

TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Medizin

**Auswirkung von Endotheltrauma und venösen Interponaten auf  
Indocyaningrün Videoangiographie und FLOW 800<sup>®</sup> Tool in einem  
mikrovaskulären Transplantationsmodell der Ratte**

Marie-Kristin Charlot Hofmann

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

Doktorin der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitz: apl. Prof. Dr. Bernhard Haslinger

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Dr. Thomas Mücke
2. apl. Prof. Dr. Clemens Heiser

Die Dissertation wurde am 10.02.2022 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 11.10. 2022 angenommen.

*In Liebe meiner Familie*

# Inhaltsverzeichnis

## Auswirkung von Endotheltrauma und venösen Interponaten auf Indocyaningrün Videoangiographie und FLOW 800 Tool in einem mikrovaskulären Transplantationsmodell der Ratte

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1.	GESCHICHTE UND HINTERGRUND MIKROVASKULÄRER TECHNIKEN	1
1.2.	MIKROVASKULÄRER GEWEBETRANSFER	2
1.2.1.	<i>Komplikationen bei mikrovaskulärem Gewebetransfer</i>	3
1.2.1.1.	Thrombosen	4
1.2.1.2.	Technische Fehler	6
1.2.1.3.	Der Vessel depleted neck als Grenzsituation des mikrovaskulären Gewebetransfers	7
1.3.	MÖGLICHKEITEN DER INTRAOPERATIVEN BEURTEILUNG DER DURCHBLUTUNGSSITUATION VON GEFÄßEN ODER ANASTOMOSEN	9
1.3.1.	<i>Mikro-Doppler-Sonografie</i>	10
1.3.2.	<i>Indocyaningrün Videoangiographie</i>	10
1.3.2.1.	Indocyaningrün	10
1.3.2.2.	Anwendungsbereiche	12
1.3.3.	<i>Gewebe-Photospektrometrie</i>	14
1.3.4.	<i>Digitale Subtraktionsangiographie</i>	15
1.4.	PROBLEMATIK	18
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODIK</b>	<b>20</b>
2.1.	VERSUCHSMODELL UND STUDIENAUFBAU	20
2.1.1.	<i>Versuchstiere</i>	20
2.1.2.	<i>Narkose</i>	21
2.2.	VERSUCHSDURCHFÜHRUNG	22
2.2.1.	<i>Anlage des Femoralkatheters</i>	22
2.2.3.	<i>Kollektiv</i>	25
2.2.3.1.	Gruppe I - Endotheldefekt	25
2.2.3.2.	Gruppe II - Veneninterponat	26
2.2.3.3.	Gruppe III - Endotheldefekt und Veneninterponat	27
2.2.4.	<i>ICG-Angiographie und Blutflussmessung mittels FLOW 800</i>	29
2.2.5.	<i>Ausmessung von Defekten und Thromben</i>	31
2.3.	ARBEITSMATERIAL	31
2.3.1.	<i>Instrumentarium</i>	31
2.4.	STATISTIK	34
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b>	<b>37</b>
3.1.1.	<i>Ausgangszustand</i>	37
3.1.2.	<i>Gruppe I - Endotheldefekt</i>	38
3.1.3.	<i>Gruppe II - Veneninterponat</i>	39
3.1.4.	<i>Gruppe III - Endotheldefekt und Veneninterponat</i>	41
3.1.5.	<i>Thrombosierung</i>	44
3.2.	STATISTISCHE ANALYSEN	45
3.2.1.	<i>Vergleich der Gruppen bezüglich der Thrombosewahrscheinlichkeit</i>	45
3.2.2.	<i>Bestimmung der Sensitivität und Spezifität der ICG-Analyse zur Detektion von Thromben</i>	46
3.2.3.	<i>Ausmessung der Endotheldefekte und der Thrombosen</i>	49
3.2.4.	<i>Einfluss der Endotheldefekte und Thrombusformationen auf die ICG-Angiografie</i>	50
3.2.5.	<i>Uni- und multivariate Regressionsanalyse</i>	53
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>56</b>
4.1.	EIGNUNG DER AORTA DER RATTE ALS VERSUCHSMODELL	56

4.2.	AUSWIRKUNG VON ENDOTHELDEFEKTEN AUF DIE ICGA-MESSUNGEN .....	57
4.2.1.	<i>Vorbeugung von Intimadefekten und konsekutiven Thrombosierungen</i> .....	58
4.3.	AUSWIRKUNG VON VENÖSEN GEFÄßINTERPONATEN AUF DIE ICGA-MESSUNGEN.....	59
4.4.	RELIABILITÄT DER ICGVA BEZÜGLICH DER BEURTEILUNG DER INTRAOPERATIVEN DURCHBLUTUNGSSITUATION 63	
4.5.	VERSCHIEDENE MÖGLICHKEITEN ZUR DETEKTION VON THROMBEN IN DER MIKROCHIRURGIE .....	66
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>68</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>70</b>
<b>7</b>	<b>ANHANG</b> .....	<b>86</b>
7.1.	ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....	86
7.2.	TABELLENVERZEICHNIS .....	87
7.3.	VERÖFFENTLICHUNG VON TEILEN DER DOKTORARBEIT.....	88
7.4.	DANKSAGUNG.....	89



## Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
°C	Grad Celsius
>	größer als
<	kleiner als
&	und
A.	Arteria
Abb.	Abbildung
APC	aktiviertes Protein C
Aq. Dest.	Aqua destillata
AV	arteriovenös
Bzw.	beziehungsweise
Bspw.	beispielsweise
Ca.	circa
Cm	Zentimeter
CT	Computertomogramm
DSA	Digitale Subtraktionsangiografie
et. al.	und andere
EU	Europäische Union
ED	Endotheldefekt
g	Gramm
GmbH	Gesellschaft mit beschränkter Haftung
ICG	Indocyaningrün
ICGA	Indocyanin Angiografie
ICGVA	Indocyaningrün-Videoangiografie
kg	Kilogramm
µg	Mikrogramm
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mm <sup>2</sup>	Quadratmillimeter
MR-	Magnetresonanz-
N.	Nervus
NaCl	Natriumchlorid

nm	Nanometer
Nr.	Nummer
O2C	„Oxygen 2 See“
o.g.	oben genannt(e)
Op	Operations-
ROI	Region of Interest
s.	siehe
sog.	sogenannt
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
s.u.	siehe unten
u.ä.	und Ähnliches
USB	Universal Serial Bus
V.	Vena
VFA	Video Fluoreszenz Angiografie
v.l.n.r.	von links nach rechts
v.r.n.l.	von rechts nach links
z.B.	zum Beispiel

# 1 Einleitung

## 1.1. Geschichte und Hintergrund mikrovaskulärer Techniken

Der Begriff der Mikrochirurgie bezeichnet im Wesentlichen chirurgische Eingriffe, welche die Verwendung eines Operationsmikroskops und speziellen Instrumentariums erforderlich machen.

Der entscheidende Faktor für die Entwicklung des Begriffs selbst über die Jahre war die Anastomosierung zunehmend kleinerer Blutgefäße und Nerven, die schlussendlich den Gewebettransfer zwischen verschiedenen Körperregionen sowie die Wiederherstellung abgetrennter Gliedmaßen ermöglichten (Mavrogenis et al., 2019).

Die Voraussetzung für die stetige Weiterentwicklung mikrovaskulärer Techniken wurde laut Hess durch mehrere Faktoren beeinflusst. Hierzu zählen die Einführung des binokulären Operationsmikroskops, die kontinuierliche Verbesserung von Operations- und Anastomose-Techniken sowie die Fortentwicklung von Instrumentarium und Nahtmaterialien (Hess, 1985).

So fand die Mikrochirurgie zunehmend Einzug und ist heute neben der Gefäßchirurgie wichtiger Bestandteil zahlreicher anderer chirurgischer Fachdisziplinen wie der Neurochirurgie, Ophthalmologie, Hals- Nasen- Ohrenheilkunde und insbesondere der Plastischen sowie der Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie (Mavrogenis et al., 2019).

Julius Jacobson war es, der durch seine Arbeiten 1960 als erster den Begriff der „mikrovaskulären Chirurgie“ bezeichnete. Durch die Entwicklung des binokulären Operationsmikroskops in Zusammenarbeit mit dem Physiker Littmann vom Unternehmen Zeiss setzte er den bedeutendsten Meilenstein der Mikrochirurgie, indem es nun möglich war Gefäße mit einem Kaliber von  $<3\text{mm}$  zu anastomosieren (Tamai, 2009).

Bald folgten, erstmals durch den Chirurgen Buncke, Gefäß Anastomosen im Submillimeterbereich, wodurch die Voraussetzung für Replantationen abgetrennter Gliedmaßen und für den mikrovaskulären Gewebettransfer gegeben war.

Gleichzeitig kam es zur Fortentwicklung von Techniken zur Anastomosierung von Gefäßen, die maßgeblich durch Alexis Carrel und Guthrie beeinflusst wurde. Ersterer wurde für seine bis heute angewandte Triangulationstechnik mit fortlaufender, evertierender Nahtführung im Jahre 1912 mit dem Nobelpreis für Physiologie und Medizin ausgezeichnet. Noch heute wird er als „Vater der Anastomose“ bezeichnet (Kennedy, 2004; Porter, 1999).

Durch die Etablierung standardisierter Operationstechniken sowie mikrochirurgischen Instrumentariums durch Acland wurde im Jahr 1973 der erste freie mikrovaskuläre Gewebettransfer am Menschen aus der Leistenregion zur Deckung eines Defekts am Unterschenkel durch Daniel und Taylor durchgeführt (Acland, 1974; Daniel & Taylor, 1973). Es folgten erfolgreiche freie Gewebettransplantationen zu rekonstruktiven Zwecken im Hals- und Gesichtsbereich, unter anderem durch McLean und Buncke, Fujino et al sowie durch Yang, der den heutzutage vielseitig angewandten Radialislappen etablierte (Fujino et al., 1975; McLean & Buncke, 1972; Yang, 1981).

Seit diesen ersten klinischen Berichten vor über fünf Jahrzehnten hat die Transplantation von autologen Gewebe mittels mikrovaskulärer Techniken zunehmend Verwendung gefunden und unterlag seitdem stetiger Verbesserung.

Heutzutage stellt sie den Goldstandard und regulären Bestandteil rekonstruktiver Eingriffe dar und es können konstante Erfolgsraten von 95% oder mehr verzeichnet werden (Gottlieb & Krieger, 1994; Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Mitchell, et al., 2010; Wolff, Hölzle, et al., 2008).

## **1.2. Mikrovaskulärer Gewebettransfer**

Der mikrovaskuläre Gewebettransfer ist in der Chirurgie des Kopf- Hals -Bereichs heutzutage zu einer unverzichtbaren Rekonstruktionsmöglichkeit geworden. Häufig entstehen durch ausgedehnte Tumorsektionen oder Traumata große Weichteil- oder auch knöcherne Defekte, die eine wiederherstellende Operation aus funktionellen sowie ästhetischen Gründen unumgänglich machen. Die rekonstruktive Chirurgie bietet hierfür eine Vielzahl an Möglichkeiten und ist in den meisten chirurgischen Disziplinen im Rahmen der Defektdeckung und des Wundverschlusses ein wesentlicher Bestandteil der Behandlung.

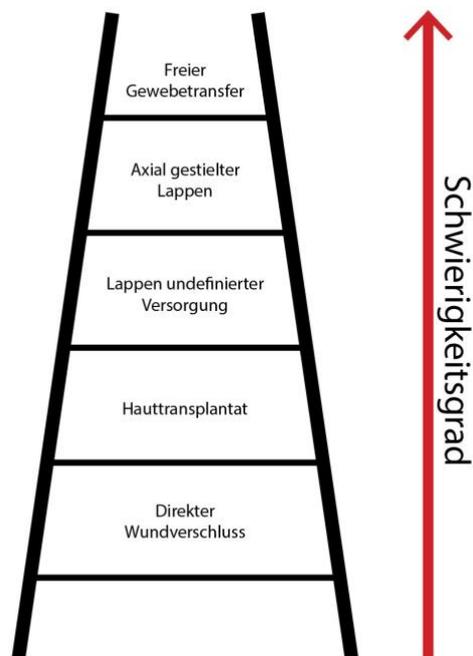
Seit der erstmaligen Durchführung und Entwicklung in den 1970ern hat sich die Bandbreite der Lappentransplantate und Rekonstruktionsmöglichkeiten um ein Vielfaches erweitert und bietet mittlerweile eine Lösung für nahezu jede rekonstruktive Herausforderung.

Zur individuellen Entscheidungsfindung orientiert sich der Chirurg häufig am allgemein akzeptierten Behandlungsalgorithmus der „rekonstruktiven Leiter“, die eine Abstufung der verschiedenen rekonstruktiven Methoden geordnet nach Invasivität und Komplexität des Eingriffs bzw. des zu behandelnden Defekts darstellt. Demnach geht man von der chirurgisch einfachsten Methode, sprich dem primären Wundverschluss bis hin zur freien Lappenplastik als höchste Sprosse der Leiter, die eine Anastomosierung von Gefäßen erfordert und somit die anspruchsvollste Methode darstellt. Je nach Zusammensetzung können hier reine

## - Einleitung-

Weichteillappen von knöchernen Lappen unterschieden werden und bieten abhängig von der Defektlokalisation verschiedene Vorteile. In der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie eignet sich zum Beispiel das Radialis Transplantat oder auch „radial forearm flap“ durch seinen langen, großkalibrigen Gefäßstiel, die konsistente Anatomie, die einfache Hebung sowie sein geringes Volumen ausgezeichnet zur Deckung von Weichteildefekten in der Kopfregion und dem intraoralen Bereich (Schwarzer et al., 2016; Yang et al., 1997; Zhang et al., 2015)

Im Rahmen von ausgedehnten ossären Defekten, v.a. im Bereich des Unterkiefers, bietet unter anderem das Fibulatransplantat durch seinen Muskel sowie Knochenanteil besonders vielseitige Rekonstruktionsmöglichkeiten (Wolff, 2005).



*Abbildung 1: Die rekonstruktive Leiter bildet unterschiedliche rekonstruktive Verfahren zur Defektdeckung nach aufsteigender Komplexität ab*

### 1.2.1. Komplikationen bei mikrovaskulärem Gewebetransfer

Die Techniken der Lappenhebung sowie des -anschlusses unterlagen in den letzten Jahren einer stetigen Verbesserung, so dass laut Literatur heutzutage Erfolgsraten von 95-99% erzielt werden können (Hidalgo et al., 1998; Novakovic et al., 2009; Wolff, Hölzle, et al., 2008). Trotz der stetigen Weiterentwicklung und Verbesserung mikrochirurgischer Techniken, bleiben Komplikationen nach freiem Gewebetransfer in der Kopf- Hals- Region jedoch keine

Seltenheit. Durch den hohen Schwierigkeitsgrad und technischen Aufwand, sowie die starke Abhängigkeit des Behandlungserfolges von der Erfahrung und dem operativen Geschick des Chirurgen bergen solche Eingriffe ein erhöhtes Komplikationsrisiko (Chang et al., 2016; Khouri, 1992; Wolff, Kesting, et al., 2008).

Aber nicht nur das technische Geschick des Chirurgen ist ausschlaggebend. Die Gründe für einen Transplantatverlust können vielseitig sein und reichen von allgemeinen internistischen Risikofaktoren des Patienten wie Atherosklerose, peripherer arterieller Verschlusskrankheit, ASA, Diabetes mellitus, Alkohol- und/oder Nikotinabusus sowie einer Hyperkoaguabilität bis hin zur häufig auftretenden Thrombosierung oder dem Abknicken bzw. Verdrehen (sgn. „Kinking“) des Gefäßstiels (Crawley et al., 2019; Löffelbein et al., 2017; Ozbek et al., 1994). Die meisten Komplikationen treten innerhalb der ersten 48 Stunden auf, wobei venöse Thrombosen, gefolgt von arteriellen Problemen, Hämatomentwicklung mit Kompression der Gefäße und Problemen am Anschlussgefäß die häufigsten Ursachen darstellen (Hidalgo et al., 1998; Wolff, Hölzle, et al., 2008). Ein später postoperativer Verlust des Transplantats hingegen ist häufig auf eine Infektion mit der Folge der Mikroembolisation oder die Ausübung von mechanischem Stress auf die Anastomose zurückzuführen (Miyasaka et al., 2005).

#### *1.2.1.1. Thrombosen*

Die postoperative Thrombose des Gefäßstiels stellt mit einem laut Literatur angegebenen 10-35% -igen Anteil die häufigste Komplikation bei freien mikrovaskulären Transplantaten und den Hauptgrund für einen Lappenverlust dar. Hierbei tritt die venöse Thrombose bei Rekonstruktionen des Hals- Kopf- Bereichs deutlich häufiger sowie später auf als die arterielle und führt häufiger zum Transplantatverlust. In einer Studie von Kroll et al. traten venöse Thrombosen doppelt so häufig auf wie arterielle, wobei 90% der arteriellen Thrombosen am ersten postoperativen Tag und 41% der venösen Thrombosen zu einem späteren Zeitpunkt festgestellt wurden (Kroll et al., 1996).

In Studien von Miyasaka et al. und Brown et al. konnten ebenfalls der Hauptteil der Revisionen auf venöse Probleme zurückgeführt werden und zeigten sich meist innerhalb von 25 Stunden postoperativ (Brown et al., 2003; Miyasaka et al., 2005). Die Gründe für eine vaskuläre Okklusion können multifaktoriell bedingt sein. Li und Cooley nennen für die arterielle und venöse Thrombose verschiedene Pathogenesen. Die arterielle Thrombose steht demnach in Zusammenhang mit einem gestörten Blutfluss und entsteht meist in z.B. durch Plaques vorgeschädigten Gefäßarealen. Die venöse Thrombose hingegen bildet sich hauptsächlich in Arealen der Stase aus (Li & Cooley, 1995). Meist resultiert sie aus der Störung mindestens

einer der bekannten pathophysiologischen Faktoren der sog. „Virchow Trias“. Dazu gehören der Endothelschaden, die Stase und eine Hyperkoaguabilität (Fukuiwa, 2008).

So kann es im Rahmen des Gewebetransfers durch zu hohe Spannung, Kinking oder Verdrehung des Gefäßstiels zur Stase und somit zur Thrombosierung kommen (Ozbek et al., 1994). Auch eine extrinsische Kompression des Gefäßstiels durch zu engen Wundverschluss, zu fest sitzende zirkuläre Verbände oder ein postoperatives Hämatom können den venösen Abfluss beeinträchtigen.

Durch fehlerhafte Anastomosierung oder durch das Nahtmaterial selbst kann es außerdem zur Gefäßverletzung mit Exposition der Media und Adventitia und folgend erhöhter Thrombosegefahr kommen.

Eine Hyperkoaguabilität kann durch angeborene Erkrankungen (z.B. APC-Mangel, Prothrombinmutationen) bedingt oder erworben sein. Zu den erworbenen Faktoren gehören vor allem entzündliche Vorgänge, Exsikkose, Medikamente (z.B. orale Kontrazeptiva) oder Malignome (Dadaci et al., 2015; Davison et al., 2009)

Neben diesen natürlichen Faktoren können auch andere Situationen zu einem erhöhten Thromboserisiko führen. So ist die Wahl einer geeigneten Donorvene und -arterie ein wichtiger Faktor für den Erfolg des Gewebetransfers. Chalian et al. sowie andere Autoren konnten bspw. einen signifikant höheren Verlust durch Thrombosen bei venösen Anastomosen der externen jugulären Gefäße im Vergleich zu Anastomosen im internen jugulären System feststellen (Chalian et al., 2001; Fukuiwa, 2008).

Eine deutliche Diskrepanz der Gefäßdurchmesser (=Mismatch) sowie die Verwendung von Veneninterponaten werden ebenfalls mit einer erhöhten Thrombosierungsgefahr assoziiert und stellen eine Indikation zur Antikoagulation dar (Bozikov & Arnez, 2006). Mechanischer Stress an der Anastomose und Vasospasmus durch Hypothermie und Hypotension können weitere Risikofaktoren darstellen (Fukuiwa, 2008).

Das Thromboserisiko ist in den ersten beiden postoperativen Tagen mit 80% am höchsten und nimmt danach auf 10% ab (Hidalgo et al., 1998; Kroll et al., 1996; Wolff, Hölzle, et al., 2008). Laut Brown et al. und weiteren Autoren lässt sich ein Großteil der kompromittierten Transplantate aber durch eine sofortige Revision i.R. einer „Salvage Operation“ retten (Brown et al., 2003; Kubo et al., 2002; Wolff, Hölzle, et al., 2008). Die Salvagerate ist von der Ursache der Durchblutungsstörung abhängig und ist bei einer venösen Thrombose allgemein höher, da diese durch Stauungszeichen leichter zu diagnostizieren ist (Novakovic et al., 2009). Ein engmaschiges postoperatives Transplantatmonitoring ist deshalb ein wichtiger Bestandteil

mikrovaskulärer Eingriffe und sollte laut Mücke et al. anfänglich alle 3 Stunden erfolgen (Kubo et al., 2002; Mücke et al., 2018; Mücke et al., 2017))

#### 1.2.1.2. *Technische Fehler*

Präzise chirurgische Technik sowie die Erfahrung des Operateurs spielen für den Erfolg des Gewebetransfers eine maßgebliche Rolle (Bozikov & Arnez, 2006).

Acland beschrieb drei Hauptfaktoren für eine durchgängige mikrovaskuläre Anastomose, die auch heute noch von Bedeutung sind. Dazu gehören zum einen der Gefäßdurchmesser, die Qualität des chirurgischen Eingriffs durch korrekten Umgang mit dem Gewebe, sowie der Blutfluss im Gefäß.

Eine technisch insuffiziente Anastomose, die Lücken, Unregelmäßigkeiten und/oder Überlappungen aufweist, erhöht die Wahrscheinlichkeit für eine Thrombusformation und einen Gefäßverschluss. Ferner kann ein Annähen der Hinterwand eine Gefäßstenose und/oder -okklusion erzeugen. Des Weiteren sollte eine spannungsfreie Adaptation der Gefäßenden sowie die Verwendung von Antikoagulantien zur Reduzierung des Thromboserisikos erfolgen. Häufig werden auch Vasospasmen durch unnötiges Manipulieren der Gefäßwand ausgelöst, die jedoch durch Applikation von topisch applizierbaren Vasodilatoren (bspw. Lidocain, Papaverin) behoben werden können.

Durch unsachgemäßes Handling des Transplantats und der Gefäße, bspw. durch die Verwendung ungeeigneter Gefäßclips (Kuhnel & Muller, 2004), mikrochirurgische Manöver wie den „milking test“ oder traumatisches Nahtmaterial können außerdem Endotheldefekte entstehen, die eine Thrombose begünstigen (Petry et al., 1986).

Besonders die Venen sind mit großer Sorgfalt zu behandeln, da ihre extrem dünne und fragile Gefäßwand schnell verletzt werden kann und dazu neigt zu kollabieren (Hayhurst & O'Brien, 1975).

Fukuiwa et al. messen in einer Studie zur internen jugulären Venenthrombose verschiedenen chirurgischen Faktoren für einen erfolgreichen venösen Gefäßanschluss Bedeutung bei. Zum einen nennen sie die atraumatische Manipulation und das Vermeiden der thermalen Verletzung der Gefäßwand mit dem Elektrokauter. Um ein sog. „ballooning“ der Gefäßwand zu verhindern, sollte die Präparation der Adventitia sowie des umliegenden Gewebes außerdem mit großer Vorsicht erfolgen und ein Austrocknen dieser vermieden werden.

Darüber hinaus sollte auf eine achtsame Ligatur von kleineren, abgehenden Seitenästen geachtet werden, um einen einwandfreien Blutfluss zu gewährleisten. (Fukuiwa, 2008).

*1.2.1.3. Der Vessel depleted neck als Grenzsituation des mikrovaskulären Gewebetransfers*

Ausschlaggebend für einen erfolgreichen Gewebetransfer sind der Zustand und das Vorhandensein von Anschlussgefäßen im Empfängerareal. Postonkologische Situationen mit Zustand nach Ablation oder Bestrahlung sowie Verbrennungen und Fehlbildungen können die sonst sehr gute Durchblutungssituation im Kopf-Hals-Bereich beeinträchtigen und zu geringeren Behandlungserfolgen führen. Besonders bei Tumorpatienten sind hier die Neck Dissection sowie ein Zustand nach Radiatio als Hauptgründe für eine Gefäßarmut zu nennen (Mücke et al., 2012; Schultze-Mosgau et al., 2002).

Das Risiko einer okkulten Metastasierung bei klinisch unauffälligem Halsbefund (cN0) erfordert die routinemäßige elektive bzw. prophylaktische Neck Dissection. Wird auf letztere verzichtet, ist die Prognose deutlich eingeschränkt, auch wenn eine radikale Neck Dissection nachgeholt wird. Bei fortgeschrittener T-Kategorie (pT3/T4), knappen oder positiven Resektionsrändern (>R1), perineuraler Invasion (Pn1), Gefäßinvasion (V1) und/oder Lymphknotenbefall (pN+) ist für die Kombination einer adjuvanten Strahlentherapie mit einer Chemotherapie ein klarer Überlebensvorteil belegt worden und führt zu einer Reduktion der Rezidivrate. Bei Kopf-Halstumoren (Fujioka, 2014; Pignon et al., 2000; Wolff, 2012). Jedoch geht dies mit einem Verlust von potenziellen Anschlussgefäßen für einen mikrovaskulären Gewebetransfer einher, welcher in den meisten Fällen aus funktionellen Gründen angestrebt wird (Hanasono et al., 2009; Mücke et al., 2012).

Fibrosierungen und Vernarbungen führen häufig zu veränderten anatomischen Verhältnissen und machen eine Abgrenzung der verschiedenen Gewebeschichten schwieriger. Dies kann zur versehentlichen Verletzung der Anschlussgefäße und Blutungen führen. Endotheliale Veränderungen mit erhöhter Gerinnungsneigung sowie chronische Infektsituationen stellen ebenfalls Risikofaktoren bei post Radiatio dar. Liegt eine völlige Gefäßarmut vor, spricht man von einem gefäßverarmten, sog. „vessel depleted neck“ oder „frozen neck“ (Frohwitter et al., 2019).

In diesen Fällen ist es oft notwendig von Ästen der A. carotis externa und der Vena jugularis interna oder externa abzusehen und nach anderen Optionen für den Gefäßanschluss zu suchen. Einige Autoren empfehlen hier zunächst die kontralateralen Halsgefäße aufzusuchen, sofern diese ohne Gefäßinterponat zu erreichen sind. Ferner gelten die transversalen Halsgefäße als Reservegefäße erster Wahl, da sie meist ohne erweiterte Präparation oder Gefäßinterponate angeschlossen werden können. Die Vasa thoracoacromialis stellen ebenfalls eine Alternative dar, sind aber mit einer erschwerten Präparation und einem inkonstanten Kaliber verbunden, so

dass mit einem Mismatch der Gefäße gerechnet werden muss. Einige Autoren ziehen auch die A. thoracica interna als attraktive Option in Betracht (Roche et al., 2012; Sturtz et al., 2012). Liegen Defekt- und Anastomoseregion zu weit auseinander, wird häufig die Verwendung von Veneninterponaten oder AV Loops (arteriovenöse Schlingen) zur Überbrückung der Distanz notwendig (Sturtz et al., 2012). Als langstreckige Veneninterponate eignen sich hier typischerweise die V. cephalica (Wong et al., 2010) oder die V. saphena (Chang et al., 2007; Yuan & Jing, 2011). In mehreren Studien wird die Verwendung von Veneninterponaten jedoch mit einem erhöhten Transplantatverlust sowie Thromboserisiko assoziiert (Bozikov & Arnez, 2006; Khouri et al., 1998; Maricevich et al., 2018; Wong et al., 2010). Die Entnahmemorbidität sowie die Notwendigkeit einer weiteren Anastomose mit einer resultierenden verlängerten Operationsdauer sind als weitere Nachteile anzusehen.

Solche Veneninterponate können alternativ auch durch eine sgn. arteriovenöse Gefäßschleife (engl. „AV-Loop“) eingesetzt werden. Sie stellt eine temporäre Kurzschlussverbindung zwischen Arterie und Vene des Transplantats durch ein Veneninterponat dar, welches in einem zweiten Schritt durchtrennt und mit Arterie und Vene der Empfängerregion anastomosiert wird. Bei dieser Methode besteht jedoch durch die doppelte Anzahl an Anastomosen sowie die Kompression durch den subkutanen Verlauf des Gefäßstiels ein erhöhtes Risiko für einen Lappenverlust durch Gefäßokklusion (Lin et al., 2004).

### **1.3. Möglichkeiten der intraoperativen Beurteilung der Durchblutungssituation von Gefäßen oder Anastomosen**

Der Lappenverlust ist zwar selten, bedeutet jedoch eine hohe psychologische Belastung für den Patienten sowie eine Verzögerung einer eventuell notwendigen adjuvanten Tumorthherapie, ein erhöhtes Risiko durch die Notwendigkeit eines Zweiteingriffs sowie insgesamt erhöhte Kosten für das Gesundheitssystem (Chiu et al., 2017).

Um die Erfolgsrate von mikrovaskulären Prozeduren zu erhöhen, Komplikationen zu minimieren und das Outcome für den Patienten zu verbessern, stehen verschiedene Möglichkeiten zum präoperativen, intraoperativen und postoperativen Patientenmanagement zur Verfügung. Für das präoperative Management sind vor allem die Abklärung der Gefäßsituation durch Bildgebung und die Detektion von vorgeschädigten Gefäßarealen, besonders bei voroperierten, vorbestrahlten oder systemisch erkrankten Patienten von Bedeutung (Chen et al., 2016).

Da die meisten Komplikationen in den ersten Stunden nach der Anastomose auftreten, herrscht bezüglich der postoperativen Phase Konsens darüber, dass ein engmaschiges Transplantatmonitoring essenziell für eine hohe Erfolgsrate ist und eine frühzeitige Reexploration den Transplantatverlust deutlich senkt. Generell wird deshalb eine stündliche Überwachung für die ersten 24 Stunden und eine vierstündliche Kontrolle über die nächsten zwei postoperativen Tage empfohlen (Brown et al., 2003; Kessler et al., 2013). Neben der einfachen klinischen Beurteilung (Rekapillarierungszeit, Hautturgor und -temperatur, Hautfarbe, Pinprick-Test) stehen hier unter anderem die Mikrodoppler Sonografie oder die Thermographie als technisches Hilfsmittel zur Verfügung (Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Holzle, et al., 2010; Yanaka et al., 2003).

Wolff et al. messen besonders der unmittelbaren Phase nach Anastomosierung Bedeutung bei, da Durchblutungsstörungen durch technische Fehler, wie bspw. eine fehlerhafte Nahttechnik, frühzeitig festgestellt werden können. Auch Lageveränderungen wie Torsionen der Vene, Vasospasmen sowie eine Verdrehung und Kompression des Gefäßstiels können somit frühzeitig erkannt und behoben werden. Insbesondere die in der Regel früher auftretenden arteriellen Okklusionen können bereits i.R. einer ca. 45-minütigen Beobachtungszeit vor dem definitiven Wundverschluss identifiziert werden (Wolff, Hölzle, et al., 2008). Durch sofortige Identifizierung vaskulärer Kompromittierungen können zudem unnötige chirurgische Reexplorationen mit potenzieller unvorteilhafter Manipulation der Anastomose vermieden werden (Holm, Dornseifer, Sturtz, & Ninkovic, 2010).

Eine deutlich validere und objektivere Beurteilung als die rein klinische Observation bieten hier technische Hilfsmittel wie die Mikrodoppler-Sonografie, die digitale Subtraktionsangiographie, die Indocyaningrün Videoangiographie (ICGVA) und weitere Methoden zur intraoperativen Beurteilung des Blutflusses bzw. der Anastomose, die im Folgenden aufgeführt werden sollen.

### **1.3.1. Mikro-Doppler-Sonografie**

Die mikrovaskuläre Doppler-Sonographie ermöglicht die intraoperative Blutflussmessung in Echtzeit innerhalb einzelner, kleinkalibriger Blutgefäße. Die Flussgeschwindigkeit wird berechnet, indem die Frequenzveränderung mit der durch das Blut reflektierten Ultraschallwellen in Bezug auf die emittierte Ultraschallfrequenz verglichen wird. Vor allem in der Neurochirurgie stellt sie eine bewährte Methode zur Überprüfung des Clippings von Aneurysmata dar und reduziert die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von Komplikationen (Gilsbach, 1984; Pereira et al., 2015; Siasios et al., 2012).

Aber auch in anderen Fachgebieten wie der Gefäßchirurgie findet sie durch ihre einfache Anwendung, die Kostengünstigkeit sowie den geringen Zeitaufwand und die uneingeschränkte Wiederholbarkeit häufig Anwendung.

Allerdings kann mit dieser Methode lediglich eine qualitative Bestimmung des Blutflusses vorgenommen werden, so dass geringgradige, aber durchaus relevante Beeinträchtigungen, bspw. Gefäßstenosen im Bereich von 30-50%, mit dieser Methode schwieriger zu detektieren sind (Gilsbach, 1984). Der tatsächliche Blutfluss in Millilitern pro Minute sowie die Flussrichtung sind nicht eindeutig festzustellen. Zur Prüfung der Durchgängigkeit einer Anastomose wird deshalb die Anwendung eines zusätzlichen genaueren Verfahrens wie bspw. der Indocyaningrün Angiografie (ICGA) empfohlen (Kretschmer, 2017; Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Holzle, et al., 2010).

### **1.3.2. Indocyaningrün Videoangiographie**

#### *1.3.2.1. Indocyaningrün*

Indocyaningrün (ICG) ist ein seit über 50 Jahren bekannter fluoreszierender Farbstoff, der als Indikatorsubstanz in der medizinischen Diagnostik vielseitig eingesetzt werden kann.

1956 wurde ICG erstmalig in der kardiologischen Diagnostik zur Bestimmung von Herzzeitvolumina mittels Indikator-Verdünnungskurven von Fox et al. eingesetzt (Fox et al., 1957).

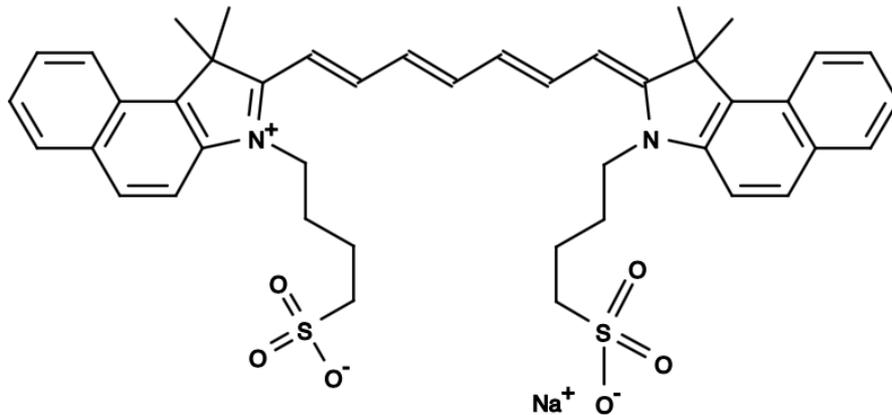
Hauptsächlich wird ICG heute als Fluoreszenzagens im Rahmen der Video-Fluoreszenz Angiographie (VFA) zur Darstellung von Gefäßen sowie zur Prüfung ihrer Durchgängigkeit

genutzt. Dabei wird der fluoreszierende Farbstoff intravenös (i.v.) injiziert und am Zielort durch eine Infrarot-Lichtquelle zur Fluoreszenz angeregt.

Indocyaningrün besitzt eine Molekulardichte von 775 Dalton und weist eine komplexe chemische Struktur auf. Es besteht aus zwei polyzyklischen, lipophilen Teilen sowie aus einem durch Sulfatgruppen gebildeten, hydrophilen Teil. Es handelt sich somit um ein Molekül mit amphiphilem Charakter, was seine hohe Bindungsaffinität zu Plasmaproteinen, Lipoproteinen und Phospholipiden erklärt (Desmettre et al., 2000). Meist liegt es in Pulverform vor und wird zur i.v. Applikation in Aqua destillata gelöst. Nach der i.v. Injektion von ICG bindet dieses hauptsächlich an die zirkulierenden Plasmaproteine. Hauptträger sind zu 95% beta-Apolipoprotein B und zu einem kleineren Teil Albumin. Durch seine effektive Plasma Halbwertszeit von 2-4 min unterbleibt eine Kumulation im Körper und die Möglichkeit einer mehrmaligen Applikation ist gegeben (Cherrick et al., 1960). Durch die hepatische Metabolisierung und die biliäre Elimination, die durch die lipophilen Eigenschaften der Substanz bedingt sind, kommt es zu einem raschen Abbau bereits wenige Sekunden nach Injektion des Bolus. Aufgrund seiner starken Proteinbindung verbleibt ICG ausschließlich intravasal und eine Diffusion in umliegendes Gewebe unterbleibt. Diese Eigenschaft macht es zu einem geeigneten Indikator für die Gefäßperfusion bei gesunden Patienten (Holm, 2002).

Indocyaningrün zeigt ein Absorptionsspektrum im Nahinfrarotbereich (600-900nm), welches vom Lösungsmedium, der ICG Konzentration sowie den Interaktionseigenschaften mit den Blutbestandteilen und dem Endothel abhängt. Zum Absorptionsmaximum von ICG bestehen in der Literatur unterschiedliche Angaben. In wässriger Lösung wird es bei 780nm angegeben, an Albumin gebunden bei 805 und in Plasma bei 850nm (Gentile et al., 1985) (Sutterer et al., 1966). Unter idealen Voraussetzungen besteht eine Proportionalität zwischen absorbiertes und emittierter Strahlung. Da die Strahlungsquelle bei den jeweiligen Anregungswellenlängen unterschiedliche Intensitäten aufweist, sind diese Maxima unter realen Bedingungen nicht gegeben. Das Fluoreszenzmaximum von ICG liegt in Wasser somit bei 810nm und in Blutlösung bei 830nm (Hollins et al., 1987). Bei ICG handelt es sich generell um eine gut verträgliche, nicht toxische Substanz. Das Auftreten von Nebenwirkungen wird in der Literatur nur selten beschrieben und geht laut Hersteller mit einem Risiko von 1:42000 einher. In sehr seltenen Fällen kann es zu anaphylaktischen Reaktionen wie Urtikaria, Gesichtsröte, Übelkeit, Hitzewallungen und Kopfschmerzen oder schockartigen Symptomen wie Hypotension und Tachykardie kommen. Die tägliche maximale Dosis von 5mg/kg Körpergewicht sollte deshalb nicht überschritten werden (Simal Julian et al., 2015).

Besonders bei Patienten mit Niereninsuffizienz wurden häufiger Nebenwirkungen beobachtet, so dass die Indikation hier mit Vorsicht gestellt werden sollte (Benya et al., 1989).



*Abbildung 2: chemische Struktur des Fluoreszenzfarbstoffes Indocyaningrün*

### 1.3.2.2. Anwendungsbereiche

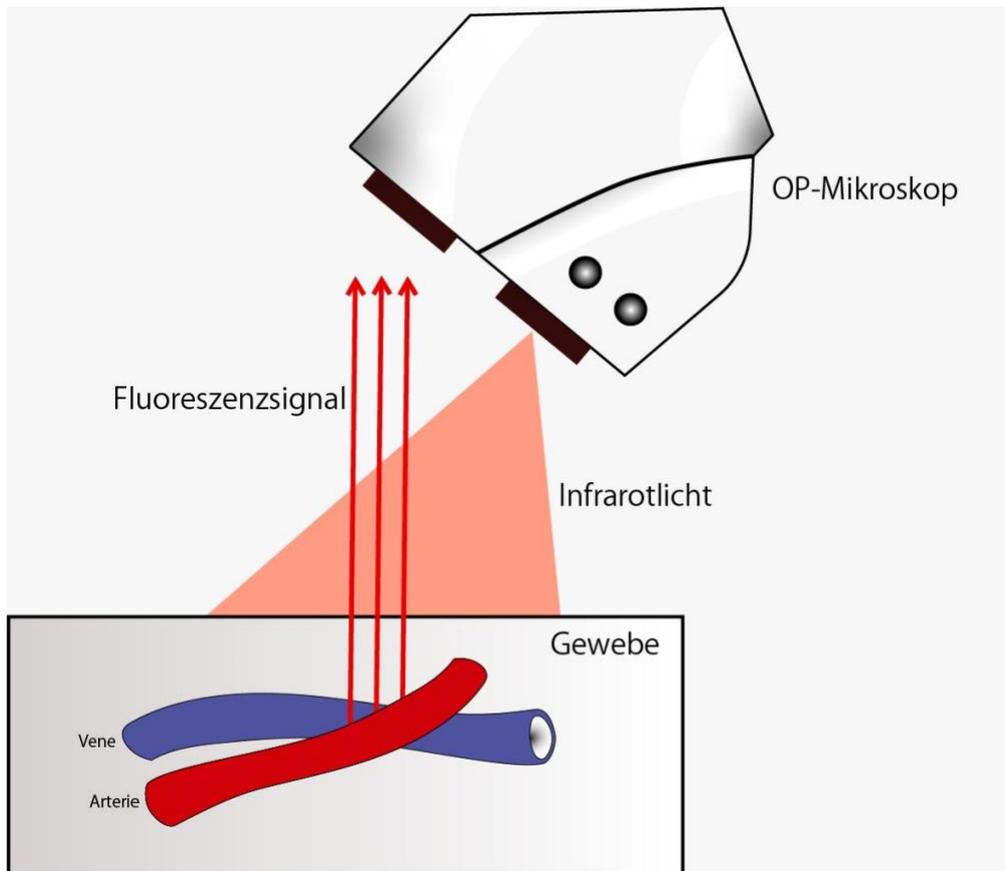
Indocyaningrün wurde durch seine Unabhängigkeit vom Hämoglobinspiegel und von schwankenden Sauerstoffsättigungen des Blutes erstmalig in der Kardiologie zur Bestimmung des Herzzeitvolumens verwendet (Fox et al., 1957). Heute dient es in der Herzchirurgie zur Prüfung der Durchgängigkeit von koronaren Bypässen (Yamamoto et al., 2011). Aber auch in anderen Fachdisziplinen findet es vermehrt Anwendung. In der Ophthalmologie ist es seit 1970 ein etabliertes Diagnostikum zur Darstellung der choroidalen und retinalen Gefäße des Augenhintergrunds sowie zur Erkennung entzündlicher Veränderungen.

Durch seine spezielle Pharmakokinetik mit nahezu vollständiger hepatischer Aufnahme, ausschließlicher biliärer Ausscheidung und fehlender enterohepatischer Rezirkulation eignet es sich zur Leberfunktionstestung sowie zur Beurteilung ihrer Durchblutungssituation (Ketterer et al., 1960). In der neurochirurgischen Diagnostik ist eine intraoperative Erkennung der Perfusion von tumorversorgenden Gefäßen und des umliegenden Gewebeareals sowie der Detektion von arteriovenösen Malformationen oder dem Clipping von Aneurysmata möglich (Fischer et al., 2018) (Shah & Cohen-Gadol, 2019). Auch im Rahmen der Detektion des Sentinel Lymphknotens sowie der Darstellung lymphatischer Gefäße bei Mammakarzinomen, Melanomen sowie gastrointestinaler solitärer Tumoren bietet ICG eine gute Detektionsrate und Sensitivität (Hirche et al., 2010; Murawa et al., 2009).

In der plastischen rekonstruktiven Chirurgie wird der Fluoreszenzstoff zur Prüfung der Durchgängigkeit von mikrochirurgischen Anastomosen im Rahmen von freien Lappenplastiken sowie zur Beurteilung der Durchblutungssituation des Gewebes verwendet (Dornseifer et al., 2017; Holm, 2002).

Zu den Vorteilen der Video-Fluoreszenz Angiographie (VFA) können das breite Anwendungsspektrum sowie die gute Verträglichkeit gezählt werden. Da bereits kleine Konzentrationen des Stoffes sichtbar gemacht werden können, verfügt ICG zudem über eine hohe Sensitivität und macht eine unmittelbare Beurteilung der Durchblutungssituation möglich. Für eine korrekte intraoperative Einschätzung gilt es allerdings auch die limitierenden Faktoren zu berücksichtigen. Zum einen bedarf es für ein ausreichendes Sichtfeld einer Freilegung der darzustellenden vaskulären Strukturen. Des Weiteren folgt die vaskuläre Anreicherung in einem additiven Muster, in dem sich kapilläre, arterielle und venöse Phase überlappen. Die vaskuläre Füllungsgeschwindigkeit ist zudem sehr hoch (Faber et al., 2011), so dass besonders bei der Beurteilung mehrerer oder weiter auseinanderliegender Strukturen die wiederholte ICG-Applikation notwendig wird (Rodriguez-Hernandez & Lawton, 2012). Da nach jeder erneuten Injektion eine Auswaschphase von 10min eingehalten werden muss, kann dies zu erheblich verlängerten Operationszeiten führen (Simal Julian et al., 2015). Residuelles ICG kann Artefakte in darauf folgenden Prozeduren verursachen (Chen et al., 2011).

- Einleitung-



**Abbildung 3: Funktionsweise der Indocyaningrün Fluoreszenzangiografie:** Das OP-Mikroskop emittiert Infrarotlicht, welches arterielle und venöse Gefäße im Gewebe erreicht und die an die Plasmaproteine gebundenen ICG-Moleküle zur Fluoreszenz anregt. Das Fluoreszenzsignal wiederum wird vom Operationsmikroskop erfasst und ermöglicht die Beurteilung der Gewebepfusion.

### 1.3.3. Gewebe-Photospektrometrie

Das O2C<sup>®</sup> (engl. Für „oxygen to see“, LEA Medizintechnik, Gießen) ist ein optisches Diagnosegerät, welches die Eigenschaften der Laser-Doppler-Spektroskopie mit der Weißlichtspektrometrie kombiniert. Mittels zweier Glasfasersonden misst es non- invasiv folgende Parameter der Gewebepfusion:

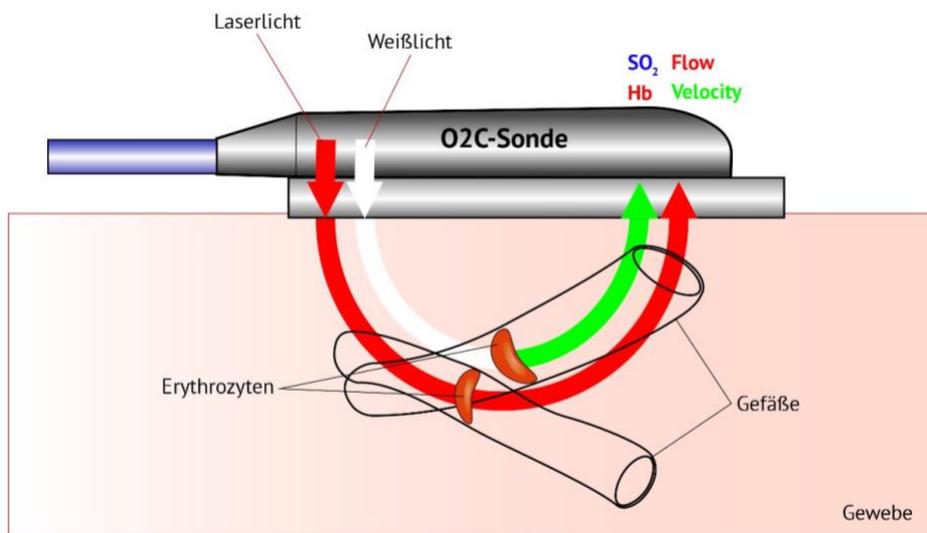
- Sauerstoffsättigung des Hämoglobins microHbO2 [%]
- Relative Hämoglobinmenge rHB [AU]
- Relativen Blutfluss, Flow [AU]
- Blutflussgeschwindigkeit, Velocity [AU]

Die Messung der Blutflussgeschwindigkeit sowie das Blutflussvolumen beruhen auf dem Prinzip des Doppler-Effekts.

Das Weißlicht erfährt zum einen durch die Streuung über Mitochondrien und die von der Sauerstoffkonzentration abhängigen Absorption durch Hämoglobin eine Veränderung der Wellenlänge (Krug, 2007).

Damit wird es möglich über eine Messung der Lichtreflexion die lokale Sauerstoffversorgung verschiedener Gewebe und Organe festzustellen. Ursachen für eine Hypoxie, wie eine venöse Stauung, eine Ischämie oder ein erhöhter Metabolismus bedingt durch Tumoren oder entzündliche Prozesse können festgestellt werden. Aber auch eine Hypoxie so wie Hyperämie oder ein herabgesetzter Metabolismus aufgrund von Nekrose können diagnostiziert werden.

O2C kann in allen Bereichen des weichen Gewebes wie Fettgewebe, Muskelgewebe und Mukosa verwendet werden (Hölzle et al., 2012; Ritschl et al., 2018).



**Abbildung 4: Funktionsweise der Gewebe-Photospektrometrie:** Durch die O2C-Sonde wird Weißlicht als auch Laserlicht in das Gewebe eingestrahlt. Mitochondrien streuen das Licht, so dass sich dessen Richtung und Intensität ändert. In Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung absorbiert das in den Erythrozyten vorhandene Hämoglobin das Licht und führt zur Änderung der Wellenlänge und somit dessen Farbe. Durch die Änderung der Wellenlänge des eingestrahelten Lichts können Blutflussgeschwindigkeit (Velocity) und Blutflussvolumen (Flow) bestimmt werden. Vereinfacht und modifiziert nach Krug (Krug, 2007).

#### 1.3.4. Digitale Subtraktionsangiographie

Die digitale Subtraktionsangiographie (DSA) dient der Beurteilung des Gefäßstatus mittels jodhaltiger Kontrastmittel und wird zu den invasiveren Verfahren der Projektionsradiographie gezählt. Hierzu wird zunächst ein Leerbild der zu untersuchenden Blutgefäße ohne jegliches Kontrastmittel angefertigt. Es folgt die intraarterielle Applikation jodhaltigen Kontrastmittels und die rasche Aufeinanderfolge von Aufnahmen zur Dokumentation dessen Verteilung. Am Computer wird die digitale Leeraufnahme bzw. das „Maskenbild“ vom kontrastmittelreichem

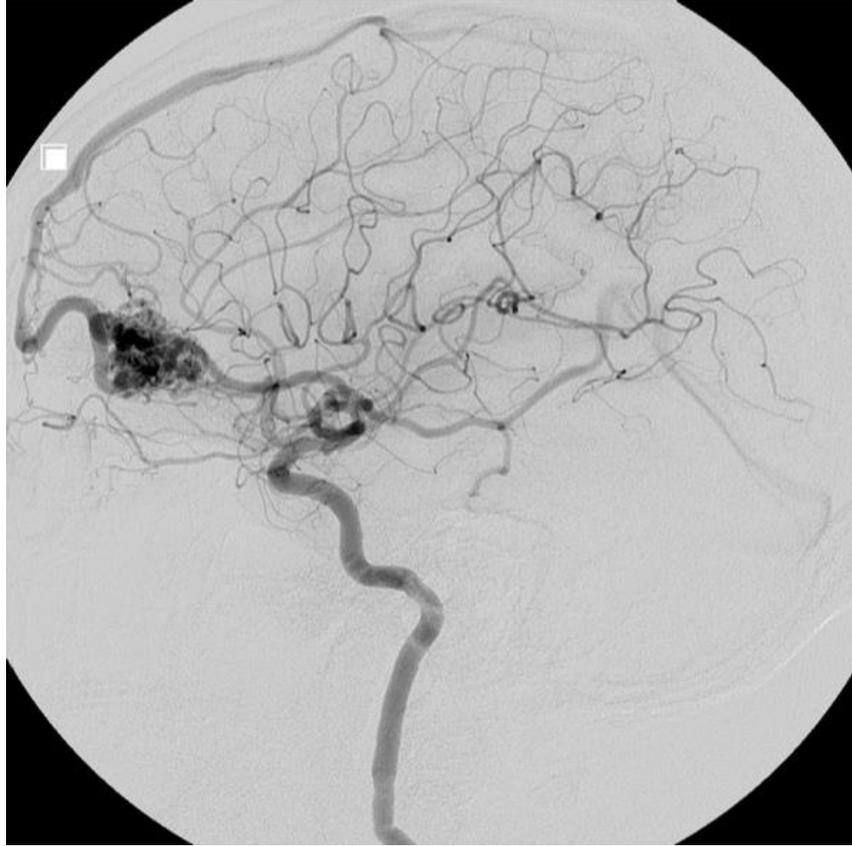
Füllungsbild subtrahiert. Dies ermöglicht eine nahezu selektive Darstellung der zu untersuchenden Gefäße. Durch mehrere Bildsequenzen zu verschiedenen Zeitpunkten können filmähnliche Sequenzen erzeugt werden und der Füllungszustand der Gefäße dargestellt werden.

Hierdurch gelingt eine vollständige Elimination aller nicht durch das Kontrastmittel hervorgerufenen Bildsignale und somit eine Verstärkung des Kontrastes. Selbst kleine Gefäßabgänge können hierdurch überlagerungsfrei dargestellt und durch Beurteilung der Kontrastmittelverteilung Rückschlüsse über deren Durchblutungssituation gezogen werden. Stenosen oder Gefäßverschlüsse stellen sich als Lumeneinengung, Abbruch oder als vollständiges Fehlen der Gefäße dar.

Vorteil der DSA gegenüber der Computertomographie (CT) oder Magnetresonanz (MR) Angiographie ist neben der größeren diagnostischen Aussagekraft die Möglichkeit zur direkten Intervention im Falle stenosierender oder aneurysmatischer Gefäßveränderungen sowie Blutungen. Eine Ballondilatation, das Einbringen von Stents oder das Coiling von Aneurysmata ist direkt möglich (Mishra et al., 2017; Uricchio et al., 2019).

Vor allem bei eng aneinander liegenden Gefäßen oder Hirnarterienaneurysmata kann durch Anwendung bei der Rotationsangiografie eine dreidimensionale Rekonstruktion der Gefäße erfolgen (Krukenmeyer, 2004).

Als Nachteile sind die Invasivität des Verfahrens und die mit der arteriellen Punktion einhergehenden Gefahr der Dissektion, peripheren Embolisation und Perforation sowie der Einsatz von Röntgenstrahlen und jodhaltigem Kontrastmittel anzusehen. Darüber hinaus ist die DSA mit einem hohen Zeitaufwand und personellen Kosten verbunden. (Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Holzle, et al., 2010; Yanaka et al., 2003)



*Abbildung 5: Digitale Subtraktionsangiografie mit Darstellung der A. carotis interna. Im linken Frontallappen lässt sich hier eine arteriovenöse Malformation erkennen.*

## 1.4. Problematik

Die Entwicklung mikrovaskulärer Techniken nahm in den letzten Jahrzehnten einen rasanten Lauf und findet heute in den verschiedensten operativen Fachdisziplinen Anwendung.

Im Rahmen der Rekonstruktion von Defektsituationen im Kopf- und Halsbereich ist der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer zu einer erfolgreichen und zuverlässigen Methode geworden und stellt heutzutage in den meisten spezialisierten Zentren den Goldstandard bei komplexen Wund- und Defektsituationen dar (Eckardt & Fokas, 2003; Khouri et al., 1998; Wolff, Hölzle, et al., 2008).

Grundlegende Voraussetzung für den Erfolg rekonstruktiver mikrovaskulärer Eingriffe ist die Aufrechterhaltung eines intakten Blutflusses innerhalb der das Transplantat versorgenden Gefäße (Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Holzle, et al., 2010).

Trotz der stetigen Weiterentwicklung mikrovaskulärer Techniken und Instrumentariums stellt die Kompromittierung des Blutflusses durch Thrombosierung des Gefäßstiels jedoch noch immer die Hauptursache für einen Lappenverlust dar. Diese wird unter anderem durch technische Fehler mit der Gefahr einer Endotheltraumatisierung begünstigt. Mikrochirurgische Grenzsituationen wie der gefäßverarmte, vorbestrahlte Hals nach Kopf-Hals-Tumoren gehen ebenfalls mit einer hyperkoaguablen Gefäßsituation einher und fordern häufig den Einsatz von Veneninterponaten, welche ein erhöhtes Thromboserisiko aufweisen (Kessler et al., 2013; Khouri et al., 1998; Sturtz et al., 2012).

Wolff et al. und andere Autoren konnten zeigen, dass der Großteil der thromboembolischen Ereignisse bereits in den ersten Stunden nach Anastomosierung festgestellt werden konnten. Deshalb liegt ein besonderes Interesse auf der frühzeitigen, reproduzierbaren und objektiven intraoperativen Beurteilung der Durchgängigkeit und des Blutflusses im Bereich der Anastomosen (Mücke et al., 2013; Wolff, Hölzle, et al., 2008).

Die intraoperative Anwendung der ICG-Angiografie, die in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen hat, ermöglicht in Kombination mit dem FLOW 800 Tool eine qualitative sowie quantitative Beurteilung des Blutflusses und kann endogene (z.B. Endotheldefekte) sowie exogene (z.B. Anastomosen) Komplikationen detektieren (Mücke et al., 2013; Mücke et al., 2017). Die Anwendung des FLOW 800 Softwaretools unter verschiedenen, den Blutfluss beeinträchtigenden mikrochirurgischen Situationen war unter anderem Gegenstand dieser Arbeit und ergab folgende Fragestellungen:

- Einleitung-

1. Ist die ICG-Angiographie in Kombination mit dem FLOW 800 Tool eine zuverlässige Methode für die Detektion von Endothelschäden und daraus resultierenden Thrombosen und Flussveränderungen?
2. Birgt das Einbringen von Veneninterponaten, das Setzen von Endothelschäden oder die Kombination beider Faktoren das höhere Thromboserisiko?
3. Welche Auswirkung haben Veneninterponate und Endotheldefekte auf den Blutfluss?
4. Inwiefern stimmen die angiografischen Veränderungen mit den klinischen Beobachtungen überein?

## **2 Material und Methodik**

### **2.1. Versuchsmodell und Studienaufbau**

Das Gefäßmodell der Ratte diente als mikrochirurgisches Versuchsmodell.

Es handelt sich hierbei um eines der an den häufigsten verwendeten Modellen in mikrochirurgischen tierexperimentellen Studien (Mücke et al., 2008; Zhang et al., 1994).

#### **2.1.1. Versuchstiere**

Als Versuchstiere dienten männliche Wistar Ratten. Die Wistar Ratte wird in der Onkologie, Gerontologie, Immunologie sowie verhaltenstherapeutischen Forschung verwendet. Darüber hinaus stellt Sie das am häufigsten verwendete Versuchstier bei mikrochirurgischen Versuchen und Training dar (Biemer E, 1982). Durch Ihre einheitlichen anatomischen Verhältnisse sowie dem einfach zugänglichen Gefäßsystem stellt Sie für diese Zwecke ein geeignetes Modell dar und ist in der Haltung einfach zu handhaben.

Nachdem die Tiere durch „Charles River Laboratories International, Inc.“ angeliefert wurden, wurde ihnen eine mehrwöchige Eingewöhnungszeit gewährt. Das Gewicht der Tiere betrug zu Beginn 280-320g und zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung altersabhängig zwischen 300-350g. Die Tierexperimente wurden im Rahmen des Tierschutzgesetzes durch die Regierung von Oberbayern genehmigt (Aktenzeichen: 55.2-1-54-2532-3-35-08) und alle Tiere gemäß der EU-Richtlinien behandelt.

Die Tiere wurden gemäß EU Richtlinien der Federation of European Laboratory Animal Science Associations (FELASA) in filter-top Käfigen aus Makrolon unter spezifischen keimfreien Bedingungen bei einer Raumtemperatur von ca.  $22 \pm 1^{\circ}\text{C}$  ,  $46 \pm 20\%$  relativer Luftfeuchtigkeit und 12h hell/dunkel Zyklus im Zentrum für präklinische Forschung der Technischen Universität München untergebracht. Neben Beschäftigungsmöglichkeiten wurde Nahrung in Form von Pellets (Altromin; Altromin Spezialfutter GmbH&Co. KG, Lage, Germany) sowie Wasser in ausreichendem Maße und zur freien Verfügung (ad libitum) gestellt. Gelegentlich erfolgte eine Zufütterung mit Heu.



*Abbildung 6: Die männliche Wistar Ratte als Versuchstier*

### **2.1.2. Narkose**

Zu Beginn wurden die Ratten in einer Ganzkörperkammer durch das volatile Ästhetikum Isofluran betäubt (Isofluran CP® 100%, CP-Pharma Handelsgesellschaft mbH, Burgdorf, Deutschland). Somit konnte nach Ermittlung des Gewichts die individuelle Dosierung für die langfristige Narkose mittels Ketamin/Xylazin berechnet werden.

Alle Ratten wurden vor den mikrochirurgischen Eingriffen initial mit einer individuellen gewichtsadaptierten intraperitonealen Dosis von 1ml Ketamin (Ketaminhydrochlorid, Narketan®; Vetoquinol GmbH, Ismaning, Deutschland) 10% kg/KG und 0,3 ml Xylazin (Sedaxylan® 2%; Dechra Veterinary Products GmbH, Aulendorf, Deutschland) 2% kg/KG anästhesiert. Alle nachfolgenden chirurgischen Eingriffe wurden bei Bedarf mit intravenöser Verabreichung von einer Achtel Dosis 10%igem Ketamin 100mg/kg (Narketan, Fa. Vétquinol GmbH, Ravensburg, Germany) über den zuvor gelegten intravenösen femoralen Zugang (Premicath; VYGON GmbH & Co. KG; Aachen, Germany) unterstützt und unter aseptischen Bedingungen durchgeführt (Ritschl et al., 2015). Die Tiere atmeten spontan ohne tracheale Intubation.

Nach Einleitung der Narkose und Vorbereitung des Arbeitsplatzes wurden die Ratten in der Leistenregion sowie abdominal mit einem Einmalrasierer rasiert und in Rückenlage auf einer Arbeitsunterlage aus Kork platziert. Die unteren Extremitäten wurden mit Stoffbändern aus dem Operationsgebiet gehalten. Während der Durchführung des Versuchs wurde regelmäßig das Narkosestadium überprüft und bei Bedarf Narkotikum nachgegeben.

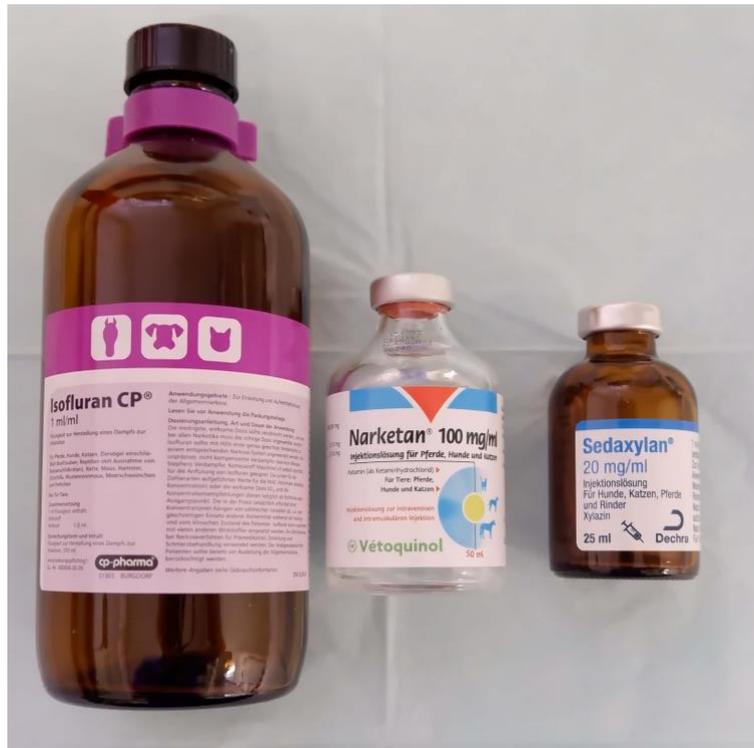


Abbildung 7: Verwendete Narkosemittel

## 2.2. Versuchsdurchführung

### 2.2.1. Anlage des Femoralkatheters

Um eine Aufrechterhaltung der Narkose zu gewährleisten und das ICG zu verabreichen wurde ein Femoralkatheter gelegt. Hierfür wurde zur Orientierung zunächst die durch die Haut sichtbare V. saphena aufgesucht. Für die Anlage des Katheters wurde dann ein 2-3 cm langer Hautschnitt parallel zu den Femoralgefäßen von medio-kranial nach latero-kaudal durchgeführt. Anschließend wurden zuerst die Haut und dann die Subkutis bis auf die oberflächliche Muskelfaszie präpariert und nach der Eröffnung die tiefe Präparation zwischen M. vastus medialis und M. adductor longus vorgenommen. Dort konnten A. und V. femoralis unterhalb des Leistenbandes zwischen M. vastus medialis, M. adductor longus, adductor magnus und rectus femoris aufgefunden und dargestellt werden. Es erfolgte eine Freilegung bis zum Abgang der epigastrischen Gefäße.

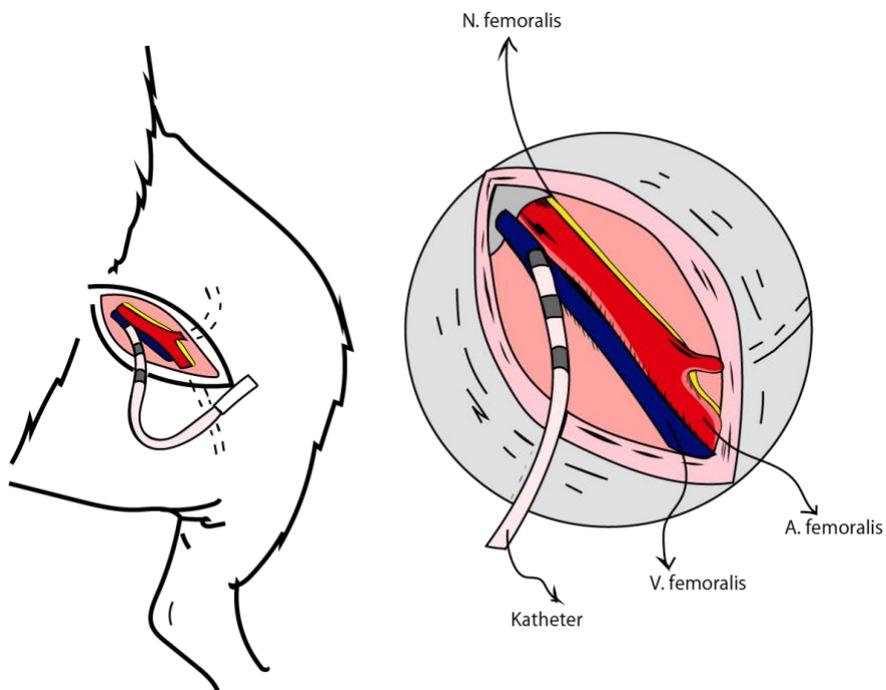
Die Trennung der A. femoralis von der V. femoralis wurde unter dem Mikroskop durchgeführt. Seitenäste der V. femoralis, insbesondere der A. und V. iliaca circumflexa profunda femoris, wurden mit Ethilon 9-0 Faden (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) ligiert. Proximal und distal der geplanten Inzisionsstelle wurden einfache Acland-Clips angebracht. Nach der

- Material und Methodik-

Längsinzision des Gefäßes mit der Schere wurde der Permikath®- Katheter 4-5cm bis zur V. cava vorgeschoben und mit einem vorgelegten Knoten etwas proximal an der Eintrittsstelle fixiert. Der Schnitt wurde mit einer feuchten Kompresse bedeckt.



*Abbildung 8: Permikath®- Katheter*



*Abbildung 9: Skizze des Operationssitus im Femoralbereich der Ratte nach Anlage des Femoralkatheters*

### 2.2.2. Präparation der aorta abdominalis

Zunächst wurde die Medianlinie aufgesucht und mithilfe eines Skalpell ein ca. 4 cm langer Schnitt in der unteren ventralen Mittellinie im Sinne einer Laparotomie gesetzt. Danach wurde die Bauchmuskulatur an der Linea alba durchtrennt und das Abdomen eröffnet. Die Wundränder wurden mit Haken und feuchten Kompressen unter sanftem Gummizug offengehalten. Die inneren Organe wurden schonend und ohne Druck mit einem befeuchteten Wattestäbchen in den oberen Bauchraum verlagert. Anschließend wurden Dünndarm und Dickdarm mithilfe von in Kochsalzlösung getränkten Tupfern seitlich intraperitoneal verlagert, um freie Sicht auf das Retroperitoneum mit den großen Gefäßen zu erhalten. Das retroperitoneale Fett wurde beiseitegeschoben, um die Aorta und die V. cava sichtbar zu machen.

Die Aorta wurde nun nach Eröffnung der Gefäßscheide vorsichtig von der V. cava freipräpariert und alle in diesem Abschnitt liegenden aortalen Gefäßabgänge, meist 1–3 kleinere Äste, ligiert und durchtrennt. Die Präparation erfolgte in der Regel zwischen der Aortenbifurkation und den Abgängen der Nierenarterien. Nach der peripheren Präparation eines ausreichend langen Abschnittes der infrarenalen Aorta sowie der Vena cava wurde die Aorta mithilfe einer Approximatorklemme nach Acland temporär proximal und distal abgeklemmt.

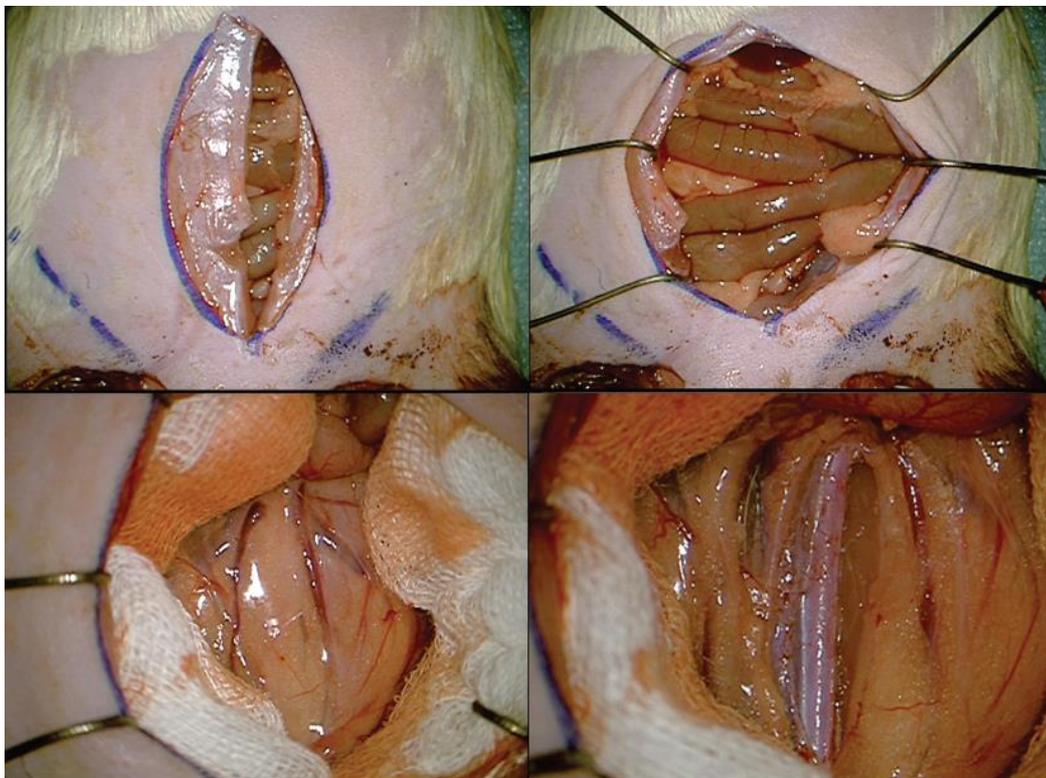
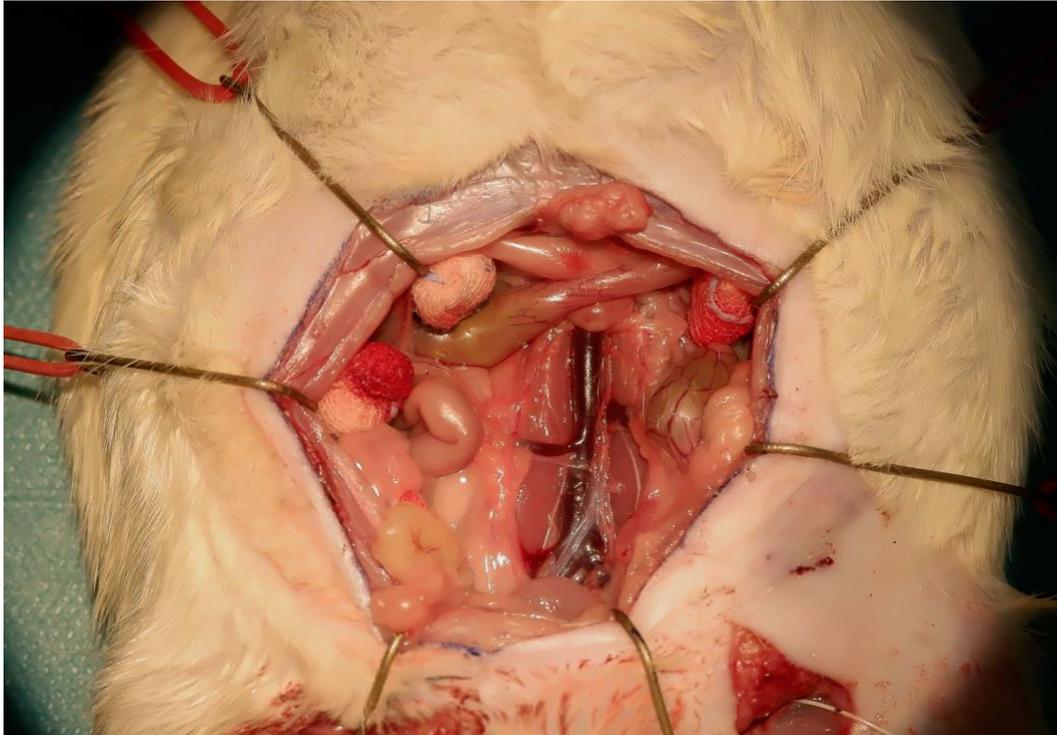


Abbildung 10: Einzelne Schritte der Präparation der aorta abdominalis (v.o.n.u., v.r.n.l)



*Abbildung 11: Mediane Laparotomie nach Eröffnung des Retroperitoneums*

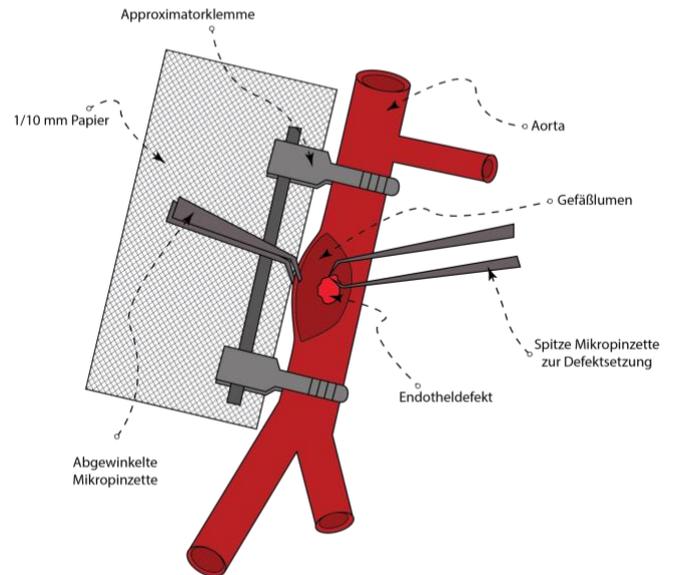
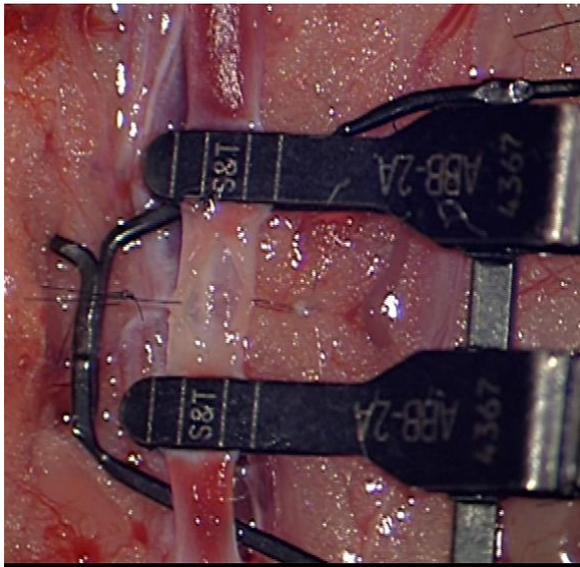
### **2.2.3. Kollektiv**

#### *2.2.3.1. Gruppe I - Endotheldefekt*

In der ersten Versuchsgruppe wurde die Aorta zunächst durch Stichinzision mit einem 11-er Skalpelli (Feather®, Osaka) und danach durch einen Längsschnitt mit der Mikroschere eröffnet. Das Lumen wurde dargestellt und mit physiologischer heparinhaltiger Kochsalzlösung gespült. Die Schnitttränder wurden bei Bedarf durch temporäre Haltenähte an der Adventitia im Retroperitoneum fixiert, um das Gefäß für die geplante endotheliale Defektsetzung offen zu halten.

Daraufhin wurden vergleichbar große, runde Endotheldefekte gesetzt, indem unter Verwendung einer mikrochirurgischen spitzen Pinzette die Intima angeritzt wurde. So konnte die innerste Schicht von den darunter liegenden Schichten getrennt werden. Nach dem genannten Eingriff wurde der longitudinale Schnitt mit 10-0 Ethilon (Ethilon; Ethicon Division of Johnson & Johnson, Livingston, Scotland) verschlossen.

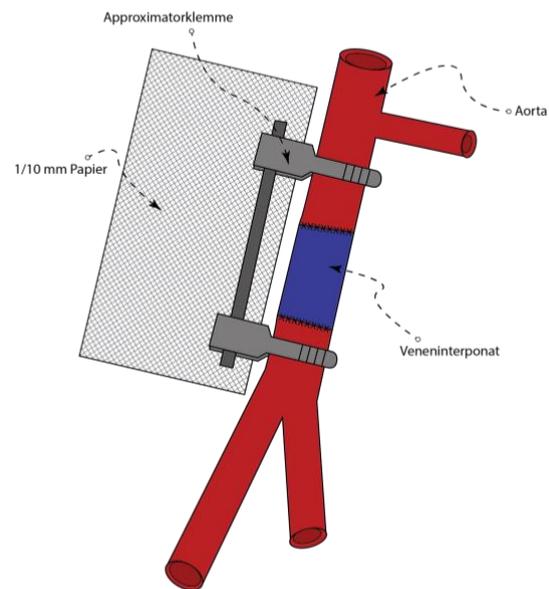
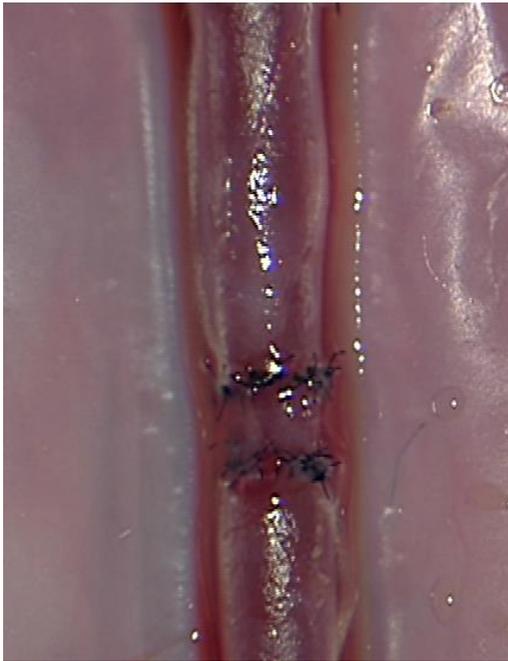
Je nach Größe des longitudinalen Schnittes und der anschließend geprüften Dichtigkeit wurden 8–10 Einzelknopfnähte benötigt. Die Dichtigkeit wurde durch Eröffnen der distalen Klemme und darauf folgendes Eröffnen der proximalen Klemme im Sinne eines Sealing Manuevers überprüft und unterstützt (Mücke et al., 2008). Bei einer Leckage wurden Einzelknopfnähte hinzugefügt.



**Abbildung 12:** Endotheldefektsetzung im Bereich der infrarenalen Aorta mit lateral am Retroperitoneum fixierten Gefäßrändern (links), Skizze der Defektsetzung (rechts)

#### 2.2.3.2. Gruppe II - Veneninterponat

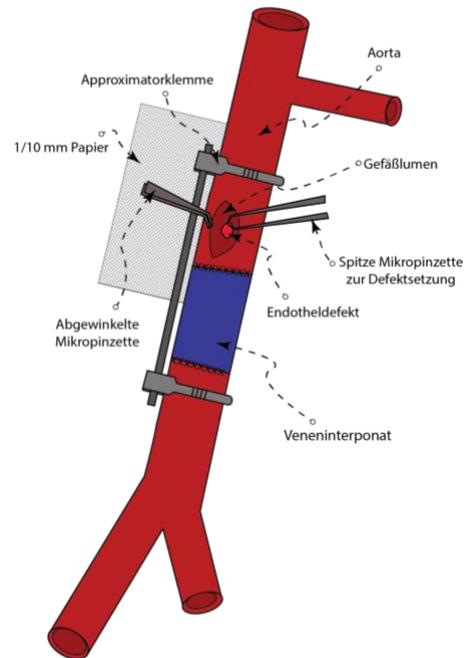
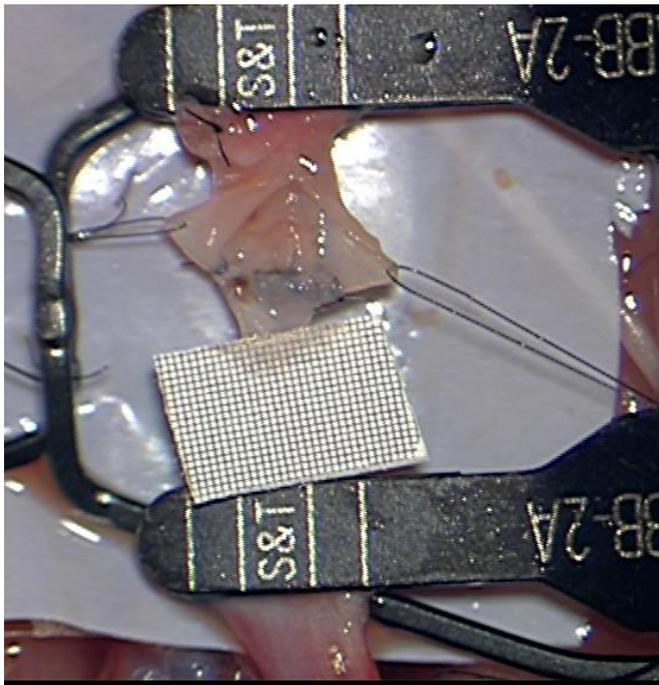
In der zweiten Versuchsgruppe wurde nach mikrochirurgischer Entfernung eines Abschnittes der Aorta ein ca. 10 mm langes, aus der Femoralvene stammendes Veneninterponat eingesetzt und mit 11-0 Ethilon (Ethilon; Ethicon Division of Johnson & Johnson, Livingston, Scotland) mit End- zu- End Technik anastomosiert, um den thrombogenen Effekt des Nahtmaterials zu minimieren.



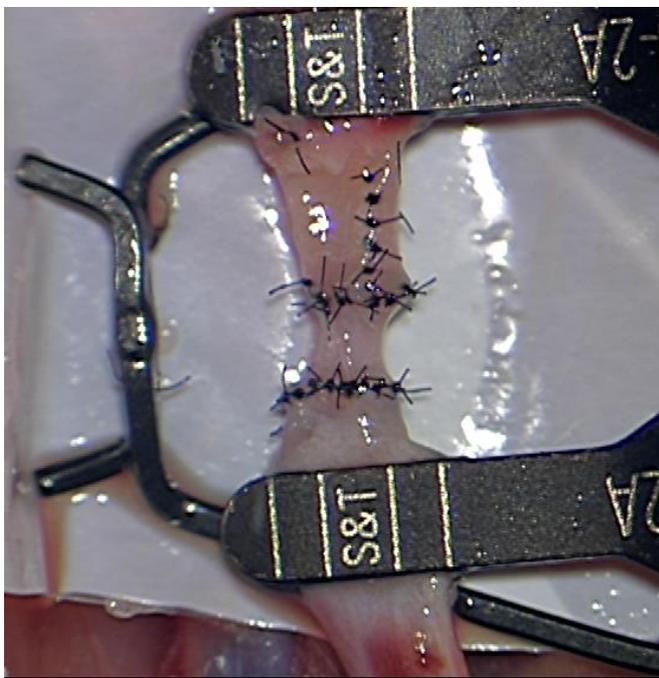
**Abbildung 13:** *Aorta abdominalis mit eingesetztem Veneninterponat aus der Femoralvene (links), Skizze des eingesetzten Veneninterponats (rechts)*

#### 2.2.3.3. Gruppe III - Endotheldefekt und Veneninterponat

In der dritten Gruppe wurde die Aorta zunächst in analoger Weise zu Gruppe I longitudinal eröffnet, um einen Endotheldefekt zu setzen und danach mit 11-0 Ethilon verschlossen. Ein Teil des darunterliegenden Abschnitts der Aorta wurde daraufhin entfernt und durch ein aus der Femoralvene entnommenes Veneninterponat ersetzt. Die Anastomosierung erfolgte hierbei wiederum mit Ethilon 11-0.



*Abbildung 14: Freigelegte und eröffnete aorta abdominalis mit gesetztem Endotheldefekt (links), Skizze der Defektsetzung mit eingesetztem Veneninterponat*



*Abbildung 15: Freigelegte Aorta nach Defektsetzung und eingesetztem Veneninterponat*

#### **2.2.4 ICG-Angiographie und Blutflussmessung mittels FLOW 800**

Nach Abschluss der Gefäßnaht wurden die Gefäßclips entfernt und der Blutfluss über einen Zeitraum von 60 min wiederhergestellt. Eine Stunde später wurden an allen Versuchstieren einmalig eine Angiographie und Blutflussmessungen mithilfe des FLOW 800 durchgeführt.

Das ICG (ICG-PULSION; Pulsion Medical System AG; Munich, Germany) wurde intravenös als Bolus über den zu Beginn gesetzten Mikrokatheter in die Femoralvene injiziert (0,3mg/kg Körpergewicht, 25mg gelöst in 5ml sterilem Wasser) und mit NaCl nachgespült. Das Fluoreszenzsignal des injizierten ICG Farbstoffs wurde über einen Zeitraum von 2 Minuten mit 25 Bildern pro Sekunde in arbitrary units (AU) mit der Nahinfrarot-Kamera des Operationsmikroskops erfasst. Über den Monitor konnte die Angiographie in Echtzeit mitverfolgt werden. Die Fluoreszenzintensität wurde dabei durch verschiedene Grauwerte repräsentiert, wobei hellere Farbstufen eine hohe Fluoreszenzintensität anzeigen.

Anschließend wurde mit dem integrierten FLOW 800 Software tool (FLOW 800; Carl Zeiss AG; Oberkochen, Germany) die Sequenz, Richtung und Geschwindigkeit des Blutflusses analysiert.

Durch das manuelle definieren von sog. „ROIs“ (Regions of Interest) am Monitor in je nach Versuchsgruppe unterschiedlichen Aortenabschnitten, konnte eine punktgenaue Analyse der Richtung und von Unterschieden des Blutflusses in den ausgewählten Bereichen erfolgen.

In der ersten und zweiten Versuchsgruppe wurden jeweils 3 ROIs gesetzt. Davon wurde ein ROI proximal des Endotheldefekts bzw. oberhalb der proximalen Anastomose, der zweite ROI in der Defektregion beziehungsweise innerhalb des Veneninterponats, und der dritte distal des Defekts bzw. unterhalb der distalen Anastomose positioniert (Abb. 13, A-D). In Versuchsgruppe III wurden insgesamt 4 ROIs gesetzt. Jeweils ein ROI wurde proximal des Endotheldefekts, distal des Defekts und oberhalb der proximalen Anastomose, innerhalb des Veneninterponats sowie unterhalb der distalen Anastomose platziert.

Die durch das Fluoreszenzsignal der ICG ermittelten Flusswerte innerhalb der ROIs konnten mithilfe des FLOW 800 Programms analysiert und in einem zeitlichen Kurvendiagramm dargestellt werden. Die gewonnenen Kurven wurden danach bezüglich verschiedener Parameter wie dem ersten und zweiten Maximum, der maximalen Steigung und dem maximalen Gefälle sowie der Fläche unter der Kurve untereinander verglichen werden. Der Vergleich der verschiedenen ROIs konnte direkt am Mikroskop erfolgen.

Zusätzlich wurden in einer Verzögerungskarte durch eine Farbskala die verschiedenen Phasen des Blutflusses dargestellt. Der initiale Blutstrom wird hierbei durch die Farbe Rot gekennzeichnet gefolgt von Gelb, Grün und Blau für nachfolgende Sequenzen.

- Material und Methodik-

Für die weitere Analyse wurden die erfassten Daten in Excel (Microsoft Excel 14.2.3. for Mac, Microsoft Corp., Redmond, WA) übertragen. Für jedes ROI wurde das Maximum der ICG Fluoreszenzwerte unter Substraktion des Basiswertes errechnet.

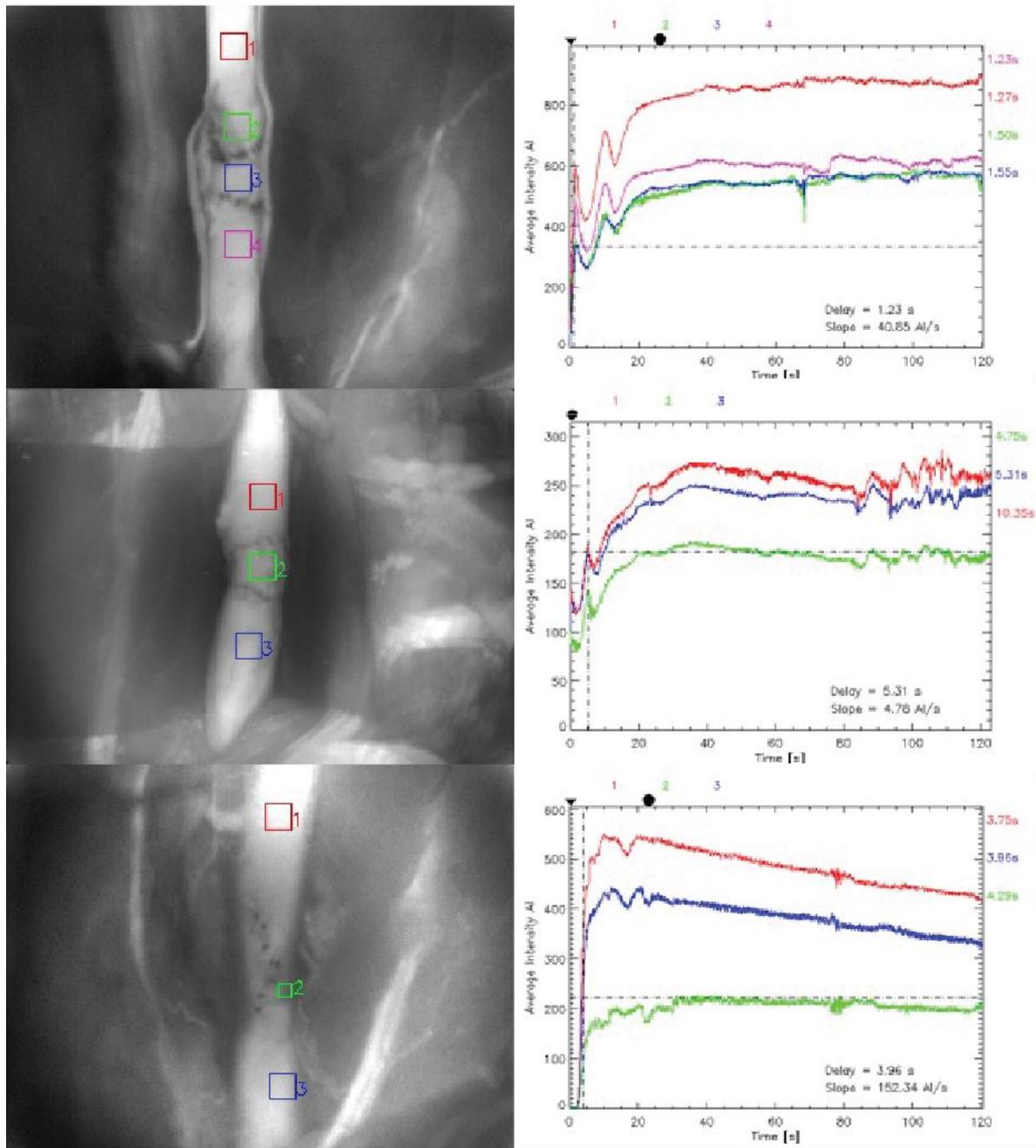


Abbildung 16: Manuell gesetzte ROIs (links) und korrespondierende Kurvendiagramme (rechts) mit der Fluoreszenzintensität über Zeit

### **2.2.5. Ausmessung von Defekten und Thromben**

Die Größe der klinisch sichtbaren Thromben, die Fläche der gesetzten Endotheldefekte sowie der Gefäßdurchmesser wurden mithilfe des Bildbearbeitungsprogramms ImageJ® (Image Processing and Analysis in Java; ImageJ 1.41; National Institutes of Health, Bethesda, MD) berechnet.

Hierzu wurden die in 3%-iger Formaldehydlösung fixierten Gefäßabschnitte nach Abschluss des Experiments durch einen longitudinalen Schnitt entlang der Einzelknopfnähte eröffnet und unter dem Mikroskop auf Thromben untersucht. Endotheldefekte sowie Thromben wurden nach Anlage von 1/10mm-Papier fotodokumentiert. Die Bestimmung der Flächen erfolgte zunächst durch manuelle Ausmessung mittels ImageJ® in Arbeitseinheiten. Diese konnten anschließend durch das zuvor angelegte 1/10mm-Papier in metrische Einheiten des Systems umgerechnet werden.

Das gleiche Vorgehen erfolgte zum Vergleich mit den Videos der ICG-Blutflussanalyse.

Auch hier wurden die durch verschiedene Graustufen abgrenzbare Defekte und Thromben mittels ImageJ® vermessen und mit den klinischen Werten verglichen.

## **2.3. Arbeitsmaterial**

### **2.3.1. Instrumentarium**

Für die makroskopischen Operationen wurden Schere, Skalpell und anatomische Pinzetten verwendet. Das für die mikroskopischen Eingriffe verwendete Instrumentarium wurde von S&T® (Spingler und Tritt, Neuhausen, Schweiz) verwendet. Es kamen unter anderem Mikropinzetten, Mikroscheren, Nadelhalter, Gefäßdilatoren, Gefäßklemmen und Approximatorklemmen sowie Anlegepinzetten zur Verwendung.

Für die Gefäßnähte wurde Nahtmaterial von Ethicon® (Johnson & Johnson Medical GmbH, Norderstedt, Deutschland) in verschiedenen Stärken benutzt.

Zudem wurden Tupfer und Kompressen in verschiedenen Größen, handelsübliche Wattestäbchen zur punktuellen Blutstillung sowie Spritzen verschiedener Volumina als Hilfsmittel verwendet.

- Material und Methodik-



**Abbildung 17: Verwendetes Instrumentarium und Hilfsmaterial:** Skalpell, spitze Schere, Klemmenanlegepinzette, abgewinkelte und gerade Mikropinzette, gebogene und gerade Mikroschere, Permicath®-Katheter (v.l.n.r.)



**Abbildung 18: Verwendete Hilfsmittel**



Abbildung 19: Nahtmaterial verschiedener Größen

### 2.3.2. OPMI® Pentero

Für die Durchführung der Versuche wurde ein Mikroskop vom Typ OPMI® Pentero® 800 von Zeiss (INFRARED 800; Carl Zeiss Meditec AG, Oberkochen, Deutschland) verwendet.

Die apochromatische Optik des Mikroskops, das magnetische Weitwinkelokular und der dynamische Falttubus mit bis zu 39facher Vergrößerung sowie der ausgezeichnete Zoom und Autofokus ermöglichte eine besonders scharfe und detailgetreue Darstellung des Operationsgebiets.

Zur Beleuchtung diente eine zwei Kanal Superlux 330 Xenon Lichtquelle mit automatischer Anpassung an das Sichtfeld sowie Steuerung der Intensität je nach Arbeitsabstand.

Weitere Tools wie Multifunktionshandgriffe ermöglichten eine leichte Führung sowie exakte Positionierung des Sichtfelds selbst bei stärkeren Vergrößerungen.

Über eine integrierte 3-CMOS HD Videokamera konnten intraoperativ hochwertige chirurgische Video- und Standbilder erzeugt und auf der integrierten Festplatte gespeichert werden. Das aufgenommene Material aus der ICG- Analyse konnte mittels Videoausgabe auf einem Touchscreen mit Anschluss für USB-Medien exportiert und analysiert werden.

Das Mikroskop verfügte zusätzlich über eine Near-Infrared Funktion und das Analysewerkzeug FLOW 800, mit dem der Blutfluss erfasst und analysiert werden konnte.

## 2.4. Statistik

Zur Darstellung der Versuchsergebnisse wurde die deskriptive Statistik verwendet.

Für die Berechnung der Sensitivität, Spezifität, dem positiven prädiktiven Wert sowie negativen prädiktiven Wert wurden in folgender Tabelle gezeigte Formeln der Vierfeldertafel angewendet.

		WAHRHEIT			
		Positiv	Negativ	Gesamt	
TEST	Positiv	Richtig Positive (RP)	Falsch Positive (FP)	RP + FP	→ $PPW = \frac{RP}{RP + FP}$
	Negativ	Falsch Negativ (FN)	Richtig Negativ (RN)	FN + RN	→ $NPW = \frac{RN}{FN + RN}$
	Gesamt	RP + FN	FP + RN	N	

$$\text{SENSITIVITÄT} = \frac{RP}{RP + FN}$$

$$\text{SPEZIFITÄT} = \frac{RN}{RN + FP}$$

*Tabelle 1: Vierfeldertafel*

Um die verschiedenen Versuchsgruppen bezüglich ihrer Thrombosewahrscheinlichkeit zu vergleichen, wurde mit dem Fisher Exakt Test gearbeitet.

Für die Analyse der Messungen zwischen zwei abhängigen Stichproben (die Entwicklung des ICG-Fluoreszenzverhaltens innerhalb der Gruppen I, II und III) kam der Wilcoxon-Test zur Anwendung. Ferner diente der Mann-Whitney-U Test zum Vergleich der registrierten korrespondierenden ICG Messwerte (1. Maximum, maximale Steigung und maximales Gefälle sowie die AUC) jeder ROI (1,2,3 und 4) zwischen den Gruppen I–III.

Für die Inzidenz der klinisch nachgewiesenen Thrombosen wurden uni- und multivariate Regressionsanalysen mit der klinisch gemessenen Größe des Endotheldefekts und der Anwendung von venösen Veneninterponaten durchgeführt.

Die statistische Analyse der Daten für den Fisher Exakt Test und die logistische Regression erfolgte mit dem „Statistical Package for the Social Sciences“ Programm IBM SPSS 26.0 für Mac (IBM Corp., Armonk, NY, Vereinigte Staaten).

Als Signifikanzniveau wurde in allen statistischen Tests ein p-Wert unter 0,05 festgesetzt. Alle darunter liegenden Werte wurden als statistisch signifikant und alle darüber liegenden Werte als nicht signifikant definiert. Das Konfidenzintervall wird mit 95% angegeben.

Alle Abbildungen wurden mithilfe von SPSS und Excel erstellt und mit Adobe Illustrator (Adobe Systems Inc., San Jose, CA, Vereinigte Staaten) bearbeitet, um ein einheitliches Layout zu erzielen.



## 3 Ergebnisse

### 3.1. Veränderungen in der ICG-Angiographie

Nach Setzen des Endotheldefekts und/oder Einbringen des Veneninterponats und mikrochirurgischer Naht des Gefäßes wurde nach 60 min Latenzzeit eine ICG-Angiographie (ICGA) durchgeführt. Das ICG-Signal wurde über die Detektion der Fluoreszenz in vorher manuell bestimmten ROI im aufgenommenen Video bzw. Bild ausgewertet. Über die FLOW 800 Software konnte das Fluoreszenzsignal analysiert werden.

Im folgenden Abschnitt werden die in den jeweiligen Gruppen beobachteten Veränderungen in der ICG-Angiografie aufgeführt.

#### 3.1.1. Ausgangszustand

Als Beispiel für den Ausgangszustand wurden die Aufnahmen aus vorangegangenen Studien herangezogen (Mücke et al., 2017). Hierbei zeigen sich in der normalen Aorta abdominalis der Ratte bei der Flussbestimmung regelhaft zwei Maxima, das Zweite kleiner als das Erste, sowie danach eine Abflutung („decrease“) des Fluoreszenzsignals.

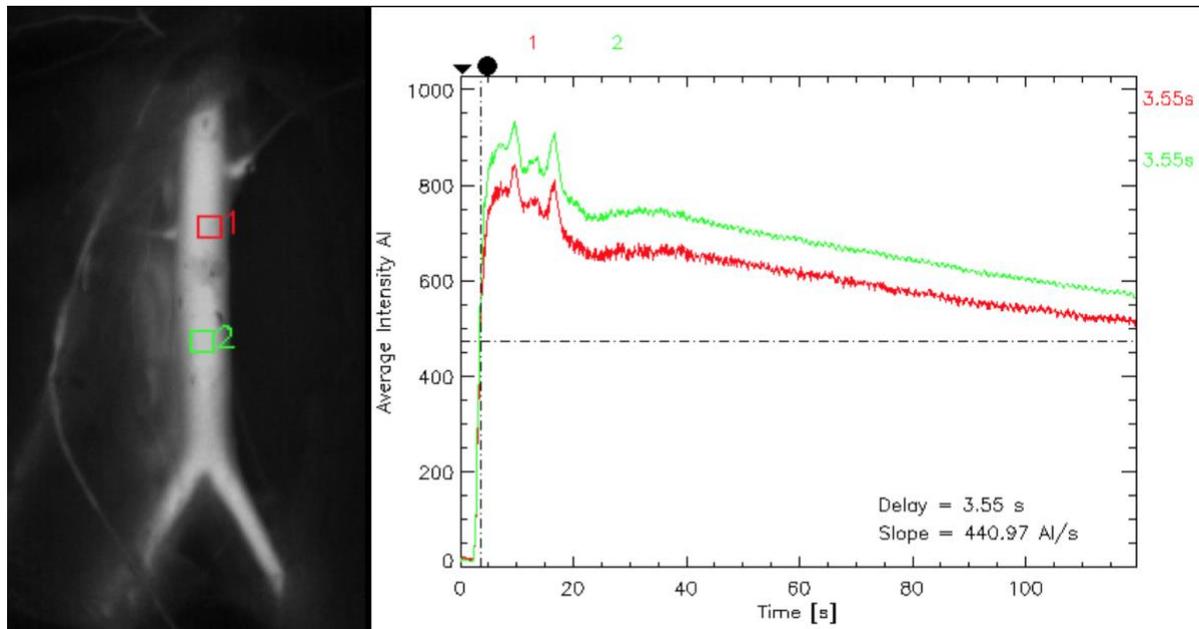


Abbildung 20: Ausgangszustand der Rattenaorta in der ICG-Angiografie (mit freundlicher Genehmigung von Herrn Dr.med. dent. Constantin Wolff)

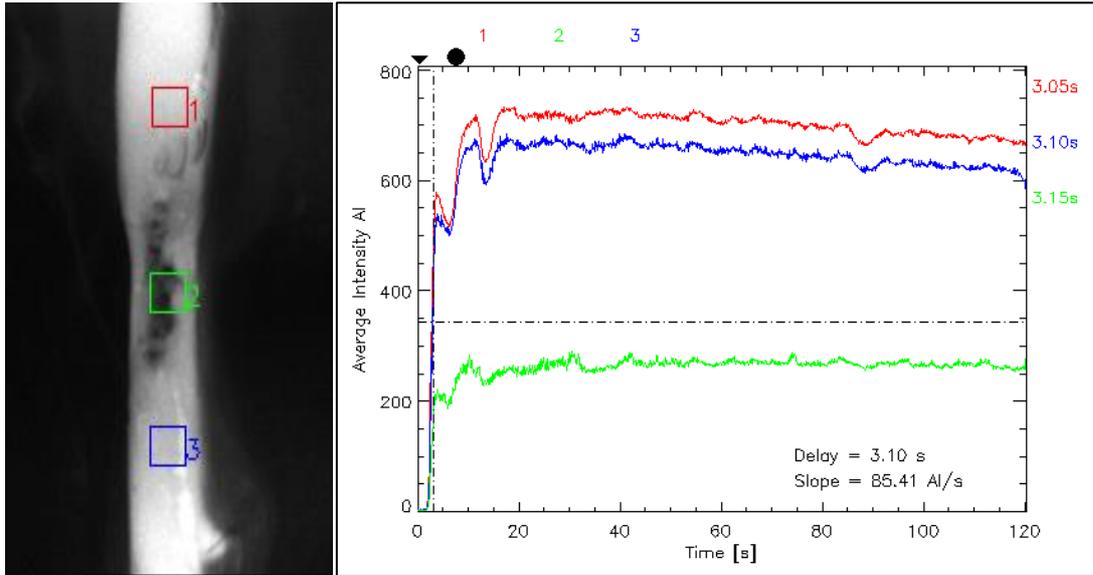
### 3.1.2. Gruppe I – Endotheldefekt

Sowohl im Bereich des Defekts als auch im Bereich der Gefäßnähte bzw. Anastomosen waren in den farbkodierten Aufnahmen regionär Veränderungen im Sinne eines geminderten Fluoreszenzsignals festzustellen. Mithilfe der Aufnahmen konnten ebenfalls Kontrastveränderungen in verschiedener Ausprägung im Bereich der Defekte festgestellt werden. In 8 von 11 Versuchen zeigte sich eine Kontrastminderung im Bereich des Defekts. Mit Ausnahme von einem Versuchstier zeigte sich in allen Gefäßen eine Kontrastminderung in der farbkodierten Flow 800 Analyse. In 3 Fällen konnte zudem eine Stenosierung festgestellt werden. In den Kurvendiagrammen, die nach Setzen der ROIs berechnet wurden präsentierte sich in der Defektregion (ROI 2) bei allen Tieren ein Abfall des Fluoreszenzsignals. Die beschriebenen Beobachtungen werden in folgender Tabelle dargestellt. Zusätzlich finden sich im Anschluss beispielhafte Aufnahmen der Veränderungen in der ICG-Angiografie.

ENDOTHELDEFEKT				
TIER NR.	KONTRAST	STENOSIERUNG	DILATATION	FLUSSGESCHWINDIGKEIT
1	-	JA	NEIN	-
2	+	NEIN	NEIN	-
3	-	NEIN	NEIN	-
4	-	NEIN	NEIN	-
5	-	NEIN	NEIN	-
6	-	NEIN	NEIN	-
7	-	NEIN	JA	-
8	-	JA	NEIN	-
9	=	NEIN	NEIN	=
10	-	NEIN	NEIN	-
11	-	JA	NEIN	-

*Tabelle 2: Darstellung der beobachteten Veränderungen in der Angiografie*

## -Ergebnisse-



**Abbildung 21:** Bestimmung der Fluoreszenzintensität proximal, distal und im Bereich des Defekts mit korrespondierendem Flussidogramm.



**Abbildung 22:** (v.l.n.r.) 1.: farbkodierte Darstellung (Flow 800 Tool) mit Fluoreszenzminderung im Bereich des Endotheldefekts, 2.-4.: Beispiele intraoperativer Fluoreszenzveränderungen: Fluoreszenzsteigerung (links), deutliche Fluoreszenzminderung und Dilatation (mittig), keine Fluoreszenzänderung und geringe Stenose (rechts)

### 3.1.3. Gruppe II - Veneninterponat

In Gruppe II ließ sich in 4 von 11 Fällen eine Stenose im Bereich des Veneninterponats feststellen. In einem Fall kam es zur Dilatation. In der farbkodierten Darstellung mittels FLOW 800 Tool war in 5 Gefäßen eine Flussreduktion im Veneninterponat zu erkennen. In den korrespondierenden Kurvendiagrammen der ICG- Analyse konnte bei allen Veneninterponaten eine Minderung der Fluoreszenz festgestellt werden.

-Ergebnisse-

INTERPONAT				
TIER NR.	KONTRAST	STENOSIERUNG	DILATATION	FLUSSGESCHWINDIGKEIT
1	=	JA	NEIN	=
2	=	JA	NEIN	=
3	+	JA	NEIN	-
4	=	NEIN	NEIN	-
5	=	NEIN	NEIN	=
6	=	NEIN	NEIN	=
7	=	JA	NEIN	=
8	=	NEIN	NEIN	=
9	-	NEIN	NEIN	-
10	=	JA	NEIN	-
11	=	NEIN	NEIN	-

Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der beobachteten Veränderungen in der ICG-Angiografie in Gruppe II

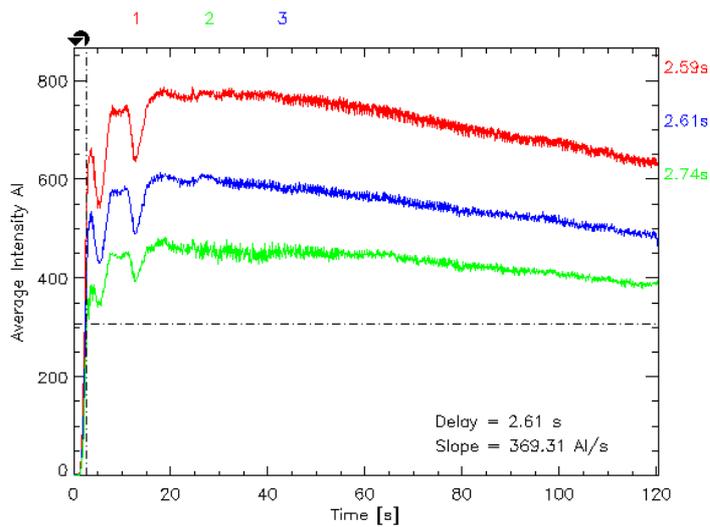
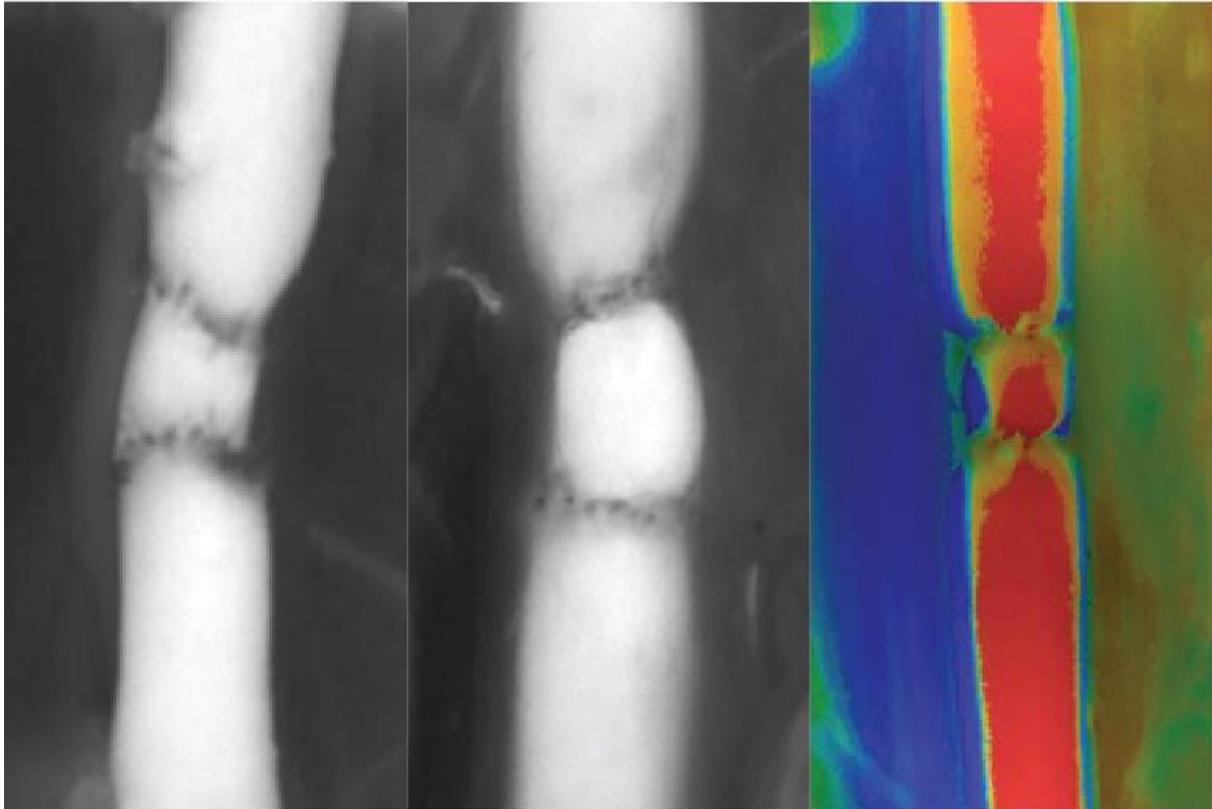


Abbildung 23: Diagramm der gemessenen Fluoreszenz: rot=ROI im Bereich kaudal des Veneninterponats, blau= ROI im Bereich kranial des Veneninterponats, grün= ROI im Veneninterponat



*Abbildung 24: Stenosingen (links u. mittig) und resultierende Dilatation (mittig) im Bereich des Veneninterponats, verminderte Fluoreszenz aufgrund einer Stenose im Bereich des Veneninterponats (rechts)*

#### **3.1.4. Gruppe III - Endotheldefekt und Veneninterponat**

In der dritten Gruppe zeigte sich in 6 Fällen keine Veränderung des Fluoreszenzverhaltens im Bereich des Defekts. In 4 Tieren ergab sich eine Fluoreszenzminderung. Des Weiteren entstanden in dieser Gruppe bei 7 von 11 Versuchstieren geringgradige Stenosen im Bereich des Veneninterponats, was auf das kleinere Kaliber des eingesetzten Veneninterponats zurückzuführen war. In der farbkodierten Analyse war in 7 Versuchstieren keine Veränderung in der farbkodierten Analyse zu erkennen. In 4 Fällen trat eine Fluoreszenzminderung auf. Im ermittelten Flussdiagramm zeigte sich in dieser Gruppe die geringste Fluoreszenzintensität immer im Bereich des Defekts (ROI2), gefolgt vom ROI im Veneninterponat (ROI3), ROI 4 und ROI 1. Die Beobachtungen werden in folgenden Abbildungen dargestellt.

-Ergebnisse-

ENDOTHELDEFFEKT UND INTERPONAT				
TIER NR.	KONTRAST	STENOSIERUNG	DILATATION	FLUSSGESCHWINDIGKEIT
1	=	JA	NEIN	=
2	=	JA	NEIN	=
3	+	NEIN	NEIN	=
4	=	JA	NEIN	=
5	=	JA	NEIN	=
6	-	NEIN	NEIN	=
7	-	JA	NEIN	-
8	-	NEIN	NEIN	-
9	=	JA	NEIN	=
10	-	NEIN	NEIN	-
11	=	JA	NEIN	-

Tabelle 4: Tabellarische Darstellung der beobachteten fluoreszenzangiografischen Veränderungen in Gruppe III

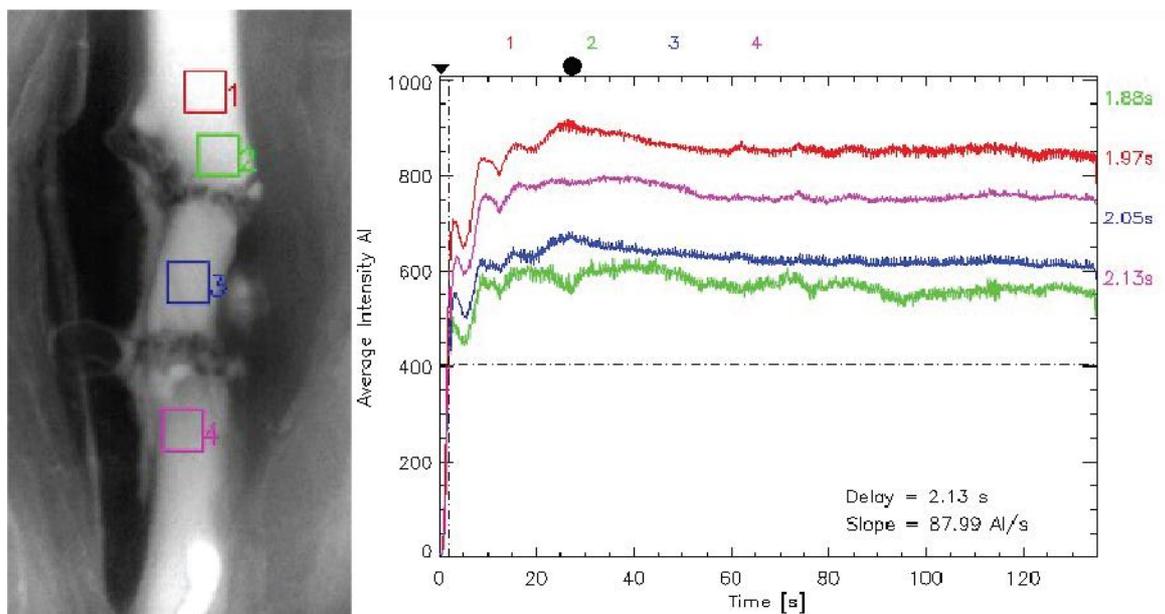
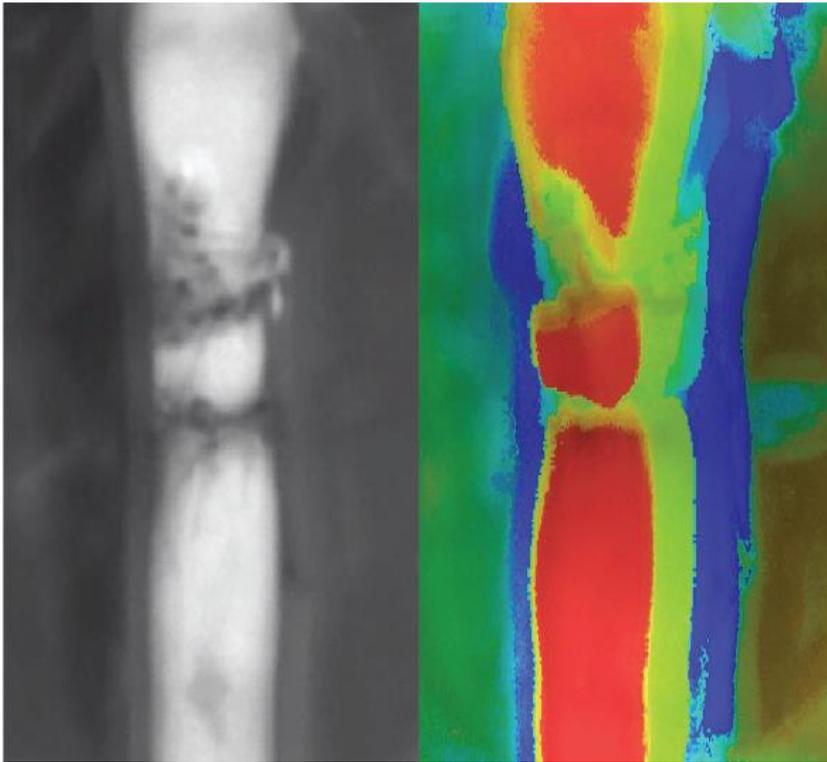
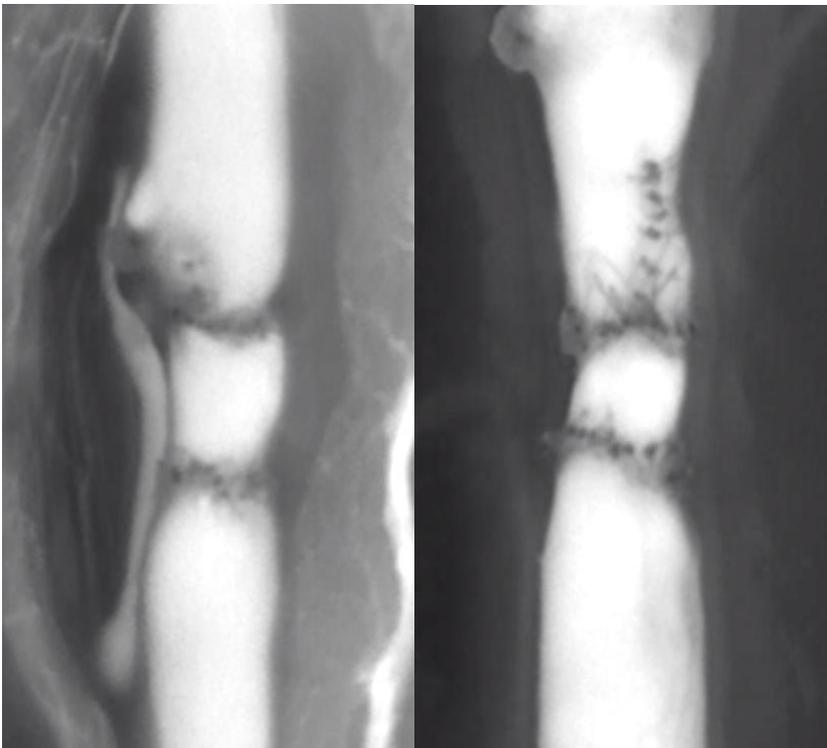


Abbildung 25: Messung der Fluoreszenz kranial des Defekts (ROI 1, rot), im Defekt selbst (ROI 2, grün), im Veneninterponat (ROI 3, blau) sowie kaudal des Veneninterponats (ROI 4, grün)

-Ergebnisse-



*Abbildung 26: Fluoreszenzminderung im Defektbereich (links) sowie Farbwechsel im Sinne einer Flussminderung in der farbkiertten Darstellung mit Flow 800 Tool (rechts)*



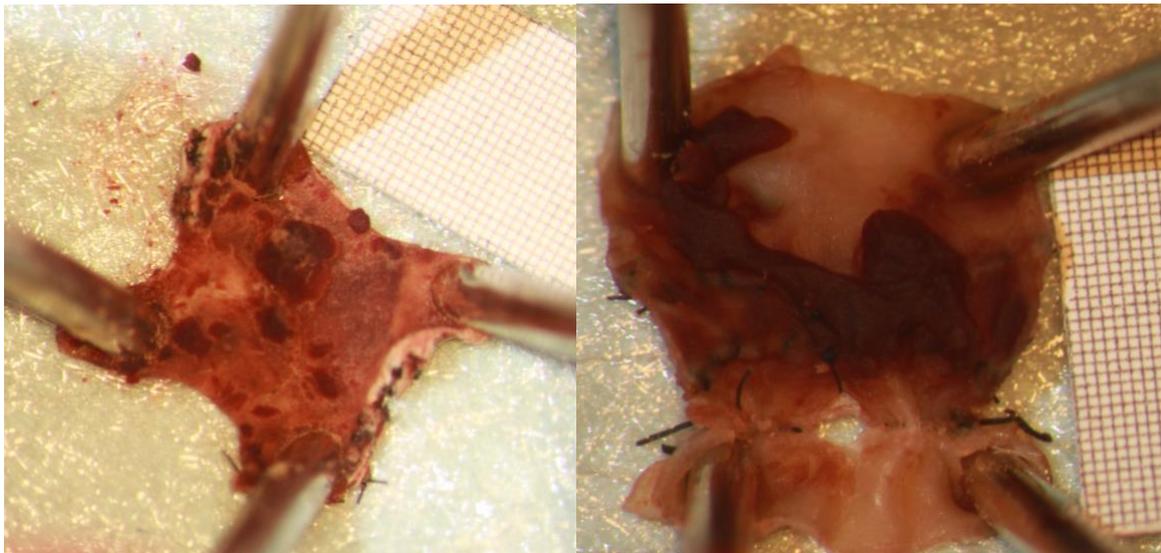
*Abbildung 27: Stenosierungen im Bereich des Veneninterponats*

### 3.1.5. Thrombosierung

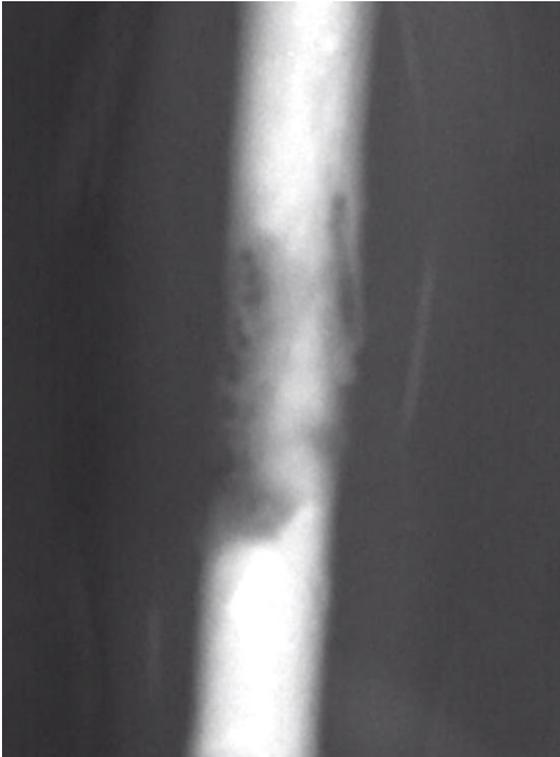
Nach Durchführung der Versuche wurden die Bilder der ICG-Videoangiografie beurteilt und nach Hinweisen für die Bildung eines Thrombus analysiert.

Hierbei wurden in Gruppe I vier Thromben erkannt. In Gruppe II wurden eine und in Gruppe III zwei angiografische Veränderungen als Thrombosen identifiziert.

Zusätzlich wurden die operierten Abschnitte der Bauchaorten explantiert und zur weiteren klinischen Beurteilung eröffnet sowie fotografiert. Hierbei wurde insbesondere auf eine Ablagerung von thrombotischem Material geachtet. Bei den 11 Tieren der ersten Gruppe konnte in 4 Fällen ein Thrombus detektiert werden. In Gruppe II fand sich nur in einem Gefäß thrombotisches Material. In der dritten Gruppe bestand in keinem Gefäß klinisch der Hinweis für eine Thrombosierung.



*Abbildung 28: Beispiele für thrombotische Ablagerungen im Bereich eines Endotheldefekts (links) und eines Veneninterponats (rechts)*



*Abbildung 29: In der ICG-Angiografie sichtbarer Thrombus*

## **3.2. Statistische Analysen**

### **3.2.1. Vergleich der Gruppen bezüglich der Thrombosewahrscheinlichkeit**

Um die Thrombosewahrscheinlichkeit der Gruppen im Vergleich zu bestimmen wurde der Fisher Exakt Test angewendet. Hierbei zeigte sich zwischen Gruppe I (Defekt) und Gruppe III (Veneninterponat und Defekt) ein signifikanter Unterschied ( $p=0,05$ ) bezüglich der Thrombosewahrscheinlichkeit, und wies somit ein erhöhtes Thromboserisiko nach Endotheldefekt im Gegensatz zum kombinierten Eingriff auf. Im Vergleich der Defektgruppe mit der Gruppe des Veneninterponats zeigte sich zwar ein hinweisender Vorteil des Veneninterponats bezüglich der Thrombosierung, letztlich jedoch keine Signifikanz ( $p=0,14$ ). Zwischen dem Interponat und der Gruppe mit Defekt und Interponat zeigte sich kein signifikanter Vorteil ( $p=0,32$ ).

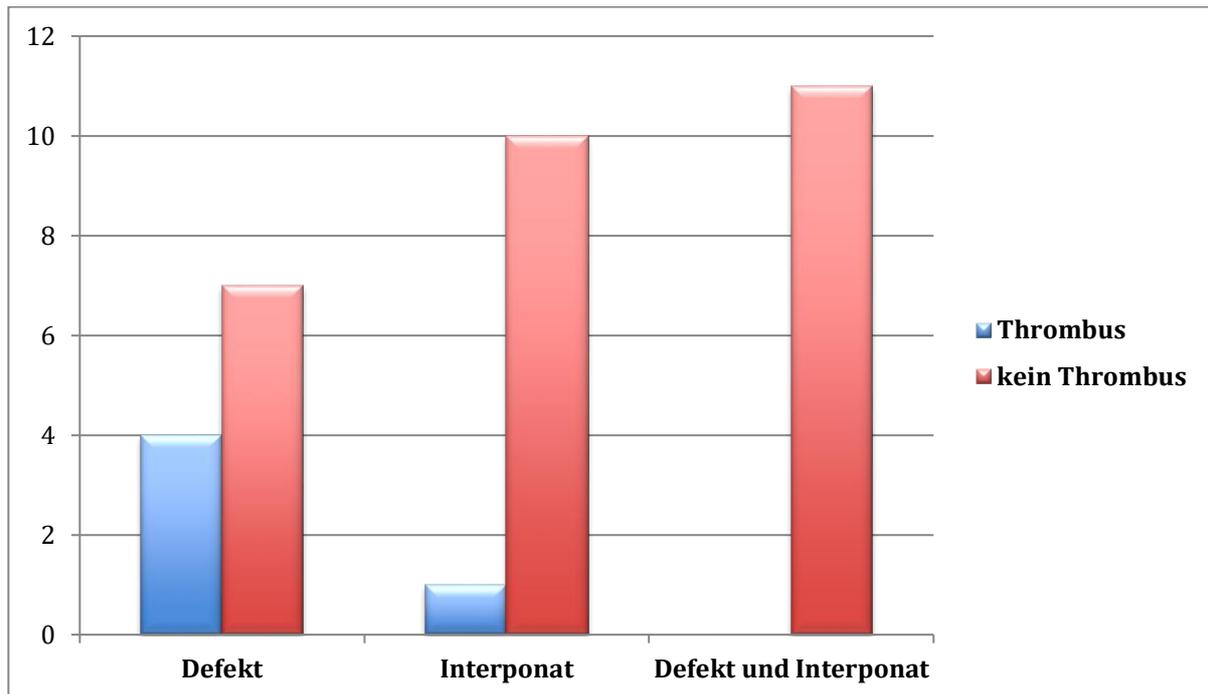


Abbildung 30: Graphische Darstellung der klinisch detektierten Thrombosen in den jeweiligen Gruppen

### 3.2.2. Bestimmung der Sensitivität und Spezifität der ICG-Analyse zur Detektion von Thromben

In den 33 untersuchten Versuchstieren konnten angiografisch insgesamt 7 Thromben festgestellt werden. In der postoperativen klinischen Untersuchung mit Eröffnung des Gefäßes ergaben sich klinisch 5 Thrombosen. Angiografisch befand sich in Gruppe I (Endotheldefekt) mit 4 Fällen die höchste Anzahl einer Thrombusentwicklung, gefolgt von Gruppe III mit 2 Fällen und Gruppe II mit nur einer detektierten Thrombose. Zusammenfassend ergaben sich in der ICG zwei falsch positive und keine falsch negative Analyse. In 5 Tieren konnte die Angiografie eine Thrombose zuverlässig erfassen und in 26 Tieren sicher ausschließen.

-Ergebnisse-

DEFEKT		
Versuchstier	Thrombus sichtbar	
	ICG	Klinisch
1	Nein	Nein
2	Ja	Ja
3	Nein	Nein
4	Ja	Ja
5	Ja	Ja
6	Ja	Nein
7	Nein	Nein
8	Nein	Nein
9	Nein	Nein
10	Ja	Ja
11	Nein	Nein

*Tabelle 5: Angiografisch sowie klinisch sichtbare Thromben in Gruppe I (Defekt)*

INTERPONAT		
Versuchstier	Thrombus sichtbar	
	ICG	Klinisch
1	Nein	Nein
2	Nein	Nein
3	Nein	Nein
4	Nein	Nein
5	Nein	Nein
6	Nein	Nein
7	Nein	Nein
8	Nein	Nein
9	Ja	Nein
10	Ja	Ja
11	Nein	Nein

*Tabelle 6: Angiografisch sowie klinisch sichtbare Thromben in Gruppe II (Veneninterponat)*

DEFEKT UND INTERPONAT		
Versuchstier	Thrombus sichtbar	
	ICG	Klinisch
1	Nein	Nein
2	Nein	Nein
3	Ja	Nein
4	Nein	Nein
5	Nein	Nein
6	Nein	Nein
7	Nein	Nein
8	Nein	Nein
9	Nein	Nein
10	Nein	Nein
11	Nein	Nein

*Tabelle 7: Angiografisch sowie klinisch sichtbare Thromben in Gruppe III (Defekt und Interponat)*

Da es nie zu einem falsch negativen Ergebnis kam, lag die Sensitivität des Tools bei 100%. Die Spezifität hingegen lag aufgrund von drei falsch positiv identifizierten Thromben in der ICG-Analyse bei 90%. Daraus ergab sich ein positiv prädiktiver Wert von 62%, der negative prädiktive Wert lag bei 100%.

In der folgenden Vierfeldertafel werden die Untersuchungsergebnisse im Überblick dargestellt.

-Ergebnisse-

		KLINISCH		
		Positiv	Negativ	Gesamt
ICG	Positiv	5	3	8
	Negativ	0	25	25
	Gesamt	5	28	33

*Tabelle 8: Vierfeldertafel*

### 3.2.3. Ausmessung der Endotheldefekte und der Thrombosen

Die Größe der Endotheldefekte sowie die zweidimensionale Ausmessung der Fläche der Thrombosen klinisch sowie angiografisch werden in Tabelle 9 dargestellt.

Zusammenfassend konnte ein signifikanter Unterschied zwischen der klinischen und der durch ICG-Angiografie gemessenen Fläche der Endotheldefekte festgestellt werden ( $p=0,04$ ). Lediglich in Gruppe I zeigten sich vergleichbare Messergebnisse ( $0,72\text{mm}^2$  [0,25–2,30] vs.  $0,65\text{mm}^2$  [0,35–1,59];  $p = 0,93$ ). Die berechneten Flächen der Thrombosen zeigten weder insgesamt ( $p=0,47$ ) noch innerhalb Gruppe I ( $p=0,11$ ) signifikante Unterschiede.

Gruppe	Fläche Thrombose klinisch [mm <sup>2</sup> ]	Fläche Thrombose ICGA [mm <sup>2</sup> ]	p-Wert	Fläche Endotheldefekt klinisch [mm <sup>2</sup> ]	Fläche Endotheldefekt ICGA [mm <sup>2</sup> ]	p-Wert
<b>I</b>	0,8 (0,4-1,3)	0,9 (0,4-1,1)	0,109	0,7 (0,3-2,3)	0,7 (0,4-1,6)	0,929
<b>II</b>	0,4	0,3		/	/	
<b>III</b>	/	0,4 (0,2-0,6)		0,2 (0,0-0,3)	0,3 (0,1-0,7)	0,003

-Ergebnisse-

<b>Total</b>	0,6 (0,4-1,3)	0,6 (0,2-1,1)	0,465 #	0,3 (0,0-2,3)	0,4 (0,1-1,6)	0,042 #
ICGVA = Indocyaningrün Videoangiografie; ED = Endotheldefekt; Gruppe I = Endotheldefekt; Gruppe II= Veneninterponat; Gruppe III= Endotheldefekt und Veneninterponat # Wilcoxon-Test						

**Tabelle 9:** Deskriptive Ergebnisse der klinisch ausgemessenen Fläche des Endotheldefekts und der klinisch sowie angiografisch ausgemessenen Fläche der Thrombose unter Verwendung der NIH Image J Software (ImageJ 1.41o, National Institutes of Health, USA).

### 3.2.4. Einfluss der Endotheldefekte und Thrombusformationen auf die ICG-Angiografie

Alle vier definierten Parameter ( 1. Maximum, maximale Steigung und Gefälle sowie die Fläche unter der Kurve (AUC)) der ICG Fluoreszenzkurve wurden für jede ROI berechnet, um diese innerhalb der Gruppen zu vergleichen (s. Tabelle 10). Zusätzlich wurden die Unterschiede zwischen ROI 1 und 2, 1 und 3 sowie 1 und 4 berechnet und in der folgenden Tabelle dargestellt. Alle drei Gruppen (I–III) zeigten einen Abfall in allen Parametern im Bereich der ROIs im Defektareal oder innerhalb des Veneninterponats (s.Tabelle 10). Der Wert des 1. Maximums veränderte sich signifikant zwischen ROI 1 und ROI 2 in Gruppe I ( $p < 0,01$ ); zwischen ROI 1 und 3 in Gruppe II ( $p < 0,01$ ); und zwischen ROI 1 und 2 ( $p < 0,01$ ), ROI 1 und 3 ( $p < 0,01$ ), und ROI 1 und 4 ( $p = 0,05$ ) in Gruppe III. Die maximale Steigung zwischen folgenden ROIs zeigte signifikante Unterschiede: ROI 1 und 2 ( $p < 0,01$ ) in Gruppe I und zwischen ROI 1 und 2 ( $p < 0,01$ ) sowie ROI 1 und 3 ( $p = 0,01$ ) in Gruppe III. Die Werte des maximalen Gefälles ergaben in allen drei Gruppen keine signifikanten Unterschiede innerhalb der ROIs. Die Messungen der Fläche unter der Kurve (AUC) veränderten sich signifikant zwischen ROI 1 vs. 2 ( $p < 0,01$ ) in Gruppe I, zwischen 1 vs. 3 in Gruppe II und in Gruppe III zwischen ROI 1 vs. 2 ( $p < 0,01$ ), ROI 1 vs. 3 ( $p < 0,01$ ) und ROI 1 vs. 4 ( $p = 0,01$ ).

Der Vergleich der gemessenen korrespondierenden ICG Werte jedes einzelnen ROI (2,3 und 4) zwischen Gruppe I-III zeigte einen signifikanten Unterschied für das 1. Maximum ( $p < 0,01$ ), die maximale Steigung ( $p = 0,02$ ) und AUC ( $p < 0,01$ ) innerhalb der korrespondierenden ROI 2 zwischen Gruppe I und III. Der Vergleich der gemessenen ICG Werte innerhalb der korrespondierenden ROI 3 zwischen den Gruppen II und III ergab keine signifikanten Unterschiede. Der Vergleich der Messwerte für die korrespondierenden ROI 4 zwischen Gruppe I vs. II und II vs. III zeigten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede. Lediglich das 1. Maximum wies zwischen Gruppe I und III innerhalb ROI 4 einen signifikanten Unterschied auf.

-Ergebnisse-

ROI Nr.	Parameter	Gruppen		
		I	II	III
# 1	1. Maximum	345,0 (181,0-575,0)	378,0 (193,0-661,0)	566,5(180,0- 758,0)
	Max. Steigung	0,6 (0,3-0,7)	0,6 (0,2-1,8)	0,7 (0,3-3,8)
	Max. Gefälle	-0,1(-0,04-(-0,1))	-0,3 (-2,7-(-0,03))	-0,2 (-0,6-(-0,1))
	AUC <sup>ICG</sup>	327.850,1 (134.045,9-4,8)	404.530,0 (147.937,0- 656.325,0)	498.672,0 (202.527,0-58.6815,0)
# 2	1. Maximum	141,0 (102,0-225,0) *	/	140,6 (102,4-224,9) * &
	Max. Steigung	0,2 (0,1-0,8) *	/	0,7 (0,3 -3,8) * &
	Max. Gefälle	-0,1 (-0,1-(-0,04))	/	-0,2 (-0,5-(-3,6))
	AUC <sup>ICG</sup>	158.315,0 (78.304,0 - 279.790,0) *	/	295.815,7 (152.913,0- 398.368,0) * &
# 3	1. Maximum	/	281,3 (108,8-552,2) §	394,6 (135,0-549,6) §
	Max. Steigung	/	0,5 (0,2-1,7)	0,5 (0,2-2,5) §
	Max. Gefälle	/	-0,2 (-1,6-(-0,1))	-0,1 (-0,5-(-0,1))
	AUC <sup>ICG</sup>	/	296,593,9 (124613,0- 363385,0) §	340.056,2 (149.678,0- 431.823,0) §
# 4	1. Maximum	318,0 (209,0-536,0)	333,0 (118,4-644,1)	508,6 (187,7-626,0) #,?
	Max. Steigung	0,53 (0,33-0,9)	0,6 (0,2-1,1)	0,7 (0,2-2,6)
	Max. Gefälle	-0,14 (-0,6-(-0,1))	-0,4 (-1,2-(-0,1))	-0,1 (-0,7-(-0,7))
	AUC <sup>ICG</sup>	327.119,0 (141.131,0- 441.150,0)	368.974,5 (185.822,0- 464.508,9) #	380.680,6 (180.753,0- 520.915,1) #
<b>Abkürzungen:</b>				

-Ergebnisse-

I = Defekt; II = Veneninterponat; III = Defekt und Veneninterponat, ROI = region of interest; max. = maximal;  $AUC^{ICG}$  = area under the curve

Wilcoxon-Test: signifikante ( $p < 0.05$ ) Veränderung zwischen ROI 1 vs. 2, 3 and 4 (\*, §, #) innerhalb der Gruppen I-III und der verglichenen Werte

Mann-Whitney-U-Test: signifikante ( $p < 0.05$ ) Veränderung zwischen den Gruppen I vs. II, I vs. III and II vs. III (% , & , ?) für die verglichenen Werte

**Tabelle 10: Table 3. Werte und deskriptive Statistik der Indocyanin Videoangiografie (ICGVA) für die drei experimentellen Gruppen: Endotheldefekt (ED Gruppe I), Veneninterponat (VI, Gruppe II) und ED mit VI (Gruppe III)**

<b><u>ROI 1</u></b>	<b>1. Maximum (95%-CI)</b>	<b>Max. Steigung (95%-CI)</b>	<b>Max. Gefälle (95%-CI)</b>	<b><math>AUC^{ICG}</math> (95%-CI)</b>
<b>Thrombose</b>	0,349 (-267,2 – 97,2)	0,187 (-1,04 – 0,21)	0,282 (-0,23 – 0,77)	0,678 (-101,600 – 698,051)
<b>Fläche Thrombose</b>	0,341 (-937,4 – 463,3)	0,960 (-0,93 – 0,96)	0,655 (-0,21 – 0,15)	0,722 (-653,469 – 510,601)
<b>Fläche ED</b>	0,012 (-323,1 – (-44,2))	0,251 (-0,94 – 0,26)	0,201 (-0,04 – 0,17)	0,922 (-517,867 – 191,121)
<b><u>ROI 2</u></b>	<b>1. Maximum (95%-CI)</b>	<b>Max. Steigung (95%-CI)</b>	<b>Max. Gefälle (95%-CI)</b>	<b><math>AUC^{ICG}</math> (95%-CI)</b>
<b>Thrombose</b>	0,162 (-317,8 – 56,8)	0,302 (-0,96 – 0,31)	0,524 (-1,29 – 0,68)	0,204 (-190,852 – 43,431)
<b>Fläche Thrombose</b>	0,600 (-310,8 – 414,9)	0,378 (-0,54 – 0,93)	0,689 (-2,9 – 2,3)	0,117 (-99,464 – 422,500)
<b>Fläche ED</b>	0,038 (-260,7 – (-8,1))	0,189 (-0,74 – 0,16)	0,550 (-0,91 – 0,49)	0,027 (-165,791 – 10,858)

-Ergebnisse-

<b>ROI 3</b>	<b>1. Maximum (95%-CI)</b>	<b>Max. Steigung (95%-CI)</b>	<b>Max. Gefälle (95%-CI)</b>	<b>AUC<sup>ICG</sup> (95%-CI)</b>
<b>Thrombose</b>	0,669 (-240,4 – 366,6)	0,353 (-1,71 – 0,64)	0,599 (-0,56 – 0,95)	0,865 (-169,413 – 200,025)
<b>Fläche Thrombose</b>	/	/	/	/
<b>Fläche ED</b>	0,637 (-920,1 – 1426,7)	0,550 (-3,93 – 6,91)	0,247 (-1,40 – 0,41)	0,589 (-524,308 – 869,927)
<b>ROI 4</b>				
<b>ROI 4</b>	<b>1. Maximum (95%-CI)</b>	<b>Max. Steigung (95%-CI)</b>	<b>Max. Gefälle (95%-CI)</b>	<b>AUC<sup>ICG</sup> (95%-CI)</b>
<b>Thrombose</b>	0,905 (-136,7 – 153,8)	0,42 (-0,64 – 0,28)	0,5 (-0,07 – 0,41)	0,718 (-78,677 – 112,855)
<b>Fläche Thrombose</b>	0,499 (-583,9 – 357,1)	0,707 (-1,15 – 1,49)	0,256 (-0,10 – 0,26)	0,548 (-311,891 – 479,577)
<b>Fläche ED</b>	0,108 (-183,6 – 19,7)	0,317 (-0,64 – 0,21)	0,626 (-0,11 – 0,19)	0,198 (132,104 – 29,150)
Abkürzungen: 95%-CI = 95%-confidence interval; ROI = region of interest; max. = maximal; AUC <sup>ICG</sup> = area under the curve				

**Tabelle 11: Univariate Regressionsanalyse**

### 3.2.5. Uni- und multivariate Regressionsanalyse

Die univariate Regressionsanalyse für die Fälle mit dem Auftreten einer Thrombusformation und deren sichtbarem klinischen Nachweis zeigte einen signifikanten Zusammenhang mit der Größe des Endotheldefekts ( $\text{mm}^2$ ;  $p < 0,01$ ; 95% Konfidenzintervall, 0,42-0,78) und Verwendung eines Veneninterponats ( $p = 0,02$ ; 95% Konfidenzintervall, -0,57-(0,07)). Die multivariate Regressionsanalyse zeigte lediglich einen signifikanten Zusammenhang mit der Größe des Endotheldefekts ( $\text{mm}^2$ ;  $p < 0,01$ ; 95% Konfidenzintervall, 0,40-0,89).

-Ergebnisse-

<b>ROI 1</b>	<b>1. Maximum (95% CI)</b>	<b>Maximale Steigung (95% CI)</b>	<b>Maximales Gefälle (95% CI)</b>	<b>AUC<sup>ICG</sup> (95% CI)</b>
<b>Inzidenz Thrombose</b>	0,35 (-267,17– 97,23)	0,19 (-1,05– 0,21)	0,28 (-0,23– 0,77)	0,68 (-101,600.43– 698,051.60)
<b>Fläche Thrombose</b>	0,34 (-937,43– 463,27)	0,96 (-0,93– 0,96)	0,66 (-0,21– 0,15)	0,72 (-653,469.09– 510,601.89)
<b>Fläche ED</b>	0.01 (-323.11– (-44.23))	0.25 (-0.94– 0.26)	0.20 (-0.04– 0.17)	0.92 (-517,867.41– 191,121.70)
<b>ROI 2</b>	<b>Erstes Maximum (95% CI)</b>	<b>Maximale Steigung (95% CI)</b>	<b>Maximales Gefälle (95% CI)</b>	<b>AUC<sup>ICG</sup> (95% CI)</b>
<b>Inzidenz Thrombose</b>	0.16 (-317.83– 56.82)	0.30 (-0.96– 0.31)	0.52 (-1.29– 0.68)	0.20 (-190,852.74– 43,431.62)
<b>Fläche Thrombose</b>	0.60 (-310.80– 414.97)	0.38 (-0.54– 0.93)	0.69 (-2.91– 2.34)	0.12 (-99,464.44)– 422,500.89)
<b>Fläche ED</b>	0.04 (-260.72– (-8.12))	0.19 (-0.74– 0.16)	0.55 (-0.91– 0.49)	0.03 (-165,791.55– 10,858.94)
<b>ROI 3</b>	<b>1. Maximum (95% CI)</b>	<b>Maximale Steigung (95% CI)</b>	<b>Maximales Gefälle (95% CI)</b>	<b>AUC<sup>ICG</sup> (95% CI)</b>
<b>Inzidenz Thrombose</b>	0.67 (-240.35– 366.56)	0.35 (-1.71– 0.64)	0.59 (-0.56– 0.95)	0.87 (-169,413.58– 200,025.36)
<b>Fläche Thrombose</b>	–	–	–	–

-Ergebnisse-

<b>Fläche ED</b>	0.64 (-920.09– 1426.71)	0.55 (-3.93– 6.91)	0.25 (-1.40– 0.41)	0.59 (-524,308.72– 869,927.95)
<b>ROI 4</b>	<b>1. Maximum (95% CI)</b>	<b>Maximale Steigung (95% CI)</b>	<b>Maximales Gefälle (95% CI)</b>	<b>AUC<sup>ICG</sup> (95% CI)</b>
<b>Inzidenz Thrombose</b>	0.91 (-136.73– 153.81)	0.42 (-0.64– 0.28)	0.15 (-0.07– 0.41)	0.72 (-78,677.48– 112,855.86)
<b>Fläche Thrombose</b>	0.49 (-583.95– 357.12)	0.71 (-1.15– 1.49)	0.26 (-0.10– 0.26)	0.55 (-311,891.11– 479,577.77)
<b>Fläche ED</b>	0.11 (-183.62– 19.72)	0.32 (-0.64– 0.21)	0.63 (-0.11– 0.18)	0.19 (132,104.38– 29,150.71)
95% CI = 95% Konfidenzintervall, ROI=region of interest, AUC <sup>ICG</sup> = area under the curve, ED= Endotheldefekt				

**Tabelle 12: Univariate Regressionsanalyse für die Thromboseinzidenz, die sichtbare Thrombosefläche sowie die sichtbare Fläche des Endotheldefekts für die analysierten Parameter der ICGVA**

## **4 Diskussion**

Die intraoperative Anwendung der ICGA ist für die rekonstruktive und mikrovaskuläre Chirurgie durchaus von klinischer Bedeutung. In Kombination mit dem FLOW 800 Tool ermöglicht diese eine direkte und qualitative Beurteilung des Blutflusses im Perfusionsgebiet des Gefäßes und das Monitoring der mikrovaskulären Anastomose (Mücke et al., 2013). Zwar wurde die Sensitivität und Spezifität der ICGA bereits in wenigen klinischen sowie tierexperimentellen Studien untersucht (Holm, Dornseifer, Sturtz, & Ninkovic, 2010; Mücke et al., 2017), jedoch nicht mit Augenmerk auf die Simulation komplizierter mikrochirurgischer Situationen wie bspw. dem vessel depleted neck. Durch das Setzen von Endotheldefekten und/oder der Verwendung von Veneninterponaten sollte ein realistischeres, der Klinik entsprechendes Gefäßmodell geschaffen werden und auf dessen Thrombosewahrscheinlichkeit überprüft werden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, drei verschiedene prokoagulatorische Situationen in einem sensitiven Tiermodell mit speziellem Augenmerk auf die Inzidenz von akuten thrombotischen Ereignissen kritisch zu untersuchen und nach erfolgter Anastomosierung die klinische Auswertung mit der ICGA Analyse gegenüberzustellen. Weiterhin sollte die Reliabilität der ICGA mit Hinblick auf die Detektion von Thromben untersucht werden. Darüber hinaus war es Gegenstand der Untersuchung generelle Fluoreszenzveränderungen in den drei Untersuchungsgruppen zu beobachten.

### **4.1. Eignung der Aorta der Ratte als Versuchsmodell**

Um den oben genannten Fragestellungen des Thromboserisikos nach verschiedenen Gefäßeingriffen sowie dem üblichen Gefäßdurchmesser bei rekonstruktiven Eingriffen gerecht zu werden, wählten wir die Wistar Ratte als in vivo Modell. Diese stellt mitunter das am häufigsten verwendete Gefäßmodell für das Erlernen und die Weiterentwicklung mikrochirurgischer Techniken sowie für experimentelle Studien im Bereich der mikrochirurgischen und rekonstruktiven Forschung dar (Zhang et al., 2001). Sowohl die dem Menschen ähnlichen anatomischen Begebenheiten, die Gerinnung, das kardiovaskuläre System als auch das vergleichbare Gefäßkaliber der Aorta zu besonders kleinen Anschlussgefäßen bei z.B. Perforanslappen ermöglichen ein realistisches und praxisnahes Modell für mikrochirurgische Verfahren. Des weiteren sind das Kreislaufsystem sowie die Durchblutung und die rheologischen Eigenschaften des Blutes der Ratte analog zum Menschen und somit gut vergleichbar. Das angewandte Narkoseverfahren mittels Ketamin-Xylazin über einen zuvor

gelegten Femoralvenenkatheter ermöglichte eine gut steuerbare und standardisierte Anästhesie (Ritschl et al., 2015). Im Gegensatz zur intraperitonealen Narkose konnte mit diesem Verfahren ein schnelleres Ansprechen der Tiere auf die Narkose und eine längere Eingriffszeit gewährleistet werden.

#### **4.2. Auswirkung von Endotheldefekten auf die ICGA-Messungen**

Endovaskuläre Eingriffe bergen immer das Risiko einer Endothelzellverletzung und somit eine Aktivierung der Gerinnungskaskade. Durch technische Fehler wie eine inkorrekte Anastomosierung, das Nahtmaterial selbst oder auch unsachgemäße Handhabung des Transplantats bzw. der Gefäße kann dies begünstigt werden. Hayhurst et al proklamierten aus diesem Grund bereits 1975 die Wichtigkeit eines atraumatischen Arbeitens im Rahmen von mikrochirurgischen Eingriffen (Hayhurst & O'Brien, 1975). Des Weiteren können Endotheldefekte jedoch auch durch eine Vorschädigung der Gefäße z.B. durch Plaques, Voroperationen oder postonkologische Situationen bedingt sein (Mücke et al., 2012; Schultze-Mosgau et al., 2002). Ziel dieser Arbeit war es unter anderem diese Situation zu simulieren, um zum einen die Auswirkung von Endotheldefekten auf den Blutfluss zu untersuchen und zum anderen die Thrombosewahrscheinlichkeit in diesem Fall festzustellen. Gruppe I zeigte schlussendlich klinisch die höchste Thrombosewahrscheinlichkeit innerhalb der drei Versuchsreihen. Von elf Tieren zeigten vier nach 60 min Beobachtungszeit eine Thrombose. In der logistischen Regression zeigte diese Gruppe auch ein signifikant höheres Thromboserisiko im Vergleich mit dem kombinierten Eingriff mit Veneninterponat. Darüber hinaus stellte sich in Gruppe I und III in der farbkodierten Analyse regelhaft eine Flussminderung im Bereich des beschädigten Endothels dar, welche sich auch in einem Abfall der Kurvenparameter des betreffenden ROIs in der Defektregion niederschlug.

Dieses Ergebnis zeigt, dass Endotheldefekte mit einem höheren Risiko für eine Thrombembolie bzw. einen Gefäßverschluss in Verbindung gebracht werden können. Mücke et al konnten in ihrer Studie zeigen, dass zudem die Form des gesetzten Endotheldefekts, insbesondere die vertikale, eine Rolle bezüglich des Thromboserisikos spielt (Mücke et al., 2017). Aufgrund dieser Vorkenntnisse wurde im vorliegenden Versuch auf eine runde Defektkonfiguration geachtet. Die Größe des Defekts zeigte zwar sowohl in dieser Studie als auch in vorliegender Arbeit keinen signifikanten Einfluss auf die Entstehung einer Thrombose. Jedoch bestand ein signifikanter Zusammenhang der Größe der Defektfläche signifikant mit einem Abfall der Fluoreszenzwerte im Bereich des ersten Maximums und der AUC der ROI im Defektareal.

Die Defekte stellten sich in der ICGA-Analyse als Fluoreszenzminderung dar, welche teilweise durch Überlagerungsphänomene durch das Nahtmaterial schwierig abzugrenzen waren. Insgesamt stimmte die Größe der Defekte jedoch signifikant mit den mittels ICGA bestimmten Werten überein.

#### **4.2.1. Vorbeugung von Intimadefekten und konsekutiven Thrombosierungen**

Endothelzellen stellen einen wichtigen Faktor für das Aufrechterhalten der Homöostase der Mikrozirkulation dar. Sie produzieren verschiedene Cofaktoren für die Gerinnungskaskade, synthetisieren und schütten Protein S sowie Thrombomodulin aus und regulieren die Vasomotorik durch diverse vasokonstriktive und vasodilatatorische Proteine. Exponiertes Subendothel ist hoch thrombogen (Hill & Whitten, 1997). Eine Beschädigung der Endothelzellen resultiert in Gefäßstenosen, erhöhten Perfusionsdrücken, einer verminderten Produktion von Vasodilatoren, Kapillarlecks und einer Exposition der verbindenden Gewebeelemente der Gefäßwand (Benazzo, 2002; Esclamado & Carroll, 1999).

Seo et al. unterzogen die Anastomosenbereiche von 5 gescheiterten Lappentransplantaten einer histologischen Untersuchung, um der Ursache für den Transplantatverlust auf den Grund zu gehen. In allen 5 Anastomosebereichen konnten thrombotisches Material sowie zusätzlich endotheliale Defekte festgestellt werden (Seo et al., 2015).

Akkurate Planung, ein sorgfältiges Transplantat-Monitoring sowie fortgeschrittene Fähigkeiten des Chirurgen selbst sind demnach essenzielle Faktoren für eine erfolgreiche mikrovaskuläre Transplantation. Unter all diesen Faktoren ist der technischen Expertise jedoch der höchste Stellenwert zuzurechnen, da durch mikrovaskuläre Prozeduren, wenn sie inkorrekt ausgeführt werden, besonders Gefäße von kleinstem Kaliber stark in Mitleidenschaft gezogen werden können. Sowohl die adventitielle als auch subendotheliale Oberfläche zeigen ein hoch thrombogenes Potenzial, welches eine Gefäßokklusion verursachen kann. Deshalb ist es von besonderer Wichtigkeit für den mikrovaskulären Chirurgen auf einen vorsichtigen Umgang mit dem Gefäß zu achten, um ein Endotheltrauma zu vermeiden.

Bereits beim mikrochirurgischen Nähen entstehen winzige Endothelschäden, welche ein Thromboserisiko bergen. Auch im Rahmen einer Thrombendarteriektomie, welche bspw. zur Konditionierung eines atherosklerotischen Gefäßstiels bei einem Lappentransfer angewandt werden kann, kommt es zu einer Verletzung der Intima sowie auch tieferen Schichten der Gefäßwand. Jia et al untersuchten in einem Tierexperiment die Wirkung von SDF-1alpha auf die Entstehung von Thrombosen in zuvor beschädigten Femoralgefäßen der Ratte. Durch die Förderung der frühzeitigen Regeneration der Gefäßintima durch diesen Faktor konnte in der

Gruppe mit präoperativer Injektion von SDF-1alpha ein wesentlich geringeres Thromboserisiko erzielt werden als in der Vergleichsgruppe (Jia et al., 2016).

Chung et al beschrieben in einer Studie mit thrombogenen Gefäßanastomosen im Bereich der Femoralvenen und -arterien der Ratte mit einer Kombination von Heparin, Aspirin und dem GP IIb/IIa Inhibitor Tirofiban einen signifikant geringeren thrombotischen Gefäßverschluss und konnten hierdurch eine höhere Durchgängigkeitsrate der Gefäße erzielen (Chung et al., 2007)

In anderen klinischen Studien erwies sich der prophylaktische Einsatz von Antikoagulantien wie bspw. Rivaroxaban, Dabigatran oder Enoxaparin als hilfreich. Über die Art des pharmakologischen Wirkstoffes bzw. die Kombination von Präparaten oder deren Dosierung besteht bisher jedoch noch kein klarer Konsens (Fichter et al., 2016). In einer Umfrage unter mikrovaskulären Chirurgen ergab sich, dass 96% eine präoperative Antithromboseprophylaxe wie bspw. Heparine, Dextrane oder Aspirin verwendeten (Shi et al., 2013)

### **4.3. Auswirkung von venösen Gefäßinterponaten auf die ICGA-Messungen**

Die Auswahl eines passenden Empfängergefäßes sowie eine spannungsfreie Anastomose beim Gefäßanschluss sind entscheidende Faktoren für einen erfolgreichen freien Gewebetransfer. In der Regel bieten lokale Anastomosen daher die beste Option. Sind die nahe liegenden Gefäße aufgrund bspw. ihres Durchmessers unpassend, oder durch vorherige Therapien bzw. allgemeine Erkrankungen verändert oder beschädigt, muss in 1–7% der Fälle auf Veneninterponate zurückgegriffen werden (Furr et al., 2011). Dennoch sind in der Literatur sehr widersprüchliche Aussagen bezüglich deren Outcome zu finden. Der Anteil der Transplantatverluste variiert hier zwischen 0 und 35%, wobei einige Studien venösen Gefäßinterponaten eine erhöhte Thromboserate und/oder einer erhöhten Wahrscheinlichkeit für einen Transplantatverlust konstatieren (Bozikov & Arnez, 2006; Khouri et al., 1998; Maricevich et al., 2018; Miller et al., 1993; Nahabedian et al., 2004; Wong et al., 2010), während die andere Hälfte der Studien nicht von einem erhöhten Risiko ausgeht (Bayramicli et al., 2002; Classen, 2004; Furr et al., 2011; Seim et al., 2020). Erstere begründen dies unter anderem mit der doppelten Anzahl an notwendigen Anastomosen, welche letztendlich das Risiko für technische Fehler und somit für eine Thrombosierung erhöhen können (Zhang et al., 1994).

Zhang et al überprüften diese Hypothese bereits 1994 am Rattenmodell. Sie verglichen die Durchgängigkeit von Femoralvenen und -arterien, bei denen eine einfache Anastomose genäht

wurde mit zwei weiteren Versuchsgruppen, in welchen venöse Interponate sowohl an der Femoralvene als auch der Femoralarterie eingesetzt wurden. Schlussendlich ergab sich in diesem Versuch kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die Durchgängigkeit der Gefäße. Überprüft wurde die Durchgängigkeit allerdings anhand des strip test, welcher in der Literatur als wenig sensitiv für vaskuläre Obstruktionen angesehen wird (Krag & Holck, 1981; Yeoh et al., 2013).

Zhang et al teilten die Entstehung von Thrombosen in Veneninterponaten zudem in kontrollierbare sowie nicht kontrollierbare Faktoren ein. Zu den unkontrollierbaren Faktoren gehört demnach zum Beispiel die iatrogene Unterbrechung des intakten Endothels (Zhang et al., 1994). Dies führt wiederum zu einer erniedrigten Ausschüttung von Prostacyclin, welches zur Plättchenhemmung dient und verursacht gleichzeitig die vermehrte Produktion prokoagulatorischer Faktoren. Gleichzeitig wird aufgrund der doppelten Anastomose der normale laminaire Blutfluss gestört, wodurch es ebenfalls zu einer erhöhten Gerinnungsneigung kommen kann.

Als kontrollierbare Faktoren werden eine korrekte mikrochirurgische Technik, ein Gefäßgrößendiskrepanz (= Mismatch) oder ein zusätzliches iatrogen gesetztes Endotheltrauma genannt.

Büchler und Buncke hielten ein Verhältnis des Veneninterponats zum Empfängergefäß von 1:1 bis 1:1,5 für optimal, um eine Thrombosierung zu vermeiden (Büchler & Buncke, 1979; Monsivais, 1990). Dieses Verhältnis wurde in vorliegender Arbeit eingehalten, so dass es zu keinem Gefäßmismatch kam. Der durchschnittliche Gefäßdurchmesser der Bauchaorta betrug in dieser Arbeit 1,74mm. Der Durchmesser der Femoralvene wurde nicht erfasst, beträgt laut Literatur jedoch durchschnittlich 1,1mm (Blain et al., 2001). Da alle Eingriffe von einem erfahrenen Mikrochirurgen durchgeführt wurden und der Versuch unter kontrollierten Bedingungen im Labor stattfand, konnten technische Fehler in der Veneninterponat- Gruppe (II) vermieden werden. In Gruppe I und III wurde geplant ein technischer Fehler im Sinne eines Endotheltraumas induziert.

In der Studie von Zhang et al. zeigten sich erst nach einem längeren Beobachtungszeitraum von einer Woche bis zu einem Monat erniedrigte Durchgängigkeitsraten im Gefäß. Wolff et al und andere Autoren empfehlen beim Lappentransfer ein Beobachtungsintervall von mindestens 45min vor dem definitiven Wundverschluss, da in diesem Zeitraum bereits ein Großteil der thrombotischen Ereignisse festgestellt werden können (Brown et al., 2003; Mücke et al., 2013; Wolff, Hölzle, et al., 2008). In vorliegender Studie wurde deshalb bewusst ein Beobachtungszeitraum von 60min gewählt, in welchem letztlich jedoch nur eine Thrombose in

Gruppe II auftrat. In der Gruppe mit zusätzlichem Endotheldefekt zeigte sich überraschenderweise keine Thrombose.

Da venöse Thrombosen zwar häufiger, aber in der Regel zu einem späteren Zeitpunkt auftreten als arterielle, könnte dies mit einem zu kurzen Beobachtungsintervall zusammenhängen (Kroll et al., 1996; Seo et al., 2015). Zum anderen handelt es sich bei dem Versuchsaufbau um ein kontrolliertes Experiment mit geringer Fallzahl.

In den aktuellen klinischen Studien, welche sich mit dem Einsatz von venösen Gefäßinterponaten im Rahmen des mikrovaskulären Lappentransfers beschäftigen, wird vor allem die Wichtigkeit des Timings und der Planung zur Vermeidung von Komplikationen betont. Venöse Gefäßinterponate, welche ungeplant oder im Rahmen einer Salvage-Situation verwendet wurden waren somit meist mit einer höheren Wahrscheinlichkeit eines Transplantatverlustes verbunden (Classen, 2004; Inbal et al., 2018; Maricevich et al., 2018; Nelson et al., 2015).

So konnte Classen, welcher bei 19 freien Lappen im Bereich der unteren Extremität in einem geplanten Setting 32 venöse Gefäßinterponate einsetzte, keinen signifikanten Unterschied bzgl. des Outcomes im Vergleich mit Lappenplastiken ohne Interponat feststellen (Classen, 2004)

Nelson et al untersuchten 2015 den Outcome von 51 venösen Gefäßinterponaten an 38 Patienten. Hierbei konnte gezeigt werden, dass trotz einer signifikant erhöhten Thrombosewahrscheinlichkeit bei dem Einsatz von Veneninterponaten im Rahmen von primären Rekonstruktionen Erfolgsraten von 95%, bei präoperativ geplanten Interponaten sogar von 100%, erzielt werden konnten (Nelson et al., 2015). Allerdings handelte es sich hierbei zum Großteil um nicht geplante Interponate bei Brustrekonstruktionen. Insbesondere den Hals-Kopf-Bereich betreffende Regionen zeigen höhere Komplikationsraten, da diese Fälle meist mit komplizierteren Gefäßsituationen verbunden sind (Loos et al., 2010; Miller et al., 1993; Zhang et al., 1994). Bei Lappenrevisionen war die Erfolgsrate mit 58% allerdings wesentlich geringer. Bei Salvage- Operationen war der größere Misserfolg jedoch eher auf die zugrundeliegende Pathologie des Gefäßereignisses zurückzuführen als primär auf das Veneninterponat selbst (Nelson et al., 2015).

Inbal et al bezogen zusätzlich verschiedene Arten von Venentransplantaten in ihre Studie ein. Sie verglichen einfache Veneninterponate mit Venentransponaten und arteriovenösen Loops und kamen zu dem Ergebnis, dass AV-Loops und Transponate den Interponaten aufgrund ihrer geringeren Thrombose rate vorgezogen werden sollten. Einfache Interponate wurden jedoch ausschließlich im Rahmen von Salvage-Operationen eingesetzt, wobei Veneninterponate die

zur Überbrückung einer Vene verwendet wurden mit einer signifikant höheren Komplikations- sowie Verlustrate verbunden waren als bei einer Überbrückung im arteriellen Gefäßsystem.

Dies kann darauf zurückgeführt werden, dass ein System mit niedrigem Durchfluss, wie es in der Vene vorliegt, potenziell thrombogener ist als das einer Arterie mit hoher Durchflussrate (Inbal et al., 2018).

Maricevich et al untersuchten mit 241 freien Gewebetransplantaten mit Veneninterponaten eine wesentlich höhere Fallzahl. Eine Thrombosierung durch technische Fehler konnte in dieser Studie ausgeschlossen werden, so dass die doppelte Anastomose als Grund für einen höheren Transplantatverlust ausschied. Jedoch war auch in dieser Studie der Anteil der Patienten, die vorher eine Radiochemotherapie durchliefen oder bereits einer Neck Dissection unterzogen wurden in der Gruppe mit Veneninterponaten höher. Des Weiteren war die Komplikationsrate auch hier wesentlich geringer, wenn das Veneninterponat geplant beim primären Eingriff eingesetzt wurde (Maricevich et al., 2018).

Di Taranto et al verglichen in einer Studie mit über 6000 freien Lappen den Einfluss eines langen Veneninterponats über 10cm und diversen Patientenfaktoren (z.B. Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Vorbestrahlung) auf den Transplantatverlust. Zusätzlich wurden bei einem Teil der Patienten Radialislappen als vaskuläre Brücke verwendet. Bei der Gruppe mit Veneninterponat , ergab sich bei den Patienten eine höhere Verlustrate. Eine präoperative Bestrahlung galt ebenfalls als ungünstiger Faktor (Di Taranto et al., 2019)

Zusammenfassend kann anhand dieser Studien sowie den in dieser Arbeit untersuchten Ergebnissen gesagt werden, dass das Einsetzen von Veneninterponaten an sich zunächst kein erhöhtes Risiko für eine Thrombosierung oder konsekutiv einen Transplantatverlust darstellen sollte, wenn alle oben genannten kontrollierbaren Faktoren gegeben und der Eingriff von einem erfahrenen Mikrochirurgen durchgeführt wird. Allerdings muss beachtet werden, dass das vorliegende Tiermodell nur begrenzt auf eine klinische Situation anzuwenden ist. Beispielsweise präsentieren sich die hämodynamischen Verhältnisse bei einem mikrovaskulären Gewebettransfer, insbesondere bei komplizierten Gefäßsituationen, anspruchsvoller als im standardisierten Tiermodell.

Besonders in Regionen, in welchen keine geeigneten Anschlussgefäße vorhanden sind, können Veneninterponate einen längeren Gefäßstiel erzeugen und somit höhere Erfolgsraten beim Lappentransfer gewährleisten. Im Rahmen von Salvage-Operationen bieten sie eine gute Möglichkeit zur spannungsfreien Reanastomosierung von thrombosierten, beschädigten oder abgerissenen Anschlussgefäßen. Insgesamt stimmen die meisten Autoren jedoch darin überein,

dass die präoperative Planung das Ergebnis eines Venentransfers maßgeblich verbessert und wenn möglich auf eine zusätzliche Anastomose verzichtet werden sollte. Insbesondere bei längeren zu überbrückenden Distanzen zwischen dem Lappen und dem Empfängergefäß sollte auf Alternativen wie bspw. überbrückende vaskuläre Lappen wie bspw. ein Radialistransplantat zurückgegriffen werden.

#### **4.4. Reliabilität der ICGVA bezüglich der Beurteilung der intraoperativen Durchblutungssituation**

Seit 2003 ermöglicht die Integration der ICGVA in das Operationsmikroskop die Angiografie von Gefäßen mit einem Durchmesser von unter 1 mm. (Holm, Dornseifer, Sturtz, & Ninkovic, 2010). Seit seiner erstmaligen Benutzung bei neurochirurgischen Eingriffen haben einige Studien unter dessen Anwendung signifikante neue Erkenntnisse über den Blutfluss sowie die Durchgängigkeit innerhalb von Gefäßen ermöglicht (Holm, Dornseifer, Sturtz, Basso, et al., 2010; Holm et al., 2009). Im Rahmen von rekonstruktiven Eingriffen der plastischen sowie Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie kann die ICGA als ein hilfreiches Tool zur Beurteilung von Anastomosen beim gestielten oder freien mikrovaskulären Gewebettransfer dienen. Komplikationen können durch die intraoperative Anwendung der ICGA frühzeitig entdeckt und behoben werden. Insbesondere technische Fehler, wie bspw. eine fehlerhafte Nahttechnik oder auch Lageveränderungen sowie Vasospasmen der Gefäße können schon unmittelbar nach Anastomosierung erkannt werden.

Bisher existieren nur wenige Studien, bei denen die Sensitivität und Spezifität von diagnostischen Mitteln wie der ICGA im Vergleich mit klinischen bzw. histologischen Befunden verglichen wurden.

Holm et al. untersuchten die Reliabilität der ICGA 2010 bereits in einer Studie zur Detektion von mikrovaskulären Thrombosen bei Reexplorationen von postoperativ kompromittierten Lappentransplantaten. Nach Durchführung einer ICGA wurde unabhängig vom Ergebnis die Anastomose eröffnet und klinisch evaluiert. Die häufigste Komplikation stellte bei 200 behandelten Patienten mit 55% die Thrombose dar. Die Sensitivität und Spezifität der ICGA lag hier im Vergleich mit der intraoperativen Exploration bei 100% und 86% und erwies sich somit als exzellentes diagnostisches Tool zur Beurteilung der Gefäßdurchgängigkeit (Holm, Dornseifer, Sturtz, & Ninkovic, 2010).

Mücke et al untersuchten die Reliabilität der ICGA zur Detektion von Thromben ebenfalls anhand eines standardisierten Tiermodells der Rattenaorta. Hierzu wurde in 60 Ratten durch zuvor gesetzte intimale Defekte eine prokoagulatorische Situation herbeigeführt und nach einer

Stunde Beobachtungszeit eine ICGA Analyse sowie klinische Analyse des Gefäßabschnittes bezüglich der Entstehung thrombotischen Materials durchgeführt. Hierbei zeigte sich im Vergleich der ICGA Analyse mit dem makroskopischen Ergebnis eine Sensitivität von 86,2% und eine Spezifität von 64,5%. (Mücke et al., 2017). In der vorliegenden Arbeit konnten, bei allerdings der Hälfte der Fallzahl, sogar höhere Werte erzielt werden. Die Spezifität lag in der durchgeführten Studie bei 90% und die Sensitivität bei 100%. Der positive prädiktive Wert war im Vergleich mit nur 62% anstatt 69,4% allerdings niedriger. Nichtsdestotrotz erwies sich die ICG auch hier als probates Mittel für das Erkennen der Formation akuter postoperativer Thromben. Zusätzlich konnten Veränderungen der Flusseigenschaften am operierten Gefäßabschnitt mithilfe des FLOW-800 Tools aufgezeichnet und analysiert werden.

Im klinischen Alltag stellt die ICGVA im Vergleich zu anderen Methoden ein benutzerfreundliches Tool zur Beurteilung des intraoperativen Blutflusses dar und bietet eine Untersuchung in Echtzeit und ohne Strahlenbelastung, welche unabhängig von der Beurteilung durch einen Radiologen durchgeführt werden kann.

Trotz der oben genannten Vorteile, der guten Verträglichkeit und den vielfältigen Anwendungsmöglichkeiten der ICGVA sind auch Nachteile und Grenzen der Methode anzuführen. So handelt es sich um eine invasive Methode, bei der die intravenöse Gabe eines Farbstoffs notwendig ist. Ferner muss der zu untersuchende Gefäßabschnitt zunächst freigelegt werden, um eine Angiografie überhaupt zu ermöglichen. Gefäßstrukturen die bspw. mit Blutkoageln oder Gewebe überlagert sind, können nicht zureichend untersucht werden.

Die ICG Anflutung erfolgt zudem in einem additiven Muster, in welchem sich arterielle und venöse Phase überlagern. Bei einer schnellen Anflutung kann es folglich schwierig sein mehrere Strukturen gleichzeitig zu beurteilen, was teilweise eine mehrfache Applikation von ICG notwendig macht. Da nach jeder Applikation eine Auswaschphase von 10 Minuten eingehalten werden muss, kann dies zu einer Verlängerung der Operationszeit sowie zu Artefakten und somit einer erschwerten Beurteilung der Gefäßsituation kommen (Raabe et al., 2005). Letzteres Problem ergab sich in vorliegendem Versuch nicht, da lediglich ein ICG Bolus appliziert wurde.

Im Falle des Auftretens einer Blutung treten rasch helle, die Sicht beeinträchtigende Bereiche im Operationsfeld auf, welche eine Beurteilung erschweren können. Dies könnte rückblickend der Grund für die in Gruppe III insgesamt erhöhten Fluoreszenzsignale gewesen sein, da es hier in einigen Fällen zum Blutaustritt im Bereich der Nahtstelle kam (s. Tabelle 10). Demzufolge gestaltete sich die genaue Abgrenzung von Endotheldefekten oder Thromben bei diesen Fällen umso schwieriger.

Überlagerungsphänomene bei bspw. stark kalzifizierten Gefäßwänden oder durch Gefäßnähte, welche zu Ablagerungen an der Gefäßwand führen können, können eine genaue Beurteilung der intraluminalen Gefäßsituation ebenfalls behindern.

In dieser Studie konnte zwar eine Fluoreszenzminderung in thrombosierte Gefäßen dargestellt werden, jedoch war die genaue Abgrenzung eines Thrombus teilweise schwierig und ist von der subjektiven Beurteilung des Operateurs abhängig. Bei diffizilen Gefäßsituationen kann es deshalb sinnvoll sein sich nicht einzig und allein auf die ICGA zu verlassen, sondern eine Kombination verschiedener Methoden wie Doppler, klinische Inspektion oder DSA zu verwenden (Raabe et al., 2005). Bei der Bestimmung der Defektfläche stieß die Methodik ebenfalls an ihre Grenzen. Das postoperativ ausgemessene Defektareal stimmte nicht immer mit dem durch ICGVA angereicherten Bereich überein. Ursächlich dafür könnten Überlagerungsphänomene in der ICGA durch bspw. die Nahtstelle oder die postoperative Verkleinerung des Defekts durch die Fixierung der Gefäßpräparate mit Formalin sein.

Das Fluoreszenzverhalten wies einen signifikanten Abfall des ersten Maximums, der maximalen Steigung sowie der Fläche unter der Kurve (s. Tabelle 10) auf. Eine signifikante Korrelation konnte in der univariaten Regressionsanalyse jedoch nicht gezeigt werden.

Der Grund hierfür könnte die geringe Anzahl der Versuchstiere oder die geringe Anzahl an nachgewiesenen Thrombusformationen sein. Ferner konnte kein numerischer oder quantitativer Wert für die Inzidenz eines Thrombus ermittelt werden.

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die Anwendung der ICGVA verschiedene Vorteile für den Chirurgen sowie den Patienten bietet. Auf chirurgischer Seite sind die schnelle und einfache Anwendung durch die Integration des Tools in das Operationsmikroskop sowie den geringen personellen sowie wirtschaftlichen Aufwand im Gegensatz zur konventionellen Angiografie zu nennen. Der Patient wird keiner unnötigen Strahlung ausgesetzt und verursacht nur in sehr seltenen Fällen Nebenwirkungen. Durch Anwendung dieser Technologie kann der Erfolg rekonstruktiver Eingriffe besser vorausgesagt und somit die postoperative Komplikationsrate weiter reduziert werden. In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass mit der ICGVA Gefäßwandschäden sowie Flusshindernisse wie bspw. Thrombosen oder Stenosen mit einer hohen Reliabilität festgestellt werden können. Zwar gestaltete sich die Abgrenzung der Defekte und Thrombosen teilweise schwierig, jedoch können durch die integrierte Infrarotquelle selbst in kleinsten Gefäßen Durchblutungsstörungen festgestellt werden. Insbesondere bei der Planung von bspw. Perforans-Lappenplastiken, bei denen kleinste Gefäße die Lappenversorgung gewährleisten müssen, ist eine intraoperative Überprüfung der Mikroanastomose sowie der Perfusionsgrenzen von großem Vorteil (Ritschl et al., 2020). So

konnten in mehreren experimentellen und klinischen Studien zur Beurteilung der Lappenperfusion Lappennekrosen vorausgesagt werden sowie klinisch nicht eindeutige Situationen beurteilt werden (Giunta et al., 2005; Holzbach et al., 2012; Ritschl et al., 2018).

#### **4.5. Verschiedene Möglichkeiten zur Detektion von Thromben in der Mikrochirurgie**

Die frühzeitige Detektion eines drohenden Transplantatverlusts ist von besonderem Interesse, wenn bei einem Lappentransfer eine Komplikation auftritt.

Die postoperative Thrombose stellt hier laut verschiedener Studien mit 10–35% die häufigste Komplikation bei freien mikrovaskulären Transplantaten und den Hauptgrund für einen Lappenverlust dar. Insbesondere die arterielle Thrombose tritt früher auf als die venöse und kann i.d.R. bereits innerhalb eines 45-minütigen Beobachtungsintervalls nach dem Eingriff identifiziert werden. (Wolff 2008).

Neben der klassischen klinischen Beurteilung des Transplantatmonitorings wurden bereits einige andere instrumentelle Techniken beschrieben, um Thrombosen und andere Kompromittierungen des Blutflusses frühzeitig zu erkennen. Darunter zu nennen ist die weit verbreitete Doppler-Sonografie, dessen Signal jedoch rein qualitativ ist und durch das Signal benachbarter Gefäße beeinträchtigt werden kann. Zudem erfordert die Untersuchung einen sehr geringen Abstand zum Gefäß (Kääriäinen et al., 2018; Vargas et al., 2015). Die Gewebeoximetrie misst die Oxygenierung eines nur sehr kleinen Abschnitts und setzt die vorherige Kenntnis der Lokalisation eines potenziellen Perfusionsdefekts voraus (Schrey et al., 2010). Die Duplex Sonografie ist ein hoch benutzerabhängiges Tool und erfordert eine hohe Expertise bezüglich der Anwendung und Interpretation der Untersuchung. Die genannten drei Methoden erfordern zudem direkten Kontakt zum Transplantat. Flussmessungen mittels Laser Doppler beschränken sich auf die oberflächliche Darstellung des kapillären Blutfluss.

In vorliegender Studie konnte gezeigt werden, dass die ICGVA im Vergleich zur klinischen Beurteilung eine relativ gute Sensitivität und Spezifität aufweist. Vor allem zur Beurteilung der Perfusion von Perforator-Lappen erweist sie sich als geeignet, denn die Lokalisation von Thromben in Gefäßen mit einem Durchmesser von <1mm gestaltet sich häufig nicht einfach. Unter anderem stellt ein Grund dafür das temporäre Auftreten von Mikrothromben dar, welche deshalb als Grund für eine Minderperfusion nicht in Betracht gezogen werden können (Pfeiler et al., 2014). Deshalb liegt das besondere Interesse einiger Studien im Bereich der mikro- oder makrovaskulären Chirurgie auf der Entwicklung neuer diagnostischer Methoden, um eine Thrombose möglichst frühzeitig zu erkennen.

Maeng et al versuchten mittels Angiografie Thromben in den Koronargefäßen am Schwein zu detektieren. Die Sensitivität und Spezifität dieser Methode lag bei 90% und 50% bei insgesamt 39 Versuchstieren. Der positive und negative prädiktive Wert lag bei 65% und 63%. Eine Studie von Siegel et al zeigte bei der Anwendung von Angiografie und Sonografie ähnliche Ergebnisse (Maeng et al., 2001; Siegel et al., 1995).

Keller veröffentlichte 2009 eine Studie, in welcher er mit einem noninvasiven Infrarot-Gewebeoximeter klinisch noch nicht apparente Kompromittierungen des Blutflusses in 208 Patienten mit Lappenplastiken im Brustbereich feststellen konnte. Gemessen wurde die absolute Sauerstoffsättigung, die Höhe der Veränderung der Sauerstoffsättigung sowie die Geschwindigkeit des Sauerstoffabfalls. Betrag der Geschwindigkeitsabfall größer oder gleich 20% pro Stunde und hielt länger als eine halbe Stunde an, wies dies auf eine Komplikation im Sinne einer Okklusion hin (Keller, 2009). In einer tierexperimentellen Studie von Coon et al. wurde ein resorbierbarer Polylactid-co-Glycolid Marker intraoperativ im Bereich der Anastomose platziert und mit einer Ultraschall-Software gekoppelt, was eine Echtzeit-Beurteilung der Anastomosenregion zu jedem Zeitpunkt ermöglichte. Die Marker konnten ohne weiteres mit Ultraschall und Dopplersonde visualisiert und Gefäßspasmen oder Okklusionen durch eine Veränderung bzw. ein Ausbleiben des Dopplersignals festgestellt werden (Coon et al., 2016).

Matsumine et al. machten sich das kontinuierliche Monitoring des intraparenchymatösen venösen Drucks zur frühzeitigen Detektion postoperativer mikrovaskulärer Komplikationen zunutze. Innerhalb eines Seitenast des venösen Gefäßsstiels des Transplantats wurde ein Katheter platziert, mit einem Messfühler für den Gefäßinnendruck und einem aufzeichnenden Messgerät verbunden. Ab 50 mm Hg, dem venösen Druck, der in den meisten Fällen bei dem Auftreten postoperativer venöser Thrombosen beobachtet wurde, wurde ein Alarmsignal ausgelöst. In diesem Fall wurden automatisch 4 Einheiten Heparin lokal im Bereich der Anastomose appliziert (Matsumine et al., 2018). Diese Methode erwies sich jedoch für das Erkennen arterieller Thrombosen als ungeeignet.

Die genannten Studien verdeutlichen um ein Weiteres die Wichtigkeit des korrekten Umgangs mit dem Gefäß, um Intimadefekte zu vermeiden und somit bereits intraoperativ einer Entstehung von Thromben entgegenzuwirken.

## 5 Zusammenfassung

Die Entwicklung mikrovaskulärer Techniken nahm in den letzten Jahrzehnten einen rasanten Lauf und findet heute in den verschiedensten operativen Fachdisziplinen Anwendung.

Im Rahmen der Rekonstruktion von Defektsituationen im Kopf- und Halsbereich ist der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer zu einer erfolgreichen und zuverlässigen Methode geworden und stellt heutzutage in den meisten spezialisierten Zentren den Goldstandard bei komplexen Wund- und Defektsituationen dar (Eckardt & Fokas, 2003; Khouri et al., 1998; Wolff, Hölzle, et al., 2008). Grundlegende Voraussetzung für den Erfolg rekonstruktiver mikrovaskulärer Eingriffe ist die Aufrechterhaltung eines intakten Blutflusses innerhalb der das Transplantat versorgenden Gefäße (Mücke, Wolff, Wagenpfeil, Holzle, et al., 2010).

Trotz der stetigen Weiterentwicklung mikrovaskulärer Techniken und Instrumentariums stellt die Kompromittierung des Blutflusses durch Thrombosierung des Gefäßstiels jedoch noch immer die Hauptursache für einen Lappenverlust dar. Diese wird unter anderem durch technische Fehler mit der Gefahr einer Endotheltraumatisierung begünstigt. Mikrochirurgische Grenzsituationen wie der gefäßverarmte, vorbestrahlte Hals nach Kopf-Hals-Tumoren gehen ebenfalls mit einer hyperkoaguablen Gefäßsituation einher und fordern häufig den Einsatz von Veneninterponaten, welche ein erhöhtes Thromboserisiko aufweisen (Kessler et al., 2013; Khouri et al., 1998; Sturtz et al., 2012).

Ziel dieser experimentellen Studie war es beide Situationen bezüglich ihres Thromboserisikos sowie auf Veränderungen in der Fluoreszenzangiografie hin zu untersuchen. Hauptaugenmerk lag hier unter anderem darauf eine komplizierte prokoagulatorische Gefäßsituation, wie sie bspw. bei voroperierten Patienten mit einem vessel depleted neck besteht, zu simulieren. Hierzu wurden mikrochirurgisch Endotheldefekte sowie Veneninterponate im Bereich der Aorta abdominalis von 33 Wistar Ratten gesetzt und anschließend nach 60min mittels ICGA evaluiert. Die ICGA mit dem integrierten FLOW 800 Tool wurde in drei Versuchsgruppen (I= Endotheldefekt, II= venöses Gefäßinterponat, III= Endotheldefekt und venöses Gefäßinterponat) mit jeweils 11 Versuchstieren durchgeführt. In fünf Tieren konnte die ICGA eine Thrombose erkennen und in 26 Tieren sicher ausschließen, darunter kam es zu zwei falsch positiven Fällen. Sensitivität, Spezifität und sowie positiver und negativer prädiktiver Wert befanden sich jeweils bei 100%,90% ,62% und 100%. Die Abweichung zwischen den sichtbaren und den mittels ICGVA ausgemessenen Endotheldefekten war signifikant ( $p=0,04$ ). Die Flächen der Thrombosen zeigten keinen signifikanten Unterschied. Des Weiteren konnte

## - Zusammenfassung-

in der ICGVA in allen Gruppen ein Abfall aller Parameter im Bereich der Defektregion und/oder innerhalb des Veneninterponats beobachtet werden. Insgesamt stellte sich das Vorhandensein eines Endotheldefekts als größerer Risikofaktor für eine Thrombusformation heraus als das venöse Interponat. Zusammenfassend erwies sich die ICGVA als geeignetes Tool zur Detektion von Endotheldefekten sowie klinisch nachweisbaren Thrombosen. Nichtsdestotrotz konnten in vorliegender Arbeit keine quantitativen Werte für die klinischen Szenarios, welche den freien Lappentransfer beeinträchtigen können, bestimmt werden.

## 6 Literaturverzeichnis

- Acland, R. D. (1974). Microvascular anastomosis: a device for holding stay sutures and a new vascular clamp. *Surgery*, 75(2), 185-187.
- Bayramicli, M., Tetik, C., Sonmez, A., Gurunluoglu, R., & Baltaci, F. (2002). Reliability of primary vein grafts in lower extremity free tissue transfers. *Ann Plast Surg*, 48(1), 21-29. <https://doi.org/10.1097/00000637-200201000-00003>
- Benazzo, M., Casasco, M., Bertino, G., Occhini, A., Casasco, A. (2002). Early microscopic evidence for endothelial damage in arterial microanastomosis. *Eur J Plast Surg*, 26, 26-28. <https://doi.org/10.1007/s00238-003-0468-y>
- Benya, R., Quintana, J., & Brundage, B. (1989). Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature. *Cathet Cardiovasc Diagn*, 17(4), 231-233.
- Biemer E, D. W. (1982). *Rekonstruktive Mikrogefäßchirurgie*. Springer Verlag
- Blain, B., Zhang, F., Jones, M., Richards, L., Fischer, K., Dorsett-Martin, W., & Lineaweaver, W. C. (2001). Vascular grafts in the rat model: an anatomic study. *Microsurgery*, 21(3), 80-83. <https://doi.org/10.1002/micr.1014>
- Bozиков, K., & Arnez, Z. M. (2006). Factors predicting free flap complications in head and neck reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 59(7), 737-742. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2005.11.013>
- Brown, J. S., Devine, J. C., Magennis, P., Sillifant, P., Rogers, S. N., & Vaughan, E. D. (2003). Factors that influence the outcome of salvage in free tissue transfer. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 41(1), 16-20.
- Büchler, U., & Buncke, H. J. (1979). *Experimental microvascular autografts*. (M. Co, Ed.). Serafin D., Buncke H.J.
- Chalian, A. A., Anderson, T. D., Weinstein, G. S., & Weber, R. S. (2001). Internal jugular vein versus external jugular vein anastomosis: implications for successful free tissue transfer. *Head Neck*, 23(6), 475-478.

- Chang, E. I., Zhang, H., Liu, J., Yu, P., Skoracki, R. J., & Hanasono, M. M. (2016). Analysis of risk factors for flap loss and salvage in free flap head and neck reconstruction. *Head Neck, 38 Suppl 1*, E771-775. <https://doi.org/10.1002/hed.24097>
- Chang, K. P., Lee, H. C., Lai, C. S., & Lin, S. D. (2007). Use of single saphenous interposition vein graft for primary arterial circuit and secondary recipient site in head and neck reconstruction: a case report. *Head Neck, 29*(4), 412-415. <https://doi.org/10.1002/hed.20508>
- Chen, S. F., Kato, Y., Oda, J., Kumar, A., Watabe, T., Imizu, S., Oguri, D., Sano, H., & Hirose, Y. (2011). The application of intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography and analysis of fluorescence intensity in cerebrovascular surgery. *Surg Neurol Int, 2*, 42. <https://doi.org/10.4103/2152-7806.78517>
- Chen, Y. W., Yen, J. H., Chen, W. H., Chen, I. C., Lai, C. S., Lu, C. T., & Song, D. Y. (2016). Preoperative Computed Tomography Angiography for Evaluation of Feasibility of Free Flaps in Difficult Reconstruction of Head and Neck. *Ann Plast Surg, 76 Suppl 1*, S19-24. <https://doi.org/10.1097/sap.0000000000000690>
- Cherrick, G. R., Stein, S. W., Leevy, C. M., & Davidson, C. S. (1960). Indocyanine green: observations on its physical properties, plasma decay, and hepatic extraction. *J Clin Invest, 39*, 592-600. <https://doi.org/10.1172/jci104072>
- Chiu, Y. H., Chang, D. H., & Perng, C. K. (2017). Vascular Complications and Free Flap Salvage in Head and Neck Reconstructive Surgery: Analysis of 150 Cases of Reexploration. *Ann Plast Surg, 78*(3 Suppl 2), S83-s88. <https://doi.org/10.1097/sap.0000000000001011>
- Chung, T. L., Pumplin, D. W., Holton, L. H., 3rd, Taylor, J. A., Rodriguez, E. D., & Silverman, R. P. (2007). Prevention of microsurgical anastomotic thrombosis using aspirin, heparin, and the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor tirofiban. *Plast Reconstr Surg, 120*(5), 1281-1288. <https://doi.org/10.1097/01.prs.0000279327.75083.ae>
- Classen, D. A. (2004). The indications and reliability of vein graft use in free flap transfer. *Can J Plast Surg, 12*(1), 27-29. <https://doi.org/10.1177/229255030401200105>

- Coon, D., Chen, L., Boctor, E. M., Prince, J. L., & Bojovic, B. (2016). Proof-of-Concept Studies for Marker-Based Ultrasound Doppler Analysis of Microvascular Anastomoses in a Modified Large Animal Model. *J Reconstr Microsurg*, 32(4), 251-255.  
<https://doi.org/10.1055/s-0035-1568158>
- Crawley, M. B., Sweeny, L., Ravipati, P., Heffelfinger, R., Krein, H., Luginbuhl, A., Goldman, R., & Curry, J. (2019). Factors Associated with Free Flap Failures in Head and Neck Reconstruction. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 161(4), 598-604.  
<https://doi.org/10.1177/0194599819860809>
- Dadaci, M., Oztekin, C., Oztekin, P. S., Sargon, M. F., & Ozgur, F. (2015). Effect of a combined oral contraceptive on patency of arterial anastomosis in a female rat model. *Microsurgery*, 35(7), 553-559. <https://doi.org/10.1002/micr.22474>
- Daniel, R. K., & Taylor, G. I. (1973). Distant transfer of an island flap by microvascular anastomoses. A clinical technique. *Plast Reconstr Surg*, 52(2), 111-117.
- Davison, S. P., Kessler, C. M., & Al-Attar, A. (2009). Microvascular free flap failure caused by unrecognized hypercoagulability. *Plast Reconstr Surg*, 124(2), 490-495.  
<https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181adcf35>
- Desmettre, T., Devoisselle, J. M., & Mordon, S. (2000). [Fluorescence properties and metabolic features of fluorescein]. *J Fr Ophtalmol*, 23(9), 821-833. (Proprietes de fluorescence et particularites metaboliques de la fluoresceine.)
- Di Taranto, G., Chen, S. H., Elia, R., Sitpahul, N., Chan, J. C. Y., Losco, L., Cigna, E., Ribuffo, D., & Chen, H. C. (2019). Outcomes following head neck free flap reconstruction requiring interposition vein graft or vascular bridge flap. *Head Neck*, 41(9), 2914-2920.  
<https://doi.org/10.1002/hed.25767>
- Dornseifer, U., Kleeberger, C., Kimelman, M., Kargl, L., Holm, C., Moog, P., & Ninkovic, M. (2017). Less Is More? Impact of Single Venous Anastomosis on the Intrinsic Transit Time of Free Flaps. *J Reconstr Microsurg*, 33(2), 137-142. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1593768>
- Eckardt, A., & Fokas, K. (2003). Microsurgical reconstruction in the head and neck region: an 18-year experience with 500 consecutive cases. *J Craniomaxillofac Surg*, 31(4), 197-201.

- Esclamado, R. M., & Carroll, W. R. (1999). The pathogenesis of vascular thrombosis and its impact in microvascular surgery. *Head Neck*, 21(4), 355-362.  
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0347\(199907\)21:4<355::aid-hed10>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0347(199907)21:4<355::aid-hed10>3.0.co;2-y)
- Faber, F., Thon, N., Fesl, G., Rachinger, W., Guckler, R., Tonn, J. C., & Schichor, C. (2011). Enhanced analysis of intracerebral arteriovenous malformations by the intraoperative use of analytical indocyanine green videoangiography: technical note. *Acta Neurochir (Wien)*, 153(11), 2181-2187. <https://doi.org/10.1007/s00701-011-1141-z>
- Fichter, A. M., Ritschl, L. M., Robitzky, L. K., Wagenpfeil, S., Mitchell, D. A., Wolff, K. D., & Mucke, T. (2016). Impact of different antithrombotics on the microcirculation and viability of perforator-based ischaemic skin flaps in a small animal model. *Sci Rep*, 6, 35833. <https://doi.org/10.1038/srep35833>
- Fischer, G., Rediker, J., & Oertel, J. (2018). Endoscope- versus microscope-integrated near-infrared indocyanine green videoangiography in aneurysm surgery. *J Neurosurg*, 1-10.  
<https://doi.org/10.3171/2018.4.Jns172650>
- Fox, I. J., Brooker, L. G., Heseltine, D. W., Essex, H. E., & Wood, E. H. (1957). A tricarboyanine dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Proc Staff Meet Mayo Clin*, 32(18), 478-484.
- Frohwitter, G., Röckl, J., Rau, A., Wolff, K. D., Kesting, M. R., & Koerdt, S. (2019). Evaluation of neck dissection with frozen section biopsy - Management of levels IV and V. *J Craniomaxillofac Surg*, 47(12), 1963-1967. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2019.11.019>
- Fujino, T., Tanino, R., & Sugimoto, C. (1975). Microvascular transfer of free deltopectoral dermal-fat flap. *Plast Reconstr Surg*, 55(4), 428-434.
- Fujioka, M. (2014). Surgical Reconstruction of Radiation Injuries. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 3(1), 25-37. <https://doi.org/10.1089/wound.2012.0405>
- Fukuiwa, T. N., K.; Hayashi, T.; Kurono, Y. (2008). Venous thrombosis after microvascular free-tissue transfer in head and neck cancer reconstruction. *Auris Nasus Larynx*, 35(3).

- Furr, M. C., Cannady, S., & Wax, M. K. (2011). Interposition vein grafts in microvascular head and neck reconstruction. *Laryngoscope*, 121(4), 707-711.  
<https://doi.org/10.1002/lary.21353>
- Gentile, S., Bajema, B. L., Baldini, G., Lunazzi, G., Groothuis, G. M. M., Tiribelli, C., Meijer, D. K. F., & Sottocasa, G. L. (1985). Measurement of the association of cholephylic organic anions with different binding proteins. *Biochemical Pharmacology*, 34(14), 2439-2444. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(85\)90523-4](https://doi.org/10.1016/0006-2952(85)90523-4)
- Gilsbach, J. M. (1984). [Microvascular intraoperative Doppler sonography]. *Ultraschall Med*, 5(5), 246-254. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1012102> (Mikrovaskuläre intraoperative Doppler-Sonographie.)
- Giunta, R. E., Holzbach, T., Taskov, C., Holm, P. S., Brill, T., Busch, R., Gansbacher, B., & Biemer, E. (2005). Prediction of flap necrosis with laser induced indocyanine green fluorescence in a rat model. *BR J Plast Surg*, 58(5), 695-701.  
<https://doi.org/10.1016/j.bjps.2005.02.018>
- Gottlieb, L. J., & Krieger, L. M. (1994). From the reconstructive ladder to the reconstructive elevator. *Plast Reconstr Surg*, 93(7), 1503-1504.
- Hanasono, M. M., Barnea, Y., & Skoracki, R. J. (2009). Microvascular surgery in the previously operated and irradiated neck. *Microsurgery*, 29(1), 1-7.  
<https://doi.org/10.1002/micr.20560>
- Hayhurst, J. W., & O'Brien, B. M. (1975). An experimental study of microvascular technique, patency rates and related factors. *BR J Plast Surg*, 28(2), 128-132.
- Hess, F. (1985). History of (micro) vascular surgery and the development of small-caliber blood vessel prostheses (with some notes on patency rates and re-endothelialization). *Microsurgery*, 6(2), 59-69.
- Hidalgo, D. A., Disa, J. J., Cordeiro, P. G., & Hu, Q. Y. (1998). A review of 716 consecutive free flaps for oncologic surgical defects: refinement in donor-site selection and technique. *Plast Reconstr Surg*, 102(3), 722-732; discussion 733-724.

- Hill, G. E., & Whitten, C. W. (1997). The role of the vascular endothelium in inflammatory syndromes, atherogenesis, and the propagation of disease. *J Cardiothorac Vasc Anesth*, 11(3), 316-321. [https://doi.org/10.1016/s1053-0770\(97\)90101-4](https://doi.org/10.1016/s1053-0770(97)90101-4)
- Hirche, C., Dresel, S., Krempien, R., & Hunerbein, M. (2010). Sentinel node biopsy by indocyanine green retention fluorescence detection for inguinal lymph node staging of anal cancer: preliminary experience. *Ann Surg Oncol*, 17(9), 2357-2362. <https://doi.org/10.1245/s10434-010-1010-7>
- Hollins, B., Noe, B., & Henderson, J. M. (1987). Fluorometric determination of indocyanine green in plasma. *Clin Chem*, 33(6), 765-768.
- Holm, C., Dornseifer, U., Sturtz, G., Basso, G., Schuster, T., & Ninkovic, M. (2010). The intrinsic transit time of free microvascular flaps: clinical and prognostic implications. *Microsurgery*, 30(2), 91-96. <https://doi.org/10.1002/micr.20708>
- Holm, C., Dornseifer, U., Sturtz, G., & Ninkovic, M. (2010). Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg*, 26(5), 311-316. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1249314>
- Holm, C., Mayr, M., Höfter, E., Dornseifer, U., & Ninkovic, M. (2009). Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study. *Microsurgery*, 29(7), 509-514. <https://doi.org/10.1002/micr.20645>
- Holm, C. M., M.; Höfter, E.; Becker, A.; Pfeiffer, U.J.; Mühlbauer, W. (2002). Intraoperative evaluation of skin-flap viability using laser induced fluorescence of indocyanine green. *British Journal of Plastic Surgery*, 55, 635-644. <https://doi.org/10.1054/bjps.2002.3969>
- Holzbach, T., Artunian, N., Spanholtz, T. A., Volkmer, E., Engelhardt, T. O., & Giunta, R. E. (2012). [Microscope-integrated intraoperative indocyanine green angiography in plastic surgery]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 44(2), 84-88. <https://doi.org/10.1055/s-0032-1309023> (Intraoperative Indocyaningrün-Fluoreszenzdiagnostik mittels Operationsmikroskop in der plastischen Chirurgie.)
- Hölzle, F., Mitchell, D. A., Rau, A., Palisaar, J., Löffelbein, D. J., Noldus, J., Hoheisel, A., Mücke, T., Kesting, M., & Wolff, K. D. (2012). Assessment of the perfusion and morbidity

- of the buccal mucosal donor site for grafting of urethral strictures. *J Craniomaxillofac Surg*, 40(1), 47-50. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2010.12.004>
- Inbal, A., Silva, A. K., Humphries, L. S., Teven, C. M., & Gottlieb, L. J. (2018). Bridging the Gap: A 20-Year Experience with Vein Grafts for Free Flap Reconstruction. The Odds for Success. *Plast Reconstr Surg*, 142(3), 786-794. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000004697>
- Jia, Y. C., Chen, H. H., Kang, Q. L., & Chai, Y. M. (2016). Stimulation of Nitric Oxide Production Contributes to the Antithrombotic Effect of Stromal Cell-Derived Factor-1 $\alpha$  in Preventing Microsurgical Anastomotic Thrombosis. *J Reconstr Microsurg*, 32(6), 470-475. <https://doi.org/10.1055/s-0036-1571797>
- Kääriäinen, M., Halme, E., & Laranne, J. (2018). Modern postoperative monitoring of free flaps. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 26(4), 248-253. <https://doi.org/10.1097/moo.0000000000000467>
- Keller, A. (2009). Algorithm for Early Prediction of Vascular Compromies in 208 Microsurgical Flaps Using Tissue Oxygen Saturation Measurements. *Annal of Plastic Surgery*, 62(5), 538-543. <https://doi.org/10.1097/SAP.0b013e3181a47ce8>.
- Kennedy, M. (2004). *A brief history of disease, science and medicine*. Asklepiad Press, Mission Viejo.
- Kessler, P., Poort, L., Bockmann, R., & Lethaus, B. (2013). Definition of quality indicators in microsurgery in head and neck reconstruction based on a 5-year follow-up without a loss. *J Craniomaxillofac Surg*, 41(1), 2-6. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2012.05.004>
- Ketterer, S. G., Wiegand, B. D., & Rapaport, E. (1960). Hepatic uptake and biliary excretion of indocyanine green and its use in estimation of hepatic blood flow in dogs. *Am J Physiol*, 199, 481-484. <https://doi.org/10.1152/ajplegacy.1960.199.3.481>
- Khouri, R. K. (1992). Avoiding free flap failure. *Clin Plast Surg*, 19(4), 773-781.
- Khouri, R. K., Cooley, B. C., Kunselman, A. R., Landis, J. R., Yeramian, P., Ingram, D., Natarajan, N., Benes, C. O., & Wallemark, C. (1998). A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome. *Plast Reconstr Surg*, 102(3), 711-721.

- Krag, C., & Holck, S. (1981). The value of the patency test in microvascular anastomosis: correlation between observed patency and size of intraluminal thrombus: an experimental study in rats. *BR J Plast Surg*, 34(1), 64-66. [https://doi.org/10.1016/0007-1226\(81\)90101-6](https://doi.org/10.1016/0007-1226(81)90101-6)
- Kretschmer, T. (2017). *Zerebrale Aneurysmen und Gefäßmalformationen - Behandlungsgrundlagen und neurochirurgische Therapie in Fallbeispielen*. Springer Verlag GmbH Deutschland.
- Kroll, S. S., Schusterman, M. A., Reece, G. P., Miller, M. J., Evans, G. R., Robb, G. L., & Baldwin, B. J. (1996). Timing of pedicle thrombosis and flap loss after free-tissue transfer. *Plast Reconstr Surg*, 98(7), 1230-1233.
- Krug, A. (2007). *Mikrozirkulation und Sauerstoff-versorgung des Gewebes, Methode des sogenannten O2C (oxygen to see)* (Vol. 36). <https://doi.org/10.1055/s-0037-1622158>
- Krukenmeyer, M. G. W., W. (2004). *Strahlenmedizin - Ein Leitfaden für den Praktiker*. Walter de Gruyter GmbH&Co. KG.
- Kubo, T., Yano, K., & Hosokawa, K. (2002). Management of flaps with compromised venous outflow in head and neck microsurgical reconstruction. *Microsurgery*, 22(8), 391-395. <https://doi.org/10.1002/micr.10059>
- Kuhnel, T. S., & Muller, G. H. (2004). Experimental animal studies of clip-induced microvascular trauma. *Microsurgery*, 24(3), 241-247. <https://doi.org/10.1002/micr.20016>
- Li, X., & Cooley, B. C. (1995). Effect of anticoagulation and inhibition of platelet aggregation on arterial versus venous microvascular thrombosis. *Ann Plast Surg*, 35(2), 165-169; discussion 169-170.
- Lin, C. H., Mardini, S., Lin, Y. T., Yeh, J. T., Wei, F. C., & Chen, H. C. (2004). Sixty-five clinical cases of free tissue transfer using long arteriovenous fistulas or vein grafts. *J Trauma*, 56(5), 1107-1117.
- Löffelbein, D., Ritschl, L. M., Güll, F. D., Roth, M., Wolff, K. D., & Mücke, T. (2017). Influence of possible predictor variables on the outcome of primary oral squamous cell carcinoma: a retrospective study of 392 consecutive cases at a single centre. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 46(4), 413-421. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2016.11.014>

- Loos, M. S., Freeman, B. G., & McClellan, W. T. (2010). Free muscle flap reconstructions using interpositional vein grafts vs. local anastomosis: a 5-year experience at a rural tertiary care center. *W V Med J*, *106*(3), 19-23.
- Maeng, M., den Heijer, P., Olesen, P. G., Emmertsen, N. C., Nielsen, T. T., Falk, E., & Andersen, H. R. (2001). Histopathologic validation of in-vivo angioscopic observation of coronary thrombus after angioplasty in a porcine model. *Coron Artery Dis*, *12*(1), 53-59. <https://doi.org/10.1097/00019501-200102000-00008>
- Maricevich, M., Lin, L. O., Liu, J., Chang, E. I., & Hanasono, M. M. (2018). Interposition Vein Grafting in Head and Neck Free Flap Reconstruction. *Plast Reconstr Surg*, *142*(4), 1025-1034. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000004770>
- Matsumine, H., Mogami, M., Fujiwara, O., Hasegawa, M., Ito, H., & Sakurai, H. (2018). Improvement of the salvage-rate of flap after venous thrombosis with intraparenchymatous venous pressure monitoring. *Microsurgery*, *38*(5), 498-503. <https://doi.org/10.1002/micr.30293>
- Mavrogenis, A. F., Markatos, K., Saranteas, T., Ignatiadis, I., Spyridonos, S., Bumbasirevic, M., Georgescu, A. V., Beris, A., & Soucacos, P. N. (2019). The history of microsurgery. *Eur J Orthop Surg Traumatol*, *29*(2), 247-254. <https://doi.org/10.1007/s00590-019-02378-7>
- McLean, D. H., & Buncke, H. J., Jr. (1972). Autotransplant of omentum to a large scalp defect, with microsurgical revascularization. *Plast Reconstr Surg*, *49*(3), 268-274.
- Miller, M. J., Schusterman, M. A., Reece, G. P., & Kroll, S. S. (1993). Interposition vein grafting in head and neck reconstructive microsurgery. *J Reconstr Microsurg*, *9*(3), 245-251; discussion 251-242. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1006652>
- Mishra, A., Jain, N., & Bhagwat, A. (2017). CT Angiography of Peripheral Arterial Disease by 256-Slice Scanner: Accuracy, Advantages and Disadvantages Compared to Digital Subtraction Angiography. *Vasc Endovascular Surg*, *51*(5), 247-254. <https://doi.org/10.1177/1538574417698906>
- Miyasaka, M., Ichikawa, K., Nishimura, M., Yamazaki, A., Taira, H., Imagawa, K., & Tanino, R. (2005). Salvage operations of free tissue transfer following internal jugular

- venous thrombosis: a review of 4 cases. *Microsurgery*, 25(3), 191-195.  
<https://doi.org/10.1002/micr.20104>
- Monsivais, J. J. (1990). Microvascular grafts: effect of diameter discrepancy on patency rates. *Microsurgery*, 11(4), 285-287. <https://doi.org/10.1002/micr.1920110407>
- Mücke, T., Holzle, F., Wolff, K., Kesting, M., & Scholz, M. (2008). Sealing maneuver for microvascular anastomoses in rats. *J Reconstr Microsurg*, 24(1), 33-37.  
<https://doi.org/10.1055/s-2008-1064925>
- Mücke, T., Rau, A., Weitz, J., Ljubic, A., Rohleder, N., Wolff, K. D., Mitchell, D. A., & Kesting, M. R. (2012). Influence of irradiation and oncologic surgery on head and neck microsurgical reconstructions. *Oral Oncol*, 48(4), 367-371.  
<https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2011.11.013>
- Mücke, T., Reeps, C., Wolff, K. D., Mitchell, D. A., Fichter, A. M., & Scholz, M. (2013). Objective qualitative and quantitative assessment of blood flow with near-infrared angiography in microvascular anastomoses in the rat model. *Microsurgery*, 33(4), 287-296.  
<https://doi.org/10.1002/micr.22095>
- Mücke, T., Schmidt, L. H., Fichter, A. M., Wolff, K. D., & Ritschl, L. M. (2018). Influence of venous stasis on survival of epigastric flaps in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 56(4), 310-314. <https://doi.org/10.1016/j.bjoms.2018.01.019>
- Mücke, T., Wolff, C., von During, M., Mitchell, D. A., Ritschl, L. M., & Fichter, A. M. (2017). Form and Size Matter: Increased Risk of Thrombosis in Microvessels with Surgically Created Endothelial Lesions. *J Reconstr Microsurg*, 33(1), 40-44.  
<https://doi.org/10.1055/s-0036-1587698>
- Mücke, T., Wolff, K. D., Wagenpfeil, S., Holzle, F., & Scholz, M. (2010). Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg*, 126(5), 1506-1514.  
<https://doi.org/10.1097/PRS.0b013e3181f0215a>
- Mücke, T., Wolff, K. D., Wagenpfeil, S., Mitchell, D. A., & Hölzle, F. (2010). Immediate microsurgical reconstruction after tumor ablation predicts survival among patients with

- head and neck carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 17(1), 287-295.  
<https://doi.org/10.1245/s10434-009-0758-0>
- Murawa, D., Hirche, C., Dresel, S., & Hunerbein, M. (2009). Sentinel lymph node biopsy in breast cancer guided by indocyanine green fluorescence. *Br J Surg*, 96(11), 1289-1294.  
<https://doi.org/10.1002/bjs.6721>
- Nahabedian, M. Y., Singh, N., Deune, E. G., Silverman, R., & Tufaro, A. P. (2004). Recipient vessel analysis for microvascular reconstruction of the head and neck. *Ann Plast Surg*, 52(2), 148-155; discussion 156-147. <https://doi.org/10.1097/01.sap.0000095409.32437.d4>
- Nelson, J. A., Fischer, J. P., Grover, R., Kovach, S. J., Low, D. W., Kanchwala, S. K., Levin, L. S., Serletti, J. M., & Wu, L. C. (2015). Vein grafting your way out of trouble: Examining the utility and efficacy of vein grafts in microsurgery. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 68(6), 830-836. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2015.02.008>
- Novakovic, D., Patel, R. S., Goldstein, D. P., & Gullane, P. J. (2009). Salvage of failed free flaps used in head and neck reconstruction. *Head Neck Oncol*, 1, 33.  
<https://doi.org/10.1186/1758-3284-1-33>
- Ozbek, M. R., Deune, E. G., Cooley, B. C., & Khouri, R. K. (1994). Experimental reproduction of free flap errors: a new model of thrombosis. *Ann Plast Surg*, 32(5), 474-477.
- Pereira, B. J., Holanda, V. M., Giudicissi-Filho, M., Borba, L. A., de Holanda, C. V., & de Oliveira, J. G. (2015). Assessment of Cerebral Blood Flow with Micro-Doppler Vascular Reduces the Risk of Ischemic Stroke During the Clipping of Intracranial Aneurysms. *World Neurosurg*, 84(6), 1747-1751. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2015.07.042>
- Petry, J. J., French, T. S., & Wortham, K. A. (1986). The effect of the "patency test" on arterial endothelial surface. *Plast Reconstr Surg*, 77(6), 960-964.
- Pfeiler, S., Massberg, S., & Engelmann, B. (2014). Biological basis and pathological relevance of microvascular thrombosis. *Thromb Res*, 133 Suppl 1, S35-37.  
<https://doi.org/10.1016/j.thromres.2014.03.016>
- Pignon, J. P., Bourhis, J., Domenge, C., & Designe, L. (2000). Chemotherapy added to locoregional treatment for head and neck squamous-cell carcinoma: three meta-analyses of

- updated individual data. MACH-NC Collaborative Group. Meta-Analysis of Chemotherapy on Head and Neck Cancer. *Lancet*, 355(9208), 949-955.
- Porter, R. (1999). *The greatest benefit to mankind: a medical history of humanity*. WW Norton.
- Raabe, A., Beck, J., & Seifert, V. (2005). Technique and image quality of intraoperative indocyanine green angiography during aneurysm surgery using surgical microscope integrated near-infrared video technology. *Zentralbl Neurochir*, 66(1), 1-6; discussion 7-8. <https://doi.org/10.1055/s-2004-836223>
- Ritschl, L. M., Fichter, A. M., Bomhard, A. V., Koerdt, S., Kehl, V., Kolk, A., Wolff, K. D., & Grill, F. D. (2020). Comparison between Different Perforator Imaging Modalities for the Anterolateral Thigh Perforator Flap Transfer: A Prospective Study. *J Reconstr Microsurg*, 36(9), 686-693. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1714425>
- Ritschl, L. M., Fichter, A. M., Häberle, S., von Bomhard, A., Mitchell, D. A., Wolff, K. D., & Mücke, T. (2015). Ketamine-Xylazine Anesthesia in Rats: Intraperitoneal versus Intravenous Administration Using a Microsurgical Femoral Vein Access. *J Reconstr Microsurg*, 31(5), 343-347. <https://doi.org/10.1055/s-0035-1546291>
- Ritschl, L. M., Schmidt, L. H., Fichter, A. M., Hapfelmeier, A., Kanatas, A., Wolff, K.-D., & Mücke, T. (2018). Prediction of Flap Necrosis by Using Indocyanine Green Videoangiography in Cases of Venous Occlusion in the Epigastric Flap Model of the Rat. *Journal of Reconstructive Microsurgery Open*, 3(2), e62-e69. <https://doi.org/10.1055/s-0038-1675408>
- Roche, N. A., Houtmeyers, P., Vermeersch, H. F., Stillaert, F. B., & Blondeel, P. N. (2012). The role of the internal mammary vessels as recipient vessels in secondary and tertiary head and neck reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 65(7), 885-892. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2012.01.006>
- Rodriguez-Hernandez, A., & Lawton, M. T. (2012). Flash fluorescence with indocyanine green videoangiography to identify the recipient artery for bypass with distal middle cerebral artery aneurysms: operative technique. *Neurosurgery*, 70(2 Suppl Operative), 209-220. <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e31823158f3>

- Schrey, A., Niemi, T., Kinnunen, I., Minn, H., Vahlberg, T., Kalliokoski, K., Suominen, E., Grénman, R., & Aitasalo, K. (2010). The limitations of tissue-oxygen measurement and positron emission tomography as additional methods for postoperative breast reconstruction free-flap monitoring. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, *63*(2), 314-321. <https://doi.org/10.1016/j.bjps.2008.09.029>
- Schultze-Mosgau, S., Grabenbauer, G. G., Radespiel-Troger, M., Wiltfang, J., Ries, J., Neukam, F. W., & Rodel, F. (2002). Vascularization in the transition area between free grafted soft tissues and pre-irradiated graft bed tissues following preoperative radiotherapy in the head and neck region. *Head Neck*, *24*(1), 42-51.
- Schwarzer, C., Mücke, T., Wolff, K. D., Loeffelbein, D. J., & Rau, A. (2016). Donor site morbidity and flap perfusion of subfascial and suprafascial radial forearm flaps: A randomized prospective clinical comparison trial. *J Craniomaxillofac Surg*, *44*(9), 1299-1304. <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2016.06.025>
- Seim, N. B., Old, M., Petrisor, D., Thomas, W., Naik, A., Mowery, A. J., Kang, S., Li, R., & Wax, M. K. (2020). Head and neck free flap survival when requiring interposition vein grafting: A multi-institutional review. *Oral Oncol*, *101*, 104482. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2019.104482>
- Seo, M. H., Kim, S. M., Huan, F., Myoung, H., Lee, J. H., & Lee, S. K. (2015). Analysis of Microvascular Free Flap Failure Focusing on the Microscopic Findings of the Anastomosed Vessels. *J Craniofac Surg*, *26*(7), 2047-2051. <https://doi.org/10.1097/scs.0000000000002111>
- Shah, K. J., & Cohen-Gadol, A. A. (2019). The Application of FLOW 800 ICG Videoangiography Color Maps for Neurovascular Surgery and Intraoperative Decision Making. *World Neurosurg*, *122*, e186-e197. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.09.195>
- Shi, G., Meister, D., Daley, R. A., & Cooley, B. C. (2013). Thrombodynamics of microvascular repairs: effects of antithrombotic therapy on platelets and fibrin. *J Hand Surg Am*, *38*(9), 1784-1789. <https://doi.org/10.1016/j.jhssa.2013.05.033>
- Siasios, I., Kapsalaki, E. Z., & Fountas, K. N. (2012). The role of intraoperative micro-Doppler ultrasound in verifying proper clip placement in intracranial aneurysm surgery. *Neuroradiology*, *54*(10), 1109-1118. <https://doi.org/10.1007/s00234-012-1023-y>

- Siegel, S. B., White, G. H., Colman, P. D., & Nelson, R. J. (1995). Intraoperative angioscopy for coronary bypass surgery. *J Card Surg*, *10*(3), 210-220. <https://doi.org/10.1111/j.1540-8191.1995.tb00601.x>
- Simal Julian, J. A., Miranda Lloret, P., Evangelista-Zamora, R., Sanroman Alvarez, P., Perez de San Roman, L., Pérez-Borredá, P., Pérez-Borredá, P., Beltran Giner, A., & Botella Asuncion, C. (2015). Indocyanine green videoangiography methodological variations: review. *Neurosurgical review*, *38*(1), 49-57. <https://doi.org/10.1007/s10143-014-0570-6>
- Sturtz, G., Heidekruger, P. I., & Ninkovic, M. (2012). [The internal thoracic vessels as alternative recipient vessels for microsurgical reconstruction in the head and neck area in patients with a vessel-depleted neck]. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, *44*(2), 75-79. <https://doi.org/10.1055/s-0031-1299767> (Die Arteria und Vena thoracica interna als alternative Anschlussgefasse fur die mikrochirurgische Rekonstruktion von Defekten im Kopf- und Halsbereich beim gefassverarmten Hals.)
- Sutterer, W. F., Hardin, S. E., Benson, R. W., Krovetz, L. J., & Schiebler, G. L. (1966). Optical behavior of indocyanine green dye in blood and in aqueous solution. *Am Heart J*, *72*(3), 345-350.
- Tamai, S. (2009). History of Microsurgery. *Plast Reconstr Surg*, *124*(6S):e282-e294. <https://doi.org/0.1097/PRS.0b013e3181bf825e>
- Uricchio, M., Gupta, S., Jakowenko, N., Levito, M., Vu, N., Doucette, J., Liew, A., Papatheodorou, S., Khawaja, A. M., Aglio, L. S., Aziz-Sultan, M. A., Zaidi, H., Smith, T. R., & Mekary, R. A. (2019). Computed Tomography Angiography Versus Digital Subtraction Angiography for Postclipping Aneurysm Obliteration Detection. *Stroke*, *50*(2), 381-388. <https://doi.org/10.1161/strokeaha.118.023614>
- Vargas, C. R., Nguyen, J. T., Ashitate, Y., Silvestre, J., Venugopal, V., Neacsu, F., Kettenring, F., Frangioni, J. V., Gioux, S., & Lee, B. T. (2015). Near-infrared imaging for the assessment of anastomotic patency, thrombosis, and reperfusion in microsurgery: a pilot study in a porcine model. *Microsurgery*, *35*(4), 309-314. <https://doi.org/10.1002/micr.22376>
- Wolff, K. D. (2012). Leitlinie zur Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms. *Leitlinienprogramm Onkologie*.

- Wolff, K. D., Hölzle, F., Wysluch, A., Mücke, T., & Kesting, M. (2008). Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery. *Microsurgery*, 28(3), 143-146. <https://doi.org/10.1002/micr.20468>
- Wolff, K. D., Kesting, M., Mücke, T., Rau, A., & Hölzle, F. (2008). Thiel embalming technique: a valuable method for microvascular exercise and teaching of flap raising. *Microsurgery*, 28(4), 273-278. <https://doi.org/10.1002/micr.20484>
- Wolff, K. D. H., F. (2005). *Raising of Microvascular Flaps - A Systematic Approach*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.
- Wong, K. K., Higgins, K. M., & Enepekides, D. J. (2010). Microvascular reconstruction in the vessel-depleted neck. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 18(4), 223-226. <https://doi.org/10.1097/MOO.0b013e32833a2e50>
- Yamamoto, M., Sasaguri, S., & Sato, T. (2011). Assessing intraoperative blood flow in cardiovascular surgery. *Surg Today*, 41(11), 1467-1474. <https://doi.org/10.1007/s00595-010-4553-0>
- Yanaka, K., Fujita, K., Noguchi, S., Matsumaru, Y., Asakawa, H., Anno, I., Meguro, K., & Nose, T. (2003). Intraoperative angiographic assessment of graft patency during extracranial-intracranial bypass procedures. *Neurol Med Chir (Tokyo)*, 43(10), 509-512; discussion 513. <https://doi.org/10.2176/nmc.43.509>
- Yang, G. C., B.; Gao, Y. (1981). Free transfer of forearm flap. Report of 56 cases. *Nat Med J China*, 61, 139.
- Yang, G. F., Chen, P. J., Gao, Y. Z., Liu, X. Y., Li, J., Jiang, S. X., & He, S. P. (1997). Forearm free skin flap transplantation: a report of 56 cases. 1981. *BR J Plast Surg*, 50(3), 162-165. [https://doi.org/10.1016/s0007-1226\(97\)91363-1](https://doi.org/10.1016/s0007-1226(97)91363-1)
- Yeoh, M. S., Kim, D. D., & Ghali, G. E. (2013). Fluorescence angiography in the assessment of flap perfusion and vitality. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 25(1), 61-66, vi. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2012.11.004>
- Yuan, S. M., & Jing, H. (2011). A reappraisal of saphenous vein grafting. *Ann Saudi Med*, 31(1), 62-71. <https://doi.org/10.4103/0256-4947.75781>

Zhang, C., Sun, J., Zhu, H., Xu, L., Ji, T., He, Y., Yang, W., Hu, Y., Yang, X., & Zhang, Z. (2015). Microsurgical free flap reconstructions of the head and neck region: Shanghai experience of 34 years and 4640 flaps. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 44(6), 675-684. <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2015.02.017>

Zhang, F., Oliva, A., Kao, S. D., Newlin, L., & Buncke, H. J. (1994). Microvascular vein-graft patency in the rat model. *J Reconstr Microsurg*, 10(4), 223-227. <https://doi.org/10.1055/s-2007-1006588>

Zhang, F., Sones, W. D., & Lineaweaver, W. C. (2001). Microsurgical flap models in the rat. *J Reconstr Microsurg*, 17(3), 211-221. <https://doi.org/10.1055/s-2001-14353>

## 7 Anhang

### 7.1. Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1: Die rekonstruktive Leiter bildet unterschiedliche rekonstruktive Verfahren zur Defektdeckung nach aufsteigender Komplexität ab .....</i>	<i>3</i>
<i>Abbildung 2: chemische Struktur des Fluoreszenzfarbstoffes Indocyaningrün .....</i>	<i>12</i>
<i>Abbildung 3: Funktionsweise der Indocyaningrün Fluoreszenzangiografie: Das OP-Mikroskop emittiert Infrarotlicht, welches arterielle und venöse Gefäße im Gewebe erreicht und die an die Plasmaproteine gebundenen ICG-Moleküle zur Fluoreszenz anregt. Das Fluoreszenzsignal wiederum wird vom Operationsmikroskop erfasst und ermöglicht die Beurteilung der Gewebepfusion. ....</i>	<i>14</i>
<i>Abbildung 4: Funktionsweise der Gewebe-Photospektrometrie: Durch die O2C-Sonde wird Weißlicht als auch Laserlicht in das Gewebe eingestrahlt. Mitochondrien streuen das Licht, so dass sich dessen Richtung und Intensität ändert. In Abhängigkeit von der Sauerstoffsättigung absorbiert das in den Erythrozyten vorhandene Hämoglobin das Licht und führt zur Änderung der Wellenlänge und somit dessen Farbe. Durch die Änderung der Wellenlänge des eingestrahlt Lichts können Blutflussgeschwindigkeit (Velocity) und Blutflussvolumen (Flow) bestimmt werden. Verinfacht und modifiziert nach Krug (Krug, 2007). ....</i>	<i>15</i>
<i>Abbildung 5: Digitale Subtraktionsangiografie mit Darstellung der A. carotis interna. Im linken Frontallappen lässt sich hier eine arteriovenöse Malformation erkennen. ....</i>	<i>17</i>
<i>Abbildung 6: Die männliche Wistar Ratte als Versuchstier. ....</i>	<i>21</i>
<i>Abbildung 7: Verwendete Narkosemittel. ....</i>	<i>22</i>
<i>Abbildung 8: Permikath®- Katheter .....</i>	<i>23</i>
<i>Abbildung 9: Skizze des Operationssitus im Femoralbereich der Ratte nach Anlage des Femoralkatheters. ....</i>	<i>23</i>
<i>Abbildung 10: Einzelne Schritte der Präparation der aorta abdominalis (v.o.n.u., v.r.n.l) ....</i>	<i>24</i>
<i>Abbildung 11: Mediane Laparotomie nach Eröffnung des Retroperitoneums .....</i>	<i>25</i>
<i>Abbildung 12: Endotheldefektsetzung im Bereich der infrarenalen Aorta mit lateral am Retroperitoneum fixierten Gefäßrändern (links), Skizze der Defektsetzung (rechts).....</i>	<i>26</i>
<i>Abbildung 13: Aorta abdominalis mit eingesetztem Veneninterponat aus der Femoralvene (links), Skizze des eingesetzten Veneninterponats (rechts) .....</i>	<i>27</i>
<i>Abbildung 14: Freigelegte und eröffnete aorta abdominalis mit gesetztem Endotheldefekt (links), Skizze der Defektsetzung mit eingesetztem Veneninterponat .....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 15: Freigelegte Aorta nach Defektsetzung und eingesetztem Veneninterponat ....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 16: Manuell gesetzte ROIs (links) und korrespondierende Kurvendigramme (rechts) mit der Fluoreszenzintensität über Zeit .....</i>	<i>30</i>
<i>Abbildung 17: Verwendetes Instrumentarium und Hilfsmaterial: Skalpell, spitze Schere, Klemmananlegepinzette, abgewinkelte und gerade Mikropinzette, gebogene und gerade Mikroschere, Permikath®-Katheter (v.l.n.r.) .....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 18: Verwendete Hilfsmittel .....</i>	<i>32</i>
<i>Abbildung 19: Nahtmaterial verschiedener Größen .....</i>	<i>33</i>
<i>Abbildung 20: Ausgangszustand der Rattenaorta in der ICG-Angiografie (mit freundlicher Genehmigung von Herrn Dr.med. dent. Constantin Wolff) .....</i>	<i>37</i>
<i>Abbildung 21: Bestimmung der Fluoreszenzintensität proximal, distal und im Bereich des Defekts mit korrespondierendem Flussidagramm. ....</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 22: (v.l.n.r.) 1.: farbkodierte Darstellung (Flow 800 Tool) mit Fluoreszenzminderung im Bereich des Endotheldefekts, 2.-4.: Beispiele intraoperativer</i>	

<i>Fluoreszenzveränderungen: Fluoreszenzsteigerung (links), deutliche Fluoreszenzminderung und Dilatation (mittig), keine Fluoreszenzänderung und geringe Stenose (rechts) .....</i>	<i>39</i>
<i>Abbildung 23: Diagramm der gemessenen Fluoreszenz: rot=ROI im Bereich kaudal des Veneninterponats, blau= ROI im Bereich kranial des Veneninterponats, grün= ROI im Veneninterponat .....</i>	<i>40</i>
<i>Abbildung 24: Stenosierungen (links u. mittig) und resultierende Dilatation (mittig) im Bereich des Veneninterponats, verminderte Fluoreszenz aufgrund einer Stenose im Bereich des Veneninterponats (rechts) .....</i>	<i>41</i>
<i>Abbildung 25: Messung der Fluoreszenz kranial des Defekts (ROI 1, rot), im Defekt selbst (ROI 2, grün), im Veneninterponat (ROI 3, blau) sowie kaudal des Veneninterponats (ROI 4, grün) .....</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 26: Fluoreszenzminderung im Defektbereich (links) sowie Farbwechsel im Sinne einer Flussminderung in der farbkodierten Darstellung mit Flow 800 Tool (rechts) .....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 27: Stenosierungen im Bereich des Veneninterponats .....</i>	<i>43</i>
<i>Abbildung 28: Beispiele für thrombotische Ablagerungen im Bereich eines Endotheldefekts (links) und eines Veneninterponats (rechts) .....</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 29: In der ICG-Angiografie sichtbarer Thrombus .....</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 30: Graphische Darstellung der klinisch detektierten Thrombosen in den jeweiligen Gruppen .....</i>	<i>46</i>

## **7.2. Tabellenverzeichnis**

<i>Tabelle 1: Vierfeldertafel .....</i>	<i>34</i>
<i>Tabelle 2: Darstellung der beobachteten Veränderungen in der Angiografie .....</i>	<i>38</i>
<i>Tabelle 3: Tabellarische Darstellung der beobachteten Veränderungen in der ICG-Angiografie in Gruppe II .....</i>	<i>40</i>
<i>Tabelle 4: Tabellarische Darstellung der beobachteten fluoreszenzangiografischenVeränderungen in Gruppe III .....</i>	<i>42</i>
<i>Tabelle 5: Angiografisch sowie klinisch sichtbare Thromben in Gruppe I (Defekt) .....</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 6: Angiografisch sowie klinisch sichtbare Thromben in Gruppe II (Veneninterponat) .....</i>	<i>47</i>
<i>Tabelle 7: Angiografisch sowie klinisch sichtbare Thromben in Gruppe III (Defekt und Interponat) .....</i>	<i>48</i>
<i>Tabelle 8: Vierfeldertafel .....</i>	<i>49</i>
<i>Tabelle 9: Deskriptive Ergebnisse der klinisch ausgemessenen Fläche des Endotheldefekts und der klinisch sowie angiografisch ausgemessenen Fläche der Thrombose unter Verwendung der NIH Image J Software (ImageJ 1.41o, National Institutes of Health, USA). 50</i>	
<i>Tabelle 10: Table 3. Werte und deskriptive Statistik der Indocyanin Videoangiografie (ICGVA) für die drei experimentellen Gruppen: Endotheldefekt (ED Gruppe I), Veneninterponat (VI, Gruppe II) und ED mit VI (Gruppe III) .....</i>	<i>52</i>
<i>Tabelle 11: Univariate Regressionsanalyse .....</i>	<i>53</i>
<i>Tabelle 12: Univariate Regressionsanalyse für die Thromboseinzidenz, die sichtbare Thrombosefläche sowie die sichtbare Fläche des Endotheldefekts für die analysierten Parameter der ICGVA .....</i>	<i>55</i>

### **7.3. Veröffentlichung von Teilen der Doktorarbeit**

*Effects of endothelial defects and venous interposition grafts on the acute incidence of thrombus formation within microvascular procedures.*

Ritschl LM, **Hofmann MK.**, Wolff CT, Schmidt LH, Wolff KD, Fichter AM, Mücke T  
Science Reports 11, 8767 (April 2021). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-88324-2>

## **7.4. Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei all Jenen bedanken, welche diese Arbeit ermöglicht und mich während der Fertigstellung der Dissertation in jeglicher Weise unterstützt haben.

Besonders hervorheben möchte ich zunächst meinen Doktorvater PD. Dr. Dr. Thomas Mücke, der mich in die Kunst der Mikrochirurgie einführte und die vorliegende experimentell-operative Forschungsarbeit ermöglicht hat.

Herrn PD Dr. Dr. Lucas Ritschl gilt ebenfalls ein besonderer Dank für die hervorragende Betreuung und geduldige Unterstützung bei der Verwirklichung dieser Arbeit. Dankbar bin ich auch für die wertvollen Tipps während der Versuchsdurchführung und die stets gute Stimmung im mikrochirurgischen Labor.

Ein weiterer Dank geht an Herrn Dr. Dr. Constantin Wolff sowie Dr. Leonard Schmidt für die Unterstützung und gute Zusammenarbeit bei der Versuchsdurchführung.

Meinen Eltern und meinem Bruder, welche mir stets mit Rat und Tat zur Seite standen, danke ich herzlich für ihre Liebe und Unterstützung in allen Situationen.

Ein besonderer Dank gilt auch meinem Ehemann für die Geduld und liebevolle Unterstützung während der Fertigstellung dieser Arbeit sowie Hilfe bei der Anfertigung der Abbildungen.

Mein spezieller Dank sowie Respekt gelten zudem den Versuchstieren selbst, durch welche es mir möglich war komplexe mikrochirurgische Fähigkeiten zu erlernen.