

Technische Universität München
Klinik und Poliklinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie
des Klinikums rechts der Isar
(Direktor: Prof. Dr. Dr. Klaus-Dietrich Wolff)

Arterielle Intimadefekte und ihre Bedeutung beim mikrovaskulären Gewebetransfer
- eine tierexperimentelle Studie an der Rattenaorta

Constantin Tibor Wolff

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

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny
Prüfer der Dissertation: 1. Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Mücke
2. Prof. Dr. Herbert Deppe

Die Dissertation wurde am 27.06.2016 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die Fakultät für Medizin am 04.01.2017 angenommen.

- *Meiner Familie* -

Inhaltsverzeichnis

Arterielle Intimadefekte und ihre Bedeutung beim mikrovaskulären Gewebetransfer

- eine tierexperimentelle Studie an der Rattenaorta

1	Einleitung	- 1 -
1.1	Arteriosklerose	- 1 -
1.1.1	<i>Ursachen und Pathogenese</i>	- 1 -
1.1.2	<i>Komplikationen</i>	- 2 -
1.1.3	<i>Diagnostik</i>	- 3 -
1.1.4	<i>Therapie</i>	- 3 -
1.1.4.1	<i>Thrombendarteriektomie</i>	- 4 -
1.1.5	<i>Reparaturmechanismen bei geschädigtem Endothel</i>	- 5 -
1.2	Fluoreszenzangiographie	- 6 -
1.2.1	<i>Indocyaningrün</i>	- 6 -
1.2.2	<i>Anwendungsgebiete und Limitationen</i>	- 8 -
1.3	Mikrovaskuläre Chirurgie	- 10 -
1.3.1	<i>Gewebettransfer</i>	- 11 -
1.3.2	<i>Lappenmonitoring</i>	- 12 -
1.4	Fragestellung	- 15 -
2	Material und Methodik	- 16 -
2.1	Versuchsmodell und Versuchsaufbau	- 16 -
2.1.1	<i>Versuchstiere</i>	- 17 -
2.1.2	<i>Vorbereitung und Narkose</i>	- 18 -

2.1.3	<i>Operationen und Versuchsdurchführung</i>	- 19 -
2.1.3.1	<i>Katheteranlage</i>	- 19 -
2.1.3.2	<i>Aortenpräparation und Defektsetzung</i>	- 21 -
2.1.3.3	<i>Wundverschluss</i>	- 24 -
2.1.3.4	<i>ICG-Angiographie und Blutflussmessung</i>	- 24 -
2.1.3.5	<i>Defektausmessung</i>	- 26 -
2.1.3.6	<i>Histologische Aufarbeitung</i>	- 28 -
2.2	Arbeitsmittel	- 30 -
2.2.1	<i>Instrumentarium</i>	- 30 -
2.2.2	<i>Operationsmikroskop</i>	- 32 -
2.3	Statistische Methodik	- 33 -
3	Ergebnisse	- 34 -
3.1	Operationsdaten und -verläufe	- 34 -
3.1.1	<i>Operationsdauer</i>	- 34 -
3.1.2	<i>Komplikationen</i>	- 37 -
3.1.2.1	<i>Narkose</i>	- 37 -
3.1.2.2	<i>Katheteranlage</i>	- 38 -
3.1.2.3	<i>Laparatomie und Aortenpräparation</i>	- 38 -
3.1.2.3.1	<i>Zweiteingriff</i>	- 39 -
3.1.2.4	<i>Defektsetzung</i>	- 40 -
3.1.2.5	<i>Postoperativ</i>	- 40 -
3.2	Gefäßwanddefekte und ihre sichtbaren Veränderungen	- 42 -
3.2.1	<i>Größe und Konfiguration unmittelbar postoperativ</i>	- 42 -
3.2.2	<i>Größe eine Woche postoperativ</i>	- 45 -
3.2.3	<i>Klinische Veränderungen</i>	- 47 -
3.2.3.1	<i>Defektgrößen im zeitlichen Verlauf</i>	- 47 -

3.2.3.2	<i>Defektflächenkonfiguration im zeitlichen Verlauf</i>	- 50 -
3.2.3.3	<i>Ablagerungen im Defektbereich</i>	- 53 -
3.2.4	<i>Angiographische Veränderungen</i>	- 54 -
3.2.4.1	<i>Ausgangszustand</i>	- 54 -
3.2.4.2	<i>Intraoperativ unmittelbar nach Defektsetzung</i>	- 55 -
3.2.4.3	<i>Zweiteingriff eine Woche postoperativ</i>	- 58 -
3.2.5	<i>Histologische Veränderungen</i>	- 62 -
3.2.5.1	<i>Vergleichspräparate zur Dokumentation</i>	- 62 -
3.2.5.2	<i>Ablagerungen im Defektbereich</i>	- 65 -
3.2.5.3	<i>Defektausdehnung in die Tiefe</i>	- 68 -
3.2.5.4	<i>Veränderungen im zeitlichen Verlauf</i>	- 73 -
3.2.6	<i>Statistische Analysen</i>	- 77 -
3.2.6.1	<i>Korrelation der Beobachtungen zur Thrombusentwicklung zwischen Histologie, Angiographie und klinischer Beurteilung</i>	- 77 -
3.2.6.2	<i>Prädiktoren einer Thrombosierung in der linearen Regressionsanalyse</i>	- 77 -
4	Diskussion	- 81 -
4.1	Material und Methodik	- 81 -
4.1.1	<i>Die Bauchorta der Ratte als mikrochirurgisches Gefäßmodell</i>	- 81 -
4.1.2	<i>Anwendung und Nutzen des OPMI® Pentero® für mikrochirurgische Fragestellungen</i>	- 82 -
4.1.3	<i>Schwächen und Grenzen der angewendeten Methodik</i>	- 83 -
4.2	Ergebnisse	- 85 -
4.2.1	<i>Verlaufsentwicklung ausgewählter Operationsdaten</i>	- 85 -
4.2.2	<i>Intimadefekte und ihre Regeneration: Histomorphologische Aspekte und therapeutische Unterstützungsmöglichkeiten</i>	- 86 -
4.2.3	<i>Vergleich und Entwicklung verschiedener Modalitäten zur Thrombusdetektion in der Mikrochirurgie</i>	- 89 -

4.2.4	<i>Prädiktoren und Vorbeugung von Thrombosierungen in der Mikrochirurgie</i>	- 91 -
4.2.5	<i>Weitergehende Überlegungen und Ausblick</i>	- 92 -
5	Zusammenfassung	- 96 -
6	Literaturverzeichnis	- 98 -
7	Anhang	- 108 -
7.1	Abbildungsverzeichnis	- 108 -
7.2	Tabellenverzeichnis	- 112 -
8	Curriculum Vitae	- 114 -
9	Danksagung	- 115 -

Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
>	größer als
<	kleiner als
^	und
&	und
A.	Arteria
Abb.	Abbildung
AG	Aktiengesellschaft
ALT	Anterior Lateral Thigh
Anm.	Anmerkung
Aq. dest.	Aqua destillata
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
CK	Creatin-Kinase
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie/computertomographisch
DHEA	Dehydroepiandrosteron(e)
DNA	Desoxyribonukleinsäure
DPP-4-Inhibitor	Dipeptidylpeptidase-4-Hemmer
DSA	Digitale Subtraktionsangiographie
EC	Endothelial Cell(s)

EPC	Endothelial Progenitor Cell(s)
et al.	und andere
EU	Europäische Union
g	Gramm
Gl.	Glandula
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
GP-IIb/IIIa-Inhibitor	Glykoprotein-2b/3a-Hemmer
HR	Hazard Ratio
ICG	Indocyaningrün
ICGA	Indocyaningrün-Angiographie
Inc.	Incorporated
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
LDH	Lactatdehydrogenase
LDL	Low Density Lipoprotein
µm	Mikrometer
mg	Milligramm
min	Minute(n)
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
MR-	Magnetresonanz-

N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid
nm	Nanometer
Nr.	Nummer
O2C	„Oxygen 2 See“
o.g.	oben genannt(e)
OP-	Operations-
PLGA	Polylactid-co-Glycolid
ROI	Region of Interest
s.	siehe
SDF-1 α	Stromal cell-Derived Factor-1alpha
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
s.u.	siehe unten
TEA	Thrombendarierektomie
u.Ä.	und Ähnliche(s)
USB	Universal Serial Bus
V.	Vena
VCAM	Vascular Cell Adhesion Molecule
v.l.n.r.	von links nach rechts
v.o.n.u.	von oben nach unten
z.B.	zum Beispiel
ZPF	Zentrum für präklinische Forschung

1 Einleitung

1.1 Arteriosklerose

Als Oberbegriff für eine Reihe von Arterienerkrankungen beschreibt der Ausdruck der Arteriosklerose den Zustand einer Verdickung der Arterienwand mit daraus resultierendem Elastizitätsverlust und Lumeneinengung des Gefäßes.

1.1.1 Ursachen und Pathogenese

Die Atherosklerose, als wichtigste Form der Arteriosklerose, ist vor allem gekennzeichnet durch Einlagerung von Lipiden und Bildung von fibrösen Plaques in der Intima arterieller Gefäße (Böcker, Denk, Heitz, & Moch, 2008). Sie erhält durch ihre hohe Morbidität und Mortalität durch Folgeerkrankungen insbesondere in westlichen Industrienationen eine wichtige klinische Relevanz. Zu den klassischen Risikofaktoren gehören Hypertonie, Nikotinabusus, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörungen (Lusis, 2000). Aber auch konstante Faktoren wie hohes Alter und männliches Geschlecht erhöhen das Risiko, Auftreten und Progression der Arteriosklerose zu beschleunigen (Nathan & Chaudhuri, 1997). Pathogenetisch wird die „Response-to-injury“-Hypothese (s. Abb. 1) als synoptisches Erklärungsmodell für verschiedene Theorien zur Krankheitsentstehung gesehen (Ross, 1999; Sun et al., 2000). Wichtigste Bedeutung hat hier das Auftreten von Endothelläsionen im Bereich der Intima (Ross, 1999), wodurch Plasmabestandteilen eine höhere Permeabilität ermöglicht wird und diese leichter an subendotheliale Strukturen binden können. Neben Thrombozyten kommt es durch Einstrom und Akkumulation von LDL-Partikeln auch zur Einwanderung von Monozyten, die sich im Verlauf durch den Einfluss von Chemokinen in Makrophagen umwandeln (Lusis, 2000; Ross, 1999). Dieser inflammatorischen Phase folgend kommt es durch Phagozytose der aggregierten LDL-Partikel zur Entstehung von Schaumzellen (Lusis, 2000), die im weiteren Verlauf zugrunde gehen und eine größer werdende Menge an freien, teils hoch oxidierten Lipiden zurücklassen (Böcker et al., 2008). Weitere entzündliche Reaktionen im entstandenen Lipidplaque führen zur Einwanderung und Proliferation von Muskelzellen, sodass letztendlich fibröse Plaques entstehen (Ross, 1999).

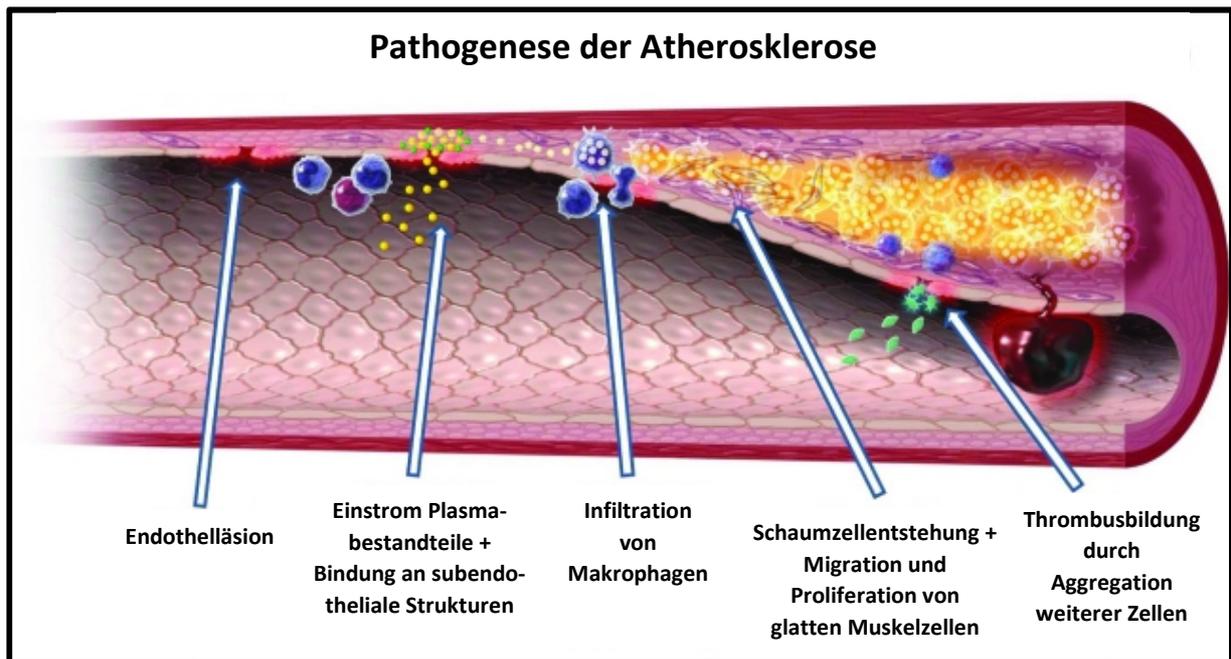


Abbildung 1: Schematische Darstellung einzelner Schritte in der Pathogenese der Atherosklerose nach der „Response-to-injury“-Hypothese (Lamon & Hajjar, 2008)

1.1.2 Komplikationen

Klinisch relevante Symptome treten im Rahmen der Atherosklerose, bedingt durch die langsame Progredienz der Erkrankung, in der Regel erst nach vielen Jahren auf. Die Symptomatik ist abhängig von der Lokalisation der betroffenen Gefäße: In den großen elastischen Gefäßen und der Aorta kommt es häufig durch Plaqueruptur zur Ausbildung von Abscheidungsthromben, die Organinfarkte zur Folge haben können (Libby, 2008; Ross, 1999). Daneben wird auch die Entstehung von Aneurysmen begünstigt, da es durch die Arterienverkalkung zu Diffusionsstörungen in der Gefäßwand kommt und infolge dessen eine Atrophie der Media und eine zunehmende Wandschwäche eintritt. Bei den kleinen und mittelgroßen Arterien stehen dagegen hämodynamisch wirksame Lumeneinengungen im Vordergrund. Durch fortschreitende Zunahme des Stenosierungsgrades kommt es zuerst zu Hypoxien im Versorgungsbereich der betroffenen Gefäße. Im weiteren Verlauf können Ischämien mit konsekutiven Gewebs- und Organnekrosen entstehen (Ross, 1999).

1.1.3 Diagnostik

Klinische Symptome wie Schmerzen in der vom arteriosklerotischen Gefäß versorgten Körperregion und Laborwerte von im Blut messbaren Risikofaktoren können erste Hinweise auf das Vorliegen einer generalisierten Arteriosklerose geben. Organspezifische sowie unspezifische Laborparameter wie D-Dimere, Creatin-Kinase (CK) oder Lactatdehydrogenase (LDH) können im weiteren Verlauf dann auf Gerinnungsaktivierung und Gewebsuntergang hindeuten. Darüber hinaus spielt aber auch die Bildgebung für diagnostische Zwecke eine große Rolle. Hierbei stellen die Doppler- und farbkodierte Duplex-Sonographie eine wichtige Untersuchungsmethode dar, vor allem für atherosklerotisch bedingte Stenosen im Bereich der Carotisgabel. Verglichen mit echoreichen Plaques, scheinen duplex-sonographisch echoarme Läsionen in diesem Bereich mit einem erhöhten Risiko des Schlaganfalls einherzugehen (Topakian et al., 2011). Weiterhin durchgeführt werden auch CT- und MR-Angiographien, diagnostisch selektive Angiographien (DSA) kommen dagegen nur noch selten zu Anwendung.

1.1.4 Therapie

Einer entscheidenden Bedeutung nicht nur im Rahmen der Behandlung, sondern auch für die Prophylaxe der Arteriosklerose wird der Modifikation des Lebensstils beigemessen. Dabei stehen besonders Nikotinverzicht, gesunde Ernährung, regelmäßige und ausreichende körperliche Aktivität sowie Normalisierung des Körpergewichts im Vordergrund. Medikamentöse Therapien zur Behandlung von arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörungen stehen ebenso zur Verfügung und sollten vor allem bei Risikopatienten unterstützend angewandt werden. Wirkstoffe wie Acetylsalicylsäure können bei angemessener Indikationsstellung zusätzlich eingesetzt werden und Komplikationen wie Herzinfarkt und Schlaganfall deutlich reduzieren (Antithrombotic Trialists, 2002). Eine orale Antikoagulation bringt dagegen bei Patienten mit atherosklerotisch bedingten Carotisstenosen keinen Vorteil im Vergleich mit der bereits oben genannten Anwendung von Thrombozytenaggregationshemmern (Mohr et al., 2001).

1.1.4.1 Thrombendarteriektomie

Neben konservativer und medikamentöser Therapie stehen bezüglich bereits erwähnter Carotisstenosen auch endovaskuläre und operative Behandlungsmöglichkeiten zur Verfügung.

Die Thrombendarteriektomie (TEA), auch als Ausschälplastik bezeichnet, beschreibt hierbei ein operatives Desobliterationsverfahren in der Gefäßchirurgie, bei dem mit Hilfe eines Dissektionsspatels oder Ringstrippers in stenosierten Gefäßen nach Längsarteriotomie atherosklerotische Plaques und Thromben entfernt werden können. Beispiel für eine häufige Indikation dieses Verfahrens ist die Therapie der Carotisstenose je nach vorherrschender Symptomatik ("MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) carotid stenosis. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group," 1991; North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial, 1991). Dabei wird für die sekundärpräventive Behandlung von höhergradigen symptomatischen Carotisstenosen eine starke Empfehlung zur Anwendung dieses Verfahrens auf hohem Evidenzlevel gegeben ("Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST)," 1998). Nach erfolgter TEA wird das Gefäß dann entweder direkt durch Naht verschlossen oder durch Anlage eines Patches rekonstruiert. Zu den Komplikationen gehören neben Dissektionen auch Rezidivstenosen durch myointimale Hyperplasie sowie neu aufgetretene atherosklerotische Plaques am Ort des operativen Eingriffs. Hierbei stellt sich die Frage, inwieweit das aufgrund der TEA geschädigte Endothel eine Rolle bei der Genese oben genannter Rezidivstenosen spielt. Eine endovaskuläre Therapie mittels Carotis-Stenting kann dagegen bei schwierigen operativen Bedingungen, erhöhtem perioperativem Risiko sowie bei verschiedenen speziellen Patientensubgruppen als Alternative zur TEA erwogen werden (Eckstein, 2013).

1.1.5 Reparaturmechanismen bei geschädigtem Endothel

Integrität und Zusammenhalt der Endothelzellschicht werden unter physiologischen Bedingungen durch eine stete Replikation von benachbarten Zellen gewährleistet. Bei größeren Endothelzelldefekten gelangen aber auch zirkulierende endotheliale Vorläuferzellen durch freigesetzte Zytokine aus dem Knochenmark zum Defektbereich. Nach Migration in

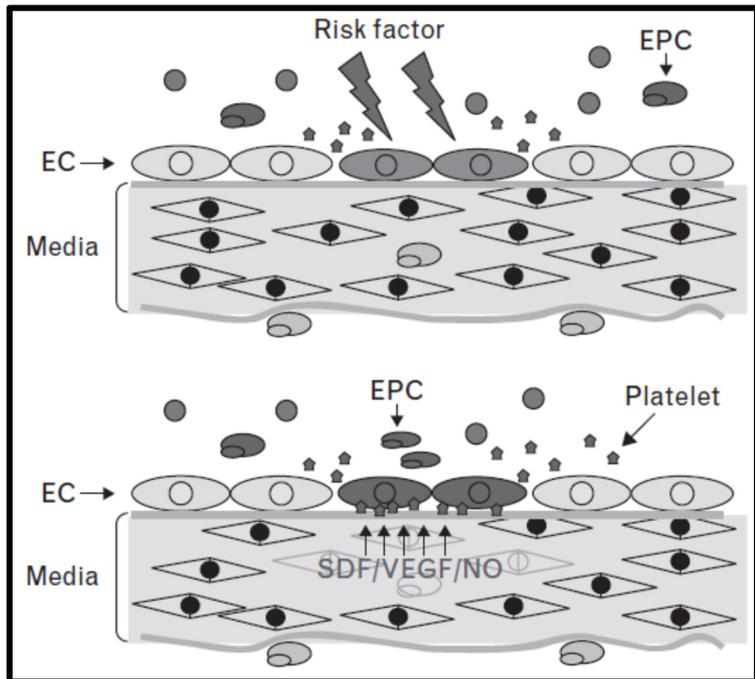


Abbildung 2: Schematische Darstellung zirkulierender endothelialer Vorläuferzellen (EPC), die geschädigte bzw. abgestorbene Endothelzellen (EC) ersetzen. Innerhalb der ersten Tage nach Neubesetzung der Endothelzellschicht durch Vorläuferzellen können - aufgrund ihrer verminderten Funktionalität verglichen zu reifen Endothelzellen - auch Thrombozyten und Monozyten an subendotheliale Strukturen binden. SDF: stromal cell-derived factor; VEGF: vascular endothelial growth factor; NO: Stickstoffmonoxid (Xu, 2007)

die Gefäßwand und Differenzierung in reife Endothelzellen helfen sie, den Defekt zu decken (Dimmeler & Zeiher, 2004; Foteinos, Hu, Xiao, Metzler, & Xu, 2008; Hu, Davison, Zhang, & Xu, 2003; Mannarino & Pirro, 2008; Xu, 2006).

Darüber hinaus existieren aber auch DNA-Reparaturmechanismen, die bei intaktem Ablauf die Entstehung einer Atherosklerose verhindern können. Nach Erkennung einer DNA-Schädigung kommt es am Ort des Schadens zur Akkumulation von Reparaturfaktoren und letztendlich zur Ausbesserung des Schadens (Cervelli, Borghini, Galli, & Andreassi, 2012). Dabei können auch moderne Medikamente wie z.B. Statine helfen, diese Reparaturmechanismen mithilfe bestimmter Proteine zu beschleunigen (Mahmoudi et al., 2008).

1.2 Fluoreszenzangiographie

1.2.1 Indocyaningrün

Indocyaningrün (ICG) ist ein fluoreszierender Farbstoff, der als Indikatorsubstanz in der medizinischen Diagnostik vielseitig eingesetzt werden kann. In der Fluoreszenzangiographie wird es als eines der häufigsten verwendeten Marker zur Darstellung von Gefäßen und zur Prüfung ihrer Durchgängigkeit genutzt. Dabei wird es, nachdem es in die Blutbahn gegeben worden ist, durch Beleuchtung mittels einer Infrarotlichtquelle am Zielort zur Fluoreszenz angeregt.

Das Molekül Indocyaningrün besitzt eine komplexe chemische Struktur (s. Abb. 3). Zum einen besteht sie aus zwei polyzyklischen Teilen, die über eine Kohlenstoffkette verbunden sind und den lipophilen Anteil des

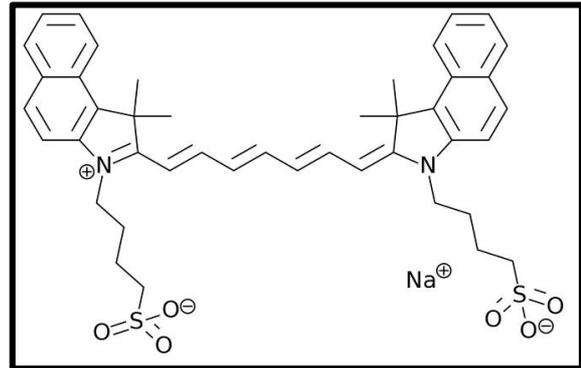


Abbildung 3: Strukturformel Indocyaningrün

Moleküls ausmachen. Zum anderen findet sich an jedem der polyzyklischen Teile jeweils eine Sulfatgruppe, die dem Molekül hydrophile Eigenschaften verleiht. Somit gilt Indocyaningrün als amphiphiles Molekül (Desmettre, Devoisselle, & Mordon, 2000).

Indocyaningrün liegt in der Regel in Pulverform vor und wird zur intravenösen Verabreichung in Aqua destillata (Aq. dest.) gelöst. Nach i.v.-Injektion bindet es, je nach Höhe der applizierten ICG-Konzentration (Kamisaka, Yatsuji, Yamada, & Kameda, 1974), fast vollständig an Globuline, davon hauptsächlich an α 1-Lipoprotein und Albumin (Cherrick, Stein, Leevy, & Davidson, 1960). Dabei binden ein bis zwei ICG-Moleküle an den hydrophoben Teil Albumins, wodurch eine gewisse chemische Stabilität des ICGs erreicht wird (Desmettre et al., 2000; Gathje, Steuer, & Nicholes, 1970). Je nach Höhe der ICG-Konzentration und den Eigenschaften des Lösungsmittels kommt es wie bei vielen anderen Farbstoffen auch zu einer Aggregation von ICG-Molekülen. Dadurch konkurrieren Proteinbindung und Aggregation miteinander, was wiederum Einfluss auf die Spektraleigenschaften des Farbstoffes hat (Desmettre et al., 2000; Yoneya & Noyori, 1993). Weiterhin verbleibt ICG durch seine Proteinbindung vorwiegend intravasal, da eine Diffusion in interstitielles Gewebe nicht stattfindet (Yoneya et al., 1998). Vom Auftreten unerwünschter Nebenwirkungen wird nur sehr selten berichtet (Benya, Quintana, & Brundage, 1989; Holm, Mayr, Hofter, Dornseifer, & Ninkovic, 2009), dosisabhängige und pseudoallergische Reaktionen können jedoch auftreten (Benya et al.,

1989; Speich, Saesseli, Hoffmann, Neftel, & Reichen, 1988). Darüber hinaus wurde in zwei Fallberichten von schweren Hypotensionen kurz nach Applikation von niedrig dosiertem ICG berichtet (Bjerregaard, Pandia, & Jaffe, 2013).

Der mit einem Molekulargewicht von 775 Dalton schwere Fluoreszenzfarbstoff besitzt eine Plasmahalbwertszeit von 3-4 Minuten, wodurch eine mehrmalige Applikation problemlos möglich ist (Hollins, Noe, & Henderson, 1987; Wipper, 2006). Eine maximale Dosis von 5mg/kg pro Tag sollte aber nicht überschritten werden (Hanel, Nakaji, & Spetzler, 2010; Simal-Julian et al., 2015). Bedingt durch seine lipophilen Eigenschaften wird ICG ausschließlich hepatisch metabolisiert und vollständig biliär ausgeschieden (Cherrick et al., 1960; Desmettre et al., 2000), sodass eine Kumulation im Körper unterbleibt. Zu den physikalischen Eigenschaften von ICG zählt das Absorptionsmaximum, welches abhängig ist von der Farbstoffkonzentration und den Eigenschaften des Lösungsmediums. In Wasser liegt es bei 780nm, albumingebunden bei 800nm und in Plasma bei 805nm. Im Idealfall entspricht das Absorptionsmaximum dem Fluoreszenzmaximum, da die emittierte Strahlung proportional zur absorbierten Strahlung ist. Unter realen Bedingungen ist dies jedoch nicht der Fall, da die Strahlungsquelle bei den jeweiligen Anregungswellenlängen unterschiedliche Strahlungsintensitäten aufweist. So ergibt sich ein Fluoreszenzmaximum von ICG in Wasser von 810nm, albumingebunden von 825nm und in Plasma von 830nm (Gentile et al., 1985; Mücke, 2012; Sutterer, Hardin, Benson, Krovetz, & Schiebler, 1966).

1.2.2 Anwendungsgebiete und Limitationen

Indocyaningrün findet bereits in vielen Bereichen der medizinischen Diagnostik regelmäßig Anwendung. Erstmals genutzt in der Kardiologie um Herzzeitvolumina mittels Indikator-Verdünnungskurven zu beschreiben (I. Fox, Brooker, G., et al., 1956; I. J. Fox, Brooker, L. G., et al., 1957; Michie & Villarreal, 1966), wird es heute für intraoperative quantitative Blutflussmessungen im Rahmen der kardialen Bypasschirurgie verwendet (M. Yamamoto, Sasaguri, & Sato, 2011). In der plastisch-rekonstruktiven Chirurgie erlaubt die ICG-Angiographie nicht nur eine Kontrolle der mikrovaskulären Anastomosen in Bezug auf Stenosierung, Thrombosierung oder Undichtigkeit mit den daraus resultierenden Komplikationen (Holzbach et al., 2012). Darüber hinaus findet sie auch Anwendung in der präoperativen Beurteilung der Durchblutung von potentiellen Gewebelappen zur Rekonstruktion verschiedenster Defekte. Postoperative Komplikationen und Revisionseingriffe lassen sich dadurch wirksam reduzieren (Yeoh, Kim, & Ghali, 2013). Auch in der laparoskopischen Kolorektalchirurgie (Jafari et al., 2013) sowie der operativen Urologie ist die ICG-Anwendung und Visualisierung unter Infrarotlicht hilfreich. Hier wurden im Rahmen der roboterassistierten Ureteroureterostomie und intraureteralen ICG-Instillation keine Nebenwirkungen oder postoperative Komplikationen beschrieben (Z. Lee et al., 2013). In der Ophthalmologie hilft die Anwendung der ICG-Angiographie unter anderem Entzündungen am Auge zu detektieren (Howe & Tufail, 2004) und zwischen verschiedenen Entzündungsprozessen mit ähnlicher klinischer Manifestation zu unterscheiden (Herbort, 2000).

Trotz der guten Verträglichkeit und den oben genannten vielzähligen Anwendungsmöglichkeiten besitzt die Fluoreszenzangiographie mit Indocyaningrün Limitationen und Nachteile. Im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe beispielsweise muss die betroffene Gefäßstruktur in der Regel erst freigelegt werden, bevor sie für die Angiographie zugänglich ist (de Oliveira, Beck, Seifert, Teixeira, & Raabe, 2007; Simal-Julian et al., 2015). Darüber hinaus folgt die Anflutung des ICGs einem additiven Muster, in dem sich die arterielle, kapilläre und venöse Phase überlagern (Simal-Julian et al., 2015). Bei schneller Anflutung kann es zudem schwierig sein mehrere Strukturen gleichzeitig zu beurteilen, was eine mehrfache Applikation von Indocyaningrün notwendig machen kann (Faber et al., 2011; Simal-Julian et al., 2015). Ähnlich verhält es sich bei weit auseinander liegenden Strukturen, die nicht in einem optischen Sichtfeld visualisiert werden können (Rodriguez-Hernandez & Lawton, 2012; Simal-

Julian et al., 2015). Weil nach jeder Anwendung eine Auswaschphase von zehn Minuten eingehalten werden sollte, können multiple ICG-Applikationen in diesen Fällen zu einem signifikanten Anstieg der Operationszeit führen. Auch können durch ICG-Rückstände Artefakte in nachfolgenden Untersuchungen auftreten und eine Beurteilung erschweren (S. F. Chen et al., 2011; Simal-Julian et al., 2015).

1.3 Mikrovaskuläre Chirurgie

Grundlegende Voraussetzung für die Entwicklung der Mikrochirurgie, die heute in einem breiten Spektrum der chirurgischen Disziplinen angewandt wird, war der technische Fortschritt und die Verbesserung von mikrochirurgischem Instrumentarium und Nahtmaterial. Seit der erstmaligen Nutzung eines Monokularmikroskops im Rahmen eines operativen Eingriffs am Ohr durch Nysten im Jahre 1921 und dem zwei Jahre späteren Gebrauch eines Binokularmikroskops durch Holmgren (Tamai, 2009), entwickelte sich im Laufe der Jahre auch das Zeiss Operationsmikroskop. Mit dessen Hilfe fand die Mikrochirurgie Einzug in viele medizinische Fachbereiche, wie beispielsweise der Neurochirurgie, Mund-, Kiefer-, Gesichts- oder plastisch-rekonstruktiven Chirurgie. Daneben entwickelten sich die chirurgischen Techniken weiter, sodass auch zusammen mit zunehmender operativer Erfahrung die Behandlungserfolgsquote anstieg (Hallock, 2008; Pechlivanis, Kuebler, Harders, & Schmieder, 2009). Bezüglich der mikrovaskulären Anastomosierung beschrieb Acland Einflussfaktoren, die für die Gefäßdurchgängigkeit und den Behandlungserfolg noch immer von essentieller Bedeutung sind. Dazu zählen neben chirurgischer Präzision und adäquatem Umgang mit dem Gewebe die Größe des Gefäßdurchmessers sowie der Blutfluss im Gefäß. Auch die spannungsfreie Anlage der Anastomose und die Verwendung von Antikoagulantien oder thrombolytischen Agenzien während der Anastomosierung spielen eine wichtige Rolle (Richards, 2002).

Komplikationen in der mikrovaskulären Chirurgie ergeben sich einerseits durch unsachgemäße Handhabung mit konsekutiver traumatischer Schädigung des Gewebes. Weiterhin kann ungenaues Arbeiten zum Annähern der Hinterwand führen mit daraus folgender Einengung des Gefäßlumens. Vasospasmen werden vor allem bei unnötig häufigem Manipulieren am Gefäß hervorgerufen, können jedoch durch topische Applikation von Lidocain oder Papaverin reduziert werden. Die Bildung von Thromben, häufiger beobachtet in venösen Gefäßen, findet vor allem im Bereich der Anastomose statt. Endothelschädigungen und durch das Nahtmaterial selbst hervorgerufene Traumatisierungen werden hierbei eine wichtige Bedeutung zugeschrieben. Diesbezüglich zeigte sich, dass Nahtmaterial aus Polypropylen eine geringere Thrombogenität aufwies als solches aus Polyamiden (Krag, Larsen, & Reumert, 1981).

1.3.1 Gewebetransfer

Rekonstruktionen sind in nahezu allen chirurgischen Disziplinen wesentlicher Bestandteil der operativen Behandlung. Dabei gilt die rekonstruktive Leiter (s. Abb. 4) als Richtmaß für den Wundverschluss und die Deckung von Defekten verschiedener Ausmaße mit dem Ziel die plastische und funktionelle Integrität betroffener Lokalisationen wiederherzustellen. An oberster Stelle steht hierbei der Gewebetransfer in Form von freien Lappenplastiken, die eine mikrochirurgische Anastomosierung von Gefäßen und Nerven verlangen. Vorteile dieser Rekonstruktionsform variieren je nach Lokalisation und Zusammensetzung des entnommenen Gewebes und sind maßgeblich vom zu rekonstruierenden Defekt abhängig. Dabei

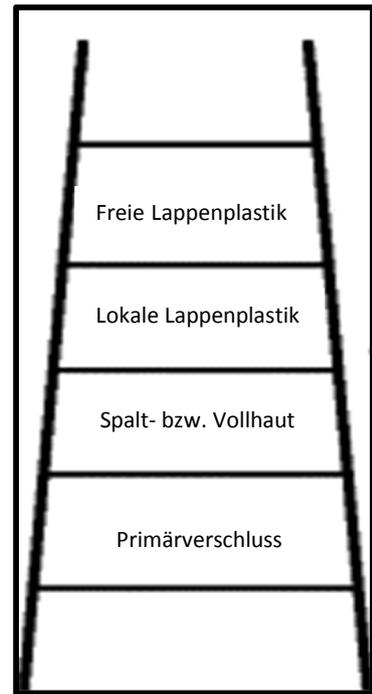


Abbildung 4: Rekonstruktive Leiter

zeichnet sich beispielsweise der Arteria Radialis Lappen durch seine relativ einfache Hebung, den langen Gefäßstiel mit vergleichsweise großem Kaliber sowie die vielfältigen Einsatzmöglichkeiten im Gesicht und Mundhöhlenbereich aus. Das Fibulatransplantat hebt sich dagegen durch seinen Knochenanteil, zum Beispiel zur Rekonstruktion des Unterkiefers, und den variablen Einsatz von Muskel- und Hautanteil hervor (K.-D. Wolff & Hölzle, 2011).

Der damit verbundene hohe Schwierigkeitsgrad und technische Aufwand der Rekonstruktion geht folglich allerdings auch mit einem erhöhten Risiko an Komplikationen einher. Am schwerwiegendsten ist dabei der Lappenverlust. Die Ursachen hierfür sind vielfältig und reichen von begleitenden allgemein-internistischen Risikofaktoren wie diabetischer Stoffwechsellage oder generalisierter Arteriosklerose bis hin zu speziellen Gründen wie Infektion, Abknicken oder Verdrehen und Thrombosierung des anastomosierten Gefäßes. Eine wesentliche Rolle dabei kann aber auch die Intimaverletzung des Versorgungsgefäßes spielen. Solche Endothelläsionen können nicht nur bei unsachgemäßem Lappen- und Gefäßhandling entstehen, sondern beispielsweise auch bei Anwendung von Gefäßclips (Kuhnel & Muller, 2004) und mikrochirurgischen Manövern wie dem „milking test“ (s. Abb. 5) (Kersh, Handren, Hergueter, & May, 1989; Petry, French, & Wortham, 1986; Tonken et al., 1995).

Besondere Bedeutung hinsichtlich möglicher Endothelläsionen kann den sogenannten Perforanslappen beigemessen werden. Sie bestehen aus Haut und/oder subkutanem Fettgewebe und werden benannt nach der Arterie und dessen Perforatoren, welche die jeweilige Faszie durchdringen (K.-D. Wolff & Hölzle, 2011).

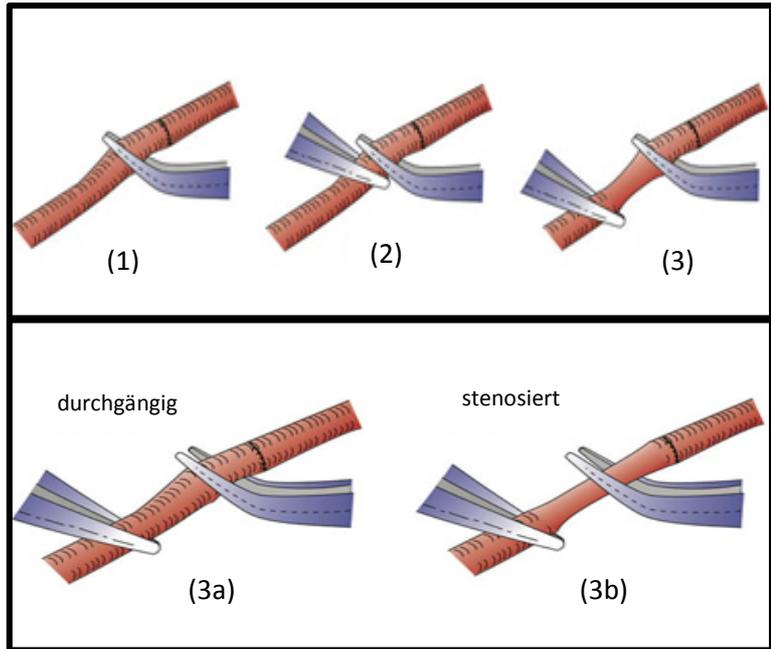


Abbildung 5: "milking test": Gefäßverschluss mittels Pinzette distal der Anastomose (1); Platzierung einer weiteren Pinzette distal der ersten und Ausstreichen des Gefäßes weiter nach distal (2+3); bei durchlässiger Anastomose füllt sich der ausgestrichene Gefäßabschnitt schnell (3a), bei nicht ausreichender Durchgängigkeit kommt es nicht oder nur sehr zögerlich zur Füllung des ausgestrichenen Gefäßabschnitts (3b) (Stanford-University, 2015)

Erstmals beschrieben wurde ein solcher Perforanslappen durch Koshima für einen paraumbilikal gelegenen ausgedünnten Bereich, der durch Perforansgefäße versorgt wird und deren Verlauf er als inkonstant beschrieb (Koshima, Moriguchi, Soeda, Tanaka, & Umeda, 1992; K.-D. Wolff & Hölzle, 2011). Bei dieser Form der Lappenhebung werden in der Regel sehr kleine Gefäße mit einem Durchmesser von 1-2mm anastomosiert, bei denen sich entsprechende Gefäßwandverletzungen zumindest hypothetisch besonders stark auf den Blutfluss auswirken können. Die Wahl des Tiermodells an der Rattenaorta erfolgte demnach auch in Bezug auf ebendieses Phänomen.

1.3.2 Lappenmonitoring

Eines der Ziele des Lappenmonitorings ist es möglichst frühzeitig und zuverlässig Durchblutungsstörungen an anastomosierten Gefäßen zu erkennen und somit Komplikationen, die das regelrechte Einwachsen des transplantierten Gewebes verhindern oder verzögern können, zu vermeiden. Diesbezüglich sind bereits eine Vielzahl von Methoden vorhanden, mit Hilfe derer ein solches Überwachen und Kontrollieren von Lappenplastiken wirksam erzielt werden kann. Die Basis des postoperativen Managements bildet meist die klinische Beurteilung (Chao, Meyerson, Povoski, & Kocak, 2013; Durnig, Meier, & Reichert, 2008; Lohman, Langevin, Bozkurt, Kundu, & Djohan, 2013). Zusätzlich angewandt werden eine Reihe verschiedener technischer Methoden. Besonders etabliert hat sich dabei der Einsatz der

mikrovaskulären Doppler-Sonographie (Durnig et al., 2008; Lohman et al., 2013), mit deren Hilfe die Durchgängigkeit der durchgeführten Anastomose bereits intraoperativ beurteilt werden kann (Gilsbach, 1984). Sie ist einfach und zuverlässig durchführbar und gilt bei vielen gefäßchirurgischen Eingriffen als Standardmethode ("Failure of extracranial-intracranial arterial bypass to reduce the risk of ischemic stroke. Results of an international randomized trial. The EC/IC Bypass Study Group," 1985; Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Hölzle, & Scholz, 2010; Schmiedek, Piegras, Leinsinger, Kirsch, & Einhuopl, 1994; K. D. Wolff, Hölzle, Wysluch, Mücke, & Kesting, 2008). Weiterhin hat sich auch die Thermographie als verlässliche Methode erwiesen, um eine eingeschränkte arterielle Anastomosendurchlässigkeit aufgrund von äußerer Kompression, Okklusion oder Gefäßabknickung aufzuzeigen (de Weerd, Mercer, & Setsa, 2006). Darüber hinaus stehen Hilfsmittel wie die Infrarot-Spektroskopie zur Verfügung, mit der Aussagen über die Gewebsoxygenierung des transplantierten Lappens getroffen werden können (Scheufler, Exner, & Andresen, 2004), teilweise bereits vor Eintreten klinischer Veränderungen (Whitaker et al., 2012). Ähnlich arbeiten sogenannte O2C-Geräte („oxygen to see“), mit denen nichtinvasiv unter anderem Blutfluss und Sauerstoffsättigung gemessen werden können. Zwar ist deren Anwendung weniger weit verbreitet als die des Mikrodopplers (Durnig et al., 2008), aber dennoch scheint diese Technik eine objektive und zuverlässige Verfahrensweise darzustellen, um vaskuläre Beeinträchtigungen im Rahmen des Monitorings in einem frühen Stadium nachzuweisen (Hölzle et al., 2012; Rothenberger, Amr, Schaller, & Rahmanian-Schwarz, 2013). Vergleichsweise neu ist die Durchführung von Angiographien mittels Indocyaningrün. 2002 konnte erstmals im Rahmen einer prospektiven klinischen Studie gezeigt werden, dass die ICG-Angiographie eine einfache Methode ist, um Komplikationen bei mikrochirurgischen Lappenplastiken aufzuzeigen (Holm et al., 2002). Auch im weiteren Zeitverlauf erwies sich dieses Verfahren als hilfreich, um relevante Probleme an Anastomosen zu detektieren, die andernfalls nicht entdeckt worden wären (Holm et al., 2009). Vorteile gegenüber anderen Monitoringverfahren wurden auch für verdeckte rekonstruktive Lappenplastiken wie dem „free jejunum flap“ nach zirkumferenter Pharyngolaryngektomie beschrieben (Murono et al., 2014). Hierbei gelang es, die Durchlässigkeit der Anastomosen und die begleitende Mikrozirkulation durch bildliche Visualisierung nachzuweisen (Murono et al., 2014). Durch die Integration der ICG-Angiographie in Operationsmikroskope, die Gefäße mit einem Durchmesser von weniger als 0,5mm darstellen kann (Holm et al., 2009; Kuroiwa, Kajimoto, & Ohta, 2001), ist es möglich, bereits intraoperativ Flussmessungen durchzuführen

und somit die Rate an postoperativen Angiographien zu reduzieren (Imizu, Kato, Sangli, Oguri, & Sano, 2008; Raabe, Beck, & Seifert, 2005). Die Methodik erwies sich als einfach durchführbar und gleichzeitig kosteneffektiv (Imizu et al., 2008; Raabe et al., 2005).

1.4 Fragestellung

In den letzten Jahrzehnten hat die Mikrochirurgie, hauptsächlich repräsentiert durch die mikrovaskuläre Chirurgie, vermehrt Einzug in den klinischen Alltag und in eine Reihe von operativen Disziplinen gefunden. Sie ist fest etabliert als Grundlage für rekonstruktive Operationen (Bennett & Choudhary, 2000; Gottlieb & Krieger, 1994; Rickard & Hudson, 2014) und weist hohe klinische Erfolgsraten in den meisten dafür etablierten Zentren auf (Davies, 1982; Harashina, 1988; Rickard & Hudson, 2014). Dabei haben sich im Laufe der Zeit auch Instrumente und Techniken weiterentwickelt, sodass es bereits möglich geworden ist Gefäße mit einem Durchmesser von 0,3-0,8mm zu anastomosieren. Dieser auch als „Supermikrochirurgie“ bezeichnete Teil der Mikrochirurgie (Koshima, Yamamoto, Narushima, Mihara, & Iida, 2010; Masia et al., 2014) ist eine häufige Voraussetzung für einen freien Gewebetransfer mit Perforanslappen. Weitere essentielle Voraussetzung dafür ist jedoch auch der sichere und adäquate Umgang mit den Gefäßen, um Gewebstraumata und dadurch verursachte Folgeschäden zu vermeiden.

Im Hinblick auf solche Gewebstraumata, die mit Endothel- und Gefäßinnenwandschäden einhergehen können, ergeben sich folgende Leitfragen, welche mit dieser Arbeit untersucht werden sollen:

1. Wenn kleine arterielle Intimaschäden die Entstehung von Thromben begünstigen, spielen dann Defektgröße und Defektkonfiguration dabei eine tragende Rolle?
2. Hilft die ICG-Angiographie bei der Detektion solcher Intimaschäden und können durch sie weitere Folgeerscheinungen wie Thromben oder Flussveränderungen ausgemacht werden?
3. Inwieweit stimmen die klinisch und angiographisch sichtbaren Veränderungen mit den histologischen Ergebnissen überein?
4. Welche histologischen Veränderungen und Umbauprozesse sind darüber hinaus im Bereich des Intimaschadens zu erkennen?

2 Material und Methodik

2.1 Versuchsmodell und Versuchsaufbau

Modell und Aufbau der Experimente gliederten sich in zwei Versuchsreihen mit jeweils 30 Versuchstieren.

Die Tiere der ersten Versuchsreihe (Tier-Nr. 1-30) wurden unmittelbar postoperativ nach Erhebung der relevanten Daten während der noch aufrecht erhaltenen Narkose geopfert.

Die Tiere der zweiten Versuchsreihe (Tier-Nr. 31-60) wurden nach Durchführung der Versuche noch für insgesamt sieben Tage regelmäßig überwacht. In den ersten drei Tagen nach erfolgter Versuchsdurchführung wurden die Tiere zweimal täglich im Abstand von circa 12 Stunden visitiert, an den übrigen Tagen etwa alle 24 Stunden. Klinisch kontrolliert wurden Mimik, Verhalten und die Bewegung der Hinterläufe. Auffälligkeiten oder Veränderungen wurden sorgfältig dokumentiert. Der Wundverschluss im Bauch- und

Leistenbereich wurde zudem auf Dehiszenz und Infektionszeichen überprüft. Weiterhin wurden die Tiere in regelmäßigen Abständen mittels Buprenorphin 0,05mg i.p. analgetisch behandelt.

The image shows a sample visit protocol form titled 'Protokoll'. It includes fields for patient weight, marking, anesthesia (Ketamin/Xylazin), group, and animal number. There are tables for analgesic administration (Buprenorphin) and a visitation schedule with columns for date, time, person, and various clinical observations (Mimik, Verhalten, Befund, Wunden, Hinterläufe, Gewicht).

Angaben zur Analgesie:				
Buprenorphin				
Tag	OP	1. post OP	2. post OP	3. post OP
Uhrzeit				

Zusätzliche Gabe Buprenorphin:				
Begründung:				
Tag				
Uhrzeit				

Visite:				
Datum				
Uhrzeit				
Person				
Mimik				
Verhalten:				
Befund				
Wunden				
Hinterläufe:				
Gewicht:				

Abbildung 6: Exemplarisches Visitenprotokoll

Sieben Tage postoperativ wurden die Tiere dann wie üblich narkotisiert, vorbereitet und katheterisiert (s.u.). Nach vorsichtiger Freilegung der Aorta wurde nun eine letzte ICG-Aufnahme durchgeführt. Danach verstarben die Tiere in unten beschriebener Weise. Im Anschluss wurde auch hier der mit dem Gefäßwanddefekt versehene Aortenabschnitt herauspräpariert, in Formaldehydlösung fixiert und anschließend gekühlt gelagert.

2.1.1 Versuchstiere

Als Versuchstiere dienten 60 männliche Wistar-Ratten (s. Abb. 7).



Abbildung 7: Männliche Wistar-Ratten

Neben ihrer Nutzung für immunologische, onkologische und verhaltenstherapeutische Fragestellungen ist die Wistar-Ratte auch in der mikrochirurgischen Forschung eines der am häufigsten verwendeten Versuchstiere (Zhang, Sones, & Lineaweaver, 2001). Aufgrund ihrer einheitlichen Anatomie mit gut zugänglichem Gefäßsystem, der unkomplizierten Haltung und dem relativ einfachen Umgang mit den Tieren, stellt die Ratte somit ein geeignetes Modell für o.g. Fragestellungen dar.

Vor Versuchsbeginn wurde den Tieren nach Lieferung durch „Charles River Laboratories International, Inc.“ eine mehrwöchige Eingewöhnungszeit gewährt. Das Gewicht der Tiere betrug zum Zeitpunkt der Durchführung der Versuche je nach Alter zwischen 300g und 600g. Im Rahmen des Tierschutzgesetzes ist der Antrag auf ein Tierversuchsvorhaben durch die Regierung von Oberbayern genehmigt worden (Aktenzeichen: 55.2-1-54-2532.3-35-08). Die Tiere wurden gemäß EU-Richtlinie 2010/63/EU behandelt und in Käfigen aus Makrolon bei einer Raumtemperatur von circa 20°C und einer Luftfeuchtigkeit von etwa 45% in speziellen Kleintierhaltungsräumen mit automatischer zirkadianer Rhythmik des Klinikums rechts der

Isar gepflegt. Neben Beschäftigungsmaterial und Versteckmöglichkeiten wurde den Tieren Nahrung in Form von Pellets sowie Wasser in ausreichendem Maße und zur freien Verfügung (ad libitum) bereitgestellt; eine gelegentliche Zufütterung erfolgte mit Heu.

2.1.2 Vorbereitung und Narkose

Zur Narkotisierung wurden die Tiere zu Beginn mit dem volatilen Anästhetikum Isofluran (IsoFlo® 100%, Albrecht GmbH, Aulendorf/Deutschland) in einer Ganzkörperkammer betäubt, sodass nach Gewichtserhebung des Versuchstieres eine genaue Dosis zur langfristigen Anästhesie mit einem Ketamin/Xylazin-Gemisch ermittelt werden konnte. Die Initialdosis wurde intraperitoneal verabreicht und betrug 1ml Ketamin (Ursotamin® 100mg/ml, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg/Deutschland) 10%/kg KG und 0,3ml Xylazin (Rompun® 2%, Bayer Vital GmbH, Leverkusen/Deutschland) 2%/kg KG. Nach sorgfältiger Vorbereitung des Arbeitsplatzes wurde das Versuchstier mithilfe eines Einmalrasierers im Bauch- und Leistenbereich rasiert, in Rückenlage gelagert und die Extremitäten unter sanftem Zug mit Gummibändern außerhalb des Operationsbereiches gehalten. Die Lagerung der Tiere erfolgte auf einem Korkbrett mit



Abbildung 9: Verwendete Narkosemittel



Abbildung 8: Wärmematte und Temperaturmesssonde

einer Wärmematte, die Augen wurden durch Auftragen von Dexpanthenol-Augensalbe (Bepanthen®, Bayer Vital GmbH, Leverkusen/Deutschland) befeuchtet. Während der gesamten Versuchsdurchführung wurde regelmäßig das Narkosestadium kontrolliert und bei Bedarf vertieft.

2.1.3 Operationen und Versuchsdurchführung

2.1.3.1 Katheteranlage

Zur Anlage des Katheters wurde im Leistenbereich ein circa 1-2cm langer Schnitt von medio-kranial nach latero-kaudal mit dem Skalpell parallel zum Verlauf der Femoralgefäße gesetzt. Nun folgte die vorsichtige makroskopische Präparation des Subkutangewebes

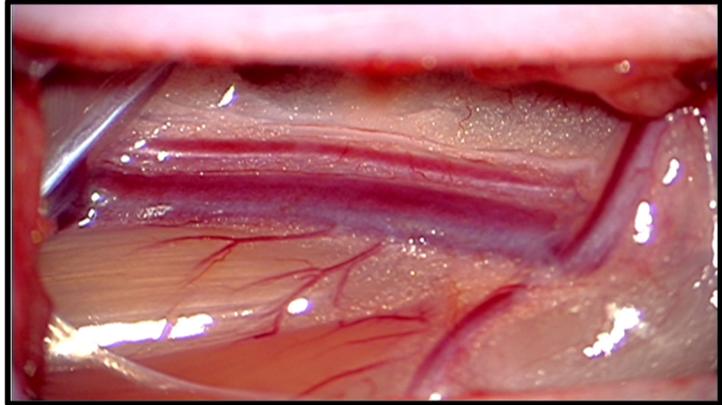


Abbildung 10: N. femoralis, A. femoralis und V. femoralis (v. o. n. u.) vor Kathetereinlage

mittels Schere und Pinzette, bis das Nerven-Gefäßbündel sichtbar wurde. (s. Abb. 10/12)

Die weitere Präparation und insbesondere die Separation der Vena femoralis von der Arteria femoralis erfolgte unter mikroskopischer Sicht. Venöse Seitenäste wurden mit einem Ethilon 9-0 Faden (Ethicon®, Norderstedt/Deutschland) ligiert. Zur Katheteranlage wurden nun proximal und distal der geplanten Gefäßinzision Einzelklemmen angebracht. Nach Querinzision mittels Schere und Entfernung des proximalen Einzelklemme wurde ein Premicath®-Katheter vorsichtig bis in den Bereich der Vena cava vorgeschoben und durch einen vorgelegten Knoten gesichert (s. Abb. 11).

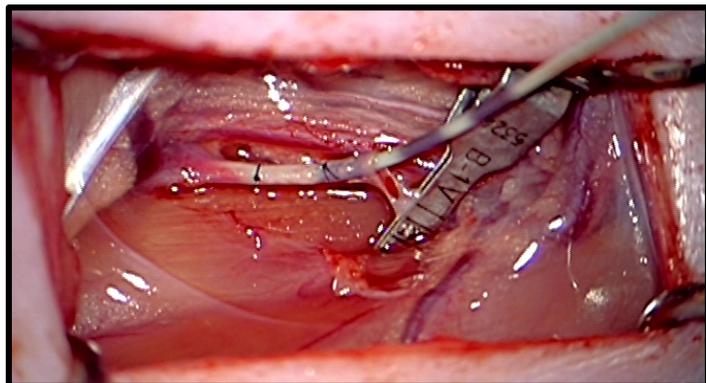
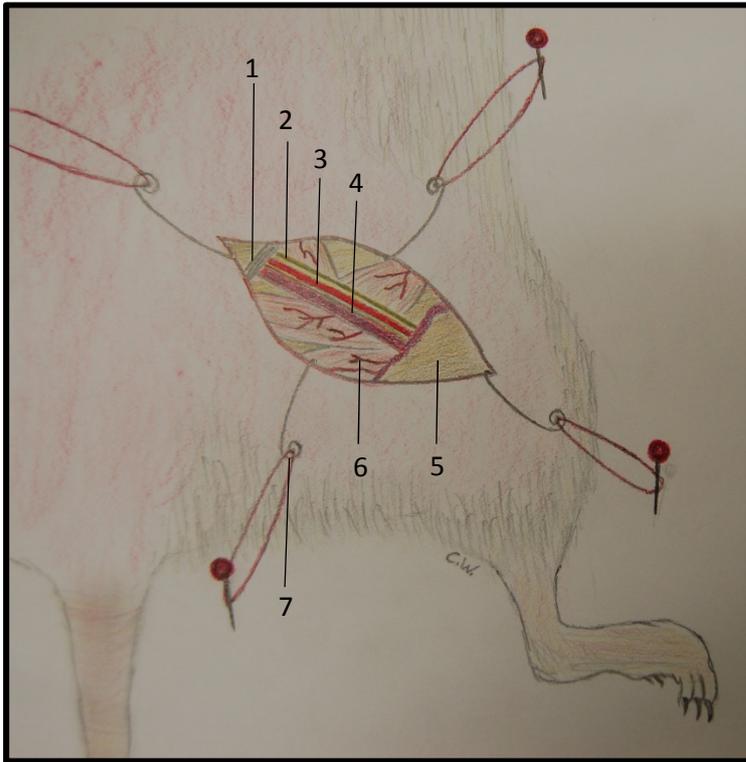


Abbildung 11: Kathetereinlage und Fixation durch Nähte

Anschließend wurde der Leistenbereich mit einer feuchten Kompresse abgedeckt. Eine Aufrechterhaltung der Narkose sowie die Applikation des Indocyaningrüns konnte nun intravenös gesteuert werden.



- 1 - Ligamentum inguinale
- 2 - N. femoralis
- 3 - A. femoralis
- 4 - V. femoralis
- 5 - Fett- und Bindegewebe
- 6 - Muskulatur mit Gefäßversorgung
- 7 - Halteklammern unter Gummibandzug

Abbildung 12: Skizze des Operationssitus im Leistenbereich

2.1.3.2 Aortenpräparation und Defektsetzung

Im weiteren Verlauf erfolgte nun eine mediane Laparotomie mittels Skalpell (s. Abb. 13/14). Die Wundränder wurden durch Haken mittels Gummizug auseinander gehalten. Dünn- und Dickdarm wurden intraperitoneal seitlich verlagert, sodass ein freies Sichtfeld zum Arbeiten an der Aorta im Retroperitoneum herrschte. Bei Bedarf wurde die Blase punktiert und geleert.

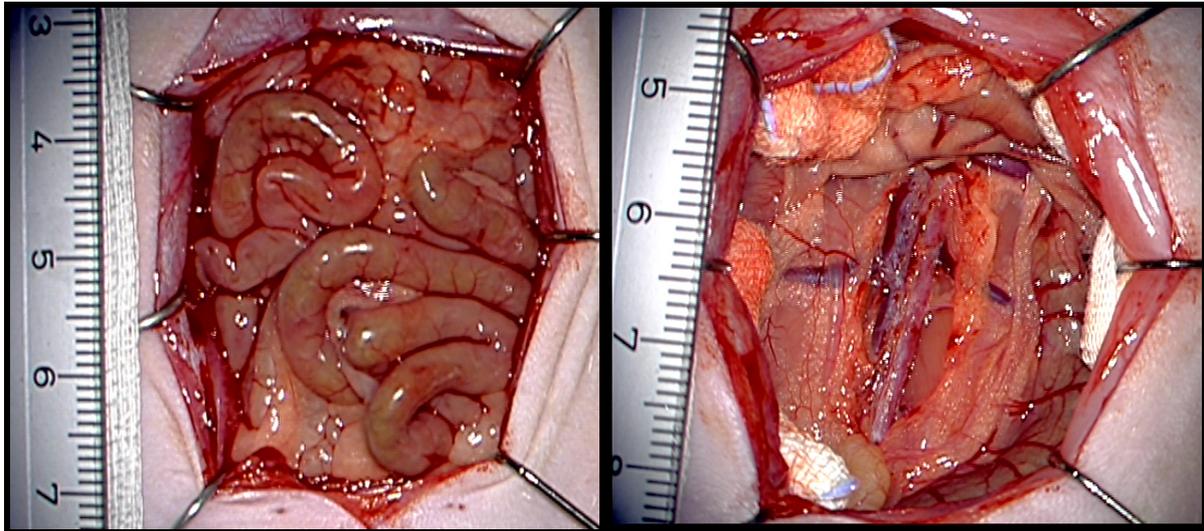
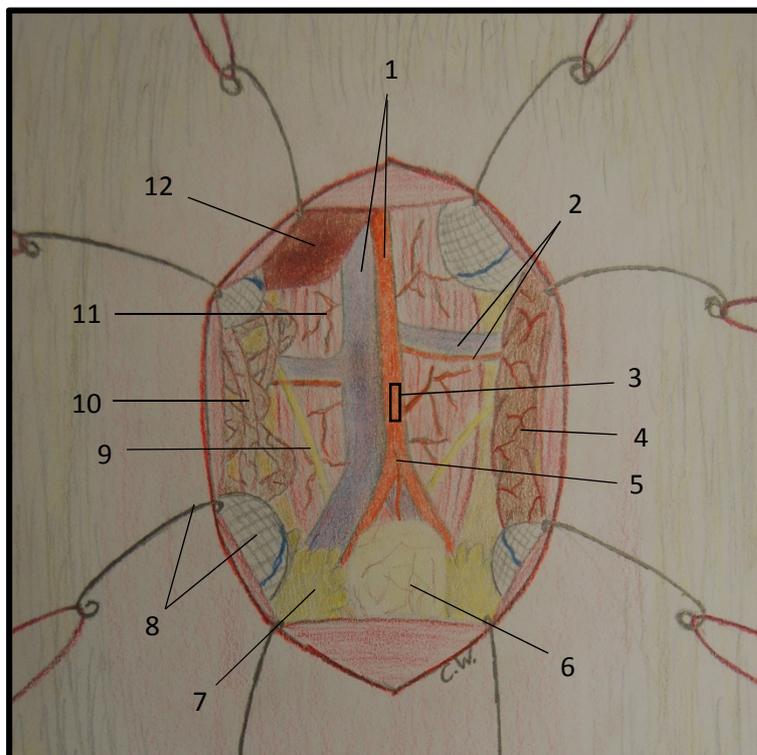


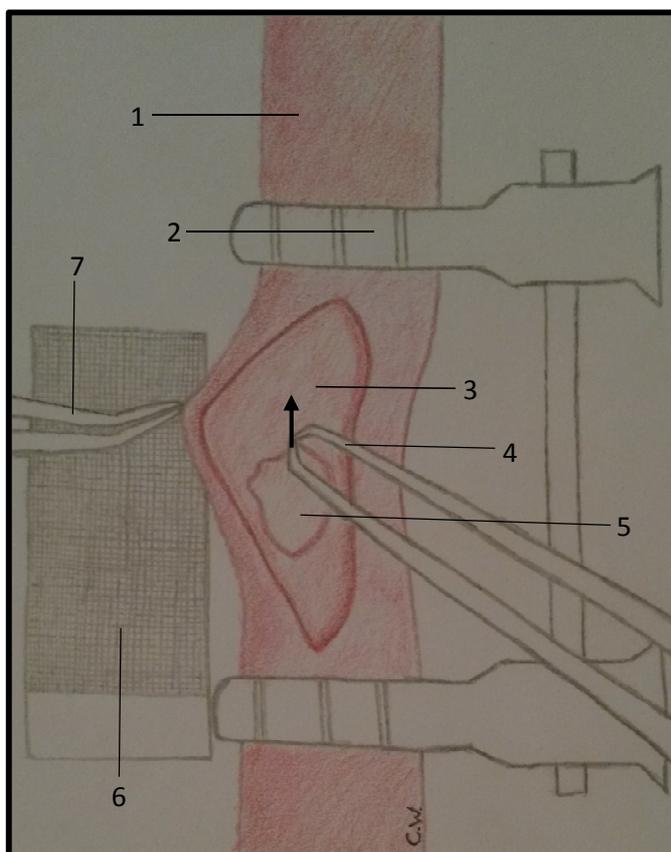
Abbildung 13: Mediane Laparotomie vor und nach Eröffnung des Retroperitonealraumes



- 1 - Aorta und V. cava
- 2 - A. und V. renalis
- 3 - Bereich der Defektsetzung
- 4 - Dickdarm
- 5 - Aortenbifurkation mit Abgang der A. mesenterica inferior
- 6 - Harnblase
- 7 - Gl. vesicularis
- 8 - Tupfer und Halteklammer
- 9 - Ureter
- 10 - Dünndarm
- 11 - Muskulatur mit Gefäßversorgung
- 12 - Leber

Abbildung 14: Skizze des Operationssitus am Bauch

Im weiteren Verlauf wurde die Aorta vorsichtig von der der Vena cava freipräpariert, Abgänge wurden ligiert. Die Präparation erfolgte in der Regel zwischen der Aortenbifurkation und den Nierengefäßen. Nach vollständiger Präparation eines ausreichend langen Aortenabschnittes wurde über den Femoralkatheter eine ICG-Angiographie durchgeführt um den Ausgangszustand zu dokumentieren. Nun wurden proximal und distal der geplanten Defektsetzung Einzelklemmen angebracht. Es erfolgte eine Stichinzision der Aorta durch ein 11er Skalpell, eine weitere Längsdurchtrennung wurde mit Hilfe der Mikroschere durchgeführt. Intraluminal verbliebenes Blut wurde ausgespült. Bei Bedarf wurden die Schnittränder an der Adventitia durch eine Haltenaht im Retroperitoneum fixiert und somit offen gehalten, damit die Defektsetzung gelingen konnte. Dabei wurde die Gefäßinnenwand mit Hilfe eines speziellen Skalpells (s. 2.2.1.) oder einer spitzen Pinzette eingeritzt, sodass diese im Anschluss durch Zug von den restlichen Wandschichten getrennt werden konnte. Größe und Ausrichtung des Defekts ließen sich somit variieren. Zur anschließenden Größenbestimmung wurde 1/10mm-Papier angelegt (s. Abb. 15/16).



- 1 - Aorta
- 2 - Approximatorklemme
- 3 - Gefäßlumen
- 4 - spitze Mikropinzette zur Defektsetzung
- 5 - Gefäßwandläsion
- 6 - 1/10mm-Papier
- 7 - abgewinkelte Mikropinzette

Abbildung 15: Skizze der Defektsetzung

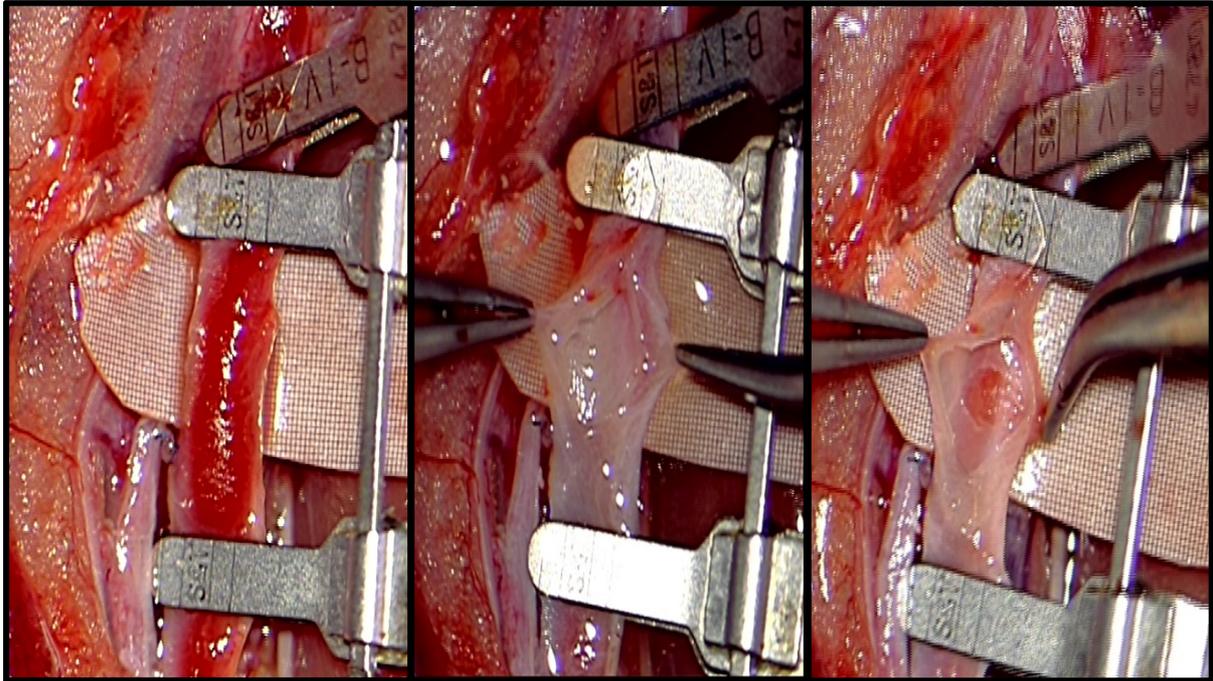


Abbildung 16: Freigelegte Aorta vor Eröffnung, nach Längsdurchtrennung und nach Defektsetzung; jeweils mit angelegtem 1/10mm Papier

Im Anschluss erfolgte der sorgfältige Verschluss der Aorta mittels eines Ethilon 11-0 Faden (Ethicon®, Norderstedt/Deutschland) (s. Abb. 17). Die Anzahl der Einzelknopfnähte richtete sich nach der Länge des Schnittes sowie der im Anschluss überprüften Dichtigkeit der Naht. Diese wurde durch schrittweises Eröffnen der zuerst distalen und danach proximalen Einzelklemme erreicht. Bei Bedarf wurde eine zusätzliche Einzelknopfnahnt hinzugefügt. Nach 60 Minuten mit aufrecht erhaltenem Kreislauf wurde erneut eine ICG-Angiographie durchgeführt. Im Anschluss daran wurden die Tiere der ersten Versuchsreihe durch Überdosierung der Anästhetika und Entbluten geopfert. Die Aorta wurde im Bereich des Gefäßwanddefekts herausgelöst und anschließend in Formaldehydlösung fixiert und gekühlt gelagert.

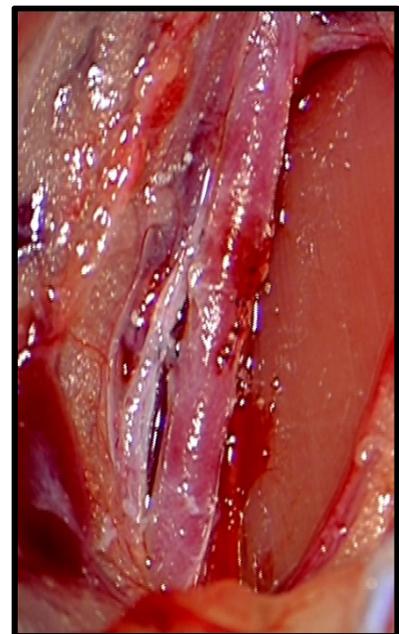


Abbildung 17: Wiederverschluss der Aorta mittels Ethilon 11-0 Faden

2.1.3.3 Wundverschluss

Ein Wundverschluss (s. Abb. 18) erfolgte bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe nach Durchführung von Defektsetzung, Aortennaht und ICG-Angiographie. Die Bauchwand wurde fortlaufend mittels 6-0 Vicryl Faden (Ethicon®, Norderstedt/Deutschland) verschlossen. Die Hautnaht erfolgte ebenfalls fortlaufend mit einem 6-0 Ethilon Faden (Ethicon®, Norderstedt/Deutschland). Um größtmögliche Sicherheit zu gewährleisten wurden vereinzelt zusätzlich Einzelknopfnähte hinzugefügt. Der Katheterzugang an der Vena femoralis wurde nach Entfernung des Katheters am Ort der Inzision je nach Bedarf durch zwei bis vier Einzelknopfnähte eines 10-0 Ethilon Fadens (Ethicon®, Norderstedt/Deutschland) verschlossen. Der Hautverschluss im Leistenbereich wurde abermals mit einem 6-0 Ethilon Faden durchgeführt.



Abbildung 18: Wundverschluss nach Laparotomie und Leistenschnitt

2.1.3.4 ICG-Angiographie und Blutflussmessung

ICG-Angiographien (ICGA) und Flussmessungen konnten mithilfe des in die Vena femoralis eingeführten Katheters (Premicath®, Vygon GmbH & Co. KG, Aachen/Deutschland) (s. Abb. 19) vorgenommen werden. Zur Dokumentation der physiologischen Basiswerte wurde nach Präparation und Freilegung der Aorta eine erste Angiographie im Ausgangszustand durchgeführt. Nach Defektsetzung und Rekonstruktion der durch Längsinzision eröffneten Aorta folgte dann eine weitere Messung. Eine dritte ICGA erfolgte nur bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe sieben Tage postoperativ.

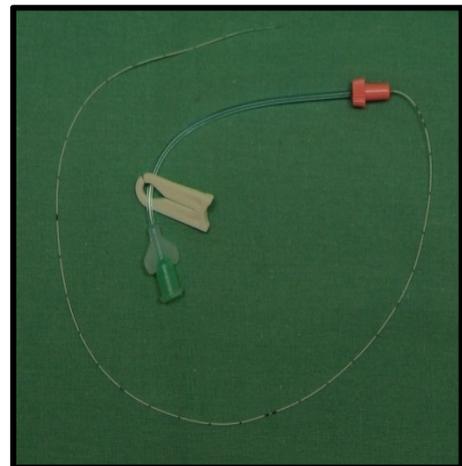


Abbildung 19: Premicath® Katheter

Vor intravenöser Anwendung wurde der fluoreszierende Farbstoff (ICG-Pulsion®, Pulsion Medical Systems AG, München/Deutschland) (s. Abb. 20) in einem Verhältnis von 1,25mg/ml Aq. dest. gelöst. Pro ICGA wurde dabei jeweils ein Bolus von 0,2ml verabreicht, sodass eine Maximalkonzentration von 0,3mg ICG/kg KG nicht überschritten wurde. Nach Injektion des Fluoreszenzfarbstoffes wurde mit 0,1ml NaCl nachgespült. Die Aufzeichnung der Angiographie in Echtzeit erfolgte standardisiert für zwei Minuten und konnte am Monitor des Mikroskops mitverfolgt werden. Im Anschluss daran wurde die Analyse des Blutflusses mithilfe der Flow 800 Funktion vorgenommen. Dafür



Abbildung 20: Indocyaningrün

wurden manuell sogenannte „ROI's“ (Region of Interest) in bestimmte Aortenabschnitte gesetzt, der Blutfluss an dieser Stelle berechnet und in Form eines Kurvendiagramms dargestellt (s. Abb. 22). Ebenso wurde der Blutfluss mit den Latenzzeiten der verschiedenen Phasen durch farbliche Abstufungen festgehalten (s. Abb. 21). Ein Vergleich verschiedener „ROI's“ konnte ebenfalls direkt am Mikroskop vorgenommen werden.

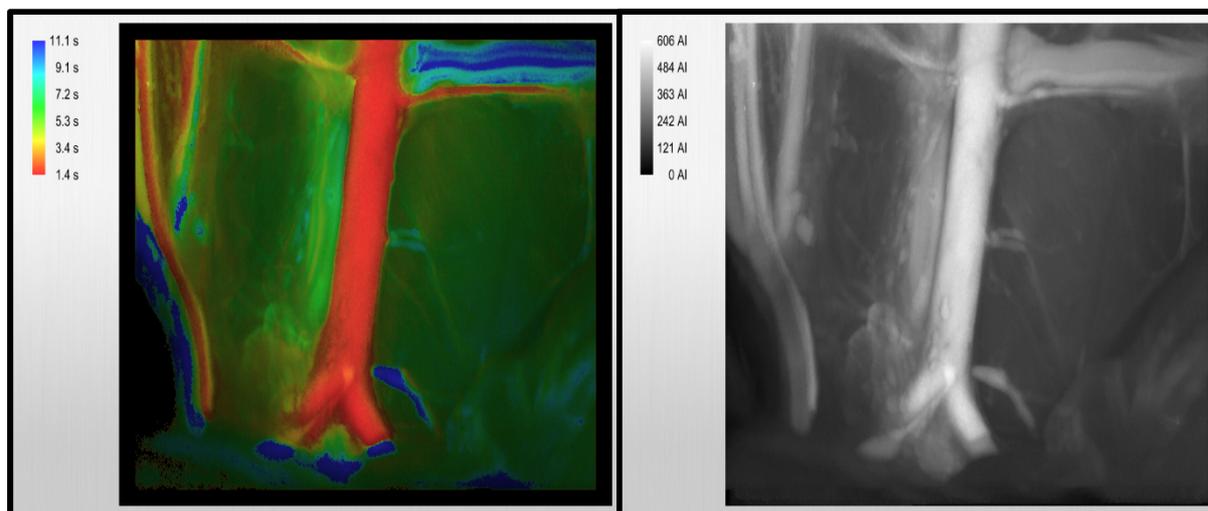


Abbildung 21: Latenzzeiten der venösen und arteriellen Phasen in farblicher Abstufung (links) und in verschiedenen Graustufen (rechts)

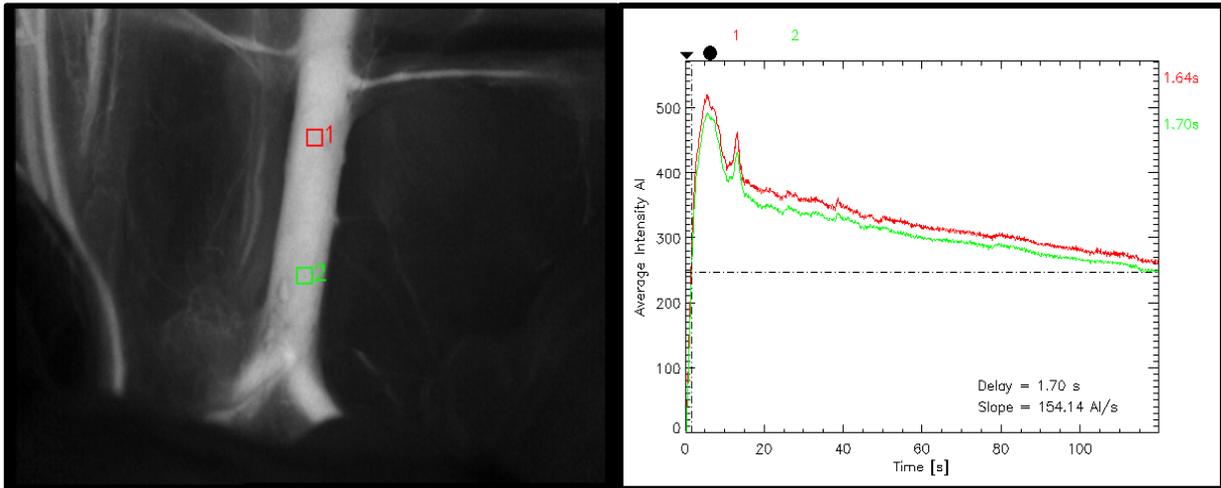


Abbildung 22: Manuell gesetzte „ROI's“ (links) und korrespondierendes Kurvendiagramm (rechts)

2.1.3.5 Defektausmessung

Zur Ausmessung der gesetzten Gefäßwanddefekte wurde das Bildverarbeitungsprogramm ImageJ® (Wayne Rasband/National Institutes of Health) genutzt. Die hierfür benötigten Bilddateien wurden während der Versuchsdurchführungen mithilfe der im Operationsmikroskop integrierten Kamera aufgenommen und anschließend einzeln bearbeitet. Die Größenbestimmung der fotodokumentierten Defekte gelang durch manuelle Ausmessung der freigelegten subendothelialen Flächen in Arbeitseinheiten (s. Abb. 23). Diese konnten nun im Anschluss durch das bei jedem Versuch angelegte 1/10mm-Papier in Einheiten des metrischen Systems umgerechnet werden. Eine Einteilung der ausgemessenen Flächen in horizontale, vertikale und rundliche Defekte wurde nachträglich vorgenommen und wie folgt definiert:

Horizontal	$\beta > \lambda \times 1,2$
Vertikal	$\lambda > \beta \times 1,2$
Rundlich	$\lambda > \beta \times 0,8 \wedge \lambda < \beta \times 1,2$ bzw. $\beta > \lambda \times 0,8 \wedge \beta < \lambda \times 1,2$

Tabelle 1: Horizontaler Defekt: Breite β (in mm) > 120% der Länge λ (in mm); Vertikaler Defekt: Länge λ (in mm) > 120% der Breite β (in mm); Rundlicher Defekt: Länge λ (in mm) > 80% und < 120% der Breite β (in mm) bzw. Breite β (in mm) > 80% und < 120% der Länge λ (in mm)

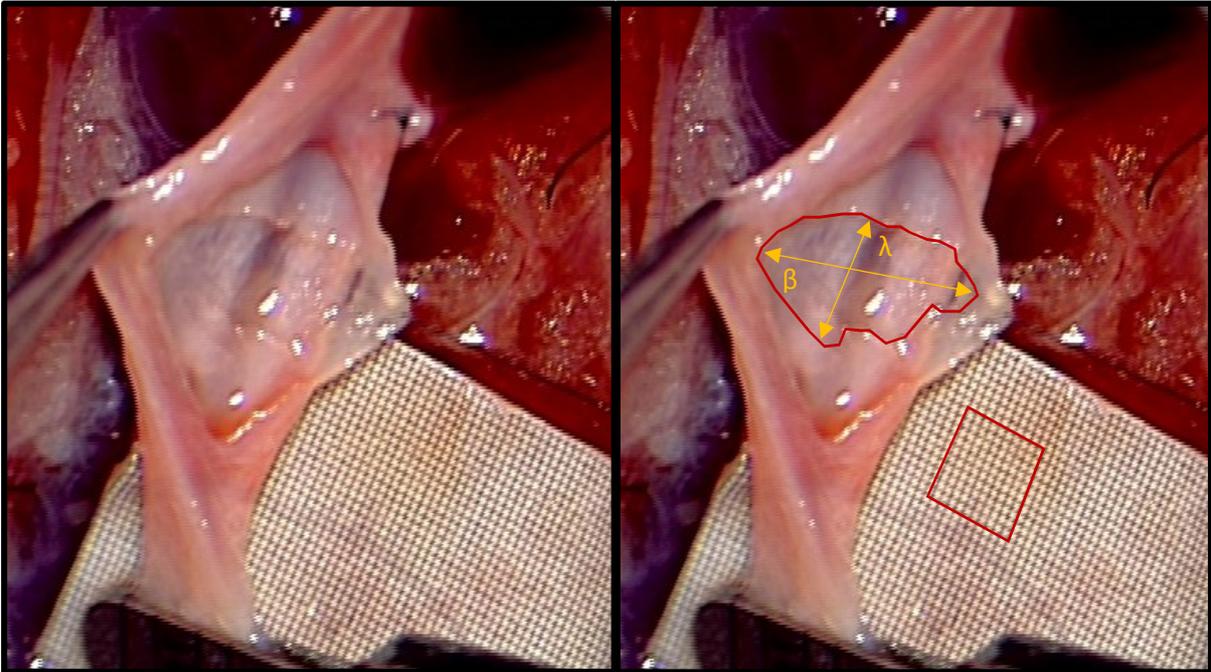


Abbildung 23: Intraoperativ, vor Verschluss des Gefäßes: Gefäßwanddefekt mit angelegtem 1/10mm-Papier vor und nach manueller Flächenausmessung

Bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe wurde eine Woche postoperativ die Defektgröße erneut bestimmt. Hierfür wurde das operierte Aortenareal entnommen, das Gefäß im Bereich der Einzelknopfnähte längs eröffnet und der Läsionsort nach Anlage von 1/10mm-Papier wiederum mehrmals fotodokumentiert. Im Anschluss wurde auch hier in oben beschriebener Weise die Defektfläche errechnet.

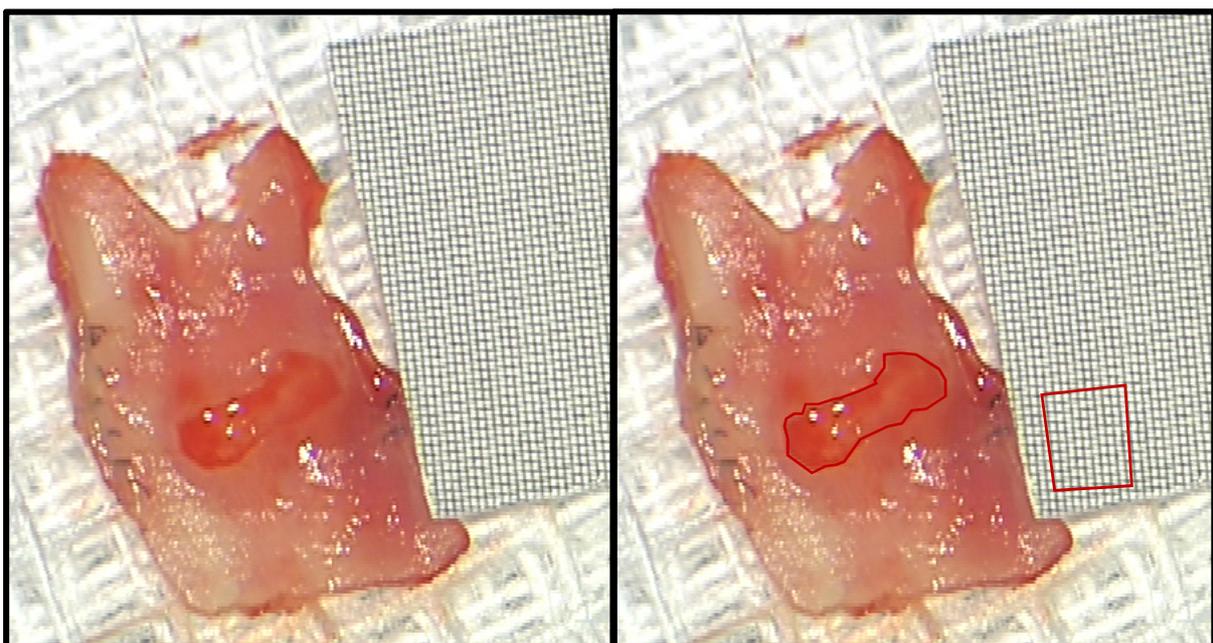


Abbildung 24: Eine Woche postoperativ, nach Entnahme des operierten Aortenabschnitts: Gefäßwanddefekt mit angelegtem 1/10mm-Papier vor und nach manueller Flächenausmessung

2.1.3.6 Histologische Aufarbeitung

Nach Entnahme der mit den Läsionen präparierten Aortenabschnitte wurden diese in 3,5-3,7%iger Formaldehydlösung in Eppendorf-Gefäßen immersionsfixiert und bei 3-5°C gekühlt gelagert. Jedes Gefäß wurde sowohl mit Tiernummer als auch mit Datum und Uhrzeit des durchgeführten Versuchs beschriftet, um eine eindeutige Zuordnung der Präparate zu den jeweiligen Versuchstieren gewährleisten zu können.

Die weitere histologische Aufarbeitung erfolgte nun im Institut für Anatomie der Ruhr-Universität Bochum. Zur Übersicht wurden die Präparate im ersten Schritt erneut fotodokumentiert, die Bilder anschließend gekennzeichnet und den Versuchstiernummern entsprechend sortiert (s. Abb. 25).

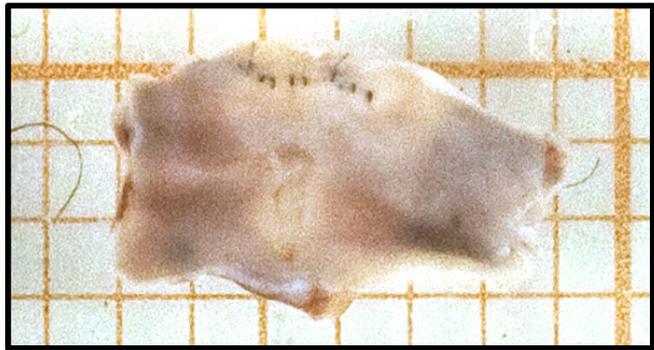


Abbildung 25: Fixiertes Gewebepreparat vor Einbettung, Schnitt und Färbung

Die anschließende Nachfixierung und Einbettung der Gewebepreparate in Epoxidharz erfolgte anhand eines standardisierten Protokolls (s. Tab. 2).

Vorgang	Durchführung
Auswaschen mittels Sörensenpuffer	4 x 15 Minuten
Osmierung, Osmium 0,5%	60 Minuten
Auswaschen mittels Sörensenpuffer	4 x 15 Minuten
Aufsteigende Alkoholreihe mit: 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 (Intermedium)	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: Standardisiertes Einbettungsprotokoll

Zur genaueren Beurteilung wurden die eingebetteten Präparate dann im Bereich der gesetzten Intimaläsionen mithilfe eines Mikrotoms (UltraCut E, Serie Reichert-Jung von Leica, Wien/Österreich) in Semidünnschnitte mit einer Schichtdicke von etwa 0,75µm geschnitten. Die histologische Färbung ist letztlich mithilfe des Farbstoffs Toluidinblau durchgeführt worden, das die im Epoxidharz eingebetteten Gewebe in unterschiedlichen Blautönen darstellt (s. Abb. 26).

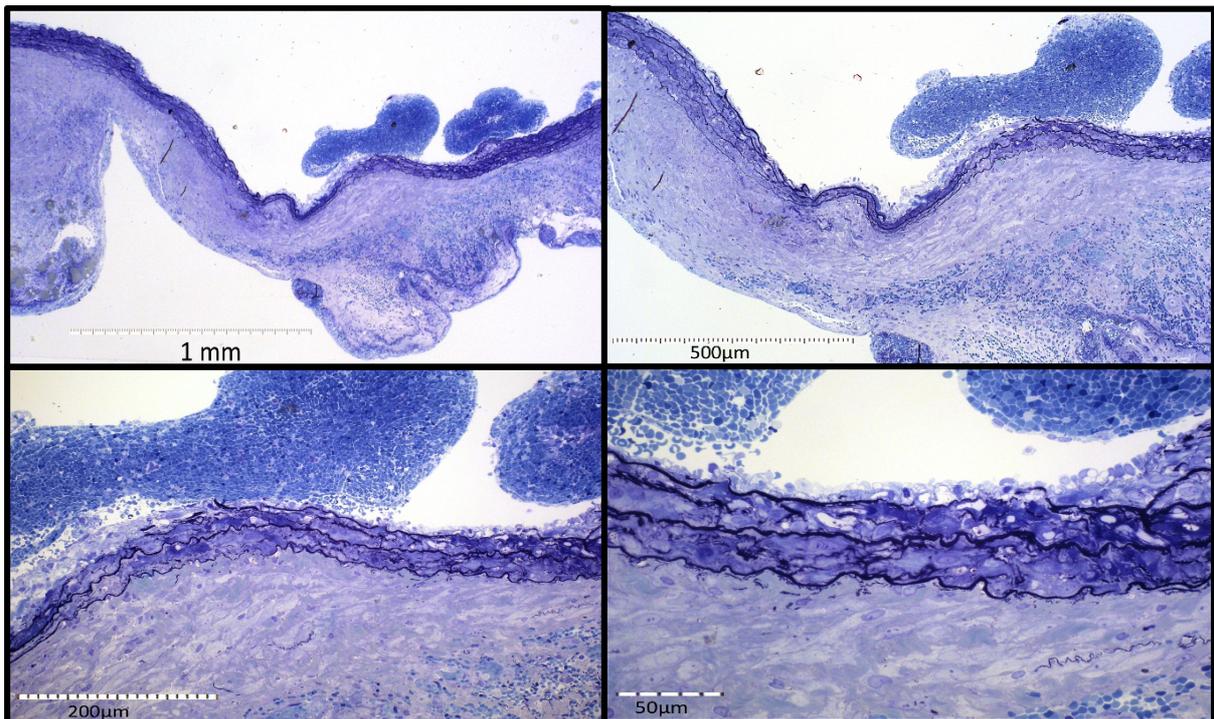


Abbildung 26: Gewebspräparat nach Schnitt und Färbung in unterschiedlichen Vergrößerungen

Ein speziell zur Gefäßwanddefektsetzung geplantes Instrument in Form eines eigens abgewandelten Skalpells (s. Abb. 28) erwies sich in Probeversuchen als bedingt hilfreich, sodass es in den Hauptversuchen nicht regelhaft zur Anwendung kam.

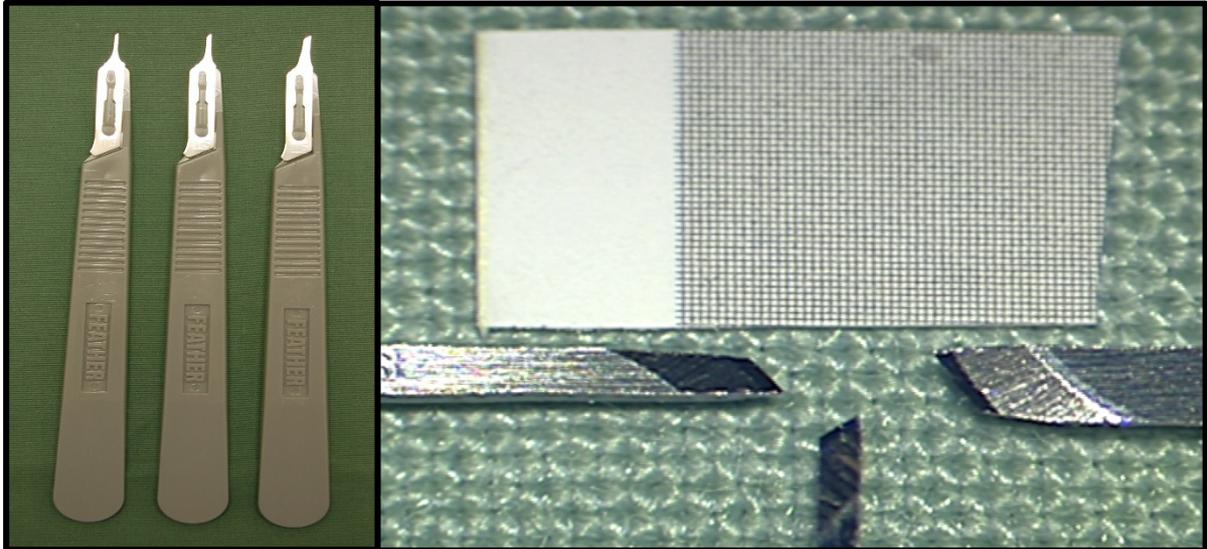


Abbildung 28: 15er Skalpelle mit verschieden stark beschliffenen Klingen zur Gefäßwanddefektsetzung mit 1/10mm Papier

Nahtmaterial in verschiedenen Größen wurde von Ethicon® (Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt/Deutschland) zur Verfügung gestellt (s. Abb. 29).

Als weitere Hilfsmittel dienten verschieden große Tupfer, Kompressen und Spritzen (s. Abb. 29).



Abbildung 29: Verwendete Hilfsmittel und Nahtmaterial verschiedener Größen

2.2.2 Operationsmikroskop

Die Versuche wurden mithilfe des OPMI® Pentero® 800 der Firma Zeiss (Carl Zeiss Microscopy GmbH, Oberkochen/Deutschland) durchgeführt (s. Abb. 31). Durch die apochromatische Optik des Geräts, den hervorragenden motorischen Zoom und Fokus, die magnetischen Weitwinkelokulare und den kippbaren Tubus konnte Gewebe exakt dargestellt werden. Zur Beleuchtung dienten hierbei zwei Xenon-Lichtquellen, deren Intensität je nach Bedarf individuell variiert werden konnte. Die gegengewichtsbalancierte Aufhängung erleichterte das exakte Positionieren auch bei starker Vergrößerung. Neben weiteren Applikationen wie Fußschaltpunkt und programmierbaren Multifunktionshandgriffen, konnten durch die integrierte hochauflösende Kamera intraoperativ Bilder und Videos aufgenommen werden. Zusätzlich verfügte das OPMI® Pentero® über eine Infrarot- und Flow 800-Funktion, mithilfe derer eine fluoreszenzgestützte Angiographie in Echtzeit erfolgen konnte. Für die nachfolgende Analyse und Bearbeitung der Daten diente ein am Gerät fest installierter Touchscreen-Monitor (s. Abb. 30) mit eingebauter Anschlussmöglichkeit für USB-Medien.



Abbildung 31: Operationsmikroskop



Abbildung 30: Touchscreen-Monitor

2.3 Statistische Methodik

Für die statistischen Auswertungen der Korrelations- und Regressionsanalysen wurde die Software „Statistical Package for the Social Sciences“ (SPSS for Windows, release 21.0, 2015, SPSS Inc., Chicago/USA) verwendet.

Das Signifikanzniveau aller statistischen Berechnungen wurde für einen p-Wert kleiner als 0,05 festgelegt. Darüberliegende Werte wurden als statistisch nicht signifikant, darunterliegende Werte als statistisch signifikant angesehen. Das Konfidenzintervall wurde mit 95% angegeben.

3 Ergebnisse

3.1 Operationsdaten und -verläufe

Für die Ergebnisanalyse wurden alle 60 Tiere miteinbezogen. Im Folgenden werden verschiedene Parameter tabellarisch und in Textform beschrieben.

3.1.1 Operationsdauer

Während der Versuchsdurchführung wurde die Zeitdauer der einzelnen Operationsschritte protokollarisch dokumentiert. Die Zeiterfassung erfolgte in Minuten. Nachfolgend werden die gemittelten Werte der jeweiligen Operationsabschnitte angegeben.

Für die Kanülierung der Vena femoralis wurde die Zeitspanne vom Anlegen des Leistenschnittes bis zur Fixierung des eingeführten Katheters durch einen vorgelegten Knoten erfasst. Im Durchschnitt betrug die benötigte Zeit hierfür 24 Minuten. Laparatomie, Freilegung des Retroperitonealraumes und Ablösen eines ausreichend langen Aortenabschnittes von der Vena cava stellten den nächsten OP-Abschnitt dar. Dies beanspruchte in der Regel die meiste Zeit, sie betrug im Durchschnitt 32 Minuten. Vor allem anatomische Gegebenheiten wie z.B. kleine Gefäßabgänge, die unterbunden werden mussten, beeinflussten in den ersten beiden Operationsschritten maßgeblich die Dauer. Nach Durchführung einer ICG-Angiographie im Ausgangszustand begann die Ermittlung der Zeitdauer für die Defektsetzung mit Eröffnung des Gefäßes und endete mit der Fotodokumentation des Gefäßwanddefekts. Durchschnittlich dauerte dies 13 Minuten. Danach erfolgte der Wiederverschluss des durch Längsinzision eröffneten Gefäßes. Im Mittel wurden hierfür 30 Minuten benötigt. Wesentlicher Einflussfaktor auf die Dauer war hier die mit der Länge des Eröffnungsschnittes einhergehende Knotenanzahl (s. Tab. 4) sowie die zusätzliche Anlage von einzelnen Knoten nach Kontrolle der Dichtigkeit der Einzelknopfnähte.

Für die Tiere der zweiten Versuchsreihe wurden weiterhin die Zeiten der Wundverschlüsse erfasst. Auch sie betragen im Durchschnitt 30 Minuten und waren ebenfalls abhängig von der Länge der Eröffnungsschnitte. Insgesamt ergibt sich aus den vorliegenden Zeiten eine durchschnittliche Operationsdauer von 123 Minuten für die Tiere der ersten Versuchsreihe sowie 104 Minuten für die Tiere der zweiten Versuchsreihe.

Der nachfolgenden Tabelle können die Zeiten der einzelnen Operationsschritte für das jeweilige Versuchstier entnommen werden.

Versuchsreihe 1		Versuchsreihe 2	
Tier-Nr.	Operationsdauer (min) Gesamt Kanülierung Aortenpräparation Defektsetzung Naht	Tier-Nr.	Operationsdauer (min) Gesamt Kanülierung Aortenpräparation Defektsetzung Naht Wundverschluss
1	170 50 90 10 20	31	110 20 35 15 10 30
2	70 15 25 10 20	32	90 15 10 15 30 20
3	120 30 60 10 20	33	95 15 35 10 15 20
4	80 30 25 10 15	34	115 15 25 20 25 30
5	185 60 45 30 50	35	115 20 15 15 30 35
6	135 40 30 20 45	36	95 15 15 10 25 30
7	210 45 60 15 90	37	90 10 15 10 25 30
8	115 50 30 15 20	38	100 20 15 10 30 25
9	80 30 30 05 15	39	120 20 25 15 20 40
10	190 40 115 10 25	40	120 20 20 20 20 40
11	115 55 30 15 15	41	145 15 35 20 45 30
12	75 15 25 10 25	42	110 15 10 20 35 30
13	150 55 60 10 25	43	105 10 15 20 30 30
14	75 30 20 10 15	44	110 15 15 15 35 30
15	190 40 55 45 50	45	115 10 25 05 40 35
16	150 40 55 20 35	46	120 10 30 15 35 30
17	85 10 20 20 35	47	100 15 20 10 25 30
18	105 30 45 10 20	48	105 10 25 10 30 30
19	65 15 20 10 20	49	125 15 30 05 35 40
20	135 35 55 15 30	50	135 10 60 10 25 30
21	110 25 50 10 25	51	110 20 15 15 35 25
22	125 35 50 05 35	52	85 15 10 10 25 25
23	170 25 65 15 65	53	75 10 15 05 20 25
24	130 25 40 10 55	54	80 10 15 10 20 25
25	95 25 30 10 30	55	85 10 10 10 30 25
26	130 40 30 25 35	56	90 10 15 05 35 25
27	90 25 20 15 30	57	105 15 20 10 25 35
28	100 25 35 05 35	58	95 10 15 10 30 30
29	95 30 35 10 20	59	105 10 15 15 40 25
30	150 35 60 15 40	60	80 15 10 05 20 30

Tabelle 3: Zeitdauer einzelner Operationsabschnitte in Minuten

Versuchsreihe 1				Versuchsreihe 2			
Tier-Nr.	Anzahl Einzelknopfnähte	Tier-Nr.	Anzahl Einzelknopfnähte	Tier-Nr.	Anzahl Einzelknopfnähte	Tier-Nr.	Anzahl Einzelknopfnähte
1	15	16	7	31	10	46	12
2	16	17	10	32	11	47	8
3	15	18	14	33	10	48	9
4	17	19	17	34	8	49	12
5	10	20	13	35	12	50	7
6	9	21	12	36	15	51	9
7	11	22	15	37	11	52	11
8	12	23	9	38	11	53	7
9	12	24	11	39	10	54	8
10	17	25	16	40	11	55	8
11	13	26	11	41	11	56	12
12	18	27	16	42	11	57	10
13	13	28	18	43	10	58	10
14	12	29	14	44	11	59	12
15	10	30	8	45	15	60	9

Tabelle 4: Verwendete Anzahl von Einzelknopfnähten zum Verschluss der nach Längsinzision eröffneten Aorta

Operationsabschnitt	Durchschnittliche Operationsdauer (min)
Kanülierung	23,75
Aortenpräparation	32,08
Defektsetzung	12,92
Gefäßnaht	30,08
Wundverschluss	29,50
Insgesamt: ohne bzw. mit Wundverschluss	98,83 bzw. 128,33

Tabelle 5: Durchschnittliche Zeitdauer der einzelnen Operationsabschnitte bezogen auf alle Versuchstiere

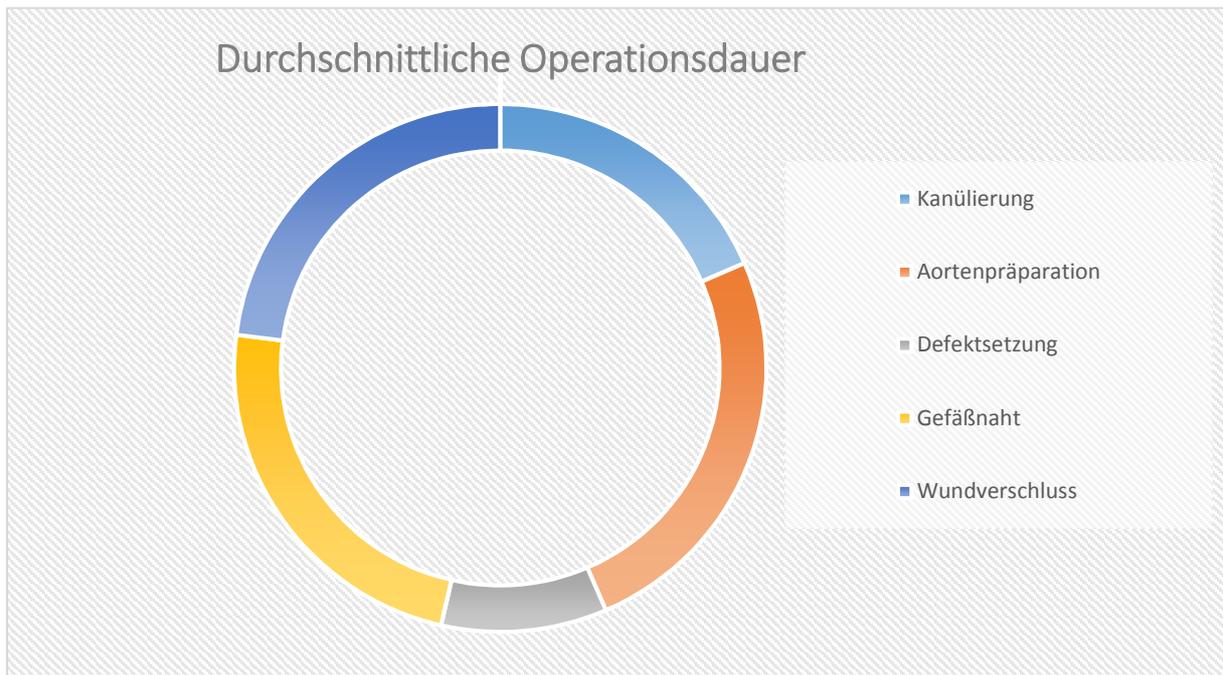


Abbildung 32: Graphische Darstellung der durchschnittlichen Operationsdauer ausgewählter Operationsabschnitte

3.1.2 Komplikationen

Perioperative Komplikationen und Probleme während der Versuchsdurchführung wurden dokumentiert und behoben. Nachfolgend werden diese für die einzelnen Versuchs- und Operationsabschnitte beschrieben.

3.1.2.1 Narkose

Während der Narkoseeinleitung kam es trotz standardisierter und gewichtsadaptierter Anästhesie vereinzelt zu Wirkungsverzögerungen und Nichtansprechen. Mögliche Gründe hierfür könnten fehlerhafte Injektionen sein sowie individuelle Eigenschaften der Tiere, die die Resorption und den Metabolismus der Anästhetika beeinflussen. Intraoperativ kam es zu keinerlei Komplikationen, wohingegen postoperativ wenige Tiere einen langen und stark ausgeprägten deprivierten Zustand von mehreren Stunden aufzeigten. Dies beeinflusste allerdings in keiner Weise die weitere Versuchsdurchführung.

3.1.2.2 Katheteranlage

Das Legen des Femoralkatheters gestaltete sich problemlos. Gelegentlich kam es durch Schwierigkeiten beim Vorschieben des Katheters in die Vena cava zu Blutungen aus der Vena femoralis und somit Sichteseinschränkungen auf das Operationsgebiet. Diese führten hingegen nur zu geringfügigen Verzögerungen der Operationsdauer und hatten keinerlei Auswirkungen auf die weitere Versuchsdurchführung.

3.1.2.3 Laparatomie und Aortenpräparation

Laparatomie und Freilegung des Retroperitonealraumes gelangen problemlos. Die Präparation der Aorta selbst sowie die Ablösung dieser von der dünnwandigen Vena cava erwies sich aber als mikrochirurgisch anspruchsvoll. Vor allem während der ersten Versuchsdurchführungen kam es zu Unterbrechungen im Operationsablauf durch kleine Blutungen. Verursacht wurden diese meist durch kleine arterielle Äste an der Hinterwand der Aorta, welche schlecht sichtbar und folglich schwierig als solche zu identifizieren waren. Daneben kam es durch Verwachsungen im Bereich großer Gefäßabgänge gelegentlich zu kleineren Einrissen in der Gefäßwand der Vena cava. Falls nicht durch Kompression beherrschbar, war hier in wenigen Einzelfällen das Anlegen einer Einzelknopfnahnt notwendig.

3.1.2.3.1 Zweiteingriff

Bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe stellten sich Laparatomie und Aortenpräparation im Zweiteingriff als deutlich anspruchsvoller heraus. Durch ausgeprägte Vernarbungen der Bauchwand kam es regelmäßig zu diffusen Blutungen, die es zu stillen galt. Auch das Sichtfeld im Operationsbereich war durch die verringerte Elastizität der Bauchdecke herabgesetzt. Ein problemloses Ablösen der Aorta von der Vena cava gelang nur in einigen Fällen. Häufig führten starke Verwachsungen zu Wandeinrissen der Vena cava, die eine weitere und umfangreiche Präparation in diesem Bereich einschränkte.

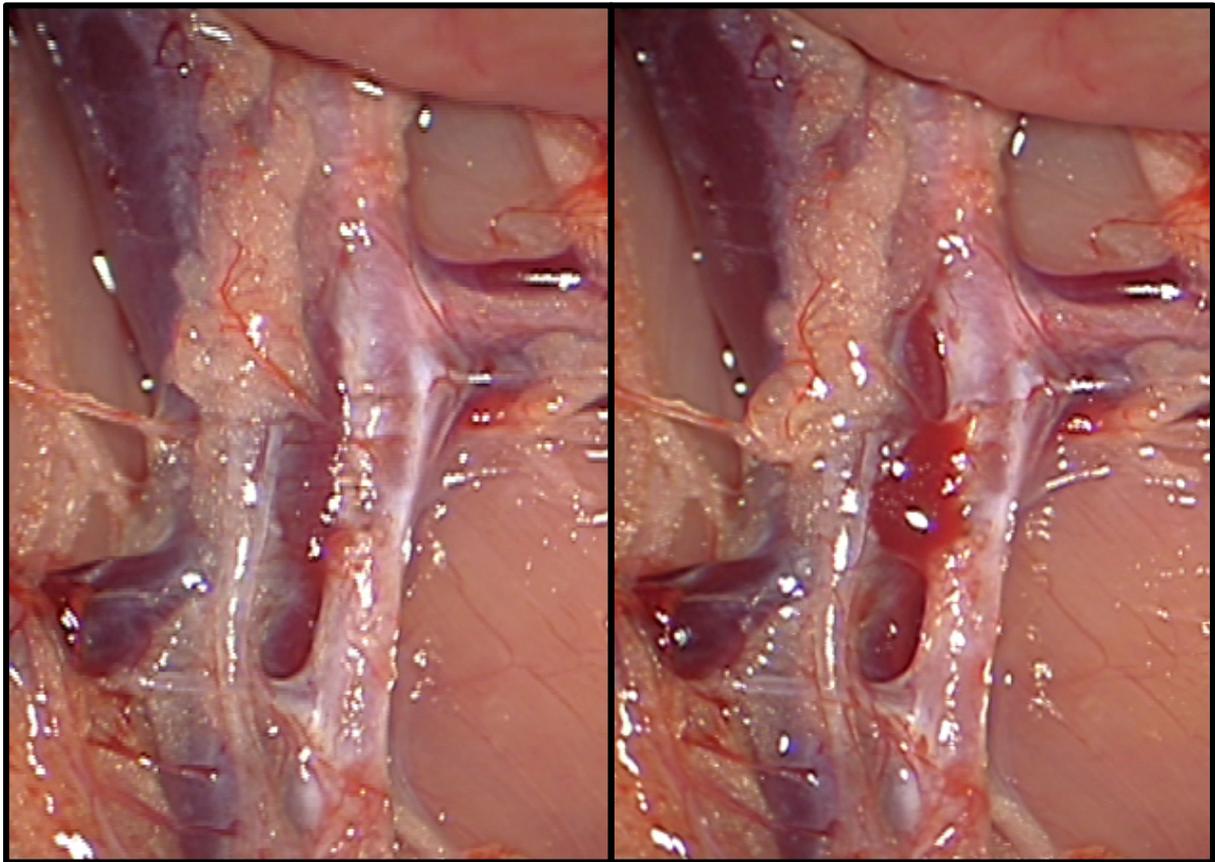


Abbildung 33: Operationssitus eine Woche nach Defektsetzung: Zu sehen sind ausgeprägte Vernarbungen und Neovaskularisationen um den Bereich der Gefäßnaht, die eine blutungsarme Präparation der Aorta und atraumatische Separation von der Vena cava erschwerten. Unmittelbar nach Sichtwiederherstellung durch Tupfen (links), kam es zur erneuten Blutung und damit Sichtbeeinträchtigung (rechts)

3.1.2.4 Defektsetzung

Als problematisch beim Setzen des Gefäßwanddefekts erwies sich das kontrollierte Eingrenzen der Defektgröße. Durch Manipulation mit einer Mikropinzette an der abgehobenen Gefäßinnenwand war es zwar möglich sowohl die Ausdehnung als auch die Ausrichtung der Läsion zu variieren. Ein standardisiertes Vorgehen zur genauen Defektbegrenzung erlaubte diese Technik jedoch nicht. Da jedoch möglichst unterschiedliche Defekte im Sinne einer Normalverteilung angestrebt wurden, war ein standardisiertes Vorgehen nicht als Ziel im Versuchsprotokoll formuliert. Gefäßspasmen und andere Komplikationen, wie z.B. Gefäßperforationen, traten beim sorgfältigen und vorsichtigen Umgang mit dem Gefäß nicht auf.

3.1.2.5 Postoperativ

Postoperative Komplikationen waren insgesamt selten. Neben einigen bereits oben erwähnten Deprivationszuständen, zeigten sich im postoperativen Verlauf während der zweiten Versuchsreihe nur wenige Probleme. In einem Fall kam es am dritten postoperativen Tag zur Dehizensz der fortlaufenden Hautnaht eines kleinen Bereiches am Bauch, die einen Wiederverschluss mit Einzelknopfnähten in kurzer Inhalationsnarkose mittels Isofluran nötig machte. Weiterhin kam es in einem Fall zu einer Wundheilungsstörung am kaudalen Ende der Laparatomienarbe (s. Abb. 34) und in drei Fällen zu kleinen Hautnekrosen im Bauchwandbereich. Diese lagen jedoch ausnahmslos jeweils lateral der fortlaufenden Naht abdominal und waren mit hoher Wahrscheinlichkeit auf unter zu starker Zugspannung angelegte Halteklammern während der Operationen zurückzuführen.

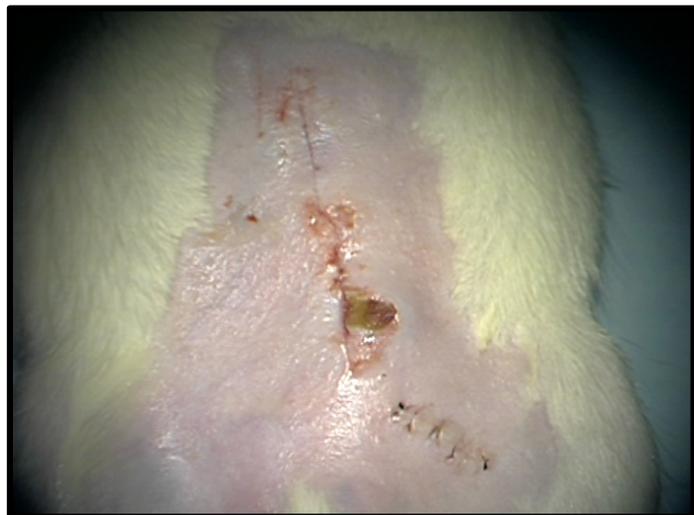


Abbildung 34: Wundheilungsstörung kaudal an der Laparatomienarbe eine Woche postoperativ

O.g. Dehizenszen und Wundheilungsstörungen könnten einerseits auf eine unzureichende Adaptation der Wundränder zurückgeführt werden. Aufgrund des sorgfältigen Verschlusses sowohl durch Einzelknopfnähte als auch durch eine fortlaufende Naht kommt allerdings eher

die Möglichkeit der Automutilation bzw. der Fremdverletzung durch andere Tiere in Betracht. Im Rahmen der Automutilation manipulieren die Tiere dabei vor allem mit ihren Vorderbeinen und Zähnen an frisch operierten Stellen, da sie damit nahezu jeden Bereich ihres Körpers erreichen können (Macionis, 2000). Dies erhöht die Wahrscheinlichkeit, dass sich Nähte lösen oder Wunden infizieren können. Aufgrund der äußerst geringen Fallzahl von postoperativen Komplikationen in diesem Zusammenhang, war es allerdings nicht notwendig die Tiere isoliert unterzubringen. Auch das Anlegen von speziellen Verbänden mit Repellentien oder gar die Anbringung von Halskragen, Westen u.Ä., durch die Automutilationen verhindert werden können, war nicht erforderlich (R. S. Fox & Frazier, 1980; Macionis, 2000; Pynn, McKee, Nigra, & Howard, 1983; Zide, Buncke, & Finseth, 1980).

3.2 Gefäßwanddefekte und ihre sichtbaren Veränderungen

3.2.1 Größe und Konfiguration unmittelbar postoperativ

Die Gefäßwandläsionen wurden unmittelbar vor Verschluss der Aorta in mehrfacher Ausführung fotodokumentiert, um die Ausdehnung der gesetzten Defektfläche möglichst vollständig zu erfassen. Dabei wurde regelmäßig 1/10mm Papier angelegt, um eine spätere Größenbestimmung vornehmen zu können. Nachstehend werden die Ausmessungen sowohl in Tabellenform als auch graphisch wiedergegeben.

Versuchsreihe 1				Versuchsreihe 2			
Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt intraoperativ	Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt intraoperativ	Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt intraoperativ	Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt intraoperativ
1	1,95 mm ²	16	1,89 mm ²	31	1,90 mm ²	46	1,09 mm ²
2	2,66 mm ²	17	1,16 mm ²	32	3,09 mm ²	47	0,70 mm ²
3	1,98 mm ²	18	2,26 mm ²	33	1,39 mm ²	48	1,58 mm ²
4	4,07 mm ²	19	3,91 mm ²	34	0,98 mm ²	49	2,01 mm ²
5	3,53 mm ²	20	4,31 mm ²	35	1,65 mm ²	50	0,69 mm ²
6	2,68 mm ²	21	1,16 mm ²	36	2,32 mm ²	51	2,24 mm ²
7	0,76 mm ²	22	3,14 mm ²	37	1,73 mm ²	52	1,78 mm ²
8	2,51 mm ²	23	1,22 mm ²	38	2,89 mm ²	53	1,55 mm ²
9	2,29 mm ²	24	1,67 mm ²	39	1,19 mm ²	54	1,44 mm ²
10	3,12 mm ²	25	3,75 mm ²	40	2,49 mm ²	55	1,22 mm ²
11	2,74 mm ²	26	1,44 mm ²	41	1,30 mm ²	56	1,09 mm ²
12	3,31 mm ²	27	5,18 mm ²	42	2,27 mm ²	57	2,09 mm ²
13	3,01 mm ²	28	5,36 mm ²	43	1,46 mm ²	58	1,16 mm ²
14	3,29 mm ²	29	2,07 mm ²	44	1,47 mm ²	59	2,40 mm ²
15	1,20 mm ²	30	1,93 mm ²	45	1,91 mm ²	60	1,43 mm ²

Tabelle 6: Intraoperative Defektgröße unmittelbar vor Wiederverschluss der Aorta

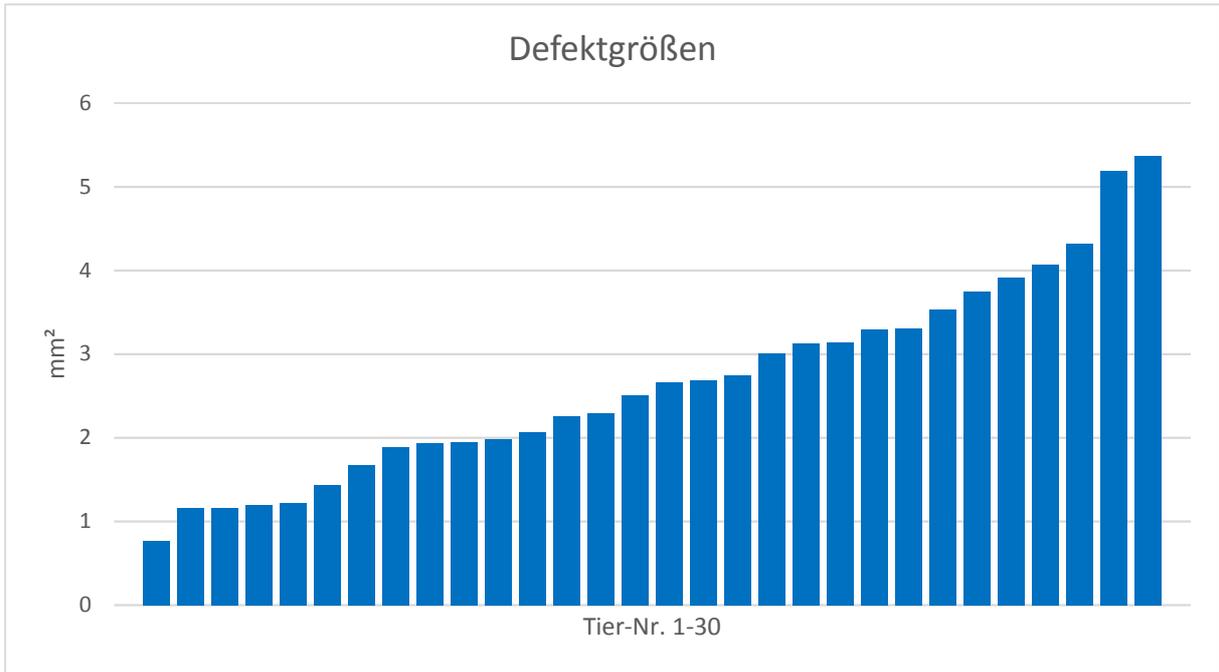


Abbildung 35: Graphische Darstellung der nach Größe sortierten Defekte intraoperativ bei den Tieren der ersten Versuchsreihe

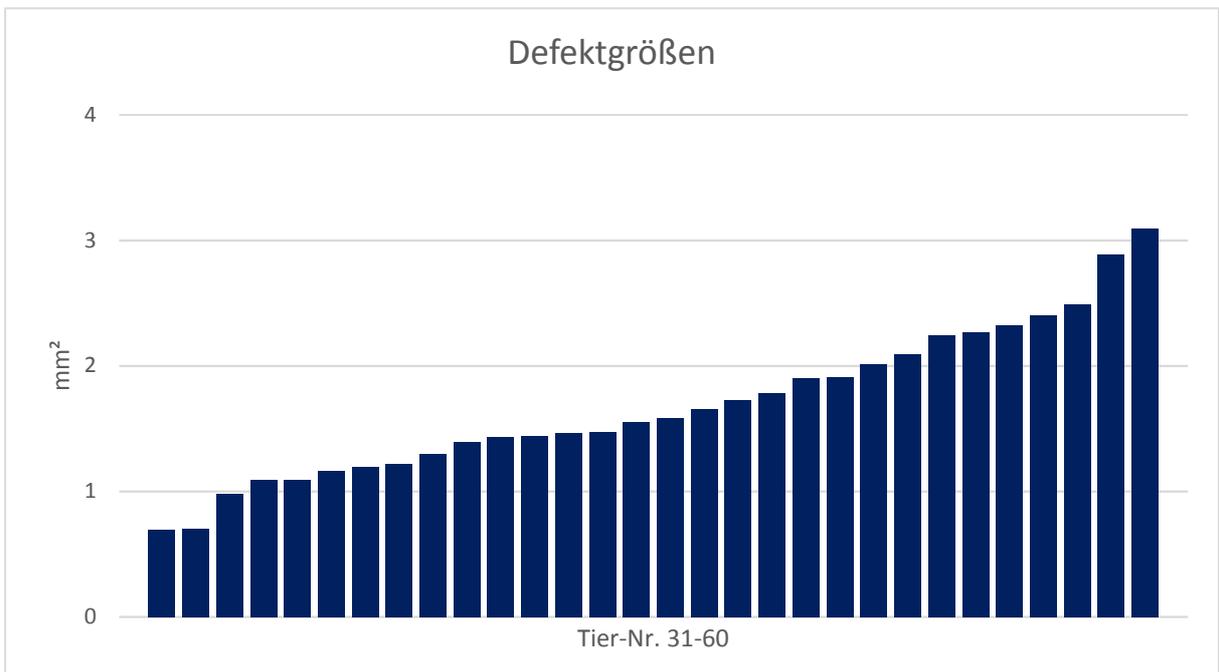


Abbildung 36: Graphische Darstellung der nach Größe sortierten Defekte intraoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe

Wie bereits in Kapitel 2.1.3.5 beschrieben wurde nach der Größenausmessung der Defekte auch deren Konfiguration bestimmt. Dazu konnten die Defektflächen je nach Ausrichtung und Konfiguration in die drei Kategorien *horizontal*, *vertikal* oder *rundlich* eingeteilt werden. Insgesamt ergaben sich somit nach der Einteilung 16 horizontale, 20 vertikale und 24 rundliche Defekte. Nachfolgend wird nun die Einteilung dieser Defektkonfigurationen tabellarisch wiedergegeben.

Versuchsreihe 1				Versuchsreihe 2			
Tier-Nr.	Konfiguration Gefäßwanddefekt intraoperativ	Tier-Nr.	Konfiguration Gefäßwanddefekt intraoperativ	Tier-Nr.	Konfiguration Gefäßwanddefekt intraoperativ	Tier-Nr.	Konfiguration Gefäßwanddefekt intraoperativ
1	vertikal	16	rundlich	31	rundlich	46	rundlich
2	vertikal	17	vertikal	32	vertikal	47	horizontal
3	vertikal	18	vertikal	33	horizontal	48	vertikal
4	rundlich	19	vertikal	34	rundlich	49	rundlich
5	rundlich	20	rundlich	35	horizontal	50	rundlich
6	rundlich	21	horizontal	36	rundlich	51	vertikal
7	rundlich	22	horizontal	37	rundlich	52	rundlich
8	horizontal	23	vertikal	38	vertikal	53	rundlich
9	horizontal	24	vertikal	39	horizontal	54	rundlich
10	rundlich	25	rundlich	40	vertikal	55	horizontal
11	horizontal	26	rundlich	41	vertikal	56	vertikal
12	horizontal	27	horizontal	42	rundlich	57	rundlich
13	vertikal	28	horizontal	43	vertikal	58	horizontal
14	horizontal	29	horizontal	44	vertikal	59	vertikal
15	rundlich	30	rundlich	45	rundlich	60	vertikal

Tabelle 7: Defektkonfiguration intraoperativ unmittelbar vor Wiederverschluss der Aorta

3.2.2 Größe eine Woche postoperativ

Bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe wurde der Aortenabschnitt mit dem präparierten Gefäßwanddefekt eine Woche postoperativ entnommen. Nach Eröffnung der Einzelknopfnähte wurde die zuvor präparierte Läsion wiederum mit angelegtem 1/10mm Papier bildlich festgehalten. Danach wurde die Größe des Defekts erneut berechnet. Untenstehend sind die Ergebnisse tabellarisch und graphisch wiedergegeben.

Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt 7 Tage postoperativ	Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt 7 Tage postoperativ
31	1,18 mm ²	46	0,83 mm ²
32	1,88 mm ²	47	0,44 mm ²
33	0,66 mm ²	48	0,50 mm ²
34	0,98 mm ²	49	1,26 mm ²
35	1,18 mm ²	50	0,34 mm ²
36	1,56 mm ²	51	1,04 mm ²
37	0,55 mm ²	52	0,59 mm ²
38	2,01 mm ²	53	0,58 mm ²
39	1,11 mm ²	54	0,34 mm ²
40	1,11 mm ²	55	0,94 mm ²
41	0,59 mm ²	56	0,98 mm ²
42	0,59 mm ²	57	0,84 mm ²
43	1,11 mm ²	58	0,52 mm ²
44	1,06 mm ²	59	1,12 mm ²
45	1,66 mm ²	60	0,55 mm ²

Tabelle 8: Defektgrößen eine Woche postoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe

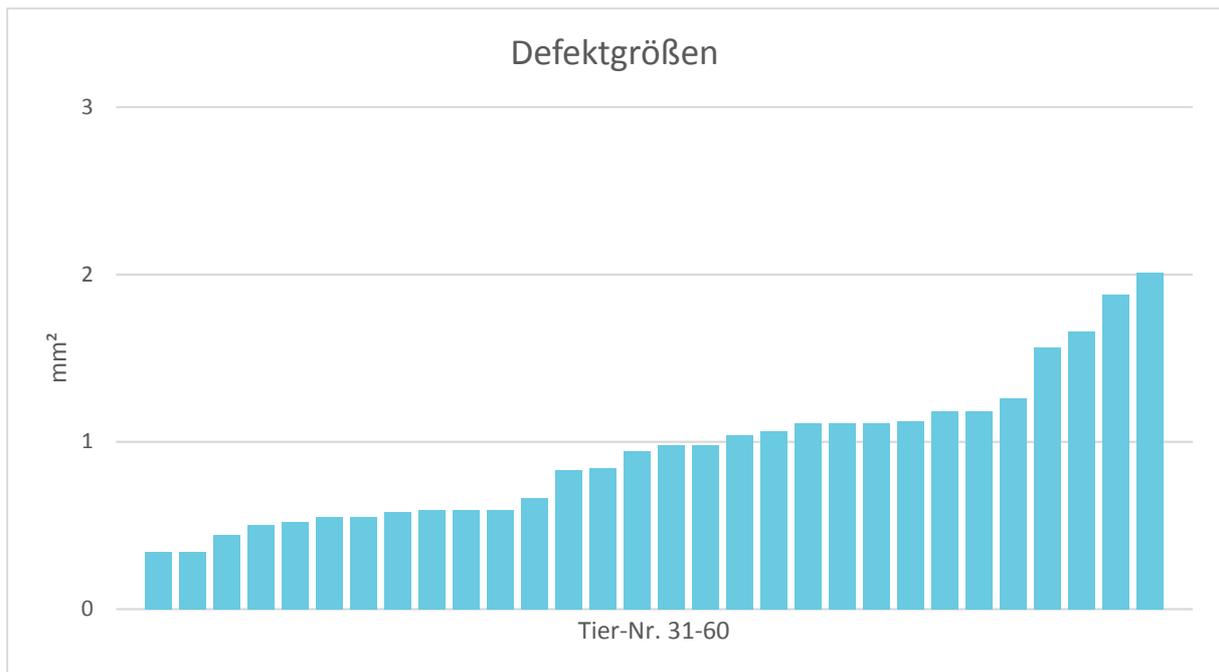


Abbildung 38: Graphische Darstellung der nach Größe sortierten Defekte eine Woche postoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe

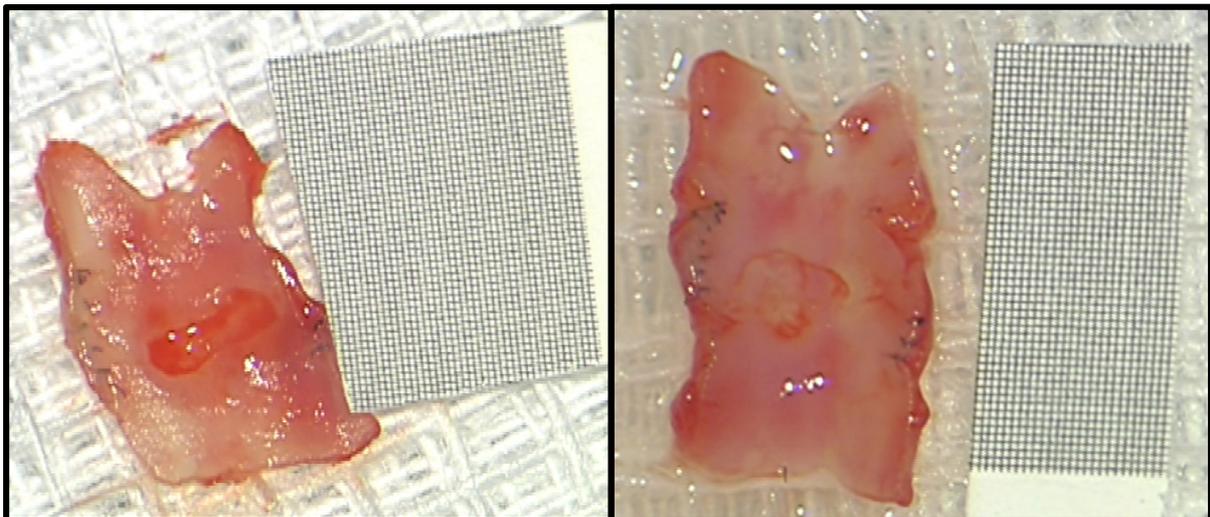


Abbildung 37: Gefäßwanddefekte unterschiedlicher Größe und Konfiguration eine Woche postoperativ

Im Folgenden werden Auffälligkeiten und Veränderungen bei der Beurteilung der mit den Gefäßwanddefekten präparierten Aortenabschnitte wiedergegeben. Dabei werden diese unterteilt in klinisch, angiographisch und histologisch sichtbare Veränderungen.

3.2.3 Klinische Veränderungen

3.2.3.1 Defektgrößen im zeitlichen Verlauf

Zu den klinisch sichtbaren Veränderungen zählen die erfassten Unterschiede in Größe und Ausdehnung der Läsionen. Nach Ausmessung der unterschiedlichen Defekte und dem Vergleich mit den jeweils korrespondierenden Defekten eine Woche postoperativ zeigte sich, dass es in fast allen Fällen zu einer Reduktion der Defektfläche kam. In lediglich einem Fall erwies sich die Defektfläche nach der Auswertung in der Größe als unverändert. Die stärkste Verkleinerung betrug $1,68\text{mm}^2$. Durchschnittlich reduzierte sich die Defektgröße um $0,75\text{mm}^2$. Prozentual betrug die größte Flächenreduktion 76,4%, durchschnittlich waren es 42,8%.

Nachfolgend werden die errechneten Größen der Defekte unmittelbar nach Setzen sowie eine Woche postoperativ gegenübergestellt. Weiterhin werden die Veränderung mittels Diagrammen und Graphiken veranschaulicht.

Tier- Nr.	Größe Gefäßwanddefekt		Tier-Nr.	Größe Gefäßwanddefekt	
	Intraoperativ	7 Tage postoperativ		Intraoperativ	7 Tage postoperativ
31	1,90 mm ²	1,18 mm ²	46	1,09 mm ²	0,83 mm ²
32	3,09 mm ²	1,88 mm ²	47	0,70 mm ²	0,44 mm ²
33	1,39 mm ²	0,66 mm ²	48	1,58 mm ²	0,50 mm ²
34	0,98 mm ²	0,98 mm ²	49	2,01 mm ²	1,26 mm ²
35	1,65 mm ²	1,18 mm ²	50	0,69 mm ²	0,34 mm ²
36	2,32 mm ²	1,56 mm ²	51	2,24 mm ²	1,04 mm ²
37	1,73 mm ²	0,55 mm ²	52	1,78 mm ²	0,59 mm ²
38	2,89 mm ²	2,01 mm ²	53	1,55 mm ²	0,58 mm ²
39	1,19 mm ²	1,11 mm ²	54	1,44 mm ²	0,34 mm ²
40	2,49 mm ²	1,11 mm ²	55	1,22 mm ²	0,94 mm ²
41	1,30 mm ²	0,59 mm ²	56	1,09 mm ²	0,98 mm ²
42	2,27 mm ²	0,59 mm ²	57	2,09 mm ²	0,84 mm ²
43	1,46 mm ²	1,11 mm ²	58	1,16 mm ²	0,52 mm ²
44	1,47 mm ²	1,06 mm ²	59	2,40 mm ²	1,12 mm ²
45	1,91 mm ²	1,66 mm ²	60	1,43 mm ²	0,55 mm ²

Tabelle 9: Gegenüberstellung der unmittelbar intraoperativ und eine Woche postoperativ gemessenen Defektgrößen bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe

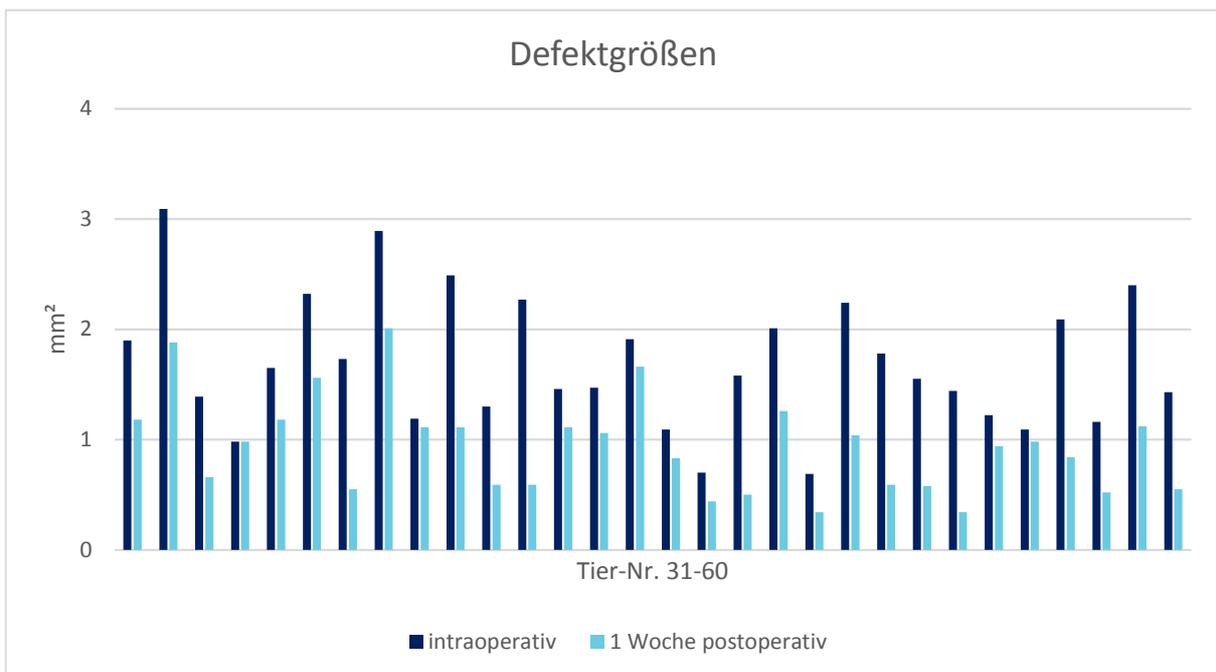


Abbildung 39: Graphische Gegenüberstellung der Defektgrößen intraoperativ und eine Woche postoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe

- Ergebnisse -

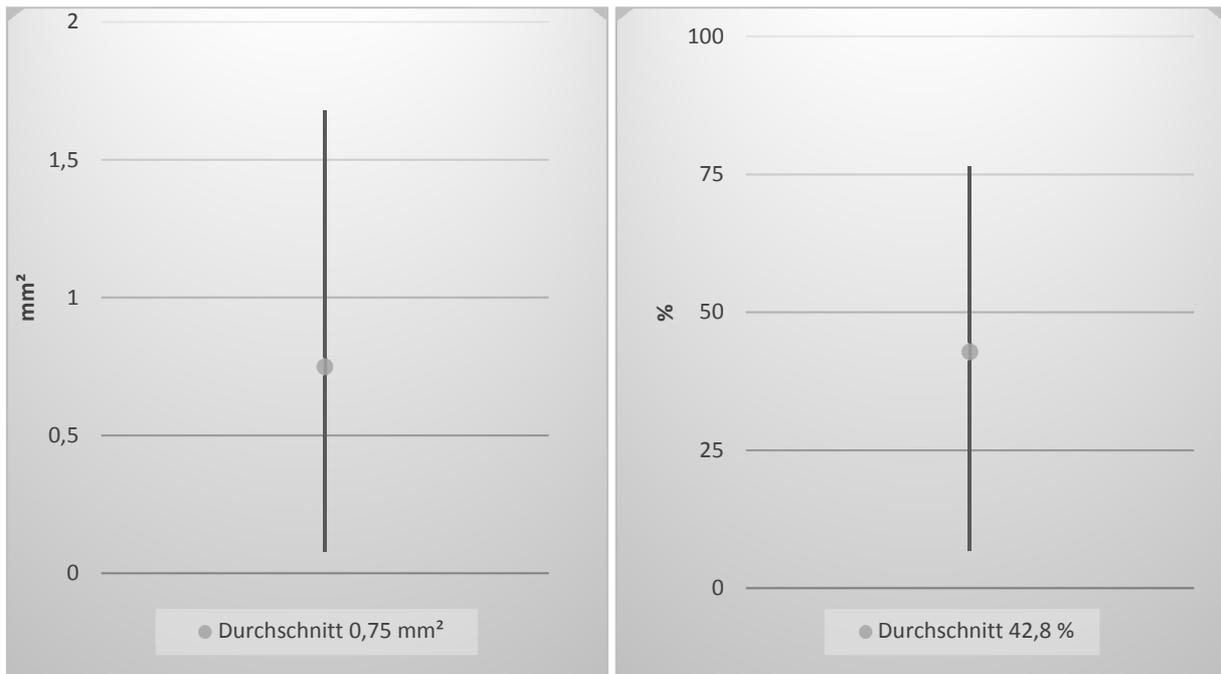


Abbildung 41: Defektflächenreduktion absolut (links) und prozentual (rechts) innerhalb einer Woche

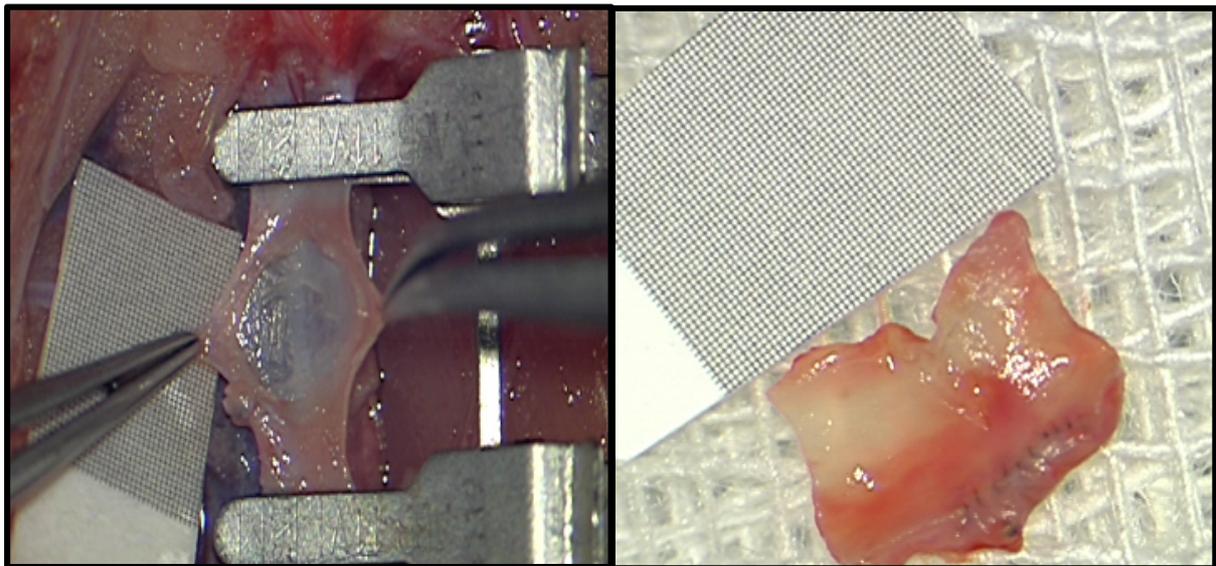


Abbildung 40: Präparierter Gefäßwanddefekt intraoperativ (links) und eine Woche postoperativ (rechts) in der Aorta desselben Tieres

3.2.3.2 Defektflächenkonfiguration im zeitlichen Verlauf

Die bereits im vorigen Abschnitt ersichtlich gewordene Defektflächenreduktion bei den Präparaten der zweiten Versuchsreihe soll nun in diesem Teil der Ergebnisauswertung genauer betrachtet werden. Besonderes Augenmerk gilt dabei der Konfiguration des „Restdefekts“ nach einer Woche gegenüber dem intraoperativ dokumentierten „Initialdefekt“.

Aufgefallen dabei ist, dass sich bei starker Flächenreduktion vor allem proximale und distale Anteile des ehemaligen Defekts zurückbildeten, laterale Anteile dagegen weniger. Beim Vergleich der Flächen von „Initialdefekt“ und „Restdefekt“ ergab die Auswertung in 17 Fällen eine Konfigurationsänderung. Sechsmal änderte sich die Konfiguration von *vertikal* zu *rundlich*, ebenfalls sechsmal von *rundlich* zu *horizontal* und fünfmal von *vertikal* zu *horizontal*. Nachfolgend werden beispielhaft die Bilder einiger Defekte im Verlauf dargestellt sowie die Defektkonfiguration und eine eventuelle Konfigurationsänderung tabellarisch festgehalten.

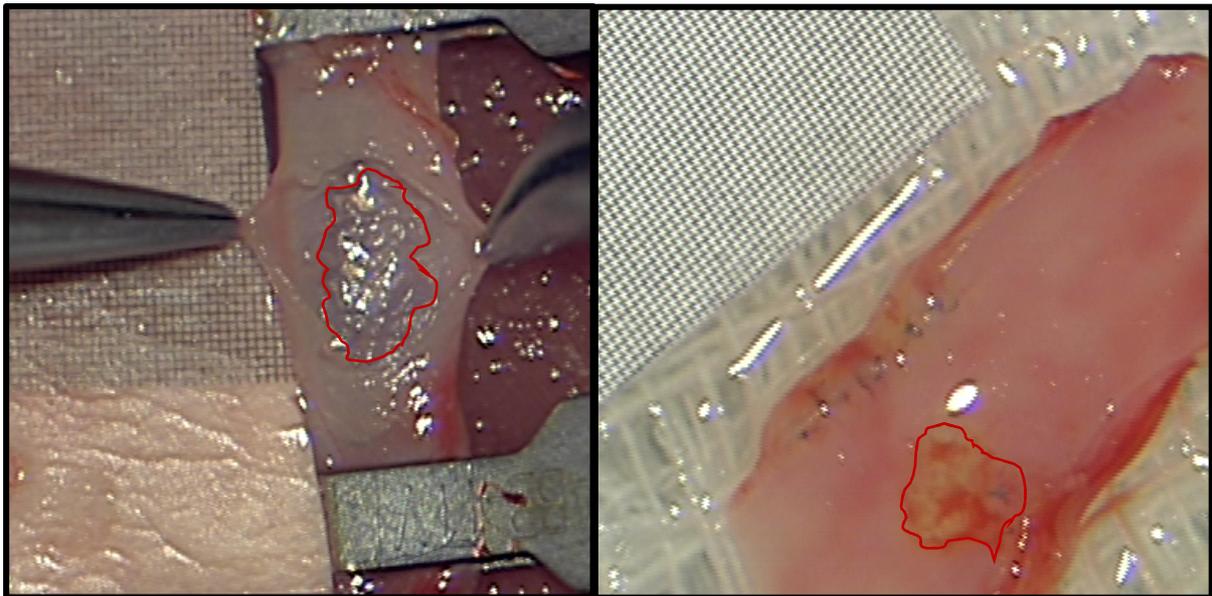


Abbildung 42: Intraoperative Situation (links): Zu sehen ist der ca. 2,24mm² große vertikal konfigurierte Defekt. Postoperativ (rechts): Eine Woche nach Defektsetzung ist ein deutlich kleinerer Defekt mit einer Größe von ca. 1,04mm² zu sehen, dessen Konfiguration sich hin zu einem rundlichen Defekt verändert hat

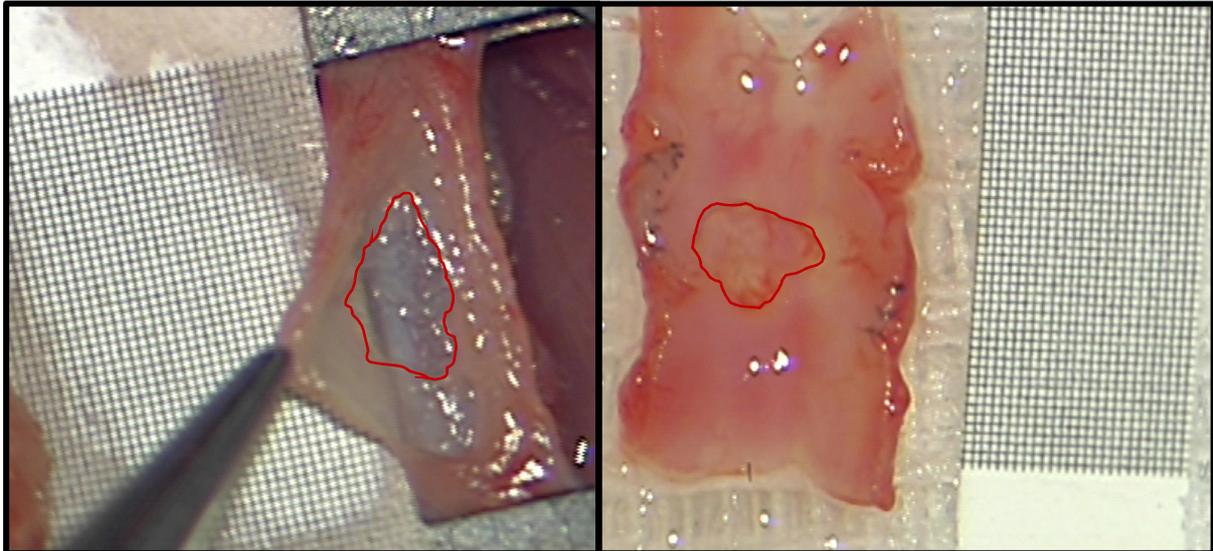


Abbildung 44: Der intraoperativ noch als „vertikal“ eingestufte Defekt (links) ist eine Woche postoperativ zu einem Defekt rundlicher Konfiguration geschrumpft (rechts)

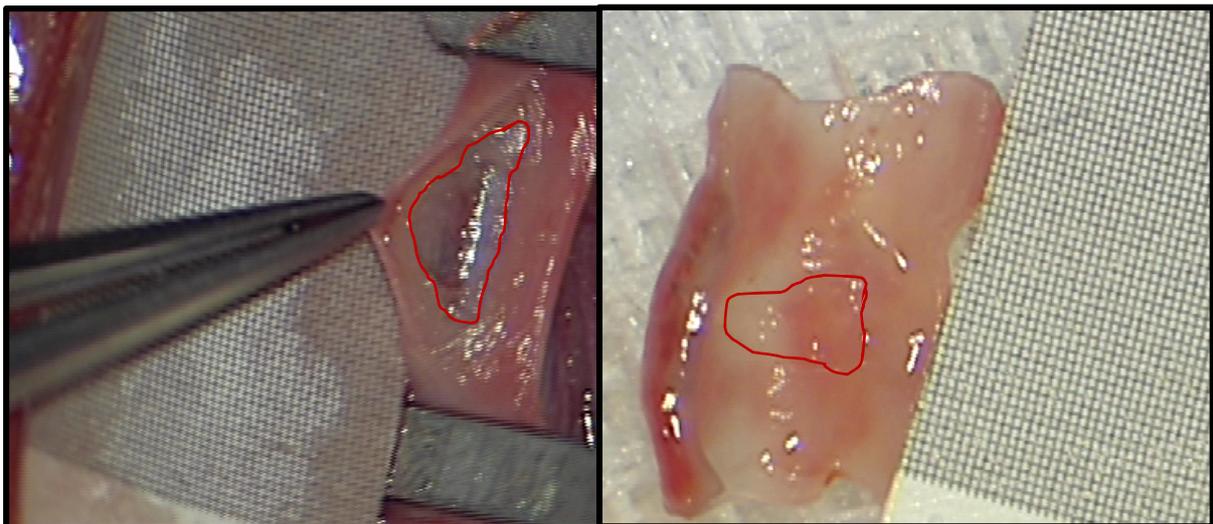


Abbildung 43: Weiteres Beispiel für eine Konfigurationsänderung der Läsionsfläche: Intraoperativ (links) vertikaler Defekt, eine Woche später (rechts) ist der Defekt kleiner und deutlich abgeflacht

Tier-Nr.	Defektkonfiguration 7 Tage postoperativ	Konfigurations- änderung	Tier-Nr.	Defektkonfiguration 7 Tage postoperativ	Konfigurations- änderung
31	rundlich	Nein	46	rundlich	Nein
32	horizontal	Ja	47	horizontal	Nein
33	horizontal	Nein	48	horizontal	Ja
34	rundlich	Nein	49	rundlich	Nein
35	horizontal	Nein	50	rundlich	Nein
36	rundlich	Nein	51	rundlich	Ja
37	horizontal	Ja	52	horizontal	Ja
38	horizontal	Ja	53	horizontal	Ja
39	horizontal	Nein	54	horizontal	Ja
40	rundlich	Ja	55	horizontal	Nein
41	rundlich	Ja	56	rundlich	Ja
42	horizontal	Ja	57	horizontal	Ja
43	horizontal	Ja	58	horizontal	Nein
44	rundlich	Ja	59	rundlich	Ja
45	rundlich	Nein	60	horizontal	Ja

Tabelle 10: Änderung der Defektflächenkonfiguration nach einer Woche bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe

3.2.3.3 Ablagerungen im Defektbereich

Weiterhin wurden im Rahmen der Beurteilung klinischer Veränderungen die Fotos der Gefäßpräparate unmittelbar post explantationem ausgewertet. Dabei wurde auf das Vorkommen von Thrombusmaterial im Bereich der gesetzten Gefäßwanddefekte geachtet und diese - falls vorhanden - weiter unterteilt in stationäre Thromben und Abscheidungsthromben. Die Unterteilung wurde durch die äußere Formgebung der Ablagerung sowie durch empirische Einschätzung vorgenommen und von einem zweiten unabhängigen Untersucher beurteilt.

Bei den 30 Tieren der ersten Versuchsreihe konnte in 13 Fällen Thrombusmaterial im Bereich des Gefäßwanddefekts identifiziert werden. Sieben davon wurden zur Kategorie der stationären Thromben, sechs dagegen den Abscheidungsthromben zugeordnet. In den übrigen Fällen konnten klinisch keine Thromben nachgewiesen werden.

Nachstehend werden die Ergebnisse noch einmal tabellarisch wiedergegeben.

Tier-Nr.	Stationärer bzw. Abscheidungsthrombus	Tier-Nr.	Stationärer bzw. Abscheidungsthrombus
1	Ja	16	Ja
2	Ja	17	Nein
3	Nein	18	Nein
4	Nein	19	Ja
5	Ja	20	Nein
6	Nein	21	Ja
7	Ja	22	Nein
8	Ja	23	Ja
9	Ja	24	Ja
10	Nein	25	Nein
11	Nein	26	Nein
12	Nein	27	Nein
13	Ja	28	Nein
14	Ja	29	Nein
15	Nein	30	Nein

Tabella 11: Klinischer Nachweis von Thrombusmaterial bei den Tieren der ersten Versuchsreihe unmittelbar post explantationem

3.2.4 Angiographische Veränderungen

Im Folgenden werden die Ergebnisse der ICG-Angiographien, die über den Bildschirm am Mikroskop live mitverfolgt und darüber hinaus für die weitere Bearbeitung aufgezeichnet wurden, systematisch dargestellt und ausgewertet.

3.2.4.1 Ausgangszustand

Nach sorgfältiger Freilegung der Aorta im Retroperitonealraum und vor Anlegen der Gefäßclips wurde bei allen Tieren eine ICGA im Ausgangszustand durchgeführt.

In allen Fällen zeigte sich hier eine normale Kontrastierung ohne Auffälligkeiten. Auch die farbliche Darstellung der Latenzzeiten erwies sich als unauffällig. Bei der Flussbestimmung zeigten sich im Kurvendiagramm regelhaft zwei Peaks, wobei der zweite kleiner als der erste ausfiel. Danach war eine kontinuierliche Abflutung des Fluoreszenzsignals zu beobachten.

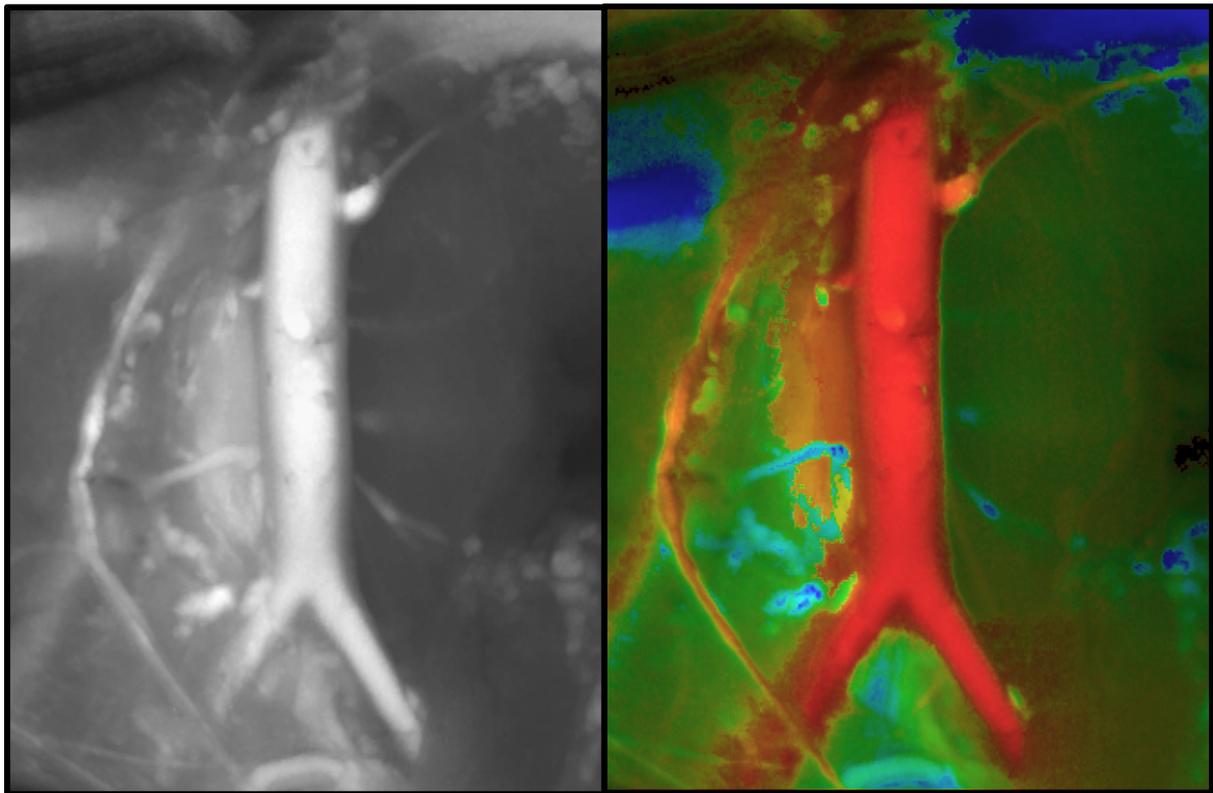


Abbildung 45: Beispiel einer normalen und im Ausgangszustand durchgeführten ICGA, dargestellt in Graustufen (links) und farbcodiert (rechts) Anm.: Alle weiteren Angiographiebilder in Kapitel 3.2.4, mit Ausnahme der intraoperativen Beispielfotos am Kapitelende, entstammen von demselben Versuchstier

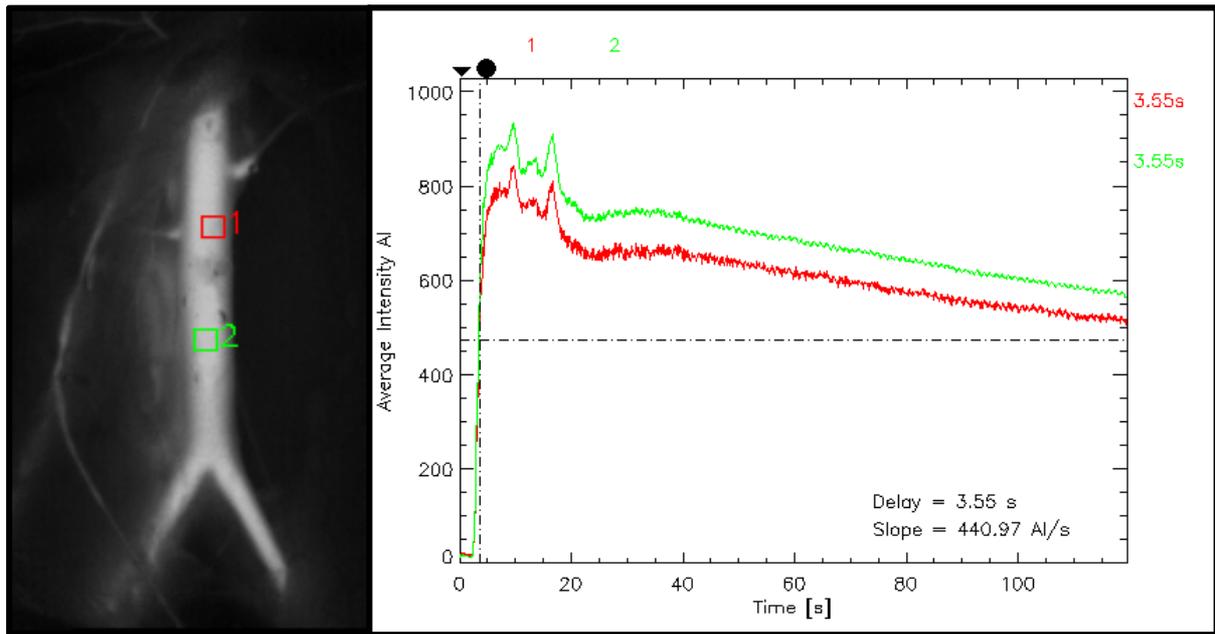


Abbildung 46: Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten im Ausgangszustand nach Setzen von ROI's (links) und dazugehöriges Kurvendiagramm (rechts)

3.2.4.2 Intraoperativ unmittelbar nach Defektsetzung

Nach Setzen des Gefäßwanddefekts und Wiederverschluss der Aorta wurde bei allen Tieren eine weitere ICGA durchgeführt, deren Auswertungen im Folgenden dargelegt werden sollen.

An den Gefäßwanddefekten konnten mithilfe der farbkodierten Aufnahmen punktuelle Veränderungen dargestellt werden, die einer geringeren Durchflussgeschwindigkeit entsprachen (s. Abb. 48). Auch im Bereich der Gefäßnaht konnten vereinzelt Flussveränderungen durch die Farbkodierung ermittelt werden.

Neben den farbkodierten Darstellungen wurden Veränderungen zum jeweiligen Ausgangszustand verglichen und auch mit Hilfe der Kontrastaufnahmen sichtbar. Dabei konnten nicht nur Kontraständerungen, welche in Ausprägung und Ausdehnung variierten, im Bereich des gesetzten Defekts dargestellt werden. Darüber hinaus konnten auch Veränderungen des Gefäßdurchmessers erfasst und somit Rückschlüsse auf die Durchlässigkeit gezogen werden. In 48 Fällen zeigte sich hierbei eine Kontrastminderung im Vergleich zur Voraufnahme, in 4 Fällen dagegen eine Kontraststeigerung im Bereich der Gefäßwandläsion. Dabei kam es in einem Fall mit gleichen Anteilen sowohl zu Kontraststeigerung als auch Kontrastminderung in den Aufnahmen. Bei 8 Tieren konnten keine Veränderungen der Kontrastierung ausgemacht werden. Bezüglich des

Gefäßdurchmessers wurde in 26 Versuchen eine mehr oder weniger stark ausgeprägte Stenosierung der Aorta beobachtet, in 7 Versuchen eine Dilatation im Bereich des gesetzten Defekts. Bei insgesamt 7 Versuchstieren konnte eine komplette Okklusion mit Hilfe der Aufnahmen nachgewiesen werden.

In den Kurvendiagrammen, die nach Markierung durch ROI's berechnet wurden, fanden sich im Vergleich zu den Voraufnahmen an korrespondierenden Stellen insgesamt wenige Veränderungen. In manchen Fällen konnte jedoch eine langsamere Abflutung des Fluoreszenzsignals beobachtet werden.

Nachstehend werden alle Beobachtungen nochmals - den jeweiligen Versuchstieren zugeordnet - tabellarisch aufgelistet.

Versuchsreihe 1				Versuchsreihe 2			
Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen	Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen	Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen	Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen
1	↓ *	16	↓ A	31	↓ A	46	↓
2	↓ *	17	↔	32	↓ *	47	↓ S
3	↑ A	18	↔ S	33	↓ S	48	↓ S
4	↓	19	↔ A	34	↓	49	↓
5	↓	20	↓ S	35	↓	50	↓ S
6	↓ S	21	↓ S	36	↓	51	↓
7	↓	22	↑ A	37	↓	52	↓
8	↔	23	↓ S	38	↓ S	53	↓
9	↓ S *	24	↓ S	39	↓	54	↔
10	↓	25	↑ A	40	↓	55	↔
11	↓	26	↓ S	41	↓ S	56	↓ S
12	↓ S	27	↑ A	42	↓ S	57	↓
13	↔ S	28	↓/↑ S	43	↔	58	↓
14	↓ S *	29	↓ S	44	↓ S	59	↓ S
15	↓ S *	30	↓ S *	45	↓ S	60	↓

Tabelle 12: Angiographisch sichtbare Veränderungen unmittelbar nach Wiederverschluss der Aorta durch Einzelknopfröhre;
 Zeichenerklärung: ↑=Kontraststeigerung, ↓=Kontrastminderung, ↔=keine Kontraständerung, S=Stenosierung,
 A=Dilatation, *=Okklusion

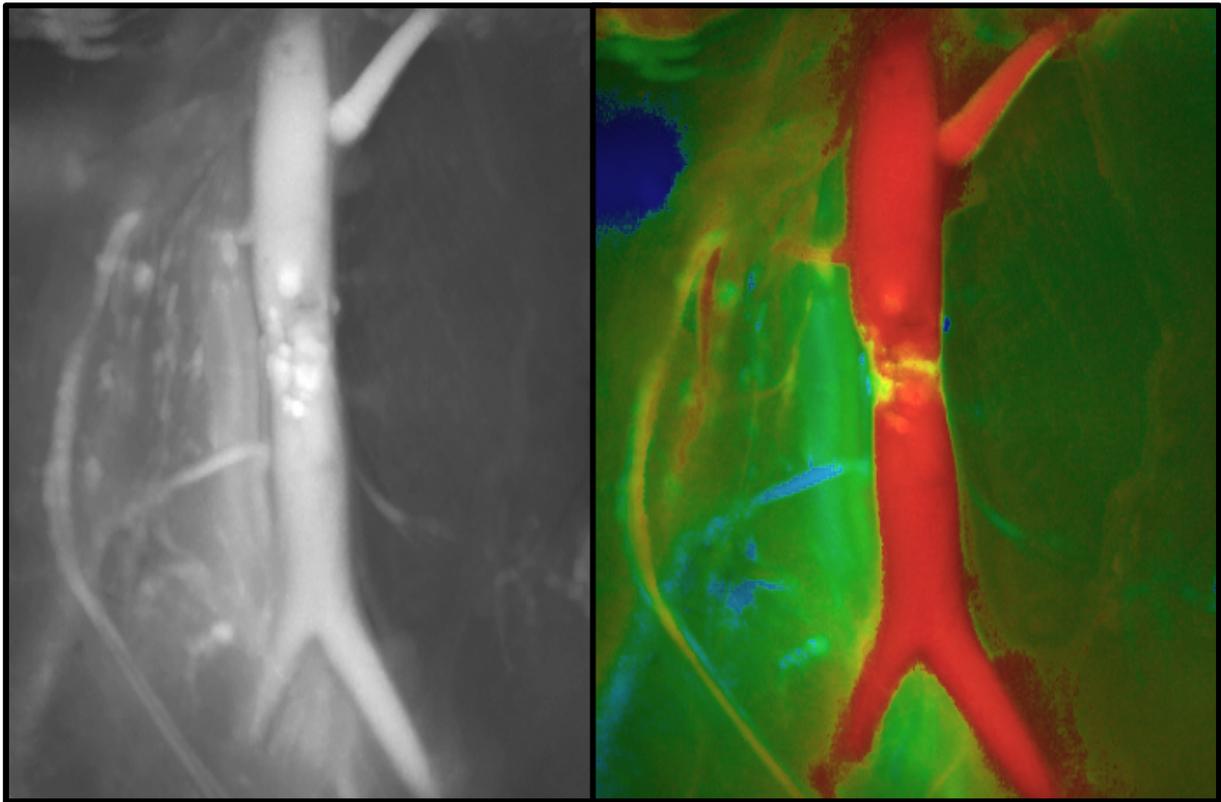


Abbildung 48: ICGA nach Gefäßwanddefektsetzung: Initiale Kontrastzunahme im Bereich des Defekts (links) und Farbwechsel im Sinne einer Flussminderung in der farbkodierten Darstellung (rechts)

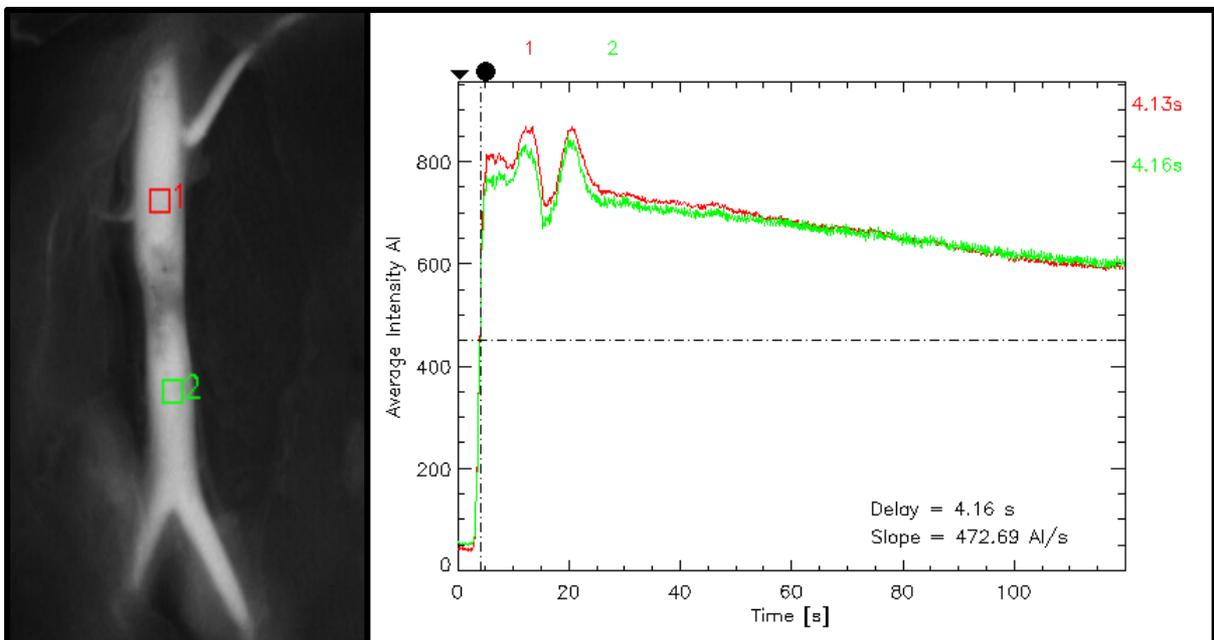


Abbildung 47: Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten proximal und distal des gesetzten Gefäßwanddefekts (links) mit korrespondierendem Kurvendiagramm (rechts)

3.2.4.3 Zweiteingriff eine Woche postoperativ

Sieben Tage nach Defektsetzung wurden die Tiere der zweiten Versuchsreihe re-laparotomiert. Anschließend wurde erneut eine ICGA vorgenommen.

Hier ergab die Auswertung der Angiographien folgende Ergebnisse: In 19 Fällen wurden keine sichtbaren Veränderungen der Kontrastierung dokumentiert, in 11 Versuchen konnte dagegen noch immer eine Kontrastminderung festgestellt werden. Stenosen und Dilatationen zeigten sich jeweils in nur einem Fall. Okklusionen wurden nicht beobachtet, sodass bei allen 30 Tieren der zweiten Versuchsreihe die Durchgängigkeit der Aorta eine Woche postoperativ nachgewiesen werden konnte.

Weiterhin zeigten die farbkodierten Aufnahmen unauffällige Darstellungen, vergleichbar zu denen im Ausgangszustand. In nur wenigen Fällen wurden noch punktuelle Farbunterschiede im Bereich des Gefäßwanddefekts beobachtet. Auch die Kurvendiagramme zeigten keine systematischen Veränderungen in ihren Verläufen und waren vergleichbar mit denen der Voraufnahmen.

Nachstehend werden auch hier die Ergebnisse noch einmal in Tabellenform wiedergegeben. Zur Veranschaulichung sind im Anschluss Momentaufnahmen der intraoperativ durchgeführten ICGAs als Beispielfotos dargestellt.

Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen	Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen	Tier-Nr.	Sichtbare Veränderungen
31	↔ A	41	↓	51	↔
32	↓	42	↔	52	↓
33	↔	43	↔	53	↓
34	↔	44	↓	54	↔
35	↔	45	↓	55	↔
36	↔	46	↔	56	↓ S
37	↓	47	↔	57	↔
38	↔	48	↓	58	↔
39	↔	49	↔	59	↔
40	↔	50	↓	60	↓

Tabelle 13: Angiographisch sichtbare Veränderungen bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe eine Woche postoperativ; Zeichenerklärung: ↓=Kontrastminderung, ↔=keine Kontraständerung, S=Stenosierung, A=Dilatation

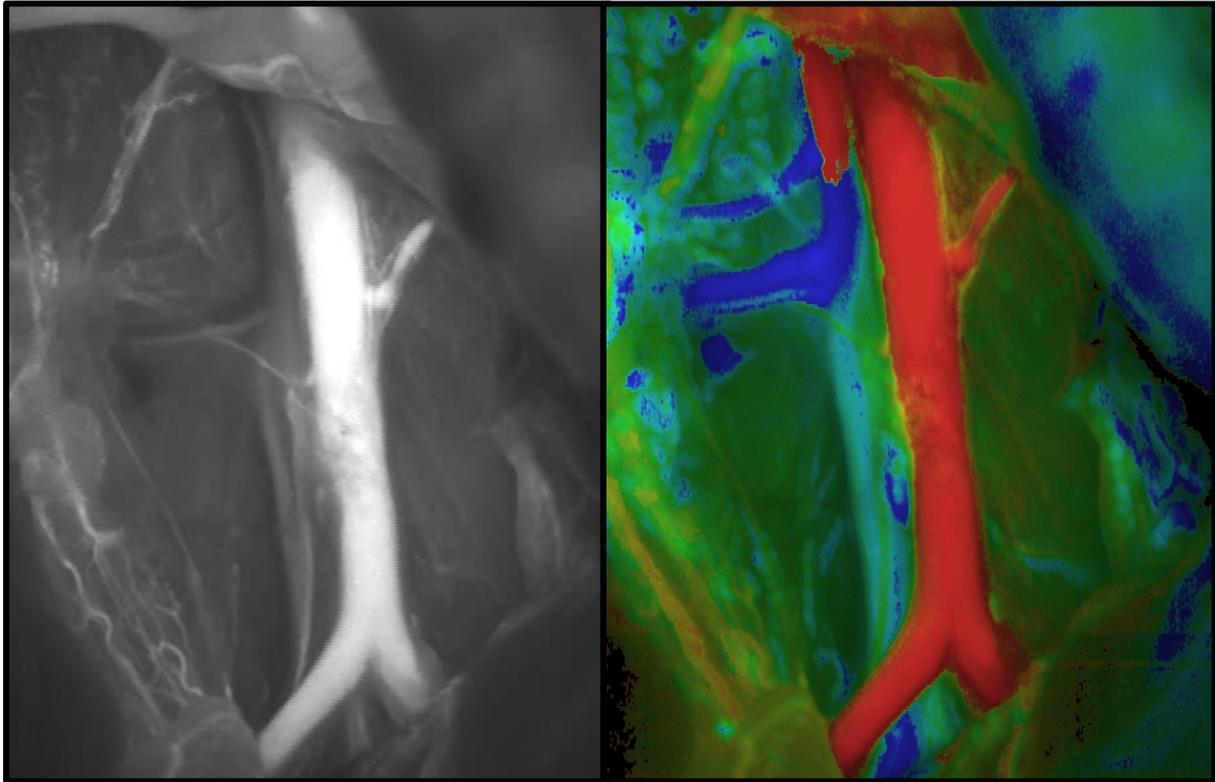


Abbildung 49: Beispiel einer ICGA sieben Tage postoperativ: Zu sehen sind nur minimale Veränderungen sowohl in der Kontrastaufnahme (links) als auch in der farbcodierten Aufnahme (rechts) im Vergleich zum Ausgangszustand

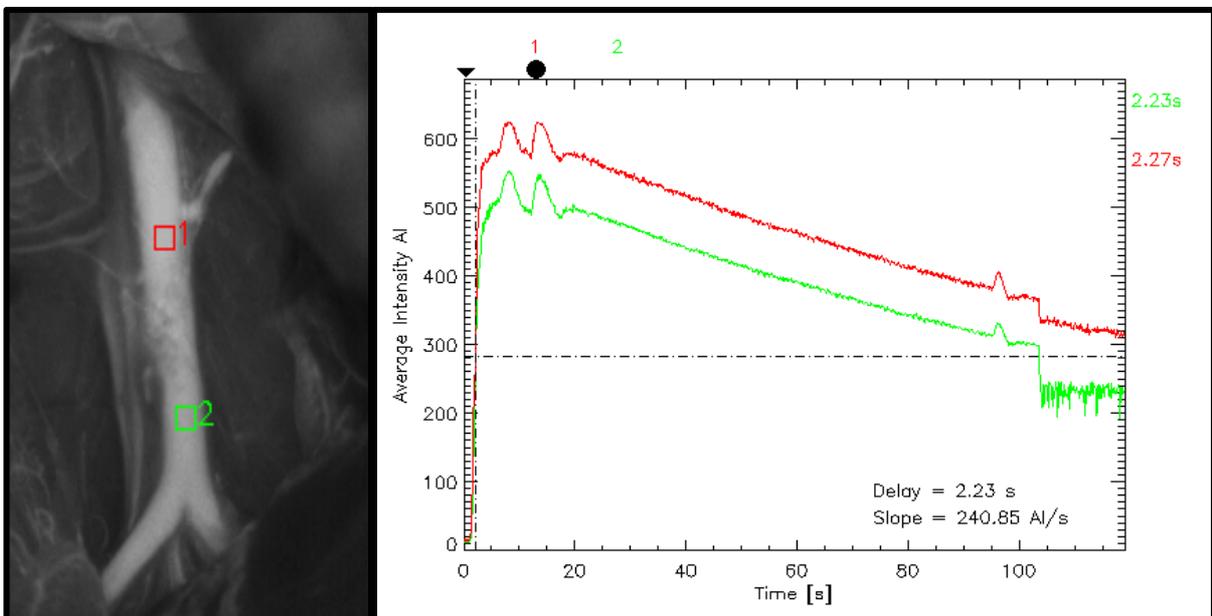


Abbildung 50: Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten proximal und distal des sieben Tage zuvor gesetzten Gefäßwanddefekts (links) mit korrespondierendem Kurvendiagramm (rechts)

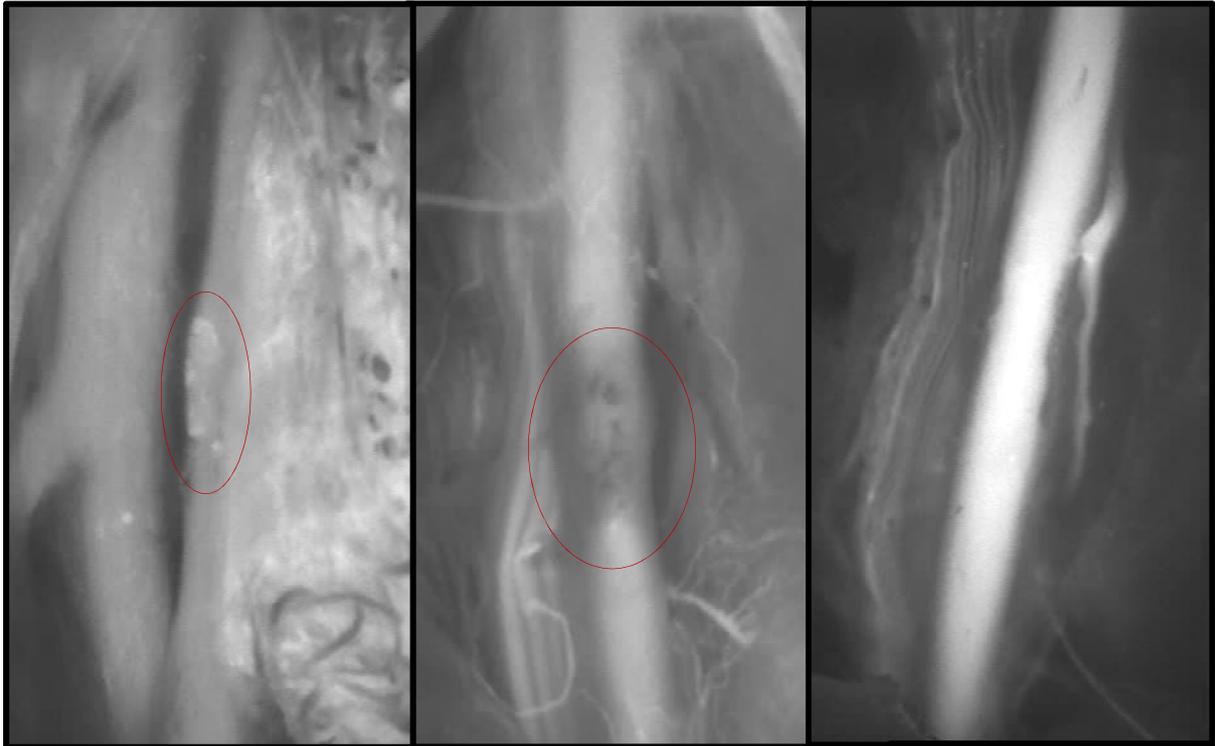


Abbildung 52: Beispiele intraoperativ beobachteter Kontrastierungen: Kontraststeigerung (links), Kontrastminderung (Mitte), keine Kontraständerung (rechts)

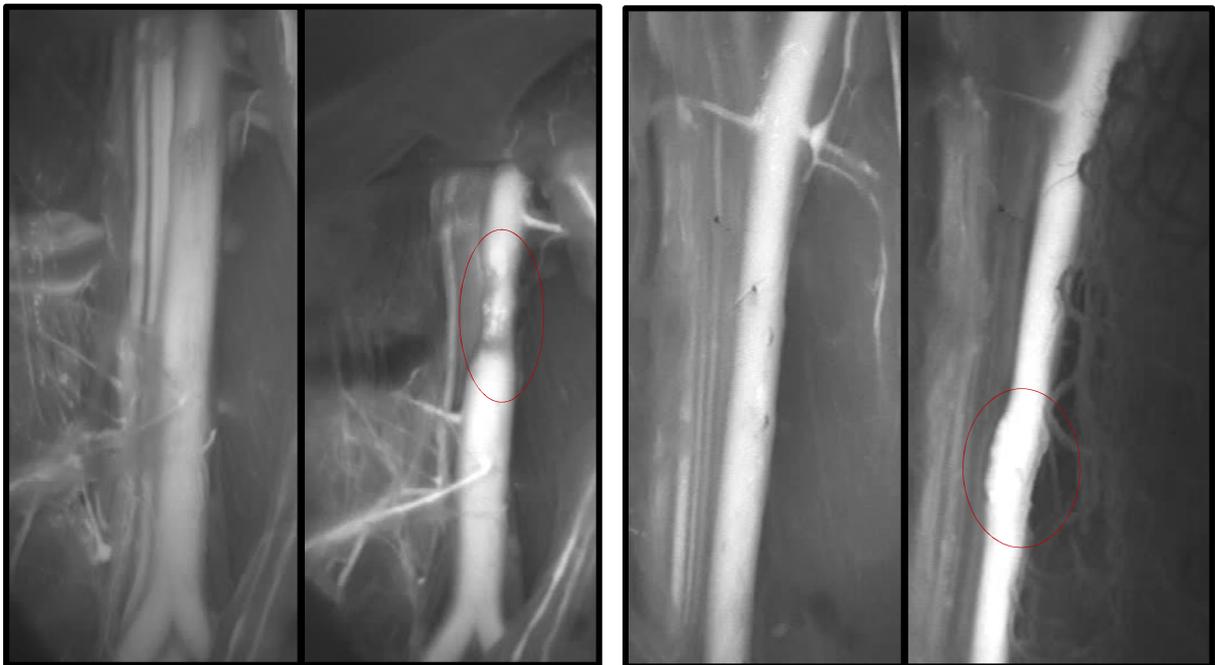


Abbildung 51: Vergleich des Gefäßdurchmessers vor und nach Defektsetzung: Stenosierung im Bereich der Gefäßwandläsion (links), Dilatation im Bereich der Gefäßwandläsion (rechts)

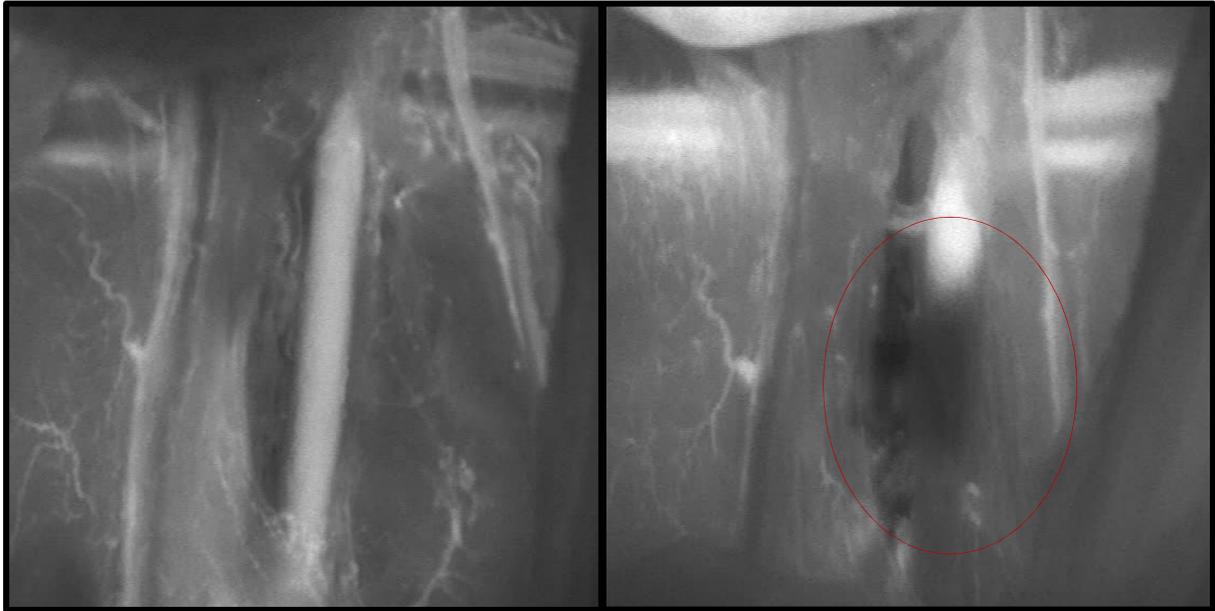


Abbildung 53: Angiographisch sichtbarer kompletter Verschluss des Gefäßes nach Defektsetzung (rechts); korrespondierende ICGA im Ausgangszustand (links)

3.2.5 *Histologische Veränderungen*

Weiterhin zählt zu den sichtbaren Veränderungen die Beurteilung und Auswertung der gesetzten Läsionen im Rahmen histologischer Untersuchungen. Dabei wurde insbesondere auf das Ausmaß des Gefäßwanddefekts sowie auf Ablagerungen von Thrombusmaterial im Defektbereich geachtet. Darüber hinaus werden in diesem Kapitel auch weitere histologische Auffälligkeiten, sowie zu Beginn das Vorgehen bei zwei für Vergleichszwecke dienende Präparate beschrieben.

3.2.5.1 *Vergleichspräparate zur Dokumentation*

Neben den 60 Tieren, bei denen im Rahmen der beiden Versuchsreihen die Gefäßwandläsionen gesetzt wurden, gab es außerdem zwei Vergleichstiere mit anderer Vorgehensweise im Operationsablauf.

In einem Fall wurde nach normaler Vorbereitung, Narkose, Aortenpräparation und -eröffnung auf der gegenüberliegenden Seite kein Defekt gesetzt. Es wurden lediglich Fotos zur Dokumentation angefertigt und nachfolgend die Aorta wie gewohnt verschlossen.

Beim zweiten Vergleichstier wurde wie üblich vorgegangen und ein Defekt gesetzt. Anschließend wurde auch hier die längs eröffnete Aorta wie gewohnt verschlossen. Der operierte Aortenbereich wurde nun aber im weiteren Verlauf nicht mehr durchblutet. Die Gefäßclips wurden belassen und der mit der Gefäßwandläsion präparierte und durch Naht wieder verschlossene Aortenabschnitt entnommen und fixiert.

Die Auswertung der Vergleichspräparate zeigte keine Atypien oder Auffälligkeiten, sodass sie als Referenz für die histologische Aufarbeitung der anderen Präparate herangezogen werden konnten.

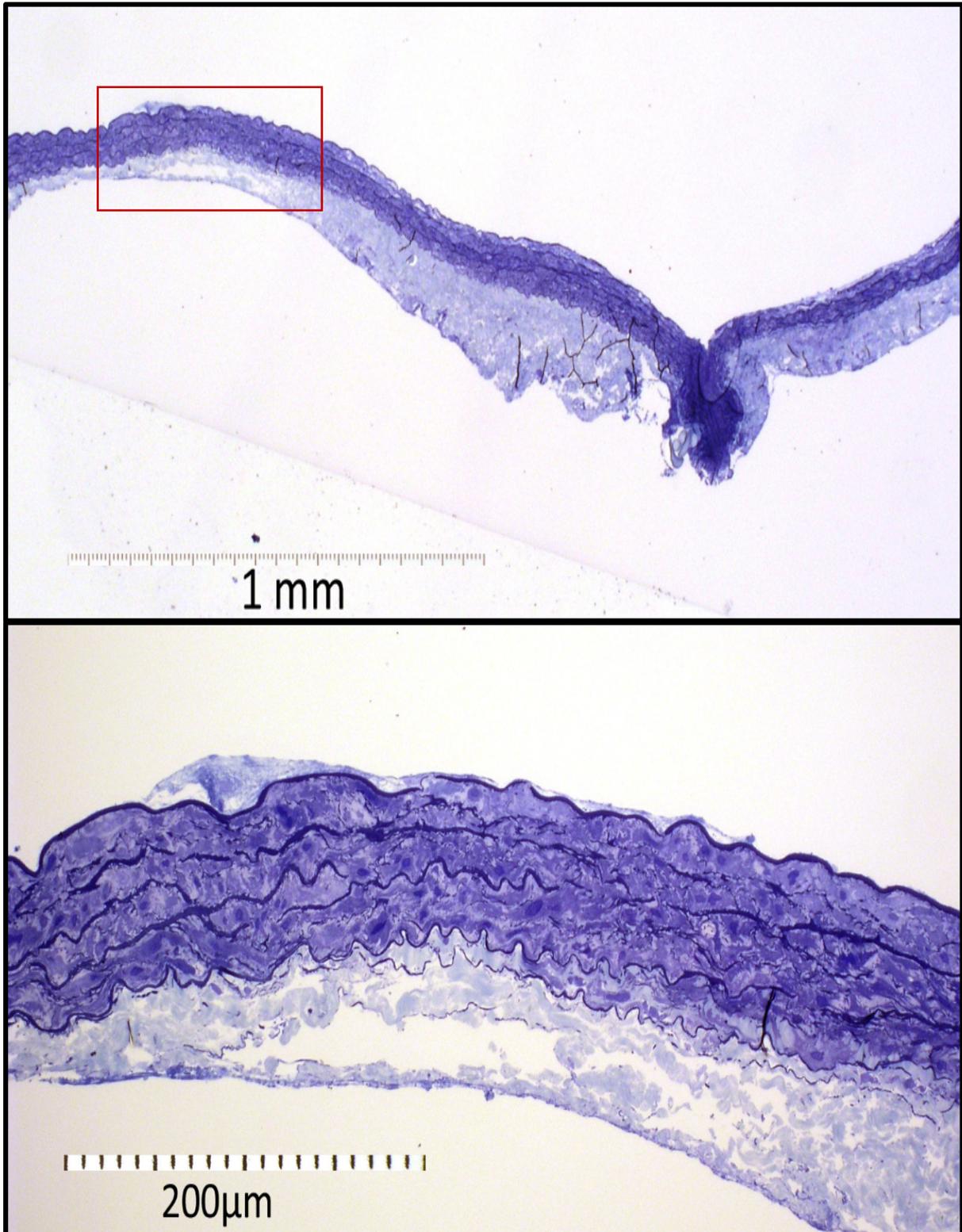


Abbildung 54: Vergleichspräparat ohne Gefäßwandläsion. Besonders in der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist der intakte dreischichtige Wandaufbau bestehend aus Intima, Media und Adventitia zu erkennen. Bis auf einen kleinen Bereich lassen sich endothelial und intraluminal keine Ablagerungen und kein Thrombusmaterial finden.

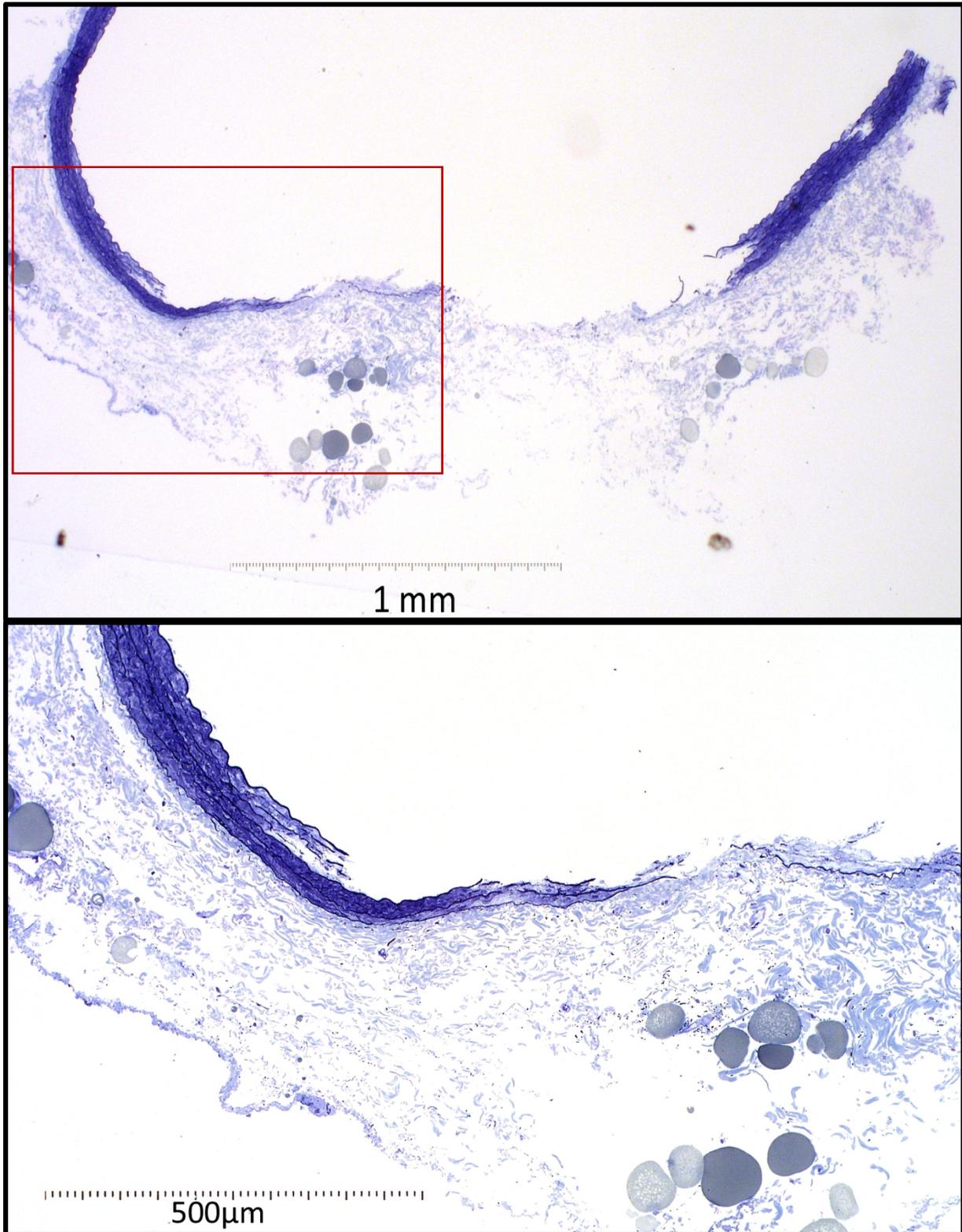


Abbildung 55: Vergleichspräparat mit Wandläsion ohne nachfolgende Durchblutung, das unmittelbar nach Gefäßnaht entnommen wurde. Zu sehen ist ein weitreichender Defekt bis in die Tunica adventitia vordringend.

3.2.5.2 Ablagerungen im Defektbereich

Insgesamt zeigten sich bei 46 Versuchstieren, davon 21 aus der ersten Versuchsreihe und 25 aus der zweiten Versuchsreihe, Ablagerungen thrombotischen Materials im Bereich des Gefäßwanddefekts. Diese unterschieden sich in Größe und Ausprägung und reichten dabei von nur geringfügig aufgebauten Ablagerungen bis hin zu weit nach intraluminal reichenden vor allem aus Erythrozyten bestehenden Koageln. Die Zusammensetzung der Thromben war stets gemischt. Neben Erythrozyten konnten auch immer diverse Leukozyten und vereinzelt Thrombozyten nachgewiesen werden. Weiterhin wurden in wenigen Fällen lokale Thrombozytenaggregationen an einer Neointima dokumentiert.

Nachfolgend ist der histologische Schnitt eines typischen Thrombus in verschiedenen Vergrößerungen dargestellt.

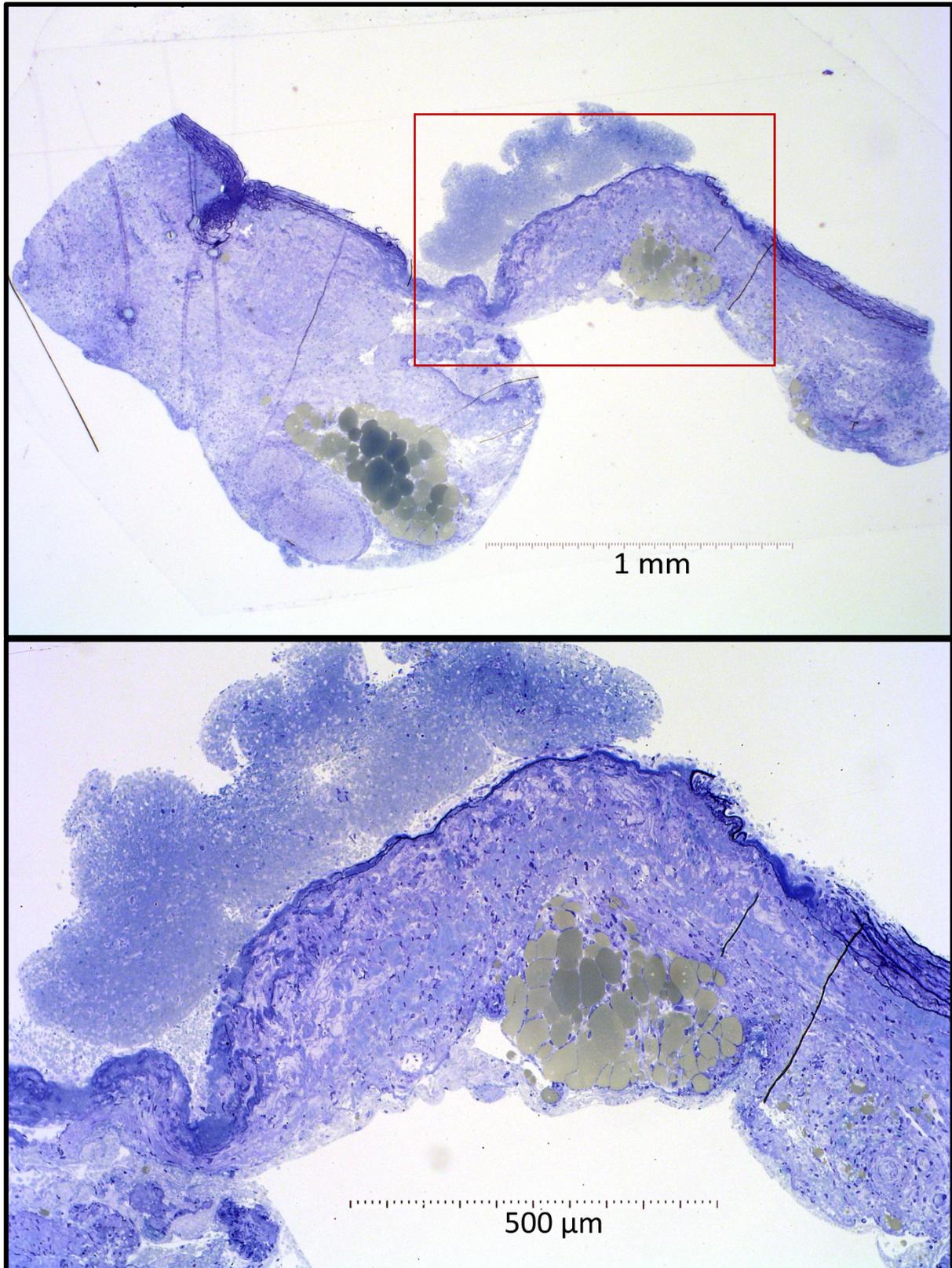


Abbildung 56: Zu sehen ist die vollständige Gefäßwand mit Intima, Media und Adventitia. In der Ausschnittvergrößerung (rotes Rechteck) ist ein intraluminal liegender Thrombus erkennbar, der an den Bereich des gesetzten Gefäßwanddefekts anhaftet.

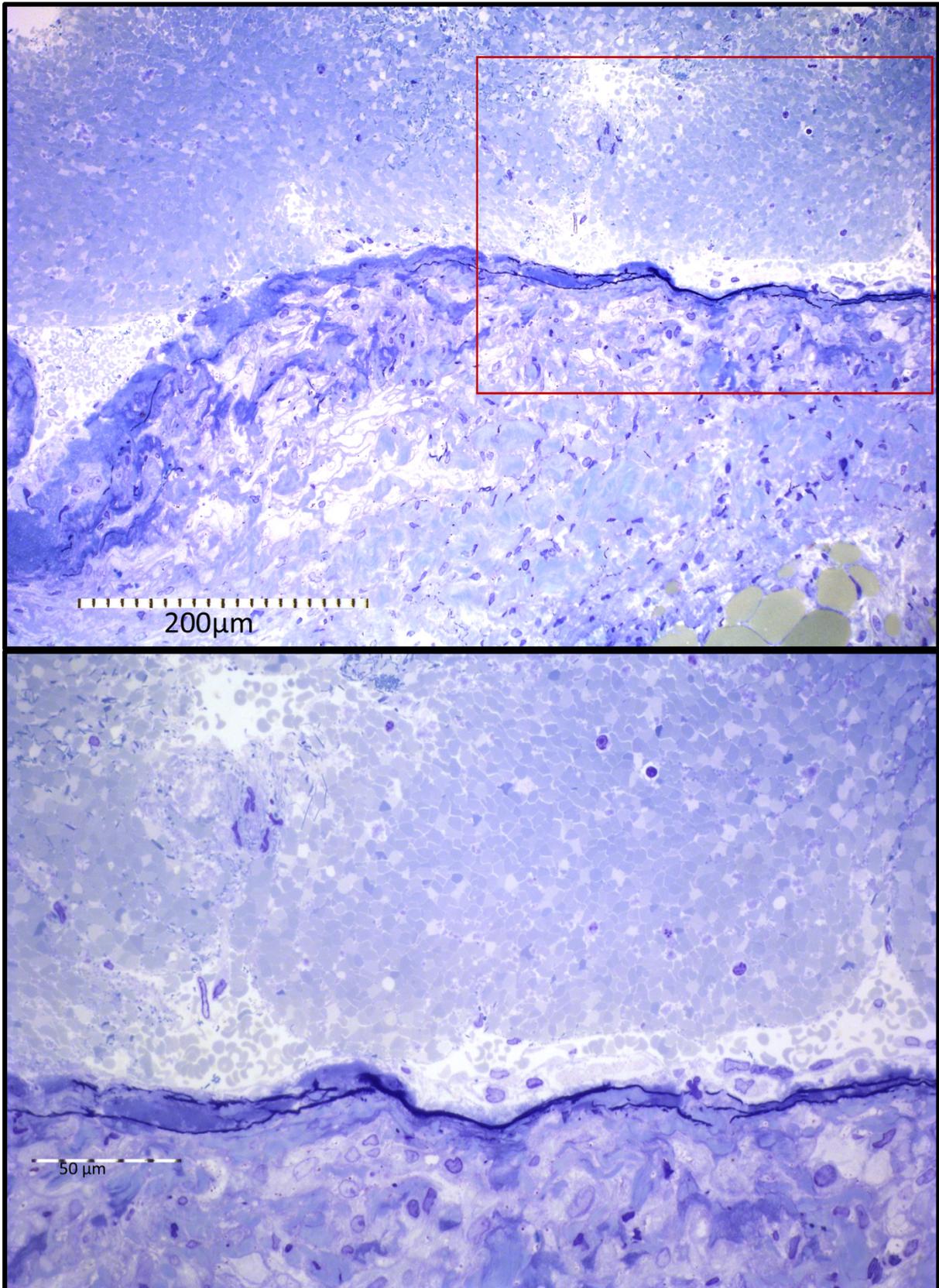


Abbildung 57: Bei stärkerer Vergrößerung lässt sich die Zusammensetzung des Thrombus genauer beurteilen: Zu erkennen sind reichlich Erythrozyten mit vereinzelt Leukozyten und Thrombozyten.

3.2.5.3 Defektausdehnung in die Tiefe

Neben der Zusammensetzung des gefundenen Thrombenmaterials an den Gefäßwanddefekten wurden auch diese selbst bezüglich ihrer Ausdehnung histologisch untersucht. Wie bereits mithilfe der intra- und postoperativen Bildaufnahmen festgestellt, war die Größe der gesetzten Defektflächen uneinheitlich. Auch waren die Defekte in Bezug auf ihre Ausdehnung in die Tiefe uneinheitlich. So konnten Läsionen gefunden werden, die nur bis zum inneren Mediafach reichten. Daneben gab es aber auch Läsionen, die sich in alle Mediafächer ausdehnten bis hin zur äußeren Membrana elastica externa. In einigen Präparaten ließen sich darüber hinaus auch Läsionen darstellen, die bis in die Schicht der Adventitia reichten.

Im Anschluss sind histologische Aufnahmen verschieden stark ausgeprägter Gefäßwandläsionen in unterschiedlichen Vergrößerungen dargestellt.

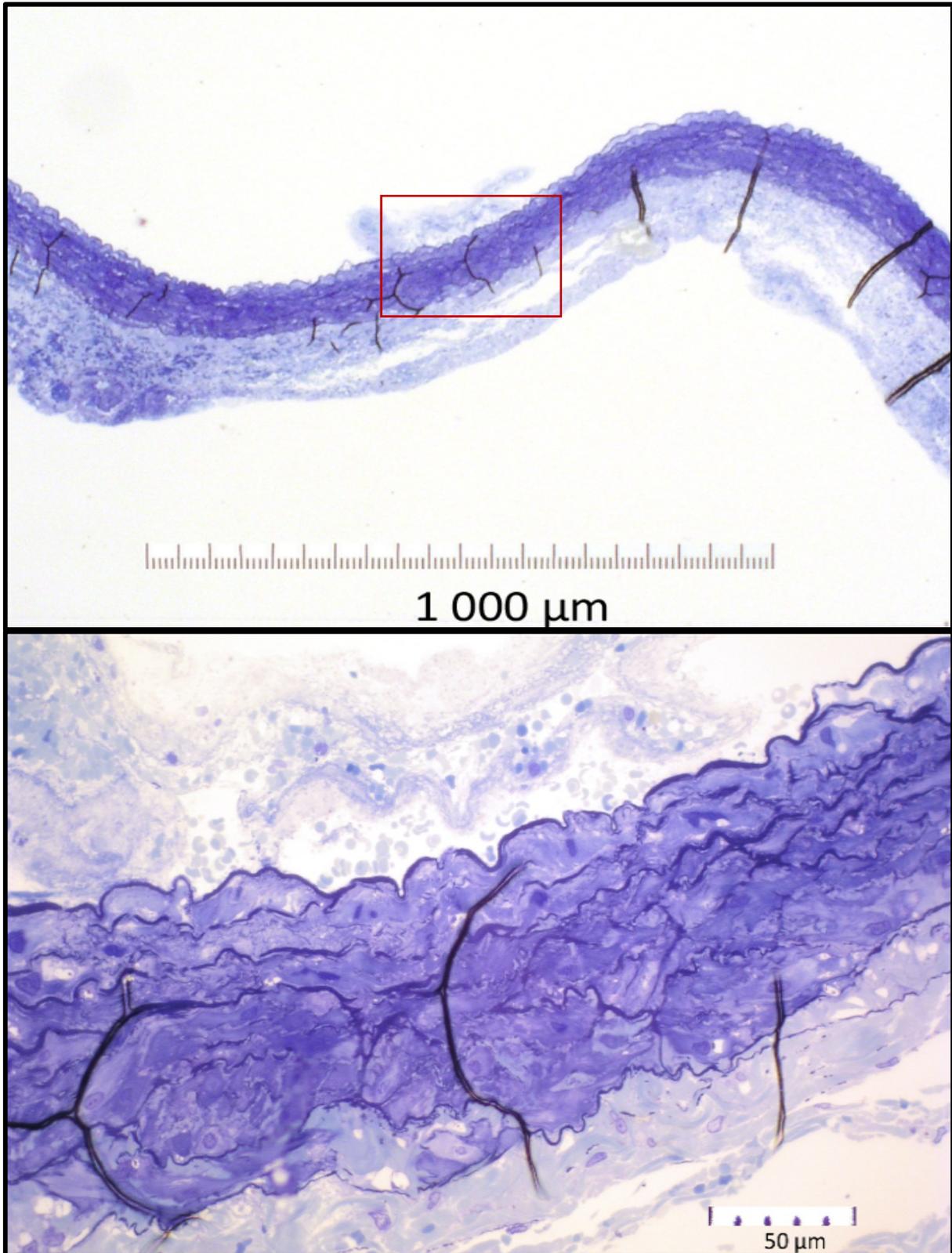


Abbildung 58: Beispiel einer geringen Läsionstiefe: Zu sehen ist der dreischichtige Wandaufbau der Aorta mit intakter Tunica media und Tunica adventitia. In der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist zudem die Ablagerung von Thrombusmaterial im Bereich der zuvor entfernten Tunica intima sichtbar.

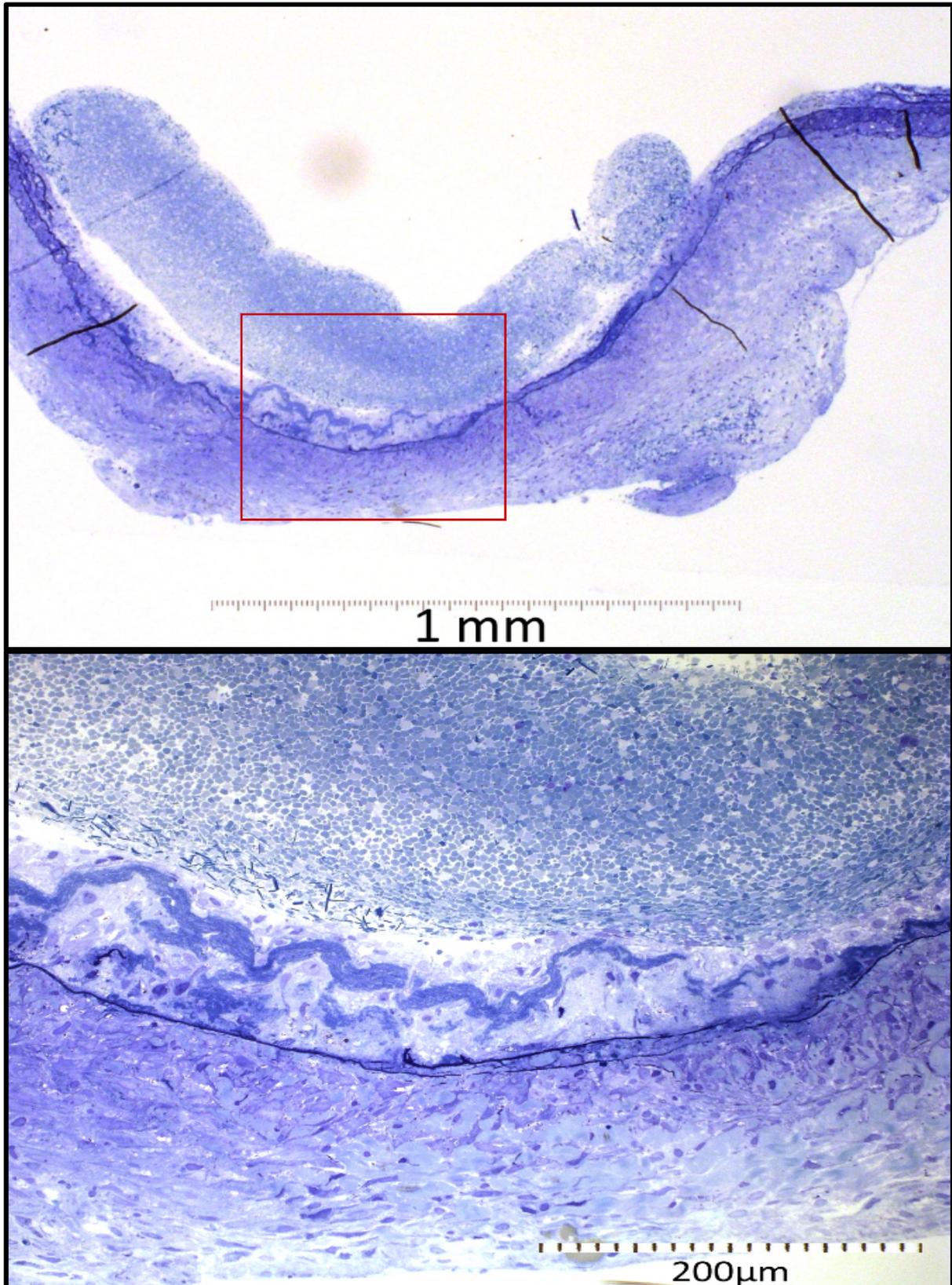


Abbildung 59: Beispiel einer Läsion, die alle Mediafächer erreicht: Gut sichtbar ist die beschädigte Tunica media sowie die noch intakte und fortlaufende Membrana elastica externa. Weiterhin ist im Bereich der Defektsetzung intraluminal Thrombusmaterial nachweisbar.

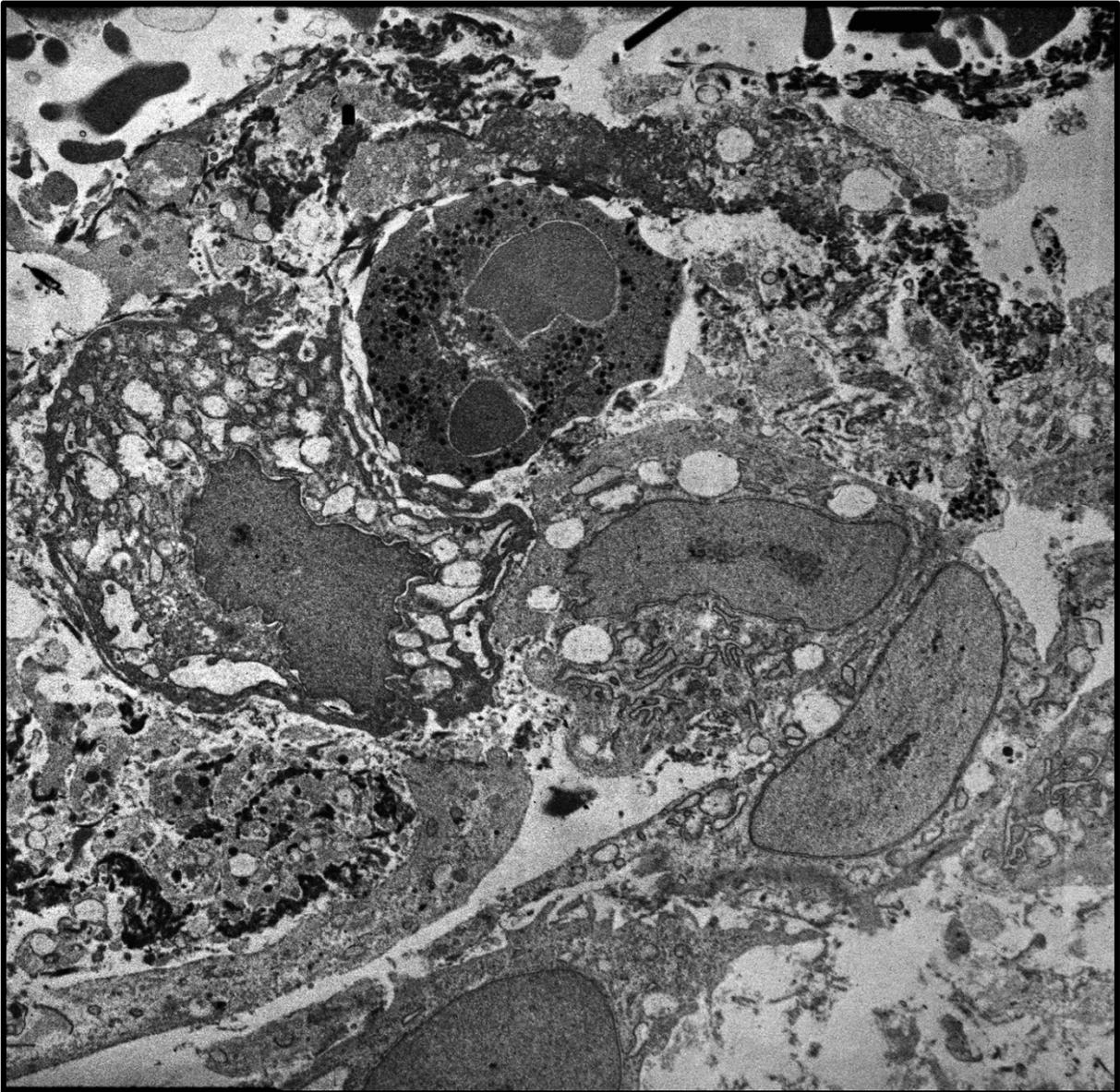


Abbildung 60: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Abschnittes des zuvor gezeigten Präparates, die den Thrombus sowie neugebildete Neointima zeigt.

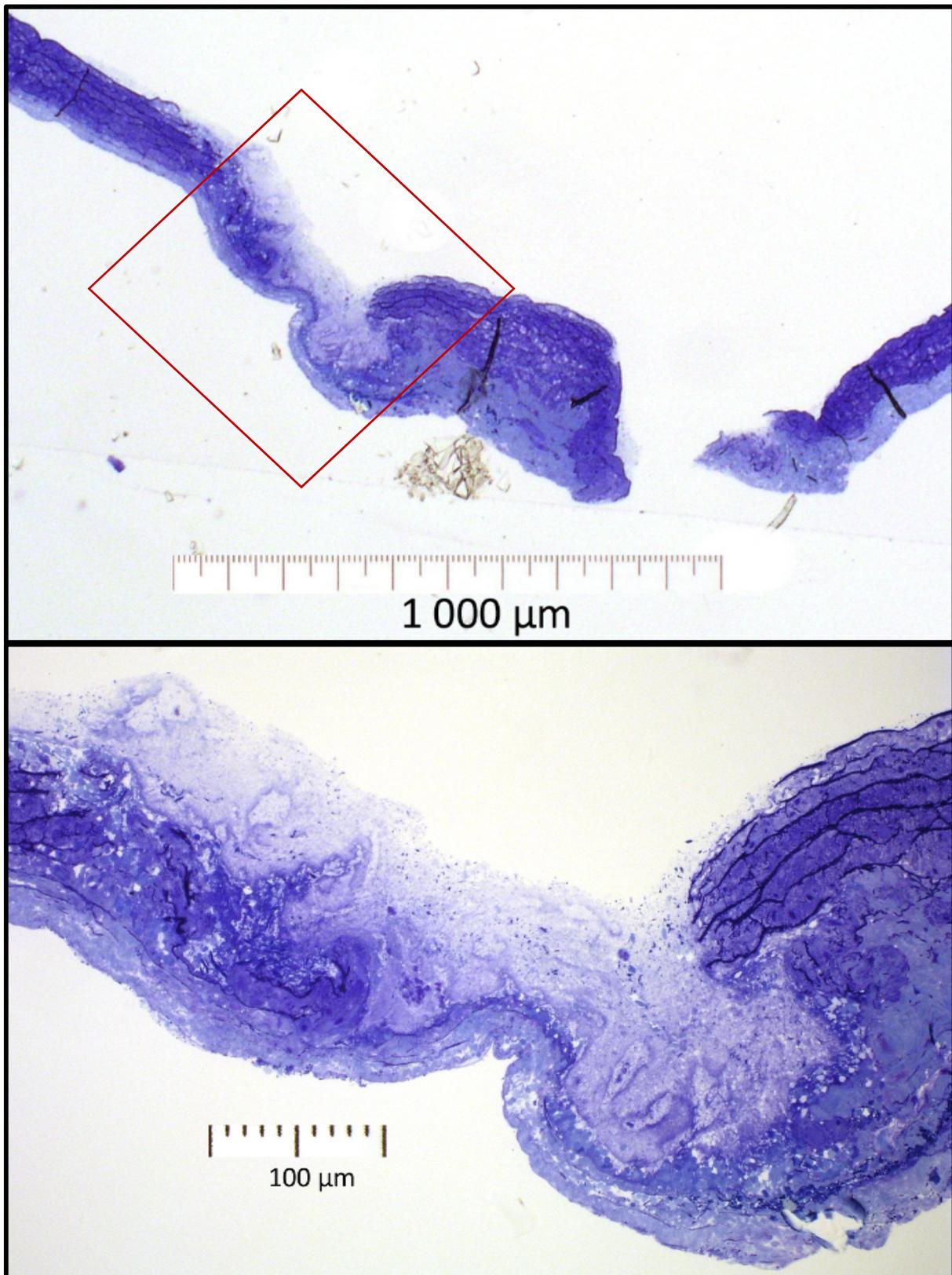


Abbildung 61: Beispiel einer ausgeprägten Läsionstiefe: Erkennbar ist ein ausgedehnter Gefäßwanddefekt bis weit in die Schicht der Adventitia vordringend. Rechts ist der vollständige Abbruch der Tunica media zu erkennen, daneben Ablagerungen thrombotischen Materials, die den Bereich des ehemaligen Defekts ausfüllen.

3.2.5.4 *Veränderungen im zeitlichen Verlauf*

Weiterer Schwerpunkt bei den histologischen Auswertungen waren die Veränderungen im Bereich der Läsionen bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe, die nach Defektsetzung noch für sieben Tage beobachtet wurden.

Hier konnte gezeigt werden, dass es zur Bildung eines Neoendothels und einer Neointima kam. Die Zellen des Neoendothels stellten sich mikroskopisch flach oder isoprismatisch mit apikalen Mikrovilli dar. Untereinander bildeten sich Zellverbände mit tight junctions und gap junctions. Elektronenmikroskopisch wurden in basalen Zellkompartimenten Aktinfilamente deutlich, die Cisternen des rauen endoplasmatischen Retikulums waren erweitert. Basallaminae konnten lokal gefunden werden, waren jedoch nicht durchgängig. Das Neoendothel bildete somit eine inkomplette Endothelbarriere zum Blut.

Die Neointima wies inhomogene Zelltypen auf. Gefunden wurden Myofibroblasten, Makrophagen, Schaumzellen, vereinzelt auch neutrophile Granulozyten. Die Myofibroblasten stammten dabei aus läsionsnahen Mediafächern oder sind aus transformierten Stammzellen der Adventitia hervorgegangen. Makrophagen, die sich aus Monozyten entwickelten, und neutrophile Granulozyten gelangten aus dem Blut in die Neointima. Die Anordnung der Zellen war retikulär, die Zelllage einfach oder mehrfach. Neben apoptotischen Zellen konnten Mitosen beobachtet sowie die Bildung von Proteoglykanen, kollagenen und elastischen Fasern nachgewiesen werden.

Neben Neoendothel und Neointima wurde im Bereich des Läsionsgrundes je nach Tiefe der Läsion ein Fibrinnetz unterschiedlicher Dicke gefunden, das über Makrophagen abgebaut und anschließend aufgelöst wurde. Überdies zeigte die Adventitia Zellen mit phänotypischer Zelltransformation in Myofibroblasten. Diese Reaktion war unterschiedlich stark ausgeprägt und schien keinen Bezug zu Größe und Tiefe der Läsion zu haben. Bei großflächigem Läsionsgrund konnte diese zelluläre Reaktion lokal auch ganz fehlen. Es wurden unterschiedliche Mengen von Erythrozyten in der Adventitia gefunden, in zwei Präparaten waren zudem Thrombozytenaggregationen vorhanden. Neovaskularisationen und zelluläre entzündliche Reaktionen konnten nicht nachgewiesen werden. Bezüglich der Media war der Erhalt von Myozyten in läsionsbenachbarten Fächern unterschiedlich. Es wurden Zelluntergänge mit cytoplasmatischen Vakuolen bis zu Apoptosen beobachtet. Daneben gab es teils leere Fächer mit kollagenem Bindegewebe und Proteoglykanen, Reste von elastischen Membranen sowie Mitosen und Myoblastenreaktionen.

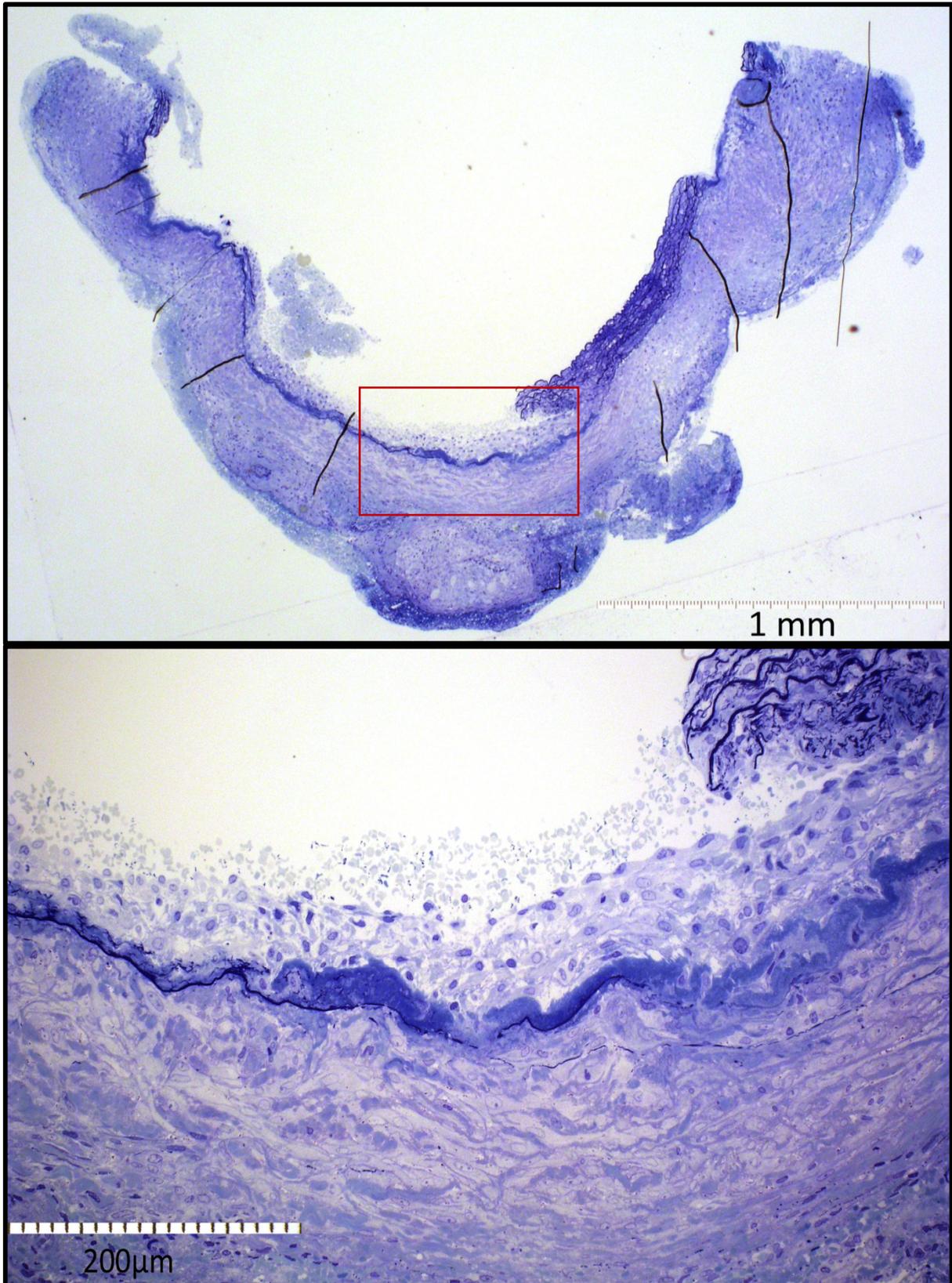


Abbildung 62: Aortenpräparat eines Tieres aus der zweiten Versuchsreihe: Gut sichtbar in der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist das entstandene Neendothel mit darunterliegender Neointima im Läsionsbereich.

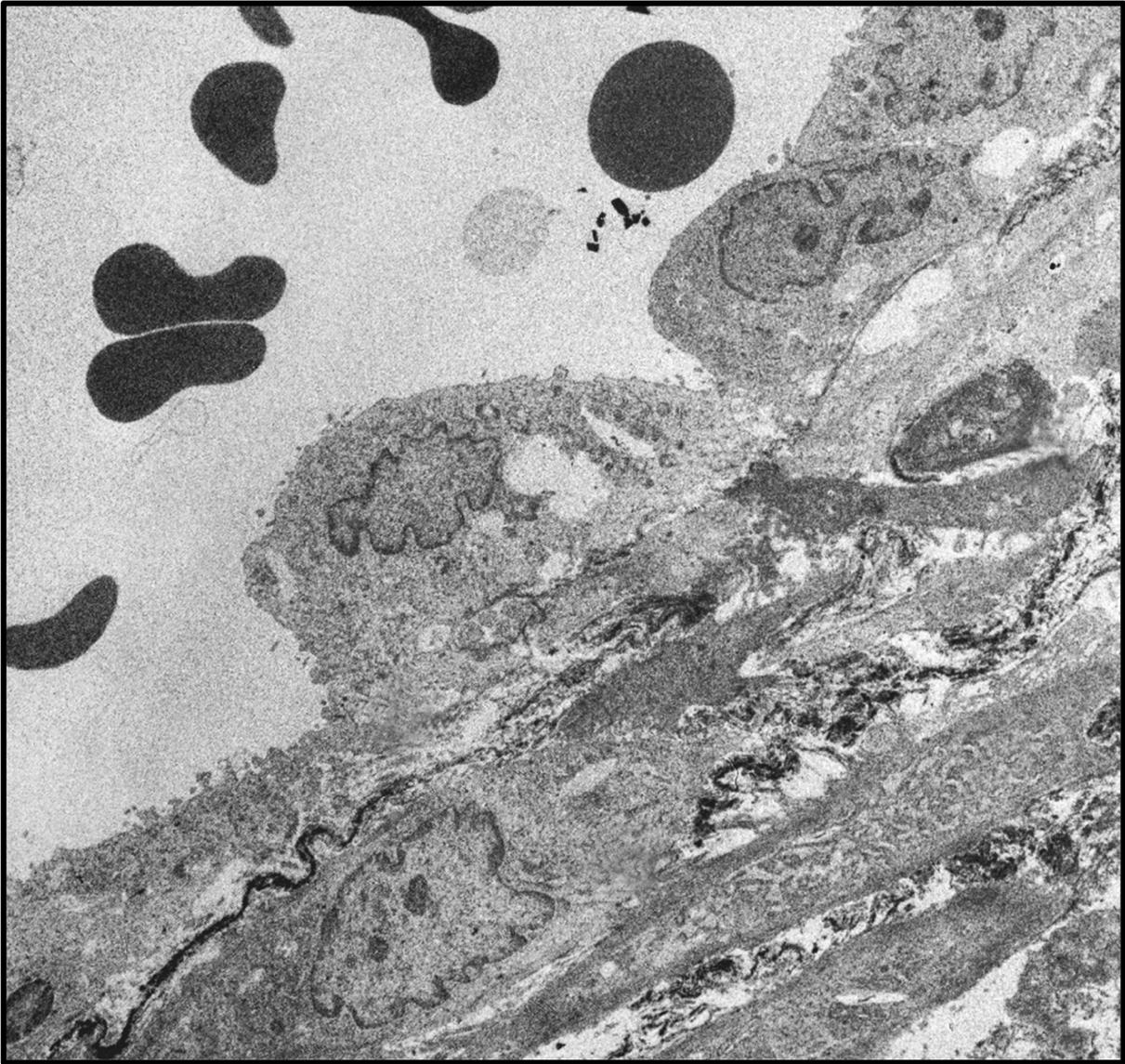


Abbildung 63: Elektronenmikroskopische Aufnahme vom Läsionsgrund der Aorta eines Tieres aus der zweiten Versuchsreihe mit neuentstandenem Neoendothel und darunterliegender Neointima.

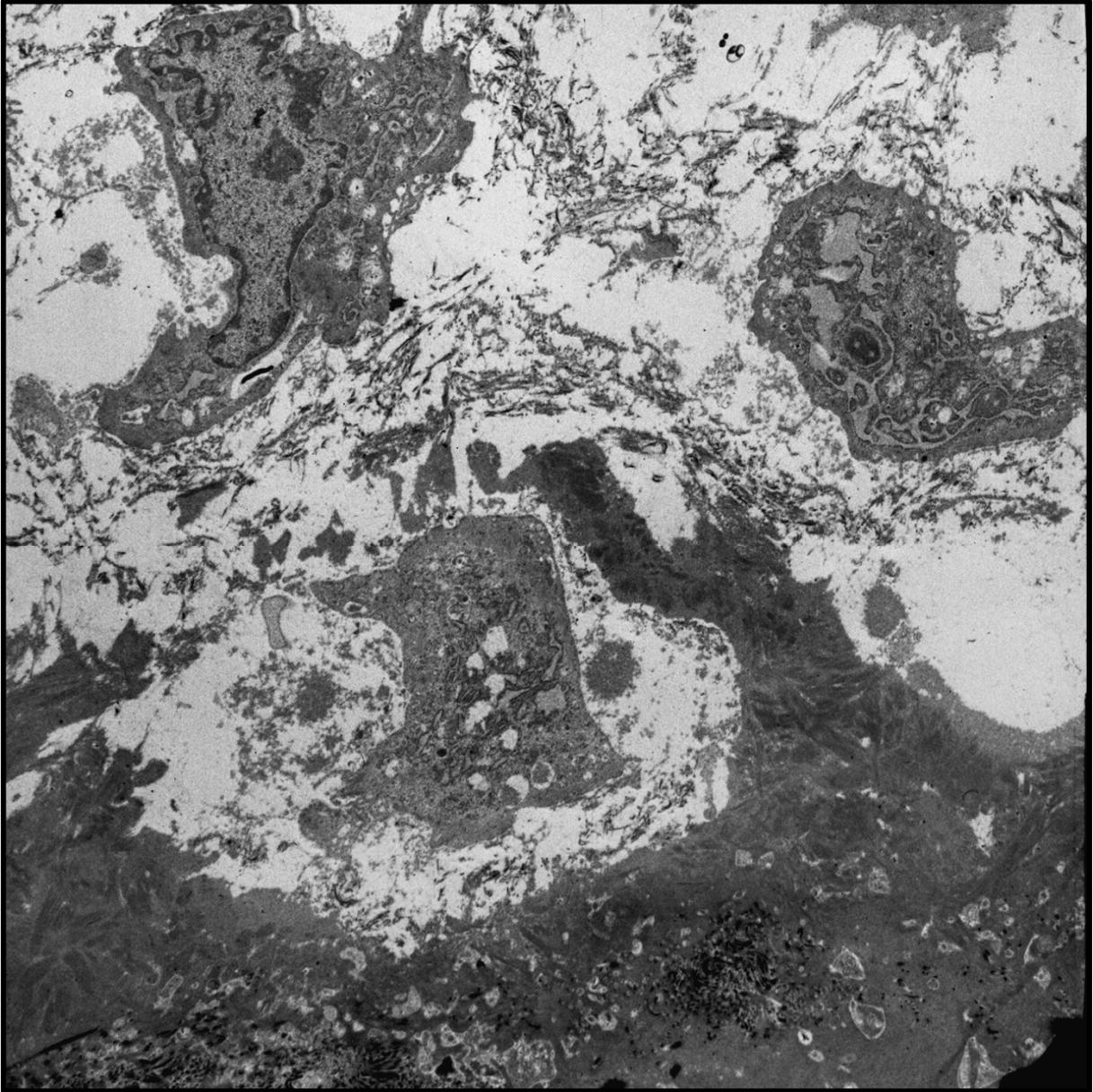


Abbildung 64: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres aus der zweiten Versuchsreihe: Zu sehen ist der Läsionsgrund mit Neointima und verzweigtem Fibrinnetz, darunter Adventitia.

3.2.6 Statistische Analysen

3.2.6.1 Korrelation der Beobachtungen zur Thrombusentwicklung zwischen Histologie, Angiographie und klinischer Beurteilung

In der Analyse der verschiedenen Modalitäten Histologie, Angiographie und klinischer Beobachtung mit Hilfe des Spearman Tests zeigte sich bei einem $p = 0.05$ bei zweiseitigem Signifikanzniveau eine Korrelation zwischen klinischer Beobachtung und dem Ergebnis der Angiographie ($p = 0,015$; Korrelationskoeffizient $0,44$). Zwischen der Histologie und dem klinischen Ergebnis konnte eine hochsignifikante Korrelation nachgewiesen werden ($p < 0,001$; Korrelationskoeffizient $0,87$). Zwischen der Histologie und der Angiographie erreichte die Korrelationsanalyse dagegen kein Signifikanzniveau ($p = 0,27$; Korrelationskoeffizient $0,15$).

Aus den vorliegenden Ergebnissen lässt sich schließen, dass sowohl die klinische Beobachtung und die Angiographie, als auch die Histologie mit der klinischen Beobachtung gut übereinstimmen. Insbesondere mithilfe der Histologie als Goldstandard kann eine gute Vorhersagbarkeit mit der klinischen Beobachtung gefunden werden, welche aus dem hohen Korrelationskoeffizienten (87%) abgeleitet werden kann. In der Histologie und Angiographie findet sich jedoch keine signifikante Korrelation, was durch die sensitive Methodik der Histologie und die bisher experimentelle und untersucherabhängige Angiographie erklärt werden kann.

3.2.6.2 Prädiktoren einer Thrombosierung in der linearen Regressionsanalyse

In Tabelle 14 werden die Ergebnisse der univariaten Regressionsanalyse in der Übersicht dargestellt. Hier zeigte sich, dass sowohl die Defektgröße, als auch die vertikale Defektkonfiguration einen signifikanten Einfluss auf die Ausbildung eines Thrombus nach Defektsetzung hatten. Insbesondere die vertikale Defektkonfiguration geht mit einem hohen Risiko (Hazard Ratio; HR) einher, da sich ein 16-faches Risiko aus der Analyse für diese Konfiguration ergibt.

Variable	Hazard Ratio	95%- Konfidenzintervall	p-Wert
Defektgröße	0,46	0,22 bis 0,99	=0,048
Defektkonfiguration:			
Rundlich	0,22	0,04 bis 1,1	=0,066
Horizontal	0,55	0,12 bis 2,55	=0,441
Vertikal	16,00	1,66 bis 154,6	=0,017

Tabelle 14: Univariate Analyse zur Identifikation von Variablen, die eine Thrombosierung nach mikrochirurgischer Defektsetzung beeinflussen

In der multivariaten Regressionsanalyse unter Einschluss der vertikalen Defektkonfiguration und der Defektgröße zeigte sich eine zweiseitige Signifikanz für die vertikale Defektkonfiguration ($p = 0,03$; HR 13,18; Konfidenzintervall von 1,28 bis 135,3), jedoch nicht für die Defektgröße ($p = 0,12$; HR 0,51; Konfidenzintervall von 0,22 bis 1,187). Hieraus geht hervor, dass die vertikale Defektkonfiguration ein unabhängiger Risikofaktor zur Thrombusbildung bei mikrovaskulären Prozeduren darstellt.

- Ergebnisse -

Tier-Nr.	Thrombus sichtbar			Defektgröße	Defekt-konfiguration
	Klinisch	Angiographisch	Histologisch		
1	Ja	Ja	Ja	1,95 mm ²	vertikal
2	Ja	Ja	Ja	2,66 mm ²	vertikal
3	Nein	Nein	Ja	1,98 mm ²	vertikal
4	Nein	Ja	Nein	4,07 mm ²	rundlich
5	Ja	Ja	Ja	3,53 mm ²	rundlich
6	Nein	Nein	Nein	2,68 mm ²	rundlich
7	Ja	Ja	Ja	0,76 mm ²	rundlich
8	Ja	Nein	Ja	2,51 mm ²	horizontal
9	Ja	Ja	Ja	2,29 mm ²	horizontal
10	Nein	Ja	Nein	3,12 mm ²	rundlich
11	Nein	Nein	Nein	2,74 mm ²	horizontal
12	Nein	Nein	Nein	3,31 mm ²	horizontal
13	Ja	Ja	Ja	3,01 mm ²	vertikal
14	Ja	Ja	Ja	3,29 mm ²	horizontal
15	Nein	Ja	Nein	1,20 mm ²	rundlich
16	Ja	Ja	Ja	1,89 mm ²	rundlich
17	Nein	Nein	Ja	1,16 mm ²	vertikal
18	Nein	Nein	Nein	2,26 mm ²	vertikal
19	Ja	Nein	Ja	3,91 mm ²	vertikal
20	Nein	Ja	Nein	4,31 mm ²	rundlich
21	Ja	Ja	Ja	1,16 mm ²	horizontal
22	Nein	Nein	Nein	3,14 mm ²	horizontal
23	Ja	Ja	Ja	1,22 mm ²	vertikal
24	Ja	Ja	Ja	1,67 mm ²	vertikal
25	Nein	Nein	Nein	3,75 mm ²	rundlich
26	Nein	Ja	Nein	1,44 mm ²	rundlich
27	Nein	Nein	Nein	5,18 mm ²	horizontal
28	Nein	Ja	Nein	5,36 mm ²	horizontal
29	Nein	Nein	Nein	2,07 mm ²	horizontal
30	Nein	Ja	Nein	1,93 mm ²	rundlich

Tabelle 15: Zusammenführung und Gegenüberstellung der mithilfe der verschiedenen Methoden gefundenen Ablagerungen sowie Defektgröße und -konfiguration der Tiere der ersten Versuchsreihe

- Ergebnisse -

Tier-Nr.	Thrombus vorhanden		Defektgröße		Defektkonfiguration	
	Angiographisch	Histologisch	Intraoperativ	7 Tage postoperativ	Intraoperativ	7 Tage postoperativ
31	Ja	Ja	1,90 mm ²	1,18 mm ²	rundlich	rundlich
32	Ja	Ja	3,09 mm ²	1,88 mm ²	vertikal	horizontal
33	Ja	Nein	1,39 mm ²	0,66 mm ²	horizontal	horizontal
34	Nein	Ja	0,98 mm ²	0,98 mm ²	rundlich	rundlich
35	Ja	Ja	1,65 mm ²	1,18 mm ²	horizontal	horizontal
36	Ja	Ja	2,32 mm ²	1,56 mm ²	rundlich	rundlich
37	Ja	Nein	1,73 mm ²	0,55 mm ²	rundlich	horizontal
38	Ja	Ja	2,89 mm ²	2,01 mm ²	vertikal	horizontal
39	Nein	Nein	1,19 mm ²	1,11 mm ²	horizontal	horizontal
40	Ja	Ja	2,49 mm ²	1,11 mm ²	vertikal	rundlich
41	Ja	Ja	1,30 mm ²	0,59 mm ²	vertikal	rundlich
42	Ja	Ja	2,27 mm ²	0,59 mm ²	rundlich	horizontal
43	Nein	Nein	1,46 mm ²	1,11 mm ²	vertikal	horizontal
44	Ja	Nein	1,47 mm ²	1,06 mm ²	vertikal	rundlich
45	Ja	Nein	1,91 mm ²	1,66 mm ²	rundlich	rundlich
46	Nein	Nein	1,09 mm ²	0,83 mm ²	rundlich	rundlich
47	Nein	Nein	0,70 mm ²	0,44 mm ²	horizontal	horizontal
48	Nein	Nein	1,58 mm ²	0,50 mm ²	vertikal	horizontal
49	Ja	Ja	2,01 mm ²	1,26 mm ²	rundlich	rundlich
50	Nein	Nein	0,69 mm ²	0,34 mm ²	rundlich	rundlich
51	Ja	Ja	2,24 mm ²	1,04 mm ²	vertikal	rundlich
52	Nein	Ja	1,78 mm ²	0,59 mm ²	rundlich	horizontal
53	Nein	Nein	1,55 mm ²	0,58 mm ²	rundlich	horizontal
54	Nein	Nein	1,44 mm ²	0,34 mm ²	rundlich	horizontal
55	Nein	Nein	1,22 mm ²	0,94 mm ²	horizontal	horizontal
56	Ja	Ja	1,09 mm ²	0,98 mm ²	vertikal	rundlich
57	Ja	Ja	2,09 mm ²	0,84 mm ²	rundlich	horizontal
58	Ja	Ja	1,16 mm ²	0,52 mm ²	horizontal	horizontal
59	Ja	Ja	2,40 mm ²	1,12 mm ²	vertikal	rundlich
60	Nein	Nein	1,43 mm ²	0,55 mm ²	vertikal	horizontal

Tabelle 16: Zusammenführung und Gegenüberstellung der mithilfe der verschiedenen Methoden gefundenen Ablagerungen sowie Defektgröße und -konfiguration intraoperativ und eine Woche postoperativ der Tiere der zweiten Versuchsreihe;

Anm.: Eine klinische Beurteilung zur Thromboseentstehung ist für diese Versuchsreihe aufgrund der 7-tägigen Nachbeobachtungszeit entfallen

4 Diskussion

4.1 Material und Methodik

4.1.1 Die Bauchaorta der Ratte als mikrochirurgisches Gefäßmodell

Die Ratte ist in der Wissenschaft und Forschung in vielerlei Hinsicht ein seit langem etabliertes Tiermodell, welches zunehmend auch in der Lehre für das Erlernen und die Weiterentwicklung mikrochirurgischer Fähigkeiten angewandt wird (Shurey et al., 2014). So erwiesen sich die großen arteriellen Gefäße der Ratte, wie z.B. die Aorta und A. femoralis, auch in der vorliegenden Arbeit als geeignetes Modell für mikrovaskuläres Arbeiten und heben damit erneut die Bedeutung dieses Versuchstieres für verschiedenste Fragestellungen in der experimentellen Mikrochirurgie hervor. Nicht zuletzt wegen der physiologischen und anatomisch-histologischen Ähnlichkeiten, sondern vor allem aufgrund der realistischen Größenverhältnisse gibt das Gefäßsystem der Ratte hervorragende Möglichkeiten zur Vorbereitung auf patienten- und praxisorientiertes mikrochirurgisches Arbeiten. Besonders hervorzuheben ist in diesem Zusammenhang die Anwendung der bereits unter 1.3.1. beschriebenen Perforanslappen, bei denen kleinste Gefäße mikrochirurgisch anastomosiert werden müssen. Auch das Narkoseverfahren mittels intravenöser Ketamin-Xylazin Anästhesie (Ritschl et al., 2015) zeichnete sich durch gute Standardisierung und Steuerbarkeit aus. Darüber hinaus beinhaltet dieses Narkoseverfahren den großen Vorteil gegenüber der intraperitonealen Narkose, durch die Einlage des i.v.-Katheters das mikrochirurgische Handling an kleinen venösen Gefäßen zu erlernen bzw. fortzuentwickeln. Weiterhin kann die geringe Zahl der intra- und postoperativen Komplikationen - trotz des langen und invasiven Eingriffs - im Rahmen der durchgeführten Experimente als Hinweis für ein sicheres und effektives methodisches Arbeiten herangezogen werden und bestätigt damit die Ratte als ausgezeichnetes Versuchstier in der mikrochirurgischen Forschung und Lehre.

4.1.2 Anwendung und Nutzen des OPMI® Pentero® für mikrochirurgische Fragestellungen

Das in der vorliegenden Arbeit unter 2.2.2 beschriebene und für die Durchführung der Experimente verwendete Operationsmikroskop hat vor allem aufgrund seiner integrierten Kamera, die mittels der Infrarot- und FLOW 800-Funktion auch fluoreszenzgestützte Angiographien ermöglicht, Einzug in viele Fachbereiche der Medizin, besonders der Neurochirurgie (Imizu et al., 2008; Murai et al., 2011; Murakami, Koyanagi, Kaneko, Iihoshi, & Houkin, 2011; T. Yamamoto et al., 2014), erlebt. Hierbei stehen Fragestellungen im Vordergrund, die sich mit der vaskulären Durchgängigkeit sowie den hämodynamischen Gegebenheiten in bestimmten Gefäßabschnitten beschäftigen. Die ICG-Angiographie mittels OPMI® Pentero® erwies sich dabei als schnelle und verlässliche Alternative zu anderen Verfahren wie der DSA oder der Dopplersonographie, die zudem kostengünstig ist (Imizu et al., 2008; Murai et al., 2011). Weiterhin konnten direkt Aussagen über hämodynamische Veränderungen in operierten Gefäßabschnitten getroffen werden (Murakami et al., 2011). Bereits Holm et al. zeigten im Rahmen einer klinischen Studie, dass sich die ICGA zur Detektion von intimalen Ablagerungen und Thrombosen in mikrochirurgischen Gefäßanastomosen nach freiem Gewebetransfer eignet. Mit einer Sensitivität von 100% und Spezifität von 86% gegenüber der intraoperativen Exploration als Standardreferenz erwies sich diese Methodik als exzellente diagnostische Möglichkeit zur Darstellung der Gefäßdurchgängigkeit (Holm, Dornseifer, Sturtz, & Ninkovic, 2010). Auch in den vorliegenden Untersuchungen konnten mithilfe der ICGA Rückschlüsse auf die Gefäßdurchlässigkeit gezogen werden (s. Tab. 12 bzw. Abb. 53). Zudem erlaubte diese Methodik Aussagen über Veränderungen des Gefäßdurchmessers zu treffen, welche im intraoperativen Setting oftmals nicht so eindeutig zur Darstellung kamen. Bestätigt wurde dies auch im Rahmen einer Studie zur präoperativen Diagnostik vor TEA bei Carotisstenosen, bei der die Lokalisation der Stenose sowie die Form der assoziierten Plaque mittels ICGA genau visualisiert werden konnte (C. H. Lee, Jung, Yang, Son, & Lee, 2012). Mithilfe der FLOW 800-Funktion war es abschließend auch möglich Informationen über Flusseigenschaften und Strömungsverhältnisse am operierten Aortenabschnitt zu gewinnen und auszuwerten, die durch Mücke et al. bereits in vorausgegangenen Studien untersucht wurden (Mücke et al., 2013; Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Hölzle, et al., 2010). Starke Änderungen des Blutflusses an mikrochirurgisch anastomosierten Gefäßabschnitten können dabei eine Malperfusion mit der Möglichkeit eines Verlustes des nachgeschalteten Gewebes nach sich ziehen, die vorher mithilfe anderer

klinischer Tests nicht nachgewiesen werden konnten (Holm et al., 2009).

Daneben erwies sich auch die gute Auflösung der integrierten Kamera als sehr hilfreich. Mit ihr konnte schnell und ohne Aufwand die intraoperative Situation mittels Foto oder Video dokumentiert werden, was eine Bearbeitung und Auswertung im Nachhinein erheblich erleichterte.

Abschließend lässt sich zusammenfassen, dass sich das OPMI® Pentero® trotz der relativ hohen Anschaffungskosten durch seine beschriebenen Eigenschaften als hervorragendes Instrument für mikrochirurgisches Arbeiten auszeichnet. Besonders hervorzuheben ist dabei die Möglichkeit zur ICG-Angiographie, die sich bereits in der Vergangenheit als einfach und schnell durchzuführende, zudem kostengünstige, vor allem aber effiziente Methode zur Beurteilung des Blutflusses sowie zur Visualisierung der Gefäßpermeabilität bewährt hat (Imizu et al., 2008).

4.1.3 Schwächen und Grenzen der angewendeten Methodik

Das für die Experimente genutzte Material sowie die angewendete Methodik ist im Laufe der Versuchsdurchführung stets kritisch beobachtet worden. In diesem Kapitel soll nun auf Limitationen und Schwächen eingegangen und zudem Lösungsansätze für gefundene Probleme erarbeitet werden.

Vor Beginn der Versuchsreihen sind für die Defektsetzungen in den Gefäßinnenwänden einfache 15er-Skalpellklingen eigenständig bearbeitet worden. Dabei wurden drei verschiedene Größen hergestellt, mit denen eine standardisierte Defektsetzung und Unterteilung in drei Defektgrößen durch gleichmäßiges Abtragen der Gefäßinnenwand gelingen sollte. Jedoch erwies sich dieses Vorgehen als nicht praktikabel und bot das erhöhte Risiko einer Gefäßwandperforation, sodass auf die unter 2.1.3.2 beschriebene Vorgehensweise zurückgegriffen wurde. Zwar ließen sich mit diesem Verfahren Größe und Ausdehnung der Defekte weniger exakt begrenzen. Dennoch konnte gezeigt werden, dass es grundsätzlich möglich ist Gefäßwandläsionen von intraluminal aus zu setzen ohne diese dabei zu perforieren. Weiterhin bietet dieses Vorgehen den Vorteil gegenüber standardisierten Läsionsgrößen und -tiefen, eine realitätsnähere in-vivo Situation widerzuspiegeln. Für das Setzen von standardisierten und vergleichbaren Läsionen wäre ein Instrument vonnöten, welches anwenderunabhängig eine in Umfang und Tiefe genau definierte Schnittführung ermöglicht.

Dieses Vorgehen würde zudem die nachträgliche Defektausmessung als mögliche Fehlerquelle

minimieren. Hierbei wurde wie in Kapitel 2.1.3.5 beschrieben der intramurale Defekt an der eröffneten Aorta intraoperativ fotodokumentiert und durch Anlegen von 1/10mm Papier nachträglich berechnet. Jedoch kann hierbei nicht sicher ausgeschlossen werden, dass es durch das Offenhalten mittels Zug am längs eröffneten Gefäß aufgrund seiner Eigenelastizität zur artifiziellen Vergrößerung des gesetzten Defekts kam. Ebenso ist eine exakte Flächenberechnung der Defekte auf Grundlage zweidimensionaler Bilder wegen der Eigenelastizität und Formstruktur der Aorta als dreidimensionales Gebilde nicht möglich. Dies gilt es zumindest für die unmittelbar intraoperativen Messungen an den nicht exzidierten Aortenabschnitten zu bedenken.

Bezüglich des methodischen Vorgehens der ICG-Angiographie konnte gezeigt werden, dass eine Visualisierung von Ablagerungen und Thrombosen in kleinen Gefäßen möglich ist. Auch konnten andere Veränderungen am Gefäß durch den fluoreszierenden Farbstoff sichtbar gemacht werden. Beispielsweise waren der Durchmesser des Gefäßes und etwaige Veränderungen nach Defektsetzungen mithilfe der ICGA besser beurteilbar und vergleichbar gegenüber dem Ausgangszustand. Durch die Flow 800-Funktion konnten zudem die vorherrschenden Strömungsverhältnisse im Gefäß beurteilt werden. Allerdings stieß diese Methodik in Bezug auf einige Punkte an ihre Grenzen. So korrespondierte die vor Gefäßnaht bestimmte Defektfläche nicht immer mit der während der ICGA sichtbaren Anreicherung. Ursächlich dafür könnten Überlagerungsphänomene sowie die gesetzten Nähte sein, welche ebenfalls zu kleinen Ablagerungen an der Gefäßinnenwand führen können. Weiterhin konnte bisher nicht immer ein eindeutiger Schluss aus den sichtbaren Veränderungen gezogen werden. Bezogen auf die Kontrastierung im Bereich der Läsion konnte zwar bei jeder dokumentierten Gefäßokklusion eine Kontrastminderung in den Aufnahmen ausgemacht werden; bei einem Großteil der ICG-Angiographien mit sichtbaren Kontrastminderungen jedoch sind - wenn überhaupt - Veränderungen des Gefäßdurchmessers, besonders Stenosierungen, detektiert worden. Eine genaue Schlussfolgerung auf das Auftreten von Gefäßverschlüssen ließ sich also allein anhand des Kontrastverhaltens nicht ziehen.

4.2 Ergebnisse

4.2.1 Verlaufsentwicklung ausgewählter Operationsdaten

Zunächst soll auf die dokumentierten Daten und Verläufe der durchgeführten Operationen eingegangen werden.

Wie aus Tabelle 3 hervorgeht ist die Zeitdauer einiger ausgewählter Operationsabschnitte bei verschiedenen Versuchstieren in hohem Maße voneinander abweichend. Als Beispiel soll hier der Operationsschritt für die Kanülierung der Vena femoralis dienen: Wurde bei den ersten 15 Versuchen noch eine Zeitdauer von durchschnittlich ca. 39 Minuten benötigt, reichten für die letzten 15 Versuchstiere durchschnittlich etwa 12 Minuten aus, um den Femoralkatheter mikrochirurgisch einzubringen. Ebenso ist für die operativ anspruchsvolle Aortenfreilegung und –präparation während der ersten 15 Versuchsdurchführungen durchschnittlich ein Zeitraum von ca. 47 Minuten benötigt worden. Dagegen war bei den letzten 15 Versuchstieren lediglich eine Dauer von durchschnittlich ungefähr 20 Minuten notwendig. Diese teils erheblichen Unterschiede in der Operationsdauer lassen sich einerseits auf die bereits oben erwähnten unterschiedlichen anatomischen Gegebenheiten der Versuchstiere zurückführen. Andererseits sind hier vor allem der Übungseffekt und das routinierte Arbeiten durch die gewonnene Erfahrung der vorausgehenden Versuchsdurchführungen von Bedeutung und maßgeblich für den Zeitgewinn bei den letzteren Operationen verantwortlich.

Wie die Ergebnisse nun zeigen, haben häufiges und regelmäßiges mikrochirurgisches Arbeiten also entscheidenden Einfluss auf die Operationsdauer. Untermauert werden diese Ergebnisse unter anderem durch eine Studie von Ko JW et al., bei der Assistenzärzte im Rahmen ihrer Ausbildung ein mikrochirurgisches Trainingsprogramm absolvierten. Die Ergebnisse zeigten nicht nur eine signifikante Abnahme der Operationsdauer verschiedener operativer Eingriffe wie der Anastomosierung der Arteria femoralis bei der Ratte. Weiterhin wurde auch die Qualität der durchgeführten Eingriffe bewertet und nach Absolvierung des 8-wöchigen Trainingsprogramms als signifikant besser eingestuft (Ko, Lorzano, & Mirarchi, 2015). Ähnliche Ergebnisse verbunden mit weniger operativen Fehlern und Komplikationen zeigten Studien von Selber JC, et al. (Selber et al., 2012).

4.2.2 *Intimadefekte und ihre Regeneration: Histomorphologische Aspekte und therapeutische Unterstützungsmöglichkeiten*

Die Auswertungen der Defektgrößen zeigen sehr anschaulich, dass sich Intimaschäden arterieller Gefäße im zeitlichen Verlauf zurückbilden (s. Tab. 9 bzw. Abb. 39). Die durchschnittliche Flächenreduktion der gesetzten Defekte belief sich auf knapp 43% bei den 30 Tieren der zweiten Versuchsreihe. Für die Beobachtungszeit mit anschließender Reevaluation wurde hierfür ein Zeitraum von sieben Tagen gewählt.

Bereits um 1980 konnte in verschiedenen Arbeiten gezeigt werden, dass sich arterielle Intima- und Endothelschäden im Laufe der Zeit zurückbilden. Hirsch et al. beschrieben 1977 in einer Studie die Reparaturvorgänge von akuten arteriellen Endotheldefekten in der Kaninchenaorta. Dabei beobachteten sie eine stufenweise voranschreitende Erneuerung der Gefäßwand durch verschiedene Zelltypen wie Thrombozyten, Endothelzellen und Leukozyten. Nach weniger als sieben Tagen kam es dabei regelmäßig zur kompletten Wiederherstellung ohne verbleibende strukturelle Veränderungen der Gefäßwand (Hirsch & Robertson, 1977). Schwartz et al. konnten dagegen erst innerhalb von zwei Monaten eine durchgängige Endothelzellschicht nachweisen, die zudem noch Unregelmäßigkeiten in Form von unvollständig ausgebildeten tight junctions enthielt (Schwartz, Stemerman, & Benditt, 1975). Zwei Jahre später veröffentlichten Haudenschild et al. Ergebnisse zu Versuchen an der Rattenaorta, bei denen die Endothelzellschicht mithilfe eines modifizierten Ballonkatheters entfernt wurde. Im Rahmen der endothelialen Regeneration beschrieben sie die Migration und nachfolgende Proliferation von Endothelzellen aus benachbarten unverletzten Interkostalarterien, die über dem Defekt eine einheitliche Schicht bildeten. Diese Schicht bildete sich ihren Beobachtungen zufolge mit einer Geschwindigkeit von ca. 0,07mm pro Tag in zirkumferentieller bzw. ca. 0,42mm in axialer Richtung (Haudenschild & Schwartz, 1979). In vielen Arbeiten wurden überdies weitere Studien präsentiert, die eine gleichmäßige Regeneration von Intimadefekten durch Migration und Proliferation von Endothelzellen zeigen (Prescott & Muller, 1983; Reidy & Schwartz, 1981; Reidy & Silver, 1985; Rekhter & Mironov, 1990).

Neben dem Vorgang des Wiederaufbaus eines künstlich gesetzten Defekts durch Endothelzellen zeigten eine Reihe von Studien, dass es im Rahmen der Regeneration nicht zu einer intimalen Verdickung oder Proliferation von glatten Muskelzellen kommt (Hirsch & Robertson, 1977; Prescott & Muller, 1983; Ramsay, Walker, & Bowyer, 1982; Reidy &

Schwartz, 1981; Reidy & Silver, 1985; Rekhter & Mironov, 1990). Jedoch ist bekannt, dass Migration von glatten Muskelzellen aus der Tunica media in subendotheliale Bereiche von Gefäßwänden und deren Proliferation entscheidende Faktoren für die Entstehung von Atherosklerose sind (Capron & Bruneval, 1989; Reidy, 1985; Schwartz, Campbell, & Campbell, 1986; Stary, 1989). Dies beschrieben auch Schwartz et al. in einer Arbeit, die zeigte, dass Areale mit proliferierenden glatten Muskelzellen in neu gebildeten Endothelzellschichten entstehen (Schwartz et al., 1975). Auch neuere Studien belegen o.g. Tatsache der Migration und Proliferation glatter Muskelzellen aus der Media und beschreiben darüber hinaus auch eine phänotypische Modulation dieser Zellen (J. Chen, Xu, & Huang, 2014; Fuster et al., 2010; Morrow et al., 2008).

Unter Berücksichtigung der histologischen Auswertungen der Präparate von den Tieren der zweiten Versuchsreihe, lässt sich als Ergebnis aus den Reparaturvorgängen am gesetzten Gefäßinnenwanddefekt nach einer Woche eine inkomplette Endothelbarriere zum Blut beschreiben. Auch Basallaminae konnten beim gebildeten Neoendothel gefunden werden. Allerdings waren diese nur lokal vorhanden und somit nach einem Zeitraum von einer Woche noch nicht durchgängig. Diese Beobachtungen bestätigen auch Ergebnisse von Yokoyama et al., die nach Setzen von Intimadefekten mittels Ballonkatheter zwar eine Endothelzellschicht sieben Tage später zeigten. Durch den Nachweis von Kollagen Typ IV und Laminin mithilfe der Immunfärbung konnte jedoch erst nach 21 Tagen eine kontinuierliche Basalmembran ausgemacht werden (Yokoyama, Ishiwata, Aida, & Asano, 1994).

Neben der neugebildeten Endothelschicht konnte histologisch auch eine Neointima nachgewiesen werden. Diese beinhaltete zwar ein inhomogenes Muster von Zelltypen, bei einem Großteil davon handelte es sich jedoch um Myofibroblasten aus läsionsnahen Mediafächern. Diese Ergebnisse wurden bereits in einer Vielzahl von Arbeiten bestätigt (DeRuiter et al., 1997; Hu et al., 2002; Sartore et al., 2001; Simper, Stalboerger, Panetta, Wang, & Caplice, 2002; Stenmark, Bouchev, Nemenoff, Dempsey, & Das, 2000; Thyberg, Hedin, Sjolund, Palmberg, & Bottger, 1990; Wang et al., 2015; Zalewski, Shi, & Johnson, 2002). Da eine übermäßige Proliferation und Hyperplasie solcher glatten Muskelzellen zu Stenosen und Gefäßverschlüssen mit nachfolgender Minderperfusion führen kann (Ross, 1993; Schwartz, 1997), kommt dem adäquaten Umgang mit Gefäßen in der Mikrochirurgie eine herausragende Bedeutung zu.

Dennoch kann es bei einer Reihe von diagnostischen und therapeutischen Maßnahmen, wie

z.B. der Thrombendarterektomie, zu einer Schädigung der Gefäßwand kommen. Dabei können nicht nur Verletzungen der Endothelzellschicht, sondern auch Schäden in tieferen Schichten der Gefäßwand entstehen, sodass eine Reihe von Mechanismen erforscht und Medikamente gesucht werden, die eine Ansammlung von glatten Muskelzellen nach Gefäßwandschaden verhindern können. Ein Mechanismus dabei ist die Unterstützung und Verbesserung der Bildung einer neuen Endothelzellschicht über einem Gefäßwandschaden. Studien legen nahe, dass durch Verringerung oxidativen Stresses die Reendothelialisierung am Defekt positiv beeinflusst werden kann (Dussault, Dhahri, Desjarlais, Mathieu, & Rivard, 2014; Rosenbaum, Chaudhuri, Abelson, Cross, & Graham, 2015). Auch Chen et al. zeigten, dass durch Anwendung von Dehydroepiandrosteronen (DHEA) Entzündungsprozesse und oxidativer Stress ausgehend von glatten Gefäßmuskelzellen verringert werden können (J. Chen et al., 2014). In einer weiteren Arbeit wurde der Effekt von Sitagliptin als DPP-4-Inhibitor auf die Neubildung von Endothelzellen untersucht. Dabei konnte dargelegt werden, dass durch Rekrutierung von regenerativen Vorläuferzellen die lokale Endothelzellproliferation nach Gefäßwandschaden verbessert werden kann, ohne dabei die Gefäßwandstruktur zu beeinflussen (Brenner et al., 2014). Da auch durch das Anlegen von mikrochirurgischen Nähten kleinste Intimaschäden gesetzt und somit Thrombosen an Gefäßanastomosen provoziert werden, untersuchten Jia et al. im Rahmen eines tierexperimentellen Versuchsaufbaus den Effekt von SDF-1 α (stromal cell-derived factor-1alpha) auf die Gefäßdurchgängigkeit und Thromboseentstehung. Dabei ist bekannt, dass SDF-1 α die frühe Regeneration von geschädigter Intima durch Migration von Endothelzellen und Mobilisation endothelialer Vorläuferzellen fördert, wobei dieser Mechanismus vermutlich über eine erhöhte Bildung von Stickstoffmonoxid vermittelt wird. Die Untersuchungsergebnisse zeigten nun, dass, bedingt durch den lokalen Transfer von Plasmid-DNA verschlüsselten SDF-1 α Genen in benachbarte Muskulatur von anastomosierten Gefäßen, sowohl die Gefäßdurchgängigkeit besser als auch das Thromboserisiko geringer war als in Vergleichsgruppen ohne SDF-1 α Transfer (Jia, Chen, Kang, & Chai, 2016). In einer weiteren tierexperimentellen Studie wurde die Thrombusentstehung an einer Gefäßanastomose durch partielles Annähen der Hinterwand provoziert. Eine daraus folgende Lappennekrose konnte anschließend durch die direkte Anwendung von Sildenafil oder Papaverin auf der Anastomose in einem Teil der Fälle verhindert werden, sodass von einem Nutzen bei der Applikation solcher antithrombotisch wirksamen Pharmaka bei zu erwartender Thrombosierung auszugehen ist (Pingarron-Martin

& Arias-Gallo, 2014). Auch eine präoperative prophylaktische Gabe von Antikoagulantien vor mikrochirurgischer Gefäßanastomosierung erwies sich in einer Untersuchung von Chung et al. als hilfreich. Untereinander verglichen wurden dabei verschiedene Arzneimittelregime, das Ergebnis der Gefäßdurchgängigkeit wurde mithilfe des „milking tests“ kontrolliert. Es zeigte sich, dass die Kombination von Aspirin, Heparin und Tirofiban als GP-IIb/IIIa-Inhibitor (Glykoprotein-2b/3a-Hemmer) zu einer signifikanten Erhöhung der Gefäßdurchlässigkeit nach thrombogener arterieller und venöser Anastomosierung in den Femoralgefäßen der Ratte führte (Chung et al., 2007).

Interessant sind in diesem Zusammenhang auch die Möglichkeiten der Diagnostik. Wie die Versuche zeigen, stellt die ICGA eine einfach durchzuführende und nebenwirkungsarme Methode zur intraoperativen Visualisierung von Gefäßwandschäden dar. Zwar ist eine genaue Abgrenzung der Defekte nicht möglich gewesen. Durch die im OP-Mikroskop integrierte Infrarotquelle können aber selbst kleinste Gefäße dargestellt und somit eventuelle Verschlüsse oder Kaliberschwankungen erkannt werden. Diese Tatsache erweist sich vor allem im klinischen Umgang mit Perforator Flaps als hilfreich, bei denen kleinste Gefäße die Lappenversorgung gewährleisten müssen. Zu diesen Schlussfolgerungen kommen auch mehrere Arbeiten, bei denen die intraoperative Anwendung der ICGA zur Planung von Flapdesign und Identifikation von Versorgungsgebieten genutzt wurde (Bigdeli et al., 2015; Buehrer, Taeger, Ludolph, Horch, & Beier, 2015; Hayashi et al., 2015). Wie auch in dieser Arbeit bestätigt werden konnte, wird die Durchführung der ICGA in der Literatur als verlässlich, schnell und einfach bewertet (Hayashi et al., 2015; Holzbach et al., 2012; Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Hölzle, et al., 2010).

Als eine weitere vielversprechende, klinisch aber noch nicht etablierte Möglichkeit der Diagnostik, beschreiben Curaj et al. das Molecular Ultrasound Imaging mittels vaskulären Zelladhäsionsmolekülen (VCAM). Diese nicht invasive Methodik erwies sich in einer Studie als hilfreich für die genauere Beurteilung von zuvor gesetzten Gefäßwanddefekten und Überwachung von endothelialen Reparaturvorgängen (Curaj et al., 2015).

4.2.3 Vergleich und Entwicklung verschiedener Modalitäten zur Thrombusdetektion in der Mikrochirurgie

Wie der Vergleich der drei verschiedenen Modalitäten bestehend aus histologischer, angiographischer und klinischer Beurteilung zur Erkennung von thrombotischen Ereignissen in der Korrelationsanalyse von Kapitel 3.2.6.1 zeigt, trifft die klinische Befundung verlässliche

Aussagen und weist mit einem Korrelationskoeffizienten von 87% eine gute Vergleichbarkeit zum Goldstandard der Histologie auf. Unterstützend kann die ICG-Angiographie angewendet werden, auch wenn hierbei verglichen zur Histologie keine signifikante Korrelation nachgewiesen werden konnte (p -Wert $> 0,05$). Die ICGA ist dennoch ein probates Mittel, um die nachfolgende Blutversorgung beispielsweise von Perforator Flaps zu bewerten (Vargas et al., 2015).

Nach wie vor stellt die Lokalisierung mikrovaskulärer Thromben eine nicht immer leicht zu bewerkstelligende Maßnahme dar. Gründe hierfür können beispielsweise das nur vorübergehende Auftreten solcher Mikrothromben sein (Pfeiler, Massberg, & Engelmann, 2014), sodass sie mitunter als Ursache für eine Minderperfusion nicht in Betracht gezogen werden. So gibt es eine Reihe von weiteren Untersuchungsmethoden, die zum Ziel haben Thrombosen frühzeitig zu erkennen. Coon et al. nutzten etwa ein ultraschallbasiertes System, mit dem es möglich war den Blutfluss in Echtzeit an einer zuvor gesetzten Anastomose zu beurteilen. Dabei wurde ein resorbierbarer Marker aus Polylactid-co-Glycolid (PLGA) während der OP an die Anastomose angebracht und mit einer Ultraschallsoftware gekoppelt, sodass Flussanalysen am Ort der Anastomose durchgeführt und somit eventuelle Flussminderungen aufgrund von Thrombosen detektiert werden konnten (Coon, Chen, Boctor, Prince, & Bojovic, 2015). Um klinisch noch nicht apparente Thrombosierungen frühzeitig zu entdecken, machten sich Misirlioglu et al. bioelektrische Gewebeeigenschaften zunutze: Ein verminderter bioelektrischer Widerstand des Blutes ging dabei mit ischämischen Bedingungen im untersuchten Lappen einher. In ihrer Studie konnte somit gezeigt werden, dass die Erfassung des Gewebswiderstandes eines Lappens eine hilfreiche Unterstützungsmöglichkeit zur Perfusionsbeurteilung darstellt und gegebenenfalls sogar frühzeitig Hinweise für eine Minderperfusion liefert, bevor klinische Zeichen sichtbar werden (Misirlioglu, Karaca, Avci, & Akoz, 2011). Mit Hilfe eines Verfahrens, das die Oberflächentemperatur eines mikrochirurgisch versorgten Lappens berührungslos bestimmte, konnte in einer anderen Untersuchung ein Trend beschrieben werden, der eine Korrelation zwischen gemessenem Temperaturverlauf und Gefäßverschluss mit konsekutiv möglichem Lappenverlust aufzeigte (Papillion et al., 2009).

All diese Untersuchungen spiegeln folglich noch einmal die Bedeutsamkeit eines adäquaten mikrochirurgischen Umgangs mit Gefäßen wieder, um die Wahrscheinlichkeit einer Thrombusentwicklung bereits im Voraus zu minimieren.

4.2.4 Prädiktoren und Vorbeugung von Thrombosierungen in der Mikrochirurgie

Um mögliche Einflussfaktoren zu identifizieren, die das Auftreten von thrombotischen Ereignissen an mikrochirurgischen Gefäßtransplantaten begünstigen können, wurden in dieser Arbeit intimale Defektgrößen und –konfigurationen variiert und deren Stellenwert in diesem Zusammenhang untersucht. Dabei zeigte sich erstmalig, dass besonders vertikale Defektkonfigurationen mit einem hohen Risiko einer Thrombusentwicklung einhergehen (HR: 16,00).

Mögliche Ursache für die Entstehung solcher Gefäßinnenwandschäden kann die Anwendung von Kathetern sein. Diese werden beispielsweise für die Behandlung von atherosklerotisch bedingten Gefäßinsuffizienzen der unteren Extremität genutzt. Weiterhin werden sie aber auch für die Beseitigung von Thrombosen in Gefäßen angewendet, die die Versorgung von freien Gewebelappen gewährleisten müssen (Rizis, Bibeau Poirier, Nikolis, Brutus, & Cordoba, 2011; Trussler, Watson, & Crisera, 2008; Tse, Ross, & Gan, 2003; Wheatley & Meltzer, 1996). Um die Anwendung solcher Katheter und somit das Risiko eines Intimadefekts zu reduzieren, sollten atherosklerotisch veränderte Arterien als Gefäßstiel für Lappen nach Möglichkeit vermieden werden. Dies kann sowohl durch präoperativ durchgeführte diagnostische CT-Aufnahmen gelingen (Adriaensen et al., 2004). Ebenso sollten „zentrale“, also dem Rumpf nahe liegende Lappen wie z.B. ALT-(Anterior Lateral Thigh) oder Latissimus Dorsi-Flap, für eine Rekonstruktion gewählt werden (H. C. Chen et al., 2006; Kesting et al., 2011). Außerdem sollten Gefäße von Patienten mit generalisierter Atherosklerose vor der Anastomosierung vorsichtig mit Hilfe von Dilatatoren eingesehen werden, sodass eventuelle Plaques rechtzeitig entdeckt und diese behutsam entfernt werden können. Falls es jedoch möglich ist die atherosklerotische Plaque durch Kürzen des Gefäßstiels zu beseitigen, sollte dieses Vorgehen bevorzugt werden, um eine durch die Plaqueentfernung gesetzte Gefäßwandläsion zu vermeiden, zumal bis dato noch keine weitere Studie existiert, die die Entwicklung und den Einfluss solcher Defekte auf die Gefäßpermeabilität in diesem Umfang untersucht. Gut untersucht und damit in gewisser Hinsicht vergleichbar ist dagegen das Problem der postoperativen Thrombosierung bei Patienten, die sich zuvor einer TEA der A. carotis unterzogen haben (Painter, Hertzner, O'Hara, Krajewski, & Beven, 1987; Sharpe et al., 2009). Für diese Patienten werden Thrombozytenaggregationshemmer oder Dextran Infusionen empfohlen (Painter et al., 1987; Sharpe et al., 2009), wohingegen sich dieses Vorgehen bei Patienten mit mikrochirurgischen Gewebetransplantaten als gefährlich erweisen kann, da es

zur Hämatombildung und folglich zum Lappenverlust kommen kann (Enajat, Aziz Mohammadi, Debeij, van der Hulst, & Mureau, 2014; Kansy et al., 2015; Mücke et al., 2011). Dementsprechend wird an dieser Stelle erneut auf ein korrektes und sorgsames mikrochirurgisches Handling hingewiesen, um Komplikationen aufgrund von weiteren operativen Maßnahmen oder zusätzlichen Medikamenten zu vermeiden.

Neben der Defektkonfiguration wurde auch die Defektgröße in mm^2 als möglicher Prädiktor für eine Thrombosierung untersucht. Zwar zeigte sich in der univariaten Regressionsanalyse ein Einfluss der Defektgröße auf die Ausbildung eines Thrombus. Bei Defektgrößen zwischen $0,76\text{mm}^2$ und $5,36\text{mm}^2$ konnte jedoch in der multivariaten Regressionsanalyse keine statistische Signifikanz nachgewiesen werden. Somit konnte auch kein „critical size defect“ angegeben werden, also eine bestimmte Defektgröße ab der eine Thrombenbildung zu erwarten gewesen wäre.

Schlussfolgern lässt sich aus diesen Ergebnissen somit, dass die Größe eines Intimadefekts gegenüber der Konfiguration oder Ausrichtung in Bezug auf die Entstehung eines Thrombus womöglich eine untergeordnete Rolle spielt. Dies gilt zumindest für die Rattenaorta mit den in dieser Arbeit untersuchten Größenordnungen der Defekte und lässt sich damit noch nicht gesichert auf die Situation im Menschen übertragen.

4.2.5 Weitergehende Überlegungen und Ausblick

Wie im vorigen Kapitel ausgeführt worden ist, stellte sich bei dieser Arbeit heraus, dass die vertikale Defektkonfiguration mit einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für eine Thrombusentstehung einhergeht.

Nun ergab die Ergebnisauswertung für die Tiere der zweiten Versuchsreihe nicht nur eine Schrumpfung der Defektflächen. Darüber hinaus zeigte sich, dass sich auch die Defektkonfiguration innerhalb von einer Woche in knapp 57% der Fälle veränderte. Auffallend dabei war, dass sich ausschließlich vertikale und rundliche Defekte in ihrer Konfiguration hin zu rundlichen bzw. horizontalen Konfigurationen änderten, sodass nach Auswertung der „Restdefekte“ ausnahmslos rundliche und horizontale Defektkonfigurationen auszumachen waren. Somit wurde in keinem der 30 untersuchten Fälle eine Woche nach ursprünglicher Defektsetzung eine vertikale Defektkonfiguration vorgefunden, die sich in dieser Arbeit als potenziell thrombogener erwies als andere Konfigurationen.

Vor diesem Hintergrund stellt sich die Frage, ob der Organismus während der Reparaturvorgänge an Gefäßinnenwandläsionen gezielt potenziell schädlichere

Defektkonfigurationen hin zu weniger folgenschweren Konfigurationen umformt, um die Wahrscheinlichkeit einer Thrombosierung zu reduzieren. Um diese rein hypothetische Annahme zu belegen, bedarf es allerdings noch weiteren Untersuchungen sowie einer größeren Fallzahl von Versuchsdurchführungen mit genauem Augenmerk auf ebendieses Phänomen.

Beruhend auf der Annahme, dass Gefäßwandläsionen einen hohen Stellenwert bezüglich der Entstehung von Gefäßverschlüssen besitzen, wären die Ergebnisse weiterer Untersuchungen interessant, die sich auch mit der Situation in venösen Gefäßen beschäftigen. Aufgrund der äußerst dünnen venösen Wandstruktur ist eine intraluminale Defektsetzung mithilfe der in dieser Arbeit verwendeten Technik aber nicht durchgeführt worden, da das Perforationsrisiko während der Versuchsdurchführung zu hoch erschien. Dennoch wären diesbezüglich Untersuchungsergebnisse relevant, da die venöse Drainage bei Lappenplastiken ebenso essentiell ist wie die arterielle Blutversorgung. Viele Studien zeigen sogar, dass der venöse Gefäßverschluss die entscheidende Komponente für einen Misserfolg von freiem Gewebetransfers darstellt (Fujiki, Miyamoto, & Sakuraba, 2015; Lorenzo et al., 2011; Muramatsu, Shigetomi, Ihara, Kawai, & Doi, 2001; Sakurai et al., 2009).

Erschwerende Einflussfaktoren für Thrombosierungen in Venen stellen unter anderem herabgesetzte Strömungsgeschwindigkeiten in diesen Gefäßen dar, die ebenso wie Endothelalterationen und Viskositätsveränderungen des Blutes von Rudolph Virchow bereits Mitte des 19. Jahrhunderts beschrieben und als „Virchow Trias“ bekannt wurden. In der Mikrochirurgie spielt aber auch die Anastomosierung von venösen Gefäßen eine entscheidende Rolle, da diese als besonders anspruchsvoll gilt und Erfolgsraten von weniger als 50% aufweist, wenn sie von Anfängern durchgeführt werden, wie Hui et al. im Rahmen einer Untersuchung feststellen konnten (Cooley & Gould, 1992). Möglicherweise werden im Zusammenhang mit der Anastomosierung thrombotische Prozesse auch durch Lumeneinengungen begünstigt, wie sie ebenfalls in dieser Arbeit in rund 43% der Fälle mithilfe der ICGA nachgewiesen werden konnten. Die nachfolgenden Verlaufsmessungen der Gefäßdurchmesser zeigten bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe eine Woche später eine deutliche Abnahme dieser Stenosierungen. Cooley et al. postulierten in diesem Kontext, dass durch postoperative, perivaskuläre Adhäsionen im und um den Bereich der Gefäßnaht Zugkräfte auf die Gefäßwand ausgeübt werden und dadurch der ursprüngliche Gefäßdurchmesser nach einer Woche wieder erreicht werden konnte (Cooley & Gould, 1992).

Diese Beobachtungen wären also in Einklang mit den in dieser Arbeit beschriebenen Ergebnissen zu bringen. Allerdings bedarf es auch hier weiteren Untersuchungen, die sich genauer auf dieses Phänomen konzentrieren.

Neben Gefäßthrombosierungen als solchen, stellt das immer höhere Patientenalter und besonders das damit verbundene gehäufte Auftreten von generalisierter Atherosklerose die mikrovaskuläre Chirurgie vor große Herausforderungen. Wie bereits in Teilen der Einleitung beschrieben, stellt die Atherosklerose dabei einen der Hauptrisikofaktoren im Umgang mit freien Gewebetransplantaten dar und kann sowohl die Empfängergefäße als auch die Gefäße im Lappen selbst betreffen (H. C. Chen et al., 2006; de Bree, Quak, Kummer, Simsek, & Leemans, 2004). Deshalb ist bei der präoperativen Planung neben der Patientenselektion die Auswahl des Lappens von großer Bedeutung. Dafür sollten Transplantate mit konstanter Anatomie und langem Gefäßstiel von möglichst erfahrenen Operateuren gewählt werden (H. C. Chen et al., 2006; Kroll et al., 1996). Es empfiehlt sich weiterhin, nach Möglichkeit zentral gelegene oder den oberen Extremitäten zugehörige Lappen für die Transplantation zu wählen, da Gefäße dieser Körperregionen in der Regel seltener von Atherosklerose betroffen sind (H. C. Chen et al., 2006). Beim intraoperativen Setting spielt die Gefäßvorbereitung eine entscheidende Rolle, da hier eine atraumatische Präparation zur Vermeidung von Intimaschäden besonders wichtig ist. Sollten intraluminal Thromben oder atherosklerotische Plaques vorgefunden werden, können diese vorsichtig entfernt werden (H. C. Chen et al., 2006). Auf Grundlage der in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse, sollte dabei aber besonders auf die Vermeidung von längs konfigurierten Intimaläsionen geachtet werden. Für die Anastomosierung selbst gibt es eine Reihe von Empfehlungen bei atherosklerotisch veränderten Gefäßen. Beispielsweise sollte möglichst kleines Nahtmaterial mit runden Nadeln verwendet werden, um Gefäßwandschäden zu minimieren. Um ein potentiell Ablösen von Plaques zu verhindern, sollten außerdem nach Möglichkeit keine Gefäßklemmen benutzt werden, da diese zu Rissen in Plaqueformationen führen können. Zudem empfiehlt es sich die Stichführung während der Naht von innen nach außen durchzuführen, da hierbei eine gute Einsicht auf die Gefäßinnenwand gewährleistet wird (H. C. Chen et al., 2006). Postoperativ spielt das Lappenmonitoring eine wesentliche Rolle. Wie bereits in Teilen der Einleitung beschrieben stehen dabei die klinische Beurteilung und die Anwendung technischer Hilfsmittel (z.B. Doppler Sonographie) im Vordergrund. Darüber hinaus sollte auch die Hämodynamik des Patienten dahingehend reguliert werden, hypotone und hypovolämische

Zustände möglichst zu vermeiden (H. C. Chen et al., 2006; Goldberg, Alpert, Lineaweaver, & Buncke, 1991). Antikoagulantien können nach freiem Gewebetransfer angewendet werden, auch wenn zum postoperativen Einsatz kein Konsens besteht (H. C. Chen et al., 2006; Conrad & Adams, 2001; Johnson & Barker, 1992). Blutungen und Hämatombildung müssen dann als mögliche Komplikationen bedacht und durch ständige Kontrollen frühzeitig erkannt und behoben werden. Mit den Ergebnissen aus dieser Arbeit können somit nun auch tiefere Einblicke gewährleistet und weiterführende Empfehlungen gegeben werden, um das Management der Atherosklerose bei Patienten, die eine mikrochirurgische Rekonstruktion benötigen, zu verbessern.

5 Zusammenfassung

Aufgrund der vielzähligen und komplexen Rekonstruktionsmöglichkeiten, hat der mikrovaskuläre freie Gewebetransfer in einer Reihe von chirurgischen Disziplinen während der letzten Jahre zunehmend an Bedeutung gewonnen (Bui et al., 2007; Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Mitchell, & Hölzle, 2010). Einige Einflussfaktoren führen jedoch immer wieder zu Komplikationen bis hin zum Lappenverlust, was die Anwendung des freien Gewebetransfers beschränken kann. Neben allgemeinen Risiken und vorausgegangenen Behandlungen im Operationsgebiet, spielen dabei auch vaskuläre Faktoren, wie die Atherosklerose mit konsekutiven Gefäßthrombosen, eine wesentliche Rolle (H. C. Chen et al., 2006; Mücke et al., 2012).

Ziel der vorgelegten Arbeit war es, Einfluss und Auswirkungen von Intimaläsionen an arteriellen Gefäßwänden zu untersuchen. Dafür wurden mikrochirurgisch Defekte in der Gefäßinnenwand der Aorta von 60 Wistar-Ratten gesetzt, von denen 30 Tiere darüber hinaus noch für einen Zeitraum von sieben Tagen überwacht und anschließend re-evaluiert wurden. Besonderes Augenmerk dabei galt den unterschiedlichen Defektgrößen und Defektkonfigurationen. Weiterhin wurde eine mögliche Thrombusentstehung an den Läsionen mithilfe verschiedener Modalitäten untersucht. Dabei wurden klinische Beurteilung und Indocyaningrün Angiographie (ICGA) sowohl untereinander als auch mit dem Goldstandard der Histologie verglichen und Prädiktoren für eine Thrombusentstehung gesucht.

Die Größen der ausgemessenen Defektflächen bewegten sich zwischen $0,69\text{mm}^2$ bis $5,36\text{mm}^2$. Ihrer Konfiguration entsprechend wurden die Defekte als vertikal, rundlich oder horizontal klassifiziert. Die Histologie konnte insgesamt in 51,7% der Fälle Thromben nachweisen, der Vergleich mit der klinischen Beurteilung in der ersten Versuchsreihe ergab eine hochsignifikante Korrelation (Korrelationskoeffizient 0,87, $p < 0,001$). Die Regressionsanalyse identifizierte die vertikale Defektkonfiguration als unabhängigen Risikofaktor für eine Thrombusentstehung (HR 13,18, $p = 0,03$). Von 30 Versuchstieren, die nach einer Woche re-evaluiert wurden, konnte in 96,7% der Fälle im Verlauf eine Abnahme der Defektgröße festgestellt werden. Eine Umwandlung der Defektkonfiguration hin zu potentiell weniger thrombogenen Konfigurationen wurde dabei in 56,7% der Fälle beobachtet.

Anhand der gewonnenen Daten lässt sich schlussfolgern, dass arterielle Endothelläsionen -

insbesondere solche mit vertikaler Defektkonfiguration - im Rahmen mikrochirurgischer Prozeduren aufgrund des hohen Risikos einer Thrombosierung vermieden werden sollten. Die ICG-Angiographie kann dabei als Diagnostikum zusätzliche Informationen über Beschaffenheit und Permeabilität des Gefäßes geben. Darüber hinaus konnte mit dieser Arbeit einmal mehr gezeigt werden, dass die Ratte als Versuchstier sowohl für die experimentelle Forschung als auch für mikrochirurgische Trainingszwecke von hoher Bedeutung ist.

6 Literaturverzeichnis

- Adriaensen, M. E., Kock, M. C., Stijnen, T., van Sambeek, M. R., van Urk, H., Pattynama, P. M., & Myriam Hunink, M. G. (2004). Peripheral arterial disease: therapeutic confidence of CT versus digital subtraction angiography and effects on additional imaging recommendations. *Radiology*, *233*(2), 385-391. doi: 10.1148/radiol.2331031595
- Antithrombotic Trialists, C. (2002). Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*, *324*(7329), 71-86.
- Bennett, N., & Choudhary, S. (2000). Why climb a ladder when you can take the elevator? *Plast Reconstr Surg*, *105*(6), 2266.
- Benya, R., Quintana, J., & Brundage, B. (1989). Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature. *Cathet Cardiovasc Diagn*, *17*(4), 231-233.
- Bigdeli, A. K., Gazyakan, E., Schmidt, V. J., Hernekamp, F. J., Harhaus, L., Henzler, T., . . . Hirche, C. (2015). Indocyanine Green Fluorescence for Free-Flap Perfusion Imaging Revisited: Advanced Decision Making by Virtual Perfusion Reality in Visionsense Fusion Imaging Angiography. *Surg Innov*. doi: 10.1177/1553350615610651
- Bjerregaard, J., Pandia, M. P., & Jaffe, R. A. (2013). Occurrence of severe hypotension after indocyanine green injection during the intraoperative period. *A A Case Rep*, *1*(1), 26-30. doi: 10.1097/ACC.0b013e3182933c12
- Böcker, W., Denk, H., Heitz, U. P., & Moch, H. (2008). Pathologie (Vol. 4. Auflage, pp. 498). München: Elsevier GmbH, Urban & Fischer Verlag.
- Brenner, C., Krankel, N., Kuhlenthal, S., Israel, L., Remm, F., Fischer, C., . . . Franz, W. M. (2014). Short-term inhibition of DPP-4 enhances endothelial regeneration after acute arterial injury via enhanced recruitment of circulating progenitor cells. *Int J Cardiol*, *177*(1), 266-275. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.09.016
- Buehrer, G., Taeger, C. D., Ludolph, I., Horch, R. E., & Beier, J. P. (2015). Intraoperative flap design using ICG monitoring of a conjoined fabricated anterolateral thigh/tensor fasciae latae perforator flap in a case of extensive soft tissue reconstruction at the lower extremity. *Microsurgery*. doi: 10.1002/micr.22424
- Bui, D. T., Cordeiro, P. G., Hu, Q. Y., Disa, J. J., Pusic, A., & Mehrara, B. J. (2007). Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg*, *119*(7), 2092-2100. doi: 10.1097/01.prs.0000260598.24376.e1
- Capron, L., & Bruneval, P. (1989). Influence of applied stress on mitotic response of arteries to injury with a balloon catheter: quantitative study in rat thoracic aorta. *Cardiovasc Res*, *23*(11), 941-948.
- Cervelli, T., Borghini, A., Galli, A., & Andreassi, M. G. (2012). DNA damage and repair in atherosclerosis: current insights and future perspectives. *Int J Mol Sci*, *13*(12), 16929-16944. doi: 10.3390/ijms131216929
- Chao, A. H., Meyerson, J., Povoski, S. P., & Kocak, E. (2013). A review of devices used in the monitoring of microvascular free tissue transfers. *Expert Rev Med Devices*, *10*(5), 649-660. doi: 10.1586/17434440.2013.827527
- Chen, H. C., Coskunfirat, O. K., Ozkan, O., Mardini, S., Cigna, E., Salgado, C. J., & Spanio, S. (2006). Guidelines for the optimization of microsurgery in atherosclerotic patients. *Microsurgery*, *26*(5), 356-362. doi: 10.1002/micr.20252
- Chen, J., Xu, L., & Huang, C. (2014). DHEA inhibits vascular remodeling following arterial injury: a possible role in suppression of inflammation and oxidative stress derived from vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Biochem*, *388*(1-2), 75-84. doi: 10.1007/s11010-013-1900-7
- Chen, S. F., Kato, Y., Oda, J., Kumar, A., Watabe, T., Imizu, S., . . . Hirose, Y. (2011). The application of intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography and analysis of

- fluorescence intensity in cerebrovascular surgery. *Surg Neurol Int*, 2, 42. doi: 10.4103/2152-7806.78517
- Cherrick, G. R., Stein, S. W., Leevy, C. M., & Davidson, C. S. (1960). Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest*, 39, 592-600. doi: 10.1172/JCI104072
- Chung, T. L., Pumpllin, D. W., Holton, L. H., 3rd, Taylor, J. A., Rodriguez, E. D., & Silverman, R. P. (2007). Prevention of microsurgical anastomotic thrombosis using aspirin, heparin, and the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *Plast Reconstr Surg*, 120(5), 1281-1288. doi: 10.1097/01.prs.0000279327.75083.ae
- Conrad, M. H., & Adams, W. P., Jr. (2001). Pharmacologic optimization of microsurgery in the new millennium. *Plast Reconstr Surg*, 108(7), 2088-2096; quiz 2097.
- Cooley, B. C., & Gould, J. S. (1992). The effect of venous flow alterations upon patency of rat femoral vein anastomoses. *Microsurgery*, 13(3), 138-142.
- Coon, D., Chen, L., Boctor, E. M., Prince, J. L., & Bojovic, B. (2015). Proof-of-Concept Studies for Marker-Based Ultrasound Doppler Analysis of Microvascular Anastomoses in a Modified Large Animal Model. *J Reconstr Microsurg*. doi: 10.1055/s-0035-1568158
- Curaj, A., Wu, Z., Fokong, S., Liehn, E. A., Weber, C., Burlacu, A., . . . Kiessling, F. (2015). Noninvasive molecular ultrasound monitoring of vessel healing after intravascular surgical procedures in a preclinical setup. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 35(6), 1366-1373. doi: 10.1161/ATVBAHA.114.304857
- Davies, D. M. (1982). A world survey of anticoagulation practice in clinical microvascular surgery. *Br J Plast Surg*, 35(1), 96-99.
- de Bree, R., Quak, J. J., Kummer, J. A., Simsek, S., & Leemans, C. R. (2004). Severe atherosclerosis of the radial artery in a free radial forearm flap precluding its use. *Oral Oncol*, 40(1), 99-102.
- de Oliveira, J. G., Beck, J., Seifert, V., Teixeira, M. J., & Raabe, A. (2007). Assessment of flow in perforating arteries during intracranial aneurysm surgery using intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography. *Neurosurgery*, 61(3 Suppl), 63-72; discussion 72-63. doi: 10.1227/01.neu.0000289715.18297.08
- de Weerd, L., Mercer, J. B., & Setsa, L. B. (2006). Intraoperative dynamic infrared thermography and free-flap surgery. *Ann Plast Surg*, 57(3), 279-284. doi: 10.1097/01.sap.0000218579.17185.c9
- DeRuiter, M. C., Poelmann, R. E., VanMunsteren, J. C., Mironov, V., Markwald, R. R., & Gittenberger-de Groot, A. C. (1997). Embryonic endothelial cells transdifferentiate into mesenchymal cells expressing smooth muscle actins in vivo and in vitro. *Circ Res*, 80(4), 444-451.
- Desmettre, T., Devoisselle, J. M., & Mordon, S. (2000). Fluorescence properties and metabolic features of indocyanine green (ICG) as related to angiography. *Surv Ophthalmol*, 45(1), 15-27.
- Dimmeler, S., & Zeiher, A. M. (2004). Vascular repair by circulating endothelial progenitor cells: the missing link in atherosclerosis? *J Mol Med (Berl)*, 82(10), 671-677. doi: 10.1007/s00109-004-0580-x
- Durnig, P., Meier, M., & Reichert, B. (2008). [Monitoring of free flaps and replantations. Status quo in German-speaking microsurgery units]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 40(6), 392-399. doi: 10.1055/s-2008-1039161
- Dussault, S., Dhahri, W., Desjarlais, M., Mathieu, R., & Rivard, A. (2014). Elsibucol inhibits atherosclerosis following arterial injury: multifunctional effects on cholesterol levels, oxidative stress and inflammation. *Atherosclerosis*, 237(1), 194-199. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.09.008
- Eckstein, H.-H. K., Andreas; Dörfler, Arnd; Kopp, Ina B.; Lawall, Holger; Ringleb, Peter A. . (2013). The Diagnosis, Treatment and Follow-up of Extracranial Carotid Stenosis: A Multidisciplinary German-Austrian Guideline Based on Evidence and Consensus. *Dtsch Arztebl Int* 2013; 110(27-28): 468-76; DOI: 10.3238/arztebl.2013.0468.
- Enajat, M., Aziz Mohammadi, M., Debeij, J., van der Hulst, R. R., & Mureau, M. A. (2014). Effect of acetylsalicylic acid on microvascular thrombosis in autologous breast reconstruction. *J Reconstr Microsurg*, 30(1), 65-70. doi: 10.1055/s-0033-1356553

- Faber, F., Thon, N., Fesl, G., Rachinger, W., Guckler, R., Tonn, J. C., & Schichor, C. (2011). Enhanced analysis of intracerebral arteriovenous malformations by the intraoperative use of analytical indocyanine green videoangiography: technical note. *Acta Neurochir (Wien)*, *153*(11), 2181-2187. doi: 10.1007/s00701-011-1141-z
- Failure of extracranial-intracranial arterial bypass to reduce the risk of ischemic stroke. Results of an international randomized trial. The EC/IC Bypass Study Group. (1985). *N Engl J Med*, *313*(19), 1191-1200. doi: 10.1056/NEJM198511073131904
- Foteinos, G., Hu, Y., Xiao, Q., Metzler, B., & Xu, Q. (2008). Rapid endothelial turnover in atherosclerosis-prone areas coincides with stem cell repair in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation*, *117*(14), 1856-1863. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.746008
- Fox, I., Brooker, G., et al. (1956). New dyes for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Circulation*(14): 937-938.
- Fox, I. J., Brooker, L. G., et al. (1957). A tricarbocyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Proc Staff Meet Mayo Clin* *32*(18): 478-84.
- Fox, R. S., & Frazier, W. H. (1980). Wound protection in experimental rats: a new technique. *Plast Reconstr Surg*, *66*(1), 141-142.
- Fujiki, M., Miyamoto, S., & Sakuraba, M. (2015). Flow-through anastomosis for both the artery and vein in leg free flap transfer. *Microsurgery*, *35*(7), 536-540. doi: 10.1002/micr.22476
- Fuster, J. J., Fernandez, P., Gonzalez-Navarro, H., Silvestre, C., Nabah, Y. N., & Andres, V. (2010). Control of cell proliferation in atherosclerosis: insights from animal models and human studies. *Cardiovasc Res*, *86*(2), 254-264. doi: 10.1093/cvr/cvp363
- Gathje, J., Steuer, R. R., & Nicholes, K. R. (1970). Stability studies on indocyanine green dye. *J Appl Physiol*, *29*(2), 181-185.
- Gentile, S., Bajema, B. L., Baldini, G., Lunazzi, G., Groothuis, G. M., Tiribelli, C., . . . Sottocasa, G. L. (1985). Measurement of the association of cholephylic organic anions with different binding proteins. *Biochem Pharmacol*, *34*(14), 2439-2444.
- Gilsbach, J. M. (1984). [Microvascular intraoperative Doppler sonography]. *Ultraschall Med*, *5*(5), 246-254. doi: 10.1055/s-2007-1012102
- Goldberg, J. A., Alpert, B. S., Lineaweaver, W. C., & Buncke, H. J. (1991). Microvascular reconstruction of the lower extremity in the elderly. *Clin Plast Surg*, *18*(3), 459-465.
- Gottlieb, L. J., & Krieger, L. M. (1994). From the reconstructive ladder to the reconstructive elevator. *Plast Reconstr Surg*, *93*(7), 1503-1504.
- Hallock, G. G. (2008). Is there a "learning curve" for muscle perforator flaps? *Ann Plast Surg*, *60*(2), 146-149. doi: 10.1097/SAP.0b013e318056d6dc
- Hanel, R. A., Nakaji, P., & Spetzler, R. F. (2010). Use of microscope-integrated near-infrared indocyanine green videoangiography in the surgical treatment of spinal dural arteriovenous fistulae. *Neurosurgery*, *66*(5), 978-984; discussion 984-975. doi: 10.1227/01.NEU.0000368108.94233.22
- Harashina, T. (1988). Analysis of 200 free flaps. *Br J Plast Surg*, *41*(1), 33-36.
- Haudenschild, C. C., & Schwartz, S. M. (1979). Endothelial regeneration. II. Restitution of endothelial continuity. *Lab Invest*, *41*(5), 407-418.
- Hayashi, A., Yoshizawa, H., Tanaka, R., Natori, Y., Arakawa, A., & Mizuno, H. (2015). Intraoperative Use of Indocyanine Green Fluorescence Angiography during Distally Based Radial Artery Perforator Flap for Squamous Cell Carcinoma of the Thumb. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, *3*(2), e310. doi: 10.1097/GOX.0000000000000281
- Herbort, C. P. (2000). Precise monitoring and differentiation of inflammatory events by indocyanine green (ICG) angiography in a case of recurrent posterior sarcoid uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*, *8*(4), 303-306.
- Hirsch, E. Z., & Robertson, A. L., Jr. (1977). Selective acute arterial endothelial injury and repair. I. Methodology and surface characteristics. *Atherosclerosis*, *28*(3), 271-287.

- Hollins, B., Noe, B., & Henderson, J. M. (1987). Fluorometric determination of indocyanine green in plasma. *Clin Chem*, 33(6), 765-768.
- Holm, C., Dornseifer, U., Sturtz, G., & Ninkovic, M. (2010). Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg*, 26(5), 311-316. doi: 10.1055/s-0030-1249314
- Holm, C., Mayr, M., Hoffer, E., Dornseifer, U., & Ninkovic, M. (2009). Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study. *Microsurgery*, 29(7), 509-514. doi: 10.1002/micr.20645
- Holm, C., Tegeler, J., Mayr, M., Becker, A., Pfeiffer, U. J., & Muhlbauer, W. (2002). Monitoring free flaps using laser-induced fluorescence of indocyanine green: a preliminary experience. *Microsurgery*, 22(7), 278-287. doi: 10.1002/micr.10052
- Holzbach, T., Artunian, N., Spanholtz, T. A., Volkmer, E., Engelhardt, T. O., & Giunta, R. E. (2012). [Microscope-integrated intraoperative indocyanine green angiography in plastic surgery]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 44(2), 84-88. doi: 10.1055/s-0032-1309023
- Hölzle, F., Mitchell, D. A., Rau, A., Palisaar, J., Loeffelbein, D. J., Noldus, J., . . . Wolff, K. D. (2012). Assessment of the perfusion and morbidity of the buccal mucosal donor site for grafting of urethral strictures. *J Craniomaxillofac Surg*, 40(1), 47-50. doi: 10.1016/j.jcms.2010.12.004
- Howe, L. J., & Tufail, A. (2004). ICG angiography and uveitis. *Ocul Immunol Inflamm*, 12(1), 1-5.
- Hu, Y., Davison, F., Zhang, Z., & Xu, Q. (2003). Endothelial replacement and angiogenesis in arteriosclerotic lesions of allografts are contributed by circulating progenitor cells. *Circulation*, 108(25), 3122-3127. doi: 10.1161/01.CIR.0000105722.96112.67
- Hu, Y., Mayr, M., Metzler, B., Erdel, M., Davison, F., & Xu, Q. (2002). Both donor and recipient origins of smooth muscle cells in vein graft atherosclerotic lesions. *Circ Res*, 91(7), e13-20.
- Imizu, S., Kato, Y., Sangli, A., Oguri, D., & Sano, H. (2008). Assessment of incomplete clipping of aneurysms intraoperatively by a near-infrared indocyanine green-video angiography (Niicg-Va) integrated microscope. *Minim Invasive Neurosurg*, 51(4), 199-203. doi: 10.1055/s-2008-1080916
- Jafari, M. D., Lee, K. H., Halabi, W. J., Mills, S. D., Carmichael, J. C., Stamos, M. J., & Pigazzi, A. (2013). The use of indocyanine green fluorescence to assess anastomotic perfusion during robotic assisted laparoscopic rectal surgery. *Surg Endosc*, 27(8), 3003-3008. doi: 10.1007/s00464-013-2832-8
- Jia, Y. C., Chen, H. H., Kang, Q. L., & Chai, Y. M. (2016). Stimulation of Nitric Oxide Production Contributes to the Antithrombotic Effect of Stromal Cell-Derived Factor-1alpha in Preventing Microsurgical Anastomotic Thrombosis. *J Reconstr Microsurg*. doi: 10.1055/s-0036-1571797
- Johnson, P. C., & Barker, J. H. (1992). Thrombosis and antithrombotic therapy in microvascular surgery. *Clin Plast Surg*, 19(4), 799-807.
- Kamisaka, K., Yatsuji, Y., Yamada, H., & Kameda, H. (1974). The binding of indocyanine green and other organic anions to serum proteins in liver diseases. *Clin Chim Acta*, 53(2), 255-264.
- Kansy, K., Mueller, A. A., Mucke, T., Koersgen, F., Wolff, K. D., Zeilhofer, H. F., . . . Hoffmann, J. (2015). Microsurgical reconstruction of the head and neck region: Current concepts of maxillofacial surgery units worldwide. *J Craniomaxillofac Surg*, 43(8), 1364-1368. doi: 10.1016/j.jcms.2015.06.034
- Kersh, R. A., Handren, J., Hergrueter, C., & May, J. W., Jr. (1989). Microvascular surgical experimental thrombosis model: rationale and design. *Plast Reconstr Surg*, 83(5), 866-872; discussion 873-864.
- Kesting, M. R., Hölzle, F., Wolff, K. D., Wagenpfeil, S., Hasler, R. J., Wales, C. J., . . . Rohleder, N. H. (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(3), 398-405. doi: 10.1111/j.1532-5415.2011.03315.x
- Ko, J. W., Lorzano, A., & Mirarchi, A. J. (2015). Effectiveness of a microvascular surgery training curriculum for orthopaedic surgery residents. *J Bone Joint Surg Am*, 97(11), 950-955. doi: 10.2106/JBJS.N.00854

- Koshima, I., Moriguchi, T., Soeda, S., Tanaka, H., & Umeda, N. (1992). Free thin paraumbilical perforator-based flaps. *Ann Plast Surg*, 29(1), 12-17.
- Koshima, I., Yamamoto, T., Narushima, M., Mihara, M., & Iida, T. (2010). Perforator flaps and supermicrosurgery. *Clin Plast Surg*, 37(4), 683-689, vii-iii. doi: 10.1016/j.cps.2010.06.009
- Krag, C., Larsen, J., & Reumert, T. (1981). Handling properties and thrombogenicity of microsutures. *J Microsurg*, 2(3), 202-205.
- Kroll, S. S., Schusterman, M. A., Reece, G. P., Miller, M. J., Evans, G. R., Robb, G. L., & Baldwin, B. J. (1996). Choice of flap and incidence of free flap success. *Plast Reconstr Surg*, 98(3), 459-463.
- Kuhnel, T. S., & Muller, G. H. (2004). Experimental animal studies of clip-induced microvascular trauma. *Microsurgery*, 24(3), 241-247. doi: 10.1002/micr.20016
- Kuroiwa, T., Kajimoto, Y., & Ohta, T. (2001). Development and clinical application of near-infrared surgical microscope: preliminary report. *Minim Invasive Neurosurg*, 44(4), 240-242. doi: 10.1055/s-2001-19929
- Lamon, B. D., & Hajjar, D. P. (2008). Inflammation at the molecular interface of atherogenesis: an anthropological journey. *Am J Pathol*, 173(5), 1253-1264. doi: 10.2353/ajpath.2008.080442
- Lee, C. H., Jung, Y. S., Yang, H. J., Son, Y. J., & Lee, S. H. (2012). An innovative method for detecting surgical errors using indocyanine green angiography during carotid endarterectomy: a preliminary investigation. *Acta Neurochir (Wien)*, 154(1), 67-73; discussion 73. doi: 10.1007/s00701-011-1212-1
- Lee, Z., Simhan, J., Parker, D. C., Reilly, C., Llukani, E., Lee, D. I., . . . Eun, D. D. (2013). Novel use of indocyanine green for intraoperative, real-time localization of ureteral stenosis during robot-assisted ureteroureterostomy. *Urology*, 82(3), 729-733. doi: 10.1016/j.urology.2013.05.032
- Libby, P. (2008). The molecular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis. *J Intern Med*, 263(5), 517-527. doi: 10.1111/j.1365-2796.2008.01965.x
- Lohman, R. F., Langevin, C. J., Bozkurt, M., Kundu, N., & Djohan, R. (2013). A prospective analysis of free flap monitoring techniques: physical examination, external Doppler, implantable Doppler, and tissue oximetry. *J Reconstr Microsurg*, 29(1), 51-56. doi: 10.1055/s-0032-1326741
- Lorenzo, A. R., Lin, C. H., Lin, C. H., Lin, Y. T., Nguyen, A., Hsu, C. C., & Wei, F. C. (2011). Selection of the recipient vein in microvascular flap reconstruction of the lower extremity: analysis of 362 free-tissue transfers. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 64(5), 649-655. doi: 10.1016/j.bjps.2010.07.028
- Lusis, A. J. (2000). Atherosclerosis. *Nature*, 407(6801), 233-241. doi: 10.1038/35025203
- Macionis, V. (2000). New protective system preventing self-mutilation of rat surgical sites. *J Reconstr Microsurg*, 16(8), 609-612.
- Mahmoudi, M., Gorenne, I., Mercer, J., Figg, N., Littlewood, T., & Bennett, M. (2008). Statins use a novel Nijmegen breakage syndrome-1-dependent pathway to accelerate DNA repair in vascular smooth muscle cells. *Circ Res*, 103(7), 717-725. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.182899
- Mannarino, E., & Pirro, M. (2008). Endothelial injury and repair: a novel theory for atherosclerosis. *Angiology*, 59(2 Suppl), 69S-72S. doi: 10.1177/0003319708320761
- Masia, J., Olivares, L., Koshima, I., Teo, T. C., Suominen, S., Van Landuyt, K., . . . Mitsunaga, N. (2014). Barcelona consensus on supermicrosurgery. *J Reconstr Microsurg*, 30(1), 53-58. doi: 10.1055/s-0033-1354742
- Michie, D. D., & Villarreal, Y. (1966). A study of the absorption and stability characteristics of sodium amazolene (Coomassie Blue) individually and in combination with indocyanine green (Cardio Green). *Br J Anaesth*, 38(12), 923-928.
- Misirlioglu, A., Karaca, M., Avci, G., & Akoz, T. (2011). A method for flap monitoring based on bioelectrical-resistance analysis. *J Craniofac Surg*, 22(3), 1083-1086. doi: 10.1097/SCS.0b013e31821075a9

- Mohr, J. P., Thompson, J. L., Lazar, R. M., Levin, B., Sacco, R. L., Furie, K. L., . . . Warfarin-Aspirin Recurrent Stroke Study, G. (2001). A comparison of warfarin and aspirin for the prevention of recurrent ischemic stroke. *N Engl J Med*, *345*(20), 1444-1451. doi: 10.1056/NEJMoa011258
- Morrow, D., Guha, S., Sweeney, C., Birney, Y., Walshe, T., O'Brien, C., . . . Cahill, P. A. (2008). Notch and vascular smooth muscle cell phenotype. *Circ Res*, *103*(12), 1370-1382. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.108.187534
- MRC European Carotid Surgery Trial: interim results for symptomatic patients with severe (70-99%) or with mild (0-29%) carotid stenosis. European Carotid Surgery Trialists' Collaborative Group. (1991). *Lancet*, *337*(8752), 1235-1243.
- Mücke, T. (2012). Evaluation der Indocyanin-Grün Videoangiographie zur Validierung der Anwendung auf mikrovaskuläre Prozeduren im Rattenmodell. 15.
- Mücke, T., Müller, A. A., Kansy, K., Hallermann, W., Kerkmann, H., Schuck, N., . . . Reconstruction, D. c. g. f. M. (2011). Microsurgical reconstruction of the head and neck--current practice of maxillofacial units in Germany, Austria, and Switzerland. *J Craniomaxillofac Surg*, *39*(6), 449-452. doi: 10.1016/j.jcms.2010.10.019
- Mücke, T., Rau, A., Weitz, J., Ljubic, A., Rohleder, N., Wolff, K. D., . . . Kesting, M. R. (2012). Influence of irradiation and oncologic surgery on head and neck microsurgical reconstructions. *Oral Oncol*, *48*(4), 367-371. doi: 10.1016/j.oraloncology.2011.11.013
- Mücke, T., Reeps, C., Wolff, K. D., Mitchell, D. A., Fichter, A. M., & Scholz, M. (2013). Objective qualitative and quantitative assessment of blood flow with near-infrared angiography in microvascular anastomoses in the rat model. *Microsurgery*, *33*(4), 287-296. doi: 10.1002/micr.22095
- Mücke, T., Wolff, K. D., Wagenpfeil, S., Hölzle, F., & Scholz, M. (2010). Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg*, *126*(5), 1506-1514. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181f0215a
- Mücke, T., Wolff, K. D., Wagenpfeil, S., Mitchell, D. A., & Hölzle, F. (2010). Immediate microsurgical reconstruction after tumor ablation predicts survival among patients with head and neck carcinoma. *Ann Surg Oncol*, *17*(1), 287-295. doi: 10.1245/s10434-009-0758-0
- Murai, Y., Adachi, K., Takagi, R., Koketsu, K., Matano, F., & Teramoto, A. (2011). Intraoperative Matas test using microscope-integrated intraoperative indocyanine green videoangiography with temporary unilateral occlusion of the A1 segment of the anterior cerebral artery. *World Neurosurg*, *76*(5), 477 e477-477 e410. doi: 10.1016/j.wneu.2011.03.044
- Murakami, T., Koyanagi, I., Kaneko, T., Iihoshi, S., & Houkin, K. (2011). Intraoperative indocyanine green videoangiography for spinal vascular lesions: case report. *Neurosurgery*, *68*(1 Suppl Operative), 241-245; discussion 245. doi: 10.1227/NEU.0b013e318207b6b5
- Muramatsu, K., Shigetomi, M., Ihara, K., Kawai, S., & Doi, K. (2001). Vascular complication in free tissue transfer to the leg. *Microsurgery*, *21*(8), 362-365.
- Murono, S., Ishikawa, N., Ohtake, H., Tsuji, A., Endo, K., Kondo, S., . . . Yoshizaki, T. (2014). Intraoperative free jejunum flap monitoring with indocyanine green near-infrared angiography. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, *271*(5), 1335-1338. doi: 10.1007/s00405-014-2936-3
- Nathan, L., & Chaudhuri, G. (1997). Estrogens and atherosclerosis. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, *37*, 477-515. doi: 10.1146/annurev.pharmtox.37.1.477
- North American Symptomatic Carotid Endarterectomy Trial, C. (1991). Beneficial effect of carotid endarterectomy in symptomatic patients with high-grade carotid stenosis. *N Engl J Med*, *325*(7), 445-453. doi: 10.1056/NEJM199108153250701
- Painter, T. A., Hertzner, N. R., O'Hara, P. J., Krajewski, L. P., & Beven, E. G. (1987). Symptomatic internal carotid thrombosis after carotid endarterectomy. *J Vasc Surg*, *5*(3), 445-451.
- Papillion, P., Wong, L., Waldrop, J., Sargent, L., Brzezienski, M., Kennedy, W., & Rehm, J. (2009). Infrared surface temperature monitoring in the postoperative management of free tissue transfers. *Can J Plast Surg*, *17*(3), 97-101.

- Pechlivanis, I., Kuebler, M., Harders, A., & Schmieder, K. (2009). Perioperative complication rate of lumbar disc microsurgery depending on the surgeon's level of training. *Cent Eur Neurosurg*, 70(3), 137-142. doi: 10.1055/s-0029-1216361
- Petry, J. J., French, T. S., & Wortham, K. A. (1986). The effect of the "patency test" on arterial endothelial surface. *Plast Reconstr Surg*, 77(6), 960-964.
- Pfeiler, S., Massberg, S., & Engelmann, B. (2014). Biological basis and pathological relevance of microvascular thrombosis. *Thromb Res*, 133 Suppl 1, S35-37. doi: 10.1016/j.thromres.2014.03.016
- Pingarron-Martin, L., & Arias-Gallo, L. J. (2014). Sildenafil effect on prevention of thrombosis after microsurgical anastomosis: experimental rat model of thrombotic suture. *Oral Maxillofac Surg*, 18(1), 53-58. doi: 10.1007/s10006-012-0387-9
- Prescott, M. F., & Muller, K. R. (1983). Endothelial regeneration in hypertensive and genetically hypercholesterolemic rats. *Arteriosclerosis*, 3(3), 206-214.
- Pynn, B. R., McKee, N. H., Nigra, C. A., & Howard, C. R. (1983). A protective rat vest. *Plast Reconstr Surg*, 71(5), 716-717.
- Raabe, A., Beck, J., & Seifert, V. (2005). Technique and image quality of intraoperative indocyanine green angiography during aneurysm surgery using surgical microscope integrated near-infrared video technology. *Zentralbl Neurochir*, 66(1), 1-6; discussion 7-8. doi: 10.1055/s-2004-836223
- Ramsay, M. M., Walker, L. N., & Bowyer, D. E. (1982). Narrow superficial injury to rabbit aortic endothelium. The healing process as observed by scanning electron microscopy. *Atherosclerosis*, 43(2-3), 233-243.
- Randomised trial of endarterectomy for recently symptomatic carotid stenosis: final results of the MRC European Carotid Surgery Trial (ECST). (1998). *Lancet*, 351(9113), 1379-1387.
- Reidy, M. A. (1985). A reassessment of endothelial injury and arterial lesion formation. *Lab Invest*, 53(5), 513-520.
- Reidy, M. A., & Schwartz, S. M. (1981). Endothelial regeneration. III. Time course of intimal changes after small defined injury to rat aortic endothelium. *Lab Invest*, 44(4), 301-308.
- Reidy, M. A., & Silver, M. (1985). Endothelial regeneration. VII. Lack of intimal proliferation after defined injury to rat aorta. *Am J Pathol*, 118(2), 173-177.
- Rekhter, M. D., & Mironov, A. A. (1990). [An analysis of the endothelial differentiation of the rat aorta during reparative regeneration]. *Tsitologiya*, 32(2), 122-127.
- Richards, A. M. (2002). Key Notes on Plastic Surgery. *Blackwell Science Publishing Company*.
- Rickard, R. F., & Hudson, D. A. (2014). A history of vascular and microvascular surgery. *Ann Plast Surg*, 73(4), 465-472. doi: 10.1097/SAP.0b013e3182710027
- Ritschl, L. M., Fichter, A. M., Haberle, S., von Bomhard, A., Mitchell, D. A., Wolff, K. D., & Mücke, T. (2015). Ketamine-Xylazine Anesthesia in Rats: Intraperitoneal versus Intravenous Administration Using a Microsurgical Femoral Vein Access. *J Reconstr Microsurg*, 31(5), 343-347. doi: 10.1055/s-0035-1546291
- Rizis, D., Bibeau Poirier, J., Nikolis, A., Brutus, J. P., & Cordoba, C. (2011). Mechanical failure of a Fogarty catheter in a microsurgical procedure: a case report. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 64(7), 966-968. doi: 10.1016/j.bjps.2010.10.012
- Rodriguez-Hernandez, A., & Lawton, M. T. (2012). Flash fluorescence with indocyanine green videoangiography to identify the recipient artery for bypass with distal middle cerebral artery aneurysms: operative technique. *Neurosurgery*, 70(2 Suppl Operative), 209-220. doi: 10.1227/NEU.0b013e31823158f3
- Rosenbaum, M. A., Chaudhuri, P., Abelson, B., Cross, B. N., & Graham, L. M. (2015). Apolipoprotein A-I mimetic peptide reverses impaired arterial healing after injury by reducing oxidative stress. *Atherosclerosis*, 241(2), 709-715. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.06.018
- Ross, R. (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*, 362(6423), 801-809. doi: 10.1038/362801a0

- Ross, R. (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, *340*(2), 115-126. doi: 10.1056/NEJM199901143400207
- Rothenberger, J., Amr, A., Schaller, H. E., & Rahmanian-Schwarz, A. (2013). Evaluation of a non-invasive monitoring method for free flap breast reconstruction using laser doppler flowmetrie and tissue spectrophotometry. *Microsurgery*, *33*(5), 350-357. doi: 10.1002/micr.22096
- Sakurai, H., Yamaki, T., Takeuchi, M., Soejima, K., Kono, T., & Nozaki, M. (2009). Hemodynamic alterations in the transferred tissue to lower extremities. *Microsurgery*, *29*(2), 101-106. doi: 10.1002/micr.20570
- Sartore, S., Chiavegato, A., Faggin, E., Franch, R., Puato, M., Ausoni, S., & Pauletto, P. (2001). Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circ Res*, *89*(12), 1111-1121.
- Scheufler, O., Exner, K., & Andresen, R. (2004). Investigation of TRAM flap oxygenation and perfusion by near-infrared reflection spectroscopy and color-coded duplex sonography. *Plast Reconstr Surg*, *113*(1), 141-152; discussion 153-145. doi: 10.1097/01.PRS.0000095940.96294.A5
- Schmiedek, P., Piegras, A., Leinsinger, G., Kirsch, C. M., & Einhuapl, K. (1994). Improvement of cerebrovascular reserve capacity by EC-IC arterial bypass surgery in patients with ICA occlusion and hemodynamic cerebral ischemia. *J Neurosurg*, *81*(2), 236-244. doi: 10.3171/jns.1994.81.2.0236
- Schwartz, S. M. (1997). Perspectives series: cell adhesion in vascular biology. Smooth muscle migration in atherosclerosis and restenosis. *J Clin Invest*, *99*(12), 2814-2816. doi: 10.1172/JCI119472
- Schwartz, S. M., Campbell, G. R., & Campbell, J. H. (1986). Replication of smooth muscle cells in vascular disease. *Circ Res*, *58*(4), 427-444.
- Schwartz, S. M., Stemerman, M. B., & Benditt, E. P. (1975). The aortic intima. II. Repair of the aortic lining after mechanical denudation. *Am J Pathol*, *81*(1), 15-42.
- Selber, J. C., Chang, E. I., Liu, J., Suami, H., Adelman, D. M., Garvey, P., . . . Butler, C. E. (2012). Tracking the learning curve in microsurgical skill acquisition. *Plast Reconstr Surg*, *130*(4), 550e-557e. doi: 10.1097/PRS.0b013e318262f14a
- Sharpe, R. Y., Walker, J., Bown, M. J., Naylor, M. B., Evans, D. H., & Naylor, A. R. (2009). Identifying the high-risk patient with clinically relevant embolisation after carotid endarterectomy. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, *37*(1), 1-7. doi: 10.1016/j.ejvs.2008.09.012
- Shurey, S., Akelina, Y., Legagneux, J., Malzone, G., Jiga, L., & Ghanem, A. M. (2014). The rat model in microsurgery education: classical exercises and new horizons. *Arch Plast Surg*, *41*(3), 201-208. doi: 10.5999/aps.2014.41.3.201
- Simal-Julian, J. A., Miranda-Lloret, P., Evangelista-Zamora, R., Sanroman-Alvarez, P., Perez de San Roman, L., Perez-Borreda, P., . . . Botella-Asuncion, C. (2015). Indocyanine green videoangiography methodological variations: review. *Neurosurg Rev*, *38*(1), 49-57; discussion 57. doi: 10.1007/s10143-014-0570-6
- Simper, D., Stalboerger, P. G., Panetta, C. J., Wang, S., & Caplice, N. M. (2002). Smooth muscle progenitor cells in human blood. *Circulation*, *106*(10), 1199-1204.
- Speich, R., Saesseli, B., Hoffmann, U., Neftel, K. A., & Reichen, J. (1988). Anaphylactoid reactions after indocyanine-green administration. *Ann Intern Med*, *109*(4), 345-346.
- Stanford-University. (2015). Microsurgery Essentials: Intra-Operative Technique, Milking Test (Double Occlusion Test); <http://plasticsurgery.stanford.edu/education/microsurgery/intraoperative.html>.
- Sтары, H. C. (1989). Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Arteriosclerosis*, *9*(1 Suppl), 119-32.
- Stenmark, K. R., Boucheу, D., Nemenoff, R., Dempsey, E. C., & Das, M. (2000). Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: contribution of the adventitial fibroblasts. *Physiol Res*, *49*(5), 503-517.

- Sun, P., Dwyer, K. M., Merz, C. N., Sun, W., Johnson, C. A., Shircore, A. M., & Dwyer, J. H. (2000). Blood pressure, LDL cholesterol, and intima-media thickness: a test of the "response to injury" hypothesis of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, *20*(8), 2005-2010.
- Sutterer, W. F., Hardin, S. E., Benson, R. W., Krovetz, L. J., & Schiebler, G. L. (1966). Optical behavior of indocyanine green dye in blood and in aqueous solution. *Am Heart J*, *72*(3), 345-350.
- Tamai, S. (2009). History of microsurgery. *Plast Reconstr Surg*, *124*(6 Suppl), e282-294. doi: 10.1097/PRS.0b013e3181bf825e
- Thyberg, J., Hedin, U., Sjolund, M., Palmberg, L., & Bottger, B. A. (1990). Regulation of differentiated properties and proliferation of arterial smooth muscle cells. *Arteriosclerosis*, *10*(6), 966-990.
- Tonken, H. P., Zhang, F., Yim, K. K., Gencosmanoglu, R., Sudekum, A. E., Campagna-Pinto, D., . . . Lineaweaver, W. C. (1995). Experimental microvenous thrombosis following anastomosis with a knotted suture. *Microsurgery*, *16*(2), 98-102.
- Topakian, R., King, A., Kwon, S. U., Schaafsma, A., Shipley, M., Markus, H. S., & Investigators, A. (2011). Ultrasonic plaque echolucency and emboli signals predict stroke in asymptomatic carotid stenosis. *Neurology*, *77*(8), 751-758. doi: 10.1212/WNL.0b013e31822b00a6
- Trussler, A. P., Watson, J. P., & Crisera, C. A. (2008). Late free-flap salvage with catheter-directed thrombolysis. *Microsurgery*, *28*(4), 217-222. doi: 10.1002/micr.20480
- Tse, R., Ross, D., & Gan, B. S. (2003). Late salvage of a free TRAM flap. *Br J Plast Surg*, *56*(1), 59-62.
- Vargas, C. R., Nguyen, J. T., Ashitate, Y., Silvestre, J., Venugopal, V., Neacsu, F., . . . Lee, B. T. (2015). Near-infrared imaging for the assessment of anastomotic patency, thrombosis, and reperfusion in microsurgery: a pilot study in a porcine model. *Microsurgery*, *35*(4), 309-314. doi: 10.1002/micr.22376
- Wang, L., Yu, T., Lee, H., O'Brien, D. K., Sesaki, H., & Yoon, Y. (2015). Decreasing mitochondrial fission diminishes vascular smooth muscle cell migration and ameliorates intimal hyperplasia. *Cardiovasc Res*, *106*(2), 272-283. doi: 10.1093/cvr/cvv005
- Wheatley, M. J., & Meltzer, T. R. (1996). The role of vascular pedicle thrombectomy in the management of compromised free tissue transfers. *Ann Plast Surg*, *36*(4), 360-364.
- Whitaker, I. S., Pratt, G. F., Rozen, W. M., Cairns, S. A., Barrett, M. D., Hiew, L. Y., . . . Leaper, D. J. (2012). Near infrared spectroscopy for monitoring flap viability following breast reconstruction. *J Reconstr Microsurg*, *28*(3), 149-154. doi: 10.1055/s-0031-1296030
- Wipper, S. H. (2006). Validierung der Fluoreszenzangiographie zur intraoperativen Beurteilung und Quantifizierung der Myokardperfusion. 18.
- Wolff, K.-D., & Hölzle, F. (2011). Raising of Microvascular Flaps - A Systematic Approach (Vol. 2, pp. 2, 106, 157): Springer Verlag.
- Wolff, K. D., Hölzle, F., Wysluch, A., Mücke, T., & Kesting, M. (2008). Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery. *Microsurgery*, *28*(3), 143-146. doi: 10.1002/micr.20468
- Xu, Q. (2006). The impact of progenitor cells in atherosclerosis. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*, *3*(2), 94-101. doi: 10.1038/ncpcardio0396
- Xu, Q. (2007). Progenitor cells in vascular repair. *Curr Opin Lipidol*, *18*(5), 534-539. doi: 10.1097/MOL.0b013e3282a66082
- Yamamoto, M., Sasaguri, S., & Sato, T. (2011). Assessing intraoperative blood flow in cardiovascular surgery. *Surg Today*, *41*(11), 1467-1474. doi: 10.1007/s00595-010-4553-0
- Yamamoto, T., Yamamoto, N., Numahata, T., Yokoyama, A., Tashiro, K., Yoshimatsu, H., . . . Koshima, I. (2014). Navigation lymphatic supermicrosurgery for the treatment of cancer-related peripheral lymphedema. *Vasc Endovascular Surg*, *48*(2), 139-143. doi: 10.1177/1538574413510979
- Yeoh, M. S., Kim, D. D., & Ghali, G. E. (2013). Fluorescence angiography in the assessment of flap perfusion and vitality. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, *25*(1), 61-66, vi. doi: 10.1016/j.coms.2012.11.004
- Yokoyama, M., Ishiwata, T., Aida, T., & Asano, G. (1994). Process of basement membrane re-formation after intimal denudation. *J Atheroscler Thromb*, *1*(1), 60-70.

- Yoneya, S., & Noyori, K. (1993). Improved visualization of the choroidal circulation with indocyanine green angiography. *Arch Ophthalmol*, *111*(9), 1165-1166.
- Yoneya, S., Saito, T., Komatsu, Y., Koyama, I., Takahashi, K., & Duvoll-Young, J. (1998). Binding properties of indocyanine green in human blood. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, *39*(7), 1286-1290.
- Zalewski, A., Shi, Y., & Johnson, A. G. (2002). Diverse origin of intimal cells: smooth muscle cells, myofibroblasts, fibroblasts, and beyond? *Circ Res*, *91*(8), 652-655.
- Zhang, F., Sones, W. D., & Lineaweaver, W. C. (2001). Microsurgical flap models in the rat. *J Reconstr Microsurg*, *17*(3), 211-221. doi: 10.1055/s-2001-14353
- Zide, B., Buncke, H. J., & Finseth, F. (1980). A study of the treatment time necessary for the vasodilator drug isoxsuprine to prevent necrosis in a skin flap. *Br J Plast Surg*, *33*(3), 383-387.

7 Anhang

7.1 Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Schematische Darstellung einzelner Schritte in der Pathogenese der Atherosklerose nach der „Response-to-injury“- Hypothese (Lamon & Hajjar, 2008)</i>	<i>- 2 -</i>
<i>Abbildung 2: Schematische Darstellung zirkulierender endothelialer Vorläuferzellen (EPC), die geschädigte bzw. abgestorbene Endothelzellen (EC) ersetzen. Innerhalb der ersten Tage nach Neubesetzung der Endothelzellschicht durch Vorläuferzellen können - aufgrund ihrer verminderten Funktionalität verglichen zu reifen Endothelzellen - auch Thrombozyten und Monozyten an subendotheliale Strukturen binden. SDF: stromal cell-derived factor; VEGF: vascular endothelial growth factor; NO: Stickstoffmonoxid (Xu, 2007)</i>	<i>- 5 -</i>
<i>Abbildung 3: Strukturformel Indocyaningrün</i>	<i>- 6 -</i>
<i>Abbildung 4: Rekonstruktive Leiter.....</i>	<i>- 11 -</i>
<i>Abbildung 5: "milking test": Gefäßverschluss mittels Pinzette distal der Anastomose (1); Platzierung einer weiteren Pinzette distal der ersten und Ausstreichen des Gefäßes weiter nach distal (2+3); bei durchlässiger Anastomose füllt sich der ausgestrichene Gefäßabschnitt schnell (3a), bei nicht ausreichender Durchgängigkeit kommt es nicht oder nur sehr zögerlich zur Füllung des ausgestrichenen Gefäßabschnitts (3b) (Stanford-University, 2015).....</i>	<i>- 12 -</i>
<i>Abbildung 6: Exemplarisches Visitenprotokoll</i>	<i>- 16 -</i>
<i>Abbildung 7: Männliche Wistar-Ratten.....</i>	<i>- 17 -</i>
<i>Abbildung 9: Wärmematte und Temperaturmesssonde</i>	<i>- 18 -</i>
<i>Abbildung 8: Verwendete Narkosemittel</i>	<i>- 18 -</i>
<i>Abbildung 10: N. femoralis, A. femoralis und V. femoralis (v. o. n. u.) vor Kathetereinlage.....</i>	<i>- 19 -</i>
<i>Abbildung 11: Kathetereinlage und Fixation durch Nähte</i>	<i>- 19 -</i>
<i>Abbildung 12: Skizze des Operationssitus im Leistenbereich</i>	<i>- 20 -</i>
<i>Abbildung 13: Mediane Laparatomie vor und nach Eröffnung des Retroperitonealraumes</i>	<i>- 21 -</i>
<i>Abbildung 14: Skizze des Operationssitus am Bauch</i>	<i>- 21 -</i>
<i>Abbildung 15: Skizze der Defektsetzung.....</i>	<i>- 22 -</i>
<i>Abbildung 16: Freigelegte Aorta vor Eröffnung, nach Längsdurchtrennung und nach Defektsetzung; jeweils mit angelegtem 1/10mm Papier</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 17: Wiederverschluss der Aorta mittels Ethilon 11-0 Faden</i>	<i>- 23 -</i>
<i>Abbildung 18: Wundverschluss nach Laparatomie und Leistenschnitt.....</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Abbildung 19: Premicath® Katheter</i>	<i>- 24 -</i>
<i>Abbildung 20: Indocyaningrün</i>	<i>- 25 -</i>

Abbildung 21: Latenzzeiten der venösen und arteriellen Phasen in farblicher Abstufung (links) und in verschiedenen Graustufen (rechts).....	- 25 -
Abbildung 22: Manuell gesetzte „ROI's“ (links) und korrespondierendes Kurvendiagramm (rechts)-	26 -
Abbildung 23: Intraoperativ, vor Verschluss des Gefäßes: Gefäßwanddefekt mit angelegtem 1/10mm-Papier vor und nach manueller Flächenausmessung	- 27 -
Abbildung 24: Eine Woche postoperativ, nach Entnahme des operierten Aortenabschnitts: Gefäßwanddefekt mit angelegtem 1/10mm-Papier vor und nach manueller Flächenausmessung. -	27 -
Abbildung 25: Fixiertes Gewebepräparat vor Einbettung, Schnitt und Färbung.....	- 28 -
Abbildung 26: Gewebspräparat nach Schnitt und Färbung in unterschiedlichen Vergrößerungen..	- 29 -
Abbildung 27: Regelmäßig verwendetes Instrumentarium und Hilfsmaterialien: Skalpell, Schere, anatomische Pinzette, Klemmenanlegepinzette, Premicath®-Katheter, Approximatorklemmen verschiedener Größen, abgewinkelte Mikropinzette, gerade Mikropinzette, gerade Mikroschere, gebogene Mikroschere, Ethilon Fäden 10-0 und 11-0 (v.l.n.r.)	- 30 -
Abbildung 28: 15er Skalpelle mit verschieden stark beschliffenen Klingen zur Gefäßwanddefektsetzung mit 1/10mm Papier	- 31 -
Abbildung 29: Verwendete Hilfsmittel und Nahtmaterial verschiedener Größen.....	- 31 -
Abbildung 30: Touchscreen-Monitor	- 32 -
Abbildung 31: Operationsmikroskop.....	- 32 -
Abbildung 32: Graphische Darstellung der durchschnittlichen Operationsdauer ausgewählter Operationsabschnitte	- 37 -
Abbildung 33: Operationssitus eine Woche nach Defektsetzung: Zu sehen sind ausgeprägte Vernarbungen und Neovaskularisationen um den Bereich der Gefäßnaht, die eine blutungsarme Präparation der Aorta und atraumatische Separation von der Vena cava erschwerten. Unmittelbar nach Sichtwiederherstellung durch Tupfen (links), kam es zur erneuten Blutung und damit Sichtbeeinträchtigung (rechts)	- 39 -
Abbildung 34: Wundheilungsstörung kaudal an der Laparatomienarbe eine Woche postoperativ. -	40 -
Abbildung 36: Graphische Darstellung der nach Größe sortierten Defekte intraoperativ bei den Tieren der ersten Versuchsreihe	- 43 -
Abbildung 35: Graphische Darstellung der nach Größe sortierten Defekte intraoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe.....	- 43 -
Abbildung 37: Gefäßwanddefekte unterschiedlicher Größe und Konfiguration eine Woche postoperativ	- 46 -
Abbildung 38: Graphische Darstellung der nach Größe sortierten Defekte eine Woche postoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe.....	- 46 -

Abbildung 39: Graphische Gegenüberstellung der Defektgrößen intraoperativ und eine Woche postoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe.....	- 48 -
Abbildung 40: Präparierter Gefäßwanddefekt intraoperativ (links) und eine Woche postoperativ (rechts) in der Aorta desselben Tieres	- 49 -
Abbildung 41: Defektflächenreduktion absolut (links) und prozentual (rechts) innerhalb einer Woche .	- 49 -
Abbildung 42: Intraoperative Situation (links): Zu sehen ist der ca. 2,24mm ² große vertikal konfigurierte Defekt. Postoperativ (rechts): Eine Woche nach Defektsetzung ist ein deutlich kleinerer Defekt mit einer Größe von ca. 1,04mm ² zu sehen, dessen Konfiguration sich hin zu einem rundlichen Defekt verändert hat	- 50 -
Abbildung 43: Weiteres Beispiel für eine Konfigurationsänderung der Läsionsfläche: Intraoperativ (links) vertikaler Defekt, eine Woche später (rechts) ist der Defekt kleiner und deutlich abgeflacht-	- 51 -
Abbildung 44: Der intraoperativ noch als „vertikal“ eingestufte Defekt (links) ist eine Woche postoperativ zu einem Defekt rundlicher Konfiguration geschrumpft (rechts).....	- 51 -
Abbildung 45: Beispiel einer normalen und im Ausgangszustand durchgeführten ICGA, dargestellt in Graustufen (links) und farbcodiert (rechts) Anm.: Alle weiteren Angiographiebilder in Kapitel 3.2.4, mit Ausnahme der intraoperativen Beispielfotos am Kapitelende, entstammen von demselben Versuchstier	- 54 -
Abbildung 46: Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten im Ausgangszustand nach Setzen von ROI's (links) und dazugehöriges Kurvendiagramm (rechts).....	- 55 -
Abbildung 47: Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten proximal und distal des gesetzten Gefäßwanddefekts (links) mit korrespondierendem Kurvendiagramm (rechts).....	- 57 -
Abbildung 48: ICGA nach Gefäßwanddefektsetzung: Initiale Kontrastzunahme im Bereich des Defekts (links) und Farbwechsel im Sinne einer Flussminderung in der farbkodierten Darstellung (rechts) .	- 57 -
Abbildung 49: Beispiel einer ICGA sieben Tage postoperativ: Zu sehen sind nur minimale Veränderungen sowohl in der Kontrastaufnahme (links) als auch in der farbcodierten Aufnahme (rechts) im Vergleich zum Ausgangszustand.....	- 59 -
Abbildung 50: Bestimmung der Flussgeschwindigkeiten proximal und distal des sieben Tage zuvor gesetzten Gefäßwanddefekts (links) mit korrespondierendem Kurvendiagramm (rechts)	- 59 -
Abbildung 51: Vergleich des Gefäßdurchmessers vor und nach Defektsetzung: Stenosierung im Bereich der Gefäßwandläsion (links), Dilatation im Bereich der Gefäßwandläsion (rechts)	- 60 -
Abbildung 52: Beispiele intraoperativ beobachteter Kontrastierungen: Kontraststeigerung (links), Kontrastminderung (Mitte), keine Kontraständerung (rechts)	- 60 -
Abbildung 53: Angiographisch sichtbarer kompletter Verschluss des Gefäßes nach Defektsetzung (rechts); korrespondierende ICGA im Ausgangszustand (links).....	- 61 -

- Abbildung 54: Vergleichspräparat ohne Gefäßwandläsion. Besonders in der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist der intakte dreischichtige Wandaufbau bestehend aus Intima, Media und Adventitia zu erkennen. Bis auf einen kleinen Bereich lassen sich endothelial und intraluminal keine Ablagerungen und kein Thrombusmaterial finden. - 63 -
- Abbildung 55: Vergleichspräparat mit Wandläsion ohne nachfolgende Durchblutung, das unmittelbar nach Gefäßnaht entnommen wurde. Zu sehen ist ein weitreichender Defekt bis in die Tunica adventitia vordringend. - 64 -
- Abbildung 56: Zu sehen ist die vollständige Gefäßwand mit Intima, Media und Adventitia. In der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist ein intraluminal liegender Thrombus erkennbar, der an den Bereich des gesetzten Gefäßwanddefekts anhaftet..... - 66 -
- Abbildung 57: Bei stärkerer Vergrößerung lässt sich die Zusammensetzung des Thrombus genauer beurteilen: Zu erkennen sind reichlich Erythrozyten mit vereinzelt Leukozyten und Thrombozyten. ... - 67 -
- Abbildung 58: Beispiel einer geringen Läsionstiefe: Zu sehen ist der dreischichtige Wandaufbau der Aorta mit intakter Tunica media und Tunica adventitia. In der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist zudem die Ablagerung von Thrombusmaterial im Bereich der zuvor entfernten Tunica intima sichtbar..... - 69 -
- Abbildung 59: Beispiel einer Läsion, die alle Mediafächer erreicht: Gut sichtbar ist die beschädigte Tunica media sowie die noch intakte und fortlaufende Membrana elastica externa. Weiterhin ist im Bereich der Defektsetzung intraluminal Thrombusmaterial nachweisbar..... - 70 -
- Abbildung 60: Elektronenmikroskopische Aufnahme eines Abschnittes des zuvor gezeigten Präparates, die den Thrombus sowie neugebildete Neointima zeigt. - 71 -
- Abbildung 61: Beispiel einer ausgeprägten Läsionstiefe: Erkennbar ist ein ausgedehnter Gefäßwanddefekt bis weit in die Schicht der Adventitia vordringend. Rechts ist der vollständige Abbruch der Tunica media zu erkennen, daneben Ablagerungen thrombotischen Materials, die den Bereich des ehemaligen Defekts ausfüllen. - 72 -
- Abbildung 62: Aortenpräparat eines Tieres aus der zweiten Versuchsreihe: Gut sichtbar in der Ausschnittsvergrößerung (rotes Rechteck) ist das entstandene Neoendothel mit darunterliegender Neointima im Läsionsbereich. - 74 -
- Abbildung 63: Elektronenmikroskopische Aufnahme vom Läsionsgrund der Aorta eines Tieres aus der zweiten Versuchsreihe mit neuentstandenen Neoendothel und darunterliegender Neointima..... - 75 -
- Abbildung 64: Elektronenmikroskopische Aufnahme der Aorta eines Tieres aus der zweiten Versuchsreihe: Zu sehen ist der Läsionsgrund mit Neointima und verzweigtem Fibrinnetz, darunter Adventitia. - 76 -

7.2 Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1: Horizontaler Defekt: Breite β (in mm) > 120% der Länge λ (in mm); Vertikaler Defekt: Länge λ (in mm) > 120% der Breite β (in mm); Rundlicher Defekt: Länge λ (in mm) > 80% und < 120% der Breite β (in mm) bzw. Breite β (in mm) > 80% und < 120% der Länge λ (in mm)</i>	<i>- 26 -</i>
<i>Tabelle 2: Standardisiertes Einbettungsprotokoll</i>	<i>- 28 -</i>
<i>Tabelle 3: Zeitdauer einzelner Operationsabschnitte in Minuten</i>	<i>- 35 -</i>
<i>Tabelle 4: Verwendete Anzahl von Einzelknopfnähten zum Verschluss der nach Längsinzision eröffneten Aorta.....</i>	<i>- 36 -</i>
<i>Tabelle 5: Durchschnittliche Zeitdauer der einzelnen Operationsabschnitte bezogen auf alle Versuchstiere</i>	<i>- 36 -</i>
<i>Tabelle 6: Intraoperative Defektgröße unmittelbar vor Wiederverschluss der Aorta.....</i>	<i>- 42 -</i>
<i>Tabelle 7: Defektkonfiguration intraoperativ unmittelbar vor Wiederverschluss der Aorta</i>	<i>- 44 -</i>
<i>Tabelle 8: Defektgrößen eine Woche postoperativ bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe</i>	<i>- 45 -</i>
<i>Tabelle 9: Gegenüberstellung der unmittelbar intraoperativ und eine Woche postoperativ gemessenen Defektgrößen bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe</i>	<i>- 48 -</i>
<i>Tabelle 10: Änderung der Defektflächenkonfiguration nach einer Woche bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe</i>	<i>- 52 -</i>
<i>Tabelle 11: Klinischer Nachweis von Thrombusmaterial bei den Tieren der ersten Versuchsreihe unmittelbar post explantationem.....</i>	<i>- 53 -</i>
<i>Tabelle 12: Angiographisch sichtbare Veränderungen unmittelbar nach Wiederverschluss der Aorta durch Einzelknopfnähte; Zeichenerklärung: \uparrow=Kontraststeigerung, \downarrow=Kontrastminderung, \leftrightarrow=keine Kontraständerung, S=Stenosierung, A=Dilatation, *=Okklusion.....</i>	<i>- 56 -</i>
<i>Tabelle 13: Angiographisch sichtbare Veränderungen bei den Tieren der zweiten Versuchsreihe eine Woche postoperativ; Zeichenerklärung: \downarrow=Kontrastminderung, \leftrightarrow=keine Kontraständerung, S=Stenosierung, A=Dilatation</i>	<i>- 58 -</i>
<i>Tabelle 14: Univariate Analyse zur Identifikation von Variablen, die eine Thrombosierung nach mikrochirurgischer Defektsetzung beeinflussen.....</i>	<i>- 78 -</i>
<i>Tabelle 15: Zusammenführung und Gegenüberstellung der mithilfe der verschiedenen Methoden gefundenen Ablagerungen sowie Defektgröße und -konfiguration der Tiere der ersten Versuchsreihe .</i>	<i>- 79 -</i>
<i>Tabelle 16: Zusammenführung und Gegenüberstellung der mithilfe der verschiedenen Methoden gefundenen Ablagerungen sowie Defektgröße und -konfiguration intraoperativ und eine Woche postoperativ der Tiere der zweiten Versuchsreihe; Anm.: Eine klinische Beurteilung zur</i>	

Thromboseentstehung ist für diese Versuchsreihe aufgrund der 7-tägigen Nachbeobachtungszeit entfallen..... - 80 -

8 Curriculum Vitae

Name: Constantin Tibor Wolff

Geburtstag: 20.10.1989

Geburtsort: Berlin-Steglitz

Schulischer Werdegang: 1995-1999 Sachsenwald Grundschule, Berlin
1999-2000 Gymnasium zum Grauen Kloster, Berlin
2000-2008 Gymnasium am Ostring, Bochum
06/2008 Abschluss mit allgemeiner Hochschulreife

Studium: 2008-2010 Erster Studienabschnitt der ärztlichen Prüfung
an der Ludwig-Maximilians-Universität München
2010-2014 Zweiter Studienabschnitt der ärztlichen Prüfung
an der Technischen Universität München
11/2014 Approbation als Arzt
Seit 2015 Studium der Zahnheilkunde an der
Ludwig-Maximilians-Universität München

Tätigkeiten: 2012-2013 Studentische Hilfskraft im Labor für Mikrochirurgie
der Klinik für Mund-, Kiefer-, und Gesichtschirurgie am Klinikum
rechts der Isar der Technischen Universität München
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff)

9 Danksagung

In erster Linie gilt mein Dank all denen, die mich im Laufe der Entstehung dieser Dissertation in jeglicher Art und Weise unterstützt haben.

Ganz besonders hervorzuheben ist dabei mein Betreuer und Doktorvater PD Dr. Dr. Thomas Mücke. Er führte mich in die Kunst der Mikrochirurgie ein, motivierte mich zur operativ-experimentellen Forschung und brachte mich somit auch an das Fachgebiet der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie ein wesentliches Stück näher heran. Seinen Ideen und seinem in mich gesetztes Vertrauen verdanke ich die Herausgabe dieser ausführlichen und anspruchsvollen Arbeit.

Weiterhin möchte ich mich bei Univ.-Prof. Dr. Monika von Düring für ihre umfassenden histologischen Auswertungen bedanken. Nicht nur haben mich ihre gestochenen scharfen licht- und elektronenmikroskopischen Bilder fasziniert, auch haben mich ihr wissenschaftliches Interesse und ihre Professionalität begeistert. Durch ihre mir gegenüber vorbehaltlos entgegengebrachte Mühe konnte die Arbeit in diesem Umfang entstehen. Gleichsam gilt mein Dank in diesem Zusammenhang Frau Luzie Augustinowski für jegliche Unterstützung und Hilfestellung.

Dr. Lucas Ritschl und Dr. Dr. Andreas Fichter danke ich für die vielen wertvollen Tipps und Hilfestellungen, die sie mir vor allem während der Versuchsdurchführungen entgegenbrachten. Dies erleichterte mir die Arbeitsweise erheblich. Dankbar bin ich auch für die stets gute Atmosphäre im Mikrochirurgielabor während der teils langwierigen und bis in die Nacht dauernden Versuche. Ich freue mich auf die weitere Zusammenarbeit in der gemeinsamen Forschungsgruppe.

Dem ZPF-Team des Klinikums rechts der Isar danke ich ausdrücklich für die fürsorgliche Pflege und unterstützenden postoperativen Verlaufskontrollen der Versuchstiere. Bei ihnen waren die Versuchstiere stets gut versorgt und konnten so der praktischen Umsetzung der Versuchsvorhaben zur Verfügung stehen. Deshalb gilt mein spezieller Dank und Respekt auch den Ratten selbst, die nicht nur der präklinischen Forschung dienten, sondern mir auch das Erlernen von komplexen mikrochirurgischen Fähigkeiten ermöglichten, die in naher Zukunft hoffentlich Patienten zugutekommen kann.

- Danksagung -

Zu guter Letzt möchte ich noch meiner langjährigen Freundin und meiner Familie für die vielen aufmunternden Worte und Ratschläge in so manch mühsamen Momenten danken. Sie standen mir jederzeit mit Rat und Tat zur Seite und ermöglichten mir mit ihrer Geduld, Unterstützung jedweder Art und dem entgegengebrachten Interesse somit erst dieses umfangreiche Projekt zu Ende zu bringen.