

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

**Evaluation des FLOW® 800-Tools zur Analyse von
kompromittierten Gewebetransplantaten – Einfluss der
venösen Stauung auf den epigastrischen Lappen im
Rattenmodell**

Leonard Hubertus Johannes Schmidt

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

Doktors der Zahnheilkunde

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Herbert Deppe

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Mücke
2. apl. Prof. Dr. Anja C. Pickhard

Die Dissertation wurde am 16.07.2020 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 11.05.2021 angenommen.

Meiner Familie und meiner langjährigen Partnerin

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

- Harry J. Buncke, Jr.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	11
1.1	Der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer	11
1.1.1	Geschichtlicher Hintergrund und heutiger Stellenwert in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie	11
1.1.2	Komplikationen und Herausforderungen im Rahmen der Transplantation	15
1.2	Venöse Stauung als Sonderform der vaskulären Kompromittierung	17
1.2.1	Physiologie bzw. Rheologie der venösen Stase	19
1.2.2	Reexploration und Rettung des Transplantats bei venöser Stauung	21
1.3	Postoperatives Monitoring - Möglichkeiten zur Detektion venöser Stase	23
1.3.1	Indocyaningrün-Videoangiographie und FLOW® 800-Analysetool	25
1.3.2	O2C-Monitoring	28
1.3.3	Flussmessung	28
1.3.4	Alternativen	29
1.4	Prädiktion von Transplantatnekrosen	30
1.5	Zielsetzung der Arbeit	32
2	Material und Methodik	34
2.1	Versuchsmodell – Der epigastrische Lappen der Ratte	34
2.2	Versuchsablauf	35
2.2.1	Versuchstiere und Haltung	35
2.2.2	Präoperative Vorbereitungen und Narkose	38
2.2.3	Operative Eingriffe und Versuchsdurchführung	39
2.3	Instrumente und technische Apparaturen	55
2.3.1	Mikrochirurgisches Instrumentarium	55
2.3.2	Technische Apparaturen	57
2.4	Statistische Methodik	60
3	Ergebnisse	62
3.1	Ergebnisse der deskriptiven Statistik	62
3.1.1	Flussmessungen mittels Transit Flowmeter - Auswirkung venöser Stauung auf den Blutfluss im Bereich des arteriellen und venösen Transplantatschenkels	63
3.1.2	Evaluation der Transplantatperfusion unter venöser Stauung durch Anwendung der Gewebe-Photospektrometrie (O2C®)	65
3.1.3	Analyse der Transplantatperfusion mittels Indocyaningrün-Videoangiographie und FLOW® 800-Softwaretool	70

3.1.4	Langfristige Auswirkung unterschiedlicher venöser Stauungsintervalle auf die Transplantatvitalität.....	80
3.2	Ergebnisse der explorativen Statistik.....	83
3.2.1	Prädiktion von Transplantatnekrosen auf Grundlage einer FLOW® 800-Perfusionsanalyse nach initialer Transplantathebung und -repositionierung.....	83
3.2.2	Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung mithilfe des FLOW® 800-Analysertools und der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie.....	85
4	Diskussion.....	92
4.1	Auswirkungen einer venösen Stauung auf die Transplantatvitalität.....	92
4.2	Detektion einer venösen Transplantatstauung – Perfusionsevaluation mittels FLOW® 800-Analysertool und O2C®.....	97
4.3	Prädiktion von Transplantatnekrosen.....	103
4.3.1	Prädiktiver Wert der ICG-VA mit FLOW® 800-Analysesoftware zur intraoperativen Vorhersage von Transplantatnekrosen.....	104
4.3.2	Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung mithilfe des FLOW® 800-Analysertools und der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie.....	108
4.4	Postoperatives Monitoring freier mikrovaskulärer Transplantate im Rahmen rekonstruktiver Eingriffe.....	112
4.5	Ausblick.....	117
5	Zusammenfassung.....	122
6	Literaturverzeichnis.....	125
7	Anhang.....	148
7.1	Veröffentlichung von Teilen der Dissertation.....	148
7.2	Abbildungsverzeichnis.....	149
7.3	Tabellenverzeichnis.....	158
7.4	Interessenkonflikt und Finanzierung.....	160
8	Curriculum Vitae.....	161
9	Danksagung.....	162

Abkürzungen

%	Prozent
A./a.	Arteria
Abb.	Abbildung
AUC	Area under the curve
Az.	Aktenzeichen
bzw.	beziehungsweise
cm	Zentimeter
cm ²	Quadratcentimeter
engl.	englisch
epigastr.	epigastrisch
et al.	und andere
Fa.	Firma
g	Gramm
i.p.	intraperitoneal
i.v.	intravenös
ICG	Indocyaningrün
ICG-VA	Indocyaningrün-Videoangiographie
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kg KG	Kilogramm pro Körpergewicht
kHz	Kilohertz
M./m.	Musculus
m/s	Meter pro Sekunde
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
ml/min	Milliliter pro Minute
mm	Millimeter
mm ²	Quadratmillimeter
mW	Milliwatt
N	Nekrose

N.	Nervus
nm	Nanometer
O2C	„Oxygen to see“
OPMI	OP-Mikroskop
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROI	Region of Interest
s.	siehe
sog.	sogenannt
sup.	superficialis
Tab.	Tabelle
u.a.	unter anderem
V./v.	Vena
v.a.	vor allem
v.l.n.r.	von links nach rechts
v.o.n.u.	von oben nach unten
z.B.	zum Beispiel
Z.n.	Zustand nach
z.T.	zum Teil

1 Einleitung

1.1 Der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer

1.1.1 Geschichtlicher Hintergrund und heutiger Stellenwert in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie

Der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer ermöglicht die Rekonstruktion von Gewebedefekten unter Berücksichtigung ästhetischer und funktioneller Aspekte (Wolff et Hölzle, 2017; Mücke et al., 2018). Eine solche rekonstruktive Maßnahme wird beispielsweise dann notwendig, wenn sich unter anderem aufgrund der Defektgröße oder funktionellen Beschaffenheit des geschädigten Gewebes ein primärer Wundverschluss auch mit Hilfe von lokoregionären Lappenplastiken nicht realisieren lässt (Hayden et Nagel, 2013). Die Wiederherstellung des erkrankten Gewebes in Form und Funktion gelingt hierbei durch die Entnahme eines Gewebeanteils aus einer defektfernen Körperregion und anschließende autogene Transplantation dieses Gewebes an den Ort des Defekts (Hausamen et al., 2012) (Abb. 1). Dabei kann auf verschiedene Entnahmeregionen des Körpers zurückgegriffen werden, welche sich respektive der zugrundeliegenden Indikation und Defektkonfiguration als besonders geeignet erweisen. Der sog. "Lappenmann" (Abb. 2) liefert eine Übersicht über einen Großteil der zur Verfügung stehenden freien Lappenplastiken samt ihrer unterschiedlichen Entnahmeregionen (Hölzle et al., 2008). Voraussetzung für den erfolgreichen Einsatz von freien mikrovaskulären Transplantaten ist die Möglichkeit zum mikrochirurgischen Anschluss der Transplantatgefäße an die vaskuläre Versorgung der Empfängerregion. Dies kann insbesondere nach vorausgegangener Bestrahlung des Transplantatlagers oder in bereits voroperierten Defektregionen deutlich erschwert sein (Hanasono et al., 2009; Wolff et al., 2009; Clancy et al., 2017; Halle et al., 2017). Die mikrovaskuläre Anastomosierung der arteriellen und venösen Gefäße ist zudem technisch anspruchsvoll und erfordert hinreichend operative Erfahrung (Chiu et al., 2017; Pabst et al., 2018). Dank vieler grundlegender Fortschritte in den letzten Jahrzehnten auf dem Gebiet der Mikrochirurgie, wie u.a. die Entwicklung von mikrochirurgischen Anastomose-Techniken durch Strauch und Murray sowie den erstmaligen Einsatz von OP-Mikroskopen im Rahmen

rekonstruktiver Eingriffe durch Nylen, stellt der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer aktuell mit Erfolgsraten von 90 – 95 % in vielen chirurgischen Fachbereichen das rekonstruktive Verfahren der Wahl dar (Nylen, 1954; Strauch et Murray, 1967; Bootz et Preyer, 1994; Wolff et al., 2008; Mücke et al., 2016).

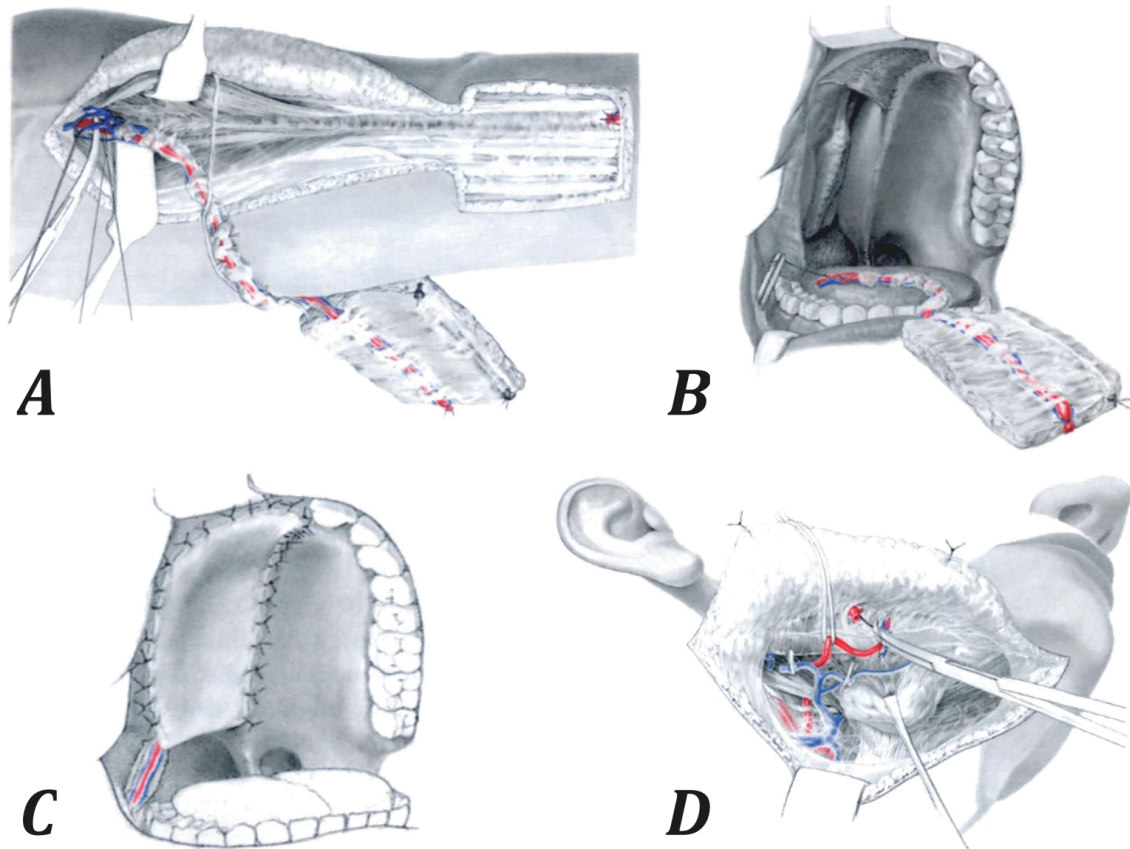


Abb. 1: Der freie Gewebetransfer am Beispiel des fasziokutanen Radialis-Transplantats. (v.o.n.u.) (A) Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung der Entnahmeregion am linken Unterarm nach Hebung eines fasziokutanen Radialis-Transplantats. Die Transplantatgefäße sind distal der Ellenbeuge noch nicht abgesetzt, sodass die Perfusion des Transplantats weiterhin über die A. radialis (rot) und zwei Begleitvenen (lat. Venae comitantes, blau) erfolgen kann. (B) Nach der Entnahme des freien mikrovaskulären Transplantats erfolgt die Einlagerung am Ort der Defektdeckung. (C) Nun wird der intraorale Defekt mithilfe des Radialis-Transplantats gedeckt und der Gefäßstiel nach Tunnelierung der angrenzenden Weichgewebe zu den zervikalen Anschlussgefäßen vorgeschoben. Hierbei darf es nicht zu einer Verdrehung des Gefäßstiels kommen, da dies die Perfusion kompromittieren würde. (D) Im Bereich der Halsgefäße erfolgt anschließend die mikrovaskuläre Anastomosierung der arteriellen und venösen Transplantatgefäße. Die Ischämiezeit ist damit beendet und das Transplantatgewebe wird wieder regelrecht durchblutet. In der Regel erfolgt erst jetzt, nach Gewährleistung einer adäquaten Blutversorgung und erneuter Kontrolle, die endgültige Defektdeckung mit zirkumferenter Einnahrt des Transplantats intraoral. Modifiziert nach Hausamen et al. (Hausamen et al., 2012).

In der rekonstruktiven Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie besitzt der freie mikrovaskuläre Gewebettransfer seit der ersten Anwendung dieser operativen Technik in den Achtzigerjahren durch Yang, Song und Taylor sowie im deutschsprachigen Raum durch Riediger, Schwenzer, Reuther und Sattler einen hohen Stellenwert (Taylor et al., 1975; Reuther et Sattler, 1980; Riediger et Schwenzer, 1980; Yang et al., 1997; Steel et Cope, 2015). Vor dem Hintergrund der besonderen Komplexität hinsichtlich Anatomie und Funktion der überwiegend tumorablativ bedingten Defekte im Kopf-Hals-Bereich entstanden in dieser chirurgischen Disziplin besondere Anforderungen an die Rekonstruktion mittels freiem mikrovaskulärem Transplantat (Wu et al., 2014). Durch stetige Weiterentwicklung und Applikation neuer technischer Verfahren ist der freie mikrovaskuläre Gewebettransfer zu einem zuverlässigen Standardverfahren in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie avanciert (Hausamen et al., 2012; Pabst et al., 2018). Für die operative Wiederherstellung stehen heute eine Vielzahl an Gewebettransplantaten mit unterschiedlichen Eigenschaften und variierendem Indikationsspektrum zur Auswahl. Aufgrund ihrer konstanten anatomischen Verhältnisse im Rahmen der Gewebeentnahme haben sich u.a. für die Deckung von intraoralen Weichgewebsdefekten das Radialis-Transplantat (engl. radial forearm flap), für die Wiederherstellung voluminöserer Weichgewebsdefekte der ALT-Lappen (engl. anterolateral thigh flap) und für die Rekonstruktion von Regionen mit knöcherner Defektbeteiligung das Fibula-Transplantat besonders bewährt (Wolff et al., 1996; Kesting et al., 2011a; Mücke et al., 2013a) (Abb. 2 B, C und D).

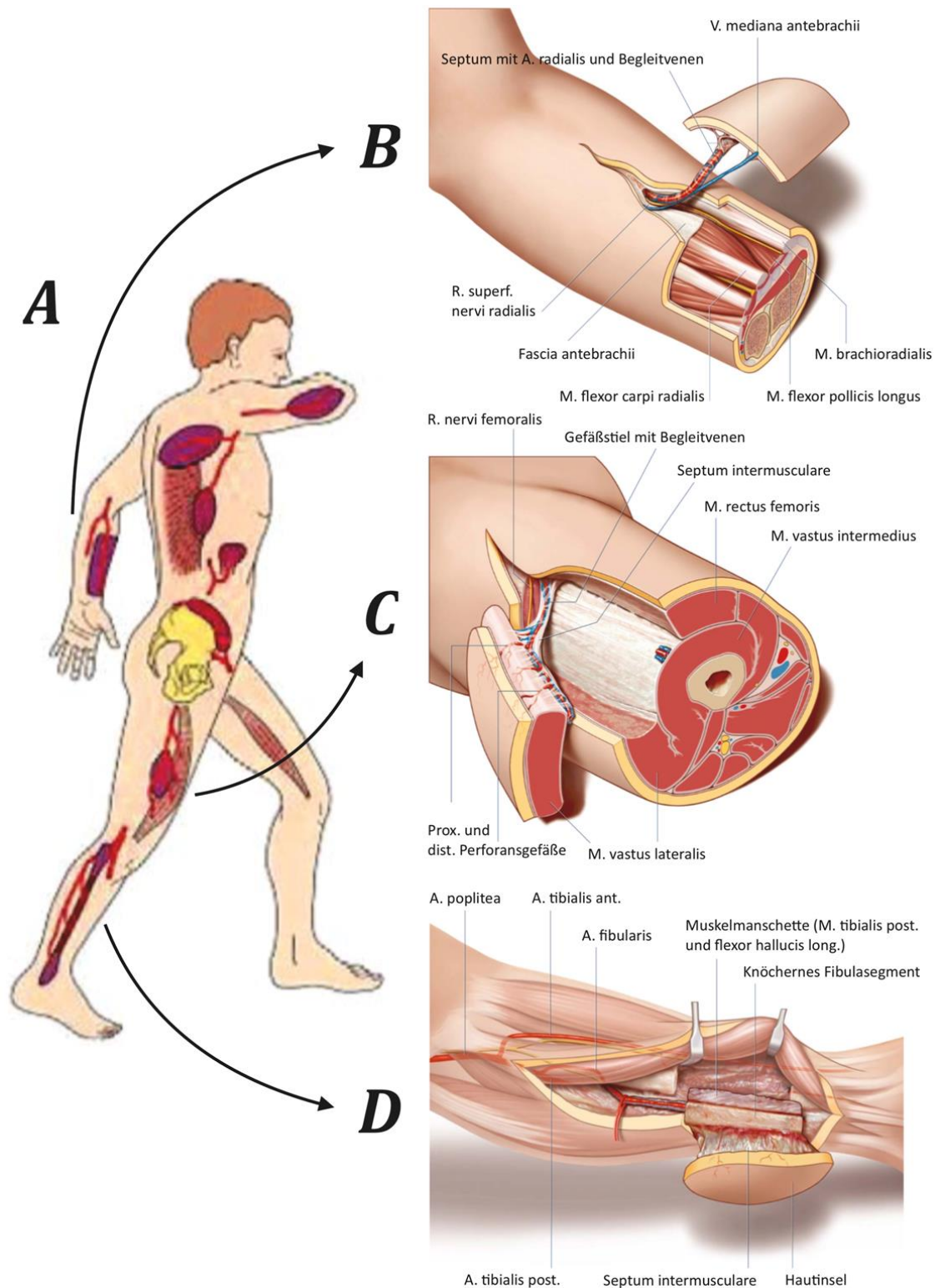


Abb. 2: Der Lappenmann. (A) Die schematische Darstellung des Lappenmanns zeigt diverse gängige Entnahmeregionen für den freien mikrovaskulären Gewebetransfer. Zusätzlich dargestellt sind die anatomische Konfiguration des Radialis- (B), des ALT- (C) sowie des Fibula-Transplantats (D). Abbildung modifiziert nach Wolff & Hölzle sowie Strauch & Yu (Strauch et Yu, 2006; Hölzle et al., 2008; Wolff et Hölzle, 2017).

Ein relevanter Vorteil aller hier beispielhaft aufgeführten freien mikrovaskulären Transplantate besteht darin, dass die Entnahme des Gewebes bereits während der zeitgleich laufenden Vorbereitung des Transplantatlagers im Kopf-Hals-Bereich erfolgen kann (engl. two-team approach; Abb. 3) und die Operationsdauer somit verkürzt wird (Hölzle et al., 2008; Hausamen et al., 2012). Die Entscheidung für das am meisten geeignete Transplantat sollte stets respektive der initial vorliegenden Defektkonfiguration, der onkologischen Gesamtsituation und der Komorbiditäten des Patienten erfolgen sowie dessen operatives Risikoprofil berücksichtigen (Hayden et Nagel, 2013).

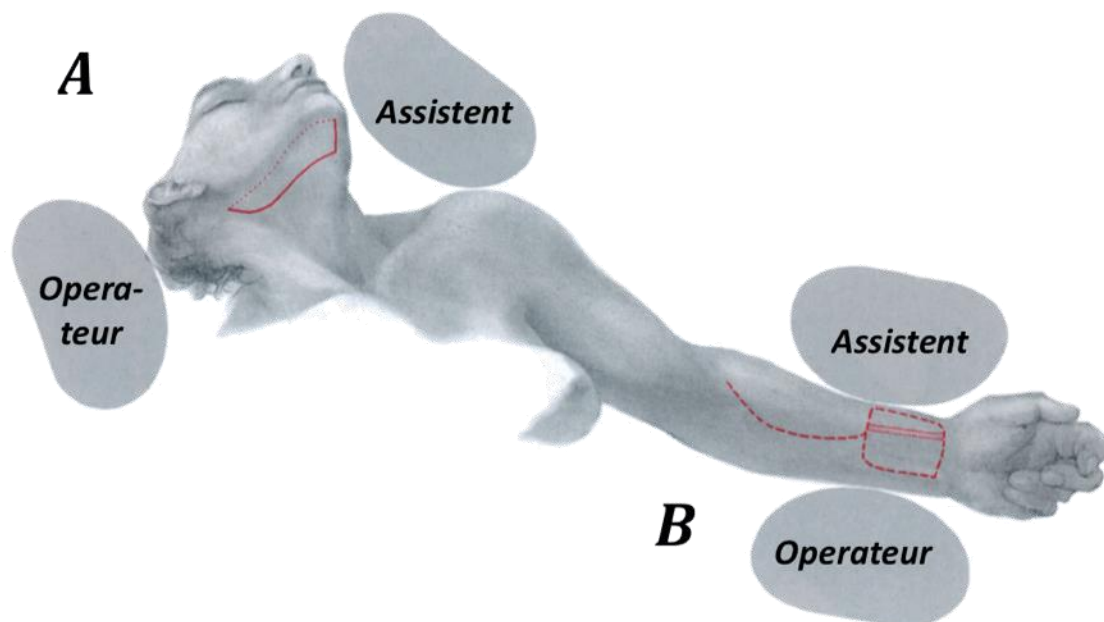


Abb. 3: Intraoperatives Setting im Rahmen eines rekonstruktiven Eingriffs. (A) Am Kopf wird der Defekt reseziert und bei tumorablativen Eingriffen im Bereich des Halses eine elektive Neck Dissection mit Lymphadenektomie durchgeführt. (B) Zeitgleich erfolgt am Unterarm die Hebung des freien mikrovaskulären Transplantats zur anschließenden Rekonstruktion der Defektsituation. Modifiziert nach Hausamen et al. (Hausamen et al., 2012).

1.1.2 Komplikationen und Herausforderungen im Rahmen der Transplantation

Der Erfolg des freien mikrovaskulären Gewebetransfers hängt in besonderem Maße von einer adäquaten Perfusion des mikrovaskulär anastomosierten Transplantats ab (Kapoor et al., 2017; Ritschl et al., 2018b). Trotz hoher Erfolgsraten von über 90 % für den Einsatz freier mikrovaskulärer Transplantate

und eines breiten Indikationsspektrums für die Anwendung dieser Rekonstruktionsform kommt es bei einem kleinen Patientenkollektiv immer wieder zu Komplikationen, die unbemerkt zu einem konsekutiven Verlust des Transplantats führen können. Der Anteil dieser Fälle bezogen auf die Gesamtheit aller freien mikrovaskulären Gewebetransfers wird für den Fachbereich der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie in der Literatur mit 3 – 7 % angegeben und variiert abhängig von der Anzahl der in die jeweilige Studie eingeschlossenen Transplantate (Khouri, 1992; Bianchi et al., 2009; Corbitt et al., 2014; Las et al., 2016; Copelli et al., 2017; Zhou et al., 2017).

Dabei haben zahlreiche voneinander unabhängige Untersuchungen aus verschiedenen Zentren in den letzten drei Jahrzehnten gezeigt, dass ein Transplantatversagen überwiegend auf eine kompromittierte Gewebepfusion zurückzuführen ist, welche ihrerseits durch vielfältige vaskuläre sowie extravaskuläre Vorgänge beeinflusst werden kann (Mücke et al., 2018; Smit et al., 2018; Mücke et al., 2020). Hierzu zählen u.a. thrombotisch bedingte Gefäßverschlüsse des arteriellen und venösen Transplantatschenkels, durch technische Fehler im Rahmen der mikrovaskulären Anastomosierung entstandene oder atherosklerotisch-bedingte Gefäßstenosen sowie ein Abknicken (= kinking) des Transplantatstiels durch Lagerungsfehler oder Formation eines Hämatoms (Pabst et al., 2018). Weitere rheologische Einflussfaktoren wurden an anderer Stelle bereits ausführlich beschrieben (Fujiwara et al., 2018). Eine zuvor erfolgte Radiotherapie mit Bestrahlung der Defektregion kann, wie unter 1.1.1 geschildert, die Gewebepfusion des Transplantatlagers ebenfalls nachhaltig beeinträchtigen und zu einer konsekutiv erschwerten mikrovaskulären Anastomosierung der Transplantatgefäße führen (Tall et al., 2015; Clancy et al., 2017; Zhou et al., 2017). In einer zunehmend älter werdenden Patientenkohorte, welche häufiger flankierende Komorbiditäten und somit ein erhöhtes Risikoprofil aufweist, bleibt der freie Gewebettransfer gleichermaßen eine Herausforderung. Das rekonstruktive Ergebnis unterliegt auch hier einer Reihe von allgemeinmedizinischen Einflussfaktoren, die sich negativ auf die Perfusion des Transplantats auswirken und in der Konsequenz zum partiellen oder vollständigen Verlust des Gewebes führen können (Kruse et al., 2010; Kesting et al., 2011b). Zudem sollte insbesondere in dieser Kohorte die lange Operationszeit und

notwendige Patientencompliance bei der Entscheidung über die zu präferierende Rekonstruktionsform berücksichtigt werden. Ein präoperatives Assessment des Patienten unter Verwendung bildgebender Verfahren kann perfusionsrelevante Einschränkungen, wie beispielsweise atherosklerotisch bedingte Veränderungen der Gefäßarchitektur, anzeigen und somit im Vorfeld zu einer erniedrigten peri- und postoperativen Komplikationsrate beitragen (Clemenza et al., 2000; Hölzle et al., 2011). Intraoperativ entstandene Beeinträchtigungen der Transplantatdurchblutung zeigen sich jedoch in der Regel erst mit zeitlicher Verzögerung nach dem operativen Eingriff. Daher gilt es insbesondere in der postoperativen Phase mit Hilfe eines adäquaten Monitorings eine kompromittierte Gewebepfusion frühzeitig zu erkennen und zu beheben, um einen Verlust des Transplantats nach Möglichkeit abzuwenden (Mücke et al., 2018; Ritschl et al., 2018b).

1.2 Venöse Stauung als Sonderform der vaskulären Kompromittierung

Bedingt durch eine Abflussbehinderung im Bereich des venösen Transplantatschenkels kann es zu einer venösen Stauung des freien mikrovaskulären Transplantats kommen. Dieser Vorgang wirkt sich kompromittierend auf den Einheilungsprozess des Transplantats aus und kann ohne Intervention bis hin zum Verlust des Gewebes in Form einer Transplantatnekrose führen (Pohlenz et al., 2012; Mücke et al., 2017; Ritschl et al., 2018a). Zu den häufigsten spezifischen Ursachen für eine venöse Stauung zählen ein zu kurzer oder schlecht ausgerichteter Transplantatstiel, eine starke Abweichung der Gefäßkaliber der anastomosierten Venen, technische Fehler im Rahmen der mikrovaskulären Anastomosierung, ein Abknicken der Transplantatgefäße (engl. kinking) sowie eine durch Hämatom oder Ödem bedingte Kompression der Vene (Monsivais, 1990; Talbot et Pribaz, 2010; Liu et al., 2012; Mücke et al., 2018). Insbesondere während der ersten postoperativen Woche ist das transplantierte Gewebe anfällig für derartige Perfusionsstörungen, da die Versorgung des Transplantats ausschließlich über das mikrovaskulär anastomosierte Gefäßsystem erfolgt und es erst nach sieben Tagen durch Einsprossen von Gefäßen aus der Empfängerregion zu einer Autonomisierung des Gewebes kommt (Black et al., 1978; Oswald et al., 1988; Mücke et al., 2011).

Zusätzlich hängt dieser Zeitpunkt auch von der Transplantatkonfiguration (fasziokutan vs. osteomyokutan) sowie weiteren nicht-transplantatassoziierten Einflussfaktoren ab und kann daher variieren (Pabst et al., 2018).

Nach wie vor ist die Kompromittierung des venösen Abflusses mit konsekutiver Transplantatstauung in der Mehrzahl der Fälle als ursächliche Komplikation für eine gestörte Gewebepfusion sowie den ggf. daraus resultierenden Verlust des Transplantats anzusehen und stellt mit 38 – 51 % die häufigste Indikation zur operativen Reexploration (engl. salvage operation) dar (Novakovic et al., 2009; Wu et al., 2014; Zhang et al., 2015) (Abb. 4). Dies liegt nicht zuletzt an den grundlegenden anatomischen und physiologischen Eigenschaften des venösen Gefäßsystems, welche sich stark von denen des arteriellen Transplantatschenkels unterscheiden und den venösen Abfluss für Perfusionsstörungen anfällig machen (Gimbel et al., 2009; Talbot et Pribaz, 2010).

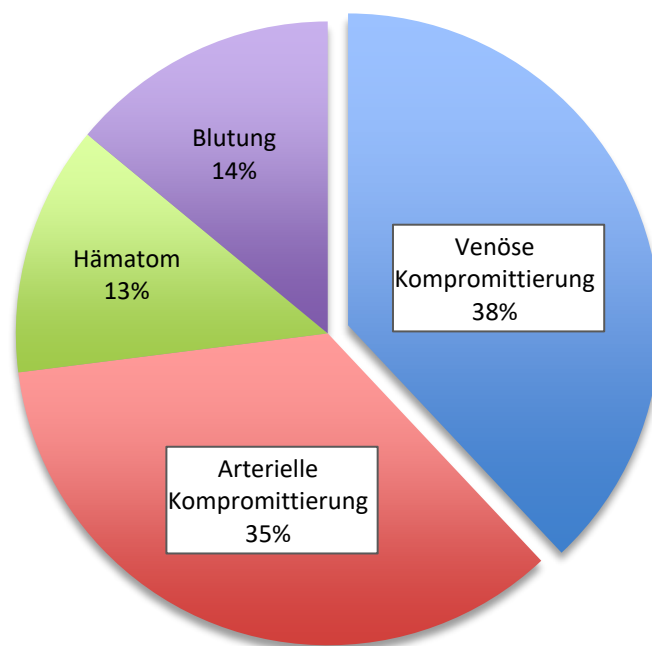


Abb. 4: Indikationen für eine operative Reexploration des freien mikrovaskulären Transplantats. Das Diagramm zeigt die Hauptindikationen für eine Reexploration und verdeutlicht den signifikant hohen Anteil an Störungen der venösen Drainage bezogen auf die Gesamtheit aller Indikationen. Modifiziert nach Wu et al. (Wu et al., 2014).

1.2.1 Physiologie bzw. Rheologie der venösen Stase

Kommt es zu einer Kompromittierung des venösen Transplantatschenkels mit daraus resultierender Stenose des Gefäßlumens, führt dies zu einer venösen Stase innerhalb des betroffenen Gefäßabschnittes und hat nachhaltige Auswirkungen auf die gesamte Physiologie des Transplantats (Hjortdal et al., 1992; Nasser et al., 2015; Mücke et al., 2020). Aufgrund einer verringerten Fließgeschwindigkeit entsprechend des Hagen-Poiseuilleschen Gesetzes steht hierbei der Ausprägungsgrad der Stase in direktem Wirkungsverhältnis zur graduellen Verringerung des venösen Gefäßlumens (Baskurt et Meiselman, 2003; Yamamoto et al., 2017a). Der steigende intravasale Strömungswiderstand kann ab einem gewissen Punkt nicht mehr durch den Perfusionsdruck des Blutes im venösen Niedrigdrucksystem überwunden werden und es kommt zu einem venösen Rückstau (Gimbel et al., 2009). Die hämodynamischen Eigenschaften des Blutes, insbesondere das intraluminale Aggregationsverhalten der zellulären Bestandteile, führen daraufhin zu einer verstärkten Interaktion der Blutzellen mit dem Endothel der venösen Gefäßwand und bewirken somit indirekt durch eine erhöhte Viskosität eine zusätzliche Verringerung der Strömungsgeschwindigkeit im venösen System (Eppihimer et Lipowsky, 1996; Sriyab, 2014). Der rheologische Aspekt der Stase spiegelt sich auch in dem von Virchow bereits 1858 etablierten pathogenetischen Konzept der Thrombogenese wieder (Virchow, 1989). Es besagt, dass die Entstehung von Thromben im Wesentlichen auf drei relevante pathophysiologische Faktoren zurückzuführen ist, die sich im zeitlichen Verlauf jeweils gegenseitig beeinflussen und verstärken: Veränderungen am Endothel der Gefäßwand, eine Verringerung der Fließgeschwindigkeit (im Sinne einer Stase) und eine Veränderung der Zusammensetzung des Blutes mit konsekutiver Hyperkoagulabilität. Als Folge dieser pathophysiologischen Trias kommt es v.a. in venösen Gefäßabschnitten, die bedingt durch die vaskuläre Kompromittierung bereits eine Stase mit herabgesetzter intravasaler Strömungsgeschwindigkeit aufweisen, zu einer vermehrten thrombogenen Verlegung des Gefäßlumens (Gimbel et al., 2009). Dieses Konzept besitzt auch heute noch grundlegende Gültigkeit und ist im Rahmen der venösen Stauung auf die pathophysiologischen Vorgänge im mikrovaskulären System eines freien Transplantats übertragbar (Fernandez et al., 1983). So konnte in zahlreichen Studien gezeigt werden, dass ca.

75 – 80 % der mikrovaskulären Thrombosen, die eine operative Reexploration im Sinne einer Transplantatrettung erforderlich machten, im venösen Transplantatschenkel auftraten (Hjortdal et al., 1992; Bui et al., 2007; Gimbel et al., 2009; Yang et al., 2017; Fujiwara et al., 2018). Die Entstehung von thrombotischen Perfusionshindernissen verschärft den schädigenden Effekt des venösen Rückstaus auf das gesamte Transplantat und führt letztlich zu einer Veränderung unterschiedlicher Perfusionsparameter, die sich wiederum nachteilig auf den Gewebemetabolismus auswirkt (Bergkvist et al., 2015; Ritschl et al., 2018b). Dabei kommt es zu einem Abfall der Sauerstoffsättigung sowie, bedingt durch eine Verdichtung an Erythrozyten im venös gestauten Gefäßbett, einem Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration (Kruse et al., 2010). Hjortdal et al. konstatierten in einer Studie aus dem Jahr 1992, dass während einer anhaltenden venösen Stase der ödematöse Austritt von intravasalem Flüssigkeitsvolumen eine zusätzliche Barriere für die interstitielle Sauerstoffdiffusion schafft. Die daraus resultierende Verringerung des zellulären Stoffwechsels kompromittiert in der Konsequenz den Einheilungsprozess des mikrovaskulär transplantierten Gewebes (Hjortdal et al., 1992; Mücke et al., 2011). Hält der Zustand der venösen Stase längerfristig an, kommt es mit zeitlicher Verzögerung zur retrograden Ausbreitung der venösen Stauung auf das gesamte mikrovaskuläre Transplantat und es besteht die Gefahr einer partiellen oder totalen Transplantatnekrose (Mücke et al., 2018). Klinisch äußert sich eine gestörte venöse Drainage durch eine bläulich-livide Verfärbung der Transplantatoberfläche sowie eine deutlich beschleunigte Rekapillarierungszeit (sog. "Flush") (Abb. 5).

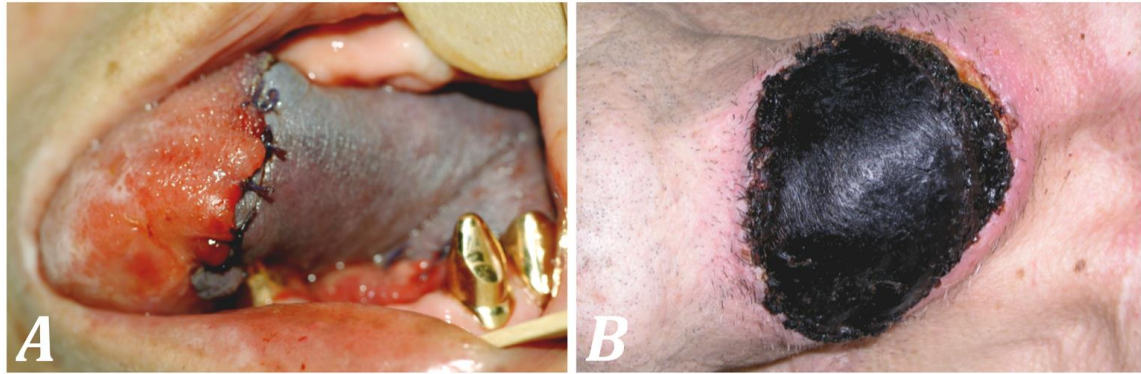


Abb. 5: Venöse Transplantatstauung und konsekutive Transplantatnekrose. (A) Zu sehen ist die venöse Stauung eines zur Zungenrekonstruktion intraoral eingebrachten Radialis-Transplantats nach erfolgter partieller Glossektomie. Der gestörte venöse Abfluss führt zu einer Gewebehypoxie und äußert sich klinisch als bläulich-livide Verfärbung des Transplantats. Dieser Vorgang ist bei frühzeitiger Detektion reversibel. (B) Im Bereich des Halses zeigt sich das klinische Erscheinungsbild einer Transplantatnekrose. Bedingt durch ein Überschreiten der für das transplantierte Gewebe kritischen Ischämiezeit kommt es zu einem irreversiblen nekrotischen Verlust des Transplantats. Es folgt anschließend die Durchführung einer Nekrosektomie und Hebung eines neuen freien mikrovaskulären Transplantats. Modifiziert nach Sandig (Sandig, 2016).

1.2.2 Reexploration und Rettung des Transplantats bei venöser Stauung

Der Verlust eines kompromittierten mikrovaskulären Transplantats kann innerhalb eines begrenzten postoperativen Zeitfensters mithilfe reexplorativer Maßnahmen teilweise abgewandt werden (Bigdeli et al., 2018; Mücke et al., 2018). Im Falle einer venösen Stauung bestehen in Abhängigkeit von der zugrundeliegenden Ursache unterschiedliche therapeutische Optionen für den Versuch einer Transplantatrettung. Prinzipiell können dabei zunächst konservative Therapiemaßnahmen ergriffen oder unmittelbar eine operative Reexploration im Sinne der sog. "salvage operation" durchgeführt werden (Wu et al., 2014). Sofern eine mittelgradig ausgeprägte venöse Stase im mikrovaskulären Gefäßsystem verantwortlich für die Perfusionsstörung ist, die Drainagefunktion des venösen Transplantatschenkels aber noch nicht gänzlich versagt hat, kann der konservative Therapieversuch mit Blutegeln (*Hirudo medicinalis*) unternommen und additiv Heparin in therapeutischer Dosis subkutan appliziert werden (Nguyen et al., 2012). Weitere Ersthilfemaßnahmen zur Gewährleistung eines venösen Abflusses aus dem geschwollenen Transplantatgewebe stellen die Entfernung der

Wundnähte, eine periodische Perforierung oder Deepithelialisierung der Transplantatoberfläche (engl. flap pricking) sowie die venöse Kanülierung des Transplantats dar (Talbot et Pribaz, 2010). Liegt die Ursache für die venöse Stauung in einer Gefäßstenose der mikrovaskulär anastomosierten Venen, sollte eine operative Reexploration mit Revision der Anastomose, ggf. Entfernung eines Thrombus und Spülung der beiden venösen Gefäßenden mit Heparin erfolgen. Anschließend kann die Transplantatvene erneut mit der bisherigen Empfängervene reanastomosiert oder an ein neues Empfängergefäß angeschlossen werden (Yang et al., 2017). Gesamtheitlich betrachtet lässt sich konstatieren, dass die operative Reexploration im Sinne einer "salvage operation" das Standardverfahren für kompromittierte Transplantate darstellt und die oben angeführten konservativen Therapiealternativen nur in seltenen Fällen indiziert sind (Zhang et al., 2015; Mücke et al., 2018).

Bui et al. beschrieben 2007 in einer großen klinischen Studie mit 1193 freien Gewebetransfers eine Reexplorationsrate von 6 – 14 %, wobei der überwiegende Anteil an Reexplorationen auf eine venöse Perfusionsstörung mit konsekutiv thrombotischem Verschluss der venösen Transplantatgefäße zurückzuführen war (Bui et al., 2007). Während sich die nachhaltige Beseitigung arteriell bedingter Perfusionsstörungen häufig als problematisch erweist, lassen sich vaskuläre Komplikationen im venösen Gefäßabschnitt des Transplantats in der Regel leichter beheben. Hierbei liegen die Erfolgsraten für die Rettung venös kompromittierter Transplantate der Literatur zufolge bei 70 – 75 % (Bui et al., 2007; Wu et al., 2014) (Abb. 6). Die frühzeitige Detektion der gestörten Perfusion spielt in diesem Zusammenhang eine entscheidende Rolle und verdeutlicht die Notwendigkeit eines postoperativen Transplantatmonitorings (Mirzabeigi et al., 2012; Bigdeli et al., 2018; Perng et al., 2018). Über 90 % der vaskulär kompromittierten Transplantate zeigen innerhalb der ersten postoperativen 24 – 72 Stunden dezente bis deutliche Zeichen einer gestörten Gewebepfusion (Chen et al., 2007; Novakovic et al., 2009; Liu et al., 2012). Mit diesem Wissen vor Augen sollte insbesondere in den ersten postoperativen Tagen ein engmaschiges Transplantatmonitoring gewährleistet werden. Gelingt eine Rettung nicht bzw. wird die Perfusionsstörung nicht frühzeitig genug erkannt, wird die Hebung eines neuen mikrovaskulären Transplantats notwendig (Bianchi et al., 2009; Luu et

Farwell, 2009; Wong et Wei, 2010; Wu et al., 2014). Dies führt folglich zu einem verlängerten Krankenhausaufenthalt, einem verschlechterten funktionellen und ästhetischen Rekonstruktionsergebnis sowie einer reduzierten Lebensqualität (Farwell et al., 2002; Mücke et al., 2018).

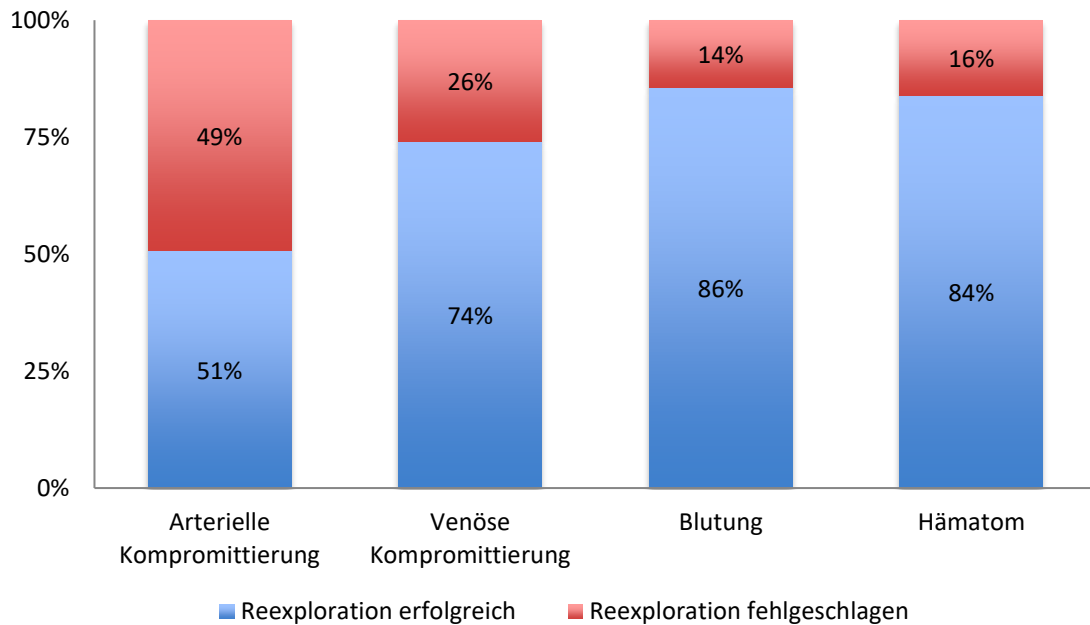


Abb. 6: Erfolgsraten im Rahmen der operativen Reexploration. Die Graphik verdeutlicht den relativ hohen prozentualen Anteil erfolgreicher Reexplorationen im Falle einer venösen Kompromittierung des freien mikrovaskulären Transplantats. Aufgrund des häufigeren Auftretens venöser Kompromittierungen im Vergleich zu arteriellen Kompromittierungen ist auch der absolute Anteil erfolgreicher Reexplorationen in der venösen Gruppe deutlich höher. Modifiziert nach Wu et al. (Wu et al., 2014).

1.3 Postoperatives Monitoring - Möglichkeiten zur Detektion venöser Stase

Für die frühzeitige Detektion einer gestörten Transplantatperfusion und Vermeidung eines nekrotischen Gewebeverlusts ist ein postoperatives Monitoring unverzichtbar (Chen et al., 2007; Wong et Wei, 2010; Cervenka et Bewley, 2015; Perng et al., 2018; Ritschl et al., 2018b). Die Analyse und Evaluation von Perfusionsparametern sollte dabei zuverlässig, reproduzierbar und effektiv erfolgen sowie eine möglichst geringe Anwenderspezifität aufweisen (Grabb et

Myers, 1975; Mücke et al., 2018). Insbesondere bei älteren Patienten mit kardiovaskulären Vorerkrankungen und anderen kompromittierenden Risikofaktoren, die somit anfälliger für Perfusionsstörungen und Transplantatverluste im Rahmen des freien Gewebetransfers sind, kann die postoperative Überwachung des Transplantats zu einer gesteigerten Erfolgsrate beitragen (Mücke et al., 2020).

Ausgehend von der Annahme, dass die venöse Stase und konsekutive Thrombosierung der Transplantatvene als kontinuierlicher Prozess mit schrittweiser Ausprägung erfolgen, sollte das postoperative Monitoring idealerweise in der Lage sein, die Perfusionsstörung bereits vor der vollständigen Obstruktion des Gefäßes zu detektieren (Gimbel et al., 2009). Vaskuläre Komplikationen treten, wie unter 1.2.2 beschrieben, in der Regel während der ersten 24 – 72 Stunden nach dem operativen Eingriff auf (Wolff et al., 2008; Mücke et al., 2020). In dieser Phase sollte mithilfe geeigneter Monitoringverfahren eine regelmäßige und engmaschige Überprüfung der Transplantatvitalität erfolgen, um im Falle einer vaskulären Kompromittierung umgehend therapeutische Maßnahmen einleiten zu können (Wu et al., 2014).

Neben einer in regelmäßigen Zeitabständen durchzuführenden klinischen Überwachung der Farbe, Temperatur und Rekapillarierungszeit des transplantierten Gewebes sollten technische Monitoringverfahren unterstützend zum Einsatz kommen (Chen et al., 2007; Mücke et al., 2017). Dabei kann auf eine Vielfalt an additiven Untersuchungsmodalitäten zurückgegriffen werden, welche im Laufe der letzten zwei Jahrzehnte in zahlreichen tierexperimentellen sowie klinischen Studien hinsichtlich ihrer Validität, Sensitivität und Spezifität überprüft wurden. Grundsätzlich sollte im klinischen Alltag stets eine Abwägung erfolgen, ob die Aussagekraft des präferierten Monitoringverfahrens den zeitlichen Aufwand bei der Durchführung rechtfertigt und eine objektive Einschätzung der Transplantatvitalität ermöglicht (Patel et al., 2017). Der Einsatz eines mikrovaskulären Gefäßdopplers zur Detektion vaskulärer Komplikationen im Bereich des Transplantatstiels ist in den rekonstruktiv tätigen Fachbereichen stark verbreitet und weist eine hohe Validität auf. Diese ist jedoch in hohem Maße von der Erfahrung des Untersuchers abhängig (Bodor et al., 1997; Gimbel et al., 2009; Zhu et al., 2016; Pafitanis et al., 2017). Zu den technisch aufwändigeren

Monitoringmodalitäten zählen u.a. die Gewebephotospektrometrie, die Infrarot-Thermografie, die Flussmessung mittels implantierbarem und biologisch abbaubarem Gefäßdoppler sowie die Fluoreszenzangiographie (Holm et al., 2010; Teven et al., 2017; Fujiwara et al., 2018; Karinja et Lee, 2018; Ritschl et al., 2018b; Smit et al., 2018).

Im Folgenden soll näher auf die unterschiedlichen postoperativen Monitoringverfahren eingegangen werden, welche in der vorliegenden Arbeit zur Detektion einer venösen Transplantatkompromittierung zur Anwendung kamen. Zusätzlich wird ein kurzer Überblick über weitere alternative Untersuchungsmethoden gegeben, welche teilweise erst seit kurzem für den klinischen Einsatz verfügbar sind.

1.3.1 Indocyaningrün-Videoangiographie und FLOW® 800-Analyssetool

Die Indocyaningrün-Videoangiographie (ICG-VA) basiert auf dem Prinzip der Fluoreszenzangiographie und ermöglicht die Visualisierung vaskulärer Strukturen sowie eine quantitative und qualitative Perfusionsanalyse des untersuchten Gewebes (Mücke et al., 2013b; Bigdeli et al., 2016; Ludolph et al., 2016; Burnier et al., 2017). Ein zuvor intravasal applizierter Fluoreszenzfarbstoff wird hierbei durch Infrarotlicht einer definierten Wellenlänge (800 nm) angeregt und emittiert in der Folge ein Fluoreszenzsignal mit veränderter Wellenlänge. Unter Verwendung eines geeigneten Lichtfilters gelingt durch die ausschließliche Erfassung des Fluoreszenzsignals die selektive Abbildung bestimmter Strukturen wie bspw. des Gefäßsystems (Mothes et al., 2009; Mücke, 2012). Seit dem erstmaligen Einsatz der Fluoreszenzangiographie zur Darstellung zerebraler Mikrogefäße durch Feindel et al. 1967 hat dieses bildgebende Verfahren in der rekonstruktiven Chirurgie zunehmend an Bedeutung gewonnen (Feindel et al., 1967; Bischoff et Flower, 1985; Liu et al., 2011; Alander et al., 2012). Während der letzten zwei Jahrzehnte wurde die Fluoreszenzangiographie durch Einführung des Farbstoffes Indocyaningrün (ICG) und die sich fortwährend verbessernde Infrarotkameratechnik weiterentwickelt, sodass heute mithilfe einer im OP-Mikroskop integrierten Infrarotkamera eine intraoperative Visualisierung der Gewebepfusion in Echtzeit erfolgen kann (Ritschl et al., 2018b). Der injizierte Fluoreszenzfarbstoff ICG weist eine starke Bindung an Lipoproteine im Blut auf, verbleibt intravasal, besitzt eine hohe Bioverträglichkeit und wurde bereits in

zahlreichen Studien als Fluoreszenzmarker zur Darstellung der vaskulären Architektur von transplantiertem Gewebe eingesetzt (Holm et al., 2002; Raabe et al., 2003; Raabe et al., 2005; Riva et al., 2018). Aktuellere Untersuchungen konnten zeigen, dass der intraoperative Einsatz der ICG-VA zur Evaluation der Gefäßdurchgängigkeit nach zuvor erfolgter mikrovaskulärer Anastomose bzw. während einer operativen Reexploration geeignet ist und somit signifikant zu einer gesteigerten Erfolgsrate im Rahmen freier mikrovaskulärer Gewebetransfers beiträgt (Holm et al., 2009; Mücke et al., 2010; Bigdeli et al., 2016; Maxwell et Deleyiannis, 2016). Zudem lässt sich mit diesem Verfahren auch das graduelle Ausmaß einer Gefäßstenose in den arteriellen sowie venösen Transplantatgefäßen detektieren (Mücke et al., 2020). Die von der Firma Zeiss entwickelte und im OP-Mikroskop integrierbare Analysesoftware FLOW® 800 (FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) ermöglicht neben der Visualisierung von Gefäßsystemen die quantitative und qualitative Evaluation der Gewebepfusion und ist in der Lage, die genauen Auswirkungen einer mikrovaskulären Kompromittierung auf die Transplantatdurchblutung zu objektivieren (Mücke et al., 2013b; Preidl et al., 2015). Die ICG-VA stellt daher sowohl im Rahmen des postoperativen Monitorings als auch intraoperativ ein wichtiges Verfahren zur Überprüfung der Transplantatperfusion dar (Geltzeiler et al., 2018; Ritschl et al., 2018b; Mücke et al., 2020).

Neben dem Transplantatmonitoring wurde das Indikationsspektrum für die ICG-VA inzwischen ausgeweitet und das Verfahren in neueren Studien auch erfolgreich als "off-label use" für die Darstellung lymphatischer Strukturen eingesetzt (Al-Dam et al., 2018; Hackethal et al., 2018). Im Gegensatz zur intravenösen Applikation im Rahmen der Angiographie wird der Fluoreszenzfarbstoff für die lymphatische Diagnostik direkt in das zu untersuchende Gewebe injiziert. Die Lymphe weist einen hohen Gehalt an Proteinen wie β -Lipoproteine B und Albumine auf, wodurch es zu einer Akkumulation von ICG in den Lymphbahnen und -knoten kommt (Hackethal et al., 2018). So kann beispielsweise in der onkologischen Therapie des Plattenepithelkarzinoms der Mundhöhle, des Mamma-Karzinoms, des malignen Melanoms der Haut und weiterer Tumore im Kopf-Hals-Bereich das Auffinden des Sentinel-Lymphknotens mittels ICG erfolgen (Nakamura et al., 2015; Goppner et al., 2017; Liu et al., 2017; McGregor et al., 2017; Al-Dam et al., 2018) (Abb. 7).

Zhang et al. konstatierten in einer Meta-Studie aus dem Jahr 2016 eine Sentinel-Detektionsrate von 93 – 100 % nach ICG-Anwendung, welche jener der konventionellen Lymphszintigraphie als Goldstandard überlegen war (Zhang et al., 2016; Hackethal et al., 2018). Rossi et al. kamen 2017 in ihrer Studie zu dem Schluss, dass die gezielte Detektion von Lymphmetastasen im Rahmen des Stagings von Cervix- und Endometrium-Carcinomen durch ICG in der Lage ist, die invasivere diagnostische Lymphadenektomie zu ersetzen (Rossi et al., 2017). Einen weiteren Anwendungsbereich stellt die Diagnostik und Therapie des sekundären Lymphödems nach erfolgter Tumorresektion dar. Nach Evaluation der lymphatischen Abflusswege mittels ICG kann hierbei der Lymphstau durch mikrochirurgisches Anlegen einer lymphovenösen Anastomose verbessert und ein Abschwellen des Gewebes erzielt werden (Yamamoto et al., 2014; Burnier et al., 2017; Yamamoto et al., 2017b).

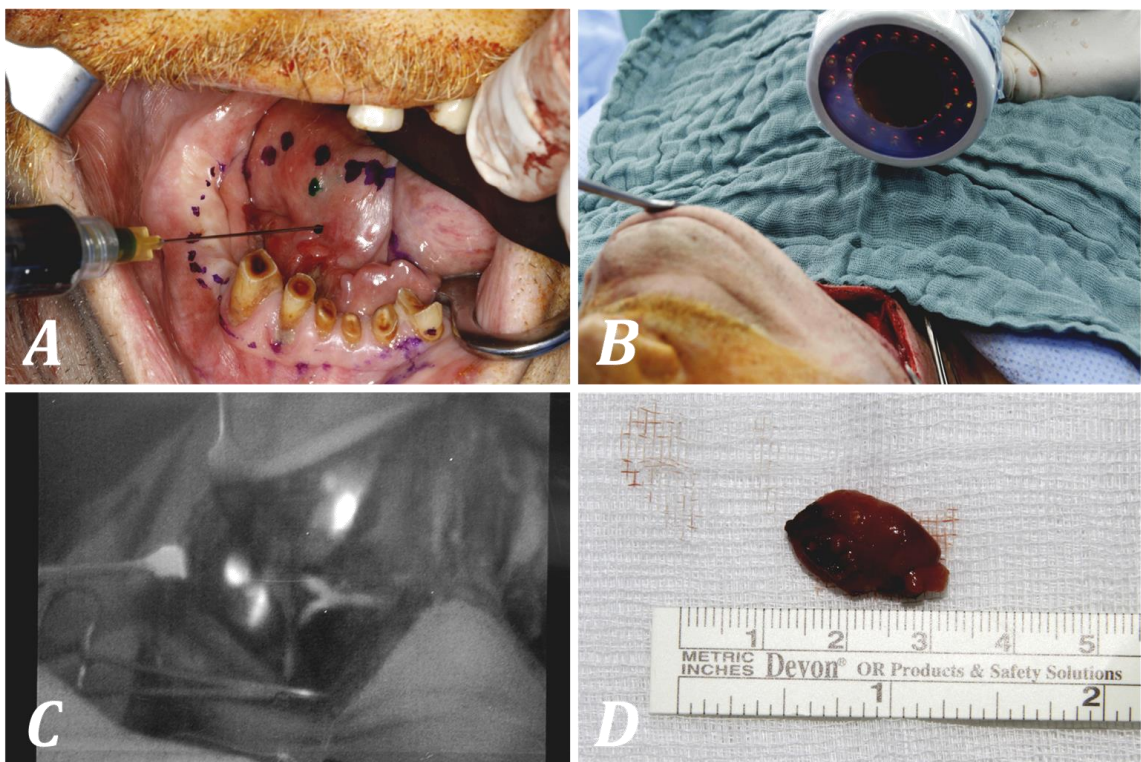


Abb. 7: Diagnostische Applikation der Indocyaningrün-Videoangiographie zur Darstellung des Sentinel-Lymphknotens bei oralem Plattenepithelkarzinom. (A) Die Injektion des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes erfolgt innerhalb des zuvor markierten Resektionsbereichs, ohne die primäre Tumorerläsion zu manipulieren. (B) Mithilfe einer handgehaltenen Infrarotkamera (PDE-Photo Dynamic Eye®, Hamamatsu Photonics Deutschland GmbH, Deutschland) gelingt die Identifizierung der zervikalen Sentinel-Lymphknoten. Aufgrund einer niedrigen Detektionstiefe des

Kamerasystems wird die ICG-VA erst nach vorheriger Darstellung der zervikalen Strukturen im Rahmen der Neck Dissection durchgeführt. (C) Das Infrarotbild unmittelbar nach der ICG-Injektion zeigt die fluoreszierenden Lymphknoten, welche mit dem intraoralen Tumor assoziiert sind. (D) Anschließend können diese suspekten Lymphknoten reseziert werden. Modifiziert nach Al-Dam et al. (Al-Dam et al., 2018).

1.3.2 O2C-Monitoring

Das O2C®-Gerät (engl. für oxygen to see; LEA Medizintechnik GmbH, Giessen, Deutschland) ermöglicht durch die Kombination von Laser-Doppler- Flussmessung und Gewebespektrometrie eine noninvasive Evaluation der Transplantatperfusion sowie Gewebeoxygenierung (Loeffelbein, 2003; Hölzle et al., 2005; Krug, 2006). Eine oberflächlich applizierte Messsonde emittiert im Rahmen des Monitorings sowohl Weißlicht zur Bestimmung der Hämoglobinoxygenierung (SO₂) und -konzentration (Hb) als auch Laserlicht, welches mithilfe des optischen Doppler-Effekts die Erhebung des Durchflussvolumens (Flow) und der Strömungsgeschwindigkeit (Velocity) des Blutes erlaubt (Hölzle et al., 2006; Fichter, 2015). Die genauen technischen und physikalischen Grundlagen der Gewebe-Photospektrometrie wurden an anderer Stelle ausführlich erörtert (Abdel-Galil et Mitchell, 2009b). Die Perfusionsparameter Flow, Velocity und Hb werden dem Untersucher numerisch und graphisch in arbiträren Einheiten angezeigt. Die Berechnung der Hämoglobinoxygenierung (SO₂) erfolgt hingegen mit Prozentangabe und ermöglicht eine schnelle Einschätzung der Transplantatversorgung mit Sauerstoff. Der klinische Nutzen für eine frühzeitige Detektion von vaskulär kompromittierten Transplantaten im Rahmen eines intra- und postoperativen Monitorings konnte in mehreren Studien belegt werden (Mücke et al., 2014a; Mücke et al., 2014b; Ludolph et al., 2016; Berggren-Olsen et al., 2017; Rother et Lang, 2018). Auch der additive Nutzen hinsichtlich eines kombinierten Einsatzes mit anderen Monitoringmodalitäten wurde in der Literatur beschrieben (Ritschl et al., 2018b; Mücke et al., 2020).

1.3.3 Flussmessung

Für die Erhebung des Blutflussvolumens hat sich im Rahmen mikrovaskulärer Prozeduren in vielen klinischen Zentren die Ultraschall-Durchflussmessung

mithilfe eines mikrovaskulären Gefäßdopplers durchgesetzt (Perng et al., 2018). Bei diesem Verfahren treffen von einem Wandler emittierte Ultraschallwellen auf beschleunigte Bestandteile in der Blutlaufbahn und werden mit veränderter Frequenz und Laufzeit auf einen Detektor reflektiert (Nakayama et al., 2001; Selber et al., 2013). Die mikrovaskuläre Flusssonde liegt dem Gefäß dabei unmittelbar an, ohne dieses zu komprimieren und die Messung des Durchflussvolumens somit zu verfälschen. Dies ermöglicht bspw. im Rahmen einer mikrochirurgischen Anastomosierung von Transplantatgefäßen eine unmittelbare Überprüfung der Durchgängigkeit sowie ggf. eine Revision der Anastomose und senkt somit das Auftreten postoperativer Komplikationen (Pafitanis et al., 2017). In tierexperimentellen Studien an Ratten konnten sowohl durch eine Kombination aus Ultraschall-Durchflussmessung und ICG-VA vaskuläre Stenosen ab 75 % detektiert als auch der Erfolg einer mikrovaskulären Thrombolyse zuverlässig überprüft werden (Bodor et al., 1997; Zhu et al., 2016; Mücke et al., 2020).

1.3.4 Alternativen

Neben der ICG-VA, der Gewebe-Photospektrometrie und der Ultraschall-Durchflussmessung existieren weitere alternative Monitoringverfahren, welche sich unterschiedlich gut für die postoperative Detektion vaskulärer Komplikationen im Rahmen des freien mikrovaskulären Gewebetransfers eignen (Kempton et al., 2015; Smit et al., 2018). Prinzipiell lässt sich eine Einteilung in invasive und noninvasive Verfahren vornehmen. Der implantierbare Cook-Swartz-Doppler stellt hierbei eines der invasiven Monitoringverfahren dar, welches in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen hat und in mehreren komparativen Studien als vielversprechende valide Alternative für die postoperative Überwachung der Transplantatperfusion zum Einsatz kam (Guillemaud et al., 2008; Hosein et al., 2016; Teven et al., 2017; Lenz et al., 2018) (Abb. 8). Die zumeist venös applizierte Dopplersonde verbleibt postoperativ im Situs und erlaubt somit auch nach der Operation eine kontinuierliche Evaluation der Gefäßdurchgängigkeit und Gewebepерfusion (Agha et al., 2014; Um et al., 2014; Fujiwara et al., 2018). Ergänzend stehen als weniger invasive Monitoringtechniken die CT-Angiographie, die Infrarot-Thermographie, das bildgebende Verfahren der TiVi (engl. für tissue viability imaging) und die kontrastmittelverstärkte Ultraschall-Untersuchung (CEUS engl. für contrast

enhanced ultrasound) für die postoperative Perfusionskontrolle zur Verfügung (Abdel Razek et al., 2014; Bergkvist et al., 2015; Geis et al., 2015; Kagaya et al., 2015; Akita et al., 2016; Just et al., 2016; Koolen et al., 2016; Bergkvist et al., 2017; Ricci et al., 2017; Perng et al., 2018). Eine komparative Metaanalyse aller aufgeführten Modalitäten steht zum aktuellen Zeitpunkt noch aus und wird Gegenstand zukünftiger Studien sein.

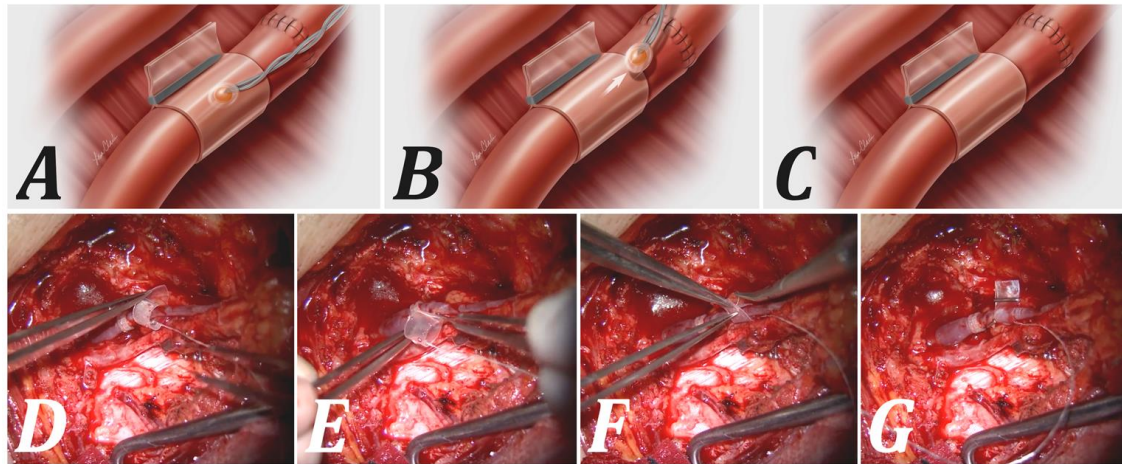


Abb. 8: Implantierbarer Cook-Swartz-Doppler zur postoperativen Überwachung der Transplantatperfusion. (A-C) Schematische Darstellung des Gefäßes mit anliegendem Cook-Swartz-Doppler und Entfernung des Sondenkristalls nach erfolgreicher Einheilung des Transplantats. (D-G) Intraoperative Applikation des Cook-Swartz-Dopplers mithilfe mikrochirurgischer Instrumente unter mikroskopischer Vergrößerung des Sichtfeldes. Modifiziert nach www.cookmedical.com.

1.4 Prädiktion von Transplantatnekrosen

Die Entstehung von partiellen oder vollständigen Transplantatnekrosen ist meist Folge einer gestörten Mikrozirkulation und manifestiert sich erst mit zeitlicher Verzögerung im postoperativen Verlauf (Wolff et al., 2009; Smit et al., 2018). Während die Gefäßdurchgängigkeit und Gewebepfusion bereits intraoperativ überprüft und ggf. eine Revision erfolgen kann, bleibt die Abschätzung des Einheilungsprozesses und die topographische Vorhersage von Gewebenekrosen eine Herausforderung (Wu et al., 2014). Neben einer vaskulären Kompromittierung des transplantierten Gewebes können weitere Risikofaktoren das rekonstruktive Ergebnis beeinflussen und einen nekrotischen Gewebeverlust

begünstigen. Hierzu zählen u.a. eine verlängerte Ischämiezeit während der mikrovaskulären Anastomosierung, eine zuvor erfolgte Bestrahlung der Entnahmeregion, das Vorhandensein von kardiovaskulären Risikofaktoren (Obesität und Rauchen) sowie ein ungünstiges Transplantatdesign (Phillips et al., 2012; Peng et al., 2015; Qiu et al., 2019). Entsprechend des Prinzips der "letzten Wiese" sind die Gewebeanteile entlang eines Endstromgebietes am ehesten von einer Perfusionseinschränkung mit konsekutiver Hypoxie betroffen. Eine partielle Transplantatnekrose im Bereich der Randzonen mag trivial erscheinen, kann jedoch den Wundheilungsprozess stören und, bedingt durch eine Infektion des umliegenden Gewebes, zu einem konsekutiven Verlust des gesamten Transplantats führen (Wu et al., 2014). Dies trifft aufgrund der bakteriellen Konfiguration der physiologischen Mundflora insbesondere auf intraoral eingebrachte mikrovaskuläre Transplantate zu. Ab dem siebten postoperativen Tag ist die Wahrscheinlichkeit für einen nekrotischen Verlust des transplantierten Gewebes relative gering, da der Einheilungsprozess zu diesem Zeitpunkt weitestgehend abgeschlossen und die Re- bzw. Neovaskularisierung durch das benachbarte Gewebe des Transplantatlagers bereits erfolgt ist (Black et al., 1978; Wolff et al., 2009; Mücke et al., 2011; Wu et al., 2014). In einer Studie aus dem Jahr 2010 konnten Zimmermann et al. unter Einsatz der ICG-VA präoperativ Gewebeareale mit geschwächter Mikrozirkulation identifizieren und somit das Risiko etwaiger Wundheilungsstörungen nach einer Amputation in dieser Region abschätzen (Zimmermann et al., 2010). Basierend auf der aktuellen Studienlage ist die Frage nach einer möglichen Prädiktion von Transplantatnekrosen im Rahmen einer venösen Stauung noch ungeklärt. Da die klinische Einschätzung in diesem Kontext einer deutlichen Limitation unterliegt, könnte ein geeignetes Monitoringverfahren dazu beitragen, den Langzeiterfolg eines vaskulär kompromittierten bzw. reexplorierten Transplantats abzusehen sowie die initiale Abwägung zwischen Reexploration und Hebung eines neuen Transplantats zu erleichtern (Phillips et al., 2012).

1.5 Zielsetzung der Arbeit

Der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer hat sich in der rekonstruktiven Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie zu einem etablierten Standardverfahren entwickelt und findet heute insbesondere im Rahmen der ablativen Tumorchirurgie, aber auch bei der Wiederherstellung traumatologisch bedingter Defekte sowie in der Fehlbildungschirurgie breite Anwendung (Chen et al., 2007; Hölzle et al., 2008; Zhang et al., 2015; Liang et al., 2018). Trotz hoher Erfolgsraten bei rekonstruktiven Eingriffen mit mikrovaskulärem Gewebetransfer und einer Vielzahl an zur Verfügung stehender technischer Verfahren für das postoperative Monitoring bleibt das rechtzeitige Erkennen eines venös gestauten Transplantats weiterhin eine Herausforderung (Matsumoto et al., 2017; Mücke et al., 2018). Die venöse Stauung und deren pathophysiologische Auswirkungen auf das transplantierte Gewebe stellen, wie unter 1.2 beschrieben, nach wie vor die Hauptursache für eine operative Reexploration dar (Wu et al., 2014; Ritschl et al., 2018b). Als entscheidende Voraussetzung für eine erfolgreiche Transplantatrettung im Sinne einer sog. "salvage operation" und ein Verhindern von konsekutiv entstehenden Transplantatnekrosen gilt hierbei die frühzeitige Detektion der venös bedingten Kompromittierung (Mirzabeigi et al., 2012; Bigdeli et al., 2018; Perng et al., 2018). Obwohl die venöse Transplantatstauung unter den vaskulären Komplikationen überwiegt, fehlen geeignete komparative Studien, die eine Einschätzung aktuell verfügbarer Monitoringverfahren hinsichtlich ihrer Fähigkeit, eine venöse Stase rechtzeitig zu detektieren, erlauben (Gimbel et al., 2009). Der Großteil der existierenden Studien, welche sich mit dem Aspekt der Perfusion freier mikrovaskulärer Transplantate befassen, stellt die Detektion einer Transplantatischämie und der damit verbundenen Gewebehypoxie in den Vordergrund (Lin et al., 2011; Akita et al., 2016; Mericli et al., 2017). Zudem ist die genaue Korrelation zwischen der zeitlichen sowie graduellen Ausprägung einer venösen Stase und der etwaigen Entstehung von Folgeschäden am transplantierten Gewebe noch nicht hinreichend erforscht. Auch wenn einige Autoren eine Revision der gestörten Mikrozirkulation innerhalb von 8 – 12 Stunden postoperativ aufgrund des "no-reflow"-Phänomens für möglich erachten, ist das genaue Zeitfenster, in dem das Gewebe die venöse Stauung tolerieren kann und eine erfolgreiche Reexploration ohne nekrotische Folgeschäden noch möglich

ist, nach wie vor unklar (Black et al., 1978; Abdel-Galil et Mitchell, 2009b; Mücke et al., 2018). Zusätzlich fehlen objektive diagnostische Verfahren und Grenzwerte, auf Grundlage derer kritische Transplantatareale intra- bzw. postoperativ bereits identifiziert werden könnten, um ggf. die Entstehung von Gewebenekrosen absehen zu können (Ritschl et al., 2018a).

Mit dieser Problematik vor Augen, befasst sich die vorliegende Arbeit mit folgender Fragestellung:

1. Ist die ICG-VA in der Lage ein venös gestautes mikrovaskuläres Transplantat zu detektieren?
2. Wie ist die Detektionsfähigkeit der ICG-VA mit integriertem FLOW800®-Tool im Vergleich zu anderen etablierten Monitoringverfahren wie Ultraschall-Durchflussmessung (Transit-Flowmeter) und Gewebe-Photospektrometrie (O2C®) zu werten?
3. Wie lange kann ein Transplantat die venöse Stauung tolerieren, ohne dass eine konsekutive Gewebenekrose resultiert?
4. Kann im Falle einer venösen Transplantatstauung eine konsekutive Gewebenekrose auf Grundlage von nur einer postoperativen ICG-VA-Messung vorhergesagt werden?
5. Lässt sich auf Grundlage der experimentellen Ergebnisse ein Algorithmus für das klinische postoperative Monitoring ableiten, um die Erfolgsrate des freien mikrovaskulären Gewebetransfers durch eine rechtzeitige Reexploration zu steigern?
6. Führt eine technisch effektive Restitution der venösen Drainagefunktion im Rahmen einer operativen Reexploration langfristig auch zu einer erfolgreichen Einheilung des freien mikrovaskulären Transplantats?

2 Material und Methodik

2.1 Versuchsmodell – Der epigastrische Lappen der Ratte

Für die Evaluation des FLOW 800®-Softwaretools zur Analyse kompromittierter Gewebetransplantate wurde in dieser Arbeit auf das mikrovaskuläre Gefäßsystem der Ratte zurückgegriffen. Dieses murine Versuchsmodell weist weitestgehend vergleichbare anatomische Gegebenheiten und kardiovaskuläre Eigenschaften wie bei einem menschlichen Organismus auf und eignet sich somit gut für die translatorische Forschung (Zhang et al., 2001; Mücke, 2012). Die Ratte stellt im Rahmen tierexperimenteller Studien mit mikrozirkulatorischer Fragestellung das am häufigsten zum Einsatz kommende Versuchstier dar und ermöglicht in Analogie zu rekonstruktiven Eingriffen am Menschen die Durchführung einer Vielzahl an operativen Prozeduren (Oesterwitz et al., 1983; Kagaya et al., 2015). Dies beinhaltet u.a. die Anastomosierung von arteriellen und venösen Mikrogefäßen, die mikrochirurgische Rekonstruktion von Nerven sowie die Simulation eines freien Gewebetransfers mithilfe verschiedener zur Verfügung stehender Transplantatmodelle (Mücke et al., 2011; Loh et al., 2018; Mikami et al., 2018). Die Untersuchung des Einflusses einer venösen Stauung auf die Transplantatvitalität erfolgte speziell in dieser Arbeit mithilfe des erstmals durch Strauch und Murray 1967 beschriebenen epigastrischen Lappens der Ratte (Strauch et Murray, 1967) (Abb. 9). Konstante anatomische Verhältnisse im Zuge der Lappenhebung sowie eine ausreichende Kaliberstärke der versorgenden arteriellen und venösen Mikrogefäße haben dieses bewährte und gut reproduzierbare Transplantationsmodell in der tierexperimentellen Mikrochirurgie populär gemacht (Casal et al., 2017). Während der letzten Jahrzehnte konnten in zahlreichen Studien mithilfe des epigastrischen Lappens u.a. Erkenntnisse über die Auswirkung verschiedener Anastomose-Techniken auf die Gefäßdurchblutung, den Einfluss von Wachstumsfaktoren auf die Neoangiogenese nach erfolgter Transplantation, die Folgen einer verlängerten Ischämiezeit oder anderer perfusionskompromittierender Faktoren auf das Transplantatüberleben sowie die allgemeine Transplantatphysiologie gewonnen werden (Harashina et al., 1977; Partsafas et al., 2004; Mücke et al., 2011; Nguyen et al., 2013; Fichter et al., 2014; Kagaya et al., 2015; Matsumoto et al., 2017; Mücke et al., 2017). Die

Gefäßversorgung der Haut bzw. des subkutanen Gewebeanteils des epigastrischen Lappens erfolgt nach der Transplantathebung ausschließlich über die A. und V. epigastrica superficialis und entspricht somit der Vaskularisierung eines freien fasziokutanen Transplantats. Dies ermöglicht durch einen Verschluss der V. epigastrica sup. die Simulation einer kompromittierten venösen Drainage und anschließend die Evaluation der konsekutiven Auswirkungen auf das frei transplantierte Gewebe.

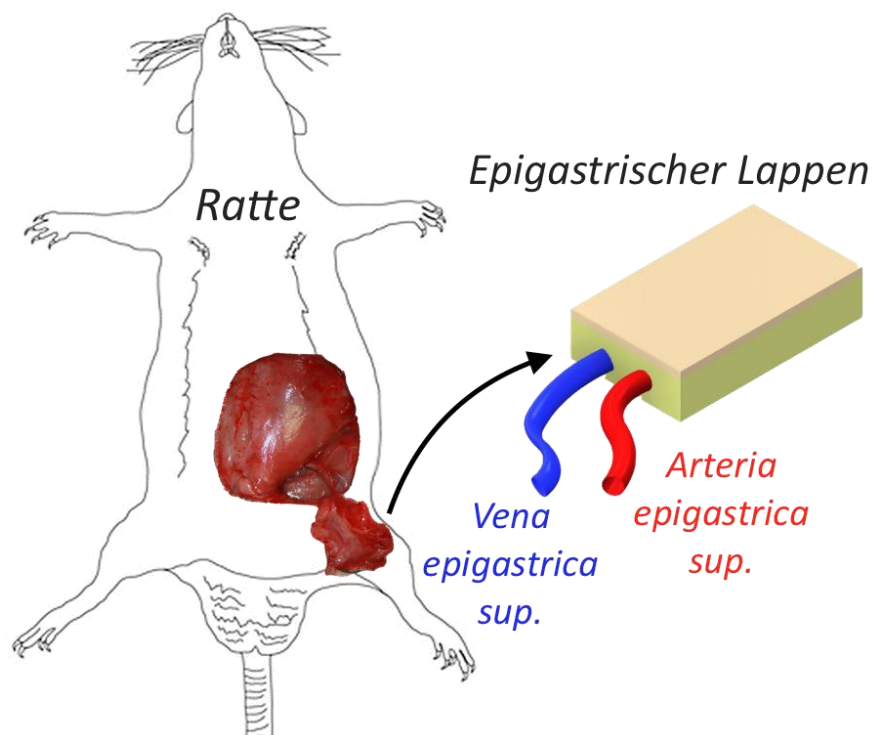


Abb. 9: Der epigastrische Lappen der Ratte als fasziokutanes Transplantationsmodell.

2.2 Versuchsablauf

2.2.1 Versuchstiere und Haltung

Die Durchführung der tierexperimentellen Versuche erfolgte nach Bewilligung eines Tierantrages gemäß § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes durch die Regierung Oberbayern (Az. 55.2-1-54-2532-85-15) an 35 männlichen Wistar-Ratten (Fa. Charles-River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) (Abb. 10). Gemäß der EU-Richtlinie 2010/63 zur Haltung von Versuchstieren wurden die Ratten in Standardkäfigen aus Makrolon Typ IV (Höhe: 20 cm – Breite: 35 cm – Tiefe 55 cm)

untergebracht. Hierbei erfolgte in Abhängigkeit des jeweiligen Körpergewichts und der jeweiligen Körpergröße der Versuchstiere eine Einteilung in Dreier- bzw. Vierergruppen. Um den Ratten nach ihrer Lieferung eine einwöchige Eingewöhnungszeit zu ermöglichen, wurden die Tiere im Zentrum für präklinische Forschung des Klinikums rechts der Isar unter Einhaltung einer konstanten Luftfeuchtigkeit und Raumtemperatur in einem Kleintierhaltungsraum gepflegt. Diese Einrichtung war speziell auf die Haltung von Versuchstieren ausgerichtet und verfügte über eine künstliche zirkadiane Beleuchtung. Die Versorgung der Ratten mit autoklaviertem Futter in Form von Pellets ad libidum, die Bereitstellung von Trinkwasser (Wechsel zweimal pro Woche) ebenfalls ad libidum und die regelmäßige Reinigung der Makrolonkäfige wurde stets gewährleistet. Um die Eingewöhnung der Tiere zu unterstützen und ihnen eine Beschäftigungs- sowie Versteckmöglichkeit zu bieten, enthielten die Käfige zusätzlich zu Holzgranulatstreu und Stroh auch ein Papierhaus und Zellstoff.

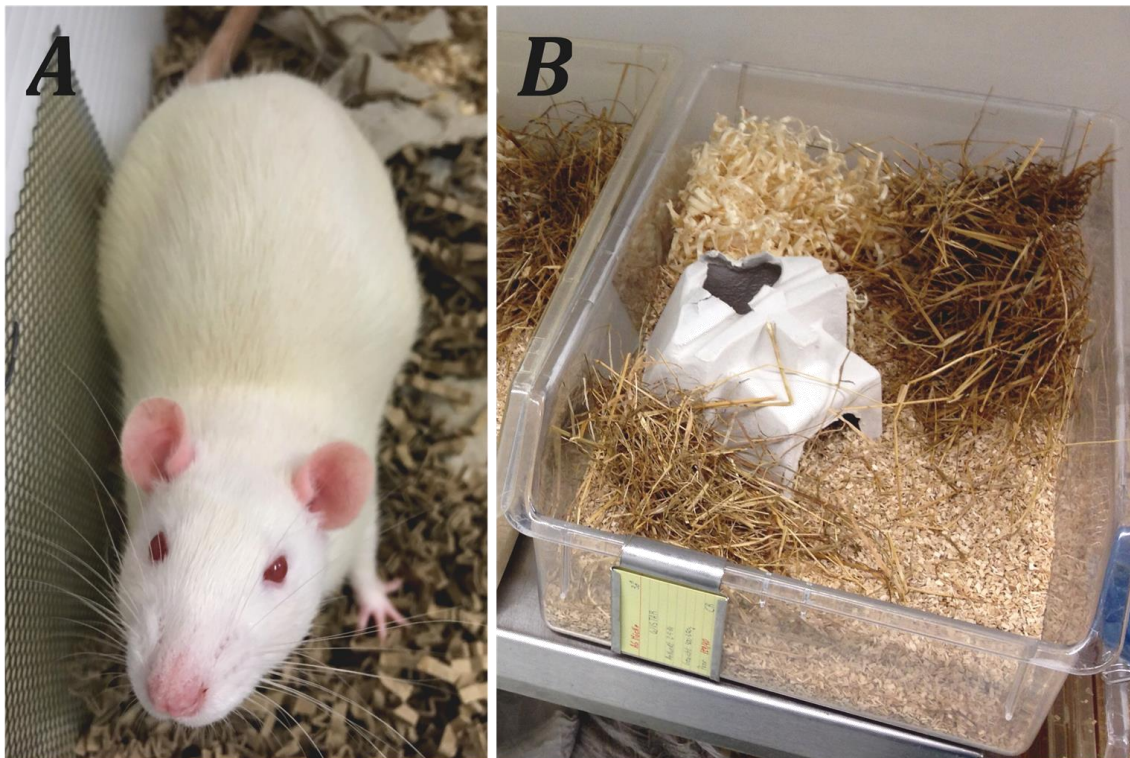


Abb. 10: Wistar-Laborrate (A) und Makrolon-Standardkäfig (B) mit Ausstattung.

Im Laufe des einwöchigen Eingewöhnungszeitraumes und vor Beginn der Versuchsdurchführung erfolgten die Feststellung des Körpergewichts aller Ratten

und eine Evaluation des Gesundheitszustandes. Diese wogen unmittelbar vor Beginn der experimentellen Phase einheitlich zwischen 300 und 420 g. Nach Beendigung des ersten operativen Eingriffs wurden die Versuchstiere für eine weitere Woche entsprechend der oberen Angaben gepflegt und versorgt. Während dieser postoperativen Einheilungsphase erfolgte zweimal täglich eine Visitierung der Ratten sowie Protokollierung des Wundheilungsverlaufs. Hierbei kam für die Evaluation des Tierwohls ein standardisiertes Protokoll zur Anwendung, welches u.a. die Identifikation von Anzeichen für Schmerzen eines Versuchstier gewährleistet und die analgetische Verabreichung von Buprenorphin (Temgesic®, Fa. Essex Pharma, München) zur Schmerztherapie vorsieht (Tab. 1).

Schmidt: FELASA-Zertifizierung 2014 (Az 211-2531.3-8.07)

Projekt-Nr.: Az 129/10
Schmidt/ Dr. Ritschl/ Dr. Dr. Mücke/ Prof. Wolff/ MKG

Postoperatives Protokoll

OP-Datum:

Gewicht: _____ Gruppe: _____

Markierung: _____ Tier-Nr.: _____

Angaben zur Analgesie:

Buprenorphin						
Tag	OP	1. post OP		2. post OP		3. post OP
Uhrzeit						

Zusätzliche Gabe Buprenorphin:

Begründung:	Schmerzen postoperativ				
Tag:					
Uhrzeit:					

Visite:

Datum:									
Uhrzeit:									
Untersucher:									
Mimik:									
Verhalten:									
Befund der Wunde:									
Hinterläufe: (Bewegung)									
Gewicht:									

Tab. 1: Protokoll zur postoperativen Überwachung der Versuchstiere.

2.2.2 Präoperative Vorbereitungen und Narkose

Zu Beginn der Versuchsdurchführung erfolgte die Narkoseeinleitung mithilfe des volatilen Anästhetikums Isofluran (Isoflo® 100 %, Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland), welches der Ratte in einer speziellen Ganzkörperkammer zur Inhalation verabreicht wurde. Im Anschluss wurde das Versuchstier gewogen und die Aufrechterhaltung der Anästhesie durch intraperitoneale Applikation einer

gewichtsadaptierten kombinierten Initialdosis aus Ketamin (Ursotamin® 100 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) und Xylazin (Rompun® 2 %, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) gesichert. Die Zusammensetzung der Initialdosis enthielt hierbei 1 ml Ketamin 10 %/kg Körpergewicht sowie 0,3 ml Xylazin 2 %/kg Körpergewicht und wurde mithilfe einer 1ml-Mischspritze injiziert (Ritschl et al., 2015). Die Rasur des linksseitigen zervikalen und abdominellen Fellareals mittels Einmalrasierer und Seife konnte erst nach maximaler Anflutung der Ketamin-Xylazin-Dosis und unter Gewährleistung einer adäquaten Narkosetiefe erfolgen. Um ein Auskühlen der anästhesierten Ratte während der Narkose zu vermeiden, wurde das Tier zur operativen Versuchsdurchführung mit einer Wärmematte in Rückenlage auf einem Korkbrett gelagert. Zur weiteren operativen Vorbereitung wurden die Rattenhinterläufe mit Gummizügen abduziert und fixiert und die Augen mit einer vor Austrocknung schützenden Dexpanthanol-Salbe bestrichen (Bepanthen®, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland). Während des gesamten operativen Verlaufs wurden Atmung und Puls durch Anbringung eines Pulsoxymeters überwacht. Als abschließende Vorbereitung erfolgte vor Versuchsbeginn die Anlage eines mikrovaskulären Venenverweilkatheters, um eine konstante Aufrechterhaltung der Narkose durch intermittierende Verabreichung des Anästhetikums zu ermöglichen (2.2.3.1).

2.2.3 Operative Eingriffe und Versuchsdurchführung

2.2.3.1 Anlage eines venösen Mikrokatheters und Narkose-Aufrechterhaltung

Die mikrochirurgische Anlage des venösen Verweilkatheters erfolgte in der vorliegenden Arbeit an der V. jugularis externa der Ratte. Hierzu wurde das zuvor rasierte Hautareal im linken Halsbereich auf einer Länge von ca. 2,5 cm in Verlaufsrichtung des Musculus sternocleidomastoideus von laterokranial (Angulus mandibulae) bis medio-kaudal (Articulatio sternoclavicularis) mit einem Skalpell inzidiert und die makroskopische Präparation subkutan in die Tiefe fortgesetzt. Um das Auffinden der Vena jugularis externa zu erleichtern, wurden zunächst die Muskelfaszie des M. sternocleidomastoideus und des M. sternohyoideus sowie der laterale Schilddrüsenanteil als Leitstrukturen identifiziert. Die weitere Präparation erfolgte anschließend unter mikroskopischer Vergrößerung des Sichtfeldes. Nach

Eröffnen der zervikalen Gefäßscheide folgte unter Schonung der benachbarten nervalen Strukturen die mikrochirurgische Darstellung der Vena jugularis externa samt abzweigender Venenäste. Im Anschluss wurde das perivaskuläre Anhangsgewebe zirkulär im Bereich der Katheterinsertionsstelle entfernt, um später eine komplikationsfreie und adäquate mikrovaskuläre Anastomosierung der Vene nach Entfernung des Verweilkatheters zu ermöglichen (Mikami et al., 2018).

Im weiteren Verlauf konnte vorübergehend die Durchblutung der Vene durch Applikation sowohl eines proximalen als auch distalen Gefäßclips unterbrochen und eine Fixierungsligatur mit Ethilon® 8-0 Nahtmaterial (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) vorgelegt werden. Die Venotomie zur Einbringung des Mikroverweilkatheters (Premicath®, Vygon GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland) erfolgte im distalen Anteil des freigelegten Gefäßabschnitts. Der Katheter wurde zunächst bis an den proximal anliegenden Gefäßclip in die Vene eingeführt und erst nach dessen Entfernung weiter bis zu einer definierten Markierung im Bereich des Katheterschlauchs vorgeschoben. Die zuvor um das Gefäß angelegte Fixierungsligatur diente abschließend zur Sicherung der Katheterlage (Ritschl et al., 2015). Während der weiteren Versuchsdurchführung wurde der Situs zum Schutz vor Austrocknung des Gewebes regelmäßig befeuchtet und mit einer sterilen Kompresse abgedeckt. Mithilfe dieses venösen Mikrokatheters gelangen intraoperativ die Aufrechterhaltung der Narkose und die Applikation des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes zur bilddiagnostischen Darstellung der Transplantatperfusion. Nach Beendigung der operativen Prozeduren wurde der Verweilkatheter aus dem Gefäß retrograd entfernt und die Vene mittels Ethilon® 10-0 monofilem Faden (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) in Einzelknopfnahntechnik anastomosiert. Der weitere Wundverschluss im Bereich der zervikalen Hautinzision wird unter 2.2.3.5 ausführlich beschrieben (siehe Abb. 15). Insgesamt erfolgte die Anlage des Katheters auf oben beschriebene Art und Weise dreimal pro Versuchstier: Initial zur Fortführung der Narkose und Hebung des epigastrischen Lappens, weiterhin nach Ablauf des venösen Stauungsintervalls zur Evaluation der Auswirkungen auf das Transplantatgewebe sowie zuletzt im Rahmen des finalen operativen Eingriffs zur Reevaluation der Transplantatperfusion und -vitalität.

2.2.3.2 Hebung des epigastrischen Lappens und Darstellung der epigastrischen Gefäße

Das schrittweise Vorgehen bei der Hebung des epigastrischen Lappens der Ratte sowie die Darstellung der versorgenden Transplantatgefäße wurden 1967 von Strauch und Murray beschrieben und diente als Vorlage für den operativen Eingriff (Strauch et Murray, 1967; Strauch et Yu, 2006). Zu Beginn wurden mit einem wasserfesten Marker und einer quadratischen, 4 cm x 4 cm messenden Schablone die Außengrenzen des Transplantats auf dem Abdomen der Ratte angezeichnet, um eine Standardisierung der Lappenausdehnung zu ermöglichen. Die achsengerechte Positionierung der Schablone erfolgte hierbei so, dass der mediale Rand die Mittellinie des Abdomens ca. 5 – 10 mm überschritt und der kaudale Rand im Bereich der Leistenregion zu liegen kam. Die Haut wurde zunächst entlang der basalen Lappenbegrenzung mit einem 15er Skalpell mit bauchiger Klinge inzidiert und anschließend das femorale Gefäß-Nervenbündel, bestehend aus A. und V. femoralis sowie N. femoralis, aufgesucht. Unter mikroskopischer Vergrößerung erfolgte anschließend die Darstellung der A. und V. femoralis bis hin zum lateral gelegenen Truncus epigastricus, aus dem nach kranial die A. und V. epigastrica superficialis abzweigen und mit bogenförmigem Verlauf zum epigastrischen Lappen ziehen (Petry et Wortham, 1984; Fichter, 2015). Zusätzlich wurden die epigastrischen Gefäße auf einer kurzen Strecke nahe des Truncus epigastricus vorsichtig separiert und von ihrem perivaskulären Anhangsgewebe mikrochirurgisch befreit, um die spätere Durchführung der intraoperativen Perfusionsmessungen sowie Applikation des Gefäßclips zur venösen Okklusion zu ermöglichen. Anschließend konnte der epigastrische Lappen entlang der zuvor erfolgten Randmarkierung umschnitten und das Hautareal samt subkutanem Anhangsgewebe schonend mobilisiert werden. Hierbei erfolgte die Ligatur sämtlicher aus dem Transplantatlager einsprossender Perforatoren, deren elektrothermische Koagulation durch Einsatz einer bipolaren Mikropinzette und anschließende Durchtrennung mittels Mikroschere. Abschließend wurde der epigastrische Lappen zur Überprüfung der erfolgreichen Hebung vollständig nach kaudal verlagert und noch einmal sichergestellt, dass das Transplantat ausschließlich über den epigastrischen Gefäßstiel noch mit dem Gefäßsystem der Ratte verbunden ist (Abb. 11).

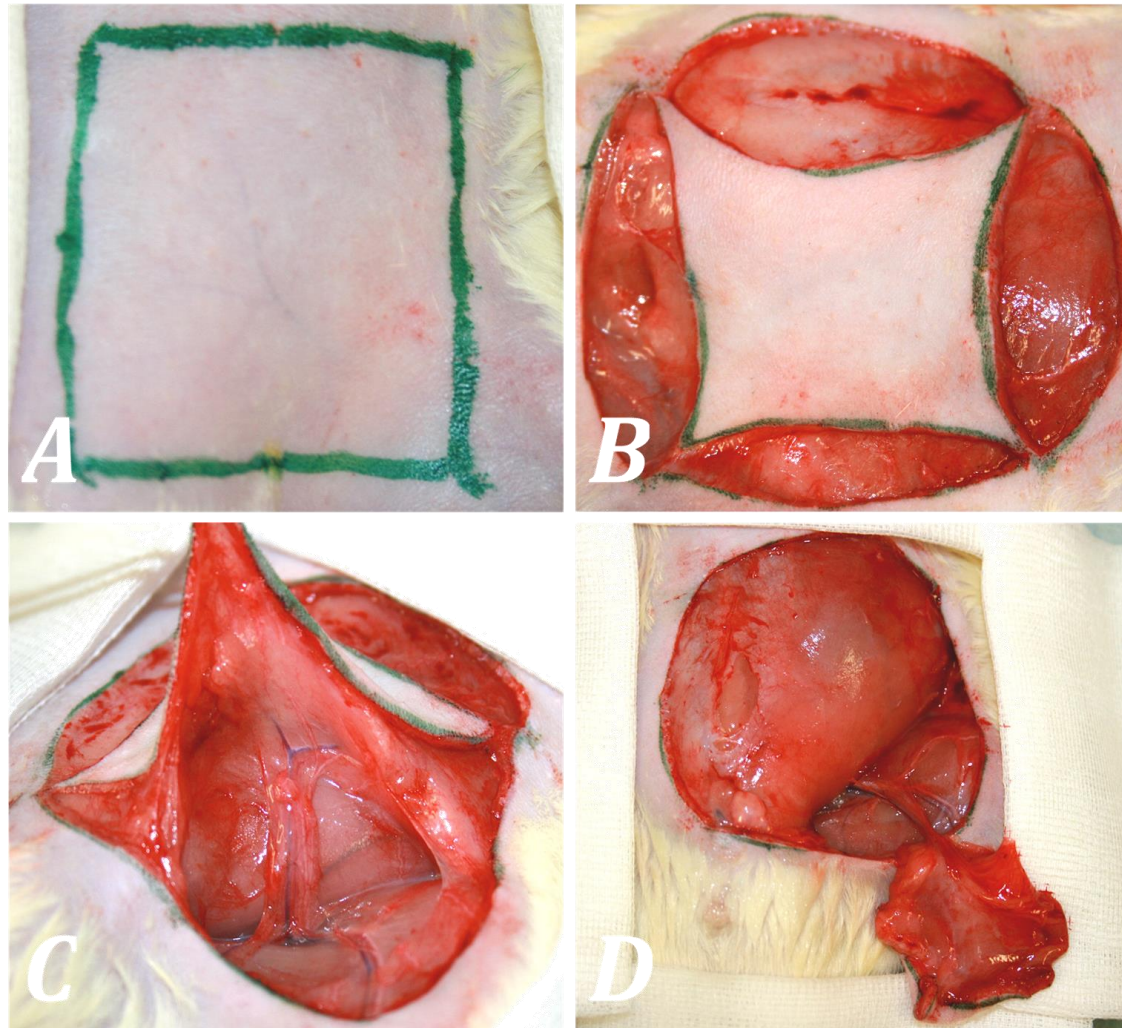


Abb. 11: Schrittweises Vorgehen bei der operativen Hebung des epigastrischen Lappens der Ratte. (A) Zunächst erfolgt mittels einer 4 x 4 cm messenden Schablone die Markierung der Lappengrenzen im Bereich des rasierten Abdomens der Ratte. (B) Beginnend im kaudalen Randbereich des epigastrischen Lappens erfolgt die Umschneidung der Hautinsel mittels Skalpell entlang der Markierung. (C) Nach Auffinden der superfiiziellen epigastrischen Gefäße werden diese bis zum femoralen Gefäß-Nervenbündel verfolgt und im Bereich des Truncus epigastricus mikrochirurgisch dargestellt sowie für die spätere Durchführung der Flussmessung vorsichtig voneinander separiert. (D) Es folgt die vollständige Hebung des epigastrischen Lappens aus seinem Wundbett unter Durchtrennung aller Perforatoren. Das Transplantat ist hiernach ausschließlich über den epigastrischen Gefäßstiel noch mit dem Gefäßsystem der Ratte verbunden. Modifiziert nach Mücke et al. (Mücke et al., 2017).

2.2.3.3 Venöse Stauung und Gruppeneinteilung

Das in der vorliegenden Arbeit angewandte Konzept der venösen Transplantatstauung basiert auf der Annahme, dass eine signifikante Gefäßstenose

im Bereich der V. epigastrica sup. nach und nach, im Sinne eines progredienten Geschehens, zu einem vollständigen Verschluss des venösen Transplantatschenkels führt und folglich ein venöser Rückstau mit konsekutiver Kompromittierung der Gewebepfusion entsteht (Gimbel et al., 2009; Liu et al., 2012; Bergkvist et al., 2017; Berlim et al., 2018; Ritschl et al., 2018b). Experimentell wurde dies am Beispiel des epigastrischen Lappens durch ein Abklippen der V. epigastrica sup. mithilfe eines von Prof. R. Acland entwickelten Acland®-Gefäßclips (Acland® microvascular clamp B1V, S&T AG, Neuhausen, Schweiz) realisiert. Der epigastrische Lappen wurde, nach erfolgter Hebung und initial durchgeführter Flussmessung an der Vene, zunächst wieder im Bereich des Transplantatbettes mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) in fortlaufender Nahttechnik fixiert. Der latero-kaudale Transplantatrand oberhalb der Leistenregion wurde hierbei noch nicht eingenäht, um die Einbringung des Acland®-Gefäßclips zu ermöglichen. Dieser wurde anschließend mit einer speziellen Gefäßclip-Applikationsspinzette am zuvor von der A. epigastrica sup. separierten venösen Gefäßabschnitt positioniert und der verbleibende, darüber liegende Wundspalt wie oben beschrieben verschlossen (Abb. 12). Unter Einhaltung eines randomisierten Protokolls verblieb der venöse Gefäßclip entsprechend des jeweiligen Stauungsintervalls 4, 5, 6 oder 7 Stunden in der Ratte und wurde im Rahmen eines zweiten operativen Eingriffs in Kurznarkose wieder entfernt. Die venöse Stauung war somit beendet und der Transplantatabfluss konnte regelrecht über die V. epigastrica sup. erfolgen. Diese Situation entsprach somit einer technisch erfolgreichen "salvage operation". In der Kontrollgruppe wurde der epigastrische Lappen nach der unter 2.2.3.2 beschriebenen Vorgehensweise gehoben und die Transplantatgefäße vorsichtig dargestellt. Jedoch erfolgte kein Verschluss der Vene durch Applikation eines Gefäßclips, sondern der Lappen wurde unmittelbar nach erfolgter Flussmessung wieder im Bereich des Wundbettes eingenäht und der operative Eingriff beendet. Aus der dargestellten Versuchsanordnung ergaben sich fünf Gruppen mit jeweils unterschiedlichem venösen Stauungsintervall (0, 4, 5, 6 oder 7 Stunden).

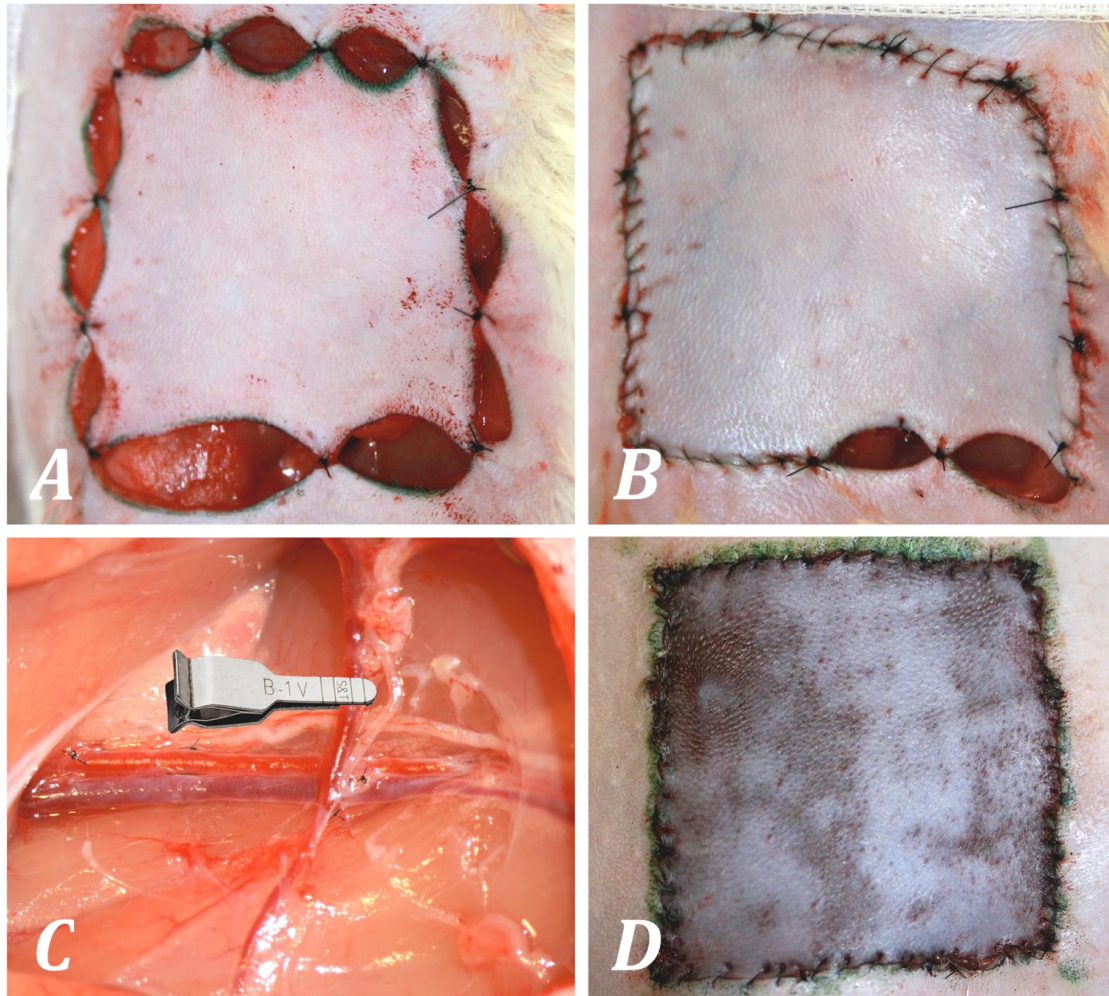


Abb. 12: Simulation einer venösen Abflussstörung des Transplantats durch vollständigen Verschluss der V. epigastrica superficialis. (A) Nach erfolgter Hebung des epigastrischen Lappens und Durchführung aller Referenzmessungen erfolgt die gleichmäßige Repositionierung des Lappens im Wundbett durch Einzelknopfnähte mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial. (B) Anschließend wird der Lappen bis auf den kaudalen Randbereich in fortlaufender Nahttechnik eingenäht. (C) Durch die kaudal verbliebene Lücke kann der Gefäßclip an der Vena epigastrica sup. appliziert und konsekutiv durch den Verschluss der Vene das Stauungsintervall eingeleitet werden. (D) Abschließend erfolgt der vollständige Wundverschluss. Acland®-Gefäßclip modifiziert nach www.microsurgery.ch.

2.2.3.4 Experimentelles Protokoll und Evaluation der Perfusion

Die Evaluation der Perfusion mithilfe dreier unterschiedlicher Monitoringmodalitäten erfolgte in allen fünf Gruppen standardisiert auf identische Art und Weise und stets in gleicher chronologischer Reihenfolge. Hierbei kamen zur Blutflussanalyse das Verfahren der Ultraschall-Durchflussmessung (Transit

Flowmeter), der Gewebe-Photospektrometrie (O2C® = “oxygen to see“) sowie der Indocyaningrün-Videoangiographie (ICG-VA) in Kombination mit der FLOW® 800-Analysesoftware zum Einsatz. Mit Ausnahme der Kontrollgruppe fanden an jedem Versuchstier Messungen zu fünf unterschiedlichen aufeinander folgenden Zeitpunkten statt:

1. Vor der Lappenhebung (*Referenzmessungen*)
2. Nach Hebung und Repositionierung des Lappens im Wundbett
3. Nach Verschluss der Vene (*Kontrollgruppe ausgenommen*)
4. Nach zeitlichem Ablauf des venösen Stauungsintervalls von 4, 5, 6 oder 7 Stunden (*Kontrollgruppe ausgenommen*)
5. Final nach einwöchiger Einheilungsphase

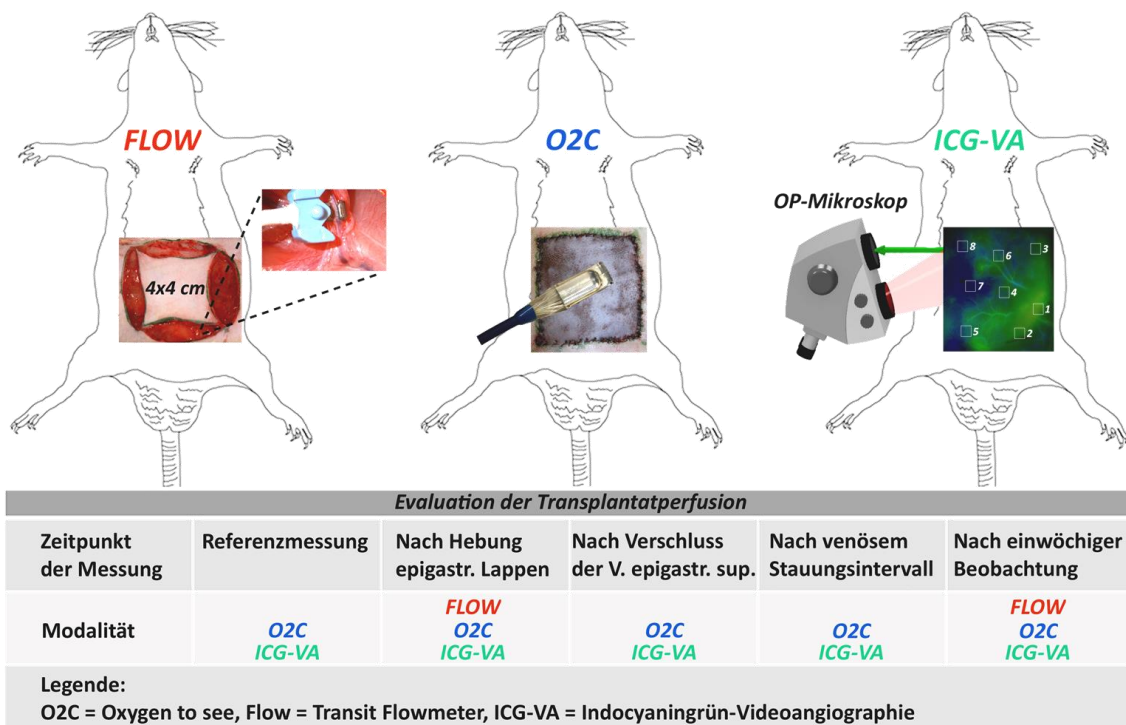


Abb. 13: Versuchsablauf zur Evaluation der Transplantatperfusion bei venöser Stauung.

Für die im Verlauf geplante Analyse der Auswirkungen einer venösen Stauung auf die erhobenen Perfusionsparameter, mussten zunächst im Rahmen von Referenzmessungen, und unter Gewährleistung stabiler Kreislaufbedingungen, normophysiologische Bezugswerte für jede der Untersuchungsmethoden ermittelt


werden (Abb. 13). Die Durchführung der Flow-Referenzmessung erfolgte hierbei erst gemeinsam mit der zweiten ICG-VA- und O2C-Messung nach Hebung und Repositionierung des epigastrischen Lappens, da dieser zuvor noch durch mehrere zusätzliche Perforatoren sowie seitlich einsprossende Mikrogefäße und nicht ausschließlich durch das epigastrische Gefäßbündel versorgt wurde (Fichter et al., 2014). Eine Erhebung des Blutflusses vor der Transplantathebung wäre hinsichtlich der Auswirkung auf die Gewebepfusion somit nur von geringer Aussagekraft und ließe im weiteren Verlauf keinen Vergleich mit den final erhobenen Flusswerten zu. Nach Repositionierung und Einnähen des epigastrischen Lappens erfolgte der Verschluss der V. epigastrica sup. auf oben beschriebene Art und Weise (siehe 2.2.3.3) und die Messung der Lappenperfusion mittels Gewebe-Photospektrometrie und ICG-VA. Diese beiden Untersuchungsmodalitäten kamen wiederholt nach zeitlichem Ablauf des Stauungsintervalls und vor Entfernung des Gefäßclips von der Vene zum Einsatz. Die finale Evaluation der Auswirkungen einer venösen Transplantatstauung auf die Gewebepfusion fand nach einwöchigem Beobachtungszeitraum unter Anwendung aller drei Monitoringmethoden (FLOW, O2C und ICG-VA) statt. Während der Versuchsdurchführung wurden sämtliche erhobenen Messwerte mit Zeitpunkt der Durchführung der jeweiligen Untersuchungsmethode in einem eigens hierfür erstellten Versuchsprotokoll dokumentiert.

Gruppe:

Ratte:

OP-Datum:

Einfluss der venösen Stauung auf den epigastrischen Lappen im Rattenmodell

Zeitpunkt		ICG (2 Minuten)	O2C (alle 20 Minuten à 45 sec.)	Flow-Meter (5 Werte)	
				A. epigastrica	V. epigastrica
1. Eingriff	1. Prä Hebung			-	-
	2. Post Hebung vor "Clipping"				
	3. Post Hebung, nach "Clipping"			-	-
2. Eingriff	4. Post Ischämiezeit (vor Entfernung Clip) • Ischämiezeit (in h): 			-	-
	Prä-Final (Datum:)				
3. Eingriff (n. 1 Woche)	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-
	-	-	-	-	-

		O2C				
		1. Messung (Prä.-Hebung = Referenzmess.)	2. Messung (Post.-Hebung)	3. Messung (Post-Hebung + Clip)	4. Messung (Post-Ischämie)	5. Messung (Prä-Final)
SO₂	S					
	D					
Hb	S					
	D					
Velo	S					
	D					
Fow	S					
	D					

Tab. 2: Versuchsprotokoll für die Dokumentation der erhobenen Messwerte.

In Analogie zur klinischen Anwendung erfolgte die quantitative Blutflussmessung mithilfe des Transit Flowmeters (Transit Time Perivascular Flowmeter TS420, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) ausschließlich intraoperativ (nach Lappenhebung und einwöchiger Einheilung), da die invasive Applikation der

zugehörigen "V"-Flusssonde (Flow Probe 1,5 mm, Katalognummer MA1PRB, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) erst nach operativer Darstellung der Gefäße ermöglicht wurde. Hierbei kam der venöse Gefäßabschnitt im Bereich des metallenen Auslegers der Messsonde zu liegen, welcher als Reflektor für das emittierte Ultraschallsignal fungiert. Um eine adäquate Erhebung der Strömungsgeschwindigkeit und folglich des Flussvolumens [ml/s] zu gewährleisten, erfolgte die Anwendung des Transit Flowmeters stets für 30 Sekunden in einem feuchten Milieu und unter Ausschluss einer druckbedingten Kompression des Gefäßlumens. Im Bereich der Hautinsel des epigastrischen Lappens wurden die Auswirkungen der venösen Stauung auf die Gewebepfusion mithilfe des O2C®-Geräts (LEA Medizintechnik GmbH, Giessen) non-invasiv erfasst, indem die Messsonde drucklos im Zentrum des Hautareals positioniert und dort für 45 Sekunden belassen wurde (Abb. 13). Die Erhebung der Perfusionsparameter war aufgrund einer limitierten Gewebepdringtiefe des zugrundeliegenden optischen Messverfahrens ausschließlich in den oberflächlichen Hautschichten (S = engl. surface) und in bis zu 8 mm Tiefe (D = engl. depth) möglich.

Die Perfusionsanalysen im Rahmen der ICG-VA erfolgten mithilfe der im OP-Mikroskop integrierten Infrarotkamera (OPMI® Pentero® mit INFRARED® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) nach vorheriger intravenöser Applikation des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes über den Mikroverweilkatheter im Bereich der V. jugularis externa. Die Herstellung des injizierbaren ICG-Kontrastmittels geschah durch Lösen eines speziell für die ICG-Fluoreszenzangiographie hergestellten Farbstoffpulvers (ICG-Pulsion®, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland) in 5 ml destilliertem Wasser (Aqua ad iniectabilia®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland). Anschließend konnte die ICG-Lösung der Ratte mithilfe einer 1 ml-Mischspritze über den Katheter gewichtsadaptiert verabreicht werden. Aufgrund der Substanzeigenschaften von ICG und einer damit verbundenen relativ schnellen hepatischen Elimination war es möglich, diesen Vorgang im Rahmen der aufeinander folgenden ICG-VA-Messungen in geringen Zeitabständen zu wiederholen, ohne eine ICG-Überdosierung hervorzurufen. Die maximale Dosis für die ICG-Applikation betrug hierbei 0,3 mg/kg Körpergewicht. Um die Durchgängigkeit des venösen Verweilkatheters aufrecht zu erhalten und

ein Verblocken durch kristallines Ausfällen des Farbstoffes zu vermeiden, musste der Mikrokatheter nach jeder Fluoreszenzmittelverabreichung mit 0,2 ml NaCl nachgespült werden. Vor der Durchführung jeglicher ICG-VA-Flussanalysen erfolgte noch einmal eine Überprüfung des Kamerafokus und die Abdunkelung des Raumlichts. Im Anschluss wurden der Ratte 0,3 ml des ICG-Kontrastmittels injiziert und die Evaluation der Gewebepfusion im Bereich des epigastrischen Lappens standardisiert über eine Dauer von zwei Minuten mit 25 Bildern/Sekunde unter fünffacher Vergrößerung vorgenommen. Der Abstand zwischen Operationsfeld und Mikroskop betrug während der Flussanalyse stets 30 cm. Mit der integrierten FLOW® 800-Analysesoftware (FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) konnten nach erfolgter ICG-VA über den Touchscreen des OP-Mikroskops manuell sog. ROIs ("Regions of Interest") im Bereich des epigastrischen Lappens gesetzt werden, auf Grundlage derer eine graphische und farbcodierte visuelle Aufbereitung der (in diesen Regionen erhobenen) Messwerte sowie ein Vergleich mit der Referenzmessung hinsichtlich maximaler ICG-Intensität und -Anflutungszeit ermöglicht wurden. Die systematische Verteilung von 8 ROIs innerhalb der 4 x 4 cm messenden Transplantatoberfläche erfolgte hierbei nach jeder ICG-VA standardisiert von laterokaudal links entlang des epigastrischen Gefäßverlaufs nach laterokraniel rechts (siehe Abb. 14). Im Rahmen der letzten ICG-VA nach einwöchiger Beobachtungszeit wurden die ROIs nur im vitalen Bereich der Hautinsel gesetzt und das Anordnungsmuster unter Aussparung der nekrotischen Areale angepasst.

Nach jeder ICG-VA folgte stets ein zehnminütiges Intervall zur Kreislaufstabilisierung und Abflutung des ICG-Fluoreszenzsignals, um eine Akkumulation des Farbstoffes im vaskulären System der Ratte und dadurch bedingte Verfälschung der darauffolgenden Flussanalyse zu vermeiden (Mücke, 2012).

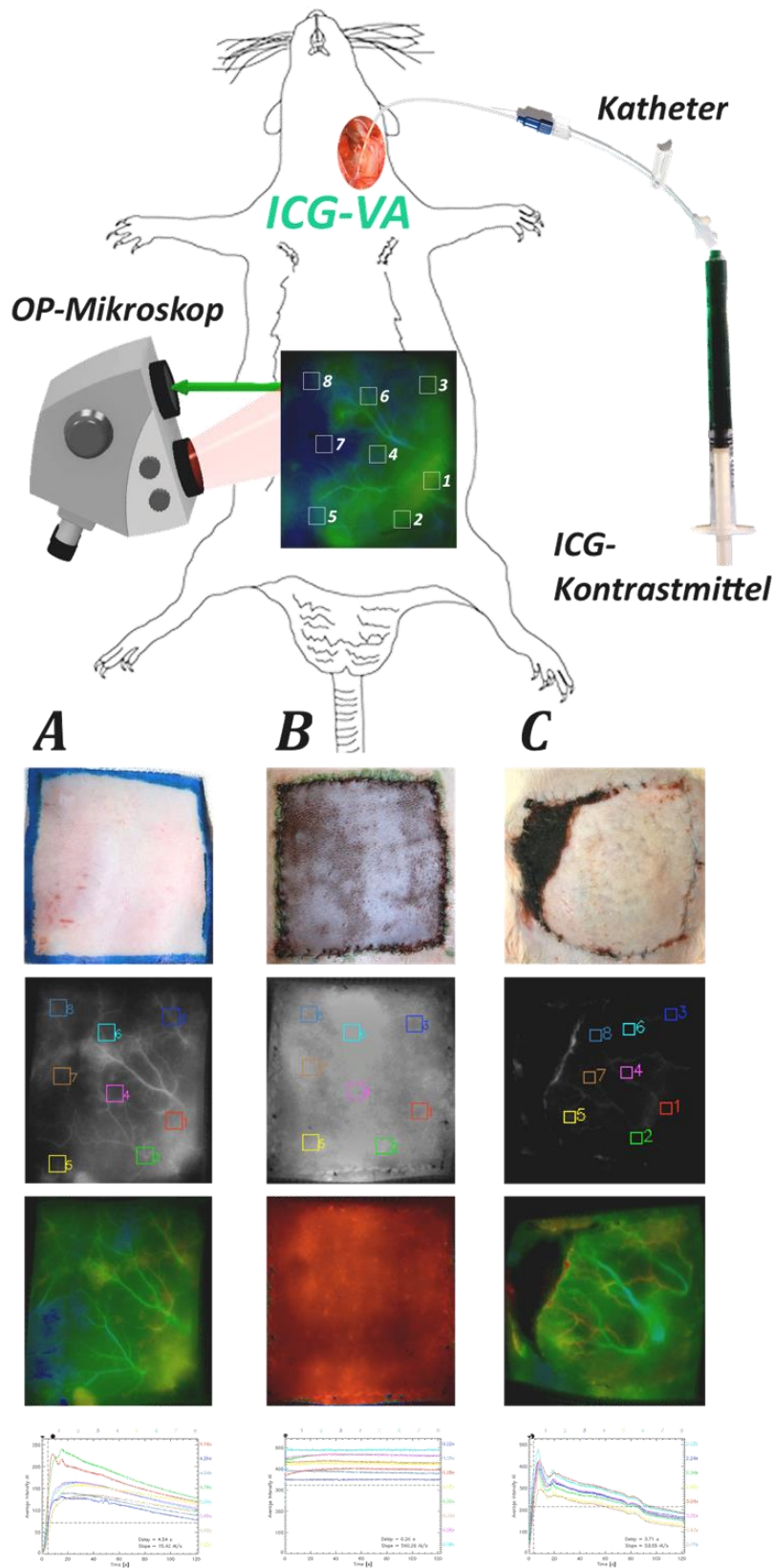


Abb. 14: Perfusionsanalyse des epigastrischen Lappens mittels ICG-VA. (v.l.n.r.) (A) Referenzmessung unter fünffacher Vergrößerung vor Lappenhebung zur Erfassung der ICG-Basiswerte. **(B)** Der epigastrische Lappen nach vier Stunden venöser Stauung. **(C)** Finale

Reevaluation der Transplantatperfusion nach einwöchigem Beobachtungsintervall. (*v.o.n.u.*) Die Bilderreihe zeigt die klinische Situation des epigastrischen Lappens, die ICG-VA mit systematischer Verteilung der ROIs im Infrarotkamerabild, die farbcodierte Darstellung der Transplantatperfusion in Abhängigkeit der Anflutungszeit des ICG-Signals und die graphische Darstellung nach Anwendung der FLOW® 800-Visualisierungssoftware.

2.2.3.5 Wundverschluss

Nach abgeschlossener Evaluation der Gewebepерfusion mittels Ultraschall-Durchflussmessung, Gewebe-Photospektrometrie und ICG-Fluoreszenzangiographie erfolgte der Wundverschluss im Bereich des Halses und Abdomens der Ratte. Hierzu wurde zunächst, wie unter 2.2.3.1 dargestellt, der Mikroverweilkatheter entfernt und die Vene mithilfe eines Ethilon® 10-0 monofilen Fadens (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) in Einzelknopfnahntechnik mikrochirurgisch anastomosiert. Anschließend erfolgte zervikal der einschichtige kutane Wundverschluss mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) in fortlaufender Nahttechnik. In analoger Vorgehensweise wurde die Wunde im Bereich des Abdomens entlang der Schnittinzision verschlossen und der epigastrische Lappen somit wieder in seiner ursprünglichen Position eingenäht (Abb. 12). Zusätzlich wurde die fortlaufende Naht an den Transplantaträndern in regelmäßigen Abständen von ca. 1,5 cm durch Sicherheitsnähte verstärkt, um eine sichere Wundheilung des Transplantats zu gewährleisten. Bevor die Narkose abgeklungen war, wurde das Versuchstier in den Käfig umgelagert und konnte dort möglichst stressfrei erwachen. Während der jeweils einwöchigen Versuchsdauer erfolgte der Wundverschluss, sowohl zervikal als auch abdominell, insgesamt zweimal pro Tier: Zuerst nach initialer Transplantathebung, Applikation des Gefäßclips im Bereich der V. epigastrica sup. und Durchführung der ersten Flussanalysen am epigastrischen Lappen. Ein zweites Mal nach zuvor erfolgter venöser Stauung, Entfernung des eingebrachten Clips und abgeschlossener Evaluation der Transplantatperfusion (Abb. 15). Im Anschluss an die finale Reevaluation am siebten postoperativen Tag erfolgte kein Wundverschluss und die Tiere wurden im Rahmen des Endversuchs, wie unter 2.2.3.8 erläutert, euthanasiert.

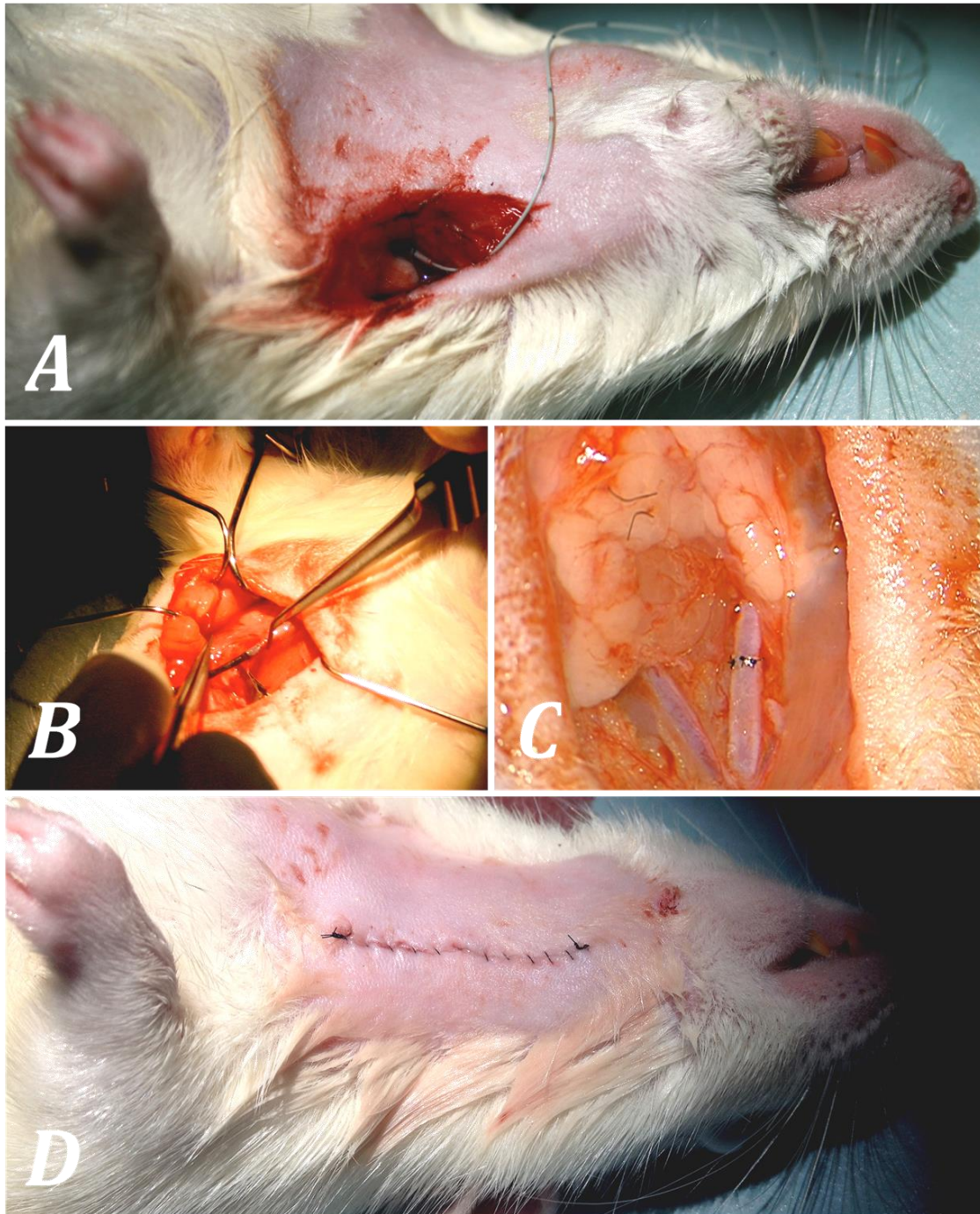


Abb. 15: Entfernung des Mikroverweilkatheters, Anastomose der V. jugularis und Wundverschluss. (A) Katheter in situ. (B) Retrograde Entfernung des Katheters mittels mikrochirurgischer Instrumente im Bereich der linken medio-lateralen Halsregion. (C) Mikrovaskuläre Anastomose der V. jugularis unter sechzehnfacher mikroskopischer Vergrößerung. (D) Einschichtiger Wundverschluss des zervikalen Zugangs mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial in fortlaufender Nahttechnik.

2.2.3.6 Postoperative Versorgung der Versuchstiere

Nach Durchführung des zweiten Wundverschlusses und Wiedereinsetzen des Schluckreflexes erhielten die Ratten zur Abdeckung der postoperativen Schmerzen jeweils drei Tropfen einer Metamizol-Lösung (Novaminsulfon-ratiopharm 1®, Fa. ratiopharm, Ulm). Um ein Auskühlen der narkotisierten Versuchstiere zu vermeiden, erfolgte im Käfig für zwei bis drei Stunden die Applikation einer Rotlicht-Wärmelampe. Während der ersten zwei postoperativen Tage wurde den Tieren zudem zweimal täglich subkutan 0,015 mg Buprenorphin (Temgesic®, Fa. Essex Pharma, München) verabreicht, um einen möglichst schmerzfreien Wundheilungsprozess zu gewährleisten. In der insgesamt einwöchigen Einheilungsphase erfolgte, wie unter 2.2.1 beschrieben, zweimal täglich eine Visitation der Ratten zur Evaluation des Tierwohls und Dokumentation des Wundheilungsverlaufs entsprechend eines standardisierten Protokolls (Fichter, 2015) (Tab. 1).

2.2.3.7 Planimetrische Vermessung der Nekrosezonen

Zur Untersuchung der Nekroseentstehung in venös gestauten Transplantaten erfolgte nach einer Woche die planimetrische Vermessung der Transplantatoberfläche hinsichtlich vitaler und nekrotischer Gewebeareale (Giunta et al., 2005). Die Oberflächenkonfiguration wurde hierzu mit einer im rechten Winkel zum Transplantat ausgerichteten digitalen Spiegelreflexkamera (Typ Canon 500D, Tokyo, Japan) dokumentiert und die nekrotischen Flächen anschließend mithilfe einer frei verfügbaren Bildverarbeitungssoftware (ImageJ 1.41o, National Institutes of Health, USA) metrisch erfasst (Mücke et al., 2011; Fichter et al., 2014; Fichter, 2015). Dabei wurde zunächst auf dem Photo der Umriss des gesamten epigastrischen Lappens markiert und anschließend die klinisch nekrotische Zone umfahren. Die genaue Ausdehnung der Nekroseareale wurde durch die im Rahmen der ICG-VA generierten farbcodierten Perfusionsanalysen überprüft, um eine exakte Vermessung zu gewährleisten (Abb. 16). Anschließend ermöglichte die ImageJ-Software auf Grundlage der absoluten Flächenwerte (in mm²) eine Berechnung der prozentualen Nekroserate mithilfe folgender mathematischer Formeln:

$$\frac{\text{Pixelanzahl Nekrosezone [ppi]}}{\text{Pixelanzahl Gesamtfläche Tx [ppi]}} * 400 \text{ [mm]}$$

$$\frac{\text{Fläche Nekrosezone [mm]}}{\text{Gesamtfläche Transplantat [mm]}} * 100 \text{ [%]}$$

Für die spätere statistische Auswertung wurden die im Rahmen der Ultraschall-Durchflussmessung, der Gewebe-Photospektrometrie und der ICG-VA-Perfusionsanalyse erhobenen Daten mit den ermittelten Flächenwerten korreliert und hinsichtlich ihrer prädiktiven Aussagekraft verglichen. Die planimetrische Vermessung der photographisch dokumentierten Transplantatoberflächen erfolgte verblindet durch zwei unabhängige Untersucher, um das Risiko eines systematischen Fehlers zu vermeiden.

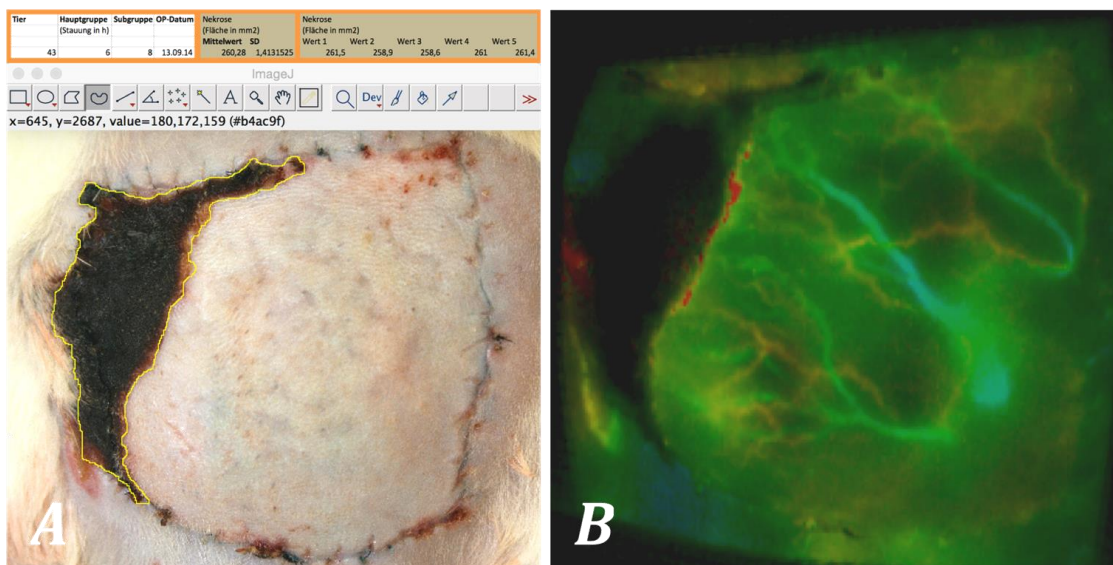


Abb. 16: Planimetrische Vermessung der Nekrosezone nach fünf Stunden venöser Stauung und einwöchigem Beobachtungsintervall. (A) Die Vermessung der Nekrosezone mithilfe der ImageJ-Software erfolgte durch wiederholtes manuelles Umfahren des nekrotischen Areals und anschließende Berechnung des Mittelwerts samt Standardabweichung. (B) Die im Rahmen der ICG-VA generierte farbcodierte Darstellung der Lappenperfusion wurde zur exakten Vermessung mit dem klinischen Bild korreliert.

2.2.3.8 Euthanasie der Tiere

Nach Abschluss der finalen Reevaluation der Transplantatperfusion und planimetrischer Vermessung etwaig entstandener Nekrosezonen im Bereich des epigastrischen Lappens wurden die Versuchstiere am siebten postoperativen Tag durch intrakardiale Injektion von Pentobarbital 60 mg/kg Körpergewicht (Narcoren®, Fa. Rhone, Merieux GmbH, Laupheim) und anschließendes Entbluten entsprechend eines standardisierten Protokolls euthanasiert (Close et al., 1996, 1997; Mücke et al., 2017).

2.2.3.9 Aufbereitung der Daten

Nach Beendigung der Versuchsdurchführung wurden alle Messdaten auf einem externen Speichermedium archiviert und gesichert. Die weitere Aufbereitung und Auswertung der im Rahmen der ICG-Flussanalysen generierten Daten erfolgte gemäß eines eigens erstellten Protokolls, welches bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben wurde. Die mithilfe von Ultraschall-Durchflussmessung (Transit Flowmeter) und Gewebe-Photospektrometrie (O2C) ermittelten Daten fanden ohne weitere Aufbereitung Eingang in die statistische Analyse.

2.3 Instrumente und technische Apparaturen

Für die tierexperimentelle Versuchsdurchführung wurden die Ratten im mikrochirurgischen Labor der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München anästhesiert und unter Einhaltung steriler Bedingungen sowie Verwendung der nachfolgend dargestellten Geräte operiert. Die Instrumente und Apparaturen, welche in der vorliegenden Arbeit Anwendung fanden, wurden bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben (Bonde et al., 2006; Hölzle et al., 2006; Mücke, 2012). Daher folgt in diesem Kapitel nur eine ergänzende Darstellung mit einigen technischen Erläuterungen.

2.3.1 Mikrochirurgisches Instrumentarium

Die zu Beginn erfolgte Anlage eines Mikroverweilkatheters im Bereich des linken zervikalen Venenplexus und die Hebung des epigastrischen Lappens erfolgten unter Verwendung unterschiedlicher makro- und mikrochirurgischer Instrumente. Hierbei kam für die makroskopische Darstellung der zervikalen Leitmuskeln (zum

Auffinden der V. jugularis) sowie die Umschneidung der Hautinsel und Hebung des epigastrischen Lappens eine chirurgische Pinzette, eine Schere und ein 15er Einmal-Skalpell mit bauchiger Klinge zum Einsatz. Die vorsichtige und technisch anspruchsvolle Präparation sämtlicher Gefäße erfolgte unter mikroskopischer Vergrößerung und Verwendung eines mikrochirurgischen Instrumentariums der Firma S&T (Spingler & Tritt, Neuhausen, Schweiz). Eine Darstellung der einzelnen Komponenten ist der unteren Abbildung zu entnehmen (Abb. 17). Während des operativen Eingriffs wurden zur Blutstillung und Anfeuchtung des OP-Gebiets Tupfer und Kompressen eingesetzt. Im Rahmen des Wundverschlusses erfolgte die mikrovaskuläre Anastomosierung der V. jugularis nach Entfernung des Katheters mithilfe eines Ethilon® 10-0 monofilen Fadens (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) in Einzelknopfnahntechnik und die kutane Hautnaht im Bereich des Halses und des Abdomens der Ratte mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) in fortlaufender Nahttechnik. Für die Etablierung der venösen Okklusion wurde ein Acland®-Gefäßclip des Typs B-1V (Acland® microvascular clamp B1V, S&T AG, Neuhausen, Schweiz) an der V. epigastrica sup. positioniert.



Abb. 17: Mikrochirurgische Instrumente und Zubehör. In der oberen Bildhälfte aufgereiht: Premicath®-Mikroverweilkatheter und Dreiwegehahn, Mischspritze für die i.v. Applikation von Anästhetikum und ICG-Fluoreszenzfarbstoff, mikrochir. Acland®-Gefäßclips untersch. Größe und Ausführung, Bepanthen®-Salbe zur ophthalmologischen Anwendung am Versuchstier, Rasierer

(v.l.n.r.). In der unteren Bildhälfte aufgereiht: versch. makrochir. Pinzetten, Präparierschere, 11er-Skalpell mit bauchiger Klinge, Approximatorpinzette für Acland®-Gefäßclips, mikrochir. Nadelhalter, gerade u. gebogene mikrochir. Schere, gerade u. abgewinkelte mikrochir. Pinzette, Gefäßdilator, kleine mikrochir. Pinzette, kleine mikrochir. Schere, Mikro-Bipolar-Pinzette zur Elektrokoagulation (v.l.n.r.). Am rechten Bildrand: mikrochir. Nahtmaterial der Firma Ethilon® in untersch. Fadenstärken.

2.3.2 Technische Apparaturen

Aus einer Vielzahl an zur Verfügung stehenden Monitoringmodalitäten wurden für die Evaluation der Transplantatperfusion unter venöser Stauung in der vorliegenden Versuchsdurchführung drei technische Verfahren ausgewählt, welche auch im klinischen Alltag Anwendung finden und in zahlreichen mikrovaskulären Studien mit anderer Fragestellung bereits ausreichend hinsichtlich ihrer Sicherheit sowie Validität überprüft wurden (Abdel-Galil et Mitchell, 2009a, 2009b; Ritschl et al., 2018b). Wie unter 2.3 angemerkt, erfolgte eine ausführliche Darstellung dieser drei unterschiedlichen Monitoringmethoden bereits an anderer Stelle und soll hier nur der Vollständigkeit halber noch einmal Erwähnung finden.

2.3.2.1 Ultraschall-Durchflussmessung mit Transit Flowmeter

Stellvertretend für das technische Verfahren der Ultraschall-Durchflussmessung kam zur Erhebung des Blutflusses an den epigastrischen Mikrogefäßen das clamp-on Transit Time Flowmeter® der Firma Transonic Systems Inc. (Transit Time Perivascular Flowmeter TS420, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) zum Einsatz. Die präzisen rheologischen Messungen gelangen hierbei mithilfe einer sog. "V"-Sonde (Flow Probe 1,5mm, Katalognummer MA1PRB, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA), welche unter Berücksichtigung des Kalibers der epigastrischen Gefäße in einer entsprechend adäquaten Größe ausgewählt und über ein Kabel an der Messstation konnektiert wurde. Vor Versuchsbeginn wurden die Einstellungen für die Blutflussmessung an der Messeinheit entsprechend konfiguriert und der "Measure-Mode" (MEA) mit einem Filter-Setting von 0,1 ml/min ausgewählt (Abb. 18).

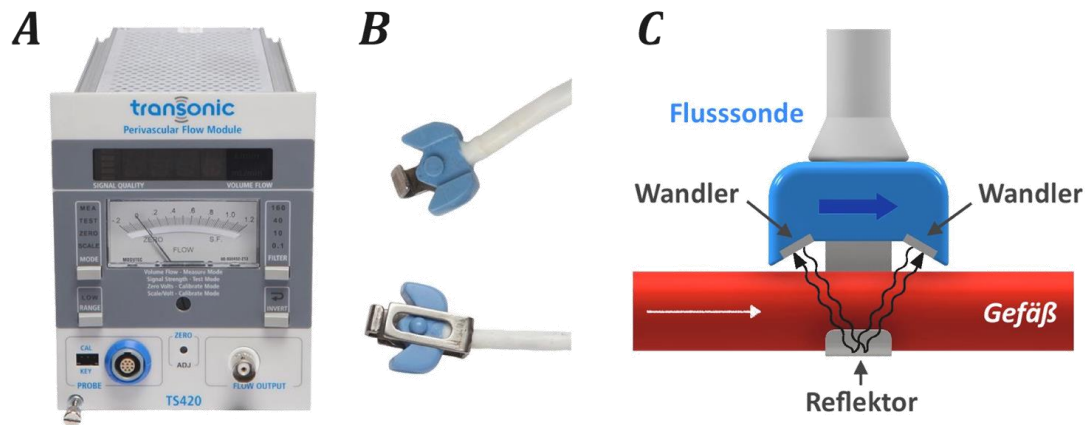


Abb. 18: Messeinheit des Transit Time Perivascular Flowmeter TS420 mit zugehöriger Flusssonde. (A) Messstation TS420 mit analogem und digitalem Anzeigefeld zur Wiedergabe der Flusswerte. (B) Clamp-on “V“-Sonde für den mikrovaskulären Einsatz. (C) Schematische Darstellung der Funktionsweise des Monitoringverfahrens zur Ultraschall-vermittelten Erhebung des Blutflusses. Modifiziert nach www.transonic.com und Schmidt (Schmidt, 2020).

2.3.2.2 Gewebe-Photospektrometrie mit O2C®-Gerät

Für die Evaluation der Gewebepерfusion des epigastrischen Lappens wurde als non-invasive Monitoringmodalität die Gewebe-Photospektrometrie in Form des O2C®-Messgeräts der Firma LEA Medizintechnik GmbH (LEA Medizintechnik GmbH, Giessen, Deutschland) angewendet. Die in der Messsonde kombinierten optischen Messtechniken ermöglichten an der Transplantatoberfläche (S = engl. für surface) sowie in der Tiefe des Gewebes (D = engl. für depth) die Erhebung folgender Perfusionsparameter: relativer Blutfluss ($Flow$), Blutflussgeschwindigkeit ($Velocity$), relativer Hämoglobingehalt (Hb) und kapillär-venöse Sauerstoffsättigung des Hämoglobins (SO_2). Während der Durchführung der Perfusionsmessung wurden die Parameter graphisch und metrisch auf dem Monitor dargestellt und konnten somit in Echtzeit verfolgt werden.

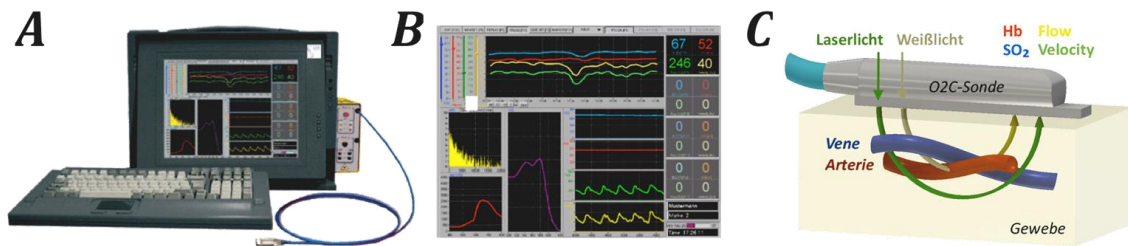


Abb. 19: O2C-Messgerät. (A) Messeinheit mit Sonde und Tastatur. (B) Echtzeit-Anzeige der Perfusionsparameter auf dem integrierten Monitor. (C) Schematische Darstellung der Funktionsweise der Gewebe-Photospektrometrie. Modifiziert nach www.lea.de und Schmidt (Schmidt, 2020).

2.3.2.3 OP-Mikroskop Pentero® und FLOW® 800-Analysetool

Die operativen Eingriffe an den Versuchstieren sowie die repetitiv durchgeführten ICG-VA-Flussanalysen zur Evaluation der Transplantatperfusion erfolgten unter fünffacher mikroskopischer Vergrößerung mit dem OP-Mikroskop Pentero® der Firma Zeiss und dem darin integrierten Infrarotkamarasystem (OPMI® Pentero® mit INFRARED® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) (Abb. 20). Die weitere analytische Verarbeitung und farbcodierte graphische Darstellung der zuvor im Bereich der ROIs erhobenen Flusswerte wurde durch Einsatz des FLOW® 800-Softwaretools (FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) ermöglicht. Das OP-Mikroskop ließ sich über eine elektronische Positionierungs- und Fokussierungsfunktion in den Handgriffen beidseits ausrichten und konnte gegengewichtsbalanciert folglich optimal an dem jeweiligen Operationsfeld ausgerichtet werden. Eine adäquate Ausleuchtung der mikroskopisch vergrößerten Strukturen wurde durch zwei seitlich am Tubus angebrachte Xenon-Lichtquellen gewährleistet. Das Zuweisen einer Untersuchungskennzahl sowie die spätere Archivierung und Sicherung der Messdaten auf einem externen Medium konnten über den integrierten Bildschirm per Touch-Funktion durchgeführt werden. Während der operativen Eingriffe erfolgte auf diesem Monitor zudem die bilddiagnostische Darstellung der ICG-VA in Echtzeit.

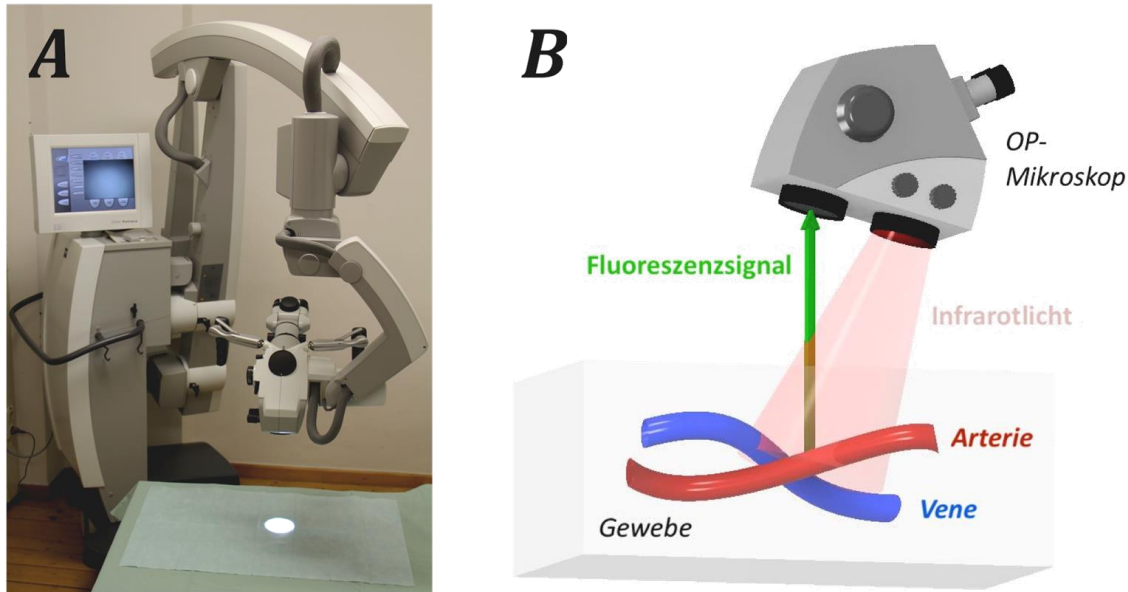


Abb. 20: OPMI® Pentero® und Funktionsweise der Fluoreszenzangiographie. (A) OP-Mikroskop Pentero® der Firma Zeiss. (B) Schematische Darstellung der Funktionsweise der ICG-VA nach vorheriger Applikation des Fluoreszenzfarbstoffes über die V. jugularis externa. Modifiziert nach Schmidt (Schmidt, 2020).

2.4 Statistische Methodik

Die Aufbereitung der akkumulierten prospektiv erhobenen Daten aus den Flussmessungen für die weitere statistische Analyse erfolgte mithilfe eines eigen- erstellten Tabellendesigns in dem Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel (Microsoft® Excel® for Mac, Version 14.7.7, Microsoft Corporation). Die Mittelwerte, Mediane und Standardabweichungen wurden im Rahmen der deskriptiven Auswertung für alle Parameter ermittelt. Für die statistische Auswertung der mittels FLOW® 800-Software (FLOW® 800-Software 2.6, Fa. Carl Zeiss GmbH, Oberkochen, Deutschland) generierten Flussanalysedaten wurden fünf bereits etablierte Kennwerte (erstes und zweites Maximum des ICG-Signals, maximale Anflutung bzw. Steigung bis zum ersten Maximum, maximales Kurvengefälle und Fläche unter der Kurve (AUC = engl. area under the curve) für jede durchgeführte Messung in jeder Region (ROI) bestimmt und anschließend innerhalb der jeweiligen Versuchsgruppe zusammengeführt bzw. untereinander korreliert. Das genaue methodische Vorgehen zur Bestimmung dieser Parameter wurde bereits an anderer Stelle ausführlich beschrieben (Mücke, 2012). Die

kumulativen Ergebnisse wurden hinsichtlich ihrer statistischen Signifikanz mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests (Vergleich der Mediane bei ordinalskalierten Variablen) und des Wilcoxon-Tests (nonparametrischer Vergleich abhängiger Stichproben) deskriptiv evaluiert und anschließend in Form von Boxplots und Liniendiagrammen aufbereitet dargestellt. Hierbei erfolgte auch eine Überprüfung der angewendeten Untersuchungsmodalitäten hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur postoperativen Detektion einer venösen Stauung. Die Berechnung des bivariaten Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman ermöglichte zusätzlich eine differenzierte Evaluation der einzelnen Analyseparameter bezüglich ihrer Korrelation mit vitalen bzw. nekrotischen Transplantatflächen nach einer Woche. Unter Verwendung der statistischen Analysesoftware "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS for MAC, version 23.0, SPSS Inc., IBM Corp., Armonk, New York, USA) wurden im Rahmen der explorativen Statistik die unterschiedlichen Flussanalysedaten der ICG-VA und Gewebe-Photospektrometrie mithilfe des Youden-Index und einer Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse hinsichtlich ihrer Validität und diskriminatorischen Fähigkeit, auf Grundlage spezifischer Grenzwerte (engl. cutoff) der einzelnen Parameter das Auftreten einer Transplantatnekrose vorherzusagen, evaluiert. Die Sensitivität und Spezifität sowie der positive und negative prädiktive Wert für die mit dem Grenzwert assoziierte Vorhersage wurden anschließend bestimmt und ermöglichten im Weiteren die Etablierung eines daraus abgeleiteten hypothetischen Algorithmus für das postoperative Transplantatmonitoring. Die Durchführung aller statistischen Hypothesentests und Berechnungen erfolgte unter Berücksichtigung eines Signifikanzniveaus von p kleiner als 0,05. Testergebnisse unterhalb dieses Signifikanzniveaus wurden als statistisch nicht-signifikant erachtet, alle darüberliegenden Analysewerte folglich als signifikant. Die Angabe des Konfidenzintervalls erfolgte mit 95 %.

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse der deskriptiven Statistik

Die operative Versuchsdurchführung samt einwöchiger Beobachtungsphase und anschließender Reevaluation erfolgte an insgesamt 35 Wistar-Ratten. Während der intraoperativen Verabreichung des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes über den Mikroverweilkatheter in der V. jugularis ext. traten keinerlei allergische Unverträglichkeitsreaktionen auf, die Narkose wurde von den Tieren gut toleriert und die Durchführung der operativen Eingriffe gelang ohne das Auftreten von Komplikationen. Für die deskriptive Ergebnispräsentation der nicht normalverteilten Messdaten wurden die Medianwerte der unterschiedlichen Parameter ermittelt und unter Angabe des zugehörigen Ranges (engl. range) tabellarisch und graphisch, in Form von Boxplot- oder Linien-Diagrammen, dargestellt. In analoger Weise, jedoch unter Verwendung der entsprechenden Mittelwerte samt Standardabweichung (SD für engl. standard deviation), erfolgte die Präsentation der normalverteilten Analysedaten. In Summe wurden mithilfe des clamp-on Transit-Flowmeters 70 Flussmessungen sowohl an der Vena als auch der Arteria epigastrica sup. respektive durchgeführt. Im Rahmen der ICG-VA erfolgten mittels integriertem FLOW® 800-Softwaretool im Bereich des epigastrischen Lappens in 1400 ROIs Perfusionsanalysen. Zusätzlich wurde die Gewebeoxygenierung und -perfusion des Transplantats während des gesamten Versuchsverlaufes durch Einsatz des O2C-Messgeräts 175 Mal evaluiert und anschließend ausgewertet.

Die Beurteilung des Signifikanzniveaus einzelner Versuchsparameter erfolgte mithilfe des Mann-Whitney-Unabhängigkeits- und Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Tests. Diese beiden nichtparametrischen statistischen Testverfahren für ordinalskalierte, jedoch nicht normalverteilte Messdaten erlaubten einerseits den Vergleich der unterschiedlichen Versuchsgruppen untereinander (Mann-Whitney-U-Test) als auch gepaarter Stichproben innerhalb einer jeweiligen Gruppe (Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test), wodurch eine vorläufige kontextbezogene Einordnung der Ergebnisse ermöglicht wurde. Als nichtparametrisches Maß für die Rangkorrelation der einzelnen ICG-VA- und O2C®-Parameter mit den vitalen

bzw. nekrotischen Transplantatarealen nach einer Woche erfolgte die Berechnung des bivariaten Korrelationskoeffizienten nach Spearman.

3.1.1 Flussmessungen mittels Transit Flowmeter - Auswirkung venöser Stauung auf den Blutfluss im Bereich des arteriellen und venösen Transplantatschenkels

Die Evaluation der im Rahmen der Ultraschall-Durchflussmessung erhobenen Blutflusswerte ergab zum Zeitpunkt der ersten Messung, d.h. vor Hebung des epigastrischen Lappens und Verschluss der Vene, vergleichbare Flussverhältnisse in der A. und V. epigastrica superficialis. Das ermittelte Fließvolumen rangierte dabei zwischen 0,35 – 0,42 ml/min und 0,39 – 0,5 ml/min respektive. In der Verlaufskontrolle nach einer Woche zeigte sich in allen Versuchsgruppen eine Reduktion des arteriellen Blutflusses verglichen mit den Werten der ersten Flussmessung. Insbesondere nach 6 und 7 Stunden venösem Stauungsintervall zeigte sich in der finalen Evaluation noch nach sieben Tagen ein signifikant erniedrigtes arterielles Flussvolumen, sowohl bezogen auf den Referenzwert innerhalb der jeweiligen Gruppe als auch im direkten Vergleich mit den Flusswerten der Kontrollgruppe ohne vorherige venöse Stauung. Das Signifikanzniveau lag hierbei innerhalb der sechs- bzw. siebenstündigen Stauungsgruppe nach statistischer Überprüfung mittels Wilcoxon-Test jeweils bei $p = 0,018$ und in der Gegenüberstellung der beiden Stauungsgruppen mit der Kontrollgruppe bei $p = 0,004$ bzw. $p = 0,011$ respektive. Nach einwöchigem Beobachtungszeitraum war der mittlere venöse Blutfluss, verglichen mit dem jeweiligen Basiswert aus der ersten Messung, ebenfalls in allen Gruppen verringert. Insbesondere in der Gruppe mit 7 Stunden vorheriger venöser Transplantatstauung zeigte sich eine signifikante Reduktion des venösen Blutflusses mit einem p-Wert von 0,043 (Abb. 21 und Tab. 3).

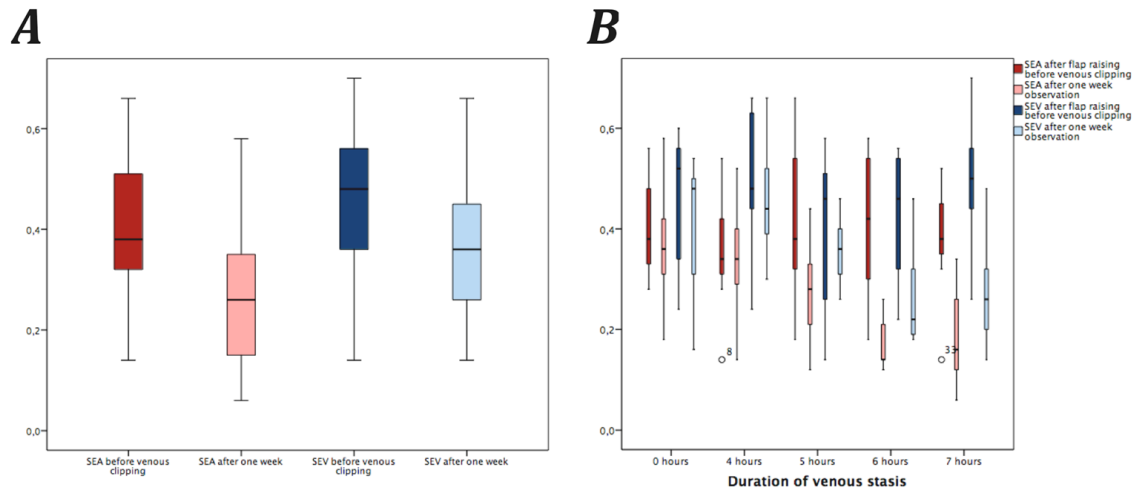


Abb. 21: Deskriptive Darstellung der Ergebnisse aus den Flussmessungen mittels Transit Flowmeter als Boxplots. (A) Graphische Darstellung des mittleren arteriellen und venösen Blutflusses in ml/min im Bereich der epigastrischen Gefäße nach Transplantathebung (d.h. vor venösem Verschluss) und einwöchiger Beobachtungszeit. (B) Vergleich der mittleren Blutflusswerte aller fünf Versuchsgruppen nach erfolgter venöser Stauung für 0, 4, 5, 6, und 7 Stunden. Die Abkürzungen SEA und SEV stehen hierbei für die engl. Bezeichnung der Gefäße (superficial epigastric artery and vein).

Zeitpunkt der Messung	0 h [ml/min] Mittelwert (±SD)	4 h [ml/min] Mittelwert (±SD)	5 h [ml/min] Mittelwert (±SD)	6 h [ml/min] Mittelwert (±SD)	7 h [ml/min] Mittelwert (±SD)
A. epig. sup. vor venösem Verschluss	0,41 (±0,11)	0,35 (±0,13)	0,42 (±0,17)	0,41 (±0,15)	0,38 (±0,13)
A. epig. sup. nach einer Woche	0,37 (±0,13)	0,34 (±0,12)	0,27 (±0,1)	0,17 (±0,05)*§	0,19 (±0,9) *§
V. epig. sup. vor venösem Verschluss	0,45 (±0,16)	0,5 (±0,15)	0,39 (±0,17)	0,42 (±0,14)	0,49 (±0,14)
V. epig. sup. nach einer Woche	0,4 (±0,14)	0,46 (±0,13)	0,36 (±0,07)	0,27 (±0,11)	0,27 (±0,12) *
<p>Abkürzungen und Symbole: h = Stunde (engl. hour); SD = Standardabweichung (engl. standard deviation); A./V. epig. sup. = Arteria/Vena epigastria superficialis; * = signifikante (p < 0.05) Veränderung zwischen erster und zweiter Messung innerhalb einer Gruppe; § = signifikante (p < 0.05) Veränderung zwischen den Gruppen mit 4, 5, 6 bzw. 7 Stunden venösem Stauungsintervall und der Kontrollgruppe ohne venöse Stauung</p>					

Tab. 3: Flussmessung mittels Transit Flowmeter im Bereich der A. und V. epigastrica sup. vor Verschluss der Vene sowie eine Woche nach Etablierung des jeweiligen venösen Stauungsintervalls von 4, 5, 6 und 7 Stunden.

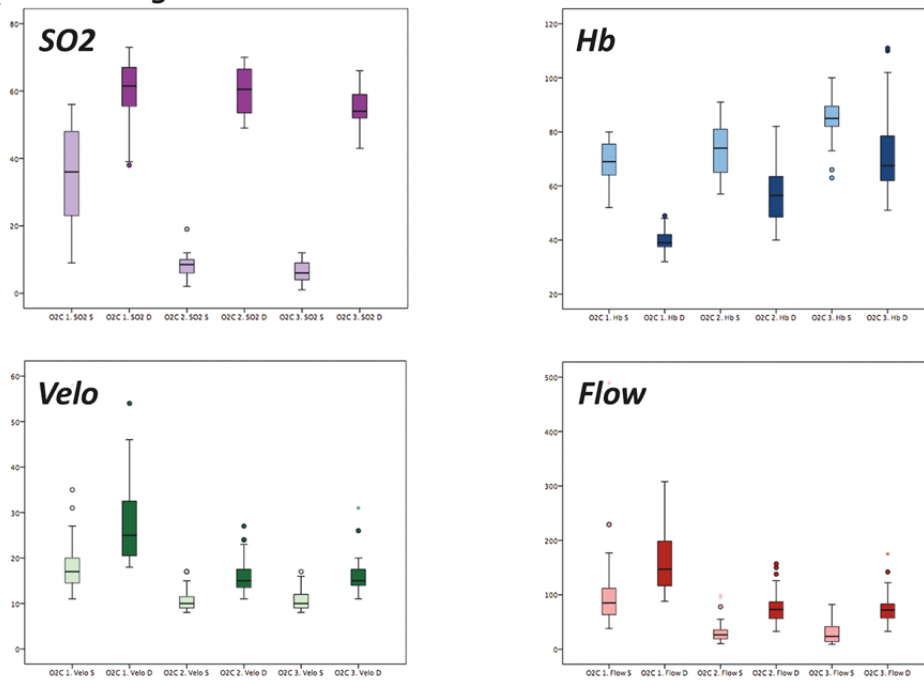
3.1.2 Evaluation der Transplantatperfusion unter venöser Stauung durch Anwendung der Gewebe-Photospektrometrie (O2C®)

Die im Rahmen der rheologisch-hämodynamischen Evaluation mittels simultaner Gewebespektrometrie und Laser-Doppler-Flussmessung (O2C®) erhobenen Perfusionsparameter zeigten während der einzelnen operativen Schritte eine deutliche Abweichung vom jeweiligen Referenzwert. Die Messwerte für die Parameter SO_2 (S und D), Velocity (S und D) sowie Flow (S und D) fielen im Verlauf der Transplantathebung und -repositionierung insgesamt in allen Gruppen ab (Messungen 1 – 3), wohingegen sie nach Ablauf des variierenden venösen Stauungsintervalls im Rahmen der vierten Messung, mit Ausnahme des SO_2 -Wertes für die tiefer gelegene Gewebeschicht (D), wieder anstiegen (Messung 4). Im Vergleich zur 4h-Gruppe war hierbei insbesondere der Anstieg der verzeichneten Werte für Velocity (S und D) und Flow (D) signifikant ($p < 0,05$). Gegenläufig zu den oben beschriebenen Parametern stieg der Wert für die relative Hämoglobinkonzentration Hb (S und D) während der ersten drei Messungen zunächst signifikant an ($p < 0,05$), zeigte sich im weiteren Verlauf aber weitestgehend konstant und blieb, unabhängig des jeweiligen Stauungsintervalls, in den vier Stauungsgruppen vergleichbar (Messung 4). Nach dem einwöchigen Beobachtungszeitraum (Messung 5) ließ sich mit Bezug auf die Referenzmessung vor der Transplantathebung (Messung 1) in allen Gruppen ein deutlich erhöhter Wert für die in der Transplantattiefe gemessene relative Hämoglobinkonzentration (Hb D) verzeichnen. Zusätzlich konnte in der Kontrollgruppe sowie in der 5h- bzw. 6h-Stauungsgruppe auch in der oberflächlichen Gewebeschicht des epigastrischen Lappens ein Anstieg dieses Parameters (Hb S) festgestellt werden. Verglichen mit der Kontrollgruppe lag zeitgleich eine Reduktion der in der Transplantattiefe detektierten Werte für die Sauerstoffsättigung (SO_2 D), die Strömungsgeschwindigkeit (Velo D) und das Flussvolumen (Flow D) sowohl in der 6h- als auch 7h-Stauungsgruppe vor. Die Messwerte der zuvor genannten Parameter wiesen diesbezüglich in der 4h- und 5h-Stauungsgruppe einen Anstieg auf. Für die Bestimmung des Signifikanzniveaus erfolgte eine statistische Analyse der veränderten Parameter in den Messungen 1 bis 3 mithilfe des Wilcoxon-Tests. Die Werte aus der vierten und fünften Messung, d.h. nach erfolgter venöser Stauung für 4 – 7h und einwöchiger Einheilungsphase,

konnten hinsichtlich ihrer Signifikanz mit dem Mann-Whitney-U-Test überprüft und somit eine etwaige Korrelation zwischen variierenden Stauungsintervallen und Veränderungen der Perfusionsparameter untersucht werden. (Abb. 22, Tab. 4 und Tab. 5).

Ergänzend wurde im Rahmen der vierten Messung die Rangkorrelation der einzelnen O2C®-Parameter hinsichtlich einer etwaigen Nekrosebildung nach einwöchigem Beobachtungszeitraum mithilfe des bivarianten nichtparametrischen Korrelationskoeffizienten nach Spearman (r) bestimmt. Dieser ermöglichte vor dem Hintergrund der vorliegenden Fragestellung eine Überprüfung des Zusammenhangs zwischen der Veränderung eines Perfusionsparameters nach erfolgter venöser Stauung (bspw. Anstieg der relativen Hämoglobinkonzentration) und dem Auftreten einer Transplantatnekrose im Verlauf, unabhängig von der Ausprägung der jeweiligen Veränderung. Entscheidend war hierbei also nicht der absolute Anstieg oder Abfall eines Parameters im Vergleich zu dem zuvor erhobenen Referenzwert, sondern die Korrelation der jeweiligen Ränge von Messwert und Nekrosefläche. Diesbezüglich waren die oberflächlich und in 8mm Tiefe des Transplantatgewebes ermittelten Werte für den Parameter Flow (S und D) in der 4h-Stauungsgruppe mit einem erhöhten Korrelationskoeffizienten für die Ausdehnung der Nekrosefläche nach einer Woche assoziiert, wenn auch ohne Signifikanz ($r = 0,611$ mit $p = 0,145$ und $r = -0,596$ mit $p = 0,157$, respektive). Im Rahmen der vierten Messung der 6h-Stauungsgruppe zeigte sich eine signifikante Rangkorrelation für die Flow-Werte der tiefer gelegenen Gewebeschicht (Flow D) und die konsekutiv entstandene nekrotische Transplantatfläche ($r = -0,829$ mit $p = 0,021$). Auch die Werte für die Parameter SO₂ (D) und Velocity (D) wiesen in der gleichen Stauungsgruppe eine entsprechende Korrelation auf, jedoch ohne statistische Signifikanz ($r = -0,748$ mit $p = 0,053$ und $r = 0,739$ mit $p = 0,058$ respektive).

A Messung 1 – 3



B Messung 4

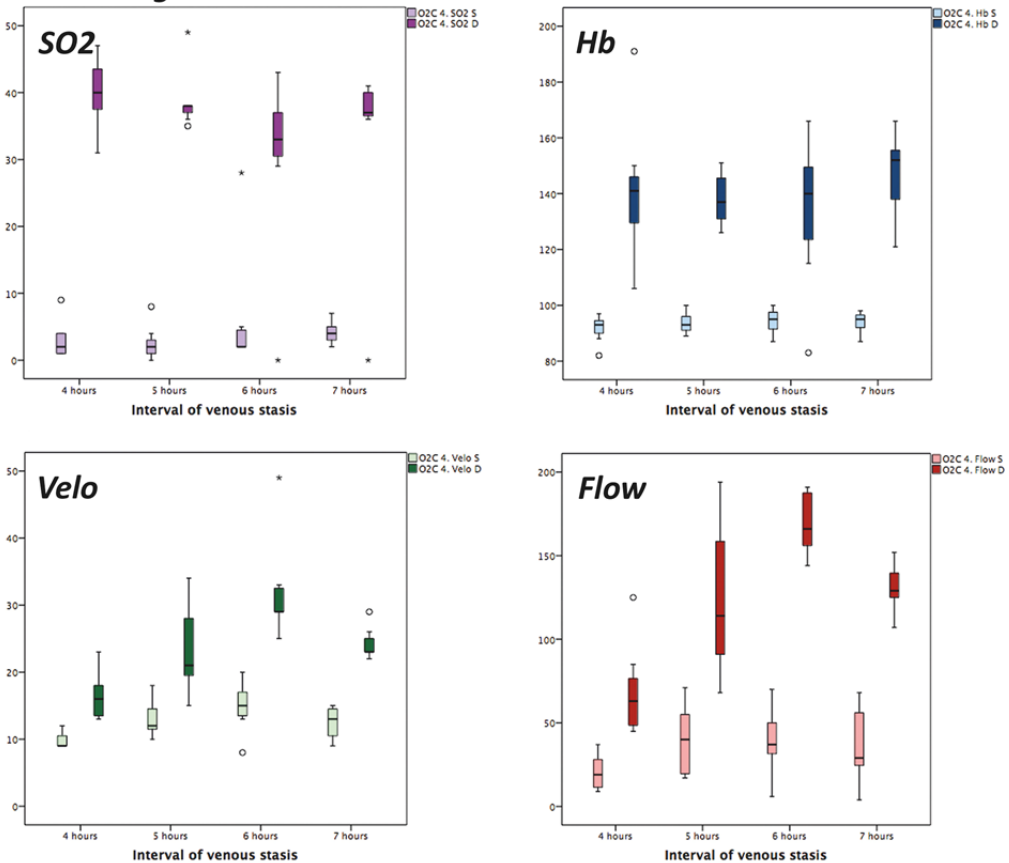


Abb. 22: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsevaluation im Bereich des epigastrischen Lappens mittels Gewebe-Photospektrometrie (O2C®). Graphische Darstellung der in den oberflächlichen und tiefer gelegenen Gewebeschichten des Transplantats erhobenen Perfusionsparameter während der Messungen 1 – 3 (A) und der Messung 4 (B) nach unterschiedlich lang anhaltender venöser Stauung im Bereich der V. epigastrica sup..

Ergebnisse

Parameter	Venöse Stauung	1. Referenzmessung	2. Nach Hebung, vor venösem Verschluss	3. Nach venösem Verschluss	4. Nach venöser Stauung	5. Nach einer Woche
SO₂ S	0h	35,0 (3 - 56)	8,0 (1 - 19) *	/	/	9,0 (2 - 37)
	4h			6,0 (1 - 12) §!	2,0 (1 - 9)	20,0 (15 - 33)
	5h				2,0 (0 - 8)	16,0 (4 - 57)
	6h				2,0 (2 - 28)	21,0 (3 - 25)
	7h				4 (2 - 7)	6,0 (0 - 44)
Hb S	0h	69,0 (52 - 82)	74,0 (57 - 98) *	/	/	73,0 (60 - 85)
	4h			85,0 (63 - 100) §!	93,0 (82 - 97)	63,0 (52 - 74) &
	5h				93,0 (89 - 100)	81,0 (64 - 96)
	6h				95,0 (87 - 100)	73,0 (53 - 89)
	7h				95,0 (87 - 98)	60,0 (0 - 88)
Velo S	0h	19,0 (11 - 58)	10,0 (8 - 25) *	/	/	25,0 (±7,02)
	4h			10,0 (8 - 17) §	9,0 (9 - 12)	27,0 (9 - 44)
	5h				12,0 (10 - 18) #	16,0 (9 - 27) &
	6h				15,0 (8 - 20) #	15,0 (12 - 30) &
	7h				13,0 (9 - 15) #	14,0 (0 - 44)
Flow S	0h	93,0 (38 - 489)	29,0 (10 - 178) *	/	/	130,0 (63 - 251)
	4h			23,5 (9 - 82) §	19,0 (9 - 37)	128,0 (12 - 235)
	5h				40,0 (17 - 71)	50,0 (8 - 142)
	6h				37,0 (6 - 70)	37,0 (10 - 139) &
	7h				29,0 (4 - 68)	30,0 (0 - 200)

Abkürzungen: O2C = Oxygen to See; S = oberflächlich; SO₂ = Sauerstoffsättigung;

Hb = Hämoglobinkonzentration; Velo = Flussgeschwindigkeit; Flow = Blutfluss

* = signifikante (p < 0,05) Veränderungen zwischen Werten der ersten und zweiten Messung;

§ = signifikante (p < 0,05) Veränderungen zwischen Werten der ersten und dritten Messung;

! = signifikante (p < 0,05) Veränderungen zwischen Werten der zweiten und dritten Messung;

= signifikante (p < 0,05) Veränderung verglichen mit der 4h-Stauungsgruppe in der vierten Messung;

& = signifikante (p < 0,05) Veränderung verglichen mit der Kontrollgruppe in der fünften Messung;

Tab. 4: Perioperative Ergebnisse der oberflächlichen (S) Perfusionsevaluation mittels Gewebe-Photospektrometrie (O2C®) einschließlich Signifikanzniveaus.

Parameter	Venöse Stauung	1. Referenzmessung	2. Nach Hebung, vor venösem Verschluss	3. Nach venösem Verschluss	4. Nach venöser Stauung	5. Nach einer Woche
SO₂ D	0h	60,0 (35 - 74)	60,0 (43 - 89)	54,0 (43 - 66) §!	/	30,0 (15 - 47)
	4h				/	52,0 (15 - 66) &
	5h				40,0 (31 - 47)	30,0 (0 - 44)
	6h				38,0 (35 - 49)	19,0 (9 - 42)
	7h				33,0 (0 - 43)	22,0 (0 - 38)
Hb D	0h	40,0 (32 - 50)	57,0 (40 - 82) *	67,5 (51 - 111) §!	/	54,0 (37 - 135)
	4h				/	54,0 (36 - 69)
	5h				141,0 (106-191)	78,0 (43 - 99)
	6h				137,0 (126-151)	84,0 (46 - 114)
	7h				140,0 (83 - 166)	86,0 (0 - 111)
Velo D	0h	29,0 (18 - 54)	16,0 (11 - 37) *	15 (11 - 31) §	/	35,0 (29 - 52)
	4h				/	40,0 (15 - 56)
	5h				16,0 (13 - 23)	34,0 (12 - 67)
	6h				21,0 (15 - 34) #	19,0 (17 - 44) &
	7h				29,0 (25 - 49) #	27,0 (14 - 58)
Flow D	0h	153,0 (88 - 308)	80,0 (33 - 201) *	72,0 (33 - 175) §	/	189,0 (155 - 273)
	4h				/	193,0 (66 - 292)
	5h				63,0 (45 - 125)	196,0 (20 - 384)
	6h				114,0 (68-194) #	94,0 (47 - 183) &
	7h				166,0 (144 - 191) #	133,0 (71 - 296)

Abkürzungen: O2C = Oxygen to See; S = oberflächlich; SO₂ = Sauerstoffsättigung;
Hb = Hämoglobinkonzentration; Velo = Flussgeschwindigkeit; Flow = Blutfluss
* = signifikante (p < 0,05) Veränderungen zwischen Werten der ersten und zweiten Messung;
§ = signifikante (p < 0,05) Veränderungen zwischen Werten der ersten und dritten Messung;
! = signifikante (p < 0,05) Veränderungen zwischen Werten der zweiten und dritten Messung;
= signifikante (p < 0,05) Veränderung verglichen mit der 4h-Stauungsgruppe in der vierten Messung;
& = signifikante (p < 0,05) Veränderung verglichen mit der Kontrollgruppe in der fünften Messung;

Tab. 5: Perioperative O2C®-Ergebnisse der tiefer gelegene Transplantatschicht (D).

3.1.3 Analyse der Transplantatperfusion mittels Indocyaningrün-Videoangiographie und FLOW® 800-Softwaretool

3.1.3.1 Perioperative Veränderungen in der Flussanalyse bei venöser Transplantatstauung

Verglichen mit der Referenzmessung bewirkte die Hebung des epigastrischen Lappens mit konsekutiver Durchtrennung aller einsprossenden Perforansgefäße bereits einen signifikanten Abfall des ersten und zweiten Maximums sowie der Fläche unter der Kurve (AUC^{ICG} für engl. area under the curve) in allen acht Messregionen (ROIs für engl. regions of interest). Das Signifikanzniveau dieser Veränderung zwischen erster und zweiter Messung lag bei $p > 0,05$ und wurde mithilfe des Wilcoxon-Tests ermittelt. Die errechneten Werte für den maximalen Anstieg und Abfall des ICG-Signals blieben dabei annähernd unverändert. Die anschließende Applikation des Acland®-Gefäßclips im Bereich der V. epigastrica sup. und der daraus resultierende vollständige Verschluss des venösen Transplantatschenkels führten, bezogen auf die Referenzmessung, zu einem weiteren Abfall des ersten und zweiten Maximums sowie der AUC^{ICG} in allen acht ROIs ($p < 0,05$). Mit Ausnahme der ROI Nummer 7 im mediolateralen Randbereich des Transplantats, zeigten sich die zuvor genannten Parameter auch hinsichtlich der gemessenen Werte nach Hebung des epigastrischen Lappens (Messung 2) reduziert. Zudem konnte im Vergleich zur Referenzmessung eine signifikante Zunahme des max. Anstiegs bzw. Abfalls der ICG-Intensität in den ROIs Nummer 1, 3, 6 und 8 sowie eine signifikante Abnahme dieser Parameter in den ROIs Nummer 1 und 2 beobachtet werden. In direkter Gegenüberstellung mit den Werten der zweiten Messung stellten diese Veränderungen jedoch keinen relevanten bzw. signifikanten Unterschied dar (Abb. 25 und Tab. 6).

Im Rahmen der vierten Messung zeigte sich nach einem venösen Stauungsintervall von 4 Stunden, verglichen mit der zweiten Messung (vor venöser Gefäßclip-Applikation), ein weiterer Abfall des ersten und zweiten Maximums sowie der AUC^{ICG} in allen acht ROIs. Die Bestimmung des p-Wertes $< 0,05$ erfolgte in diesem Fall ebenfalls unter Verwendung des Wilcoxon-Tests. In den ROIs Nummer 1, 2, 3, 4 und 6 sowie der ROI Nummer 2 kam es zu einer signifikanten Zunahme des max. Anstiegs und Abfalls der ICG-Intensität bzw. signifikanten Abnahme dieser

Parameter respektive. Unter Ausschluss der Kontrollgruppe ließen sich in der isolierten Betrachtung der venösen Stauungsgruppen und mit Bezug auf die zweite Messung insbesondere für die Werte in den ROIs 1, 2 und 5 signifikante Veränderungen feststellen ($p < 0,05$). Die Auswirkung der venösen Transplantatstauung zeigte sich hierbei besonders deutlich in den kaudal positionierten ROIs 1, 2 und 3, welche im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse eine direkte Korrelation der jeweiligen Stauungsdauer mit einer zunehmenden Abnahme des ersten und zweiten ICG-Intensitätsmaximums sowie der errechneten AUC^{ICG} aufwiesen. Im Gegensatz dazu stiegen die Werte für erstes und zweites Maximum sowie die AUC^{ICG} in den zentral lokalisierten ROIs nach 5 bzw. 6 Stunden venösem Stauungsintervall stark an und zeigten sich erst in der Versuchsgruppe mit 7 Stunden venöser Stauung rückläufig. Im Vergleich der Stauungsgruppen untereinander lagen die Werte für das erste und zweite Maximum in der 7h-Stauungsgruppe sogar in allen acht ROIs deutlich unter denen der 4h-Stauungsgruppe, mit signifikanten Abweichungen in den ROIs 1, 2 und 5 ($p < 0,05$). Die statistische Überprüfung des Signifikanzniveaus hinsichtlich der 4h-Stauungsgruppe erfolgte, wie unter 3.1 dargestellt, durch Anwendung des Mann-Whitney-U-Tests (Abb. 23, Abb. 25 und Tab. 7).

Die fünfte und somit finale Messung erfolgte nach einem einwöchigen Beobachtungszeitraum. Hierbei entsprachen die Werte aller Parameter in der Kontrollgruppe ohne venöse Stauung annähernd denen aus der zweiten Messung sieben Tage zuvor. In den unterschiedlichen Stauungsgruppen hingegen wiesen die Werte für erstes und zweites Maximum sowie die AUC^{ICG} einen deutlichen Anstieg auf, während die Parameter max. Anstieg bzw. Abfall der ICG-Intensität ohne signifikante Veränderung konstant blieben (Abb. 24 und Tab. 8).

In Analogie zu den im Vorfeld beschriebenen Ergebnissen der O2C®-Perfusionsanalyse erfolgte ergänzend für die einzelnen Parameter der FLOW® 800-Flussanalyse die Berechnung des nichtparametrischen bivariaten Korrelationskoeffizienten nach Spearman. Hierbei zeigte im Rahmen der vierten Messung der maximale Anstieg der ICG-Intensität in den ROIs 1 und 2 der 4h-Stauungsgruppe eine signifikante Rangkorrelation mit der resultierenden Nekrosefläche im Bereich des epigastrischen Lappens nach einer Woche ($r = -0,808$ mit $p = 0,028$ und $r = -0,788$ mit $p = 0,035$ respektive). In den ROIs 3, 5 und

8 dieser Stauungsgruppe korrelierte der maximale ICG-Anstieg in Messung 4 ebenfalls mit der flächenbezogenen Ausdehnung der nekrotischen Transplantatareale, jedoch ohne statistische Signifikanz ($r = -0,611$ mit $p = 0,145$, $r = -0,591$ mit $p = 0,162$ sowie $r = -0,571$ mit $p = 0,18$ respektive). Veränderungen in den Werten der mittels FLOW® 800-Flussanalyse generierten Parameter maximaler ICG-Anstieg und -Abfall standen repräsentativ für dynamische Zirkulationsprozesse im Bereich des mikrovaskulären Transplantats und korrespondierten entsprechend mit den erhobenen Werten für die O2C®-Parameter Flow und Velocity im Rahmen der Gewebe-Photospektrometrie (siehe 3.1.2). Nach fünf Stunden venöser Stauung zeigte auch die AUC^{ICG} in ROI 5 eine deutliche Rangkorrelation mit der Nekrosefläche ($r = -0,685$ mit $p = 0,09$). Im weiteren Verlauf war dieser Zusammenhang nach sechs Stunden venöser Stauung für die AUC^{ICG} in ROI 7 sogar signifikant ($r = 0,775$ mit $p = 0,041$). Zudem zeigte sich in der Berechnung des Spearman'schen Rangkorrelationskoeffizienten auch für die Werte der dynamischen Parameter maximaler ICG-Anstieg (in ROI 8) und maximaler ICG-Abfall (in den ROIs 5 und 7) eine persistierende Korrelation mit der klinisch evaluierten Ausdehnung der Nekrosezonen ($r = 0,739$ mit $p = 0,058$, $r = 0,7$ mit $p = 0,08$ und $r = 0,667$ mit $p = 0,102$, respektive).

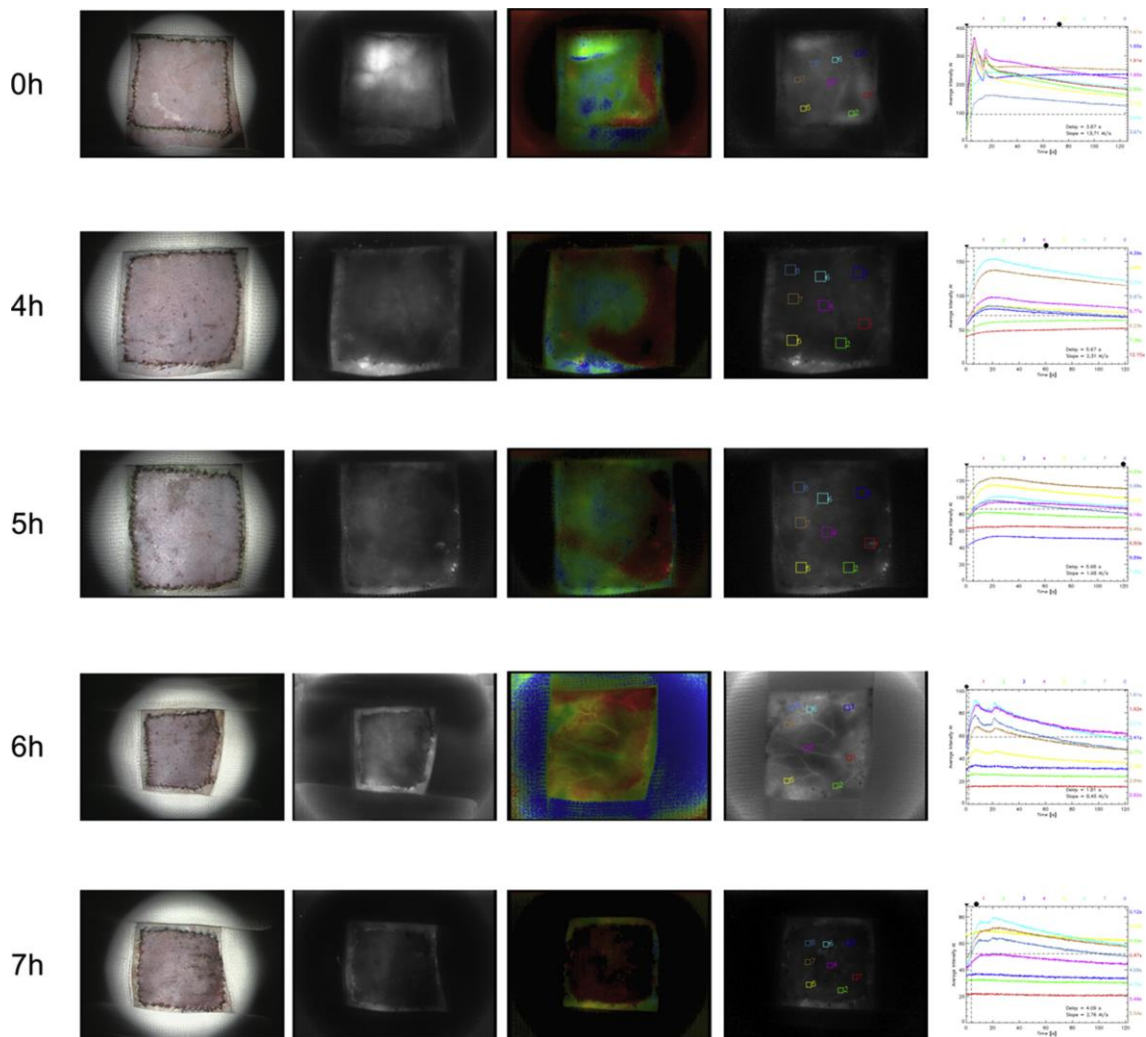


Abb. 23: Analyse der Transplantatperfusion mittels ICG-VA und FLOW® 800-Softwaretool nach unterschiedlichen venösen Stauungsintervallen. (v.l.n.r.) Die erste Säule zeigt die intraoperative klinische Situation des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe sowie nach zeitlichem Ablauf der variierenden Stauungsintervalle (entsprechend Messung 4). In der zweiten Säule ist das im Rahmen der ICG-VA anflutende Fluoreszenzsignal während der arteriellen und venösen Durchblutungsphase zu sehen. Die Säulen 3 – 5 zeigen die im Anschluss erfolgte, farblich kodierte Perfusionsanalyse mittels integriertem FLOW 800®-Softwaretool im Bereich der 8 standardisiert angeordneten ROIs. Die dabei im zeitlichen Verlauf erfassten ICG-Intensitäten in den einzelnen ROIs unter variierender venöser Stauung werden in der fünften Säule in Form eines farbkodierten Graphen wiedergegeben. Die Farbkodierung erfolgte in Analogie zu den korrelierenden ROI-Markierungen mit den entsprechenden Farben.

Ergebnisse

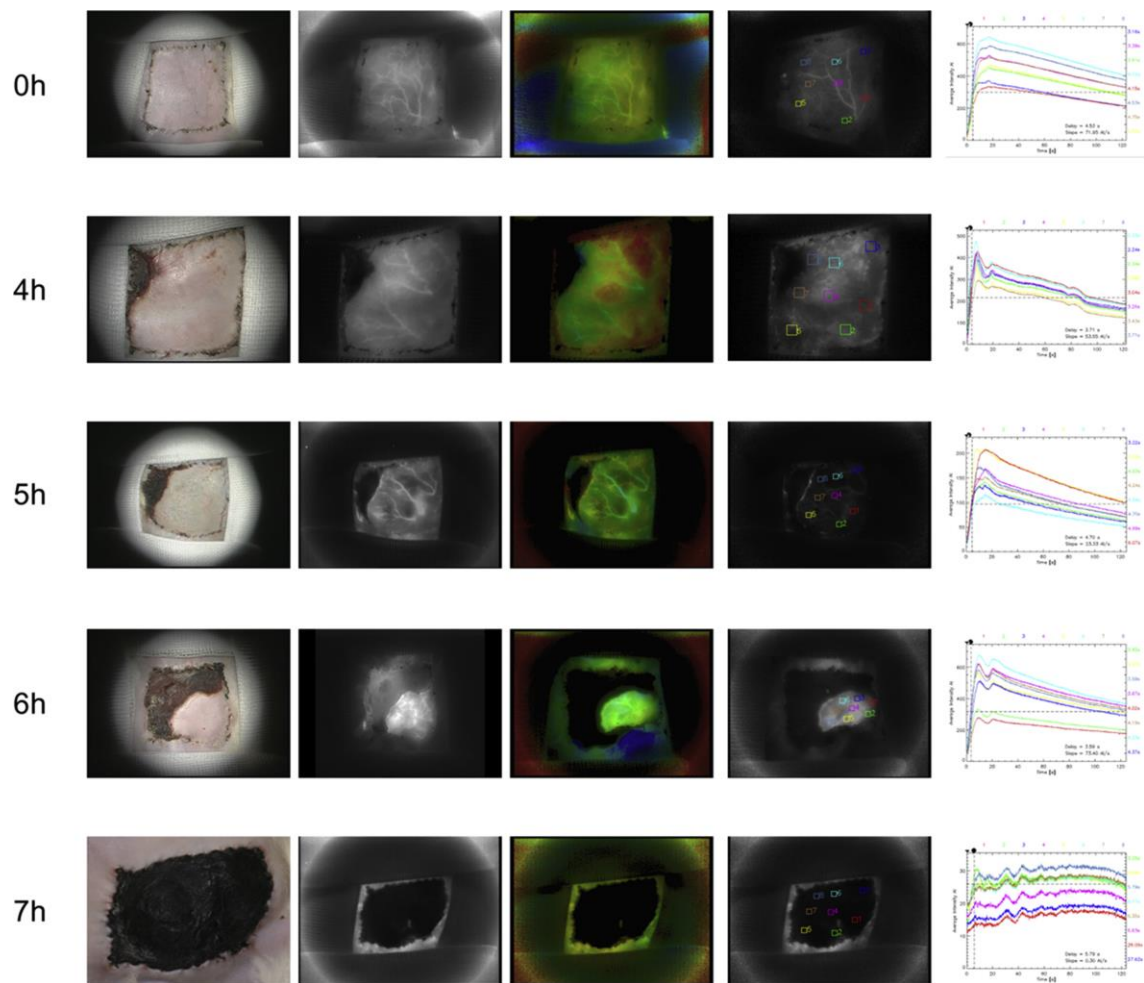


Abb. 24: Analyse der Transplantatperfusion mittels ICG-VA und FLOW® 800-Softwaretool nach zuvor erfolgter venöser Stauung und einer Woche Beobachtung. (v.l.n.r.) Die erste Säule zeigt die intraoperative klinische Situation des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe sowie den unterschiedlichen Stauungsgruppen (entsprechend Messung 5). In der zweiten Säule ist das im Rahmen der ICG-VA anflutende Fluoreszenzsignal während der arteriellen und venösen Durchblutungsphase des Transplantats zu sehen. Die Säulen 3 – 5 zeigen die im Anschluss erfolgte, farblich kodierte Perfusionsanalyse mittels integriertem FLOW 800®-Softwaretool im Bereich der 8 standardisiert angeordneten ROIs. Die dabei im zeitlichen Verlauf erfassten ICG-Intensitäten in den mit vitalen Gewebearealen assoziierten ROIs werden in der fünften Säule in Form eines farbkodierten Graphen wiedergegeben. Die Farbkodierung erfolgte in Analogie zu den korrelierenden ROI-Markierungen mit den entsprechenden Farben.

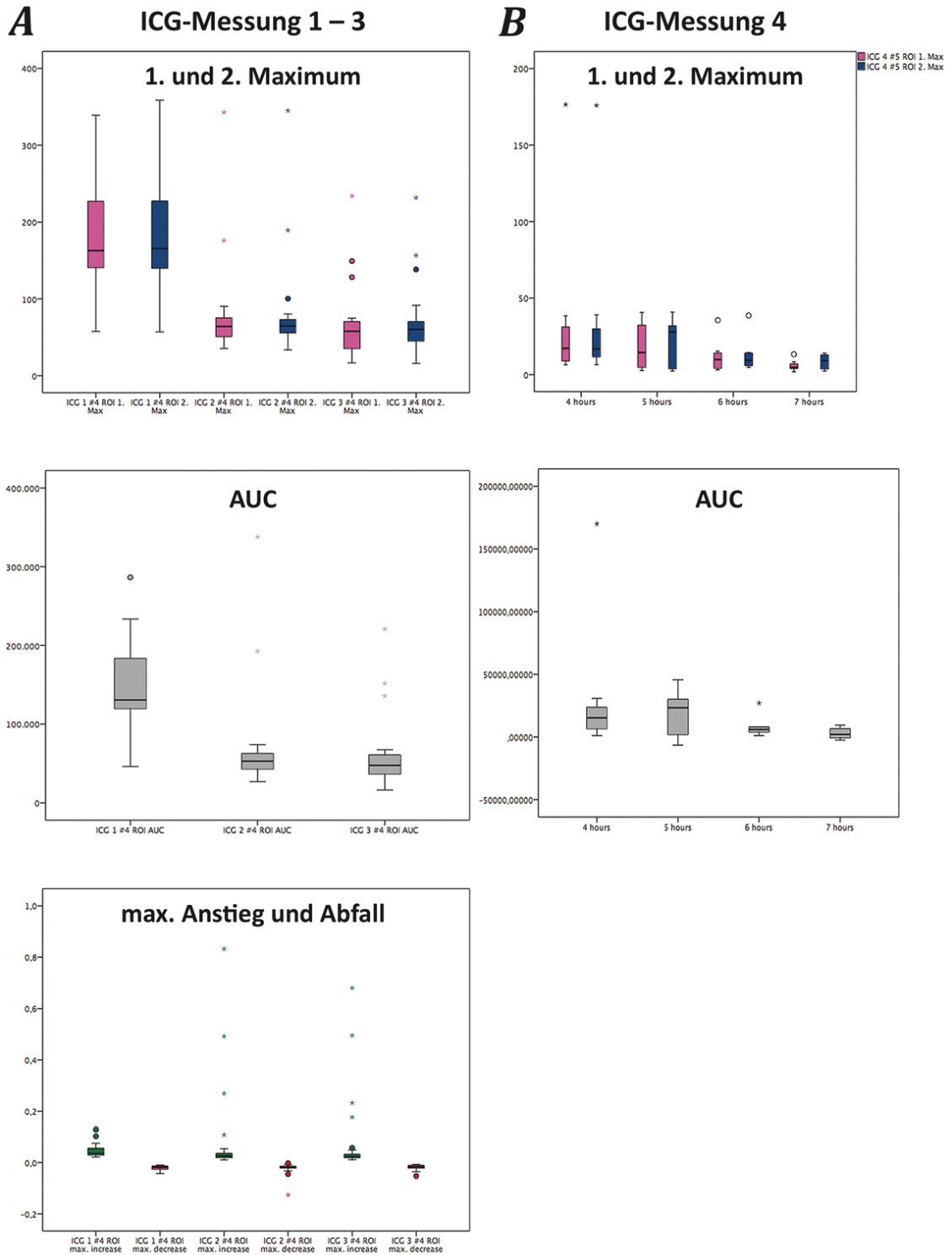


Abb. 25: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsanalyse mittels ICG-VA und FLOW 800® Analysetool als Boxplots. Die zeitgleiche Analyse des 1. und 2. Maximums, des maximalen Anstiegs und Abfalls sowie der Area under the curve erfolgte zu insgesamt 5 unterschiedlichen Zeitpunkten. (A) Die linke Säule zeigt die Werte für diese Parameter während der Messungen 1 – 3, welche allesamt vor der venösen Stauung durchgeführt wurden. (B) Die rechte Säule zeigt die entsprechenden Werte in Messung 4 nach erfolgter venöser Stauung von 4 – 7 Stunden. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte für alle Parameter in arbiträren Einheiten (AU).

Ergebnisse

Nr.	ROI	1. Maximum Median (Min - Max)	2. Maximum Median (Min - Max)	Max. Anstieg Median (Min - Max)	Max. Abfall Median (Min - Max)	AUC Median (Min - Max)
1 (n = 35)	#1	174 (42-326)	185 (42-285)	0,05 (0,02-0,18)	-0,03 (-0,06-(-0,004))	132,043 (32,368-212218)
	#2	188 (37-295)	191 (40-269)	0,05 (0,01-0,14)	-0,02 (-0,04-(-0,004))	139,061 (31117-195191)
	#3	112 (32-249)	130 (34-208)	0,03 (0,01-0,29)	-0,02 (-0,08-(-0,003))	100,653 (28,831-188,352)
	#4	158 (58-339)	165 (57-359)	0,04 (0,02-0,14)	-0,02 (-0,04-(-0,001))	131,064 (46,142-286,460)
	#5	137 (40-264)	146 (40-232)	0,03 (0,01-0,08)	-0,02 (-0,03-(-0,004))	119,287 (32,009-184099)
	#6	159 (68-244)	166 (63-262)	0,04 (0,02-0,13)	-0,02 (-0,06-(-0,004))	137,439 (55,072-236974)
	#7	130 (53-323)	132 (51-294)	0,03 (0,02-0,39)	-0,02 (-0,05-(-0,005))	111,835 (384,83-239,069)
	#8	130 (59-188)	137 (55-224)	0,03 (0,02-0,09)	-0,02 (-0,15-(-0,004))	110,000 (48,194-183,554)
2 (n = 35)	#1	37 (4-200)*	39 (8-198)*	0,02 (0,01-0,59)*	-0,01 (-0,08-(-0,004))*	33,752 (4,440-201,222)*
	#2	45 (7-316)*	47 (12-315)*	0,02 (0,01-0,76)*	-0,02 (-0,04-(-0,003))*	39,466 (12,267-307,852)*
	#3	36 (11-173)*	40 (10-165)*	0,02 (0,01-0,59)*	-0,02 (-0,05-(-0,004))	34,196 (5,610-165,158)*
	#4	64 (35-343)*	67 (34-345)*	0,03 (0,01-0,83)	-0,02 (-0,13-(-0,002))	53,144 (26,739-338,059)*
	#5	44 (13-201)*	42 (10-200)*	0,03 (0,01-0,56)	-0,02 (-0,04-(-0,003))	32,618 (7,179-194,818)*
	#6	64 (28-362)*	64 (29-363)*	0,03 (0,01-0,90)*	-0,02 (-0,18-(-0,004))	50,101 (17,474-347,312)*
	#7	57 (21-320)*	57 (15-322)*	0,03 (0,01-0,76)	-0,02 (-0,19-(-0,005))*	46,528 (10,410-314,818)*
	#8	57 (5-319)*	54 (7-320)*	0,03 (0,01-0,74)	-0,02 (-0,09-(-0,003))	44,788 (4,694-307,648)*
3 (n = 28)	#1	26 (2-82) [§]	32 (1-95) [§]	0,02 (0,01-0,49) [§]	-0,01 (-0,07-(-0,001)) [§]	26,752 (6,548-81,581) [§]
	#2	28 (4-146) [§]	32 (6-142) [§]	0,02 (0,01-0,55) [§]	-0,01 (-0,04-(-0,001)) [§]	27,222 (6,457-133,485) [§]
	#3	31 (6-102) [§]	36 (6-97) [§]	0,02 (0,01-0,52) [§]	-0,01 (-0,05-(-0,003))	26,380 (875-88,676) [§]
	#4	58 (17-234) [§]	60 (16-232) [§]	0,02 (0,01-0,68)	-0,02 (-0,06-(-0,007))	47,574 (16,198-220,761) [§]
	#5	36 (7-171) [§]	38 (5-160) [§]	0,02 (0,001-0,55) [!]	-0,01 (-0,04-(-0,004))	27,085 (1,508-152,599) [§]
	#6	45 (14-296) [§]	49 (19-294) [§]	0,03 (0,01-0,72) [§]	-0,02 (-0,04-(-0,006))	40,566 (9,849-272,694) [§]
	#7	42 (14-322) [§]	50 (19-325) [§]	0,02 (0,01-0,79)	-0,01 (-0,05-(-0,005)) [!]	43,654 (12,613-309,449) [§]
	#8	37 (8-320) [§]	41 (7-322) [§]	0,02 (0,01-0,79) [§]	-0,02 (-0,05-(-0,004))	34,633 (1,668-296,279) [§]

Abkürzungen: Nr. = Zeitpunkt der Messung 1 – 3; ROI = region of interest; Min/Max = Minimum/Maximum; AUC = Area under the curve; # = ROI Nummer;
* = signifikante (p < 0,05) Veränderung zwischen Messung Nr. 1 und 2;
[§] = signifikante (p < 0,05) Veränderung zwischen Messung Nr. 1 und 2;
[!] = signifikante (p < 0,05) Veränderung zwischen Messung Nr. 2 und 3

Tab. 6: Deskriptive Ergebnisse der ICG-VA für die Messungen 1 – 3, d.h. vor Lappenhebung, nach Hebung und Repositionierung des Transplantats sowie unmittelbar nach venösem Verschluss.

ROI	[h]	1. Maximum Median (Min - Max)	2. Maximum Median (Min - Max)	Max. Anstieg Median (Min - Max)	Max. Abfall Median (Min - Max)	AUC Median (Min - Max)
#1	4	5 (1-11)*	8 (1-12)*	0,01 (0,001-0,02)*	-0,01 (-0,02-(-0,001))	6,130 (1,529-13,851)*
	5	3 (3-21)	4 (2-25)	0,01 (0,001-0,02)	-0,01 (-0,01-(-0,005))	1,755 (724-32,718)
	6	3 (0,4-11)	2 (1-12)	0,01 (0,003-0,01)	-0,01 (-0,01-(-0,001))	1,262 (227-8,922)
	7	1 (1-11)§	2 (1-11)	0,01 (0,006-0,02)	-0,01 (-0,01-(-0,003))	208 (139-7,133)
#2	4	8 (2-17)*	9 (2-17)*	0,1 (0,01-0,03)*	-0,01 (0,01-(-0,004))*	5,357 (1,088-16,096)*
	5	7 (1-23)	7 (0,1-28)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,001))	3,592 (0-36,393)
	6	2 (1-34)	3 (2-34)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,01-(-0,001))	1,179 (0-24,669)
	7	2 (0,4-12)§	3 (1-12)§	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,001))	0 (0-7,490)§
#3	4	5 (2-26)*	6 (4-22)*	0,01 (0,01-0,02)*	-0,01 (-0,01-(-0,001))	3,831 (0-18,571)*
	5	12(5-25)	13 (4-27)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,003))	9,738 (614-32,168)
	6	4 (1-47)	6 (2-47)	0,01 (0,004-0,02)	-0,01 (-0,01-(-0,001))	1,908 (46-32,883)
	7	4 (1-29)	9 (0,5-29)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,03-(-0,01))	3,948 (0-19,742)
#4	4	15 (9-36)*	15 (8-33)*	0,01 (0,01-0,02)*	-0,01 (-0,02-(-0,01))	11,983 (2,088-26,061)*
	5	14 (8-40)	22 (7-40)	0,02 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,004))	18,634 (0-41,917)
	6	20 (1-46)	19 (6-51)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,01))	10,766 (4,113-33,245)
	7	9 (4-31)	11 (7-32)	0,01 (0,01-0,03)	-0,01 (-0,02-(-0,004))	7,961 (2,102-19,478)
#5	4	14 (6-38)*	16 (7-39)*	0,2 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,01))	13,366 (1,107-30,677)*
	5	14 (3-41)	28 (2-41)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,004))	23,275 (0-45,649)
	6	10 (3-36)	9 (5-39)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,01-(-0,007))§	5,961 (1,161-27,007)
	7	5 (2-13)§	9 (2-14)§	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,005))	2,070 (0-9,483)§
#6	4	18 (10-59)*	18 (10-52)*	0,1 (0,01-0,02)*	-0,02 (-0,02-(-0,007))	10,512 (5,200-40,219)*
	5	21 (10-58)	24 (11-53)	0,02 (0,01-0,04)	-0,02 (-0,03-(-0,007))	16,709 (2,322-27,215)
	6	25 (3-65)	26 (7-67)	0,02 (0,01-0,03)	-0,01 (-0,02-(-0,006))	14,486 (4,942-46,888)
	7	14 (6-43)	30 (11-45)	0,02 (0,01-0,03)	-0,01 (-0,02-(-0,002))	19,421 (4,624-28,042)
#7	4	9 (5-54)*	9 (3-48)*	0,1 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,01))	4,046 (0-40,245)*
	5	21 (7-58)	24 (6-58)	0,02 (0,01-0,03)	-0,01 (-0,03-(-0,007))	15,844 (1,432-33,084)
	6	20 (3-57)	21 (7-54)	0,02 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,008))	12,673 (8,519-37,271)
	7	8 (2-21)	14 (3-27)	0,02 (0,01-0,03)	-0,01 (-0,02-(-0,004))	10,100 (0-19,187)
#8	4	10 (6-31)*	9 (4-30)*	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,008))	4,548 (1,109-20,848)*
	5	32 (6-74)	34 (6-66)	0,02 (0,01-0,04)	-0,01 (-0,02-(-0,006))	28,112 (1,560-40,153)
	6	19 (5-60)	19 (9-55)	0,01 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,03-(-0,008))	11,343 (7,266-37,111)
	7	15 (4-25)	16 (7-27)	0,02 (0,01-0,02)	-0,01 (-0,02-(-0,005))	9,061 (2,672-17,128)

Abkürzungen: ROI = region of interest; Min/Max = Minimum/Maximum ; AUC = Area under the curve; # = ROI Nummer;
* = signifikante (p < 0,05) Veränderung im Vergleich mit der 2. Messung;
§ = signifikante (p < 0,05) Veränderung im Vergleich mit der 4h-Stauungsgruppe

Tab. 7: Deskriptive Ergebnisse der ICG-VA für die Messungen 4 unmittelbar nach Ablauf des jeweiligen Stauungsintervalls (0, 4, 5, 6 und 7 Stunden).

Ergebnisse

ROI	[h]	1. Maximum Median (Min - Max)	2. Maximum Median (Min - Max)	Max. Anstieg Median (Min - Max)	Max. Abfall Median (Min - Max)	AUC Median (Min - Max)
#1	0	131 (30-252)	135 (35-242)	0,03 (0,01-0,06)	-0,02 (-0,05-(-0,008))	99,771 (30,812-162,724)
	4	301 (132-324) [§]	289 (147-314) [§]	0,07 (0,02-0,09) [§]	-0,02 (-0,03-(-0,02)) [§]	209,467 (97,650-251,332) [§]
	5	207 (16-354)	204 (16-373)	0,04 (0,02-0,25)	-0,01 (-0,05-(-0,008))	173,357 (12,428-325,580)
	6	202 (8-422)	227 (7-444)	0,04 (0,02-0,17)	-0,02 (-0,05-(-0,007))	173,860 (4,180-381,174)
	7	272 (3-624)	263 (3-623)	0,01 (0,01-0,39)	-0,03 (-0,09-(-0,004))	212,691 (4,274-487,929)
#2	0	123 (36-285) [*]	129 (37-274) [*]	0,03 (0,01-0,09)	-0,02 (-0,07-(-0,009))	89,297 (37,525-186,068)
	4	273 (116-437) [§]	280 (126-430) [§]	0,07 (0,03-0,1) [§]	-0,02 (-0,04-(-0,01))	205,397 (84,451-343,217) [§]
	5	186 (12-256)	218 (12-372)	0,06 (0,01-0,1)	-0,02 (-0,04-(-0,009))	191,335 (8,862-257,174)
	6	179 (11-517)	224 (10-385)	0,04 (0,01-0,24)	-0,02 (-0,11-(-0,004))	176,282 (5,622-303,818)
	7	302 (16-630)	311 (13-600)	0,01 (0,01-0,4)	-0,04 (-0,09-(-0,002))	249,523 (12,128-479,888)
#3	0	127 (31-174)	135 (32-176)	0,03 (0,3-0,4)	-0,03 (-0,03-(-0,02))	92,395 (28,218-120,364)
	4	320 (74-346) [§]	304 (76-348) [§]	0,08 (0,02-0,1) [§]	-0,03 (-0,04-(-0,02))	203,043 (57,263-276,962) [§]
	5	233 (32-411)	220 (31-431)	0,05 (0,02-0,17)	-0,03 (-0,05-(-0,01))	187,902 (24,513-371,750)
	6	163 (31-460)	149 (28-446)	0,05 (0,02-0,4)	-0,03 (-0,06-(-0,01))	114,183 (20,949-324,678)
	7	200 (3-708)	209 (2-737)	0,05 (0,01-0,16)	-0,02 (-0,05-(-0,008))	158,888 (4,154-587,481)
#4	0	135 (39-304)	172 (40-309)	0,03 (0,02-0,07)	-0,02 (-0,05-(-0,008))	122,061 (41,579-222,783)
	4	358 (194-496) [§]	358 (210-508) [§]	0,1 (0,04-0,1) [§]	-0,03 (-0,06-(-0,008))	251,157 (128,750-410,043) [§]
	5	239 (12-446)	237 (11-485)	0,07 (0,01-0,22)	-0,02 (-0,05-(-0,009))	199,886 (9,083-334,109)
	6	131 (5-569)	142 (5-538)	0,04 (0,01-0,14)	-0,02 (-0,07-(-0,007))	85,428 (2,946-401,918)
	7	244 (3-810)	259 (4-819)	0,06 (0,01-0,14)	-0,04 (-0,13-(-0,004))	209,291 (5,036-661,811)
#5	0	105 (18-251)	120 (24-246)	0,03 (0,01-0,8)	-0,02 (-0,04-(-0,004))	91,972 (33,850-174,949)
	4	279 (71-456) [§]	267 (79-449) [§]	0,07 (0,02-0,13)	-0,03 (-0,04-(-0,007))	194,536 (55,987-350,648) [§]
	5	204 (17-390)	214 (16-359)	0,05 (0,01-0,26)	-0,02 (-0,09-(-0,01))	183,220 (12,493-249,104)
	6	174 (12-516)	189 (10-470)	0,06 (0,01-0,12)	-0,03 (-0,12-(-0,004))	137,646 (7,157-349,933)
	7	234 (7-607)	233 (7-629)	0,05 (0,01-0,14)	-0,02 (-0,06-(-0,004))	171,040 (7,390-516,283)
#6	0	169 (50-238)	174 (54-238)	0,04 (0,01-0,05)	-0,02 (-0,08-(-0,01))	123,784 (58,267-172,622)
	4	353 (103-616) [§]	345 (106-627) [§]	0,1 (0,03-0,12) [§]	-0,03 (-0,05-(-0,01))	221,676 (76,720-495,116)
	5	268 (43-602) [§]	265 (39-574) [§]	0,06 (0,03-0,22)	-0,03 (-0,09-(-0,02))	210,482 (32,358-483,356) [§]
	6	95 (6-622)	143-6-599	0,03 (0,01-0,15)	-0,02 (-0,09-(-0,005))	109,118 (3,250-436,456)
	7	283 (6-837)	293 (6-855)	0,07 (0,01-0,21)	-0,04 (-0,1-(-0,005))	227,003 (7,056-686,523)
#7	0	128 (25-222)	136 (27-224)	0,03 (0,01-0,07)	-0,02 (-0,05-(-0,008))	101,426 (43,033-165,811)
	4	406 (163-494) [§]	379 (181-503) [§]	0,1 (0,05-0,13) [§]	-0,03 (-0,07-(-0,02))	252,944 (89,432-400,197) [§]
	5	202 (30-443)	203 (28-456)	0,05 (0,02-0,15)	-0,02 (-0,07-(-0,01))	165,327 (22,626-312,606)
	6	124 (16-562)	146 (15-527)	0,04 (0,01-0,13)	-0,02 (-0,1-(-0,008))	124,450 (10,217-384,049)
	7	237 (5-868)	283 (6-589)	0,07 (0,01-0,16)	-0,05 (-0,08-(-0,003))	274,248 (6,940-713,203)
#8	0	136 (55-263) [*]	148 (61-272) [*]	0,03 (0,02-0,05)	-0,02 (-0,07-(-0,004))	106,198 (47,069-199,476) [*]
	4	401 (155-562) [§]	359 (158-575) [§]	0,09 (0,03-0,27) [§]	-0,03 (-0,08-(-0,02)) [§]	242,630 (103,758-458,734) [§]
	5	180 (21-460)	186 (20-447)	0,04 (0,01-0,42)	-0,03 (-0,11-(-0,008))	145,928 (16,283-324,854)
	6	154 (13-528)	149 (12-509)	0,04 (0,01-0,16)	-0,04 (-0,13-(-0,01))	87,365 (8,257-371,118)
	7	229 (8-711)	238 (9-686)	0,05 (0,01-0,12)	-0,03 (-0,07-(-0,005))	185,518 (9,350-567,925)

Abkürzungen: ROI = region of interest; Min/Max = Minimum/Maximum; AUC = Area under the curve; # = ROI Nummer;
^{*} = signifikante (p < 0,05) Veränderung zwischen der Kontrollgruppe und der 2. Messung;
[§] = signifikante (p < 0,05) Veränderung zwischen den Stauungsgruppen mit 4 - 7 Stunden venöser Stauung und der Kontrollgruppe ohne Stauung

Tab. 8: Deskriptive Ergebnisse der ICG-VA für die Messungen 5 nach einer Woche.

3.1.3.2 Diskriminatorische Fähigkeit des FLOW® 800-Analysertools zur Unterscheidung von vitalen und nekrotischen Gewebearealen im Rahmen des freien mikrovaskulären Gewebetransfers

Für die Untersuchung der diskriminatorischen Fähigkeit des Analysertools wurde die Anzahl der im Rahmen der zweiten Flussanalyse generierten FLOW® 800-Werte zur Steigerung der Aussagekraft durch entsprechende ICG-Werte aus bereits zuvor an 44 Ratten, unter exakt gleicher operativer Vorgehensweise und identischem Versuchsaufbau, erfolgten FLOW® 800-Flussanalysen ergänzt. In Summe erfolgten hierbei nach der Transplantathebung und -repositionierung in 474 ROIs Perfusionsanalysen im Bereich des epigastrischen Lappens. Um eine Vereinheitlichung und bessere Abgrenzung der Ergebnisse zu ermöglichen, wurden für diese Untersuchung von den insgesamt acht standardisiert positionierten ROIs im Bereich des epigastrischen Lappens nur sechs ROIs je Transplantat in gleicher Anordnung berücksichtigt. Anschließend erfolgte ausschließlich ein Vergleich der in diesen sechs ROIs mithilfe der FLOW® 800-Perfusionsanalyse ermittelten max. und min. ICG-Intensitäten mit dem klinischen Zustand des Transplantats in den ROIs eine Woche nach erfolgter Lappenhebung. Hierbei konnten in 322 von insgesamt 474 ROIs (67,93 %) im klinischen Verlauf vitale Transplantatareale mit hohen korrespondierenden Werten für die maximal gemessene ICG-Intensität zum Zeitpunkt der Evaluation (Messung 2) beobachtet werden. Der errechnete Mittelwert lag bei 83,39 arbiträren Einheiten (AU für engl. arbitrary units) mit einer Standardabweichung von $\pm 50,96$ AU (SD). Die restlichen 152 ROIs (32,07 %) zeigten nach einer Woche hingegen nekrotische Veränderungen des Transplantatgewebes und waren mit niedrigeren maximalen ICG-Intensitäten in der Perfusionsanalyse sieben Tage zuvor assoziiert. Die deskriptive statistische Auswertung ergab einen Mittelwert von 37,33 AU und eine SD von $\pm 15,14$ AU. Der statistische Unterschied dieser beiden Mittelwerte für die ICG-Intensität in ROIs mit im Verlauf vitaler bzw. nekrotischer Transplantatoberfläche war bei Anwendung des Mann-Whitney-U-Tests signifikant ($p < 0,05$) und verdeutlichte somit die diskriminatorische Fähigkeit des FLOW® 800-Analysertools hinsichtlich einer Unterscheidung von vitalen und nekrotischen Gewebearealen auf Basis der intraoperativ ermittelten ICG-Intensität (Abb. 26 und Tab. 9).

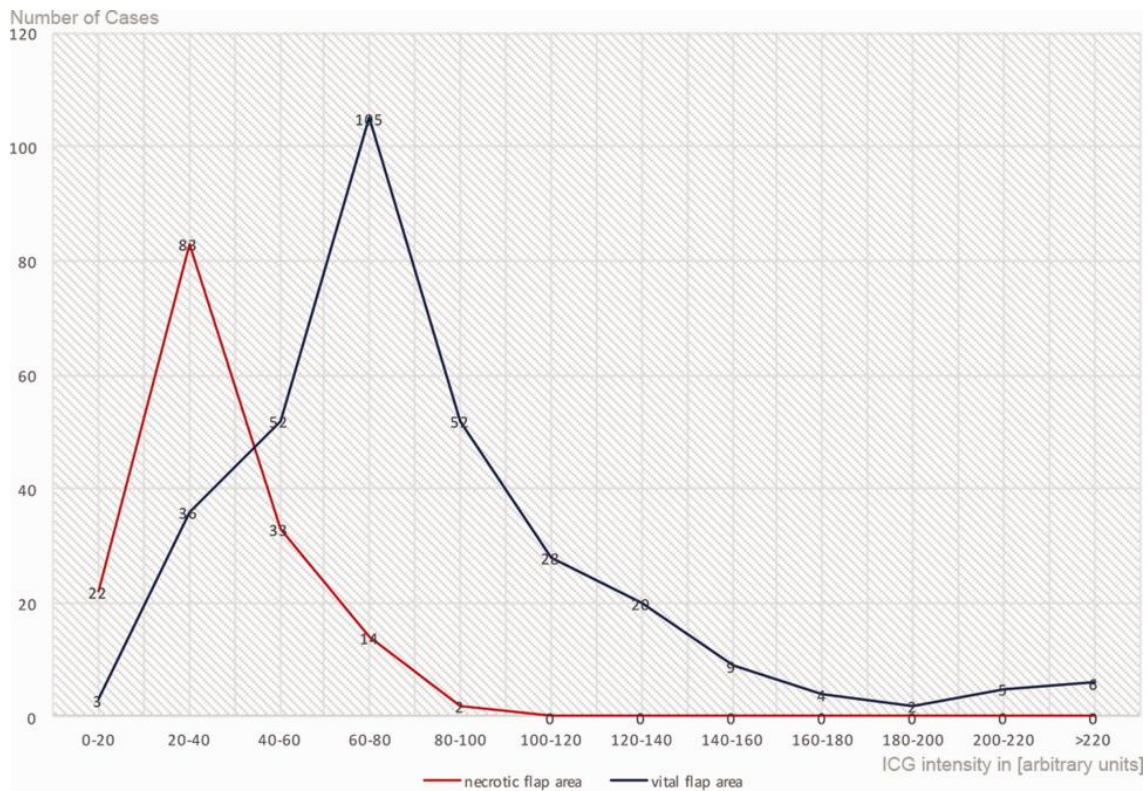


Abb. 26: Statistische nichtparametrische Analyse der Korrelation von ICG-Intensität und vitaler bzw. nekrotischer Transplantatfläche. Die Graphik zeigt die Verteilung der in den 6 ROIs gemessenen min. und max. ICG-Intensitäten hinsichtlich der klinisch beobachteten Transplantatvitalität. Dabei korrespondierten vitale Gewebeareale mehrheitlich mit höheren ICG-Intensitäten, wohingegen nekrotische Transplantatzonen mit niedrigeren Intensitätsleveln assoziiert waren.

Transplantatfläche	Anzahl ROIs [n] (% der Transplantatfläche)	ICG-Intensität [AU]		p-Wert
		MW (±SD)	Max. / Min.	
Vital	322 (67,93 %)	83,39 (±50,96)	376,83 / 13,31	< 0,0001
Nekrotisch	152 (32,07 %)	37,33 (±15,14)	37,33 / 9,22	

Abkürzungen: ICG = Indocyaningrün; SD = Standardabweichung; AU = arbiträre Einheiten

Tab. 9: Statistischer Vergleich der mittleren ICG-Intensität von ROIs mit vitaler und nekrotischer Transplantatfläche auf Basis des Mann-Whitney-U-Tests.

3.1.4 Langfristige Auswirkung unterschiedlicher venöser Stauungsintervalle auf die Transplantatvitalität

Die Untersuchung der langfristigen Auswirkungen einer venösen Stauung auf die Transplantatvitalität zeigte mit zunehmender Dauer des Stauungsintervalls einen kontinuierlichen Anstieg der Inzidenz von Transplantatnekrosen und eine

Zunahme der Fläche der Nekroseareale. Im klinischen Verlauf kam es zudem unter länger anhaltender venöser Kompromittierung zu einer stetig zunehmenden zyanotischen Oberflächenverfärbung im Bereich der Hautinsel des epigastrischen Lappens (Abb. 27). Gegenüber der Kontrollgruppe ohne venöse Stauung stieg die Anzahl der Tiere mit nekrotischem Transplantatgewebe nach einwöchiger Beobachtungsphase in der Gruppe mit vier Stunden Stauung auf 3 von 7, in der mit fünf und sechs Stunden Stauung auf 5 von 7 sowie in der mit sieben Stunden Stauung auf 6 von insgesamt 7 Tieren an (1/7, 3/7, 5/7, 5/7 und 6/7). Proportional dazu wiesen die Nekrosezonen mit zunehmender Dauer der anhaltenden venösen Stauung eine größere Ausdehnung auf. Während die mediane Nekrosefläche in der Kontrollgruppe und der 4h-Gruppe bei 0 mm² (0,00 – 100,06 und 0,00 – 86,88 respektive) lag, belief sie sich in der 5h-Gruppe auf 84,88 mm² (0,00 – 263,24), in der 6h-Gruppe auf 133,16 mm² (0,00 – 997,98) und in der 7h-Gruppe auf 596,74 mm² (0,00 – 1005,82). Insbesondere ab einer anhaltenden venösen Stauung über fünf Stunden nahm die Inzidenz und Fläche der Transplantatnekrosen, verglichen mit der Kontrollgruppe, signifikant zu (p = 0,037 und p = 0,04 respektive) (Tab. 10).

Venöses Stauungsintervall [h]	Inzidenz von Transplantatnekrosen je Gruppe (x/7)	Nekrosefläche Median (Min - Max) [mm ²]	p-Wert für Nekrose-Inzidenz	p-Wert für Nekrosefläche
0	1/7	0,0 (0 - 100,06)	/	/
4	3/7	0,0 (0 - 86,88)	0h vs. 4h p = 0,25	0h vs. 4h: p = 0,38
5	5/7	84,88 (0 - 263,24)	0h vs. 5h p = 0,04 * 4h vs. 5h p = 0,29	0h vs. 5h: p = 0,04 * 4h vs. 5h: p = 0,13
6	5/7	133,16 (0 - 997,98)	0h vs. 6h p = 0,04 * 4h vs. 6h p = 0,3 5h vs. 6h p = 1	0h vs. 6h: p = 0,02 * 4h vs. 6h: p = 0,05 * 5h vs. 6h: p = 0,48
7	6/7	596,74 (0 - 1005,82)	0h vs. 7h p = 0,001 * 4h vs. 7h p = 0,11 5h vs. 7h p = 0,53 6h vs. 7h p = 0,53	0h vs. 7h: p = 0,01 * 4h vs. 7h: p = 0,01 * 5h vs. 7h: p = 0,02 * 6h vs. 7h: p = 0,14
* signifikante (p < 0.05) Zunahme der Nekrosefläche (Berechnung mittels Mann-Whitney-U-Test)				

Tab. 10: Deskriptive statistische Analyse der Inzidenz und Fläche von Transplantatnekrosen im Bereich des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe sowie nach 4, 5, 6 und 7 Stunden venösem Stauungsintervall in den anderen Versuchsgruppen.

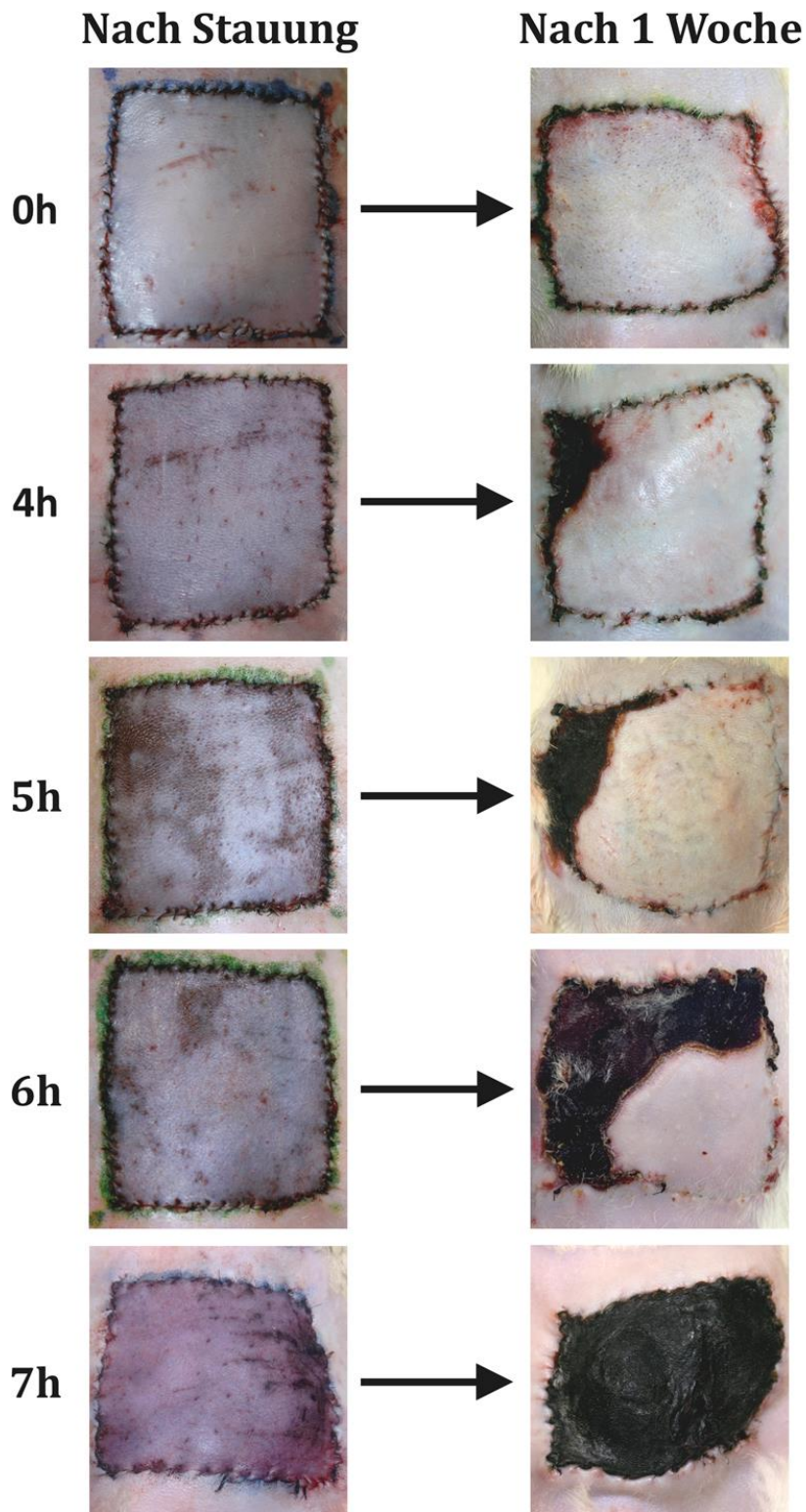


Abb. 27: Beispielhafte Darstellung langfristiger Auswirkungen unterschiedlicher venöser Stauungsintervalle auf die Inzidenz und Ausdehnung von Transplantatnekrosen. Repräsentativer klinischer Verlauf nach Hebung, Repositionierung und einwöchiger Einheilung des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe (0h) sowie in den Versuchsgruppen mit zusätzlich 4, 5, 6 und 7 Stunden venöser Stauung im Bereich der V. epigastrica sup. (4 - 7h).

3.2 Ergebnisse der explorativen Statistik

Im Rahmen der explorativen Statistik wurde mithilfe einer Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse zur Grenzwertoptimierung und einer anschließenden Bestimmung des Youden-Index untersucht, ob die Vorhersage einer Transplantatnekrose auf Grundlage eines statistisch ermittelten Grenzwertes (engl. cutoff value) für die jeweiligen Perfusionsparameter der angewendeten Untersuchungsmodalitäten (ICG-VA mit FLOW® 800-Analysetool und O2C®) möglich ist und mit welcher Sensitivität sowie Spezifität diese Prädiktion erfolgen kann. Die statistische Überprüfung wurde diesbezüglich sowohl für die ICG-Perfusionsanalysen in der Kontrollgruppe ohne venöse Stauung als auch für die O2C®- und FLOW® 800-Parameter in den Stauungsgruppen mit 4 – 7 Stunden venöser Stauung durchgeführt.

3.2.1 Prädiktion von Transplantatnekrosen auf Grundlage einer FLOW® 800-Perfusionsanalyse nach initialer Transplantathebung und -repositionierung

Für die Untersuchung der prädiktiven Fähigkeit, eine zuverlässige Vorhersage über die etwaige Entstehung von Nekrosezonen auf Basis eines spezifischen Grenzwertes in der postoperativen Transplantatevaluation tätigen und somit den Langzeiterfolg des rekonstruktiven Eingriffs abschätzen zu können, wurden in der Kontrollgruppe ausschließlich die Parameter der ICG-Flussanalysen berücksichtigt. Hierbei folgte auf die Repositionierung des epigastrischen Lappens im Wundbett keine venöse Stauung des Transplantats, sodass zunächst die Korrelation zwischen Veränderungen der max. ICG-Intensität in der FLOW® 800-Analyse und dem klinischen Zustand der jeweiligen Geweberegion nach einer Woche isoliert betrachtet werden konnte. Die ROC curve Analyse und Bestimmung des Youden-Index ergaben für die maximale ICG-Intensität, welche mithilfe der FLOW 800-Perfusionsanalyse im Rahmen der zweiten Messung nach Transplantathebung und –repositionierung ermittelt wurde, einen Grenzwert von 61,733 AU für die Vorhersage einer Transplantatnekrose. Bei Werten $\leq 61,733$ AU für die max. ICG-Intensität wurde in der untersuchten ROI eine Nekroseentstehung nach einer Woche angenommen, während Werte $> 61,733$ AU eine Einheilung der entsprechenden Transplantatregion mit vitaler Hautoberfläche bedeuten ($P < 0,0001$; 95 % CI = 0,85 – 0,91; Youden-Index: 0,67) (Abb. 28). Basierend auf

diesem Grenzwert für die maximale ICG-Intensität wurde das Auftreten einer Transplantatnekrose in 146 von insgesamt 152 Fällen korrekt vorhergesagt (96,1 % Spezifität). Vitale Transplantatregionen wurden mithilfe der im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse bestimmten max. ICG-Intensität in 230 von insgesamt 322 Flussmessungen korrekt prädiktiv zugeordnet (71,4 % Sensitivität). Der positive prädiktive Wert lag bei 97,46 % und der negative prädiktive Wert bei 61,34 % (siehe Tab. 11).

Max. ICG-Intensität nach Transplantathebung (ohne venöse Stauung)

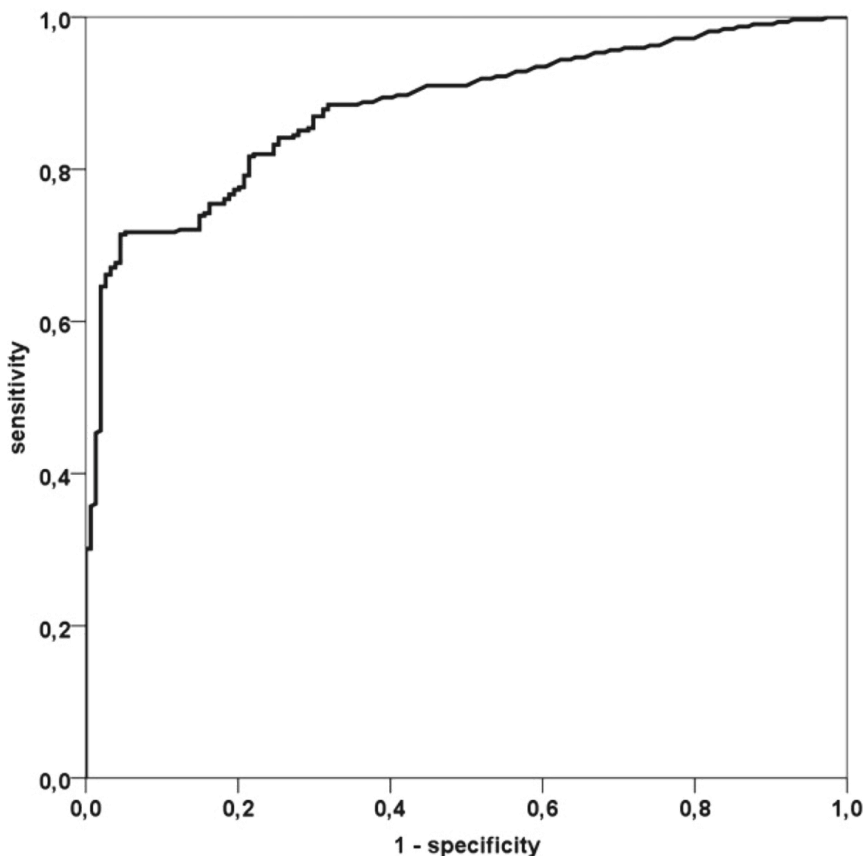


Abb. 28: ROC-Analyse für die max. ICG-Intensität im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse zur Bestimmung des optimalen Vorhersagegrenzwertes. Die Grenzwertoptimierungskurve wurde aus mehreren Wertepaaren bestehend aus Sensitivität und 1-Spezifität generiert und ermöglichte gemeinsam mit der Bestimmung des Youden-Index die Festlegung eines Grenzwertes (cutoff value) zur Vorhersage von Transplantatnekrosen. Die analysierten ICG-Werte beziehen sich hierbei auf die zweite Messung nach Transplantathebung, d.h. ohne eine zuvor erfolgte venöse Stauung des epigastrischen Lappens.

FLOW® 800-Vorhersage	Vitale Transplantatareale [Anzahl der ROIs]	Nekrotische Transplantatareale [Anzahl der ROIs]	Vorhersagewert
Vital (mittlere ICG- Intensität > 61,733 AU)	230	37,33 (±15,14)	<i>97,46 % positiver prädiktiver Wert</i>
Nekrotisch (mittlere ICG- Intensität ≤ 61,733 AU)	92	37,33 (±15,14)	<i>61,34 % negativer prädiktiver Wert</i>
	71,4 % Sensitivität	96,1 % Spezifität	
Abkürzungen: AU = arbiträre Einheiten; ROI = region of interest; ICG = Indocyaningrün			

Tab. 11: Korrelation der max. ICG-Intensität und des klinischen Zustands des Transplantats unter Angabe der Sensitivität, der Spezifität sowie des positiven und negativen prädiktiven Wertes für die Vorhersage einer Nekrose. Die Grenzwert-assoziierte FLOW® 800-Vorhersage bezieht sich hierbei auf die im Rahmen der zweiten Messung erhobenen ICG-Werte nach Transplantathebung in der Kontrollgruppe und den klinisch erhobenen Transplantatstatus nach einer Woche. Es sei angemerkt, dass eine venöse Stauung des epigastrischen Lappens wie in den anderen Gruppen nicht erfolgte und ein komplikationsfreier postoperativer Verlauf vorlag. Dementsprechend sind die in der Tabelle aufgeführten statistischen Parameter nur für die erstmalige postoperative Beurteilung des Transplantats nach erfolgtem Wundverschluss zulässig.

3.2.2 Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung mithilfe des FLOW® 800-Analysertools und der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie

Wie unter 3.2.1 beschrieben erfolgte im zweiten Abschnitt des explorativen Statistikteil in analoger Vorgehensweise die statistische Überprüfung der Validität und diskriminatorischen Fähigkeit des FLOW® 800-Analysertools und der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie. Die hierzu durchgeführte ROC-Analyse gab im Sinne einer Grenzwertoptimierungskurve unter Berücksichtigung der unterschiedlichen Parameter Aufschluss über die Genauigkeit der Vorhersage. Die von der Grenzwertoptimierungskurve eingeschlossene Fläche (AUC^{ROC} = area under the curve) zeigt als aussagekräftiger Parameter, wie korrekt die Zuordnung von Merkmalen (bspw. einzelnen Werten für einen Perfusionsparameter) zu einer entsprechenden Klasse (Vorhersage einer Transplantatnekrose) erfolgt. Nahe bzw. auf der diagonalen Referenzlinie angeordnete Wertepaare entsprechen in diesem Zusammenhang einem Zufallsprozess und erlauben keine valide Vorhersage. Dabei strebt der Wert der Fläche unter der Kurve (AUC^{ROC}) gegen 0,5. Die gezielte und hundertprozentig korrekte Zuordnung von Merkmalen wird im Rahmen der ROC-

Analyse mit einem Wert von 1 gleichgesetzt. In Ergänzung wurde der Youden Index und anschließend der optimale Vorhersagegrenzwert (engl. cutoff value) samt Sensitivität und Spezifität berechnet.

Für die Grenzwertbestimmung mithilfe der ROC-Analyse und des Youden Index wurden zwei der insgesamt drei Untersuchungsmodalitäten (ICG-VA mit FLOW® 800-Analysetool und O2C®) hinsichtlich ihrer Parameter in der ersten und vierten Messung verglichen sowie mit dem Ergebnis der klinischen Evaluation der Transplantatoberfläche nach einer Woche korreliert. Die Durchführung einer ROC-Analyse für die O2C®-Perfusionsparameter in der Kontrollgruppe war aufgrund fehlender Nekroseinzidenz im Transplantatzentrum nicht möglich. Die Messwerte für die relative Hämoglobinkonzentration in der oberflächlichen sowie tiefer gelegenen Gewebeschicht des epigastrischen Lappens (S und D) waren nach 4 Stunden venöser Stauung mit AUC^{ROC} -Werten von 0,542 bzw. 0,5 respektive und somit einer schwachen Aussagekraft hinsichtlich der Vorhersage einer Transplantatnekrose versehen (95 % Konfidenzintervall (CI): 0,084 – 0,999 bzw. 0,000 – 1,0 respektive). Die statistische Analyse ergab für den Einsatz der Gewebe-Photospektrometrie mittels O2C® einen optimalen Hämoglobin (Hb)-Grenzwert von ≥ 85 (S) bzw. $\geq 141,5$ (D) arbiträren Einheiten zur Vorhersage einer Nekrose. Für die Sauerstoffsättigung (SO_2) lag der Vorhersagegrenzwert nach 5 Stunden venösem Stauungsintervall bei ≥ 3 (S) bzw. $\geq 43,5$ (D) arbiträren Einheiten (AU) (Abb. 29 und Tab. 12).

Für die im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse erhobenen Parameter erstes Max. und AUC^{ICG} ergab die ROC-Analyse in der Kontrollgruppe AUC^{ROC} -Werte von 0,865 bzw. 0,942 respektive und somit eine sehr gute Aussagekraft für die Prädiktion von Transplantatnekrosen auf Grundlage dieser ICG-Werte (95 % CI: 0,679 – 1,0 bzw. 0,853 – 1,0 respektive). Dabei wies die statistische Analyse für die Perfusionsparameter erstes Max. und AUC^{ICG} Vorhersagegrenzwerte von $\leq 37,8$ bzw. 50,300 arbiträre Einheiten für die Prädiktion einer Transplantatnekrose auf. In der Versuchsgruppe mit vier Stunden venösem Stauungsintervall ergab die ROC-Analyse für die zuvor genannten Parameter AUC^{ROC} -Werte von 0,661 (95 % CI: 0,489 – 0,834) bzw. 0,659 (95 % CI: 0,482 – 0,835) respektive und brachte eine vergleichsweise moderate Aussagekraft für die Nekroseprädiktion in dieser Stauungsgruppe zum Ausdruck. Die ermittelten optimalen Grenzwerte beliefen

sich für das erste Maximum auf 119,7 bzw. für die Fläche unter der Kurve (AUC^{ICG}) auf 88,131. Ergab die FLOW® 800-Perfusionsanalyse für diese beiden Parameter nach Ablauf des venösen Stauungsintervalls Werte $\leq 119,7$ arbiträre Einheiten, erlaubte dies die Vorhersage einer nekrotischen Gewebeveränderung in der finalen klinischen Evaluation nach einer Woche. Nach sechs Stunden venöser Stauung lag der AUC^{ROC} -Wert für beide Parameter bei 0,787 (95 % CI: 0,65 – 0,915) bzw. 0,781 (95 % CI: 0,648 – 0,915) arbiträren Einheiten respektive und wies damit eine hohe Aussagekraft auf. Die korrespondierenden, statistisch ermittelten Vorhersagegrenzwerte ließen bei FLOW® 800-Messwerten $\leq 45,2$ bzw. 9,381 arbiträren Einheiten die Prädiktion einer Transplantatnekrose zu (Abb. 30 und Tab. 13).

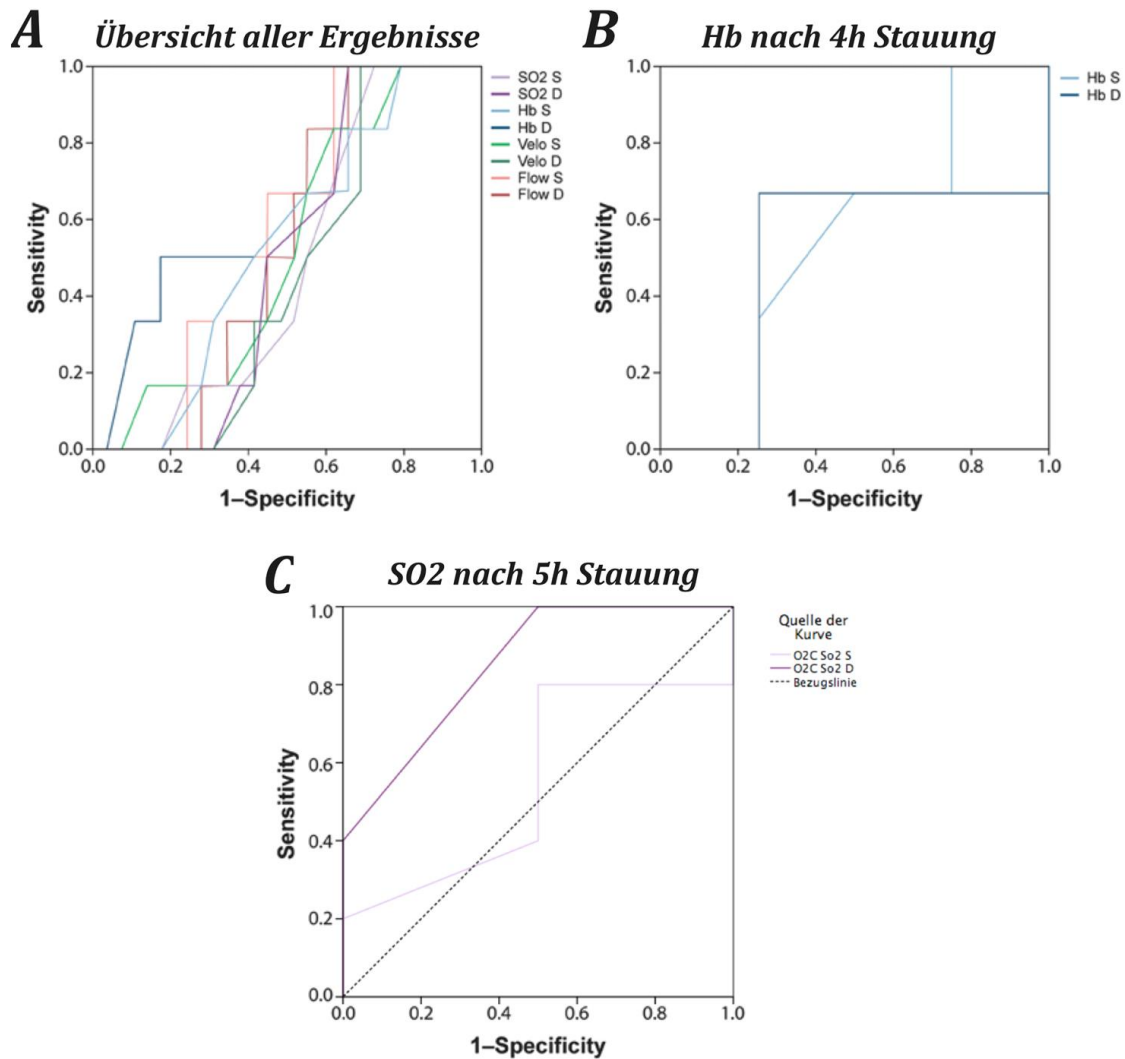


Abb. 29: ROC-Analyse ROC für die O2C®-Perfusionsevaluation zur Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung. Dargestellt sind die Grenzwertoptimierungskurven für alle Parameter zur Übersicht (A), sowie gesondert für die relative Hämoglobinkonzentration (Hb) und Sauerstoffsättigung (SO₂) nach 4 bzw. 5 Stunden venöser Stauung respektive (B und C). Die ROC-Analyse gibt Auskunft über die diskriminatorische Fähigkeit der Gewebe-Photospektrometrie und überprüft, wie zuverlässig die Vorhersage einer Nekrose mit der tatsächlichen klinischen Situation korreliert. Die Bezugslinie in C dient zur Beurteilung der AUC^{ROC} und weist als Referenzwert für eine niedrige Vorhersagevalidität der Wert 0,5 auf.

Parameter	4 Stunden venöse Stauung		5 Stunden venöse Stauung	
	Hb (Hämoglobinkonzentration)		SO ₂ (Sauerstoffsättigung)	
	S	D	S	D
AUC ^{ROC}	0,542	0,500	0,550	0,850
95 % CI	0,084 – 0,999	0,0 – 1,0	0,63 – 0,827	0,083 – 0,992
Grenzwert [AU]	85	141,5	3	43,5
Youden Index	0,25	0,417	0,3	0,5
Sensitivität [%]	100	66,7	80	100
Spezifität [%]	25,0	75,0	50	50
PPW [%]	57,1	72,7	61,5	66,7
NPW [%]	100	69,3	71,4	100
Abkürzungen: AUC ^{ROC} = area under the curve in der ROC-Analyse; CI = Konfidenzintervall; PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; S/D = relative Hämoglobinkonzentration bzw. Sauerstoffsättigung in der oberflächlichen und tiefer gelegenen Gewebeschicht				

Tab. 12: Ergebnisse der ROC-Analyse für die O2C®-Perfusionsevaluation mit Bestimmung des Youden Index und des daraus resultierenden optimalen Vorhersagegrenzwertes. Die Angabe der statistischen Prüfparameter erfolgt für die relative Hämoglobinkonzentration (S und D) nach 4 Stunden sowie für die Sauerstoffsättigung (S und D) nach 5 Stunden venöser Stauung. Zusätzlich sind die auf Basis des Grenzwertes berechnete Sensitivität und Spezifität aufgeführt.

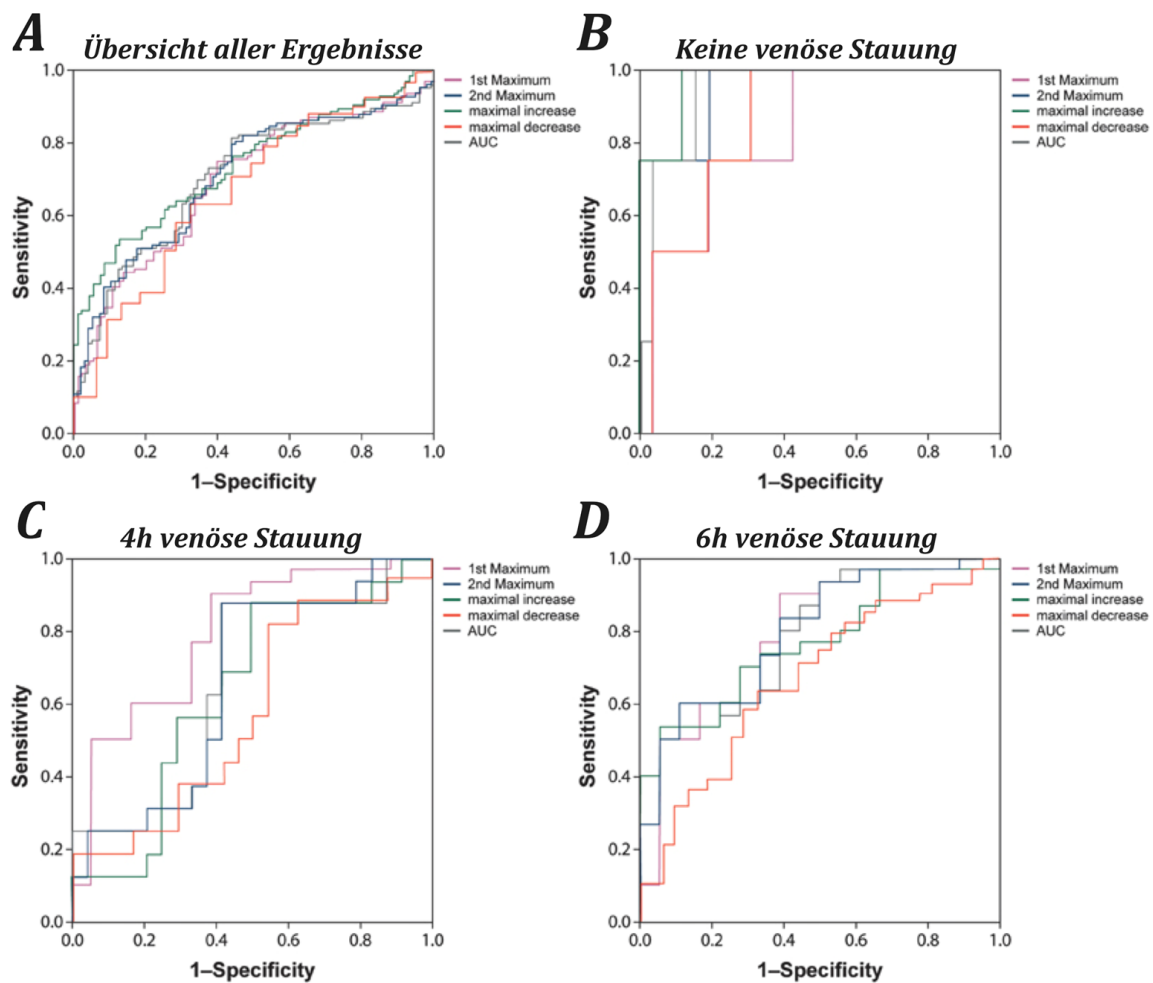


Abb. 30: ROC-Analyse für die ICG-VA mit FLOW® 800-Perfusionsanalyse zur Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung. Dargestellt sind die Grenzwertoptimierungskurven für alle Parameter zur Übersicht (A), sowie gesondert für die ICG-Flussmessungen nach 0, 4 bzw. 6 Stunden venöser Stauung (B, C und D). Die ROC-Analyse gibt Auskunft über die diskriminatorische Fähigkeit des FLOW® 800-Analysertools, einen drohenden nekrotischen Transplantatverlust anhand eines definierten Grenzwertes zuverlässig vorherzusagen. In der Kontrollgruppe ergab die FLOW® 800-Perfusionsanalyse für die Parameter erstes Max. und AUC^{ICG} aussagekräftige Werte, welches sich in der ROC-Analyse anhand relativ hoher AUC^{ROC} -Werte von 0,865 bzw. 0,942 respektive zeigte. Die Aussagekraft für die Prädiktion von Transplantatnekrosen auf Grundlage dieser ICG-Werte erwies sich somit als hoch.

Parameter	Venöse Stauung					
	Kontrollgruppe		4 Stunden Stauung		6 Stunden Stauung	
	1. Max.	AUC ^{ICG}	1. Max.	AUC ^{ICG}	1. Max.	AUC ^{ICG}
AUC ^{ROC}	0,865	0,942	0,661	0,659	0,787	0,781
95 % CI	0,679–1,0	0,853–1,0	0,489–0,834	0,482–0,835	0,65–0,924	0,648–0,915
Grenzwert [AU]	37,8	50,300	119,7	88,131	45,2	9,381
Youden Index	0,712	0,846	0,458	0,458	0,511	0,477
Sensitivität [%]	75	100	87,5	87,5	90	53,3
Spezifität [%]	96,2	84,6	58,3	58,3	61,1	94,4
PPW [%]	95,2	39,4	67,7	67,7	69,8	90,5
NPW [%]	79,4	100	82,3	82,3	85,9	66,9
Abkürzungen:						
AUC ^{ROC} = area under the curve in der ROC-Analyse; CI = Konfidenzintervall; PPW = positiver prädiktiver Wert; NPW = negativer prädiktiver Wert; Max. = Maximum; AUC ^{ICG} = area under the curve in der FLOW [®] 800-Analyse						

Tab. 13: Ergebnisse der ROC-Analyse für ausgewählte Parameter der FLOW[®] 800-Perfusionsanalyse mit Bestimmung des Youden Index und des daraus resultierenden optimalen Vorhersagegrenzwertes. Die Angabe der statistischen Prüfparameter erfolgt für die maximale ICG-Intensität nach initialem Signalanstieg (1. Max.) und die Fläche unter der FLOW[®] 800-Analysekurve für die Messungen nach 4 bzw. 6 Stunden venöser Stauung des epigastrischen Lappens. Die ermittelten Werte für Sensitivität und Spezifität basieren auf den jeweiligen Grenzwerten der einzelnen FLOW[®] 800-Perfusionsparameter zur Vorhersage einer Transplantatnekrose.

4 Diskussion

4.1 Auswirkungen einer venösen Stauung auf die Transplantatvitalität

Der erfolgreiche freie Gewebettransfer im Rahmen eines rekonstruktiven Eingriffs hängt in entscheidendem Maße von einer adäquaten Perfusion des transplantierten Gewebes ab. Ist die Versorgung des freien mikrovaskulären Transplantats kompromittiert, kann dies insbesondere in den ersten postoperativen 72 Stunden zu einem nekrotischen Verlust des Gewebes und somit, wie unter 1.1.2 beschrieben, zu einer deutlichen Verschlechterung des funktionellen sowie ästhetischen Ergebnisses führen (Wolff et al., 2008; Mücke et al., 2011; Wu et al., 2014; Chiu et al., 2017). Neben einem für den Patienten belastenden Zweiteingriff mit ggf. erneuter Transplantathebung steigen zudem die Aufenthaltsdauer im Krankenhaus sowie die damit verbundenen Kosten für die medizinische Versorgung an (Masoomi et al., 2014; Ricci et al., 2017). In über der Hälfte der postoperativen Komplikationen ist eine venöse Stauung im Bereich der Transplantatvene ursächlich für die gestörte Gewebepfusion und erfordert eine operative Reexploration (Bui et al., 2007; Wu et al., 2014). Die in der Literatur beschriebene sog. "salvage rate" von 20 – 25 %, d. h. der Anteil an operativen Reexplorationen mit zumeist erfolgreicher Revision und Restitution der Transplantatperfusion, hängt hierbei entscheidend von einer frühzeitigen Detektion der venösen Stase sowie einer möglichst umgehenden Einleitung der Reexploration ab und variiert stark (Bui et al., 2007; Mirzabeigi et al., 2012; Bigdeli et al., 2018; Perng et al., 2018). Die Kontrolle der Transplantatvitalität wird im Rahmen des postoperativen Monitorings durch unterschiedliche etablierte technische Verfahren zur Perfusionsevaluation gewährleistet und erfolgt in größeren klinischen Zentren mit hoher Fallzahl als fester Bestandteil der intensivmedizinischen Versorgung bereits in regelmäßigen Abständen unmittelbar im Anschluss an die Operation (Ricci et al., 2017). Primäres Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die langfristigen Auswirkungen einer venösen Stauung auf die Transplantatperfusion und -vitalität zu untersuchen sowie hinsichtlich unterschiedlich lang anhaltender venöser Stauungsintervalle einen kritischen Zeitpunkt zu definieren, ab dem ein stauungsbedingter nekrotischer Gewebeschaden trotz erfolgreicher Reexploration mit Wiederherstellung des

venösen Abflusses nicht mehr abgewendet werden kann. Die statistische Analyse der Untersuchungsergebnisse zeigte in diesem Zusammenhang für die Versuchsgruppe mit 5 Stunden venöser Stauung im Bereich der V. epigastrica sup. bereits einen signifikanten Anstieg der Nekroseinzidenz und -fläche, verglichen mit der Kontrollgruppe ohne venösen Verschluss ($p = 0,04$ und $p = 0,02$ respektive) (Abb. 31 A). Auch in der Versuchsgruppe mit sieben Stunden venöser Stauung kam es zu einem signifikanten Anstieg sowohl der Nekroseinzidenz im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,001$), als auch der Nekrosefläche bezogen auf die Ausdehnung der Transplantatnekrosen nach 4 bzw. 5 Stunden venösem Stauungsintervall ($p = 0,01$ und $p = 0,02$ respektive) (Tab. 10 und Abb. 31 B).

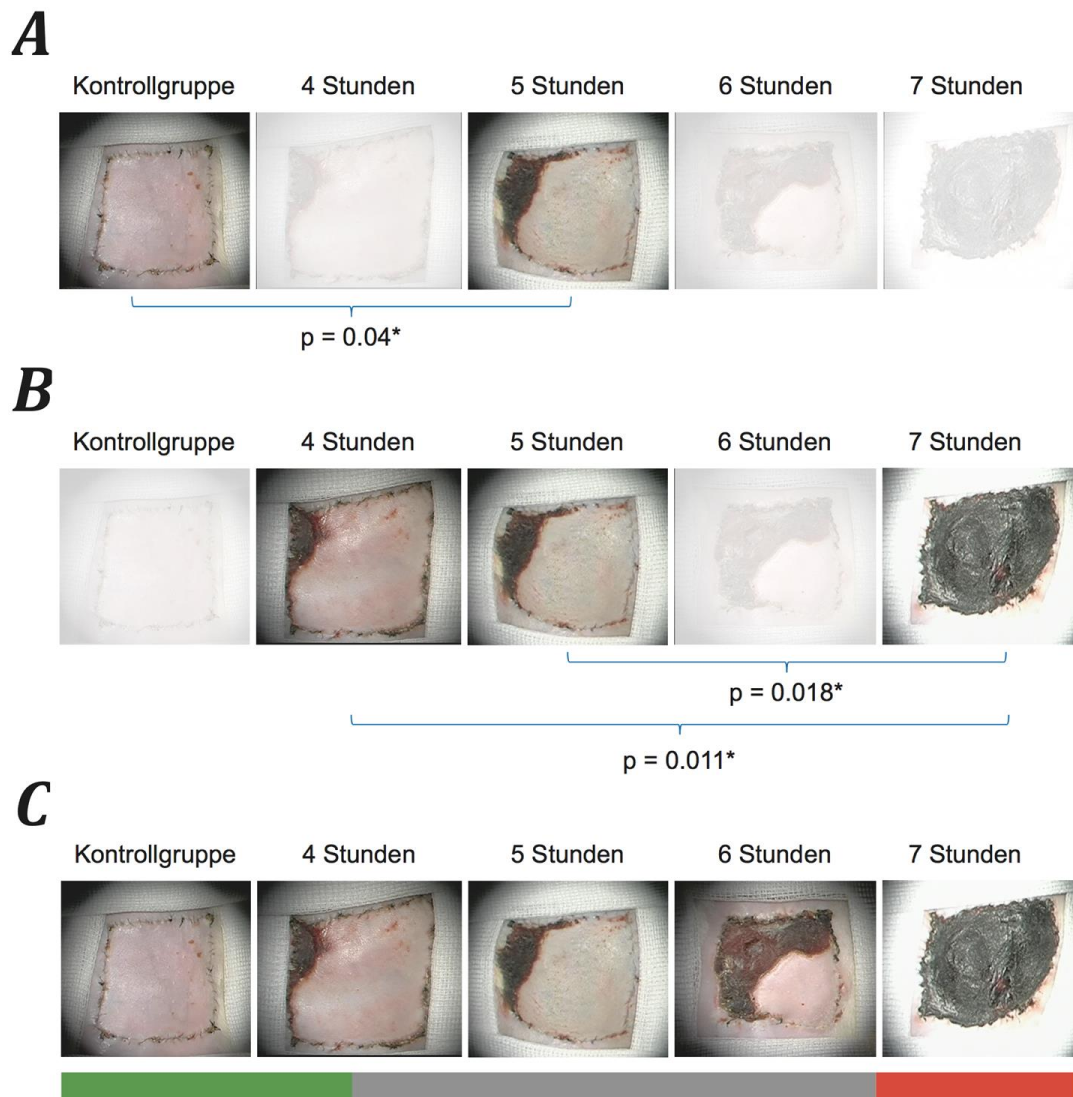


Abb. 31: Statistischer Vergleich von Nekroseinzidenz und -fläche nach variierenden venösen Stauungsintervallen. (v.l.n.r.) Dargestellt ist der intraoperative, klinische Zustand der unterschiedlich lang gestauten Transplantate nach einer Woche in der Kontrollgruppe sowie der 4 Stunden-, 5 Stunden-, 6 Stunden- und 7 Stunden-Stauungsgruppe. (A) Verglichen mit der Kontrollgruppe ohne Kompromittierung des venösen Abflusses kam es bereits nach 5 Stunden venöser Stauung zu einem signifikanten Anstieg der Nekroseinzidenz und -fläche ($p = 0,04$ und $p = 0,02$ respektive). (B) Nach 7 Stunden venöser Stauung nahmen sowohl die Nekroseinzidenz im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,001$), als auch die Ausdehnung der Nekrosefläche zu ($p = 0,011$ und $p = 0,018$ verglichen mit der 4 bzw. 5 Stunden-Stauungsgruppe respektive). (C) Für die Stauungstoleranz des Transplantats ergibt sich somit ein kritisches Zeitfenster von bis zu maximal 4 Stunden (*grüner Balken*). Wird dieser Zeitpunkt im Rahmen der venösen Stauung überschritten, muss trotz erfolgreicher "salvage operation" eine irreversible Beeinträchtigung des langfristigen rekonstruktiven Ergebnisses angenommen werden. Nach 7 Stunden venöser Stauung ist ein vollständiger nekrotischer Verlust des Transplantats zu erwarten (*roter Balken*).

Im Rahmen der Flussanalysen mittels Transit Flowmeter an der V. epigastrica sup. konnte zudem gezeigt werden, dass die venöse Stauung mit einer nachhaltigen Störung der gesamten Gewebepfusion assoziiert war und letztlich in einem Kollaps der Mikrozirkulation im Bereich der kapillären Endstromgebiete des Transplantats resultierte (Black et al., 1978; Abdel-Galil et Mitchell, 2009b). Die Werte für das ermittelte arterielle sowie venöse Blutflussvolumen im Bereich der epigastrischen Gefäße waren auch nach einer Woche noch signifikant reduziert in den Versuchsgruppen mit 6 bzw. 7 Stunden venösem Stauungsintervall (Tab. 3). Diese Beobachtung wird in der Literatur u.a. mit dem "no-reflow"-Phänomen begründet, welches eine ischämiebedingte Veränderung der Transplantatphysiologie mit Kompromittierung der vaskulären Zirkulation trotz technisch adäquatem mikrochirurgischem Anschluss der Transplantatgefäße beschreibt (May et al., 1978; Douglas et al., 1987; Frick et al., 1992; Pang et Forrest, 1995; Abdel-Galil et Mitchell, 2009b). Während der venösen Stauung bewirkt der persistierende arterielle Zustrom zusätzlich einen Anstieg des intravasalen Perfusionsdrucks im Transplantatkreislauf und einen konsekutiv erhöhten interstitiellen Flüssigkeitsaustritt, welcher seinerseits wiederum zu einem gesteigerten extravasalen Druck mit daraus folgendem Kollaps des mikrovaskulären Gefäßsystems führt (Hjortdal et al., 1992; Nguyen et al., 2013). Unter Berücksichtigung der diskutierten Versuchsergebnisse ist davon auszugehen, dass bei venösen Stauungsintervallen von bis zu 4 Stunden eine langfristige komplikationsfreie Einheilung des freien mikrovaskulären Transplantats, nach operativer Behebung des kompromittierenden Events sowie Restitution des venösen Abflusses, noch erzielt werden kann. Wird diese kritische 4-Stunden-Marge zeitlich überschritten, muss von einer nachhaltigen Schädigung des Transplantats im Sinne eines nekrotischen Gewebeverlusts ausgegangen werden. In der Folge bedeutet dies, dass die rekonstruktive Defektdeckung mithilfe eines erneuten freien Gewebetransfers oder alternativer Verfahren, wie dem Einsatz eines gestielten Lappens oder der Durchführung eines verzögerten sekundären Wundverschlusses, erfolgen muss. Das rekonstruktive Ergebnis wird hierdurch, wie zu Anfang dargestellt, unter funktionellen und ästhetischen Aspekten nachträglich beeinträchtigt.

Harashina et al. konstatierten in einer 1977 veröffentlichten Studie zur Auswirkung der venösen Stauung auf die Transplantatvitalität, dass es bereits nach 4 Stunden zu einem stauungsbedingten Auftreten von Gewebenekrosen im Bereich der Hautinsel kam und definierten den kritischen Zeitpunkt, nachdem ein venös gestautes Transplantat zu 100 % nekrotisch wurde, mit 8 Stunden (Harashina et al., 1977). In Gegenüberstellung mit dem experimentellen Versuchsaufbau der vorliegenden Arbeit fanden die Untersuchungen durch Harashina et al. an einem abdominellen Hauttransplantat der Ratte der Größe 3,5 x 7 cm statt, die venöse Stauung wurde durch Ligieren der V. femoralis mit Nahtmaterial etabliert und es erfolgte nach Ablauf des venösen Stauungsintervalls sowie Resektion des ligierten Gefäßabschnittes eine mikrovaskuläre Anastomosierung der Vene. Im Rahmen des vorliegenden Versuchsaufbaus wurde auf eine mikrovaskuläre Anastomose des venösen Transplantatschenkels verzichtet, um einen zusätzlichen und möglicherweise verfälschenden Einfluss durch den mikrochirurgischen Eingriff zu vermeiden. Somit konnten eine traumatisch bedingte Endothelschädigung sowie weitere technische Fehler mit konsekutiver Stenosierung des Gefäßlumens als Fehlerquelle ausgeschlossen und ausschließlich der Effekt der venösen Stauung auf die Transplantatvitalität oberviert werden. Dennoch ist zu beachten, dass auch die Applikation des mikrovaskulären Acland®-Gefäßclips im Bereich der V. epigastrica sup. einen traumatischen Gefäßschaden bedingen kann, welcher nach Entfernung des Clips zu einer temporär anhaltenden Verengung des venösen Gefäßabschnittes führt. Auch der stenosierende Effekt des Vasospasmus sowie die daraus resultierende unkontrollierte Verlängerung der venösen Stase über das beabsichtigte Stauungsintervall hinaus können rückblickend nicht gänzlich ausgeschlossen werden und stellen bei jedem freien mikrovaskulären Gewebetransfer einen zusätzlichen Störfaktor dar (Chafin et al., 1999).

Diese Aspekte sollten im Rahmen der klinischen Anwendung Berücksichtigung finden und als eine Art Hilfestellung bei der Entscheidungsfindung, ob die Reexploration eines venös gestauten Transplantats noch ohne nachhaltigen Gewebeschaden möglich ist, fungieren. Allerdings sei angemerkt, dass die Übertragung und Interpretation dieser Erkenntnisse auf umfangreiche rekonstruktive Eingriffe am Menschen nur stark eingeschränkt zulässig ist, da die

hier diskutierten Ergebnisse und Zusammenhänge anhand einer tierexperimentellen Studie mit einer vergleichsweise kleinen Fallzahl sowie ausschließlich unter Berücksichtigung fasziokutaner Transplantate gewonnen wurden. Andererseits stellt der epigastrische Lappen der Ratte in der Erforschung mikrovaskulärer Fragestellungen aufgrund konstanter anatomischer und vergleichbarer kardiovaskulärer Verhältnisse nach wie vor den Goldstandard der mikrochirurgischen Grundlagenforschung dar (siehe 2.1). Eine kontextbezogene Einordnung der tierexperimentellen Erkenntnisse für die Durchführung des postoperativen Monitorings erfolgt im Weiteren unter 4.4.

4.2 Detektion einer venösen Transplantatstauung – Perfusionsevaluation mittels FLOW® 800-Analyssetool und O2C®

Die rechtzeitige Detektion einer venösen Transplantatstauung bleibt trotz der in der Fachliteratur vielseitig beschriebenen hohen Erfolgsquote für rekonstruktive Eingriffe mit freiem mikrovaskulärem Gewebetransfer und einer großen Anzahl an zur Verfügung stehenden technischen Verfahren zur Perfusionsevaluation weiterhin eine Herausforderung (Bergkvist et al., 2015; Matsumoto et al., 2017; Mücke et al., 2018). Die venöse Stauung samt ihrer pathophysiologischen Auswirkungen auf das transplantierte Gewebe ist, wie unter 1.2.2 beschrieben, nach wie vor ursächlich für über die Hälfte der komplikationsbedingten operativen Reexplorationen (Wu et al., 2014; Ritschl et al., 2018b). Das frühzeitige Erkennen der gestörten venösen Transplantatdrainage stellt hierbei die grundlegende Voraussetzung für eine erfolgreiche Revision mit Behebung des kompromittierenden Events und die konsekutive Transplantatrettung dar (Mirzabeigi et al., 2012; Bigdeli et al., 2018; Perng et al., 2018).

In der vorliegenden Arbeit wurde u.a. der Versuch unternommen, die rheologischen Veränderungen im Bereich des freien mikrovaskulären Transplantats während einer venösen Stauung mithilfe der im Anschluss an die ICG-VA durchgeführten FLOW® 800-Perfusionsanalyse und der simultanen Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie (O2C®) zu erfassen und im Rahmen der statistischen Auswertung beide Monitoringverfahren hinsichtlich ihrer Fähigkeit, eine venöse Stase rechtzeitig zu detektieren, vergleichend zu prüfen. Neben einer Vielzahl an themenverwandten Studien anderer Autoren,

konstatierten Ricci et al. bereits 2017 die Möglichkeit einer frühzeitigeren Erkennung venös kompromittierter mikrovaskulärer Transplantate durch Einsatz der transkutanen Gewebeoxymetrie, um in der Folge die Transplantatverluste nach freien Gewebetransfers zu senken (Ricci et al., 2017). Dieser vielversprechende Ansatz wurde im Zusammenhang der vorliegenden Arbeit durch Anwendung des O2C®-Messgeräts aufgegriffen, welches neben zahlreichen weiteren Perfusionsparametern, wie unter 1.3.2 beschrieben, auch die Evaluation von dynamischen Veränderungen der relativen Sauerstoffsättigung in oberflächlichen und tiefer gelegenen Gewebeschichten des fasziokutanen Transplantats ermöglicht. Im Rahmen der intra- und postoperativen tierexperimentellen Perfusionsevaluation gelang sowohl mit dem FLOW® 800-Analyssetool als auch mit der Gewebe-Photospektrometrie (O2C®) eine frühzeitige Detektion von mikrozirkulatorischen Veränderungen im Bereich des epigastrischen Lappens der Ratte. Diese Erkenntnis erweist sich als kongruent mit den bereits in der Literatur beschriebenen Eigenschaften der Gewebe-Photospektrometrie für den Einsatz zur postoperativen Transplantatüberwachung (Hölzle et al., 2006; Hölzle et al., 2010). So konnten durch das hämodynamische Monitoring, bspw. während des Vorgangs der Transplantathebung sowie nach erfolgtem Verschluss der V. epigastrica sup. durch Applikation eines Gefäßclips, unmittelbar Veränderungen der erhobenen Perfusionsparameter beobachtet werden (siehe Abb. 22 und Abb. 25). Hierbei zeigte sich während des vollständigen venösen Verschlusses, wie unter 3.1.2 ausgeführt, für die O2C®-Parameter Flow und Velocity ein Trend hin zu steigenden Werten. Mücke et al. beschrieben 2014 in einer klinischen Studie zur Identifikation perioperativer Risikofaktoren mittels Gewebe-Photospektrometrie vergleichbare Veränderungen der oben genannten Perfusionsparameter. Der Fokus der prospektiven Untersuchung lag hierbei nicht primär auf der Evaluation venös gestauter Transplantate, sondern auf einer generell frühzeitigen perioperativen Detektion vaskulärer Komplikationen. Nach der Transplantathebung kam es in dieser Studie zu einem deutlichen Anstieg der Flow- und Velocity-Messwerte in den oberflächlich und tiefer gelegenen Transplantatschichten, wobei die statistische Analyse in Fällen mit venös kompromittierter Perfusion zusätzlich eine signifikant erhöhte relative

Hämoglobinkonzentration sowie eine erniedrigte Sauerstoffsättigung der freien mikrovaskulären Transplantate ergab (Mücke et al., 2014b) (Abb. 32).

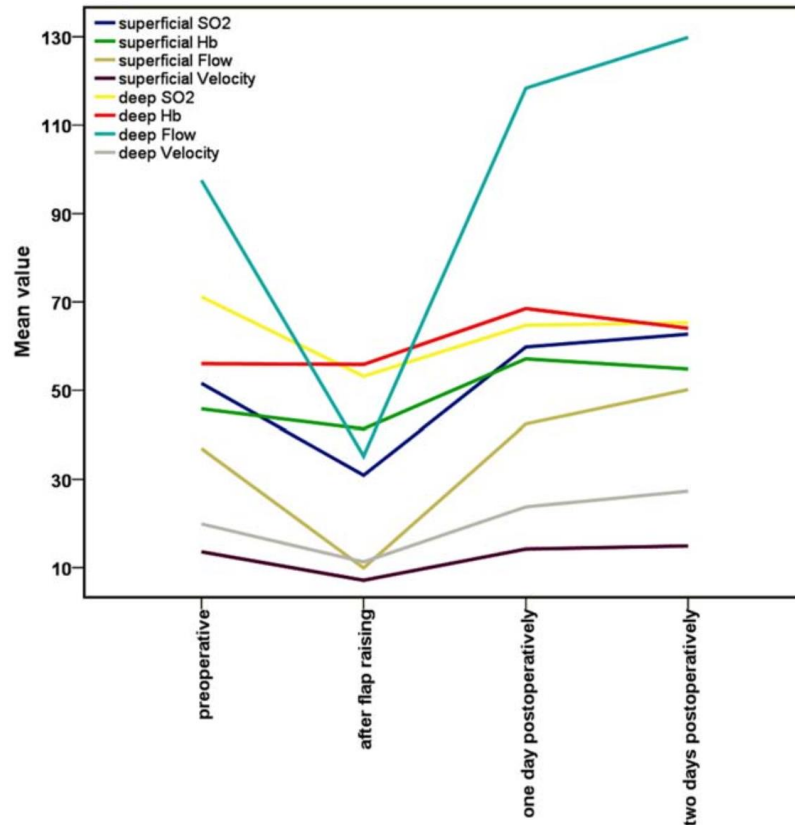


Abb. 32: Veränderung der O2C®-Parameter im Rahmen der klinischen Perfusionsevaluation. Unabhängig vom postoperativen Verlauf und der Transplantatkonfiguration (fasziokutan vs. osteomyokutan) steigen insbesondere die Werte für die Perfusionsparameter Flow und Velocity nach der Transplantathebung und im weiteren postoperativen Verlauf an. Abbildung aus Mücke et al. 2014 (Mücke et al., 2014b).

Als möglicher Grund für ein vermehrtes Auftreten von Transplantatnekrosen im Rahmen venöser Stauungen, wie es in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden konnte, wird u.a. der kompromittierende Effekt des persistierenden arteriellen Zuflusses bei zeitgleich gestörter venöser Drainage diskutiert. Dieser führt zu einem erhöhten intravasalen Perfusionsdruck innerhalb des Transplantatkreislaufs, wodurch es konsekutiv zu einem vermehrten interstitiellen Flüssigkeitsaustritt mit daraus folgendem Anstieg des extravasalen Drucks sowie Kollaps der kapillären Endstromgebiete des Transplantats kommt (Hjortdal et al., 1992; Nguyen et al., 2013). Matsumoto et al. beschrieben zudem in

einer erst kürzlich veröffentlichten Studie an einem neu etablierten Transplantationsmodell der Ratte eine verringerte Erfolgsrate im Rahmen des freien Gewebetransfers, sofern das mikrovaskuläre Transplantat venös gestaut war. Im Gegensatz zur vorliegenden Versuchsdurchführung erfolgten bei Matsumoto et al. jedoch weder Blutflussmessungen während der einzelnen operativen Schritte, noch wurde der unterbundene venöse Transplantatschenkel nach einem zuvor definierten Stauungsintervall freigegeben. Weiterhin war der postoperative Beobachtungszeitraum mit drei Tagen signifikant kürzer als im Rahmen dieser Studie (Matsumoto et al., 2017).

Im Zusammenhang mit den Veränderungen der O2C®-Parameter fiel bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse auf, dass die ermittelten Werte für die relative Hämoglobinkonzentration (S und D) im Bereich des epigastrischen Lappens zwar nach Applikation des Acland®-Gefäßclips in kurzer Zeit deutlich zunahm, die Veränderungen im weiteren Verlauf jedoch nicht mit der Dauer der venösen Stauung korrelierten. Dies zeigt die generelle prädiktive Fähigkeit der Gewebe-Photospektrometrie, eine venöse Kompromittierung zuverlässig zu detektieren, und stimmt mit den Erkenntnissen anderer Studien überein (Hölzle et al., 2010). Generelle Rückschlüsse auf die applizierten Stauungsintervalle (4 – 7h) ließ dieses Monitoring-Verfahren anhand des Parameters für die Hämoglobinkonzentration allerdings nicht zu, weshalb relative Veränderungen der erfassten Werte im individuellen Kontext und mit Vorsicht analysiert bzw. interpretiert werden sollten (Hölzle et al., 2006; Mücke et al., 2014b). Ein Zusammenhang zwischen variierenden Hämoglobinkonzentrationen nach unterschiedlich lang anhaltender venöser Stauung und der Ausdehnung nekrotischer Transplantatflächen konnte zudem nicht festgestellt werden. In einer weiteren tierexperimentellen Studie mit Schweinen evaluierten Russell et al. 2006 an einem kutanen Transplantationsmodell die Auswirkungen eines teilweisen sowie vollständigen venösen Verschlusses anhand des beobachteten Hautkolorits, der Sauerstoffsättigung und einer etwaigen Ödementwicklung des Transplantats (Russell et al., 2006). Dabei zeigte sich klinisch erst nach vollständiger Stenose der Transplantatvene eine progressive zyanotische Veränderung des Hautkolorits. Verglichen mit der partiellen Obstruktion des venösen Transplantatschenkels, war der vollständige venöse Verschluss zusätzlich mit einer signifikant veränderten

Sauerstoffsättigung assoziiert. Während Russell et al. die o.g. zyanotische Veränderung des Hautkolorits in ihrer Studie erst nach acht Stunden venöser Transplantatstauung beschrieben, kam es in der vorliegenden Arbeit bereits in der 4 Stunden-Stauungsgruppe zu einem farblichen Umschlag der kutanen Transplantatoberfläche (siehe Abb. 23 und Abb. 27). Gimbel et al. analysierten in einem tierexperimentellen Transplantationsmodell an Kaninchen, unter Anwendung vier unterschiedlicher Monitoringverfahren (quantitative Doppler-Flussmessung, transkutane Gewebeoxymetrie, Infrarot-Gewebespektroskopie und bildgebende Laser-Doppler-Flussmessung), die Veränderung der Sauerstoffsättigung sowie des Blutflusses während einer venösen Transplantatstauung (Gimbel et al., 2009). Hierbei konnte nach hundertprozentiger Stauung des venösen Transplantatschenkels ein signifikanter Abfall der Sauerstoffsättigung und der Laser-Doppler-Flusswerte festgestellt werden. Ein Anstieg dieser Parameter auf vergleichbare Werte wie vor der Stauung blieb auch nach Freigabe des venösen Abflusses in dieser Studie aus. Ein initialer Abfall der Sauerstoffsättigung und Flusswerte unmittelbar nach Verschluss der Vene, wie ihn Gimbel et al. beschrieben, konnte im Rahmen der Perfusionsevaluation auch in der vorliegenden Arbeit beobachtet werden. In Kongruenz dazu zeigte sich in der im Anschluss an die ICG-VA durchgeführten FLOW[®] 800-Perfusionsanalyse eine vergleichbare signifikante Abnahme des ersten und zweiten ICG-Maximums sowie der AUC^{ICG} in allen acht ROIs, sowohl nach Hebung des epigastrischen Lappens als auch Abklemmen des venösen Transplantatschenkels. Im Vergleich zu anderen Studien mit ähnlicher Fragestellung wurden in der vorliegenden Arbeit zusätzlich der postoperative klinische Verlauf nach erfolgter venöser Stauung für eine Woche beobachtet und die Transplantatvitalität im Rahmen einer finalen Perfusionsanalyse reevaluiert (Russell et al., 2006; Gimbel et al., 2009). Dies ermöglichte, neben der Feststellung unmittelbarer Auswirkungen der venösen Stauung auf die Mikrozirkulation des transplantierten Gewebes, auch eine Untersuchung der langfristigen Effekte einer solchen Perfusionseinschränkung auf die Einheilung des freien mikrovaskulären Transplantats. Verglichen mit den Referenzwerten der Kontrollgruppe nach einer Woche kam es während der abschließenden Perfusionsevaluation in den

Versuchsgruppen mit venöser Stauung zu einer Abnahme der Sauerstoffsättigung des Gewebes und einem Anstieg der ermittelten Flow- und Velocity Werte.

Tenorio et al. erzielten 2009 in einer Studie durch Einsatz eines infrarot-thermographischen Monitoringverfahrens gute Ergebnisse für die frühzeitige Detektion arterieller sowie venöser Gefäßverschlüsse (Tenorio et al., 2009). Dabei gelang es durch die genaue Erfassung von Veränderungen des emittierten Infrarotsignals innerhalb des transplantierten Gewebes eine vaskuläre Kompromittierung des Transplantats umgehend und zuverlässig zu identifizieren, bevor makroskopische Veränderungen (wie bspw. des Hautkolorits) beobachtet werden konnten. Die Visualisierung des Infrarotsignals im Sinne einer farbkodierten Perfusionskarte erleichterte zudem die Interpretation des Monitorings. Das in der vorliegenden Arbeit zum Einsatz gekommene, bildgebende Verfahren der ICG-VA ermöglichte ebenfalls eine unmittelbare Detektion von Perfusionsveränderungen im Bereich des Transplantats vor Eintreten makroskopischer Veränderungen und ließ sich auf dem im OP-Mikroskop integrierten Bildschirm in Echtzeit verfolgen (siehe Abb. 20). In direkter Gegenüberstellung mit der von Tenorio et al. angewendeten Monitoringmodalität weist die ICG-VA den entscheidenden Vorteil auf, weniger anfällig gegenüber externen Veränderungen und Abweichungen der Raumtemperatur zu sein. Ergänzend hierzu erlaubt die ICG-VA in Kombination mit der integrierten FLOW® 800-Analysesoftware die intraoperative Durchführung einer qualitativen sowie quantitativen Flussanalyse. Den unter 3.1.3.1 aufgeführten Ergebnissen dieser Studie zufolge korrelieren Veränderungen bestimmter Parameter im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse mit dem postoperativen klinischen Verlauf und langfristig zu erwartenden Ergebnis des rekonstruktiven Eingriffes.

Unter Anwendung des bivariaten Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman konnte in der statistischen Analyse der Ergebnisse weiterhin gezeigt werden, dass insbesondere für die im Zentrum des Lappens mittels O2C® gemessenen Flow-Werte bzw. die im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse generierten Werte für den maximalen Anstieg sowie Abfall der ICG-Intensität und die Entstehung von Nekrosen im Bereich des Transplantats ein signifikanter Zusammenhang besteht. Unter diesem Aspekt erwiesen sich die o.g. dynamischen Parameter hinsichtlich ihrer Veränderungen während der Perfusionsevaluation als relevanter, verglichen

mit den Veränderungen des ersten und zweiten ICG-Maximums sowie der AUC^{ICG} . Die Bedeutung dieser Erkenntnisse für die Prädiktion von Transplantatnekrosen wird im Weiteren unter 4.3 ausführlich diskutiert. Abschließend lässt sich auf Grundlage der Ergebnisse dieser Arbeit annehmen, dass mit dem kombinierten Einsatz der ICG-VA und des FLOW® 800-Analysetools die Detektion einer venösen Transplantatstauung frühzeitiger als mit anderen auf dem Markt etablierten Monitoringverfahren (bspw. O2C®) gelingt.

Die begrenzte Eindringtiefe des Infrarotlichts während der ICG-VA muss als limitierender Faktor im Rahmen des Monitorings freier mikrovaskulärer Transplantate berücksichtigt werden. Für oberflächliche Defektdeckungen mit konsekutiv leicht zugänglichen Transplantaten erlaubt dieses technische Verfahren eine effektive Perfusionsanalyse, wohingegen der Einsatz im Rahmen rekonstruktiver Eingriffe mit entepithelialisierten verdeckten Lappenplastiken (engl. buried flaps) nur stark eingeschränkt erfolgen kann. In diesem Zusammenhang könnte die intraoperative Applikation eines implantierbaren Flussdopplers, wie bspw. dem Cook-Swartz-Doppler, eine Lösung für die postoperative Transplantatüberwachung darstellen (Rosenberg et al., 2006; Agha et al., 2014; Lenz et al., 2018).

4.3 Prädiktion von Transplantatnekrosen

Unter der Voraussetzung einer rechtzeitig detektierten venösen Transplantatstauung mithilfe entsprechender Monitoringmodalitäten ist die Rettung des freien mikrovaskulären Transplantats durch eine operative Reexploration, wie im Abschnitt 1.2.2 dargestellt, innerhalb eines eingeschränkten Zeitraumes möglich. Hinsichtlich des langfristigen rekonstruktiven Erfolges fehlen jedoch evidenzbasierte Erkenntnisse, ob und wenn ja, wie zuverlässig eine Vorhersage des postoperativen Verlaufs respektive der Transplantateinheilung und -vitalität mit diesen Monitoringverfahren gemacht werden kann. Analog zur Präsentation der Ergebnisse im Rahmen der explorativen Statistik (siehe 3.2) soll im Folgenden zunächst der generelle prädiktive Wert der ICG-VA mit FLOW® 800-Analysetool für den Prozess der Transplantathebung diskutiert werden, bevor anschließend die Prädiktion von Transplantatnekrosen nach erfolgter venöser Stauung unter Einsatz zweier unterschiedlicher Monitoringmodalitäten (FLOW®

800-Analysetool und O2C[®]) Gegenstand des wissenschaftlichen Diskurses sein wird.

4.3.1 Prädiktiver Wert der ICG-VA mit FLOW[®] 800-Analysesoftware zur intraoperativen Vorhersage von Transplantatnekrosen

Die diagnostischen Fähigkeiten und technischen Vorteile der ICG-VA im Rahmen der Perfusionsevaluation freier mikrovaskulärer Transplantate konnten insbesondere während der letzten zwei Jahrzehnte in zahlreichen Studien klar belegt werden. Dennoch erweist sich dieses technische Verfahren hinsichtlich einiger Aspekte nach wie vor als noch unzureichend validiert und wurde in den meisten Studien auf seine Fähigkeit zur intraoperativen Visualisierung der Gewebepfusion reduziert (Mücke et al., 2017). Nach aktuellem Kenntnisstand wird in der vorliegenden Arbeit erstmalig die Anwendung des FLOW[®] 800-Softwaretools zur Analyse kompromittierter Gewebetransplantate anhand eines freien mikrovaskulären Lappens evaluiert und unter Validierung der prädiktiven Fähigkeit ein Grenzwert für die intraoperative Vorhersage von im Verlauf entstehenden Transplantatnekrosen beschrieben.

Nach intravenöser Injektion im Rahmen der ICG-VA bindet der ICG-Fluoreszenzfarbstoff an Plasmaproteine in der Blutlaufbahn (v.a. β -Lipoprotein B) und weist ein optimales Absorptionsspektrum bei 805 nm sowie eine Emission des Fluoreszenzsignals mit 835 nm auf, welches sowohl die Anregung der ICG-Moleküle mittels Infrarotlichtquelle als auch die Detektion des emittierten Fluoreszenzsignals bis in eine Gewebetiefe von 3 mm erlaubt (Ott, 1998; Holm et al., 2002; Giunta et al., 2005; Mücke et al., 2013b; Zhai et al., 2017). Die in den subdermalen Gefäßen des Transplantats zirkulierenden ICG-Moleküle ermöglichen somit den Einsatz dieses Fluoreszenzmittels zur Visualisierung der Gewebepfusion (Zimmermann et al., 2010). In den meisten experimentellen sowie klinischen Studien, welche eine Anwendung der ICG-VA zur Verlaufskontrolle der postoperativen Transplantatperfusion untersuchten, konstatierten die Autoren hierfür einen zusätzlichen diagnostischen Mehrwert, ohne jedoch im Rahmen der Ergebnispräsentation auf Basis der quantitativen Flussanalysedaten einen definierten Grenzwert zu beschreiben, ab dem eine Transplantatnekrose zu erwarten wäre (Mothes et al., 2009; Zimmermann et al., 2010). Einige Autoren beschrieben im Anschluss an die Durchführung der ICG-VA

eine ergänzende quantitative Perfusionsevaluation auf Basis der ICG-Fluoreszenzwerte mittels externer Softwaresysteme, wie dem IC-VIEW®- und IC-CALC®-System (Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland) sowie der sog. SPY 2001 Imaging®-Software (Novadaq Corporation, Bonita Spings, Florida, USA) bzw. dem SPY Elite®-System (LifeCell Corporation, Branchburg, New York, USA). Im Kontext der o.g. Fragestellung konnte hierbei eine Assoziation von verzögert sowie reduziert perfundierten Transplantatarealen mit langsamer Anflutung des Fluoreszenzsignals bis zum Erreichen des ersten ICG-Maximums und einer späteren Epitheliolyse und konsekutiver Entstehung von Hautnekrosen festgestellt werden (Holm et al., 2002; Mothes et al., 2009; Phillips et al., 2012; Munabi et al., 2014). Bei beiden SPY-Anwendungen erfolgte die quantitative Analyse der Daten mithilfe der SPY Q®-Software, welche absolute (APU = engl. für absolute perfusion units) mit relativen Perfusionseinheiten (RPU = engl. für relative perfusion units) auf Grundlage unterschiedlicher Grauschattierungen der Bildpixel zwischen 0 und 255 vergleicht (Phillips et al., 2014). Munabi et al. setzten das SPY Elite®-System in einer prospektiven Studie zur quantitativen Perfusionsanalyse nach Mastektomie mit anschließender Brustrekonstruktion ein und bestimmten einen Vorhersagegrenzwert von ≤ 7 Perfusionseinheiten zur Vorhersage von Hautnekrosen. Die Sensitivität und Spezifität der Prädiktion auf Basis dieses kritischen Richtwertes lag bei 88 % bzw. 83 % respektive (Munabi et al., 2014). In einer weiteren Studie mit Vergleich der beiden SPY-Systeme aus dem Jahr 2012 konnten Phillips et al. zeigen, dass ein Wert von 23,8 absoluten Perfusionseinheiten (APU) bei Verwendung des SPY Elite®-Systems mit einem Perfusionswert von 3,7 APU im älteren SPY 2001 Imaging®-System übereinstimmte und sich hierbei für die Vorhersage von Hautnekrosen sogar eine Sensitivität von 100 % sowie eine Spezifität von 70 % erzielen ließ (Phillips et al., 2012). Zimmermann et al. demonstrierten 2010 in einer Studie den Einsatz der ICG-VA zur Perfusionsanalyse von Amputationsstümpfen und stellten hierbei eine Assoziation von ICG-Intensitäten und im postoperativen Verlauf eintretenden Wundheilungsstörungen fest (Zimmermann et al., 2010). Holzbach et al. etablierten erstmalig mithilfe einer ROC-Analyse und Bestimmung des Youden-Index einen relativen Grenzwert für die im Rahmen der Flussanalyse ermittelte maximale ICG-Intensität von 29 %, auf dessen Basis eine Nekroseprädiktion mit

einer Sensitivität und Spezifität von 95 % erfolgen konnte (Giunta et al., 2005). Während der Versuchsdurchführung an Ratten nutzten die Autoren dieser Studie einen überdimensionierten, sog. "random pattern flap", um das Transplantatüberleben mithilfe eines handgehaltenen ICG-VA-Systems zu evaluieren. Verglichen mit benachbarten Hautarealen wurden vitale Transplantatbereiche mit einem mittleren Perfusionsindex von 62 % und einer maximalen ICG-Intensität von 71 % ausgewiesen. Der primäre Nachteil dieses Verfahrens besteht in der zugrundeliegenden Messung von relativen ICG-Werten, welche sich aufgrund der pharmakokinetischen sowie -dynamischen Eigenschaften der ICG-Moleküle und einer variierenden Konzentration an Bindungsproteinen im Blutplasma weder gut vergleichen lassen noch sehr verlässlich sind. Der Einsatz eines objektiven Analysetools unter Verwendung absoluter ICG-Werte, wie in der vorliegenden Arbeit erfolgt, ist daher als verlässlicher anzusehen. Zwar unterliegen absolute Werte für die im Rahmen der ICG-VA detektierte ICG-Intensität gleichermaßen gewissen Schwankungen, jedoch erweisen sich diese nicht als besonders anfällig gegenüber externen Störfaktoren. Im Gegensatz zu den relativen Messungen mit unterschiedlichem Zeitfenster durch Giunta et al., wurden die absoluten Werte der vorliegenden Studie standardisiert in einem definierten Zeitraum (2 min) erhoben und es konnte zudem eine Korrektur des Basiswerts, welcher durch i.v. Injektion von ICG in vorherigen Messungen entstanden war, erfolgen.

Die ICG-VA gilt als effektives, anwenderunabhängiges und technisch gut durchführbares Monitoringverfahren zur intraoperativen Beurteilung der Gewebepfusion im Rahmen des freien mikrovaskulären Gewebetransfers (Preidl et al., 2015). Die meisten alternativen technischen Verfahren (u.a. Kapillaroskopie, Messung der partiellen Sauerstoffsättigung, Gewebethermographie und Photoplethysmographie), welche in der Vergangenheit zur Perfusionsevaluation von transplantiertem Gewebe eingesetzt wurden, erlauben entweder keine intraoperative Anwendung oder verfügen lediglich über eine eingeschränkte Sensitivität zur Detektion rheologischer Veränderung (Mothes et al., 2009). Den hier präsentierten Ergebnissen zufolge, könnte eine zukünftige standardisierte Integration der quantitativen Perfusionsanalyse, bspw. durch Einsatz des in der vorliegenden Arbeit evaluierten FLOW® 800-Analysetools, die intraoperative

Einschätzung der Prognose eines Transplantats während des rekonstruktiven Eingriffes mit freiem mikrovaskulären Gewebettransfer erleichtern und eine etwaige Nekroseentstehung mit hoher Spezifität auf Basis einer einzigen Flussanalyse vorhersagen (Mücke et al., 2017). Hierbei sollte die FLOW® 800-Perfusionsanalyse am Ende des operativen Eingriffes und nach erfolgter Einnahmt des Transplantats durchgeführt werden, sodass ein ausreichender zeitlicher Abstand zur Ischämiephase und somit, nach mikrovaskulärer Anastomosierung der Anschlussgefäße, die Restitution einer regelrechten Transplantatperfusion gewährleistet werden kann.

Die im Kontext dieser Arbeit gewonnen und anschließend diskutierten Ergebnisse liefern neue hilfreiche Erkenntnisse zum Einsatz des FLOW® 800-Analysertools und dessen Limitationen für die rekonstruktive Mikrochirurgie. Dennoch ist eine uneingeschränkte, generelle Translation der beobachteten Zusammenhänge auf klinischer Ebene ausschließlich auf Grundlage der vorliegenden Forschungsarbeit nicht zulässig und die Interpretation der Erkenntnisse sollte mit Vorsicht erfolgen. Sowohl die statistisch generierten Vorhersagegrenzwerte als auch die damit assoziierten Angaben zur Sensitivität und Spezifität können im menschlichen Organismus und interindividuell grundlegend differieren sowie zusätzlich bedingt durch hämodynamische Schwankungen im Bereich der Mikrozirkulation und intraoperative lokale bzw. systemische Applikation von epinephrinhaltigen Anästhetika deutlich abweichen (Zimmermann et al., 2010; Munabi et al., 2014). Weiterhin hängt der postoperative Verlauf und Einheilungsprozess des freien mikrovaskulären Transplantats auch von der mitversorgenden Perfusionskapazität des benachbarten Gewebes im Transplantatlager und dessen Einfluss auf die Autonomisierung des transplantierten Gewebes ab (Fichter et al., 2014). Für das klinische postoperative Monitoring des Transplantats erweist sich die Anwendung der im OP-Mikroskop integrierten ICG-VA mit FLOW® 800-Analysertool als eher schwierig, da ein Transfer des OP-Mikroskops aus dem Operationssaal auf die versorgende Station unter Berücksichtigung des zeitlichen Aufwandes kaum zu realisieren ist. Aktuell fehlen jedoch für diesen Zweck weiterhin zuverlässige handgehaltene ICG-VA-Systeme, die eine unkomplizierte Anwendung am Patientenbett ermöglichen würden. Diese Einschränkung entfällt, sofern die Durchführung der FLOW® 800-Perfusionsanalyse auf zuvor empfohlene

Art und Weise am Ende des operativen Eingriffs erfolgt. Neben der eingeschränkten Mobilität des im OP-Mikroskop integrierten Analysetools sollte an dieser Stelle auch auf die hohen Anschaffungskosten dieses Systems hingewiesen werden. In Zusammenschau der Erkenntnisse dieser Arbeit überwiegen hierbei jedoch die diagnostischen sowie prädiktiven Fähigkeiten dieses technischen Verfahrens die zuvor diskutierten Einschränkungen.

4.3.2 Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung mithilfe des FLOW® 800-Analysetools und der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie

Nachdem die diskriminatorische Fähigkeit des FLOW® 800-Analysetools zur Detektion venös kompromittierter Transplantate und dessen prädiktiver Wert in der vorliegenden Arbeit bereits erfolgreich belegt werden konnten, soll nun die Anwendung dieses Monitoringverfahrens, gemeinsam mit der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie, in Fällen mit venöser Stauung zur Prädiktion von Transplantatnekrosen diskutiert werden. Trotz einer Vielzahl wissenschaftlicher Studien zur frühzeitigen Identifikation vaskulärer Komplikationen und einer daraus resultierenden Kompromittierung der Transplantatperfusion, fehlt bis heute eine methodische Überprüfung klinisch etablierter Monitoringmodalitäten hinsichtlich der Fähigkeit, nach technisch erfolgreicher Reexploration mit Behebung des kompromittierenden Events den weiteren klinischen Verlauf des Transplantats sowie dessen langfristige Chance auf eine komplikationsfreie Einheilung im Transplantatbett vorherzusagen (Ritschl et al., 2018a). Weiterhin existieren für keine der eingangs vorgestellten Monitoringverfahren geeignete diagnostische Grenzwerte, auf Grundlage derer im Rahmen einer venösen Stauung eine Identifikation bzw. Vorhersage von Nekrose-assoziierten Transplantatarealen erfolgen könnte. In diesem Zusammenhang und auch vor dem Hintergrund, dass ein insgesamt hoher prozentualer Anteil der Reexplorationen (> 50 %) auf venöse Abflussbehinderungen zurückzuführen ist, lautet eine der komplexesten Fragen für den Einsatz freier mikrovaskulärer Transplantate in der rekonstruktiven Mikrochirurgie: Führt eine technisch effektive Revision des Transplantatschenkels im Rahmen der operativen Reexploration, insbesondere nach Restitution der venösen Drainagefunktion, langfristig auch zu einem erfolgreichen rekonstruktiven Ergebnis? Zur Beantwortung dieser Fragestellung wurde in der vorliegenden Arbeit anhand eines fasziokutanen Transplantats der Ratte der

108

prädiktive Wert zweier unterschiedlicher Monitoringmodalitäten, namentlich der ICG-VA mit FLOW® 800-Analyssetool und der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie, nach Etablierung variierender venöser Stauungsintervalle (4 – 7 Stunden) verglichen.

Fourman et al. beschrieben 2015 in einer tierexperimentellen Studie anhand eines modifizierten McFarlane-Transplantationsmodells der Ratte eine frühzeitigere und präzisere Vorhersage des Transplantatüberlebens mithilfe der ICG-VA, verglichen mit dem Verfahren der Laser-Doppler-Flussmessung (Fourman et al., 2015). Zuvor hatten Munabi et al. 2014 im Rahmen rekonstruktiver Eingriffe nach Mastektomie über vergleichbare Ergebnisse zur Prädiktion der Nekroseinzidenz unter Einsatz der ICG-VA berichtet (Munabi et al., 2014). Diese positiven Erkenntnisse korrelieren mit den unter 4.3.1 diskutierten Ergebnissen dieser Arbeit und unterstreichen den potentiellen diagnostischen Nutzen der ICG-VA im Rahmen der Perfusionsevaluation kompromittierter Transplantate. Im Gegensatz zur vorliegenden Studie erfolgte jedoch in beiden oben aufgeführten Arbeiten ausschließlich eine deskriptive Analyse der jeweiligen Vorhersagegrenzwerte für die unterschiedlichen Monitoringmodalitäten. Eine Validierung der ICG-Grenzwerte und der damit verbundenen prädiktiven Fähigkeit des von ihnen eingesetzten ICG-VA-Systems durch Anwendung einer ROC-Analyse blieb jedoch aus. Akita et al. untersuchten 2016 an freien mikrovaskulären Transplantaten den kombinierten Einsatz der intraoperativen Perfusionsanalyse mittels ICG-VA und einer postoperativen Evaluation der regionalen Sauerstoffsättigung mithilfe der Gewebeoxymetrie (Akita et al., 2016). Intraoperativ erfolgte hierbei eine Kategorisierung unterschiedlicher Transplantatzonen, entsprechend der zuvor im Rahmen der ICG-VA detektierten Distribution des ICG-Fluoreszenzsignals im zeitlichen Verlauf, in Regionen mit frühzeitiger, verzögerter oder ausbleibender Signalanflutung. Ähnlich wie bei Fourman et al. sowie Munabi et al., wurden auch in der Studie von Akita et al. keine statistisch validierten Vorhersagegrenzwerte für die intraoperative ICG-VA angegeben. Stattdessen wurden die Transplantatzonen während des postoperativen Monitorings mit einem rechnerisch generierten regionalen Sauerstoffsättigungs-Index korreliert, welcher ab einem Wert von $< 0,75$ die Detektion einer vaskulären Kompromittierung des Transplantats ermöglichte. Die anschließende statistischen Überprüfung der

diskriminatorischen Fähigkeit des regionalen Sauerstoffsättigungs-Index mittels ROC-Analyse ergab eine hohe Validität mit einem optimalen AUC^{ROC} -Wert von 1,0. Die Kombination dieser beiden Monitoringmodalitäten erlaubte somit eine bessere Einschätzung der Transplantatvitalität sowie eine frühzeitigere Detektion vaskulärer Komplikationen während der postoperativen Verlaufskontrolle, unabhängig von der Kausalität der Perfusionskompromittierung. Während der zusätzliche diagnostische Nutzen für diese Monitoringkombination durch Akita et al. dementsprechend belegt werden konnte, blieb die Frage nach der prädiktiven Fähigkeit dieses Ansatzes zur Vorhersage der langfristigen Transplantatvitalität im Rahmen einer erfolgreichen Reexploration unbeantwortet.

Der aktuellen Studienlage und einer umfangreichen Literaturrecherche zufolge liefert die vorliegende Arbeit erstmalig Erkenntnisse über die prädiktive Genauigkeit der ICG-VA mit kombiniertem Einsatz des FLOW® 800-Analysertools und definiert absolute Grenzwerte, auf Basis derer eine Vorhersage von Transplantatnekrosen für venös gestaute Transplantate erfolgen kann. Dabei belegen die Ergebnisse eine hohe Sensitivität sowie Spezifität mit guten positiven wie negativen prädiktiven Vorhersagewerten für die Prädiktion von eminenten Transplantatnekrosen. Die Akkuranz der prädiktiven Aussage nahm nach längerfristigen venösen Stauungsintervallen deutlich zu und wies in der Stauungsgruppe mit 6 Stunden venöser Stase einen AUC^{ROC} -Wert von $> 0,78$ und somit eine hohe Validität auf. Während die Genauigkeit der Prädiktion mittels FLOW® 800-Analysetool in der 4h-Stauungsgruppe im Vergleich zur prädiktiven Akkuranz der 6h-Stauungsgruppe unterlag (AUC^{ROC} -Wert von 0,661 für das erste ICG-Maximum), zeigte sich die ICG-VA mit FLOW® 800-Perfusionsanalyse gegenüber der simultanen Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie mittels O2C® dennoch als besser geeignet, eine Nekrose des venös kompromittierten transplantierten Gewebes kompetent vorherzusagen (AUC^{ROC} -Wert von 0,542). Eine 4 Stunden anhaltende venöse Stauung war nur selten mit der Entstehung von Nekrosezonen assoziiert und wenn ein nekrotischer Verlust des Gewebes auftrat, war die resultierende Nekrosefläche klein. In Übereinstimmung mit den Erkenntnissen von Harashina et al. kann daher davon ausgegangen werden, dass das fasziokutane Transplantat ein kurzfristiges venöses Stauungsintervall von maximal 4 Stunden gut toleriert (Harashina et al., 1977). In

diesem Zusammenhang können die Ergebnisse des O2C[®]-Perfusionsparameters SO², welcher in den 5 – 7h-Stauungsgruppen im Gegensatz zu den Parametern Flow und Velocity keinen Anstieg der Werte mehr aufwies, ein weiteres Indiz dafür sein, dass ab Überschreiten des o.g. kritischen Zeitpunktes die Stauungstoleranz des freien mikrovaskulären Transplantats stark abnimmt und die pathophysiologischen Veränderungen im Bereich der Mikrozirkulation zu einem irreversiblen Transplantatschaden führen. Die Beobachtung steigender Flow- und Velocity-Werte im Transplantatgewebe mit zunehmend anhaltender venöser Stauung könnte durch Shuntprozesse erklärt werden, welche aus intrinsischen physiologischen Anpassungsreaktionen des mikrovaskulären Gefäßsystems resultieren. Dieser pathophysiologische Vorgang führt langfristig, wie unter 1.2.1 beschrieben, zu einem Kollaps der kapillären Endstromgebiete und einem konsekutiven Verlust des Transplantats.

Auf Grundlage der in dieser Arbeit gewonnen Erkenntnisse ist eine moderate Prädiktion von Transplantatnekrosen im klinischen Zusammenhang auf Basis der FLOW[®] 800-Perfusionsanalyse nach 4 Stunden venöser Stauung sowohl möglich als auch vertretbar. Die definierten Vorhersagegrenzwerte für die maximale ICG-Intensität sowie die AUC^{ICG} fungieren zudem als Hilfestellung bei der postoperativen Abwägung, ob im Rahmen einer Reexploration die Restitution der venösen Drainagefunktion langfristig noch ein erfolgreiches rekonstruktives Ergebnis zulässt oder die erneute Hebung eines Transplantats mit anschließendem Gewebettransfer die prognostisch günstigere Option darstellt. Das Verfahren der simultanen Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie (O2C[®]) ist nicht in der Lage, den klinischen Verlauf eines venös gestauten Transplantats zuverlässig vorherzusagen, liefert jedoch hilfreiche Erkenntnisse über grundlegende hämodynamische Veränderungen während einer anhaltenden venösen Stauung und kann in Kombination mit dem FLOW[®] 800-Analysetool weiterhin als sinnvolle Ergänzung für das postoperative Monitoring angesehen werden.

Abschließend gilt es zu berücksichtigen, dass die hier diskutierten Erkenntnisse analog zu den zuvor beschriebenen Ergebnissen auf einem tierexperimentellen Transplantationsmodell unter Verwendung eines fasziokutanen Lappens beruhen. Eine Eins-zu-eins-Übertragung auf den menschlichen Organismus und folglich

andere Transplantattypen mit abweichender Gewebekonfiguration im Sinne einer Translation der Erkenntnisse ist, wie bereits unter 4.3.1 angemerkt, nur eingeschränkt zulässig und erfordert eine weiterführende klinische Exploration der Zusammenhänge. Dennoch handelt es sich bei dem Transplantationsmodell der Ratte um den Goldstandard in der mikrovaskulären Forschung und die Durchführung präklinischer Studien bildet nach wie vor den ersten Schritt zur Gewinnung neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse (Mücke et al., 2020).

Des Weiteren sei an dieser Stelle angemerkt, dass sich die Vorhersagegrenzwerte für die Perfusionsanalyse mittels ICG-VA ausschließlich auf das in der vorliegenden Arbeit evaluierte, im OPMI Pentero® integrierte FLOW® 800-Analysetool (OPMI® Pentero® mit INFRARED® 800 und FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) beziehen. Die Vorhersagegrenzwerte für andere ICG-VA-Systeme können dementsprechend variieren, wenngleich der diagnostische prädiiktive Nutzen für den in dieser Arbeit beschriebenen Anwendungsbereich auf alternative Systeme übertragbar ist. In Gegenüberstellung mit der O2C®-Gewebe-Photospektrometrie ermöglicht die ICG-VA lediglich eine intermittierende Analyse der Transplantatperfusion, während mithilfe des O2C®-Gerätes ein kontinuierliches postoperatives Monitoring des Transplantats zu realisieren ist. Auch wenn der experimentelle Einsatz der Gewebe-Photospektrometrie im Rahmen der Versuchsdurchführung der vorliegenden Forschungsarbeit von der klinischen Praxis abweicht, untermauern die Ergebnisse die in der Literatur vielfach beschriebene Evidenz, dass sich die O2C®-Parameter nur im Kontext kontinuierlicher Messungen mit simultaner klinischer Transplantatevaluation interpretieren lassen. Dies stellt hinsichtlich des Einsatzes dieser Technik zur postoperativen Transplantatüberwachung im klinischen Alltag die größte Einschränkung dar, da der kritische Zeitpunkt mit Überschreitung der Stauungstoleranz aufgrund fehlender valider Grenzwerte meist nicht erkannt wird.

4.4 Postoperatives Monitoring freier mikrovaskulärer Transplantate im Rahmen rekonstruktiver Eingriffe

Das langfristige funktionelle sowie ästhetische Ergebnis eines freien mikrovaskulären Gewebetransfers zur Rekonstruktion komplexer anatomischer Defekte hängt nicht allein vom intraoperativen Gelingen der Transplantathebung

und dem anschließenden Transfer des transplantierten Gewebes mit mikrochirurgischem Anschluss der Gefäße im Bereich des Defekts ab, sondern wird in entscheidendem Maße vom postoperativen Verlauf, insbesondere innerhalb der ersten sieben Tage, beeinflusst (Wolff et al., 2009; Mücke et al., 2011; Wu et al., 2014; Pabst et al., 2018). Vaskuläre Komplikationen im Bereich des venösen Transplantatschenkels, die während dieses Zeitraumes auftreten und eine retrograde venöse Stauung des gesamten Transplantats zur Folge haben, sollten so frühzeitig wie möglich erkannt und im Rahmen einer sog. "salvage operation" behoben werden (Bui et al., 2007; Mirzabeigi et al., 2012; Bigdeli et al., 2018; Perng et al., 2018). Unmittelbar nach dem operativen Eingriff erfolgt die klinische Transplantatüberwachung in der Regel zunächst im Rahmen der intensivmedizinischen Versorgung und unter Einhaltung eines stringenten postoperativen Protokolls (Ricci et al., 2017). Eine unbemerkte, länger anhaltende venöse Stauung des transplantierten Gewebes ist in diesem Zusammenhang aufgrund der engmaschigen Kontrollen eher unwahrscheinlich. Während des regulären Stationsbetriebes im Anschluss besteht jedoch die Gefahr, dass venös kompromittierte Transplantate trotz regelmäßiger Evaluation erst in einem fortgeschrittenen Stadium durch den visitierenden Arzt erkannt werden (Mücke et al., 2018). Da die klinische Observierung des transplantierten Gewebes, welche lange Zeit als Goldstandard galt, im Kontext einer venösen Stauung u.a. aufgrund starker interindividueller Schwankungen in der Symptomausprägung deutliche Limitationen aufweist und keine adäquate Einschätzung der langfristigen Transplantatvitalität erlaubt, sollten zur Detektion venös kompromittierter Transplantate im Rahmen des postoperativen Monitorings ergänzend technische Verfahren zum Einsatz kommen (Cervenka et Bewley, 2015; Patel et al., 2017). Eine Vielzahl unterschiedlicher Monitoringmodalitäten wurde bereits, wie unter 1.3 dargestellt, für die postoperative Anwendung im Rahmen freier Gewebetransfers untersucht und beschrieben (Abdel-Galil et Mitchell, 2009b, 2009a; Ritschl et al., 2018b). Die zuvor diskutierten Ergebnisse der vorliegenden Arbeit belegen den zusätzlichen diagnostischen Nutzen solcher Verfahren, wie bspw. der ICG-VA und des FLOW® 800-Analysertools, und stützen zudem die Erkenntnis, dass der kombinierte Einsatz zweier verschiedener Monitoringmodalitäten eine frühzeitigere sowie validere Detektion vaskulär

kompromittierter Transplantate ermöglicht (Russell et al., 2006; Gimbel et al., 2009; Tenorio et al., 2009; Akita et al., 2016; Mücke et al., 2020).

Wie unter 4.1 beschrieben, repräsentiert der Versuchsaufbau der vorliegenden Arbeit die Simulation eines venös gestauten, freien mikrovaskulären Transplantats und dessen langfristigen Einheilungsverlauf nach frühzeitiger Detektion sowie anschließender operativer Reexploration zur Behebung der vaskulären Kompromittierung. In Übereinstimmung mit den Studienergebnissen von Harashina et al., lässt sich aus den eingangs diskutierten Versuchsergebnissen ableiten, dass bei venösen Stauungsintervallen von bis zu 4 Stunden eine langfristige komplikationsfreie Einheilung des freien mikrovaskulären Transplantats nach erfolgreicher Reexploration noch erzielt werden kann (Harashina et al., 1977; Mücke et al., 2018). Das zeitliche Überschreiten dieser kritischen Stauungstoleranz gefährdet den langfristigen Erfolg des rekonstruktiven Eingriffs und führt mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer nachhaltigen Transplantatschädigung. Dementsprechend sollte im Sinne eines Monitoringalgorithmus die klinische und apparative Kontrolle des Transplantats mit Evaluation der Gewebepfusion mindestens alle drei Stunden erfolgen, um somit das Risiko eines Transplantatverlusts minimieren und mithilfe einer operativen Reexploration das langfristige rekonstruktive Ergebnis noch positiv beeinflussen zu können (Abb. 33).

Unter Berücksichtigung der diskriminatorischen und prädiktiven Fähigkeit der ICG-VA, ist der kombinierte Einsatz eines ICG-VA-Systems mit integriertem Analysetool zur quantitativen und qualitativen Evaluation der Transplantatperfusion hierbei empfehlenswert. Dennoch gilt es die Vor- und Nachteile, welche mit Bezug auf das in dieser Arbeit zur Anwendung gekommene FLOW® 800-Analysetool ausführlich unter 3.1.3 diskutiert wurden, abzuwägen. Die durch eine i.v. Applikation des Fluoreszenzfarbstoffes bedingte Invasivität der ICG-VA sollte in diesem Zusammenhang berücksichtigt und in Abhängigkeit der existierenden Komorbiditäten sowie perioperativen Risikofaktoren eines Patienten stets kritisch hinterfragt werden (Tomioka et al., 2017; Zhai et al., 2017). Neben der eingeschränkten Mobilität stellen die hohen Anschaffungskosten für das OPMI® Pentero® mit FLOW® 800-Analysetool (OPMI® Pentero® und FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) aus betriebswirtschaftlicher Perspektive

einen weiteren limitierenden Faktor für den postoperativen Einsatz dieses integrierten Systems dar (Yeoh et al., 2013). Berücksichtigt man jedoch den zusätzlichen diagnostischen Nutzen dieses Systems, sowohl intra- als auch postoperativ, und dessen Beitrag zu einer signifikant gesteigerten Erfolgsrate im Rahmen freier mikrovaskulärer Gewebetransfers, sind diese Kosten aus medizinischer Sicht zu rechtfertigen (Patel et al., 2017; Liang et al., 2018).

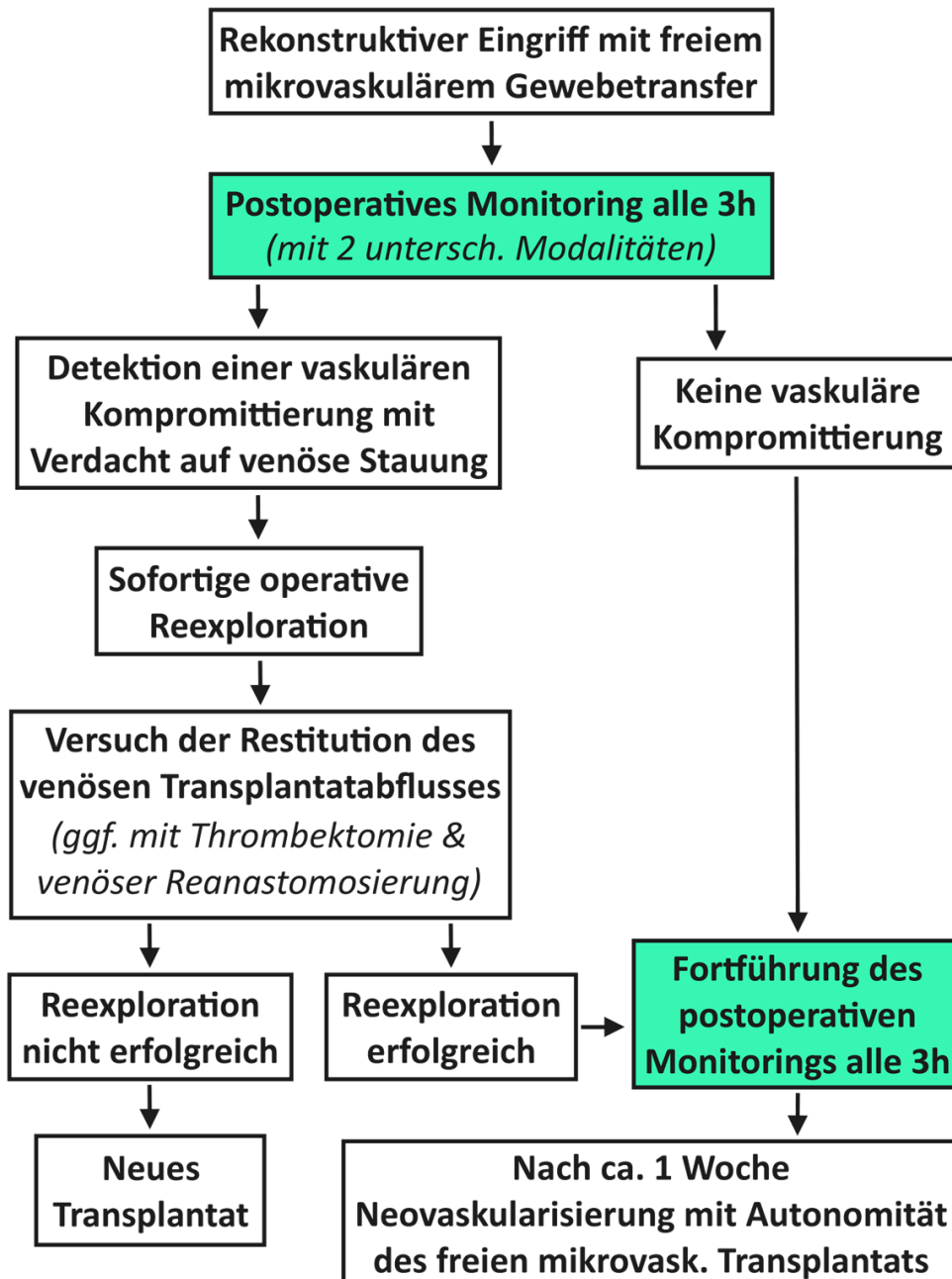


Abb. 33: Algorithmus für das postoperative Monitoring venös kompromittierter Transplantate. Insbesondere innerhalb der ersten postoperativen 72 Stunden besteht ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer vaskulären Kompromittierung im Bereich des venösen Transplantatschenkels (Bui et al., 2007). Daher sollte das postoperative Monitoring nach Möglichkeit unter kombiniertem Einsatz zweier unterschiedlicher Monitoringmodalitäten unmittelbar nach dem operativen Eingriff begonnen und bis zur Autonomisierung des freien mikrovaskulären Transplantats nach ca. einer Woche (5 – 7 Tage) fortgeführt werden (Mücke et al., 2018).

4.5 Ausblick

Die vielfältigen Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit tragen dazu bei, den komplexen Vorgang der venösen Kompromittierung eines freien mikrovaskulären Transplantats besser zu verstehen und durch eine objektive quantitative sowie qualitative Evaluation der Gewebepfusion im Anschluss an die Operation eine frühzeitigere Detektion vaskulärer Komplikationen mit konsekutiv gesteigerter Erfolgsrate des freien mikrovaskulären Gewebetransfers zu ermöglichen. Wie unter 4.2 und 4.3 diskutiert, gilt es jedoch prinzipiell bei der Übertragung der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit und der folglich deduzierten Erkenntnisse in den klinischen Kontext zu beachten, dass diese auf einer vergleichsweise kleinen Versuchskohorte basieren und die ICG-VA-Perfusionsanalysen zur Detektion der venösen Stauung sowie Prädiktion des klinischen Verlaufs ausschließlich mit der im OP-Mikroskop Pentero® integrierten Infrarotkamera und Analysesoftware generiert wurden (OPMI® Pentero®, INFRARED® 800 und FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland). Die Anwendung handgehaltener ICG-VA Systeme ist Gegenstand weiterführender Studien und muss unabhängig von den vorliegenden Ergebnissen gesondert erforscht werden. Grenzwerte für die Vorhersage einer Transplantatnekrose, ebenso wie die hierfür erzielte statistische Validität sowie Sensitivität und Spezifität, können in diesem Zusammenhang differieren. Die beobachteten pathophysiologischen Vorgänge während einer venösen Transplantatstauung können, verglichen mit dem epigastrischen Lappen der Ratte, im menschlichen Organismus zudem abweichen und durch weitere Perfusionsfaktoren zusätzlich in ihrer Komplexität beeinflusst werden (Yamamoto et al., 2017a). Ergänzend sollte hinsichtlich der Prädiktion von Transplantatnekrosen beachtet werden, dass ein nekrotischer Verlust von einzelnen Gewebearealen nicht ausschließlich und in jeder Konstellation auf eine venöse Stauung des freien mikrovaskulären Transplantats zurückzuführen ist. Partielle Nekrosen können auch auf einer stauungsunabhängigen Störung der Mikrozirkulation des Lappens oder einem zuvor unter 4.1 diskutierten sog. postischämischen Perfusionsschaden basieren und dadurch isoliert auftreten (Las et al., 2016). Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass eine länger anhaltende venöse Stase diese pathophysiologischen Prozesse verstärkt und folglich die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten einer Transplantatnekrose, im

Sinne eines additiven Effekts, deutlich erhöht. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit erfolgte die Versuchsdurchführung an einem fasziokutanen Transplantat. Für alternative Transplantatformen mit abweichender Gewebekonfiguration (bspw. osteomyokutane und fasziomyokutane Lappen) können die Ergebnisse variieren.

Das postoperative Monitoring im Rahmen rekonstruktiver Eingriffe mit freiem mikrovaskulärem Gewebetransfer wird weiterhin Gegenstand zukünftiger Forschung bleiben. Hierbei gilt es, die Detektion vaskulär kompromittierter Transplantate mithilfe neu entwickelter technischer Verfahren noch frühzeitiger und zuverlässiger zu ermöglichen, als es die bisher etablierten Monitoringverfahren aktuell zulassen. Im Hinblick auf die postoperative Invasivität und den ausschließlich intermittierenden Einsatz der ICG-VA-Systeme wären hierbei nichtinvasive Monitoringverfahren, welche eine kontinuierliche Perfusionsevaluation ermöglichen, von Vorteil (Agha et al., 2014). Eine 2019 in der Fachzeitschrift *Nature Biomedical Engineering* veröffentlichte Studie von Yeshwant und Ghaffari präsentierte einen biologisch abbaubaren, kabellosen Mikrogefäß-Flusssensor, welcher zahlreiche Vorteile vereint und ein nichtinvasives kontinuierliches Monitoring der Durchblutung postoperativ ermöglicht (Yeshwant et Ghaffari, 2019). Dieser batterielose Blutflusssensor wird intraoperativ, nach abgeschlossener mikrochirurgischer Rekonstruktion mit Anastomosierung der Transplantatarterie sowie -vene, an dem entsprechenden Gefäßabschnitt positioniert und kann im postoperativen Verlauf durch Auflegen einer Empfängersonde auf der darüberliegenden Hautoberfläche ausgelesen werden. Dabei erfolgt die Messung des pulsatilen Blutflusses über die perivaskulär anliegende Sensormanschette durch Detektion von intraluminalen Frequenzabweichungen und auf die Gefäßwand wirkenden Druckdifferenzen (Abb. 34). Nach komplikationsfreier Einheilung des freien mikrovaskulären Transplantats bedarf es, im Gegensatz zum implantierbaren Cook-Swartz-Doppler, keines weiteren operativen Eingriffes zur Entfernung des Flusssensors, da dieser im zeitlichen Verlauf physiologisch resorbiert wird (Um et al., 2014; Lenz et al., 2018). Klinische Langzeitstudien zur Verträglichkeit der einzelnen Komponenten aus biologisch abbaubaren Kunststoffen stehen allerdings noch aus (Jeong et al., 2019). Dieses innovative technische Verfahren stellt in gewisser Hinsicht eine

Weiterentwicklung bisheriger Gefäßdoppler-Systeme dar, welche bereits in zahlreichen Studien auf ihre klinische Anwendung zur Perfusionsevaluation hin überprüft wurden und eine hohe Validität hinsichtlich der Detektion vaskulärer Kompromittierungen aufwiesen (Mücke, 2012; Chao et al., 2013; Mücke et al., 2020). So verglichen beispielsweise Fujiwara et al. 2018 in einer klinischen Studie mit 120 freien mikrovaskulären Gewebetransfers die Anwendung der Ultraschall-Durchflussmessung mittels Flowmeter mit dem Einsatz eines implantierbaren Cook-Swartz-Dopplers und konstatierten für die Detektion venöser Abflussstörungen eine Sensitivität von 100 % sowie eine Spezifität von 86,4 % (Fujiwara et al., 2018). Die korrekte Applikation sowohl des implantierbaren Cook-Swartz-Dopplers als auch des kabellosen, resorbierbaren Durchflussmessers erfordern entsprechende mikrochirurgische Fähigkeiten und müssen in der zeitlichen Planung des operativen Eingriffs berücksichtigt werden (Um et al., 2014; Teven et al., 2017).

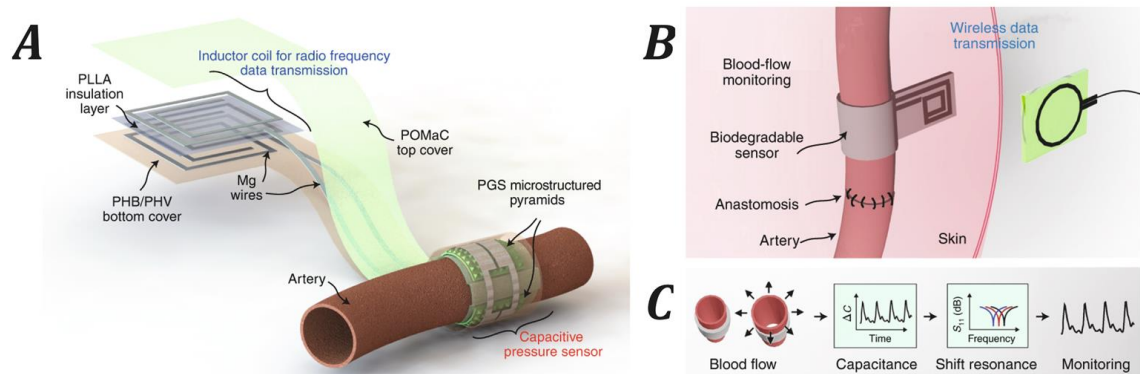


Abb. 34: Kabelloser, biologisch abbaubarer Flusssensor zur noninvasiven postoperativen Überwachung der Transplantatperfusion. (A) Der Flusssensor besteht aus einer perivaskulär anliegenden Sensormanschette und einem Transmitter, welcher die kabellose Übertragung der im Bereich des Sensors ermittelten Flussinformation ermöglicht. Die Komponenten sowohl des Sensors als auch des Transmitters bestehen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen und werden im zeitlichen Verlauf nach Einheilung des Transplantats physiologisch resorbiert. (B) Das Abrufen der Flussinformationen mithilfe einer externen Empfängersonde an der Hautoberfläche erlaubt im Rahmen des postoperativen Monitorings die kontinuierliche Überwachung der Perfusion. (C) Der Sensor registriert über Druckdifferenzen im Bereich der Gefäßwand sowie den daraus resultierenden Abweichungen der Resonanzfrequenz etwaige Veränderungen der Durchblutung und gibt diese als Amplitudenmuster im zeitlichen Verlauf wieder. Abbildung modifiziert nach Yeshwant und Ghaffari (Yeshwant et Ghaffari, 2019).

Ein weiteres innovatives sowie noninvasives Verfahren zur postoperativen Perfusionsevaluation freier mikrovaskulärer Transplantate stellt das von Tomioka et al. entwickelte flexible Monitoringtool zur optischen Erfassung von Pulswellen dar (Tomioka et al., 2017). Wie 2017 in der Fachzeitschrift *Scientific Reports* durch die Autoren beschrieben, konnten mithilfe dieses technischen Verfahrens im Tierversuch sowohl arterielle Gefäßverschlüsse als auch Störungen der venösen Transplantatdrainage mit kurzer zeitlicher Verzögerung in vier benachbarten Regionen simultan detektiert werden (2 min bzw. 20 min respektive). Im Rahmen der klinischen Validierung korrelierte die Einschränkung der Blutzufuhr, im Sinne einer vaskulären Okklusion, mit einer deutlichen Abnahme des Pulssignals und es konnte eine kontinuierliche Perfusionsevaluation über einen Zeitraum von einer Woche realisiert werden. Auch wenn Monitoringverfahren wie die ICG-VA unter Einsatz einer adäquaten Analysesoftware ggf. eine umgehendere Detektion vaskulärer Kompromittierungen ermöglichen, ist dieses Verfahren aufgrund seiner flexiblen Applikation, einfachen Anwendbarkeit und fehlenden Invasivität vielversprechend (Abb. 35).

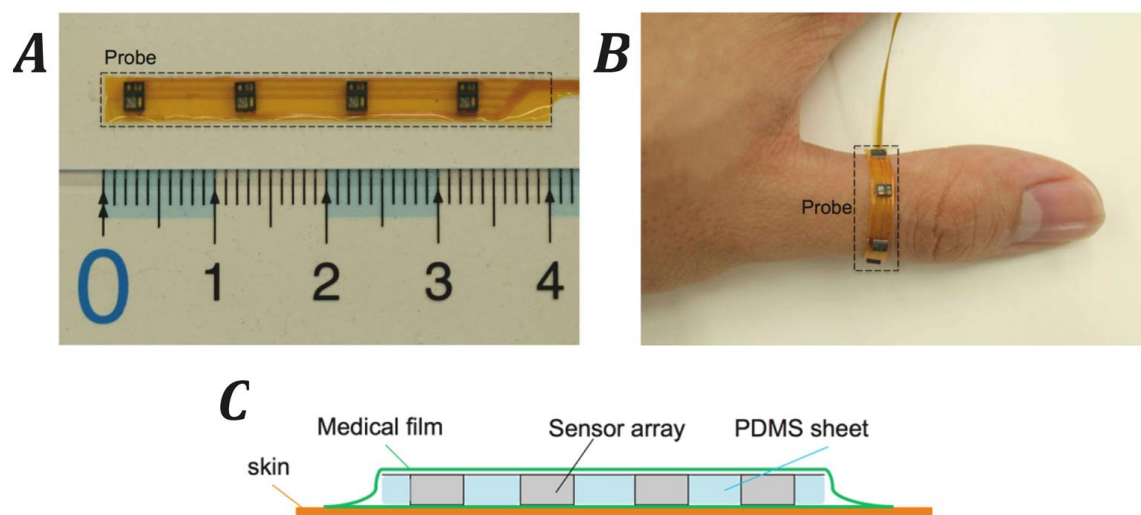


Abb. 35: Noninvasives Monitoring mithilfe des optischen Multipoint Pulse Wave-Verfahrens. (A) Der Trägerfilm verfügt über vier optische Sensoren, welche in gleichmäßigem Abstand zueinander angeordnet sind und die Erfassung des pulsatilen Blutflusses in vier verschiedenen benachbarten Regionen ermöglichen. (B und C) Der Sensorstreifen kann, aufgrund seiner geringen Schichtstärke und guten Adaptierbarkeit, flexibel an einer beliebigen Stelle im Bereich der Hautoberfläche appliziert werden und ist über ein Verbindungskabel mit einem kleinen Monitor verbunden. Abbildung modifiziert nach Tomioka et al. (Tomioka et al., 2017).

Vor dem Hintergrund dieser technischen Innovationen im Bereich der quantitativen und qualitativen Perfusionsevaluation ist von einer kontinuierlichen Weiterentwicklung und Optimierung des postoperativen Transplantatmonitorings mit Steigerung der Erfolgsrate für den freien mikrovaskulären Gewebetransfer auszugehen. Neben dem Versuch, vaskuläre Kompromittierungen mithilfe neuer technischer Verfahren in Zukunft noch frühzeitiger detektieren zu können, sollten auch die pathophysiologischen Vorgänge, welche im Rahmen einer venösen Stauung letztlich zu einem Kollaps der Mikrozirkulation des Transplantats führen, weiterhin erforscht werden.

5 Zusammenfassung

Der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer stellt in der rekonstruktiven Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie das Standardverfahren zur Rehabilitation komplexer Gewebedefekte dar und kann, trotz seiner technisch anspruchsvollen Durchführung, heute mit Erfolgsraten von über 95 % als zuverlässige rekonstruktive Methode angesehen werden (Wolff et Hölzle, 2017; Liang et al., 2018; Mücke et al., 2018). Vaskuläre Komplikationen im Bereich der transplantatversorgenden Gefäße während des postoperativen Verlaufs können den langfristigen Erfolg des rekonstruktiven Eingriffes kompromittieren und bergen das Risiko eines partiellen bis vollständigen nekrotischen Transplantatverlusts (Bigdeli et al., 2018; Mücke et al., 2020). Die venöse Transplantatstauung gilt hierbei als häufigste Ursache für eine gestörte Gewebepfusion mit konsekutivem Kollaps der kapillären Endstromgebiete und ist für mehr als die Hälfte aller operativen Reexplorationen verantwortlich (Wu et al., 2014; Ritschl et al., 2018a). Der Erfolg einer Reexploration zur Transplantatrettung (engl. salvage operation) hängt maßgeblich von einer frühzeitigen Detektion der venös bedingten Kompromittierung und umgehenden Restitution der venösen Drainagefunktion ab (Karinja et Lee, 2018; Perng et al., 2018). Trotz einer Vielzahl an zur Verfügung stehenden technischen Verfahren für das postoperative Monitoring bleibt das rechtzeitige Erkennen eines venös gestauten Transplantats im klinischen Alltag weiterhin eine Herausforderung (Fujiwara et al., 2018; Ritschl et al., 2018b). Der überwiegende Anteil der existierenden Studien, welche sich mit dem Aspekt der Perfusion freier mikrovaskulärer Transplantate befassen, stellt primär die Detektion einer arteriell bedingten Transplantatischämie mit konsekutiver Gewebehypoxie in den Vordergrund (Merikli et al., 2017; Ricci et al., 2017). Zudem fehlen geeignete Studien, die eine komparative Einschätzung aktuell verfügbarer Monitoringverfahren hinsichtlich ihrer Fähigkeit, eine venöse Stase rechtzeitig zu detektieren, erlauben (Gimbel et al., 2009). Die Festlegung objektiver Grenzwerte für bereits etablierte Untersuchungsmodalitäten, auf Grundlage derer kritische Transplantatareale intra- bzw. postoperativ bereits identifiziert und die Entstehung von Gewebenekrosen ggf. vorhergesagt werden können, steht bis heute aus (Ritschl et al., 2018a). Die genaue Korrelation zwischen der zeitlichen

sowie graduellen Ausprägung einer venösen Stauung und der etwaigen Entstehung von Folgeschäden am transplantierten Gewebe stellt einen weiteren bisher unerforschten Aspekt dar. In diesem Zusammenhang ist nach wie vor unklar, wie lange das transplantierte Gewebe die venöse Stauung tolerieren kann und eine erfolgreiche Reexploration ohne nekrotische Folgeschäden noch möglich ist (Harashina et al., 1977; Black et al., 1978).

In der vorliegenden Arbeit wurde anhand eines epigastrischen Transplantationsmodells der Ratte eine venöse Transplantatstauung durch vollständiges Abklemmen der V. epigastrica sup. mithilfe eines Gefäßclips simuliert und die anschließenden Veränderungen der Gewebepfusion im Rahmen unterschiedlich lang anhaltender venöser Stauungsintervalle (0h, 4h, 5h, 6h und 7h) untersucht. Nach einwöchigem Beobachtungszeitraum erfolgte eine finale Beurteilung der Transplantatvitalität. Hierbei wurden auch die Inzidenz von Transplantatnekrosen und deren flächenmäßige Ausprägung mithilfe einer planimetrischen Vermessungssoftware innerhalb der einzelnen Versuchsgruppen mit unterschiedlichem Stauungsintervall bestimmt. Für die intra- sowie postoperative Perfusionsevaluation kamen das Verfahren der Ultraschall-Durchflussmessung (Transit-Flowmeter), der Gewebe-Photospektrometrie (O2C®) sowie der Indocyaningrün-Videoangiographie (ICG-VA) mit integriertem FLOW® 800-Analyssetool zur Anwendung. Im Rahmen der statistischen Auswertung der Ergebnisse konnte die diskriminatorische Fähigkeit der jeweiligen Monitoringverfahren zur Detektion einer venösen Stauung mithilfe des Mann-Whitney-U- sowie Wilcoxon-Tests und einer Berechnung des bivariaten Rangkorrelationskoeffizienten nach Spearman überprüft werden. Zusätzlich erfolgte mithilfe einer Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse und einer anschließenden Bestimmung des Youden-Index die Etablierung definierter Grenzwerte für die Prädiktion von Transplantatnekrosen. Für das Verfahren der ICG-VA und der Gewebe-Photospektrometrie wurden unter Berücksichtigung dieser zuvor genannten Vorhersagegrenzwerte ergänzend die Sensitivität und Spezifität ermittelt.

Im Rahmen der Ergebnispräsentation erfolgten eine detaillierte Darstellung aller ermittelten Perfusionsparameter sowie deren dynamische Veränderung während der gesamten operativen Versuchsdurchführung. Mithilfe der Ultraschall-

Durchflussmessung konnte eine Woche nach venöser Stauung in allen Gruppen eine signifikante Reduktion des Flussvolumens in den transplantatversorgenden Gefäßen beobachtet werden. Weiterhin waren sowohl die Gewebe-Photospektrometrie (O2C®) als auch die ICG-VA mit kombiniertem FLOW® 800-Analysetool in der Lage, eine venöse Transplantatstauung umgehend zu detektieren, bevor es zu einer makroskopisch sichtbaren Verfärbung der Hautinsel kam. Hinsichtlich der Entstehung von Transplantatnekrosen konnte eine signifikante Zunahme der Inzidenz und Nekrosefläche nach 5, 6 und 7 Stunden venösem Stauungsintervall beobachtet werden. Die Prädiktion nekrotischer Transplantatareale mithilfe des FLOW® 800-Analysetools im Rahmen der ICG-VA gelang mit hoher diagnostischer Akkuranz sowohl nach initialer Transplantathebung als auch nach erfolgter venöser Stauung über 4 bzw. 6 Stunden. Für die berechneten Vorhersagegrenzwerte im Zuge der prädiktiven Validierung des FLOW® 800-Analysetools ergaben sich eine Sensitivität von 71,4 % und eine Spezifität von 96,1 %. Nach 6 Stunden venösem Stauungsintervall erfolgte die Vorhersage von Transplantatnekrosen auf Basis eines definierten Grenzwertes für die maximale ICG-Intensität mit einer Sensitivität von 90 % und einer Spezifität von 61,1 %.

Unter Berücksichtigung der in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse ist davon auszugehen, dass bei venösen Stauungsintervallen von bis zu 4 Stunden eine langfristige komplikationsfreie Einheilung des freien mikrovaskulären Transplantats, eine operative Behebung des kompromittierenden Events sowie Restitution des venösen Abflusses vorausgesetzt, noch erzielt werden kann. Wird diese kritische 4-Stunden-Marge zeitlich überschritten, muss von einer nachhaltigen Schädigung des Transplantats im Sinne eines nekrotischen Gewebeverlusts ausgegangen werden. Die ICG-VA mit kombiniertem FLOW® 800-Analysetool ist aufgrund ihrer diskriminatorischen sowie prädiktiven Fähigkeit in der Lage, im Rahmen einer postoperativen Perfusionsanalyse eine solche venöse Stauung frühzeitig zu detektieren und kritische Gewebeareale, welche eine Nekroseentstehung erwarten lassen, zuverlässig zu identifizieren. Die Akkumulation dieser Erkenntnisse könnte im Rahmen des freien mikrovaskulären Gewebetransfers helfen, venös gestaute Transplantate noch eher zu erkennen und somit einen drohenden Transplantatverlust abzuwenden.

6 Literaturverzeichnis

Abdel-Galil K., Mitchell D. Postoperative monitoring of microsurgical free-tissue transfers for head and neck reconstruction: a systematic review of current techniques--part II. Invasive techniques. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2009a), 47(6), 438-442.

Abdel-Galil K., Mitchell D. Postoperative monitoring of microsurgical free tissue transfers for head and neck reconstruction: a systematic review of current techniques--part I. Non-invasive techniques. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2009b), 47(5), 351-355.

Abdel Razek A. A., Denewer A. T., Hegazy M. A., Hafez M. T. Role of computed tomography angiography in the diagnosis of vascular stenosis in head and neck microvascular free flap reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* (2014), 43(7), 811-815.

Agha R. A., Gundogan B., Fowler A. J., Bragg T. W. H., Orgill D. P. The efficacy of the Cook-Swartz implantable Doppler in the detection of free-flap compromise: a systematic review protocol. *BMJ Open* (2014), 4(3).

Akita S., Mitsukawa N., Tokumoto H., Kubota Y., Kuriyama M., Sasahara Y., Yamaji Y., Satoh K. Regional Oxygen Saturation Index: A Novel Criterion for Free Flap Assessment Using Tissue Oximetry. *Plast Reconstr Surg* (2016), 138(3), 510e-518e.

Al-Dam A., Precht C., Barbe A., Kohlmeier C., Hanken H., Wikner J., Schon G., Heiland M., Assaf A. T. Sensitivity and specificity of sentinel lymph node biopsy in patients with oral squamous cell carcinomas using indocyanine green fluorescence imaging. *J Craniomaxillofac Surg* (2018), 46(8), 1379-1384.

Alander J. T., Kaartinen I., Laakso A., Patila T., Spillmann T., Tuchin V. V., Venermo M., Valisuo P. A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging* (2012), 2012, 940585.

- Baskurt O. K., Meiselman H. J. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* (2003), 29(5), 435-450.
- Berggren-Olsen M. M., Rauff-Mortensen A., Holst R., Houliind K. C., Birke-Sorensen H. Monitoring of Free Flaps with Combined Tissue Spectrophotometry and Laser Doppler Flowmetry in an Animal Experimental Model. *J Reconstr Microsurg* (2017), 33(8), 579-586.
- Bergkvist M., Henricson J., Iredahl F., Tesselaar E., Sjoberg F., Farnebo S. Assessment of microcirculation of the skin using Tissue Viability Imaging: A promising technique for detecting venous stasis in the skin. *Microvasc Res* (2015), 101, 20-25.
- Bergkvist M., Zötterman J., Henricson J., Iredahl F., Tesselaar E., Farnebo S. Vascular Occlusion in a Porcine Flap Model: Effects on Blood Cell Concentration and Oxygenation. *Plast Reconstr Surg Glob Open* (2017), 5(11).
- Berlim G. L., Oliveira A. C. P., Portinho C. P., Morello E., Linhares C. B., Collares M. V. M. Glucose level evaluation in monopodcled rectus abdominis myocutaneous flap after venous occlusion: experimental study in rats. *Rev Col Bras Cir* (2018), 45(1), e1276.
- Bianchi B., Copelli C., Ferrari S., Ferri A., Sesenna E. Free flaps: outcomes and complications in head and neck reconstructions. *J Craniomaxillofac Surg* (2009), 37(8), 438-442.
- Bigdeli A. K., Gazyakan E., Schmidt V. J., Bauer C., Germann G., Radu C. A., Kneser U., Hirche C. Long-Term Outcome after Successful Lower Extremity Free Flap Salvage. *J Reconstr Microsurg* (2018).
- Bigdeli A. K., Gazyakan E., Schmidt V. J., Hernekamp F. J., Harhaus L., Henzler T., Kremer T., Kneser U., Hirche C. Indocyanine Green Fluorescence for Free-Flap Perfusion Imaging Revisited: Advanced Decision Making by Virtual Perfusion

-
- Reality in Visionsense Fusion Imaging Angiography. *Surg Innov* (2016), 23(3), 249-260.
- Bischoff P. M., Flower R. W. Ten years experience with choroidal angiography using indocyanine green dye: a new routine examination or an epilogue? *Doc Ophthalmol* (1985), 60(3), 235-291.
- Black M. J., Chait L., O'Brien B. M., Sykes P. J., Sharzer L. A. How soon may the axial vessels of a surviving free flap be safely ligated: a study in pigs. *Br J Plast Surg* (1978), 31(4), 295-299.
- Bodor R., Yoleri L., Zhang F., Buncke G. M., Lineaweaver W. C., Buncke H. J. Blood-flow velocity as a factor in postoperative microvascular patency. *J Reconstr Microsurg* (1997), 13(7), 463-470.
- Bonde C. T., Holstein-Rathlou N. H., Elberg J. J. Validation of a 1-mm transit time flow probe and the potential for use in microsurgery. *J Reconstr Microsurg* (2006), 22(7), 519-524.
- Bootz F., Preyer S. [Microvascular tissue transplantation in plastic reconstruction of the external head-neck area]. *Laryngorhinootologie* (1994), 73(10), 538-542.
- Bui D. T., Cordeiro P. G., Hu Q. Y., Disa J. J., Pusic A., Mehrara B. J. Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg* (2007), 119(7), 2092-2100.
- Burnier P., Niddam J., Bosc R., Hersant B., Meningaud J. P. Indocyanine green applications in plastic surgery: A review of the literature. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* (2017), 70(6), 814-827.
- Casal D., Pais D., Iria I., Mota-Silva E., Almeida M. A., Alves S., Pen C., Farinho A., Mascarenhas-Lemos L., Ferreira-Silva J., Ferraz-Oliveira M., Vassilenko V., Videira P. A., Gory O'Neill J. A Model of Free Tissue Transfer: The Rat Epigastric Free Flap. *J Vis Exp* (2017), (119).

Cervenka B., Bewley A. F. Free flap monitoring: a review of the recent literature. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* (2015), 23(5), 393-398.

Chafin B., Belmont M. J., Quraishi H., Clovis N., Wax M. K. Effect of clamp versus anastomotic-induced ischemia on critical ischemic time and survival of rat epigastric fasciocutaneous flap. *Head Neck* (1999), 21(3), 198-203.

Chao A. H., Meyerson J., Povoski S. P., Kocak E. A review of devices used in the monitoring of microvascular free tissue transfers. *Expert Rev Med Devices* (2013), 10(5), 649-660.

Chen K. T., Mardini S., Chuang D. C., Lin C. H., Cheng M. H., Lin Y. T., Huang W. C., Tsao C. K., Wei F. C. Timing of presentation of the first signs of vascular compromise dictates the salvage outcome of free flap transfers. *Plast Reconstr Surg* (2007), 120(1), 187-195.

Chiu Y. H., Chang D. H., Perng C. K. Vascular Complications and Free Flap Salvage in Head and Neck Reconstructive Surgery: Analysis of 150 Cases of Reexploration. *Ann Plast Surg* (2017), 78(3 Suppl 2), S83-s88.

Clancy K., Melki S., Awan M., Li S., Lavertu P., Fowler N., Yao M., Rezaee R., Zender C. A. Outcomes of microvascular free tissue transfer in twice-irradiated patients. *Microsurgery* (2017), 37(6), 574-580.

Clemenza J. W., Rogers S., Magennis P. Pre-operative evaluation of the lower extremity prior to microvascular free fibula flap harvest. *Ann R Coll Surg Engl* (2000), 82(2), 122-127.

Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E. M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim* (1996), 30(4), 293-316.

Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E. M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D., Warwick C.

-
- Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Lab Anim* (1997), 31(1), 1-32.
- Copelli C., Tewfik K., Cassano L., Pederneschi N., Catanzaro S., Manfuso A., Cocchi R. Management of free flap failure in head and neck surgery Gestione del fallimento dei lembi liberi in chirurgia testa-collo. *Acta Otorhinolaryngol Ital* (2017), 37(5), 387-392.
- Corbitt C., Skoracki R. J., Yu P., Hanasono M. M. Free flap failure in head and neck reconstruction. *Head Neck* (2014), 36(10), 1440-1445.
- Douglas B., Weinberg H., Song Y., Silverman D. G. Beneficial Effects of Ibuprofen on Experimental Microvascular Free Flaps: Pharmacologic Alteration of the No-Reflow Phenomenon. *Plast Reconstr Surg* (1987), 79(3), 372-374.
- Eppihimer M. J., Lipowsky H. H. Effects of leukocyte-capillary plugging on the resistance to flow in the microvasculature of cremaster muscle for normal and activated leukocytes. *Microvasc Res* (1996), 51(2), 187-201.
- Farwell D. G., Reilly D. F., Weymuller E. A., Jr., Greenberg D. L., Staiger T. O., Futran N. A. Predictors of perioperative complications in head and neck patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* (2002), 128(5), 505-511.
- Feindel W., Yamamoto Y. L., Hodge C. P. Intracarotid fluorescein angiography: a new method for examination of the epicerebral circulation in man. *Can Med Assoc J* (1967), 96(1), 1-7.
- Fernandez E. J., Nadal R. D., Gonzalez S. M., Caffee H. H. The effect of stasis on a microvascular anastomosis. *Microsurgery* (1983), 4(3), 176-177.
- Fichter A. M. *Entwicklung eines extrakorporalen Perfusionssystems zur Vitalerhaltung freier Gewebetransplantate im Kleintiermodell.* Dissertationsschrift, Technische Universität München, München, 2015.

Fichter A. M., Borgmann A., Ritschl L. M., Mitchell D. A., Wagenpfeil S., Dornseifer U., Wolff K. D., Mucke T. Perforator flaps--how many perforators are necessary to keep a flap alive? *Br J Oral Maxillofac Surg* (2014), 52(5), 432-437.

Fourman M. S., Gersch R. P., Phillips B. T., Nasser A., Rivara A., Verma R., Dagum A. B., Rosengart T. K., Bui D. T. Comparison of Laser Doppler and Laser-Assisted Indocyanine Green Angiography Prediction of Flap Survival in a Novel Modification of the McFarlane Flap. *Ann Plast Surg* (2015), 75(1), 102-107.

Frick A., Baumeister R. G. H., Wohllaib U., Hammer C. (1992). *Experimental Investigation to Improve Free Flap Survival by Prostacyclin Analogue*, Berlin, Heidelberg.

Fujiwara R. J. T., Dibble J. M., Larson S. V., Pierce M. L., Mehra S. Outcomes and reliability of the flow coupler in postoperative monitoring of head and neck free flaps. *Laryngoscope* (2018), 128(4), 812-817.

Geis S., Klein S., Prantl L., Dolderer J., Lamby P., Jung E. M. Quantitative Assessment of Free Flap Viability with CEUS Using an Integrated Perfusion Software. *Handchir Mikrochir Plast Chir* (2015), 47(6), 389-395.

Geltzeiler M., Nakassa A. C. I., Turner M., Setty P., Zenonos G., Hebert A., Wang E., Fernandez-Miranda J., Snyderman C., Gardner P. Evaluation of Intranasal Flap Perfusion by Intraoperative Indocyanine Green Fluorescence Angiography. *Oper Neurosurg (Hagerstown)* (2018), 15(6), 672-676.

Gimbel M. L., Rollins M. D., Fukaya E., Hopf H. W. Monitoring partial and full venous outflow compromise in a rabbit skin flap model. *Plast Reconstr Surg* (2009), 124(3), 796-803.

Giunta R. E., Holzbach T., Taskov C., Holm P. S., Brill T., Busch R., Gansbacher B., Biemer E. Prediction of flap necrosis with laser induced indocyanine green fluorescence in a rat model. *Br J Plast Surg* (2005), 58(5), 695-701.

-
- Goppner D., Nekwasil S., Jellestad A., Sachse A., Schonborn K. H., Gollnick H. Indocyanine green-assisted sentinel lymph node biopsy in melanoma using the "FOVIS" system. *J Dtsch Dermatol Ges* (2017), 15(2), 169-178.
- Grabb W. C., Myers M. B. *Skin flaps* (1975): Little, Brown.
- Guillemaud J. P., Seikaly H., Cote D., Allen H., Harris J. R. The implantable Cook-Swartz Doppler probe for postoperative monitoring in head and neck free flap reconstruction. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* (2008), 134(7), 729-734.
- Hackethal A., Hirschburger M., Eicker S. O., Mucke T., Lindner C., Buchweitz O. Role of Indocyanine Green in Fluorescence Imaging with Near-Infrared Light to Identify Sentinel Lymph Nodes, Lymphatic Vessels and Pathways Prior to Surgery - A Critical Evaluation of Options. *Geburtshilfe Frauenheilkd* (2018), 78(1), 54-62.
- Halle M., Eriksson B. O., Docherty Skogh A. C., Sommar P., Hammarstedt L., Gahm C. Improved Head and Neck Free Flap Outcome-Effects of a Treatment Protocol Adjustment from Pre- to Postoperative Radiotherapy. *Plast Reconstr Surg Glob Open* (2017), 5(3), e1253.
- Hanasono M. M., Barnea Y., Skoracki R. J. Microvascular surgery in the previously operated and irradiated neck. *Microsurgery* (2009), 29(1), 1-7.
- Harashina T., Sawada Y., Watanabe S. The relationship between venous occlusion time in island flaps and flap survivals. *Plast Reconstr Surg* (1977), 60(1), 92-95.
- Hausamen J. E., Machtens E., Reuther J. F., Eufinger H., Kübler A., Schliephake H. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie* (2012): Springer Berlin Heidelberg.
- Hayden R. E., Nagel T. H. The evolving role of free flaps and pedicled flaps in head and neck reconstruction. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* (2013), 21(4), 305-310.

Hjortdal V. E., Hauge E., Hansen E. S. Differential effects of venous stasis and arterial insufficiency on tissue oxygenation in myocutaneous island flaps: an experimental study in pigs. *Plast Reconstr Surg* (1992), 89(3), 521-529.

Holm C., Dornseifer U., Sturtz G., Ninkovic M. Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg* (2010), 26(5), 311-316.

Holm C., Mayr M., Hofter E., Becker A., Pfeiffer U. J., Muhlbauer W. Intraoperative evaluation of skin-flap viability using laser-induced fluorescence of indocyanine green. *Br J Plast Surg* (2002), 55(8), 635-644.

Holm C., Mayr M., Hofter E., Dornseifer U., Ninkovic M. Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study. *Microsurgery* (2009), 29(7), 509-514.

Hölzle F., Loeffelbein D. J., Nolte D., Wolff K. D. Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry. *J Craniomaxillofac Surg* (2006), 34(1), 25-33.

Hölzle F., Mohr C., Wolff K.-D. Reconstructive Oral and Maxillofacial Surgery. *Dtsch Arztebl International* (2008), 105(47), 815-822.

Hölzle F., Rau A., Loeffelbein D. J., Mucke T., Kesting M. R., Wolff K. D. Results of monitoring fasciocutaneous, myocutaneous, osteocutaneous and perforator flaps: 4-year experience with 166 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* (2010), 39(1), 21-28.

Hölzle F., Rau A., Swaid S., Loeffelbein D. J., Nolte D., Wolff K. D. [Simultaneous noninvasive monitoring for radial forearm and fibula flaps using laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry]. *Mund Kiefer Gesichtschir* (2005), 9(5), 290-299.

Hölzle F., Ristow O., Rau A., Mucke T., Loeffelbein D. J., Mitchell D. A., Stimmer H., Wolff K. D., Kesting M. R. Evaluation of the vessels of the lower leg before

-
- microsurgical fibular transfer. Part II: magnetic resonance angiography for standard preoperative assessment. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2011), 49(4), 275-280.
- Hosein R. C., Cornejo A., Wang H. T. Postoperative monitoring of free flap reconstruction: A comparison of external Doppler ultrasonography and the implantable Doppler probe. *Plast Surg (Oakv)* (2016), 24(1), 11-19.
- Jeong W., Kim K., Son D., Kim Y. New Absorbable Microvascular Anastomotic Devices Representing a Modified Sleeve Technique: Evaluation of Two Types of Source Material and Design. *Sci Rep* (2019), 9(1), 10945.
- Just M., Chalopin C., Unger M., Halama D., Neumuth T., Dietz A., Fischer M. Monitoring of microvascular free flaps following oropharyngeal reconstruction using infrared thermography: first clinical experiences. *Eur Arch Otorhinolaryngol* (2016), 273(9), 2659-2667.
- Kagaya Y., Ohura N., Kurita M., Takushima A., Harii K. Examination of tissue oxygen saturation (StO₂) changes associated with vascular pedicle occlusion in a rat Island flap model using near-Infrared spectroscopy. *Microsurgery* (2015), 35(5), 393-398.
- Kapoor A., Karmakar M., Roy C., Anand K. P. Assessment of perfusion of free flaps used in head and neck reconstruction using pulsatility index. *Indian J Plast Surg* (2017), 50(2), 173-179.
- Karinja S. J., Lee B. T. Advances in flap monitoring and impact of enhanced recovery protocols. *J Surg Oncol* (2018), 118(5), 758-767.
- Kempton S. J., Poore S. O., Chen J. T., Afifi A. M. Free flap monitoring using an implantable anastomotic venous flow coupler: Analysis of 119 consecutive abdominal-based free flaps for breast reconstruction. *Microsurgery* (2015), 35(5), 337-344.

Kesting M. R., Hölzle F., Wales C., Steinstraesser L., Wagenpfeil S., Mücke T., Rohleder N. H., Wolff K. D., Hasler R. J. Microsurgical reconstruction of the oral cavity with free flaps from the anterolateral thigh and the radial forearm: a comparison of perioperative data from 161 cases. *Ann Surg Oncol* (2011a), *18*(7), 1988-1994.

Kesting M. R., Holzle F., Wolff K. D., Wagenpfeil S., Hasler R. J., Wales C. J., Steinstraesser L., Rohleder N. H. Use of microvascular flap technique in older adults with head and neck cancer: a persisting dilemma in reconstructive surgery? *J Am Geriatr Soc* (2011b), *59*(3), 398-405.

Khouri R. K. Avoiding free flap failure. *Clin Plast Surg* (1992), *19*(4), 773-781.

Koolen P. G., Vargas C. R., Ho O. A., Ibrahim A. M., Ricci J. A., Tobias A. M., Winters H. A., Lin S. J., Lee B. T. Does Increased Experience with Tissue Oximetry Monitoring in Microsurgical Breast Reconstruction Lead to Decreased Flap Loss? The Learning Effect. *Plast Reconstr Surg* (2016), *137*(4), 1093-1101.

Krug A. Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes. [Microcirculation et saturation tissulaire en oxygène: Selon la méthode O2C]. *Phlebologie* (2006), *35*(06), 300-312.

Kruse A. L., Luebbers H. T., Gratz K. W., Obwegeser J. A. Factors influencing survival of free-flap in reconstruction for cancer of the head and neck: a literature review. *Microsurgery* (2010), *30*(3), 242-248.

Las D. E., de Jong T., Zuidam J. M., Verweij N. M., Hovius S. E., Mureau M. A. Identification of independent risk factors for flap failure: A retrospective analysis of 1530 free flaps for breast, head and neck and extremity reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* (2016), *69*(7), 894-906.

Lenz Y., Gross R., Penna V., Bannasch H., Stark G. B., Eisenhardt S. U. Evaluation of the Implantable Doppler Probe for Free Flap Monitoring in Lower Limb Reconstruction. *J Reconstr Microsurg* (2018), *34*(3), 218-226.

-
- Liang J., Yu T., Wang X., Zhao Y., Fang F., Zeng W., Li Z. Free tissue flaps in head and neck reconstruction: clinical application and analysis of 93 patients of a single institution. *Braz J Otorhinolaryngol* (2018), 84(4), 416-425.
- Lin S. J., Nguyen M. D., Chen C., Colakoglu S., Curtis M. S., Tobias A. M., Lee B. T. Tissue oximetry monitoring in microsurgical breast reconstruction decreases flap loss and improves rate of flap salvage. *Plast Reconstr Surg* (2011), 127(3), 1080-1085.
- Liu D. Z., Mathes D. W., Zenn M. R., Neligan P. C. The application of indocyanine green fluorescence angiography in plastic surgery. *J Reconstr Microsurg* (2011), 27(6), 355-364.
- Liu J., Huang L., Wang N., Chen P. Indocyanine green detects sentinel lymph nodes in early breast cancer. *J Int Med Res* (2017), 45(2), 514-524.
- Liu Y., Zhao Y. F., Huang J. T., Wu Y., Jiang L., Wang G. D., Li W., Chen X. Q., Shi R. H. Analysis of 13 cases of venous compromise in 178 radial forearm free flaps for intraoral reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* (2012), 41(4), 448-452.
- Loeffelbein D. J. Noninvasives Monitoring mikrovaskulärer Transplantate mit Hilfe der simultanen Laser-Doppler-Spektrometrie. (2003).
- Loh C. Y. Y., Wang A. Y. L., Tiong V. T. Y., Athanassopoulos T., Loh M., Lim P., Kao H. K. Animal models in plastic and reconstructive surgery simulation-a review. *J Surg Res* (2018), 221, 232-245.
- Ludolph I., Arkudas A., Schmitz M., Boos A. M., Taeger C. D., Rother U., Horch R. E., Beier J. P. Cracking the perfusion code?: Laser-assisted Indocyanine Green angiography and combined laser Doppler spectrophotometry for intraoperative evaluation of tissue perfusion in autologous breast reconstruction with DIEP or ms-TRAM flaps. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* (2016), 69(10), 1382-1388.

- Luu Q., Farwell D. G. Advances in free flap monitoring: have we gone too far? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* (2009), 17(4), 267-269.
- Masoomi H., Clark E. G., Paydar K. Z., Evans G. R., Nguyen A., Kobayashi M. R., Wirth G. A. Predictive risk factors of free flap thrombosis in breast reconstruction surgery. *Microsurgery* (2014), 34(8), 589-594.
- Matsumoto N. M., Aoki M., Nakao J., Peng W. X., Takami Y., Umezawa H., Akaishi S., Ohashi R., Naito Z., Ogawa R. Experimental Rat Skin Flap Model That Distinguishes between Venous Congestion and Arterial Ischemia: The Reverse U-Shaped Bipedicled Superficial Inferior Epigastric Artery and Venous System Flap. *Plast Reconstr Surg* (2017), 139(1), 79e-84e.
- Maxwell A. K., Deleyiannis F. W. Utility of Indocyanine Green Angiography in Arterial Selection during Free Flap Harvest in Patients with Severe Peripheral Vascular Disease. *Plast Reconstr Surg Glob Open* (2016), 4(10), e1097.
- May J. W. J., Chait L. A., O'Brien B. M., Hurley J. V. The No-Reflow Phenomenon in experimental free flaps. *Plast Reconstr Surg* (1978), 61(2), 256-267.
- McGregor A., Pavri S. N., Tsay C., Kim S., Narayan D. Use of Indocyanine Green for Sentinel Lymph Node Biopsy: Case Series and Methods Comparison. *Plast Reconstr Surg Glob Open* (2017), 5(11), e1566.
- Mericli A. F., Wren J., Garvey P. B., Liu J., Butler C. E., Selber J. C. A Prospective Clinical Trial Comparing Visible Light Spectroscopy to Handheld Doppler for Postoperative Free Tissue Transfer Monitoring. *Plast Reconstr Surg* (2017), 140(3), 604-613.
- Mikami T., Suzuki H., Ukai R., Komatsu K., Kimura Y., Akiyama Y., Wanibuchi M., Mikuni N. Surgical Anatomy of Rats for the Training of Microvascular Anastomosis. *World Neurosurg* (2018), 120, e1310-e1318.

-
- Mirzabeigi M. N., Wang T., Kovach S. J., Taylor J. A., Serletti J. M., Wu L. C. Free flap take-back following postoperative microvascular compromise: predicting salvage versus failure. *Plast Reconstr Surg* (2012), 130(3), 579-589.
- Monsivais J. J. Microvascular grafts: effect of diameter discrepancy on patency rates. *Microsurgery* (1990), 11(4), 285-287.
- Mothes H., Dinkelaker T., Dönicke T., Friedel R., Hofmann G. O., Bach O. Outcome Prediction in Microsurgery by Quantitative Evaluation of Perfusion Using ICG Fluorescence Angiography. *Journal of Hand Surgery (European Volume)* (2009), 34(2), 238-246.
- Mücke T. *Evaluation der Indocyanin-Grün Videoangiographie zur Validierung der Anwendung auf mikrovaskuläre Prozeduren im Rattenmodell*. Dissertationsschrift, Technische Universität München, München, 2012.
- Mücke T., Borgmann A., Wagenpfeil S., Gunzinger R., Nobauer C., Lange R., Slotta-Huspenina J., Holzle F., Wolff K. D. Autonomization of epigastric flaps in rats. *Microsurgery* (2011), 31(6), 472-478.
- Mücke T., Fichter A. M., Schmidt L. H., Mitchell D. A., Wolff K. D., Ritschl L. M. Indocyanine green videoangiography-assisted prediction of flap necrosis in the rat epigastric flap using the flow((R)) 800 tool. *Microsurgery* (2017), 37(3), 235-242.
- Mücke T., Hapfelmeier A., Schmidt L. H., Fichter A. M., Kanatas A., Wolff K. D., Ritschl L. M. A comparative analysis using flowmeter, laser-Doppler |spectrophotometry, and indocyanine green-videoangiography for detection of vascular stenosis in free flaps. *Sci Rep* (2020), 10(1), 939.
- Mücke T., Loeffelbein D. J., Kolk A., Wagenpfeil S., Kanatas A., Wolff K. D., Mitchell D. A., Kesting M. R. Comparison of outcome of microvascular bony head and neck reconstructions using the fibular free flap and the iliac crest flap. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2013a), 51(6), 514-519.

- Mücke T., Rau A., Merezas A., Kanatas A., Mitchell D. A., Wagenpfeil S., Wolff K. D., Steiner T. Changes of perfusion of microvascular free flaps in the head and neck: a prospective clinical study. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2014a), 52(9), 810-815.
- Mücke T., Rau A., Merezas A., Loeffelbein D. J., Wagenpfeil S., Mitchell D. A., Wolff K. D., Steiner T. Identification of perioperative risk factor by laser-doppler spectroscopy after free flap perfusion in the head and neck: a prospective clinical study. *Microsurgery* (2014b), 34(5), 345-351.
- Mücke T., Reeps C., Wolff K. D., Mitchell D. A., Fichter A. M., Scholz M. Objective qualitative and quantitative assessment of blood flow with near-infrared angiography in microvascular anastomoses in the rat model. *Microsurgery* (2013b), 33(4), 287-296.
- Mücke T., Ritschl L. M., Roth M., Gull F. D., Rau A., Grill S., Kesting M. R., Wolff K. D., Loeffelbein D. J. Predictors of free flap loss in the head and neck region: A four-year retrospective study with 451 microvascular transplants at a single centre. *J Craniomaxillofac Surg* (2016), 44(9), 1292-1298.
- Mücke T., Schmidt L. H., Fichter A. M., Wolff K. D., Ritschl L. M. Influence of venous stasis on survival of epigastric flaps in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg* (2018), 56(4), 310-314.
- Mücke T., Wolff K. D., Wagenpfeil S., Hölzle F., Scholz M. Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* (2010), 126(5), 1506-1514.
- Munabi N. C., Olorunnipa O. B., Goltsman D., Rohde C. H., Ascherman J. A. The ability of intra-operative perfusion mapping with laser-assisted indocyanine green angiography to predict mastectomy flap necrosis in breast reconstruction: a prospective trial. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* (2014), 67(4), 449-455.

-
- Nakamura T., Kogashiwa Y., Nagafuji H., Yamauchi K., Kohno N. Validity of sentinel lymph node biopsy by ICG fluorescence for early head and neck cancer. *Anticancer Res* (2015), 35(3), 1669-1674.
- Nakayama N., Kuroda S., Houkin K., Takikawa S., Abe H. Intraoperative measurement of arterial blood flow using a transit time flowmeter: monitoring of hemodynamic changes during cerebrovascular surgery. *Acta Neurochir (Wien)* (2001), 143(1), 17-24.
- Nasser A., Fourman M. S., Gersch R. P., Phillips B. T., Hsi H. K., Khan S. U., Gelfand M. A., Dagum A. B., Bui D. T. Utilizing Indocyanine Green Dye Angiography to Detect Simulated Flap Venous Congestion in a Novel Experimental Rat Model. *J Reconstr Microsurg* (2015), 31(8), 590-596.
- Nguyen G. K., Hwang B. H., Zhang Y., Monahan J. F., Davis G. B., Lee Y. S., Ragina N. P., Wang C., Zhou Z. Y., Hong Y. K., Spivak R. M., Wong A. K. Novel biomarkers of arterial and venous ischemia in microvascular flaps. *PLoS One* (2013), 8(8), e71628.
- Nguyen M. Q., Crosby M. A., Skoracki R. J., Hanasono M. M. Outcomes of flap salvage with medicinal leech therapy. *Microsurgery* (2012), 32(5), 351-357.
- Novakovic D., Patel R. S., Goldstein D. P., Gullane P. J. Salvage of failed free flaps used in head and neck reconstruction. *Head Neck Oncol* (2009), 1, 33.
- Nylen C. O. The microscope in aural surgery, its first use and later development. *Acta Otolaryngol Suppl* (1954), 43, 226-240.
- Oesterwitz H., Stock A., Althaus P. [The rat as a training model for microvascular surgery. Methods and results]. *Z Exp Chir Transplant Kunstliche Organe* (1983), 16(3), 178-190.
- Oswald P., Tilgner A., Schumann D. The influence of postoperative vessel occlusion on the viability of free microvascular skin-fat flaps and island flaps in rats. *J Reconstr Microsurg* (1988), 4(5), 403-407.

- Ott P. Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding. *Pharmacol Toxicol* (1998), *83 Suppl 2*, 1-48.
- Pabst A. M., Kammerer P. W., Kruger M., Jager L., Ackermann M. Vascular architecture in free flaps: Analysis of vessel morphology and morphometry in murine free flaps. *Microvasc Res* (2018), *118*, 128-136.
- Pafitanis G., Raveendran M., Myers S., Ghanem A. M. Flowmetry evolution in microvascular surgery: A systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* (2017), *70(9)*, 1242-1251.
- Pang C. Y., Forrest C. R. Acute pharmacologic preconditioning as a new concept and alternative approach for prevention of skeletal muscle ischemic necrosis. *Biochemical Pharmacology* (1995), *49(8)*, 1023-1034.
- Partsafas A. W., Bascom D. A., Jorgensen S. A., Wax M. K. Effects of Tisseel and FloSeal on primary ischemic time in a rat fasciocutaneous free flap model. *Laryngoscope* (2004), *114(2)*, 301-304.
- Patel U. A., Hernandez D., Shnayder Y., Wax M. K., Hanasono M. M., Hornig J., Ghanem T. A., Old M., Jackson R. S., Ledgerwood L. G., Pipkorn P., Lin L., Ong A., Greene J. B., Bekeny J., Yiu Y., Noureldine S., Li D. X., Fontanarosa J., Greenbaum E., Richmon J. D. Free Flap Reconstruction Monitoring Techniques and Frequency in the Era of Restricted Resident Work Hours. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg* (2017), *143(8)*, 803-809.
- Peng X., Yu J., Li Z., Zhou X., Chen J., Dai J., Huang W., Wei W., Bao R., Tian H., Li J., Hu J., Shan Z., Chen X., Zuo L., Zhou B., Yang L. [Analysis of the causes of flap necrosis after head and neck reconstruction]. *Zhonghua Er Bi Yan Hou Tou Jing Wai Ke Za Zhi* (2015), *50(2)*, 118-122.

-
- Perng C. K., Ma H., Chiu Y. J., Lin P. H., Tsai C. H. Detection of free flap pedicle thrombosis by infrared surface temperature imaging. *J Surg Res* (2018), 229, 169-176.
- Petry J. J., Wortham K. A. The anatomy of the epigastric flap in the experimental rat. *Plast Reconstr Surg* (1984), 74(3), 410-413.
- Phillips B. T., Fourman M. S., Rivara A., Dagum A. B., Huston T. L., Ganz J. C., Bui D. T., Khan S. U. Comparing quantitative values of two generations of laser-assisted indocyanine green dye angiography systems: can we predict necrosis? *Eplasty* (2014), 14, e44.
- Phillips B. T., Lanier S. T., Conkling N., Wang E. D., Dagum A. B., Ganz J. C., Khan S. U., Bui D. T. Intraoperative perfusion techniques can accurately predict mastectomy skin flap necrosis in breast reconstruction: results of a prospective trial. *Plast Reconstr Surg* (2012), 129(5), 778e-788e.
- Pohlenz P., Klatt J., Schon G., Blessmann M., Li L., Schmelzle R. Microvascular free flaps in head and neck surgery: complications and outcome of 1000 flaps. *Int J Oral Maxillofac Surg* (2012), 41(6), 739-743.
- Preidl R. H., Schlittenbauer T., Weber M., Neukam F. W., Wehrhan F. Assessment of free microvascular flap perfusion by intraoperative fluorescence angiography in craniomaxillofacial surgery. *J Craniomaxillofac Surg* (2015), 43(5), 643-648.
- Qiu D., Wang X., Wang X., Jiao Y., Li Y., Jiang D. Risk factors for necrosis of skin flap-like wounds after ED debridement and suture. *Am J Emerg Med* (2019), 37(5), 828-831.
- Raabe A., Beck J., Gerlach R., Zimmermann M., Seifert V. Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow. *Neurosurgery* (2003), 52(1), 132-139; discussion 139.

- Raabe A., Nakaji P., Beck J., Kim L. J., Hsu F. P., Kamerman J. D., Seifert V., Spetzler R. F. Prospective evaluation of surgical microscope-integrated intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography during aneurysm surgery. *J Neurosurg* (2005), *103*(6), 982-989.
- Reuther J., Sattler I. [Free transplantation of thick grafts of skin-adipose tissue with microsurgical blood vessel connections in the rat]. *Dtsch Zahnarztl Z* (1980), *35*(1), 61-64.
- Ricci J. A., Vargas C. R., Ho O. A., Lin S. J., Tobias A. M., Lee B. T. Evaluating the Use of Tissue Oximetry to Decrease Intensive Unit Monitoring for Free Flap Breast Reconstruction. *Ann Plast Surg* (2017), *79*(1), 42-46.
- Riediger D., Schwenzler N. [Free skin transplantation in the maxillo-facial area. Report on 172 cases]. *Chirurg* (1980), *51*(7), 445-449.
- Ritschl L. M., Fichter A. M., Haberle S., von Bomhard A., Mitchell D. A., Wolff K. D., Mücke T. Ketamine-Xylazine Anesthesia in Rats: Intraperitoneal versus Intravenous Administration Using a Microsurgical Femoral Vein Access. *J Reconstr Microsurg* (2015), *31*(5), 343-347.
- Ritschl L. M., Schmidt L. H., Fichter A. M., Hapfelmeier A., Kanatas A., Wolff K.-D., Mücke T. Prediction of Flap Necrosis by Using Indocyanine Green Videoangiography in Cases of Venous Occlusion in the Epigastric Flap Model of the Rat. *J Reconstr Microsurg Open* (2018a), *03*(02), e62-e69.
- Ritschl L. M., Schmidt L. H., Fichter A. M., Hapfelmeier A., Wolff K. D., Mücke T. Multimodal analysis using flowmeter analysis, laser-Doppler spectrophotometry, and indocyanine green videoangiography for the detection of venous compromise in flaps in rats. *J Craniomaxillofac Surg* (2018b), *46*(6), 905-915.

-
- Riva M., Amin-Hanjani S., Giussani C., De Witte O., Bruneau M. Indocyanine Green Videoangiography in Aneurysm Surgery: Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurosurgery* (2018), 83(2), 166-180.
- Rosenberg J. J., Fornage B. D., Chevray P. M. Monitoring buried free flaps: limitations of the implantable Doppler and use of color duplex sonography as a confirmatory test. *Plast Reconstr Surg* (2006), 118(1), 109-113; discussion 114-105.
- Rossi E. C., Kowalski L. D., Scalici J., Cantrell L., Schuler K., Hanna R. K., Method M., Ade M., Ivanova A., Boggess J. F. A comparison of sentinel lymph node biopsy to lymphadenectomy for endometrial cancer staging (FIRES trial): a multicentre, prospective, cohort study. *Lancet Oncol* (2017), 18(3), 384-392.
- Rother U., Lang W. Noninvasive measurements of tissue perfusion in critical limb ischemia. *Gefasschirurgie* (2018), 23(Suppl 1), 8-12.
- Russell J. A., Conforti M. L., Connor N. P., Hartig G. K. Cutaneous tissue flap viability following partial venous obstruction. *Plast Reconstr Surg* (2006), 117(7), 2259-2266; discussion 2267-2258.
- Sandig S. *Untersuchungen zur Wertigkeit von Procalcitonin, C-reaktivem-Protein und der Leukozytenzahlen zur Identifikation von Perfusionsstörungen mikrovaskulärer Lappentransplantate in der frühen postoperativen Phase.* Dissertationsschrift, Technische Universität München, München, 2016.
- Schmidt L. H. *Auswirkung und Detektion verschiedener arterieller und venöser Stenosegrade der zu- und abführenden Gefäße auf das Perfusionsverhalten in einem mikrovaskulären Transplantationsmodell der Ratte.* Dissertationsschrift, Technische Universität München, München, 2020.
- Selber J. C., Garvey P. B., Clemens M. W., Chang E. I., Zhang H., Hanasono M. M. A prospective study of transit-time flow volume measurement for

- intraoperative evaluation and optimization of free flaps. *Plast Reconstr Surg* (2013), 131(2), 270-281.
- Smit J. M., Negenborn V. L., Jansen S. M., Jaspers M. E. H., de Vries R., Heymans M. W., Winters H. A. H., van Leeuwen T. G., Mullender M. G., Krekel N. M. A. Intraoperative evaluation of perfusion in free flap surgery: A systematic review and meta-analysis. *Microsurgery* (2018), 38(7), 804-818.
- Sriyab S. Mathematical analysis of non-Newtonian blood flow in stenosis narrow arteries. *Comput Math Methods Med* (2014), 2014, 479152.
- Steel B. J., Cope M. R. A brief history of vascularized free flaps in the oral and maxillofacial region. *J Oral Maxillofac Surg* (2015), 73(4), 786.e781-711.
- Strauch B., Murray D. E. Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm. in external diameter using microsurgical techniques. *Plast Reconstr Surg* (1967), 40(4), 325-329.
- Strauch B., Yu H.-L. Atlas of Microvascular Surgery: Anatomy and Operative Techniques. *Thieme Medical Publishers; Auflage: 2 (25. August 2006)* (2006).
- Talbot S. G., Pribaz J. J. First aid for failing flaps. *J Reconstr Microsurg* (2010), 26(8), 513-515.
- Tall J., Bjorklund T. C., Skogh A. C., Arnander C., Halle M. Vascular Complications After Radiotherapy in Head and Neck Free Flap Reconstruction: Clinical Outcome Related to Vascular Biology. *Ann Plast Surg* (2015), 75(3), 309-315.
- Taylor G. I., Miller G. D., Ham F. J. The free vascularized bone graft. A clinical extension of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg* (1975), 55(5), 533-544.

-
- Tenorio X., Mahajan A. L., Wettstein R., Harder Y., Pawlovski M., Pittet B. Early detection of flap failure using a new thermographic device. *J Surg Res* (2009), *151*(1), 15-21.
- Teven C. M., Ooi A. S. H., Inbal A., Chang D. W. Implantable Doppler monitoring of buried free flaps during vascularized lymph node transfer. *J Surg Oncol* (2017), *116*(3), 371-377.
- Tomioka Y., Enomoto S., Gu J., Kaneko A., Saito I., Inoue Y., Woo T., Koshima I., Yoshimura K., Someya T., Sekino M. Multipoint Tissue Circulation Monitoring with a Flexible Optical Probe. *Sci Rep* (2017), *7*(1), 9643.
- Um G. T., Chang J., Louie O., Colohan S. M., Said H. K., Neligan P. C., Mathes D. W. Implantable Cook-Swartz Doppler probe versus Synovis Flow Coupler for the post-operative monitoring of free flap breast reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* (2014), *67*(7), 960-966.
- Virchow R. As Based upon Physiological and Pathological Histology. *Nutrition Reviews* (1989), *47*(1), 23-25.
- Wolff K. D., Ervens J., Herzog K., Hoffmeister B. Experience with the osteocutaneous fibula flap: an analysis of 24 consecutive reconstructions of composite mandibular defects. *J Craniomaxillofac Surg* (1996), *24*(6), 330-338.
- Wolff K. D., Hölzle F. *Raising of Microvascular Flaps: A Systematic Approach* (2017): Springer International Publishing.
- Wolff K. D., Holzle F., Wysluch A., Mucke T., Kesting M. Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery. *Microsurgery* (2008), *28*(3), 143-146.
- Wolff K. D., Mücke T., Lehmbrock J., Loeffelbein D. J., Kesting M. R., Holzle F. Rapid autonomisation of a combined fibular- and anterolateral thigh flap transferred by a wrist carrier to an irradiated and vessel depleted neck. *J Surg Oncol* (2009), *99*(2), 123-126.

- Wong C. H., Wei F. C. Microsurgical free flap in head and neck reconstruction. *Head Neck* (2010), 32(9), 1236-1245.
- Wu C. C., Lin P. Y., Chew K. Y., Kuo Y. R. Free tissue transfers in head and neck reconstruction: complications, outcomes and strategies for management of flap failure: analysis of 2019 flaps in single institute. *Microsurgery* (2014), 34(5), 339-344.
- Yamamoto M., Nishimori H., Fukutomi T., Handa T., Kihara K., Tashiro M., Sato T., Orihashi K. Influence of vessel stenosis on indocyanine green fluorescence intensity assessed by near-infrared fluorescence angiography. *Surg Today* (2017a), 47(7), 877-882.
- Yamamoto T., Narushima M., Yoshimatsu H., Seki Y., Yamamoto N., Oka A., Hara H., Koshima I. Minimally invasive lymphatic supermicrosurgery (MILS): indocyanine green lymphography-guided simultaneous multisite lymphaticovenular anastomoses via millimeter skin incisions. *Ann Plast Surg* (2014), 72(1), 67-70.
- Yamamoto T., Yamamoto N., Yamashita M., Furuya M., Hayashi A., Koshima I. Establishment of supermicrosurgical lymphaticovenular anastomosis model in rat. *Microsurgery* (2017b), 37(1), 57-60.
- Yang B., Qu Y., Su M., Li J., Li H., Xing R., Han Z. Characteristics and surgical management of flap compromise caused by thrombosis of the internal jugular vein. *J Craniomaxillofac Surg* (2017), 45(2), 347-351.
- Yang G. F., Chen P. J., Gao Y. Z., Liu X. Y., Li J., Jiang S. X., He S. P. Forearm free skin flap transplantation: a report of 56 cases. 1981. *Br J Plast Surg* (1997), 50(3), 162-165.
- Yeoh M. S., Kim D. D., Ghali G. E. Fluorescence angiography in the assessment of flap perfusion and vitality. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am* (2013), 25(1), 61-66, vi.

-
- Yeshwant K., Ghaffari R. A biodegradable wireless blood-flow sensor. *Nature Biomedical Engineering* (2019), 3(1), 7-8.
- Zhai Q., Wang Y., Tian A. Severe hemodynamic instability after indocyanine green injection during off-pump coronary artery bypass grafting: A case report. *Medicine (Baltimore)* (2017), 96(46), e8766.
- Zhang C., Sun J., Zhu H., Xu L., Ji T., He Y., Yang W., Hu Y., Yang X., Zhang Z. Microsurgical free flap reconstructions of the head and neck region: Shanghai experience of 34 years and 4640 flaps. *Int J Oral Maxillofac Surg* (2015), 44(6), 675-684.
- Zhang F., Sones W. D., Lineaweaver W. C. Microsurgical flap models in the rat. *J Reconstr Microsurg* (2001), 17(3), 211-221.
- Zhang X., Li Y., Zhou Y., Mao F., Lin Y., Guan J., Sun Q. Diagnostic Performance of Indocyanine Green-Guided Sentinel Lymph Node Biopsy in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *PLoS One* (2016), 11(6), e0155597.
- Zhou W., Zhang W. B., Yu Y., Wang Y., Mao C., Guo C. B., Yu G. Y., Peng X. Risk factors for free flap failure: a retrospective analysis of 881 free flaps for head and neck defect reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* (2017), 46(8), 941-945.
- Zhu Y., Guan L., Mu Y. Combined Low-Frequency Ultrasound and Urokinase-Containing Microbubbles in Treatment of Femoral Artery Thrombosis in a Rabbit Model. *PLoS One* (2016), 11(12), e0168909.
- Zimmermann A., Roenneberg C., Wendorff H., Holzbach T., Giunta R. E., Eckstein H. H. Early postoperative detection of tissue necrosis in amputation stumps with indocyanine green fluorescence angiography. *Vasc Endovascular Surg* (2010), 44(4), 269-273.

7 Anhang

7.1 Veröffentlichung von Teilen der Dissertation

1. *Indocyanine green videoangiography-assisted prediction of flap necrosis in the rat epigastric flap using the flow® 800 tool.*

Mücke T, Fichter AM, **Schmidt LH**, Mitchell DA, Wolff KD, Ritschl LM.

Microsurgery 2017 Mar, 37(3) 235-242

2. *Influence of venous stasis on survival of epigastric flaps in rats.*

Mücke T, **Schmidt LH**, Fichter AM, Wolff KD, Ritschl LM.

British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery 2018 May, 56(4) 310-314

3. *Multimodal analysis using flowmeter analysis, laser-Doppler spectrophotometry, and indocyanine green videoangiography for the detection of venous compromise in flaps in rats.*

Ritschl LM, **Schmidt LH**, Fichter AM, Hapfelmeier A, Wolff KD, Mücke T.

Journal of Cranio-Maxillo-Facial Surgery 2018 Jun, 46(6) 905-915

4. *Prediction of Flap Necrosis by Using Indocyanine Green Videoangiography in Cases of Venous Occlusion in the Epigastric Flap Model of the Rat.*

Ritschl LM, **Schmidt LH**, Fichter AM, Hapfelmeier A, Kanatas A, Wolff KD, Mücke T.

Journal of Reconstructive Microsurgery 2018 Jul, 3(2) 62-69

7.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Der freie Gewebetransfer am Beispiel des fasziokutanen Radialis-Transplantats. (v.o.n.u.) (A) Die Abbildung zeigt eine schematische Darstellung der Entnahmeregion am linken Unterarm nach Hebung eines fasziokutanen Radialis-Transplantats. Die Transplantatgefäße sind distal der Ellenbeuge noch nicht abgesetzt, sodass die Perfusion des Transplantats weiterhin über die A. radialis (rot) und zwei Begleitvenen (lat. Venae comitantes, blau) erfolgen kann. (B) Nach der Entnahme des freien mikrovaskulären Transplantats erfolgt die Einlagerung am Ort der Defektdeckung. (C) Nun wird der intraorale Defekt mithilfe des Radialis-Transplantats gedeckt und der Gefäßstiel nach Tunnelierung der angrenzenden Weichgewebe zu den zervikalen Anschlussgefäßen vorgeschoben. Hierbei darf es nicht zu einer Verdrehung des Gefäßstiels kommen, da dies die Perfusion kompromittieren würde. (D) Im Bereich der Halsgefäße erfolgt anschließend die mikrovaskuläre Anastomosierung der arteriellen und venösen Transplantatgefäße. Die Ischämiezeit ist damit beendet und das Transplantatgewebe wird wieder regelrecht durchblutet. In der Regel erfolgt erst jetzt, nach Gewährleistung einer adäquaten Blutversorgung und erneuter Kontrolle, die endgültige Defektdeckung mit zirkumferenter Einnah des Transplantats intraoral. Modifiziert nach Hausamen et al. (Hausamen et al., 2012). 12

Abb. 2: Der Lappenmann. (A) Die schematische Darstellung des Lappenmanns zeigt diverse gängige Entnahmeregionen für den freien mikrovaskulären Gewebetransfer. Zusätzlich dargestellt sind die anatomische Konfiguration des Radialis- (B), des ALT- (C) sowie des Fibula-Transplantats (D). Abbildung modifiziert nach Wolff & Hölzle sowie Strauch & Yu (Strauch et Yu, 2006; Hölzle et al., 2008; Wolff et Hölzle, 2017).. 14

Abb. 3: Intraoperatives Setting im Rahmen eines rekonstruktiven Eingriffs. (A) Am Kopf wird der Defekt reseziert und bei tumorablativen Eingriffen im Bereich des Halses eine elektive Neck Dissection mit Lymphadenektomie durchgeführt. (B) Zeitgleich erfolgt am Unterarm die Hebung des freien mikrovaskulären Transplantats zur anschließenden Rekonstruktion der Defektsituation. Modifiziert nach Hausamen et al. (Hausamen et al., 2012). 15

Abb. 4: Indikationen für eine operative Reexploration des freien mikrovaskulären Transplantats. Das Diagramm zeigt die Hauptindikationen für eine Reexploration und verdeutlicht den signifikant hohen Anteil an Störungen der

venösen Drainage bezogen auf die Gesamtheit aller Indikationen. Modifiziert nach Wu et al. (Wu et al., 2014).....18

Abb. 5: Venöse Transplantatstauung und konsekutive Transplantatnekrose.

(A) Zu sehen ist die venöse Stauung eines zur Zungenrekonstruktion intraoral eingebrachten Radialis-Transplantats nach erfolgter partieller Glossektomie. Der gestörte venöse Abfluss führt zu einer Gewebehypoxie und äußert sich klinisch als bläulich-livide Verfärbung des Transplantats. Dieser Vorgang ist bei frühzeitiger Detektion reversibel. (B) Im Bereich des Halses zeigt sich das klinische Erscheinungsbild einer Transplantatnekrose. Bedingt durch ein Überschreiten der für das transplantierte Gewebe kritischen Ischämiezeit kommt es zu einem irreversiblen nekrotischen Verlust des Transplantats. Es folgt anschließend die Durchführung einer Nekrosektomie und Hebung eines neuen freien mikrovaskulären Transplantats. Modifiziert nach Sandig (Sandig, 2016).....21

Abb. 6: Erfolgsraten im Rahmen der operativen Reexploration. Die Graphik verdeutlicht den relativ hohen prozentualen Anteil erfolgreicher Reexplorationen im Falle einer venösen Kompromittierung des freien mikrovaskulären Transplantats. Aufgrund des häufigeren Auftretens venöser Kompromittierungen im Vergleich zu arteriellen Kompromittierungen ist auch der absolute Anteil erfolgreicher Reexplorationen in der venösen Gruppe deutlich höher. Modifiziert nach Wu et al. (Wu et al., 2014).....23

Abb. 7: Diagnostische Applikation der Indocyaningrün-Videoangiographie zur Darstellung des Sentinel-Lymphknotens bei oralem Plattenepithelkarzinom.

(A) Die Injektion des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes erfolgt innerhalb des zuvor markierten Resektionsbereichs, ohne die primäre Tumorerläsion zu manipulieren. (B) Mithilfe einer handgehaltenen Infrarotkamera (PDE-Photo Dynamic Eye®, Hamamatsu Photonics Deutschland GmbH, Deutschland) gelingt die Identifizierung der zervikalen Sentinel-Lymphknoten. Aufgrund einer niedrigen Detektionstiefe des Kamerasystems wird die ICG-VA erst nach vorheriger Darstellung der zervikalen Strukturen im Rahmen der Neck Dissection durchgeführt. (C) Das Infrarotbild unmittelbar nach der ICG-Injektion zeigt die fluoreszierenden Lymphknoten, welche mit dem intraoralen Tumor assoziiert sind. (D) Anschließend können diese suspekten Lymphknoten reseziert werden. Modifiziert nach Al-Dam et al. (Al-Dam et al., 2018).....27

Abb. 8: Implantierbarer Cook-Swartz-Doppler zur postoperativen Überwachung der Transplantatperfusion. (A-C) Schematische Darstellung des Gefäßes mit anliegendem Cook-Swartz-Doppler und Entfernung des Sondenkristalls nach erfolgreicher Einheilung des Transplantats. (D-G) Intraoperative Applikation des Cook-Swartz-Dopplers mithilfe mikrochirurgischer Instrumente unter mikroskopischer Vergrößerung des Sichtfeldes. Modifiziert nach www.cookmedical.com.	30
Abb. 9: Der epigastrische Lappen der Ratte als fasziokutanes Transplantationsmodell.	35
Abb. 10: Wistar-Laborrate (A) und Makrolon-Standardkäfig (B) mit Ausstattung	36
Abb. 11: Schrittweises Vorgehen bei der operativen Hebung des epigastrischen Lappens der Ratte. (A) Zunächst erfolgt mittels einer 4 x 4 cm messenden Schablone die Markierung der Lappengrenzen im Bereich des rasierten Abdomens der Ratte. (B) Beginnend im kaudalen Randbereich des epigastrischen Lappens erfolgt die Umschneidung der Hautinsel mittels Skalpell entlang der Markierung. (C) Nach Auffinden der superfiziellen epigastrischen Gefäße werden diese bis zum femoralen Gefäß-Nervenbündel verfolgt und im Bereich des Truncus epigastricus mikrochirurgisch dargestellt sowie für die spätere Durchführung der Flussmessung vorsichtig voneinander separiert. (D) Es folgt die vollständige Hebung des epigastrischen Lappens aus seinem Wundbett unter Durchtrennung aller Perforatoren. Das Transplantat ist hiernach ausschließlich über den epigastrischen Gefäßstiel noch mit dem Gefäßsystem der Ratte verbunden. Modifiziert nach Mücke et al. (Mücke et al., 2017).	42
Abb. 12: Simulation einer venösen Abflussstörung des Transplantats durch vollständigen Verschluss der V. epigastrica superficialis. (A) Nach erfolgter Hebung des epigastrischen Lappens und Durchführung aller Referenzmessungen erfolgt die gleichmäßige Repositionierung des Lappens im Wundbett durch Einzelknopfnähte mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial. (B) Anschließend wird der Lappen bis auf den kaudalen Randbereich in fortlaufender Nahttechnik eingenäht. (C) Durch die kaudal verbliebene Lücke kann der Gefäßclip an der Vena epigastrica sup. appliziert und konsekutiv durch den Verschluss der Vene das Stauungsintervall	

eingeleitet werden. (D) Abschließend erfolgt der vollständige Wundverschluss. Acland®-Gefäßclip modifiziert nach www.microsurgery.ch.....44

Abb. 13: Versuchsablauf zur Evaluation der Transplantatperfusion bei venöser Stauung......45

Abb. 14: Perfusionsanalyse des epigastrischen Lappens mittels ICG-VA. (v.l.n.r.)

(A) Referenzmessung unter fünffacher Vergrößerung vor Lappenhebung zur Erfassung der ICG-Basiswerte. (B) Der epigastrische Lappen nach vier Stunden venöser Stauung. (C) Finale Reevaluation der Transplantatperfusion nach einwöchigem Beobachtungsintervall. (v.o.n.u.) Die Bilderreihe zeigt die klinische Situation des epigastrischen Lappens, die ICG-VA mit systematischer Verteilung der ROIs im Infrarotkamerabild, die farbcodierte Darstellung der Transplantatperfusion in Abhängigkeit der Anflutungszeit des ICG-Signals und die graphische Darstellung nach Anwendung der FLOW® 800-Visualisierungssoftware.....50

Abb. 15: Entfernung des Mikroverweilkatheters, Anastomose der V. jugularis und Wundverschluss. (A) Katheter in situ. (B) Retrograde Entfernung des Katheters mittels mikrochirurgischer Instrumente im Bereich der linken medio-lateralen Halsregion. (C) Mikrovaskuläre Anastomose der V. jugularis unter sechzehnfacher mikroskopischer Vergrößerung. (D) Einschichtiger Wundverschluss des zervikalen Zugangs mit Ethilon® 6-0 Nahtmaterial in fortlaufender Nahttechnik.....52

Abb. 16: Planimetrische Vermessung der Nekrosezone nach fünf Stunden venöser Stauung und einwöchigem Beobachtungsintervall. (A) Die Vermessung der Nekrosezone mithilfe der ImageJ-Software erfolgte durch wiederholtes manuelles Umfahren des nekrotischen Areals und anschließende Berechnung des Mittelwerts samt Standardabweichung. (B) Die im Rahmen der ICG-VA generierte farbcodierte Darstellung der Lappenperfusion wurde zur exakten Vermessung mit dem klinischen Bild korreliert.54

Abb. 17: Mikrochirurgische Instrumente und Zubehör. In der oberen Bildhälfte aufgereiht: Premicath®-Mikroverweilkatheter und Dreiwegehahn, Mischspritze für die i.v. Applikation von Anästhetikum und ICG-Fluoreszenzfarbstoff, mikrochir. Acland®-Gefäßclips untersch. Größe und Ausführung, Bepanthen®-Salbe zur ophthalmologischen Anwendung am Versuchstier, Rasierer (v.l.n.r.). In der unteren Bildhälfte aufgereiht: versch. makrochir. Pinzetten, Präparierschere, 11er-Skalpell mit bauchiger Klinge, Approximatorpinzette für Acland®-Gefäßclips, mikrochir.

Nadelhalter, gerade u. gebogene mikrochir. Schere, gerade u. abgewinkelte mikrochir. Pinzette, Gefäßdilator, kleine mikrochir. Pinzette, kleine mikrochir. Schere, Mikro-Bipolar-Pinzette zur Elektrokoagulation (v.l.n.r.). Am rechten Bildrand: mikrochir. Nahtmaterial der Firma Ethilon® in untersch. Fadenstärken... 56

Abb. 18: Messeinheit des Transit Time Perivascular Flowmeter TS420 mit zugehöriger Flusssonde. (A) Messstation TS420 mit analogem und digitalem Anzeigefeld zur Wiedergabe der Flusswerte. (B) Clamp-on "V"-Sonde für den mikrovaskulären Einsatz. (C) Schematische Darstellung der Funktionsweise des Monitroingverfahrens zur Ultraschall-vermittelten Erhebung des Blutflusses. Modifiziert nach www.transonic.com und Schmidt (Schmidt, 2020)..... 58

Abb. 19: O2C-Messgerät. (A) Messeinheit mit Sonde und Tastatur. (B) Echtzeit-Anzeige der Perfusionsparameter auf dem integrierten Monitor. (C) Schematische Darstellung der Funktionsweise der Gewebe-Photospektrometrie. Modifiziert nach www.lea.de und Schmidt (Schmidt, 2020)..... 59

Abb. 20: OPMI® Pentero® und Funktionsweise der Fluoreszenzangiographie. (A) OP-Mikroskop Pentero® der Firma Zeiss. (B) Schematische Darstellung der Funktionsweise der ICG-VA nach vorheriger Applikation des Fluoreszenzfarbstoffes über die V. jugularis externa. Modifiziert nach Schmidt (Schmidt, 2020)..... 60

Abb. 21: Deskriptive Darstellung der Ergebnisse aus den Flussmessungen mittels Transit Flowmeter als Boxplots. (A) Graphische Darstellung des mittleren arteriellen und venösen Blutflusses in ml/min im Bereich der epigastrischen Gefäße nach Transplantathebung (d.h. vor venösem Verschluss) und einwöchiger Beobachtungszeit. (B) Vergleich der mittleren Blutflusswerte aller fünf Versuchsgruppen nach erfolgter venöser Stauung für 0, 4, 5, 6, und 7 Stunden. Die Abkürzungen SEA und SEV stehen hierbei für die engl. Bezeichnung der Gefäße (superficial epigastric artery and vein)..... 64

Abb. 22: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsevaluation im Bereich des epigastrischen Lappens mittels Gewebe-Photospektrometrie (O2C®). Graphische Darstellung der in den oberflächlichen und tiefer gelegenen Gewebeschichten des Transplantats erhobenen Perfusionsparameter während der Messungen 1 – 3 (A) und der Messung 4 (B) nach unterschiedlich lang anhaltender venöser Stauung im Bereich der V. epigastrica sup..... 67

Abb. 23: Analyse der Transplantatperfusion mittels ICG-VA und FLOW® 800-Softwaretool nach unterschiedlichen venösen Stauungsintervallen. (v.l.n.r.) Die erste Säule zeigt die intraoperative klinische Situation des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe sowie nach zeitlichem Ablauf der variierenden Stauungsintervalle (entsprechend Messung 4). In der zweiten Säule ist das im Rahmen der ICG-VA anflutende Fluoreszenzsignal während der arteriellen und venösen Durchblutungsphase zu sehen. Die Säulen 3 – 5 zeigen die im Anschluss erfolgte, farblich kodierte Perfusionsanalyse mittels integriertem FLOW 800®-Softwaretool im Bereich der 8 standardisiert angeordneten ROIs. Die dabei im zeitlichen Verlauf erfassten ICG-Intensitäten in den einzelnen ROIs unter variierender venöser Stauung werden in der fünften Säule in Form eines farbkodierten Graphen wiedergegeben. Die Farbkodierung erfolgte in Analogie zu den korrelierenden ROI-Markierungen mit den entsprechenden Farben.73

Abb. 24: Analyse der Transplantatperfusion mittels ICG-VA und FLOW® 800-Softwaretool nach zuvor erfolgter venöser Stauung und einer Woche Beobachtung. (v.l.n.r.) Die erste Säule zeigt die intraoperative klinische Situation des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe sowie den unterschiedlichen Stauungsgruppen (entsprechend Messung 5). In der zweiten Säule ist das im Rahmen der ICG-VA anflutende Fluoreszenzsignal während der arteriellen und venösen Durchblutungsphase des Transplantats zu sehen. Die Säulen 3 – 5 zeigen die im Anschluss erfolgte, farblich kodierte Perfusionsanalyse mittels integriertem FLOW 800®-Softwaretool im Bereich der 8 standardisiert angeordneten ROIs. Die dabei im zeitlichen Verlauf erfassten ICG-Intensitäten in den mit vitalen Gewebearealen assoziierten ROIs werden in der fünften Säule in Form eines farbkodierten Graphen wiedergegeben. Die Farbkodierung erfolgte in Analogie zu den korrelierenden ROI-Markierungen mit den entsprechenden Farben.74

Abb. 25: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsanalyse mittels ICG-VA und FLOW 800® Analysetool als Boxplots. Die zeitgleiche Analyse des 1. und 2. Maximums, des maximalen Anstiegs und Abfalls sowie der Area under the curve erfolgte zu insgesamt 5 unterschiedlichen Zeitpunkten. (A) Die linke Säule zeigt die Werte für diese Parameter während der Messungen 1 – 3, welche allesamt vor der venösen Stauung durchgeführt wurden. (B) Die rechte Säule zeigt die entsprechenden Werte in Messung 4 nach erfolgter venöser Stauung von 4 – 7

Stunden. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte für alle Parameter in arbiträren Einheiten (AU). 75

Abb. 26: Statistische nichtparametrische Analyse der Korrelation von ICG-Intensität und vitaler bzw. nekrotischer Transplantatfläche. Die Graphik zeigt die Verteilung der in den 6 ROIs gemessenen min. und max. ICG-Intensitäten hinsichtlich der klinisch beobachteten Transplantatvitalität. Dabei korrespondierten vitale Gewebeareale mehrheitlich mit höheren ICG-Intensitäten, wohingegen nekrotische Transplantatzonen mit niedrigeren Intensitätsleveln assoziiert waren. 80

Abb. 27: Beispielhafte Darstellung langfristiger Auswirkungen unterschiedlicher venöser Stauungsintervalle auf die Inzidenz und Ausdehnung von Transplantatnekrosen. Repräsentativer klinischer Verlauf nach Hebung, Repositionierung und einwöchiger Einheilung des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe (0h) sowie in den Versuchsgruppen mit zusätzlich 4, 5, 6 und 7 Stunden venöser Stauung im Bereich der V. epigastrica sup. (4 – 7h). 82

Abb. 28: ROC-Analyse für die max. ICG-Intensität im Rahmen der FLOW® 800-Perfusionsanalyse zur Bestimmung des optimalen Vorhersagegrenzwertes. Die Grenzwertoptimierungskurve wurde aus mehreren Wertepaaren bestehend aus Sensitivität und 1-Spezifität generiert und ermöglichte gemeinsam mit der Bestimmung des Youden-Index die Festlegung eines Grenzwertes (cutoff value) zur Vorhersage von Transplantatnekrosen. Die analysierten ICG-Werte beziehen sich hierbei auf die zweite Messung nach Transplantathebung, d.h. ohne eine zuvor erfolgte venöse Stauung des epigastrischen Lappens. 84

Abb. 29: ROC-Analyse ROC für die O2C®-Perfusionsevaluation zur Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung. Dargestellt sind die Grenzwertoptimierungskurven für alle Parameter zur Übersicht (A), sowie gesondert für die relative Hämoglobinkonzentration (Hb) und Sauerstoffsättigung (SO₂) nach 4 bzw. 5 Stunden venöser Stauung respektive (B und C). Die ROC-Analyse gibt Auskunft über die diskriminatorische Fähigkeit der Gewebe-Photospektrometrie und überprüft, wie zuverlässig die Vorhersage einer Nekrose mit der tatsächlichen klinischen Situation korreliert. Die Bezugslinie in C dient zur Beurteilung der AUC^{ROC} und weist als Referenzwert für eine niedrige Vorhersagevalidität der Wert 0,5 auf. 88

Abb. 30: ROC-Analyse für die ICG-VA mit FLOW® 800-Perfusionsanalyse zur Prädiktion von Transplantatnekrosen nach venöser Stauung. Dargestellt sind

die Grenzwertoptimierungskurven für alle Parameter zur Übersicht (A), sowie gesondert für die ICG-Flussmessungen nach 0, 4 bzw. 6 Stunden venöser Stauung (B, C und D). Die ROC-Analyse gibt Auskunft über die diskriminatorische Fähigkeit des FLOW® 800-Analysertools, einen drohenden nekrotischen Transplantatverlust anhand eines definierten Grenzwertes zuverlässig vorherzusagen. In der Kontrollgruppe ergab die FLOW® 800-Perfusionsanalyse für die Parameter erstes Max. und AUC^{ICG} aussagekräftige Werte, welches sich in der ROC-Analyse anhand relativ hoher AUC^{ROC} -Werte von 0,865 bzw. 0,942 respektive zeigte. Die Aussagekraft für die Prädiktion von Transplantatnekrosen auf Grundlage dieser ICG-Werte erwies sich somit als hoch.90

Abb. 31: Statistischer Vergleich von Nekroseinzidenz und -fläche nach variierenden venösen Stauungsintervallen. (v.l.n.r.) Dargestellt ist der intraoperative, klinische Zustand der unterschiedlich lang gestauten Transplantate nach einer Woche in der Kontrollgruppe sowie der 4 Stunden-, 5 Stunden-, 6 Stunden- und 7 Stunden-Stauungsgruppe. (A) Verglichen mit der Kontrollgruppe ohne Kompromittierung des venösen Abflusses kam es bereits nach 5 Stunden venöser Stauung zu einem signifikanten Anstieg der Nekroseinzidenz und -fläche ($p = 0,04$ und $p = 0,02$ respektive). (B) Nach 7 Stunden venöser Stauung nahmen sowohl die Nekroseinzidenz im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,001$), als auch die Ausdehnung der Nekrosefläche zu ($p = 0,011$ und $p = 0,018$ verglichen mit der 4 bzw. 5 Stunden-Stauungsgruppe respektive). (C) Für die Stauungstoleranz des Transplantats ergibt sich somit ein kritisches Zeitfenster von bis zu maximal 4 Stunden (grüner Balken). Wird dieser Zeitpunkt im Rahmen der venösen Stauung überschritten, muss trotz erfolgreicher "salvage operation" eine irreversible Beeinträchtigung des langfristigen rekonstruktiven Ergebnisses angenommen werden. Nach 7 Stunden venöser Stauung ist ein vollständiger nekrotischer Verlust des Transplantats zu erwarten (roter Balken).94

Abb. 32: Veränderung der O2C®-Parameter im Rahmen der klinischen Perfusionsevaluation. Unabhängig vom postoperativen Verlauf und der Transplantatkonfiguration (fasziokutan vs. osteomyokutan) steigen insbesondere die Werte für die Perfusionsparameter Flow und Velocity nach der Transplantathebung und im weiteren postoperativen Verlauf an. Abbildung aus Mücke et al. 2014 (Mücke et al., 2014b).99

Abb. 33: Algorithmus für das postoperative Monitoring venös kompromittierter Transplantate. Insbesondere innerhalb der ersten postoperativen 72 Stunden besteht ein erhöhtes Risiko für das Auftreten einer vaskulären Kompromittierung im Bereich des venösen Transplantatschenkels (Bui et al., 2007). Daher sollte das postoperative Monitoring nach Möglichkeit unter kombiniertem Einsatz zweier unterschiedlicher Monitoringmodalitäten unmittelbar nach dem operativen Eingriff begonnen und bis zur Autonomisierung des freien mikrovaskulären Transplantats nach ca. einer Woche (5 – 7 Tage) fortgeführt werden (Mücke et al., 2018).116

Abb. 34: Kabelloser, biologisch abbaubarer Flusssensor zur noninvasiven postoperativen Überwachung der Transplantatperfusion. (A) Der Flusssensor besteht aus einer perivaskulär anliegenden Sensormanschette und einem Transmitter, welcher die kabellose Übertragung der im Bereich des Sensors ermittelten Flussinformation ermöglicht. Die Komponenten sowohl des Sensors als auch des Transmitters bestehen aus biologisch abbaubaren Kunststoffen und werden im zeitlichen Verlauf nach Einheilung des Transplantats physiologisch resorbiert. (B) Das Abrufen der Flussinformationen mithilfe einer externen Empfängersonde an der Hautoberfläche erlaubt im Rahmen des postoperativen Monitorings die kontinuierliche Überwachung der Perfusion. (C) Der Sensor registriert über Druckdifferenzen im Bereich der Gefäßwand sowie den daraus resultierenden Abweichungen der Resonanzfrequenz etwaige Veränderungen der Durchblutung und gibt diese als Amplitudenmuster im zeitlichen Verlauf wieder. Abbildung modifiziert nach Yeshwant und Ghaffari (Yeshwant et Ghaffari, 2019).119

Abb. 35: Noninvasives Monitoring mithilfe des optischen Multipoint Pulse Wave-Verfahrens. (A) Der Trägerfilm verfügt über vier optische Sensoren, welche in gleichmäßigem Abstand zueinander angeordnet sind und die Erfassung des pulsatilen Blutflusses in vier verschiedenen benachbarten Regionen ermöglichen. (B und C) Der Sensorstreifen kann, aufgrund seiner geringen Schichtstärke und guten Adaptierbarkeit, flexibel an einer beliebigen Stelle im Bereich der Hautoberfläche appliziert werden und ist über ein Verbindungskabel mit einem kleinen Monitor verbunden. Abbildung modifiziert nach Tomioka et al. (Tomioka et al., 2017).120

7.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Protokoll zur postoperativen Überwachung der Versuchstiere.....	38
Tab. 2: Versuchsprotokoll für die Dokumentation der erhobenen Messwerte...47	47
Tab. 3: Flussmessung mittels Transit Flowmeter im Bereich der A. und V. epigastrica sup. vor Verschluss der Vene sowie eine Woche nach Etablierung des jeweiligen venösen Stauungsintervalls von 4, 5, 6 und 7 Stunden.	64
Tab. 4: Perioperative Ergebnisse der oberflächlichen (S) Perfusionsevaluation mittels Gewebe-Photospektrometrie (O2C®) einschließlich Signifikanzniveaus.	68
Tab. 5: Perioperative O2C®-Ergebnisse der tiefer gelegene Transplantatschicht (D).	69
Tab. 6: Deskriptive Ergebnisse der ICG-VA für die Messungen 1 – 3, d.h. vor Lappenhebung, nach Hebung und Repositionierung des Transplantats sowie unmittelbar nach venösem Verschluss.....	76
Tab. 7: Deskriptive Ergebnisse der ICG-VA für die Messungen 4 unmittelbar nach Ablauf des jeweiligen Stauungsintervalls (0, 4, 5, 6 und 7 Stunden).....	77
Tab. 8: Deskriptive Ergebnisse der ICG-VA für die Messungen 5 nach einer Woche.....	78
Tab. 9: Statistischer Vergleich der mittleren ICG-Intensität von ROIs mit vitaler und nekrotischer Transplantatfläche auf Basis des Mann-Whitney-U-Tests.	80
Tab. 10: Deskriptive statistische Analyse der Inzidenz und Fläche von Transplantatnekrosen im Bereich des epigastrischen Lappens in der Kontrollgruppe sowie nach 4, 5, 6 und 7 Stunden venösem Stauungsintervall in den anderen Versuchsgruppen.	81
Tab. 11: Korrelation der max. ICG-Intensität und des klinischen Zustands des Transplantats unter Angabe der Sensitivität, der Spezifität sowie des positiven und negativen prädiktiven Wertes für die Vorhersage einer Nekrose. Die Grenzwert-assoziierte FLOW® 800-Vorhersage bezieht sich hierbei auf die im Rahmen der zweiten Messung erhobenen ICG-Werte nach Transplantathebung in der Kontrollgruppe und den klinisch erhobenen Transplantatstatus nach einer Woche. Es sei angemerkt, dass eine venöse Stauung des epigastrischen Lappens wie in den anderen Gruppen nicht erfolgte und ein komplikationsfreier postoperativer Verlauf vorlag. Dementsprechend sind die in der Tabelle aufgeführten statistischen	

Parameter nur für die erstmalige postoperative Beurteilung des Transplantats nach
erfolgtem Wundverschluss zulässig. 85

**Tab. 12: Ergebnisse der ROC-Analyse für die O2C®-Perfusionsevaluation mit
Bestimmung des Youden Index und des daraus resultierenden optimalen
Vorhersagegrenzwertes.** Die Angabe der statistischen Prüfparameter erfolgt für
die relative Hämoglobinkonzentration (S und D) nach 4 Stunden sowie für die
Sauerstoffsättigung (S und D) nach 5 Stunden venöser Stauung. Zusätzlich sind die
auf Basis des Grenzwertes berechnete Sensitivität und Spezifität aufgeführt. 89

**Tab. 13: Ergebnisse der ROC-Analyse für ausgewählte Parameter der FLOW®
800-Perfusionsanalyse mit Bestimmung des Youden Index und des daraus
resultierenden optimalen Vorhersagegrenzwertes.** Die Angabe der statistischen
Prüfparameter erfolgt für die maximale ICG-Intensität nach initialem Signalanstieg
(1. Max.) und die Fläche unter der FLOW® 800-Analysekurve für die Messungen nach
4 bzw. 6 Stunden venöser Stauung des epigastrischen Lappens. Die ermittelten Werte
für Sensitivität und Spezifität basieren auf den jeweiligen Grenzwerten der einzelnen
FLOW® 800-Perfusionsparameter zur Vorhersage einer Transplantatnekrose. 91

7.4 Interessenkonflikt und Finanzierung

Es bestand zu keinem Zeitpunkt ein Interessenkonflikt. Die Realisierung des Forschungsprojektes erfolgte ohne die Finanzierung durch Dritte.

9 Danksagung

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Familie, meinen Freunden und allen Kollegen, die mich auf meinem bisherigen beruflichen Werdegang begleitet und kontinuierlich unterstützt haben, bedanken. Besonders hervorheben möchte ich in diesem Zusammenhang meine langjährige Partnerin, die mich tapfer durch beide Studiengänge und Promotionen begleitet hat und stets Verständnis für meine Arbeit aufbrachte.

Meinem Doktorvater PD Dr. Dr. Mücke verdanke ich die Möglichkeit, als Mitglied seiner mikrochirurgischen Arbeitsgruppe tierexperimentell promoviert haben zu können. Sein studentischer Trainingskurs brachte mich der Rekonstruktiven Mikrochirurgie näher und schürte meine Begeisterung für das experimentelle Arbeiten mit und am OP-Mikroskop. PD Dr. Dr. Ritschl stand mir während meines gesamten Forschungsprojektes stets mit Rat und tatkräftiger Unterstützung als Betreuer, sowie später als ärztlicher Kollege, zur Seite. Beiden danke ich für das mir entgegengebrachte Vertrauen und die langjährige, produktive Zusammenarbeit im Rahmen meiner Promotionen.

Univ.-Prof. Dr. Dr. Wolff zeigte sich stets interessiert an der Durchführung der mikrochirurgischen Operationen und gestattete mir das eigenständige Arbeiten im Forschungslabor. Auch ihm gilt mein Dank.

Insbesondere den Mitarbeitern des Zentrums für präklinische Forschung (ZPF) des Klinikums rechts der Isar, die eine professionelle Versorgung und Beobachtung meiner Versuchstiere rund um die Uhr gewährleisteten, ist das Gelingen dieser Arbeit zu verdanken.

Für die kompetente Unterstützung im Rahmen der statistischen Analyse meiner Versuchsergebnisse möchte ich mich bei PD Dr. Hapfelmeier vom Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München (TUM) bedanken.

An dieser Stelle möchte ich auch gerne meinen Eltern noch einmal meinen Dank aussprechen. Durch ihre Unterstützung war mir das Absolvieren beider Studiengänge möglich. Auch meiner Schwester, die stets für mich da war und mich das ein oder andere Mal in meinen Laborpausen mit Kaffee und Croissants versorgte, gilt mein Dank.