Eine Limitation der postoperativen Durchgängigkeit kann durch eine zu große Diskrepanz der zu anastomosierenden Gefäße bedingt sein [Monsivais, 1990; Lopez-Monjardin et de la Pena-Salcedo, 2000]. Um die entstehenden Turbulenzen bei Gefäßdiskrepanzen zu minimieren und dennoch Gefäße mit unterschiedlichen Gefäßdurchmessern erfolgreich anastomosieren zu können, sind einige Techniken in der Literatur beschrieben. Zur Gruppe dieser Techniken gehören z.B. die „open-Y technique“, „fish-mouth incision“, „micro-matress suture technique“, „double-barrelled end-to-end technique“ und die „sleeve anastomosis“ [Lauritzen, 1978; Harashina et Irigaray, 1980; Morritt et al., 2002; De Lorenzi et al., 2005; Akan et al., 2006].

Zum Beispiel werden in der „double-barrelled“-Technik, sofern vorhanden, die beiden drainierenden Lappenvenen End-zu-End mit der V. jugularis interna anastomosiert, nachdem durch zentrale Einzelknopfnähte in der V. jugularis interna zwei artifizielle Gefäßlumen gebildet wurden. Allen Techniken gemeinsam ist der Versuch, durch Manipulation eines oder beider Gefäßstümpfe die verschiedenen Gefäßdurchmesser aneinander anzupassen.

Nach erfolgter Anastomose werden die temporären Gefäß-Clips/Approximatoren nach dem Prinzip des „sealing maneuver“ [Mücke et al., 2008a] entfernt, d.h. zunächst Öffnen des distalen Gefäß-Clips. Nach Entfernung des Approximators kann z.B. mittels dem höchst subjektiven und u.U. traumatischen „milking test“ [Acland, 1972b; Krag et Holck, 1981; Petry et al., 1986], oder objektiv mittels intraoperativer Infrarot-Indocyanine-Grün-Videoangiographie (ICG-Angiographie) die Durchgängigkeit der Anastomose unmittelbar evaluiert werden [Raabe et al., 2003; Holm et al., 2009; Mücke et al., 2010b].

1.1.2.2. End-zu-Seit-Anastomose

Die End-zu-Seit-Anastomose gehört ebenfalls zu den grundlegenden Standardtechniken der mikrochirurgischen Gefäßanastomosierung.

Bei einer End-zu-Seit-Anastomose werden zwei Gefäße miteinander so anastomosiert, dass das eine Gefäßende (meist der Pedikelstumpf des zu transplantierenden Gewebes) mit einem anderen längs oder oval inzidierten Gefäß verbunden wird.

Neben der „Standardtechnik“ der End-zu-Seit-Anastomose sind in der Literatur sowohl verschiedene Modifikationen der Präparation des terminalen Endes des Pedikelgefäßes [Boeckx et al., 1992; Imer et al., 1996], als auch verschiedene Arten der Vesselotomie (Eröffnung des Gefäßes), z.B. „slit-arteriotomy“, „oval-arteriotomy“ oder „diamond technique“ des Hauptgefäßes („Donatorgefäßes“) beschrieben [Sen et al., 2006].

Die End-zu-Seit-Anastomose weist grundsätzlich folgende Vorteile auf:

- Erhalt der ungeschädigten Gefäße im distalen Abschnitt der betroffenen Körperregion; die Opferung eines gesunden Gefäßes kann somit vermieden werden, was in einer Ein-Gefäß-Situation am Bein von entscheidender Rolle sein kann.
- Potenzielle Erleichterung der Auswahl und des Zuganges des Akzeptorgefäßes; bei der End-zu-End-Technik kann eine starke Diskrepanz der Gefäßdurchmesser der zu

anastomosierenden Gefäßen zu einer erhöhten Komplikationsrate führen [Monsivais, 1990] und somit ein restriktives Operationsverhalten potenzieren.

- Vermeidung von Retraktion und Spasmus im Akzeptorgefäß; komplett durchtrennte Gefäße retrahieren sich longitudinal und können spastisch werden, in der Folge entsteht eine distale Hypoperfusion. Bei der End-zu-Seit-Anastomose kommt es durch einen mechanischen Spasmus dagegen zu keinem Verschluss der Endstrombahn.

Nachteilig ist eine hohe technische Anforderung an den Operateur, da Fehler zu einer stärkeren Kompromittierung des Blutflusses führen [Hall, 1980]. Außerdem ist die Technik bei dickwandigen oder atheromatös veränderten Gefäßen durch die Komplikation einer mechanischen Plaqueruptur bei mangelhafter Übersicht über das Lumen, und somit der Verhinderung einer Thrombendarteriektomie, erschwert [Albertengo et al., 1981; Chen et al., 2006].

Lange Zeit herrschte in der Literatur keine Übereinstimmung über eine potenzielle Überlegenheit einer der Techniken im Rahmen eines freien Gewebetransfers, End-zu-End versus End-zu-Seit-Anastomose [Godina, 1979; Samaha et al., 1997; Dotson et al., 1998]. Bis zur Veröffentlichung von Ikuta et al. 1975, deren Arbeitsgruppe über eine erfolgreiche Anwendung der End-zu-Seit-Anastomose in fünf klinischen Fällen berichtete, galt die End-zu-End-Anastomose als Goldstandard in der Anastomosierung des Gefäßstiels bei freien Lappentransplantaten [Ikuta et al., 1975]. In einer weiteren wichtigen, jedoch methodisch nicht unumstrittenen Publikation, beschrieben Godina et al. 41 konsekutiv erfolgreich durchgeführte freie Lappentransfers unter der Verwendung der End-zu-Seit-Technik und proklamierte die Technik als Mittel der Wahl [Godina, 1979]. Ab Ende der 1970-er bis in die 1980-er Jahre folgten weitere Veröffentlichungen, die sich den Ergebnissen der Arbeitsgruppe von Godina et al. anschlossen und die End-zu-Seit-Anastomose favorisierten [Nam et al., 1978; Brennen et O'Brien, 1979; Hall, 1980; Gao et al., 1985; Bas et al., 1986]. 1981 veröffentlichten Albertengo et al. die erste experimentelle Studie, die in einem Rattenmodell Erfolgsraten gehobener Epigastricalappen nach einer End-zu-Seit bzw. End-zu-End-Anastomosierung verglich. Weder die Wahl der Technik, noch der gewählte Winkel (60° vs. 90°) der End-zu-Seit-Anastomosen konnten einen signifikanten Unterschied in den Überlebensraten der gehobenen Lappen aufweisen [Albertengo et al., 1981]. Ähnliche Ergebnisse wurden von Frodel et al. präsentiert, die zugleich ein überarbeitetes Rattenmodell beschrieben [Frodel et al., 1986].

In den 1990-ern, in denen man bereits auf eine größere und fundiertere mikrochirurgische Erfahrung zurückgreifen konnte, wurde in retrospektiven und experimentellen Studien gezeigt, dass es auf der Grundlage der Wahl der Anastomosentechnik keinen signifikanten Unterschied im Überleben der Lappen zu geben scheint [Ueda et al., 1996; Samaha et al., 1997; Dotson et al., 1998].

Als weiterer Streitpunkt ist der Einfluss des Abgangswinkels nach vollendeter End-zu-Seit-Anastomose zu erwähnen. Bis heute wird sowohl über einen signifikanten Einfluss desselben auf die Hämodynamik, als auch auf die Überlebensrate der transferierten Lappen debattiert [Nam et al., 1978; Rao et al., 1983; Zoubos et al., 1992; Zhang et al., 1995]. Ob und welche Technik hämodynamisch am günstigsten und mit einer signifikant verbesserten Anastomosendurchgängigkeit und größeren Überlebensrate der transferierten Lappen assoziiert ist, ist Gegenstand der Literatur [Boeckx et al., 1992].

Die Wahl der Technik (End-zu-End vs. End-zu-Seit-Anastomose) sollte letztlich sowohl auf ein Zusammenspiel der klinischen Situation – wie Zugänglichkeit der Akzeptorgefäße, allgemeine Gefäßsituation – und der Lappenwahl, als auch auf der mikrochirurgischen Expertise des Operateurs und seines Teams basieren [Ueda et al., 1996; Samaha et al., 1997; Dotson et al., 1998; Chen et al., 2006].

1.1.2.3. Weitere Anastomosetechniken

In der experimentellen Mikrochirurgie kann man durch Seit-zu-Seit Anastomosen Aneurysmamodelle erstellen, um verschiedene therapeutische Ansätze beispielsweise in neurochirurgischen Fragestellungen zu untersuchen [Mücke et al., 2008b].

Eine weitere Methode um Fluss- und Gefäßdurchmesserunterschiede zu vermindern, ist die sog. „Y-shaped anastomosis“. In Situationen, in denen nur ein Akzeptorgefäß für zwei Donatorarterien bzw. -venen des gehobenen Lappens zur Verfügung stehen, oder bei der Verwendung von fasziokutanen Lappen, die aufgrund ihrer mikrozirkulatorischen Gegebenheiten auf einen hohen Input angewiesen sind, hat sich die Technik bewährt [Boeckx et al., 2002].

1.1.3. Hilfsmittel in der mikrovaskulären Chirurgie

Die Idee hinter der Etablierung weiterer Alternativen zum Goldstandard der Einzelknopfnäht ist einerseits eine erhoffte Zeitersparnis und andererseits eine weitere geringere Traumatisierung des Gefäßendothels, da jede Einzelknopfnäht prinzipiell einer weiteren Endotheltraumatisierung entspricht [Acland et Trachtenberg, 1977].

1.1.3.1. Gewebekleber und Adhäsive

Gewebekleber und Adhäsive werden in der Chirurgie vielseitig eingesetzt [MacGillivray, 2003]. In diesem Abschnitt soll eine kurze Übersicht über die am häufigsten verwendeten Gewebekleber im Rahmen mikrochirurgischer Anastomosen geben. Diese können grob in zwei Gruppen unterteilt werden, erstens „Fibrin-basierte“ Kleber (Tisseel®, Tissucol®, TachoSil, etc. FloSeal) und Cyanoacrylate (z.B. 2-Octylcyanoacrylate bzw. Dermabond™).

Die Funktion aller genannten Gewebekleber, bis auf die der Acrylate, beruht auf der Aktivierung des Gerinnungssystems.

Fibringemische gehören zu den ältesten Gewebeklebern und wurden erstmalig 1909 von Bergel et al. als Fibrinpuder zur verbesserten Blutstillung genutzt [Matras, 1985]. Young et Medawar waren eine der ersten, die ein Fibringemisch zur Anastomosierung von Nerven im Hasen verwendet haben [Young et Medawar, 1940]. 1944 verwendeten Cronkite et al. als Erste ein Fibrin-/Thrombiningemisch, um Hauttransplantate besser an das zugrunde liegende Gewebe befestigen zu können [Cronkite et al., 1944]. 1975 erfolgte die erste mikrochirurgische Nerven-anastomose, die mit Hilfe von Gewebeklebern am Menschen bei Zustand nach Fingeramputation durchgeführt wurde [Kuderna et Matras, 1975]. 1977 wurden Fibrinkleber erstmalig bei mikrochirurgischen Anastomosen von Ratten-Carotiden verwendet, wodurch die Anzahl der Nähte auf insgesamt zwei pro Anastomose reduziert werden konnte [Matras, 1985]. Nach Verbesserungen der Zusammensetzung dieser Kleber gelten die Fibrinkleber in diesem Anwendungsgebiet als Goldstandard unter den Gewebeklebern. Durch die Verwendung von Fibrinklebern kann es zu einer Einsparung der Anzahl der Einzelknopfnähte von bis zu 40-50 % kommen und somit die benötigte Anastomosen- und Operationszeit reduziert werden [Bowen et al., 1996; Isogai et al., 1996; Han et al., 1998; Cho et Junior, 2007]. Weitere Vorteile sind die gleichzeitige Blutstillung, Reduktion des Blutverlustes, schnellere Wundheilung, Verminderung von Hämatom- und Serombildung und gegebenenfalls die Stabilisierung des Gefäßpedikels [Lindsey et al., 1988; Bold et al., 1996;

Andree et al., 2008; Cho et Junior, 2008]. Ein besonders wichtiger Nachteil ist die potentiell thrombogene Eigenschaft dieses Hilfsmittels, die einerseits von der Zusammensetzung des Fibrinklebers, und andererseits auch von der Gefäßart abzuhängen scheint [Marek et al., 1998; Drake et al., 2000; Frost-Arner et al., 2001]. Zudem ist die potentielle Emboliegefahr solcher Gewebekleber noch ungenügend und nur unpräzise erforscht [LeMaire et al., 2005]. Aus diesen Gründen sollte die Verwendung von Fibrinklebern besonderen und teilweise erschwerten Situationen vorbehalten sein, etwa in hypertensiven Situationen und bei stark atherosklerotisch veränderten Gefäßen [Isogai et al., 1992; Mücke et Wolff, 2009].

Cyanoacrylate wurden in den 1960-er Jahren für die Verwendung am Menschen entwickelt [Ang et al., 2001]. Anfänglich kam es durch die exogene Wärmereaktion bei der Polymerisation zu signifikanten toxischen Gewebeveränderungen, welche die Durchgängigkeit der Anastomosen kompromittierte und zu einer Reduzierung der Zugfestigkeit der Anastomosen führte [Weissberg et Goetz, 1964; Green et Milling, 1986; Ong et al., 2004]. Diese unerwünschten Nebenwirkungen wurden hauptsächlich durch die Abbauprodukte (Cyanoacetat und Formaldehyd) der kurzkettigen (Methyl- bzw. Butyl-) Cyanoacrylate verursacht [Penoff, 1999]. Durch Modifikation und Verlängerung der Seitenketten konnten im Verlauf der Forschung die o.g. Nebenwirkungen reduziert und in der Folge die Kleber für mikrochirurgische Anastomosen verwendet werden. Neuere Cyanoacrylate wie z.B. das 2-Octylcyanoacrylat zeigen vergleichbare Ergebnisse zu Einzelknopfnah Anastomosen hinsichtlich der Durchgängigkeit, Zugfestigkeit und Fremdkörperreaktion [Ang et al., 2001; Ong et al., 2004].

Neben den beschriebenen beiden großen Gruppen der Adhäsive gibt es eine große Auswahl an primären Hämostatika (z.B. FloSeal, TachoSil, etc.), die in verschiedenen experimentellen Tiermodellen ebenfalls zur chirurgischen Gefäßnaht als Hilfsmittel genommen wurden [Kheirabadi et al., 2002; Jorgensen et al., 2003; Oz et al., 2003; Partsafas et al., 2004; Erb et al., 2009].

Die routinierte Anwendung dieser neueren Mittel in mikrovaskulären Anastomosen ist noch abzuwarten.

1.1.3.2. Alternativen

Zum einen gibt es sog. „Coupler“. Derartige Systeme bestehen aus zwei Polyethylen- oder Metallringen, die über die Gefäßenden gestülpt und mittels Pins miteinander mechanisch verbunden werden [Spector et al., 2006]. Dieses Hilfsmittel (z.B. Unilink M3®) wurde bereits

in den 1960-ern eingeführt und soll einerseits die benötigte Zeit für End-zu-End bzw. End-zu-Seit-Anastomose reduzieren und diese einfacher und sicherer machen [Nakayama et al., 1962; Ostrup et Berggren, 1986; Ragnarsson et al., 1989; Ahn et al., 1994; Zdolsek et al., 2005]. Diese Ergebnisse wurden zuletzt in großen klinischen Analysen durch Rozen et al. und Jandali et al. bestätigt, die unabhängig voneinander über 1000 Anwendungen dieser mechanischen Hilfsmittel zur mikrochirurgisch gestützten Rekonstruktion untersuchten [Jandali et al., 2010; Rozen et al., 2010].

Ein weiteres, 1993 eingeführtes Hilfsmittel, ist das Clip System Autosuture™ Titanium Vessel Closure System (VCS), das sowohl bei End-zu-End, als auch End-zu-Seit-Anastomosen angewendet werden kann [De Lorenzi et al., 2002; Zeebregts et al., 2004; Pratt et al., 2010]. Cariou et al. waren die ersten, die diese Methode im Rahmen von mikrochirurgischen Gewebetransfers im Zeitraum zwischen 1995 und 1997 in 26 geclippten Anastomosen verwendeten [Zeebregts et al., 2004]. Bei dieser Technik werden zunächst ein bis drei Haltenähte zur Stabilisierung gleichmäßig verteilt eingebracht und anschließend die zuvor evertierten Gefäßenden mittels Titanium Clips adaptiert [Cope et al., 2000; De Lorenzi et al., 2002]. Der Vorteil dieser Methode liegt insbesondere im Fehlen von Fremdkörpermaterial im Lumen (die Clips penetrieren die Intima nicht), der reduzierten Fremdkörperreaktion, schnellerer Re-Endothelialisierung, einfacher Handhabung und verkürzter Anastomosenzzeit im Vergleich zur Einzelknopfnahrttechnik [Cope et al., 2000; Kloppel et al., 2007]. Nachteilig ist eine beschriebene Gefahr von erhöhten Stenoseraten postoperativ, sowie mögliche Blutungen und Intimadissektionen [Yamamoto et al., 1999; Kloppel et al., 2007]. Neben freien mikrochirurgischen Gewebetransfers sind auch weitere Anwendungen in der Herzchirurgie, der Dialyse- (im Rahmen der Anbringung einer Cimino-Fistel), Transplantations- und der Gefäßchirurgie (im Rahmen von Thrombendarteriektomien und Bypassoperationen) in der Literatur beschrieben [Nataf et al., 1997; Haruguchi et al., 1998; Papalois et al., 1998; Aarnio et al., 2000; Kirsch et al., 2001; Zeebregts et al., 2004].

Laser-assistierte Anastomosen („laser assisted vessel anastomosis“, LAVA) sind ebenfalls in der Literatur beschrieben, wobei eine Vielzahl verschiedener Lasermethoden zur Anwendung gekommen sind, inklusive dem CO₂- und Nd-YAG-Laser [Pratt et al., 2012]. Die Funktionsweise der Laser-assistierten Gefäßanastomosen ist noch nicht bis ins Detail verstanden. Man geht jedoch davon aus, dass die von der Gefäßwand absorbierte Laserenergie die Kollagenfasern der Mediaschicht degeneriert und so einen Reiz zur Gewebefusion setzt

[Nakamura et al., 2000]. Erstmals wurde der CO₂-Laser gegen Ende der 1970-er Jahre von Morris und Carter verwendet [Flemming et al., 1988]. Neben den Vorteilen wie z.B. eine reduzierte Fremdkörperreaktion, und eine Vereinfachung und Zeitreduktion der mikrochirurgischen Anastomose, bringt diese Technik auch nicht zu vernachlässigende Nachteile mit sich [Jain, 1980; Sartorius et al., 1986; Nakamura et al., 2000]. Zu diesen gehören eine reduzierte Zug- und Druckfestigkeit in longitudinaler und axialer Richtung und die erhöhte Aneurysmabildung (in ca. 30% der Anastomosen) aufgrund von Veränderungen der Tunica Media verglichen mit Einzelknopfnähten [Quigley et al., 1985]. Außerdem ist die Revision einer fehlgeschlagenen, gelaserten Anastomose komplizierter und anspruchsvoller, als die einer genähten [Vale et al., 1986].

Stents, wie man sie aus der Kardiologie oder interventionellen Radiologie kennt, stellen eine ganz neue Idee dar, mikrochirurgische Anastomosen durchzuführen. Derzeit befindet sich deren Verwendung noch in der experimentellen Phase, wobei gezeigt werden konnte, dass primär Stent-geführte Anastomosen möglich sind und die Ergebnisse an den Goldstandard Einzelknopfnäht heran kommen [Loeffelbein et al., 2011].

Alle erwähnten alternativen Techniken zur Durchführung einer mikrochirurgischen Gefäßanastomose haben jedoch nur einen geringen Evidenzgrad nach den „Oxford Centre for Evidence Based Medicine (CEBM) Levels of Evidence“. Lediglich die „Coupler“-assistierten Anastomosen haben einen Evidenzgrad von 2b [Pratt et al., 2010; Pratt et al., 2012].

1.2. Prinzipien des motorischen Lernens in der chirurgischen Ausbildung und Einteilung mikrochirurgischer Trainingsmodelle

Der Schlüssel zur Erlangung der benötigten technischen Kompetenz und Expertise ist jahrelanges und intensives Training im mikrochirurgischen Labor, geprägt durch das folgende Zitat: „*A first experience has no place in the operating room*“ [Donaghy, 1979].

Der aktive Lernprozess chirurgischer Eingriffe kann grob in drei Phasen unterteilt werden: kognitive, integrative und autonome [Kopta, 1971]. Die wichtigsten Voraussetzungen und wesentlicher Bestandteil der integrativen Phase sind das Feedback und die Vergegenwärtigung des richtigen und falschen Ergebnisses. Sobald eine routinierte Ausführung keinen kognitiven Input mehr benötigt, ist die autonome Phase erreicht, die einerseits ein flüssiges Arbeiten gewährleistet, aber andererseits auch Quelle technischer Fehler sein kann.

Nur durch ständiges Setzen höherer Ziele und Üben unter wechselnden Bedingungen können fehlerhafte Automatismen vermindert und technische Genauigkeit erhöht werden [Ericsson, 2008]. Durch anschließende selbstkritische Evaluation der Leistung kann das chirurgische Lernen komplettiert werden und eines Tages „the state of expert performance“ erreicht werden [Ericsson, 2007].

Verschiedene mikrochirurgische Kurse und Übungsmodelle sind in der Ausbildung neuer Mikrochirurgen etabliert, die jedoch noch nicht in der benötigten Breite vorhanden und allgemein zugänglich sind [Di Cataldo et al., 1998; Menovsky, 2000; Uson-Gargallo et al., 2004; Scholz et al., 2006; Mücke et al., 2013].

Die in der mikrochirurgischen Ausbildung verwendete Modelle können grob in Lebend- („high fidelity“) und Nicht-Lebend- („low fidelity“) Modelle unterteilt werden. Letztere teilen sich auf in Kadaver, prothetische und sog. „virtual reality“ Modelle auf, *Abb. 1-1* [Di Cataldo et al., 1998; Lannon et al., 2001; Grober et al., 2004].

Zur Erlernung der wesentlichen Grundtechniken und der Handhabung mit dem speziellen mikrochirurgischen Besteck sind Nicht-Lebend-Modelle allgemein sehr gut geeignet und keineswegs Lebend-Modellen unterlegen [Lannon et al., 2001].

1967 erfolgten die ersten Lappentransplantationen im Rattenmodell durch Strauch und Murray [Strauch et Murray, 1967]. Seither haben sich explizit Rattenmodelle als ökonomisch

günstiges und bewährtes Lebend-Modell, besonders in Fragestellungen zu Lappenhistologie, –verhalten und –einheilung, etablieren können [Zhang et al., 2001].

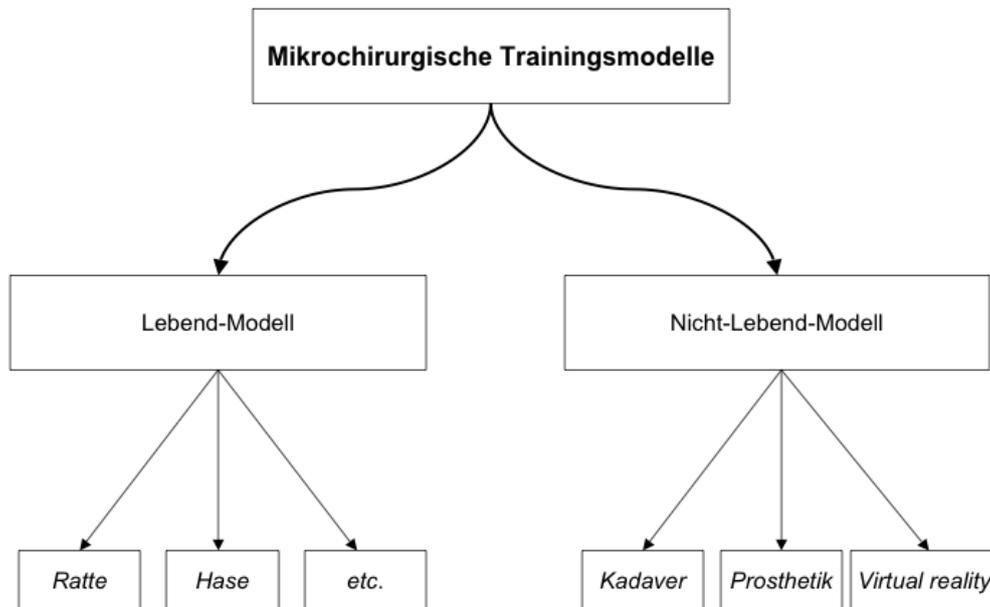


Abbildung 1–1: Übersicht der Einteilung mikrochirurgischer Trainingsmodelle in Lebend- und Nicht-Lebend-Modelle nach Lannon et al.

1.3. Strömungstechnische Grundlagen

1.3.1. Strömungsbegriffe

Der Blutfluss in Arterien stellt eine instationäre, nichtturbulente Strömung in einem elastischen Rohr dar. Bei einer laminaren Strömung kommt es zu keiner Vermischung des in Schichten strömenden Fluids. Überschreitet die Reynoldszahl einen spezifischen kritischen Wert Re_{krit} , $Re > Re_{krit}$, kann es zur sog. Transition und Ausbildung turbulenter Strömungen kommen, die im menschlichen Kreislauf eine zu vernachlässigenden Rolle spielen [Liepsch, 1986]. In einer stationären Strömung sind der Volumenstrom und die Fließgeschwindigkeit keiner zeitlichen Änderung unterlegen. Liegen jedoch z.B. variable Flüssigkeitsspiegel,

Flüssigkeitsschwingungen oder Druckstoßvorgänge vor, die alle einer zeitlichen Abhängigkeit unterliegen sind, spricht man von einer instationären Strömung.

Die Reynoldszahl [R] ist eine in der Strömungslehre verwendete dimensionslose Kennzahl, die das Verhältnis von Trägheits- zu Zähigkeitskräften darstellt und Turbulenzverhalten / -vergleiche von Körpern ähnlicher Geometrie erlaubt.

Der Womersley Parameter [α] ist ebenfalls eine dimensionslose Kennzahl der Frequenz eines pulsatilen Flusses in Relation zu viskosen Effekten. In der Anwendung bedeutet das z.B., wenn α kleiner als 1 ist, sind Puls- und Druckwelle in Phase und damit herrscht genügend Zeit, dass sich eine parabolische Geschwindigkeitskurve im Gefäß ausbilden kann [Womersley, 1955b]. Dieser Parameter kann somit u.a. zur Skalierung von experimentellen Setups verwendet werden.

1.3.2. Fließeigenschaften von Blut und Besonderheiten der Mikrozirkulation

Die Rheologie befasst sich mit dem Fluss und der Deformation von Fluiden, basierend auf der Theorie von Newton und Hooke. Die Härrheologie beschäftigt sich mit der speziellen Rheologie des Blutes.

Im Gegensatz zu newtonschen Fluiden / Flüssigkeiten, bei denen eine lineare Beziehung zwischen Schubspannung und Scherrate vorliegt, weist Blut – als Repräsentant nicht-newtonscher Fluide – ein viskoelastisches, scherverdünnendes Fließverhalten auf [Thurston, 1972]. Dieses Verhalten wird auch als viskoelastisches strukturvisköses Fließverhalten bezeichnet und zeichnet sich, in Abhängigkeit von der Amplitude des oszillatorischen Geschwindigkeitsgradienten und der Erythrozytenkonzentration (Hämatokrit), durch eine zeitunabhängige Abnahme der dynamischen Viskosität bei steigendem Geschwindigkeitsgefälle aus [Kunz et Coulter, 1967]. Per definitionem treten dabei visköse und elastische Effekte simultan auf [Stoltz et Lucius, 1981].

Neben weiterer Abhängigkeiten der Blutviskosität von der Plasma-Protein-Konzentration, der Temperatur und der Gefäßgeometrie, zeichnet sich Blut ebenfalls durch eine Viskositätsabnahme in kleinen Mikrogefäßen aus, dem sog. Fåhræus-Lindqvist-Effekt [Fåhræus R., 1931; Pries et al., 1992]. Es konnte gezeigt werden, dass die Viskosität bei einem Gefäßdurchmesser von 5-7 μm am niedrigsten ist [Pries et Secomb, 2003].

Eine weitere Besonderheit der Mikrozirkulation ist das sog. „plasma skimming“. Das Phänomen beschreibt die vom Volumenfluss unabhängige Verteilung der Erythrozyten an

sich teilenden Gefäßen und ist eine Grundvoraussetzung eines oszillierenden Flusses in der Mikrozirkulation [Carr et Lacoïn, 2000].

Des Weiteren besitzt Blut thixotrope (zeitabhängige) Fließeigenschaften, die von der Vorgeschichte der Scherung abhängen, was als sog. Gedächtniseffekt bezeichnet. Dabei kommt es im Rahmen konstanter Scherung mit der Zeit zur Abnahme der Viskosität, entsprechend einer progressiven, reversiblen Rheofluidifikation unter Bewegung [Thurston, 1979; Stoltz et Lucius, 1981].

Weitere Besonderheiten des Blutes sind spezielle Eigenschaften der Erythrozyten, wie z.B. deren Verformbarkeit, deren Aggregationsneigung und die Bildung von sog. Roulouxs [Thurston et Henderson, 2006]. Diese Eigenschaften machen das Fließverhalten des nicht-newtonscher Fluide so einzigartig.

1.3.3. Hämorrheologie an Bifurkationen

Allgemein ist der Fluss an Bifurkationen abhängig vom Verhältnis der beteiligten Gefäßdurchmesser, vom Abgangswinkel, von der Geometrie der Bifurkation (rund / weich oder scharf) und von der Flussrate bzw. dem Volumenstrom [Liesch, 1986]. Das setzt jedoch einen gleichmäßigen peripheren Widerstand des Endstromgebietes voraus, was im menschlichen Körper nur selten vorkommt.

An Bifurkationen entstehen durch die Stromtrennung stark asymmetrische Geschwindigkeitsprofile. Es treten Geschwindigkeitsmaxima in der Nähe von Strömungsteiler an den Gefäßinnenwänden und Ablösegebiete an den Gefäßaußenwänden auf [Friedman et al., 1975; Motomiya et Karino, 1984]. Ferner führen Zentrifugalkräfte zur Ausbildung von Sekundärströmungen. Bei pulsierender Strömung ändern sich Form und Größe der Ablösegebiete während der Pulswelle. Phasenabhängig können die Ablösegebiete vollständig verschwinden, wodurch es auch zu einem Verschwinden der Rückströmungen kommen kann [Karner et al., 1999].

Eine effektive Stromtrennung tritt auf, sofern 25-30% des Flussvolumens in den Abgang fließen. Die Länge der dadurch resultierenden Turbulenzen ist abhängig von der Größe des abgehenden Flussvolumens [Liesch et Zimmer, 1995].

In Verbindung mit den Sekundärströmungen ergibt sich ein sehr komplexes Strömungsfeld, das nur experimentell oder mit numerischen Berechnungsmethoden untersucht werden kann.

1.4. Problematik

Heutzutage gilt der freie Gewebetransfer auf Basis mikrovaskulärer Anastomosierung der versorgenden Gefäße als Goldstandard im Rahmen der Defektdeckung im Hals- und Kopfbereich [Khouri et al., 1998; Wolff et al., 2008a; Kruse et al., 2010].

Aufgrund des hohen Anspruches an Fingerfertigkeit, technische Genauigkeit und anatomische Kenntnisse gehört jedoch der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer mit zu den anspruchvollsten chirurgischen Eingriffen [Wolff et al., 2008b].

Da Gefäßthrombosierungen noch immer die häufigste Ursache für Lappenverluste darstellen, liegt ein besonders großes Interesse auf der frühen und kontinuierlichen Ausbildung weiterer Generationen von Mikrochirurgen [Scholz et al., 2006; Bui et al., 2007; Holm et al., 2010; Mücke et al., 2013].

Die mikrochirurgische Anastomosierung erfordert eine exakte Technik, die durch eine besondere Ausbildung erlernt werden kann [Hayhurst et O'Brien, 1975]. Neben der Erlernung einer präzisen und ruhigen Arbeitsweise spielt die Erfahrung in der Durchführung von mikrochirurgischen Operationen eine weitere tragende Rolle.

Durch die Verwendung verschiedener Hilfsmittel, wie z.B. der Gewebekleber, erhofft man sich u.a. mögliches technisches Unvermögen durch eine Reduzierung der Endothelzelltraumatisierung zu kompensieren, Zeit einzusparen und somit die Komplikationsraten weiter zu senken. Trotz der vermeintlich klaren Vorteile ist einer Gewebekleberverwendung aufgrund der unzureichend evaluierten Embolisationsgefahr kritisch und mit Vorsicht zu begegnen.

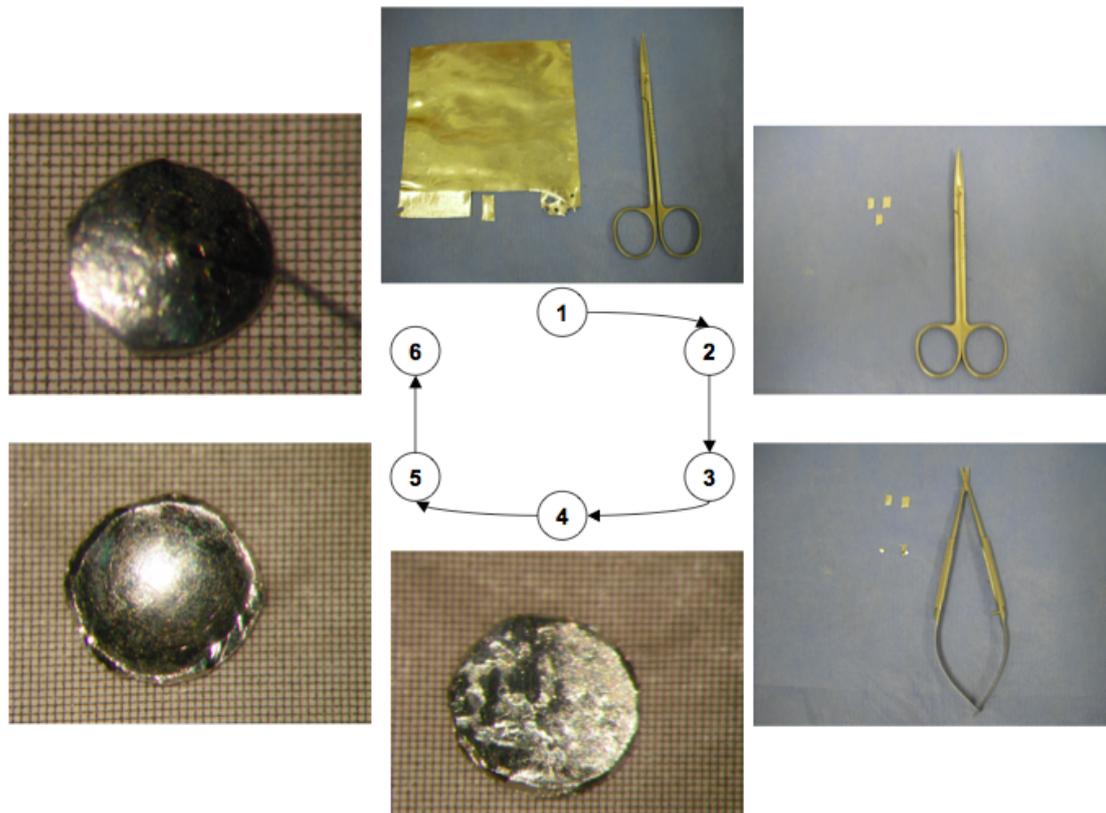
Um weiterhin sowohl technisch, als auch fachlich kompetente Mikrochirurgen auszubilden, bedarf es einerseits Trainingshilfen und experimenteller Modelle, um die erforderte Fingerfertigkeit und operative Expertise zu erlangen, und andererseits Apparaturen und Modelle, um den „Status quo“ des persönlichen Könnens und verschiedene mikrochirurgische Techniken kritisch analysieren zu können.

2. Material und Methodik

2.1. Shield-Protection-Technique

2.1.1. Plättchenherstellung

Zur Herstellung der Plättchen wurde eine herkömmliche 0,3 mm dicke Zinnfolie verwendet, die zusätzlich mittels einer zahnärztlichen Handfräse auf eine Dicke von ca. 0,1 mm ausgedünnt wurde. Die ausgedünnte Zinnfolie wurde mit einer Schere in die gewünschte runde, möglichst atraumatische Plättchengröße zurechtgeschnitten, *Abb.2-1*. Mit Hilfe eines Stecknadelkopfes wird durch Kompression auf das Plättchen die gewünschte Konvexität erlangt, *Abb. 2-1*. Abschließend wurde unter einem Mikroskop ein Faden der Stärke 8-0 bzw. 9-0, je nach Plättchendurchmesser, als Halte- und Führungsvorrichtung mittig in das konvexe Plättchen eingebracht, *Abb.2-1*.



*Abbildung 2-1: Übersicht der Plättchenherstellung
(mit 1/10 Millimeterpapier im Hintergrund der Bilder 4-6)*

2.1.2. Nahttechnik

Die Anastomose der Kontrollgruppe erfolgte gemäß dem Goldstandard der End-zu-End Anastomose, der Einzelknopfnahntechnik.

Folgend wird die Nahttechnik nach der „Shield-Protection-Technique“ erläutert.

Zur Bestimmung der korrekten Größe des verwendeten Plättchens wurde zunächst das Plättchen auf das noch nicht dissezierte Gefäß gelegt, *Abb. 2-2*. Dabei sollte die Außenwand des zu anastomosierenden Gefäßes gerade noch sichtbar sein. Nach erfolgter Plättchenwahl folgte die Gefäßdissektion, die erneute visuelle Abschätzung und probeweise Einführung des gewählten Plättchens in das Gefäß. Das Plättchen sollte intravaskulär mit seiner konvexen Seite der Konkavität des Gefäßes anliegen und leicht beweglich sein. Ein zu kleines Plättchen schmiegt sich nicht der konkaven Gefäßwand an, während ein zu großes Plättchen das Gefäß spannt und intravaskulär nicht leicht bewegt werden kann.



*Abbildung 2-2: Plättchengrößenbestimmung durch Auflegen des Plättchens auf die nicht dissezierte Aorta der Ratte
(zehnfache Vergrößerung und 1/10 Millimeterpapier links der Aorta der Ratte)*

Nach Beginn der Anastomose mit zwei Nähten auf ca. 150-180° konnte das Plättchen endgültig in das Gefäß eingeführt werden, wobei die zweite Naht auch nach erfolgter Plättcheneinführung erfolgen kann, *Abb. 2-3*. Der Abstand der ersten beiden Nähte ist so zu wählen, dass das Plättchen gegen Ende der Anastomose ohne Probleme zwischen diesen wieder herausgeführt werden kann, siehe unten.

Nach erfolgter Einführung des Plättchens wurde das Gefäß gewendet und zunächst mit der Rückwand angefangen, *Abb. 2-4*. Dabei kann die konkave Seite des Plättchens gut eingesehen werden und bietet Schutz und Platz für das sichere Setzen der Einzelknopfnähte.

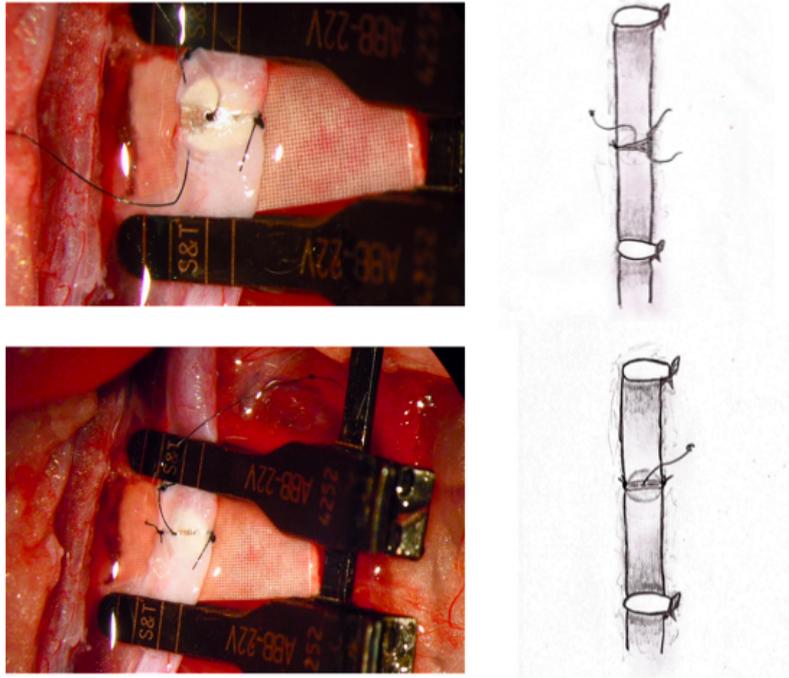
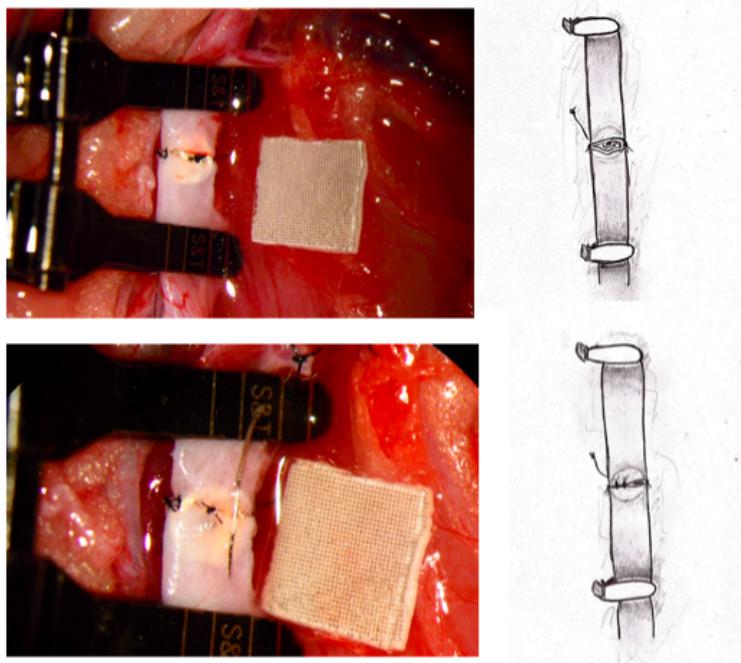


Abbildung 2–3: Einführen des Plättchens in die Aorta der Ratte (zehnfache Vergrößerung)



*Abbildung 2–4: Blick auf die Rückwand der Aorta der Ratte und Visualisierung der konkaven Seite des Plättchens
(zehnfache Vergrößerung und 1/10 Millimeterpapier rechts der Aorta der Ratte)*

Nun wird das Gefäß gewendet und, je nach Gefäßgröße, werden drei bis fünf Nähte nach der Technik von Özkan et al. vorgelegt, *Abb. 2–5* [Özkan et Ozgentas, 2005]. Dabei ist akribisch auf das korrekte Greifen aller Gefäßwandschichten zu achten, da das Plättchen v.a. beim Einstich dieses behindern und somit eine Gefäßdissektionsbildung begünstigen kann.

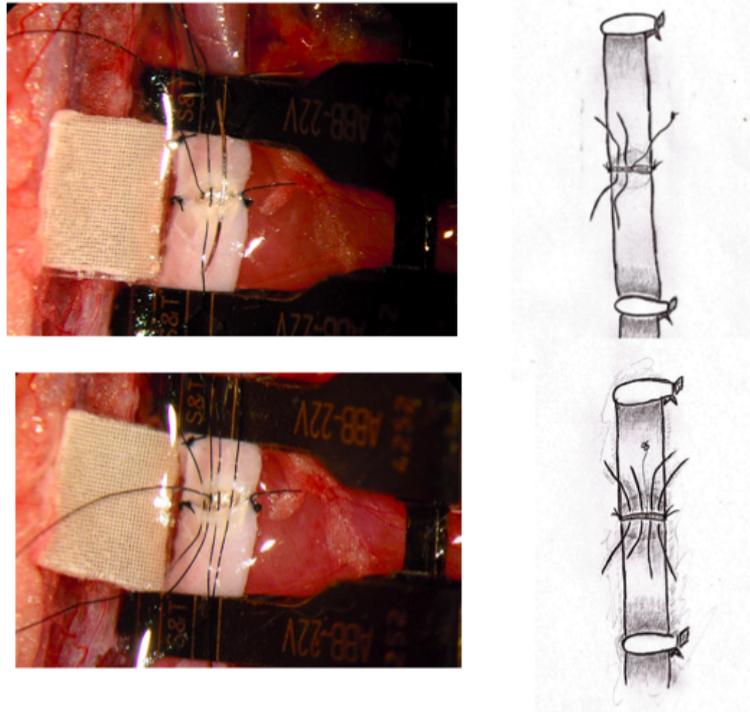


Abbildung 2–5: Vorlegen der Nähte nach Özkan et al. [Özkan et Ozgentas, 2005]
(zehnfache Vergrößerung und 1/10 Millimeterpapier links der Aorta der Ratte)

Anschließend wurde das Plättchen durch die vorgelegten Nähte herausgeführt, *Abb. 2–6*. Nach Ausschluss von Einnähungen oder Annähen der Vorderwand an die Rückwand unter visueller Kontrolle des Gefäßlumens erfolgte das Verknoten der vorgelegten Nähte. Nach erfolgter Anastomose wurde der Approximator entfernt und der Blutfluss nach dem „sealing maneuver“ freigegeben [Mücke et al., 2008a], *Abb 2–7*.

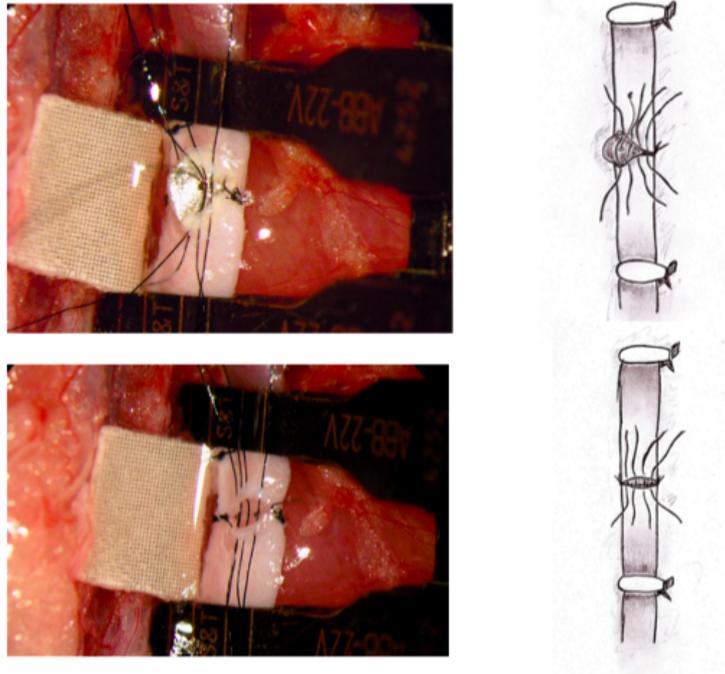


Abbildung 2–6: Herausführen des Plättchens und abschließende visuelle Kontrolle des Gefäßlumens der Aorta der Ratte
(zehnfache Vergrößerung und 1/10 Millimeterpapier links der Aorta der Ratte)

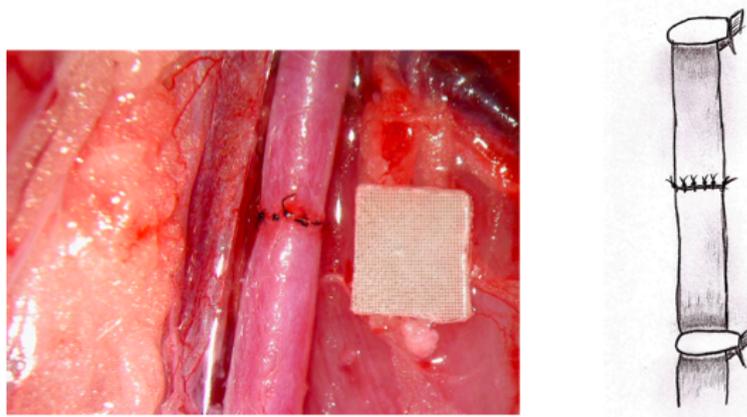


Abbildung 2–7: vollendete Anastomose einer Aorta der Ratte mit Hilfe der „Shield-Protection-Technique“
(zehnfache Vergrößerung und 1/10 Millimeterpapier rechts der Aorta der Ratte)

2.1.3. Ablauf der Studie und Evaluation der Anastomose

13 Teilnehmer haben je nach randomisierter Zuteilung die Anastomosen mit oder ohne Plättchen an Koronargefäßen von Schweinen durchgeführt. Zuvor haben die Teilnehmer eine

nach bewährtem Protokoll wöchentliche mikrochirurgische Ausbildung über drei Monate erfahren [Scholz et al., 2006].

Nach erfolgter Anastomose wurde der Bereich um die Anastomose herausgeschnitten und sowohl der Gefäß- als auch Plättchendurchmesser auf einem 1/10 Millimeterpapier bestimmt. Das herausgelöste Anastomosenpräparat wurde anschließend unter einem Operationsmikroskop longitudinal inzidiert und durch einen unabhängigen Begutachter evaluiert. Die Komplikationen wurden in schräg verlaufende Nähte, inkomplette Anastomose, eingenähte Adventitia und angenähte Rückwand eingeteilt.

Des Weiteren wurde die für eine Anastomose benötigte Zeit, sowie die Zeit pro Naht erfasst.

2.1.4. Auswertung

Die Daten wurden mittels Statistical Package for the Social Sciences (SPSS for Windows, release 18.0.0., 2010, SPSS Inc.; Chicago, USA) analysiert.

Um eine mögliche Assoziation zwischen unabhängigen Faktoren und abhängigen Variablen zu bestimmen, wurde die multiple Regressionsanalyse verwendet. Covariablen waren erfolgsabhängige Variablen wie die Erfahrung des Operateurs, Plättchenanwendung und Gefäßdurchmesser.

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.

2.2. neue End-zu-Seit-Technik

2.2.1. Nahttechnik

2.2.1.1. Goldstandard

Als Goldstandard in dieser Studie diente die End-zu-Seit-Technik nach Hall et al. [Hall, 1980]. Das Gefäßende des abgehenden Gefäßes wurde leicht angeschrägt mit einer geraden mikrochirurgischen Schere beschnitten. Das seitliche „Fenster“ im Hauptgefäß wurde mittels einer ovalen Arteriotomie durchgeführt und die Anastomose wurde mit Einzelknopfnähten komplettiert. Im Allen wurde ein Abgangswinkel von ca. 70° erreicht. Exemplarisch ist die Technik in *Abb. 2–8* zu sehen.

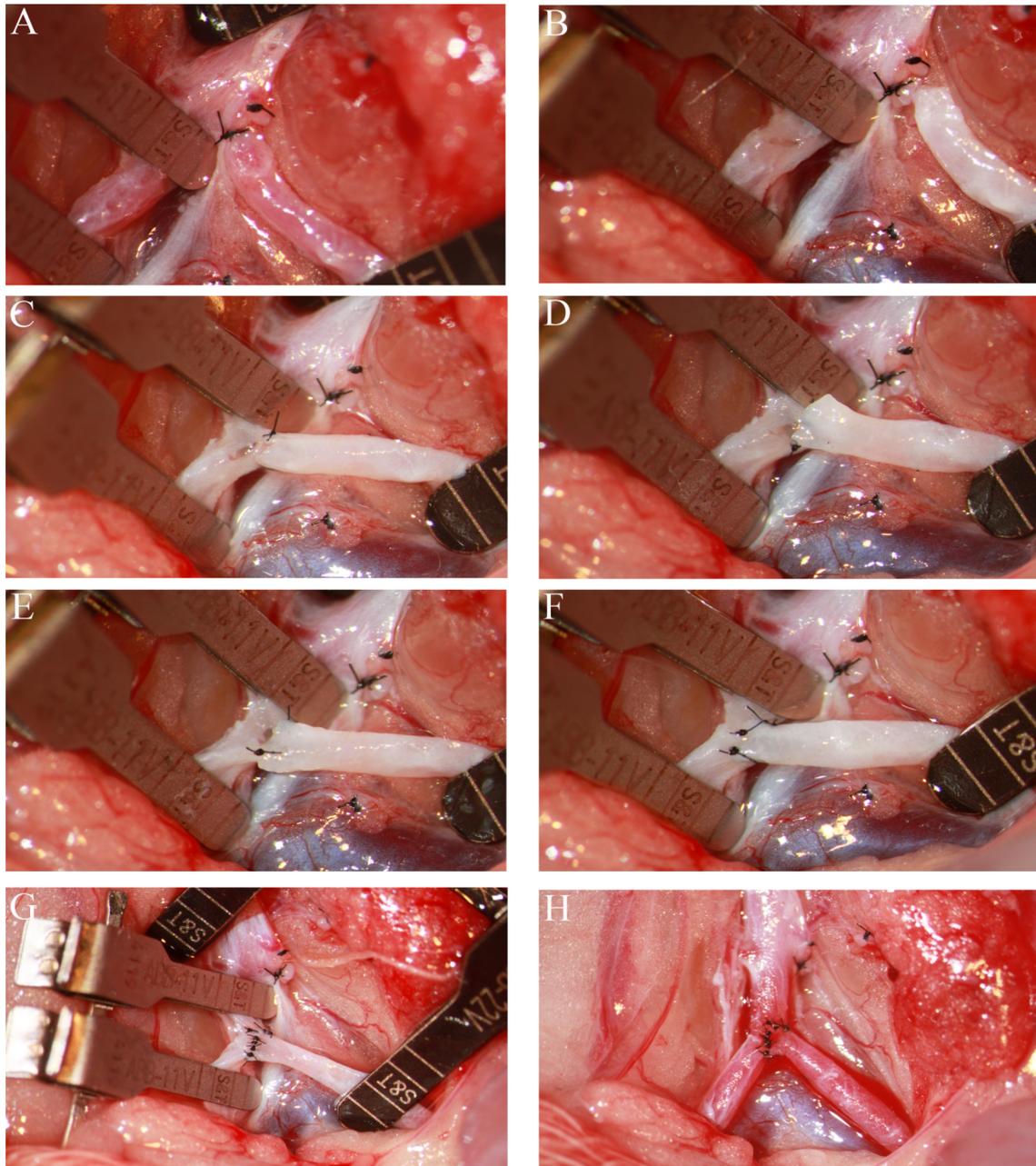


Abbildung 2-8: Exemplarische Darstellung der Goldstandard End-zu-Seit-Anastomosentechnik im *A. iliaca communis* Modell nach Hall et al. in einer Ratte [Hall, 1980]:

A und B vor und nach der Dissektion der *A. iliaca sinistra*; *C* nach erfolgter ovaler Arteriotomie und erster Naht; *D-G* einzelne Schritte der End-zu-Seit-Anastomose; *H* erfolgte End-zu-Seit-Anastomose nach Entfernung der temporären Approximatoren und Clips (in 20- und 16-facher Vergrößerung)

2.2.1.2. Zu evaluierende Opened End-to-Side Technik

Das Besondere an der zu evaluierenden End-zu-Seit- (OES = Opened End-to-Side) Technik ist die fischmundartige Präparation des abgehenden Gefäßes, auf die nachstehend eingegangen wird.

Zunächst erfolgten am Gefäßstumpf des abgehenden Gefäßes zwei parallel, auf 180° versetzte Schnitte longitudinal zum Gefäß. Die Länge der parallelen Längsschnitte bestimmt die Länge der Schlitz- / slit-Arteriotomie am Hauptgefäß (Länge a-c). Der Winkel der parallel verlaufenden Längsschnitte determiniert den endlichen Abgangswinkel der End-zu-Seit-Anastomose.

Anschließend wurden am Gefäßstumpf vier Dreiecke so abgeschnitten, dass der präparierte Gefäßstumpf aus zwei großen Dreiecken, an einen Fischmund erinnernd, bestand, *Abb. 2-9 und 2-10*.

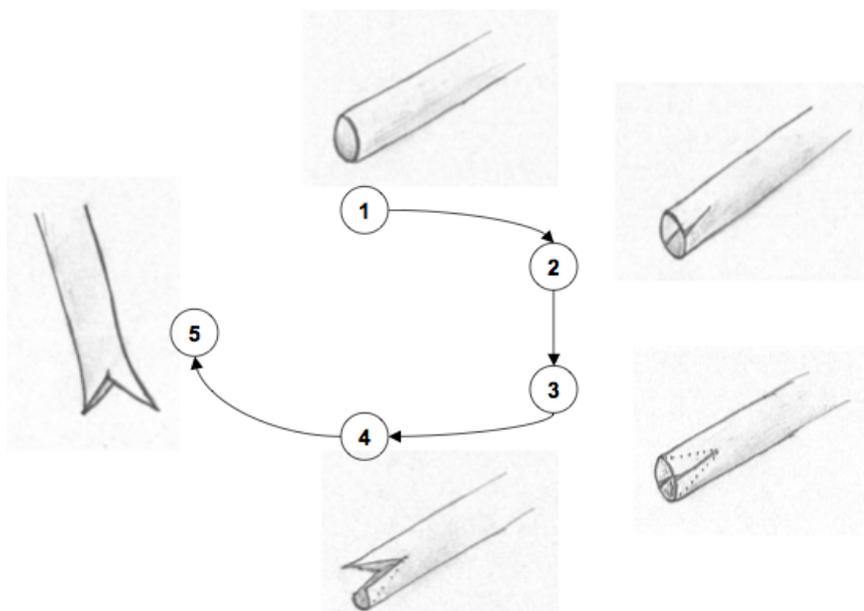


Abbildung 2-9: Übersicht der einzelnen Präparationsschritte des Pedikelstumpfes bei der Verwendung der OES-Technik

Das seitliche „Fenster“ im Hauptgefäß wurde mittels einer slit-Arteriotomie durchgeführt und es konnte mit der Anastomosierung begonnen werden. Hierzu wurden als erstes die Punkte a-a', b-b' und c-c' adaptiert und mit Einzelknopfnähten befestigt. Anschließend wurden die dazwischen liegenden Strecken ebenfalls mit Einzelknopfnähten komplettiert. Dann wurde das abgehende Gefäß um 180° gedreht und gab Sicht auf die Rückseite der Anastomose, mit Einblick in das Lumen. Nach visueller Kontrolle vorher gesetzten Einzelknopfnähte wurden

die Punkte d-d' adaptiert und mit einer Einzelknopfnahnt befestigt und mit der Komplettierung der Rückseite begonnen in analoger Weise fortgesetzt, *Abbildung 2-11 und 2-12*.

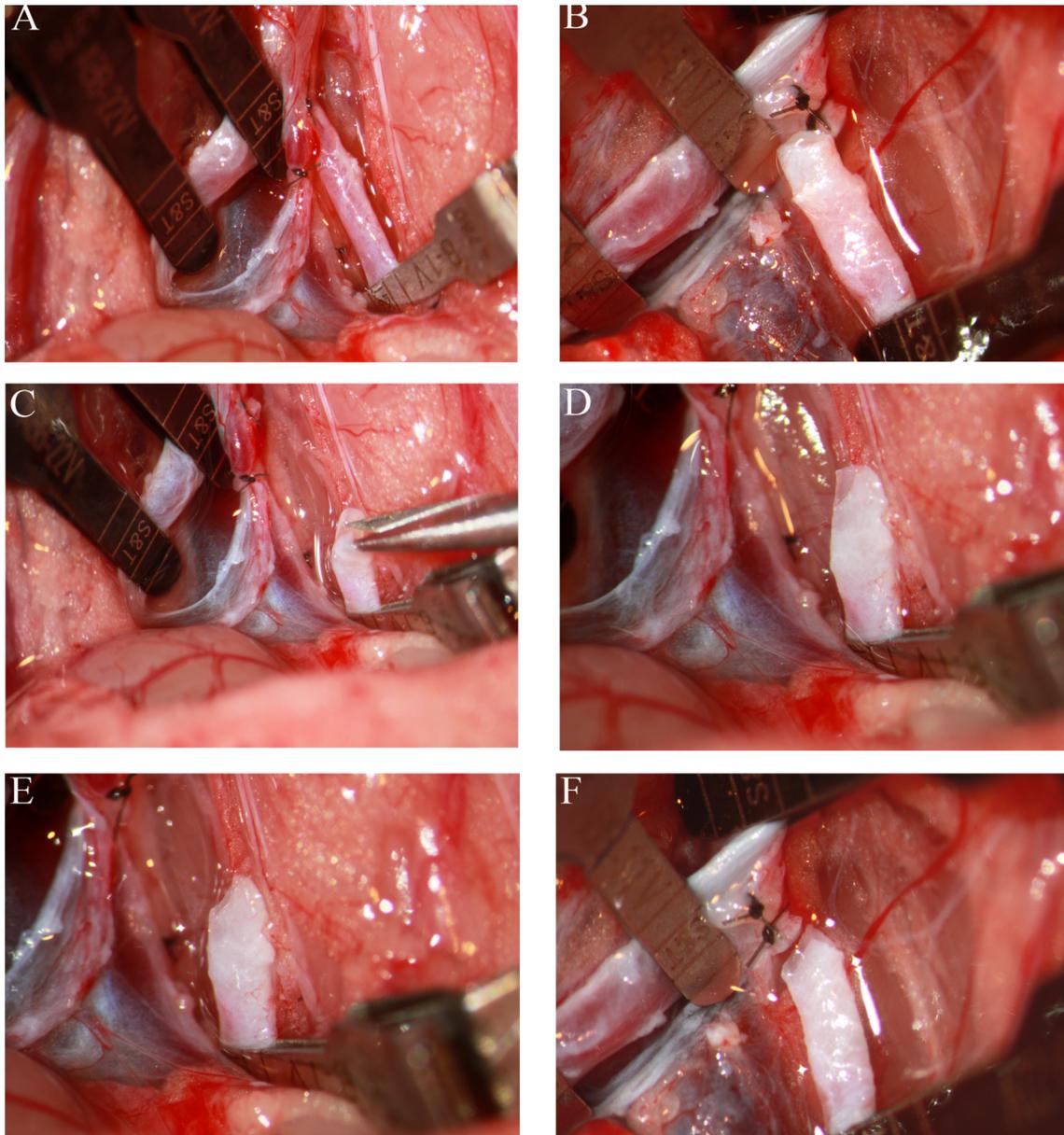


Abbildung 2-10: Übersicht der einzelnen Präparationsschritte des „Pedikelstumpfes“ bei der Verwendung der OES-Technik im *A. iliaca communis* Modell nach Hall et al. in einer Ratte [Hall, 1980]:

A und B vor und nach der Dissektion der *A. iliaca sinistra*; *C* Beginn der Präparation; *D* und *E* einzelne Schritte der Präparation; *F* abgeschlossene bitrianguläre Präparation des „Pedikelstumpfes“ (in 20-facher Vergrößerung)

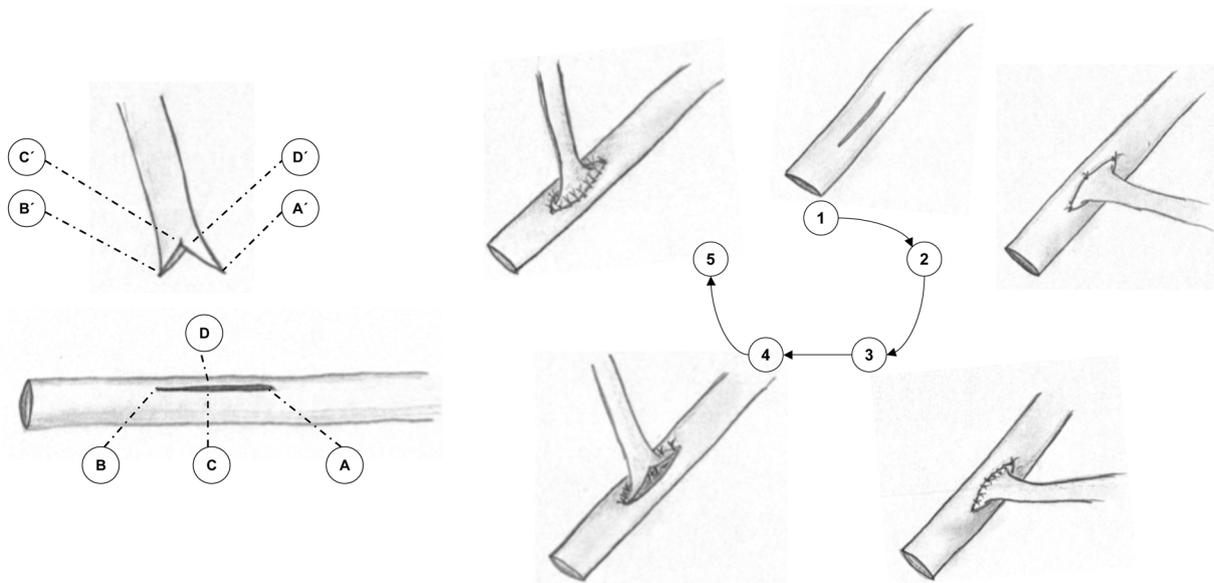


Abbildung 2–11: links Situation vor der Anastomosierung mit eingezeichneten Punkten, die miteinander verbunden werden sollen (A zu A', etc.); rechts schematische Übersicht der einzelnen Schritte der End-zu-Seit-Anastomose nach OES-Technik

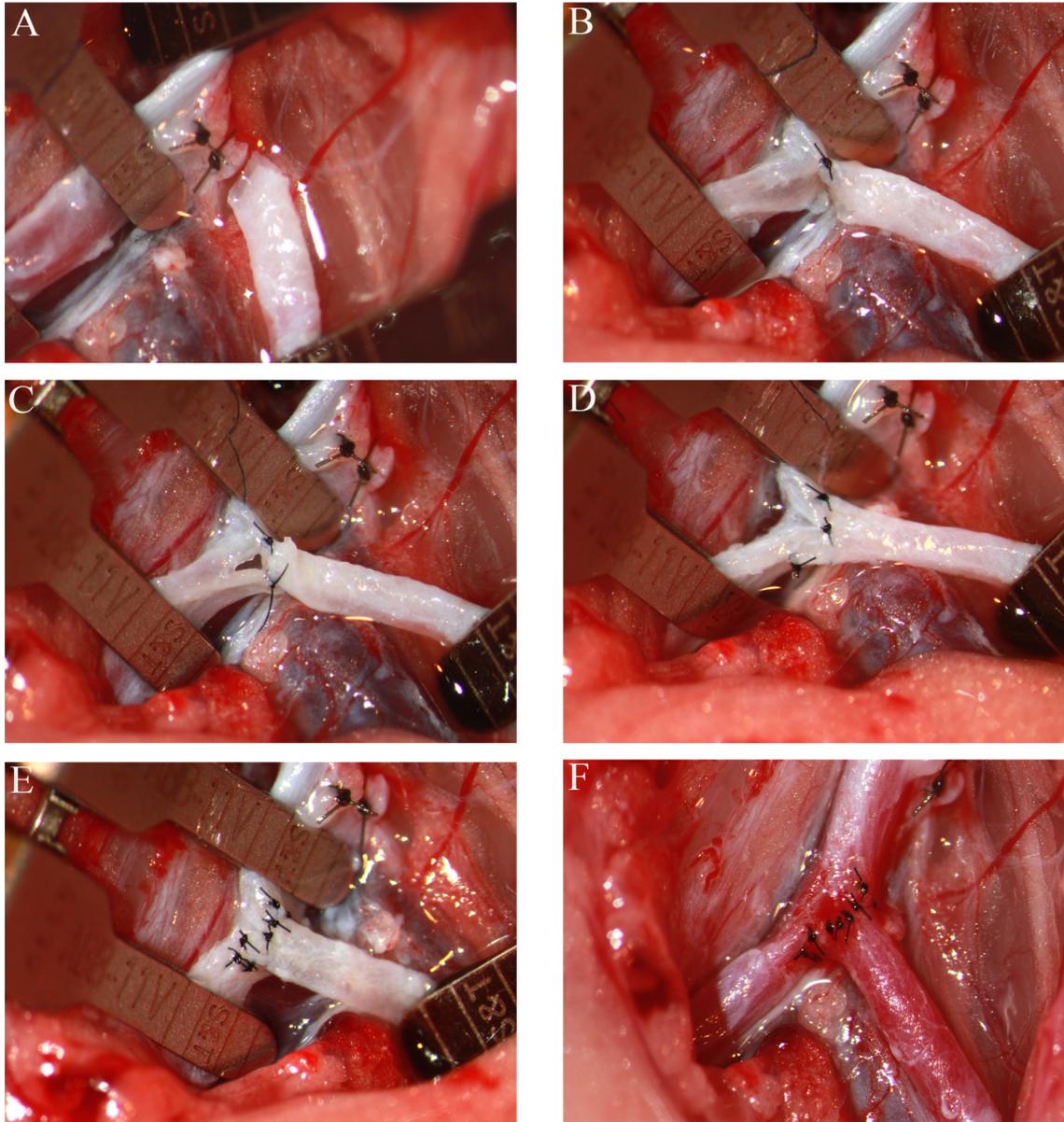


Abbildung 2–12: Exemplarische Darstellung der OES-Technik für eine End-zu-Seit-Anastomose im *A. iliaca communis* Modell nach Hall et al. in einer Ratte [Hall, 1980]: **A** präparierter „Pedikelstumpf“; **B-E** einzelne Schritte der OES-Technik; **F** komplettierte End-zu-Seit-Anastomose (in 20-facher Vergrößerung)

2.2.2. Erläuterung des Versuchaufbaus

2.2.2.1. Simulation des menschlichen Kreislaufsystems

Die Simulation des komplexen menschlichen kardiovaskulären Systems erfolgte mittels eines vereinfachten, artifiziellen Strömungskreislaufes, der dem physiologischen, pulsatilem Blutfluss auf der Ebene der A. thyroidea superior entsprach, *Abb. 2–13*.

Dabei wurde versucht, 1:1 maßstabsgetreue Arterienmodelle mit physiologisch entsprechenden Geometrien und ähnlichen Wandelastizitäten zu produzieren und diese mit einer speziellen Flüssigkeit zu perfundieren. Die Flüssigkeit ahmte das strukturvisköse Fließverhalten des Blutes und die physiologischen Geschwindigkeits-, Fluss- und Druckverhältnisse bei pulsierender Strömung möglichst wahrheitsgetreu nach [Liesch et al., 1991].

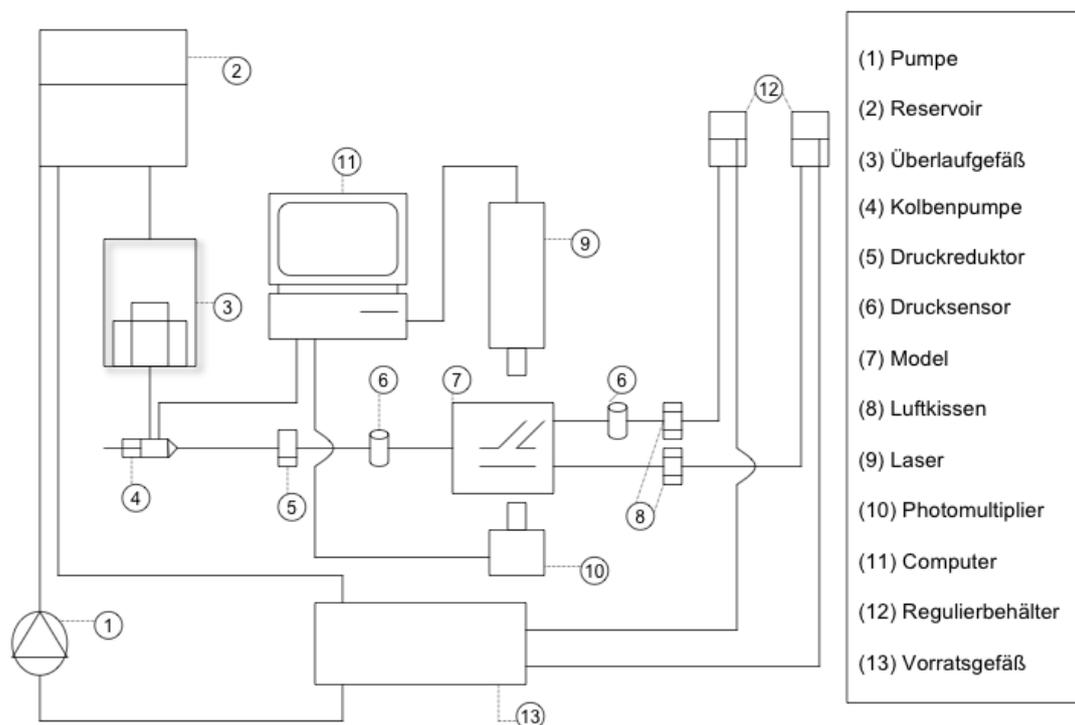


Abbildung 2–13: Aufbau des experimentellen Strömungskreislaufes

Die Flüssigkeit, die in das Reservoir eingefüllt wurde, floss in ein regulierbares Überlaufgefäß, dessen Höhenänderung den gewünschten statischen Druck im Strömungskreislauf gewährleistete. Vom Überlaufgefäß durchfloss die Flüssigkeit über eine

Vorlaufstrecke, die der Ausbildung eines laminaren Flusses diente, das Modell. Mit Hilfe eines 3-D-Traversiertisches wurde die Steuerung der Lage des Modells im Raum für die Messwerterfassung mittels Laser-Doppler-Anemometrie (LDA) ermöglicht. Nach Durchströmung des Modells und der vor- und nachgeschalteten integrierten Drucksensoren gelangte die Flüssigkeit über kleine Regulierbehälter in das Vorratsgefäß, wovon es wiederum mittels Pumpe in das Reservoir geleitet wurde. Messwertverfälschungen durch zu hohe Druckwellen und Druckwellenreflektionen wurden durch einen vorgeschalteten Druckreduktor und nachgeschaltete Luftkissen vermieden.

Der Volumenstrom wurde durch den hydrostatischen Druck bestimmt, der aus dem Höhenunterschied zwischen dem Überlaufgefäß und den Regulierbehältern resultiert und kann durch deren Lageveränderungen den Anforderungen der Simulation angepasst werden.

Die physiologische, pulsatile Druckkurve wurde durch eine computergesteuerte Kolbenpumpe erzeugt, die periodische oszillierende Pulswellen der stationären Strömung überlagerte. Die Hub- und Zeitdauer der Kolbenbewegung ist beliebig stufenlos programmierbar und ermöglicht so verschiedene Einstellungsmöglichkeiten der Pulswelle (60 Zyklen pro Minute), *Abb. 2–13*.

Die Gefäßdurchmesser des speisenden Hauptgefäßes (Donatorgefäß) im physiologischen Bifurkationsmodell und Goldstandard-Modell betragen jeweils 2,2 mm. Der Donatorgefäßdurchmesser in der neuen zu evaluierenden End-zu-Seit-Technik betrug 2,1 mm. Die Gefäßdurchmesser des abgehenden Gefäßes (Akzeptorgefäß) waren in den drei Modellen mit jeweils 1,6 mm identisch.

In allen Modellen wurde die Flussrate proximal der Bifurkation auf 48 ml/min reguliert. Distal der Bifurkation wurde die Flussrate in 36 ml/min im Donatorgefäß und 12 ml/min im Akzeptorgefäß aufgeteilt. Die Flussvolumen entsprachen denen aus der Literatur [Lorenzetti et al., 2001; Selber et al., 2013]. Daraus ergab sich eine flow rate ratio von 3:1, *Tab.2–1*.

Als Referenzpunkt gilt in allen Modellen die „Ferse“ („heel“) der Bifurkation. Die vier Messebenen befanden sich proximal und distal des Referenzpunktes, *Abb. 2–14*

Der Womersley Parameter für diesen experimentellen Strömungskreislauf lag in allen Modellen unter 3 [Womersley, 1955a].

Modell	Gefäß- durch- messer [mm]	Mittlere Geschwin- digkeit [m/s]	Volumen- strom [ml/min]	RE- Zahl	Theor. Visk. [Pas]	Rep. Dyn. Visk. [Pas]	Womersley Parameter [α]
Physio und OES	2,2	0,0526	48,0	40	0,0066	0,004	2,297
Gold Hauptgefäß	2,1	0,0577	48,0	44	0,0064	0,004	2,23
Physio, OES und Gold Abgang	1,6	0,0955	12,0	70	0,0052	0,004	1,875
Abkürzungen: PHYSIO = physiologische Bifurkation, OES = OES-Technik, GOLD = Goldstandard Technik, Branch = Abgang / Pedikelstumpf, Re. Zahl = Reynolds-Zahl, Theor. Visk. = Theoretische Viskosität, Rep. Dyn. Visk = Repräsentative dynamische Viskosität							

Tabelle 2–1: Technische Parameter und Einstellungen proximal und distal der End-zu-Seit-Anastomose der drei analysierten Modelle – physiologische Bifurkation, Goldstandard und OES-Technik

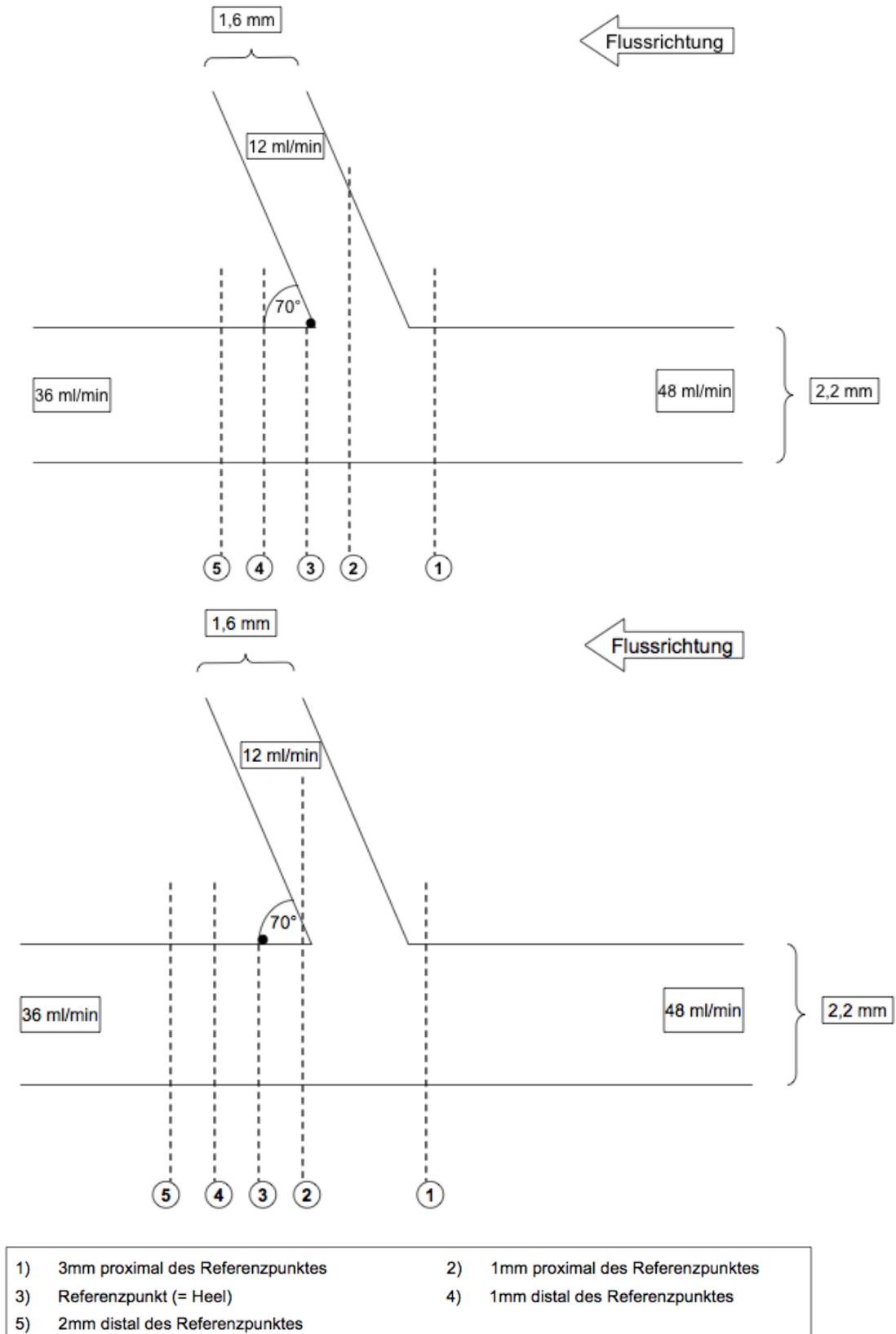


Abbildung 2–14: Exemplarische Modelldarstellung mit Größen, Einheiten und Lage der vier Messebenen in den Modellen:
oben physiologische Bifurkation; **unten** Modell der jeweiligen End-zu-Seit anastomosierten Gefäße

2.2.2.2. Flüssigkeitsherstellung und Flüssigkeitseigenschaften

Da Blut als Flüssigkeit aufgrund der Gerinnungsneigung und der fehlenden Transparenz für die LDA-Messungen nicht zur Auswahl steht, musste eine Flüssigkeit verwendet werden, die den viskoelastischen Fließeigenschaften des Blutes möglichst nahe kommt.

Die verwendete Flüssigkeit bestand aus einer Wasser-Glycerol-Mischung, in die verschiedene Polyacrylamide gemischt wurden (0.0035% Separan AP-302 and 0.0025% AP-45; Dow Chemical; Midland, Michigan, US). Zunächst wurde durch die Beimischung von Glycerol der Refraktionsindex des Gemisches verändert und dem der Modellwand ($n=1,41$) angeglichen. Dieser Vorgang ist für die LDA-Messung unabdingbar.

Sowohl Blut als auch die verwendete Testflüssigkeit weisen ein viskoelastisches, scherverdünnendes Fließverhalten auf, wobei bei zunehmender Scherung die dynamische Viskosität abnimmt und umgekehrt, *Abb. 2–15*. Durch Beimischung verschiedener Polyacrylamide (0.0035% Separan AP-302 and 0.0025% AP-45; Dow Chemical; Midland, Michigan, US) wurden Flusseigenschaften eines nicht-newtonschen Fluids, annähernd derer des Blutes, erreicht [Liesch et al., 1991]. Die Viskosität der Perfusionsflüssigkeit wurde mittels eines Rheometers (Rotovisco RV 100; HAAKE Mess-Technik GmbH u. Co; Karlsruhe, Germany) bestimmt. Das Flussverhalten der transparenten Flüssigkeit ähnelt dem des Blutes bei einer Temperatur von 37°C und einem Hämatokrit von 45%.

2.2.2.3. Modellherstellung

Als Vorlage der verwendeten Modelle dienten zwei End-zu-Seit-Anastomosen und eine physiologische Bifurkation von Schweinekoronararterien. Gemäß Modell erfolgte die End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard oder nach der zu evaluierenden Methode, siehe oben.

Die entnommenen Gefäßpräparate wurden mit einem raumtemperaturvernetzenden, Zwei-Komponenten-Silikon (ELASTOSIL® M 4601; Wacker Chemie AG; München, Deutschland) ausgefüllt.

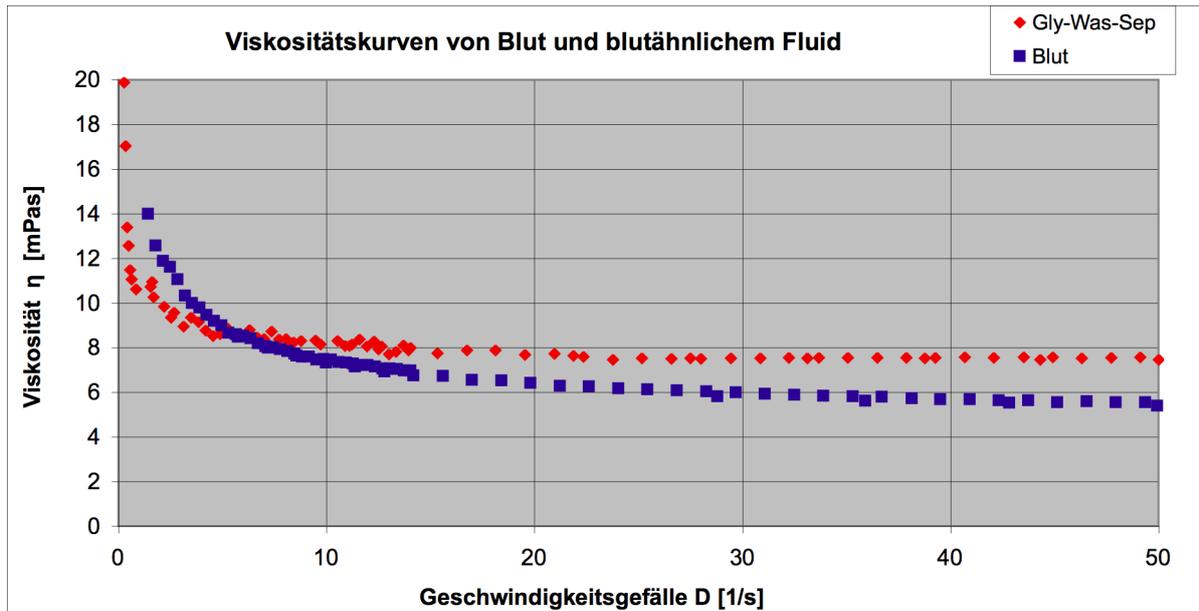


Abbildung 2–15: Strukturvisköses Verhalten von Blut mit einem Hämatokrit von 45% (blau) bei 37°C und des verwendeten Glycerol-Wasser-Separan-Gemisches (rot) bei 21°C

Die Herstellung des zwei-Komponenten Silikons erfolgt in mehreren Schritten und wird hier exemplarisch für die Herstellung weiterer Zwei-Komponenten-Silikone beschrieben.

Zunächst wurden die Komponenten A und B im Verhältnis von 9:1 gleichmäßig mit einem Spatel vermischt. Um eine blasenfreie Mischung zu erlangen, wurde das Gemisch anschließend in eine Vakuumlöcke gestellt und entlüftet. Der Entlüftungsvorgang, der zwei bis drei mal wiederholt wird, sollte dabei eine Minute nicht überschreiten. Die Aushärtungsgeschwindigkeit des Silikons ist einerseits von der Raumtemperatur und andererseits vom Volumen des Silikons abhängig.

Nach Aushärtung wurde der Silikonkern dreischichtig mit einem Abtrennmittel (SF 18; Wacker Chemie AG; München, Deutschland) bestrichen und mittig in einen zweiteiligen Holzkasten, dessen untere Hälfte zuvor mit entsprechendem Silikon ausgefüllt und ebenfalls mit Abtrennmittel (SF 18; Wacker Chemie AG; München, Deutschland) bestrichen wurde, eingebettet, *Abb. 2–16*.

Der Holzkasten wurde nach Einbringen von Ein- und Ausgängen für die spätere Wachsapplikation vollständig mit Silikon ausgefüllt und zur Aushärtung gelagert, *Abb. 2–16*.

Durch das Entfernen des Silikonkerns zwischen den beiden Silikonblöcken bekam man eine Gussform, mit der anschließend Wachsmodell hergestellt werden konnten, *Abb. 2–16*.

Die gewonnenen Wachskernmodelle wurden anschließend unter Rotation mit Abtrennmittel (SF 18; Wacker Chemie AG; München, Deutschland) bestrichen und dreilagig mit einem durchsichtigen Silikon (ELASTOSIL® RT 601; Wacker Chemie AG; München, Deutschland) beschichtet.

Um schlussendlich ein absolut transparentes Modell ohne Restpartikel an den Wänden zu erlangen, wurde der Wachskern in einem Ofen bei einer Temperatur von 70-80°C ausgeschmolzen und die Reste des Abtrennmittels in einem mit Isopropanol gefüllten Behälter ausgewaschen, *Abb. 2-16*.

Zur Messung wurde die transparente 1:1 Abbildung des Gefäßpräparates anschließend in einen Plexiglaskasten ® eingebaut und dem Strömungskreislauf angeschlossen, *Abb. 2-16*.

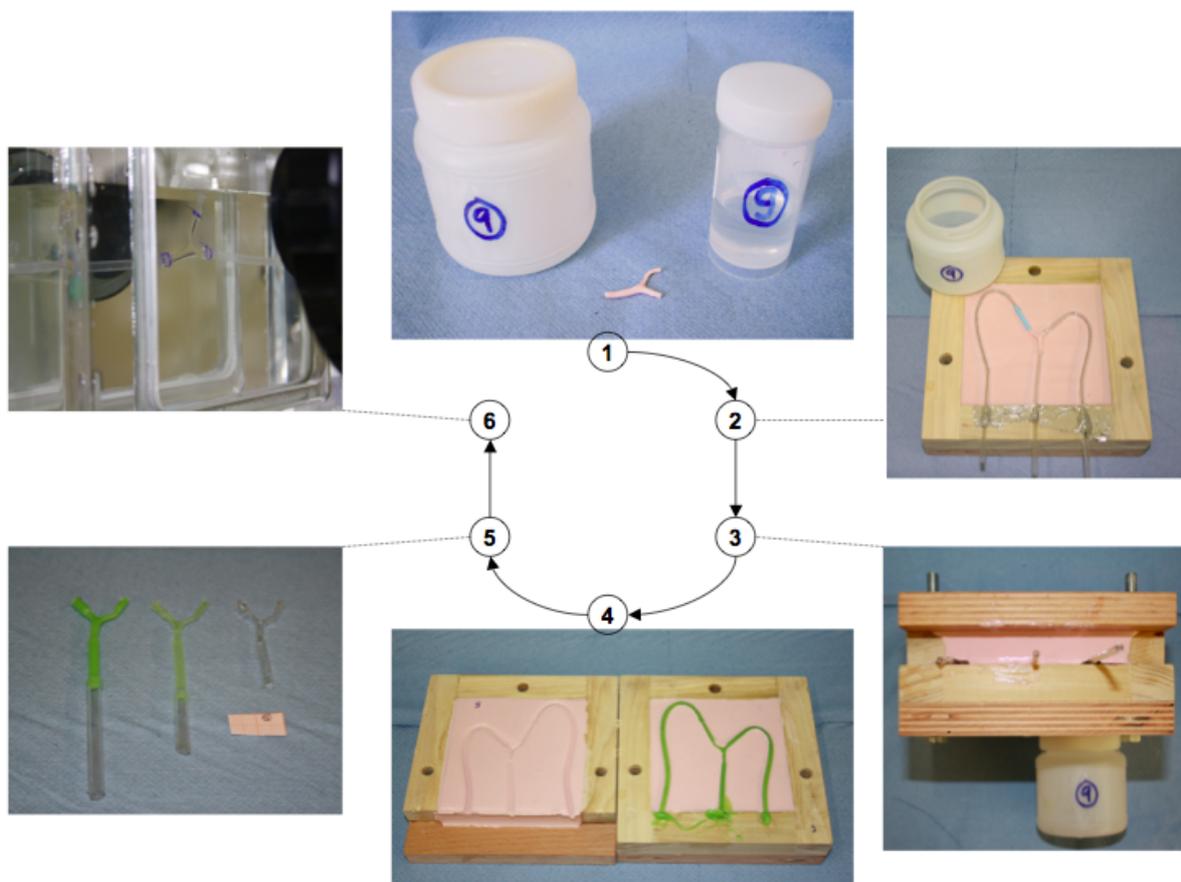


Abbildung 2-16: Übersicht der einzelnen Modellherstellungsschritte:
1 Silikonkern; *2* mittig positionierter Silikonkern mit Platzhalter für Ein- und Ausgänge; *3* Lagerung zur Aushärtung; *4* Wachskernmodell in der modellspezifischen Gussform; *5* außen links der Wachskern mit 3-lagiger Silikonschicht, mittig ausgeschmolzener Wachskern und außen rechts endgültiges transparentes Silikonmodell und *6* in Plexiglaskasten ® eingebautes Silikonmodell

2.2.3. Messwerterfassung und Auswertung

Die Messwerterfassungen der örtlichen Geschwindigkeit und Druckverhältnisse erfolgten mittels Laser-Doppler-Anemometrie (BBC Goerz. Spectraphysics; München, Deutschland) und dem Modell vor- und nachgeschalteter Drucksensoren (Typ P 11 / 0,5 bar; Hottinger Baldwin Messtechnik; Darmstadt, Deutschland).

Jedes Spannungssignal, das von einem Drucksensor (Typ P 11 / 0,5 bar; Hottinger Baldwin Messtechnik; Darmstadt, Deutschland) induktiv erfasst wird, vergrößert ein Messverstärker (KWS 3037; Hottinger Baldwin Messtechnik; Darmstadt, Deutschland) proportional. Der verstärkte Spannungswert wird an eine A/D Karte eines Rechners weitergeleitet. Um eine dem Spannungswert zugeordnete Druckgröße zu erhalten, wird der digitalisierte Spannungswert mit einem Kalibrierwert multipliziert, der Drucksensor-spezifisch ist. Der Messfehler dieser Drucksensoren ist mit $< \pm 1\%$ zu erwarten.

Zur Erfassung der Flussgeschwindigkeit wurde ein Laser-Doppler-Anemometrie System (BBC Goerz. Spectraphysics; München, Deutschland) mit einem 5-mW Helium-Neon-Laser der Wellenlänge 632,8 nm verwendet, *Abb. 2-17*.

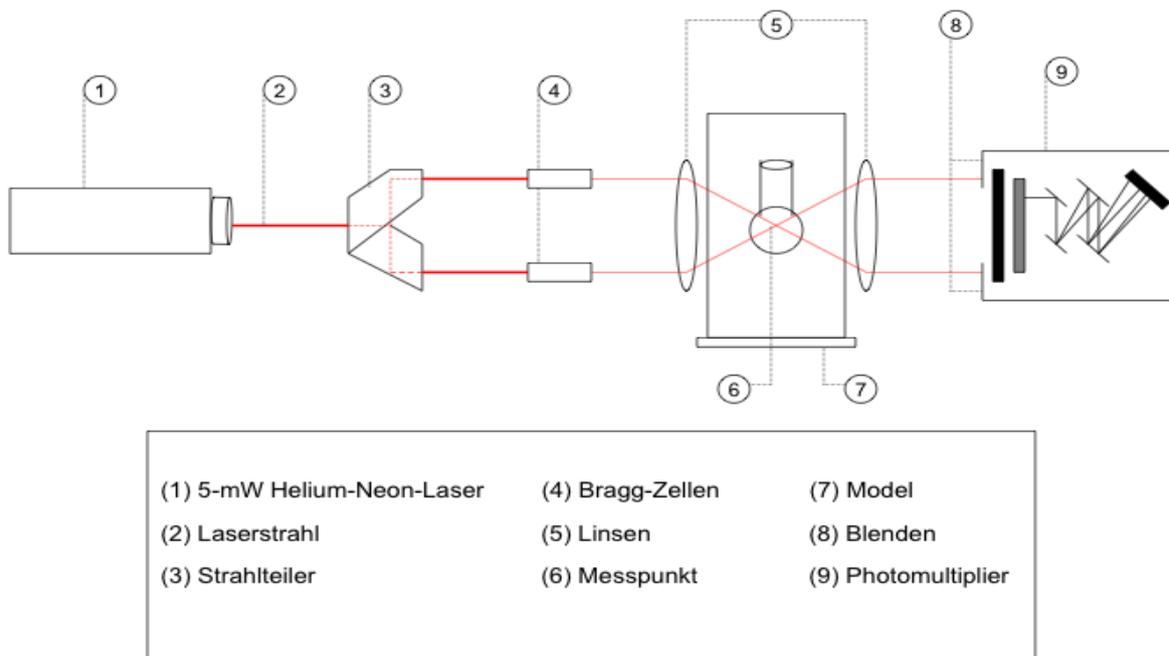


Abbildung 2-17: schematischer Aufbau des verwendeten LDA-Systems

Der einfallende Laserstrahl wurde durch einen Strahlteiler in zwei Laserstrahlen gleicher Intensität geteilt. Die interponierten Bragg-Zellen veränderten die Laserstrahlenfrequenz, woraus eine Shiftfrequenz von 700 kHz resultierte. Eine konvexe Linse fokussierte die zwei Laserstrahlen in einem Messpunkt mit einem Durchmesser von ca. 10-100 μm , in dem die örtliche Geschwindigkeit gemessen wurde.

Der im Messpunkt / Modell fokussiert einfallende Laserstrahl wurde durch die hinzugefügten Streuteilchen (TiO_2 -Partikel) in der verwendeten Testflüssigkeit gestreut, woraus ein Streulicht resultierte. Infolge des Dopplereffektes entstand eine Frequenzveränderung zwischen Laserlicht und Streulicht (Dopplerfrequenz f_{Doppler}), die proportional zur Geschwindigkeit des Streuteilchens ist. Des Weiteren ermöglichen die hinzugefügten Streuteilchen (TiO_2 -Partikel) mit einem Durchmesser von 1 μm eine hohe zeitliche und räumliche Auflösung (der Messbereich der Geschwindigkeit reicht von 0.005 m/s bis 1000 m/s und die Größe des Messvolumens beträgt ca. $5 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$ mit einer Messungenauigkeit von $\pm 1\%$). Die beiden Hauptstrahlen wurden vor dem Eingang des Photomultipliers durch eine Blende ausgeblendet, *Abb. 2–17*.

Das Streulicht wurde im Photomultiplier aufgefangen, in elektrische Spannung (Analogsignal) umgewandelt und in einem Doppler-Signalprozessor verarbeitet. Da die Frequenz des Streulichts bei dieser Empfangsart unabhängig von der Empfangsrichtung war, konnte diese über große Raumwinkel aufgenommen werden und ermöglichte dadurch eine hohe Intensität des Streulichts und Empfindlichkeit der Methode.

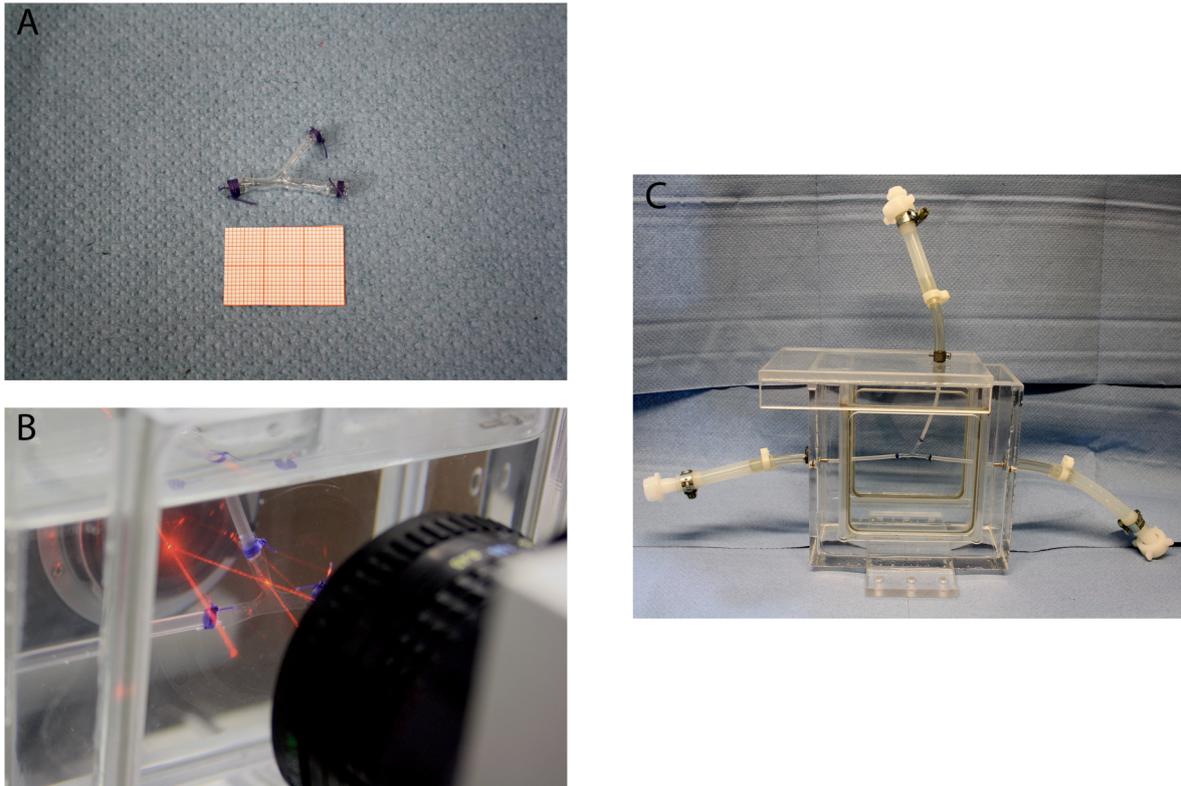


Abbildung 2–18: *A* endgültiges Modell mit Befestigungsfäden; *B* Modell im artifiziiellen Kreislauf eingebracht bei aktiver LDA-Messung mit sichtbaren Laserstrahlen und *C* Modell Plexiglaskasten @ eingebracht mit sichtbaren zu und abführenden Schenkeln

Die Daten aus dem Doppler-Signal-Prozessor wurden an einen Rechner weitergeleitet und durch die grafisch orientierte Software DIAdem™ (Version 8.0; National Instruments Corporation; Austin, Texas, US) erfasst und dargestellt, *Abb. 2–19*. Mit einer Abtastrate von 1000 Hz wurden jeweils pro Messpunkt die Daten von sieben Zyklen erfasst. Als Triggersignal diente ein Drücktaster an der Kolbenpumpe. Der Taster wurde am Anfang der Systole durch die Kolbenpumpe betätigt und löste die Aufzeichnung der Messung aus. Daraus resultierte eine berührungslose Geschwindigkeitsmessung ohne den Fluss zu stören bzw. zu manipulieren. Zur weiteren Darstellung und Analyse der Messwerte wurde die Visualisierungs-Software Tecplot (Version 10.0-0-8; Tecplot Inc.; Bellevue, WA98015, USA) verwendet.

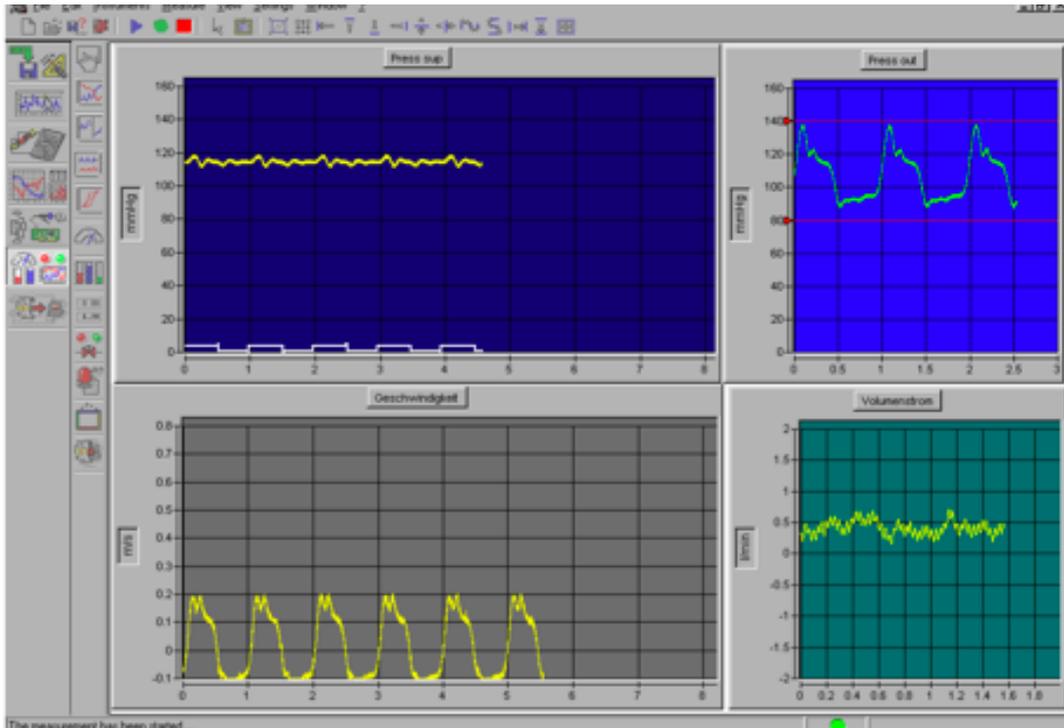


Abbildung 2–19: Screen Shot der zur Flussanalyse verwendeten graphisch orientierten Software DIAdem™ (Version 8.0; National Instruments Corporation; Austin, Texas, US): **Oben links** mittlerer arterieller Blutdruck, **oben rechts** systolische und diastolische Blutdruckwerte (Blutdruckkurve) und **unten links** Geschwindigkeitskurve in m/s

2.3. Embolienmodell in einer Aorta der Ratte

Um möglichst wahrheitsgetreue Verhältnisse und Reaktionen hinsichtlich der Anatomie und Physiologie in einem Modell simulieren zu können, haben wir uns für ein in vivo Versuchsmodell mit Ratten entschieden. Ratten stellen aufgrund ihres menschenähnlichen kardiovaskulären Systems und der anatomischen Verhältnisse ein standardisiertes und etabliertes Tierversuchsmodell in chirurgischen Fragestellungen dar und sind in der experimentellen Mikrochirurgie die am häufigsten genutzten Wirbeltiere.

In unserer Versuchsreihe wurden Wistar-Ratten (der Firma Charles-River; Sulzfeld, Deutschland) verwendet, die mit einem Tierantrag an die Regierung von Oberbayern (Projektnummer: Az.55.2-1-54-2531-93-10) zur mikrochirurgischen Versuchspräparation beantragt wurden.

2.3.1. Anästhesie, Operationsvorbereitungen und Operation

Vor der Intervention wurden die Ratten durch einen Tierarzt klinisch untersucht. Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Isofluran (Forene® 100 %; Abbot GmbH & Co. KG; Wiesbaden, Deutschland) in einer Ganzkörperkammer. Zur Fortführung der Narkose wurde Ketamin (Narketan® 100 mg/ml; Vétoquinol GmbH; Ravensburg, Deutschland) 100 mg/kg Körpergewicht (KG) und Xylazin (Rompun® 2 %; Bayer Vital GmbH; Leverkusen, Deutschland) 5 mg/kg KG intraperitoneal (i.p.), als Kombinationsnarkose in einer Mischspritze, appliziert. Die narkotisierte Ratte wurde anschließend im Abdominalbereich nass rasiert, die Augen mit Dexpanthenol (Bepanthen®; Bayer Vital GmbH; Leverkusen, Deutschland) bedeckt und auf einer über eine Rektalsonde automatisch regulierbare Wärmematte positioniert, wobei Atmung und Puls über ein Pulsoxymeter überwacht wurden. Die Desinfektion des OP-Bereichs erfolgte mit einer Cutasept®-Lösung.

Zur Aufrechterhaltung der Narkose wurde der Ratte ebenfalls in einer Mischspritze Ketamin (Narketan® 100 mg/ml; Vétoquinol GmbH; Ravensburg, Deutschland) 33 mg/kg KG und Xylazin (Rompun® 2%; Bayer Vital GmbH; Leverkusen, Deutschland) 1,6 mg/kg KG alle 30 Minuten bzw. bei Bedarf unter permanenter Kontrolle der Vitalparameter über das durchgeführte Monitoring i.p. nachgegeben.

Nach medianer Laparotomie mit Durchtrennung der Linea alba wurden die Organe vorsichtig mit Hilfe von eins bis zwei herkömmlichen Wattestäbchen in den oberen Teil des Abdomens geschoben und durch eins bis zwei mit Kochsalzlösung getränkten Tupfer feucht gehalten und

fixiert. Durch sorgsames Verdrängen der Darmschlingen mit Hilfe von zwei Wattestäbchen wurde das Retroperitoneum mit infrarenaler Aorta und Vena cava inferior bis zur Aortenbifurkation dargestellt. Anschließend folgte die Eröffnung der Gefäßscheide mit mikrochirurgischem Besteck, die zirkulär frei präpariert und mobilisiert wurde. Simultan wurde die eröffnete Abdominalhöhle ständig feucht gehalten.

Anschließend wurde die Aorta mit zwei temporären Clips ausgeclippt, durchtrennt und approximiert. Nach gründlichem Ausspülen der Gefäßlumina mit einem Heparin (Heparin-Natrium-25000-ratiopharm®; ratiopharm GmbH; Ulm, Deutschland)-Deltajonin (Deltajonin®; DeltaSelect GmbH; Dreieich, Deutschland)-Gemisch (500 IE Heparin auf 10 ml Deltajonin) wurde ein modifizierter Filter aus Polyurethan (Joseph Schimmel GmbH & Co; Aldesheim, Deutschland) mit Porengrößen von ca. 100 µm in das Gefäß eingebracht und die Gefäßenden mit mikrochirurgischen Nähten der Stärke 10-0 (Ethilon*; Ethicon, Johnson & Johnson; Livingston, Scotland) in Einzelknopfnahntechnik anastomosiert, *Abb. 2–20*.

Das weitere Procedere erfolgte gemäß Versuchprotokoll, siehe unten.

2.3.2. Gruppeneinteilung

Die Gruppe I diente der Evaluation der Einheilungs- und Umbauprozesse, die durch die luminale Einnahm eines unbeschichteten Polyurethanfilters in Gang gesetzt werden.

Auf die Filtereinnahm folgte unmittelbar ein kontrollierender Rundgang in der Abdominalhöhle zur Hämostase, Rückverlagerung des Darmes und Spülung der Abdominalhöhle mit 5 ml Ringerlösung. Abschließend folgte ein zweischichtiger Wundverschluss, fortlaufende Muskelnahm mit einem 3-0 Vicryl Faden und Hautnahm mittels fortlaufender Nahm, kombiniert mit der Einzelknopfnahntechnik mit einem Ethilon 6-0 Faden (Ethicon; Johnson & Johnson Int.; Belgium).

Je nach Untergruppe erfolgte eine Re-Laparotomie und Freilegung der Aorta unter Mitentnahme des Filters mitsamt potenziell gesammelter Thromben nach drei, sieben und 31 Tagen, sowie sechs Monate nach initialer Filtereinnahm. Daraufhin wurden die Tiere mittels Pentobarbital 60mg/kg intrakardial (Narcoren®, Fa. Rhone-Merieux GmbH, Laupheim) und Entblutung euthanasiert [Close et al., 1996, 1997].

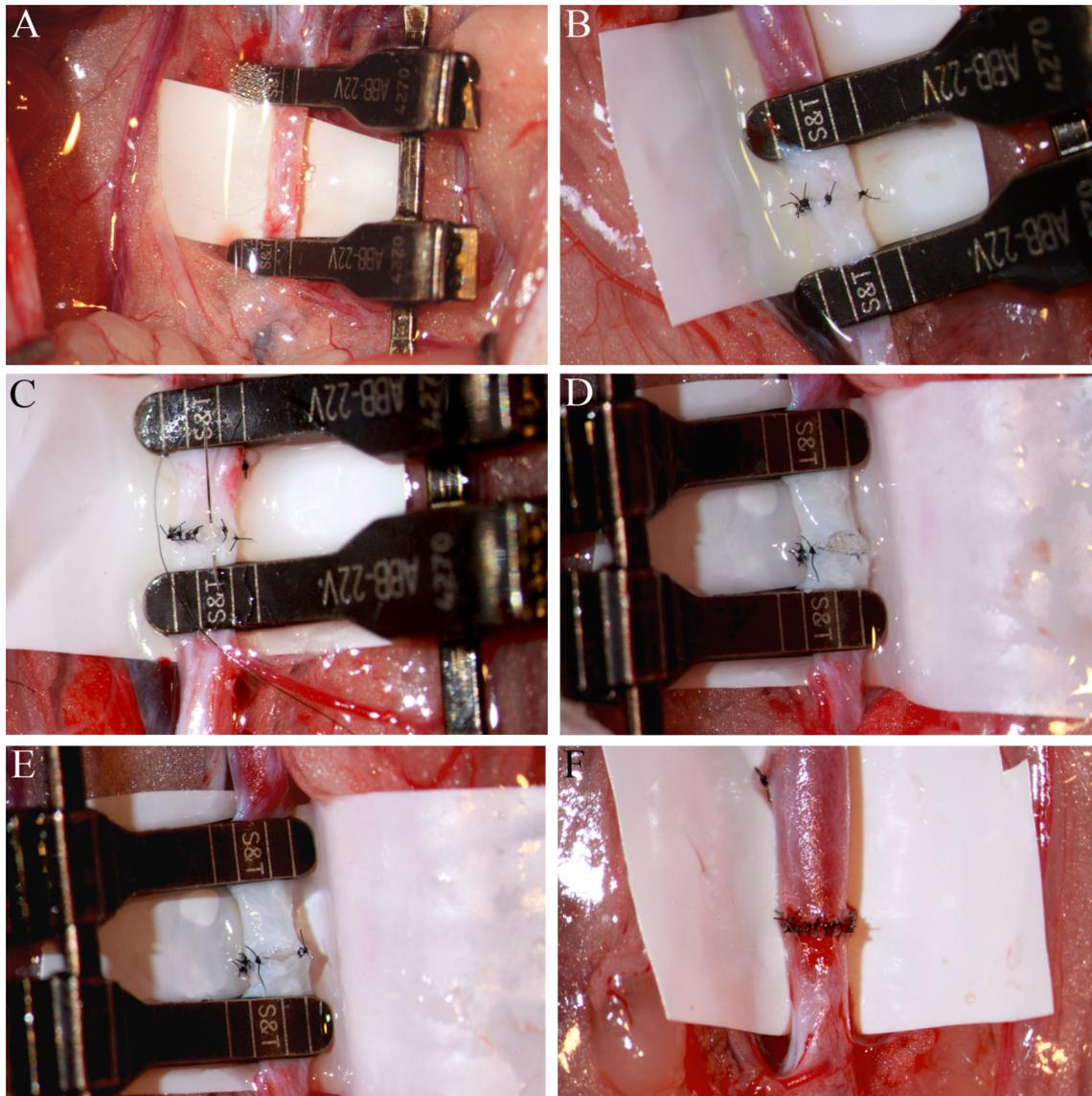


Abbildung 2–20: Exemplarische Bilder des Einnähens des verwendeten Polyurethan Filters mit einer Porengröße von 100 μm in eine Aorta der Ratte:

A Aorta der Ratte mit applizierten Approximatoren und dem Filter auf der kranialen / oberen Branche; **B** und **C** einzelne Schritte der Anastomose der Vorderwand; **D** Situation nach umdrehen des Approximators / Gefäßes mit noch offener Rückwand und gut sichtbarem Filter; **E** kurz vor Komplettierung der Rückwandanastomose und **F** komplettierte Filter-Anastomose nach Entfernung des Approximators und freigegebenem Blutfluss

Anschließend wurde eine makro- und mikroskopische Aufarbeitung und Untersuchung des Gefäßpräparats durchgeführt (siehe unten). Die Größe der Untergruppen belief sich auf jeweils sechs Ratten. Somit bestand Gruppe I total aus 24 Ratten, *Abb. 2–21*.

In den Ratten der Gruppe II wurde die Durchführbarkeit und Anwendung des Modells untersucht. Nach erneutem Ausclippen und sorgfältigem Ausspülen der Aorta erfolgte in derselben Operation (einzeitig) eine weitere End-zu-End-Gefäßanastomose mittels Einzelknopfnahntechnik proximal des eingebrachten Filters. Um eine Verfälschung der aufgefangenen Thrombusmenge im Filter zu verhindern, wurde der proximale Clip für eine kurze Zeit geöffnet und so ein potenzieller Gerinnungsthrombus durch zwei offen gelassene Nähte mittels Blutfluss hinaus geschwemmt. Anschließend wurden die Gefäßlumina gründlichst mit dem Heparin- (Heparin-Natrium-25000-ratiopharm®; ratiopharm GmbH; Ulm, Deutschland) Deltajonin- (Deltajonin®; DeltaSelect GmbH; Dreieich, Deutschland) Gemisch gespült und die Anastomose komplettiert. Analog zur Gruppe I erfolgten Hämostase, Rückverlagerung der Darmschlingen, Spülung und abschließender Wundverschluss.

Re-Laparotomie und Freilegung der Aorta unter Mitentnahme des Filters mitsamt potenziell gesammelter Thromben und proximaler Versuchsanastomose erfolgten vier Stunden und 14 Tage postoperativ. Anschließend wurden die Tiere mittels Pentobarbital 60mg/kg intrakardial (Narcoren®; Fa. Rhone-Merieux GmbH; Laupheim, Deutschland) euthanasiert.

Darauf folgend wurde in analoger Weise zur Gruppe I die makro- und mikroskopische Aufarbeitung und Untersuchung des Gefäßpräparats durchgeführt (siehe unten). Die Untergruppen bestanden jeweils aus zehn Ratten, somit belief sich die Gruppengröße der Gruppe II total auf 20 Ratten, *Abb. 2–21*.

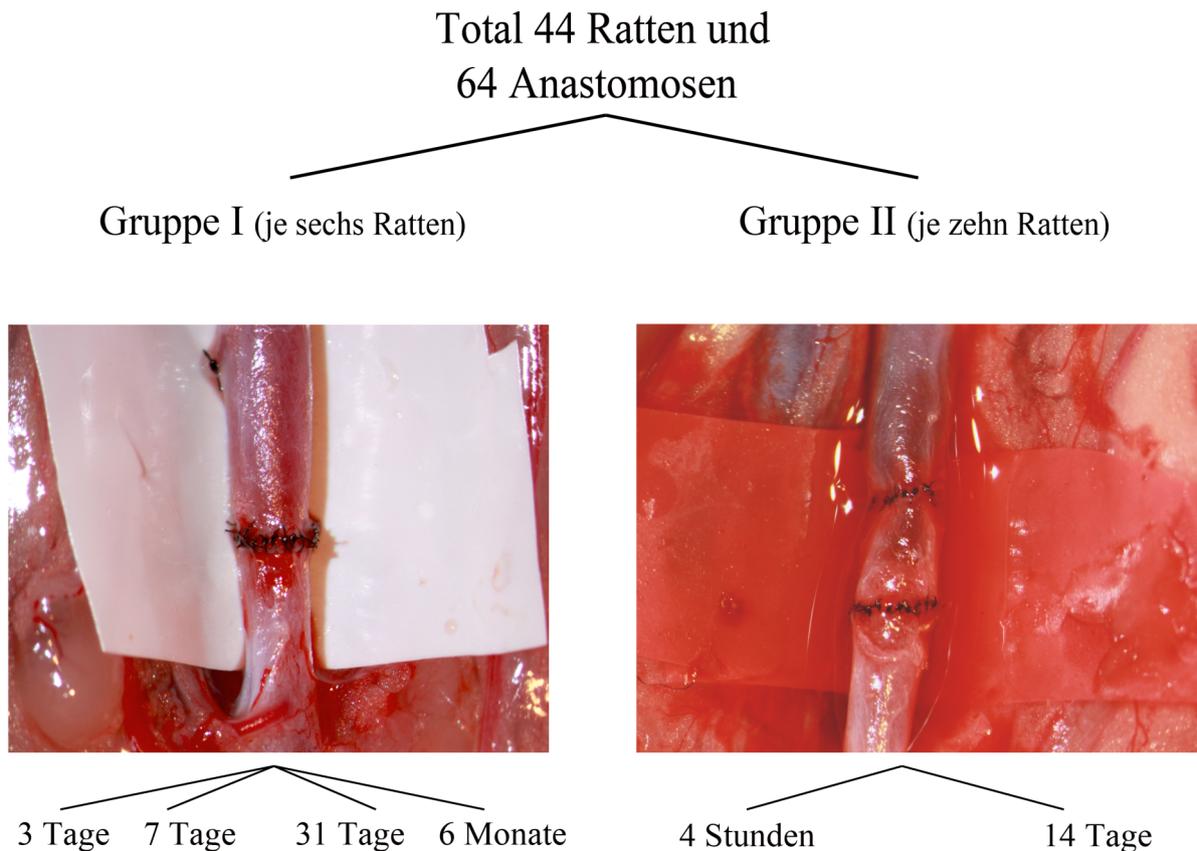


Abbildung 2–21: Übersicht der Gruppeneinteilung in Gruppe I und II. Gruppe I diente der Analyse der Filtereinheilung in einer Aorta einer Ratte und Gruppe II sollte die Anwendbarkeit des Modells überprüfen.

2.3.3. Auswertung

2.3.3.1. Filter- und Anastomosenanalyse auf Embolusmaterial

Hauptzielgröße der makroskopischen Untersuchung war das Volumen an aufgefangenem Thrombembolienmaterial im Filter. Das extrahierte Material wurde in einem speziellen Plexiglasgehäuse mit einer definierten Höhe von 500 µm neben 1/10-Millimeterpapier positioniert und fotografiert. Abschließend wurden die Thrombembolien mit Hilfe des Computerprogramms ImageJ (Image Processing and Analysis in Java; ImageJ 1.41; National Institute of Mental Health; Bethesda, Maryland, USA) volumetrisch ausgewertet, *Abb. 2–22*.

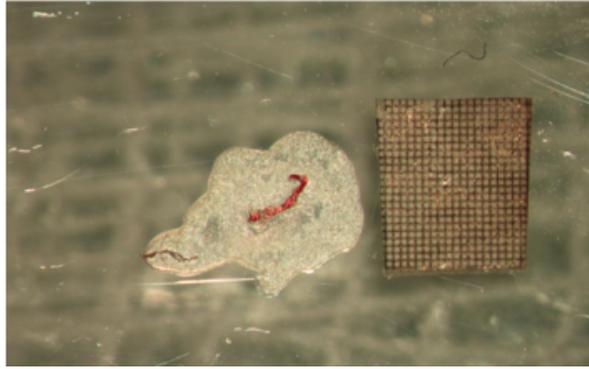


Abbildung 2–22: Exemplarisches Bild eines positiven Thrombemboliebefundes, der aus dem eingenähten Filter zur weiteren Analyse gewonnen wurde (10-fache Vergrößerung)

2.3.3.2. histologische Aufarbeitung

Bis zur weiteren histologischen Aufarbeitung und Auswertung, die durch einen verblindeten („blinded“) Anatom erfolgte, wurden die Präparate in einer Lösung aus Formaldehyd 4% in 100 mM Phosphat Puffer durchgespült, fixiert und für 6-80 Stunden bei 4° C gekühlt.

Es folgte eine Nachfixierung mit Osmiumtetroxid 0,5% für eine Stunde. Nach aufsteigender Alkoholreihe und Propylenoxid als Intermedium wurde das Präparat in Epoxidharz nach einem standardisierten Protokoll eingebettet, *Tab. 2–2*.

VORGANG	DURCHFÜHRUNG
Auswaschen mit Sörensenpuffer	4 x 15 Minuten
Osmierung, Osmium 0,5%	1 Stunde
Auswaschen mit Sörensenpuffer	4 x 15 Minuten
50% Ethanol	2 x 10 Minuten
70% Ethanol	4 x 10 Minuten
90% Ethanol	4 x 15 Minuten
96% Ethanol	4 x 15 Minuten
100% Ethanol	4 x 15 Minuten
Propylenoxid	4 x 15 Minuten
Propylenoxid-Aralditgemisch mit 3% Beschleuniger	12 Stunden
Aralditgemisch mit 2% Beschleuniger	2 x 2 Stunden
Endeinbettung, Araldit mit 2% Beschleuniger	15 Stunden bei 65°C

Tabelle 2–2: standardisiertes Einbettungsprotokoll der Präparate

Zur histomorphologischen Analyse wurden die fixierten Präparate in mehrere Unterblöcke aufgeteilt und mit einem Mikrotom UltraCut E (Serie reichert-Jung von Leica; Wien, Österreich) in mehrer Kurzserien geschnitten. Die resultierenden Semidünnschnitte hatten eine Schnittdicke von 0,75 µm. Es schloss sich eine Toluidinblau-Färbung an, 1g von Fluka (Buchs, Deutschland) und Natriumtetraborat (NaB_4O_7) 1g, Borax®, Riedel-de Haën (Seelze, Deutschland) in 100 ml Aqua dest., sowie 80 g Saccharose (J.T.Baker Chemicals; Deventer, Niederlande), welche anschließend hinzugegeben wurde. Diese Lösung wurde mit Natronlauge (NaOH, J.T.Baker Chemicals; Deventer, Niederlande) auf einen pH von 9,3 titriert.

Bei der postoperativen, histologischen Analyse wurde das Hauptaugenmerk auf morphologische Veränderungen in den einzelnen Gefäßwandschichten (Intima, Media und Adventitia) gelegt. Die Beurteilung der postoperativen Veränderungen erfolgte an Hand eines standardisierten Protokolls und unter Vergabe von Punkten zwischen 0 und 4, *Tab. 2–3*.

Gefäßschicht	Histologisches Kriterium (Score)	Untersuchung
Intima	Intima Hyperplasie (0-4)	0 = ≤ 2 Schichten und keine Expansion, 1 = > 2 and ≤ 5 Schichten oder Expansion von ≤ 300 µm der Länge, 2 = > 5 Schichten oder Expansion von > 300 µm in der Länge
	Unterbrechung der Lamina elastica interna (0-2)	0 = keine 1 = 0 < x < 200 µm 2 = x > 200 µm
Media	Zelluläre Infiltration (0-2)	0 = ≤ 1 Zelle 1 = > 1 und ≤ 5 Zellen 2 = > 5 Zellen bei 260-facher Vergrößerung
	Nekrose (0-2)	0 = keine 1 = beginnende 2 = komplette
Adventitia	Zelluläre Infiltration (0-2)	0 = ≤ 1 Zelle 1 = > 1 und ≤ 5 Zellen 2 = > 5 Zellen bei 260-facher Vergrößerung
	Neovaskularisation und Lymphangiogenese (0-2)	0 = ≤ 1 Gefäß 1 = > 1 und ≤ 3 Gefäße 2 = > 3 Gefäße bei 260-facher Vergrößerung
Filter	Durchgängigkeit	nein (0), ja (1)

Tabelle 2–3: tabellarische Darstellung des standardisierten Auswertungsprotokolls

2.3.3.3. Statistische Auswertung

Die Daten wurden mittels Microsoft Office Excel (Microsoft Excel for Windows, release 11., 2003 Microsoft Corporation) gesammelt und mittels Statistical Product and Service Solutions (SPSS for Windows, release 18.0.0, 2010, SPSS Inc.; Chicago, USA) analysiert.

Der T-Test wurde verwendet, um die Thrombosemengen der einzelnen Versuchstiere miteinander zu vergleichen. Der Man-Whitney-U-Test wurde verwendet, um die einzelnen histologischen Veränderungen gruppenspezifisch miteinander vergleichen zu können.

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 statistische signifikant angesehen wurden. Das Konfidenzintervall wurde mit 95% angegeben.

3. Ergebnisse

3.1. Shield-Protection-Technique

Insgesamt wurden 249 Gefäße, 133 arterielle und 116 venöse, anastomosiert. In 73 arteriellen (54,89 %) und 58 venösen (50 %) Anastomosen kam die „Shield-Protection-Technique“ zur Anwendung. Bei arteriellen Anastomosen wurden total 25 (6,3 %) und bei venösen Anastomosen total 54 (15,5 %) Komplikationen (Definition siehe oben) registriert.

3.1.1. arterielle Anastomosen

Der durchschnittliche Gefäßdurchmesser der anastomosierten Arterien betrug 2,28 mm, für dessen Anastomosierung durchschnittlich $12 \pm 2,49$ Einzelknopfnähte gesetzt wurden. Die Zeit pro Naht belief sich auf $2:17 \pm 0:54$ Minuten.

Schräg verlaufende Nähte wurden insgesamt 9-mal beobachtet, mit einer Verteilung von 8 Fällen in der Kontrollgruppe (88,9 %) und einem Fall in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe (11,1 %). Eine inkomplette Anastomose wurde in 5 Fällen (3,8 %) beobachtet, alle in der Kontrollgruppe (100 %). Luminal eingenähte Adventitia wurde in 11 Fällen gefunden (8,3 %), 8 in der Kontrollgruppe (72,7 %) und 3 in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe (27,2 %). Insgesamt wurde die Rückwand in 9 Anastomosen (6,8%) angenäht, 7-mal in der Kontrollgruppe (77,8 %) und zweimal in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe (22,2 %).

Sowohl die Verwendung der „Shield-Protection-Technique“, als auch eine größere Erfahrung des Teilnehmers senkten signifikant ($p = 0,02$ und $p = 0,02$) die Häufigkeit einer Gefäßstenosierung, verursacht durch das Annähen der Gefäßrückwand, *Tab. 3-1*. Die Inzidenz des luminalen Einnähens der Adventitia war in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe signifikant niedriger ($p = 0,03$), *Tab. 4*. In der Häufigkeit von schräg verlaufenden Nähten und inkompletten Anastomosen wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und „Shield-Protection-Technique“ Gruppe beobachtet, *Tab. 3-1*.

Des Weiteren wurde zwischen den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied in der für die Anastomose benötigten Zeit bestimmt ($p = 0,08$), *Tab. 3-1*.

3.1.2. venöse Anastomosen

Der durchschnittliche Gefäßdurchmesser der anastomosierten Venen betrug $1,5 \pm 0,46$ mm, für dessen Anastomosierung durchschnittlich $12 \pm 3,01$ Einzelknopfnähte gesetzt wurden. Die Zeit pro Naht belief sich auf $2:59 \pm 1:23$ Minuten.

Schräg verlaufende Nähte wurden insgesamt vier mal beobachtet (3,4 %), alle in der Kontrollgruppe (100 %). Ein inkomplett anastomosiertes Gefäß wurde in 14 Fällen (12,1 %) registriert, alle in der Kontrollgruppe (100 %). Luminal eingenähte Adventitia wurde in 12 Venen bestimmt (10,3 %), davon 11 in der Kontrollgruppe (91,7 %) und eine in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe (8,3 %). Insgesamt wurde die Rückwand in 28 venösen Anastomosen (24,1 %) angenäht, 25-mal in der Kontrollgruppe (89,3 %) und dreimal in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe (10,7 %).

Die Inzidenz der Gefäßrückwandannaht und konsekutiver Stenosierung wurde signifikant durch die Verwendung der „Shield-Protection-Technique“ ($p < 0,0001$), als auch durch eine größere Erfahrung des Teilnehmers ($p = 0,003$) gesenkt, *Tab. 3–2*. Luminale Einnähen der Adventitia war in der „Shield-Protection-Technique“ Gruppe signifikant niedriger ($p = 0,03$), *Tab. 5*. Bei Teilnehmern mit geringerer Erfahrung kam es signifikant häufiger zur inkompletten venösen Anastomosierung ($p = 0,03$), *Tab. 3–2*.

In der Häufigkeit von schräg verlaufenden Nähten wurde kein signifikanter Unterschied zwischen der Kontroll- und „Shield-Protection-Technique“ Gruppe beobachtet, *Tab. 3–2*.

Des Weiteren wurde zwischen den beiden Gruppen kein signifikanter Unterschied in der für die Anastomose benötigten Zeit ermittelt ($p = 0,71$), *Tab. 3–2*.

Komplikation	Variable	Odds Ratio	95% KI	p-Wert
Stenose durch Rückwandannaht $R^2 = 0.50$	Erfahrung des Teilnehmers	2,34	1,16 – 4,73	0,02 *
	SPT	0,13	0,21 – 0,76	0,02 *
	Gefäßdurchmesser	0,83	0,04 – 1,71	0,62
Schräg verlaufende Nähte $R^2 = 0.45$	Erfahrung des Teilnehmers	1,28	0,47 – 3,50	0,63
	SPT	0,00	0,00 – 0,01	0,53
	Gefäßdurchmesser	2,51	0,79 – 7,96	0,12
Inkomplette Anastomose $R^2 = 0.46$	Erfahrung des Teilnehmers	2,90	0,97 – 8,68	0,06
	SPT	0,00	0,00 – 0,01	0,99
	Gefäßdurchmesser	2,75	0,47 – 16,22	0,26
Luminal eingenahte Adventitia $R^2 = 0.14$	Erfahrung des Teilnehmers	1,64	0,85 – 3,15	0,14
	SPT	0,21	0,05 – 0,90	0,03 *
	Gefäßdurchmesser	1,13	0,94 – 1,35	0,20
Legende / Abkürzungen: KI = Konfidenzintervall; SPT = Shield-Protection-Technique * = $p < 0,05$				

Tabelle 3–1: Ergebnisse der multiplen logistischen Regressionsanalyse der Effekte von Erfahrung des Teilnehmers, Gefäßdurchmesser und der Verwendung der „Shield-Protection-Technique“ in arteriellen Anastomosen

Komplikation	Variable	Odds Ratio	95% KI	p-Wert
Stenose durch Rückwandannaht R² = 0.401	Erfahrung des Teilnehmers	1,86	1,24 – 2,79	0,003 *
	SPT	0,05	0,13 – 0,21	< 0,0001 *
	Gefäßdurchmesser	2,82	0,76 – 10,15	0,11
Schräg verlaufende Nähte R² = 0.227	Erfahrung des Teilnehmers	1,18	0,55 – 2,53	0,66
	SPT	0,00	0,00 – 0,01	0,99
	Gefäßdurchmesser	4,30	0,33 – 57,1	0,27
Inkomplette Anastomose R² = 0.39	Erfahrung des Teilnehmers	1,68	1,04 – 2,71	0,03 *
	SPT	0,00	0,00 – 0,01	0,99
	Gefäßdurchmesser	1,88	0,40 – 8,78	0,42
Luminal eingenähte Adventitia R² = 0.229	Erfahrung des Teilnehmers	11,34	0,85 – 2,12	0,21
	SPT	0,07	0,01 – 0,58	0,01 *
	Gefäßdurchmesser	3,28	0,66 – 16,2	0,15
Legende / Abkürzungen:				
KI = Konfidentintervall; SPT = Shield-Protection-Technique				
* = p < 0,05				

Tabelle 3–2: Ergebnisse der multiplen logistischen Regressionsanalyse der Effekte von Erfahrung des Teilnehmers, Gefäßdurchmesser und der Verwendung der „Shield-Protection-Technique“ in venösen Anastomosen

3.2. Neue End-zu-Seit-Technik

Die Flusskurve wurde über sieben Zyklen in vier Messebenen an definierten Messpunkten registriert, *Abb. 2–14*, und unter zur Hilfenahme des Analyse- und Visualisierungsprogramms Tecplot dargestellt.

3.2.1. physiologische Bifurkation

Exemplarisch sind die maximalen Geschwindigkeitsprofile der vier Messebenen im physiologischen Bifurkationsmodell sowohl in der systolischen (90°), als auch in der diastolischen Phase (270°) in *Abb. 3–1* zu sehen.

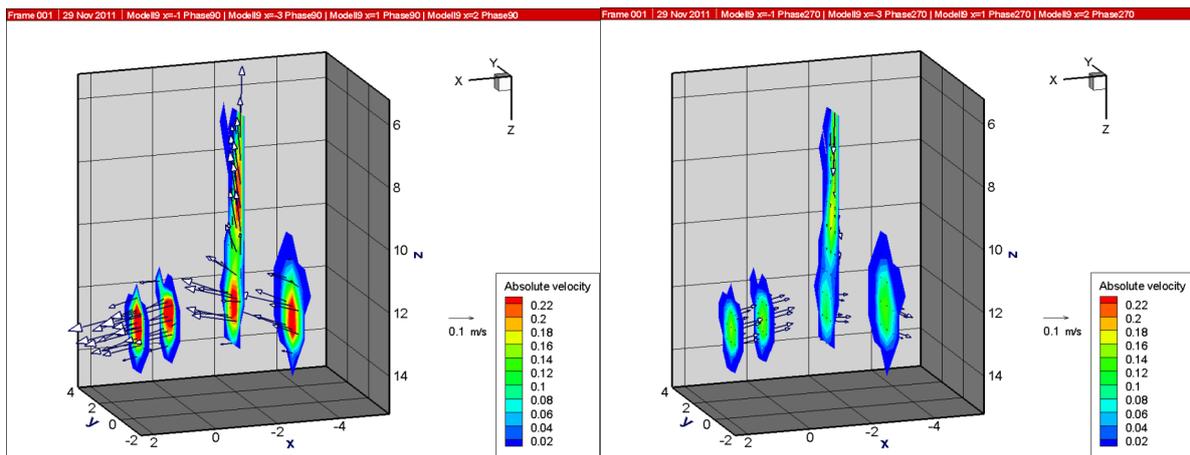


Abbildung 3–1: Tecplot Ergebnisse der physiologischen Bifurkation; Geschwindigkeitsdarstellung in der maximalen systolischen (90°) und diastolischen (270°) Phase aller vier Messebenen

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 3 mm proximal des Referenzpunktes war $0,287 \text{ m/s}$ ($\pm 0,028$) in der systolischen Phase (90°). Die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase (270°) war $-0,118 \text{ m/s}$ ($\pm 0,009$), *Abb. 7–1*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase war $0,064 \text{ m/s}$ ($\pm 0,018$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,0479 \text{ m/s}$ ($\pm 0,002$), *Abb. 7–1*. Die maximale horizontale Geschwindigkeit 1 mm proximal des Referenzpunktes lag bei $0,234 \text{ m/s}$ ($\pm 0,034$) in der systolischen Phase. Die minimale horizontale Geschwindigkeit

während der diastolischen Phase war $-0,118 \text{ m/s}$ ($\pm 0,003$), *Abb. 7-2*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase betrug $0,119 \text{ m/s}$ ($\pm 0,014$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase war $-0,067 \text{ m/s}$ ($\pm 0,015$), *Abb. 7-2*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 1 mm distal des Referenzpunktes war $0,281 \text{ m/s}$ ($\pm 0,036$) in der systolischen Phase und die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,154 \text{ m/s}$ ($\pm 0,009$), *Abb. 7-3*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit in der systolischen Phase war $0,028 \text{ m/s}$ ($\pm 0,0002$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,04 \text{ m/s}$ ($\pm 0,001$), *Abb. 7-3*. Die detaillierte Darstellung der vertikalen Flusskomponenten 1 mm distal des Referenzpunktes zeigte eine dezent asymmetrische Verteilung mit den Maxima an den lateralen Gefäßwänden unter leichter Aussparung des Zentrums. Die vertikalen Geschwindigkeitsvektoren waren in der distalen Messebene durchgehend nach unten auf den Boden des Donatorgefäßes gerichtet, *Abb. 3-4*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 2 mm distal des Referenzpunktes war $0,307 \text{ m/s}$ ($\pm 0,029$) in der systolischen Phase. Die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase war $-0,153 \text{ m/s}$ ($\pm 0,001$), *Abb. 7-4*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase betrug $0,025 \text{ m/s}$ ($\pm 0,002$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,048 \text{ m/s}$ ($\pm 0,003$), *Abb. 7-4*.

Die einzelnen Geschwindigkeiten sind in der *Tabelle 3-3* zusammengefasst (siehe unten).

3.2.2. Goldstandard

Exemplarisch sind die maximalen Geschwindigkeitsprofile der vier Messebenen im Goldstandard Bifurkationsmodell sowohl in der systolischen (90°), als auch in der diastolischen Phase (270°) in *Abb. 3-2* zu sehen.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 3 mm proximal des Referenzpunktes war $0,269 \text{ m/s}$ ($\pm 0,019$) in der systolischen Phase (90°). Die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase (270°) war $-0,122 \text{ m/s}$ ($\pm 0,006$), *Abb. 7-5*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase ist $0,084 \text{ m/s}$ ($\pm 0,009$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,085 \text{ m/s}$ ($\pm 0,01$), *Abb. 7-5*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 1 mm proximal des Referenzpunktes im Hauptgefäß war $0,192 \text{ m/s}$ ($\pm 0,016$) in der systolischen Phase und die minimale horizontale

Geschwindigkeit während der diastolischen Phase war $-0,108 \text{ m/s}$ ($\pm 0,001$). Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase im Hauptgefäß war $0,028 \text{ m/s}$ ($\pm 0,007$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $0,008 \text{ m/s}$ ($\pm 0,002$).

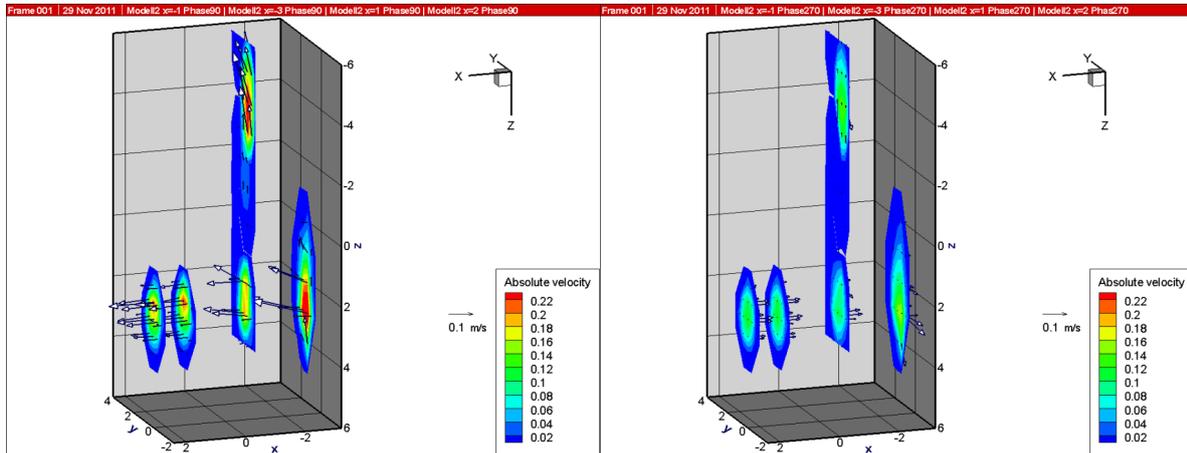


Abbildung 3–2: Tecplot Ergebnisse der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard Technik;

Geschwindigkeitsdarstellung in der maximalen systolischen (90°) und diastolischen (270°) Phase aller vier Messebenen

Die maximale horizontale Geschwindigkeit in der systolischen Phase im abgehenden Gefäß betrug $0,034 \text{ m/s}$ ($\pm 0,009$) und die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase war $-0,025 \text{ m/s}$ ($\pm 0,006$), *Abb. 7–6*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit in der systolischen Phase im abgehenden Gefäß betrug $0,146 \text{ m/s}$ ($\pm 0,039$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase war $-0,102 \text{ m/s}$ ($\pm 0,008$), *Abb. 7–6*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 1 mm distal des Referenzpunktes war $0,228 \text{ m/s}$ ($\pm 0,019$) in der systolischen Phase. Die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,119 \text{ m/s}$ ($\pm 0,003$), *Abb. 7–7*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase war $0,004 \text{ m/s}$ ($\pm 0,007$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,022 \text{ m/s}$ ($\pm 0,007$), *Abb. 7–7*. Die detaillierte Darstellung der vertikalen Flusskomponenten 1 mm distal des Referenzpunktes zeigte eine asymmetrische Verteilung mit deutlicher Aussparung des Zentrums und lateralen Geschwindigkeitsmaxima. Die vertikalen Geschwindigkeitsvektoren waren in der distalen Messebene durchgehend nach unten auf den Boden des Donatorgefäßes gerichtet, *Abb. 3–4*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 2 mm distal des Referenzpunktes war 0,212 m/s ($\pm 0,021$) in der systolischen Phase und eine minimale horizontale Geschwindigkeit von $-0,105$ m/s ($\pm 0,006$) wurde in der diastolischen Phase registriert, *Abb. 7–8*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit in der systolischen Phase war $-0,01$ m/s ($\pm 0,003$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,001$ m/s ($\pm 0,005$), *Abb. 7–8*. Die Geschwindigkeiten sind in der *Tabelle 3–3* zusammengefasst (siehe unten).

3.2.3. zu evaluierende End-zu-Seit- (OES-) Technik

Exemplarisch sind die maximalen Geschwindigkeitsprofile der vier Messebenen im Bifurkationsmodell der zu evaluierenden End-zu-Seit-Technik sowohl in der systolischen (90°), als auch in der diastolischen Phase (270°) in *Abb. 3–3* zu sehen.

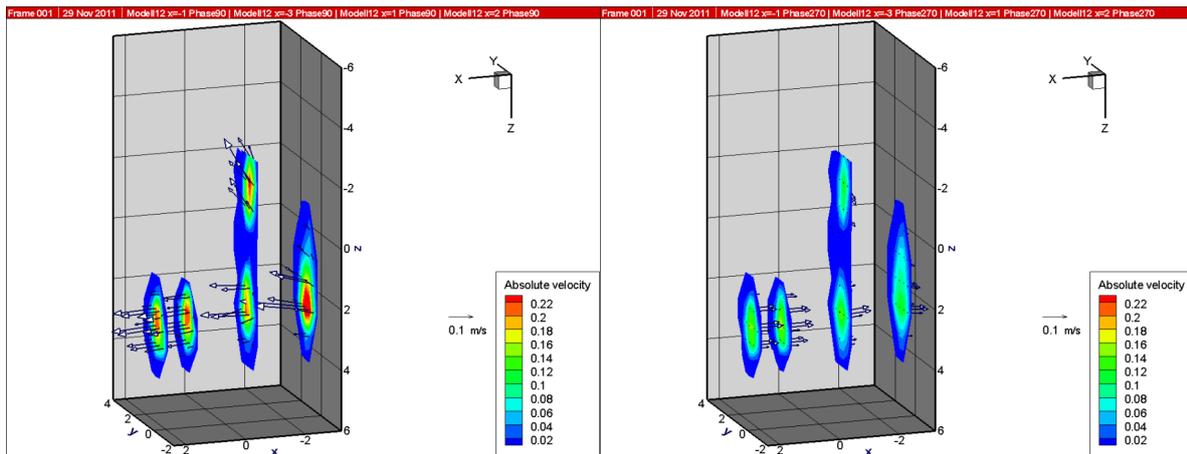


Abbildung 3–3: Tecplot Ergebnisse der End-zu-Seit-Anastomose nach OES-Technik; Geschwindigkeitsdarstellung in der maximalen systolischen (90°) und diastolischen (270°) Phase aller vier Messebenen

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 3 mm proximal des Referenzpunktes war 0,313 m/s ($\pm 0,042$) in der systolischen Phase (90°). Die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase (270°) war $-0,122$ m/s ($\pm 0,004$), *Abb. 7–9*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase betrug 0,053 m/s ($\pm 0,008$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,026$ m/s ($\pm 0,006$), *Abb. 7–9*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 1 mm proximal des Referenzpunktes im Hauptgefäß war 0,217 m/s ($\pm 0,022$) in der systolischen Phase und die minimale horizontale Geschwindigkeit während der diastolischen Phase war $-0,14$ m/s ($\pm 0,004$). Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase im Donatorgefäß war 0,013 m/s ($\pm 0,006$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,016$ m/s ($\pm 0,007$). Die maximale horizontale Geschwindigkeit in der systolischen Phase im abgehenden Gefäß betrug 0,12 m/s ($\pm 0,016$) und die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase war $-0,059$ m/s ($\pm 0,006$), *Abb. 7–10*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit in der systolischen Phase im abgehenden Gefäß betrug 0,155 m/s ($\pm 0,027$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase war $-0,089$ m/s ($\pm 0,005$), *Abb. 7–10*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 1 mm distal des Referenzpunktes war 0,23 m/s ($\pm 0,035$) in der systolischen Phase. Die minimale horizontale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,153$ m/s ($\pm 0,007$), *Abb. 7–11*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit während der systolischen Phase war 0,001 m/s ($\pm 0,001$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,017$ m/s ($\pm 0,002$), *Abb. 7–11*. Die detaillierte Darstellung der vertikalen Flusskomponenten 1 mm distal des Referenzpunktes zeigte eine homogene Verteilung mit zentralem Maximum. Die vertikalen Geschwindigkeitsvektoren waren in der distalen Messebene durchgehend nach unten auf den Boden des Donatorgefäßes gerichtet, *Abb. 3–4*.

Die maximale horizontale Geschwindigkeit 2 mm distal des Referenzpunktes war 0,209 m/s ($\pm 0,011$) in der systolischen Phase und eine minimale horizontale Geschwindigkeit von $-0,144$ m/s ($\pm 0,01$) wurde in der diastolischen Phase registriert, *Abb. 7–12*. Die maximale vertikale Geschwindigkeit in der systolischen Phase war 0,003 m/s ($\pm 0,001$) und die minimale vertikale Geschwindigkeit in der diastolischen Phase betrug $-0,014$ m/s ($\pm 0,003$), *Abb. 7–12*.

Die Geschwindigkeiten sind in der *Tabelle 3–3* zusammengefasst (siehe unten).

Geschwindigkeitsanalysen der vertikalen Geschwindigkeitsvektoren distal der Anastomose bzw. Bifurkation aus axialer Sicht zeigten eine Vektorenverteilung in den Modellen der physiologischen Bifurkation und der OES-Technik. Im Modell nach Goldstandard ließ die eine inhomogene Verteilung darstellen mit einem median geteilten Fluss, *Abb. 3–4*.

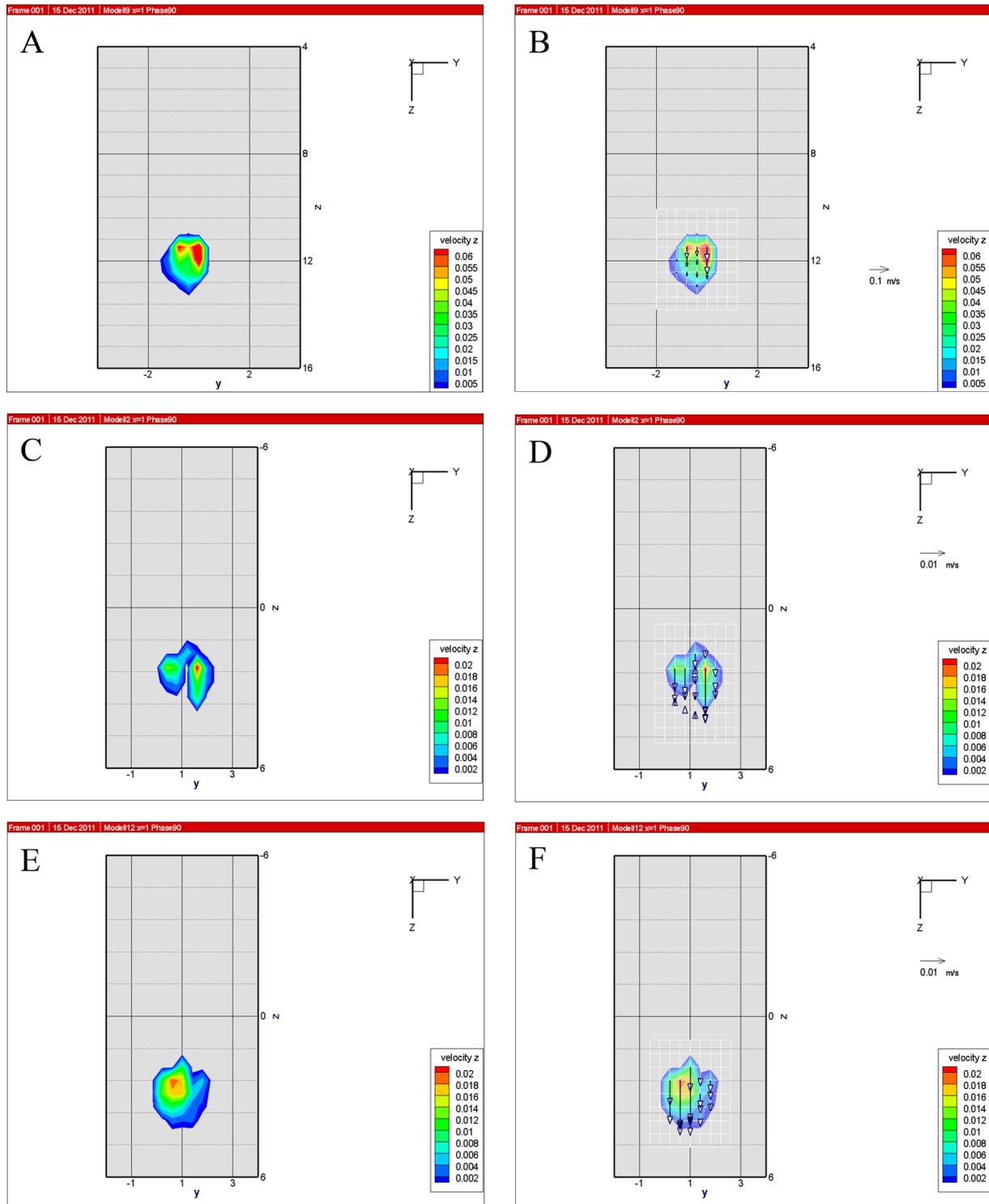


Abbildung 3–4: Detaillierte Tecplot-Darstellung der Geschwindigkeitsverteilung (linke Spalte) und der vertikalen Geschwindigkeitsvektoren (rechte Spalte) der verschiedenen Modelle aus axialer Sicht: **A** und **B** physiologische Bifurkation; **C** und **D** Goldstandard End-zu-Seit-Anastomose; **E** und **F** End-zu-Seit-Anastomose nach OES-Technik

Messebene	Geschwindigkeitsvektor	Physiologische Bifurkation (SD) [m/s]	Goldstandard Technik (SD) [m/s]	OES-Technik (SD) [m/s]
3mm proximal (Hauptgefäß)	maximal horizontal	0,287 (± 0,028)	0,269 (±0,019)	0,313 (± 0,042)
	minimal horizontal	- 0,118 (±0,009)	- 0,122 (±0,006)	- 0,122 (± 0,004)
	maximal vertikal	0,064 (±0,018)	0,084 (±0,009)	0,053 (±0,008)
	minimal vertikal	- 0,0479 (±0,002)	- 0,085 (±0,01)	- 0,026 (±0,006)
1mm proximal (Hauptgefäß)	Max. horizontal	0,234 (±0,034)	0,192 (±0,016)	0,217 (±0,022)
	Min. horizontal	- 0,118 (±0,003)	- 0,108 (±0,001)	- 0,14 (±0,004)
	Max. vertikal	0,119 (±0,014)	0,028 (±0,007)	0,013 (±0,006)
	Min. vertikal	- 0,067 (±0,015)	0,008 (±0,002)	- 0,016 (±0,007)
1mm proximal (abgehendes Gefäß)	Max. horizontal	-	0,034 (±0,009)	0,12 (±0,016)
	Min. horizontal	-	- 0,025 (±0,006)	- 0,059 (±0,006)
	Max. vertikal	-	0,146 (±0,039)	0,155 (±0,027)
	Min. vertikal	-	- 0,102 (±0,008)	- 0,089 (±0,005)
1mm distal (Hauptgefäß)	Max. horizontal	0,281 (±0,036)	0,228 (±0,019)	0,23 (±0,035)
	Min. horizontal	- 0,154 (±0,009)	- 0,119 (±0,003)	- 0,153 (±0,007)
	Max. vertikal	0,028 (±0,0002)	0,004 (±0,007)	0,001 (±0,001)
	Min. vertikal	- 0,04 (±0,001)	- 0,022 (±0,007)	- 0,017 (±0,002)
2mm distal (Hauptgefäß)	Max. horizontal	0,307 (±0,029)	0,212 (±0,021)	0,209 (±0,011)
	Min. horizontal	- 0,153 (±0,001)	- 0,105 (±0,006)	- 0,144 (±0,01)
	Max. vertikal	0,025 (±0,002)	- 0,01 (±0,003)	0,003 (±0,001)
	Min. vertikal	- 0,048 (±0,003)	- 0,001 (±0,005)	- 0,014 (±0,003)

Tabelle 3–3: Übersicht der LDA-Messergebnisse der drei Modelle in den jeweiligen definierten Messebenen proximal und distal der Bifurkation bzw. der End-zu-Seit-Anastomosen. Die Geschwindigkeitsangaben sind in m/s.

3.3. Embolienmodell in einer Aorta einer Ratte

Insgesamt wurden 44 Ratten operiert und 64 Anastomosen genäht. Total waren 41 von 44 Aorten (93,18 %) durchgängig, in der Gruppe I war ein Gefäß und in Gruppe II waren zwei Gefäße verschlossen. Für die insgesamt 44 Filter-Anastomosen wurden im Durchschnitt 25 Einzelknopfnähte benötigt. Die Durchführung der Filter-Anastomosen dauerte im Schnitt 51,78 (Gruppe I) bzw. 54,12 Minuten (Gruppe II). Die proximale Versuchsanastomose der Gruppe II wurde hingegen im Durchschnitt in 37,34 Minuten mit 16 Einzelknopfnähten durchgeführt. In keiner der beiden Gruppen gab es einen signifikanten Unterschied im postoperativen Blutverlust (0,69 ml vs. 0,64 ml), *Tab. 3–4*.

Gruppe I	Zeit pro Anastomose (min)	Anzahl der Nähte	Blutverlust (ml)	Durchgängigkeit
3 Tage	48,97	25,3	0,72	6/6
7 Tage	55,62	26	0,92	6/6
31 Tage	48,95	24,83	0,44	5/6
6 Monate	57,15	25,5	0,65	6/6
Total / Durchschnitt	51,78	25,4	0,69	23/24 (95,83 %)
Gruppe II				
Gruppe II	Zeit pro Anastomose proximal/distal (min)	Anzahl der Nähte proximal/distal	Blutverlust (ml)	Durchgängigkeit
4 Stunden	43,22 / 58,49	15 / 24,6	0,56	9/10 (90 %)
14 Tage	31,47 / 49,75	17,4 / 24,4	0,73	9/10 (90 %)
Total / Durchschnitt	37,34 / 54,12	16,2 / 24,5	0,64	18/20 (90 %)

Tabelle 3–4: Übersicht der Operationsdaten

3.3.1. Histologische Veränderungen

3.3.1.1. Gruppe I

In der Gruppe I wurden insgesamt 24 Filter-Anastomosen in 24 Ratten durchgeführt. Anschließend erfolgte die Re-Laparotomie nach vorgegebenem Intervall und Analyse der Aortenpräparate nach oben vorgestelltem Protokoll, *Abb 2–21*. 23 von 24 Gefäßen waren patent (95 %), wobei das eine Gefäß aufgrund einer kompletten intraluminalen Fibrotisierung verschlossen war (siehe unten), *Abb 3–6 E und F*.

In der Drei-Tage-Filter-Gruppe zeigten sich bis auf eine beginnende Medianekrose in allen Präparaten ($p = 0,000$) keine signifikanten histologischen Veränderungen, weder Intima Hyperplasie ($p = 1,000$), Irritation der Lamina elastica interna ($p = 0,713$), noch eine Hyperzellularität der Adventitia ($p = 1,000$), *Abb 3–5 B*.

Am siebten postoperativen Tag war ein beginnender Reparaturprozess mit anfänglicher Intima Hyperplasie ($p = 0,005$), Infiltration von Fibromyoblasten in die Media ($p = 0,031$), komplette Demarkation der Medianekrose ($p = 0,000$) und erhöhter Adventitiazellularität ($p = 0,002$) zu sehen, *Abb 3–5 C*. Eine Neovaskularisation in der Adventitia ließ sich in zwei Gefäßen nachweisen, war jedoch zu diesem Zeitpunkt noch nicht signifikant ($p = 0,313$). Im Vergleich zum dritten postoperativen Tag waren die Intima Hyperplasie ($p = 0,015$) und die Hyperzellularität der Adventitia ($p = 0,002$) verstärkt.

31 Tage postoperativ waren alle Parameter bis auf die Irritation der Lamina elastica interna ($p = 0,22$) hochsignifikant verändert (je $p = 0,000$). Zudem ließen sich im Vergleich zum dritten und siebten postoperativen Tag in der Media signifikant vermehrt Fibromyoblasten (jeweils $p = 0,002$) bei vollständig ausgeprägter Medianekrose ($p = 0,002$) nachweisen. Die Adventitia erschien hyperzellulär im Vergleich zur Drei-Tage-Gruppe ($p = 0,002$), jedoch nicht signifikant zur Sieben-Tage-Gruppe ($p = 0,394$). Die Neovaskularisation und Lymphangiogenese in der Adventitia war in dieser Untergruppe signifikant im Vergleich zum drei und sieben Tage Intervall ($p = 0,002$ und $p = 0,015$), jedoch nicht mehr signifikant zum sechs Monate Intervall ($p = 1,000$), *Abb 3–5 E*.

Das Lumen einer 31-Tage-Filter-Ratte zeigte sowohl makroskopisch, als auch mikroskopisch eine komplette intraluminale Fibrotisierung mit Neovaskularisation und Lymphangiogenese, wodurch das Gefäß nicht mehr patent war. Klinisch zeigte die Ratte keine Auffälligkeiten im Sinne eines veränderten Verhaltensmusters bzw. einer Parese der Hinterläufe oder des Kontinenzapparates, *Abb 3–6 E und F*.

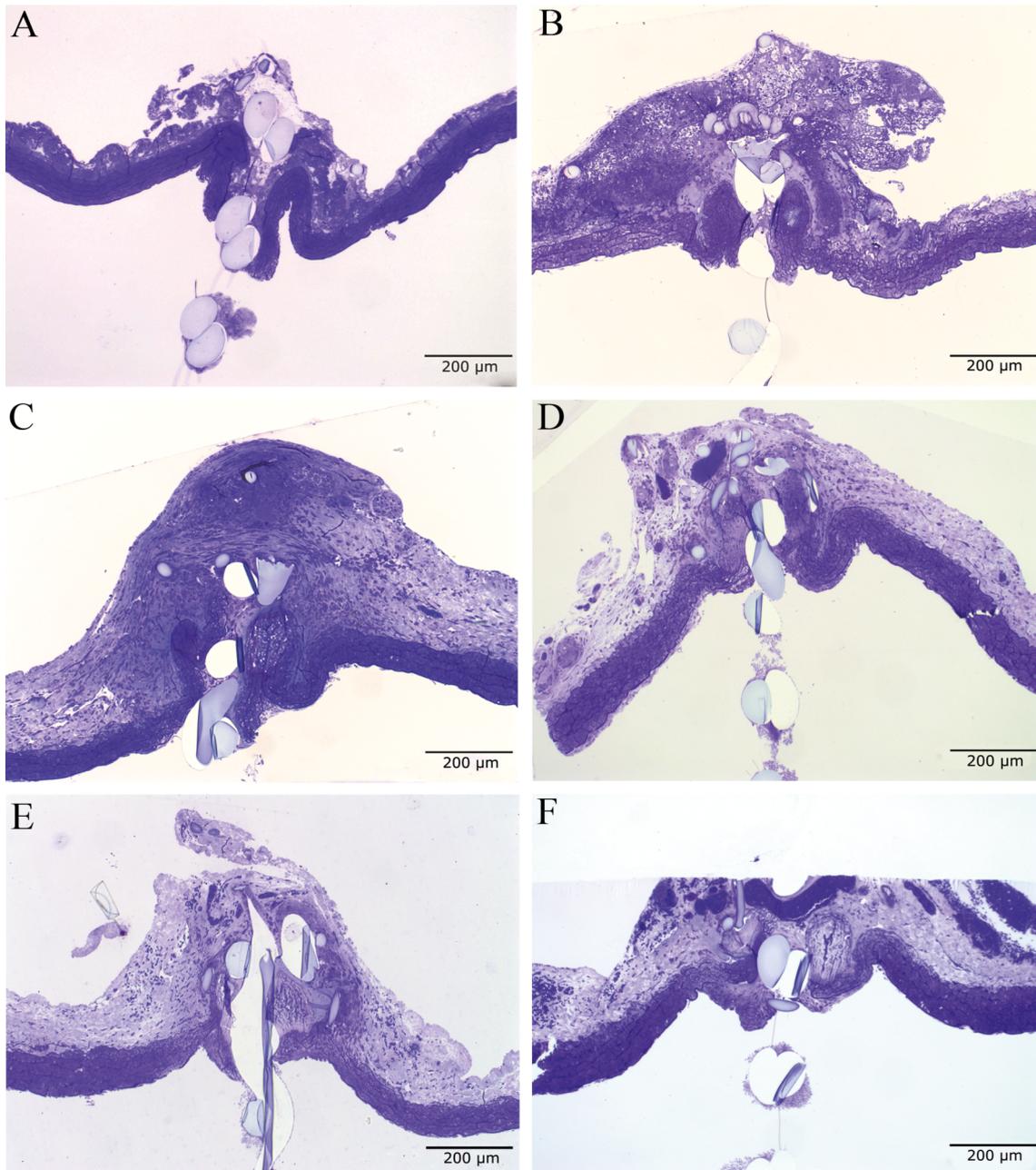


Abbildung 3–5: Übersicht der histologischen Veränderungen an der Aorta der Ratte in 65-facher Vergrößerung und chronologischer Reihenfolge:
A vier Stunden, B drei Tage, C sieben Tage, D 14 Tage, E 31 Tage und F sechs Monate postoperativ

Sechs Monate nach dem Eingriff waren wie 31 Tage postoperativ alle Parameter bis auf die Irritation der Lamina elastica interna ($p = 1,000$) hochsignifikant verändert (je $p = 0,000$). Im Vergleich zur 31-Tage-Untergruppe unterschied sich das histologische Bild lediglich in der Adventitiazellularität, die bei fortbestehender Neovaskularisation ($p = 1,0$) signifikant geringer war ($p = 0,002$). Im Vergleich zur Drei-Tage-Gruppe war die Adventitiareaktion signifikant vermehrt ($p = 0,002$), hingegen zur Sieben-Tage-Gruppe bestand kein signifikanter Unterschied mehr ($p = 0,065$). Jedoch kam es im Vergleich zum sieben Tage Intervall darüber hinaus zu einer signifikanten Neovaskularisation ($p = 0,015$), *Abb 3–5 F*.

Gruppe	IH	IEI	MFI	N	AH	NL	T*
I-3 Tage	1,000	0,713	1,000	0,000	1,000	1,000	0,331
I-7 Tage	0,005	0,713	0,031	0,000	0,000	0,313	0,547
I-31 Tage	0,000	0,22	0,000	0,000	0,000	0,000	0,105
I-6 Monate	0,000	1,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,105
II-4 Stunden	1	1	1	1	1	1	1
II-14 Tage	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	0,047
Legende:							
IH = Intima Hyperplasie, IEI = Irritation der Lamina Elastica interna, MFI = Media Fibromyozyten Infiltration, N = Nekrose, AH = Adventitiahyperzellularität, NL = Neovaskularisation/Lymphangiogenese, T = Thrombosevolumen							

Table 3–5: Vergleich der histologischen Veränderungen in den einzelnen Untergruppen zur 4-Stundengruppe als Referenz. Die statistischen Analysen erfolgten mittels Mann-Whitney-U Test und T-Test für die Thrombosemenge.

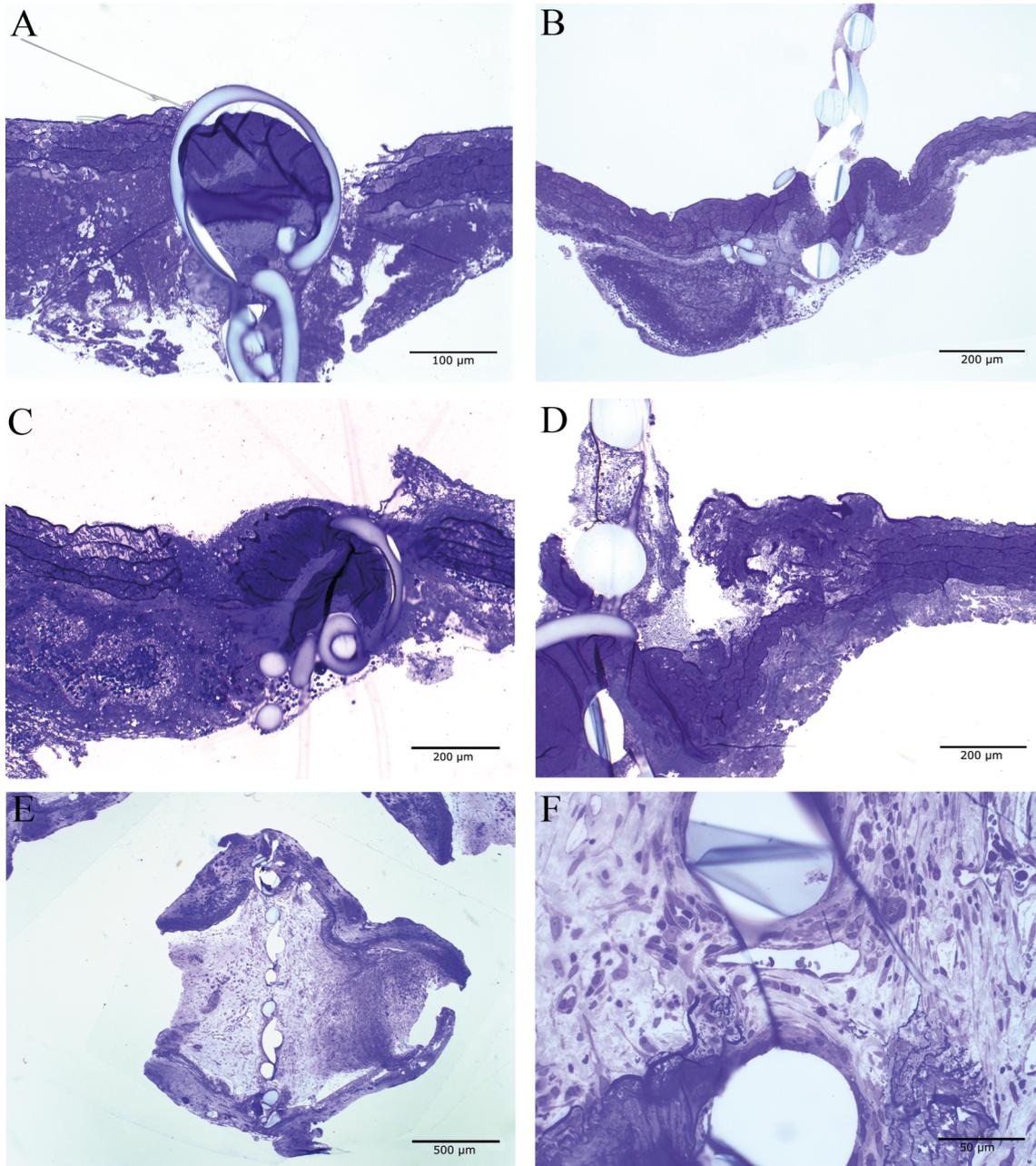


Abbildung 3–6: Übersicht der okkludierten Filter in einer Aorta der Ratte:
A und C zeigen die traumatischen, proximalen Versuchs Anastomosen vier Stunden (A, 130 Vergrößerung -fache Vergrößerung) und 14 Tage (C, 65-fache Vergrößerung) postoperativ, B und D (65-fache Vergrößerung) zeigen jeweils die dazu gehörigen okkludierten, distalen Filter-Anastomosen (B und D in 65-facher), E (26-fache Vergrößerung) und F (260-fache Vergrößerung) zeigen eine Aorta der Ratte eines 31 Tage Versuches, dessen Lumen komplett fibrotisiert war und es in dieser Zeit zur intravaskulären Neovaskularisation und Lymphangiogenese gekommen

3.3.1.2. Gruppe II

In Gruppe II wurden insgesamt 20 Ratten operiert und insgesamt 40 Anastomosen (je 20 Filter- und 20 Nicht-Filter-Anastomosen) durchgeführt. Anschließend erfolgte die Re-Laparotomie nach vorgegebenem Intervall und Analyse der Aortenpräparate nach oben vorgestelltem Protokoll, *Abb 2–21*. Jeweils in der vier Stunden und 14 Tage Untergruppe war ein Gefäß nicht durchgängig (10%), *Abb 3–6 A-D*.

Im Vergleich der proximalen Versuchs- zur distalen Filter-Anastomose zeigten sich vier Stunden postoperativ keine signifikanten histologischen Veränderungen. Auch die Irritation der elastica interna zeigte in dieser Untergruppe kein erhöhtes Vorkommen in der Filter-Anastomose ($p = 0,796$), *Abb 3–5 A*.

14 Tage postoperativ ließen sich signifikante Unterschiede in der histologische Untersuchung zwischen proximaler Versuchs- und distaler Filter-Anastomose nachweisen. So waren Intima Hyperplasie ($p = 0,005$), Fibromyoblastenvermehrung in der Media ($p = 0,043$) und Neovaskularisation und Lymphangiogenese ($p = 0,011$) in der filternahen Umgebung (d.h. $< 500 \mu\text{m}$) signifikant erhöht. Hingegen zeigte sich auch in dieser Gruppe keine erhöhte Irritation der Lamina elastica interna ($p = 0,529$), *Abb 3–7 A und B*.

Gruppe II	IH	IEI	MFI	N	AH	NL
4 Stunden proximal vs. distal	1,000	0,796	1,000	1,000	1,000	1,000
14 Tage proximal vs. distal	0,005	0,529	0,043	1,000	1,000	0,011
Legende: IH = Intima Hyperplasie, IEI = Irritation der Lamina elastica interna, MFI = Media Fibromyozyten Infiltration, N = Nekrose, AH = Adventitiahyperzellularität, NL = Neovaskularisation / Lymphangiogenese						

Tabelle 3–6: Vergleich der histologischen Veränderungen an den proximalen und distalen Anastomosen der Gruppe II, vier Stunden und 14 Tage postoperativ. Die statistischen Analysen erfolgten mittels Mann-Whitney-U Test.

3.3.1.3. Gruppe I und II im Vergleich

Im Vergleich zwischen dem drei Tage und 14 Tage Intervall zeigten sich in letzterer Untergruppe eine signifikant erhöhte Intima Hyperplasie ($p = 0,002$), Fibromyoblastenvermehrung in der Media ($p = 0,002$), deutlich demarkierte Medianekrose ($p = 0,007$) und Neovaskularisation ($p = 0,002$) in einer hyperzellulären Adventitia ($p = 0,000$). Im Vergleich der sieben und 14 Tage ließ sich in letzterer Untergruppe eine vermehrte Fibromyoblastenvermehrung in der Media ($p = 0,022$) und eine Neovaskularisation ($p = 0,026$) nachweisen. Die Ausdehnung der Medianekrose und Höhe der Hyperzellularität der Adventitia waren nicht mehr signifikant unterschiedlich ($p = 0,562$ und $p = 0,492$). Im Vergleich zwischen 14 und 31 Tage ließ sich bei keinem der untersuchten Parameter ein signifikanter Unterschied nachweisen; Fibromyoblastenvermehrung in der Media ($p = 0,368$), Intima Hyperplasie, Medianekrose, Hyperzellularität der Adventitia und Neovaskularisation (je $p = 0,792$). Dasselbe Bild ergab sich im Vergleich zwischen einem Intervall von 14 Tagen und sechs Monaten, wobei der einzige signifikante Unterschied in der reduzierten Hyperzellularität der Adventitia ($p = 0,002$) bei vergleichbarer Neovaskularisation und Lymphangiogenese ($p = 0,792$) lag, *Abb 3–5 D*.

3.3.2. Anastomosendurchgängigkeit und Thrombosemenge

Wie bereits oben erwähnt waren 61 der 64 durchgeführten Anastomosen durchgängig. Jedoch ließ sich auch bei durchgängigen Anastomosen in einigen Filtern thrombotisches Material nachweisen.

In der Gruppe I war ein Gefäß aufgrund einer kompletten intraluminalen Fibrotisierung nicht durchgängig, *Abb 3–6 E und F*. In zwei Ratten der Untergruppen Drei- und Sieben-Tage Filter-Anastomose wurde bei durchgängiger Anastomose thrombotisches Material detektiert ($0,023826$ und $0,036732 \text{ mm}^3$), jedoch war dieser Unterschied nicht signifikant ($p = 0,478$). In den restlichen Filtern der Untergruppen 31 Tage und sechs Monate ließ sich kein thrombotisches Material nachweisen. Somit lag ein signifikanter Volumenunterschied des thrombotischen Materials zwischen den Untergruppen drei Tage vs. 31 Tage, drei Tage vs. sechs Monate, sieben Tage vs. 31 Tage und sieben Tage und sechs Monate vor (jeweils $p = 0,031$), *Tab. 3–8*.

In der Gruppe II waren zwei Gefäße postoperativ nicht mehr durchgängig und wiesen annähernd 0,018035715 mm³ und 1,858590433 mm³ thrombotisches Material im Filter auf. Im Durchschnitt ließ sich in der vier Stunden Untergruppe 0,021605 mm³ und in der 14 Tage Untergruppe 0,187036 mm³ thrombotisches Material im Filter extrahieren. Im Vergleich der beiden Untergruppen der Gruppe II zu einander ließ sich in der 14-Tage-Gruppe im Durchschnitt signifikant mehr thrombotisches Material nachweisen (p = 0,047), *Tab. 3–9*.

Gruppe	IH	IEI	MFI	N	AH	NL	T*
3 vs. 7 Tage	0,015	0,394	0,065	0,065	0,002	0,394	0,478
3 vs. 14 Tage	0,002	0,713	0,002	0,007	0,000	0,002	0,114
3 vs. 31 Tage	0,002	0,394	0,002	0,002	0,002	0,002	0,031
3 vs. 6 Monate	0,002	0,699	0,002	0,002	0,002	0,002	0,031
7 vs. 14 Tage	0,093	0,181	0,022	0,562	0,492	0,016	0,118
7 vs. 31 Tage	0,065	0,093	0,002	0,394	0,394	0,015	0,031
7 vs. 6 Monate	0,065	0,699	0,002	0,394	0,065	0,015	0,031
14 vs. 31 Tage	0,792	0,562	0,368	0,792	0,792	0,792	0,108
14 Tage vs. 6 Monate	0,792	0,368	0,368	0,792	0,002	0,002	0,108
31 Tage vs. 6 Monate	1,000	0,18	1,000	1,000	0,002	1,000	--
Legende IH = Intima Hyperplasie, IEI = Irritation der Elastica interna, MFI = Media Fibromyozyten Infiltration, N = Nekrose, AH = Adventitiahyperzellulärität, NL = Neovaskularisation / Lymphangiogenese, T = Thrombosevolumen							

Table 3–7: Vergleich der histologischen Veränderungen der Untergruppen miteinander. Die statistischen Analysen erfolgten mittels Mann-Whitney-U Test und T-Test für die Thrombosemenge.

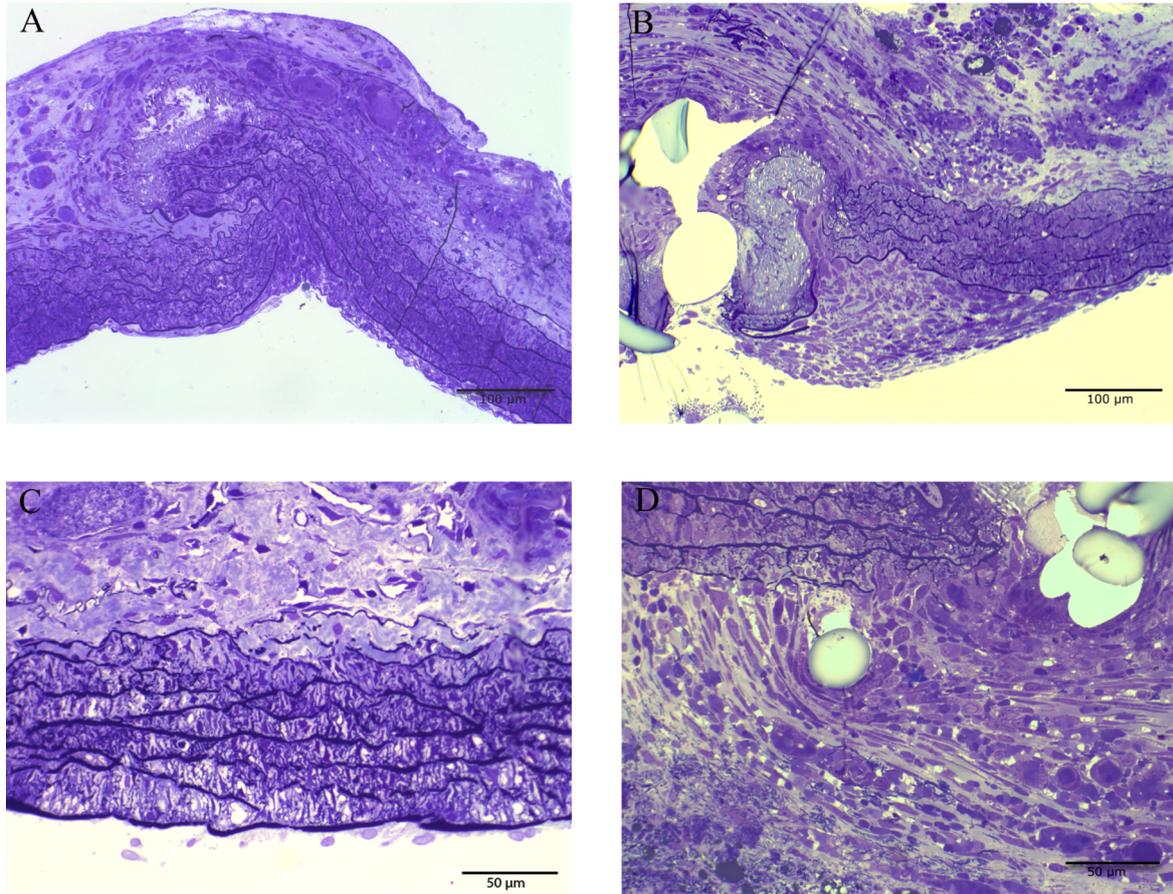


Abbildung 3–7: Übersicht der typischen postoperativen Veränderungen in der Aorta der Ratte nach einer Filter-Anastomose:

A (130-fache Vergrößerung) zeigt die typischen histomorphologischen Veränderungen nach 14 postoperativen Tagen der proximalen Anastomose mit dezenter, lokalisierter Intimaproliferation, demarkierter Medianekrose und leichter Fremdkörperreaktion um das Fadenmaterial, **B** (130-fache Vergrößerung) zeigt die typischen histomorphologischen Veränderungen nach 14 postoperativen Tagen der Filter-Anastomose im Vergleich zu **A** mit überschießender, jedoch lokalisierter Intimaproliferation inkl. Fibromyoblasteninfiltration, deutlich demarkierter Medianekrose und ausgeprägter Adventitiareaktion mit Fibroblastenvermehrung und vermehrter Bildung von elastischen und Kollagenfasern, **C** (260-fache Vergrößerung) zeigt das typische Bild einer ausgeprägten Mediamyozytenrarefizierung in allen Fächern der Media und **D** (260-fache Vergrößerung) zeigt eine Nahaufnahme der lokalisierten Adventitiareaktion um die Filter-Anastomose

Gruppe	Untergruppe	Thrombosevolumen in mm ³	Durchschnitt in mm ³
I	3.1	0,023826	
I	3.2	0	
I	3.3	0	
I	3.4	0	
I	3.5	0	
I	3.6	0	
I	7.1	0	
I	7.2	0,036732	
I	7.3	0	
I	7.4	0	
I	7.5	0	
I	7.6	0	
I	31.1	0	
I	31.2	Fibrose	
I	31.3	0	
I	31.4	0	
I	31.5	0	
I	31.6	0	
I	6.1	0	
I	6.2	0	
I	6.3	0	
I	6.4	0	
I	6.5	0	
I	6.6	0	

Tabelle 3–8: Übersicht des Thrombosevolumens der einzelnen Präparate der Gruppe I.

Gruppe	Untergruppe	Thrombosevolumen in mm ³	Durchschnitt in mm ³
II	4	0,099876033	
II	4	0,001036	
II	4	0,017473184	
II	4	0,015486522	
II	4	0,018035715	
II	4	0,013426277	
II	4	0,018037058	
II	4	0,003679717	
II	4	0,004012912	
II	4	0,02498569	
II	14	0,0	
II	14	0,011770292	
II	14	1,858590433	
II	14	0,0	

Tabelle 3–9: Übersicht des Thrombosevolumens der einzelnen Präparate der Gruppe II.

4. Diskussion

4.1. Shield-Protection-Technique

4.1.1. Diskussion der Ergebnisse

Die von uns erstmals vorgestellte und evaluierte „Shield-Protection-Technique“ hat sich sowohl funktionell, als auch statistisch in arteriellen und venösen Anastomosen bewährt und stellt eine interessante Arbeitshilfe zur Erlernung und klinischen Durchführung mikrochirurgischer Anastomosen dar. Die Wahl der zu evaluierenden Komplikationen orientierte sich an den in der Literatur beschriebenen und klinisch relevanten Komplikationen [Kersh et al., 1989; Barker et al., 1993; Krapohl et al., 2003].

Unsere Studie koinzidiert mit der in der Literatur beschriebenen Feststellung, dass venöse Anastomosen allgemein anspruchsvoller sind und häufiger mit Komplikationen, wie z.B. technisch bedingten Thrombosierungen, assoziiert sind [Kroll et al., 1996; Kubo et al., 2002; Bui et al., 2007]. Die Unerfahrenheit des Operateurs führte zu einer signifikanten Steigerung der Häufigkeit von Stenosen durch Rückwandannaht und allgemein inkompletten Anastomosen venöser Gefäße ($p = 0,003$ und $p = 0,03$; *Tab. 3-1 und 3-2*). Dahingegen wurde die Inzidenz inkompletter arterieller Anastomosen nicht signifikant durch die Erfahrung des Operateurs beeinflusst ($p = 0,06$; *Tab. 3-1 und 3-2*). Dies repräsentiert das allgemein gute mikrochirurgische Niveau der teilnehmenden Studiendurchführenden. Die ausgesprochene Bedeutsamkeit der mikrochirurgischen Expertise wurde u.a. durch Khouri et al. abermals exploriert und unterstrichen [Khouri, 1992]. Durch intensives Training an wechselnden nicht-lebend und lebend Modellen kann die Expertise erlangt und das operative Auge - das v.a. in der venösen Anastomosierung benötigt wird - angeeignet, verinnerlicht und angewandt werden. Dabei sind die Nicht-Lebend „low fidelity“ Modelle anfangs zur Erlernung bzw. Auffrischung einer Technik keineswegs den lebend Modellen, die in Studien aufgrund ihrer höheren Aussagekraft die bevorzugte Wahl sind, unterlegen [Lannon et al., 2001].

Die beschriebene „Shield-Protection-Technique“ reduzierte signifikant die wahrscheinlich schwerwiegendste technische Komplikation, Rückwandannaht, in beiden Gruppen ($p = 0,02$ und $p < 0,0001$; *Tab. 3-1 und 3-2*). Ferner minderte die „Shield-Protection-Technique“ signifikant das Einnähen der Adventitia in das Lumen in arteriellen und venösen Anastomosen ($p = 0,03$ und $p = 0,01$; *Tab. 3-1 und 3-2*). Sowohl eine Rückwandannaht, als auch das Einnähen der Adventitia mit intravaskulärer Lage erhöhen das Risiko einer

postoperativen Thrombosebildung an der Anastomose bzw. stellen im weiteren Verlauf potentielle Quellen peripherer Embolien dar, die das Überleben des Lappens kompromittieren können [Krapohl et al., 2003; Nasir et al., 2005]. Ein der allgemeinen Meinung widersprechendes Ergebnis wurde durch Pignatti et al. publiziert, die von keiner signifikant gesteigerten Thrombosierung der venösen Anastomosen mit einer beabsichtigten Rückwandannaht berichteten [Pignatti et al., 2004]. An dieser Studie ist einerseits die kleine Anzahl von 15 Ratten, andererseits auch eine Verlaufsbeobachtung von nur 24 Stunden ohne Berücksichtigung möglicher peripherer Embolien zu bemängeln. Zudem waren interessanterweise nach 24 Stunden mehr Anastomosen mit einer Rückwandannaht als normale Anastomosen patent. Grundsätzlich sollte aber diese unserer Meinung und Expertise nach höchst thrombogene Komplikation um jeden Preis vermieden werden.

Die „Shield-Protection-Technique“ führt nicht nur zu einer gewissen Stabilisierung und Dilatation der zu anastomosierenden Gefäße, sondern erhöht maßgeblich die visuelle Kontrolle und grenzt zudem mechanisch die Vorder- von der Hinterwand ab. Der auszubildende Mikrochirurg sieht und fühlt das korrekte Greifen nur einer Wand, sog. „force-feedback“. Durch Finessen wie dem „Harashina-Maneuver“ oder der „open guide suture technique“ versucht man, den Verlust der visuellen Kontrolle gegen Ende der Anastomosierung wett zu machen [Harashina, 1977; Ozkan et Ozgentas, 2005]. Eine weitere kritische Phase der Anastomose ist das Setzen der Nähte um 180° herum (auf 3 und 9 Uhr), da hier die Vorder- und Rückwand aufgrund der Approximatoren eng aneinander liegen können. In der durchgeführten Studie nähten die ungeübten Hände und Augen überwiegend an dieser Region die Rückwand an, v.a. in venösen Anastomosen (nicht veröffentlichte Daten). Durch die Verwendung eines Plättchens, das sich leicht im Lumen bewegen lässt, kann dieses als eine Art Schutzschild in die kritische Zone manövriert werden und reduziert, wie die Ergebnisse der Studie zeigten, signifikant eine Rückwandannaht in beiden Gruppen (arteriell $p = 0,02$ und venös $p < 0,0001$; *Tab. 3-1 und 3-2*).

Im Gegensatz zu Hou et al. war ein kleinerer Gefäßdurchmesser mit keiner signifikanten Zunahme an Komplikationen - weder in arteriellen, noch in venösen Anastomosen - assoziiert [Hou et al., 1987], *Tab. 3-1 und 3-2*. Dieses Ergebnis unterstreicht das Vorhandensein grundlegender mikrochirurgischer Fertigkeiten, die von den 13 Teilnehmern der Studie in ihrer Grundausbildung erlangt wurden.

Zur kompletten Anastomosierung entsprechend der „Shield-Protection-Technique“ wurde nicht signifikant mehr Zeit benötigt, als zur Anastomosierung nach Goldstandard ($p = 0,08$ und $p = 0,71$, *Tab. 3-1 und 3-2*). Das belegt, dass das eigentliche Nähen an sich mindestens

gleich schnell ging, da die Aufzeichnung der Zeit ebenfalls das Einbringen und allgemeine Handling des Plättchens beinhaltete.

Technisch unzureichend genähte Anastomosen führen zu typischen histopathologischen Veränderungen der Intima, Media und Adventitia, wie auch Veränderungen auf molekularer Ebene. Gemeinsame Endstrecke dieser Veränderungen ist eine pro thrombogenetische Situation des Gefäßepithels, die früher oder später einen konsekutiven Verlust des transferierten Lappens bedingen kann [Acland et Trachtenberg, 1977; Chow, 1983; Olsson et al., 2000]. Neben der entscheidenden akkuraten Arbeitsweise unter dem Operationsmikroskop spielen weitere Faktoren wie Infektionen, Sepsis, Atherosklerose, Hyperkoagulabilität im Rahmen thrombophiler Erkrankungen - um nur einige zu nennen - und bei Tumorpatienten Bestrahlung und die sog. „Reperfusion Injury“ eine wesentliche Rolle für das Überleben transferierter Lappen [De Wilde et al., 1983; al Qattan et Bowen, 1993; Kerrigan et Stotland, 1993; Suominen et Asko-Seljavaara, 1995; Olsson et al., 2001; Chen et al., 2006].

4.1.2. Vergleich der „Shield-Protection-Technique“ mit weiteren intraluminalen Hilfsmitteln

In der Literatur sind zwei weitere intraluminale Hilfsmittel beschrieben, die das Risiko einer Rückwandannaht reduzieren sollen und bereits klinische Anwendung erfahren haben [Mozes et al., 1963; Krishnan et al., 2008]. In der von Krishnan et al. beschriebenen Technik wird ein Mikrokatheter in das Gefäß eingebracht, um neben einem Schutz auch die distale Perfusion zu gewährleisten. Diese Technik soll v.a. bei extra-intra-kraniellen Anastomosen Verwendung finden und die Ischämiezeit signifikant reduzieren.

Ein großer Nachteil beider Techniken ist, dass beide einen weiteren Schnitt benötigen, um das Hilfsmittel aus dem anastomosierten Gefäß zu bergen. Jeder überflüssige Schnitt und folgende Nähte stellen weitere endotheliale Schäden dar und erhöhen die Gefahr einer fatalen Thrombogenität [Hayhurst et O'Brien, 1975]. Bei der „Shield-Protection-Technique“ bedarf es keines additionalen Schnittes zur Bergung des Plättchens, da dieses durch die vorgelegten Nähte nach Özkan et al. aus dem Gefäß herausgeführt wird [Ozkan et Ozgentas, 2005].

Grundsätzlich könnte die „Shield-Protection-Technique“ ebenfalls eine klinische Anwendung finden, sofern eine Herstellung noch atraumatischerer Plättchen etabliert und die Technik in

einem lebend Modell evaluiert werden würde. Die theoretische Gefahr eines Plättchenbruches und einer Dislozierung in das periphere Gefäßsystem ist denkbar, aber schon alleine durch die Präsenz der Approximatoren Clips limitiert.

4.1.3. Ausblick

Heutzutage hat die Chirurgie ein hohes technisches Level erreicht, in der minimalinvasive und roboterassistierte Eingriffe zur Realität und in gewissen Bereichen zur evidenzbasierten Alternative des chirurgisch „offenen“ Goldstandards geworden sind [Patel et al., 2007]. Trotz dieser aufregenden und rasanten Entwicklung darf die Ausbildung junger Chirurgen nicht in Vergessenheit geraten. Betrachtet man den hohen zeitlichen Aufwand, der neben der alltäglichen Stationsarbeit und Diensten in chirurgisches Training investiert werden muss, müssen die zur Ausbildung verwendeten Kurse, Modelle und Hilfsmittel äußerst effektiv sein [Warner et al., 1990; Bridges et Diamond, 1999].

Die „Shield-Protection-Technique“ stellt ein viel versprechendes Instrument zur Erlangung der benötigten Fingerfertigkeit und eines trainierten operativen Auges dar und könnte in Zukunft ebenfalls im Rahmen schwerer Anastomosen von erfahrenen Mikrochirurgen als Hilfsmittel eine klinische Anwendung finden.

4.2. neue End-zu-Seit- (OES-) Technik

4.2.1. Relevanz rheologischer Analysen und Vergleich der verwendeten Parameter mit der Literatur

Der Blutfluss stellt aufgrund seines pulsatilen Charakters und der besonderen Flusseigenschaften einen Schlüsselstimulus für Genexpression, Gefäßzellendifferenzierung und Zell-Zell-Interaktionen dar [Konstantopoulos et al., 1998; Riha et al., 2005; Chiu et Chien, 2011]. Neben einer persistierenden Entzündung der Gefäßwände und Aktivierung der Koagulationskaskade stellt der Blutfluss und dessen Aberrationen einen weiteren wichtigen ätiologischen Faktor der Volkskrankheit Atherosklerose dar [Gimbrone et al., 2000; Massberg et al., 2002]. Makro- und mikrovaskuläre Chirurgen sollten deshalb die Grundzüge möglicher Flussanalysen sowie deren Möglichkeiten und Limitationen kennen. Durch Eingriffe an Gefäßen wird u.a. die ursprüngliche Geometrie verändert. Neben der Gefäßgeometrie haben Hämodynamik, Beschaffenheit und Rheologie des Blutes einen Einfluss auf den Blutfluss und können zur Kompromittierung des Blutflusses im distal gelegenen Flussbett beitragen [Levesque et al., 1986; Pries et al., 1992; Pevac et al., 1993].

Wie bereits eingangs erwähnt, stehen einem Mikrochirurgen eine Vielzahl verschiedener End-zu-Seit-Techniken zur Verfügung. Nur wenige dieser Techniken wurden unter rheologischen Aspekten untersucht [Nam et al., 1978; Rao et al., 1983; Boeckx et al., 1992; Sen et Hasanov, 2008].

Aufgrund der bis heute andauernden Debatte über den tatsächlichen Einfluss des Abgangswinkels in einer mikrochirurgischen End-zu-Seit-Anastomose [Nam et al., 1978; Rao et al., 1983; Zoubos et al., 1992; Zhang et al., 1995] haben wir uns für einen Abgangswinkel von 60-70° entschieden. Neben der ebenfalls anhaltenden Diskussion über mögliche Vor- und Nachteile verschiedener Vesselotomietechniken haben wir uns für eine ovale Vesselotomie im Kontrollmodell (Goldstandard) entschieden, analog zur Veröffentlichung von Zoubos et al. [Zoubos et al., 1992]. Die ovale Vesselotomie soll gegenüber der slit-Vesselotomie einige primär hämodynamische Vorteile aufweisen, wie z.B einen größeren maximalen Blutfluss in der Anastomose [Zoubos et al., 1992]. Nachteilig ist eine höhere technische Anforderung [Adams et al., 2000], die mit Hilfe der „silk suture traction technique“ oder der „needle puncture guidance technique“ minimiert werden kann [Gao et al., 1985].

4.2.2. Diskussion der Ergebnisse

Der simulierte Blutfluss wurde über sieben Zyklen aufgezeichnet und ließ sich repräsentabel in den vier definierten Messebenen der Modelle registrieren und darstellen. Die gemessenen Flussgeschwindigkeiten sind mit denen in der Literatur beschrieben vergleichbar [Salmi et al., 1995; Hanasono et al., 2009].

Zunächst ist eine Beobachtung zu diskutieren, die in allen Modellen zu sehen war. In den LDA-Messungen ließ sich ein totaler Rückfluss in der maximalen diastolischen Phase (270°) aller drei Modelle darstellen. Der registrierte Rückfluss könnte ein Pendant eines oszillierenden Flussbildes in Flussendbetten sein. Es stellt sich die Frage, ob diese Beobachtung den tatsächlichen, physiologischen Fluss bei den vorgegebenen Parametern widerspiegelt, oder ob es sich dabei um einen messtechnischen Fehler handelte. Die Überlegung ist dadurch begründet, dass es grundsätzlich in allen Kompartimenten des menschlichen Kreislaufsystems zu einem Rückfluss kommen kann. Als erste potentielle Fehlerquelle muss der Womersley Parameter genannt werden. Anhand dieses Messindices können Messfehler, bedingt durch eine zu große Phasenverschiebung der Geschwindigkeits- und Druckkurve, erklärt werden [Womersley, 1955a; Rohlf et Tenti, 2001]. In unserem Strömungskreislauf war der Womersley Parameter in allen Modellen kleiner als 3. Somit sind die gemessenen Ergebnisse valide und dieser Ansatz zu vernachlässigen.

Eine weitere Fehlerquelle könnte die Aktion der computergesteuerten Pumpe ohne nachgeschaltete Klappe darstellen. Die Funktion einer Klappe unmittelbar distal der Pumpe wäre mit der einer Aortenklappe zu vergleichen. Durch das Fehlen einer Klappe wurde der ohnehin existierende negative Sog nicht abgebremst und hätte somit einen falsch großen Rückfluss verursachen können. Zusätzlich kann der negative Fluss durch die hohe Druckwellenamplitude in solch kleinen Modellgefäßen mit einer ebenfalls niedrigen Reynolds-Zahl bedingt sein, *Tab. 2-1*.

Letztendlich scheint eine Kombination aus den eingestellten Parametern, die Flussverhältnisse im Gebiet der A. thyroidea superior simulieren sollten, sowie die kleinen, wahrheitsgetreuen Gefäßdurchmesser der Modelle einen solchen Fluss erleichtern. Das vorgegebene Flussvolumen von 48 ml/min vor der Anastomose und eine maximale horizontale Flussgeschwindigkeit von 0,32 m/s sind auf äußere Einflüsse extrem empfindlich. Der aufgezeichnete diastolische Rückfluss hat sich wahrscheinlich durch das Fehlen einer Klappe und den eingestellten Parametern potenziert.

Schon die alleinige Betrachtung der maximalen horizontalen Geschwindigkeiten lässt erkennen, dass sich die Geschwindigkeiten zwar grob ähneln, aber dennoch total in einem Bereich zwischen 0,192 und 0,313 m/s liegen. Somit wird in den weiteren Vergleichen nicht der absolute Wert herangezogen, sondern die modellspezifischen prozentualen Veränderungen.

Zunächst möchte ich die Geschwindigkeitsvektoren im Bifurkationsbereich (zwischen der Messebene 3 und 1 mm proximal des Referenzpunktes) miteinander vergleichen und diskutieren, *Abb 2–14*. Vergleicht man den horizontalen Geschwindigkeitsabfall in diesem Bereich, so ist dieser im Hauptgefäß des Modells der End-zu-Seit-Anastomose nach der OES-Technik mit einem Abfall auf 69,33 % der ursprünglichen Geschwindigkeit am größten. In der physiologischen Bifurkation wurde im Hauptgefäß der geringste Geschwindigkeitsabfall auf 81,53 % der ursprünglichen Geschwindigkeit registriert (im Modell mit der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard 71,38 %).

Bei Evaluation der maximalen vertikalen Geschwindigkeiten im selben Bereich des abgehenden Gefäßes ist die vertikale Geschwindigkeitszunahme im Modell der End-zu-Seit Anastomose nach der OES-Technik mit 192,45 % der ursprünglichen Geschwindigkeit am größten (vs. 73,8 % im Goldstandard-Modell). Da die Messungen lediglich in der x-z-Achse durchgeführt wurden, entspricht ein vertikaler Fluss, der im abgehenden Gefäß gemessen wurde, im Messpunkt 1 mm proximal des Referenzpunktes annäherungsweise dem axialen Fluss im abgehenden Gefäß. Die Kombination aus geringerer horizontaler Geschwindigkeitsabnahme und größter vertikaler Geschwindigkeitszunahme in der OES-Technik Anastomose könnte auf einen allgemein größeren und schnelleren Fluss im abgehenden Gefäß hindeuten. Im Gegensatz zur Diamond-Technik [Sen et Hasanov, 2008] wird in der OES-Technik der Querschnitt im Bifurkationsbereich mittels der speziellen Präparation des „Pedikelstumpfes“ geschaffen, der sich durch einen höheren abgehenden Fluss auszeichnet. In der Diamond-Technik hingegen wird die Querschnittsvergrößerung im Bifurkationsbereich durch Präparation beider Gefäße geschaffen [Sen et Hasanov, 2008].

Distal der Bifurkation blieben die horizontalen Geschwindigkeiten in den Modellen der End-zu-Seit-Anastomose nach OES-Technik und Goldstandard gleich niedrig oder nahmen nur leicht zu (66,77 % und 78,81 %). Im Modell der physiologischen Bifurkation hingegen kam es zu einer Steigerung der Geschwindigkeit von ca. 6,97 % der ursprünglichen Geschwindigkeit. Die maximalen vertikalen Geschwindigkeiten sind 2 mm distal der Bifurkation / Anastomose interessanterweise in allen Modellen geringer als proximal davon (Abnahme um physiologisches Modell 60,94 %, Goldstandard Modell 88,1 % und im OES-

Modell 94,34 %). Die vertikale Geschwindigkeit in diesem Bereich repräsentiert einen der Gefäßwand zugerichteten, turbulenten Fluss. Somit herrschte im OES-Modell der geringste und im physiologischen Modell der größte Fluss gen Gefäßwand. Die höchste vertikale Komponente im physiologischen Modell ließe sich durch den schnellsten horizontalen Fluss distal der Bifurkation der drei Modelle erklären.

Neben den absoluten Geschwindigkeitsunterschieden ließ sich auch eine unterschiedliche Verteilung der vertikalen Geschwindigkeitsvektoren feststellen, *Abb. 3–4*. Im OES-Modell wurden homogen verteilte vertikale Flussvektoren dargestellt, mit allgemeiner Richtung gen Gefäßboden (die dem neu geschaffenen Gefäßabgang gegenüber liegende Gefäßwand), wie bereits in der Literatur beschrieben [Liesch, 1986].

Im Modell der physiologischen Bifurkation stellte sich eine inhomogene Verteilung der Vektoren dar, mit Betonung der lateralen Gefäßwände. Im Modell nach Goldstandard kam es unter Aussparung des Gefäßzentrum zu einer deutlichen Betonung im Bereich der lateralen Gefäßwände. Diesen simulierten „Blutfluss“ distal des Gefäßabganges kann man sich bildlich als Umgreifen des zentralen Blutflusses vorstellen. Ein vermehrtes Nebeneinander von Verwirbelung und Stagnation wie auch deutlich veränderte „wall shear stress“ Verhältnisse sind anzunehmen. Durch solch ein unruhiges Flussverhalten distal einer Bifurkation wird im Verlauf eine Intimahyperplasie und Atherogenese begünstigt [Giddens et al., 1993; Haruguchi et Teraoka, 2003].

4.2.3. Vergleich der OES-Technik mit weiteren End-zu-Seit-Techniken

Die rheologische Überlegenheit der OES-Technik ließe sich durch die spezielle Präparation des Pedikelstumpfes erklären, dabei wird der Querschnitt im Bifurkationsbereich vergrößert und ein abrupter Kalibersprung vermieden. Somit lässt sich einerseits die Entstehung eines turbulenten Blutflusses im Bifurkationsbereich und distal davon reduzieren und andererseits ermöglicht es einen höheren Blutfluss ins abgehende Gefäß. Die Ergebnisse der LDA-Messungen bestätigten die theoretischen Überlegungen. Das Besondere an der OES-Technik ist die geometrische Nachahmung einer physiologischen Bifurkation, mit einem sanften und fließenden Übergang der End-zu-Seit anastomosierten Gefäße. Grundsätzlich sind abrupte Kalibersprünge in der Gefäßchirurgie zu vermeiden, da diese mit einem turbulenten Blutfluss assoziiert sind [Lopez-Monjardin et de la Pena-Salcedo, 2000].

Boeckx et al. führten eine in vivo Studie durch, in der verschiedene Präparationsarten des distalen Stumpfes analysiert wurden [Boeckx et al., 1992]. Sie beschrieben eine signifikante

Zeitzunahme für Anastomosierung und Hämostase in technisch aufwendigeren Techniken, wie z.B. der „tear drop“ Technik bei 100 %-iger Durchgängigkeit aller Anastomosen. Mikrochirurgische Anastomosen sollten weder unter Zeitdruck leiden, noch möglichst schnell erfolgen. In der rekonstruktiven Chirurgie sollte Zeit keine primäre Rolle spielen, da die Ischämietoleranz von freien Lappen bei ca. 180 Minuten liegt [Gurlek et al., 1997; Mücke et Wolff, 2009]. Ein weiterer Nachteil dieser Studie ist die kurze Beobachtungszeit von nur 30 Minuten. Die ersten 45 Minuten nach erfolgter Anastomose stellen zwar eine äußerst kritische Phase dar [Wolff et al., 2008a], vernachlässigen aber die signifikant häufig beobachtete Thrombogenese zwischen dem dritten und fünften postoperativem Tag [Kroll et al., 1996; Bui et al., 2007].

Durch jede unsachgemäße und / oder „überflüssige“ Manipulation an Gefäßen können additive Endothelschäden gesetzt werden [Hayhurst et O'Brien, 1975]. Mikrovaskuläre Nahttechniken, die solche Manöver verlangen, müssen ein gutes Kosten-Nutzen-Verhältnis aufweisen. Die OES-Technik benötigt eine zusätzliche Präparation des abgehenden Akzeptorgefäßes. Die Ergebnisse der von uns durchgeführten LDA-Messungen zeigten sowohl, dass die verwendete Messmethode für Flussanalysen im mikrochirurgischen Bereich geeignet ist, als auch dass die Technik einer weiteren Anwendung gerecht wird.

Grundsätzlich sollten die Ergebnisse zu Langzeituntersuchungen ermuntern, da just in Bifurkationsbereichen und unmittelbar distal davon, aufgrund des speziellen rheologischen Bildes, eine erhöhte Prävalenz von atherosklerotischen Veränderungen beobachtet wird [Gimbrone et al., 2000]. Wenn also eine Technik zur Verfügung steht, die artifizielle Bifurkation mit turbulenzärmerem Blutfluss schaffen kann, sollte diese bevorzugt werden.

4.2.4. Die Laser-Doppler-Anemometrie im Vergleich mit weiteren, alternativen Messmethoden

Das LDA-System ist eine etablierte und valide Methode, experimentelle, in vitro Flussanalysen durchzuführen. Unter anderem fand es in Aneurysma-, A. Carotis- und Aortenbogenmodellen Anwendung [Liepsch et al., 1992; Liepsch et al., 1998; Dorn et al., 2010].

Experimentelle Modelle, insbesondere das LDA-System und der von uns verwendete artifizielle Strömungskreislauf, haben in rheologischen Fragestellungen einige grundlegende Vorteile, auf die ich folgend eingehen will. Das von uns verwendete System repräsentiert eine nicht-invasive Messmethode, die keine messbedingten Flussalterationen verursacht.

Des Weiteren zeichnet sich das LDA-System durch eine hohe örtliche und zeitliche Auflösung aus, die sich zusätzlich gut reproduzieren lässt. Der Messbereich der Geschwindigkeit liegt zwischen 0,005-1000 m/s und die Größe des Messvolumens beträgt ca. $5 \times 10^{-4} \text{ mm}^3$. Die Messgenauigkeit liegt bei $\pm 1\%$. MRT in vivo oder in vitro Flussanalysen haben noch eine zu geringe örtliche Auflösung und einen zu starken Signalverlust in langsamen Geschwindigkeitszonen. Die erwartete Messgenauigkeit in Gefäßen mit einem Durchmesser von 10 mm liegt bei ca. 5% und in Gefäßen mit 4 mm Durchmesser kann sie bis zu 25% betragen [Botnar et al., 2000; Zhao et al., 2003]. Die farbkodierte Dopplersonographie stellt eine vielversprechende Methode dar. Aber auch diese ist mit einer zu geringen örtlichen Auflösung vergesellschaftet [Vera et al., 1992]. Zusätzlich ist sie durch ihre hohe Untersucherabhängigkeit und dem assoziierten Doppler-Winkel-Effekt schwer reproduzierbar [Picot et al., 1993]. Weitere technische Feinheiten müssen eingeführt werden, um die Verwendung von MRT und Sonographie in experimentellen rheologischen Fragestellungen zu etablieren [Maniatis et al., 1994; Harloff et al., 2009].

In den von uns verwendeten Versuchen wurde ausschließlich eine nicht-newtonsche Flüssigkeit als Perfusionsflüssigkeit verwendet, die typische Flusscharakteristika des Blutes aufweist [Liepsch et al., 1991]. Die numerische Flussanalyse ist eine weitere elegante Methode bestimmte Flussuntersuchungen durchzuführen. Die Effekte der Gefäßwandelastizität und nicht-newtonschen Flusseigenschaften des Blutes werden in den Flusssimulationen jedoch häufig nicht berücksichtigt [Faik et al., 2007]. Aufgrund des nicht zu vernachlässigenden Effektes dieser beiden Eigenschaften sollten sie in rheologischen Fragestellungen grundsätzlich immer mit einbezogen werden [Ku et Liepsch, 1986; Liepsch et al., 1998]. In numerischen Simulationen werden meist idealisierte Modelle verwendet. Diese Tatsache ermöglicht wiederum die Bestimmung weiterer Flussvariablen, wie z.B. dem sog. „wall-shear stress“, die in experimentellen, in vitro Modellen noch nicht auf diesem Level / Niveau möglich sind [Karner et al., 1999].

Neben mikrovaskulärer Doppler-Sonographiemessungen stellt die intraoperative Infrarot-Indocyanine-Grün-Videoangiographie (ICG-Angiographie) eine weitere, neue Methode dar, unmittelbar postoperativ die Durchgängigkeit der Anastomose zu testen [Holm et al., 2009; Schmulder et al., 2010]. In einer Publikation wurde die Reliabilität beider Techniken miteinander verglichen. Hierzu wurden Flussmessungen in einem standardisierten Rattenmodell mit unterschiedlichen Stenosegraden der end-zu-end anastomosierten Gefäße

durchgeführt. Die Sensitivität und Spezifität für mikrovaskuläre Doppleruntersuchungen betragen 100 % und 86,9 %. Die ICG-Angiographie erzielte eine Sensitivität von 95,3 % und Spezifität von 100 % [Mücke et al., 2010a]. Die Methode der ICG-Angiographie ermöglicht zwar eine gute und verlässliche Aussage über die Durchgängigkeit einer Anastomose, ist aber derzeit zu ungenau um detaillierte Flussparameter zu bestimmen. Eine Kombination beider Methoden könnte zu weiteren Erkenntnissen verhelfen.

Aus ethischen sowie aus statistischen Gründen sind experimentelle, in vitro Modelle mit hoher Reproduzierbarkeit äußerst interessant. Durch die Verwendung von Modellexperimenten wie dem LDA-System, das eine hohe örtliche und zeitliche Auflösung aufweist, können unnötige Tierexperimente verringert bzw. vermieden werden. Tierversuche stellen zwar nach wie vor den Goldstandard in der experimentellen Mikrochirurgie dar [Zhang et al., 2001], sind aber neben ethischen Aspekten und personellem Aufwand noch mit lebend Modell spezifischen Nachteilen assoziiert. Zu denen gehört, dass unter fast optimalen Bedingungen operiert wird, da es keine Gefäßdiskrepanz, Kompression von außen oder signifikante Kinkingmöglichkeiten gibt [Acland et Trachtenberg, 1977].

4.2.5. Ausblick

Schlussendlich stellt diese Studie ein weiteres in vitro Experiment dar und vermag richtungweisend zu sein. Ob die OES- Technik tatsächlich klinische Verwendung findet, bleibt noch offen. Zuvor müssen in vivo Versuche durchgeführt werden, da Flussmessungen nicht sicher das klinische Bild vorhersagen können. Exemplarisch kann in diesem Zusammenhang die Veröffentlichung von Zhang et al. genannt werden. Trotz sonographisch nachgewiesenem Einfluss des Abgangwinkels in End-zu-Seit-Anastomosen auf den distalen Blutfluss ergab sich kein signifikanter Unterschied in der Durchlässigkeit der Anastomosen [Zhang et al., 1995]. Grundsätzlich ist aber festzuhalten, dass die Technik leicht durchzuführen ist und zu einem turbulenzärmeren Flussbild im Bifurkationsbereich geführt hat. Langezeit-in-Vivo-Untersuchungen könnten die Auswirkung dieser in vitro Ergebnisse auf die klinische Relevanz untersuchen, insbesondere hinsichtlich Intima Hyperplasie bzw. Atherogeneseverteilung.

Die richtige Interpretation und klinische Umsetzung der Ergebnisse, die durch verschiedene Modelle und Techniken erzielt werden, bleibt weiterhin schwer und ist in der täglichen Routine bedingt durchführbar. Der vorgestellte experimentelle Strömungskreislauf und das

LDA-System sind Verfahren mit einer hohen Reproduzierbarkeit sowie hervorragender Simulation des menschlichen Kreislaufes und besitzen eine ausgesprochen hohe örtliche und zeitliche Auflösung. Aus diesen Gründen ist eine weitere Verwendung des Systems in experimentellen mikrochirurgischen Fragestellungen zu befürworten und kann weiterhin sowohl zu Verbesserung des Verständnisses als auch zu Verminderung spezifischer postoperativer Komplikationen beitragen.

4.3. Embolienmodell in einer Aorta einer Ratte

4.3.1. Diskussion der histologischen Ergebnisse

Die histologische Analyse von Operationspräparaten ist grundsätzlich eine Standardprozedur, um neue Techniken wissenschaftlich zu untersuchen. Jedoch sind die meisten Ergebnisse und Studien primär von deskriptiver Natur und aussagekräftige statistische Analysen lassen sich in der gegenwärtigen Literatur erschwert finden. Diese Problematik ist schon länger bestehend und kann zusätzlich noch mit „man-made“ Problemen, wie der falschen Präparathandhabung etc. erschwert werden [Chow, 1983]. Wir haben uns aus diesem Grunde zu einer semiquantitativen Analyse mit definierten histologischen Veränderungen entschieden, um später nicht nur deskriptiv den Einheilungsprozess des eingebrachten Filters beschreiben zu können, sondern um auch Vergleichszahlen für weitere Studien parat zu haben, die sich mit Gefäßreaktionen und der Einbringung des unbeschichteten Polyurethanfilters beschäftigen.

In der postoperativen histomorphologischen Untersuchung der Präparate der Gruppen I und II waren die verschiedenen Stadien der Heilungsprozesse nach einer mikrovaskulären Anastomosierung zu sehen und deckten sich sehr gut mit den beschriebenen Beobachtungen in der Literatur. Der Filter induzierte im Laufe der Beobachtungszeit eine streng lokalisierte Fremdkörperreaktion, ohne die physiologischen Heilungsprozesse nach einer Gefäßanastomose zu beeinträchtigen.

Vier Stunden postoperativ waren noch keine signifikanten Veränderungen in der Media und Adventitia festzustellen. Endothelzellen waren in allen Präparaten nicht vorhanden, was sich mit früheren Beobachtungen in anderen Arbeiten deckt [Servant et al., 1976; Acland et Trachtenberg, 1977]. Da wir aber durch die Extraktion des thrombembolischen Materials mit Hilfe einer mikrochirurgischen Pinzette die Auswertung verfälscht hätten, haben wir auf eine Analyse dieses Aspektes in allen Gruppen verzichtet. Grundsätzlich findet aber eine Re-Endothelialisierung der Endothelzelldefekte, die sehr häufig direkt postoperativ im Anastomosenbereich zu beobachten ist, nach einem Zeitintervall von sieben bis 14 Tagen postoperativ statt. Dabei lassen sich z.T. bereits nach zwei bis drei Tagen kleine Endothelzellansammlungen am Rand des Defektes nachweisen [Minderjahn et Dahm, 1979; Nightingale et al., 1980; Isogai et al., 1988]. Auf der anderen Seite ist in verschiedenen Publikationen von einer Gesamtdauer von bis zu vier Wochen berichtet worden [Baxter et al., 1972; Servant et al., 1976; Acland et Trachtenberg, 1977; Lidman et Daniel, 1981].

Eine beginnende Medianekrose war die erste histologische Veränderung, die sich hoch signifikant nach drei postoperativen Tagen in allen Präparaten beobachten ließ ($p = 0,000$), *Tab. 3–5*. Die Medianekrose war durch Verlust der Zellstrukturen, Ausdünnung und Auflösung der Nuclei und fibrinoiden Degeneration definiert [Lidman et Daniel, 1981; Chow, 1983]. 14 Tage postoperativ war die Medianekrose komplett demarkiert und signifikant zur drei Tage Gruppe fortgeschritten ($p = 0,007$), *Tab. 3–7*. Dieser Zustand blieb auch über die restliche Beobachtungszeit bestehen und eine Regeneration der Mediaschicht blieb wie in der Literatur beschrieben aus [Hayhurst et O'Brien, 1975; Acland et Trachtenberg, 1977]. Die Nekrose der Mediaschicht kann durch eine Vielzahl von Interaktionen verursacht werden, zu denen reduzierter Blutfluss durch Strangulation mittels Nahtmaterials, Hypoxie durch die Approximator Clips, mechanische Dilatation und Kontakt zu toxischen Mitteln gezählt werden [Acland et Trachtenberg, 1977]. Trotz dieser ausgeprägten Gefäßschichtveränderung kam es zu keinem Zeitpunkt zu einer Aneurysmabildung in der Studie.

Nach einem siebentägigen Intervall präsentierte sich das Bild eines aktiv verlaufenden Heilungsprozesses. Intima Hyperplasie, Invasion von fibroblasten-ähnlichen Zellen in die Media und adventitielle Hyperzelluraität zeigten sich signifikant erhöht ($p = 0,005$, $0,003$ und $0,000$), *Tab. 3–5*. Die Schichten der Intima Hyperplasie bestanden vorwiegend aus Myofibroblasten, die in der Lage waren, elastische, extrazelluläre Matrix zu produzieren [Baxter et al., 1972]. Die Intima Hyperplasie erreichte ihre maximale Höhe / Ausprägung nach 14 Tagen und zeigte in der restlichen Beobachtungszeit keine weitere Progredienz, wie früher beschrieben [Lidman et Daniel, 1981]. Laut Literatur ist eine Intima Hyperplasie nach einer mikrochirurgischen Anastomose nach sieben bis zehn Tagen beschrieben und kann eine Dicke von bis zu $2/3$ der Mediaschicht erreichen [Baxter et al., 1972; Lidman et Daniel, 1981]. In unserer Studie erreichte die Intima Hyperplasie an der proximalen Nicht-Filter-Anastomose eine Dicke von zwei bis drei Schichten und in den distalen Filter-Anastomosen eine Dicke von sechs bis acht Schichten. Letzteres war somit im Vergleich signifikant nach 14 Tagen erhöht ($p = 0,005$), *Tab. 3–6*. Diese Beobachtung ist wahrscheinlich einerseits durch die etwas erhöhte Gefäßstenosierung und andererseits durch einen veränderten Blutfluss bedingt durch die Filternaht zu erklären, zumal der Einfluss von Blutflussalterationen auf die Endothelzellfunktion und -genexpression bekannt ist [Chien, 2008; Chiu et Chien, 2011]. Aus der interventionellen Kardiologie mit Polyurethan beschichteten Stents ist ebenfalls eine vermehrte Intima Hyperplasie bekannt [van der Giessen et al., 1996; Kornowski et al., 1999]. Entgegen Beobachtungen Anderer war die Intima Hyperplasie nicht mit einer höheren

Thrombogeneserate und reduzierten Durchgängigkeit der Anastomose assoziiert [Baxter et al., 1972].

Nach 14 Tagen erschien die Adventitia signifikant hyperzellulär und deutlich organisiert. Die Hyperzellularität wurde hauptsächlich durch Fibrozyten bzw. -blasten geprägt, die in der Lage waren, eine erhöhte Menge an extrazellulärer Matrix zu bilden, die wahrscheinlich primär aus Kollagen bestand. Die streng lokalisierte Organisation der Adventitia - an eine schützende Manschette erinnernd - diente am ehesten der strukturellen Unterstützung der nekrotisch veränderten Mediaschicht [Chow, 1983; Morecraft et al., 1985] und war sowohl in der Filter-, wie auch in der Nicht-Filter-Anastomose zu sehen, *Abb. 3–7*.

In der Literatur ist ein Zusammenhang zwischen der adventitiellen Reaktion und der Intima Hyperplasie beschrieben und stellt zudem mit eine der aktuellsten Erklärungen für Intima Hyperplasien nach Anlegen von Hämodialysen Shunts dar [Li et al., 2008]. Hierbei kommt es zu einer Umwandlung von Adventita Fibroblasten in Myofibrblasten (smooth muscle α -actin positiv; smoothelin und smooth muscle myosin heavy chain negativ in der Immunhistochemie), die zunächst in der Adventitia verbleiben und dort proliferieren, um anschließend Richtung Gefäßlumen zu wandern [Misra et al., 2005; Li et al., 2007]. Diese Art Wanderung konnte in unseren histologischen Präparaten gesehen werden und unterstützen diese Theorie, *Abb. 3–7*.

Es schien so, dass nach 14 Tagen der größte Teil des Heilungsprozesses abgeschlossen war, da sich keine signifikanten Veränderungen zwischen der 14- und 31-Tage-Gruppe nachweisen ließen (alle $p > 0,05$), *Tab. 3–7*. 31 Tage postoperativ war weiterhin eine deutliche fibröse Kapsel um die Anastomosenregion des Filters, sowie eine ausgeprägte Intimaproliferation im Bereich der komplett demarkierten Medianekrose zu sehen. Sechs Monate postoperativ zeigte sich das Bild einer persistierenden Intima Hyperplasie, bei rückläufiger Media- und Adventitiareaktion mit bleibender Neovaskularisation im Anastomosenbereich. Die Adventitia war signifikant weniger hyperzellulär und organisiert als nach 14 und 31 Tagen (je $p = 0,002$), *Tab. 3–7*. Neovaskularisation und Lymphangiogenese ließen sich in unserer Studie in zwei Präparaten nach sieben Tagen nachweisen, waren jedoch nicht signifikant erhöht ($p = 0,313$), *Tab. 3–5*. Nach 14 Tagen zeigte sich eine signifikant erhöhte Neovaskularisation und Lymphangiogenese in der Adventitia und war auch im Vergleich zur sieben Tage Gruppe signifikant erhöht ($p = 0,000$ und $p = 0,016$) *Tab. 3–5 und 3–7*. Hayhurst und O'Brien berichteten ebenfalls über eine Neovaskularisation im Anastomosenbereich, die nach 14 Tagen zu sehen war [Hayhurst et O'Brien, 1975]. Im Gegensatz dazu wiesen Acland

und Trachtenberg eine Neovaskularisation bereits nach fünf bis zehn Tagen nach und vermuteten deren Ursprung aus den Vasa vasorum des versorgenden Gefäßes selbst [Acland et Trachtenberg, 1977].

In einer Ratte der 31 Tage Gruppe zeigte sich in der histologischen Analyse nach absolvierter Überlebenszeit eine totale Okklusion der Aorta aufgrund einer kompletten Fibrotisierung und intravaskulärer Neovaskularisation und Lymphangiogenese, *Abb. 3–6*. Klinisch war die Ratte unauffällig und zeigte keine Hinweise auf eine total okkludierte Aorta im Bifurkationsbereich (im Sinne eines Leriche Syndroms) wie z.B. Schmerzreaktionen, Claudicatio intermittens und globale Atrophie der unteren Extremität [Leriche et Morel, 1948]. Dieser klinische blande Verlauf impliziert einen langsamen Progress der Fibrotisierung und intravaskulären Neovaskularisation. Die Kompensation der fehlenden distalen Blutversorgung wurde durch einen ausgeprägten Kollateralkreislauf aufrecht erhalten und die verstärkte Neovaskularisation entsprach wahrscheinlich am ehesten einer „*adaptiven Arteriogenese*“, wie sie aus der Kardiologie beim Myokardinfarkt bekannt ist [Schaper et Ito, 1996; Buschmann et Schaper, 2000].

Unter Neovaskularisation versteht man eine Neubildung von Gefäßen, die von präexistenten Gefäßen ausgehen und sich durch sog. „*Sprouting*“, Intusseption mit diesen verbinden oder durch Inkorporation von Knochenmark stammenden Endothel-Precursor-Zellen aussproßen [Carmeliet et Jain, 2000]. Dieser Prozess beinhaltet Endothelzellproliferation, -migration, und -adhäsion und wird durch eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren gesteuert [Huang et al., 2012]. Zu diesen Wachstumsfaktoren gehören u.a. vascular endothelial growth factor (VEGF), basic fibroblast growth factor (bFGF), epidermal growth factor (EGF), platelet-derived growth factor (PDGF) und Angiopoietin, wobei VEGF der kritischste und spezifischste Promotor einer suffizienten Angiogenese ist [Ferrara, 2002; Carmeliet, 2005; Korc et Friesel, 2009; Wyler von Ballmoos et al., 2010; Lee et al., 2012]. Neben den genannten Wachstumsfaktoren tragen aber auch andere Faktoren, wie metabolischer Stress (Hypoxie, niedriger pH oder Hypoglykämie), mechanischer Stress und Entzündungsreaktionen zur Angiogenese bei [Carmeliet, 1999; Kerbel, 2000]. Die in unseren Versuchen gesehene adventitielle Gefäßneubildung scheint aus der Gesamtkonstellation heraus entstanden zu sein. Zum einen stellt der eingebrachte Filter einen Fremdkörper dar, woraufhin eine lokalisierte Fremdkörperreaktion abgelaufen ist, inkl. Riesenzellen um die Anastomosen herum. Makrophagen sind durchaus in der Lage, durch Sekretion oben genannter Faktoren an der Angiogenese teilzuhaben [Iijima et al., 1993]. Zudem war die Neovaskularisation und Lymphangiogenese in den Filter-Anastomosen im Vergleich zu den

Nicht-Filter-Anastomosen signifikant erhöht ($p = 0,011$). Diese Beobachtung lässt sich durch die stärkere Fremdkörperreaktion um den Filter herum erklären.

Grundsätzlich lässt sich meistens eine gewisse Fremdkörperreaktion auf das Nahtmaterial nachweisen, die in den ersten 14 postoperativen Tagen im Sinne einer lymphatischen und heterophilen Reaktion mit einer beginnenden polymorphnukleären (PMN) Leukozytenmigration in die Adventitia abläuft. Nach Abklingen der ersten Phase folgt eine Makrophagenreaktion, die sich in Form einer Riesenzell- oder kleinen Granulombildung präsentieren kann [Servant et al., 1976; Nightingale et al., 1980; Lidman et Daniel, 1981; Morecraft et al., 1985].

4.3.2. Rolle und Vorkommen von Thrombose und Embolien in der Mikrochirurgie und Vergleich beschriebener Emboliemodelle

Die Thrombogenese ist ein multifaktorielles Ereignis und wird zum einen durch die Thrombozyten- (Plättchen-) Aktivierung und zum anderen durch die Aktivierung der Gerinnungskaskade in Gang gesetzt [Furie et Furie, 2008]. Grundsätzlich besteht ein Gleichgewicht zwischen gerinnungsfördernden und –hemmenden Faktoren. Zudem besitzt das Endothel sog. Thromboregulatoren (z.B. Prostzyklin und Ektonucleotidase CD 39), die eine unwillkürliche Thrombogenese verhindern [Marcus et al., 2002; Marcus et al., 2005].

Neben allgemeinen Faktoren wie Entzündungen, Sepsis, Koagulopathien und hyperkoaguablen Situationen tragen auch iatrogene Faktoren wie traumatisches Handling des Gefäßes – besonders der Endothelzellen –, verlängerte Stase des Blutflusses > 60 min., die Verwendung von Gewebeklebern und arteriovenöse Anastomosen zur gesteigerten Thrombogenese in der mikrovaskulären Chirurgie bei [Shimizu et al., 1979; Fernandez et al., 1983; McLean et Ellis, 1989; Marek et al., 1998; Loeffelbein et al., 2010]. Trotz vielseitiger prä-, intra- und postoperativer Verbesserungen in den Abläufen und Techniken des freien Gewebetransfers stellen Thrombosen nach wie vor den häufigsten Grund für Revisionen und das Fehlschlagen des operativen Eingriffes dar, gefolgt von postoperativen Hämatomen [Kroll et al., 1996; Wei et al., 2001; Bui et al., 2007; Wolff et al., 2008a]. Mit einer Häufigkeit von bis zu 3,2 - 14 % kommt es zu einer Kompromittierung des distalen arteriellen Blutflusses bzw. zu einer venösen Abflussbehinderung [Yii et al., 2001; Brands et al., 2010].

Im Vergleich treten venöse Thrombosen häufiger und zeitlich etwas später auf als arterielle Thrombosen, wobei die erfolgreiche Revision in letzterer Situation anspruchsvoller zu sein

scheint [Kroll et al., 1996; Bui et al., 2007; Fukuiwa et al., 2008]. Allgemein ist die erste postoperative Woche das Intervall mit der höchsten Inzidenz dieses verheerenden vaskulären Geschehens mit einem Peak in den ersten 72 Stunden nach Anastomosierung [Hayhurst et O'Brien, 1975; Kroll et al., 1996; Bui et al., 2007]. Aufgrund dieser Datenlage haben wir uns für ein arterielles Embolienmodell entschieden, das neben der initialen, direkt postoperativen Thrombogenese und Embolie auch den gesamten Zeitraum der Thromboseinzidenz deckt.

In unserer Studie ließ sich vier Stunden und 14 Tage postoperativ thrombembolisches Material signifikant häufig im Filter nachweisen, wobei in jeder Gruppe eine Anastomose okkludiert war. In der vier Stunden Gruppe ließ sich in jedem Präparat thrombembolisches Material nachweisen (im Durchschnitt $0,021605 \text{ mm}^3$), wobei nur ein Gefäß verschlossen war ($0,018035715 \text{ mm}^3$), *Tab. 3–9*. Einerseits zeigt sich hierdurch die hohe Sensitivität des Modells, da auch kleinste Mengen thrombembolischen Materials im Filter hängen geblieben sind. Die okkludierte Aorta in der Vier-Stunden-Gruppe hatte zwar ein kleineres Volumen des thrombembolischen Materials als im Durchschnitt, aber zentral im Filter lokalisiert. Zudem zeigte sich in der histologischen Aufarbeitung eine zu traumatische proximale Anastomose, die zum Versuchsprotokoll gehörte, *Abb 3–6*. Die Analyse der Aorta der 14 Tagen Ratte zeigte ein ähnliches Bild. Auch in diesem Fall war die proximale Anastomose mit einer erhöhten Traumatisierung des Gefäßes assoziiert. Das große Durchschnittsvolumen des thrombembolischen Materials in der 14 Tage Gruppe ($0,187036 \text{ mm}^3$) liegt an der ausgeprägt hohen Menge der einen okkludierten Aorta ($1,858590422 \text{ mm}^3$). In den restlichen Filtern war bis auf in einer weiteren ($0,011770292 \text{ mm}^3$) kein thromb-embolisches Material nachweisbar, *Tab. 3–9*. Die Konstellation beider okkludierten Fälle weist auf ein thrombembolisches Geschehen hin. In den übrigen Präparaten dieser Gruppe war das thrombembolische Material eher randständig am Übergang zwischen Filter und Gefäßwand, was eher auf eine Chirurgie-induzierte Erhöhung hinweist. Diese direkt postoperativ erhöhte Aktivierung des Gerinnungssystems mit assoziierter Fibrinablagerung an der Endothelwand wurde u.a. von Servant et al. und Davis et al. beschrieben [Servant et al., 1976; Davis et al., 1982], *Tab. 3–8 und 3–9*. Die direkt postoperative Mikrothrombenbildung ist in der Literatur ein häufig beschriebenes Phänomen, das durch die physiologische Aktivierung der Thrombozyten zu erklären ist. Shimizu et al. untersuchten in einer experimentellen Studie die Inzidenzrate und Lokalisation von (Mikro-) Thromben und Durchgängigkeit arterio-arterieller bzw. arterio-venöser End-zu-End und End-zu-Seit-Anastomosen. Vor allem die arterio-venösen, aber auch die arterio-arteriellen Gefäßanastomosen zeigten in den ersten fünf postoperativen Stunden im Anastomosenbereich und teils distal davon kleinste Mikrothromben, die sich in der

chronischen Einheilungsphase bis zu einem Monat organisiert und / oder aufgelöst haben [Shimizu et al., 1979].

In den 1980-ern und 1990-ern wurde viel im Bereich der postoperativen Thrombosierung und (Mikro-) Embolisation geforscht. Unter anderem etablierte sich zu dieser Zeit die sog. „arterial inversion graft“ und das „M. Cremaster Modell“ mit intravitalem mikrozirkulatorischen Messungen [Anderson et al., 1988; Acland et al., 1989; Kersh et al., 1989]. Die Ergebnisse zeigten, dass schlechtes und unsachgemäßes Operieren signifikant mit Thrombose und sekundärer Embolisation im distalen Stromgebiet einherging und somit die mikrozirkulatorische Blutversorgung kompromittiert wurde. Auch die Mikroembolisation ist in der Lage, die distale Blutversorgung partiell zu reduzieren und somit disseminierte / partielle Nekrosen im transferierten Gewebestück zu verursachen, wobei die Gefäßanastomose selbst patent sein kann [Acland et al., 1989; Barker et al., 1993; Krapohl et al., 2003].

Sensitive, Filter-basierte Embolie-Modelle, die einfach einzubringen sind und über einen längeren Beobachtungszeitraum in situ belassen werden können, sind bis dato nicht in der Literatur beschrieben. Die beschriebenen „*Embolisation or Distal Protection Devices*“ (EPD bzw. DPD) besitzen proximale und / oder distale Ballons und sind entweder Filter- oder Korb- basiert [Hamood et al., 2005]. Diese werden vorwiegend in interventionellen Eingriffen der A. carotis und Koronar- und Nierengefäßen verwendet und nach dem Eingriff entfernt [Dubel et Murphy, 2008; Jin et al., 2012; Kimiagar et al., 2012]. Eine Anwendung dieser EPD bzw. DPD im Rahmen mikrovaskulärer Prozeduren ist bisher nicht beschrieben.

Das von uns präsentierte Modell hat einige eindeutige Vorteile gegenüber dem bekannten Embolienmodell (M. cremaster Modell) und den EPD bzw. DPD:

- 1.) Einfache Präparation und Zugänglichkeit der Aorta abdominalis der Ratte
- 2.) Möglichkeit der individualisierten Filtergröße
- 3.) Kein Bedarf weiterer technischer Hilfsmittel oder Messinstrumente
- 4.) Einfache Auswertung, da der Ort des Geschehen unmittelbar proximal des Filters ist
- 5.) Hohe Sensitivität
- 6.) Langzeitbeobachtungen sind möglich
- 7.) Lokalisierte und vorhersagbare histologische Veränderungen

Neben den genannten Vorteilen scheint die hohe Anforderung an Fingerfertigkeit und mikrochirurgische Expertise, die dieses Modell bei der Filtereinnahmt verlangt, der einzige Nachteil zu sein. Auf der anderen Seite kann dieses Modell ebenfalls zur Verbesserung dieser genannten Anforderungen dienen.

4.3.3. Polyurethan: Entwicklung und Bedeutung in der Medizin

Polyurethan ist ein Kunststoff aus der Familie der elastomeren Materialien. Er entsteht aus einer Polyadditionsreaktion aus drei Molekülen bzw. Monomeren: Isocyanat (aromatische vs. aliphatische), Makroglykol (Polyester vs. Polyether) und Hydroxy- bzw. Aminmoleküle, zur Kettenverlängerung. Durch Variation der drei Hauptbausteine können die Eigenschaften des entstehenden Polyurethans den speziellen Anforderungen angepasst werden. Neben weiteren elastomeren Materialien wie Fluoroelastomer, Polyvinylchlorid, etc. hat sich bisher Silikonkautschuk als Alternative der Wahl durchsetzen können. Seit mittlerweile über 50 Jahren findet Polyurethan durch Neu- und Weiterentwicklungen in den verschiedensten Bereichen der Medizin Verwendung. Über die noch bio-instabilen Polyurethanen kam es zur Weiterentwicklung zum biostabilen, aromatischen Polyether-Urethan, der in der Medizin die häufigste Verwendung findet [Pinchuk, 1995].

In den 1950-ern und 1960-ern des letzten Jahrhunderts wurden erstmals Polyurethanabkömmlinge in der Medizin verwendet. Pangman verwendete Polyurethanschaum als Brustprothese nach Mastektomien [Pangman et al., 1955]. 1967 untersuchten Boretos et Pierce in verschiedenen in vitro- und Tiermodellen die Anwendungsmöglichkeiten von Polyurethan Elastomeren als Biomaterial im kardiovaskulären Bereich. Aus den Versuchen kristallisierten sich folgende vorteilhafte Eigenschaften des relativ neuen Materials heraus: ausreichende Resistenz gegenüber Hydrolyse, gute und bestehende Stabilität auch noch operativen Eingriffen, keine Thrombosebildung oder embolische Ereignisse nach einwöchiger intravaskulärer Lage und geringe Fremdkörperreaktion [Boretos et Pierce, 1967].

In den vergangenen Jahrzehnten wurde viel Forschung mit Hauptaugenmerk auf die Biodegradation und optimale Zusammensetzung des Stoffes betrieben, um die besonderen, im Folgenden genannten Eigenschaften zu erlangen und zu verbessern [Zhao et al., 1993].

Durch Beimischung von Polydimethylsiloxan (PDMS) und Polyhexamehtylenoxid (PHMO) in einem Verhältnis von 80:20 erhält man ein Polyurethan mit exzellenter Biostabilität bei sehr guter Festigkeit und Flexibilität [Martin et al., 2000].

Auch in neueren Untersuchungen konnten diese Eigenschaften nachgewiesen und um folgende Punkte erweitert werden: gute Biokompatibilität, hydrolytische und oxidative Biostabilität, Verarbeitungsmöglichkeiten und exzellente mechanische Eigenschaften [Martin et al., 2000].

Der anfängliche, medizinische Anwendungsbereich der Polyurethane als Beschichtungen von Herzschrittmachern und Kathetern hat sich im Laufe der Zeit um ein Vielfaches erweitert. So wurde z.B. in einer Studie zu verschiedenen Oberflächenbeschichtungen eines Nitinol-Stents eine Überlegenheit der Polyurethan-Beschichtung in Bezug auf Thrombogenität und Fremdkörperreaktion gegenüber einer Stentbeschichtung mit Heparin oder Aluminium nachgewiesen [Tepe et al., 2006]. Außerdem ist eine Verwendung von Polyurethan-Matrices im Bereich des Bioengineering beschrieben, um z.B. Biomaterialien ex vivo mit einem filigranen Netzwerk von Neo-Gefäßen, die primär kulturell gezüchtet wurden, zu versehen [Iurlaro et al., 2002].

Auch in unserer Studie präsentierte sich der Polyurethanfilter als sehr geeignetes Material und hat zu keinen erhöhten Thromboseraten geführt. Zudem zeigte sich lediglich eine lokalisierte Gewebereaktion ohne intravaskuläre Inflammation, wie weiter oben bereits beschrieben. Der Filter ließ sich hervorragend handhaben und gut einnähen. Beim Einnähen musste lediglich auf eine erhöhte Anzahl von Einzelknopfnähten geachtet werden, damit es aufgrund des iatrogen erhöhten Drucks vor dem Filter nicht vermehrt blutete. Dieses war gut möglich und ließ sich auch durch keinen erhöhten Blutverlust bei den Filter-Anastomosen verifizieren, *Tab. 3–4*.

4.3.4. Ausblick

Das präsentierte Aorten-Filter-Modell erwies sich als valides mikrochirurgisches Modell mit einer Vielzahl verschiedener potenzieller Einsatzmöglichkeiten. Zum einen könnte das Modell zur Evaluation von Thrombemboliegefahren gewisser vaskulärer Prozeduren wie z.B. der Applikation von Gewebeklebern bei mikrochirurgischen Anastomosen hergenommen werden. Zum anderen könnte das Modell evtl. in Zukunft bei Patienten mit erhöhter arterieller Thrombemboliegefahr, z.B. auf dem Boden einer Atherosklerose der Blutgefäße, als Pendant zum Cava-Schirm, Verwendung finden. Fest steht, dass das Modell mit einer vorhersagbaren und lokalisierten Bindegewebsreaktion einhergeht, die sich kaum von der üblichen Gefäßheilung nach Anastomose unterscheidet. Die Gefäßwandreaktionen sind reproduzierbar

und lassen sich mit dem vorgestellten postoperativen Analyse-Protokoll untersuchen und vergleichen. Polyurethan erwies sich als ein sehr geeignetes Material zur Verwendung als vaskulärer Filter. Ein weitergehender Einsatz von Polyurethan-beschichteten Materialien in der (vaskulären) Mikrochirurgie ist somit durchaus denkbar und aus unserer Sicht zu begrüßen.

Nach unserem besten Wissen ist dies die erste Arbeit, in der ein Filter mikrochirurgisch in ein arterielles Gefäß eingebracht und zur Analyse von Emboliegefahren verwendet wurde. Wir empfehlen eine weitere Anwendung dieses Modells, da neben den oben genannten Vorteilen Ratten einerseits kostengünstige Versuchstiere darstellen und deren Operation und Narkose von nur einem Operateur gehandhabt werden kann, andererseits Ratten nach wie vor als Goldstandard-Tier in der experimentellen Mikrochirurgie gelten [Zhang et al., 2001; Scholz et al., 2008].

5. Zusammenfassung

In der vorgelegten Doktorarbeit haben wir in drei verschiedenen Untersuchungen innovative Techniken für mikrochirurgische Anastomosen und deren Evaluation untersucht.

Die Einführung und Etablierung der Mikrochirurgie läutete eine neue Ära in der rekonstruktiven Chirurgie ein und öffnete neue Therapiemöglichkeiten. Der mikrochirurgische freie Lappentransfer repräsentiert im chirurgischen Gebiet einen der anspruchvollsten Eingriffe und ist der Goldstandard für eine Defektdeckung im Kopf- und Halsbereich. Eine Vereinheitlichung prä-, intra- und postoperativer Abläufe ist derzeit noch nicht gegeben und die Verwendung „sicher-gegläubter“ Techniken noch nicht vollständig evaluiert [Pratt et al., 2010; Pratt et al., 2012]. Um aber in ein Stadium der Routine zu gelangen, in dem man das Hauptaugenmerk auf die prä- und postoperative Phase richten kann, muss die intraoperative Phase, also das eigentlich chirurgische Geschehen, durch Training und Forschung an den richtigen Modellen und mit den korrekten Apparaturen verbessert werden.

In der ersten Studie untersuchten wir die Verwendung eines von uns entwickelten „Shields“ und dessen Auswirkung auf die Erfolgsrate mikrochirurgischer Anastomosen. Durch die Verwendung dieser Technik wurden die häufigsten chirurgischen Fehler einer Anastomose, wie z.B. die Annahrt der Hinterwand, signifikant reduziert. Die verbesserte visuelle Kontrolle, das mechanische Hindernis durch das „Shield“ selbst und ein verbessertes Force-Feedback trugen dazu bei. Ein Vergleich mit weiteren intravaskulären Hilfsmitteln wurde dargelegt. Unter Verwendung der präsentierten „Shield-Protection-Technique“ könnten technisch anspruchsvolle Anastomosen in Zukunft sicherer und schneller durchgeführt werden.

Der zweite Teil der Arbeit beschäftigt sich mit End-zu-Seit-Anastomosen, sowie dem Blutfluss und dessen Analysemöglichkeiten. Hierzu führten wir Laser-Doppler-Anemometer Untersuchungen an wahrheitsgetreuen Modellen einer physiologischen Bifurkation, einer End-zu-Seit Anastomose nach Goldstandard und einer End-zu-Seit Anastomose nach der „Opened-End-to-Side (OES) Technik in einem experimentellen in vitro Kreislauf unter annäherungsweise physiologischen Umständen durch. Die „Opened-End-to-Side (OES) Technik ist eine modifizierte Technik, in der das Pedikelende auf einer speziellen Art und Weise präpariert wird, einen fließenden Übergang der anastomosierten Gefäße gewährleisten

zu können. Die Ergebnisse der Untersuchungen bewiesen einerseits die Durchführbarkeit solcher Messungen im mikrovaskulären Bereich und andererseits ließ sich ein womöglich verbesserter Fluss im und distal des Bifurkationsbereiches im OES-Modell nachweisen. Die Tecplot Untersuchung zeigten eine homogene Flussverteilung distal der Anastomose im OES-Modell, wohingegen es zu einer Flussaufteilung im Goldstandard Modell kam. Diese Beobachtungen könnten durch das physiologische Aussehen der Anastomose erklärt werden. Ein solch fließender Übergang ist der physiologischen Anatomie entnommen und reduziert Turbulenzen im Bifurkationsbereich.

Im dritten Teil meiner Arbeit haben wir ein neues Emboliemodell in einer Rattenaorta vorgestellt und die Einheilung des mikrochirurgisch eingebrachten Polyurethanfilters analysiert. Die Ergebnisse der Gruppe I (Einheilungsreihe) zeigten eine einheitliche und lokalisierte Reaktion der verschiedenen Gefäßwandabschnitte auf den intravaskulär eingenähten Polyurethanfilter in einem Zeitfenster zwischen drei, sieben Tagen und einem , sowie sechs Monaten postoperativ.

Die Gruppe II repräsentierte die Anwendung des Modells zur Evaluation möglicher thrombembolischer Geschehen. Die vier Stunden Untergruppe zeigte die prompte, initiale Thrombembolieinzidenz und die 14-Tage-Untergruppe das Langzeitrisiko im Verlauf. Die Ergebnisse der Studie bewiesen eine Durchführbarkeit zweier Anastomosen hintereinander in einem Gefäß und unterstützten eine weitere Anwendung des verwendeten Polyurethanfilters als Emboliemodell. Vor- und Nachteile des Modells wurden diskutiert.

6. Literaturverzeichnis

- 1 Aarnio P, Jarvinen O, Varjo P. 2000. Vascular Clips in Anastomoses of Femoropopliteal Arterial Reconstruction. *Int J Angiol* 9:62-64.
- 2 Acland R. 1972a. A new needle for microvascular surgery. *Surgery* 71:130-131.
- 3 Acland R. 1972b. Signs of patency in small vessel anastomosis. *Surgery* 72:744-748.
- 4 Acland RD. 1974. Microvascular anastomosis: a device for holding stay sutures and a new vascular clamp. *Surgery* 75:185-187.
- 5 Acland RD, Anderson G, Siemionow M, McCabe S. 1989. Direct in vivo observations of embolic events in the microcirculation distal to a small-vessel anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 84:280-288; discussion 289.
- 6 Acland RD, Trachtenberg L. 1977. The histopathology of small arteries following experimental microvascular anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 60:868-875.
- 7 Adams WP, Jr., Ansari MS, Hay MT, Tan J, Robinson JB, Jr., Friedman RM, Rohrich RJ. 2000. Patency of different arterial and venous end-to-side microanastomosis techniques in a rat model. *Plast Reconstr Surg* 105:156-161.
- 8 Ahn CY, Shaw WW, Berns S, Markowitz BL. 1994. Clinical experience with the 3M microvascular coupling anastomotic device in 100 free-tissue transfers. *Plast Reconstr Surg* 93:1481-1484.
- 9 Akan M, Cakir B, Akoz T. 2006. "Open y" technique in vessel diameter discrepancy. *Microsurgery* 26:506-514.
- 10 al Qattan MM, Bowen V. 1993. Effect of pre-existing health conditions on the results of reconstructive microvascular surgery. *Microsurgery* 14:152-157.
- 11 Albertengo JB, Rodriguez A, Buncke HJ, Hall EJ. 1981. A comparative study of flap survival rates in end-to-end and end-to-side microvascular anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 67:194-199.
- 12 Anderson GL, Acland RD, Siemionow M, McCabe SJ. 1988. Vascular isolation of the rat cremaster muscle. *Microvasc Res* 36:56-63.
- 13 Andree C, Munder BI, Behrendt P, Hellmann S, Audretsch W, Voigt M, Reis C, Beckmann MW, Horch RE, Bach AD. 2008. Improved safety of autologous breast reconstruction surgery by stabilisation of microsurgical vessel anastomoses using

- fibrin sealant in 349 free DIEP or fascia-muscle-sparing (fms)-TRAM flaps: a two-centre study. *Breast* 17:492-498.
- 14 Ang ES, Tan KC, Tan LH, Ng RT, Song IC. 2001. 2-octylcyanoacrylate-assisted microvascular anastomosis: comparison with a conventional suture technique in rat femoral arteries. *J Reconstr Microsurg* 17:193-201.
- 15 Barker JH, Anderson GL, Gu JM, Wyllie F, Acland RD. 1993. Experimental study of the relationship between alterations in tissue perfusion and anastomotic patency. *Microsurgery* 14:409-415.
- 16 Bas L, May JW, Jr., Handren J, Fallon J. 1986. End-to-end versus end-to-side microvascular anastomosis patency in experimental venous repairs. *Plast Reconstr Surg* 77:442-450.
- 17 Baxter TJ, O'Brien BM, Henderson PN, Bennett RC. 1972. The histopathology of small vessels following microvascular repair. *Br J Surg* 59:617-622.
- 18 Boeckx W, De Lorenzi F, van der Hulst R. 2002. Increasing the flow output by Y-shaped microvascular anastomosis. *J Reconstr Microsurg* 18:381-386.
- 19 Boeckx WD, Vijay Haribhakti VV, Bosmans L, Gruwez JA. 1992. End-to-side anastomosis of rat carotid artery: comparison of different types of section and shape of the terminal end *Eur J Plast Surg* 15:127-132.
- 20 Bold EL, Wanamaker JR, Zins JE, Lavertu P. 1996. The use of fibrin glue in the healing of skin flaps. *Am J Otolaryngol* 17:27-30.
- 21 Boretos JW, Pierce WS. 1967. Segmented polyurethane: a new elastomer for biomedical applications. *Science* 158:1481-1482.
- 22 Botnar R, Rappitsch G, Scheidegger MB, Liepsch D, Perktold K, Boesiger P. 2000. Hemodynamics in the carotid artery bifurcation: a comparison between numerical simulations and in vitro MRI measurements. *J Biomech* 33:137-144.
- 23 Bowen CV, Leach DH, Crosby NL, Reynolds R. 1996. Microvascular anastomoses. A comparative study of fibrinogen adhesive and interrupted suture techniques. *Plast Reconstr Surg* 97:792-800.
- 24 Brands MT, van den Bosch SC, Dieleman FJ, Berge SJ, Merkx MA. 2010. Prevention of thrombosis after microvascular tissue transfer in the head and neck. A review of the literature and the state of affairs in Dutch Head and Neck Cancer Centers. *Int J Oral Maxillofac Surg* 39:101-106.
- 25 Brennen MD, O'Brien BM. 1979. Patency rates in end to side anastomoses in the rabbit. *Br J Plast Surg* 32:24-30.

- 26 Bridges M, Diamond DL. 1999. The financial impact of teaching surgical residents in the operating room. *Am J Surg* 177:28-32.
- 27 Bui DT, Cordeiro PG, Hu QY, Disa JJ, Pusic A, Mehrara BJ. 2007. Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg* 119:2092-2100.
- 28 Buncke HJ, Jr., Schulz WP. 1966. Total ear reimplantation in the rabbit utilizing microminiature vascular anastomoses. *Br J Plast Surg* 19:15-22.
- 29 Buschmann I, Schaper W. 2000. The pathophysiology of the collateral circulation (arteriogenesis). *J Pathol* 190:338-342.
- 30 Carmeliet P. 1999. Developmental biology. Controlling the cellular brakes. *Nature* 401:657-658.
- 31 Carmeliet P. 2005. VEGF as a key mediator of angiogenesis in cancer. *Oncology* 69 Suppl 3:4-10.
- 32 Carmeliet P, Jain RK. 2000. Angiogenesis in cancer and other diseases. *Nature* 407:249-257.
- 33 Carr RT, Lacoïn M. 2000. Nonlinear dynamics of microvascular blood flow. *Ann Biomed Eng* 28:641-652.
- 34 Carrel A, Guthrie CC. 1906. Successful Transplantation of Both Kidneys from a Dog into a Bitch with Removal of Both Normal Kidneys from the Latter. *Science* 23:394-395.
- 35 Chen HC, Coskunfirat OK, Ozkan O, Mardini S, Cigna E, Salgado CJ, Spanio S. 2006. Guidelines for the optimization of microsurgery in atherosclerotic patients. *Microsurgery* 26:356-362.
- 36 Chien S. 2008. Effects of disturbed flow on endothelial cells. *Ann Biomed Eng* 36:554-562.
- 37 Chiu JJ, Chien S. 2011. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol Rev* 91:327-387.
- 38 Cho AB, Junior RM. 2007. Effect of fibrin adhesive application in microvascular anastomosis: a comparative experimental study. *Plast Reconstr Surg* 119:95-103.
- 39 Cho AB, Junior RM. 2008. Application of fibrin glue in microvascular anastomoses: comparative analysis with the conventional suture technique using a free flap model. *Microsurgery* 28:367-374.
- 40 Chow SP. 1983. The histopathology of microvascular anastomosis: a study of the incidence of various tissue changes. *Microsurgery* 4:5-9.

- 41 Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. 1996. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim* 30:293-316.
- 42 Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. 1997. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Lab Anim* 31:1-32.
- 43 Cope C, Lee K, Stern H, Pennington D. 2000. Use of the vascular closure staple clip applier for microvascular anastomosis in free-flap surgery. *Plast Reconstr Surg* 106:107-110.
- 44 Cronkite E, Lozner E, Deaver J. 1944. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. *JAMA* 124:976.
- 45 Daniel RK. 1979. Microsurgery: through the looking glass. *N Engl J Med* 300:1251-1257.
- 46 Daniel RK, Taylor GI. 1973. Distant transfer of an island flap by microvascular anastomoses. A clinical technique. *Plast Reconstr Surg* 52:111-117.
- 47 Davis CB, 2nd, Smith BM, Hagen PO, Urbaniak JR. 1982. The strength of microvascular anastomoses--an experimental evaluation in rats. *J Microsurg* 3:156-161.
- 48 De Lorenzi F, van der Hulst R, Boeckx W. 2005. Interrupted micro-mattress sutures solve vessel-size discrepancy. *J Reconstr Microsurg* 21:125-130.
- 49 De Lorenzi F, van der Hulst RR, Boeckx WD. 2002. VCS auto suture stapled microvascular anastomoses in lower leg free flaps. *Plast Reconstr Surg* 109:2023-2030.
- 50 De Wilde R, Boeckx W, Van Der Schueren E, Guelinckx P, Gruwez J. 1983. A scanning electron microscopic study of microvascular anastomoses on irradiated vessels: short-term effect of irradiation. *Microsurgery* 4:193-200.
- 51 Di Cataldo A, La Greca G, Rodolico M, Candiano C, Li Destri G, Puleo S. 1998. Experimental models in microsurgery. *Microsurgery* 18:454-459.
- 52 Donaghy RM. 1979. Practice for perfection. *J Microsurg* 1:181.
- 53 Dorn F, Niedermeyer F, Balasso A, Liepsch D, Liebig T. 2010. The effect of stents on intra-aneurysmal hemodynamics: in vitro evaluation of a pulsatile sidewall aneurysm using laser Doppler anemometry. *Neuroradiology*.
- 54 Dotson RJ, Bishop AT, Wood MB, Schroeder A. 1998. End-to-end versus end-to-side arterial anastomosis patency in microvascular surgery. *Microsurgery* 18:125-128.

- 55 Drake DB, Faulkner BC, Amiss LR, Jr., Spotnitz WD, Morgan RF. 2000. Thrombogenic effects of a nonthrombin-based fibrin sealant compared with thrombin-based fibrin sealant on microvenous anastomoses in a rat model. *Ann Plast Surg* 45:520-524.
- 56 Dubel GJ, Murphy TP. 2008. Distal embolic protection for renal arterial interventions. *Cardiovasc Intervent Radiol* 31:14-22.
- 57 Erb MA, Claus T, Hartrumpf M, Bachmann S, Albes JM. 2009. The use of Tachosil surgical patch or fibrin glue in coronary artery surgery does not affect quality of anastomosis or provoke postoperative adhesions in pigs. *Eur J Cardiothorac Surg* 36:703-707.
- 58 Ericsson KA. 2007. An expert-performance perspective of research on medical expertise: the study of clinical performance. *Med Educ* 41:1124-1130.
- 59 Ericsson KA. 2008. Deliberate practice and acquisition of expert performance: a general overview. *Acad Emerg Med* 15:988-994.
- 60 Fåhræus R. LT. 1931. The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am J Physiol* 96:562-568.
- 61 Faik I, Mongrain R, Leask RL, Rodes-Cabau J, Larose E, Bertrand O. 2007. Time-dependent 3D simulations of the hemodynamics in a stented coronary artery. *Biomed Mater* 2:S28-37.
- 62 Fernandez EJ, Nadal RD, Gonzalez SM, Caffee HH. 1983. The effect of stasis on a microvascular anastomosis. *Microsurgery* 4:176-177.
- 63 Ferrara N. 2002. VEGF and the quest for tumour angiogenesis factors. *Nat Rev Cancer* 2:795-803.
- 64 Flemming AF, Colles MJ, Guillianotti R, Brough MD, Bown SG. 1988. Laser assisted microvascular anastomosis of arteries and veins: laser tissue welding. *Br J Plast Surg* 41:378-388.
- 65 Friedman MH, O'Brien V, Ehrlich LW. 1975. Calculations of pulsatile flow through a branch: implications for the hemodynamics of atherogenesis. *Circ Res* 36:277-285.
- 66 Frodel JL, Trachy R, Cummings CW. 1986. End-to-end and end-to-side microvascular anastomoses: a comparative study. *Microsurgery* 7:117-123.
- 67 Frost-Arner L, Spotnitz WD, Rodeheaver GT, Drake DB. 2001. Comparison of the thrombogenicity of internationally available fibrin sealants in an established microsurgical model. *Plast Reconstr Surg* 108:1655-1660.

- 68 Fukuiwa T, Nishimoto K, Hayashi T, Kurono Y. 2008. Venous thrombosis after microvascular free-tissue transfer in head and neck cancer reconstruction. *Auris Nasus Larynx* 35:390-396.
- 69 Furie B, Furie BC. 2008. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 359:938-949.
- 70 Gao XS, Gao JH, Zhan HL. 1985. Experimental end-to-side anastomosis of arteries less than one millimeter in diameter and clinical applications. *Ann Plast Surg* 15:352-355.
- 71 Giddens DP, Zarins CK, Glagov S. 1993. The role of fluid mechanics in the localization and detection of atherosclerosis. *J Biomech Eng* 115:588-594.
- 72 Gimbrone MA, Jr., Topper JN, Nagel T, Anderson KR, Garcia-Cardena G. 2000. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 902:230-239; discussion 239-240.
- 73 Godina M. 1979. Preferential use of end-to-side arterial anastomoses in free flap transfers. *Plast Reconstr Surg* 64:673-682.
- 74 Goldwyn RM, Lamb DL, White WL. 1963. An experimental study of large island flaps in dogs. *Plast Reconstr Surg* 31:528-536.
- 75 Green AR, Milling MA. 1986. Butylcyanoacrylate adhesives in microvascular surgery: an experimental pilot study. *J Reconstr Microsurg* 2:103-105.
- 76 Grober ED, Hamstra SJ, Wanzel KR, Reznick RK, Matsumoto ED, Sidhu RS, Jarvi KA. 2004. The educational impact of bench model fidelity on the acquisition of technical skill: the use of clinically relevant outcome measures. *Ann Surg* 240:374-381.
- 77 Gurlek A, Kroll SS, Schusterman MA. 1997. Ischemic time and free flap success. *Ann Plast Surg* 38:503-505.
- 78 Guthrie CC. 1908. Transplantation of Formaldehyde-Fixed Blood Vessels. *Science* 27:473.
- 79 Hall EJ. 1980. End-to-side anastomoses: a model and a technique with clinical application. *J Microsurg* 2:106-112.
- 80 Hamood H, Makhoul N, Hassan A, Shefer A, Rosenschein U. 2005. Embolic protection: limitations of current technology and novel concepts. *Int J Cardiovasc Intervent* 7:176-182.
- 81 Han SK, Kim SW, Kim WK. 1998. Microvascular anastomosis with minimal suture and fibrin glue: experimental and clinical study. *Microsurgery* 18:306-311.
- 82 Hanasono MM, Ogunleye O, Yang JS, Hartley CJ, Miller MJ. 2009. Changes in blood velocity following microvascular free tissue transfer. *J Reconstr Microsurg* 25:417-424.

- 83 Harashina T. 1977. Use of the united suture in microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 59:134-135.
- 84 Harashina T, Irigaray A. 1980. Expansion of smaller vessel diameter by fish-mouth incision in microvascular anastomosis with marked size discrepancy. *Plast Reconstr Surg* 65:502-503.
- 85 Harii K, Omori K, Omori S. 1974. Successful clinical transfer of ten free flaps by microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 53:259-270.
- 86 Harloff A, Albrecht F, Spreer J, Stalder AF, Bock J, Frydrychowicz A, Schollhorn J, Hetzel A, Schumacher M, Hennig J, Markl M. 2009. 3D blood flow characteristics in the carotid artery bifurcation assessed by flow-sensitive 4D MRI at 3T. *Magn Reson Med* 61:65-74.
- 87 Harris GD, Finseth F, Buncke HJ. 1981. Posterior-wall-first microvascular anastomotic technique. *Br J Plast Surg* 34:47-49.
- 88 Haruguchi H, Nakagawa Y, Uchida Y, Sageshima J, Fuchinoue S, Agishi T. 1998. Clinical application of vascular closure staple clips for blood access surgery. *ASAIO J* 44:M562-564.
- 89 Haruguchi H, Teraoka S. 2003. Intimal hyperplasia and hemodynamic factors in arterial bypass and arteriovenous grafts: a review. *J Artif Organs* 6:227-235.
- 90 Hayhurst JW, O'Brien BM. 1975. An experimental study of microvascular technique, patency rates and related factors. *Br J Plast Surg* 28:128-132.
- 91 Holm C, Dornseifer U, Sturtz G, Ninkovic M. 2010. Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg* 26:311-316.
- 92 Holm C, Mayr M, Hoftler E, Dornseifer U, Ninkovic M. 2009. Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study. *Microsurgery* 29:509-514.
- 93 Hou SM, Seaber AV, Urbaniak JR. 1987. An alternative technique of microvascular anastomosis. *Microsurgery* 8:22-24.
- 94 Huang SW, Lien JC, Kuo SC, Huang TF. 2012. Antiangiogenic mechanisms of PJ-8, a novel inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor signaling. *Carcinogenesis* 33:1022-1030.
- 95 Iijima K, Yoshikawa N, Connolly DT, Nakamura H. 1993. Human mesangial cells and peripheral blood mononuclear cells produce vascular permeability factor. *Kidney Int* 44:959-966.

- 96 Ikuta Y, Watari S, Kawamura K, Shima R, Matsuishi Y. 1975. Free flap transfers by end-to-side arterial anastomosis. *Br J Plast Surg* 28:1-7.
- 97 Imer M, Okar T, Cobanoglu S, Kayapinar R, Memis M, Hepgul K, Kutlu K. 1996. The modification of the new type of end-to-side anastomosis between carotid arteries in rats: a technical and scanning electron microscopic study. *Acta Neurochir (Wien)* 138:1246-1249.
- 98 Isogai N, Cooley BG, Kamiishi H. 1996. Clinical outcome of digital replantation using the fibrin glue-assisted microvascular anastomosis technique. *J Hand Surg Br* 21:573-575.
- 99 Isogai N, Fukunishi K, Kamiishi H. 1992. Use of fibrin glue to minimize bleeding of microvascular repairs in hypertensive rats. *Microsurgery* 13:321-324.
- 100 Isogai N, Kamiishi H, Chichibu S. 1988. Re-endothelialization stages at the microvascular anastomosis. *Microsurgery* 9:87-94.
- 101 Iurlaro M, Sanders JE, Zhu WH, Scatena M, Mitchell SB, Nicosia RF. 2002. Use of vascular explants for ex vivo neovascularization of biomaterials. *Microvasc Res* 64:398-404.
- 102 Jacobson JH II SE. 1960. Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum* 11:243-245.
- 103 Jacobson JH SE. 1960. Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum* 11:243-245.
- 104 Jain KK. 1980. Sutureless microvascular anastomosis using a neodymium-yag laser. *J Microsurg* 1:436-439.
- 105 Jandali S, Wu LC, Vega SJ, Kovach SJ, Serletti JM. 2010. 1000 consecutive venous anastomoses using the microvascular anastomotic coupler in breast reconstruction. *Plast Reconstr Surg* 125:792-798.
- 106 Jin B, Dong XH, Zhang C, Li Y, Shi HM. 2012. Distal protection devices in primary percutaneous coronary intervention of native coronary artery lesions: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Curr Med Res Opin* 28:871-876.
- 107 Jorgensen S, Bascom DA, Partsafas A, Wax MK. 2003. The effect of 2 sealants (FloSeal and Tisseel) on fasciocutaneous flap revascularization. *Arch Facial Plast Surg* 5:399-402.
- 108 Karner G, Perktold K, Hofer M, Liepsch D. 1999. Flow Characteristics in an Anatomically Realistic Compliant Carotid Artery Bifurcation Model. *Comput Methods Biomech Biomed Engin* 2:171-185.

- 109 Kerbel RS. 2000. Tumor angiogenesis: past, present and the near future. *Carcinogenesis* 21:505-515.
- 110 Kerrigan CL, Stotland MA. 1993. Ischemia reperfusion injury: a review. *Microsurgery* 14:165-175.
- 111 Kersh RA, Handren J, Hergrueter C, May JW, Jr. 1989. Microvascular surgical experimental thrombosis model: rationale and design. *Plast Reconstr Surg* 83:866-872; discussion 873-864.
- 112 Kesting MR, Holzle F, Wolff KD, Wagenpfeil S, Hasler RJ, Wales CJ, Steinstraesser L, Rohleder NH. 2011. Use of microvascular flap technique in older adults with head and neck cancer: a persisting dilemma in reconstructive surgery? *J Am Geriatr Soc* 59:398-405.
- 113 Kheirabadi BS, Field-Ridley A, Pearson R, MacPhee M, Drohan W, Tuthill D. 2002. Comparative study of the efficacy of the common topical hemostatic agents with fibrin sealant in a rabbit aortic anastomosis model. *J Surg Res* 106:99-107.
- 114 Khouri RK. 1992. Avoiding free flap failure. *Clin Plast Surg* 19:773-781.
- 115 Khouri RK, Cooley BC, Kunselman AR, Landis JR, Yeramian P, Ingram D, Natarajan N, Benes CO, Wallemark C. 1998. A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome. *Plast Reconstr Surg* 102:711-721.
- 116 Kimiagar I, Gur AY, Auriel E, Peer A, Sacaggiu T, Bass A. 2012. Long-term follow-up of patients after carotid stenting with or without distal protective device in a single tertiary medical center. *Vasc Endovascular Surg* 46:536-541.
- 117 Kirsch WM, Cavallo C, Anton T, Zhu YH, Rouse G, Martin R, Fukushima T, Rose J. 2001. An alternative system for cerebrovascular reconstructions: non-penetrating arcuate-legged clips. *Cardiovasc Surg* 9:531-539.
- 118 Kloppel M, Tudor C, Kovacs L, Papadopoulos NA, Hohnke C, Himsl I, Hoang NT, Biemer E. 2007. Comparison of experimental microvascular end-to-end anastomosis via VCS-Clips versus conventional suture technique in an animal model. *J Reconstr Microsurg* 23:45-49.
- 119 Konstantopoulos K, Kukreti S, McIntire LV. 1998. Biomechanics of cell interactions in shear fields. *Adv Drug Deliv Rev* 33:141-164.
- 120 Kopta JA. 1971. The development of motor skills in orthopaedic education. *Clin Orthop Relat Res* 75:80-85.
- 121 Korc M, Friesel RE. 2009. The role of fibroblast growth factors in tumor growth. *Curr Cancer Drug Targets* 9:639-651.

- 122 Kornowski R, Hong MK, Virmani R, Jones R, Vodovotz Y, Leon MB. 1999. Granulomatous 'foreign body reactions' contribute to exaggerated in-stent restenosis. *Coron Artery Dis* 10:9-14.
- 123 Krag C, Holck S. 1981. The value of the patency test in microvascular anastomosis: correlation between observed patency and size of intraluminal thrombus: an experimental study in rats. *Br J Plast Surg* 34:64-66.
- 124 Krapohl BD, Reichert B, Machens HG, Mailander P. 2003. Impact of poor microsurgical suture technique on tissue perfusion in a rat model. *Microsurgery* 23:141-146.
- 125 Krishnan KG, Tsirekidze P, Pinzer T, Schackert G. 2008. A novel minimally occlusive microvascular anastomosis technique using a temporary intraluminal shunt: a prospective technique to minimize brain ischemia time during superficial temporal artery-to-middle cerebral artery bypass. *Neurosurgery* 62:1450-1455.
- 126 Krizek TJ, Tani T, Desprez JD, Kiehn CL. 1965. Experimental transplantation of composite grafts by microsurgical vascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 36:538-546.
- 127 Kroll SS, Schusterman MA, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Robb GL, Baldwin BJ. 1996. Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg* 98:1230-1233.
- 128 Kruse AL, Luebbers HT, Gratz KW, Obwegeser JA. 2010. Factors influencing survival of free-flap in reconstruction for cancer of the head and neck: a literature review. *Microsurgery* 30:242-248.
- 129 Ku DN, Liepsch D. 1986. The effects of non-Newtonian viscoelasticity and wall elasticity on flow at a 90 degrees bifurcation. *Biorheology* 23:359-370.
- 130 Kubo T, Yano K, Hosokawa K. 2002. Management of flaps with compromised venous outflow in head and neck microsurgical reconstruction. *Microsurgery* 22:391-395.
- 131 Kuderna H, Matras H. 1975. Die klinische Anwendung der Klebung von Nervenastomosen bei der Rekonstruktion verletzter peripherer Nerven. *Wien Klin Wochenschr* 87:495.
- 132 Kunz AL, Coulter NA, Jr. 1967. Non-Newtonian behavior of blood in oscillatory flow. *Biophys J* 7:25-36.
- 133 Lannon DA, Atkins JA, Butler PE. 2001. Non-vital, prosthetic, and virtual reality models of microsurgical training. *Microsurgery* 21:389-393.
- 134 Lauritzen C. 1978. A new and easier way to anastomose microvessels. An experimental study in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg* 12:291-294.

- 135 Lee EH, Woo JS, Hwang JH, Park JH, Cho CH. 2012. Angiopoietin 1 enhances the proliferation and differentiation of skeletal myoblasts. *J Cell Physiol*.
- 136 LeMaire SA, Carter SA, Won T, Wang X, Conklin LD, Coselli JS. 2005. The threat of adhesive embolization: BioGlue leaks through needle holes in aortic tissue and prosthetic grafts. *Ann Thorac Surg* 80:106-110; discussion 110-101.
- 137 Leriche R, Morel A. 1948. The Syndrome of Thrombotic Obliteration of the Aortic Bifurcation. *Ann Surg* 127:193-206.
- 138 Levesque MJ, Liepsch D, Moravec S, Nerem RM. 1986. Correlation of endothelial cell shape and wall shear stress in a stenosed dog aorta. *Arteriosclerosis* 6:220-229.
- 139 Li L, Terry CM, Blumenthal DK, Kuji T, Masaki T, Kwan BC, Zhuplatov I, Leyboldt JK, Cheung AK. 2007. Cellular and morphological changes during neointimal hyperplasia development in a porcine arteriovenous graft model. *Nephrol Dial Transplant* 22:3139-3146.
- 140 Li L, Terry CM, Shiu YT, Cheung AK. 2008. Neointimal hyperplasia associated with synthetic hemodialysis grafts. *Kidney Int* 74:1247-1261.
- 141 Lidman D, Daniel RK. 1981. The normal healing process of microvascular anastomoses. *Scand J Plast Reconstr Surg* 15:103-110.
- 142 Liepsch D, Moravec S, Baumgart R. 1992. Some flow visualization and laser-Doppler-velocity measurements in a true-to-scale elastic model of a human aortic arch--a new model technique. *Biorheology* 29:563-580.
- 143 Liepsch D, Pflugbeil G, Matsuo T, Lesniak B. 1998. Flow visualization and 1- and 3-D laser-Doppler-anemometer measurements in models of human carotid arteries. *Clin Hemorheol Microcirc* 18:1-30.
- 144 Liepsch D, Thurston G, Lee M. 1991. Studies of fluids simulating blood-like rheological properties and applications in models of arterial branches. *Biorheology* 28:39-52.
- 145 Liepsch DW. 1986. Flow in tubes and arteries--a comparison. *Biorheology* 23:395-433.
- 146 Liepsch DW, Zimmer R. 1995. The dynamics of pulsatile flow in distensible model arteries. *Technol Health Care* 3:185-199.
- 147 Lindsey WH, Masterson TM, Llaneras M, Spotnitz WD, Wanebo HJ, Morgan RF. 1988. Seroma prevention using fibrin glue during modified radical neck dissection in a rat model. *Am J Surg* 156:310-313.
- 148 Loeffelbein DJ, Baumann CM, Mucke T, Wolff KD, Holzle F, Kesting MR. 2010. Sticky platelet syndrome as a possible cause for free flap failure--a case report. *Microsurgery* 30:466-468.

- 149 Loeffelbein DJ, Schutz K, Bauer F, Wolff KD, Schuster T, Opitz R, Wintermantel E, Pfeifer S. 2011. Experimental analysis of tensile force of individualized stents for microvascular anastomoses. *Biomed Tech (Berl)* 56:107-113.
- 150 Lopez-Monjardin H, de la Pena-Salcedo JA. 2000. Techniques for management of size discrepancies in microvascular anastomosis. *Microsurgery* 20:162-166.
- 151 Lorenzetti F, Suominen S, Tukiainen E, Kuokkanen H, Suominen E, Vuola J, Asko-Seljavaara S. 2001. Evaluation of blood flow in free microvascular flaps. *J Reconstr Microsurg* 17:163-167.
- 152 MacGillivray TE. 2003. Fibrin sealants and glues. *J Card Surg* 18:480-485.
- 153 Maniatis TA, Cobbold RS, Johnston KW. 1994. Two-dimensional velocity reconstruction strategies for color flow Doppler ultrasound images. *Ultrasound Med Biol* 20:137-145.
- 154 Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, Olson KE, Islam N, Pinsky DJ, Levi R. 2005. Role of CD39 (NTPDase-1) in thromboregulation, cerebroprotection, and cardioprotection. *Semin Thromb Hemost* 31:234-246.
- 155 Marcus AJ, Broekman MJ, Pinsky DJ. 2002. COX inhibitors and thromboregulation. *N Engl J Med* 347:1025-1026.
- 156 Marek CA, Amiss LR, Jr., Morgan RF, Spotnitz WD, Drake DB. 1998. Acute thrombogenic effects of fibrin sealant on microvascular anastomoses in a rat model. *Ann Plast Surg* 41:415-419.
- 157 Martin DJ, Warren LA, Gunatillake PA, McCarthy SJ, Meijs GF, Schindhelm K. 2000. Polydimethylsiloxane/polyether-mixed macrodiol-based polyurethane elastomers: biostability. *Biomaterials* 21:1021-1029.
- 158 Massberg S, Brand K, Gruner S, Page S, Muller E, Muller I, Bergmeier W, Richter T, Lorenz M, Konrad I, Nieswandt B, Gawaz M. 2002. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med* 196:887-896.
- 159 Matras H. 1985. Fibrin seal: the state of the art. *J Oral Maxillofac Surg* 43:605-611.
- 160 McLean NR, Ellis H. 1989. How does sepsis promote thrombosis in microvascular anastomoses? *Br J Plast Surg* 42:314-317.
- 161 Menovsky T. 2000. A human skull cast model for training of intracranial microneurosurgical skills. *Microsurgery* 20:311-313.
- 162 Minderjahn A, Dahm HH. 1979. Scanning electron microscope observations of microvascular anastomosis in the rat carotid artery. *J Maxillofac Surg* 7:225-234.

- 163 Misra S, Doherty MG, Woodrum D, Homburger J, Mandrekar JN, Elkouri S, Sabater EA, Bjarnason H, Fu AA, Glockner JF, Greene EL, Mukhopadhyay D. 2005. Adventitial remodeling with increased matrix metalloproteinase-2 activity in a porcine arteriovenous polytetrafluoroethylene grafts. *Kidney Int* 68:2890-2900.
- 164 Monsivais JJ. 1990. Microvascular grafts: effect of diameter discrepancy on patency rates. *Microsurgery* 11:285-287.
- 165 Morecraft R, Blair WF, Chang L. 1985. Histopathology of microvenous repair. *Microsurgery* 6:219-228.
- 166 Morritt AN, Raine C, McLean NR. 2002. The double-barrelled end-to-end microvascular anastomosis. *Br J Plast Surg* 55:64-65.
- 167 Motomiya M, Karino T. 1984. Flow patterns in the human carotid artery bifurcation. *Stroke* 15:50-56.
- 168 Mozes M, Man B, Agmon M, Adar R. 1963. Small Vessel Anastomoses. *Surgery* 54:609-611.
- 169 Mücke T, Borgmann A, Ritschl LM, Kesting MR, Loeffelbein DJ, Wolff KD. 2013. Microvascular training of medical students and surgeons - A comparative prospective study. *J Craniomaxillofac Surg*.
- 170 Mücke T, Holzle F, Wolff K, Kesting M, Scholz M. 2008a. Sealing maneuver for microvascular anastomoses in rats. *J Reconstr Microsurg* 24:33-37.
- 171 Mücke T, Scholz M, Kesting MR, Wolff KD, Schmieder K, Harders AG. 2008b. Microsurgically induced aneurysm models in rats, Part II: clipping, shrinking and micro-Doppler sonography. *Minim Invasive Neurosurg* 51:6-10.
- 172 Mücke T, Wolff KD. 2009. Performing microvascular anastomosis with fibrin glue--faster, easier, and more reliable? *Microsurgery* 29:80-81.
- 173 Mücke T, Wolff KD, Wagenpfeil S, Holzle F, Scholz M. 2010a. Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 126:1506-1514.
- 174 Mücke T, Wolff KD, Wagenpfeil S, Hölzle F, Scholz M. 2010b. Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 126:1506-1514.
- 175 Murphy JB. 1897. Resection of arteries and veins injured in continuity-end-to-end suture: Experimental and clinical research. *Med Rec* 51:73.

- 176 Nakamura T, Fukui A, Maeda M, Kugai M, Inada Y, Teramoto N, Ishida A, Tamai S. 2000. Microvascular anastomoses using an Nd-YAG laser. *J Reconstr Microsurg* 16:577-584.
- 177 Nakayama K, Tamiya T, Yamamoto K, Akimoto S. 1962. A simple new apparatus for small vessel anastomosis (free autograft of the sigmoid included). *Surgery* 52:918-931.
- 178 Nam DA, Roberts TL, 3rd, Acland RD. 1978. An experimental study of end-to-side microvascular anastomosis. *Surg Gynecol Obstet* 147:339-342.
- 179 Nasir S, Aydin MA, Ozguner M. 2005. Thrombotic effect of purposeful back-wall stitch for different suture locations and vessels in rats. *Ann Plast Surg* 55:508-511.
- 180 Nataf P, Kirsch W, Hill AC, Anton T, Zhu YH, Ramadan R, Lima L, Pavie A, Cabrol C, Gandjbakhch I. 1997. Nonpenetrating clips for coronary anastomosis. *Ann Thorac Surg* 63:S135-137.
- 181 Nathan PA, Rose MC. 1976. An alternative technique for microvascular suture. *Plast Reconstr Surg* 58:635-637.
- 182 Nightingale G, Fogdestam I, O'Brien BM. 1980. Scanning electron microscope study of experimental microvascular anastomoses in the rabbit. *Br J Plast Surg* 33:283-298.
- 183 Nylen CO. 1954. The microscope in aural surgery, its first use and later development. *Acta Otolaryngol Suppl* 43:226-240.
- 184 O'Brien BM, MacLeod AM, Hayhurst JW, Morrison WA. 1973. Successful transfer of a large island flap from the groin to the foot by microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 52:271-278.
- 185 O'Brien BM, Morrison WA, Ishida H, MacLeod AM, Gilbert A. 1974. Free flap transfers with microvascular anastomoses. *Br J Plast Surg* 27:220-230.
- 186 Olsson E, Sarlomo-Rikala M, Bohling T, Asko-Seljavaara S, Lassila R. 2000. Immunohistochemical evaluation of failed vessel anastomoses in clinical microsurgery. *Br J Plast Surg* 53:567-573.
- 187 Olsson E, Svartling N, Asko-Seljavaara S, Lassila R. 2001. Activation of coagulation and fibrinolysis during reconstructive microsurgery in patients with cancer. *Microsurgery* 21:208-213.
- 188 Ong YS, Yap K, Ang ES, Tan KC, Ng RT, Song IC. 2004. 2-Octylcyanoacrylate-assisted microvascular anastomosis in a rat model: long-term biomechanical properties and histological changes. *Microsurgery* 24:304-308.

- 189 Ostrup LT, Berggren A. 1986. The UNILINK instrument system for fast and safe microvascular anastomosis. *Ann Plast Surg* 17:521-525.
- 190 Oz MC, Rondinone JF, Shargill NS. 2003. FloSeal Matrix: new generation topical hemostatic sealant. *J Card Surg* 18:486-493.
- 191 Ozkan O, Ozgentas HE. 2005. Open guide suture technique for safe microvascular anastomosis. *Ann Plast Surg* 55:289-291.
- 192 Pangman WJ, 2nd, Wallace RM, Hills B. 1955. The use of plastic prosthesis in breast plastic and other soft tissue surgery. *West J Surg Obstet Gynecol* 63:503-512.
- 193 Papalois VE, Romagnoli J, Hakim NS. 1998. Use of vascular closure staples in vascular access for dialysis, kidney and pancreas transplantation. *Int Surg* 83:177-180.
- 194 Partsafas AW, Bascom DA, Jorgensen SA, Wax MK. 2004. Effects of Tisseel and FloSeal on primary ischemic time in a rat fasciocutaneous free flap model. *Laryngoscope* 114:301-304.
- 195 Patel VR, Chammas MF, Jr., Shah S. 2007. Robotic assisted laparoscopic radical prostatectomy: a review of the current state of affairs. *Int J Clin Pract* 61:309-314.
- 196 Penoff J. 1999. Skin closures using cyanoacrylate tissue adhesives. Plastic Surgery Educational Foundation DATA Committee. Device and Technique Assessment. *Plast Reconstr Surg* 103:730-731.
- 197 Petry JJ, French TS, Wortham KA. 1986. The effect of the "patency test" on arterial endothelial surface. *Plast Reconstr Surg* 77:960-964.
- 198 Pevec WC, L'Italien GJ, Megerman J, Cambria RP, Abbott WM. 1993. Abnormal wall strain at distal end-to-side anastomoses. *Ann Vasc Surg* 7:14-20.
- 199 Picot PA, Rickey DW, Mitchell R, Rankin RN, Fenster A. 1993. Three-dimensional colour Doppler imaging. *Ultrasound Med Biol* 19:95-104.
- 200 Pignatti M, Benati D, Cavadas PC. 2004. Effect of the two-wall-stitch mistake upon patency of rat femoral vein anastomosis: Preliminary observations. *Microsurgery* 24:339-344.
- 201 Pinchuk L. 1995. A review of the biostability and carcinogenicity of polyurethanes in medicine and the new generation of 'biostable' polyurethanes. *J Biomater Sci Polym Ed* 6:225-267.
- 202 Pratt GF, Rozen WM, Chubb D, Whitaker IS, Grinsell D, Ashton MW, Acosta R. 2010. Modern adjuncts and technologies in microsurgery: an historical and evidence-based review. *Microsurgery* 30:657-666.

- 203 Pratt GF, Rozen WM, Westwood A, Hancock A, Chubb D, Ashton MW, Whitaker IS. 2012. Technology-assisted and sutureless microvascular anastomoses: evidence for current techniques. *Microsurgery* 32:68-76.
- 204 Pries AR, Neuhaus D, Gaehtgens P. 1992. Blood viscosity in tube flow: dependence on diameter and hematocrit. *Am J Physiol* 263:H1770-1778.
- 205 Pries AR, Secomb TW. 2003. Rheology of the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc* 29:143-148.
- 206 Quigley MR, Bailes JE, Kwaan HC, Cerullo LJ, Brown JT, Fitzsimmons J. 1985. Comparison of bursting strength between suture- and laser-anastomosed vessels. *Microsurgery* 6:229-232.
- 207 Raabe A, Beck J, Gerlach R, Zimmermann M, Seifert V. 2003. Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow. *Neurosurgery* 52:132-139; discussion 139.
- 208 Ragnarsson R, Berggren A, Ostrup LT, Gilbert RW. 1989. Arterial end-to-side anastomosis with the UNILINK system. *Ann Plast Surg* 22:405-415.
- 209 Rao VK, Morrison WA, Angus JA, O'Brien BM. 1983. Comparison of vascular hemodynamics in experimental models of microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 71:241-247.
- 210 Riha GM, Lin PH, Lumsden AB, Yao Q, Chen C. 2005. Roles of hemodynamic forces in vascular cell differentiation. *Ann Biomed Eng* 33:772-779.
- 211 Rohlf K, Tenti G. 2001. The role of the Womersley number in pulsatile blood flow a theoretical study of the Casson model. *J Biomech* 34:141-148.
- 212 Rozen WM, Whitaker IS, Acosta R. 2010. Venous coupler for free-flap anastomosis: outcomes of 1,000 cases. *Anticancer Res* 30:1293-1294.
- 213 Salmi AM, Tierala EK, Tukiainen EJ, Asko-Seljavaara SL. 1995. Blood flow in free muscle flaps measured by color Doppler ultrasonography. *Microsurgery* 16:666-672.
- 214 Samaha FJ, Oliva A, Buncke GM, Buncke HJ, Siko PP. 1997. A clinical study of end-to-end versus end-to-side techniques for microvascular anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 99:1109-1111.
- 215 Sartorius CJ, Shapiro SA, Campbell RL, Klatte EC, Clark SA. 1986. Experimental laser-assisted end-to-side microvascular anastomosis. *Microsurgery* 7:79-83.
- 216 Schaper W, Ito WD. 1996. Molecular mechanisms of coronary collateral vessel growth. *Circ Res* 79:911-919.

- 217 Schmulder A, Gur E, Zaretski A. 2010. Eight-year experience of the Cook-Swartz Doppler in free-flap operations: microsurgical and reexploration results with regard to a wide spectrum of surgeries. *Microsurgery* 31:1-6.
- 218 Scholz M, Mücke T, During M, Pechlivanis I, Schmieder K, Harders AG. 2008. Microsurgically induced aneurysm models in rats, part I: techniques and histological examination. *Minim Invasive Neurosurg* 51:76-82.
- 219 Scholz M, Mücke T, Holzle F, Schmieder K, Engelhardt M, Pechlivanis I, Harders AG. 2006. A program of microsurgical training for young medical students: are younger students better? *Microsurgery* 26:450-455.
- 220 Selber JC, Garvey PB, Clemens MW, Chang EI, Zhang H, Hanasono MM. 2013. A prospective study of transit-time flow volume measurement for intraoperative evaluation and optimization of free flaps. *Plast Reconstr Surg* 131:270-281.
- 221 Sen C, Agir H, Iscen D. 2006. Simple and reliable procedure for end-to-side microvascular anastomosis: the diamond technique. *Microsurgery* 26:160-164.
- 222 Sen C, Hasanov A. 2008. Comparative geometric analysis of diamond and hole techniques in end-to-side microvascular anastomosis. *Microsurgery* 28:262-264.
- 223 Servant JM, Ikuta Y, Harada Y. 1976. A scanning electron microscope study of microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 57:329-324.
- 224 Shimizu Y, Yasargil MG, Smith RD. 1979. Thrombogenesis in experimental microvascular anastomosis. *J Microsurg* 1:39-49.
- 225 Shumacker HB, Jr., Lowenberg RI. 1948. Experimental studies in vascular repair; comparison of reliability of various methods of end-to-end arterial sutures. *Surgery* 24:79-89.
- 226 Spector JA, Draper LB, Levine JP, Ahn CY. 2006. Routine use of microvascular coupling device for arterial anastomosis in breast reconstruction. *Ann Plast Surg* 56:365-368.
- 227 Stoltz JF, Lucius M. 1981. Viscoelasticity and thixotropy of human blood. *Biorheology* 18:453-473.
- 228 Strauch B, Murray DE. 1967. Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm. in external diameter using microsurgical techniques. *Plast Reconstr Surg* 40:325-329.
- 229 Suominen S, Asko-Seljavaara S. 1995. Free flap failures. *Microsurgery* 16:396-399.

- 230 Tepe G, Schmehl J, Wendel HP, Schaffner S, Heller S, Gianotti M, Claussen CD, Duda SH. 2006. Reduced thrombogenicity of nitinol stents--in vitro evaluation of different surface modifications and coatings. *Biomaterials* 27:643-650.
- 231 Thurston GB. 1972. Viscoelasticity of human blood. *Biophys J* 12:1205-1217.
- 232 Thurston GB. 1979. Rheological parameters for the viscosity viscoelasticity and thixotropy of blood. *Biorheology* 16:149-162.
- 233 Thurston GB, Henderson NM. 2006. Effects of flow geometry on blood viscoelasticity. *Biorheology* 43:729-746.
- 234 Ueda K, Harii K, Nakatsuka T, Asato H, Yamada A. 1996. Comparison of end-to-end and end-to-side venous anastomosis in free-tissue transfer following resection of head and neck tumors. *Microsurgery* 17:146-149.
- 235 Uson-Gargallo J, Viguera-Salvago FJ, Calles-Vazquez C. 2004. Interactive advanced-communication multistation system for microsurgical training. *Microsurgery* 24:218-222.
- 236 Vale BH, Frenkel A, Trenka-Benthin S, Matlaga BF. 1986. Microsurgical anastomosis of rat carotid arteries with the CO2 laser. *Plast Reconstr Surg* 77:759-766.
- 237 van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR, Jr., Ellis SG, Topol EJ. 1996. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation* 94:1690-1697.
- 238 Vera N, Steinman DA, Ethier CR, Johnston KW, Cobbold RS. 1992. Visualization of complex flow fields, with application to the interpretation of colour flow Doppler images. *Ultrasound Med Biol* 18:1-9.
- 239 Warner BW, Hamilton FN, Brunck BS, Bower RH, Bell RH, Jr. 1990. Study of surgical resident working hours and time utilization. *J Surg Res* 48:606-610.
- 240 Wei FC, Demirkan F, Chen HC, Chuang DC, Chen SH, Lin CH, Cheng SL, Cheng MH, Lin YT. 2001. The outcome of failed free flaps in head and neck and extremity reconstruction: what is next in the reconstructive ladder? *Plast Reconstr Surg* 108:1154-1160; discussion 1161-1152.
- 241 Weissberg D, Goetz RH. 1964. Necrosis of Arterial Wall Following Application of Methyl 2-Cyanoacrylate. *Surg Gynecol Obstet* 119:1248-1252.
- 242 Wolff KD, Holzle F, Wysluch A, Mucke T, Kesting M. 2008a. Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery. *Microsurgery* 28:143-146.

- 243 Wolff KD, Kesting M, Mucke T, Rau A, Holzle F. 2008b. Thiel embalming technique: a valuable method for microvascular exercise and teaching of flap raising. *Microsurgery* 28:273-278.
- 244 Womersley J. 1955a. Oscillatory motion of a viscous liquid in a thin-walled elastic tube: I. The linear approximation for long waves. *Philosophical Magazine* 46:199-221.
- 245 Womersley JR. 1955b. Method for the calculation of velocity, rate of flow and viscous drag in arteries when the pressure gradient is known. *J Physiol* 127:553-563.
- 246 Wyler von Ballmoos M, Yang Z, Volzmann J, Baumgartner I, Kalka C, Di Santo S. 2010. Endothelial progenitor cells induce a phenotype shift in differentiated endothelial cells towards PDGF/PDGFRbeta axis-mediated angiogenesis. *PLoS One* 5:e14107.
- 247 Yamamoto N, Nakai H, Satoh Y, Oshima Y. 1999. Clinical application of a nonpenetrating microvascular stapling device for vascularized free tissue transfer. *Ann Plast Surg* 42:49-55.
- 248 Yii NW, Evans GR, Miller MJ, Reece GP, Langstein H, Chang D, Kroll SS, Wang B, Robb GL. 2001. Thrombolytic therapy: what is its role in free flap salvage? *Ann Plast Surg* 46:601-604.
- 249 Young J, Medawar P. 1940. Fibrin suture of peripheral nerves: measurement of the rate of regeneration. *Lancet* 236:126-128.
- 250 Zdolsek J, Ledin H, Lidman D. 2005. Are mechanical microvascular anastomoses easier to learn than suture anastomoses? *Microsurgery* 25:596-598.
- 251 Zeebregts CJ, Kirsch WM, van den Dungen JJ, Zhu YH, van Schilfgaarde R. 2004. Five years' world experience with nonpenetrating clips for vascular anastomoses. *Am J Surg* 187:751-760.
- 252 Zhang F, Sones WD, Lineaweaver WC. 2001. Microsurgical flap models in the rat. *J Reconstr Microsurg* 17:211-221.
- 253 Zhang L, Moskovitz M, Piscatelli S, Longaker MT, Siebert JW. 1995. Hemodynamic study of different angled end-to-side anastomoses. *Microsurgery* 16:114-117.
- 254 Zhao QH, McNally AK, Rubin KR, Renier M, Wu Y, Rose-Caprara V, Anderson JM, Hiltner A, Urbanski P, Stokes K. 1993. Human plasma alpha 2-macroglobulin promotes in vitro oxidative stress cracking of Pellethane 2363-80A: in vivo and in vitro correlations. *J Biomed Mater Res* 27:379-388.
- 255 Zhao SZ, Papathanasopoulou P, Long Q, Marshall I, Xu XY. 2003. Comparative study of magnetic resonance imaging and image-based computational fluid dynamics for

quantification of pulsatile flow in a carotid bifurcation phantom. *Ann Biomed Eng* 31:962-971.

256 Zoubos AB, Seaber AV, Urbaniak JR. 1992. Hemodynamic and histological differences in end-to-side anastomoses. *Microsurgery* 13:200-203.

7. Anhang

7.1. Veröffentlichungen Teile der Doktorarbeit

1. *The shield protection technique for microvascular anastomoses*

Mücke T, **Ritschl L**, Mitchell DA, Kanatas A, Wolff KD.
Plast Reconstr Surg. 2011 Jul;128(1):41e-3e.

2. *Flow analyses of microvascular bifurcation using Laser Doppler Anemometry*

Mücke T., **Ritschl L.M.**, Balasso A., Wolff KD, Liepsch D.
J Reconstr Microsurg. 2013 Jul;29(6):399-406. doi: 10.1055/s-0033-1343831. Epub
2013 Apr 15

3. *Opened end-to-side technique for end-to-side anastomosis and analyses by an elastic true-to-scale silicone rubber model*

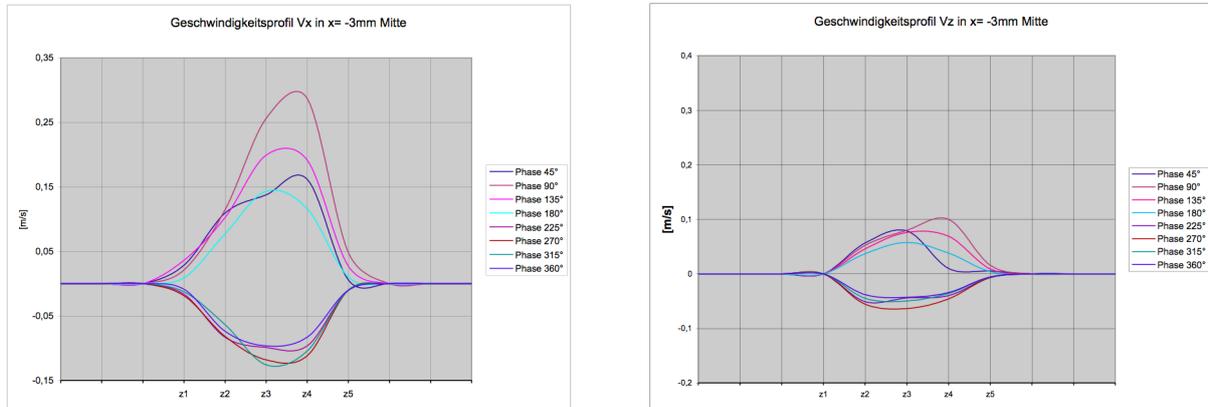
Mücke T., **Ritschl L.M.**, Balasso A., Wolff KD, Mitchell DA, Liepsch D.
Microsurgery. 2014 Jan;34(1):28-36. doi: 10.1002/micr.22182. Epub 2013 Sep 18.

4. *Introduction of a Microsurgical In-Vivo Embolization-Model in Rats: the Aorta-Filter Model*

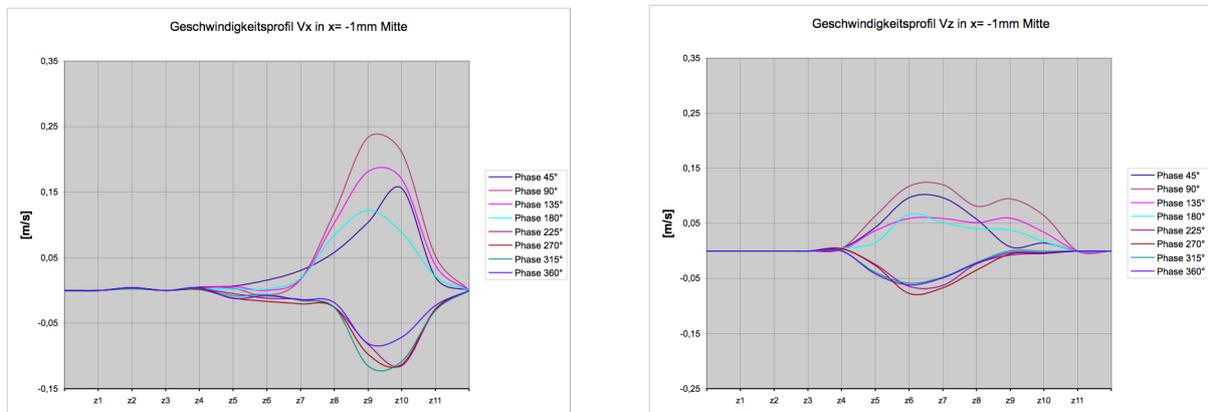
Ritschl LM, Fichter AM, Düring M, Mitchell DA, Wolff KD, Mücke T
PLoS One. 2014 Feb 26;9(2):e89947. doi: 10.1371/journal.pone.0089947. eCollection
2014.

7.2. neue End-zu-Seit-Technik

7.2.1. physiologische Bifurkation



*Abbildung 7–1: maximale und minimale Geschwindigkeiten 3 mm proximal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten*



*Abbildung 7–2: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm proximal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten*

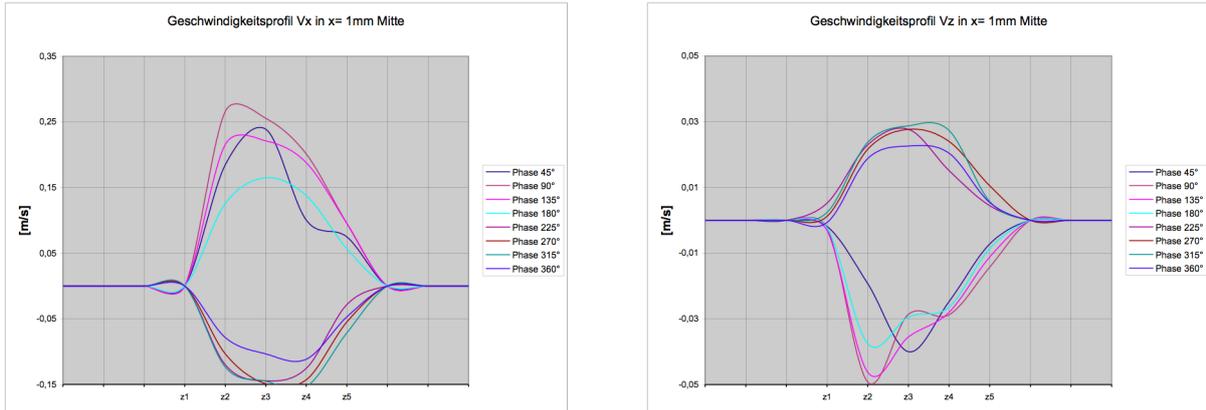


Abbildung 7–3: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm distal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

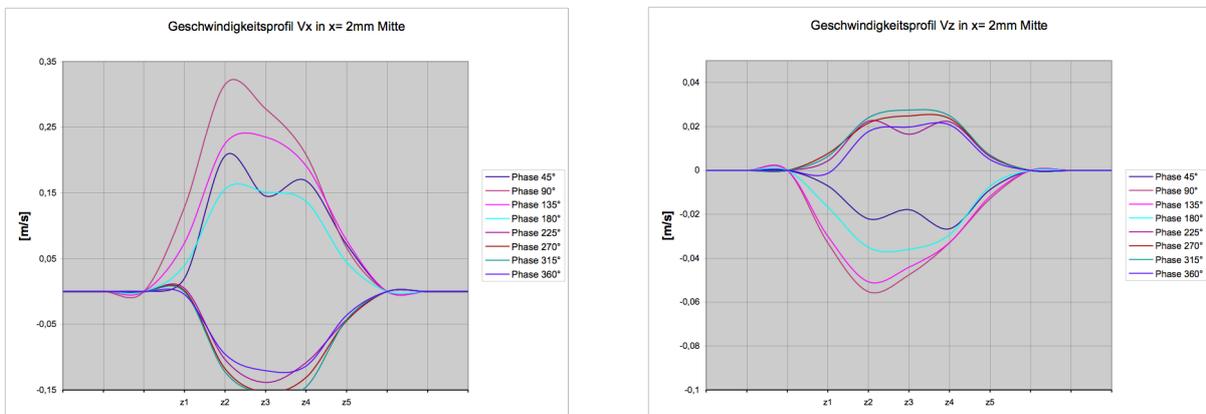


Abbildung 7–4: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm distal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

7.2.2. End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard

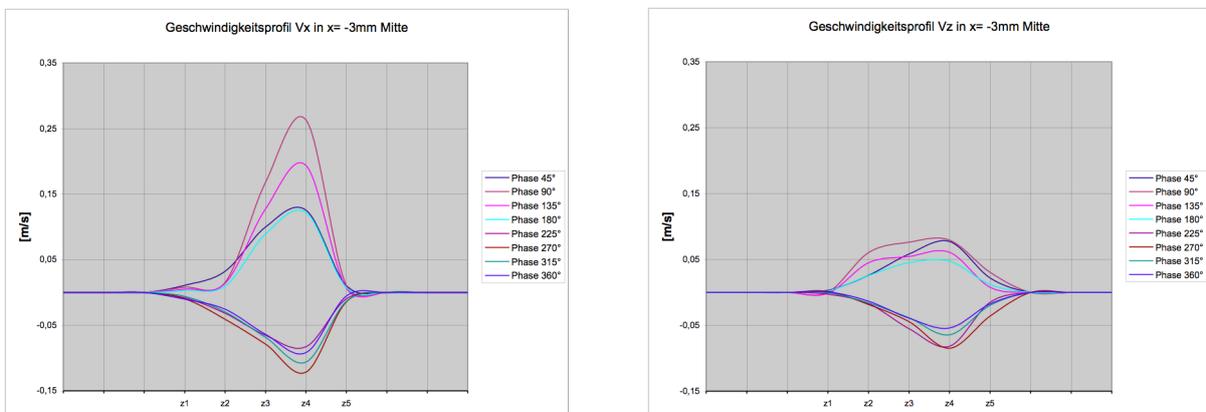


Abbildung 7–5: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

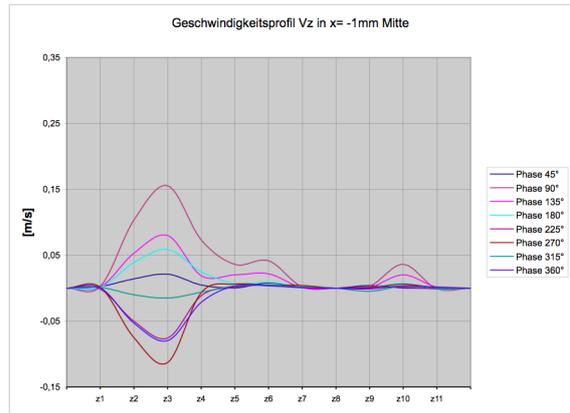
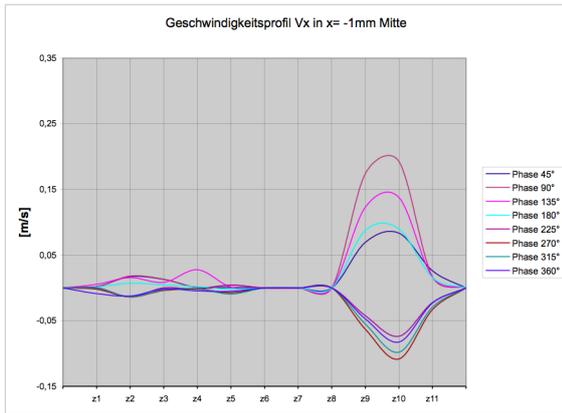


Abbildung 7–6: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

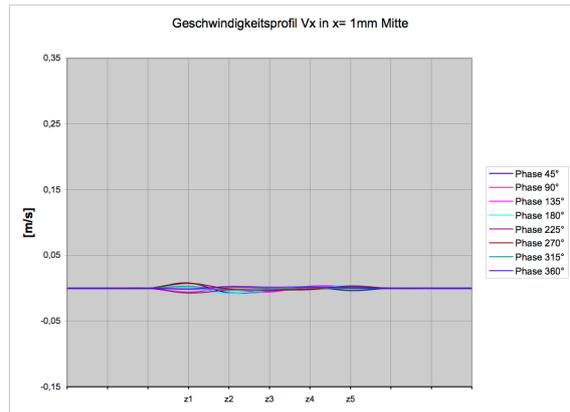
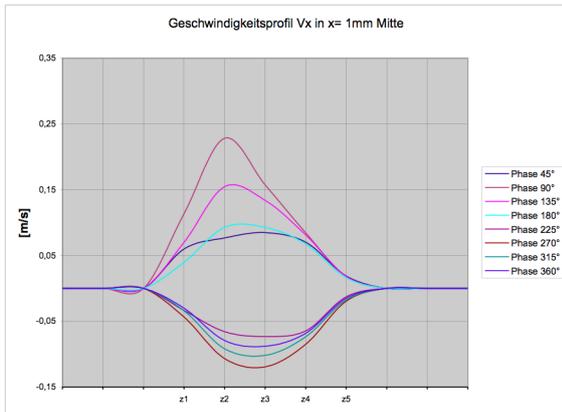


Abbildung 7–7: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

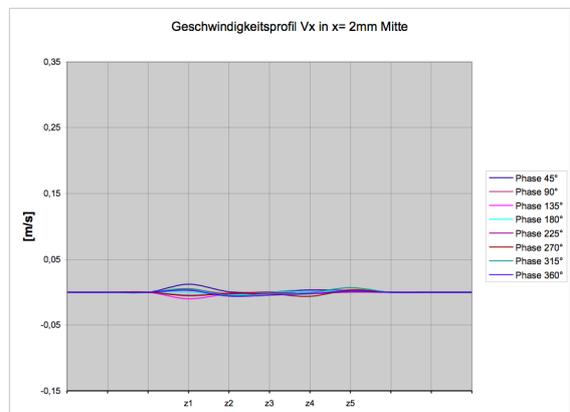
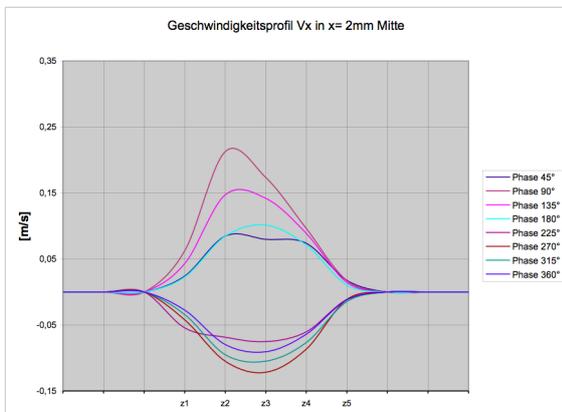


Abbildung 7–8: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

7.2.3. End-zu-Seit-Anastomose nach neuer (OES-) Technik

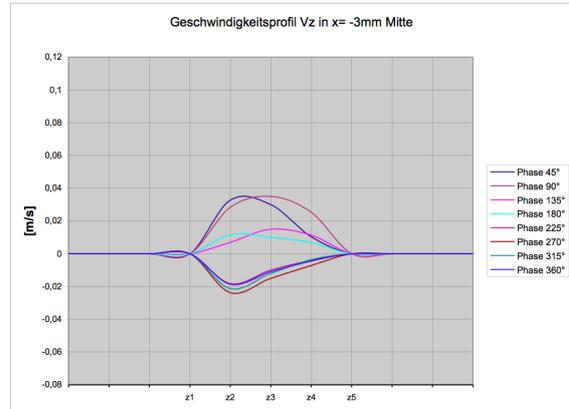
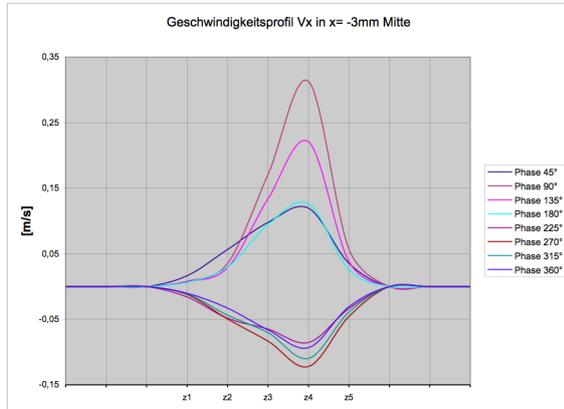


Abbildung 7–9: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

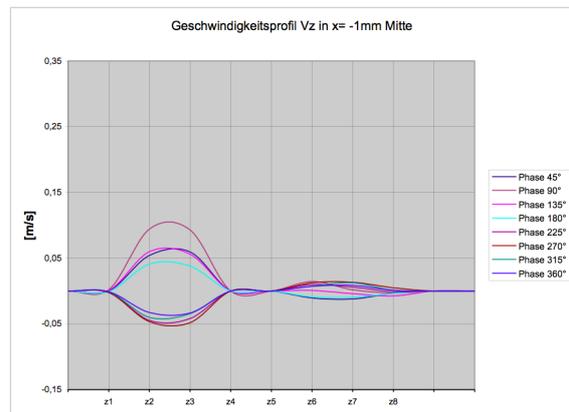
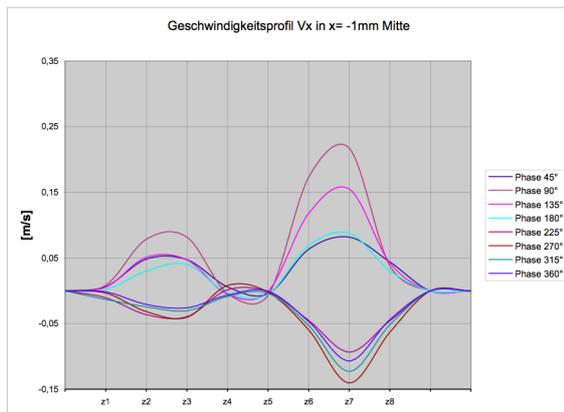


Abbildung 7–10: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

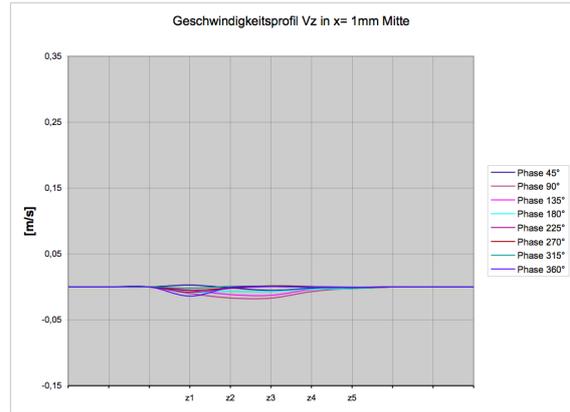
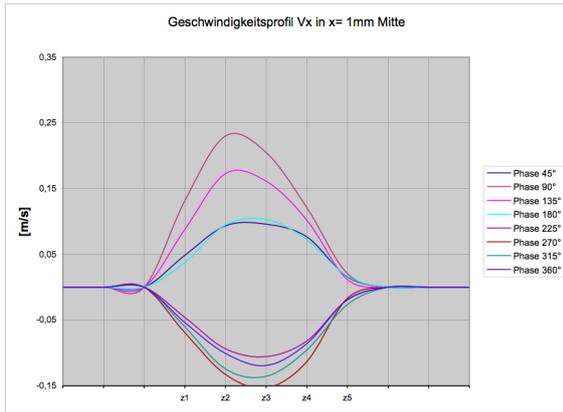


Abbildung 7-11: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

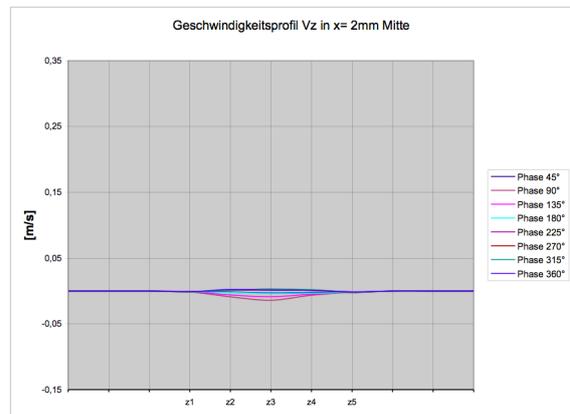
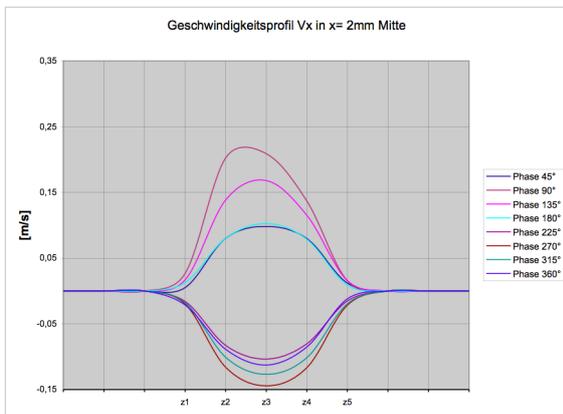


Abbildung 7-12: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik **links** horizontale und **rechts** vertikale Geschwindigkeiten

7.3. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1–1: Übersicht der Einteilung mikrochirurgischer Trainingsmodelle in Lebend- und Nicht-Lebend-Modelle nach Lannon et al.....</i>	<i>12</i>
<i>Abbildung 2–1: Übersicht der Plättchenherstellung.....</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 2–2: Plättchengrößenbestimmung durch Auflegen des Plättchens auf die nicht dissezierte Aorta der Ratte.....</i>	<i>18</i>
<i>Abbildung 2–3: Einführen des Plättchens in die Aorta der Ratte (zehnfache Vergrößerung)</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 2–4: Blick auf die Rückwand der Aorta der Ratte und Visualisierung der konkaven Seite des Plättchens</i>	<i>19</i>
<i>Abbildung 2–5: Vorlegen der Nähte nach Özkan et al. [Özkan et Ozgentas, 2005]</i>	<i>20</i>
<i>Abbildung 2–6: Herausführen des Plättchens und abschließende visuelle Kontrolle des Gefäßlumens der Aorta der Ratte.....</i>	<i>21</i>
<i>Abbildung 2–7: vollendete Anastomose einer Aorta der Ratte mit Hilfe der „Shield-Protection-Technique“</i>	<i>21</i>
<i>Abbildung 2–8: Exemplarische Darstellung der Goldstandard End-zu-Seit-Anastomosentechnik im A. iliaca communis Modell nach Hall et al. in einer Ratte [Hall, 1980]:</i>	<i>24</i>
<i>Abbildung 2–9: Übersicht der einzelnen Präparationsschritte des Pedikelstumpfes bei der Verwendung der OES-Technik.....</i>	<i>25</i>
<i>Abbildung 2–10: Übersicht der einzelnen Präparationsschritte des „Pedikelstumpfes“ bei der Verwendung der OES-Technik im A. iliaca communis Modell nach Hall et al. in einer Ratte [Hall, 1980]:</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 2–11: links Situation vor der Anastomosierung mit eingezeichneten Punkten, die miteinander verbunden werden sollen (A zu A', etc.); rechts schematische Übersicht der einzelnen Schritte der End-zu-Seit-Anastomose nach OES-Technik.....</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 2–12: Exemplarische Darstellung der OES-Technik für eine End-zu-Seit-Anastomose im A. iliaca communis Modell nach Hall et al. in einer Ratte [Hall, 1980]:.....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 2–13: Aufbau des experimentellen Strömungskreislaufes</i>	<i>29</i>
<i>Abbildung 2–14: Exemplarische Modelldarstellung mit Größen, Einheiten und Lage der vier Messebenen in den Modellen:.....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 2–15: Strukturvisköses Verhalten von Blut mit einem Hämatokrit von 45% (blau) bei 37°C und des verwendeten Glycerol-Wasser-Separan-Gemisches (rot) bei 21°C.....</i>	<i>34</i>

<i>Abbildung 2–16: Übersicht der einzelnen Modellherstellungsschritte:.....</i>	<i>35</i>
<i>Abbildung 2–17: schematischer Aufbau des verwendeten LDA-Systems.....</i>	<i>36</i>
<i>Abbildung 2–18: A endgültiges Modell mit Befestigungsfäden; B Modell im artifiziellen Kreislauf eingebracht bei aktiver LDA-Messung mit sichtbaren Laserstrahlen und C Modell Plexiglastasten ® eingebracht mit sichtbaren zu und abführenden Schenkeln.....</i>	<i>38</i>
<i>Abbildung 2–19: Screen Shot der zur Flussanalyse verwendeten graphisch orientierten Software DIAdem™ (Version 8.0; National Instruments Corporation; Austin, Texas, US):..</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 2–20: Exemplarische Bilder des Einnähens des verwendeten Polyurethan Filters mit einer Porengröße von 100 µm in eine Aorta der Ratte:</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 2–21: Übersicht der Gruppeneinteilung in Gruppe I und II. Gruppe I diente der Analyse der Filtereinheilung in einer Aorta einer Ratte und Gruppe II sollte die Anwendbarkeit des Modells überprüfen.</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 2–22: Exemplarisches Bild eines positiven Thrombemboliebefundes, der aus dem eingenähten Filter zur weiteren Analyse gewonnen wurde</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 3–1: Tecplot Ergebnisse der physiologischen Bifurkation;.....</i>	<i>53</i>
<i>Abbildung 3–2: Tecplot Ergebnisse der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard Technik;</i>	<i>55</i>
<i>Abbildung 3–3: Tecplot Ergebnisse der End-zu-Seit-Anastomose nach OES-Technik;</i>	<i>56</i>
<i>Abbildung 3–4: Detaillierte Tecplot-Darstellung der Geschwindigkeitsverteilung (linke Spalte) und der vertikalen Geschwindigkeitsvektoren (rechte Spalte) der verschiedenen Modelle aus axialer Sicht:</i>	<i>58</i>
<i>Abbildung 3–5: Übersicht der histologischen Veränderungen an der Aorta der Ratte in 65-facher Vergrößerung und chronologischer Reihenfolge:.....</i>	<i>62</i>
<i>Abbildung 3–6: Übersicht der okkludierten Filter in einer Aorta der Ratte:.....</i>	<i>64</i>
<i>Abbildung 3–7: Übersicht der typischen postoperativen Veränderungen in der Aorta der Ratte nach einer Filter-Anastomose:.....</i>	<i>68</i>
<i>Abbildung 7–1: maximale und minimale Geschwindigkeiten 3 mm proximal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten.....</i>	<i>118</i>
<i>Abbildung 7–2: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm proximal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten.....</i>	<i>118</i>
<i>Abbildung 7–3: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm distal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten</i>	<i>119</i>

Abbildung 7–4: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm distal des Referenzpunktes der physiologischen Bifurkation links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten 119

Abbildung 7–5: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten 119

Abbildung 7–6: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten 120

Abbildung 7–7: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten..... 120

Abbildung 7–8: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach Goldstandard links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten..... 120

Abbildung 7–9: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten..... 121

Abbildung 7–10: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm proximal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten..... 121

Abbildung 7–11: maximale und minimale Geschwindigkeiten 1 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten..... 122

Abbildung 7–12: maximale und minimale Geschwindigkeiten 2 mm distal des Referenzpunktes der End-zu-Seit-Anastomose nach der neuen End-zu-Seit-Technik links horizontale und rechts vertikale Geschwindigkeiten..... 122

7.4. Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 2–1: Technische Parameter und Einstellungen proximal und distal der End-zu-Seit-Anastomose der drei analysierten Modelle – physiologische Bifurkation, Goldstandard und OES-Technik</i>	31
<i>Tabelle 2–2: standardisiertes Einbettungsprotokoll der Präparate</i>	46
<i>Tabelle 3–1: Ergebnisse der multiplen logistischen Regressionsanalyse der Effekte von Erfahrung des Teilnehmers, Gefäßdurchmesser und der Verwendung der „Shield-Protection-Technique“ in arteriellen Anastomosen</i>	51
<i>Tabelle 3–2: Ergebnisse der multiplen logistischen Regressionsanalyse der Effekte von Erfahrung des Teilnehmers, Gefäßdurchmesser und der Verwendung der „Shield-Protection-Technique“ in venösen Anastomosen</i>	52
<i>Tabelle 3–3: Übersicht der LDA-Messergebnisse der drei Modelle in den jeweiligen definierten Messebenen proximal und distal der Bifurkation bzw. der End-zu-Seit-Anastomosen. Die Geschwindigkeitsangaben sind in m/s.</i>	59
<i>Tabelle 3–5: Vergleich der histologischen Veränderungen in den einzelnen Untergruppen zur 4-Stundengruppe als Referenz. Die statistischen Analysen erfolgten mittels Mann-Whitney-U Test und T-Test für die Thrombosemenge.</i>	63
<i>Tabelle 3–6: Vergleich der histologischen Veränderungen an den proximalen und distalen Anastomosen der Gruppe II, vier Stunden und 14 Tage postoperativ. Die statistischen Analysen erfolgten mittels Mann-Whitney-U Test.</i>	65
<i>Tabelle 3–7: Vergleich der histologischen Veränderungen der Untergruppen miteinander. Die statistischen Analysen erfolgten mittels Mann-Whitney-U Test und T-Test für die Thrombosemenge.</i>	67
<i>Tabelle 3–8: Übersicht des Thrombosevolumens der einzelnen Präparate der Gruppe I.</i>	69

8. Curriculum Vitae



Name: Lucas Maximilian Ritschl

Geburtsdatum: 19.03.1987

Geburtsort: Berlin-Grunewald

Schulbesuch: 1993-1997 Grundschule Friedheim Flensburg

1997-2003 Altes Gymnasium Flensburg

2003-2005 Deutsche Schule Helsinki - Finnland

Abschluss mit der deutschen allgemeinen Hochschulreife

Studium: 2005-2007 Erster Studienabschnitt der ärztlichen Prüfung an der
Ludwig-Maximilians-Universität / Technischen Universität
München

2007-2012 Zweiter Studienabschnitt der ärztlichen Prüfung an der
Technischen Universität München

seit 2012 Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians-
Universität München

Tätigkeiten: seit 2012 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. K.-D. Wolff)

9. Danksagung

Die von mir abgegebene Doktorarbeit wäre ohne weitere Hilfe und Zusammenarbeit durch Mitstreiter und Gleichgesinnten nicht in diesem Zeitraum möglich gewesen. Im Rahmen dieser Arbeit konnte ich nicht nur an geistigem Gute dazu gewinnen, sondern auch eine Vielzahl neuer Kontakte und Freundschaften schließen.

Besonders möchte ich mich bei meinem Doktorvater Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff und meinem Betreuer Dr. Dr. T. Mücke einerseits für die Herausgabe dieser interessanten und vielseitigen Arbeit und andererseits für die kontinuierlich sehr gute Betreuung bedanken. Außerdem möchte ich mich für die Bereitstellung sämtlicher Materialien, Operationsbestecke (mikro- und makrochirurgisch), Räumlichkeiten und für das mir geschenkte Vertrauen bedanken.

Bei Frau Univ.-Prof. Dr. von Düring und Frau Augustinowski möchte ich mich besonders für die professionelle, interessierte und motivierte Zusammenarbeit bei den histologischen Analysen der Gefäßpräparate bedanken. Nicht nur die Effektivität der Analyse- und Auswertungswochenenden in Bochum, sondern auch die ausgesprochene Gastfreundlichkeit und anregenden Gespräche über Medizin, Gesellschaft und Kultur werden unvergessen bleiben.

Die LDA-Untersuchungen fanden in Zusammenarbeit mit Herrn Univ.-Prof. Dr. ing. Liepsch und Herrn Dr. ing. (Univ. Padua) Balasso statt. Ihnen verdanke ich einen tieferen Einblick in die Kunst der Flussanalysen und ihrer Möglichkeiten. Ich bedanke mich sehr für die ebenfalls kontinuierlich sehr gute Betreuung und für Bereitstellung der Räumlichkeiten, sowie Gerätschaften in der Fachhochschule München und im Interdisziplinären Forschungslabor (IFL) des Klinikums rechts der Isar.

Operierte Tiere pflegen sich nicht von alleine und sind auch nicht durch 2-3 tägliche Visiten ausreichend um- und versorgt. Aus diesem Grund möchte ich mich auch beim Team des Zentrums der präklinischen Forschung (ZPF) des Klinikums rechts der Isar für ihre außerordentliche und fürsorgliche Pflege der Tiere in der prä- und postoperativen Phase bedanken. Zudem gilt natürlich auch ein ganz besonderer Dank den Ratten, den

unbesungenen Helden der Forschung, ohne die eine präklinische, mikrochirurgische Forschung in diesem Umfang nicht möglich gewesen wäre.

Bedanken möchte ich mich auch bei den eifrigen Kursteilnehmer/-absolventen, die mich im Rahmen der „Shield-Protection-Technique“ Studie unterstützt und das Entstehen dieser Studie ermöglicht haben. Es ist nicht selbstverständlich, dass Studenten neben ihres eigenen Studiums und sonstigen Beschäftigungen mehrmals in ihrer Freizeit zum „Anastomosennähen“ erscheinen.

Zu guter Letzt möchte ich mich natürlich herzlichst bei meinen Eltern bedanken, die mir einen der zeitintensivsten und -aufwendigsten Studiengänge in einer wunderschönen Stadt, die ihresgleichen sucht, ermöglicht haben. Sie waren und sind zu jeder Zeit für mich da, haben mir mit interessierten Ohren zugehört und standen mir jederzeit zur Seite.