



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

Analyse der Thrombemboliegefahr verschiedener Gewebekleber im Rattenmodell

Dr. med. Lucas Maximilian Ritschl

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. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Mücke
2. Prof. Dr. Dr. Klaus-Dietrich Wolff

Die Dissertation wurde am 13.06.2016 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.01.2017 angenommen.

Meiner Ehefrau, meinen Eltern und meiner Schwester

„Simplicity is the ultimate sophistication“ Leonardo da Vinci

Inhaltsverzeichnis

Analyse der Thrombemboliegefahr unter der Verwendung verschiedener Gewebekleber im Rattenmodell

1	Einleitung	9
1.1	Die Hämostase.....	9
1.1.1	<i>Transplantatverlust, Thrombemboliegefahr und prokoagulative Situation bei mikrovaskulärem Gewebetransfer</i>	<i>13</i>
1.2	Einsatz und Entwicklung der Gewebekleber	20
1.2.1	<i>Fibrinkleber</i>	<i>21</i>
1.2.2	<i>TachoSil®</i>	<i>25</i>
1.2.3	<i>FloSeal®</i>	<i>28</i>
1.3	Problemstellung der Arbeit	31
2	Material und Methodik.....	32
2.1	Operationsvorbereitungen, Anästhesie und Operation.....	32
2.2	Gruppeneinteilung	35
2.3	Auswertung	36
2.3.1	<i>Untersuchung des Thrombembolievolumens.....</i>	<i>36</i>
2.3.2	<i>Histologische Auswertung</i>	<i>38</i>
2.3.1	<i>Statistische Analyse</i>	<i>39</i>
3	Ergebnisse	42
3.1	Gruppe I.....	42
3.1.1	<i>Thrombembolievolumen und operative Parameter</i>	<i>42</i>
3.1.2	<i>Histologische Analyse.....</i>	<i>43</i>
3.2	Gruppe II	44
3.2.1	<i>Thrombembolievolumen und operative Parameter</i>	<i>44</i>
3.2.2	<i>Histologische Analyse.....</i>	<i>46</i>
4	Diskussion	52
4.1	Thrombembolievolumen und Gefäßdurchgängigkeit	52
4.2	Vergleich beschriebener Embolie- und Blutungsmodelle.....	56
4.3	Nebenzielgrößen: Blutverlust und Zeit pro Anastomose	59
4.4	Histologische Veränderungen	64

4.5	Ausblick	68
5	Zusammenfassung.....	69
6	Anhang	96
6.1	Abbildungsverzeichnis	96
6.2	Tabellenverzeichnis.....	98
7	Curriculum Vitae	99
8	Danksagung.....	100

Abkürzungen

A./a.	Arteria
Abb.	Abbildung
ADH	Antidiuretisches Hormon
ADP	Adenosindiphosphat
AH	Adventitielle Hyperzellularität
APC Resistenz	aktiviertes Protein C Resistenz
aPTT	Thromboplastinzeit
ASA-Status	American Society of Anesthesiologists Status
bzw.	beziehungsweise
DDAVP	1-Deamino-8-d-Arginin Vasopressin
g	Gramm
GP	Glykoproteinkomplex
IEI	Irritation der Lamina elastica interna
IH	Intima Hyperplasie
INR	International Normalized Ratio
i.p.	intraperitoneal
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
kg KG	Kilogramm pro Körpergewicht
MFI	Media Fibromyozyten Infiltration
M./m.	Musculus
mg	Milligramm
N	Nekrose
nm	Nanometer
NL	Neovaskularisation und Lymphangiogenese

s.	siehe
sog.	sogenannte
T	Thrombusmenge
Tab.	Tabelle
TK	Thrombozytenkonzentrate
u.a.	unter anderem
u.v.m.	und vieles mehr
V./v.	Vena
vWF	von-Willebrand-Faktor
v.a.	vor allem
z.B.	zum Beispiel
z.T.	zum Teil
Z.n.	Zustand nach

Anzeige von Vorabveröffentlichung:

Teile dieser Dissertationsarbeit wurden vorveröffentlicht [Ritschl et al., 2015b].

Ritschl LM, Fichter AM, von Düring M, Mitchell DA, Wolff K-D and Mücke T: *Risk of Thromboembolus after Application of Different Tissue Glues during Microvascular Anastomosis*. **Plast Reconstr Surg 136: 1216-25, Dezember 2015**

1 Einleitung

1.1 Die Hämostase

Die Blutstillung (Hämostase) kann in zwei Abschnitte unterteilt werden, die grundsätzlich voneinander getrennt, aber dennoch überschneidend ablaufen: Primäre und sekundäre Hämostase. Im Folgenden wird eine Übersicht der Grundzüge der Hämostase erbracht, ohne auf alle einzelnen Besonderheiten, sowie Verzweigungen der hoch komplexen Kaskade einzugehen, die zum Teil nach wie vor Gegenstand der aktuellen Wissenschaft sind und den Rahmen dieser Arbeit sprengen würden.

Ziel der primären Hämostase ist es, schnell einen großen Blutverlust zu vermeiden. Dieses gelingt zum einen durch die Vasokonstriktion - vorwiegend durch vasokonstriktorische Substanzen wie Thromboxan A₂, Serotonin und Katecholamine getriggert - und zum anderen durch die Generierung eines sog. weißen Thrombus durch aktivierte Thrombozyten. Durch eine Gefäßwandverletzung kommt es zu einer Kollagenfreilegung und Anheftung der Thrombozyten an die Endothelzellmembran. Diese initiale Adhäsion erfolgt mit Hilfe des von-Willebrand-Faktor (vWF), der eine molekulare Brücke zwischen den Kollagenfasern und dem spezifischen Glykoproteinkomplex Ib-IX-V (GP Ib-IX-V) auf den Thrombozyten ermöglicht. Beim Bernard-Soulier-Syndrom ist das spezifische Glykoproteinkomplex Ib/IX defekt und bedingt somit einen thrombozytären Adhäsionsdefekt und wird zu den hereditären Thrombozytopathien gezählt [Andrews et Berndt, 2013; Li et al., 2015]. Dieser Ansatz wird in der modernen Plättchenaggregationshemmung mit dem aktuell in Phase II befindlichem Medikament Anfibatide aufgegriffen und getestet [Lei et al., 2014; Metharom et al., 2015]. Des Weiteren führen genetische Defekte der vWF-Synthese qualitativ oder quantitativ zu einer Kompromittierung der Funktion und somit ebenfalls zu einer gesteigerten Blutungsneigung [Brinkhous et al., 1981]. Das von-Willebrand Syndrom mit seinen

- Einleitung -

verschiedenen Unterformen zählt allgemein zu den häufigsten hereditären hämorrhagischen Diathesen [Neff, 2015]. Wie auch bei der Hämophilie Typ A kann durch die Verabreichung von 1-Deamino-8-d-Arginin Vasopressin (DDAVP, kurz Desmopressin), ein synthetisches Analogon zum human Antidiuretischem Hormon (ADH), eine endogene Sekretion aus den Weibel-Palade Körperchen gesteigert werden [Mannucci et al., 1977; Kaufmann et al., 2000; Lenting et al., 2015].

Nach der Adhäsion kommt es zur Aktivierung, Formveränderung und Aggregation der Plättchen, welche durch Agonisten (Adenosindiphosphat, Thromboxan A₂ und Serotonin) und Antagonisten (Prostaglandin I₂ und Stickstoffmonoxid) im Gleichgewicht gehalten werden. Die Wirkung der Agonisten bewirkt zudem eine Konformationsänderung bestimmter Rezeptoren der Thrombozytenmembran, wie auch des Glykoproteinkomplexes IIb/IIIa. An diesen Rezeptor bindet u.a. auch das Fibrinogen, welches die adhärenen Thrombozyten untereinander vernetzt [Estevez et al., 2015]. Defekte sowie eine pharmakologische/iatrogene Hemmung dieser Rezeptoren, z.B. durch Abciximab, Eptifibatide oder Tirofiban, sind ebenfalls mit einer erhöhten Blutungsneigung assoziiert [Metharom et al., 2015].

Durch eine positive Rückkopplung einzelner Schritte mittels ADP, Thromboxan A₂ und bereits auch Thrombin in kleinen Mengen kann eine „lawinenartige“ Aktivierung der Thrombozyten im Rahmen der primären Hämostase erlangt werden.

Ziel der sekundären Hämostase ist es, durch die Aktivierung der plasmatischen Gerinnungskaskade einen sog. roten Thrombus zu formieren. Die Blutgerinnung läuft vereinfacht in drei Stufen ab: 1. Bildung des Prothrombinaktivatorkomplexes, 2. Thrombinbildung und 3. Fibrinbildung, **Abb. 1-1**. Die Aktivierung der plasmatischen Gerinnungskaskade kann einerseits durch die Aktivierung vom Gewebsthromboplastin (extrinsisches Pathway/Gerinnung) oder durch eine Kontaktaktivierung von Faktor XII

- Einleitung -

(intrinsisches Pathway/Gerinnung) initiiert werden [Davie et Ratnoff, 1964; Macfarlane, 1964; Smith et al., 2015].

Bei Gewebeverletzungen wird der Tissue Faktor (Faktor III) aktiviert und löst somit das schnell ablaufende extrinsische System aus. Der Tissue Faktor wird aller Wahrscheinlichkeit nach im menschlichen Körper nur von Monozyten synthetisiert und konstitutionell von glatten Gefäßmuskelzellen, Perizyten und Fibroblasten präsentiert [Mackman et al., 2007; Rao et Mackman, 2010]. Grundsätzlich ist nur ein geringer Anteil des exprimierten Tissue Faktors aktiviert. Darüber hinaus wird der Tissue Faktor auch mit einem gewebespezifischen Verteilungsmuster exprimiert, so dass es vermehrt im Gehirn, in der Lunge, in der Niere, im Herz, in den Testes sowie in der Plazenta anzufinden ist [Mackman et al., 2007]. Der Großteil ist inaktiv („kryptisch“). Der genaue Mechanismus der Umwandlung vom kryptischen zum „unkryptischen“, aktiven Tissue Faktor ist Gegenstand der aktuellen Forschung [Furie et Furie, 2008; Bach et Monroe, 2009; Rao et Mackman, 2010]. Das Komplex aus dem aktiven Tissue Faktor und Phospholipiden (= Gewebethromboplastin) bindet an Faktor VII und stellt die initialen Weichen einer prokoagulativen Situation [Wolberg et Mast, 2012].

Die Funktion des extrinsischen Systems kann durch den von der WHO empfohlenen International Normalized Ratio (INR-) Wert bestimmt werden und erfasst folgende Faktoren: II, V, VII, X und Fibrinogen [van den Besselaar, 1985; 1993].

Das intrinsische System ist im Vergleich die langsamer ablaufende Kaskade und wird bei Endothelläsionen mit der Kontaktaktivierung des Faktor XII mit dem extrinsischen System initiiert. Es folgen die Aktivierung der Faktoren XI und IX.

Die Funktion des intrinsischen Systems kann durch die partielle Thromboplastinzeit (aPTT) erfasst werden und untersucht folgende Faktoren: II, V, VIII-XII und Fibrinogen. Im Organismus ergänzen sich beide Aktivierungswege [Korsan-Bengtsen, 1971; Teien et Abildgaard, 1976].

- Einleitung -

Sowohl das extrinsische als auch das intrinsische System führen zu einer Aktivierung vom Faktor X durch IXa und VIIa. Zudem wird diese Reaktion durch Faktor VIII, welches durch anfallendes Thrombin aktiviert wird, verstärkt. Die Faktoren Xa und Va bilden das sog. Prothrombinaktivatorkomplex und spalten aus dem inaktiven Proenzym Prothrombin das Thrombin (= Faktor II) ab [Subbaiah et al., 1976; Nesheim et al., 1979; Orfeo et al., 2004]. Ein Mangel an Vitamin K, ein Kofaktor bei der γ -Karboxylierung, führt zu einer reduzierten Produktion der Faktoren X, IX, VII und II sowie der Proteine S und C [Douglas et Mair, 1958; Taj-Eldin et al., 1967; Brenner et al., 2009]. Hierdurch kommt es zu einer gestörten plasmatischen Gerinnung. Derivate der pharmakologischen Gruppe der Cumarine gehören zu den Vitamin K-Antagonisten und führen gezielt zu einer reduzierten plasmatischen Gerinnung, dessen Monitoring gegenwärtig durch die Bestimmung des INR's erfolgt [Costa et al., 2000; Watala et al., 2003].

Abschließend spaltet Thrombin das dimere Fibrinogen in seine beiden gleich großen Untereinheiten, die je aus drei Polypeptidketten (α , β und γ) bestehen [Yee et al., 1994]. Schlussendlich kommt es durch die Einwirkung des Faktor XIIIa (= fibrinstabilisierender Faktor) zu kovalenten Bindungen zwischen den Fibrinmonomeren und somit zu einer irreversiblen, verfestigten Thrombusformation [Yee et al., 1994; Dickneite et al., 2015],

Abb. 1-1.

- Einleitung -

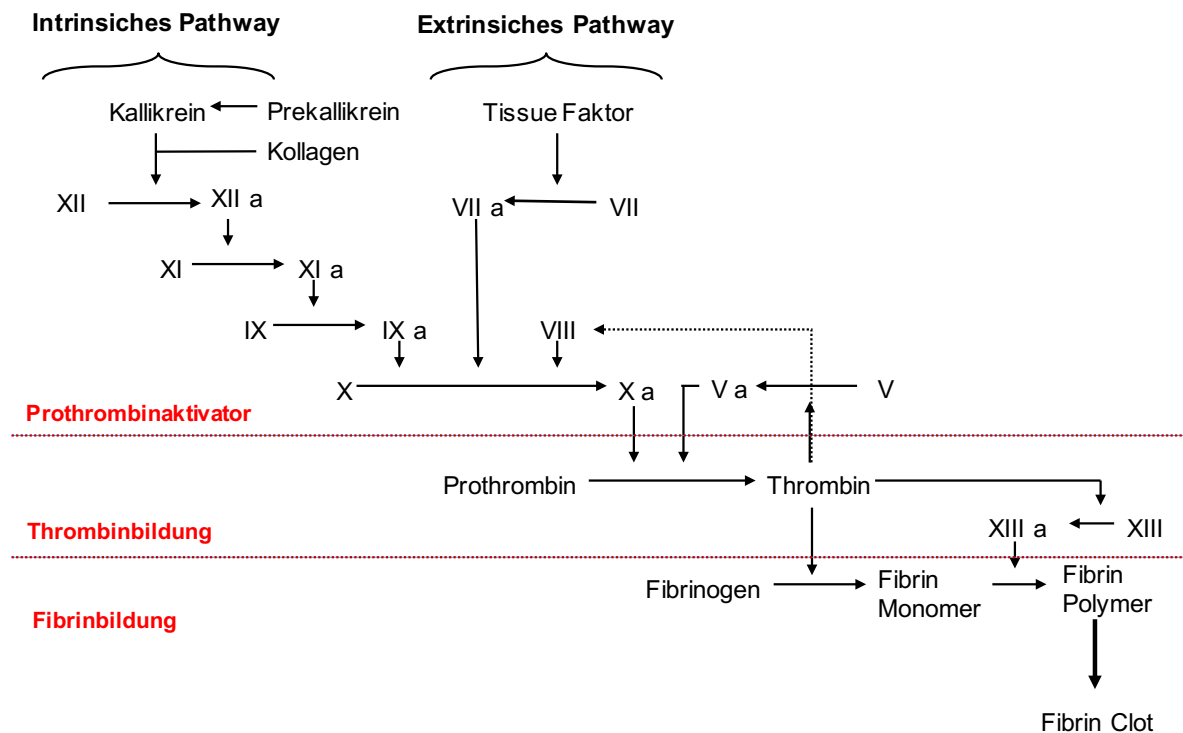


Abbildung 1-1. Vereinfachte schematische Darstellung der Gerinnungskaskade.

1.1.1 Transplantatverlust, Thrombemboliegefahr und prokoagulative Situationen bei mikrovaskulärem Gewebetransfer

Der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer ist in den letzten Jahrzehnten zum Goldstandard in der rekonstruktiven Chirurgie geworden [Wong et al., 2015]. Hierbei werden verschiedene Gewebekomponenten (fasciocutan, fascioseptocutan, myocutan, myoseptocutan, osteocutan, osteomyocutan und rein ossär) von unterschiedlichen Entnahmeregionen gehoben, um die resultierenden bzw. vorhandenen Defekte nach radikaler, ablativer Resektion, nach ausgedehntem Trauma oder bei kongenitalen Defektsituationen funktionell und ästhetisch zu rekonstruieren.

Nach Studienlage liegt der Misserfolg mikrovaskulärer Gewebetransplantate zwischen 3-8% [Fearon et al., 1990; Brown et al., 2003; Bui et al., 2007; Wolff et al., 2008; Wong et al., 2015].

- Einleitung -

2010; Wu et al., 2014; Wong et al., 2015]. Entsprechend kompromittierender Ereignisse zeichnet sich ein Misserfolg i.d.R. bereits in den ersten 72 postoperativen Stunden ab [Kroll et al., 1996; Chen et al., 2007; Wolff et al., 2008]. Bui et al. und weitere Autoren konnten zeigen, dass der Großteil (63-72,6 %) kompromittierter Transplantate durch eine zeitnahe Revision gerettet werden können (sog. Salvage Operation) [Brown et al., 2003; Bui et al., 2007; Chen et al., 2007; Wolff et al., 2008; Hölzle et al., 2010; Wong et Wei, 2010; Wu et al., 2014]. Hierbei ist die erfolgreiche Salvagerate ebenfalls von der Ätiologie der Durchblutungsstörung abhängig und bei arterieller Ursache mit einer geringeren Erfolgsrate assoziiert [Wu et al., 2014]. Ein Transplantatversagen ist neben einer erneuten Operation i.d.R. mit einem längeren Krankenhausaufenthalt sowie einem höheren Risiko an Komorbiditäten, v.a. pulmonal und kardial, assoziiert [Farwell et al., 2002]. Pohlenz et al. beschrieben in einer retrospektiven Analyse von 804 konsekutiven mikrovaskulär rekonstruierten Fällen eine operationsassoziierte postoperative Mortalität von 1%. Frührezidive, metastasenassoziierte Pneumonien, kardiale und pulmonale Komplikationen waren die häufigsten Gründe eines frühzeitigen Versterbens [Pohlenz et al., 2013].

Die venöse Thrombose ist nach wie vor der häufigste Grund für eine Transplantatrevision bzw. eines postoperativen Transplantatversagens [Brown et al., 2003; Wu et al., 2014; Kulkarni et al., 2015; Nasser et al., 2015]. Es folgen arterielle Thrombosen sowie Kompression durch Hämatome [Bui et al., 2007; Wu et al., 2014]. Wong et Wei unterschieden in einer Übersichtsarbeit in thrombose- bzw. nicht-thromboseassoziierte Ursachen für ein Transplantatverlust. Dabei führten 46% nicht-thromboseassoziierte Ereignisse zu einem Versagen, welche im Rahmen einer Salvage Operation korrigiert werden mussten [Wong et Wei, 2010].

- Einleitung -

Das zu rekonstruierende Patientenkollektiv wird allgemein älter und kann dementsprechend eine Vielzahl von Komorbiditäten aufweisen [Howard et al., 2005]. Ein wichtiger Screening-Parameter in der präoperativen Phase ist der v.a. in der Anästhesiologie bewährte ASA-Status (American Society of Anesthesiologists Status) [Serletti et al., 2000; Kruse et al., 2010; Mücke et al., 2012]. Vor allem bei der Rekonstruktion älterer Patienten sind häufiger allgemeinmedizinische als transplantatbezogene Komplikationen zu beobachten, was den Stellenwert der postoperativen, vigilanten Nachkontrolle unterstreicht [Serletti et al., 2000]. Verschiedene Studien konnten aber zeigen, dass mit Hilfe des richtigem Managements freie mikrovaskuläre Rekonstruktionen im Kopf-Hals-Bereich ebenfalls im hohen Alter sehr gut möglich sind [Kesting et al., 2011; Sosin et al., 2015].

Weitere allgemeine Faktoren, die das Transplantatüberleben signifikant beeinflussen, sind die benötigte Operationszeit und exzessive intraoperative Flüssigkeitssubstitution [Pattani et al., 2010; Wong et al., 2015]. Der Einfluss einer präoperativ durchgeführten Strahlentherapie im Kopf-Hals-Bereich auf die Durchgängigkeit der Anastomosen und somit auf das Transplantatüberleben wurde in vielen Studien sowohl klinisch als auch tierexperimentell untersucht [Ragnarsson et al., 1990; Bengtson et al., 1993; Thankappan, 2010]. Es konnte gezeigt werden, dass zwar die Strahlentherapie mit charakteristischen Gewebsveränderungen assoziiert ist, jedoch stellt eine alleinige Strahlentherapie keinen negativen Prädiktor dar. Ist diese jedoch mit einer vorherigen Neck Dissektion verbunden, so ist die Gefahr eines postoperativen Transplantatverlustes signifikant erhöht [Mücke et al., 2012]. Ein deutlicher Gefäßmismatch sowie die Verwendung von Venengrafts erhöhen ebenfalls die Gefahr einer Thrombosierung und stellen somit eine Indikation für eine geplante Antikoagulation dar [Kruse et al., 2010].

- Einleitung -

Weitere klinische Situationen, die eine Thrombosebildung begünstigen, sind die bekannten Risikofaktoren Stase, gestörte Integrität der Gefäßwand und Hyperkoagulabilität (sog. „Virchow Trias“). Stase im Rahmen des mikrochirurgischen Transfers kann z.B. durch Abknicken (sog. Kinking) des Gefäßstiels sowie mechanische Kompression von außen (z.B. Hämatom) zustande kommen. Auswirkung von Stase auf die Durchgängigkeit von mikrovaskulären Anastomosen ist zudem gefäßabhängig, wobei die Venen schneller zu einer Thrombose neigen [Fernandez et al., 1983; Shaffer et al., 1984; Fahmy et Moneim, 1988]. Bei prolongierter Stase kann eine Heparin-gabe eine entsprechende Thrombosebildung signifikant reduzieren [Fernandez et al., 1983].

Die Auswirkung der gestörten Integrität der Gefäßwand auf die Aktivierung der Gerinnungskaskade wurde weiter oben bereits erwähnt und wird u.a. durch die Freilegung des Tissue Faktors getriggert. Mangelhaft durchgeführte Anastomosen mit schlecht adaptierten Gefäßenden, Spannung zwischen den Gefäßenden, sowie Freilegung von Kollagen und Exposition der Adventitia in das Lumen, können zudem zu einer Okklusion oder permanenten Emboliesierung nach distal führen [Baxter et al., 1972; Hayhurst et O'Brien, 1975; Siemionow, 1987; Kersh et al., 1989].

Die Hyperkoagulabilität kann angeboren oder erworben sein. Zu den angeborenen Erkrankungen gehören u.a. die APC Resistenz (aktivierte Protein C Resistenz = Faktor-V-Leiden Mutation), die Prothrombinmutation G20210A, Antithrombinmangel, Protein C/S-Mangel [Ayala et Blackwell, 1999; De Stefano et al., 1999; Ho et al., 2006; De Stefano et Rossi, 2013; Meyer et al., 2015]. Das Feld erworbener Situationen, die mit einer Hyperkoagulabilität einhergehen, ist sehr weit und umfasst im allgemeinen systemische Infektionen, iatrogene Veränderungen (orale Kontrazeptiva, Heparin i.S. einer Heparin induzierten Thrombozytopenie, etc.), aktive Malignome, forcierte Diurese mit Exsikkose, Immobilisation, etc. [Srikanthan et al., 2013; Dadaci et al., 2015]. Häufig wird diese Situation

- Einleitung -

im Bereich der rekonstruktiven Chirurgie unterschätzt bzw. nicht ausreichend erfasst. Die Inzidenz einer Thrombophilie hat durchaus Auswirkung auf das therapeutische Konzept, da es mit einer allgemein erhöhten Misserfolgsrate assoziiert ist [Davison et al., 2009; Wang et al., 2012; Srikanthan et al., 2013; Lee et Mun, 2015].

Das postoperative Monitoring entsprechend rekonstruierter Patienten nimmt daher einen sehr hohen Stellenwert im klinischen Alltag ein [Smit et al., 2010; Cervenka et Bewley, 2015]. Neben der klinischen, visuellen Kontrolle (Farbe, Turgor, Temperatur und Rekapillarisierungszeit) stehen dem Operateur und seinem Team verschiedene apparative Untersuchungsmöglichkeiten zur Verfügung [Disa et al., 1999; Chen et al., 2007].

Die Laser-Doppler-Spektroskopie stellt heutzutage eine etablierte Methode des intra- und postoperativen Monitorings freier Gewebetransplantate dar und ermöglicht eine non-invasive, simultane Messung des Blutflusses, der Blutflussgeschwindigkeit, der Sauerstoffsättigung und der Hämoglobinkonzentration [Fischer et al., 1983; Hölzle et al., 2006; Hölzle et al., 2010]. Durch eine konsequente intra- und postoperative Aufzeichnung der jeweiligen Parameter kann z.B. frühzeitig ein drohendes Versagen erkannt und mittels einer Salvage Operation umgangen werden, wobei transplantatspezifische Werte zu berücksichtigen sind [Mücke et al., 2014a; Mücke et al., 2014b].

Die Einführung des implantierbaren Cook-Swartz Dopplersystems in der rekonstruktiven Mikrochirurgie ermöglichte eine kontinuierliche Flussüberwachung z.B. mikrochirurgisch anastomosierter Gefäße [Um et al., 2014]. Diese Methode hat sich im letzten Jahrzehnt behauptet und in weiten Feldern etabliert. Falsch-positive Aussagen sind im Vergleich in einem akzeptabel niedrigen Bereich bei ca. 1 % [Rozen et al., 2010; Um et al., 2014]. Zudem konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass durch die Verwendung von implantierbaren Dopplern die erfolgreiche Salvagerate signifikant verbessert werden konnte

- Einleitung -

[Paydar et al., 2010; Rozen et al., 2010]. Nachteilig ist die benötigte Zeit, um das Dopplersystem intraoperativ im Situs zu platzieren sowie das teilweise Auftreten von technischen Problemen [Rozen et al., 2011; Zhang et al., 2012]. Eine Weiterentwicklung ist in diesem Bereich der sog. Flow Coupler von Synovis Life Technology (Birmingham, AL 35211). Diese Apparatur kombiniert die Vorzüge der Coupler Anastomosen mit einer gleichzeitigen Dopplermessung im Verlauf [Um et al., 2014]. In einer aktuellen Studie konnte eine hohe Sensitivität (100%) gezeigt werden, jedoch war der Einsatz des Flow Coupler in venösen Anastomosen mit einer hohen falsch-positiven Aussage sowie einer signifikant erhöhten venösen Thrombosierung assoziiert [Kempton et al., 2015].

Die Einführung der seit Jahrzehnten in der Augenheilkunde etablierten Indocyanin-Grün (ICG-) Videoangiographie in die Mikrochirurgie ermöglicht eine intraoperative Messung kleinkalibriger Gefäße ($< 0,5$ mm) bezüglich der Durchblutungsverhältnisse (Durchgängigkeit der Anastomose, Blutfluss im Aneurysma, etc.) [Destro et Puliafito, 1989; Raabe et al., 2003]. Die ICG-Messungen basieren auf Fluoreszenzmessungen des zuvor injizierten Indocyanin-Grün, welches sich an und Blutglobuline, insbesondere β -Lipoprotein B, und geringfügig an Albumin bindet [Yoneya et al., 1998]. Die Eliminierung erfolgt ausschließlich über die Galle [Ott, 1998]. Das Absorptionsmaximum des ICGs ist u.a. abhängig von der Farbstoffkonzentration und liegt in Wasser sowie Methanol bei 780 nm und im Plasma bei 805 nm [Sutterer et al., 1966; Gentile et al., 1985]. Nach Anregung erfolgt eine Emission mit der Wellenlänge von 835 nm, welches z.B. durch einem im Operationsmikroskop integrierten Empfänger registriert und in eine Videodatei umgewandelt werden kann [Raabe et al., 2005]. Im Bereich der rekonstruktiven Chirurgie konnte die Anwendung der ICG-Videoangiographie erfolgreich angewendet werden. Hier weist die Technik eine hohe Spezifität sowie Sensitivität hinsichtlich der Durchgängigkeit von Anastomosen auf [Holm et al., 2010; Mücke et al.,

- Einleitung -

2010]. In klinischen Studien konnte durch die Anwendung der intraoperativen ICG-Messungen Transplantatversagen vermieden werden [Holm et al., 2009].

1.2 Einsatz und Entwicklung der Gewebekleber

Intraoperativ auftretende Blutungen können allgemein sehr gut durch Elektrokoagulation und Kompression (Clips und Ligaturen) bewältigt werden. Verschiedene Situationen erfordern jedoch eine Eskalation dieser Maßnahmen. Zu diesen Situationen gehören u.a. eine veränderte koagulative Situation (hereditär oder iatrogen) und nicht direkt lokalisierbare oder schlecht zugängliche Blutungsquellen [Echave et al., 2014]. Zur Bewältigung desselben können lokal oder flächenhaft applizierbare Hämostatika verwendet werden. Diese Hämostatika können in flowable oder Matrixhämostatika unterteilt werden, **Abb. 1-2**. Die Wirkung von Klebern und sog. Adhäsiven beruht primär auf einer molekularen Interaktion sowie Attraktion. Der Verbund wird dabei durch zwei Kräfte wie Kohäsion und Adhäsion bestimmt [Donkerwolcke et al., 1998]. Im Menschen verwendete Gewebekleber müssen sicher, effektiv, biokompatibel, abbaubar, hypoallergen, praktisch im Handling und günstig sein [Spotnitz et Burks, 2008].

Hemostats	Mechanicals	Porcine gelatin	Gelfoam sponge and powder, Pharmacia, Kalamazoo, MI
		Bovine collagen	Surgifoam sponge and powder, J&J, Somerville, NJ
	Actives	Oxidized regenerated cellulose	Avitine sponge and flour, Bard, Murray Hill, NJ
		Polysaccharide spheres	Helistat & Helitene, Integra, Plainsboro, NJ
		Bovine thrombin	Instat, Instat MCH, and Ultrafoam, J&J, Somerville, NJ
		Human pooled thrombin	Surgicel, Surgicel Fibrillar, and Nu-Knit J&J, Somerville, NJ
		Recombinant thrombin	Arista AH, Medafor, Minneapolis, MN
	Flowables	Bovine gelatin and human thrombin	Thrombin-JMI, King Pharmaceuticals, Bristol, TN
		Porcine gelatin with or without thrombin	Evithrom, J&J, Somerville, NJ
	Hemostat and sealant	Fibrin sealants	Human pooled
			FloSeal, FloSeal NT, Baxter, Fremont, CA
Sealants	PEG polymers	Human	Surgiflo, J&J, Somerville, NJ
		Plasma, collagen, and bovine thrombin	Tisseel, Baxter, Westlake Village, CA
Adhesives	Cyanoacrylates	Dual PEG	Evicel, J&J, Somerville, NJ
		Single PEG	Cryoseal, Thermogenesis, Rancho Cordova, CA
	Albumin and glutaraldehyde	2-Octyl cyanoacrylate	Vitagel, Orthovita, Malvern, PA
		<i>n</i> -Butyl-2-cyanoacrylate	Coseal, Baxter, Fremont, CA
	Albumin and glutaraldehyde	Bovine serum albumin and glutaraldehyde	Duraseal, Covidien, Waltham, MA
			Dermabond, J&J, Somerville, NJ
			Indermil, Covidien, Norwalk, CT
			Histoacryl and Histoacryl Blue, Tissualseal, Ann Arbor, MI
			Bioglue, Cryolife, Kennesaw, GA

Abbildung 1-2. Übersicht der erhältlichen Hämostatika und Gewebekleber (aus „*Hemostats, sealants, and adhesives: components of the surgical toolbox*“ von Spotnitz et al. [Spotnitz et Burks, 2008]).

Kommt es dennoch zu einem Fortschreiten der Blutung mit entsprechendem Blutverlust und weiterer Entgleisung der Gerinnung, müssen z.B. Thrombozytenkonzentrate (TK),

- Einleitung -

Gerinnungsfaktoren und Erythrozytenkonzentrate verabreicht werden, **Abb. 1-3**. Allerdings werden in der Regel Kombinationen der Maßnahmen ergriffen.



Abbildung 1-3. Eskalationskaskade der Behandlung intraoperativ auftretender Blutungen in einer Übersicht.

1.2.1 Fibrinkleber

1.2.1.1 Geschichte, Wirkmechanismus, Nebenwirkungen und Gegenanzeigen

Die Gruppe der Fibrinkleber gehört zu den ältesten Klebern und Adhäsiven und repräsentiert den Goldstandard. Die Funktion basiert auf der Imitation des letzten Schrittes der plasmatischen Gerinnungskaskade, sodass ein physiologischer Fibrin Clot ohne zwingend notwendigen Blutkontakt entsteht [Spotnitz, 2001], **Abb. 1-7**.

Bereits 1909 berichtete Bergel die hämostatische Wirkung von Fibrinpuder, um Blutungen im experimentellen Rahmen zu kontrollieren [Bergel, 1909]. Knapp 30 Jahre vergingen bis Young et Medawar erstmals Fibrinogen vom Huhn für experimentelle Nerven Anastomosen verwendeten [Young et Medawar, 1940]. Sie konnten eine um einen Tag früher beginnende Nervenregeneration des zuvor durchtrennten N. Ischiadicus eines Hasen durch die Anwendung von Fibrin nachweisen. Sowohl Bergel als auch Young et Medawar verwendeten

- Einleitung -

nur Fibrinogen; Cronkite et al. waren 1994 die ersten, die Fibrinogen in Kombination mit Thrombin als uns heutzutage bekannte und grundlegende Bestandteile eines sog. „Fibrinklebers“ verwendeten [Cronkite et al., 1944]. Sie berichteten erste Erfahrungen im Rahmen von kleinflächigen, freien Hauttransplantaten [Cronkite et al., 1944]. Heutzutage werden Fibrinkleber bevorzugt bei freier Hauttransplantation mit schlechtem Wundbett eingesetzt, da bekannt ist, dass deren Applikation die Einheilung signifikant fördert und das Auftreten von subkutanen Hämatomen sowie bakterieller Infektionen in beschriebenen Situationen zu reduzieren vermag. Darüber hinaus werden Fibrinkleber im Bereich des sich rasant weiterentwickelnden Tissue Engineerings eingesetzt, in dem sie als Vektoren für die Kultivierung von Keratinozyten und Fibroblasten genutzt werden können [Currie et al., 2001]. Mit der Entwicklung des mikrochirurgischen Operationsmikroskops erfolgte 1972 die erste Nervennaht am Hasen (N. Ischiadicus) unter der Anwendung eines autologen Fibrinogen-Thrombin Gemisches [Jacobson JH, 1960; Matras et al., 1972]. Daraufhin wurde ebenfalls unter Applikation eines autologen Fibrinogen-Thrombin Gemisches von Patientenblut die erste Nervennaht am menschlichen Finger durchgeführt [Kuderna et Matras, 1975]. Aufgrund der niedrigen Konzentrationen der Hauptbestandteile Fibrinogen und Thrombin durch die autologe Generierung erfolgte die Verwendung von homologen Blutplasmabestandteilen von Blutbanken und –depots. Daraufhin erfolgte die erste Anwendung in der Neurochirurgie im Rahmen einer intra-/extrakraniellen Anastomose [Kletter et al., 1978].

Durch weitere Modifikationen sowie kommerzieller Herstellung der Bestandteile und Ausbau der Blutbanken mit entsprechenden Sicherheits- und Hygienemaßnahmen, konnte die Entwicklung und der Anwendungsbereich der sog. Fibrinkleber stark ausgeweitet werden.

Heutzutage werden Fibrinkleber als „Zweikomponenten-Kleber“ angeboten. Komponente 1 enthält i.d.R. Fibrinogen, Faktor XIII und Aprotinin oder ein anderes fibrinolytisches Produkt.

- Einleitung -

Komponente 2 enthält das Thrombin und andere stabilisierende Bestandteile wie Calciumchlorid, **Abb. 1-4** [Sierra, 1993; Spotnitz et Burks, 2008]. Die jeweiligen Konzentrationen und die Herkunft der einzelnen Bestandteile (tierisch, menschlich oder synthetisch) variieren je nach Hersteller [Frost-Arner et al., 2001]. Einige Hersteller konnten gänzlich auf tierische Herkunft einzelner Bestandteile verzichten, beispielsweise Tisseel® (Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim, Deutschland). Die Donatoren der humanen Bestandteile, wie z.B. des Fibrinogen, des Thrombin und des Faktor XIII, werden zuvor auf Infektionskrankheiten wie Hepatitis B, C und HIV getestet und sind verfolgbar in einer entsprechenden Datenbank erfasst. Darüber hinaus erfolgen mehrere Prozeduren mit den Blutprodukten zur weiteren definitiven Reinigung und Elimination eventueller pathogener Viren und Bakterien [Spotnitz, 2001].

Eine weitere gängige Variante ist das autologe Anmischen, wodurch u.a. eine Transmission blutübertragener Infektionserkrankungen minimiert werden kann [Saltz et al., 1991; Ardakani et al., 2013]. Es konnte gezeigt werden, dass durch modifizierte Zubereitungen auch die autologen Fibrinkleber zu einer vergleichbaren Stabilität der Anastomose, Reduktion des Blutverlustes sowie histologischen Veränderungen führen [Doillon et Dion, 2004].

Neben der Zusammensetzung gibt es auch unterschiedliche Applikationstechniken. Die gängigste Methode ist die Applikation mittels einer zweikammerigen Spritze. Modifikationen sind z.B. das Sprayen und die sog. „paintbrush technique“ [Marchac et Sandor, 1994; Padubidri et Browne, 1996].

- Einleitung -

Komponente 1	Komponente 2
Fibrinogen & Faktor XIII (menschl.)	Thrombin (menschl.)
Aprotinin (synth.)	Calciumchlorid

Abbildung 1-4. Beispielhafte Zusammensetzung des Fibrinklebers Tisseel® mit räumlicher Trennung der Komponenten 1 und 2 (Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim, Deutschland).

1.2.1.2 Studienlage und Einsatz in der Chirurgie

Fibrinkleber können vielseitig in der Chirurgie eingesetzt werden, zumal diese einerseits die Hämostase fördern und zusätzlich als Adhäsiv Verwendung finden. Sämtliche Eingriffe in der kardiovaskulären Chirurgie und Aneurysmachirurgie der Neurochirurgie verwenden dieses Produkt zur zusätzlichen Hämostase. Im speziellen Bereich der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie finden sich weitere Verwendungsmöglichkeiten, wie z.B. die Verklebung von Knorpeltransplantaten im Rahmen einer Rhinoplastik, Unterstützung einer Nerven-anastomose, Verklebung der Gewebeschichten nach Rhytidectomy („Face Lift“) und Reduktion postoperativer Hämatom- und Serombildung [Young et Medawar, 1940; Matras et al., 1973; Kuderna et Matras, 1975; Bold et al., 1996; Hester et al., 2013; Mustoe et Park, 2014]. Im Rahmen zervikaler Eingriffe kann eine Verwendung von Fibrinklebern zu einer signifikanten Reduktion der postoperativen Drainagezeit sowie –volumen führen [Lindsey et al., 1988; Mushi et al., 2015].

Im Rahmen der rekonstruktiven Chirurgie mittels freier Gewebetransplantate wurde eine gefäßstielstabilisierende Wirkung beschrieben [Andree et al., 2008; Schwabegger et al., 2008]. Des Weiteren wurden verschiedene Generationen und Zusammensetzungen von Fibrinklebern im Rahmen mikrovaskulärer Anastomosen tierexperimentell sowie klinisch untersucht [Han et al., 1998; Frost-Arner et al., 2001; Cho et Junior, 2008; Cho et al., 2009].

- Einleitung -

Es konnte gezeigt werden, dass die Applikation mit einem signifikant geringeren Blutverlust in einer hypertensiven Situation, der signifikanten Reduktion der Anzahl benötigter Nähte (bis zu 50 %) und konsekutiv der benötigten Zeit pro Anastomose assoziiert ist [Isogai et al., 1992; Bowen et al., 1996; Han et al., 1998; Cho et Junior, 2007; Ardakani et al., 2013]. Darüber hinaus ist die hauseigene thrombogene Wirkung des Fibrinklebers v.a. von der Thrombinkonzentration abhängig [Dascombe et al., 1997; Marek et al., 1998; Drake et al., 2000; Frost-Arner et al., 2001]. Hierbei haben Untersuchungen zeigen können, dass die Thrombinkonzentration 1000 UE/ml nicht überschritten werden sollte [Marek et al., 1998].

Die Verwendung von Fibrinklebern im Rahmen der mikrochirurgischen Gefäßanastomosierung ist jedoch auch mit gewissen Nachteilen und Risiken verbunden, zu denen die Thrombosegefahr bei vaskulärer Applikation, geringere Stabilität der Anastomose (v.a. auf Zug- und Druckbelastung), Gefahr der Infektion durch blutübertragene Krankheitserreger sowie allergische Reaktionen auf tierische Bestandteile zählen [Flahiff et al., 1992; Dowbak et al., 1994; Mitsuata et al., 1994; Sierra et al., 2002; Oswald et al., 2003; Ardakani et al., 2013].

1.2.2 TachoSil®

TachoSil® (TachoSil®; Takeda Austria GmbH; Linz, Österreich) gehört zu den Matrix Hämostatika und ist ein Fibrinogen/Thrombin-Kollagen Patch. Es stellt ein effektives Produkt zur flächenhaften Hämostase dar. Ein Vergleich der ökonomischen Belastung und des Ergebnisses unter der Verwendung von TachoSil® konnte zeigen, dass es ein wichtiges und bewährtes Tool bei Blutungen ist, die nicht mittels konventionellen Methoden (s.o.) beherrschbar sind. Unter der Verwendung kann es zu einer signifikanten Reduktion

- Einleitung -

postoperativer Komplikationen sowie der Kosten in der operativen Versorgung [Colombo et al., 2014].

1.2.2.1 Wirkmechanismus

TachoSil® besteht aus einer aktiven und aus einer inaktiven Seite. Die gelbe Seite enthält die gerinnungsaktiven Faktoren und die weiße inaktive Seite besteht vornehmlich aus Kollagen Typ I [Rickenbacher et al., 2009]. Bei einer aktiven Blutung erfolgt die Positionierung des Patches mit der gelben Seite auf die Blutungsquelle. Somit kommt es zur Aktivierung der integrierten Gerinnungsfaktoren und Initiierung der Schlussphase der plasmatischen Gerinnung. Die aktive Koagelbildung führt zur Hämostase und zu einer weiteren Konglutination mit dem (weißen) Kollagenfleece, **Abb. 1-5 und 1-7**.

TachoSil® kann als Patch mit Druck auf die Blutungsquelle gedrückt werden und in situ belassen werden, da es sich mit der Zeit resorbiert [Navarro et Brooks, 2015]. Zudem zeigt es bei antikoagulierten Patienten sowie bei Zustand nach (Z.n.) Aspirineinnahme eine gute Wirkung [Haas, 2006]. TachoSil® wird durch Fibrinolyse abgebaut und hinterlässt ein Granulationsgewebe mit Fibroblasten, Neutrophilen und Lymphozyten i.S. einer Fremdkörperreaktion [Martis et al., 1997; Pohle et al., 2011]. Das Ausmaß der Fremdkörperreaktion reduziert sich innerhalb von ca. vier Wochen und nach ca. drei Monaten sollen keine Reste mehr nachweisbar sein [Erb et al., 2009].

- Einleitung -

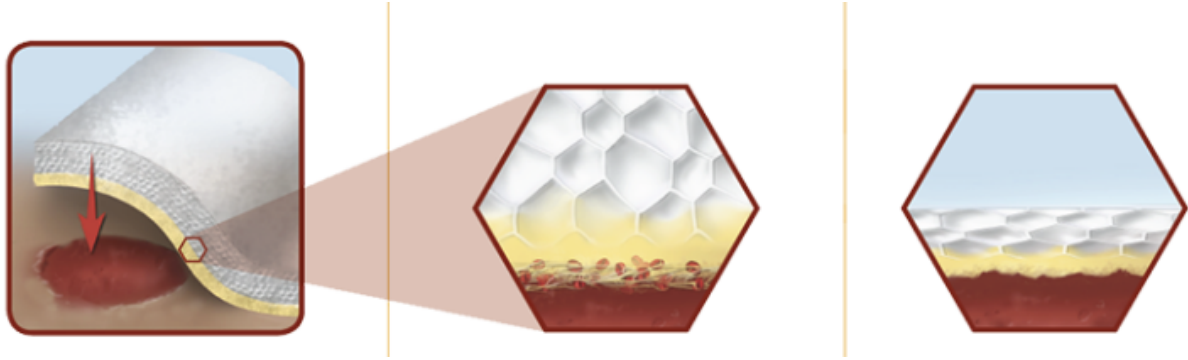


Abbildung 1-5. Aufbau und Funktionsweise von TachoSil®. *Links* Positionierung der gelben aktiven Seite auf die Blutungsquelle; *mittig* Aktivierung der integrierten Gerinnungsfaktoren bei Blutkontakt und *rechts* die Koagelbildung, welche zur Hämostase und Konglutination mit dem Kollagenfleece führt. (Quelle: Homepage unter <http://www.tachosilus.com/tachosil-advantage.html#active-control>; 10/2015).

1.2.2.2 Studienlage und Einsatz in der Chirurgie

TachoSil® ist eine Weiterentwicklung von TachoComb® [Rickenbacher et al., 2009]. Letzteres besaß Fibrinogen humaner und Aprotinin sowie Thrombin boviner Herkunft und die Anwendung war mit entsprechenden bereits oben erwähnten Nebenwirkungen und Unverträglichkeitsreaktionen assoziiert [Agus et al., 1996; Agger et al., 2010]. In vielen randomisierten Studien konnte die Effektivität der Weiterentwicklung nachgewiesen werden. Vor allem im Bereich der Lungen-, Leber-, Nieren- und Gefäßchirurgie kam das Produkt oftmals zum Einsatz [Siemer et al., 2007; Maisano et al., 2009; Rickenbacher et al., 2009; Fischer et al., 2011; Toro et al., 2011]. Des Weiteren konnte TachoSil® ebenfalls im Rahmen großer Traumata mit diffusen Blutungen erfolgreich eingesetzt werden, da es gegenüber konventionellen Fibrinklebern zusätzlich mit Druck appliziert werden kann und ein zusätzliches sog. Packing erlaubt [Navarro et Brooks, 2015]. Im Kopf-Hals-Bereich können TachoSil® und die Vorgänger im Rahmen frontobasaler Revisionen und allgemein als Hilfsmittel von Duraverschlüssen angewendet werden [Aletsee et al., 2003; Hutter et al.,

- Einleitung -

2014]. Bei zervikalen Eingriffen können durch die Anwendung pharyngo-kutane Fisteln vermindert und deren Heilung akzeleriert werden [Weiss et al., 2014].

Darüber hinaus konnte in vitro eine sehr gute adhäsive Festigkeit sowie Handhabung nachgewiesen werden, die diejenige eines Fibrinklebers übersteigt [Carbon et al., 2003]. Des Weiteren ist TachoSil[®] gegenüber Flüssigkeiten widerstandsfähiger und kann nicht so einfach weggewischt werden. Dies begünstigt und ermöglicht zudem die Anwendung bei arteriellen Blutungen in Ausnahmefällen [Agger et al., 2010].

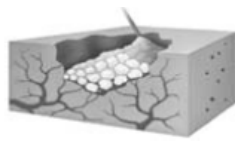
1.2.3 FloSeal[®]

1.2.3.1 Wirkmechanismus, Nebenwirkungen und Gegenanzeigen

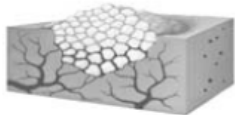
FloSeal[®] ist ein Gelatin-Thrombin Matrixpräparat und kann lokal als sog. Flowable mittels Spritze appliziert werden. Der Gelatinanteil ist boviner Herkunft und in Form kleiner Granulate integriert. Der Thrombinanteil ist humaner Herkunft und weist durch diese Zusammensetzung einerseits mechanische sowie andererseits aktive Komponenten auf [Spotnitz et Burks, 2008]. Der Vorteil der Zusammensetzung ist, dass es sich laut Herstellerangaben auch auf Unebenheiten dicht auflagern lässt. Auf Blutkontakt schwellen die FloSeal[®] Granulate innerhalb von zehn Minuten um ca. 10-20% an und führen somit zu einer zusätzlichen mechanischen Kompression der Blutungsquelle. Zudem kommt das durchsickernde Blut mit dem im FloSeal[®] Granulat eingebrachten humanen Thrombin in Kontakt, wodurch es zu einer weiteren Aktivierung der Gerinnungskaskade sowie Stabilisierung des resultierenden Clots/Matrix kommt. Überschüssiges FloSeal[®] Granulat kann händisch entfernt werden. Innerhalb von 6-8 Wochen soll es zu einer Resorption des Produktes kommen [Oz et al., 2003; Spotnitz et Burks, 2008], **Abb. 1-6 und 1-7**.

- Einleitung -

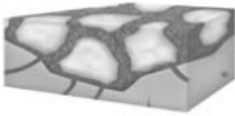
Risiken und Nebenwirkungen entstehen einerseits aus der Herstellung mit bovinen und humanen Produkten, im Sinne von Übertragung bestimmter Infektionserkrankungen, (Hepatitis B, C, HIV, Parvovirus B19, etc.) sowie allergischen Reaktionen auf bovine Bestandteile [Spotnitz et Burks, 2008; Ujam et al., 2012; Luhmann et al., 2013; Kuhns et al., 2015]. Zuletzt ist eine intravaskuläre Applikation strengstens kontraindiziert.



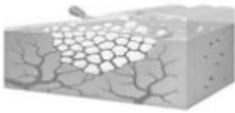
1. Applikation von FloSeal® auf die blutende Oberfläche, wobei sich das FloSeal® Granulat ebenfalls auf Unebenheiten dicht anpasst.



2. Auf Blutkontakt schwellen die FloSeal® Granulate um ca. 10-20 % innerhalb von 10 Minuten an und führen zu einer mechanischen Kompression.



3. Das durchsickernde Blut aktiviert das integrierte Thrombin und führt so zu einer Stabilisierung der geformten Matrix.



4. FloSeal® Granulate, die nicht in die formierte Matrix eingebunden sind, können einfach entfernt werden.



5. FloSeal® Granulate werden innerhalb von 6-8 Wochen resorbiert.

Abbildung 1-6. Aufbau und Funktionsweise von FloSeal®, modifizierte Darstellung nach Oz et al. [Oz et al., 2003].

1.2.3.2 Studienlage und Einsatz in der Chirurgie

FloSeal® hat sich als hochpotentes Hämostatikum etabliert. Im Kopf-Hals-Bereich konnte eine sehr effektive Wirkung bei rezidivierender Epistaxis, bei Blutungen nach Tonsillektomie sowie in der Sinuschirurgie in verschiedenen prospektiven Studien sowie Review Artikeln nachgewiesen werden [Mathiasen et Cruz, 2004; Cote et al., 2010; Beyea et Rotenberg, 2011;

- Einleitung -

Khan et al., 2015]. Des Weiteren hat sich die Applikation von FloSeal® bei arteriellen Blutungen mit schlechter Zugänglichkeit wie z.B. Schädelbasis oder intrakraniell bewährt [Cillo et al., 2005; Yao et al., 2013]. Weitere mögliche Einsatzbereiche sind Verschlüsse von kleineren, cervikalen Lymphleakagen und Liquorfisteln, aber auch in der orthognathen Chirurgie bei unkontrollierbaren, diffusen Blutungen [Ellegala et al., 2002; Gazzeri et al., 2012; Choong et al., 2014].

Die Effektivität der Blutstillung wurde in mehreren klinischen sowie tierexperimentellen Studien untersucht und gezeigt [Kheirabadi et al., 2002; Weaver et al., 2002; Speelman et al., 2013; Echave et al., 2014]. Fraglich ist jedoch die tatsächliche Emboliegefahr nach einer Applikation des Produktes, da die Wirkungsaktivierung auf Blutkontakt angewiesen ist.

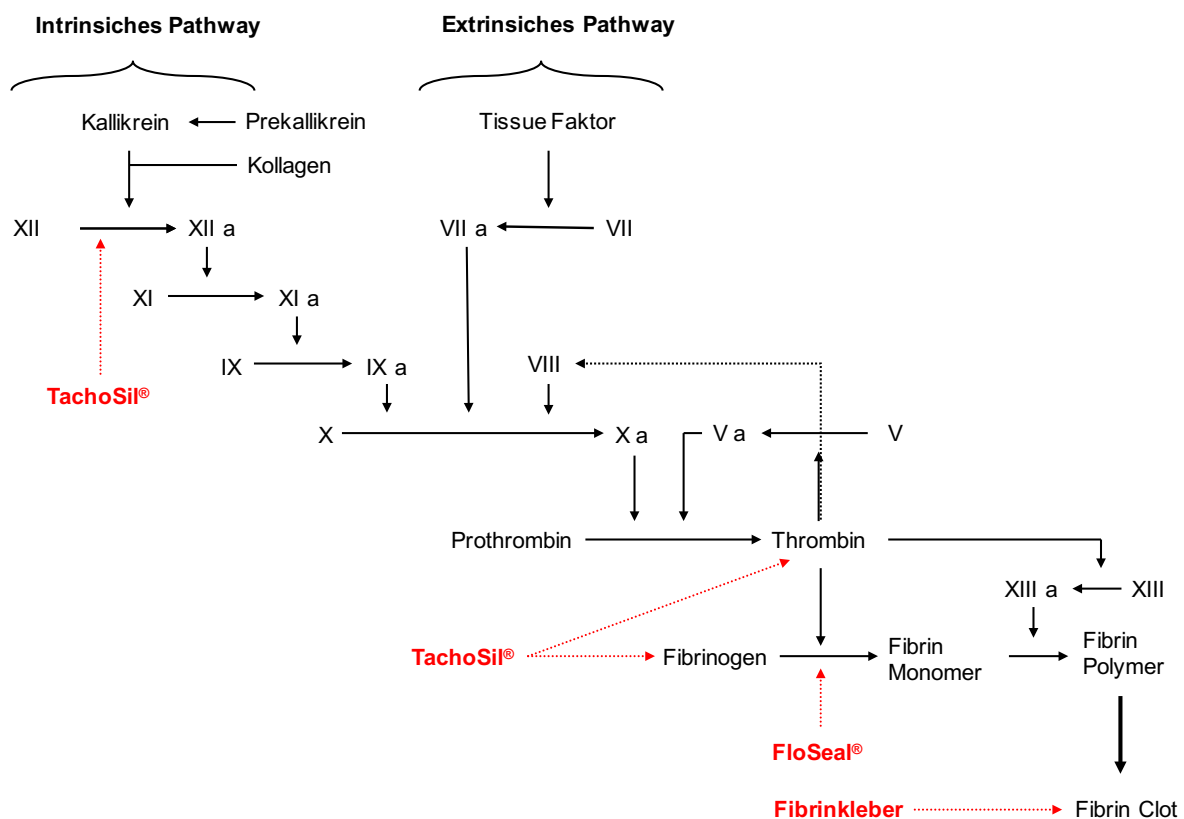


Abbildung 1-7. Schematische Darstellung der Gerinnungskaskade und Interaktionspunkte der gängigsten sowie in der Arbeit verwendeten Gewebekleber.

1.3 Problemstellung der Arbeit

Blutungen und Thrombembolien stellen gefürchtete Komplikationen nach Gefäßanastomosen dar. Im Rahmen des freien mikrovaskulären Gewebetransfers oder bei Bypassoperationen haben entsprechende Komplikationen verheerende Auswirkungen auf den Erfolg der Operation und auf das distal gelegene Organ bzw. durchblutete Gewebe. Um einerseits die Operationszeit zu reduzieren und andererseits Blutungen nach erfolgten vaskulären Eingriffen zu minimieren, wurden in den letzten vier Jahrzehnten verschiedene Klassen von Gewebeklebern und Hämostatika entwickelt. Die Funktionsweise der meisten Vertreter dieser Gruppe von Medizinprodukten basiert auf der Aktivierung der Gerinnungskaskade und ist auf Blutkontakt angewiesen. Verschiedene experimentelle sowie klinische Studien berichteten erfolgreiche Anwendungen in der mikro- und makrovaskulären Chirurgie mit teils signifikanter Reduktion von Blutungen und Operationszeit. Bei mikrovaskulären Anastomosen kann darüber hinaus laut Literatur eine Reduktion der applizierten Nähte erreicht werden.

Bisher ungeklärt ist jedoch die tatsächliche Thrombosebildung und konsekutive Emboliegefahr nach Applikation von Gewebeklebern im Rahmen von vaskulären Anastomosen.

Hauptziel der vorliegenden Arbeit war es, die Inzidenz von Thrombembolien nach Applikation von drei verschiedenen Gewebeklebern bzw. Hämostatika in einem speziellen, mikrochirurgischen Emboliemodell in der Ratte zu evaluieren. Nebenzielgrößen stellten Blutverlust, Gewebereaktion, Handling und Operationszeit dar.

Mit der Erkenntnis dieser Studie soll der Einsatz entsprechender Präparate im Rahmen vaskulärer Eingriffe kritisch evaluiert werden.

2 Material und Methodik

Um möglichst wahrheitsgetreue anatomische Verhältnisse und physiologische Reaktionen in einem experimentellen Setup simulieren zu können, haben wir uns für ein zuvor beschriebenes Embolienmodell in der Ratte entschieden [Ritschl et al., 2014]. Ratten stellen aufgrund ihres menschenähnlichen kardiovaskulären Systems ein standardisiertes und etabliertes Tierversuchsmodell für chirurgische Fragestellungen dar und sind in der experimentellen Mikrochirurgie die am häufigsten genutzten Wirbeltiere [Zhang et al., 2001]. In der vorliegenden Arbeit wurden Wistar-Ratten (Charles-River Laboratories; Sulzfeld, Deutschland) verwendet, die mit einem Antrag auf Genehmigung eines Tierversuchsvorhabens nach § 8 Absatz 1 des Tierschutzgesetzes an die Regierung von Oberbayern (Projektnummer: Az.55.2-1-54-2531-93-10) zur mikrochirurgischen Versuchspräparation beantragt und befürwortet wurden.

2.1 Operationsvorbereitungen, Anästhesie und Operation

Die Haltung der Tiere erfolgte unter konventionellen Hygienebedingungen in Standardkäfigen aus Makrolon (Typ III (H: 20 cm, B: 22 cm, T: 37 cm Typ IV (H: 20 cm, B: 35 cm, T: 55 cm)). Die Besatzdichte im Käfig richtete sich nach dem Gewicht der Tiere gemäß EU 2010/63. Futter (autoklaviertes Rattenfutter Ratte/ Maus, 10 mm Vierkant, pelletiert, Haltungsfutter No. 1324, Fa. Altromin) und Wasser (Trinkwasserwechsel zweimal pro Woche) erhielten die Tiere ad libitum. Den Tieren standen neben dem normalen Holzgranulateinstreu (Select Fine, Sniff) Zellstoff als Nestbaumaterial sowie Kriechtunnel aus rotem Polycarbonat und Papphäuser (Fa. Bioscape) zur Verfügung. Die Räume waren speziell als Tierhaltungsräume konzipiert (personenlimitierte Zutrittskontrolle, Pflege durch ausgebildete Versuchstierpfleger, Klimatisierung, Hell-Dunkel-Rhythmus von je zwölf

- Material und Methodik -

Stunden mit Dämmerungsphase). Die Haltung der Tiere erfolgte in Umsetzung der in der EU-Richtlinie 2010/63 festgelegten Bedingungen.

Nach Lieferung der Ratten wurden diese gewogen und es wurde eine allgemeine Untersuchung durchgeführt, um den aktuellen Gesundheitszustand festzustellen und eventuelle Schädigungen durch den Transport auszuschließen. Danach wurde den Ratten eine mindestens 14-tägige Eingewöhnungszeit mit Überwachung des Körpergewichtes und des Gesundheitszustandes gewährt. Eine spezielle Vorbereitung i.S. von Kostumstellung oder Konditionierung war für diesen Versuchsaufbau und -ablauf nicht nötig.

Die Narkoseeinleitung erfolgte mit Isofluran (Forene[®] 100 %; Abbot GmbH & Co. KG; Wiesbaden, Deutschland) in einer Ganzkörperkammer. Zur Fortführung der Narkose wurde Ketamin (Narketan[®] 100 mg/ml; Vétoquinol GmbH; Ravensburg, Deutschland) 100 mg/kg Körpergewicht (KG) und Xylazin (Rompun[®] 2 %; Bayer Vital GmbH; Leverkusen, Deutschland) 5 mg/kg KG zunächst intraperitoneal (i.p.) als Kombinationsnarkose in einer Mischspritze appliziert. Die narkotisierte Ratte wurde anschließend im Abdominalbereich inkl. der Leistenregion nass rasiert, die Augen mit Dexpanthenol (Bepanthen[®]; Bayer Vital GmbH; Leverkusen, Deutschland) bedeckt und auf einer über eine Rektalsonde automatisch regulierbare Wärmematte positioniert, wobei Atmung und Puls über ein Pulsoxymeter überwacht wurden. Nach Erlöschen des Beinbeugereflexes, einem gut dokumentierten Parameter zur Evaluierung der Narkosetiefe, erfolgte die Desinfektion des OP-Bereichs mittels einer Cutasept[®]-Lösung [Sun et al., 2003; Welberg et al., 2006].

Zur Aufrechterhaltung der weiteren Narkose wurde der Ratte über einen Leistenzugang mikrochirurgisch ein venöser Mikrokatheter (Premicath; VYGON GmbH & Co.KG; Aachen, Deutschland) gelegt, um im weiteren Verlauf die Narkose intravenös (i.v.) zu geben [Ritschl et al., 2015a]. Hierzu wurde Ketamin (Narketan[®] 100 mg/ml; Vétoquinol GmbH; Ravensburg, Deutschland) 33 mg/kg KG und Xylazin (Rompun[®] 2%; Bayer Vital GmbH; Leverkusen, Deutschland) 1,6 mg/kg KG alle 20-30 Minuten bzw. bei Bedarf unter

- Material und Methodik -

permanenter Kontrolle der Vitalparameter sowie des Beinbeugereflexes über das durchgeführte Monitoring nachgegeben.

Nach medianer Laparotomie mit Durchtrennung der Cutis, Subcutis und Muskulatur entlang der Linea alba wurde durch sorgsames Verdrängen der Darmschlingen das Retroperitoneum mit infrarenaler Aorta und Vena cava inferior bis zur Aortenbifurkation dargestellt. Die zur Seite mobilisierten Organe wurden vorsichtig mit feuchten Tupfern vor Austrocknung geschützt. Anschließend folgte die Eröffnung der Gefäßscheide und die zirkumferente Mobilisation der infrarenalen Aorta bis zur Aortenbifurkation. Kleinere arterielle Abgänge wurden in diesem Bereich ligiert, um spätere Blutungen zu vermeiden. Die eröffnete Abdominalhöhle wurde permanent feucht gehalten.

Daraufhin folgte die temporäre Unterbrechung des Blutflusses der Aorta durch das Setzen sog. Approximatorclips nach Acland, um die Aorta ca. 5 mm proximal der Aortenbifurkation scharf mit einer Mikroschere zu durchtrennen. Nach gründlichem Spülen der beiden Gefäßlumina mit einem Heparin-Deltajonin-Gemisch von 500 IE Heparin auf 10 ml Deltajonin (Heparin-Natrium-25000-ratiopharm[®]; ratiopharm GmbH; Ulm, Deutschland und Deltajonin[®]; DeltaSelect GmbH; Dreieich, Deutschland) wurde zunächst ein Mikroporenfilter aus Polyurethan (Joseph Schimmel GmbH & Co; Aldesheim, Deutschland) mit einer Porengrößen von ca. 100 µm ohne spezieller Beschichtung in das Gefäß entsprechend dem Aorta-Filter Modell nach Ritschl et al. mittels Einzelknopfnähten eingebracht [Ritschl et al., 2014].

Das weitere Procedere erfolgte gemäß Gruppeneinteilung und Versuchsprotokoll, welches weiter unten dokumentiert dargestellt wurde.

2.2 Gruppeneinteilung

Nach der Durchblutungskontrolle erfolgte eine erneute temporäre Clippung der Aorta proximal der Filteranastomose mittels Approximatorclips nach Acland, Durchtrennung derselben und Spülung der beiden resultierenden Gefäßlumina. Entsprechend einer vorherigen Randomisierung erfolgte die zweite Gefäßanastomose mittels zwölf Einzelknopfnähten (Goldstandard = Kontrollgruppe) oder mittels sechs gleichmäßig verteilten Einzelknopfnähten sowie perivaskulärer Applikation eines der drei verschiedenen Gewebeklebern/Hämostatika (Versuchsgruppe), **Abb. 2-1 und 2-2**. Zu den zu untersuchenden Gewebeklebern/Hämostatika gehörten: Fibrinkleber (Tissucol[®] Duo S Immuno; Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim, Deutschland), TachoSil[®] (TachoSil[®]; Takeda Austria GmbH; Linz, Österreich) und FloSeal[®] (FloSeal[®]; Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim, Deutschland). Tissucol[®] und FloSeal[®] konnten mit Hilfe der vom Hersteller mitgelieferten Darreichungsspritze perivaskulär appliziert werden. TachoSil[®] wurde entsprechend seiner Matrixform um das anastomosierte Gefäß „gewrappt“. Nach abgeschlossener Anastomose wurde zunächst entsprechend dem sog. Sealing Maneuver der distale Clip geöffnet, um einen zu hohen Blutdruckanstieg im Bereich der Anastomose zu vermeiden und eine erste Versiegelung des Anastomosenbereiches zu erreichen [Mücke et al., 2008]. Danach wurde der Blutfluss orthograd wiederhergestellt.

Nach abschließender Blutungskontrolle und Rückverlagerung des Darmes erfolgte die Spülung der Abdominalhöhle mit 5 ml Ringerlösung und ein zweischichtiger Wundverschluss mit fortlaufender Muskelnäht (3-0 Vicryl; Ethicon; Johnson & Johnson Int.; Belgien) und Hautnaht mittels fortlaufender Naht, kombiniert mit der Einzelknopfnähttechnik mit einem Ethilon 6-0 Faden (Ethicon; Johnson & Johnson Int.; Belgien).

Alle vier Gruppen bestanden aus 20 Versuchstieren. Je nach Untergruppe erfolgte eine Re-Laparotomie und Freilegung der infrarenalen Aorta unter Mitentnahme der Filter- und

- Material und Methodik -

Versuchsanastomose mitsamt potenziell gesammelter Thromben nach vier Stunden (Gruppe I; n = 10 pro Gruppe) oder 14 Tagen (Gruppe II; n = 10 pro Gruppe). Daraufhin wurden die Tiere mittels Pentobarbital 60mg/kg intrakardial (Narcoren[®], Fa. Rhone-Merieux GmbH, Laupheim) und Entblutung euthanasiert [Close et al., 1996; 1997]. Anschließend wurde eine makro- und mikroskopische Aufarbeitung und Untersuchung des Gefäßpräparats durchgeführt, siehe unten.

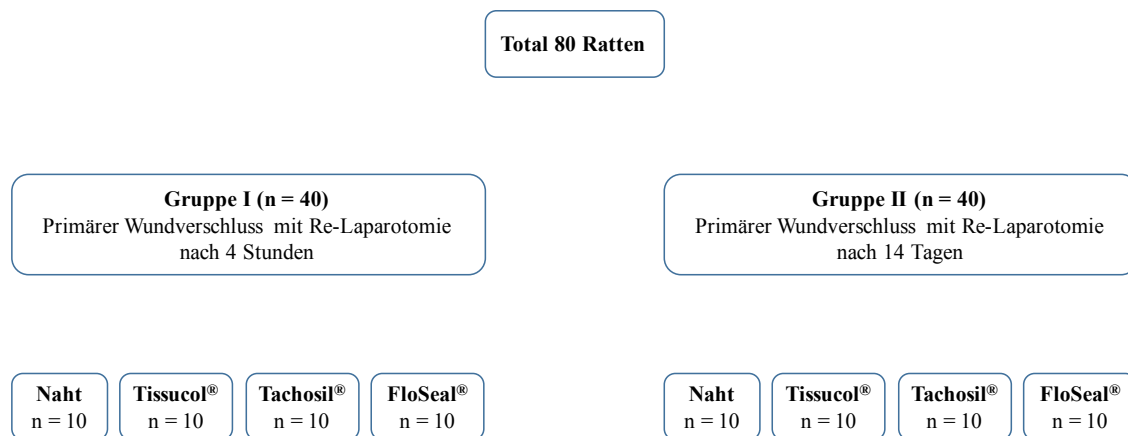


Abbildung 2-1. Übersicht der Gruppeneinteilung

2.3 Auswertung

2.3.1 Untersuchung des Thrombembolievolumens

Hauptzielgröße der vorliegenden Arbeit war das Volumen an aufgefangenem Thrombembolienmaterial im Filter. Das extrahierte Material wurde in einem speziellen Plexiglasgehäuse mit einer definierten Höhe von 500 µm neben 1/10-Millimeterpapier positioniert und fotografiert [Ritschl et al., 2014]. Abschließend wurden die Thrombembolien mit Hilfe des Computerprogramms ImageJ (Image Processing and Analysis in Java; ImageJ

- Material und Methodik -

1.41; National Institute of Mental Health; Bethesda, Maryland, USA) volumetrisch ausgewertet.

Als Nebenzielgrößen wurden operative Parameter wie Blutverlust und Operationszeit erfasst und ausgewertet.

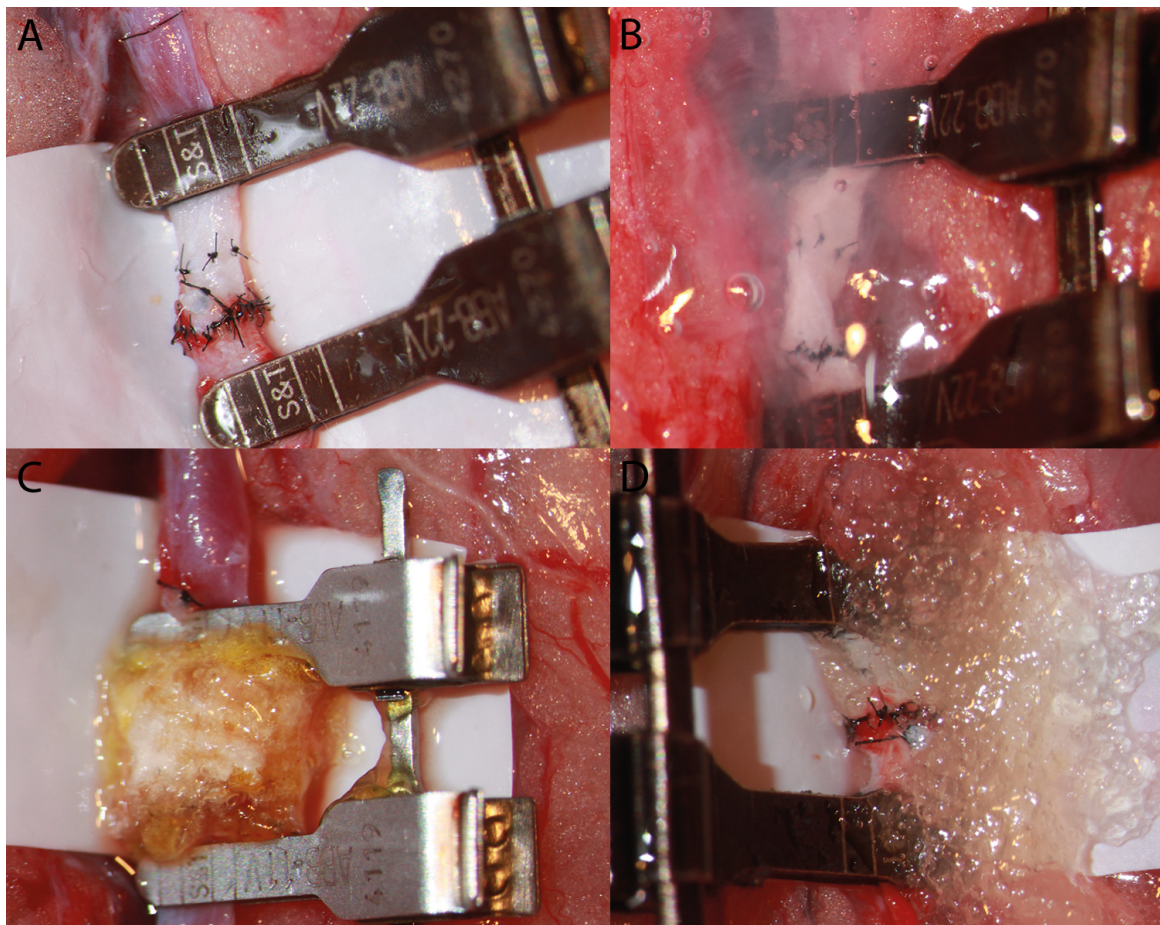


Abbildung 2-2. Darstellung des Operationssitus mit proximaler Versuchsanastomose (jeweils obere Anastomose) und distaler Filteranastomose der vier Gruppen: Naht (A), Tissucol® (B), TachoSil® (C) und FloSeal® (D) mit einer zehnfachen Vergrößerung [Ritschl et al., 2015b].

2.3.2 Histologische Auswertung

Die histologische Auswertung erfolgte örtlich und zeitlich getrennt durch einen verblindeten Untersucher, der nicht an den chirurgischen Maßnahmen beteiligt war. Bis zur Aufarbeitung wurden die Präparate in einer Lösung aus Formaldehyd 4% in 100 mM Phosphat Puffer durchgespült, fixiert und für 6-80 Stunden bei 4° C gekühlt.

Es folgte eine Nachfixierung mit Osmiumtetroxid 0,5% für eine Stunde. Nach aufsteigender Alkoholreihe und Propylenoxid als Intermedium wurde das Präparat in Epoxidharz nach einem standardisierten Protokoll eingebettet, **Tab. 2-1**.

Zur histomorphologischen Analyse wurden die fixierten Präparate in mehrere Unterblöcke aufgeteilt und mit einem Mikrotom UltraCut E (Serie reichert-Jung von Leica; Wien, Österreich) in mehrere Kurzserien geschnitten. Die resultierenden Semidünnschnitte hatten eine Schnittdicke von 0,75 µm. Es schloss sich eine Toluidinblau-Färbung an, 1g von Fluka (Buchs, Deutschland) und Natriumtetraborat (NaB_4O_7) 1g, Borax[®], Riedel-de Haën (Seelze, Deutschland) in 100 ml Aqua dest., sowie 80 g Saccharose (J. T. Baker Chemicals; Deventer, Niederlande), welche anschließend hinzugegeben wurde. Diese Lösung wurde mit Natronlauge (NaOH, J. T. Baker Chemicals; Deventer, Niederlande) auf einen pH von 9,3 titriert [Scholz et al., 2008].

Bei der postoperativen, histologischen Analyse wurde das Hauptaugenmerk auf morphologische Veränderungen in den einzelnen Gefäßwandschichten (Intima, Media und Adventitia) gelegt. Die Beurteilung der postoperativen Veränderungen erfolgte an Hand eines standardisierten Protokolls nach Chow und modifiziert nach Ritschl et al. unter der Vergabe von Punkten zwischen 0 und 4, **Tab. 2-2** [Chow, 1983; Ritschl et al., 2014].

2.3.1 Statistische Analyse

Die Daten wurden mittels Microsoft Office Excel (Microsoft Excel for Windows, release 11., 2003 Microsoft Corporation) gesammelt und mit GraphPad Prism (GraphPad Prism Software Version 6.00 Mac Os X; San Diego, California, USA) analysiert.

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

Tabelle 2-1. Standardisiertes Einbettungsprotokoll der gewonnenen Gefäßpräparate [Scholz et al., 2008].

Der Mann-Whitney-U Test wurde zur statistischen Analyse aller definierten Haupt- und Nebenzielgrößen verwendet. Alle Ergebnisse sind mit Mittelwert und Standardabweichung (SD) angegeben. Die Graphiken wurden als sog. „column bar graphs“ mit Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

- Material und Methodik -

In allen statistischen Berechnungen wurde ein zweiseitiges Signifikanzniveau von $p = 0,05$ festgelegt, wobei alle p-Werte über diesem Wert als statistisch nicht signifikant, p-Werte kleiner als 0,05 hingegen als statistisch signifikant angesehen wurden.

- Material und Methodik -

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

Tabelle 2-2. Beurteilung der postoperativen histologischen Veränderungen erfolgte anhand eines standardisierten Protokolls nach Chow und modifiziert nach Ritschl et al. unter der Vergabe von Punkten zwischen 0 und 4 [Chow, 1983; Ritschl et al., 2014].

3 Ergebnisse

Insgesamt wurden 160 Anastomosen an 80 Ratten durchgeführt. Die gruppenspezifischen Durchgängigkeitsraten der Anastomosen waren insgesamt 90% (Naht), 35% (Tissucol[®]), 25% (TachoSil[®]) und 10% (FloSeal[®]).

3.1 Gruppe I

3.1.1 Thrombembolievolumen und operative Parameter

Das durchschnittliche Thrombembolievolumen betrug $0,008 \text{ mm}^3 \pm 0,01$ (Naht), $0,039 \text{ mm}^3 \pm 0,033$ (Tissucol[®]), $0,125 \text{ mm}^3 \pm 0,148$ (TachoSil[®]) und $0,035 \text{ mm}^3 \pm 0,034$ (FloSeal[®]),

Tabelle 3-1. Die Verwendung der Gewebekleber/Hämostatika war mit einem signifikant erhöhten Thrombembolievolumen im Vergleich zur Nahtgruppe verbunden (je $p < 0,025$). Der Vergleich von Tissucol[®], TachoSil[®] und FloSeal[®] untereinander ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Thrombembolievolumens, **Tab. 3-2.**

Die durchschnittlich benötigte Zeit für die proximale Versuchsanastomose betrug bei Naht 46,12 Min. $\pm 17,57$, Tissucol[®] 17,98 Min. $\pm 6,576$, TachoSil[®] 18,64 Min. $\pm 7,448$ und FloSeal[®] 20,12 Min. $\pm 6,07$, **Tab. 3-1.** Die Applikation von Tissucol[®], TachoSil[®] und FloSeal[®] führte in allen Gruppen zu einer signifikanten Reduktion der benötigten Zeit verglichen zur Nahtgruppe (je $p \leq 0,0001$). Im Vergleich der Gewebekleber/Hämostatika untereinander war keine Versuchsgruppe der anderen überlegen, **Tab. 3-2.**

Der durchschnittliche Blutverlust für die proximale Versuchsanastomose war mit $0,54 \text{ ml} \pm 0,283$ in der Nahtgruppe im Vergleich zu Tissucol[®] mit $1,85 \text{ ml} \pm 0,642$, TachoSil[®] mit $2,59 \text{ ml} \pm 0,756$ und FloSeal[®] mit $2,54 \text{ ml} \pm 0,799$ signifikant niedriger (je $p < 0,0001$),

- Ergebnisse -

Tab. 3-2. Unter den Gewebeklebern/Hämostatika war die Anwendung von TachoSil® im Vergleich zu Tissucol® mit einem signifikant erhöhtem Blutverlust assoziiert ($p = 0,0149$).

Gruppe	Zeit pro Anastomose proximal (min) (\pm SD)	Zeit pro Anastomose distal (min) (\pm SD)	Blutverlust (ml) (\pm SD)	Thrombosevolumen (mm^3) (\pm SD)	Durchgängigkeit (n=10)
I Naht	46,13 (17,57)	64,39 (16,72)	0,54 (0,283)	0,008 (0,01)	9/10
II Naht	31,17 (6,452)	50,06 (7,448)	0,715 (0,392)	0,057 (0,179)	9/10
I Tissucol®	17,98 (6,576)	52,36 (11,19)	1,85 (0,642)	0,039 (0,033)	3/10
II Tissucol®	23,33 (4,031)	45,61 (7,93)	0,85 (0,387)	0,156 (0,149)	4/10
I TachoSil®	18,64 (7,448)	57,5 (9,564)	2,59 (0,756)	0,125 (0,148)	2/10
II TachoSil®	20,37 (4,945)	52,67 (11,99)	0,65 (0,246)	0,111 (0,121)	3/10
I FloSeal®	20,12 (6,07)	59,69 (16,37)	2,54 (0,799)	0,035 (0,034)	0/10
II FloSeal®	20,26 (2,737)	63,24 (20,03)	2,19 (0,482)	0,26 (0,324)	2/10

Tabelle 3-1. Operative Ergebnisse aller Gruppen unter der Verwendung von vier verschiedenen Techniken zur Durchführung der proximalen Versuchsanastomose in dem Aorta-Filter Modell der Ratte (Naht, Tissucol®, TachoSil® und FloSeal®).

3.1.2 Histologische Analyse

Die Verwendung von Tissucol® führte zu einer signifikanten Reduktion der Irritation der Lamina Elastica Interna (IIEI) im Vergleich zur Nahtgruppe ($p = 0,0093$). Die weiteren erhobenen Parameter Intima Hyperplasie (IH), Media Fibrozyten Infiltration (MFI), Nekrose der Media (NM), Hyperzellularität der Adventitia (AH) und Neovaskularisation und

- Ergebnisse -

Lymphangiogenese der Adventitia (ANL) führten nach einem vierstündigen Beobachtungsintervall zu keinen signifikanten Veränderungen, **Tab. 3-3**.

3.2 Gruppe II

3.2.1 Thrombembolievolumen und operative Parameter

Das durchschnittliche Thrombembolievolumen betrug $0,057 \text{ mm}^3 \pm 0,179$ (Naht), $0,156 \text{ mm}^3 \pm 0,149$ (Tissucol®), $0,111 \text{ mm}^3 \pm 0,121$ (TachoSil®) und $0,26 \text{ mm}^3 \pm 0,324$ (FloSeal®), **Tab. 3-1**. Die Verwendung von TachoSil® und FloSeal® war mit einem signifikant erhöhten Thrombembolievolumen im Vergleich zur Nahtgruppe verbunden ($p = 0,0172$ und $p = 0,0349$, respektive). Tissucol® führte im direkten Vergleich zur Naht nach 14 Tagen zu keinem erhöhten Thrombembolievolumen ($p = 0,0962$). TachoSil® und FloSeal® führten jeweils zu einem signifikant erhöhten Thrombosevolumen ($p = 0,0172$ und $p = 0,0349$, respektive). Der Vergleich von Tissucol®, TachoSil® und FloSeal® untereinander ergab keinen signifikanten Unterschied hinsichtlich des Thrombembolievolumens, **Tab. 3-2**.

Die durchschnittlich benötigte Zeit für die proximale Versuchsanastomose betrug bei Naht 31,17 Min. $\pm 6,452$, Tissucol® 23,33 Min. $\pm 4,031$, TachoSil® 20,37 Min. $\pm 4,945$ und FloSeal® 20,26 Min. $\pm 2,737$, **Tab. 3-1**. Die Applikation von Tissucol®, TachoSil® und FloSeal® führte in allen Gruppen zu einer signifikanten Reduktion der benötigten Zeit verglichen zur Nahtgruppe (je $p \leq 0,001$). Im Vergleich der Gewebekleber/Hämostatika untereinander war die Anastomosenzzeit unter der Anwendung von FloSeal® signifikant schneller als mit Tissucol® ($p = 0,0349$). Ansonsten bestanden keine signifikanten Unterschiede, **Tab. 3-2**.

Der durchschnittliche Blutverlust für die proximale Versuchsanastomose war mit $0,715 \text{ ml} \pm 0,392$ in der Nahtgruppe im Vergleich zu Tissucol® mit $0,85 \text{ ml} \pm 0,387$ und TachoSil® mit

- Ergebnisse -

0,65 ml \pm 0,246 nicht signifikant. Der Blutverlust in der FloSeal[®]-Gruppe II war mit 2,19 ml \pm 0,482 hoch signifikant sowohl gegenüber der Nahtgruppe als auch im Vergleich zu Tissucol[®] und TachoSil[®] erhöht (je $p < 0,0001$). Tissucol[®] und TachoSil[®] im Vergleich zeigten keinen signifikanten Unterschied in Bezug auf den Blutverlust ($p = 0,251$), **Tab. 3-2**.

Gruppe	Zeit pro Anastomose proximal	Zeit pro Anastomose distal	Blutverlust	Thrombose- volumen
I Naht/ Tissucol[®]	<0,0001****	0,122	<0,0001****	0,0233*
I Naht/TachoSil[®]	0,0001***	0,4285	<0,0001****	0,0003*
I Naht/FloSeal[®]	<0,0001****	0,4285	<0,0001****	0,0115*
I Tissucol[®] /TachoSil[®]	0,9547	0,3104	0,0149*	0,1051
I Tissucol[®] /FloSeal[®]	0,5159	0,5678	0,0536	0,6305
I TachoSil[®] /FloSeal[®]	0,4285	0,9502	>0,9999	0,063
II Naht / Tissucol[®]	0,0039**	0,2443	0,361	0,0962
II Naht /TachoSil[®]	0,0007***	0,7796	0,9525	0,0172*
II Naht /FloSeal[®]	<0,0001****	0,0504	<0,0001****	0,0349*
II Tissucol[®] /TachoSil[®]	0,0507	0,2556	0,251	0,7303
II Tissucol[®] /FloSeal[®]	0,0349*	0,0086**	<0,0001****	0,6156
II TachoSil[®] /FloSeal[®]	0,5162	0,0722	<0,0001****	0,4693

Tabelle 3-2. Statistische Analyse der operativen Parameter aller Gruppen (Naht, Tissucol[®], TachoSil[®] und FloSeal[®]) im Vergleich nach einem Intervall von vier Stunden (Gruppe I) und 14 Tagen (Gruppe II) in dem Aorta-Filter Modell der Ratte unter der Verwendung des Mann-Whitney-U Tests.

3.2.2 Histologische Analyse

Die Intimahyperplasie (IH) war in keiner der untersuchten Gruppen signifikant erhöht. Die Irritation der Lamina elastica interna (IIAL) wurde durch die Verwendung von FloSeal[®] im Vergleich zur Nahtgruppe und TachoSil[®]-Gruppe signifikant reduziert ($p = 0,0275$ und $p = 0,0201$). Im Vergleich der weiteren Gruppen wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich der Irritation der Lamina elastica interna beobachtet. Die Verwendung von Tissucol[®] und TachoSil[®] führte zu einer signifikant vermehrten Fibrozyteninfiltration der Mediaschicht im Vergleich zur Kontrollgruppe ($p = 0,0078$ und $p = 0,0274$). Alle drei Gewebekleber/Hämostatika reduzierten signifikant die Entwicklung einer Medianekrose, verglichen zur Nahtgruppe (Naht/ Tissucol[®] $p = 0,0015$, Naht/TachoSil[®] $p = 0,0018$ und Naht/FloSeal[®] $p = 0,0153$). Die Gewebekleber/Hämostatika im Vergleich untereinander führten zu keinem signifikanten Unterschied hinsichtlich der Entwicklung einer Medianekrose (Tissucol[®]/TachoSil[®] $p = 0,6733$, Tissucol[®]/FloSeal[®] $p = 0,7216$ und TachoSil[®]/FloSeal[®] $p = 0,5371$). Im Vergleich zur Nahtgruppe führte die Tissucol[®]-Applikation zu einer signifikant erhöhten Hyperzellularität der Adventitia ($p = 0,0153$). Weder die Anwendung von TachoSil[®] noch die von FloSeal[®] war mit einer Zunahme der Hyperzellularität der Adventitia verbunden (Naht/ TachoSil[®] $p = 0,1842$ und Naht/ FloSeal[®] $p = 0,0705$). Die Applikation der untersuchten Gewebekleber/Hämostatika führte in allen Gruppen zu einer signifikant verstärkten Neovaskularisation und Lymphangiogenese der Adventitia im Vergleich zur Kontrollgruppe (Naht/Tissucol[®], $p = 0,0305$, Naht/TachoSil[®] $p = 0,0305$ und Naht/FloSeal[®] $p = 0,0489$). Im Vergleich untereinander wurde kein signifikanter Unterschied hinsichtlich einer verstärkten Neovaskularisation und Lymphangiogenese der Adventitia festgestellt (Tissucol[®]/TachoSil[®] $p = 0,4047$, Tissucol[®]/FloSeal[®] $p = 0,2039$ und TachoSil[®]/FloSeal[®] $p = 0,6374$), **Tab. 3-3**.

- Ergebnisse -

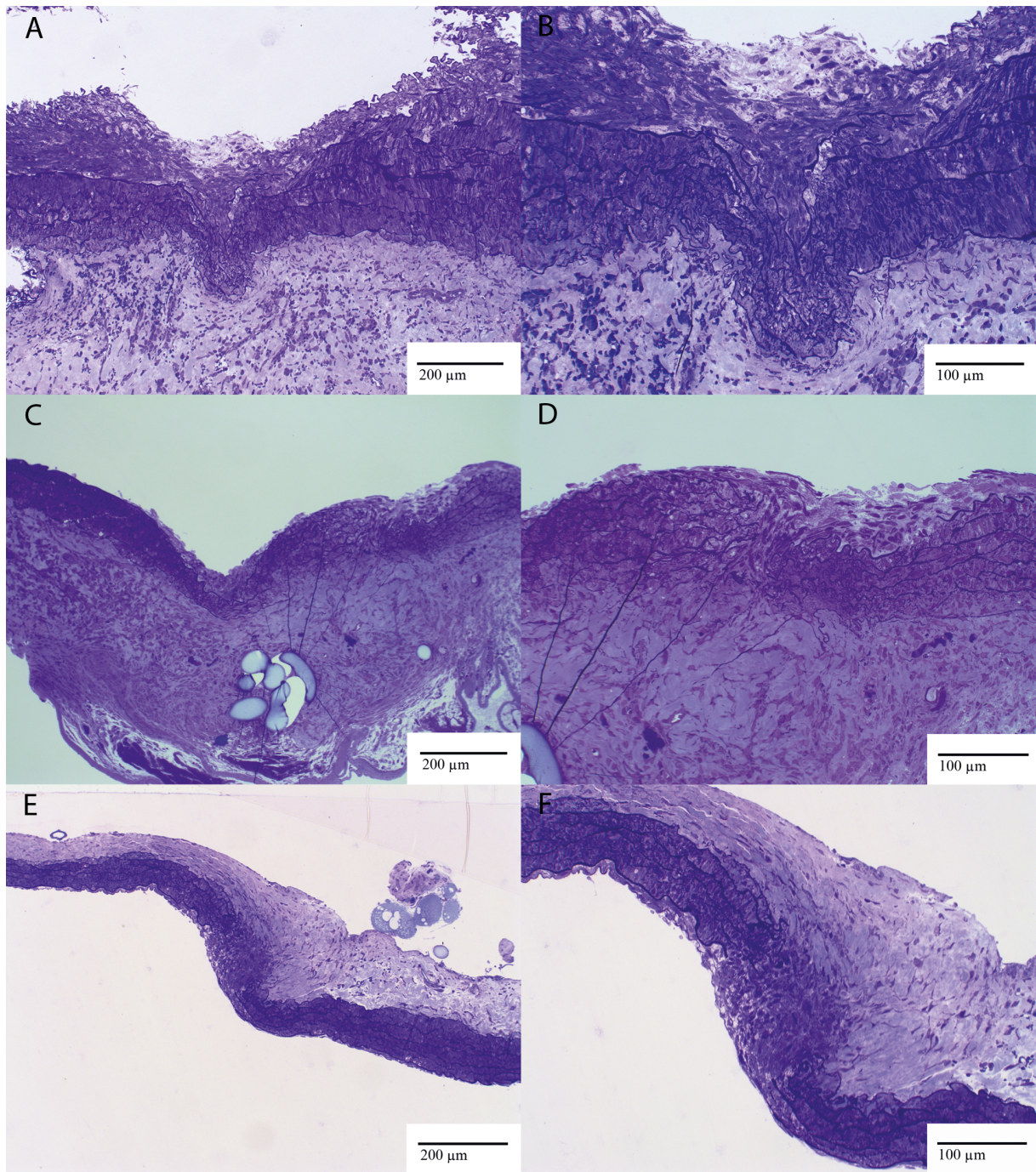


Abbildung 3-1. Beispielhafte histologische Schnitte patenter Anastomosen der Versuchsgruppe Tissucol® (A und B), TachoSil® (C und D) und FloSeal® (E und F) nach einem 14-tägigen Beobachtungsintervall. Die linke Reihe wurde mit einer 65-fachen und die rechte mit einer 130-fachen Vergrößerung dargestellt.

- Ergebnisse -

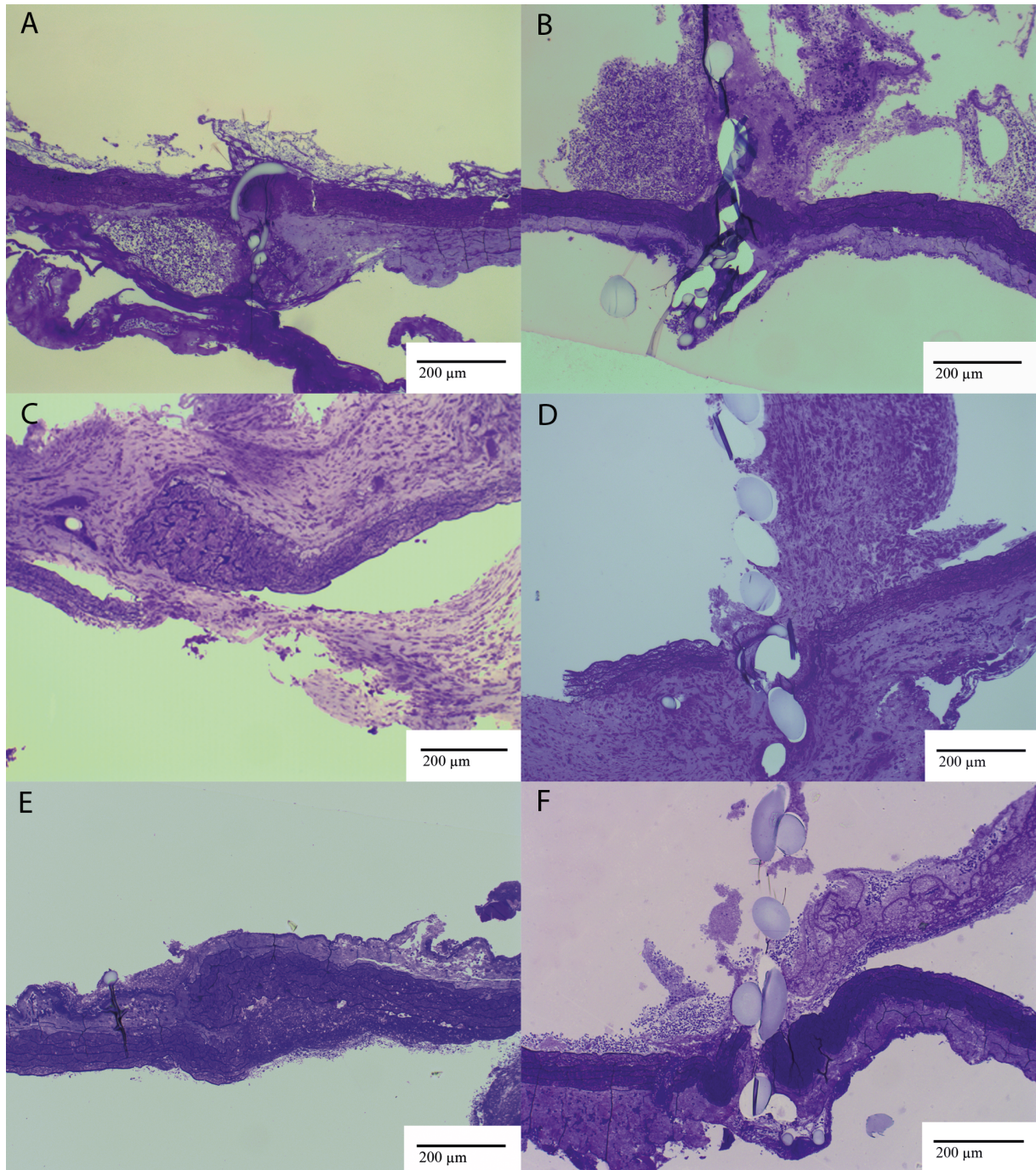


Abbildung 3-2. Beispielhafte histologische Schnitte okkludierter Anastomosen der Versuchsgruppe Tissucol[®] (A und B), TachoSil[®] (C und D) und FloSeal[®] (E und F) nach einem 14-tägigen Beobachtungsintervall. Beide Reihen wurden mit einer 65-fachen Vergrößerung dargestellt.

- Ergebnisse -

Gruppe	IH	IHEL	MFI	NM	AH	ANL
I Naht/ Tissucol®	error	0,0093 **	error	error	error	error
I Naht/TachoSil®	error	0,2665	error	error	error	error
I Naht/FloSeal®	error	0,136	error	error	error	error
I Tissucol®/TachoSil®	error	0,2808	error	error	error	error
I Tissucol®/FloSeal®	error	0,1851	error	error	error	error
I TachoSil®/FloSeal®	error	0,9661	error	error	error	error
II Naht/ Tissucol®	0,8961	0,9634	0,0078*	0,0015*	0,0153*	0,0305*
II Naht/TachoSil®	0,4392	0,9543	0,0274*	0,0018*	0,1842	0,0305*
II Naht/FloSeal®	0,212	0,0275*	error	0,0153*	0,0705	0,0489*
II Tissucol®/TachoSil®	0,7314	0,9656	0,476	0,6733	0,4047	0,4047
II Tissucol®/FloSeal®	0,3914	0,0916	0,1124	0,7216	0,2039	0,2039
II TachoSil®/FloSeal®	0,6698	0,0201*	0,2087	0,5371	0,6374	0,6374
Legende: IH = Intimahyperplasie; IHEL = Irritation der Lamina Elastica Interna; MFI = Media Fibrozyten Infiltration; NM = Nekrose der Media; AH = Hyperzellularität der Adventitia; ANL = Neovaskularisation und Lymphangiogenese der Adventitia						

Tabelle 3-3. Statistische Analyse der histologischen Veränderungen der proximalen (Versuchs-) Anastomose nach einem Intervall von vier Stunden (Gruppe I) und 14 Tagen (Gruppe II) unter der Verwendung des Mann-Whitney-U Tests.

Thromembolisches Material_Übersicht

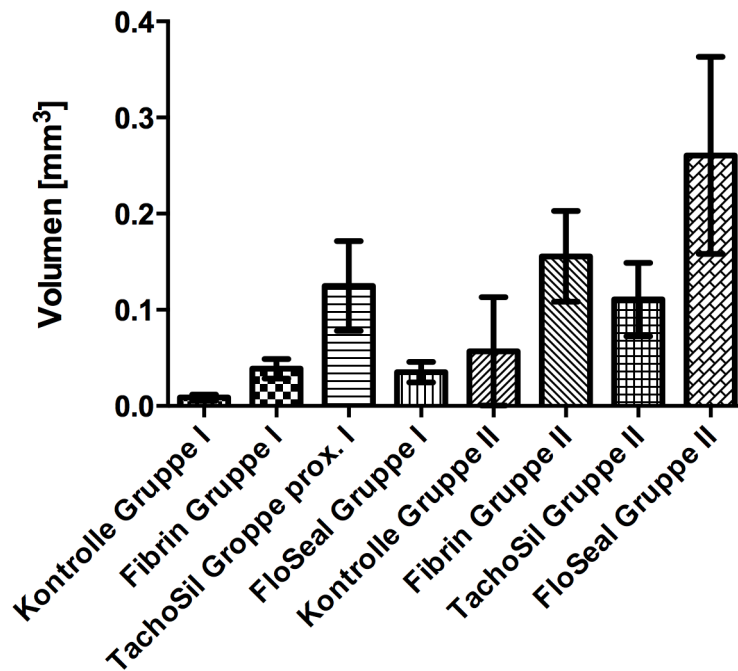


Abbildung 3-3. Ergebnisübersicht der Hauptzielgröße Thrombembolievolumen der Gruppen I und II (angegeben in „column bar graphs“ mit Mittelwert und Standardabweichung).

- Ergebnisse -

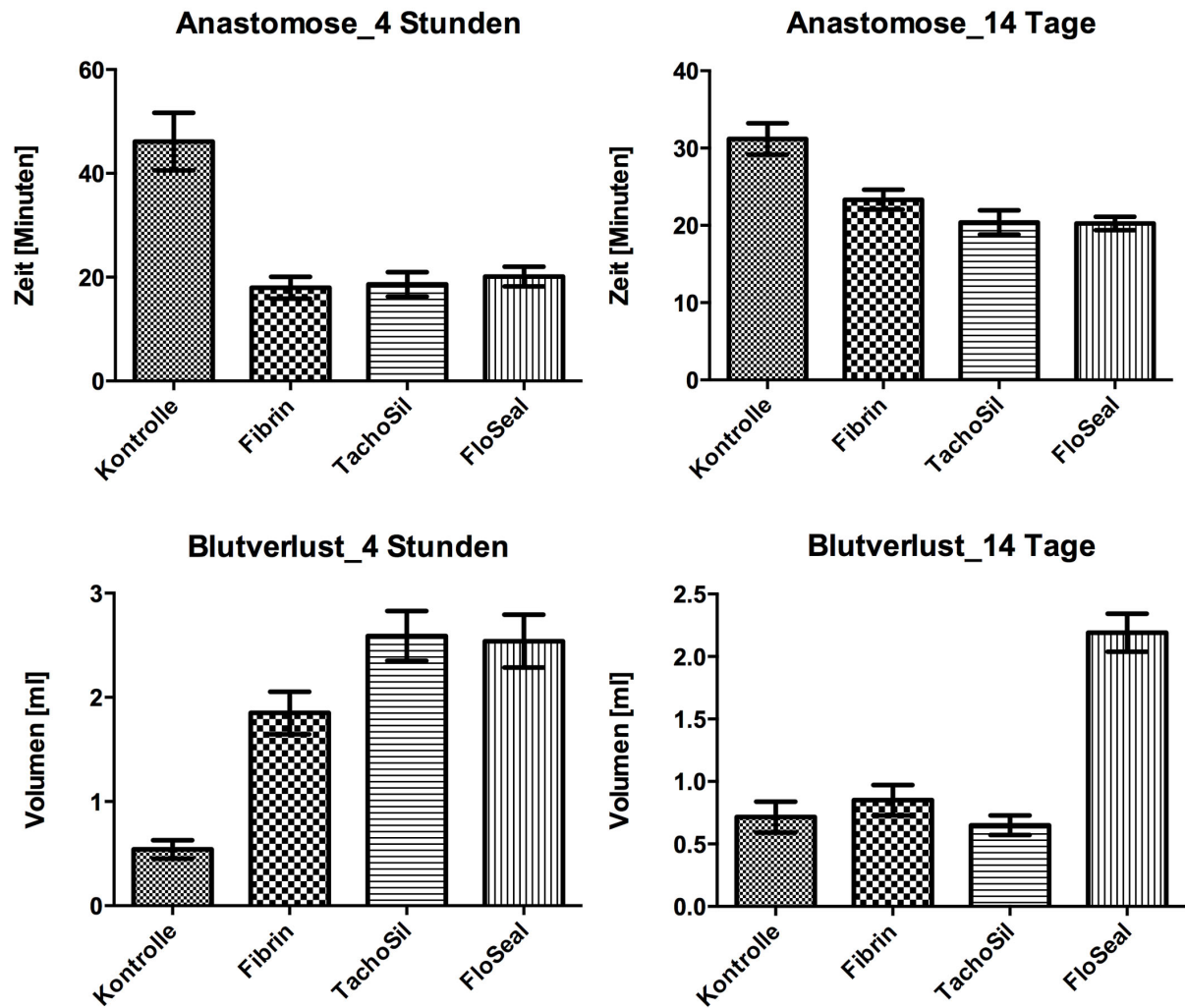


Abbildung 3-4. Ergebnisübersicht der Nebenzielgrößen Anastomosenzzeit und Blutverlust der Gruppen I und II (angegeben in „column bar graphs“ mit Mittelwert und Standardabweichung).

4 Diskussion

Es besteht ein aktueller Trend mikrovaskuläre Anastomosen möglichst atraumatisch bzw. nahtlos durchzuführen. In diesem Zusammenhang wurde in den letzten Jahrzehnten vermehrt der Einsatz von sog. Gewebeklebern und/oder Hämostatika zur Applikation bei Gefäßanastomosen tierexperimentell und klinisch untersucht. Die Verwendung von Gewebeklebern und/oder Hämostatika, vornehmlich Fibrinkleber, konnte die benötigte Anzahl der Nähte auf bis zu 50% reduzieren und somit die benötigte Zeit pro Anastomose signifikant verkürzen [Han et al., 1998; Cho et al., 2007]. Den meisten Studien gemeinsam ist jedoch die Vernachlässigung der histologischen Untersuchung zum Ausschluss von Gewebereaktionen im Sinne einer Fremdkörperreaktion und andererseits der Untersuchung thrombembolischer Ereignisse, obwohl der Wirkmechanismus einer Vielzahl entsprechender Produkte auf einen initialen Blutkontakt angewiesen ist [Han et al., 1998; Sacak et al., 2014].

Ziel dieser vorliegenden Arbeit war es, drei gängige Gewebekleber/Hämostatika (Tissucol[®], TachoSil[®] und FloSeal[®]) in einem sensitiven Tiermodell mit speziellem Augenmerk auf die Inzidenz von Thrombembolien kritisch zu untersuchen und die Auswertung histologischer Veränderungen nach erfolgter Anastomosierung durchzuführen.

4.1 Thrombembolievolumen und Gefäßdurchgängigkeit

Der Entstehung einer Thrombose steht ein Gleichgewicht pro- und antikoagulatorischer Mechanismen entgegen. Kommt es zu einer Verletzung des Gleichgewichtes bzw. der Virchow'schen Trias, kann es vermehrt zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems mit konsekutivem Gefäßverschluss kommen. Vaskuläre Eingriffe, sei es chirurgisch oder

- Diskussion -

endovaskulär, bergen immer die Gefahr der Endothelzellverletzung und somit der Aktivierung der Gerinnungskaskade. Darüber hinaus können auch Alterationen des Blutflusses, im Sinne von Turbulenzen z.B. an Bifurkationen, Endothelzellschäden setzen und über molekulare Mechanismen eine Veränderung der Zelldifferenzierung bedingen sowie eine prokoagulative Situation begünstigen [Gimbrone et al., 2000; Massberg et al., 2002; Chiu et Chien, 2011]. Aus diesem Grund wurde bereits 1975 von Hayhurst et al. ein möglichst atraumatisches Handling im Rahmen von mikrochirurgischen Eingriffen proklamiert [Hayhurst et O'Brien, 1975].

Die korrekte Adaptation der zu anastomosierenden Gefäßwände sowie der vorsichtige Umgang mit dem Gewebe sind die Grundvoraussetzung für eine erfolgreiche Gefäßnaht. Gelangen extravaskuläre Gewebekomponenten wie z.B. Teile der Adventitia in das Gefäßlumen, wird die Gerinnungskaskade aktiviert und die Bildung von Thrombosen gefolgt von Thrombembolien begünstigt [Krapohl et al., 2003]. Des Weiteren haben Diskrepanzen der Gefäßdurchmesser ebenfalls eine negative Auswirkung auf die Durchgängigkeit von mikrovaskulären Anastomosen, sofern diese nicht mit adäquaten Techniken ausgeglichen werden [Ozbek et al., 1994; Boeckx et al., 2002]. Thrombembolien nach vaskulären Eingriffen können fatale Folgen für das distale Endstromgebiet haben und sind häufig mit weiteren Komplikationen sowie mit einem möglichen Gewebeuntergang durch Störung der Mikrozirkulation verbunden [Barker et al., 1992].

Das erfasste Thrombembolievolumen in unserer Studie war in allen Versuchsgruppen der Gruppe I signifikant erhöht gegenüber der konventionellen Naht und mit einer reduzierten Durchgängigkeit der distalen Filteranastomose assoziiert (Naht/Tissucol[®] $p = 0,0233$; Naht/TachoSil[®] $p = 0,003$ und Naht/FloSeal[®] $p = 0,0115$; **Tab. 3-2**). Nach einem Beobachtungsintervall von 14 Tagen (Gruppe II) blieb das Thrombembolievolumen der Versuchsgruppen TachoSil[®] und FloSeal[®] signifikant erhöht ($p = 0,0172$ und $p = 0,0349$),

- Diskussion -

wohingegen Tissucol® nicht mit einem erhöhten Vorkommen an thrombembolischen Material im Filter verbunden war ($p = 0,0962$; **Tab. 3-2**).

Dieses Ergebnis zeigt, dass die Verwendung von Gewebeklebern/Hämostatika allgemein mit einer erhöhten Gefahr des Gefäßverschluss bzw. einer distalen Embolisierung in Zusammenhang gebracht werden muss. Das von uns verwendete Tiermodell hat sich in Voruntersuchungen als ein hoch sensitives Modell erweisen, bei dem es durch kleinste Fehler bzw. Alteration im Umgang mit dem Gewebe zu einem Verschluss des Filters kommt [Ritschl et al., 2014]. Hierdurch erklärt sich auch die auf nur 90 % reduzierte Durchgängigkeit bei der Nahtgruppe. Das Thrombembolievolumen unterschied sich im Vergleich der Gewebekleber/Hämostatika untereinander nicht (**Tab. 3-2**). Unter den Gewebeklebern/Hämostatika ist die Gruppe der Fibrinkleber das meist untersuchte und auch klinisch eingesetzte Produkt. Unter der Kenntnis, dass lediglich die Anwesenheit von Thrombin zu einer signifikant erhöhten Anlagerung von Thrombozyten an die Intima führt und dass die Thrombemboliegefahr antiproportional zur Thrombinkonzentration ist, wurde die Zusammensetzung des Klebers in den letzten Jahrzehnten optimiert [Dascombe et al., 1997; Marek et al., 1998; Drake et al., 2000].

In verschiedenen Studien konnte die erfolgreiche Verwendung des Klebers im Bereich vaskulärer Eingriffe nachgewiesen werden [Cho et al., 2009], entgegen dem Wissen über die thrombembolische Gefahr. So haben Bschorer et al. zeigen können, dass die Verwendung von Fibrinklebern zu einer signifikant erhöhten Thrombozytenanlagerung an die Gefäßwand führte [Bschorer et al., 1993]. Han et al. berichteten über reduzierte Durchgängigkeitsraten (initial 85% Fibrinkleber vs. 100% Naht) unter der Verwendung von Fibrinklebern (Beriplast-R®) [Han et al., 1998]. Folgen waren Untersuchungen zu verschiedenen Nahttechniken, um diese Gefahr mit entsprechenden fatalen Folgen zu umgehen. Bowen et al. benutzten eine modifizierte End-zu-End Technik, die sog. „sleeve technique“, mit der unter der Verwendung

- Diskussion -

von Fibrinklebern eine Reduktion der benötigten Nähte sowie Reduktion potentieller Thrombembolien erreicht werden konnte [Lauritzen, 1978; Bowen et al., 1996]. Eine weitere Modifikation der konventionellen End-zu-End- Technik ist die sog. „venous cuff technique“, bei der ein venöser Mantel um eine Anastomose angelegt und mittels Fibrinkleber befestigt wird [Sacak et al., 2015]. Diese beschriebenen Techniken konnten zwar eine Applikation des Klebers sicherer machen, bedürfen aber auf der anderen Seite eine weitere Manipulation der Gefäße, um überhaupt die Applikation zu ermöglichen.

TachoSil® ist ein potentes Hämostatikum mit einer evident nachgewiesenen Wirksamkeit. Erstmalig wurde es in dieser Studie für vaskuläre Anastomosen eingesetzt. Vom Aufbau und von der Struktur her wäre es ein optimales Produkt, um die Anastomosierung weiter zu vereinfachen. Es hat die Form eines Patches und konnte dicht um das Gefäß gewickelt bzw. gewrappt werden. Durch die aktive gelbe Seite, die auf dem Gefäß zum Liegen kommt, würde es neben der Hämostase ebenfalls zu einer Adhäsion an das Gefäß kommen. Erstaunlicherweise konnten in der histologischen Untersuchungen mehrmals Partikel von dem Patch nachgewiesen werden, was darauf hinweist, dass sich die Bestandteile auch von diesem Patch herauslösen lassen. Allgemein war TachoSil® ebenfalls mit einer signifikant erhöhten Thrombembolierate/-volumen verbunden. Dregelid et al. verwendeten TachoSil® in einem Vena cava Modell im Schwein. Sie haben einen 1 x 1,5 cm großen Defekt in die Gefäßwand gesetzt und dieses lediglich mit einer Kombination aus peritonealem und TachoSil® Patch versorgt [Dregelid et Pedersen, 2011]. Das peritoneale Patch lag zwischen Gefäß und dem TachoSil® Patch, um eine intraluminale Lage des TachoSil® Patches zu verhindern. Dadurch konnte eine gute Hämostase erreicht werden, jedoch wurden keine Untersuchungen hinsichtlich okkultur Thrombembolien durchgeführt. Um künftig Embolien, bedingt durch eine Gefäßanlagerung von TachoSil®, zu vermeiden, sollte unter Kenntnis unserer Ergebnisse und von Dregelid et al. ein direkter Kontakt zu Anastomosen vermieden werden.

- Diskussion -

FloSeal® ist ein weiteres hochpotentes Hämostatikum, das ebenfalls erstmals für vaskuläre Anastomosen verwendet wurde. In verschiedenen Studien und Metaanalysen konnte die Sicherheit und Wirksamkeit dieses Produktes gezeigt werden [Ujam et al., 2012; Wang et al., 2014]. Umstritten ist jedoch die Inzidenz potentieller Thrombosen bzw. Thrombembolien nach einer entsprechenden Verabreichung bei Blutungen [Safaei et al., 2014]. Kuhns et al. berichteten darüberhinaus über Embolien von FloSeal® Material in der Lunge in einem wirbelsäulenchirurgischen Schweinemodell, indem sie FloSeal® zur Blutstillung verwendeten [Kuhns et al., 2015]. Auf der Grundlage unserer Ergebnisse ist hinsichtlich einer distalen Embolisierung eine direkte Applikation im Bereich von Gefäßanastomosen als äußerst kritisch zu betrachten.

4.2 Vergleich beschriebener Embolie- und Blutungsmodelle

Um den o.g. Fragestellungen der Thrombemboliegefahr sowie Gewebereaktionen nach Applikation von Gewebekleber/Hämostatika suffizient begegnen zu können, haben wir uns für ein in vivo Modell in der Ratte entschieden. Die Durchblutung, das Kreislaufsystem sowie die Eigenschaften des Blutes - somit die Grundzüge der Physiologie - sind bei Ratten analog der des Menschen und daher gut vergleichbar. Die Rattengefäße sind für mikrochirurgische Eingriffe sehr gut zu nutzen und zugänglich. Zudem verfügen sie über eine entsprechende Größe und rheologische Ähnlichkeiten, die zum Versuchsvorhaben benötigt wurden. Sie sind in ihrem Aufbau zwar kleiner als beim Menschen, sonst aber in ihren Eigenschaften und der Textur identisch. Aus diesen genannten Gründen hat sich die Ratte zu einem standardisierten Modell in der experimentellen Gefäß- und Mikrochirurgie etablieren können [Zhang et al., 2001]. Zur Beantwortung der alleinigen Fragestellung der Thrombemboliegefahr hätte auch eine in vitro Untersuchung ausreichen können. Jedoch ist die Simulation des Blutflusses unter

- Diskussion -

Berücksichtigung der Flusseigenschaften, sowie die Initiierung der Gerinnungskaskade nur rudimentär durchführbar und die Ergebnisse wären lediglich richtungsweisend. Darüber hinaus spielen weitere Faktoren, wie z.B. der operative Situs mit der Umgebung des Gefäßes eine wichtige Rolle. Durch die Präparation werden zusätzlich Mediatoren und prokoagulative Substanzen in die Umgebung freigesetzt. So haben z.B. LeMaire et al. die reine Leakage durch Nahtlöcher in drei verschiedenen in vitro Modellen (Schweineaorta, Polyester Graft und expanded Polytetrafluoroethylen Graft (ePTFE)) nach einer Applikation eines Albumin/Glutaraldehyd Klebers (BioGlue®) untersucht [Chao et Torchiana, 2003; LeMaire et al., 2005]. In einer anschließenden Analyse zeigten sich in 10 % aller Anastomosen intraluminale Kleberbestandteile, wobei der Anteil in der Schweineaortagruppe signifikant höher war als in den beiden Graftgruppen. Eine Leakage der aufgetragenen Gewebekleber/Hämostatika ist daher im Prinzip bei allen Produkten, die lokal und nicht als Matrices aufgetragen werden, grundsätzlich möglich und sollte bei der Anwendung immer im Hinterkopf behalten werden.

Um aber die komplexen, physiologischen Reaktionen auf intraluminale Gewebekleber zu untersuchen bedarf es in vivo Modelle. Im Bereich der Thromboseforschung wurden verschiedene Modelle in der Ratte beschrieben. Viele Autoren induzierten eine prokoagulatorische Situation durch technisch unsaubere Nähte (z.B. durch das Invertieren der Adventitia), durch Verdrehung des Gefäßstiels oder im sog. „Crush and avulsion injury model“ und untersuchten anschließend z.B. die Wirksamkeit verschiedener Antikoagulanzen und Rheologika [Cooley et Hansen, 1985; Cooley et al., 1992; Rooks et al., 1993; Ozbek et al., 1994; Chung et al., 2007; Nasir et al., 2008]. Die meisten dieser Studien legten jedoch das Hauptaugenmerk lediglich auf die lokalen Veränderungen und untersuchten nicht die distalen Thrombembolien, die mit solchen Techniken assoziiert sein können [Kersh et al., 1989]. Diese Modelle waren für unsere Fragestellungen nicht geeignet, da diese bereits eine

- Diskussion -

prokoagulatorische Situation induzieren und zum anderen weder eine quantitative noch eine sensitive Analyse des Thrombembolievolumens erlauben.

Qualitativ können Durchblutungsalterationen sowie Folgen von Embolien z.B. in verschiedenen Lappenmodellen untersucht werden. Des Weiteren ist zu berücksichtigen, dass auch bei durchgängiger Anastomose Mikroembolien in das distale Flussbett abgehen können und somit zu einer disseminierten und zeitlich versetzten Durchblutungsstörung des Gewebetransplantates führen können [Barker et al., 1993]. Somit wurde postuliert, dass ein Transplantatversagen kein „Alles-oder-Nichts-Phänomen“ sei [Weinzweig et Gonzalez, 1995].

Hierzu haben Acland et al. erstmalig die Auswirkung von distalen Embolien auf die Mikrozirkulation in einem speziell entwickelten Cremaster-Modell analysiert [Acland et al., 1989]. Das Cremaster-Modell wurde ursprünglich beschrieben, um in vivo Durchblutungsuntersuchungen mittels intravitaler Mikroskopie durchführen zu können, die aufgrund der hohen Transparenz des Gewebes möglich ist [Grant, 1964]. Acland et al. sowie weitere Autoren haben das Modell soweit modifiziert, dass sie den Muskel vorsichtig herauspräpariert haben, um somit ein gestieltes Transplantat (sog. „island flap“) zu generieren [Anderson et al., 1988]. Durch Anastomosierung der A. iliaca externa konnte nun das Vorkommen/Auftreten von Embolien bedingt durch verschiedene Nahttechniken mittels intravitaler Mikroskopie im distalen Flussbett untersucht werden. Es ist eine sensitive Methode, jedoch ist sie mit einem größeren apparativen Aufwand verbunden und nur bei Vorhandensein eines entsprechenden Mikroskops durchführbar.

Aufgrund der Vor- und Nachteile der zuvor beschriebenen Methoden haben wir uns für das Aorta-Filter Modell entschieden. Hierbei wird die Aorta abdominalis der Ratte infrarenal dargestellt, zirkumferent mobilisiert und an zwei Stellen eröffnet. In der distalen Anastomose, kurz proximal der Aortenbifurkation, erfolgt die Einnahrt eines Mikroporenfilters aus unbeschichtetem Polyurethan, das vermeindliche Thrombembolien auffangen soll. Proximal

- Diskussion -

der Filteranastomose kann die Versuchsanastomose durchgeführt werden [Ritschl et al., 2014]. Dieses Modell benötigt keine weiteren Apparaturen und ermöglicht zugleich eine qualitative wie auch quantitative Analyse des Embolievolumens sowie histologische Untersuchungen. Voruntersuchungen konnten zeigen, dass das Modell äußerst sensitiv ist und dass der eingebrachte Polyurethanfilter lediglich eine lokalisierte Entzündungsreaktion unter Beteiligung der Media und Adventitia verursacht [Ritschl et al., 2014].

Des Weiteren eignet sich das Modell auch sehr gut als Blutungs-/ Hämostasemodell. In verschiedenen Publikationen, in denen die hämostatische Wirksamkeit der unterschiedlichen Gewebeklebern/Hämostatika untersucht wurden, wurden neben der Carotis communis auch die Aorta abdominalis oder die begleitenden Venen (Vena cava inferior bzw. Vena jugularis interna) mehrfach verwendet [Kheirabadi et al., 2001; Valentine et al., 2011; Ardakani et al., 2013].

4.3 Nebenzielgrößen: Blutverlust und Zeit pro Anastomose

Blutverlust im Rahmen chirurgischer Eingriffe kann, sofern die Kompensationsmechanismen wie Vasokonstriktion, Ausschüttung von vasoaktiven Transmittern wie Adrenalin und Steigerung der Herzfrequenz nicht mehr kreislaufstabilisierend sind, zu einem Schock bis hin zum Exitus führen. Aus diesem Grund sind Mechanismen und Produkte, die eine prompte und schnelle Kontrolle einer vermeidlich größeren Blutung, die mittels konventioneller Techniken wie Kompression und Umstechung nicht mehr beherrschbar ist, ermöglichen, besonders in chirurgischen Fachdisziplinen gefragt.

Einer der meist zitierten Gründe für die Verwendung von Gewebekleber/Hämostatika ist eine erhoffte und in vielen Studien nachgewiesene Reduktion des Blutverlustes. Hierbei sind verschiedene Modelle und Anwendungsbereiche beschrieben, die eine Anwendung sowohl in

- Diskussion -

der Gefäß- als auch Viszeralchirurgie (v.a. bei diffusen Parenchymblutungen) nachweisen. Die letztere Gruppe ist zunächst für unsere Untersuchungen im Wesentlichen nicht besonders relevant, da es zum einen bei entsprechenden Einsatz selten zu einem direkten Kontakt mit offenen, großlumigen Blutgefäßen kommt und es zum anderen qualitativ oft eine diffuse, primäre sickernde Blutung ist.

Der optimale Gewebekleber sollte biokompatibel, zeitlich reguliert/kontrolliert abbaubar, effizient, anwenderfreundlich, ubiquitär einsetzbar und günstig sein [Spotnitz et Burks, 2008].

Die meisten Gewebekleber beinhalten Gerinnungsfaktoren, die durch Aktivierung der finalen Schritte die Gerinnungskaskade initiieren bzw. imitieren. Hierbei stellen die Cyanoacrylate und neuere Produkte wie z.B. die hydrophobic light-activated adhesive (HLAA) eine Ausnahme dar, die entweder durch eine chemisch initiierte bzw. durch eine lichtaktivierte Polymerisation aktiviert werden und so zu einer Verklebung von Geweben führen [Ang et al., 2001; Lang et al., 2014].

Die Effektivität von Fibrinklebern konnte in vielen Studien nachgewiesen werden. Dieser Kleber gilt aufgrund seiner breiten Einsatzmöglichkeiten und guten Resultate als Goldstandard unter den Gewebeklebern/Hämostatika. Unsere Ergebnisse zeigten, dass der erfasste Blutverlust in allen Versuchsgruppen der Gruppe I hoch signifikant erhöht war (Naht/Tissucol[®], Naht/FloSeal[®] und Naht/TachoSil[®] je $p < 0,0001$), **Tab. 3-2**. Hier konnte sich interessanterweise keine der verwendeten Produkte durch eine Reduktion des Blutverlustes im Vergleich zur Naht beweisen. Die experimentellen Gefäßanastomosen erfolgten in unserem Versuchsaufbau mit nur sechs symmetrisch gesetzten Nähten. Die Wahl dieser Anzahl beruhte auf der berichteten Reduktion von Nähten auf bis zu 50 % und weniger [Isogai et al., 1992; Kheirabadi et al., 2001; Cho et Junior, 2007; Ardakani et al., 2013]. Diese Situation ist durchaus blutungsunterstützend und setzt eine gute Funktion der applizierten Produkte voraus. In der Pilotphase zu der hier durchgeführten Studie konnte eine weitere

- Diskussion -

Reduktion der Nähte nicht verantwortet werden, da die resultierenden Blutungen zu ausgeprägt waren. Dies ist jedoch im Gegensatz zu den propagierten Anwendungen der Gewebekleber in der Literatur.

In Gruppe II zeigte FloSeal® im Vergleich zu den anderen Gruppen einen hoch signifikant erhöhten Blutverlust (Naht/FloSeal®, Tissucol®/FloSeal® und TachoSil®/FloSeal® je $p < 0,0001$), **Tab. 3-2**. Die Effektivität von FloSeal® wurde unter anderem Kheirabadi et al. in einem Aortenmodell eines Hasen untersucht. Hierbei zeigte sich, dass der Blutverlust im Vergleich zu Fibrinkleber zwar erhöht, aber nicht signifikant [Kheirabadi et al., 2002]. In einer weiteren Untersuchung konnte FloSeal® in einem speziellen Blutungsmodell im Schaf zu keiner signifikanten Reduktion der Blutung führen und war den konventionellen Techniken, wie Deckung mittels Muskelpatch oder U-Clip Applikation, unterlegen [Valentine et al., 2011]. Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen und zu den zuletzt zitierten Erkenntnissen stehen die guten klinischen Anwendungen, v.a. bei unkontrollierbarer Epistaxis und bei der Sinuschirurgie [Cote et al., 2010; Beyea et Rotenberg, 2011]. Eine klinische Anwendung von FloSeal® im Rahmen von mikrochirurgischen Anastomosen ist bis dato nicht beschrieben worden. Partsafas et al. untersuchten in einer Tierstudie an der Ratte die Anwendungsmöglichkeit von Tisseel®, einem Fibrinkleber, und FloSeal® mit der Fragestellung, ob die Kleber auch zur Befestigung/Stabilisierung von fasciocutanen Gewebetransplantaten geeignet sind [Partsafas et al., 2004]. Die Applikation der untersuchten Kleber verursachte keine negativen Effekte und führte auch bei unterschiedlichen Ischämieintervallen des Transplantates zu einer zeitgemäßen Einheilung. In einer vergleichbaren Studie konnten Jorgensen et al. ebenfalls eine regelhafte Einheilung fasciocutaner Gewebetransplantate in der Ratte mit zeitgerechter Neovaskularisation vom umliegenden Gewebe nach Applikation von Tisseel® und FloSeal® im darunter liegenden Wundbett berichten [Jorgensen et al., 2003].

- Diskussion -

Es wäre denkbar, dass FloSeal[®] zwar sehr effektiv zur Behandlung von diffuseren Blutungen ist, nicht zuletzt aufgrund der Volumenzunahme von um 10-20 % nach Blutkontakt [Oz et al., 2003], jedoch nicht seine volle Wirkung bei direktem Gefäßkontakt zeigen kann. Somit sehen wir die klinische Einsatzmöglichkeit im Bereich der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie sowie der rekonstruktiven Chirurgie primär zur Blutungskontrolle von diffusen, auch arteriellen Blutungen, nicht aber im Rahmen gefäßchirurgischer Eingriffe.

Eine weitere interessante Erkenntnis waren die Ergebnisse bei TachoSil[®], wo aufgrund der Applikationsform dieses Produktes eine effektive Blutstillung hätte erwartet werden können. In Gruppe I führte die Applikation von TachoSil[®] zu einem signifikant erhöhten Blutverlust im Vergleich zur Anwendung von Tissucol[®] (Mittelwert 2,59 ml vs. 1,85 ml, $p = 0,0149$) **Tab. 3-1 und 3-2**. Die Vorteile, dass TachoSil[®] als Patch flächig um die Anastomose dicht angelegt werden kann und dass es grundsätzlich schwieriger wegzuspülen ist, kamen in unserem Versuchsaufbau nicht zum Tragen [Rickenbacher et al., 2009]. TachoSil[®] kann, wie bereits oben beschrieben, zu den Matrixhämostatika gezählt werden, da es selbst wie eine Art Patch mit einer aktiven und inaktiven Seite aufgebaut ist [Rickenbacher et al., 2009]. Kommt es bei viszeralchirurgischen Eingriffen zu diffusen Blutungen, kann TachoSil[®] effizient mittels Druck an die blutende Oberfläche gepresst werden und triggert durch dessen Aufbau eine Initiierung der Gerinnungskaskade sowie Adhäsion an das darunterliegende Gewebe [Navarro et Brooks, 2015]. In unserer Anwendung konnten wir das TachoSil[®] Patch passgenau um die Anastomose legen/wrappen. Hinsichtlich des Handlings hatte man bei der Verwendung von TachoSil[®] die beste Übersicht und Kontrolle. Auch TachoSil[®] wurde im Rahmen dieser Studie erstmalig für mikrochirurgische Anastomosen verwendet.

Eine direkte Bedeckung eines Gefäßdefektes der Vena cava inferior mittels TachoSil[®] und einer Einarbeitung eines peritonealen Patches zwischen TachoSil[®] und der geschädigten Gefäßwand führten zu einer erfolgreichen Defektdeckung in vier von fünf Schweinen

- Diskussion -

[Dregelid et Pedersen, 2011]. Eines der Schweine verstarb aufgrund einer persistierenden Blutung aus dem gesetzten Defekt. Auch unsere Ergebnisse hinsichtlich des Blutverlustes blieben jedoch für TachoSil® unter den Erwartungen. So spiegelt der Stand der Literatur auch unsere Ergebnisse wieder, dass TachoSil® gut für kleinere Blutungen, z.B. bei Leakagen aus Nahteinstichregionen, oder diffusen Blutungen geeignet zu sein scheint. Eine Applikation bei arteriellen Blutungen ist jedoch bisher nicht sinnvoll therapierbar [Schelling et al., 1987; Czerny et al., 2000; Pusateri et al., 2003; Izumi et al., 2007].

Eine weitere, häufig geäußerte Motivation für die Applikation von Gewebeklebern/Hämostatika im Rahmen gefäßchirurgischer Prozeduren ist die Zeitersparnis. So konnte in mehreren Untersuchungen nachgewiesen werden, dass die Verwendung von Fibrinklebern im Rahmen von mikrochirurgischen Anastomosen zu einer signifikant schnelleren Anastomosierung führte [Cho et Junior, 2007; Cho et al., 2009; Ardakani et al., 2013]. Eine Reduktion der Zeit pro Anastomose führt summa summarum zu einer verkürzten Ischämiezeit von z.B. amputierten Extremitäten oder von freien mikrovaskulären Transplantaten, die im Gegensatz zu Amputaten artifiziell und kontrolliert einer sog. warmen Ischämiezeit nach Durchtrennung des Gefäßstiels ausgesetzt werden [Mayer et al., 1993]. Hierbei weisen die verschiedenen Gewebearten (Knochen, Muskel, Nerven, Darm usw.) unterschiedliche kritische Ischämiezeiten auf [Olding et Jeng, 1994]. 1993 führten beispielsweise Wolff et Stiller NMR-Spektroskopien (Kernspinresonanz-Spektroskopie) durch und untersuchten den ATP Gehalt ischämischer Muskeltransplantate. Hier konnten sie zeigen, dass der Energiehaushalt der Muskeln nach drei Stunden Ischämie voll wiederhergestellt werden konnte. Vier Stunden Ischämie führten zu einer verzögerten Wiederherstellung und eine Ischämiedauer von sechs Stunden führte zu nicht wiederherstellbaren Schädigungen des Muskelgewebes [Wolff et Stiller, 1993]. Darüber hinaus ist die kritische Ischämiezeit u.a. auch von der Temperatur und vom injizierten Perfusat eines z.B. amputierten Gewebestückes abhängig [Fowler et al., 1999]. So konnten

- Diskussion -

Eckert et Schnackerz beobachten, dass die kritische Ischämiezeit von skelettaler Muskulatur durch Absenken der umgebenden Temperatur von 34°C auf 26°C von nur 2,25 Stunden auf 5 Stunden signifikant verlängert werden konnte [Eckert et Schnackerz, 1991].

Somit spielt Zeit zwar eine wichtige Rolle im Bereich der Transplantation von Geweben/Organen, sie wird jedoch durch weitere Faktoren darüber hinaus wesentlich beeinflusst. Im Bereich der elektiven rekonstruktiven Chirurgie mittels freier Gewebetransplantate ist ein ischämisches Zeitintervall von ca. vier Stunden i.d.R. sehr gut einzuhalten. Die Verwendung der Gewebekleber/Hämostatika führte in allen Versuchsgruppen zu einer signifikanten Reduktion der benötigten Zeit pro Anastomose, jedoch ist Zeit nicht der einzige relevante Faktor, den es im Rahmen der rekonstruktiven Chirurgie zu berücksichtigen gilt [Mücke et Wolff, 2009].

4.4 Histologische Veränderungen

Die Heilung der Gefäßwand stellt einen weiteren wesentlichen Teil nach erfolgter Anastomosierung dar. In den 1970-er und Anfang der 1980-er erfolgten mehrere Untersuchungen, die entsprechende Heilungsvorgänge detailliert und teils unter Verwendung von Elektronmikroskopie beschrieben haben [Baxter et al., 1972; Acland et Trachtenberg, 1977; Nightingale et al., 1980; Morecraft et al., 1985]. Teilt man das Gefäß entsprechend seines Aufbaus in Intima, Media und Adventitia auf, so finden in den jeweiligen Gefäßwandschichten typische Veränderungen in relativ klarem Schema statt.

Ein häufiges Phänomen ist das initiale Fehlen von Endothelzellen in den Präparaten [Isogai et al., 1988]. Auch in unseren Präparaten der vier Versuchsgruppen wurden keine Endothelzellen nach vier Stunden Beobachtungszeit (Gruppe I) gefunden. Laut Literatur fängt eine Re-Endothelialisierung nach ca. zwei bis drei Tagen vom Randbereich her beginnend an

- Diskussion -

und kann bis zu insgesamt vier Wochen andauern [Baxter et al., 1972; Acland et Trachtenberg, 1977; Lidman et Daniel, 1981]. Nach Bschorer et al. führte die Applikation eines Fibrinklebers zu einem verspäteten Beginn der Re-Endothelialisierung im Vergleich zur Nahtgruppe [Bschorer et al., 1993]. Einige Endothelzellen können jedoch bereits früh nach Revaskularisierung aus im Blut zirkulierenden Vorläuferzellen beschleunigt zu einer Re- Endothelialisierung führen [Mücke et al., 2008].

Dass die mikrochirurgische Anastomose gefäßtraumatisch ist und Folgen v.a. an den Endothelzellen sowie in der Mediaschicht, i.S. von Medianekrosen, hinterlässt, wurde bereits in der Literatur berichtet und durch die hier dargelegten Ergebnisse bestätigt. So konnten alle drei verwendeten Gewebekleber/Hämostatika zu einer signifikanten Reduktion einer sonst regelmäßig stattfindenden Medianekrose (NM) beitragen (Naht/Tissucol® $p = 0,0015$, Naht/TachoSil® $p = 0,0018$ und Naht/FloSeal® $p = 0,0153$), **Tab. 3-3**. Han et al. berichteten über eine geringere Schädigung der inneren Gefäßwandschichten sowie einer geringeren inflammatorischen Reaktion unter der Verwendung von Fibrinkleber bei vaskulären Anastomosen. Des Weiteren fanden sie eine komplette Re-Endothelialisierung nach 14 Tagen [Han et al., 1998].

Eine vorhandene Medianekrose heilt auch nicht aus, sondern bleibt bestehen und wird durch eine lokalisierte Intimahyperplasie und teilweise durch Einwanderung von Fibrozyten in die Mediaschicht kompensiert [Lidman et Daniel, 1981; Chow, 1983; Bschorer et al., 1993; Ritschl et al., 2014]. Im Vergleich der Gewebekleber/Hämostatika untereinander gab es keinen Unterschied hinsichtlich der Inzidenz der Medianekrose (Tissucol®/TachoSil® $p = 0,6733$, Tissucol®/FloSeal® $p = 0,7216$ und TachoSil®/FloSeal® $p = 0,5371$), **Tab. 3-3**. Ein weiterer Indikator für die traumatische Natur einer Gefäßnaht ist die Beschädigung/Irritation der Lamina Elastica Interna (IEL). Im Vergleich zur Naht konnten sowohl Tissucol® in Gruppe I und FloSeal® in Gruppe II jeweils die Inzidenz der Irritation signifikant reduzieren ($p = 0,0093$ und $p = 0,0275$ respektive), **Tab. 3-3**. Vergleichbare

- Diskussion -

Ergebnisse hinsichtlich einer Reduktion der Medianekrose konnten Cho et Junior in ihren Untersuchungen an Hals- und Femoralgefäßen der Ratte unter der Verwendung von Fibrinklebern beobachten [Cho et Junior, 2007]. In Zusammenschau der Ergebnisse für die IIEL und NM unterstreichen sie die theoretische Vorstellung, dass es durch eine Nahtreduktion zu einer Reduktion des traumatisierenden Charakters der Gefäßnaht kommt [Hayhurst et O'Brien, 1975].

Die Gewebekleber/Hämostatika stellen jedoch auf der anderen Seite auch ein Fremdkörper dar, der optimalerweise abbaubar ist, auf den der Körper aber dennoch reagieren kann. So konnte man in den Versuchsgruppen der Gruppe II von Tissucol® und TachoSil® jeweils eine vermehrte Infiltration der Media durch Fibrozyten (MFI) im Vergleich zur Nahtgruppe beobachten ($p = 0,0078$ und $p = 0,0274$ respektive), **Tab. 3-3**. FloSeal® war mit keiner vermehrten MFI assoziiert. Des Weiteren führten alle Gewebekleber/Hämostatika zu einer signifikant erhöhten Neovaskularisation und Lymphangiogenese der Adventitia (je $p < 0,0489$) mit einer zusätzlich assoziierten Hyperzellularität in der Tissucol® Gruppe ($p = 0,0153$). Dieses Erscheinungsbild ist als Ausdruck einer lokalisiert ablaufenden Fremdkörperreaktion zu deuten.

Die Datenlage für histologische Veränderungen ist bei den Fibrinklebern deutlich besser als bei den anderen beiden verwendeten Klebern. So berichteten bereits Bowen et al. über eine lokalisierte Entzündungsreaktion v.a. im Bereich der Adventitia unter der Verwendung eines Fibrinklebers (Tisseel®) und Anwendung der sog. „sleeve technique“, ohne auf die inneren Gefäßwandabschnitte überzugreifen [Bowen et al., 1996]. Han et al. konnten im Gegensatz zu unseren Ergebnissen eine Reduktion der Fremdkörperreaktion durch die Anwendung vom Fibrinkleber (Berioplast-R®) feststellen.

Bei TachoSil® ist es bekannt, dass die Degradation des Produktes via Fremdkörperreaktion mit Granulationsgewebe abläuft [Rickenbacher et al., 2009; Pohle et al., 2011]. Die Heilung

- Diskussion -

ist dabei unabhängig von Faktor XIII, da es in TachoSil[®] nicht vorhanden ist [Pohle et al., 2011]. In einem arteriellen Blutungsmodell der Arteria hypogastrica führte die Applikation von TachoComb[®], dem Vorgänger von TachoSil[®], zu einer effektiven Blutstillung [Schelling et al., 1987]. Die histologischen Nachuntersuchungen zeigten eine gute Degradation des Produktes innerhalb von 14-31 Tagen mit einer stetigen Abnahme der Fremdkörperreaktion. Diese Ergebnisse konnten von Dregelid et Pederson unterstützt werden, die nach 28 Tagen einen fast komplett integrierten und abgebauten TachoSil[®] Patch in der Vena cava inferior eines Schweines vorfanden [Dregelid et Pedersen, 2011]. In einer weiteren Untersuchung von Erb et al. wurden perivaskulär nach Unterstützung einer koronaren Bypassoperation am Schwein keine Bestandteile von TachoSil[®] nach einem Beobachtungsintervall von drei Monaten nachgewiesen [Erb et al., 2009].

4.5 Ausblick

Nach Spotnitz et Burks sollte der optimale Gewebekleber wie bereits mehrfach betont biokompatibel, zeitlich reguliert/kontrolliert abbaubar, effizient, anwenderfreundlich, ubiquitär einsetzbar und günstig sein [Spotnitz et Burks, 2008]. Darüber hinaus sollten dieser eine gewisse Stabilität aufbringen und auch im feuchten Milieu, beispielsweise unter Blutkontakt, aktiv bzw. aktivierbar sein. Die aktuellen Produkte auf dem Markt erfüllen eine Vielzahl der geforderten Kriterien, haben jedoch alle unterschiedliche Vor- und Nachteile, die einen ubiquitären Einsatz derzeit nicht ermöglichen.

Viele der gängigen Gewebekleber beinhalten Gerinnungsfaktoren, die durch Aktivierung der finalen Schritte die Gerinnungskaskade initiieren bzw. imitieren. Die nicht zu vernachlässigenden Risiken wie Thrombembolien und Blutungen von gängigen Produkten haben wir in dieser Arbeit untersucht.

Um eine Unabhängigkeit von Blutkontakt und –produkten zu erlangen, werden in jüngster Zeit weitere Methoden zur Aktivierung von Gewebeklebern untersucht. Ein Lösungsansatz sind photochemische Gewebekleber, die durch eine spezielle Lichtquelle, z.B. einem Nd:YAG Laser mit einer Wellenlänge von 532 nm, aktiviert werden können [O'Neill et al., 2007]. Ein weiteres Produkt stellt das hydrophobic light-activated adhesive (HLAA) dar, welches durch UV-Licht aktiviert wird und so zu einer Verklebung von Geweben führt [Lang et al., 2014].

Diese neuen Produkte werden im chirurgischen Feld noch nicht routinemäßig eingesetzt, könnten aber durch entsprechende Verbesserung der Haftfestigkeit und schnellere Aktivierung mittels einer Lichtquelle die Risiken wie Thrombembolien und Blutungen wie erwünscht senken. Langzeitergebnisse zur Funktionsweise und Wirksamkeit dieser Produkte sind zu abzuwarten und müssen gegen die aktuell vorhandenen Gewebekleber/Hämostatika in sensitiven in vivo Modellen verglichen werden.

5 Zusammenfassung

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Thrombemboliegefahr unterschiedlicher Gewebekleber/Hämostatika (Tissucol[®], TachoSil[®] und FloSeal[®]) nach der Applikation im Rahmen mikrochirurgischer Anastomosen in einem in vivo Modell der Ratte zu evaluieren. Zudem sollten die Nebenzielgrößen wie histologische Veränderungen, Operationszeit und Blutverlust jeweils erfasst und zur Kontrollgruppe (Naht) verglichen werden.

Es wurden drei Versuchsgruppen sowie eine Kontrollgruppe (Naht) zu je 10 Ratten gebildet. Die durchgeführten mikrochirurgischen Anastomosen wurden nach einem postoperativen Beobachtungsintervall von vier Stunden (Gruppe I) oder 14 Tagen (Gruppe II) makro- und mikroskopisch durch einen verblindeten Untersucher strukturiert untersucht (n = 80).

Insgesamt wurden 80 Anastomosen evaluiert. Die Durchgängigkeitsraten waren 90% in der Kontrollgruppe (Naht), 35% in der Tissucol[®], 25% in der FloSeal[®] und 10% in der TachoSil[®] Gruppe. Die Komplikationen, bezogen auf die Anastomosendurchgängigkeit, waren in allen Versuchsgruppen signifikant erhöht. In allen Versuchsgruppen kam es nach 14 Tagen zu einer signifikanten perivaskulären Fremdkörperreaktion. Die benötigte Zeit für die Anastomose war in allen Versuchsgruppen signifikant geringer als in der Kontrollgruppe. Der erfasste Blutverlust war in allen Versuchsgruppen der Gruppe I hoch signifikant erhöht (Naht/Tissucol[®], Naht/FloSeal[®] und Naht/TachoSil[®] je $p < 0,0001$). In Gruppe II zeigte lediglich FloSeal[®] im Vergleich zu den anderen Gruppen einen hoch signifikant erhöhten Blutverlust (Naht/FloSeal[®], Tissucol[®]/FloSeal[®] und TachoSil[®]/FloSeal[®] je $p < 0,0001$).

Die Verwendung von Gewebekleber/Hämostatika ermöglicht eine schnellere Anastomosierung, ist jedoch mit einem signifikant erhöhtem thrombembolischen Risiko sowie perivaskulärer Fremdkörperreaktion assoziiert. Eine erwartete Reduktion des

- Zusammenfassung -

perioperativen Blutverlustes nach der Applikation der entsprechenden Produkte konnte in diesem experimentellen Modell nicht nachgewiesen werden.

Aus diesem Grund sollte die Verwendung entsprechender Produkte lediglich in speziellen Situationen nach abschätzen der Risiken erfolgen und vermag den Goldstandard der Nahtanastomosen derzeit nicht zu ersetzen.

Literaturverzeichnis

- 1 Acland RD, Anderson G, Siemionow M, McCabe S. 1989. Direct in vivo observations of embolic events in the microcirculation distal to a small-vessel anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 84: 280-288; discussion 289
- 2 Acland RD, Trachtenberg L. 1977. The histopathology of small arteries following experimental microvascular anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 60: 868-875
- 3 Agger P, Langhoff J, Smerup MH, Hasenkam JM. 2010. Comparison between TachoComb and TachoSil for surgical hemostasis in arterial bleeding: an animal experimental study. *J Trauma* 68: 838-842
- 4 Agus GB, Bono AV, Mira E, Olivero S, Peilowich A, Homdrum E, Benelli C. 1996. Hemostatic efficacy and safety of TachoComb in surgery. Ready to use and rapid hemostatic agent. *Int Surg* 81: 316-319
- 5 Aletsee C, Konopik V, Dazert S, Dieler R. 2003. [Surgery of anterior skull base fractures]. *Laryngorhinootologie* 82: 626-631
- 6 Anderson GL, Acland RD, Siemionow M, McCabe SJ. 1988. Vascular isolation of the rat cremaster muscle. *Microvasc Res* 36: 56-63
- 7 Andree C, Munder BI, Behrendt P, Hellmann S, Audretsch W, Voigt M, Reis C, Beckmann MW, Horch RE, Bach AD. 2008. Improved safety of autologous breast reconstruction surgery by stabilisation of microsurgical vessel anastomoses using fibrin sealant in 349 free DIEP or fascia-muscle-sparing (fms)-TRAM flaps: a two-centre study. *Breast* 17: 492-498
- 8 Andrews RK, Berndt MC. 2013. Bernard-Soulier syndrome: an update. *Semin Thromb Hemost* 39: 656-662

- Literaturverzeichnis -

- 9 Ang ES, Tan KC, Tan LH, Ng RT, Song IC. 2001. 2-octylcyanoacrylate-assisted microvascular anastomosis: comparison with a conventional suture technique in rat femoral arteries. *J Reconstr Microsurg* 17: 193-201
- 10 Ardakani MR, Hormozi AK, Ardakani JR, Davarpanahjazi AH, Moghadam AS. 2013. Introduction of a potent single-donor fibrin glue for vascular anastomosis: An animal study. *J Res Med Sci* 17: 461-465
- 11 Ayala C, Blackwell KE. 1999. Protein C deficiency in microvascular head and neck reconstruction. *Laryngoscope* 109: 259-265
- 12 Bach RR, Monroe D. 2009. What is wrong with the allosteric disulfide bond hypothesis? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 29: 1997-1998
- 13 Barker JH, Acland RD, Anderson GL, Patel J. 1992. Microcirculatory disturbances following the passage of emboli in an experimental free-flap model. *Plast Reconstr Surg* 90: 95-102; discussion 103-104
- 14 Barker JH, Anderson GL, Gu JM, Wyllie F, Acland RD. 1993. Experimental study of the relationship between alterations in tissue perfusion and anastomotic patency. *Microsurgery* 14: 409-415
- 15 Baxter TJ, O'Brien BM, Henderson PN, Bennett RC. 1972. The histopathology of small vessels following microvascular repair. *Br J Surg* 59: 617-622
- 16 Bengtson BP, Schusterman MA, Baldwin BJ, Miller MJ, Reece GP, Kroll SS, Robb GL, Goepfert H. 1993. Influence of prior radiotherapy on the development of postoperative complications and success of free tissue transfers in head and neck cancer reconstruction. *Am J Surg* 166: 326-330
- 17 Bergel S. 1909. Über Wirkungen des Fibrins. *Dtsch Med Wochenschr* 35: 633
- 18 Beyea JA, Rotenberg BW. 2011. Comparison of purified plant polysaccharide (HemoStase) versus gelatin-thrombin matrix (FloSeal) in controlling bleeding during sinus surgery: a randomized controlled trial. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 120: 495-498

- Literaturverzeichnis -

- 19 Boeckx W, De Lorenzi F, van der Hulst R. 2002. Increasing the flow output by Y-shaped microvascular anastomosis. *J Reconstr Microsurg* 18: 381-386
- 20 Bold EL, Wanamaker JR, Zins JE, Lavertu P. 1996. The use of fibrin glue in the healing of skin flaps. *Am J Otolaryngol* 17: 27-30
- 21 Bowen CV, Leach DH, Crosby NL, Reynolds R. 1996. Microvascular anastomoses. A comparative study of fibrinogen adhesive and interrupted suture techniques. *Plast Reconstr Surg* 97: 792-800
- 22 Brenner B, Kuperman AA, Watzka M, Oldenburg J. 2009. Vitamin K-dependent coagulation factors deficiency. *Semin Thromb Hemost* 35: 439-446
- 23 Brinkhous KM, Read MS, Reddick RL, Griggs TR. 1981. Pathophysiology of platelet-aggregating von Willebrand factor: applications of the venom coagglutinin vWF assay. *Ann N Y Acad Sci* 370: 191-204
- 24 Brown JS, Devine JC, Magennis P, Sillifant P, Rogers SN, Vaughan ED. 2003. Factors that influence the outcome of salvage in free tissue transfer. *Br J Oral Maxillofac Surg* 41: 16-20
- 25 Bschorer R, Frerich B, Wolburg H, Gehrke G, Schwenzer N. 1993. Fibrin sealing and histometrical changes in conventionally sutured microvascular anastomoses. *J Craniomaxillofac Surg* 21: 192-198
- 26 Bui DT, Cordeiro PG, Hu QY, Disa JJ, Pusic A, Mehrara BJ. 2007. Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast Reconstr Surg* 119: 2092-2100
- 27 Carbon RT, Baar S, Kriegelstein S, Huemmer HP, Baar K, Simon SI. 2003. Evaluating the in vitro adhesive strength of biomaterials. Biosimulator for selective leak closure. *Biomaterials* 24: 1469-1475
- 28 Cervenka B, Bewley AF. 2015. Free flap monitoring: a review of the recent literature. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg* 23: 393-398

- Literaturverzeichnis -

- 29 Chao HH, Torchiana DF. 2003. BioGlue: albumin/glutaraldehyde sealant in cardiac surgery. *J Card Surg* 18: 500-503
- 30 Chen KT, Mardini S, Chuang DC, Lin CH, Cheng MH, Lin YT, Huang WC, Tsao CK, Wei FC. 2007. Timing of presentation of the first signs of vascular compromise dictates the salvage outcome of free flap transfers. *Plast Reconstr Surg* 120: 187-195
- 31 Chiu JJ, Chien S. 2011. Effects of disturbed flow on vascular endothelium: pathophysiological basis and clinical perspectives. *Physiol Rev* 91: 327-387
- 32 Cho AB, Junior RM. 2007. Effect of fibrin adhesive application in microvascular anastomosis: a comparative experimental study. *Plast Reconstr Surg* 119: 95-103
- 33 Cho AB, Junior RM. 2008. Application of fibrin glue in microvascular anastomoses: comparative analysis with the conventional suture technique using a free flap model. *Microsurgery* 28: 367-374
- 34 Cho AB, Wei TH, Torres LR, Junior RM, Rugiero GM, Aita MA. 2009. Fibrin glue application in microvascular anastomosis: comparative study of two free flaps series. *Microsurgery* 29: 24-28
- 35 Choong AM, Alagaratnam S, Floyd D, Al-Dubaisi M, Loh A. 2014. How to locate and treat lymph leaks using patent blue V dye and Floseal. *Ann Vasc Surg* 28: 495-497
- 36 Chow SP. 1983. The histopathology of microvascular anastomosis: a study of the incidence of various tissue changes. *Microsurgery* 4: 5-9
- 37 Chung TL, Pumplun DW, Holton LH, 3rd, Taylor JA, Rodriguez ED, Silverman RP. 2007. Prevention of microsurgical anastomotic thrombosis using aspirin, heparin, and the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *Plast Reconstr Surg* 120: 1281-1288
- 38 Cillo JE, Jr., Sinn D, Truelson JM. 2005. Management of middle meningeal and superficial temporal artery hemorrhage from total temporomandibular joint replacement surgery with a gelatin-based hemostatic agent. *J Craniofac Surg* 16: 309-312

- Literaturverzeichnis -

- 39 Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. 1996. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim* 30: 293-316
- 40 Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth EM, Bromage N, Bunyan J, Erhardt W, Flecknell P, Gregory N, Hackbarth H, Morton D, Warwick C. 1997. Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Lab Anim* 31: 1-32
- 41 Colombo GL, Bettoni D, Di Matteo S, Grumi C, Molon C, Spinelli D, Mauro G, Tarozzo A, Bruno GM. 2014. Economic and outcomes consequences of TachoSil(R): a systematic review. *Vasc Health Risk Manag* 10: 569-575
- 42 Cooley BC, Hansen FC. 1985. Microvascular repair following local crush and avulsion vascular injury. *Microsurgery* 6: 46-48
- 43 Cooley BC, Li X, Dzwierzynski W, Gruel SM, Hall RL, Wright RR, O'Brien EM, Fagan D, Hanel DP, Gould JS. 1992. The de-endothelialized rat carotid arterial graft: a versatile experimental model for the investigation of arterial thrombosis. *Thromb Res* 67: 1-14
- 44 Costa IM, Soares PJ, Afonso M, Ratado P, Lanaot JM, Falcao AC. 2000. Therapeutic monitoring of warfarin: the appropriate response marker. *J Pharm Pharmacol* 52: 1405-1410
- 45 Cote D, Barber B, Diamond C, Wright E. 2010. FloSeal hemostatic matrix in persistent epistaxis: prospective clinical trial. *J Otolaryngol Head Neck Surg* 39: 304-308
- 46 Cronkite E, Lozner E, Deaver J. 1944. Use of thrombin and fibrinogen in skin grafting. *JAMA* 124: 976
- 47 Currie LJ, Sharpe JR, Martin R. 2001. The use of fibrin glue in skin grafts and tissue-engineered skin replacements: a review. *Plast Reconstr Surg* 108: 1713-1726

- Literaturverzeichnis -

- 48 Czerny M, Verrel F, Weber H, Muller N, Kircheis L, Lang W, Steckmeier B, Trubel W. 2000. Collagen patch coated with fibrin glue components. Treatment of suture hole bleedings in vascular reconstruction. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 41: 553-557
- 49 Dadaci M, Oztekin C, Oztekin PS, Sargon MF, Ozgur F. 2015. Effect of a combined oral contraceptive on patency of arterial anastomosis in a female rat model. *Microsurgery* 35: 553-559
- 50 Dascombe WH, Dumanian G, Hong C, Heil BV, Labadie K, Hessel B, Blomback B, Johnson PC. 1997. Application of thrombin based fibrin glue and non-thrombin based batroxobin glue on intact human blood vessels: evidence for transmural thrombin activity. *Thromb Haemost* 78: 947-951
- 51 Davie EW, Ratnoff OD. 1964. Waterfall Sequence for Intrinsic Blood Clotting. *Science* 145: 1310-1312
- 52 Davison SP, Kessler CM, Al-Attar A. 2009. Microvascular free flap failure caused by unrecognized hypercoagulability. *Plast Reconstr Surg* 124: 490-495
- 53 De Stefano V, Martinelli I, Mannucci PM, Paciaroni K, Chiusolo P, Casorelli I, Rossi E, Leone G. 1999. The risk of recurrent deep venous thrombosis among heterozygous carriers of both factor V Leiden and the G20210A prothrombin mutation. *N Engl J Med* 341: 801-806
- 54 De Stefano V, Rossi E. 2013. Testing for inherited thrombophilia and consequences for antithrombotic prophylaxis in patients with venous thromboembolism and their relatives. A review of the Guidelines from Scientific Societies and Working Groups. *Thromb Haemost* 110: 697-705
- 55 Destro M, Puliafito CA. 1989. Indocyanine green videoangiography of choroidal neovascularization. *Ophthalmology* 96: 846-853

- Literaturverzeichnis -

- 56 Dickneite G, Herwald H, Korte W, Allanore Y, Denton CP, Matucci Cerinic M. 2015. Coagulation factor XIII: a multifunctional transglutaminase with clinical potential in a range of conditions. *Thromb Haemost* 113: 686-697
- 57 Disa JJ, Cordeiro PG, Hidalgo DA. 1999. Efficacy of conventional monitoring techniques in free tissue transfer: an 11-year experience in 750 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg* 104: 97-101
- 58 Doillon CJ, Dion YM. 2004. Comparison of a plasma-based composite biologic sealant with fibrin glue (Tisseel) for vascular anastomoses. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 14: 335-339
- 59 Donkerwolcke M, Burny F, Muster D. 1998. Tissues and bone adhesives--historical aspects. *Biomaterials* 19: 1461-1466
- 60 Douglas AS, Mair K. 1958. The Christmas factor deficiency in coumarin therapy. *Clin Sci (Lond)* 17: 445-455
- 61 Dowbak GM, Rohrich RJ, Robinson JB, Jr., Peden E. 1994. Effectiveness of a new non-thrombogenic bio-adhesive in microvascular anastomoses. *J Reconstr Microsurg* 10: 383-386
- 62 Drake DB, Faulkner BC, Amiss LR, Jr., Spotnitz WD, Morgan RF. 2000. Thrombogenic effects of a nonthrombin-based fibrin sealant compared with thrombin-based fibrin sealant on microvenous anastomoses in a rat model. *Ann Plast Surg* 45: 520-524
- 63 Dregelid EB, Pedersen G. 2011. Treatment of major vein injury with the hemostatic fleece TachoSil by interposing a peritoneal patch to avoid vein thrombosis: A feasibility study in pigs. *J Emerg Trauma Shock* 4: 77-81
- 64 Echave M, Oyaguez I, Casado MA. 2014. Use of Floseal(R), a human gelatine-thrombin matrix sealant, in surgery: a systematic review. *BMC Surg* 14: 111

- Literaturverzeichnis -

- 65 Eckert P, Schnackerz K. 1991. Ischemic tolerance of human skeletal muscle. *Ann Plast Surg* 26: 77-84
- 66 Ellegala DB, Maartens NF, Laws ER, Jr. 2002. Use of FloSeal hemostatic sealant in transsphenoidal pituitary surgery: technical note. *Neurosurgery* 51: 513-515; discussion 515-516
- 67 Erb MA, Claus T, Hartrumpf M, Bachmann S, Albes JM. 2009. The use of Tachosil surgical patch or fibrin glue in coronary artery surgery does not affect quality of anastomosis or provoke postoperative adhesions in pigs. *Eur J Cardiothorac Surg* 36: 703-707
- 68 Estevez B, Shen B, Du X. 2015. Targeting integrin and integrin signaling in treating thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35: 24-29
- 69 Fahmy HW, Moneim MS. 1988. The effect of prolonged blood stasis on a microarterial repair. *J Reconstr Microsurg* 4: 139-143
- 70 Farwell DG, Reilly DF, Weymuller EA, Jr., Greenberg DL, Staiger TO, Futran NA. 2002. Predictors of perioperative complications in head and neck patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 128: 505-511
- 71 Fearon JA, Cuadros CL, May JW, Jr. 1990. Flap failure after microvascular free-tissue transfer: the fate of a second attempt. *Plast Reconstr Surg* 86: 746-751
- 72 Fernandez EJ, Nadal RD, Gonzalez SM, Caffee HH. 1983. The effect of stasis on a microvascular anastomosis. *Microsurgery* 4: 176-177
- 73 Fischer JC, Parker PM, Shaw WW. 1983. Comparison of two laser Doppler flowmeters for the monitoring of dermal blood flow. *Microsurgery* 4: 164-170
- 74 Fischer L, Seiler CM, Broelsch CE, de Hemptinne B, Klempnauer J, Mischinger HJ, Gassel HJ, Rokkjaer M, Schauer R, Larsen PN, Tetens V, Buchler MW. 2011. Hemostatic efficacy of TachoSil in liver resection compared with argon beam

- Literaturverzeichnis -

- coagulator treatment: an open, randomized, prospective, multicenter, parallel-group trial. *Surgery* 149: 48-55
- 75 Flahiff C, Feldman D, Saltz R, Huang S. 1992. Mechanical properties of fibrin adhesives for blood vessel anastomosis. *J Biomed Mater Res* 26: 481-491
- 76 Fowler JD, Li X, Cooley BC. 1999. Brief ex vivo perfusion with heparinized and/or citrated whole blood enhances tolerance of free muscle flaps to prolonged ischemia. *Microsurgery* 19: 135-140
- 77 Frost-Arner L, Spotnitz WD, Rodeheaver GT, Drake DB. 2001. Comparison of the thrombogenicity of internationally available fibrin sealants in an established microsurgical model. *Plast Reconstr Surg* 108: 1655-1660
- 78 Furie B, Furie BC. 2008. Mechanisms of thrombus formation. *N Engl J Med* 359: 938-949
- 79 Gazzeri R, Galarza M, Alfier A. 2012. Safety biocompatibility of gelatin hemostatic matrix (FloSeal and Surgiflo) in neurosurgical procedures. *Surg Technol Int* 22: 49-54
- 80 Gentile S, Bajema BL, Baldini G, Lunazzi G, Groothuis GM, Tiribelli C, Meijer DK, Sottocasa GL. 1985. Measurement of the association of cholephylic organic anions with different binding proteins. *Biochem Pharmacol* 34: 2439-2444
- 81 Gimbrone MA, Jr., Topper JN, Nagel T, Anderson KR, Garcia-Cardena G. 2000. Endothelial dysfunction, hemodynamic forces, and atherogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 902: 230-239; discussion 239-240
- 82 Grant RT. 1964. Direct Observation of Skeletal Muscle Blood Vessels (Rat Cremaster). *J Physiol* 172: 123-137
- 83 Haas S. 2006. The use of a surgical patch coated with human coagulation factors in surgical routine: a multicenter postauthorization surveillance. *Clin Appl Thromb Hemost* 12: 445-450

- Literaturverzeichnis -

- 84 Han SK, Kim SW, Kim WK. 1998. Microvascular anastomosis with minimal suture and fibrin glue: experimental and clinical study. *Microsurgery* 18: 306-311
- 85 Hayhurst JW, O'Brien BM. 1975. An experimental study of microvascular technique, patency rates and related factors. *Br J Plast Surg* 28: 128-132
- 86 Hester TR, Jr., Shire JR, Nguyen DB, Gerut ZE, Chen AH, Diamond J, Desmond JC, Silvati-Fidell L, Abrams SZ, Rohrich RJ. 2013. Randomized, controlled, phase 3 study to evaluate the safety and efficacy of fibrin sealant VH S/D 4 s-apr (Artiss) to improve tissue adherence in subjects undergoing rhytidectomy. *Aesthet Surg J* 33: 487-496
- 87 Ho WK, Hankey GJ, Quinlan DJ, Eikelboom JW. 2006. Risk of recurrent venous thromboembolism in patients with common thrombophilia: a systematic review. *Arch Intern Med* 166: 729-736
- 88 Holm C, Dornseifer U, Sturtz G, Ninkovic M. 2010. Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg* 26: 311-316
- 89 Holm C, Mayr M, Hoftner E, Dornseifer U, Ninkovic M. 2009. Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study. *Microsurgery* 29: 509-514
- 90 Hölzle F, Loeffelbein DJ, Nolte D, Wolff K-D. 2006. Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry. *J Craniomaxillofac Surg* 34: 25-33
- 91 Hölzle F, Rau A, Loeffelbein DJ, Mucke T, Kesting MR, Wolff KD. 2010. Results of monitoring fasciocutaneous, myocutaneous, osteocutaneous and perforator flaps: 4-year experience with 166 cases. *Int J Oral Maxillofac Surg* 39: 21-28
- 92 Howard MA, Cordeiro PG, Disa J, Samson W, Gonen M, Schoelle RN, Mehrara B. 2005. Free tissue transfer in the elderly: incidence of perioperative complications

- Literaturverzeichnis -

- following microsurgical reconstruction of 197 septuagenarians and octogenarians. *Plast Reconstr Surg* 116: 1659-1668; discussion 1669-1671
- 93 Hutter G, von Felten S, Sailer MH, Schulz M, Mariani L. 2014. Risk factors for postoperative CSF leakage after elective craniotomy and the efficacy of fleece-bound tissue sealing against dural suturing alone: a randomized controlled trial. *J Neurosurg* 121: 735-744
- 94 Isogai N, Fukunishi K, Kamiishi H. 1992. Use of fibrin glue to minimize bleeding of microvascular repairs in hypertensive rats. *Microsurgery* 13: 321-324
- 95 Isogai N, Kamiishi H, Chichibu S. 1988. Re-endothelialization stages at the microvascular anastomosis. *Microsurgery* 9: 87-94
- 96 Izumi Y, Gika M, Shinya N, Miyabashira S, Imamura T, Nozaki C, Kawamura M, Kobayashi K. 2007. Hemostatic efficacy of a recombinant thrombin-coated polyglycolic acid sheet coupled with liquid fibrinogen, evaluated in a canine model of pulmonary arterial hemorrhage. *J Trauma* 63: 783-787; discussion 787
- 97 Jacobson JH SE. 1960. Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum* 11: 243-245
- 98 Jorgensen S, Bascom DA, Partsafas A, Wax MK. 2003. The effect of 2 sealants (FloSeal and Tisseel) on fasciocutaneous flap revascularization. *Arch Facial Plast Surg* 5: 399-402
- 99 Kaufmann JE, Oksche A, Wollheim CB, Gunther G, Rosenthal W, Vischer UM. 2000. Vasopressin-induced von Willebrand factor secretion from endothelial cells involves V2 receptors and cAMP. *J Clin Invest* 106: 107-116
- 100 Kempton SJ, Poore SO, Chen JT, Afifi AM. 2015. Free flap monitoring using an implantable anastomotic venous flow coupler: Analysis of 119 consecutive abdominal-based free flaps for breast reconstruction. *Microsurgery* 35: 337-344

- Literaturverzeichnis -

- 101 Kersh RA, Handren J, Hergueter C, May JW, Jr. 1989. Microvascular surgical experimental thrombosis model: rationale and design. *Plast Reconstr Surg* 83: 866-872; discussion 873-864
- 102 Kesting MR, Hölzle F, Wolff K-D, Wagenpfeil S, Hasler RJ, Wales CJ, Steinstraesser L, Rohleder NH. 2011. Use of microvascular flap technique in older adults with head and neck cancer: a persisting dilemma in reconstructive surgery? *J Am Geriatr Soc* 59: 398-405
- 103 Khan MK, Reda El Badawey M, Powell J, Idris M. 2015. The utility of FloSeal haemostatic agent in the management of epistaxis. *J Laryngol Otol* 129: 353-357
- 104 Kheirabadi BS, Field-Ridley A, Pearson R, MacPhee M, Drohan W, Tuthill D. 2002. Comparative study of the efficacy of the common topical hemostatic agents with fibrin sealant in a rabbit aortic anastomosis model. *J Surg Res* 106: 99-107
- 105 Kheirabadi BS, Pearson R, Rudnicka K, Somwaru L, MacPhee M, Drohan W, Tuthill D. 2001. Development of an animal model for assessment of the hemostatic efficacy of fibrin sealant in vascular surgery. *J Surg Res* 100: 84-92
- 106 Kletter G, Matras H, Dinges HP. 1978. [Partial gluing in extra-intracranial microvascular anastomoses (author's transl)]. *Wien Klin Wochenschr* 90: 415-419
- 107 Korsan-Bengtzen K. 1971. Routine tests as measures of the total intrinsic blood clotting potential. A comparison of whole blood clotting time (WBCT), recalcification time of citrated plasma (RTST), partial thromboplastin time (PTT), and activated partial thromboplastin time (APTT). *Scand J Haematol* 8: 359-368
- 108 Krapohl BD, Reichert B, Machens HG, Mailander P. 2003. Impact of poor microsurgical suture technique on tissue perfusion in a rat model. *Microsurgery* 23: 141-146

- Literaturverzeichnis -

- 109 Kroll SS, Schusterman MA, Reece GP, Miller MJ, Evans GR, Robb GL, Baldwin BJ. 1996. Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg* 98: 1230-1233
- 110 Kruse AL, Luebbers HT, Gratz KW, Obwegeser JA. 2010. Factors influencing survival of free-flap in reconstruction for cancer of the head and neck: a literature review. *Microsurgery* 30: 242-248
- 111 Kuderna H, Matras H. 1975. Die klinische Anwendung der Klebung von Nerven Anastomosen bei der Rekonstruktion verletzter peripherer Nerven. *Wien Klin Wochenschr* 87: 495
- 112 Kuhns CA, Cook CR, Dodam JR, Leach SB, Kuroki K, Jenkins TJ, Tallmage AM, Hoernschemeyer DG. 2015. Injectable gelatin used as hemostatic agent to stop pedicle bleeding in long deformity surgical procedures: does it embolize? *Spine (Phila Pa 1976)* 40: 218-223
- 113 Kulkarni AR, Mehrara BJ, Pusic AL, Cordeiro PG, Matros E, McCarthy CM, Disa JJ. 2015. Venous Thrombosis in Handsewn versus Coupled Venous Anastomoses in 857 Consecutive Breast Free Flaps. *J Reconstr Microsurg*:
- 114 Lang N, Pereira MJ, Lee Y, Friehs I, Vasilyev NV, Feins EN, Ablasser K, O'Cearbhaill ED, Xu C, Fabozzo A, Padera R, Wasserman S, Freudenthal F, Ferreira LS, Langer R, Karp JM, del Nido PJ. 2014. A blood-resistant surgical glue for minimally invasive repair of vessels and heart defects. *Sci Transl Med* 6: 218ra216
- 115 Lauritzen C. 1978. A new and easier way to anastomose microvessels. An experimental study in rats. *Scand J Plast Reconstr Surg* 12: 291-294
- 116 Lee KT, Mun GH. 2015. The efficacy of postoperative antithrombotics in free flap surgery: a systematic review and meta-analysis. *Plast Reconstr Surg* 135: 1124-1139
- 117 Lei X, Rehman A, Hou Y, Zhou H, Wang Y, Marshall AH, Liang C, Dai X, Li BX, Vanhoorelbeke K, Ni H. 2014. Anfibatide, a novel GPIIb complex antagonist, inhibits

- Literaturverzeichnis -

- platelet adhesion and thrombus formation in vitro and in vivo in murine models of thrombosis. *Thromb Haemost* 111: 279-289
- 118 LeMaire SA, Carter SA, Won T, Wang X, Conklin LD, Coselli JS. 2005. The threat of adhesive embolization: BioGlue leaks through needle holes in aortic tissue and prosthetic grafts. *Ann Thorac Surg* 80: 106-110; discussion 110-101
- 119 Lenting PJ, Christophe OD, Denis CV. 2015. von Willebrand factor biosynthesis, secretion, and clearance: connecting the far ends. *Blood* 125: 2019-2028
- 120 Li J, Dai K, Wang Z, Cao L, Bai X, Ruan C. 2015. Platelet functional alterations in a Bernard-Soulier syndrome patient with filamin A mutation. *J Hematol Oncol* 8: 79
- 121 Lidman D, Daniel RK. 1981. The normal healing process of microvascular anastomoses. *Scand J Plast Reconstr Surg* 15: 103-110
- 122 Lindsey WH, Masterson TM, Llaneras M, Spotnitz WD, Wanebo HJ, Morgan RF. 1988. Seroma prevention using fibrin glue during modified radical neck dissection in a rat model. *Am J Surg* 156: 310-313
- 123 Luhmann SJ, Sucato DJ, Bacharier L, Ellis A, Woerz C. 2013. Intraoperative anaphylaxis secondary to intraosseous gelatin administration. *J Pediatr Orthop* 33: e58-60
- 124 Macfarlane RG. 1964. An Enzyme Cascade in the Blood Clotting Mechanism, and Its Function as a Biochemical Amplifier. *Nature* 202: 498-499
- 125 Mackman N, Tilley RE, Key NS. 2007. Role of the extrinsic pathway of blood coagulation in hemostasis and thrombosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 27: 1687-1693
- 126 Maisano F, Kjaergard HK, Bauernschmitt R, Pavie A, Rabago G, Laskar M, Marstein JP, Falk V. 2009. TachoSil surgical patch versus conventional haemostatic fleece material for control of bleeding in cardiovascular surgery: a randomised controlled trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 36: 708-714

- Literaturverzeichnis -

- 127 Mannucci PM, Ruggeri ZM, Pareti FI, Capitanio A. 1977. 1-Deamino-8-d-arginine vasopressin: a new pharmacological approach to the management of haemophilia and von Willebrands' diseases. *Lancet* 1: 869-872
- 128 Marchac D, Sandor G. 1994. Face lifts and sprayed fibrin glue: an outcome analysis of 200 patients. *Br J Plast Surg* 47: 306-309
- 129 Marek CA, Amiss LR, Jr., Morgan RF, Spotnitz WD, Drake DB. 1998. Acute thrombogenic effects of fibrin sealant on microvascular anastomoses in a rat model. *Ann Plast Surg* 41: 415-419
- 130 Martis G, Miko I, Szendroi T, Kathy S, Kovacs J, Hajdu Z. 1997. Results with collagen fleece coated with fibrin glue (TachoComb). A macroscopical and histological experimental study. *Acta Chir Hung* 36: 221-222
- 131 Massberg S, Brand K, Gruner S, Page S, Muller E, Muller I, Bergmeier W, Richter T, Lorenz M, Konrad I, Nieswandt B, Gawaz M. 2002. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med* 196: 887-896
- 132 Mathiasen RA, Cruz RM. 2004. Prospective, randomized, controlled clinical trial of a novel matrix hemostatic sealant in children undergoing adenoidectomy. *Otolaryngol Head Neck Surg* 131: 601-605
- 133 Matras H, Dinges HP, Lassmann H, Mamoli B. 1972. [Suture-free interfascicular nerve transplantation in animal experiments]. *Wien Med Wochenschr* 122: 517-523
- 134 Matras H, Dinges HP, Mamoli B, Lassmann H. 1973. Non-sutured nerve transplantation (a report on animal experiments). *J Maxillofac Surg* 1: 37-40
- 135 Mayer B, von Baeyer H, Kaiser U. 1993. New dimensions for the vital storage of microsurgical free flaps: an experimental approach. *Otolaryngol Head Neck Surg* 109: 690-692
- 136 Metharom P, Berndt MC, Baker RI, Andrews RK. 2015. Current state and novel approaches of antiplatelet therapy. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 35: 1327-1338

- Literaturverzeichnis -

- 137 Meyer MR, Witt DM, Delate T, Johnson SG, Fang M, Go A, Clark NP. 2015. Thrombophilia testing patterns amongst patients with acute venous thromboembolism. *Thromb Res*:
- 138 Mitsuhashi H, Horiguchi Y, Saitoh J, Saitoh K, Fukuda H, Hirabayashi Y, Togashi H, Shimizu R. 1994. An anaphylactic reaction to topical fibrin glue. *Anesthesiology* 81: 1074-1077
- 139 Morecraft R, Blair WF, Chang L. 1985. Histopathology of microvenous repair. *Microsurgery* 6: 219-228
- 140 Mücke T, Hölzle F, Wolff K-D, Kesting M, Scholz M. 2008. Sealing maneuver for microvascular anastomoses in rats. *J Reconstr Microsurg* 24: 33-37
- 141 Mücke T, Rau A, Merezas A, Kanatas A, Mitchell DA, Wagenpfeil S, Wolff K-D, Steiner T. 2014a. Changes of perfusion of microvascular free flaps in the head and neck: a prospective clinical study. *Br J Oral Maxillofac Surg* 52: 810-815
- 142 Mücke T, Rau A, Merezas A, Loeffelbein DJ, Wagenpfeil S, Mitchell DA, Wolff K-D, Steiner T. 2014b. Identification of perioperative risk factor by laser-doppler spectroscopy after free flap perfusion in the head and neck: a prospective clinical study. *Microsurgery* 34: 345-351
- 143 Mücke T, Rau A, Weitz J, Ljubic A, Rohleder N, Wolff K-D, Mitchell DA, Kesting MR. 2012. Influence of irradiation and oncologic surgery on head and neck microsurgical reconstructions. *Oral Oncol* 48: 367-371
- 144 Mücke T, Wolff KD. 2009. Performing microvascular anastomosis with fibrin glue--faster, easier, and more reliable? *Microsurgery* 29: 80-81
- 145 Mücke T, Wolff KD, Wagenpfeil S, Hölzle F, Scholz M. 2010. Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg* 126: 1506-1514

- Literaturverzeichnis -

- 146 Mushi E, Kinshuck A, Svecova N, Schache A, Jones TM, Tandon S, Lancaster J. 2015. The use of Tisseel fibrin sealant in selective neck dissection--a retrospective study in a tertiary Head and Neck Surgery centre. *Clin Otolaryngol* 40: 93-97
- 147 Mustoe TA, Park E. 2014. Evidence-based medicine: Face lift. *Plast Reconstr Surg* 133: 1206-1213
- 148 Nasir S, Aydin MA, Altuntas S, Ozguner M. 2008. Thrombotic effect of purposeful back-wall stitch for end-to-side microarterial anastomosis in rats. *J Reconstr Microsurg* 24: 429-433
- 149 Nasser A, Fourman MS, Gersch RP, Phillips BT, Hsi HK, Khan SU, Gelfand MA, Dagum AB, Bui DT. 2015. Utilizing Indocyanine Green Dye Angiography to Detect Simulated Flap Venous Congestion in a Novel Experimental Rat Model. *J Reconstr Microsurg* 31: 590-596
- 150 Navarro A, Brooks A. 2015. Use of local pro-coagulant haemostatic agents for intracavity control of haemorrhage after trauma. *Eur J Trauma Emerg Surg* 41: 493-500
- 151 Neff AT. 2015. Current controversies in the diagnosis and management of von Willebrand disease. *Ther Adv Hematol* 6: 209-216
- 152 Nesheim ME, Taswell JB, Mann KG. 1979. The contribution of bovine Factor V and Factor Va to the activity of prothrombinase. *J Biol Chem* 254: 10952-10962
- 153 Nightingale G, Fogdestam I, O'Brien BM. 1980. Scanning electron microscope study of experimental microvascular anastomoses in the rabbit. *Br J Plast Surg* 33: 283-298
- 154 O'Neill AC, Winograd JM, Zeballos JL, Johnson TS, Randolph MA, Bujold KE, Kochevar IE, Redmond RW. 2007. Microvascular anastomosis using a photochemical tissue bonding technique. *Lasers Surg Med* 39: 716-722
- 155 Olding M, Jeng JC. 1994. Ischemic tolerance of canine jejunal flaps. *Plast Reconstr Surg* 94: 167-173

- Literaturverzeichnis -

- 156 Orfeo T, Brufatto N, Nesheim ME, Xu H, Butenas S, Mann KG. 2004. The factor V activation paradox. *J Biol Chem* 279: 19580-19591
- 157 Oswald AM, Joly LM, Gury C, Disdet M, Leduc V, Kanny G. 2003. Fatal intraoperative anaphylaxis related to aprotinin after local application of fibrin glue. *Anesthesiology* 99: 762-763
- 158 Ott P. 1998. Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding. *Pharmacol Toxicol* 83 Suppl 2: 1-48
- 159 Oz MC, Rondinone JF, Shargill NS. 2003. FloSeal Matrix: new generation topical hemostatic sealant. *J Card Surg* 18: 486-493
- 160 Ozbek MR, Deune EG, Cooley BC, Khouri RK. 1994. Experimental reproduction of free flap errors: a new model of thrombosis. *Ann Plast Surg* 32: 474-477
- 161 Padubidri AN, Browne E. 1996. A new method of applying fibrin glue at the microvascular anastomotic site: the "paintbrush" technique. *Microsurgery* 17: 428-430
- 162 Partsafas AW, Bascom DA, Jorgensen SA, Wax MK. 2004. Effects of Tisseel and FloSeal on primary ischemic time in a rat fasciocutaneous free flap model. *Laryngoscope* 114: 301-304
- 163 Pattani KM, Byrne P, Boahene K, Richmon J. 2010. What makes a good flap go bad? A critical analysis of the literature of intraoperative factors related to free flap failure. *Laryngoscope* 120: 717-723
- 164 Paydar KZ, Hansen SL, Chang DS, Hoffman WY, Leon P. 2010. Implantable venous Doppler monitoring in head and neck free flap reconstruction increases the salvage rate. *Plast Reconstr Surg* 125: 1129-1134
- 165 Pohle T, Becker JC, Luger A. 2011. Collagen matrix-bound clotting factors (CMBCF) promote healing-associated events independent of factor XIII in an in vitro model. *Wound Repair Regen* 19: 687-692

- Literaturverzeichnis -

- 166 Pohlenz P, Klatt J, Schmelzle R, Li L. 2013. The importance of in-hospital mortality for patients requiring free tissue transfer for head and neck oncology. *Br J Oral Maxillofac Surg* 51: 508-513
- 167 Pusateri AE, Modrow HE, Harris RA, Holcomb JB, Hess JR, Mosebar RH, Reid TJ, Nelson JH, Goodwin CW, Jr., Fitzpatrick GM, McManus AT, Zolock DT, Sondeen JL, Cornum RL, Martinez RS. 2003. Advanced hemostatic dressing development program: animal model selection criteria and results of a study of nine hemostatic dressings in a model of severe large venous hemorrhage and hepatic injury in Swine. *J Trauma* 55: 518-526
- 168 Raabe A, Beck J, Gerlach R, Zimmermann M, Seifert V. 2003. Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow. *Neurosurgery* 52: 132-139; discussion 139
- 169 Raabe A, Nakaji P, Beck J, Kim LJ, Hsu FP, Kamerman JD, Seifert V, Spetzler RF. 2005. Prospective evaluation of surgical microscope-integrated intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography during aneurysm surgery. *J Neurosurg* 103: 982-989
- 170 Ragnarsson R, Berggren A, Klintenberg C, Ostrup L. 1990. Microvascular anastomoses in irradiated vessels: a comparison between the Unilink system and sutures. *Plast Reconstr Surg* 85: 412-418
- 171 Rao LV, Mackman N. 2010. Factor VIIa and tissue factor--from cell biology to animal models. *Thromb Res* 125 Suppl 1: S1-3
- 172 Rickenbacher A, Breitenstein S, Lesurtel M, Frilling A. 2009. Efficacy of TachoSil a fibrin-based haemostat in different fields of surgery--a systematic review. *Expert Opin Biol Ther* 9: 897-907
- 173 Ritschl LM, Fichter AM, Häberle S, von Bomhard A, Mitchell DA, Wolff K-D, Mücke T. 2015a. Ketamine-Xylazine Anesthesia in Rats: Intraperitoneal versus Intravenous

- Literaturverzeichnis -

- Administration Using a Microsurgical Femoral Vein Access. *J Reconstr Microsurg* 31: 343-347
- 174 Ritschl LM, Fichter AM, von Düring M, Mitchell DA, Wolff K-D, Mücke T. 2014. Introduction of a microsurgical in-vivo embolization-model in rats: the aorta-filter model. *PLoS One* 9: e89947
- 175 Ritschl LM, Fichter AM, von Düring M, Mitchell DA, Wolff K-D, Mücke T. 2015b. Risk of Thromboembolus after Application of Different Tissue Glues during Microvascular Anastomosis. *Plast Reconstr Surg* 136: 1216-1225
- 176 Rooks MD, Rodriquez J, McNaughton M, Turnidge K, Zusmanis K, Hutton W. 1993. Refinement of the rat crush-avulsion femoral artery injury model. *Microsurgery* 14: 130-134
- 177 Rozen WM, Ang GG, McDonald AH, Sivarajah G, Rahdon R, Acosta R, Thomas DJ. 2011. Sutured attachment of the implantable Doppler probe cuff for large or complex pedicles in free tissue transfer. *J Reconstr Microsurg* 27: 99-102
- 178 Rozen WM, Chubb D, Whitaker IS, Acosta R. 2010. The efficacy of postoperative monitoring: a single surgeon comparison of clinical monitoring and the implantable Doppler probe in 547 consecutive free flaps. *Microsurgery* 30: 105-110
- 179 Sacak B, Tosun U, Egemen O, Sakiz D, Ugurlu K. 2014. Microvascular anastomosis using fibrin glue and venous cuff in rat carotid artery. *J Plast Surg Hand Surg*: 1-5
- 180 Sacak B, Tosun U, Egemen O, Sakiz D, Ugurlu K. 2015. Microvascular anastomosis using fibrin glue and venous cuff in rat carotid artery. *J Plast Surg Hand Surg* 49: 72-76
- 181 Safaee M, Sun MZ, Oh T, Aghi MK, Berger MS, McDermott MW, Parsa AT, Bloch O. 2014. Use of thrombin-based hemostatic matrix during meningioma resection: a potential risk factor for perioperative thromboembolic events. *Clin Neurol Neurosurg* 119: 116-120

- Literaturverzeichnis -

- 182 Saltz R, Sierra D, Feldman D, Saltz MB, Dimick A, Vasconez LO. 1991. Experimental and clinical applications of fibrin glue. *Plast Reconstr Surg* 88: 1005-1015; discussion 1016-1007
- 183 Schelling G, Block T, Blanke E, Hammer C, Brendel W, Gokel M. 1987. The effectiveness of a fibrinogen-thrombin-collagen-based hemostatic agent in an experimental arterial bleeding model. *Ann Surg* 205: 432-435
- 184 Scholz M, Mücke T, Düring M, Pechlivanis I, Schmieder K, Harders AG. 2008. Microsurgically induced aneurysm models in rats, part I: techniques and histological examination. *Minim Invasive Neurosurg* 51: 76-82
- 185 Schwabegger AH, Engelhardt TO, Jeschke J. 2008. Stabilization of microvascular pedicles in intricate locations using fibrin glue. *Microsurgery* 28: 509-513; discussion 514-505
- 186 Serletti JM, Higgins JP, Moran S, Orlando GS. 2000. Factors affecting outcome in free-tissue transfer in the elderly. *Plast Reconstr Surg* 106: 66-70
- 187 Shaffer JW, Kling TF, Wilber RG, Field GA, Williams HJ. 1984. Patency of anastomosed arteries and veins subjected to reapplication of microvascular clamps. *J Hand Surg Am* 9A: 73-75
- 188 Siemer S, Lahme S, Altziebler S, Machtens S, Strohmaier W, Wechsel HW, Goebell P, Schmeller N, Oberneder R, Stolzenburg JU, Becker H, Luftenegger W, Tetens V, Van Poppel H. 2007. Efficacy and safety of TachoSil as haemostatic treatment versus standard suturing in kidney tumour resection: a randomised prospective study. *Eur Urol* 52: 1156-1163
- 189 Siemionow M. 1987. Evaluation of long-term patency rates of different techniques of arterial anastomosis in rabbits. *Microsurgery* 8: 25-29
- 190 Sierra DH. 1993. Fibrin sealant adhesive systems: a review of their chemistry, material properties and clinical applications. *J Biomater Appl* 7: 309-352

- Literaturverzeichnis -

- 191 Sierra DH, Eberhardt AW, Lemons JE. 2002. Failure characteristics of multiple-component fibrin-based adhesives. *J Biomed Mater Res* 59: 1-11
- 192 Smit JM, Zeebregts CJ, Acosta R, Werker PM. 2010. Advancements in free flap monitoring in the last decade: a critical review. *Plast Reconstr Surg* 125: 177-185
- 193 Smith SA, Travers RJ, Morrissey JH. 2015. How it all starts: Initiation of the clotting cascade. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 50: 326-336
- 194 Sosin M, Schultz BD, De La Cruz C, Hammond ER, Christy MR, Bojovic B, Rodriguez ED. 2015. Microsurgical scalp reconstruction in the elderly: a systematic review and pooled analysis of the current data. *Plast Reconstr Surg* 135: 856-866
- 195 Speelman JP, Cahalane AK, Van Hasselt CA. 2013. Evaluation of a porcine vascular model to assess the efficacy of various hemostatic techniques. *J Invest Surg* 26: 253-260
- 196 Spotnitz WD. 2001. Commercial fibrin sealants in surgical care. *Am J Surg* 182: 8S-14S
- 197 Spotnitz WD, Burks S. 2008. Hemostats, sealants, and adhesives: components of the surgical toolbox. *Transfusion* 48: 1502-1516
- 198 Srikanthan K, Viswanathan N, Yuen JC. 2013. Free-flap failure in thrombophilia: case report and systematic review of the literature. *Ann Plast Surg* 71: 675-681
- 199 Subbaiah PV, Bajwa SS, Smith CM, Hanahan DJ. 1976. Interactions of the components of the prothrombinase complex. *Biochim Biophys Acta* 444: 131-146
- 200 Sun FJ, Wright DE, Pinson DM. 2003. Comparison of ketamine versus combination of ketamine and medetomidine in injectable anesthetic protocols: chemical immobilization in macaques and tissue reaction in rats. *Contemp Top Lab Anim Sci* 42: 32-37

- Literaturverzeichnis -

- 201 Sutterer WF, Hardin SE, Benson RW, Krovetz LJ, Schiebler GL. 1966. Optical behavior of indocyanine green dye in blood and in aqueous solution. *Am Heart J* 72: 345-350
- 202 Taj-Eldin S, al-Nouri L, Fakri O. 1967. Haemorrhagic diathesis in children associated with vitamin K deficiency. *J Clin Pathol* 20: 252-256
- 203 Teien AN, Abildgaard U. 1976. On the value of the activated partial thrombo-plastin time (aptt) in monitoring heparin therapy. *Thromb Haemost* 35: 592-597
- 204 Thankappan K. 2010. Microvascular free tissue transfer after prior radiotherapy in head and neck reconstruction - a review. *Surg Oncol* 19: 227-234
- 205 Toro A, Mannino M, Reale G, Di Carlo I. 2011. TachoSil use in abdominal surgery: a review. *J Blood Med* 2: 31-36
- 206 Ujam A, Awad Z, Wong G, Tatla T, Farrell R. 2012. Safety trial of Floseal((R)) haemostatic agent in head and neck surgery. *Ann R Coll Surg Engl* 94: 336-339
- 207 Um GT, Chang J, Louie O, Colohan SM, Said HK, Neligan PC, Mathes DW. 2014. Implantable Cook-Swartz Doppler probe versus Synovis Flow Coupler for the post-operative monitoring of free flap breast reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg* 67: 960-966
- 208 Valentine R, Boase S, Jervis-Bardy J, Dones Cabral JD, Robinson S, Wormald PJ. 2011. The efficacy of hemostatic techniques in the sheep model of carotid artery injury. *Int Forum Allergy Rhinol* 1: 118-122
- 209 van den Besselaar AM. 1985. Standardization of the prothrombin time in oral anticoagulant control. *Haemostasis* 15: 271-277
- 210 van den Besselaar AM. 1993. International standardization of laboratory control of oral anticoagulant therapy: a survey of thromboplastin reagents used for prothrombin time testing. *J Heart Valve Dis* 2: 42-52

- Literaturverzeichnis -

- 211 Wang C, Han Z, Zhang T, Ma JX, Jiang X, Wang Y, Ma XL. 2014. The efficacy of a thrombin-based hemostatic agent in primary total knee arthroplasty: a meta-analysis. *J Orthop Surg Res* 9: 90
- 212 Wang TY, Serletti JM, Cuker A, McGrath J, Low DW, Kovach SJ, Wu LC. 2012. Free tissue transfer in the hypercoagulable patient: a review of 58 flaps. *Plast Reconstr Surg* 129: 443-453
- 213 Watala C, Golanski J, Kardas P. 2003. Multivariate relationships between international normalized ratio and vitamin K-dependent coagulation-derived parameters in normal healthy donors and oral anticoagulant therapy patients. *Thromb J* 1: 7
- 214 Weaver FA, Hood DB, Zatina M, Messina L, Badduke B. 2002. Gelatin-thrombin-based hemostatic sealant for intraoperative bleeding in vascular surgery. *Ann Vasc Surg* 16: 286-293
- 215 Weinzwieg N, Gonzalez M. 1995. Free tissue failure is not an all-or-none phenomenon. *Plast Reconstr Surg* 96: 648-660
- 216 Weiss BG, Ihler F, Matthias C, Canis M. 2014. Coated collagen patches for closure of pharyngo-cutaneous fistulas. *Am J Otolaryngol* 35: 246-250
- 217 Welberg LA, Kinkead B, Thrivikraman K, Huerkamp MJ, Nemeroff CB, Plotsky PM. 2006. Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci* 45: 13-20
- 218 Wolberg AS, Mast AE. 2012. Tissue factor and factor VIIa--hemostasis and beyond. *Thromb Res* 129 Suppl 2: S1-4
- 219 Wolff K-D, Hölzle F, Wysluch A, Mücke T, Kesting M. 2008. Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery. *Microsurgery* 28: 143-146
- 220 Wolff K-D, Stiller D. 1993. Ischemia tolerance of free-muscle flaps: an NMR-spectroscopic study in the rat. *Plast Reconstr Surg* 91: 485-491

- Literaturverzeichnis -

- 221 Wong AK, Joanna Nguyen T, Peric M, Shahabi A, Vidar EN, Hwang BH, Niknam Leilabadi S, Chan LS, Urata MM. 2015. Analysis of risk factors associated with microvascular free flap failure using a multi-institutional database. *Microsurgery* 35: 6-12
- 222 Wong CH, Wei FC. 2010. Microsurgical free flap in head and neck reconstruction. *Head Neck* 32: 1236-1245
- 223 Wu CC, Lin PY, Chew KY, Kuo YR. 2014. 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* 34: 339-344
- 224 Yao HH, Hong MK, Drummond KJ. 2013. Haemostasis in neurosurgery: what is the evidence for gelatin-thrombin matrix sealant? *J Clin Neurosci* 20: 349-356
- 225 Yee VC, Pedersen LC, Le Trong I, Bishop PD, Stenkamp RE, Teller DC. 1994. Three-dimensional structure of a transglutaminase: human blood coagulation factor XIII. *Proc Natl Acad Sci U S A* 91: 7296-7300
- 226 Yoneya S, Saito T, Komatsu Y, Koyama I, Takahashi K, Duvoll-Young J. 1998. Binding properties of indocyanine green in human blood. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 39: 1286-1290
- 227 Young J, Medawar P. 1940. Fibrin suture of peripheral nerves: measurement of the rate of regeneration. *Lancet* 236: 126-128
- 228 Zhang F, Sones WD, Lineaweaver WC. 2001. Microsurgical flap models in the rat. *J Reconstr Microsurg* 17: 211-221
- 229 Zhang T, Dyalram-Silverberg D, Bui T, Caccamese JF, Jr., Lubek JE. 2012. Analysis of an implantable venous anastomotic flow coupler: experience in head and neck free flap reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg* 41: 751-755

6 Anhang

6.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1-1. Vereinfachte schematische Darstellung der Gerinnungskaskade.....	13
Abbildung 1-2. Übersicht der erhältlichen Hämostatika und Gewebekleber (aus „ <i>Hemostats, sealants, and adhesives: components of the surgical toolbox</i> “ von Spotnitz et al. [Spotnitz et Burks, 2008]).	20
Abbildung 1-3. Eskalationskaskade der Behandlung intraoperativ auftretender Blutungen in einer Übersicht.	21
Abbildung 1-4. Beispielhafte Zusammensetzung des Fibrinklebers Tisseel® mit räumlicher Trennung der Komponenten 1 und 2 (Baxter Deutschland GmbH; Unterschleißheim, Deutschland).....	24
Abbildung 1-5. Aufbau und Funktionsweise von TachoSil®. <i>Links</i> Positionierung der gelben aktiven Seite auf die Blutungsquelle; <i>mittig</i> Aktivierung der integrierten Gerinnungsfaktoren bei Blutkontakt und <i>rechts</i> die Koagelbildung, welche zur Hämostase und Konglutination mit dem Kollagenfleece führt. (Quelle: Homepage unter http://www.tachosil.com/tachosil-advantage.html#active-control ; 10/2015).	27
Abbildung 1-6. Aufbau und Funktionsweise von FloSeal®, modifizierte Darstellung nach Oz et al. [Oz et al., 2003].....	29
Abbildung 1-7. Schematische Darstellung der Gerinnungskaskade und Interaktionspunkte der gängigsten sowie in der Arbeit verwendeten Gewebekleber.....	30
Abbildung 2-1. Übersicht der Gruppeneinteilung.....	36

- Anhang -

- Abbildung 2-2.** Darstellung des Operationssitus mit proximaler Versuchsanastomose (jeweils obere Anastomose) und distaler Filteranastomose der vier Gruppen: Naht (A), Tissucol® (B), TachoSil® (C) und FloSeal® (D) mit einer zehnfachen Vergrößerung [Ritschl et al., 2015b]. 37
- Abbildung 3-1.** Beispielhafte histologische Schnitte patenter Anastomosen der Versuchsgruppe Tissucol® (A und B), TachoSil® (C und D) und FloSeal® (E und F) nach einem 14-tägigen Beobachtungsintervall. Die linke Reihe wurde mit einer 65-fachen und die rechte mit einer 130-fachen Vergrößerung dargestellt. 47
- Abbildung 3-2.** Beispielhafte histologische Schnitte okkludierter Anastomosen der Versuchsgruppe Tissucol® (A und B), TachoSil® (C und D) und FloSeal® (E und F) nach einem 14-tägigen Beobachtungsintervall. Beide Reihen wurden mit einer 65-fachen Vergrößerung dargestellt. 48
- Abbildung 3-3.** Ergebnisübersicht der Hauptzielgröße Thrombembolievolumen der Gruppen I und II (angegeben in „column bar graphs“ mit Mittelwert und Standardabweichung)..... 50
- Abbildung 3-4.** Ergebnisübersicht der Nebenzielgrößen Anastomosenzeit und Blutverlust der Gruppen I und II (angegeben in „column bar graphs“ mit Mittelwert und Standardabweichung)..... 51

6.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 2-1. Standardisiertes Einbettungsprotokoll der gewonnenen Gefäßpräparate [Scholz et al., 2008].	39
Tabelle 2-2. Beurteilung der postoperativen histologischen Veränderungen erfolgte anhand eines standardisierten Protokolls nach Chow und modifiziert nach Ritschl et al. unter der Vergabe von Punkten zwischen 0 und 4 [Chow, 1983; Ritschl et al., 2014].	41
Tabelle 3-1. Operative Ergebnisse aller Gruppen unter der Verwendung von vier verschiedenen Techniken zur Durchführung der proximalen Versuchsanastomose in dem Aorta-Filter Modell der Ratte (Naht, Tissucol [®] , TachoSil [®] und FloSeal [®]).	43
Tabelle 3-2. Statistische Analyse der operativen Parameter aller Gruppen (Naht, Tissucol [®] , TachoSil [®] und FloSeal [®]) im Vergleich nach einem Intervall von vier Stunden (Gruppe I) und 14 Tagen (Gruppe II) in dem Aorta-Filter Modell der Ratte unter der Verwendung des Mann-Whitney-U Tests.	45
Tabelle 3-3. Statistische Analyse der histologischen Veränderungen der proximalen (Versuchs-) Anastomose nach einem Intervall von vier Stunden (Gruppe I) und 14 Tagen (Gruppe II) unter der Verwendung des Mann-Whitney-U Tests.	49

7 Curriculum Vitae

Name	Dr. med. Lucas Maximilian Ritschl
Geburtstag	19.03.1987
Geburtsort	Berlin Grunewald
Schulbesuch	1993-1997 Grundschule Friedheim Flensburg 1997-2003 Altes Gymnasium Flensburg 2003-2005 Deutsche Schule Helsinki - Finnland Abschluss mit der deutschen allgemeinen Hochschulreife
Studium	2005-2007 Erster Studienabschnitt der ärztlichen Prüfung an der Ludwig-Maximilians-Universität / Technischen Universität München 2007-2012 Zweiter Studienabschnitt der ärztlichen Prüfung an der Technischen Universität München seit 2012 Studium der Zahnheilkunde an der Ludwig-Maximilians- Universität München 04/2014 Doktorgrad der Medizin 04/2016 Zweiter Studienabschnitt der zahnärztlichen Prüfung an der Ludwig-Maximilians-Universität München
Tätigkeiten	seit 2012 Wissenschaftlicher Mitarbeiter in der Klinik für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie am Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München (Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. Dr. K.-D. Wolff)

8 Danksagung

Am Ende möchte ich mich noch bei einigen sehr wichtigen Personen bedanken, die mich auf diesem Wege unterstützt haben. Ein besonderes Dankeschön für die lehrreichen Jahre gilt meinem Doktorvater, Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Mücke, und der Anatomin Frau Prof. Dr. Monika von Düring. Herrn Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Mücke verdanke ich das wundervolle Thema meiner Arbeit und die Möglichkeit mich im weiten und spannenden Bereich der experimentellen Mikrochirurgie immer weiter zu vertiefen und diese Tag für Tag besser umsetzen zu können. Frau Prof. Dr. Monika von Düring und Frau Luzie Augustinowski verdanke ich erneut herausragende histologische Bilder und eine weitere Perspektive über eine 20-fache Vergrößerung hinaus. Herrn Prof. Dr. Dr. Klaus-Dietrich Wolff danke ich erneut für die Bereitstellung sämtlicher Apparaturen sowie Möglichkeiten eine solche Arbeit durchführen zu können.

Des Weiteren möchte ich mich beim Fachpersonal des Zentrums für Präklinische Forschung (ZPF) für die durchweg fürsorgliche und aufmerksame Pflege der unbesungenen Helden der Forschung, unsere Ratten, bedanken. Ohne entsprechende Pflege funktionieren die einfachsten Operationen nicht und die kompliziertesten Operationen erst recht nicht.

Zu guter Letzt möchte ich mich natürlich auch bei meiner Ehefrau und Familie für die Unterstützung, das Verständnis und die Zeit bedanken, die sie mir Tag für Tag gegeben haben.