

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

**Auswirkung und Detektion verschiedener arterieller und  
venöser Stenosegrade der zu- und abführenden Gefäße auf das  
Perfusionsverhalten in einem mikrovaskulären  
Transplantationsmodell der Ratte**

Leonard Hubertus Johannes Schmidt

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

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. Priv.-Doz. Dr. Dr. Th. Mücke
2. Prof. Dr. H.-H. Eckstein

Die Dissertation wurde am 16.01.2020 bei der Technischen Universität München  
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 04.11.2020 angenommen.



Meiner Familie



*“This is very nice work, but it is simply ridiculous to bring a microscope into the operating room.”*

- Anmerkung eines führenden Chirurgen eines renommierten Instituts, nachdem J. Jacobson die Bedeutung des Mikroskops für die Rekonstruktive Chirurgie im Rahmen der amerikanischen Jahrestagung für Chirurgie erläutert hatte (Kriss et Kriss, 1998).



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b>	<b>11</b>
1.1	<b>Freie mikrovaskuläre Transplantate in der Rekonstruktiven Chirurgie</b>	<b>11</b>
1.1.1	Geschichte und Hintergrund	11
1.1.2	Klinische Anwendung	17
1.2	<b>Physiologie des freien mikrovaskulären Transplantats</b>	<b>19</b>
1.2.1	Anatomischer Aufbau und Vaskularisierung	19
1.2.2	Rheologie und Perfusionsverhalten	22
1.2.3	Ursachen und mögliche Folgen einer kompromittierten Perfusion	24
1.3	<b>Monitoring freier mikrovaskulärer Transplantate</b>	<b>27</b>
1.3.1	Ultraschall-Durchflussmessung	29
1.3.2	Gewebe-Photospektrometrie	32
1.3.3	Indocyaningrün-Fluoreszenzangiographie	34
1.4	<b>Problematik und Zielsetzung der Arbeit</b>	<b>40</b>
<b>2</b>	<b>Material und Methodik</b>	<b>42</b>
2.1	<b>Versuchsmodell</b>	<b>42</b>
2.2	<b>Versuchsaufbau</b>	<b>42</b>
2.2.1	Versuchstiere und Haltung	42
2.2.2	Vorbereitungen und Narkose	44
2.2.3	Operative Eingriffe und Versuchsdurchführung	45
2.3	<b>Instrumente und technische Apparaturen</b>	<b>58</b>
2.3.1	Mikrochirurgisches Instrumentarium	58
2.3.2	Technische Apparaturen	59
2.4	<b>Statistische Methodik</b>	<b>63</b>
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>64</b>
3.1	<b>Ergebnisse der deskriptiven Statistik</b>	<b>64</b>
3.1.1	Flussmessungen mit dem Transit Flowmeter	64
3.1.2	Perfusionsevaluation mittels simultaner Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie	67
3.1.3	Perfusionsanalyse mittels Indocyaningrün-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software	70
3.2	<b>Ergebnisse der explorativen Statistik</b>	<b>77</b>
3.2.1	Random Forest Analyse	77

3.2.2 Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse und Modellkalibrierung .....	80
3.2.3 Cohens weighted Kappa Analyse.....	82
<b>4 Diskussion.....</b>	<b>84</b>
<b>4.1 Versuchsmodell und Methodik.....</b>	<b>85</b>
4.1.1 Das Hinterlaufmodell der Ratte als Transplantationsmodell.....	85
4.1.2 Stenosierung der A. und V. femoralis.....	86
4.1.3 Anwendung der unterschiedlichen Techniken zur intraoperativen Blutflussmessung.....	87
<b>4.2 Detektion unterschiedlicher Stenosegrade und intraoperative Evaluation der Transplantatperfusion.....</b>	<b>90</b>
4.2.1 Flowmeter und ICG-VA.....	91
4.2.2 O2C.....	93
<b>4.3 Möglichkeiten und Limitationen des intraoperativem Transplantat-Monitoring im Rahmen der klinischen Anwendung .....</b>	<b>94</b>
<b>4.4 Ausblick.....</b>	<b>97</b>
<b>5 Zusammenfassung.....</b>	<b>99</b>
<b>6 Literaturverzeichnis.....</b>	<b>101</b>
<b>7 Anhang.....</b>	<b>126</b>
7.1 Veröffentlichung von Teilen der Doktorarbeit .....	126
7.2 Leitfaden zur Aufbereitung und Auswertung der ICG-Rohdaten.....	127
7.3 Abbildungsverzeichnis.....	131
7.4 Tabellenverzeichnis.....	137
<b>8 Curriculum Vitae.....</b>	<b>139</b>
<b>9 Danksagung .....</b>	<b>140</b>

## Abkürzungen

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

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

---

# 1 Einleitung

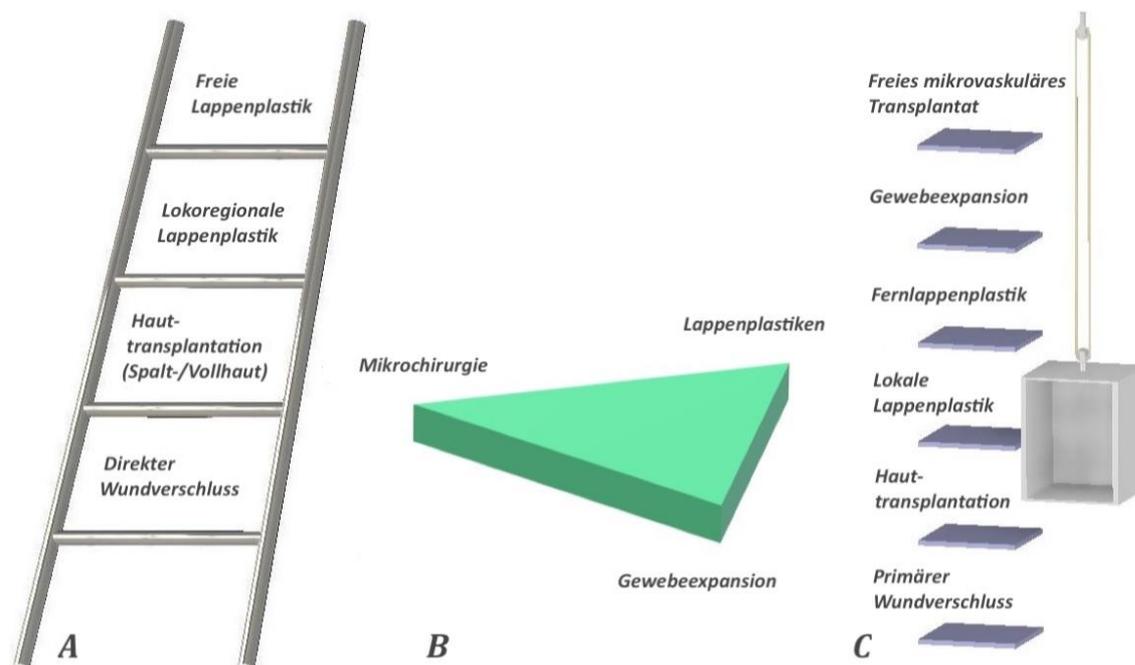
## 1.1 Freie mikrovaskuläre Transplantate in der Rekonstruktiven Chirurgie

### 1.1.1 Geschichte und Hintergrund

Die Rekonstruktive Chirurgie befasst sich mit der operativen Wiederherstellung von Gewebestrukturen und der Deckung von Defekten, die aufgrund von Tumorerkrankungen oder Traumata, seltener auch durch angeborene Fehlbildungen, entstanden sind. Für die Rekonstruktion stehen in diesem Teilbereich der Chirurgie eine Vielzahl von Techniken und Verfahren zur Verfügung, die entsprechend ihrer Vor- und Nachteile zum Einsatz kommen. Dabei gilt es, zuvor verloren gegangenes oder geschädigtes Gewebe in Form und Funktion wiederherzustellen bzw. idealerweise durch gleiches Gewebe zu ersetzen. Hinsichtlich Transplantationsform und angewandter chirurgischer Technik lassen sich die Lappenplastiken vereinfacht in gestielte (Nah- und Fernlappenplastik) und freie mikrovaskuläre Transplantate unterteilen (Milorio et Peterson, 2012; Gujer et al., 2013).

Als Orientierung für die zu wählende Art der operativen Defektdeckung dient das didaktische Konzept der Rekonstruktiven Leiter, welches eine Einteilung der wesentlichen rekonstruktiven Methoden nach zunehmender Komplexität vornimmt (Abb. 1). Basierend auf dieser Einteilung soll das einfachste Verfahren gewählt werden, mit dem sich die rekonstruktive Zielsetzung realisieren lässt. Auch wenn von diesem Grundsatz heutzutage vor allem durch die Weiterentwicklungen im Bereich der Mikrochirurgie abgewichen wird, um sinngemäß eine höhere "Sprosse" der Rekonstruktiven Leiter zu erreichen und dadurch ein adäquates Resultat zu ermöglichen, bleibt dieses Konzept prinzipiell weiterhin gültig (Janis et al., 2011). Das "Rekonstruktive Dreieck" von Mathes & Nahai sowie der "Rekonstruktive Aufzug" von Gottlieb & Krieger stellen Weiterentwicklungen dieses Konzepts dar, an dessen oberster Stelle der technisch anspruchsvolle freie Gewebettransfer samt mikrochirurgischer Anastomosierung des zugehörigen Gefäß- und Nervenstiels steht. Beide oben genannten

Modifikationen vernachlässigen den Aspekt der Komplexität. Die Auswahl des operativen Verfahrens soll demnach primär in Abhängigkeit des angestrebten rekonstruktiven Gesamtergebnisses (und unter Berücksichtigung von Funktionalität und Ästhetik) erfolgen und nicht die Defektdeckung allein zum Ziel haben (Gottlieb et Krieger, 1994; Mathes et Nahai, 1997; Hayden et Nagel, 2013). Auch in der Mikrochirurgie wurde ein analoges Konzept der Leiter von Tintle beschrieben (Tintle et Levin, 2013).



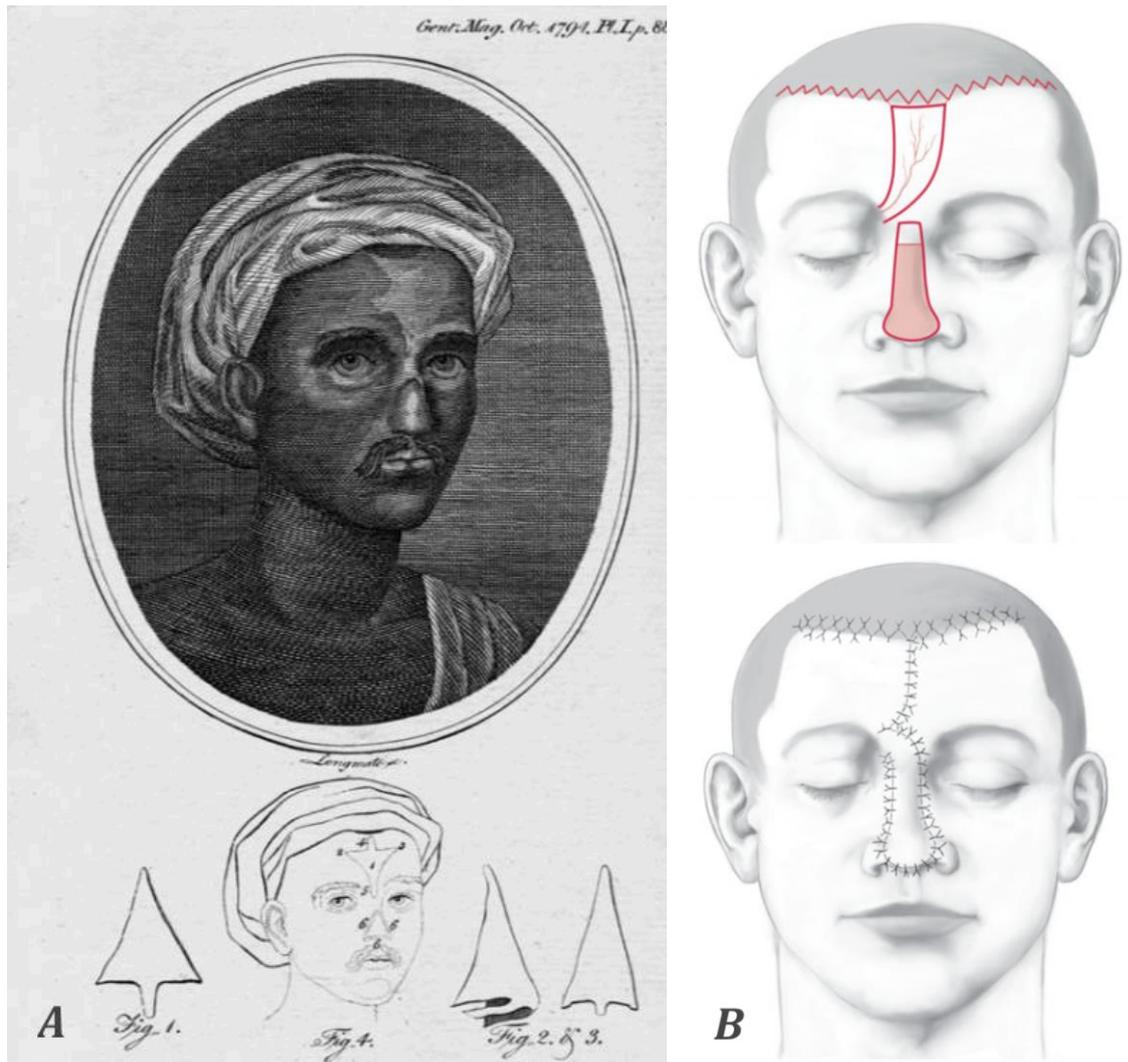
**Abb. 1: Das Konzept der Rekonstruktiven Leiter.** (A) Die Rekonstruktive Leiter, als Orientierung für die Art der Defektdeckung, bildet unterschiedliche rekonstruktive Verfahren nach aufsteigender Komplexität ab. (B) Das Rekonstruktive Dreieck (Mathes et Nahai, 1997) und (C) der Rekonstruktive Aufzug (Gottlieb et Krieger, 1994) gewähren als Modifikationen dieses Konzepts dem Chirurgen mehr Freiheit in der Wahl des geeigneten Verfahrens.

Für die Hebung eines freien mikrovaskulären Transplantats und dessen konsekutive Integration in der Defektregion sind genaue anatomische Kenntnisse der Entnahmestelle und die Beherrschung mikrochirurgischer Techniken von essentieller Bedeutung. Anders als bei einem gestielten Transplantat wird das freie mikrovaskuläre Transplantat als zusammenhängende Gewebeeinheit an seiner Entnahmeregion einschließlich versorgender Blutgefäße vollständig abgesetzt. Anschließend erfolgt am Ort der Defektdeckung die Inkorporation des autologen

---

Transplantats und der Anschluss der Gefäße mittels mikrochirurgischer Anastomose. Der mikrovaskulären Chirurgie kommt im Rahmen dieser operativen Prozedur eine bedeutende Rolle zu. Sie ermöglicht eine physiologische Gewebepfusion, die für die Einheilung des Transplantats unabdingbar ist, und schafft somit die Grundvoraussetzung für einen komplikationsfreien postoperativen Verlauf (Wong et Wei, 2010; Wolff et Hölzle, 2017).

Der freie Gewebettransfer, wie er heutzutage zu komplexen rekonstruktiven Zwecken angewandt wird, ist das Resultat kontinuierlicher Weiterentwicklung. Erst durch entscheidende Fortschritte im Bereich der Technik und Transplantationschirurgie wurde diese Evolution ermöglicht (Fang et Chung, 2014). Obwohl plastische Operationen bereits im Zeitraum 3000 – 500 v. Chr. in Indien und Ägypten durchgeführt wurden und lokale Lappenplastiken im Verlauf zum Einsatz kamen, erfolgte die Erstbeschreibung des sog. Indischen Lappens auf Sanskrit erst sehr viel später gegen Mitte des 16. Jahrhunderts. Es dauerte bis Ende des 18. Jahrhunderts, bevor das Wissen über die technische Durchführung der paramedianen Stirnlappenplastik (Abb. 2) die westliche Welt erreichte und als erstes gestieltes Transplantat Eingang in die rekonstruktive Nasenchirurgie fand (Mazzola, 2007; Oo et Park, 2011; Mazzola et Mazzola, 2014). Nach diesem Vorbild entstanden weitere gestielte Nah- und Fernlappenplastiken, welche noch bis Mitte des 20. Jahrhunderts das rekonstruktive Standardverfahren zur Defektdeckung darstellten (Wong et Wei, 2010). Die Rekonstruktion komplexerer Gewebsdefekte, wie sie beispielsweise im Rahmen des ersten und zweiten Weltkriegs entstanden, blieb jedoch eine große Herausforderung innerhalb der chirurgischen Disziplinen. Hierbei erwiesen sich die gestielten Lappenplastiken hinsichtlich des rekonstruktiven Anspruchs an Form und Funktion als limitierender Faktor.



**Abb. 2: Paramediane Stirnlappenplastik zur Rekonstruktion der Nase als Beispiel einer gestielten Lappenplastik.** (A) Erstbeschreibung einer Rhinoplastik mithilfe des sog. Indischen Stirnlappens in Europa, veröffentlicht in der Oktoberausgabe des Gentleman's Magazine 1794 in London (Mazzola, 2007). (B) Die Mobilisierung des paramedianen Stirnlappens erfolgt gestielt an der A. supratrochlearis samt Begleitvene. Der Defekt im Bereich der Stirnhaut wird nach der Rekonstruktion durch zwei seitliche Verschiebelappen und eine fortlaufende Verzahnung der Haut am Haaransatz gedeckt. Abbildungen aus Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie nach Hausamen et al. (Hausamen et al., 2012).

Die Entwicklung der Mikrochirurgie Anfang des 20. Jahrhunderts und im weiteren Verlauf der mikrovaskulären Chirurgie schufen erstmals die Voraussetzungen für den freien Gewebetransfer. Dabei gelten die Arbeiten des französischen Chirurges Alexis Carrel zur vaskulären Anastomosierung und Transplantationschirurgie als wegweisend. Nachdem er zwischen 1902 und 1909 zusammen mit dem Physiologen Charles Guthrie zahlreiche Organe an Hunden transplantiert und

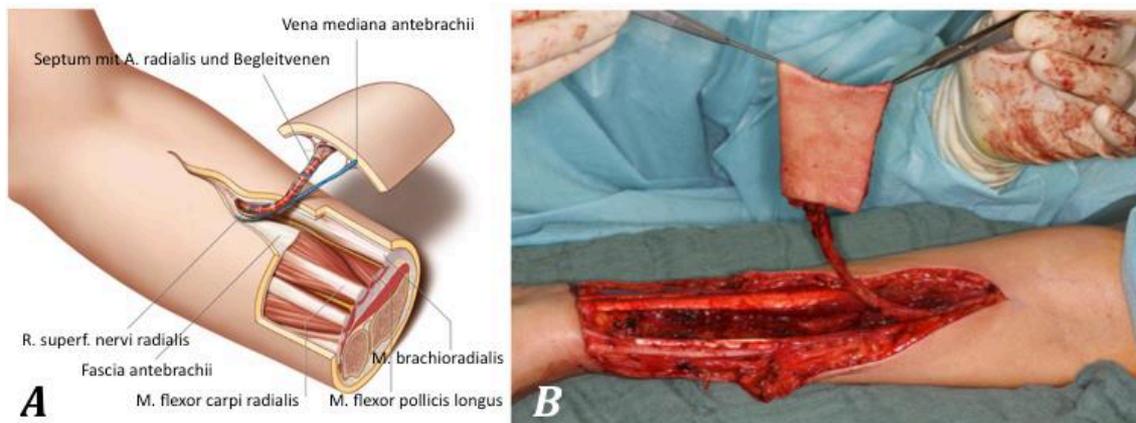
---

Techniken zur vaskulären Anastomosierung entwickelt hatte, wurde er 1912 mit dem Nobelpreis für Medizin und Physiologie ausgezeichnet (Carrel et Guthrie, 1906; Carrel, 1908; Carrel et Guthrie, 2001). Es folgte 1921 in Stockholm die Konstruktion eines monookulären Mikroskops eigens für operative Eingriffe durch den schwedischen Hals-Nasen-Ohren-Arzt Carl-Olof Nylén, der als Vater der Mikrochirurgie angesehen wird. Sein Kollege Gunnar Holmgren entwickelte diese Idee weiter und erschuf 1922 ein binokuläres Operationsmikroskop. Aufgrund des dennoch stark eingeschränkten Sichtfeldes, der geringen Brennweite und Lichtstärke, sowie mangelnder Stabilität, blieb der Einsatz des Geräts zunächst auf die HNO-Chirurgie beschränkt (Nylén, 1954; Mudry, 2000). 1953 präsentierte die Firma Zeiss auf dem HNO-Weltkongress in Amsterdam schließlich das erste moderne Operationsmikroskop, welches durch seinen hohen klinischen Nutzen zunehmend Einzug in andere Fachbereiche hielt und sich immer größer werdender Beliebtheit erfreute (Minderjahn et Dahm, 1979; Tamai, 2009; Steel et Cope, 2015; Gudziol et al., 2017).

In den 50er Jahren erkannten Julius Jacobson und Ernesto Suarez die Bedeutung des binokulären Operationsmikroskops für die Durchführung mikrochirurgischer Anastomosen und prägten als Pioniere erstmals den Begriff der mikrovaskulären Chirurgie. Fortan war es möglich auch Gefäße geringerer Dimension, d.h. mit einem Gefäßdurchmesser von weniger als 2,5 - 3 mm, zu anastomosieren (Jacobson JH, 1960; Daniel, 1979). Zahlreiche Arbeiten zur Transplantationschirurgie und zum freien mikrovaskulären Gewebettransfer folgten. Dabei konnten vor allem mit Hilfe der tierexperimentellen Forschung wichtige Erkenntnisse gewonnen werden, die den Weg für die klinische Anwendung ebneten (Goldwyn et al., 1963; Krizek et al., 1965; Buncke et al., 1966; Buncke et Schulz, 1966; Strauch et Murray, 1967; Zhang et al., 2001).

Die erste freie mikrovaskuläre Rekonstruktion am Menschen erfolgte 1959 in New York durch Bernard Seidenberg. Dieser stellte mit Hilfe eines Jejunumtransplantats die Kontinuität des zervikalen Ösophagussegments nach zuvor erfolgter Tumorsektion wieder her (Seidenberg et al., 1959). 1969 transplantierten Donald McLean und Harry Buncke in Kalifornien einen mikrovaskulären Omentumlappen zur Deckung eines großflächigen Skalpdefekts, welcher vorab im Zuge der Resektion eines Plattenepithelkarzinoms entstanden

war (McLean et Buncke, 1972). Dieser Eingriff entsprach am ehesten unserer heutigen Vorstellung eines freien mikrovaskulären Gewebetransfers. Nahezu zeitgleich berichtete Kiyonori Harii in Tokyo über die erste klinisch erfolgreiche Transplantation eines Hautlappens zur Therapie einer Alopezie (Harii et al., 1974a, 1974b). Harii und sein Team leisteten auch in den Folgejahren einen großen Beitrag zur Entwicklung der mikrovaskulären Transplantationschirurgie. Der Australier Ian Taylor beschrieb 1975 das freie Fibulatransplantat als erstes mikrovaskuläres Knochentransplantat, während kurz darauf der Amerikaner William Panje 1976 über seine Erfahrungen hinsichtlich des Einsatzes verschiedener freier Lappenplastiken zur Rekonstruktion von Defekten in der Mundhöhle berichtete (Daniel et Taylor, 1973; Taylor et al., 1975; Panje et al., 1976). Als einer der letzten großen Meilensteine erfolgte 1981 durch den chinesischen Chirurg Goufan Yang die Erstbeschreibung des Radialistransplantats, dessen Anwendung im deutschsprachigen Raum durch Wolfgang Mühlbauer große Popularität erlangte (Mühlbauer et al., 1981; Yang et al., 1997). Der sog. Radialislappen (Abb. 3) zählt noch heute zu den am häufigsten verwendeten freien mikrovaskulären Lappenplastiken (Zhang et al., 2015; Wolff et Hölzle, 2017).



**Abb. 3: Der Radialislappen als Beispiel eines freien mikrovaskulären Transplantats.** (A) Anatomie des radialen Unterarmflappens. (B) Intraoperative Aufnahme nach der Hebung des fasziokutanen Transplantats und vor Absetzen des arteriovenösen Gefäßstils. Modifiziert nach Wolff & Hölzle und Roenneberg (Roenneberg, 2013; Wolff et Hölzle, 2017).

Der Einsatz freier mikrovaskulärer Transplantate ist heutzutage nicht mehr aus der Rekonstruktiven Chirurgie weg zu denken. Sie revolutionierten die operative

---

Behandlung von Tumorerkrankungen und Traumata und stellen mittlerweile eine verlässliche und effektive Methode zur Wiederherstellung von reseziertem oder traumatisch-geschädigtem Gewebe dar. Besonders in Bezug auf komplexere rekonstruktive Eingriffe bildet das freie mikrovaskuläre Transplantat in vielen chirurgischen Fachbereichen die unverzichtbare Grundlage. Angesichts des breiten Spektrums chirurgischer Fachdisziplinen mit rekonstruktivem Schwerpunkt, seien an dieser Stelle nur exemplarisch die Plastische Chirurgie und die Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie genannt (Steel et Cope, 2015; Zhang et al., 2015). Mit Erfolgsraten von mittlerweile 90-96% ist der freie Gewebetransfer eines der zuverlässigsten und am häufigsten angewandten rekonstruktiven Verfahren (Khouri et al., 1998; Wolff et al., 2008; Kruse et al., 2010; Al-Dam et al., 2014; Mücke et al., 2016).

### **1.1.2 Klinische Anwendung**

Seit der Entwicklung des freien mikrovaskulären Transplantats zum Goldstandard der rekonstruktiven Defektdeckung wurden zahlreiche Indikationen für dessen klinische Anwendung in verschiedenen chirurgischen Fachdisziplinen beschrieben. Neben der Brust- und Extremitätenrekonstruktion ist insbesondere der Einsatz zur Wiederherstellung von Defekten im Kopf- und Halsbereich hervor zu heben (Las et al., 2016). Wie eingangs beschrieben, werden solche Defekte zum Großteil durch Traumata verursacht oder entstehen im Rahmen von Tumorerkrankungen nach Resektion des entarteten Gewebes.

Trotz bemerkenswerter Fortschritte in der Radio- und Chemotherapie von Tumoren im Kopf-Hals-Bereich stellt die operative Resektion mit konsekutiver Rekonstruktion der Ursprungsgewebe, im Sinne einer Defektdeckung zur Wiederherstellung von Funktion und Morphologie, weiterhin den wesentlichen therapeutischen Aspekt der Tumorbehandlung in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie dar (Wolff et al., 2012a; Sakuraba et al., 2013). Dies gilt hinsichtlich der Dignität vor allem für maligne Tumoren mit erhöhter Invasivität und fortgeschrittenem Tumor-Staging (T3- und T4-Stadium).

Die Behandlung erfolgt festgelegt zunehmend multidisziplinär im Rahmen eines sog. Tumorboards. Dabei wird auf Grundlage der diagnostischen Daten die Behandlungsstrategie, sei es mit kurativer oder palliativer Zielsetzung, sowie der

Einsatz additiver Therapiemaßnahmen im zeitlichen Verlauf diskutiert. In Hinblick auf den freien mikrovaskulären Gewebetransfer ist u.a. der Zeitpunkt der Bestrahlung relevant, bzw. die Tatsache, ob eine solche vorab stattgefunden hat (Hanasono et al., 2009b). In der Regel folgt die Bestrahlung zeitnah auf den operativen Eingriff. Es wurden jedoch in den letzten Jahren auch vermehrt alternative multimodale Behandlungsstrategien in der Literatur beschrieben, die eine präoperative Radiotherapie bei bestimmten Entitäten empfehlen (Davis et al., 2015; Kawano et al., 2016; Nemeth et al., 2017). Die Vor- und Nachteile einer neoadjuvanten Radiotherapie werden dabei kontrovers diskutiert und das Risiko-Nutzen-Profil bleibt schwer abzuschätzen (Nemeth et al., 2017). So wird insbesondere die mikrovaskuläre Rekonstruktion durch eine vorausgehende Bestrahlung erschwert, da sich die Gefäße für den Anschluss eines freien mikrovaskulären Transplantats im bestrahlten Operationsfeld schlechter darstellen lassen und die Durchblutung des Gewebes kompromittiert sein kann (Hanasono et al., 2009a; Zhou et al., 2017). Diese Situation stellt eine Herausforderung für den erfolgreichen freien Gewebetransfer dar und verlangt seitens des Operateurs ein hohes Maß an rekonstruktiver Erfahrung und mikrochirurgischer Fertigkeit (Wolff et al., 2012b; Zhang et al., 2015; Rostetter et al., 2016; Fernstrom et al., 2017; Halle et al., 2017; Yi et al., 2017).

Der Erfolg einer Rekonstruktion mittels freiem mikrovaskulärem Transplantat wird von zahlreichen Faktoren beeinflusst. So kommen neben einer perioperativen Bestrahlung weitere Aspekte zum Tragen, welche zu postoperativen Komplikationen und konsekutiv zu einem Verlust des Transplantats führen können. Dazu zählt u.a. das Vorliegen systemischer Komorbiditäten, wie beispielsweise kardiopulmonale, vaskuläre oder metabolische Erkrankungen, die innerhalb der Patientenkohorte mit zunehmendem Alter häufig anzutreffen sind. (Las et al., 2016; Mücke et al., 2016). Obwohl bei älteren Patienten vermehrt mit dem Auftreten peri- und postoperativer Schwierigkeiten gerechnet werden muss, scheint das Alter der Patienten als alleiniger unabhängiger Faktor hingegen keine entscheidende Rolle zu spielen (Kesting et al., 2011b). Einige Studien haben sogar gezeigt, dass ältere Patienten von einer Rekonstruktion mittels freiem mikrovaskulärem Transplantat hinsichtlich ihrer Überlebensrate und

---

Lebensqualität besonders profitieren (Mücke et al., 2010b; Peters et al., 2015; Segna et al., 2018). Die Konstitution und Compliance der Patienten sowie deren Gefäßstatus bleiben jedoch wichtige Faktoren für das erfolgreiche Gelingen einer Transplantation. Des Weiteren lässt sich unter den Ursachen für eine kompromittierte Gewebepfusion eine grobe Einteilung in vaskulär- (Thrombose, Endotheldefekte) und extravaskulär-bedingt (Hämatom, Verdrehen oder Abknicken des Gefäßstamms) vornehmen, auf die im Folgenden noch näher eingegangen wird (Harashina et al., 1977; Talbot et Pribaz, 2010; Liu et al., 2012). Diese Faktoren gilt es frühzeitig im Rahmen eines perioperativen Monitorings zu erkennen, um ggf. Modifikationen im therapeutischen Setting vornehmen und die Vitalität des Transplantats gewährleisten zu können. Dadurch wird die Erfolgsrate des freien Gewebetransfers gesteigert und folglich die Re-Explorationsrate aufgrund postoperativer Komplikationen verringert, welche aktuell bei 6-14% liegt (Partsafas et al., 2004; Bui et al., 2007; Pattani et al., 2010; Kesting et al., 2011a; Wu et al., 2014; Chiu et al., 2017).

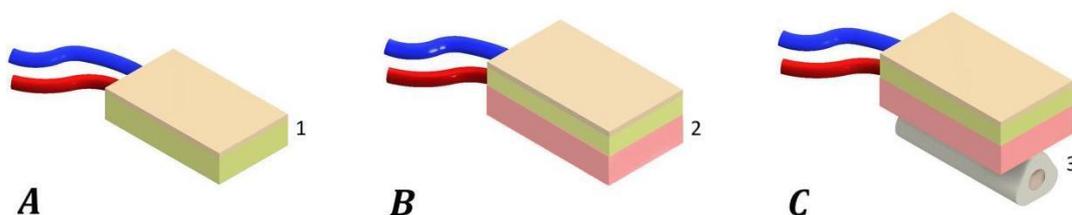
## **1.2 Physiologie des freien mikrovaskulären Transplantats**

### **1.2.1 Anatomischer Aufbau und Vaskularisierung**

Für den erfolgreichen freien Gewebetransfer sind genaue Kenntnisse über die Anatomie von Entnahme- bzw. Empfängerregion und die vaskuläre Architektur des Transplantats unabdingbar. Idealerweise sollte das freie mikrovaskuläre Transplantat eine ausreichend starke Vaskularisierung aufweisen und in seiner Dimension dem zu ersetzenden Gewebe entsprechen. Dies ermöglicht u.a. ein natürlich ästhetisches Ergebnis nach Rekonstruktion. Ferner sollte die Hebung und Integration des Transplantats am Ort der Defektdeckung nach Möglichkeit im Zuge eines einzigen operativen Eingriffs zu realisieren sein (Fujioka, 2012; Fujioka, 2014).

Es existiert eine Vielzahl an freien Lappenplastiken, die sich hinsichtlich ihrer Gewebezusammensetzung unterscheiden lassen (Abb. 4). Ein fasziokutanes Transplantat verfügt lediglich über einen Haut-, Fett- und Faszienanteil und eignet sich zur Deckung oberflächlicher Defekte sowie als intraoraler Schleimhautersatz (Zhang et al., 2015; Wolff et Hölzle, 2017). Bei den myofasziokutanen

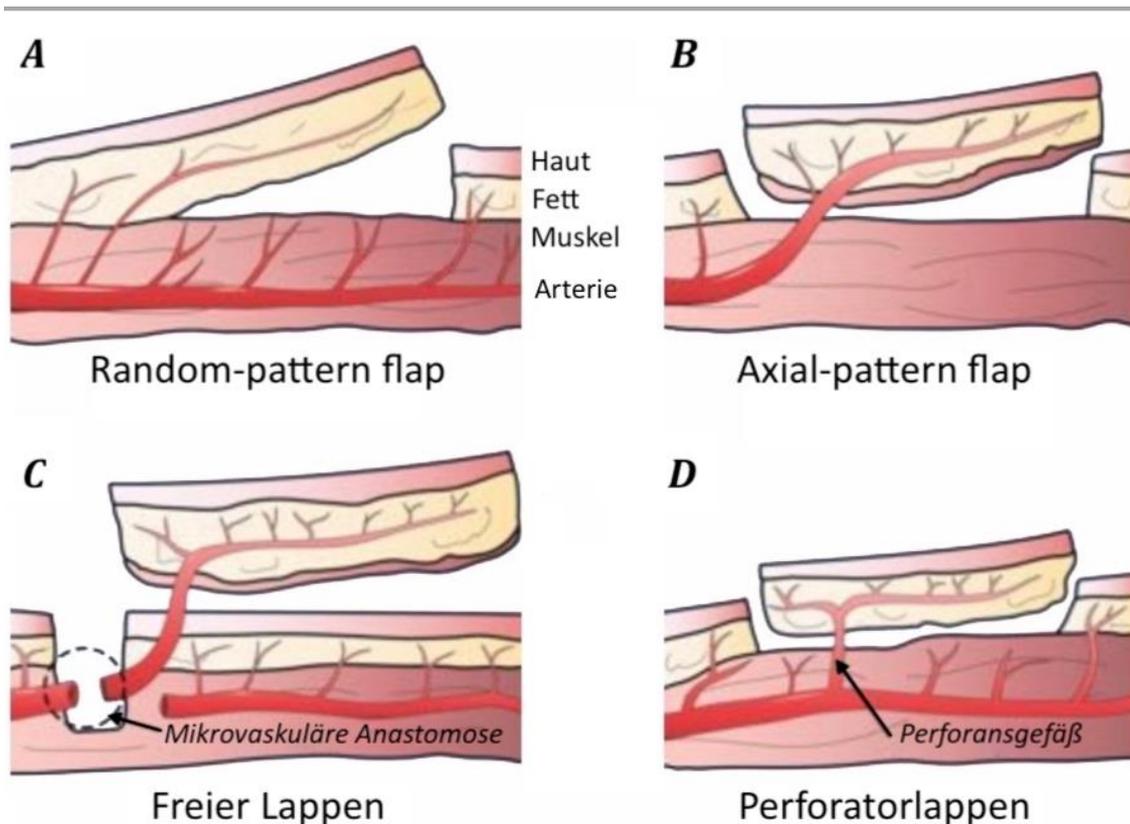
Transplantaten wird hingegen zusätzlich ein Teil des Muskels zusammen mit der Hautinsel gehoben, wodurch ein voluminöserer Lappen für die Deckung tiefreichender dreidimensionaler Defekte entsteht (Kesting et al., 2011a). Zur komplexen Rekonstruktion kombinierter Knochen-Weichgewebsdefekte werden sog. osteomyokutane Lappen bevorzugt, die sich wiederum aus einem Knochen-, Muskel-, Fett- und Hautkompartiment zusammensetzen (Wong et Wei, 2010; Liang et al., 2018). Dementsprechend kann eine Lappenplastik insgesamt bis zu vier verschiedene Gewebetypen beinhalten. Dies eröffnet dem Operateur in Bezug auf Form und Funktion vielfältige Gestaltungsmöglichkeiten bei der Defektdeckung. Die Auswahl der geeigneten Lappenplastik hängt letztlich vom Ausmaß und der Lokalisation des jeweiligen Defekts ab. Als prominentes Beispiel für einen fasziokutanen Lappen sei an dieser Stelle das mikrovaskuläre Radialis-Transplantat genannt (Benateau et al., 2002). Das vaskularisierte Fibulatransplantat repräsentiert hingegen eine häufig für umfangreichere Rekonstruktionen angewandte osteomyokutane Lappenplastik. Aufgrund des vergleichbaren Querschnitts von Fibula und Mandibula und der zur Verfügung stehenden Knochenstrecke, eignet es sich besonders für die Unterkieferrekonstruktion in der Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie (Reuther et Kübler, 1999; Mücke et al., 2013a; Battaglia et al., 2017). Weitere gängige freie Lappenplastiken sind der ALT (Anterolateral Tigh Flap) und der DIEP (Deep Inferior Epigastric Perforator Flap).



**Abb. 4: Unterschiedliche Gewebezusammensetzung der freien mikrovaskulären Transplantate.** (A) Das fasziokutane Transplantat besteht aus Haut und subkutanem Fettgewebe (1). (B) Das myofasziokutane Transplantat besteht aus Haut, subkutanem Fettgewebe und einem Muskelanteil (2). (C) Das osteomyokutane Transplantat besteht aus Haut, subkutanem Fettgewebe, Muskel und einem Knochensegment (3). Alle freien Transplantate werden über einen Gefäßstiel versorgt, der sich aus einer Arterie und einer zugehörigen Vene zusammensetzt.

---

Eine entscheidende Bedeutung kommt der vaskulären Architektur des mikrovaskulären Transplantats zu (Abb. 5). Sie schafft die Voraussetzung für eine ausreichende Durchblutung und die damit einhergehende regelrechte Einheilung am Ort des Defektes (Pabst et al., 2018). Die Gefäßversorgung eines freien Transplantats unterscheidet sich grundlegend von der Vaskularisierung einiger gestielter Lappenplastiken. So verfügt das freie mikrovaskuläre Transplantat in der Regel über einen ausreichend langen Gefäßstiel (= Pedikel) mit arteriellem und venösem Hauptgefäß, die zusammen, im Sinne eines arteriovenösen Kreislaufs, die Versorgung des transferierten Gewebes vorerst sicherstellen. Hierbei gelangt oxygeniertes nährstoffreiches Blut über den arteriellen Schenkel in den Lappen, während der Abtransport anfallender metabolischer Stoffwechselprodukte über den venösen Schenkel erfolgt. Im Laufe der ersten postoperativen Wochen wird das vaskuläre System dann zunehmend durch einsprossende Gefäße aus dem Wundbett der Empfängerregion verstärkt und teilweise sogar ersetzt. Verschiedene Studien beschreiben eine Autonomisierung des Transplantats frühestens ab dem siebten postoperativen Tag (Black et al., 1978; Oswald et al., 1988; Mücke et al., 2011). Abhängig von Größe, Schichtstärke und Gewebezusammensetzung der Lappenplastik und Konstitution des Patienten kann dieser Zeitpunkt variieren (Pabst et al., 2018).



**Abb. 5: Verschiedene Vaskularisierungstypen lokaler und freier Lappenplastiken.** (A) Die vaskuläre Versorgung des Random-pattern flap erfolgt durch mehrere kleine Gefäße und somit nicht über eine definierte Arterie. (B) Der Axial-pattern flap wird über eine definierte Arterie versorgt. Der überwiegende Anteil der myofasziokutanen Transplantate weist eine solche definierte Arterie auf. (C) Die Gefäßversorgung des freien Lappens wird bei der Transplantathebung unterbrochen und am Zielort durch mikrovaskuläre Anastomosierung wiederhergestellt (Pfeil). (D) Perforanslappen werden durch sog. Perforansgefäße (Pfeil) versorgt, welche der Tiefe des Gefäßsystems entspringen und durch den Muskel ziehen. In der Regel verfügen die unterschiedlichen Lappenplastiken auch über Begleitvenen, welche jedoch zur Vereinfachung in dieser Zeichnung nicht dargestellt wurden. Modifiziert nach Fujioka und Fichter (Fujioka, 2014; Fichter, 2015).

### 1.2.2 Rheologie und Perfusionsverhalten

Die Wissenschaft der Hämorheologie befasst sich mit den Fließeigenschaften und dem Verformungsverhalten von Blut und dessen zellulären Bestandteilen. Dabei können Flüssigkeiten aus rheologischer Sicht in newtonsche und nicht-newtonsche Fluide unterteilt werden, die sich in Anbetracht ihrer Viskosität stark voneinander unterscheiden. Während das Fließverhalten eines newtonschen Fluids in einer Röhre mit definiertem Durchmesser und definierter Länge als

---

laminar und dessen Viskosität als konstant angenommen werden kann, weist ein nicht-newtonsches Fluid wie Blut hingegen ein viskoelastisches Verhalten auf (Merrill, 1969; Thurston, 1972). Dies bedeutet, dass sein Fließverhalten sowohl Eigenschaften einer Flüssigkeit als auch eines Festkörpers in sich vereint. Das nichtlineare Strömungsverhalten führt zu einer inkonstanten spezifischen Viskosität, welche in entscheidendem Maß von den intravaskulär auftretenden Schergeschwindigkeiten und der Belastungsdauer abhängt. Bei gesteigerten Schergeschwindigkeiten, die über einen längeren Zeitraum einwirken, kann dadurch die Viskosität gesenkt werden. Unabhängig davon weisen Vertreter beider Fluid-Klassen ein umgekehrt proportionales Verhältnis von Temperatur und Viskosität auf. Die Aggregation und Verformbarkeit der zellulären Blutbestandteile sind weitere rheologische Parameter, welche die Hämodynamik und dadurch konsekutiv die Perfusion des Gewebes beeinflussen. Insbesondere im Bereich der Mikrozirkulation ermöglicht diese biomechanische Eigenschaft den Erythrozyten und Leukozyten eine reibungslose Passage der kleinsten kapillären Gefäßlumina (Eppihimer et Lipowsky, 1996). Der schwedische Arzt und Pathologe Robin Fahraeus postulierte 1931 den sog. Fahraeus-Lindqvist-Effekt, durch den ein scheinbares Absinken der Viskosität in Mikrogefäßen von 7 bis 10µm Durchmesser erklärt werden kann (Fåhræus et Lindqvist, 1931). Er konnte ebenfalls zeigen, dass sich die Viskosität bei Beeinträchtigung dieser rheologischen Parameter durch pathophysiologische Vorgänge verändert (Copley, 1989; Goldsmith et al., 1989; Sriyab, 2014).

Die Hämodynamik wird jedoch nicht allein durch die viskoelastische Fließeigenschaft des Blutes determiniert. Zusätzlich bestimmen verschiedene allgemein-physiologische Parameter wie der lokale Blutdruck, das Blutvolumen, der Hämatokritwert und die Gefäßgeometrie und -elastizität die Perfusion. Gemäß des Hagen-Poiseuilleschen Gesetz, welches den Volumendurchfluss in einem Rohr mit definierter Länge und definiertem Radius beschreibt, spielt neben der Viskosität vor allem der Gefäßdurchmesser eine entscheidende Rolle für die Durchblutung (Baskurt et Meiselman, 2003):

$$\dot{V} = \frac{\pi \cdot r^4 \cdot \Delta p}{8 \cdot \eta \cdot l}$$

$\dot{V}$  beschreibt hierbei den Volumenfluss in  $m^3/s$ ,  $r$  den Radius,  $\Delta p$  repräsentiert die Druckdifferenz zwischen Rohranfang und -ende,  $\eta$  entspricht der Viskosität und  $l$  ist die Länge.

Daraus lässt sich folgende Formulierung für den Gefäßwiderstand  $R$  ableiten:

$$R = \frac{8 \cdot \eta \cdot l}{\pi \cdot r^4}$$

Der Gefäßwiderstand ist als Strömungswiderstand zu verstehen, den das Blut bei der Passage eines Gefäßes überwinden muss. Obwohl die Viskosität eines nicht-newtonschen Fluids keine Konstante darstellt und die Gefäßwand nicht starr wie ein Rohr ist, lässt sich festhalten, dass Änderungen im Gefäßradius den Gefäßwiderstand massiv beeinflussen. Eine Halbierung des Radius resultiert aufgrund der vierfachen Potenz in einem sechszehnfach-erhöhten Widerstand. Der Aspekt des Strömungswiderstands beeinflusst seinerseits die Strömungsgeschwindigkeit, welche sich als einer von drei Faktoren auch im pathophysiologischen Konzept der Virchowschen Trias wiederfindet (Virchow, 1989).

### **1.2.3 Ursachen und mögliche Folgen einer kompromittierten Perfusion**

Eine gestörte Durchblutung des freien mikrovaskulären Transplantats kann viele verschiedene Ursachen haben und birgt langfristig die Gefahr eines Transplantatverlusts. Dabei wird die Gewebepfusion sowohl von vaskulären als auch von extravaskulären Faktoren beeinflusst (Mücke et al., 2018). Je nach Größe und Zusammensetzung des Transplantats kann eine leicht kompromittierte Durchblutung anfangs noch toleriert werden, ohne dass irreversible Gewebeschäden auftreten (Desyatnikova et al., 2001). Persistiert diese allerdings über einen längeren Zeitraum, ist die Vitalität des Transplantats gefährdet.

Die Kenntnis der im vorangegangenen Abschnitt aufgeführten hämatorheologischen und hämodynamischen Aspekte ist für die Hebung des freien mikrovaskulären Transplantats hilfreich (Guthrie, 1908; Lucas, 2017). Bereits während der rekonstruktiven Planung sollten einige perfusionsrelevante

---

Parameter durch klinische und bildgebende Untersuchungen überprüft werden, um postoperative Komplikationen zu vermeiden und den Erfolg des freien Gewebetransfers zu sichern. Die präoperative Erhebung des Gefäßstatus mittels CT-Angiographie erlaubt im Vorfeld eine Aussage darüber, ob und in welchem Umfang das vaskuläre System der Spender- und Empfängerregion intakt sind und geeignete Transplantat- bzw. Anschlussgefäße zur Verfügung stehen (Clemenza et al., 2000). Andere weniger invasive Maßnahmen zur präoperativen Evaluation des Gefäßstatus sind die MR-Angiographie und die farbkodierte Doppler-Sonographie (Futran et al., 1998; Hölzle et al., 2011). Dabei gilt es zu beachten, dass die versorgenden Gefäße, die mit dem Transplantat gehoben werden, idealerweise einen übereinstimmenden Durchmesser mit den Gefäßen der Defektregion aufweisen sollten (Ryan et al., 1988; Monsivais, 1990). Zudem muss die Durchgängigkeit sowohl der Transplantat-, als auch der Anschlussgefäße gewährleistet sein (Rab et al., 2008). Andernfalls kann es zu einer rheologischen Kompromittierung des Transplantats mit konsekutiver Mangelperfusion und Nekrose kommen. Dies trifft insbesondere auf den venösen Schenkel zu, der im Vergleich häufiger komplikationsbehaftet ist (Novakovic et al., 2009; Liu et al., 2012). Kommt es hier zu einer relevanten Behinderung des Blutflusses, bezeichnet man dies als venöse Insuffizienz oder Stauung, welche sich klinisch durch ein bläulich-livides, gestautes Transplantat äußert und ein früher Indikator für einen bevorstehenden Lappenverlust sein kann (Zhang et al., 2015; Mücke et al., 2018).

Eine häufig anzutreffende extravaskuläre Komplikation, die ebenfalls die venöse Drainage des Transplantats beeinträchtigt, stellt die Kompression der Gefäße dar. Diese kann einerseits durch Formation eines Hämatoms oder postoperatives Anschwellen der rekonstruierten Körperregion bedingt sein. Andererseits kann ein Abknicken oder Verdrehen des Gefäßstiels (sog. "Kinking" oder "Twisting") ursächlich sein (Pohlenz et al., 2012). Aufgrund des hohen Anteils an elastischen Fasern in der venösen Gefäßwand reicht ein geringer Druckanstieg im umliegenden Gewebe aus, um insbesondere die Vene zu komprimieren. Das kontinuierliche Aufrechterhalten eines systolischen Blutdrucks von ungefähr 100 bis 120 mmHg ist daher anzuraten (Chiu et al., 2017). Ein krampfartiges Verengen

der Gefäße führt ebenfalls zu einer Beeinträchtigung der Blutzirkulation und wird als Vasospasmus bezeichnet.

Als vaskuläre Faktoren einer kompromittierten Perfusion können pathologische Veränderungen der Gefäßwand und des Endothels zu einer Thrombosierung und Stenosierung der Gefäße führen. Derartige Veränderungen stellen teilweise das Resultat vorbestehender systemischer Stoffwechselerkrankungen dar, wie beispielsweise eines mit Mikro- und Makroangiopathie assoziierten Diabetes mellitus, können aber auch als atherosklerotische Umbauprozesse im zeitlichen Verlauf entstanden sein (Wolff, 2017). Dabei dehnt sich die innere Schicht der Gefäßwand lumenwärts aus und bewirkt eine progrediente Einengung des inneren Gefäßdurchmessers. Des Weiteren sind Endothelläsionen und Veränderungen der vaskulären Architektur bei vorbestrahlten Patienten meist auf chronische Entzündungsreaktionen der Intima als Folge einer Radiotherapie zurück zu führen. Eine erfolgte Bestrahlung hat einen insgesamt negativen Einfluss auf die Regenerationsfähigkeit des vaskulären und bindegewebigen Systems und stellt einen relevanten unabhängigen Risikofaktor dar (Rudolph et al., 1982; Zhou et al., 2017). Erhöhte Thrombosierungsraten der Anschlussgefäße werden u.a. mit einer strahlungsbedingten Beeinträchtigung der Fibrinolyse in Verbindung gebracht, sofern die Gefäße innerhalb des Bestrahlungsfeldes lagen (Tall et al., 2015). Zudem kann in einigen Fällen ein Mangel an Protein C als Ursache für die Formation eines Thrombus angenommen werden (Ayala et Blackwell, 1999). Darüberhinaus scheint die Konfiguration des Endotheldefekts hinsichtlich der Thrombosierungsgefahr ebenfalls eine Rolle zu spielen (Mücke et al., 2017b). Der Verschluss der ableitenden Drainagevene durch einen Thrombus ist einer der häufigsten Gründe für ein venös gestauteres Transplantat und die damit einhergehende Reexploration (Yang et al., 2017).

Ferner kann es im Rahmen der mikrovaskulären Anastomosierung durch fehlerhaft ausgeführte mikrochirurgische Techniken zu einer Stenosierung der arteriellen und venösen Gefäße kommen (Hayhurst et O'Brien, 1975; Krapohl et al., 2003). Dabei verschlechtert sich die Transplantatperfusion in Abhängigkeit vom Ausprägungsgrad der Stenose, welche durch den zuvor beschriebenen

---

Zusammenhang zwischen Gefäßdurchmesser und Strömungswiderstand auf mikrovaskulärer Ebene zu erklären ist. Bis zum Zeitpunkt der vaskulären Autonomisierung hängt die Versorgung des Transplantats entscheidend von der Durchgängigkeit der mikrovaskulär anastomosierten Gefäße ab. Eine etwaige Stenosierung der zu- und abführenden Gefäße des Transplantats sollte daher unbedingt vermieden werden. Die Qualität der mikrovaskulären Anastomose hängt in großem Maße von der Erfahrung und den mikrochirurgischen Fähigkeiten des Operateurs ab, welche interindividuell erheblich variieren können. Daher wird der Erfolg des freien Gewebetransfers maßgeblich von der mikrochirurgischen Präparation der Gefäße und der angewandten mikrovaskulären Technik zur Anastomosierung bestimmt (Demir et al., 2013; Chiu et al., 2017; Pabst et al., 2018). Prinzipiell sollte aus mikrochirurgischer Sicht, neben der Übereinstimmung des Durchmessers, ein Abknicken des Gefäßstiels durch beispielsweise fehlerhaftes Einlagern des Transplantats, eine zu stark auf den Gefäßen lastende Zugspannung und das Einstülpen von Teilen der Adventitia in das Gefäßlumen während der mikrochirurgischen Naht vermieden werden (Bodor et al., 1997; Pabst et al., 2018). Verursachte Defekte im Rahmen der technischen Durchführung, wie beispielsweise eine Beschädigung des Endothels durch das Nahtmaterial, erhöhen die Gefahr eines thrombotischen Gefäßverschlusses und einer konsekutiven Transplantatnekrose (Tonken et al., 1995). Neben dem sog. "Milking Test" kann die Verifizierung der Durchgängigkeit einer mikrovaskulären Anastomose intraoperativ mit Hilfe der Indocyaningrün-Videoangiographie und der Mikro-Doppler-Sonographie erfolgen (Holm et al., 2009; Mücke et al., 2010a). Ist die Durchgängigkeit der Anastomose schlussendlich gewährleistet, spielen Schwankungen in der Perfusionsgeschwindigkeit nach heutigem Kenntnisstand eine untergeordnete Rolle (Bodor et al., 1997).

### **1.3 Monitoring freier mikrovaskulärer Transplantate**

Obwohl der freie mikrovaskuläre Gewebetransfer heutzutage mit einer hohen Erfolgsrate assoziiert ist, weist das Patientenkollektiv, entsprechend der zugrundeliegenden Komorbiditäten, vermehrt kardio-pulmonale, vaskuläre oder andere kompromittierende Risikofaktoren auf, welche das rekonstruktive Ergebnis negativ beeinflussen können (Ayala et Blackwell, 1999; Kesting et al.,

2011b; Srikanthan et al., 2013). Ein strukturiertes prä-, intra- und postoperatives Monitoring des freien mikrovaskulären Transplantats ist daher nötig, um die verlässliche und frühe Detektion einer Mangelperfusion bzw. eines drohenden Transplantatverlusts zu ermöglichen und den Erfolg des freien Gewebetransfers in dieser risikobehafteten Patientenkohorte zu steigern. Zudem hat das rechtzeitige Erkennen jeglicher zirkulatorischer Komplikationen, wie beispielsweise einer vaskulären Stenosierung der Transplantatgefäße, unmittelbare Auswirkungen auf die chirurgische Reexplorationsstrategie und -erfolgsrate (Perng et al., 2018). Erfolgt die Detektion frühzeitig, kann eine erneute mikrovaskuläre Reanastomosierung zum Erfolg führen. Verzögert sich die Reexploration zeitlich oder verläuft die Reanastomosierung nicht erfolgreich, stirbt das Gewebe ab und ein neues freies mikrovaskuläres Transplantat muss gehoben werden (Bianchi et al., 2009; Luu et Farwell, 2009; Novakovic et al., 2009; Wong et Wei, 2010; Pohlenz et al., 2012). Transplantatnekrosen und daraus resultierende Zweiteingriffe führen in der Konsequenz zu einem verlängerten Krankenhausaufenthalt der Patienten (Farwell et al., 2002; Mücke et al., 2018). Aus diesem Grund muss das postoperative Monitoring, wie bereits 1975 von Chreech und Miller konstatiert, sicher, reproduzierbar und verlässlich sein (Grabb et Myers, 1975). Dank ihrer breiten Anwendbarkeit stellen die klinische Observierung der Transplantatfarbe, des Hautturgors, der Temperatur und der Rekapillarierungszeit sowie die Durchführung eines Pinprick-Tests und der Einsatz eines Gefäßdopplers nach wie vor in vielen Institutionen den Goldstandard des Monitorings freier Transplantate dar (Disa et al., 1999; Perng et al., 2018). Allerdings wurden in den letzten Jahren alternative, technisch-anspruchsvollere Monitoringmöglichkeiten entwickelt und klinisch erprobt. Zu diesen im Vergleich aufwändigeren, objektiven Verfahren zählen u.a. die simultane nicht-invasive Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektroskopie, die Messung der Gewebeoxygenierung, die Infrarot-Thermografie und die Indcyaningrün-Videoangiographie (Holm et al., 2009; Mücke et al., 2010a; Mücke et al., 2014; Um et al., 2014; Hitier et al., 2016; Just et al., 2016; Koolen et al., 2016; Mericli et al., 2017; Mücke et al., 2017a; Teven et al., 2017; Smit et al., 2018). Der technische Mehraufwand dieser Methoden steht den restriktiven Arbeitszeiten im klinischen Alltag gegenüber und ist bei der Auswahl des geeigneten Monitoringverfahrens zu berücksichtigen (Patel et al., 2017). Zusätzlich

---

sollten die Validität, Spezifität und Sensitivität dieser Verfahren ausreichend sein, um ein gutes Kosten-Nutzen-Verhältnis zu erreichen.

Im Folgenden soll auf die drei Monitoringmethoden näher eingegangen werden, die im Rahmen dieser Arbeit intraoperativ zum Einsatz kamen.

### **1.3.1 Ultraschall-Durchflussmessung**

Ein Ultraschall-Durchflussmesser registriert unterschiedliche Strömungsgeschwindigkeiten des Blutes anhand akustischer Wellen und errechnet daraus das korrelierende Durchflussvolumen. Dieses Verfahren beruht auf dem Prinzip der Laufzeitdifferenzmessung einzelner Dopplerimpulse und nutzt zusätzlich den Dopplereffekt, durch den es zu einer Frequenzverschiebung der ausgesandten Schallsignale kommt. Dabei resultiert durch eine veränderte Distanz zwischen Sender und Empfänger entweder eine zeitliche Stauchung oder eine Dehnung der akustischen Wellen. Innerhalb eines liquiden Messmediums bedeutet dies, dass sich das Schallsignal in Flussrichtung schneller als in entgegengesetzter Richtung, ausbreitet (Fichter, 2015; Pafitanis et al., 2017).

Aus einer Vielzahl verschiedener Ultraschall-Durchflussmesser hat sich für den mikrochirurgischen Bereich der Einsatz eines sog. "clamp-on transit time flowmeter" (Transit Time Perivascular Flowmeter TS420, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) bewährt. Dieser Ultraschall-Durchflussmesser bietet den Vorteil einer non-invasiven Erfassung des Durchflussvolumens, indem die zugehörige Sonde der äußeren Gefäßwand anliegt, diese jedoch nicht beschädigt oder einengt. Die "V"-Sonde (Flow Probe 1,5mm, Katalognummer MA1PRB, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) verfügt über zwei Ultraschallwandler und einen auf der gegenüberliegenden Seite befindlichen Reflektor (Abb. 6). Beide Wandler emittieren ein Ultraschallsignal, welches auf der gegenüberliegenden Seite durch den Reflektor "V"-förmig auf den jeweiligen Wandler zurückgeworfen und verarbeitet wird (Nakayama et al., 2001; Bonde et al., 2006; Selber et al., 2013; Fichter, 2015). Die Messung der Laufzeitdifferenzen und der Frequenzabweichungen der Schallsignale erfolgt kontinuierlich und gibt Auskunft über die mittlere Strömungsgeschwindigkeit des Blutes. Anschließend können die Durchflussvolumina pro Zeiteinheit durch Multiplikation der mittleren Flussgeschwindigkeit ( $v_A$ ) mit dem Gefäßdurchmesser ( $d$ ) errechnet werden.

## Einleitung

---

Dieser Zusammenhang lässt sich durch die Kombination folgender mathematischer Gleichungen darstellen:

Formel A:  $A = \frac{\pi \cdot d^2}{4}$

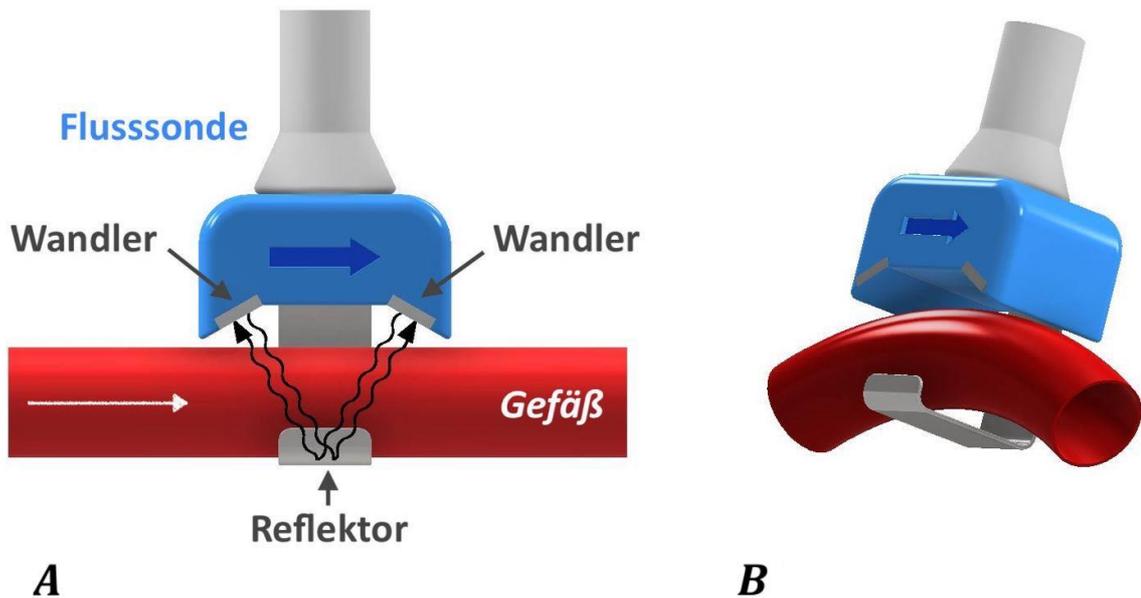
Formel B:  $v_A = \frac{1}{A} \cdot \int_A v(y, z) \cdot dA$

Formel A beschreibt die Berechnung des Gefäßquerschnitts und beinhaltet den Gefäßdurchmesser. Dabei stellt  $A$  die Querschnittsfläche und  $d$  den Durchmesser dar. Formel B beschreibt die Berechnung der mittleren Flussgeschwindigkeit für eine laminare Strömung.  $v_A$  steht für die mittlere Strömungsgeschwindigkeit,  $A$  für die Querschnittsfläche,  $d$  für den Durchmesser und  $v(y, z)$  für die Geschwindigkeit an den Stellen  $y$ ,  $z$  des Querschnitts. Durch die laminare Strömung ergibt sich ein spezifisches Strömungsprofil, welches durch unterschiedliche Geschwindigkeiten an verschiedenen Stellen charakterisiert ist. Im Zentrum des Gefäßes ist die Flussgeschwindigkeit höher als in der Peripherie nahe der Gefäßwand. Ferner wirkt sich die für Blut spezifische Reynolds-Zahl auf das Strömungsprofil aus, welche das Verhältnis von Trägheits- und Zähigkeitskräften eines Mediums beschreibt (Zuck, 1971). Auch wenn Blut als ein nicht-newtonsches Fluid streng genommen durch sein viskoelastisches Fließverhalten keine laminare Strömung aufweist (Merrill, 1969; Thurston, 1972), dient diese Formel näherungsweise zur Berechnung der mittleren Flussgeschwindigkeit innerhalb eines Blutgefäßes.

Mit Hilfe des Querschnitts und der mittleren Flussgeschwindigkeit lässt sich der Volumenstrom  $Q$  errechnen:

$$Q = v_A \cdot A$$

Das Durchflussvolumen wird bei der Messung in ml/min ausgegeben (Woodcock, 2013).

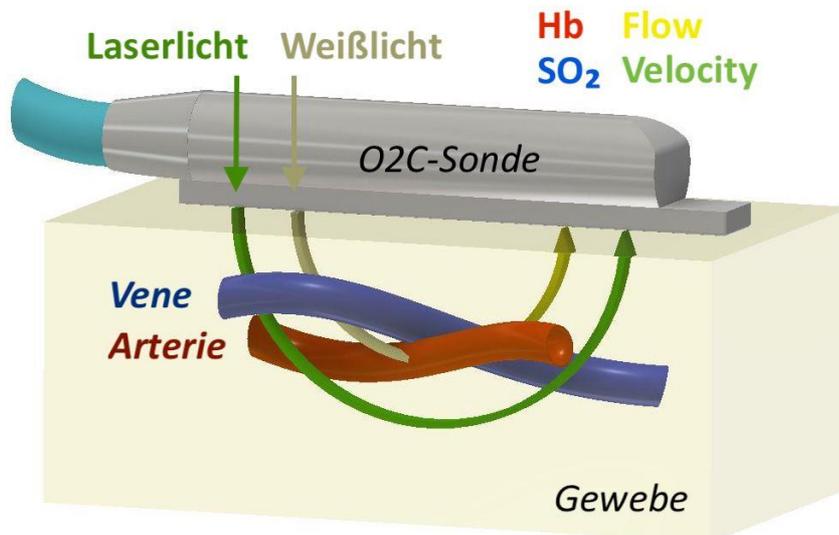


**Abb. 6: Funktionsweise eines perivaskulären Ultraschall-Durchflussmessers am Beispiel des "clamp-on transit time flowmeter".** (A) Ansicht der "V"-Flusssonde von frontal. Die welligen Pfeile verdeutlichen die gegenläufig ausgesandten Ultraschallsignale, die durch den Reflektor auf die jeweiligen Wandler reflektiert werden. (B) Ansicht der Flusssonde von schräg-seitlich. Modifiziert nach Fichter (Fichter, 2015).

Klinisch kommt die Ultraschall-Durchflussmessung u.a. zur Überprüfung der Gefäßdurchgängigkeit nach mikrovaskulärer Anastomosierung zum Einsatz, um bei kompromittierter Durchblutung ggf. eine mikrochirurgische Revision einzuleiten und somit konsekutive Transplantatschäden zu verhindern (Pafitanis et al., 2017). Im tierexperimentellen Versuch ermöglicht dieses non-invasive Monitoringverfahren die direkte Blutflussmessung an arteriellen und venösen Mikrogefäßen. Bodor et al. untersuchten 1997 mit dem "clamp-on transit flowmeter" den hämodynamischen Einfluss unterschiedlicher Blutflussgeschwindigkeiten auf die Thrombogenese im epigastrischen Lappen der Ratte (Bodor et al., 1997). Gimbel et al. beschrieben 2009 die Detektion einer partiellen und kompletten venösen Obstruktion mittels Ultraschall-Flussmessung in einem Kaninchenmodell (Gimbel et al., 2009). In einer weiteren Studie von Zhu et al. aus dem Jahr 2016 wurde diese Monitoringtechnik zur experimentellen Überprüfung einer erfolgreichen Thrombolyse und der Ermittlung der Thrombolysezeit an den Femoralgefäßen der Ratte eingesetzt (Zhu et al., 2016).

### 1.3.2 Gewebe-Photospektrometrie

Hinsichtlich der Vielfalt an mittlerweile auf dem Markt etablierten Monitoringtechniken lässt sich vereinfacht eine Einteilung in zwei Hauptgruppen vornehmen. Dabei bilden Verfahren zur Evaluation der Gewebepерfusion und hämodynamischer Parameter die eine Gruppe. Die andere Gruppe umfasst unterschiedliche Verfahren, die in erster Linie die Oxygenierung des Gewebes und den Hämoglobingehalt des Blutes erfassen. Die Gewebe-Photospektrometrie ist durch eine Kombination zweier optischer Messtechniken in der Lage, sowohl die Gewebepерfusion als auch die Gewebeerzeugung zu evaluieren und numerisch sowie graphisch darzustellen (Hölzle et al., 2005; Hölzle et al., 2006). Technisch wird dies durch eine gemeinsame Anwendung von Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie in der Messsonde ermöglicht, welche die relevanten Parameter sowohl in einer oberflächlichen Gewebeschicht, als auch in bis zu 15mm Tiefe misst (Abb. 7).



**Abb. 7: Funktionsweise der Gewebe-Photospektrometrie am Beispiel der O2C-Messsonde.**

Die Messsonde kombiniert das Prinzip der Gewebespektrometrie und der Laser-Doppler-Flussmessung und emittiert sowohl Weißlicht als auch Laserlicht. Dies ermöglicht die simultane non-invasive Detektion des Durchflussvolumens (Flow), der Blutflussgeschwindigkeit (Velocity), der Hämoglobinkonzentration (Hb) und der Hämoglobinoxygenierung (SO<sub>2</sub>). Modifiziert und vereinfacht nach Krug (Krug, 2006).

---

Dabei fungiert im Rahmen der Gewebespektrometrie eine in der Sonde befindliche Halogenlampe als Weißlichtquelle, welche kontinuierlich ein bestimmtes Lichtspektrum in das Gewebe emittiert. Dieses sog. Weißlicht trifft in der Gefäßbahn auf die Erythrozyten und wird gestreut. Zusätzlich kommt es in Abhängigkeit der Sauerstoffsättigung zu einer Absorption des Lichts durch das im Blut enthaltene Hämoglobin. Folglich werden die Lichtstrahlen abgeschwächt und mit veränderter Wellenlänge (und somit verändertem Farbspektrum) auf den Sondendetektor reflektiert. Im Anschluss erfolgt die Berechnung der Hämoglobinoxygenierung ( $SO_2$ ) auf Grundlage der gemessenen Wellenlängendifferenzen und die Erfassung der relativen Hämoglobinkonzentration (Hb) mithilfe der registrierten Lichtabsorption.

Für die Evaluation der Gewebepерfusion kommt die sog. Laser-Doppler-Spektroskopie zum Einsatz, welche den optischen Doppler-Effekt zur Bestimmung des Durchflussvolumens (Flow) und der Strömungsgeschwindigkeit (Velocity) des Blutes nutzt. Laserstrahlen einer spezifischen Wellenlänge treffen im Gewebe auf bewegte Erythrozyten und führen je nach deren Fließgeschwindigkeit und Blutfluss zu Frequenzabweichungen, welche auch als Doppler-Shift bezeichnet werden (Loeffelbein, 2003; Krug, 2006; Fichter, 2015).

Auf diese Weise gelingt im Rahmen des perioperativen Monitorings die simultane non-invasive Bestimmung des Durchflussvolumens (Flow) und der Blutflussgeschwindigkeit (Velocity), sowie der Hämoglobinkonzentration (Hb) und -oxygenierung ( $SO_2$ ) (Hölzle et al., 2005; Hölzle et al., 2006).

Das O2C<sup>®</sup> (engl. für "oxygen to see"; LEA Medizintechnik GmbH, Giessen, Deutschland) ist ein Gerät, welches über eine solche Technik verfügt und in vielen chirurgischen Zentren klinisch zur Anwendung kommt. Die Angaben der Parameter Hämoglobinkonzentration, Blutfluss und Strömungsgeschwindigkeit erfolgen hierbei in arbiträren Einheiten, die der Hämoglobinoxygenierung in Prozent. Der potenzielle Nutzen für das perioperative Monitoring wurde in mehreren Studien untersucht und mit anderen Verfahren verglichen. Mücke et al. beschrieben 2014 die Veränderung der mit dem O2C<sup>®</sup>-Gerät gemessenen Parameter im postoperativen Verlauf, um eine reduzierte Transplantatdurchblutung und einen Abfall der Sauerstoffsättigung möglichst

frühzeitig zu erkennen, sowie die Entwicklung der Parameter im zeitlichen Verlauf zu charakterisieren (Mücke et al., 2014). 2016 verglichen Ludolph et al. die Gewebe-Photospektrometrie mit der Indocyaningrün-Videoangiographie hinsichtlich ihrer Vor- und Nachteile sowie der Fähigkeit, die Perfusion des Transplantats intraoperativ zu beurteilen (Ludolph et al., 2016). Für einige Indikationen konnten bereits klinische Standardwerte etabliert werden, bei deren Unterschreitung eine kritische Durchblutung mit hoher Wahrscheinlichkeit zu erwarten ist (Rother et Lang, 2018).

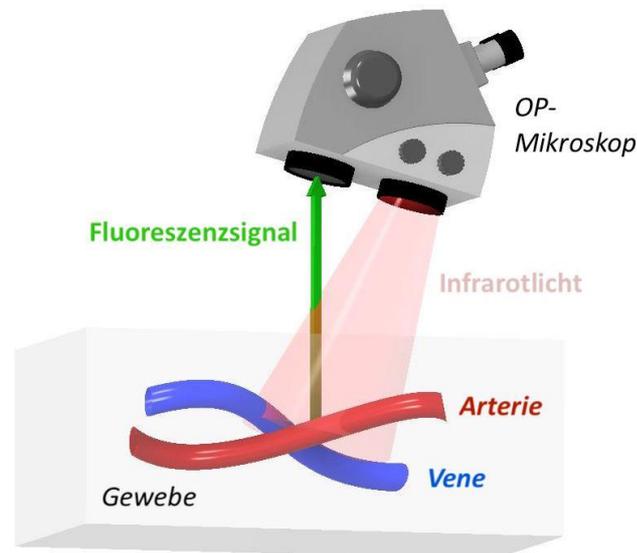
### **1.3.3 Indocyaningrün-Fluoreszenzangiographie**

Die Fluoreszenzangiographie zählt zur Gruppe der bildgebenden Monitoringverfahren und ermöglicht sowohl die Visualisierung der vaskulären als auch der mikrovaskulären Architektur eines Gewebes. Durch analytische Softwaretools lassen sich qualitative und quantitative Aussagen bezüglich der Gewebepfusion treffen (Mücke, 2012; Mücke et al., 2017a).

Das Verfahren beruht auf dem erstmals 1852 durch den irischen Physiker George G. Stokes beschriebenen photophysikalischen Phänomen der Fluoreszenz, bei dem bestimmte Farbstoffe zuvor mit Licht einer spezifischen Wellenlänge angeregt werden und in der Folge selbst Licht emittieren (Stokes, 1852). Dabei weist das von den Fluoreszenzfarbstoffen ausgesandte Licht, gegenüber dem absorbierten Anregungslicht, in der Regel eine Verschiebung der Wellenlänge hin zu einem langwelligeren Spektrum auf. Dieser als Stokessche Regel bezeichnete Effekt beruht auf einem geringfügigen Energieverlust im Rahmen der Absorption, wodurch eine energieärmere Lichtemission (längere Wellenlänge) resultiert. Für die Anregung muss dementsprechend mehr Energie (kurzwelligeres Licht) aufgewandt werden, als durch den Fluoreszenzprozess wieder abgegeben wird. Die Differenzenergie geht während des elektromagnetischen Schwingungszustandes des Fluoreszenzfarbstoffes als Schwingungsrelaxation an die Umgebung verloren. In Folge dessen liegt das Absorptionsmaximum von Indocyaningrün im Blut, gebunden an Albumin, bei 800 nm bzw. im Blutplasma bei 805 nm, wohingegen das Fluoreszenzmaximum mit einer Wellenlänge von 810 nm bis 834 nm angegeben wird (Benson et Kues, 1978; Desmettre et al., 2000). Durch die unterschiedlichen Wellenlängen ist es möglich, unter Verwendung eines

---

Lichtfilters ausschließlich das Fluoreszenzsignal zu erfassen und somit gezielt bestimmte Strukturen, wie das Gefäßsystem, darzustellen (Mücke, 2012).



**Abb. 8: Funktionsweise der Indocyaningrün-Fluoreszenzangiographie am Beispiel eines OP-Mikroskops.** Das OP-Mikroskop emittiert Infrarotlicht (*rot-transparent*), welches die im Gewebe befindlichen arteriellen und venösen Gefäße erreicht, und regt die an Plasmaproteine gebundenen ICG-Moleküle zur Fluoreszenz an. Das Fluoreszenzsignal (*grüner Pfeil*) wird daraufhin von einem im Mikroskop integrierten Detektor erfasst und ermöglicht die Evaluation der Gewebepfusion.

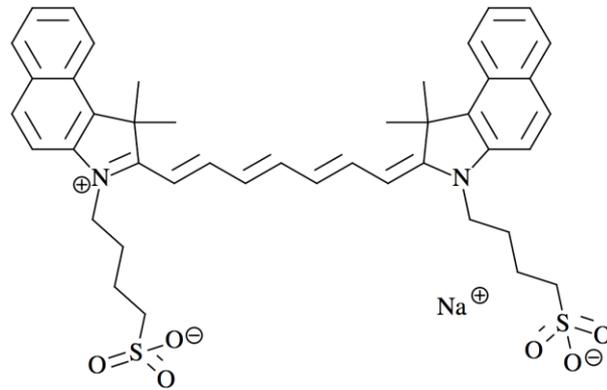
Für den medizinischen Anwendungsbereich stehen mit den Fluoreszenzfarbstoffen Indocyaningrün (ICG, Abb. 9) und Fluoreszein im Wesentlichen zwei klinisch zugelassene Marker zur Verfügung. Mit Hilfe einer Infrarot-Lichtquelle (Wellenlänge 800 nm) können beide Stoffe nach intravenöser Applikation zur Fluoreszenz angeregt werden (Raabe et al., 2003; Mücke, 2012). Aufgrund seiner einfachen, nicht-toxischen und strahlungsfreien Anwendung, wurde insbesondere Indocyaningrün in den letzten zwei Jahrzehnten vermehrt als Fluoreszenzmarker für bildgebende Verfahren in der Medizin eingesetzt (Paumgartner, 1975; Hackethal et al., 2018).

Nachdem der Fluoreszenzfarbstoff ICG in den fünfziger Jahren in einem Forschungslabor der Firma Kodak (Kodak Research Laboratories, NY, USA) zunächst für die Infrarotfotografie entwickelt worden war, folgten 1957 durch Fox et al. erstmals klinische Studien zur Bestimmung des Herzzeitvolumens. Diese

konnten u.a. zeigen, dass der Einsatz von ICG zur diagnostischen Bildgebung weder von der Hämoglobinkonzentration noch von dessen Oxygenierung beeinflusst wird (Fox et al., 1957). Trotz der frühen klinischen Zulassung 1957, dauerte es weitere zehn Jahre bis die erste Angiographie mittels ICG angewandt wurde (Alander et al., 2012).

Nach intravenöser Applikation bindet ICG innerhalb weniger Sekunden an Plasmaproteine, wobei  $\beta$ -Lipoprotein B mit 95% den Hauptanteil darstellt, und verbleibt intravaskulär (Zhai et al., 2017). In pharmakokinetischer Hinsicht weist ICG die Besonderheit auf, dass es nach hepatischer Elimination unmetabolisiert über die Galle ausgeschieden wird und folglich keinem enterohepatischen Kreislauf unterliegt (Ott, 1998). Unter physiologischen Bedingungen findet kein Übertritt des ICG-Farbstoffes in Liquor oder Urin statt und die Aufnahme durch andere Gewebe ist vernachlässigbar gering. Somit können etwaige Änderungen der ICG-Konzentration bzw. der Fluoreszenzintensität, im zeitlichen Verlauf einer Messung, unmittelbar auf die biliäre, biphasische Ausscheidung zurückgeführt werden. Die relativ kurze Halbwertszeit von ICG von 3 – 4 min erlaubt das mehrmalige aufeinanderfolgende Applizieren des Farbstoffes in kurzen Zeitabständen (Raabe et al., 2005; Holm et al., 2009).

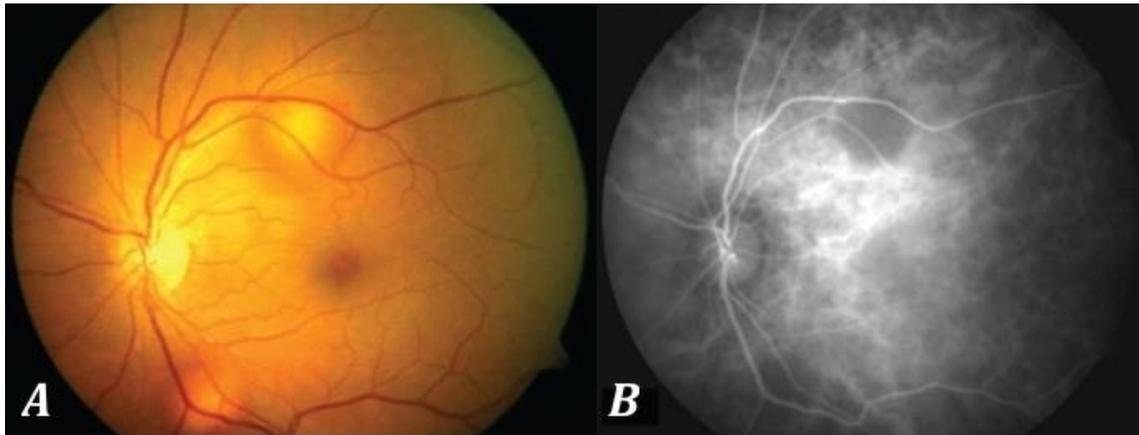
ICG ist gut verträglich und weist bei korrekter Anwendung und Dosierung sehr selten Nebenwirkungen auf. Das Auftreten von Unverträglichkeitsreaktionen, welche von Urtikaria bis hin zum anaphylaktischen Schock reichen können, wurde nur in Einzelfällen beschrieben (Paumgartner, 1975; Benya et al., 1989; Mücke, 2012). Zhai et al. berichteten 2017 über die Notwendigkeit eines aufmerksamen Monitorings aller hämodynamisch-relevanten Parameter bei intraoperativem Einsatz von ICG, nachdem es im Rahmen einer koronaren Bypass-Operation zu einer schweren hämodynamischen Instabilität mit Tachykardie und Blutdruckabfall gekommen war (Zhai et al., 2017).



**Abb. 9: Strukturformel des Fluoreszenzfarbstoffes Indocyaningrün.**

Heutzutage findet ICG im Rahmen der Fluoreszenzangiographie breite Anwendung in der Medizin. Durch Einführung diverser analytischer Visualisierungs-Tools in Verbindung mit der ICG-Angiographie, wie beispielsweise dem im Pentero-Operationsmikroskop der Firma Zeiss integrierten FLOW<sup>®</sup> 800 Software-Tool (OPMI<sup>®</sup> Pentero<sup>®</sup> mit INFRARED<sup>®</sup> 800 und FLOW<sup>®</sup> 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland), wurde in den letzten Jahren eine objektive quantitative und qualitative Evaluation der mikrovaskulären Perfusion in Echtzeit möglich (Mücke et al., 2013b; Rother et Lang, 2018). Mit einer Sensitivität von 100% und einer Spezifität von über 86% stellt die ICG-Angiographie eine valide Alternative zu anderen etablierten bildgebenden Verfahren dar und kommt in verschiedenen medizinischen Fachbereichen zum Einsatz (Holm et al., 2010).

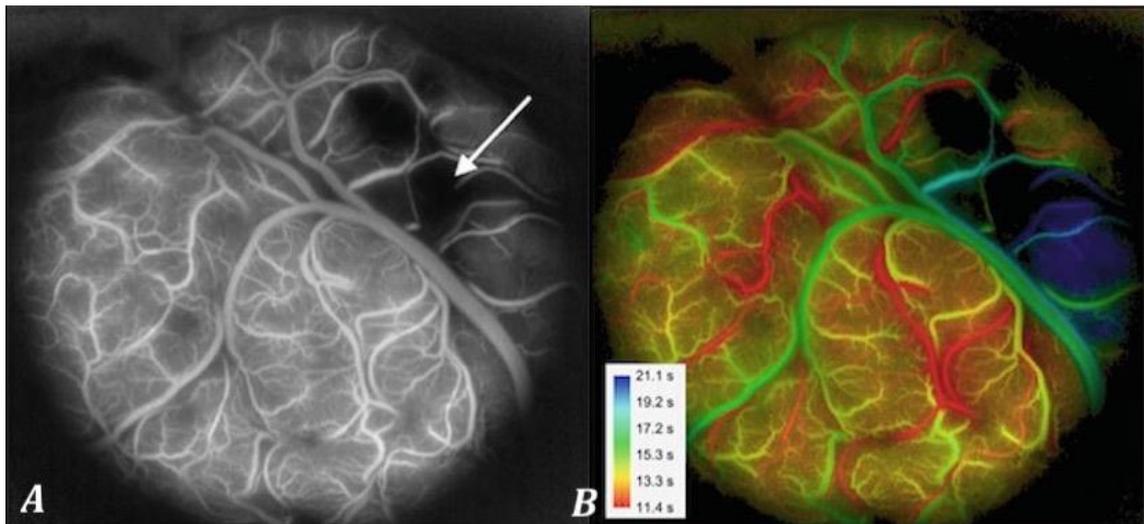
In der Hepatologie dient die ICG-Fluoreszenzangiographie im Rahmen der Leberfunktionsdiagnostik zur Evaluation des hepatischen und portalen Blutflusses und ermöglicht beispielsweise das Erkennen einer zirrhotisch-bedingten Perfusionseinschränkung oder eines portalen Hypertonus (Paumgartner, 1975; Pind et al., 2016). Im Bereich der Ophthalmologie kommt die Indocyaningrün-Videoangiographie (ICG-VA) bereits seit den siebziger Jahren für die Darstellung der retinalen Gefäße und zur Abklärung pathologischer Prozesse des Augenhintergrundes zum Einsatz (Bischoff et Flower, 1985).



**Abb. 10: Einsatz der ICG-Fluoreszenzangiographie in der Ophthalmologie.** (A) Ergebnis der Funduskopie bei Verdacht auf tuberkulöse Choroiditis. (B) Die ICG-Angiographie des Augenhintergrundes zeigt diffus ausgedehnte und fleckige Hypofluoreszenzen im posterieren Pol. Diese pathophysiologischen Veränderungen entsprechen klinisch einer aktiven Chorioretinitis mit begleitender Vitritis. Modifiziert nach Agrawal et al. (Agrawal et al., 2013).

Ferner können in der Gefäßchirurgie arteriosklerotische und stenosierte Gefäßabschnitte visualisiert und die residuale Gewebedurchblutung bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit (pAVK) bestimmt werden (Roenneberg, 2013; Rother et Lang, 2018). Okawa et al. führten bereits 2014 Endarteriektomien an Carotiden durch und überprüften anschließend die Gefäßdurchgängigkeit mithilfe der ICG-VA (Okawa et al., 2014). Zudem nutzten 2017 Rother et al. die ICG-VA für die intra- und postoperative Bewertung der Mikrozirkulation nach tibialer Bypass-Operation (Rother et al., 2017).

Inzwischen findet die ICG-Videoangiographie auch in vielen neurochirurgischen Zentren Anwendung, um intraoperativ, in Kombination mit einem analytischen Visualisierungs-Tool, eine Beurteilung der Perfusion wichtiger zerebraler Gefäße in Echtzeit und den Erfolg nach Clipping intrakranieller Aneurysmen beurteilen zu können (Raabe et al., 2005; Riva et al., 2018).



**Abb. 11: Einsatz der ICG-Fluoreszenzangiographie und des FLOW® 800-Tools in der Neurochirurgie.** (A) Die ICG-Angiographie zeigt eine eingeschränkte Perfusion der kortikalen Oberfläche mit zirkulatorischer Insuffizienz (*weißer Pfeil*). (B) Bei Einsatz des analytischen FLOW® 800-Visualisierungstools zeigt sich dies in der arteriellen Durchblutungsphase besonders deutlich (*blauer Bereich*). Modifiziert nach Hackethal et al. (Hackethal et al., 2018).

In der Plastischen und Rekonstruktiven Chirurgie kommt das Verfahren der ICG-Fluoreszenzangiographie zunehmend zur intraoperativen Evaluation der Durchgängigkeit mikrovaskulärer Anastomosen und zur postoperativen Kontrolle freier Gewebetransplantate zum Einsatz (Holm et al., 2009; Mücke et al., 2010a; Fichter, 2015). In verschiedenen tierexperimentellen Studien konnte zudem gezeigt werden, dass die ICG-VA in der Lage ist, den Erfolg eines freien mikrovaskulären Transplantats und das Auftreten von Nekrosen auf Grundlage der Gewebepfusion vorherzusagen (Giunta et al., 2005; Mücke et al., 2017a).

### **1.4 Problematik und Zielsetzung der Arbeit**

Die kontinuierliche und suffiziente Durchblutung des Transplantats ist für den Erfolg des freien Gewebetransfers von essentieller Bedeutung (Wolff et al., 2008). Diese erfolgt in der ersten postoperativen Woche fast ausschließlich über die mikrochirurgisch-anastomosierte Arterie und Vene, bis einsprossende Gefäße im Rahmen der Neoangiogenese schließlich zu einer Autonomisierung des Transplantats führen (Black et al., 1978; Oswald et al., 1988; Mücke et al., 2011). Kommt es in dieser sensiblen Phase zu einer Kompromittierung der Perfusion mit Überschreiten der kritischen Ischämiezeit, können Gewebenekrosen und ein konsekutives Transplantatversagen resultieren. Ein solcher Verlust hat weitreichende klinische Konsequenzen und sollte unbedingt vermieden werden (Farwell et al., 2002; Mücke et al., 2018). Dennoch kommt es auch heute noch immer wieder vereinzelt zu Transplantatmisserfolgen, weshalb der freie Gewebetransfer weiterhin eine Herausforderung für die Rekonstruktive Chirurgie bleibt. Zahlreiche Ursachen für eine kompromittierte Perfusion des Gewebetransplantats konnten identifiziert werden. Als einer der häufigsten vaskulären Gründe für eine gestörte Durchblutung des freien mikrovaskulären Transplantats gilt die Stenosierung der zu- und abführenden Gefäße, welche u.a. durch technische Fehler im Rahmen der Anastomosierung verursacht werden kann (Mücke et al., 2010a). Obwohl der Einsatz freier Transplantate bereits seit längerem ein standardisiertes Verfahren in der Rekonstruktiven Chirurgie darstellt, ist der genaue Einfluss unterschiedlicher mikrovaskulärer Stenosierungsgrade auf die lokale und distale Perfusion des Transplantats in der Literatur kaum beschrieben und es fehlen objektive Studien. Hinsichtlich der klinischen Notwendigkeit, eine etwaige vaskuläre Stenosierung der Transplantatgefäße möglichst frühzeitig zu erkennen und eine Reexploration einleiten zu können, ist darüberhinaus unklar, welche der zur Verfügung stehenden Monitoringverfahren (oder Kombinationen) die höchste Detektionsrate gewährleisten. Besonders in Bezug auf die Stenosierung venöser Mikrogefäße fehlen Untersuchungen, welche die prognostische Fähigkeit der ICG-Angiographie evaluieren und mit anderen diagnostischen Verfahren vergleichen.

Vor diesem Hintergrund ergibt sich folgende Fragestellung, die durch die vorliegende Arbeit mit Hilfe eines (in Analogie zu einem gemischten Transplantat)

---

eigens etablierten Tiermodells in der Ratte und dreier verschiedener Monitoringmodalitäten exploriert werden soll (Nasser et al., 2015):

1. Welchen Einfluss haben unterschiedliche Stenosierungsgrade der zu- und abführenden Gefäße auf die Perfusion proximal, lokal und distal des mikrovaskulären Transplantats?
2. Welche Modalität ist hinsichtlich der intraoperativen Detektion verschiedener Stenosegrade am besten geeignet? (Transit-Flowmeter, O2C oder ICG-VA)
3. Ermöglicht eine Kombination mehrerer Monitoringverfahren eine höhere Detektionsrate als eine Modalität allein?
4. Können alle applizierten Stenosegrade gleichermaßen zuverlässig durch das intraoperative Monitoring detektiert werden?
5. Lassen sich arterielle und venöse Stenosen gleichermaßen gut bzw. frühzeitig mittels intraoperativer ICG-VA (anhand veränderter Perfusionseigenschaften) erkennen?

## **2 Material und Methodik**

### **2.1 Versuchsmodell**

In der vorliegenden Arbeit dient das mikrovaskuläre Gefäßsystem der Ratte als Versuchsmodell. Ratten lassen sich hinsichtlich ihrer anatomischen Verhältnisse und ihres kardiovaskulären Systems mit dem menschlichen Organismus vergleichen und stellen im Rahmen mikrovaskulärer Studien das am häufigsten verwendete tierexperimentelle Versuchsmodell dar (Oesterwitz et al., 1983; Zhang et al., 2001; Mücke, 2012). Dieses bewährte und gut erprobte Modell erlaubt die Simulation und anschließende Untersuchung pathophysiologischer Vorgänge auf mikrovaskulärer Ebene. Für die Evaluation der Auswirkung verschiedener arterieller und venöser Stenosegrade auf das Perfusionsverhalten eines mikrovaskulären Transplantats wird im Speziellen auf ein bereits etabliertes Hinterlaufmodell der Ratte zurück gegriffen (engl. "hindlimb model in the rat") (Nasser et al., 2015). Hierbei fungiert der murine Hinterlauf, in Analogie zu einem freien Kompositlappen, als mikrovaskuläres Transplantat, welches nach Ligieren aller abzweigenden Gefäße ausschließlich durch die A. und V. femoralis versorgt wird. Somit ist es möglich, die Durchblutung eines freien Transplantats zu simulieren und den unmittelbaren Einfluss einer reduzierten Durchgängigkeit der zu- und abführenden Gefäße auf die Gewebepfusion zu untersuchen.

### **2.2 Versuchsaufbau**

#### **2.2.1 Versuchstiere und Haltung**

Als Versuchstiere kamen in der vorliegenden Studie 20 männliche Wistar-Ratten (Fa. Charles-River Laboratories, Sulzfeld, Deutschland) zum Einsatz, welche nach Stellen eines Tierversuchsantrages gemäß § 8 des deutschen Tierschutzgesetzes von der Regierung Oberbayern für dieses Versuchsvorhaben genehmigt wurden (Az. 55.2-1-54-2532-85-15). Die Haltung der Ratten erfolgte gemäß der EU-Richtlinie 2010/63 in Standardkäfigen aus Makrolon Typ IV (Höhe: 20 cm - Breite: 35 cm - Tiefe 55 cm), in denen je nach individuellem Gewicht und Größe 3–4 Ratten untergebracht wurden. Nach der Lieferung erhielten die Tiere im Zentrum für präklinische Forschung des Klinikums rechts der Isar eine mehrwöchige Eingewöhnungszeit und wurden unter Aufrechterhaltung einer konstanten

---

Lufttemperatur und -feuchtigkeit in einem hierfür speziell ausgestatteten Kleintierhaltungsraum (mit künstlicher zirkadianer Beleuchtung) gepflegt. Autoklaviertes Futter in Form von Pellets und Trinkwasser (Wechsel zweimal wöchentlich) wurden den Tieren ad libidum bereitgestellt.



**Abb. 12: Standardkäfige aus Makrolon mit Holzgranulatstreu, Stroh und Papphäusern.** Die Trink- und Futtervorrichtung befindet sich im Käfigdeckel, welcher zur besseren Darstellung des Käfiginventars zuvor abgenommen wurde.

Die Käfige beinhalteten neben Holzgranulatstreu und Stroh als Basis auch Versteckmöglichkeiten wie Papphäuser und Zellstoff, welches den Tieren die Eingewöhnung erleichtern sollte (Abb. 12). Der Gesundheitszustand und das Körpergewicht der Ratten wurden während der Eingewöhnungszeit und noch einmal vor Beginn der Versuche überprüft. Kurz vor experimenteller Durchführung der Versuche wogen die Tiere zwischen 300 und 550 g.



**Abb. 13: Die männliche Wistar-Ratte als Versuchstier.**

### **2.2.2 Vorbereitungen und Narkose**

Für die Einleitung der Narkose wurde im mikrochirurgischen Labor eine Ganzkörperkammer und das volatile, bei Raumtemperatur leicht verdampfende, Anästhetikum Isofluran (Isoflo® 100 %, Albrecht GmbH, Aulendorf, Deutschland) verwendet (Abb. 14). Im Rahmen der weiterführenden Anästhesie mittels Ketamin (Ursotamin® 100 mg/ml, Serumwerk Bernburg AG, Bernburg, Deutschland) und Xylazin (Rompun® 2 %, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland) erfolgte anschließend die genaue Erfassung des Körpergewichts der Ratte zur Berechnung der adäquaten Dosis. Diese kombinierte Ketamin-Xylazin-Initialdosis wurde mit Hilfe einer 1 ml-Mischspritze intraperitoneal appliziert und betrug 1 ml Ketamin 10 %/kg Körpergewicht und 0,3 ml Xylazin 2 %/kg Körpergewicht (Welberg et al., 2006).

Nach maximaler Anflutung des Anästhetikums und Erreichen einer adäquaten Narkosetiefe wurde zunächst die Nassrasur des linken medio-lateralen Zervikalbereichs ventral sowie der Leistenregionen beidseits mit einem Einmalrasierer durchgeführt. Für das Anlegen eines Mikrokatheters und die Durchführung der operativen Eingriffe wurde die Ratte auf einer Korkplatte in Rückenlage positioniert, die beiden Hinterläufe mit leichten Gummizügen in

Abduktionsstellung fixiert und zum Schutz der Augen eine Dexpanthanol-Salbe aufgetragen (Bepanthen®, Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland). Im Verlauf der mikrochirurgischen Operation diente eine Wärmematte zur Aufrechterhaltung der Körpertemperatur und die Überwachung von Atmung und Puls erfolgte mit Hilfe eines Pulsoxymeters. Um eine ausreichende Narkosetiefe auch über einen längeren Zeitraum zu gewährleisten, wurde der Ratte vor Versuchsbeginn ein Venenverweilkatheter gelegt, über den bedarfsweise Narkosemittel nachgegeben werden konnten (siehe 2.2.3.1).



**Abb. 14: Verwendete Narkotika.** (A) Die Aufnahme von Isofluran erfolgt mittels Kompressen und dient zur Einleitung der Narkose. (B) Xylazin und (C) Ketamin werden für die weitere Aufrechterhaltung der Narkose mit einer Mischspritze im korrekten Verhältnis aufgezogen. Abbildung modifiziert nach Wolff (Wolff, 2017).

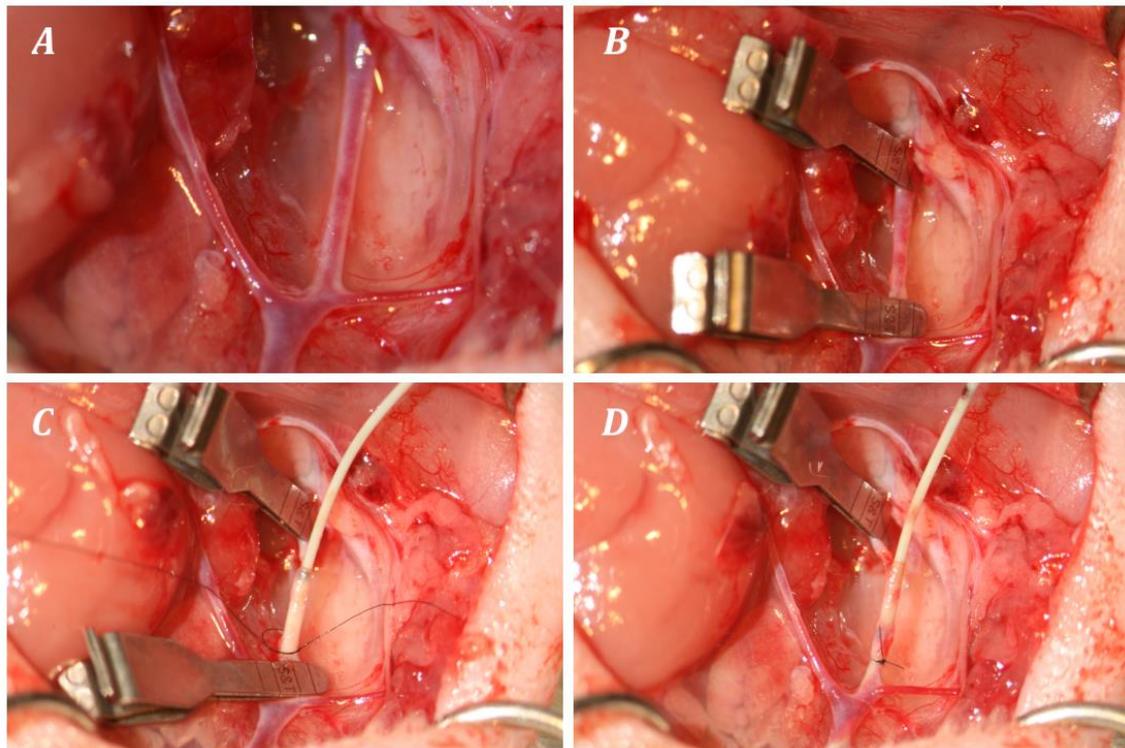
## 2.2.3 Operative Eingriffe und Versuchsdurchführung

### 2.2.3.1 Katheteranlage und Aufrechterhaltung der Narkose

Für die mikrochirurgische Anlage eines venösen Verweilkatheters wurde die Haut im linken Halsbereich ventral auf einer Strecke von ca. 2 – 2,5 cm, entlang des Musculus sternocleidomastoideus, von kranial nach kaudal mit einem Skalpell inzidiert. Als anatomische Orientierungspunkte für die Inzision dienten latero-

kranial der Angulus mandibulae (Kieferwinkel) und medio-kaudal die Articulatio sternoclavicularis, die den Übergang der Clavicula zum Sternum markiert. Zunächst wurde der Hautschnitt makroskopisch mittels chirurgischer Schere und Pinzette erweitert und die Präparation im Bereich des subkutanen Gewebes vorsichtig in die Tiefe fortgesetzt. Nach Auffinden der Muskelfaszie des M. sternocleidomastoideus und des M. sternohyoideus sowie der fibrösen Kapsel des lateralen Schilddrüsenpols erfolgte die weitere Darstellung der Vena jugularis externa samt Begleitvenen unter mikroskopischer Vergrößerung. Mit Hilfe des mikrochirurgischen Instrumentariums konnte die zervikale Gefäßscheide eröffnet und die V. jugularis externa zirkulär von Anhangsgewebe befreit werden. Während der gesamten Präparation wurde auf die Schonung der begleitenden nervalen Strukturen geachtet (Mikami et al., 2018).

Der freigelegte Abschnitt der V. jugularis externa wurde anschließend sowohl proximal als auch distal der geplanten Insertionsstelle des Katheters mit jeweils einem Gefäßclip abgeklemmt, sodass die Perfusion in diesem Bereich unterbrochen war. Für die spätere Fixierung des Mikrokatheters (Premicath®, Vygon GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland) wurde eine Ligatur mit einem Ethilon® 8-0 Faden (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) um den proximalen Gefäßanteil vorgelegt. Die Vene wurde weiter distal quer zu ihrem Verlauf inzidiert und der Katheter bis zum proximalen Gefäßclip inseriert. Nach Entfernen des proximalen Clips konnte der Mikrokatheter (Premicath®, VYGON GmbH & Co. KG, Aachen, Deutschland) weiter in die Vene vorgeschoben und durch Adaptieren der vorgelegten Ligatur abschließend gesichert werden (Abb. 15) (Ritschl et al., 2015). Der Operationssitus wurde kontinuierlich feucht gehalten und steril abgedeckt. Der venöse Verweilkatheter ermöglichte intraoperativ sowohl die stetige Verabreichung von Anästhetika zur Aufrechterhaltung der Narkose als auch die wiederholte Injektion von Indocyaningrün als Fluoreszenzmittel im Rahmen der Angiographie. Hierdurch stand das femorale Gefäßbündel der Leistenregion, welches sonst häufig für die Katheteranlage in der Ratte bevorzugt wird, beidseits für die Untersuchung der vorliegenden Fragestellung zur Verfügung. Hierdurch konnte im Sinne des 3R-Prinzips (Replace (Vermeiden), Reduce (Verringern), Refine (Verbessern)) die benötigte Tieranzahl halbiert werden.

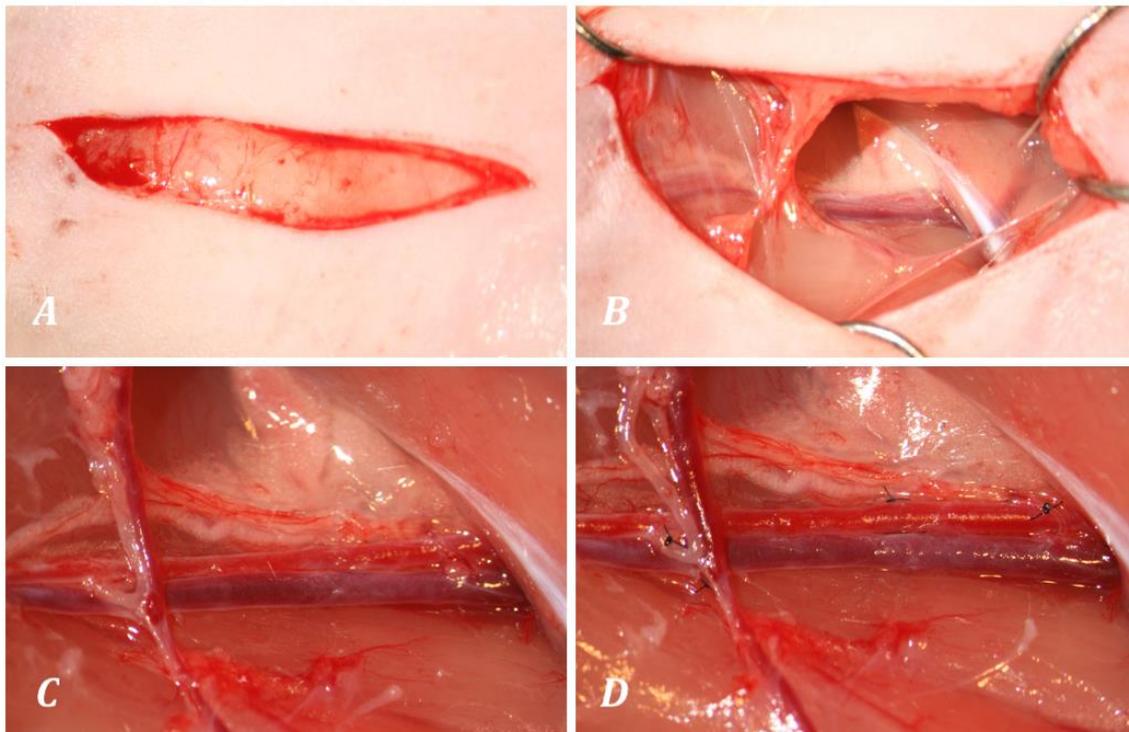


**Abb. 15: Schrittweises Vorgehen bei der Anlage eines intravenösen Mikroverweilkatheters zur intravasculären Applikation von Anästhetika.** (A) Darstellung mehrerer konfluierender Halsvenen lateral der Schilddrüse. (B) Der mittig-oben liegende venöse Gefäßabschnitt wird proximal und distal mit Gefäßclips abgeklemmt und die Durchblutung somit unterbrochen. (C) Nach Venotomie und Vorlegen einer Ligatur erfolgt die Insertion des Katheters bis zum Gefäßclip. (D) Der Clip wird anschließend entfernt, der Katheter weiter vorgeschoben und mittels Ligatur fixiert. Nach Versuchsende kann die Ligatur gelöst, der Katheter zurückgezogen, die Vene mikrochirurgisch anastomosiert und die Wunde mit einer Hautnaht verschlossen werden.

### **2.2.3.2 Präparation der Leistenregion und Darstellung der Femoralgefäße**

Für die Versuchsdurchführung wurden beide Leistenregionen nacheinander in analoger Weise präpariert. Die Entscheidung, mit welcher Seite begonnen werden sollte, erfolgte randomisiert. Zunächst wurde die rasierte Haut im Bereich der Leiste ca. 2 – 3 cm mittels Skalpell inzidiert, wobei die Schnittführung von medio-kranial nach latero-kaudal entlang des Verlaufs des femoralen Gefäßbündels vorgenommen wurde, um ein akzidentielles Durchtrennen der tiefer gelegenen Strukturen zu vermeiden. Unter Zuhilfenahme einer chirurgischen Schere und Pinzette erfolgte die makroskopische Präparation der Leistenregion durch vorsichtiges Spreizen der Hautinzision und des Gewebes bis zum Auffinden des

zwischen den Muskelfaszien befindlichen femoralen Gefäßbündels. Im weiteren Verlauf wurde der zwischen dem Ligamentum inguinale und dem Abgang der epigastrischen Gefäße liegende Gefäßabschnitt mikrochirurgisch dargestellt, die A. und V. femoralis voneinander separiert und von Anhangsgewebe zirkumferent befreit. Für das gewählte Transplantationsmodell wurden zudem entlang dieses Abschnittes alle seitlich abzweigenden Gefäße der Vene und Arterie mit einem Ethilon® 8-0 Faden (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) ligiert, um die Perfusion des distal gelegenen Hinterlaufs ausschließlich über das femorale Gefäßbündel erfolgen zu lassen (Abb. 16). Wie unter 2.1 beschrieben, ermöglichte dieses Modell die Simulation der Durchblutungsverhältnisse eines freien mikrovaskulären Kompositstransplantats und im Folgenden die Untersuchung der Auswirkung unterschiedlicher arterieller und venöser Stenosegrade auf die distal gelegene Gewebepfusion sowie die lokale Durchblutung am "Gefäßstiel" des Transplantats.



**Abb. 16: Darstellung des femoralen Gefäßbündels in der Leistenregion unter mikroskopischer Sicht.** (A) Die Hautinzision erfolgt in Verlaufsrichtung der femoralen Gefäße. (B) Auffinden des femoralen Gefäß-Nervenbündels in der Tiefe nach makroskopischer Präparation. Das weißlich-schimmernden Leistenband (mittig-rechts) dient als anatomischer medialer Orientierungspunkt. (C) Mikrochirurgische Darstellung der Gefäße nach Separation von N., A. und

---

V. femoralis (v.o.n.u.). Links im Bild ist der Abgang der epigastrischen Gefäße zu sehen. (D) Darstellung nach Ligatur aller arteriellen und venösen Seitenäste der A. und V. femoralis.

### 2.2.3.3 Stenosierung der Gefäße

Das in diesem Versuchsaufbau verwendete Konzept der Stenosierung der femoralen Gefäße basiert auf klinischen und hämorheologischen Erkenntnissen aus der kardiovaskulären Medizin (Leistad et al., 2001). Die rheologischen Zusammenhänge bedingen bei Verminderung des Gefäßdurchschnitts einen Anstieg des Gefäßwiderstands und folglich ein Absinken des Durchflussvolumens (ausführlich beschrieben unter 1.2.2). In der klinischen Diagnostik erfolgt die quantitative Beurteilung einer Stenose, beispielsweise im Rahmen der Fluoreszenz-Angiographie, durch den Vergleich des Gefäßdurchmessers am Ort der Stenose mit dem Gefäßdurchmesser im angrenzenden (nicht-stenosierten) Gefäßabschnitt. Dabei muss beachtet werden, dass der Durchmesser und der daraus errechnete Gefäßquerschnitt nicht in einem linearen Verhältnis zueinander stehen, sondern einen parabelähnlichen Zusammenhang aufweisen (Mücke, 2012). Anhand der Querschnittsformel für einen Kreis wird diese quadratische Abhängigkeit deutlich:

$$A = \frac{\pi}{4} \cdot d^2$$

$A$  beschreibt in dieser Formel die Querschnittsfläche und  $d$  den Durchmesser des Kreises. Für die einheitliche Beurteilung der Relevanz einer vaskulären Stenose erfolgte 1999 durch die American Heart Association (AHA) eine klinische Einteilung auf Grundlage der Reduzierung des Gefäßquerschnitts in fünf verschiedene Stenosegrade (Scanlon et al., 1999):

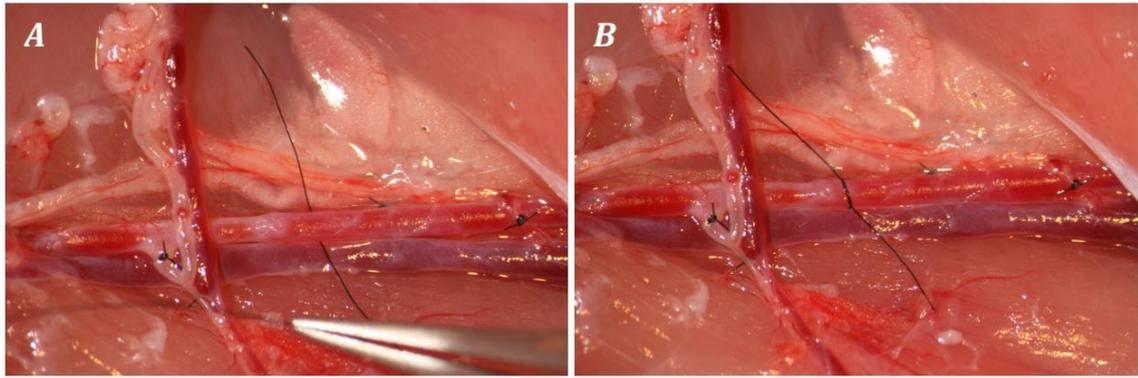
Grad 0	0 – 24 %	(sehr geringgradig)
Grad 1	25 – 49 %	(geringgradig)
Grad 2	50 – 74 %	(mittelgradig bis signifikant)
Grad 3	75 – 99 %	(hochgradig bis kritisch)
Grad 4	100 %	(kompletter Gefäßverschluss)

Unter Berücksichtigung des Hagen-Poiseuill'schen Gesetzes kommt es bei gradueller Steigerung der Stenosierung bzw. mit zunehmender Verringerung des Gefäßquerschnitts auch zu einem Anstieg des Flusswiderstands im Gefäß. Sofern durch die physiologischen Kompensationsmechanismen (Fahraeus-Lindqvist-Effekt, post-stenotische Vasodilatation) keine ausreichende Gegenregulation erreicht wird, ist in der Folge ein reduziertes Durchflussvolumen zu erwarten (1.2.2). Besonders im Bereich des mikrovaskulären Gefäßsystems der Ratte ist diese sog. Flussreserve nicht sehr ausgeprägt, wodurch eine geringgradige Gefäßverengung bereits zu einer relevanten Flusskompromittierung führen kann (Mücke, 2012).

Für die experimentelle Umsetzung des Stenosierungskonzepts wurde das Gefäßlumen der A. und V. femoralis mit Hilfe eines Ethilon® 9-0 monofilen Fadens (Ethicon®, Norderstedt, Deutschland) unter Einhaltung eines randomisierten Protokolls sukzessive verengt und somit eine variable Stenosierung der Gefäße um 25, 50, 75 und 100 % geschaffen (Abb. 17) (Nasser et al., 2015; Yamamoto et al., 2017). Nach Berechnung der unterschiedlichen Gefäßdurchmesser, die für die Querschnittsverringering entsprechend der jeweiligen Stenosegrade benötigt wurden, erfolgte die metrische Überprüfung der korrekten standardisierten Applikation der Ligatur mittels 1/10 mm-Papier unter mikroskopischer Kontrolle. So musste beispielweise für die Umsetzung einer 75 % Stenose der arterielle Gefäßdurchmesser von ursprünglich 1,2 mm auf 0,6 mm reduziert und somit halbiert werden (Tab. 1).

<b>Stenosegrad</b>	<b>0 %</b>	<b>25 %</b>	<b>50 %</b>	<b>75 %</b>	<b>100 %</b>
Gefäßdurchmesser [mm]	1,20	1,04	0,85	0,60	0
Gefäßquerschnitt [mm <sup>2</sup> ]	1,13	0,85	0,57	0,28	0

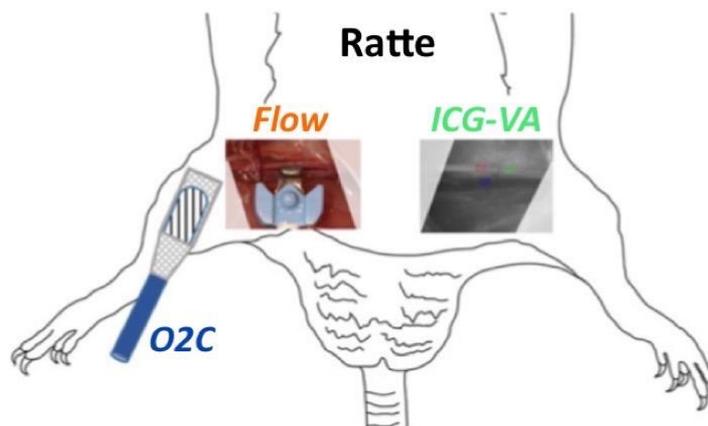
**Tab. 1: Berechnung der adäquaten Gefäßdurchmesser für verschiedene Stenosegrade.**



**Abb. 17: Stenosierung der A. femoralis.** (A) Vorlegen eines 9-0 monofilen Fadens unterhalb des arteriellen Gefäßlumens. (B) Verengung des Gefäßlumens mittels Ligatur um 25 % des ursprünglichen Querschnitts.

### 2.2.3.4 Experimentelles Protokoll und Evaluation der Perfusion

Für die Evaluation der Perfusion kamen drei unterschiedliche Monitoring-Modalitäten zum Einsatz: die Indocyaningrün-Videoangiographie (ICG-VA), die Ultraschall-Durchflussmessung (Transit Flowmeter) und die Gewebe-Photospektrometrie (O2C = "oxygen to see"). Die Erfassung des Blutflusses erfolgte gemäß experimentellem Protokoll nach Darstellung der Femoralgefäße und Ligatur der Seitenäste (Abb. 18).



	Arteria femoralis					Vena femoralis				
Grad der Stenose	0 %	25 %	50 %	75 %	100 %	0 %	25 %	50 %	75 %	100 %
Modalität	O2C Flow ICG-VA									

Legende: O2C = Oxygen to see, Flow = Transit Flowmeter, ICG-VA = Indocyaningrün-Videoangiographie

Abb. 18: Übersicht des Versuchsablaufs zur Evaluation der Perfusion mittels drei unterschiedlicher Modalitäten.

Zunächst wurden unter stabilen Kreislaufbedingungen mit allen drei Modalitäten Referenzmessungen an der A. und V. femoralis sowie am distalen Erfolgsorgan durchgeführt, die im Weiteren als physiologische Basiswerte dienten (Abb. 19 A, B und C sowie Abb. 20 A). Gemäß des Versuchsprotokolls folgten anschließend nacheinander die Stenosierung der A. femoralis und der V. femoralis um 25, 50, 75 und 100 %, je nach randomisierter Festlegung links- oder rechtsseitig beginnend. Dabei wurden nach jeder erneuten Reduktion des Gefäßdurchmessers der prästenotische, poststenotische und gegenläufige (venöse/arterielle) Blutfluss mit Hilfe des Transit-Flowmeters gemessen und die spezifischen Perfusionsparameter

am distalen Endorgan mittels O2C erfasst. Zusätzlich kam für die Erstellung einer quantitativen und qualitativen Flussanalyse nach jeder Veränderung des Stenosegrads die ICG-VA zum Einsatz. Zur genauen Dokumentation der Flusswerte und Perfusionsparameter nach erfolgter Messung sowie zum Vermerk des Zeitpunktes der ICG-Flussanalyse lag während des Versuchsablaufs ein Protokoll aus (Tab. 2).

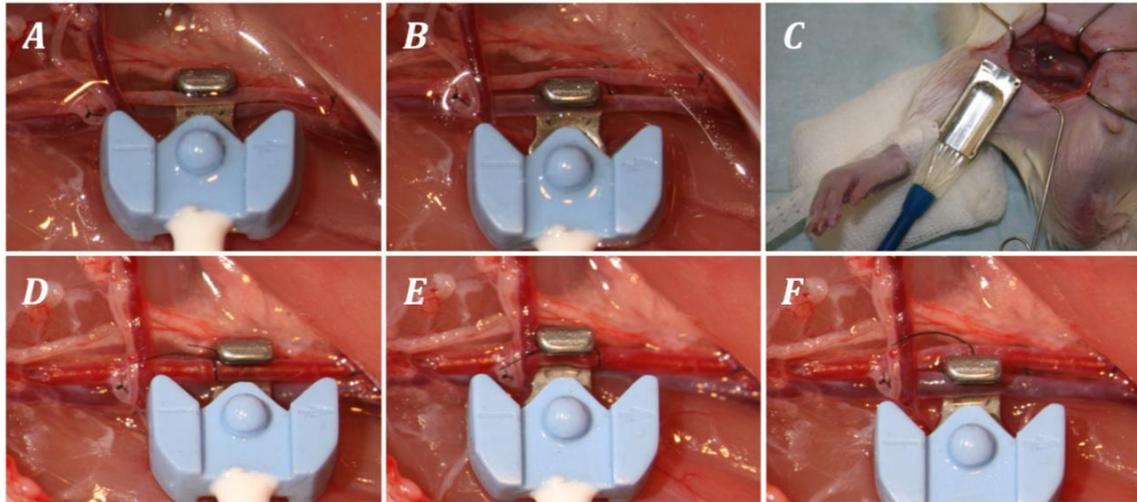
Versuchsprotokoll – Evaluation der Perfusion						Versuchsprotokoll – Evaluation der Perfusion																	
Ratte Nr.:		Körperseite:		OP-Datum:		O2C detailliert:																	
Gefäß	Stenose	ICG (1 min, 11-fach)	Transit Time Flowmeter (ml/min; 5 Werte)			O2C (30 sec)	Einheit	A. femoralis					V. femoralis										
			A. prä	A. post	Vene			0%	25%	50%	75%	100%	0%	25%	50%	75%	100%						
A. femoralis	0%					Start:	SO <sub>2</sub>	S						-					(s.o.)				
	25%					Start:		D						-					(s.o.)				
	50%					Start:	Hb	S						-					(s.o.)				
	75%					Start:		D						-					(s.o.)				
	100%					Start:		Velo	S						-					(s.o.)			
						D							-					(s.o.)					
V. femoralis	0%	s.o. 0%	s.o. 0%	s.o. 0%	s.o. 0%	Start: s.o. 0%	Flow	S						-					(s.o.)				
	25%					Start:		D						-					(s.o.)				
	50%					Start:	Hb	S						-					(s.o.)				
	75%					Start:		D						-					(s.o.)				
	100%					Start:		Velo	S						-					(s.o.)			
						D							-					(s.o.)					

**Tab. 2: Original Versuchsprotokoll für die Dokumentation der unterschiedlichen Perfusionsparameter.**

Für die quantitative Messung des Blutflusses mittels Transit Flowmeter (Transit Time Perivascular Flowmeter TS420, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) wurde die zugehörige "V"-Flusssonde (Flow Probe 1,5 mm, Katalognummer MA1PRB, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) so am Gefäß positioniert, dass die beiden hellblauen "Flügel" auf der einen Seite des Gefäßes und der metallene Reflektor auf der anderen zum Liegen kamen, ohne die Durchgängigkeit des Gefäßlumens zu beeinträchtigen (Abb. 19 D, E und F). Die Evaluation des

Durchflussvolumens erfolgte stets im feuchten Milieu, um fehlerhafte Abweichungen im Verlauf der Messung zu vermeiden.

Die Erfassung der Gewebepерfusion am distalen Endorgan geschah mit Hilfe des O2C-Geräts (LEA Medizintechnik GmbH, Giessen) durch druckloses Auflegen der Messsonde im rasierten Hautbereich der Innenseite des distalen Hinterlaufs der jeweiligen Körperseite (Abb. 19 C).



**Abb. 19: Evaluation der Perfusion mittels Ultraschall-Durchflussmesser und Gewebe-Photospektrometrie.** (A und B) Referenzmessung an der A. und V. femoralis mittels Ultraschall-Durchflussmessung (Transit Flowmeter) und (C) am distalen Erfolgsorgan mittels Gewebe-Photospektrometrie (O2C) zur Erfassung der Flow-, Velo-, Hb-, und SO<sub>2</sub>-Basiswerte. (D) Ultraschall-Durchflussmessung vor der künstlich erzeugten Stenose, (E) hinter der Stenose und (F) am venösen Gegengefäß.

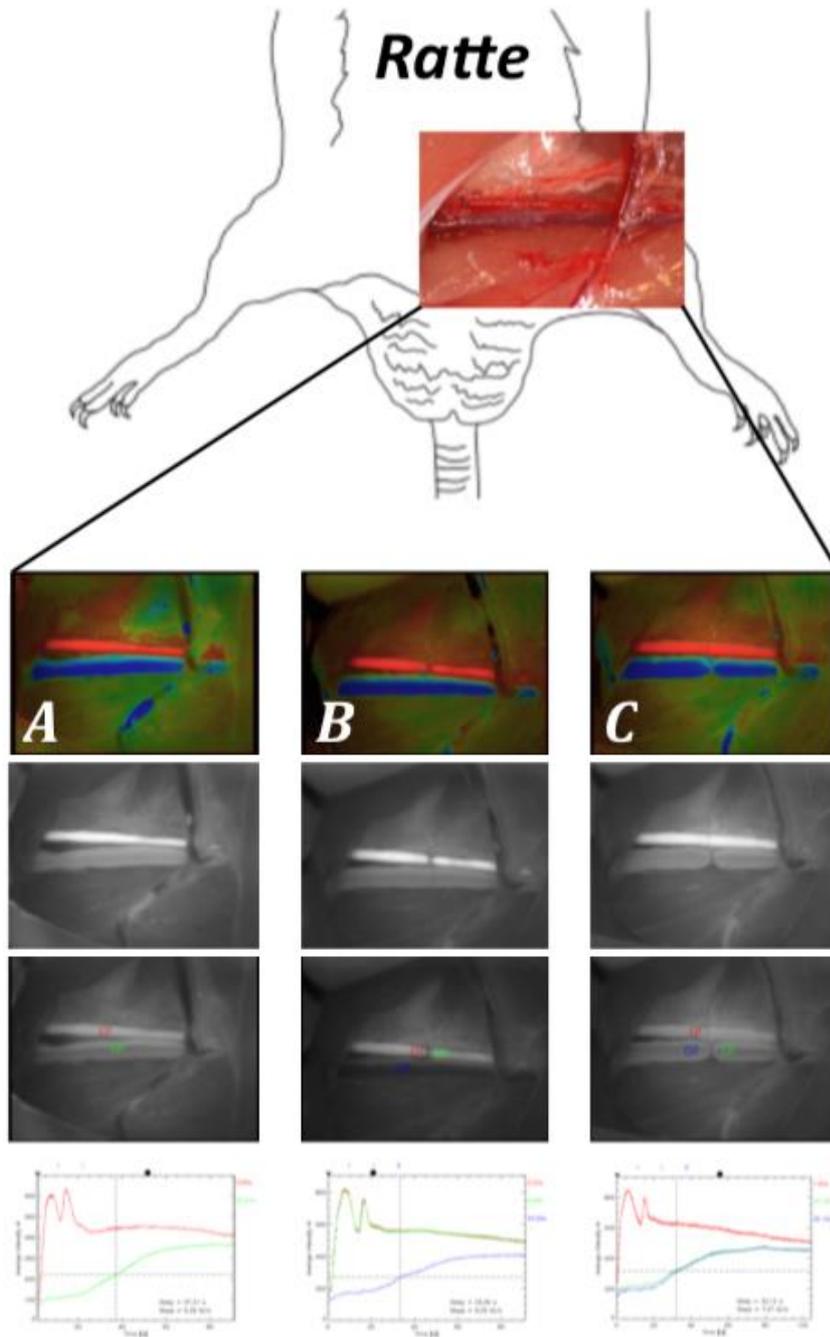
Im Rahmen der ICG-VA wurde auf den zu Versuchsbeginn in der V. jugularis angelegten Mikroverweilkatheter zurückgegriffen, über den eine wiederholte intravenöse Applikation des ICG-Kontrastmittels problemlos möglich war. Für die Herstellung eines intravenös applizierbaren Kontrastmittels musste zuvor das fluoreszierende Farbstoffpulver (ICG-Pulsion®, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland) in destilliertem Wasser (Aqua ad iniectabilia®, B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Deutschland) gelöst und auf eine 1 ml-Spritze aufgezogen werden (Abb. 21).

Im Anschluss erfolgte vor jeder Flussanalyse die Adjustierung des Kamerafokus mittels im OP-Mikroskop (OPMI® Pentero®, Carl Zeiss AG, Oberkochen,

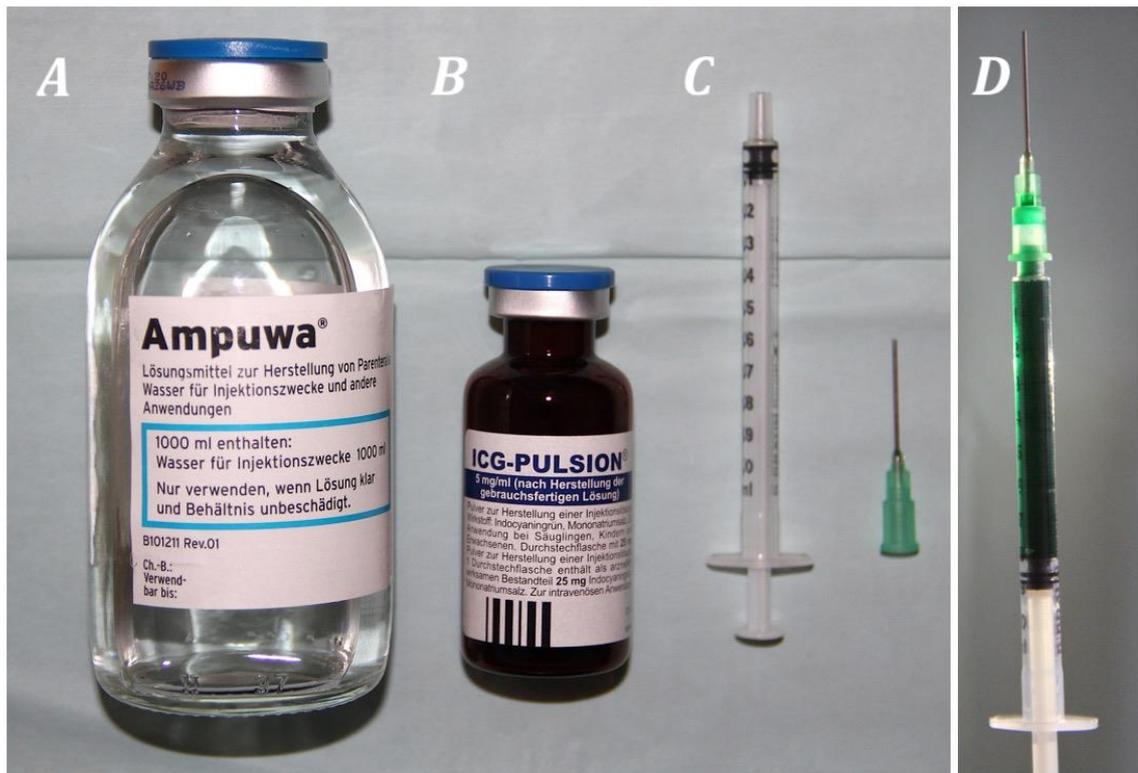
---

Deutschland) integrierter Autofunktion und die i.v. Injektion von 0,3 ml ICG-Kontrastmittel, ohne dass die maximale Dosis von 0,3 mg/kg Körpergewicht überschritten wurde. Um ein Ausfällen des ICG-Farbstoffes zu verhindern und den Katheter gängig zu halten, musste der Mikrokatheter nach Kontrastmittelapplikation mit 0,1 ml NaCl gespült werden. Die standardisierte Aufnahmedauer der ICG-Fluoreszenzangiographie betrug 2 min und erfolgte bei abgedunkeltem Raumlicht. Nach Abschluss der ICG-VA konnten mit Hilfe der FLOW®800-Visualisierungssoftware (FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) manuell sog. ROIs ("Regions of Interest") im Gefäßverlauf gesetzt werden, auf deren Grundlage die graphische Darstellung der Flussanalyse erfolgte. Die berechneten Flussdaten bezogen sich in diesem Setting ausschließlich auf den Gefäßabschnitt, in dem die ROIs zum Liegen kamen. Zusätzlich wurden sowohl die Anflutungszeit des Kontrastmittels farblich-codiert auf dem Bildschirm des OP-Mikroskops wiedergegeben, als auch die maximale Intensität des ICG-Fluoreszenzsignals während der arteriellen und venösen Durchblutungsphasen abgebildet (Abb. 20 v.o.n.u. B und C).

Nach einer zehnminütigen Pause zur Kreislaufstabilisation und Abflutung des ICG-Signals wurden die apparativen Messungen an den Femoralgefäßen der anderen Körperseite in analoger Vorgehensweise wiederholt und dokumentiert.



**Abb. 20: Flussanalyse der Femoralgefäße mittels ICG-Videoangiographie.** (v.l.n.r.) (A) Referenzmessung der A. und V. femoralis zur Erfassung des ICG-Basiswertes. (B) Stenosierung der A. fem. um 75 %. (C) Stenosierung der V. fem. um 75 %. (v.o.n.u.) Die erste Aufnahme zeigt die Anflutzeit des ICG-Kontrastmittels in Sekunden, die zweite Darstellung die maximale Intensität des Fluoreszenzsignals, welche durch die Infrarotkamera detektiert wurde. Durch das Positionieren sog. ROIs ("Regions Of Interest") nach der Angiographie lässt sich durch die FLOW®800-Software in diesen Bereichen eine Flussanalyse durchführen, welche die Evaluation der Perfusion graphisch darstellt.



**Abb. 21: ICG-PULSION® und Aqua ad iniectabilia.** (A) Aqua ad iniectabilia für die Herstellung von parenteralen Injektionslösungen (Ampuwa®, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, 61346 Bad Homburg v.d.H., Deutschland). (B) ICG-Pulsion als Pulver in einer lichtgeschützten Ampulle (ICG-Pulsion®, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland). (C) 1 ml-Injektionsspritze mit Markierung in 0,1 ml-Schritten und Kanüle. (D) Intravenös applizierbares ICG-Kontrastmittel aufgezogen für die Injektion via Mikroverweilkatheter.

### 2.2.3.5 Euthanasie der Tiere

Die Tiere wurden nach Beendigung der jeweiligen Versuchsreihe (100 % Stenosierung der V. femoralis der zweiten Leistenregion) noch während der Narkose mittels Überdosierung der Narkosemittel und durch Entbluten euthanasiert (Close et al., 1996, 1997).

### 2.2.3.6 Aufbereitung und Auswertung der Daten

Alle Messdaten wurden nach Versuchsbeendigung auf einem tragbaren Speichermedium gesichert. Die Aufbereitung und Auswertung der gewonnenen Daten aus den ICG-Flussanalysen erfolgten nach Einsatz der FLOW®800-Visualisierungssoftware gemäß eines eigens erstellten Protokolls (siehe Anhang "Leitfaden zur Auswertung der ICG-Angiographie", Abschnitt 7.2).

Die mittels Ultraschall-Durchflussmessung (Transit Flowmeter) und Gewebe-Photospektrometrie (O2C) ermittelten Werte wurden ohne weitere Aufbereitung der statistischen Analyse zugeführt.

### **2.3 Instrumente und technische Apparaturen**

Die tierexperimentellen Untersuchungen zur Auswirkung unterschiedlicher Stenosegrade der zu- und abführenden Gefäße auf die Gewebepерfusion des distalen Erfolgsorgans fanden im mikrochirurgischen Labor der Abteilung für Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie des Klinikums rechts der Isar der Technischen Universität München statt. Der Arbeitsplatz wurde zu Beginn eines jeden Versuchs mit den benötigten Monitoring-Apparaturen und mikrochirurgischen Instrumenten hergerichtet. Anschließend erfolgte die Durchführung der Versuche unter sterilen Bedingungen.

#### **2.3.1 Mikrochirurgisches Instrumentarium**

Für die operativen Eingriffe wurden unterschiedliche makro- und mikrochirurgische Instrumente benötigt. Die anfänglich makroskopische Präparation der Halsregion (zur Anlage eines venösen Katheters) sowie der Leistenregion (zum Auffinden des femoralen Gefäßbündels) wurde mit Hilfe einer anatomischen und chirurgischen Pinzette, einer Schere und unterschiedlichen Einmal-Skalpellen durchgeführt. Unter mikroskopischer Vergrößerung kam im weiteren Verlauf der Operation ein mikrochirurgisches Instrumentarium der Firma S&T (Spingler & Tritt, Neuhausen, Schweiz) zum Einsatz. Dieses bestand u.a. aus einer Mikroschere, zwei unterschiedlichen Mikropinzetten mit abgewinkelten und geraden Branchen, einem mikrochirurgischen Nadelhalter, einem Gefäßdilator und einer Clip-Pinzette. Zusätzlich wurden Einzelklemmen, ein venöser Mikrokatheter und weitere Hilfsmittel, wie bspw. Tupfer und Kompressen, bei der operativen Versuchsdurchführung verwendet.

Die Ligatur der Seitenäste der A. und V. femoralis, die Sicherung des Mikrokatheters sowie die sukzessive Einengung des Gefäßlumens erfolgten mit Hilfe von mikrochirurgischem Nahtmaterial der Firma Ethicon® (Ethilon® 8-0 und 9-0 monofiler Faden, Ethicon®, Norderstedt, Deutschland).



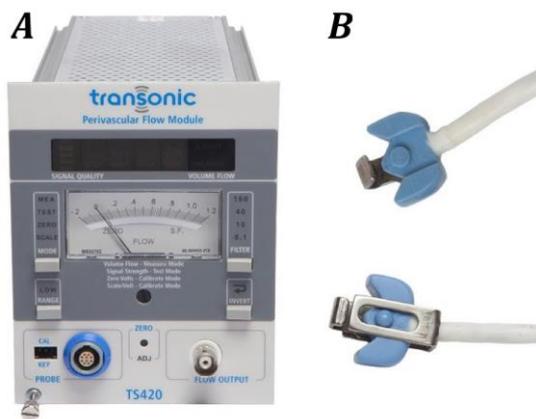
**Abb. 22: Mikrochirurgisches Instrumentarium.** Im oberen Bildabschnitt zu sehen: Premicath®-Mikroverweilkatheter mit Dreiwegehahn, 1ml-Spritze für die Anästhetika-Verabreichung und ICG-Applikation, mikrochir. Gefäßclips in untersch. Größe und Ausführung, Bepanthen®-Salbe für den Augenschutz der Ratte, Einmalrasierer (v.l.n.r.). Im unteren Bildabschnitt zu sehen: kleine u. große makrochir. Pinzette, Schere, Skalpell mit bauchiger Klinge, Approximatorpinzette für Gefäßclips, Mikronadelhalter, gerade u. gebogene Mikroschere, gerade u. abgewinkelte Mikropinzette, Mikrogefäßdilator, kleine Mikropinzette, kleine Mikroschere, Mikro-Bipolar-Pinzette zur Koagulation (v.l.n.r.). Rechts im Bild: mikrochir. Ethilon®-Nahtmaterial in untersch. Größen.

### 2.3.2 Technische Apparaturen

Die heute auf dem Markt etablierten Monitoringtechniken lassen sich vereinfacht in zwei Hauptgruppen einteilen. Dabei bilden Verfahren zur Evaluation der Gewebepfusion und hämodynamischer Parameter die eine Gruppe. Die andere Gruppe umfasst unterschiedliche Verfahren, die in erster Linie die Oxygenierung des Gewebes und den Hämoglobingehalt des Blutes erfassen. Die Funktionsweisen der technischen Apparaturen zur Evaluation der Perfusion, welche im Rahmen der vorliegenden Arbeit zur Anwendung kamen, wurden bereits eingangs ausführlich beschrieben (siehe 1.3) und sollen daher im Folgenden nur noch durch einige technische Daten ergänzt werden.

### 2.3.2.1 Transit Flowmeter

Die Ultraschall-Durchflussmessung an den arteriellen und venösen Mikrogefäßen erfolgte mit dem clamp-on Transit Time Flowmeter® der Firma Transonic Systems Inc. (Transit Time Perivascular Flowmeter TS420, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA), einem Präzisionsmessgerät für physiologische und rheologische Fragestellungen im Rahmen tierexperimenteller Forschung. Es existieren unterschiedlich-gestaltete Sonden für die vaskuläre Flussmessung, die in Abhängigkeit der Dimension der Zielgefäße und des bevorzugten Anwendungsbereichs mit der Messstation kombiniert werden können. Die sog. "V"-Sonde (Flow Probe 1,5mm, Katalognummer MA1PRB, Transonic Systems Inc., Thaca, New York, USA) ermöglichte in der vorliegenden Arbeit die Durchführung der Blutflussmessungen durch druckloses Anliegen an der A. und V. femoralis, ohne den Gefäßdurchmesser zu kompromittieren und den Stenosegrad zu verfälschen. Die Durchflussmessungen erfolgten im "Measure-Mode" (MEA) mit einem Filter-Setting von 0,1 ml/min (Abb. 23).

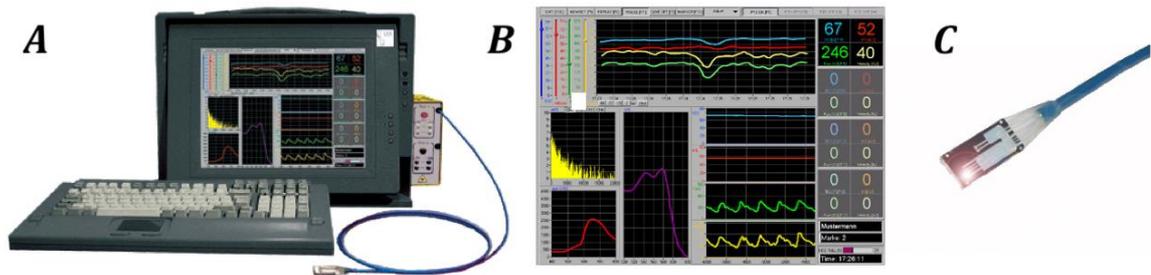


**Abb. 23: Transit Time Perivascular Flowmeter TS420.** (A) Messstation TS420 mit frontaler Verbindungsstelle für die "V"-Sonde. (B) "V"-Flusssonde mit und ohne Verriegelung. Abbildungen modifiziert nach [www.transonic.com](http://www.transonic.com).

### 2.3.2.2 O2C

Das O2C-Messgerät der Firma LEA Medizintechnik GmbH (LEA Medizintechnik GmbH, Giessen, Deutschland) ermöglicht eine nicht-invasive simultane Durchführung von Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie zur Evaluation der mikrovaskulären Gewebepfusion. Mit Hilfe der Messsonde

werden relativer Blutfluss (Flow), Blutflussgeschwindigkeit (Velocity), relativer Hämoglobingehalt (Hb) und kapillär-venöse Sauerstoffsättigung des Hämoglobins sowohl in einer oberflächlichen Gewebeschicht als auch in bis zu 15mm Tiefe erfasst. Die Darstellung der gemessenen Parameter erfolgt metrisch (in Prozent bzw. arbiträren Einheiten) und graphisch auf dem integrierten Bildschirm des O2C-Geräts in Echtzeit und kann über eine Tastatur gesteuert werden.



**Abb. 24: O2C-Messgerät.** (A) Messstation. (B) Metrische und graphische Bildschirmanzeige der Perfusionsparameter. (C) Messsonde. Abbildungen modifiziert nach [www.lea.de](http://www.lea.de).

### 2.3.2.3 OPMI Pentero®

Die operativen Eingriffe unter mikroskopischer Vergrößerung und die Durchführung der Flussanalysen mittels ICG-Angiographie erfolgten mit Hilfe des OP-Mikroskops Pentero® der Firma Zeiss (OPMI® Pentero®, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland). Die integrierte Infrarotkameratechnik und FLOW®800-Visualisierungssoftware (INFRARED® 800 und FLOW® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland) ermöglichten in Kombination mit einer ICG-Kontrastmittelapplikation die qualitative und quantitative Erfassung der Perfusion, sowie das



Aufnehmen und Speichern von intraoperativen Videos und Fotos.

**Abb. 25: OP-Mikroskop PENTERO® der Firma Zeiss.**

Diese konnten während der Analyse in Echtzeit auf dem Bildschirm des OP-Mikroskops überwacht und im Anschluss mittels Touch-Funktion modifiziert werden. Die Ausrichtung des Tubus erfolgte gegengewichtsbalanciert und konnte in beliebiger Position fixiert werden. Das Operationsfeld wurde durch zwei Xenon-Lichtquellen ausgeleuchtet. Mit Hilfe einer automatischen Zoom- und Fokus-Funktion am rechten Positionierungsgriff wurden die präzise Darstellung von mikroskopischen Strukturen und das mikrochirurgische Arbeiten in einem stark vergrößerten Sichtbereich erleichtert. Nach Versuchsbeendigung erfolgte die FLOW®800-gestützte Auswertung der Flussmessungen am OP-Mikroskop. Die weitere Aufbereitung und Auswertung der Analysedaten erfolgte im Anschluss nach Übertragung der Daten auf einem externen Computer.

---

## 2.4 Statistische Methodik

Die Messdaten aller Versuchsreihen wurden zunächst gesammelt in das Tabellenkalkulationsprogramm Microsoft Excel (Microsoft® Excel® for Mac, Version 14.7.7, Microsoft Corporation) übertragen und unter Verwendung eines eigens-erstellten Tabellendesigns für die anschließende statistische Auswertung aufbereitet. Im Rahmen der deskriptiven Statistik erfolgte die Bestimmung der Mittel- bzw. Medianwerte und Standardabweichungen aller erhobenen Werte. Für die statistische Auswertung der ICG-Flussanalyse-Daten erwiesen sich fünf Parameter als geeignet: die Bestimmung des ersten und zweiten Maximums des ICG-Signals, der maximalen Anflutung bzw. Steigung bis zum ersten Maximum, des maximalen Kurvengefälles und der Fläche unter der Kurve (AUC = Area under the curve) (Mücke, 2012). Die graphische Illustration wurde in Form von Liniendiagrammen und Boxplots realisiert. Im Rahmen der explorativen Statistik erfolgte mit Hilfe der Software "Statistical Package for the Social Sciences" (SPSS for MAC, release 21.0, 2015, SPSS Inc., Chicago, USA) eine Beurteilung der unterschiedlichen Stenose-Konditionen und Klassifizierung der einzelnen Parameter anhand einer Random-Forest-Analyse und eines Cohen-Kappa-Tests. Die Random-Forest-Analyse beinhaltete 5000 binäre Entscheidungsbäume, sodass eine ausreichende Stabilität des Vorhersagemodells gewährleistet werden konnte. Hierbei kam die Software "R" (R Foundation for Statistical Computing, Version 3.5.0, Vienna, Austria) und die darin enthaltene Funktion "cforest()" zum Einsatz, welche bis auf die Anzahl der Entscheidungsbäume unverändert in ihrer Standardform angewandt wurde. Anschließend erfolgte eine Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse zur Überprüfung der Validität der Ergebnisse. Für alle statistischen Berechnungen galt ein Signifikanzniveau von  $p$  kleiner als 0,05. Werte unterhalb dieses Signifikanzniveaus wurden als statistisch nicht-signifikant bezeichnet, alle darüberliegenden Werte dementsprechend als signifikant. Das Konfidenzintervall wurde mit 95 % angegeben.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Ergebnisse der deskriptiven Statistik

Im Rahmen der experimentellen Phase wurden insgesamt 20 Ratten erfolgreich an den Hinterläufen (beidseits) operiert. Die intraoperative, intravenöse Applikation des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes wurde ohne Auftreten von allergischen Reaktionen oder etwaigen Zwischenfällen gut toleriert und alle Tiere überlebten die operative Versuchsdurchführung. Die Mittelwerte der untersuchten Versuchsparameter werden samt ihres jeweiligen Werteintervalls, welches sich vom Minimum zum Maximum erstreckt, durch die entsprechenden Tabellen (Tab. 3 – Tab. 6) wiedergegeben. Zur deutlicheren Illustration erfolgte die graphische Aufbereitung der Versuchsergebnisse in Form von Boxplot- und Linien-Diagrammen (Abb. 26 – Abb. 31). Insgesamt wurden 520 Flussmessungen mittels Transit-Flowmeter sowie 520 Perfusionsanalysen mit Hilfe der ICG-Videoangiographie und korrespondierendem FLOW®800-Softwaretool an jeweils 40 Femoralarterien und -venen durchgeführt und ausgewertet.

##### 3.1.1 Flussmessungen mit dem Transit Flowmeter

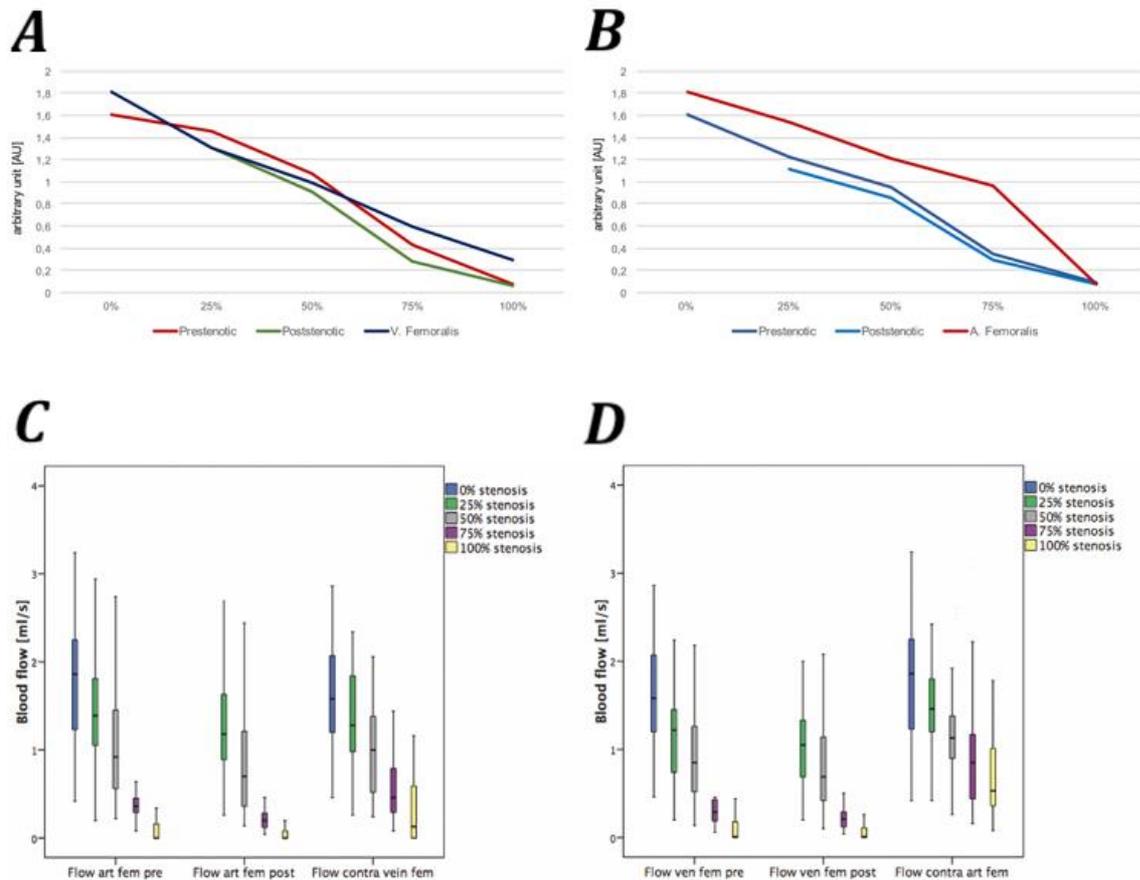
Die Analyse der Flussmessungen unter Etablierung verschiedener arterieller und venöser Stenosegrade zeigte in allen drei Untersuchungsregionen, d.h. prä- und poststenotisch sowie im Bereich des korrespondierenden arteriellen oder venösen Gegengefäßes, einen annähernd linearen Abfall des Blutflusses (Abb. 26 und Tab. 3). Die medianen arteriellen Blutflusswerte im Bereich proximal der Stenose lagen respektive unter 0%-, 25%-, 50%-, 75%- und 100%-Stenosierung bei 1,86 ml/min (0,42-3,24), 1,39 ml/min (0,20-2,94), 0,92 ml/min (0,22-2,74), 0,36 ml/min (0,08-1,66) und 0,00 ml/min (0,00-0,34). Im Gefäßabschnitt distal der Stenose lagen die medianen arteriellen Blutflusswerte respektive unter 25%-, 50%-, 75%- und 100%-Stenosierung bei 1,18 ml/min (0,26-2,76), 0,70 ml/min (0,14-2,44), 0,20 ml/min (0,04-1,40) und 0,00 ml/min (0,00-0,30). Da es ohne vorherige Etablierung eines Stenosegrades folglich unmöglich ist, einen poststenotischen arteriellen Blutflusswert zu erheben, fungierte der o.g. Blutflusswert für 0% Stenose als arterieller Basisreferenzwert. Wie eingangs unter 2.1 beschrieben erfolgte der venöse Rückfluss im Hinterlauf der Ratte im Sinne eines

---

mikrovaskulären Transplantationsmodells ausschließlich über die V. femoralis und betrug respektive unter 0%-, 25%-, 50%-, 75%- und 100%-Stenosierung der A. femoralis 1,58 ml/min(0,46-2,86), 1,28 ml/min (0,26-2,34), 1,00 ml/min (0,24-2,06), 0,46 ml/min (0,08-2,56) und 0,13 ml/min (0,00-1,16) (Abb. 26 A und C).

Die mittleren venösen Blutflusswerte im Bereich proximal der Stenose lagen respektive unter 0%-, 25%-, 50%-, 75%- und 100%-Stenosierung bei 1,58 ml/min(0,46-2,86), 1,22 ml/min (0,20-2,94), 0,85 ml/min (0,14-2,62), 0,29 ml/min (0,06-1,32) und 0,01 ml/min (0,00-0,70). Distal der Gefäßstenose der V. femoralis lagen die mittleren venösen Blutflusswerte respektive unter 25%-, 50%-, 75%- und 100%-Stenosierung bei 1,05 ml/min(0,20-2,78), 0,69 ml/min (0,10-2,48), 0,21 ml/min (0,04-1,28) und 0,01 ml/min (0,00-0,36). Die Durchflussmessung in der korrespondierenden A. femoralis ergab respektive unter 0%-, 25%-, 50%-, 75%- und 100%-Stenosierung der V. femoralis 1,86 ml/min (0,42-3,24), 1,46 ml/min (0,28-3,04), 1,13 ml/min (0,26-2,98), 0,85 ml/min (0,16-3,12) und 0,53 ml/min (0,08-2,34) (Abb. 26 B und D).

## Ergebnisse



**Abb. 26: Deskriptive Ergebnisse der Flussmessung mittels Transit Flowmeter.** Graphische Darstellung des mittleren arteriellen und venösen Blutflusses in ml/min bei variierender arterieller (*A und C*) und venöser (*B und D*) Stenosierung in Form von Liniendiagrammen und Boxplots.

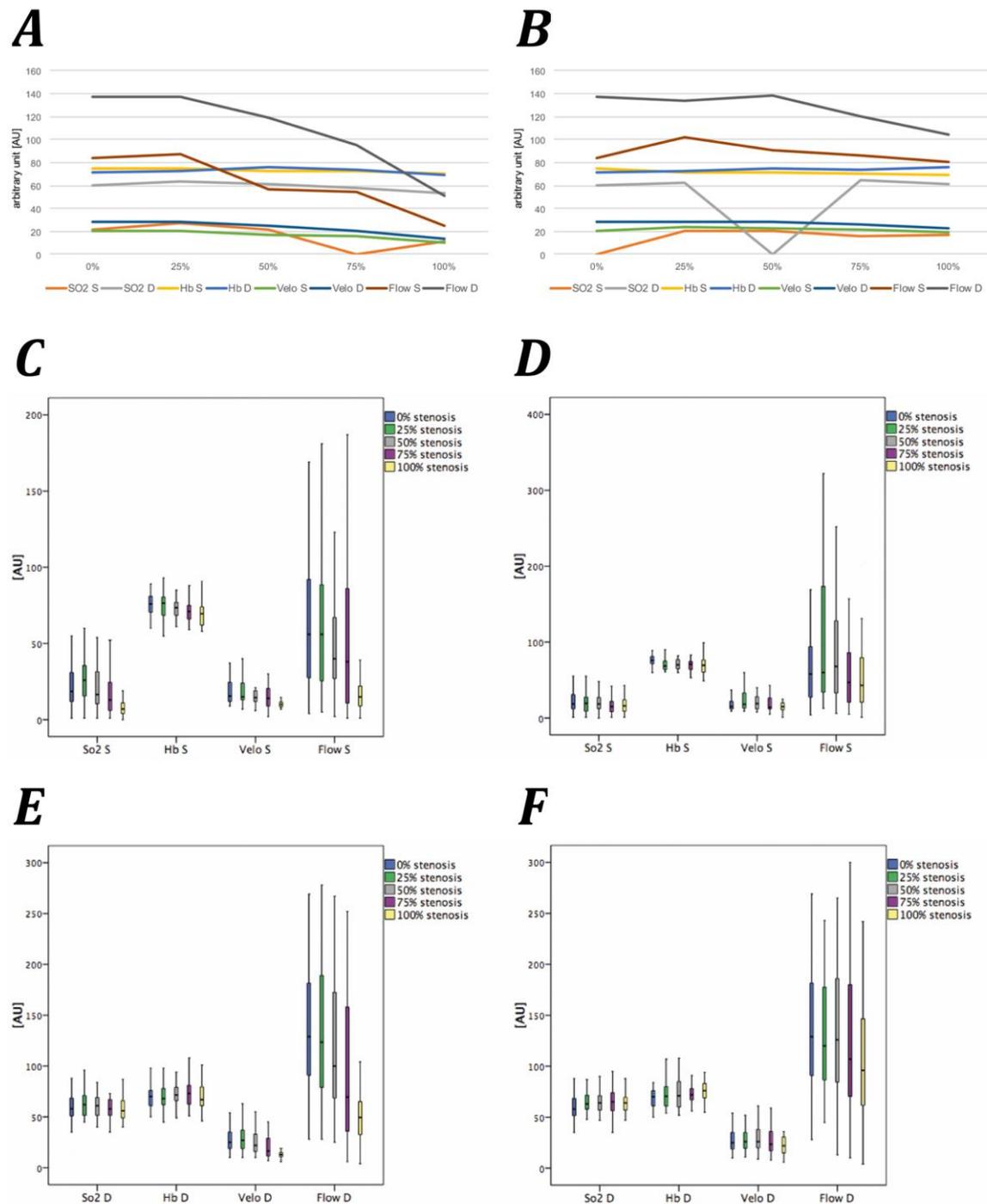
Stenose	Arterie prästenot. [ml/min]	Arterie poststenot. [ml/min]	V. femoralis [ml/min]
0%	1,86 (0,42-3,24)	/	1,58 (0,46-2,86)
25%	1,39 (0,2-2,94)	1,18 (0,26-2,76)	1,28 (0,26-2,34)
50%	0,92 (0,22-2,74)	0,7 (0,14-2,44)	1,0 (0,24-2,06)
75%	0,36 (0,08-1,66)	0,2 (0,04-1,4)	0,46 (0,08-2,56)
100%	0,0 (0,0-0,34)	0,0 (0,0-0,3)	0,13 (0-1,16)
Stenose	Vene prästenot. [ml/min]	Vene poststenot. [ml/min]	A. femoralis [ml/min]
0%	1,58 (0,46-2,86)	/	1,86 (0,42-3,24)
25%	1,22 (0,2-2,94)	1,05 (0,2-2,78)	1,46 (0,28-3,04)
50%	0,85 (0,14-2,62)	0,69 (0,1-2,48)	1,13 (0,26-2,98)
75%	0,29 (0,06-1,32)	0,21 (0,04-1,28)	0,85 (0,16-3,12)
100%	0,01 (0,0-0,7)	0,01 (0,0-0,36)	0,53 (0,08-2,34)

**Tab. 3: Mittlere Flusswerte einschließlich Intervall bei variierenden Stenosegraden der A. und V. femoralis.**

### 3.1.2 Perfusionsevaluation mittels simultaner Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie

Die mittels simultaner Gewebespektrometrie und Laser-Doppler-Flussmessung (O2C®) untersuchten Parameter zeigten allesamt, sowohl in den oberflächlichen (*S* für engl. "superficial") als auch den tiefer gelegenen (*D* für engl. "deep") Gewebeschichten des Hinterlaufs, einen kontinuierlichen Abfall der Werte bei zunehmender Stenosierung der A. femoralis (Abb. 27 A, C und E). Unter Zunahme der venösen Stenosierung der V. femoralis konnte ein Anstieg der Sauerstoffsättigung (*SO<sub>2</sub> D*) und der Hämoglobinkonzentration (*Hb D*) in den tieferen Detektionsebenen verzeichnet werden (respektive von 58,0 AU (21,0-88,0) auf 64,0 (0,0-96,0), 70,5 (36,0-118,0) und schließlich 76,0 (32,0-124,0)). Alle anderen Parameter zeigten während der Stenosierung der Vene einen Werteabfall in den oberflächlichen und tiefer gelegenen Gewebeschichten (Abb. 27 B, D und F).

# Ergebnisse



**Abb. 27: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsevaluation mittels simultaner Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie.** Graphische Darstellung der unterschiedlichen Parameter bei variierender arterieller (*A, C und E*) und venöser (*B, D und F*) Stenosierung in Form von Liniendiagrammen und Boxplots.

Param.	Gefäß	0%	25%	50%	75%	100%
<b>SO<sub>2</sub> S</b>	<b>A. fem.</b>	18,5 (1,0-55,0)	26,0 (1,0-60,0)	16,5 (1,0-54,0)	13,0 (1,0-54,0)	7,5 (0,0-68,0)
	<b>V. fem.</b>	18,5 (1,0-55,0)	19,5 (1,0-55,0)	18,5 (0,0-57,0)	15,0 (1,0-42,0)	16,0 (1,0-43,0)
<b>Hb S</b>	<b>A. fem.</b>	76,0 (51,0-89,0)	76,5 (55,0-93,0)	73,5 (61,0-90,0)	71,5 (52,0-103,0)	69,5 (58,0-93,0)
	<b>V. fem.</b>	76,0 (51,0-89,0)	69,0 (61,0-91,0)	70,0 (60,0-97,0)	71,0 (53,0-92,0)	69,5 (49,0-99,0)
<b>Velo S</b>	<b>A. fem.</b>	15,5 (9,0-51,0)	15,5 (7,0-63,0)	14,5 (6,0-55,0)	14,0 (2,0-48,0)	10,0 (1,0-28,0)
	<b>V. fem.</b>	15,5 (9,0-51,0)	18,0 (9,0-60,0)	22,0 (8,0-59,0)	15,5 (5,0-59,0)	15,5 (1,0-45,0)
<b>Flow S</b>	<b>A. fem.</b>	65,0 (4,0-309,0)	61,0 (5,0-284,0)	43,0 (2,0-231,0)	38,0 (1,0-187,0)	18,0 (1,0-132,0)
	<b>V. fem.</b>	65,0 (4,0-309,0)	60,0 (13,0-322,0)	74,5 (6,0-306,0)	56,5 (5,0-295,0)	50,5 (1,0-297,0)
<b>SO<sub>2</sub> D</b>	<b>A. fem.</b>	58,0 (21,0-88,0)	62,0 (45,0-96,0)	126,4 (40,0-84,0)	58,0 (19,0-73,0)	56,0 (0,0-87,0)
	<b>V. fem.</b>	58,0 (21,0-88,0)	62,5 (0,0-87,0)	64,5 (47,0-99,0)	65,0 (35,0-95,0)	64,0 (0,0-96,0)
<b>Hb D</b>	<b>A. fem.</b>	70,5 (36,0-118,0)	68,5 (45,0-149,0)	72,5 (49,0-137,0)	73,0 (51,0-108,0)	67,0 (46,0-101,0)
	<b>V. fem.</b>	70,5 (36,0-118,0)	70,5 (54,0-115,0)	72,0 (52,0-155,0)	73,0 (50,0-110,0)	76,0 (32,0-124,0)
<b>Velo D</b>	<b>A. fem.</b>	25,0 (10,0-54,0)	27,0 (10,0-63,0)	22,0 (10,0-55,0)	16,5 (7,0-45,0)	13,0 (6,0-22,0)
	<b>V. fem.</b>	25,0 (10,0-54,0)	26,0 (11,0-52,0)	26,0 (9,0-61,0)	23,5 (8,0-59,0)	22,0 (6,0-36,0)
<b>Flow D</b>	<b>A. fem.</b>	129,0 (28,0-269,0)	123,5 (28,0-278,0)	100,0 (25,0-267,0)	69,5 (6,0-252,0)	49,5 (4,0-118,0)
	<b>V. fem.</b>	129,0 (28,0-269,0)	120,0 (45,0-243,0)	126,0 (13,0-265,0)	107,0 (10,0-300,0)	96,0 (4,0-242,0)

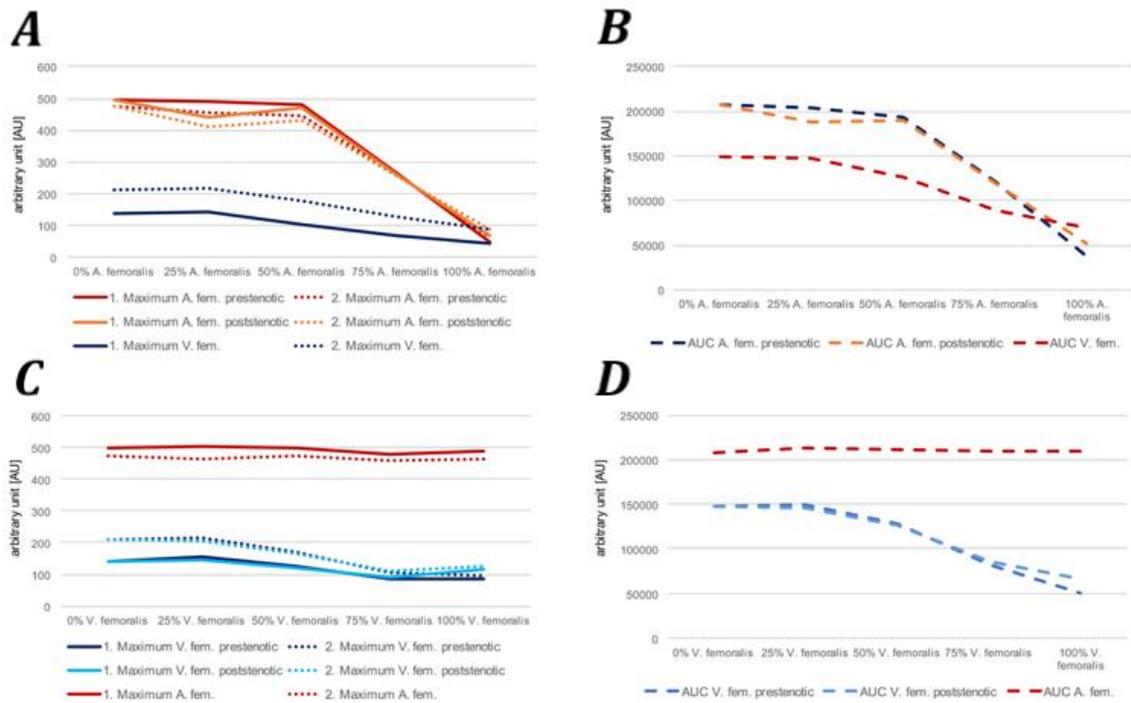
**Abkürzungen:** SO<sub>2</sub> = Sauerstoffsättigung; Hb = Hämoglobinkonzentration; Velo = Flussgeschwindigkeit; Flow = Blutfluss; S = oberflächlich; D = tief; A./V. fem. = A. oder V. femoralis; Param = Parameter

**Tab. 4: Mittlere perioperative Ergebnisse der simultanen Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie (O2C®) einschließlich Intervall bei variierender Stenosierung der A. und V. femoralis.**

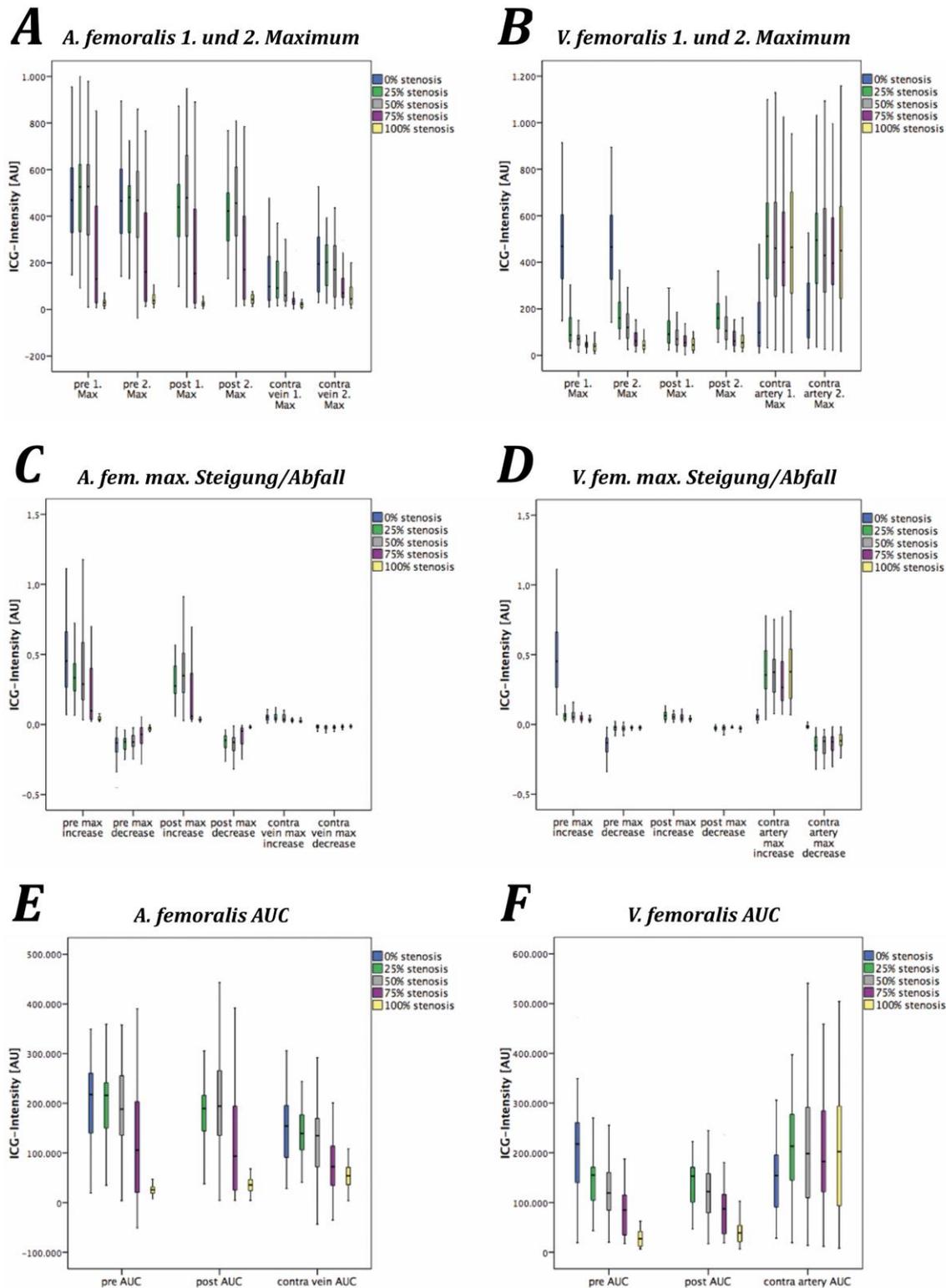
### **3.1.3 Perfusionsanalyse mittels Indocyaningrün-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software**

Die quantitative Perfusionsanalyse mit Hilfe der ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software zeigte einen akuten Abfall aller untersuchten Parameter (erstes und zweites Maximum, maximaler Anstieg und Abfall sowie die "Area under the curve" ( $AUC^{ICG}$ )) in den prästenotischen Gefäßabschnitten bei 75% und 100% Stenose der A. femoralis. Die Evaluation der im Bereich der poststenotischen Gefäßregion erhobenen Werte ergab einen leichten v-förmigen Abfall aller Parameter bei 25% Stenose der A. femoralis. Ab einem arteriellen Stenosierungsgrad von 75% und darüber war ein kontinuierlicher Abfall aller Parameter zu beobachten, allerdings ohne je 0 arbiträre Einheiten (engl. arbitrary units [AU]) zu erreichen. In den untersuchten Gefäßregionen der korrespondierenden V. femoralis kam es unter 25% Stenosierung der A. femoralis konsekutiv zu einem Anstieg aller Parameter, gefolgt von einem nahezu linearen Abfall (Abb. 28 A und B; Abb. 29 A, C und E; Abb. 30; Tab. 5).

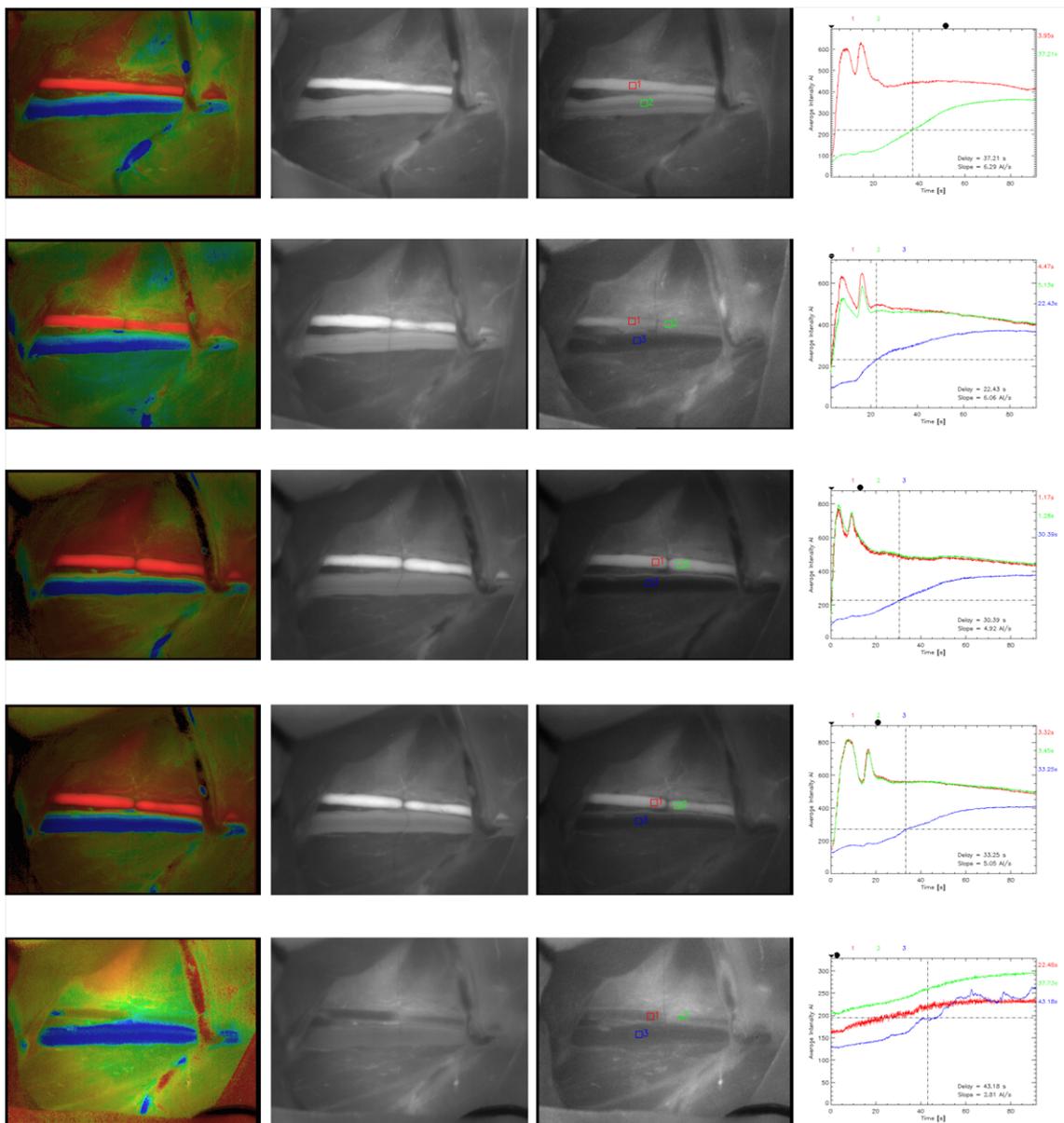
Im Rahmen der Etablierung venöser Stenosierungsgrade zeigten alle prä- und poststenotisch erhobenen Parameter einen kontinuierlichen Abfall bei 50% und 75% Stenose der V. femoralis, nachdem zuvor unter 25% Stenose ein leichter Anstieg verzeichnet wurde. Bei einem venösen Stenosierungsgrad von 100% kam es zu einem Anstieg des ersten und zweiten Kurvenmaximums. Die "Area under the curve" ( $AUC^{ICG}$ ) fiel unter 50%, 75% und schließlich 100% Stenose der V. femoralis deutlich ab. Unabhängig vom Grad der Stenose der V. femoralis waren alle an der korrespondierenden A. femoralis erhobenen und evaluierten Parameter vergleichbar mit denen der arteriellen Referenzmessung bei 0% Stenose der Vene (Abb. 28 C und D; Abb. 29 B, D und F; Abb. 31; Tab. 6).



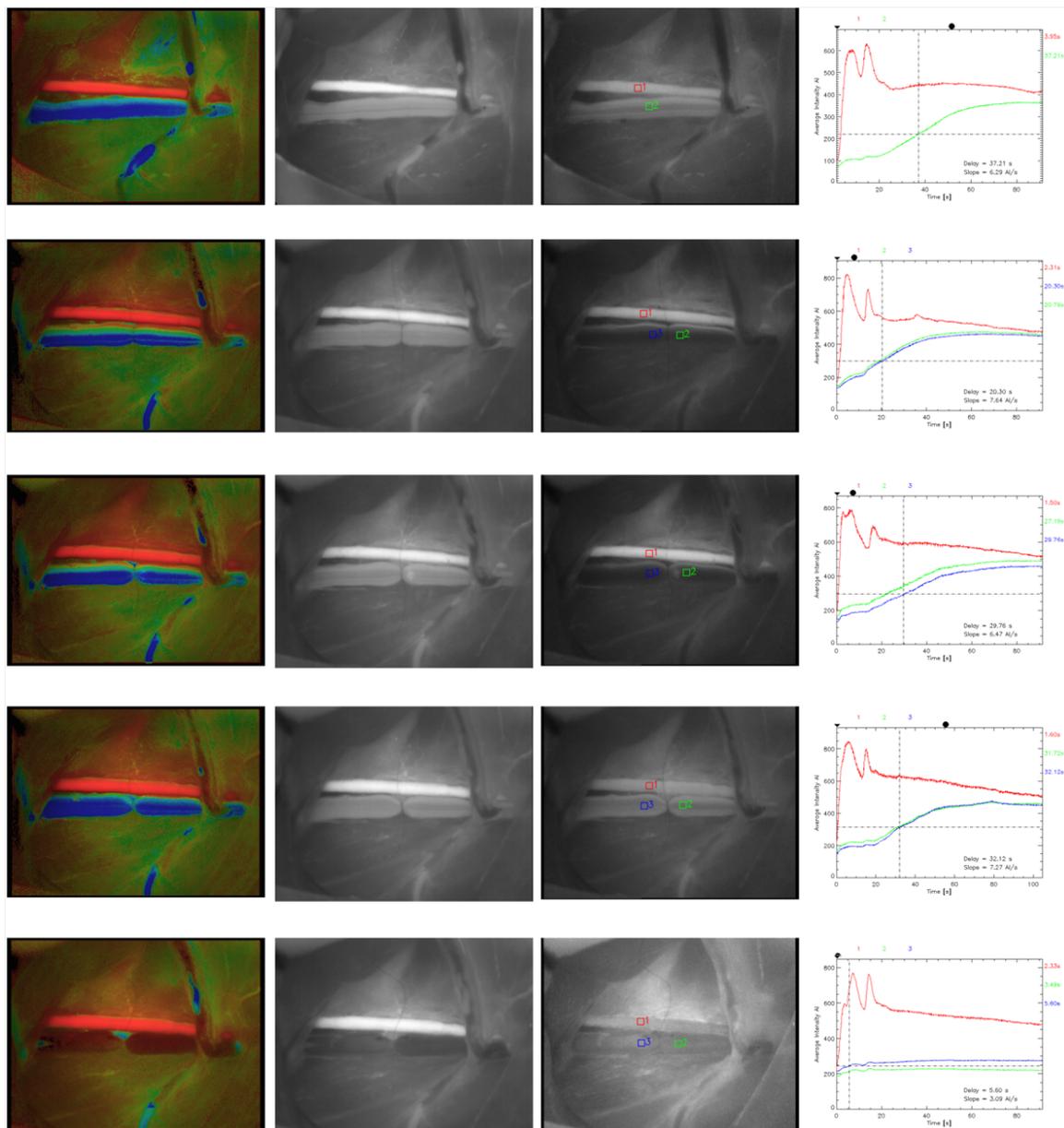
**Abb. 28: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Analysesoftware.** Graphische Darstellung der unterschiedlichen Parameter bei variierender arterieller (*A und B*) und venöser (*C und D*) Stenosierung in Form von Liniendiagrammen. Hierbei wurden das erste und zweite Maximum sowie die Fläche unter der Kurve (engl. area under the curve (AUC)) zeitgleich in drei unterschiedlichen Gefäßregionen (engl. regions of interest (ROI)) bei variierender Stenosierung analysiert. Die Positionierung der ROIs erfolgte standardisiert im prä- und poststenotischen Gefäßabschnitt sowie im korrespondierenden arteriellen oder venösen Gegengefäß.



**Abb. 29: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Analysesoftware als Boxplots.** Die zeitgleiche Analyse des ersten und zweiten Maximums, des maximalen Anstiegs und Abfalls sowie der Area under the curve erfolgte sowohl unter variierender arterieller (*A, C und E*) als auch venöser (*B, D und F*) Stenosierung in drei spezifischen Gefäßregionen (prästenotisch, poststenotisch und am korrespondierenden Gegengefäß). Die ICG-Intensität wurde für alle Parameter in arbiträren Einheiten (AU) registriert.



**Abb. 30: Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software bei variierenden arteriellen Stenosegraden. (v.l.n.r.)** Die erste Säule zeigt die intraoperative, farblich-kodierte Perfusionsanalyse mittels integrierter FLOW 800® Software. Die zweite und dritte Säule zeigt die ICG-VA in der arteriellen und venösen Durchblutungsphase mit jeweils drei definierten und durch farbige Quadrate gekennzeichneten Untersuchungsregionen (prästenotisch, poststenotisch und am korrespondierenden Gegengefäß). Die nicht-parametrische Analyse der erfassten ICG-Intensität bei variierender arterieller Stenosierung im zeitlichen Verlauf wird in der vierten Säule in Form eines Graphen dargestellt. Die farblich kodierten ROIs (Säule 3) korrelieren mit den jeweiligen Kurvenverläufen der entsprechenden Farbe.



**Abb. 31: Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software bei variierenden venösen Stenosegraden. (v.l.n.r.)** Die erste Säule zeigt die intraoperative, farblich-kodierte Perfusionsanalyse mittels integrierter FLOW 800® Software. Die zweite und dritte Säule zeigt die ICG-VA in der arteriellen und venösen Durchblutungsphase mit jeweils drei definierten und durch farbige Quadrate gekennzeichneten Untersuchungsregionen (prästenotisch, poststenotisch und am korrespondierenden Gegengefäß). Die nicht-parametrische Analyse der erfassten ICG-Intensität bei variierender venöser Stenosierung im zeitlichen Verlauf wird in der vierten Säule in Form eines Graphen dargestellt. Die farblich kodierten ROIs (Säule 3) korrelieren mit den jeweiligen Kurvenverläufen der entsprechenden Farbe.

	1. Max	2. Max	Max. Anstieg	Max. Abfall	AUC
<b>0%</b>	469,6	465,7	0,46	-0,13	217,577
<b>A. fem.</b>	(148,3-955,5)	(142,2-894,3)	(0,07-4,64)	(-0,43-(-0,02))	(19,490-478,345)
<b>0%</b>	98,1	194,6	0,05	-0,02	154,149
<b>V. fem.</b>	(10,5-478,2)	(29,6-526,7)	(0,01-0,29)	(-0,23-(-0,02))	(28,280-306,007)
<b>25%</b>	517,5	480,8	0,35	-0,13	215,930
<b>prästen.</b>	(91,5-999,6)	(131,7-879,4)	(0,07-1,2)	(-0,25-(-0,4))	(35,245-479,599)
<b>25%</b>	439,7	422,2	0,29	-0,12	190,059
<b>poststen.</b>	(98,1-872,8)	(132,1-767,5)	(0,06-0,89)	(-0,31-(-0,0))	(31,886-425,727)
<b>25%</b>	91,9	202,1	0,05	-0,02	139,254
<b>V. fem.</b>	(15,6-572,5)	(27,5-634,7)	(0,01-0,26)	(-0,16-(-0,01))	(40,976-392,915)
<b>50%</b>	528,5	467,6	0,3	-0,14	190,432
<b>prästen.</b>	(10,6-978,9)	(0,0-859,5)	(0,03-1,27)	(-0,35-(-0,03))	(0,0-456,781)
<b>50%</b>	479,3	434,3	0,35	-0,13	188,260
<b>poststen.</b>	(9,7-948,6)	(0,0-809,5)	(0,03-1,15)	(-0,32-(-0,01))	(0,0-443,019)
<b>50%</b>	62,0	172,3	0,04	-0,02	134,757
<b>V. fem.</b>	(14,2-300,9)	(4,4-435,8)	(0,02-0,35)	(-0,15-(-0,01))	(0,0-291,841)
<b>75%</b>	130,6	161,2	0,1	-0,74	103,051
<b>prästen.</b>	(7,8-851,9)	(13,5-766,2)	(0,02-1,36)	(-0,34-(-0,0))	(0,0-390,251)
<b>75%</b>	154,3	170,6	0,07	-0,05	93,534
<b>poststen.</b>	(5,6-890,4)	(16,9-785,2)	(0,02-1,31)	(-0,25-(-0,01))	(4,546-391,633)
<b>75%</b>	43,2	80,8	0,03	-0,02	77,617
<b>V. fem.</b>	(1,4-450,9)	(18,5-560,1)	(0,01-0,71)	(-0,1-(-0,0))	(0,0-358,659)
<b>100%</b>	28,9	41,6	0,04	-0,03	26,762
<b>prästen.</b>	(3,6-614,9)	(7,3-625,4)	(0,02-3,55)	(-0,24-(-0,0))	(0,0-250,227)
<b>100%</b>	28,1	51,3	0,03	-0,02	37,925
<b>poststen.</b>	(3,6-809,8)	(12,7-809,1)	(0,02-1,62)	(-0,15-(-0,01))	(4,322-341,961)
<b>100%</b>	21,8	64,9	0,02	-0,01	55,725
<b>V. fem.</b>	(2,7-540,2)	(4,9-581,1)	(0,01-2,06)	(-0,13-(-0,0))	(4,079-258,740)
<b>Abkürzungen:</b> Max. = Maximum bzw. Maximal; A./V. fem. = A. oder V. femoralis; prästen. = prästenotisch; poststen. = poststenotisch; AUC = Area under the curve					

**Tab. 5: Mittelwerte einschließlich Intervall der perioperativ mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software erhobenen Parameter bei variierender Stenosierung der A. femoralis.**

## Ergebnisse

	<b>1. Max</b>	<b>2. Max</b>	<b>Max. Anstieg</b>	<b>Max. Abfall</b>	<b>AUC</b>
<b>0%</b> <b>V. fem.</b>	98,1 (10,5-478,2)	194,6 (29,6-526,7)	0,05 (0,01-0,29)	-0,02 (-0,23-(-0,02))	154,149 (28,280-306,007)
<b>0%</b> <b>A. fem.</b>	469,6 (148,3-955,5)	465,7 (142,2-894,3)	0,46 (0,07-4,64)	-0,13 (-0,43-(-0,02))	217,577 (19,490-478,345)
<b>25%</b> <b>prästen.</b>	93,3 (30,2-497,8)	168,3 (69,9-529,8)	0,06 (0,02-0,82)	-0,02 (-0,18-0,0)	155,149 (43,254-363,928)
<b>25%</b> <b>poststen.</b>	96,2 (23,0-508,9)	172,7 (55,9-521,2)	0,07 (0,01-0,8)	-0,03 (-2,28-0,0)	156,840 (46,902-367,381)
<b>25%</b> <b>A. fem.</b>	512,1 (32,5-1,099,3)	494,9 (35,2-1,031,5)	0,38 (0,04-1,99)	-0,15 (-0,36-(-0,02))	213,213 (19,463-525,190)
<b>50%</b> <b>prästen.</b>	81,1 (14,3-467,3)	129,3 (24,7-557,9)	0,05 (0,02-0,68)	-0,03 (-0,16-0,0)	119,085 (200,60-352,903)
<b>50%</b> <b>poststen.</b>	76,9 (14,4-461,1)	134,6 (25,7-511,2)	0,06 (0,02-0,81)	-0,03 (-0,13-0,0)	121,906 (17,044-344,468)
<b>50%</b> <b>A. fem.</b>	460,3 (22,4-1,129,6)	429,7 (25,8-1,093,4)	0,39 (0,08-1,43)	-0,13 (-0,47-(-0,04))	198,450 (13,707-540,864)
<b>75%</b> <b>prästen.</b>	53,8 (10,0-496,2)	67,3 (14,9-526,3)	0,05 (0,01-0,89)	-0,03 (-0,13-(-0,01))	84,866 (17,485-187,371)
<b>75%</b> <b>poststen.</b>	55,6 (2,9-342,5)	75,5 (16,2-381,9)	0,05 (0,01-0,8)	-0,02 (-0,3-(-0,01))	87,259 (19,028-242,499)
<b>75%</b> <b>A. fem.</b>	415,2 (12,3-1,152,4)	404,6 (21,5-1,085,2)	0,29 (0,07-2,04)	-0,13 (-0,3-(-0,02))	182,372 (11,853-458,787)
<b>100%</b> <b>prästen.</b>	40,6 (7,3-563,5)	47,9 (11,2-594,5)	0,05 (0,01-2,05)	- 0,02 (-0,1-(-0,01))	27,629 (6,832-390,336)
<b>100%</b> <b>poststen.</b>	45,7 (10,8-662,4)	62,8 (15,6-663,1)	0,04 (0,02-1,9)	-0,03 (-0,09-(-0,01))	41,172 (6,997-414,640)
<b>100%</b> <b>A. fem.</b>	464,1 (11,2-952,2)	450,2 (17,4-1,158,7)	0,38 (0,07-1,99)	-0,12 (-0,28-(-0,02))	202,315 (8,092-504,540)
<b>Abkürzungen:</b> Max. = Maximum bzw. Maximal; A./V. fem. = A. oder V. femoralis; prästen. = prästenotisch; poststen. = poststenotisch; AUC = Area under the curve					

**Tab. 6: Mittelwerte einschließlich Intervall der perioperativ mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software erhobenen Parameter bei variierender Stenosierung der V. femoralis.**

---

## 3.2 Ergebnisse der explorativen Statistik

Für die explorative Statistik wurde die jeweilige Relevanz (engl. Importance) der Untersuchungsmethoden (Flowmeter®, O2C® und ICG-VA) mit Hilfe einer Random Forest Analyse kalkuliert und anschließend eine Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse zur Überprüfung der Validität der Ergebnisse durchgeführt. In Ergänzung wurde abschließend mittels Cohens-Kappa-Analyse die Übereinstimmung der rechnerisch vorhergesagten und tatsächlich vorliegenden art. sowie ven. Stenosierungsgrade evaluiert (Abb. 32; Abb. 33; Abb. 34; Tab. 7).

### 3.2.1 Random Forest Analyse

Im Rahmen der Random Forest Analyse wurde das Prinzip des maschinellen Lernens angewandt, um ein flexibles Vorhersage-Modell zu generieren, welches die potentiell komplexen und interagierenden Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der drei Untersuchungsmodalitäten hinsichtlich des arteriellen oder venösen Stenosegrads beurteilen und klassifizieren kann (Hothorn et al., 2006; Hapfelmeier et al., 2014). Die Grundlage für dieses statistische Modell bilden Algorithmen, die mit Hilfe der eingespeisten Versuchsdaten nach einer Art Lernphase in der Lage sind, bestimmte Zusammenhänge und komplexe Muster zu verallgemeinern und dadurch künstliches Wissen zu generieren. Bei der Random Forest Analyse "wachsen" während des Lernprozesses zeitgleich und randomisiert viele einzelne binäre Entscheidungsbäume, welche jeweils eine spezifische Klasse repräsentieren. Im Sinne eines kumulativen Klassifizierungsverfahrens bestimmt die häufigste Klasse in der Summe die gemeinsame endgültige Klassifizierung des "Waldes". Dadurch lassen sich große Datenmengen effizient analysieren und die Diskrimination der unterschiedlichen Merkmale hinsichtlich ihrer Gewichtung wird durch randomisierte Permutation sowie intelligentes Lernen ermöglicht. In Bezug auf die Vorhersage bestimmter arterieller und venöser Stenosegrade bedeutet dies, dass die prädiktive Wichtigkeit bestimmter Untersuchungsparameter erkannt und in der Analyse berücksichtigt wird. Um die Relevanz der drei Untersuchungsmodalitäten hinsichtlich ihrer Vorhersagekraft zu vergleichen, erfolgte die graphische Anordnung der einzelnen Parameter entsprechend ihrer Gewichtung (engl. Importance) (Abb. 32). Hierbei erhielten die Ergebnisse aus den Flowmeter- und ICG-VA-Analysen eine hohe Gewichtung im

## Ergebnisse

---

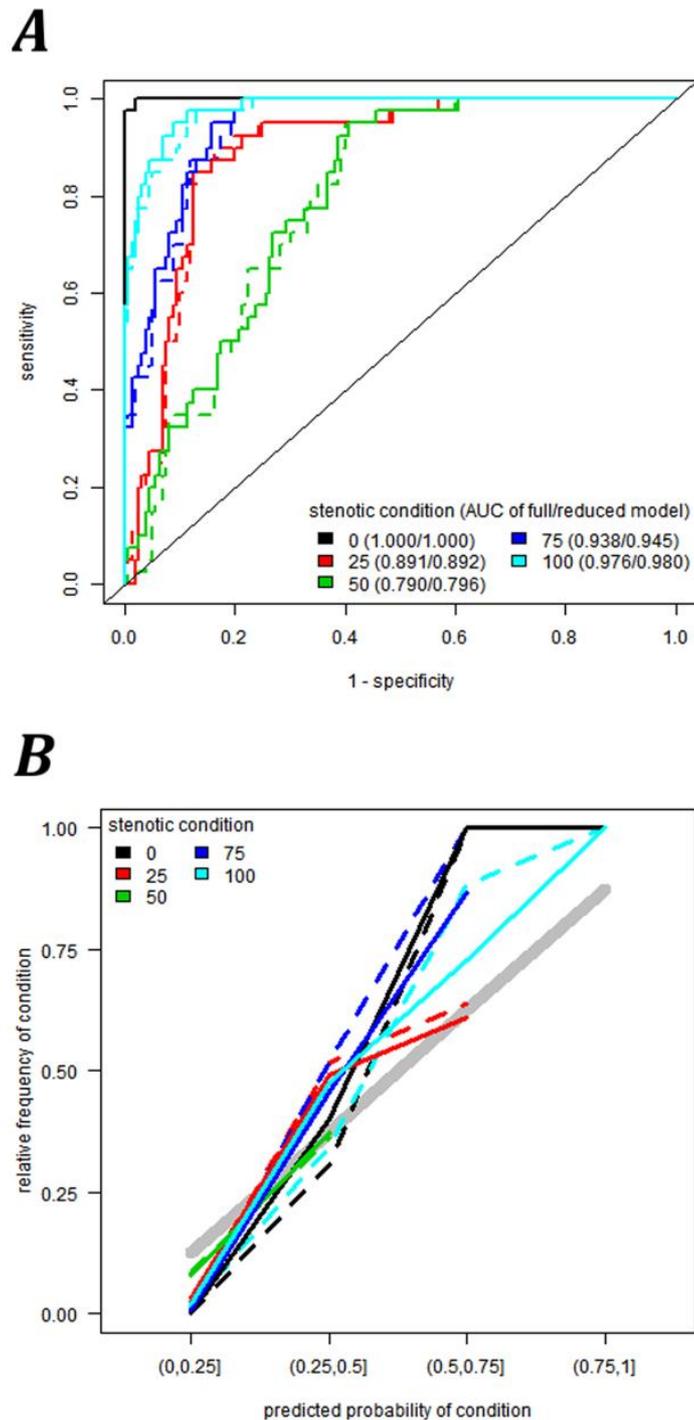
Vergleich zu den nur schwach prädiktiven Ergebnissen aus der O2C-Analyse, sowohl im vollständigen (Abb. 32 A) als auch im reduzierten (Abb. 32 B) Modell unter Ausschluss der O2C-Ergebnisse.



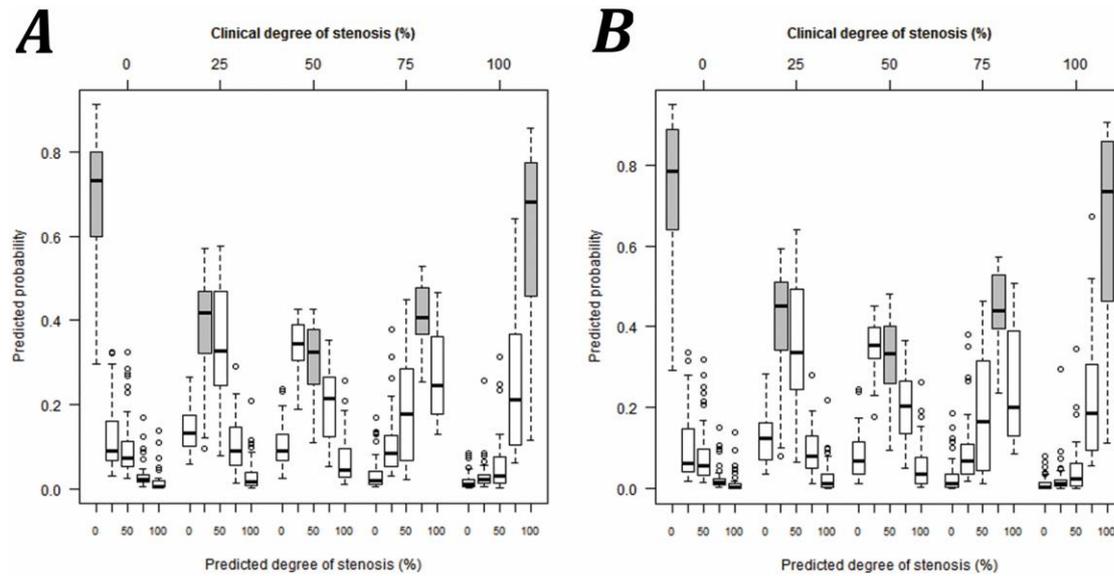
### 3.2.2 Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse und Modellkalibrierung

Zur Validierung des Vorhersagemodells wurde dessen diskriminatorische und diagnostische Fähigkeit durch eine Receiver Operating Characteristic (ROC) curve Analyse überprüft (Abb. 33). Dabei fungiert die Area under the curve ( $AU^{ROC}$ ) der Receiver Operating Characteristic (ROC) curve als repräsentativer Parameter für die Einschätzung der Fähigkeit, wie exakt das Vorhersagemodell unterschiedliche Versuchsmerkmale der jeweils korrekten Klasse zuzuordnen vermag. Dem zufälligen Zuordnen von Merkmalen zu einer bestimmten Klasse wurde in der vorliegenden Analyse ein Wert von 0,5 zugeteilt, während eine gezielte und zu 100% korrekte Zuordnung einen Wert von 1 erhielt. Zusammengefasst ergaben sich im Rahmen der ROC-Analyse für 0% und 100% Stenosegrad die besten prädiktiven Werte. Unter Ausschluss der O2C-Daten verbesserte sich die diskriminatorische Fähigkeit für das reduzierte Vorhersagemodell sogar noch leicht ( $AU^{ROC} = 0,999$  für 0% und  $0,980$  für 100% Stenose) (durchgezogene Linien in Abb. 33 A). Die exakte Diskrimination von 50% Stenosegrad gegenüber allen anderen Stenosegraden erwies sich als am schwierigsten, wenngleich auch hierfür ein hoher  $AU^{ROC}$ -Wert von  $0,801$  erreicht wurde.

Eine gute diskriminatorische Fähigkeit des Vorhersagemodells gewährleistet jedoch nicht automatisch akkurate Wahrscheinlichkeiten für die Vorhersage eines spezifischen Stenosegrads bezogen auf die Summe aller Ereignisse. Daher wurde eine Modellkalibrierung vorgenommen, welche die Übereinstimmung zwischen vorhergesagter Wahrscheinlichkeit eines Stenosegrads und tatsächlich beobachteter Frequenz des Auftretens eben dieses Stenosegrads untersucht. (Abb. 33 B). Wie in der Graphik verdeutlicht, zeigte das Vorhersagemodell für die Bedingungen 0%, 75% und 100% Stenosegrad eine gute Übereinstimmung, während die Abweichung bei 25% und 50% Stenosierung am größten war. Die Übereinstimmung für diese beiden Stenosegrade verbesserte sich auch unter höherer relativer Frequenz nicht. Die Boxplots in Abbildung 34 verdeutlichen dies noch einmal respektive für das vollständige und reduzierte Vorhersagemodell (Abb. 34 A und B).



**Abb. 33: Receiver Operating Characteristic curve Analyse (ROC-Analyse) und Modellkalibrierung.** Die durchgezogenen Linien entsprechen dem reduzierten, die gestrichelten Linien dem vollständigen Modell. Die ROC curve wird aus mehreren Wertepaaren bestehend aus Sensitivität und 1-Spezifität gebildet und gibt Auskunft über die diskriminatorische Fähigkeit des Vorhersagemodells hinsichtl. seiner Klassifizierung (A). Im Rahmen der Modellkalibrierung wird die Übereinstimmung zwischen vorhergesagter Wahrscheinlichkeit eines Stenosegrads und tatsächlich beobachteter Frequenz des Auftretens eben dieses Stenosegrads überprüft (B).



**Abb. 34: Modellkalibrierung – Boxplots.** Die Boxplots des vollständigen (A) und reduzierten (B) Vorhersagemodells geben jeweils die Wahrscheinlichkeit für das Übereinstimmen von vorhergesagter und tatsächlich vorliegender Stenosierung an. Die grauen Boxplots repräsentieren die gemeinsame Schnittmenge aus korrekt vorhergesagten Stenosegraden. Für 0%, 75% und 100% Stenosegrad gibt es eine hohe Übereinstimmung, welche sich im reduzierten Modell (B) noch deutlicher zeigt.

### 3.2.3 Cohens weighted Kappa Analyse

In Ergänzung zur ROC-Analyse und Modellkalibrierung wurde mittels Cohens weighted Kappa Analyse die Übereinstimmung zwischen rechnerisch vorhergesagtem und tatsächlich vorliegendem Stenosegrad überprüft und zudem die Ausprägung der Diskrepanz berücksichtigt. So wurden Parameter mit starker Abweichung bzw. niedriger Übereinstimmung bei der Berechnung stärker gewichtet als solche, die eine geringfügige Abweichung aufwiesen. Dabei betragen die ermittelten Werte für die Übereinstimmung  $K = 0,815$  und  $K = 0,823$  respektive für das vollständige und reduzierte Modell (Tab. 7).

		<b>Vorhergesagter Stenosegrad</b>				
		0%	25%	50%	75%	100%
<b>Klinischer Stenosegrad</b>	0%	40	0	0	0	0
	25%	1	28	9	2	0
	50%	1	17	12 (13)	10 (9)	0
	75%	0	1 (0)	2	31 (33)	6 (5)
	100%	0	0	0	7 (8)	33 (32)

**Tab. 7: Kreuztabelle und Cohens weighted Kappa für die Überprüfung der Reliabilität von Einschätzungen hinsichtl. des adäquaten Stenosegrads.** Übereinstimmung zwischen rechnerisch ermitteltem und tatsächlich vorliegendem Stenosierungsgrad für das vollständige und reduzierte (Werte in Klammern) Modell unter Berücksichtigung des Abweichungsgrades.

## 4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden die experimentell erhobenen Daten zur Auswirkung variierender arterieller und venöser Stenosegrade der zu- und abführenden Gefäße auf das Perfusionsverhalten in einem etablierten mikrovaskulären Transplantationsmodell der Ratte quantitativ und qualitativ analysiert (Nasser et al., 2015). Hierbei erfolgte ein Vergleich dreier Monitoring-Methoden (Flowmeter®, ICG-VA mit FLOW 800® und O2C®) hinsichtlich ihrer Fähigkeit zur Evaluation der Gewebepfusion eines freien Transplantats und Detektion unterschiedlicher vaskulärer Stenosegrade. Im Rahmen der Random Forest Analyse und des daraus konsekutiv generierten Vorhersagemodells wurden alle angewandten Untersuchungsmodalitäten auf ihre jeweilige Validität und Importance überprüft. Eine vaskuläre Stenosierung der versorgenden Transplantatgefäße, welche in unserem tierexperimentellen Versuchsmodell durch standardisiertes Ligieren des Gefäßlumens künstlich herbeigeführt wurde, ist in der Regel als Resultat eines kontinuierlichen Prozesses mit variabler zeitlicher Ausprägung zu werten. Die zu Grunde liegenden physiologischen Mechanismen und beeinflussenden Faktoren sind nicht gänzlich verstanden und noch immer Gegenstand der aktuellen Forschung. Dennoch ist davon auszugehen, dass der Vorgang der vaskulären Stenosierung von einer partiellen Reduktion hin zu einer vollständigen Obstruktion des Gefäßlumens voranschreitet, wenn auch mit unterschiedlichem zeitlichen Verlauf und in Abhängigkeit von dem jeweils zugrunde liegenden pathogenetischen Ereignis (Ross, 1999). Eine vaskuläre Thrombosierung oder die gefäßnahe Formation eines Hämatoms mit konsekutivem Druck auf das Transplantatgefäß sind Beispiele für solch progrediente intra- und extravaskuläre Veränderungen, die mit einer zunehmenden Verengung des Gefäßlumens einhergehen und die Transplantatperfusion kompromittieren können (Pohlenz et al., 2012; Ritschl et al., 2018a). In Zeiten einer stetig älter werdenden Gesellschaft und eines zugleich älteren Patientenkollektivs, welches vermehrt Komorbiditäten und damit einhergehende kardio-pulmonale, vaskuläre oder andere kompromittierende Risikofaktoren aufweist, kann der Erfolg eines rekonstruktiven Eingriffs mittels lokaler und freier Gewebetransplantate zusätzlich erschwert werden. Ein frühzeitiges, verlässliches, reproduzierbares und korrektes Erkennen einer

---

kompromittierten Transplantatperfusion mit Hilfe unterschiedlicher Monitoring-Techniken ist in diesem Zusammenhang von großer Bedeutung (Mücke et al., 2017a). Trotz einer Vielzahl klinisch zur Verfügung stehender Monitoring-Techniken zur Transplantatüberwachung mangelt es bisher jedoch an methodisch-komparativen Studien zur Überprüfung ihrer diagnostischen Fähigkeit und Validität, eine unterschiedlich stark ausgeprägte Stenosierung der zu- und abführenden Transplantatgefäße intraoperativ zu detektieren und somit ggf. eine frühzeitige Revision zu ermöglichen. Obwohl die klinischen und technischen Vorteile eines objektiven Monitorings evident sind, lag der Fokus der meisten Studien in der Vergangenheit auf der qualitativen Analyse und Visualisierung des Blutflusses entweder zur Evaluation der Transplantatperfusion oder der Durchgängigkeit von mikrovaskulären Anastomosen (Holm et al., 2009; Mücke et al., 2013b).

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass der kombinierte Einsatz von Ultraschall-Durchflussmesser (Flowmeter®) und ICG-VA sowohl hinsichtlich der intraoperativen Detektion unterschiedlicher Stenosegrade als auch zur Überwachung der Transplantatperfusion der gemeinsamen Anwendung aller drei Untersuchungsmodalitäten (unter Einbeziehung der O2C®-Gewebephotospektrometrie) überlegen ist (Abb. 32 und Abb. 33).

## **4.1 Versuchsmodell und Methodik**

### **4.1.1 Das Hinterlaufmodell der Ratte als Transplantationsmodell**

Wie eingangs beschrieben stellt das mikrovaskuläre Gefäßsystem der Ratte aufgrund seiner hohen anatomischen und physiologischen Kongruenz zum menschlichen Organismus das am häufigsten verwendete und somit gut erprobte tierexperimentelle Versuchsmodell hinsichtlich mikrochirurgischer Fragestellungen dar (Oesterwitz et al., 1983; Zhang et al., 2001; Mücke, 2012) (siehe 2.1). Die Simulation der Durchblutung eines freien mikrovaskulären Transplantats gelingt durch den Einsatz eines von Nasser et al. beschriebenen Hinterlaufmodells (engl. "hindlimb model in the rat"), welches sich ideal für die Evaluation der Auswirkung verschiedener arterieller und venöser Stenosegrade auf die Transplantatperfusion eignet (Nasser et al., 2015). Hierbei verfügt der isolierte murine Hinterlauf in Analogie zu einem freien Gewebetransplantat über

ein versorgendes arterielles und ein ableitendes venöses Gefäß, die A. und V. femoralis. Dies ermöglicht eine Durchblutungssituation, die der eines echten mikrovaskulären Transplantats ähnelt. Zudem ist die Lage der Femoralgefäße für die gefäßnahe Applikation der invasiven Monitoring-Methoden gut zugänglich.

Trotz aller Vorteile dieses Versuchsmodells ist die klinische Übertragbarkeit der Ergebnisse limitiert. Insbesondere unter physiologischen Aspekten bestehen Unterschiede zwischen dem Transplantationsmodell der Ratte und einem freien mikrovaskulären Transplantat (Nasser et al., 2015). Während die versorgenden Femoralgefäße des murinen Hinterlaufs durchgehend in ihrer Kontinuität erhalten bleiben, erfolgt unter klinischen Bedingungen ein Absetzen der Transplantatgefäße am Entnahmeort und anschließend die mikrovaskuläre Anastomosierung an Anschlussgefäße in der zu rekonstruierenden Defektregion. Es ist anzunehmen, dass die hieraus resultierende Ischämiezeit die Transplantatphysiologie und den Gewebemetabolismus zusätzlich beeinflusst (Luo et al., 2002). Obwohl das Hinterlaufmodell sämtliche Umgehungskreisläufe durch Ligieren der abzweigenden und einsprossenden Gefäßäste eliminiert, unterliegt die Durchgängigkeit des zu- und ableitenden Transplantatgefäßes gewissen physiologischen Schwankungen. Dies kann trotz standardisierter Stenosierung der Femoralgefäße folglich zu einer Abweichung des effektiv wirksamen Stenosegrads führen und somit eine Fehlerquelle darstellen.

Die intraoperative Evaluation der arteriellen sowie venösen Transplantatperfusion nach zuvor erfolgter mikrovaskulärer Anastomosierung der Gefäße, sowohl klinisch als auch experimentell, wäre der nächste Schritt und wird Gegenstand zukünftiger Studien sein.

### **4.1.2 Stenosierung der A. und V. femoralis**

Die vaskuläre Stenosierung der versorgenden Femoralgefäße erfolgte in unserem tierexperimentellen Versuchsmodell, wie unter 2.2.3.3 beschrieben, entsprechend eines randomisierten Protokolls durch standardisiertes Ligieren der Gefäßlumina. Um eine korrekte Applikation der Ligatur zu gewährleisten, wurde die für die Etablierung eines spezifischen Stenosegrades erforderliche Querschnittsverringering des Gefäßlumens, nach vorheriger Berechnung des jeweiligen Gefäßdurchmessers, mittels 1/10 mm-Papier unter dem Mikroskop metrisch überprüft. Dies ermöglichte die Beobachtung und Evaluation von

---

ausschließlich auf die Lumenverengung des stenosierten zu- oder ableitenden Gefäßes zurückzuführenden konsekutiven Veränderungen in der Transplantatperfusion. Im Gegensatz zu bereits vorliegenden tierexperimentellen Studien, welche zumeist auf die Evaluation von Perfusionsveränderungen nach zuvor erfolgter mikrovaskulärer Anastomosierung der Transplantatgefäße ausgerichtet sind, konnte in unserem Versuchsmodell der kompromittierende Effekt durch eine mikrochirurgische Traumatisierung der zu- und ableitenden Gefäße mit ggf. resultierendem Endothelschaden ausgeschlossen werden (Bodor et al., 1997; Mücke, 2012). Zudem stellte die Einschränkung der Gewebepерfusion des distalen Erfolgsorgans durch eine etwaige Kaliberabweichung der zu anastomosierenden Gefäße (engl. mismatch), wie sie im klinischen Setting durch ein mangelhaftes Angebot an Anschlussgefäßen im Rahmen der mikrovaskulären Anastomosierung auftreten kann, ebenfalls keinen Einflussfaktor dar (Ryan et al., 1988; Monsivais, 1990).

Auch wenn das oben genannte Vorgehen im Rahmen der Gefäßstenosierung ein standardisiertes und reproduzierbares Applizieren der Gefäßligatur ermöglicht, stellt dieser Prozess dennoch eine mögliche Fehlerquelle dar. So kann es bereits aufgrund einer geringen Abweichung vom adäquaten Gefäßquerschnitt durch fehlerhaftes Anlegen der Ligatur zu einer signifikanten Veränderung des etablierten Stenosegrades und somit zu einer nachhaltigen Verfälschung der Ergebnisse kommen. Eine post mortem-Analyse der unterschiedlich stenosierten Gefäßabschnitte zur Überprüfung der tatsächlich durch die Gefäßligatur resultierenden Lumeneinengung könnte Aufschluss über die Abweichungen der etablierten Stenosegrade sowie die Validität des Stenosekonzepts geben. Hierbei gilt es jedoch zu bedenken, dass die histologische Fixierung bspw. mittels Formalin gleichermaßen zu einer relevanten Kontraktur führen kann.

#### **4.1.3 Anwendung der unterschiedlichen Techniken zur intraoperativen Blutflussmessung**

Bei der intraoperativen Anwendung der unterschiedlichen Monitoring-Techniken wurden der Schwierigkeitsgrad der Applikation und dabei auftretende potentielle Störfaktoren beobachtet.

Die Evaluation der Perfusion mittels simultaner Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie (O2C®) zeigte sich in diesem Zusammenhang als die am

einfachsten applizierbare Messmethode. Durch Auflegen der O2C<sup>®</sup>-Messsonde auf die Hautoberfläche im Bereich des zuvor rasierten Rattenhinterlaufs konnte die Erhebung der unterschiedlichen Perfusionsparameter problemlos in kurzer Zeit erfolgen. Es gilt jedoch zu beachten, dass es durch einen variierenden Druck beim Anlegen der Messsonde zu einer Verfälschung der in den oberflächlichen Gewebeschichten registrierten Messwerte kommen kann. Da diesem Verfahren wie unter 1.3.2 beschrieben eine optische Messtechnik zur Registrierung von Licht unterschiedlicher Wellenlängen zugrunde liegt, können abweichende Raumbelichtungsverhältnisse einen weiteren Störfaktor darstellen. Zudem wird die an sich leichte Applikation der Messsonde insbesondere dann zusätzlich erschwert, wenn am Ort der Messung keine ausreichend plane Auflagefläche gewährleistet ist. In dem von uns gewählten Versuchsmodell zeigte sich diese Schwierigkeit im Bereich des distalen Erfolgsorgans, d.h. am Hinterlauf der Ratte, und könnte die Erhebung der Parameter folglich beeinflusst haben. Eine kleiner dimensionierte Messsonde wäre somit für die Anwendung auf unser tierexperimentelles Versuchsmodell gegebenenfalls von Vorteil gewesen, stand jedoch zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung für die Verwendung des O2C<sup>®</sup>-Gerätes nicht zur Verfügung.

Die intraoperative Anwendung des auf dem Prinzip der Doppler-Flussmessung basierenden Transit-Flowmeters erwies sich im Vergleich zur Gewebe-Photospektrometrie als technisch anspruchsvoller. So erforderte die invasive Positionierung der Flowmeter-Messsonde eine ausreichende Erfahrung im mikrochirurgischen Umgang mit den Femoralgefäßen der Ratte. Hierbei galt es vor dem Hintergrund der zu untersuchenden Fragestellung v.a. eine etwaige Kompromittierung des Blutflusses, beispielsweise durch fehlerhaftes Anlegen der Messsonde mit daraus resultierender Einengung des Gefäßlumens, zu vermeiden. Trotz sorgfältiger und korrekter Applikation der Flusssonde kann es in Ausnahmefällen bereits durch eine geringfügige Manipulation an der Gefäßaußenseite zu einer vasospastisch-bedingten Veränderung des Gefäßdurchmessers kommen, welche in der Konsequenz zu einer Abweichung des jeweils etablierten Stenosegrads führt. Eine weitere mögliche Fehlerquelle kann durch das Auftreten von lufthaltigen Räumen zwischen Sonde und Gefäßwand während der Durchflussmessung entstehen. Um die Evaluation des

---

Durchflussvolumens pro Zeiteinheit unverfälscht zu ermöglichen muss der Gefäßabschnitt der Flusssonde im Bereich der Wandler sowie des Reflektors idealerweise unmittelbar anliegen. Gelingt dies aufgrund eines abweichenden Gefäßkalibers nicht, sollte ein für die Verwendung mit dieser Messtechnik zugelassenes Gel appliziert werden. Zusammenfassend ließ sich die Durchflussmessung mittels Transit-Flowmeter, unter der Voraussetzung einer zuvor sorgfältig erfolgten Gefäßpräparation und einer ausreichend vorhandenen Erfahrung im mikrochirurgischen Umgang mit Gefäßen, gut anwenden.

Der Einsatz der ICG-VA mit integrierter FLOW 800®-Analysesoftware zur Perfusionsevaluation erfolgte im Gegensatz zu den beiden o.g. Messmethoden erst nach intravasaler Applikation des ICG-Fluoreszenzfarbstoffes und stellte im Rahmen dieses Versuchsaufbaus das technisch anspruchsvollste und zeitaufwendigste Messverfahren dar. Um eine adäquate Perfusionsanalyse durch das FLOW 800®-Tool im Anschluss an die ICG-VA zu gewährleisten, mussten die i.v. Gabe des Fluoreszenzfarbstoffes via Mikrokatheter und der Aufnahmebeginn der ICG-VA bei jeder Messung zeitlich aufeinander abgestimmt erfolgen. Im Falle einer zeitlich verzögerten Registrierung des Fluoreszenzsignals durch die im OP-Mikroskop integrierte Infrarotkamera unterläge die intravasale Konzentration des ICG-Fluoreszenzfarbstoffs zum Zeitpunkt der Messung bereits einem metabolischen Abbauprozess, in dessen Verlauf es kurz nach intravenöser Verabreichung bedingt durch die Leberpassage sowie die renale Elimination zu einer Ausscheidung des Farbstoffes aus dem Kreislaufsystem der Ratte käme. Erfolgt darüber hinaus im Rahmen einer Versuchsreihe eine wiederholte Applikation von Fluoreszenzfarbstoff ohne die Einhaltung eines ausreichenden zeitlichen Abstandes, führt dies ebenfalls durch eine Akkumulation des ICG-Farbstoffes im mikrovaskulären Kreislauf der Ratte zu verfälschten Messwerten und einer konsekutiv fehlerhaften Perfusionsanalyse. Hinsichtlich der kardialen Vorlast kann es zudem durch häufig aufeinander folgende ICG-Gaben zu einer übermäßigen Volumenzufuhr mit dem Risiko einer kardiovaskulären Dekompensation kommen. Daher wurde während der gesamten Versuchsdurchführung sorgfältig auf die Einhaltung eines zuvor festgelegten Zeitabstandes zwischen den Messungen geachtet. Die Platzierung der ROIs (engl. region of interest) in den unterschiedlichen Gefäßabschnitten war problemlos

über den Anzeigebildschirm des OPMI-Pentero® möglich und geschah ohne physischen Kontakt zu den Femoralgefäßen. Hierdurch ließ sich im Gegensatz zur perivasalen Applikation der Flowmeter-Messsonde ein kompromittierender Einfluss auf die Gefäßdurchgängigkeit oder den zu beobachtenden Blutfluss ausschließen. Durch die Integrierung der Infrarotkamera und der FLOW 800®-Software in das OP-Mikroskop waren eine Neuausrichtung des Gerätes oder anderweitige Vorbereitung, mit Ausnahme der i.v. Verabreichung des Fluoreszenzfarbstoffes, für die Durchführung der ICG-VA-Messung nicht erforderlich.

### **4.2 Detektion unterschiedlicher Stenosegrade und intraoperative Evaluation der Transplantatperfusion**

Der Hauptfokus lag in der vorliegenden Studie auf dem Vergleich dreier technischer Verfahren hinsichtlich ihrer Fähigkeit und Validität, unterschiedlich stark ausgeprägte Stenosegrade der zuführenden arteriellen sowie ableitenden venösen Transplantatgefäße bereits intraoperativ zu erkennen. Dabei wurden sowohl unmittelbar an den Transplantatgefäßen als auch im Bereich des distalen Erfolgsorgans mit verschiedenen Modalitäten Perfusionsanalysen und Flussmessungen durchgeführt sowie die so erhobenen Parameter anschließend im Rahmen eines statistisch generierten Vorhersagemodells auf Ihre Relevanz überprüft. Zahlreiche klinische sowie tierexperimentelle Studien zu kardiovaskulären Pathomechanismen belegen, dass es ab einem signifikanten Stenosegrad eines Gefäßes zu einer Verringerung des distalen Blutflusses kommt (Schoenberg et al., 2000; Leistad et al., 2001; Yang et al., 2017). Dieses Erkenntnis ist auch auf die rheologischen Gegebenheiten eines mikrovaskulär anastomosierten Transplantats übertragbar und stellt bspw. in Form einer Mangelperfusion mit Gewebhypoxie eine häufige Ursache für ein Transplantatversagen dar (Wong et Wei, 2010; Pabst et al., 2018). Im klinischen Kontext kann die rechtzeitige intraoperative Detektion einer vaskulären Stenose im Bereich des Transplantatpedikels, wie unter 1.3 beschrieben, eine konsekutiv resultierende Einschränkung der Transplantatperfusion bereits frühzeitig abwenden und somit das Ergebnis des rekonstruktiven Eingriffs mittels freiem Gewebetransplantat steigern (Perng et al., 2018). Wie bereits von Nasser et al.

---

konstatiert, gestaltet sich dies jedoch trotz diverser, aktuell zur Verfügung stehender Monitoringverfahren nach wie vor schwierig (Nasser et al., 2015). Im Folgenden soll auf die intraoperative Detektionsfähigkeit der unterschiedlichen Untersuchungsmodalitäten gesondert eingegangen werden.

#### **4.2.1 Flowmeter und ICG-VA**

Die Messung des Blutflusses mittels Ultraschall-Geräten kommt bereits seit vielen Jahren in verschiedenen chirurgischen sowie internistischen Fachdisziplinen zum Einsatz und hat sich klinisch bewährt. Insbesondere bei der intraoperativen Flussanalyse stellt der Ultraschall-Doppler das am häufigsten angewandte Verfahren dar (Netuka et al., 2006). Die Anwendung auf mikrochirurgischer Ebene erfolgte primär zur intraoperativen Überprüfung der Durchgängigkeit eines Gefäßes nach zuvor erfolgter mikrovaskulärer Anastomose (Nakayama et al., 2001; Mücke et al., 2013b).

Im Kontext der vorliegenden Arbeit zeigte sich insbesondere die Ultraschall-Durchflussmessung mittels Transit-Flowmeter als geeignetes Verfahren, um die entsprechend etablierten Stenosegrade zuverlässig zu detektieren. Dies wird u.a. durch die im Rahmen der Random Forest Analyse berechnete Importance verdeutlicht (Abb. 32). Hierbei zeigten sich sowohl die Messungen an den arteriellen als auch an den venösen prä- bzw. poststenotischen Gefäßabschnitten als relevant für die Prädiktion des entsprechenden Stenosegrades, mit leicht höheren Importance-Werten für die arteriellen Parameter. In Kombination mit der ICG-VA ließ sich die Validität der Vorhersage sogar noch steigern.

Die Anwendbarkeit der ICG-VA und des zugehörigen FLOW 800®-Analysetools auf mikrovaskuläre Prozeduren sowie der Nutzen zur Überprüfung der Gefäßdurchgängigkeit anastomosierter Arterien wurde bereits durch Mücke et al. in einem tierexperimentellen Modell beschrieben (Mücke et al., 2013b). Holm et al. untersuchten durch intraoperativen Einsatz der ICG-VA am Menschen die Qualität der arteriellen und venösen Anastomosen von Transplantatgefäßen und konnten zeigen, dass der distale Blutfluss in 22% der Fälle durch technische Fehler im Rahmen der mikrovaskulären Anastomosierung kompromittiert war. Wurde auf Grundlage der intraoperativen ICG-VA-Evaluation anschließend eine Revision der Gefäßanastomose initiiert, konnte ein konsekutiver Transplantatverlust in 100%

der Fälle verhindert werden. Dies belegt eine hohe Sensitivität der ICG-VA hinsichtlich der Detektion signifikanter Gefäßstenosen (Holm et al., 2009).

Dennoch stellt die differenzierte Detektion unterschiedlich stark ausgeprägter Stenosegrade, wie unter 4.2 beschrieben, nach wie vor eine Herausforderung dar. Nasser et al. beobachteten in ihrer Studie eine signifikante Veränderung des Blutflusses erst ab 85% Stenose unter Verwendung des LifeCell SPY-Elite® (LifeCell)-Systems, welches ebenfalls auf der Registrierung des ICG-Fluoreszenzsignals mittels Infrarotkamera basiert. Yamamoto et al. untersuchten in einem ex vivo-Versuchsmodell die Detektionsfähigkeit der ICG-VA durch Einsatz des HyperEye Medical Systems (HEMS®, HyperEye Technology, SANYO Co., Tokyo, Japan) und beschrieben einen signifikanten Abfall der prä- sowie poststenotischen Fluoreszenzintensität ab 75% Stenose (Yamamoto et al., 2017). Im Gegensatz zu den beiden o.g. Studien konnten im Rahmen dieser Studie mit Hilfe der FLOW 800®-Software bereits ein Abfall des ersten und zweiten Maximums der Flusskurve bei 50% Stenose registriert werden. Die Durchführung der ROC curve Analyse gab Aufschluss darüber, mit welcher Validität die Detektion der jeweiligen Stenosegrade erfolgte. Dabei erwies sich die korrekte Abgrenzung einer 50%-Stenose gegenüber der anderen untersuchten Stenosegrade als am schwierigsten (Abb. 33). Nichtsdestotrotz wies die Area under the ROC curve ( $AU^{ROC}$ ) als aussagekräftiger Parameter für die Validität der Detektion von 50% Stenosegrad mit einem Wert von 0,801 immer noch eine hohe diagnostische Aussagekraft auf (unter Ausschluss der O2C®-Werte). Die  $AU^{ROC}$ -Werte für 25% und 75% Stenosegrad lagen sogar noch darüber (0.892 und 0.943 respektive unter Ausschluss der O2C®-Werte).

Allgemein wird ab einer Stenosierung der zuführenden Transplantatgefäße um 75% eine relevante Beeinflussung der distalen Perfusion, der Funktion und der Vitalität des Transplantats angenommen. Yang et al. beschrieben in diesem Zusammenhang ein durch poststenotische Strömungsturbulenzen bedingtes, erhöhtes Risiko für Mikroembolien im Bereich des distalen Erfolgsorgans anhand eines Zerebralarterien-Stenosemodells (Yang et al., 2002). Schoenberg et al. konstatierten eine Reduktion des mittleren poststenotischen Blutflusses um 50% bei einer 90%-Stenose der Arteria renalis (Schoenberg et al., 2000). Dies verdeutlicht erneut die Bedeutung einer frühzeitigen Detektion unterschiedlicher

---

Stenosegrade für den Erfolg operativer Eingriffe mit mikrovaskulärer Rekonstruktion.

Auch die Evaluation der Ergebnisse aus den venösen Flussanalysen mittels ICG-VA zeigt eine hohe diagnostische Relevanz dieses Verfahrens für Perfusionseinschränkungen im venösen Schenkel, verdeutlicht durch die Importance der Parameter "ICGvenpre1Max", "ICGvenpre2Max" und "ICGvenpremaxdecr" im Rahmen der Random Forest Analyse (Abb. 32). Dies ist von großer klinischer Bedeutung, da der Verschluss der Transplantatvene mit konsekutivem venösem Rückstau einer der Hauptgründe für den postoperativen Verlust freier Gewebetransplantate darstellt. Aufgrund des zeitlich verzögerten Auftretens klinischer Anzeichen für einen bevorstehenden Transplantatverlust gilt es eine solche Kompromittierung der venösen Perfusion ebenfalls frühzeitig zu detektieren (Mücke et al., 2018; Ritschl et al., 2018b).

In der vorliegenden Studie wurden jedoch keine Langzeiteffekte der Gefäßverengung auf die Transplantatphysiologie untersucht, da der Hauptfokus auf der intraoperativen Detektion und den unmittelbaren Auswirkungen unterschiedlicher Stenosegrade der zu- und abführenden Gefäße auf die Transplantatperfusion lag.

#### **4.2.2 O2C**

In Ergänzung zu den bereits oben diskutierten intraoperativen Untersuchungsmethoden kam in dieser Studie ein weiteres Monitoringverfahren, die Gewebephotospektrometrie mittels O2C<sup>®</sup>-Messeinheit, zum Einsatz. Anders als bei der Ultraschall-Durchflussmessung und der ICG-VA erfolgte hierbei die Erhebung der Perfusionsparameter durch Auflegen der Messsonde im Bereich der Hautoberfläche des murinen Hinterlaufs. Die Anwendung oberflächenbasierter technischer Verfahren zur Evaluation der Transplantatperfusion ist im klinischen Alltag prinzipiell einfacher und ermöglicht in Kombination mit einer regelmäßigen klinischen Observierung sowie der Durchführung klinischer Tests (Rekapillarierungszeit, Pinprick-Test und Erhebung des chirurgischen APGAR-Score) ein objektiveres Transplantat-Monitoring (Disa et al., 1999; Ettinger et al., 2016). Andererseits zeigen insbesondere die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass die mit Flowmeter<sup>®</sup> sowie ICG-VA unmittelbar an den prä- und poststenotischen Gefäßabschnitten erhobenen Flussanalysen über eine höhere

diagnostische Aussagekraft verfügen als die oberflächlich applizierte Perfusionsevaluation am distalen Endorgan. Dies wird zudem durch eine gesteigerte diskriminatorische Fähigkeit des Vorhersagemodells nach Ausschluss der O<sub>2</sub>C-Daten verdeutlicht (durchgezogene Linien in Abb. 33 A). Darüber hinaus reicht eine einzelne O<sub>2</sub>C-Messung für die Detektion eines spezifischen Stenosegrades nicht aus. Es bedarf mehrerer Messwerte für die jeweiligen Perfusionsparameter, um anschließend durch deren Evaluation eine korrekte Tendenz ermitteln zu können. Zusammenfassend lässt sich hinsichtlich der Anwendung der Gewebephotospektrometrie zur Perfusionsanalyse festhalten, dass sich die physiologischen Folgen eines kompromittierten Blutflusses zumeist zeitlich versetzt durch Veränderung der O<sub>2</sub>-Sättigung, der Hämoglobinkonzentration, der Velocity und des Flows äußern und weitaus schwieriger zu detektieren bzw. zu unterscheiden sind. Daher ist der intraoperative Einsatz des O<sub>2</sub>C<sup>®</sup>-Monitoringverfahrens für die unmittelbare Detektion unterschiedlicher arterieller sowie venöser Stenosegrade eher von untergeordneter Bedeutung (Ritschl et al., 2018b). Im klinischen Kontext kann die Gewebephotospektrometrie weiterhin als ergänzendes Hilfsmittel zur Einschätzung der Transplantatperfusion herangezogen werden, sollte aber im Zweifel nicht den Ausschlag für eine Revision geben.

### **4.3 Möglichkeiten und Limitationen des intraoperativem Transplantat-Monitoring im Rahmen der klinischen Anwendung**

Der strukturierte Einsatz unterschiedlicher Monitoring-Verfahren ermöglicht heutzutage eine perioperative Objektivierung der Gewebepfusion und kann zudem durch Visualisierung wichtige Informationen über die vaskuläre Architektur einer Entnahmeregion bzw. eines freien mikrovaskulären Transplantats liefern (Chao et al., 2013; Cervenka et Bewley, 2015; Karinja et Lee, 2018). Wie unter 1.3 beschrieben, dient das Transplantat-Monitoring im Rahmen der perioperativen Diagnostik zur Darstellung der Vaskularisierung bzw. Erhebung des Gefäßstatus (präoperativ), zur Reevaluation der Gefäß- und Transplantatperfusion nach erfolgter mikrovaskulärer Anastomosierung im Zuge des rekonstruktiven Eingriffs (intraoperativ) sowie anschließend zur Überprüfung der Vitalität im klinischen Verlauf (postoperativ). Vor diesem Hintergrund kommt

---

dem intraoperativen Einsatz der Monitoringverfahren eine besondere Bedeutung zu, da hierbei eine etwaige Mangelperfusion des Transplantats frühzeitig und verlässlich detektiert sowie ggf. in der Folge revidiert werden kann. Ein Verlust des Transplantats soll somit abgewendet und der Erfolg des freien Gewebetransfers gesteigert werden (Perng et al., 2018). Der diagnostische Nutzen der intraoperativen Anwendung von Monitoringverfahren wurde insbesondere für den Einsatz der ICG-VA belegt (Holm et al., 2009; Mücke, 2012; Bigdeli et al., 2016). Die im vorherigen Abschnitt diskutierten Ergebnisse aus den ICG-VA-Flussanalysen der vorliegenden Arbeit zur intraoperativen Detektion unterschiedlich stark ausgeprägter arterieller und venöser Stenosegrade verdeutlichen diesen diagnostischen Nutzen zusätzlich. Wie unter 4.2.1 dargestellt, erlaubt der kombinierte Einsatz von ICG-VA und Ultraschall-Durchflussmessung gegenüber der Gewebephotospektrometrie mittels O2C®-Gerät eine wesentlich validere Vorhersage des entsprechend etablierten Stenosegrads. Dies zeigt die im Rahmen der statistischen Auswertung durchgeführte Random-Forest-Analyse, welche sich, mit Bezug auf die untersuchte Fragestellung, insbesondere zur Identifizierung von Parametern mit hoher diagnostischer Relevanz eignet und bekannt für ihre herausragende Prädiktionsleistung ist (Hothorn et al., 2006; Hapfelmeier et al., 2014). Das daraus resultierende Vorhersagemodell besitzt zudem eine hohe Validität. Es sollte jedoch berücksichtigt werden, dass die Ergebnisse dieser Studie aufgrund der vergleichsweise kleinen Versuchskohorte nur eingeschränkt auf das klinische Setting übertragbar sind und eine Untersuchung von Langzeiteffekten fehlt. Im Gegensatz zum Hinterlaufmodell der Ratte erweist sich die Physiologie freier mikrovaskulärer Transplantate darüber hinaus als komplexer und es gilt, weitere auf die Perfusion einwirkende Einflussfaktoren zu berücksichtigen (Yamamoto et al., 2017).

Trotz ihres hohen diagnostischen Nutzens weist auch die ICG-VA eine gewisse Limitation auf. So ist die Detektion von vaskulären Stenosegraden nur im Bereich der mikrochirurgisch freigelegten und somit zugänglichen Gefäßabschnitte, nicht aber im restlichen Transplantat möglich. Wie gezeigt werden konnte, gestaltet sich zudem die frühzeitige Detektion von Stenosegraden kleiner 75% als schwierig. Einen weiteren großen Nachteil der ICG-VA stellen unter betriebswirtschaftlichem Aspekt die hohen Anschaffungskosten dar, insbesondere wenn es sich um ein im

OP-Mikroskop integriertes System handelt (Yeoh et al., 2013). Basierend auf den Erkenntnissen dieser Arbeit kann der Beitrag der ICG-VA zu einer reduzierten Transplantatverlustrate und einem gesteigerten Reexplorationserfolg die vermeintlichen Kosten rechtfertigen, da letztlich der klinische Nutzen überwiegt. Es gilt jedoch zu beachten, dass im Rahmen der vorliegenden Versuchsdurchführung ausschließlich Perfusionsanalysen mit der im OPMI® Pentero® integrierten Infrarotkamera erhoben wurden (INFRARED® 800, Carl Zeiss AG, Oberkochen, Deutschland). Für ICG-VA-Systeme anderer Hersteller können die Ergebnisse variieren. Der Vergleich unterschiedlicher ICG-VA-Systeme hinsichtlich ihrer diagnostischen Fähigkeit und prädiktiven Akkuranz könnte Bestandteil zukünftiger Studien sein.

Abschließend lässt sich auf Grundlage der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit konstatieren, dass ein zuverlässiges intraoperatives Transplantat-Monitoring zur frühzeitigen Detektion einer kompromittierten Perfusion am ehesten durch einen kombinierten Einsatz unterschiedlicher Untersuchungsverfahren zu gewährleisten ist. Dabei scheint die Kombination zweier Monitoringmethoden ausreichend zu sein (bspw. ICG-VA + US-Durchflussmessung). Für die simultane, intraoperative Anwendung der Gewebephotospektrometrie konnte in diesem Zusammenhang nur ein geringer zusätzlicher Nutzen belegt werden. Die Invasivität bestimmter Monitoringverfahren stellt jedoch im Rahmen der postoperativen klinischen Reevaluation der Gewebepерfusion eine Herausforderung dar, wodurch die Relevanz nicht-invasiver Methoden wie der Gewebephotospektrometrie weiterhin bestehen bleibt.

Akita et al. beschrieben in einer 2016 veröffentlichten Studie einen vielversprechenden Ansatz, welcher die Einschätzung der Transplantatperfusion im klinischen Alltag und somit das Transplantatmonitoring verbessern könnte. Hierbei wurde die Erhebung der regionalen Sauerstoffsättigung mit dem Verfahren der ICG-VA kombiniert. Ein Sensor zur Messung der lokalen O<sub>2</sub>-Sättigung wurde intraoperativ an einer zuvor mittels ICG-VA ermittelten Position appliziert, die im Rahmen der Perfusionsanalyse bereits während des operativen Eingriffs kritische Werte aufwies (Akita et al., 2016). Durch diese Herangehensweise gelang es Atika et al. mit einem AU<sup>ROC</sup>-Wert von 1,0 eine hohe

---

diskriminatorische Aussagekraft für den von ihnen entwickelten O<sub>2</sub>-Sättigungsindex zu erreichen. Es konnte zudem gezeigt werden, dass dieses Vorgehen der simultanen Erhebung des Blutglukoseindex hinsichtlich der Einschätzung der Transplantatperfusion überlegen war.

#### **4.4 Ausblick**

Mit fortschreitender Entwicklung neuer technischer Verfahren zur intraoperativen Perfusionsevaluation wird es zukünftig möglich sein, kompromittierte Gefäßabschnitte und daraus resultierende Einschränkungen der Transplantatperfusion noch frühzeitiger und zuverlässiger zu detektieren. Kontaktlose und nach Möglichkeit nicht-invasive Evaluationsmethoden sind hierbei von besonderem Interesse, nicht zuletzt um den Anwendungsbereich solcher Verfahren auch auf das postoperative klinische Monitoring erweitern zu können. Die Ultraschall-Durchflussmessung mittels Transit-Flowmeter weist eine hohe Validität auf und gilt als zuverlässiges Verfahren für die Perfusionsevaluation (Nakayama et al., 2001; Bonde et al., 2006; Gimbel et al., 2009; Ritschl et al., 2018b). Gleichzeitig ist diese Technik, wie zuvor unter 4.1.3 dargelegt, aufgrund ihrer Invasivität nur auf intraoperative Prozeduren anwendbar. Eine Weiterentwicklung dieses Verfahrens stellt der implantierbare Cook-Swartz-Doppler dar, welcher intraoperativ als eine Art perivaskuläre Manschette um den distalen Abschnitt des anastomosierten Transplantatgefäßes appliziert wird und auch postoperativ die Überwachung der Perfusion ermöglicht (Lenz et al., 2018). Die Implantation dieses Dopplers erfordert jedoch technische Vorkenntnisse und beansprucht zusätzliche Operationszeit (Um et al., 2014).

Da die vorliegende Studie auf einem Kleintiermodell basiert, sind die zuvor diskutierten Erkenntnisse nur eingeschränkt auf den klinischen Kontext übertragbar und sollten mit Vorsicht interpretiert werden. Zudem erweist sich die Transplantatphysiologie beim Menschen als komplexer im Vergleich zum Hinterlaufmodell der Ratte (Yamamoto et al., 2017). Um die klinische Relevanz und Übertragbarkeit der Ergebnisse zu steigern, wäre eine umfangreichere tierexperimentelle Studie mit Einsatz unterschiedlicher Komposit-Transplantate notwendig. Dennoch stellt das Gefäßsystem der Ratte im Rahmen mikrovaskulärer Studien das am häufigsten verwendete tierexperimentelle Versuchsmodell und

somit den Goldstandard dar (Zhang et al., 2001). In einer Zeit, in der ethische Fragestellungen hinsichtlich der klinischen Erprobung von Therapieansätzen und des Einsatzes innovativer Techniken zunehmend kontrovers diskutiert werden, bilden präklinische Studien weiterhin den ersten Schritt für die Gewinnung neuer wissenschaftlicher Erkenntnisse. Vor diesem Hintergrund wäre ein Vergleich des implantierbaren Cook-Swartz-Dopplers mit anderen Monitoringverfahren zur postoperativen Perfusionsevaluation als weiterführende Untersuchung in einer umfangreicheren tierexperimentellen Studie denkbar. Hierbei könnte zudem die diagnostische Fähigkeit verschiedener Untersuchungsmodalitäten insbesondere hinsichtlich einer etwaigen venösen Transplantatkompromittierung, welche ursächlich für über die Hälfte aller Transplantatverluste zu sein scheint, evaluiert und verglichen werden.

---

## 5 Zusammenfassung

Der Einsatz freier mikrovaskulärer Gewebetransplantate ist unverzichtbarer Bestandteil der Rekonstruktiven Chirurgie und weist eine hohe Erfolgsrate auf (Wolff et al., 2008). Kommt es jedoch im Anschluss an einen rekonstruktiven Eingriff zu einer Kompromittierung der mikrovaskulären Gewebeperfusion, so besteht die Gefahr eines Transplantverlusts (Mücke et al., 2018). Stenotische Bedingungen im Bereich des zuführenden arteriellen oder ableitenden venösen Gefäßes können, entsprechend ihrer Ausprägung, bereits zu einer konsekutiven Minderperfusion des freien mikrovaskulären Transplantats führen. Die Auswirkungen unterschiedlicher arterieller und venöser Stenosegrade auf die Gewebeperfusion des distalen Erfolgsorgans sind jedoch im Detail nur unzureichend untersucht und verstanden. Für das frühzeitige Erkennen und Behandeln solch einer kompensierten Transplantatperfusion ist ein verlässliches Monitoring zudem unabdingbar (Perng et al., 2018; Ritschl et al., 2018b). Obwohl inzwischen eine Vielzahl an Monitoring-Techniken zur Transplantatüberwachung existiert, steht ein methodischer Vergleich hinsichtlich ihrer intraoperativen diagnostischen Fähigkeit aus.

In der vorliegenden Arbeit wurden gezielt unterschiedliche Stenosegrade (0%, 25%, 50%, 75% und 100%) nach randomisiertem Versuchsprotokoll an der A. und V. femoralis im Rattenhinterlaufmodell generiert. Für die intraoperative Evaluation des Blutflusses kamen ein Ultraschall-Durchflussmesser (Flowmeter), eine Gewebephotospektrometrie (O2C®) sowie eine Indocyaningrün-Videoangiographie (ICG-VA) mit integriertem FLOW® 800-Softwaretool zum Einsatz. Mit Hilfe einer Random Forest Analyse wurde die jeweilige Importance der Monitoring-Methoden berechnet und ein Vorhersagemodell generiert. Die Ergebnisse wurden anschließend zur Validierung und Überprüfung der diskriminatorischen Fähigkeit sowie Akkuranz des Vorhersagemodells durch eine Receiver Operating Characteristic (ROC) curve analysiert.

Im Rahmen der Ergebnispräsentation wurde die Veränderung der Blutflusswerte für alle Untersuchungsmodalitäten detailliert beschrieben und im Sinne der deskriptiven Statistik graphisch aufbereitet. Unter allen drei Monitoring-Methoden zeigte die Flowmeter-Analyse bei zunehmender Stenosierung am frühesten einen linearen Abfall der Blutflusswerte an. Unabhängig von A. und V. femoralis

gestaltete sich die korrekte Detektion einer 50% Stenosierung am schwierigsten verglichen mit den übrigen Stenosegraden. In Bezug auf alle generierten Stenosegrade konnte die höchste diagnostische Validität durch Kombination der Ultraschall-Durchflussmessung und Indocyaningrün-Videoangiographie erreicht werden. Der kombinierte Einsatz dreier unterschiedlicher Monitoring-Methoden hingegen brachte in diesem Versuchsmodell hinsichtl. des intraoperativen Transplantatmonitorings und der frühzeitigen Detektion von arteriellen sowie venösen Stenosegraden nur einen geringen Vorteil.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit legen nahe, dass die Ultraschall-Durchflussmessung mittels Transit-Flowmeter® und die Indocyaningrün-Videoangiographie mit integrierter FLOW® 800-Analysesoftware die höchste Relevanz bezüglich einer frühzeitigen intraoperativen Detektion stenosierter Transplantatgefäße besitzen. Im Falle einer kompromittierten Gewebepfusion des freien mikrovaskulären Transplantats könnte der Einsatz dieser beiden Monitoring-Modalitäten somit zu einem verbesserten klinischen Outcome führen. Die simultane Gewebespektrometrie und Laser-Doppler-Flussmessung mittels O2C® war als einzige oberflächlich-applizierte Monitoring-Methode am wenigsten in der Lage unterschiedliche Stenosegrade der A. und V. femoralis korrekt zu detektieren.

---

## 6 Literaturverzeichnis

Agrawal R. V., Biswas J. et Gunasekaran D. (2013). Indocyanine green angiography in posterior uveitis. *Indian J Ophthalmol*, 61(4), 148-159. doi:10.4103/0301-4738.112159

Akita S., Mitsukawa N., Tokumoto H., Kubota Y., Kuriyama M., Sasahara Y., Yamaji Y. et Satoh K. (2016). Regional Oxygen Saturation Index: A Novel Criterion for Free Flap Assessment Using Tissue Oximetry. *Plast Reconstr Surg*, 138(3), 510e-518e. doi:10.1097/PRS.0000000000002498

Al-Dam A., Zrnc T. A., Hanken H., Riecke B., Eichhorn W., Nourwali I., Smeets R., Blessmann M., Heiland M. et Grobe A. (2014). Outcome of microvascular free flaps in a high-volume training centre. *J Craniomaxillofac Surg*, 42(7), 1178-1183. doi:10.1016/j.jcms.2014.02.005

Alander J. T., Kaartinen I., Laakso A., Patila T., Spillmann T., Tuchin V. V., Venermo M. et Valisuo P. (2012). A review of indocyanine green fluorescent imaging in surgery. *Int J Biomed Imaging*, 2012, 940585. doi:10.1155/2012/940585

Ayala C. et Blackwell K. E. (1999). Protein C deficiency in microvascular head and neck reconstruction. *Laryngoscope*, 109(2 Pt 1), 259-265.

Baskurt O. K. et Meiselman H. J. (2003). Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost*, 29(5), 435-450. doi:10.1055/s-2003-44551

Battaglia S., Maiolo V., Savastio G., Zompatori M., Contedini F., Antoniazzi E., Cipriani R., Marchetti C. et Tarsitano A. (2017). Osteomyocutaneous fibular flap harvesting: Computer-assisted planning of perforator vessels using Computed Tomographic Angiography scan and cutting guide. *J Craniomaxillofac Surg*, 45(10), 1681-1686. doi:10.1016/j.jcms.2017.07.017

Benateau H., Laraba C., Alix T. et Compere J. F. (2002). [Radial forearm or Chinese flap]. *Rev Stomatol Chir Maxillofac*, 103(1), 35-40.

Benson R. C. et Kues H. A. (1978). Fluorescence properties of indocyanine green as related to angiography. *Phys Med Biol*, 23(1), 159-163.

Benya R., Quintana J. et Brundage B. (1989). Adverse reactions to indocyanine green: a case report and a review of the literature. *Cathet Cardiovasc Diagn*, 17(4), 231-233.

Bianchi B., Copelli C., Ferrari S., Ferri A. et Sesenna E. (2009). Free flaps: outcomes and complications in head and neck reconstructions. *J Craniomaxillofac Surg*, 37(8), 438-442. doi:10.1016/j.jcms.2009.05.003

Bigdeli A. K., Gazyakan E., Schmidt V. J., Hernekamp F. J., Harhaus L., Henzler T., Kremer T., Kneser U. et Hirche C. (2016). Indocyanine Green Fluorescence for Free-Flap Perfusion Imaging Revisited: Advanced Decision Making by Virtual Perfusion Reality in Visionsense Fusion Imaging Angiography. *Surg Innov*, 23(3), 249-260. doi:10.1177/1553350615610651

Bischoff P. M. et Flower R. W. (1985). Ten years experience with choroidal angiography using indocyanine green dye: a new routine examination or an epilogue? *Doc Ophthalmol*, 60(3), 235-291.

Black M. J., Chait L., O'Brien B. M., Sykes P. J. et Sharzer L. A. (1978). How soon may the axial vessels of a surviving free flap be safely ligated: a study in pigs. *Br J Plast Surg*, 31(4), 295-299.

Bodor R., Yoleri L., Zhang F., Buncke G. M., Lineaweaver W. C. et Buncke H. J. (1997). Blood-flow velocity as a factor in postoperative microvascular patency. *J Reconstr Microsurg*, 13(7), 463-470. doi:10.1055/s-2007-1006426

Bonde C. T., Holstein-Rathlou N. H. et Elberg J. J. (2006). Validation of a 1-mm transit time flow probe and the potential for use in microsurgery. *J Reconstr Microsurg*, 22(7), 519-524. doi:10.1055/s-2006-951317

Bui D. T., Cordeiro P. G., Hu Q. Y., Disa J. J., Pusic A. et Mehrara B. J. (2007). Free flap reexploration: indications, treatment, and outcomes in 1193 free flaps. *Plast* 102

---

*Reconstr Surg*, 119(7), 2092-2100. doi:10.1097/01.prs.0000260598.24376.e1  
00006534-200706000-00018 [pii]

Buncke H. J., Jr., Buncke C. M. et Schulz W. P. (1966). Immediate Nicoladoni procedure in the Rhesus monkey, or hallux-to-hand transplantation, utilising microminiature vascular anastomoses. *Br J Plast Surg*, 19(4), 332-337.

Buncke H. J., Jr. et Schulz W. P. (1966). Total ear reimplantation in the rabbit utilising microminiature vascular anastomoses. *Br J Plast Surg*, 19(1), 15-22.

Carrel A. (1908). Transplantation in Mass of the Kidneys. *J Exp Med*, 10(1), 98-140.

Carrel A. et Guthrie C. C. (1906). Successful Transplantation of Both Kidneys from a Dog into a Bitch with Removal of Both Normal Kidneys from the Latter. *Science*, 23(584), 394-395. doi:23/584/394 [pii] 10.1126/science.23.584.394

Carrel A. et Guthrie C. C. (2001). Anastomosis of blood vessels by the patching method and transplantation of the kidney. 1906 [classical article]. *Yale J Biol Med*, 74(4), 243-247.

Cervenka B. et Bewley A. F. (2015). Free flap monitoring: a review of the recent literature. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 23(5), 393-398. doi:10.1097/moo.0000000000000189

Chao A. H., Meyerson J., Povoski S. P. et Kocak E. (2013). A review of devices used in the monitoring of microvascular free tissue transfers. *Expert Rev Med Devices*, 10(5), 649-660. doi:10.1586/17434440.2013.827527

Chiu Y. H., Chang D. H. et 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. doi:10.1097/sap.0000000000001011

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

Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E. M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D. et Warwick C. (1996). Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. DGXI of the European Commission. *Lab Anim*, 30(4), 293-316. doi:10.1258/002367796780739871

Close B., Banister K., Baumans V., Bernoth E. M., Bromage N., Bunyan J., Erhardt W., Flecknell P., Gregory N., Hackbarth H., Morton D. et Warwick C. (1997). Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. DGXT of the European Commission. *Lab Anim*, 31(1), 1-32. doi:10.1258/002367797780600297

Copley A. L. (1989). The Robin Fahræus memorial lecture: Robin Fahræus - the scientist and the person. *Thrombosis Research*, 54(6), 521-559. doi:https://doi.org/10.1016/0049-3848(89)90121-7

Daniel R. K. (1979). Microsurgery: through the looking glass. *N Engl J Med*, 300(22), 1251-1257. doi:10.1056/nejm197905313002205

Daniel R. K. et Taylor G. I. (1973). Distant transfer of an island flap by microvascular anastomoses. A clinical technique. *Plast Reconstr Surg*, 52(2), 111-117.

Davis M. A., Tyrrell J., Slotman G. J., Sudhindra R., Sachdeva K., Fanelle J., Smith G., Wurzer J. V., Cassir J. et Nazha N. T. (2015). Preoperative simultaneous fractionated cisplatin and radiation therapy in the treatment of advanced operable stage III and IV squamous cell carcinoma of the head and neck. *Am J Surg*, 209(3), 575-579. doi:10.1016/j.amjsurg.2014.10.018

---

Demir A., Kucuker I., Keles M. K. et Demirtas Y. (2013). The effect of learning curve on flap selection, re-exploration, and salvage rates in free flaps; A retrospective analysis of 155 cases. *Microsurgery*, 33(7), 519-526. doi:10.1002/micr.22153

Desmettre T., Devoisselle J. M. et Mordon S. (2000). Fluorescence properties and metabolic features of indocyanine green (ICG) as related to angiography. *Surv Ophthalmol*, 45(1), 15-27.

Desyatnikova S., Winslow C., Cohen J. I. et Wax M. K. (2001). Effect of anemia on the fasciocutaneous flap survival in a rat model. *Laryngoscope*, 111(4 Pt 1), 572-575. doi:10.1097/00005537-200104000-00004

Disa J. J., Cordeiro P. G. et Hidalgo D. A. (1999). Efficacy of conventional monitoring techniques in free tissue transfer: an 11-year experience in 750 consecutive cases. *Plast Reconstr Surg*, 104(1), 97-101.

Eppihimer M. J. et Lipowsky H. H. (1996). Effects of leukocyte-capillary plugging on the resistance to flow in the microvasculature of cremaster muscle for normal and activated leukocytes. *Microvasc Res*, 51(2), 187-201. doi:10.1006/mvre.1996.0020

Ettinger K. S., Moore E. J., Lohse C. M., Reiland M. D., Yetzer J. G. et Arce K. (2016). Application of the Surgical Apgar Score to Microvascular Head and Neck Reconstruction. *J Oral Maxillofac Surg*, 74(8), 1668-1677. doi:10.1016/j.joms.2016.02.013

Fåhræus R. et Lindqvist T. (1931). THE VISCOSITY OF THE BLOOD IN NARROW CAPILLARY TUBES. *American Journal of Physiology-Legacy Content*, 96(3), 562-568. doi:10.1152/ajplegacy.1931.96.3.562

Fang F. et Chung K. C. (2014). An evolutionary perspective on the history of flap reconstruction in the upper extremity. *Hand Clin*, 30(2), 109-122, v. doi:10.1016/j.hcl.2013.12.001

Farwell D. G., Reilly D. F., Weymuller E. A., Jr., Greenberg D. L., Staiger T. O. et Futran N. A. (2002). Predictors of perioperative complications in head and neck patients. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg*, 128(5), 505-511.

Fernstrom E., Nyman J., Hammerlid E., Holmberg E., Haugen-Cange H., Petruson K., Abel E. et Bjork-Eriksson T. (2017). Results of preoperative chemoradiotherapy for patients with advanced cancer of the nasal cavity and paranasal sinuses. *Acta Otolaryngol*, 137(12), 1292-1300. doi:10.1080/00016489.2017.1357081

Fichter A. M. (2015). *Entwicklung eines extrakorporalen Perfusionssystems zur Vitalerhaltung freier Gewebetransplantate im Kleintiermodell*. Retrieved from <http://mediatum.ub.tum.de?id=1238088>

Fox I. J., Brooker L. G., Heseltine D. W., Essex H. E. et 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.

Fujioka M. (2014). Surgical Reconstruction of Radiation Injuries. *Adv Wound Care (New Rochelle)*, 3(1), 25-37. doi:10.1089/wound.2012.0405

Fujioka M. H., Kenji; Murakami, Chikako. (2012). Resurfacing Patella Using Pedicled Soleus Perforator Flap. *Techniques in Knee Surgery*, 11(3), 147-150.

Futran N. D., Stack B. C., Jr. et Zaccardi M. J. (1998). Preoperative color flow Doppler imaging for fibula free tissue transfers. *Ann Vasc Surg*, 12(5), 445-450. doi:10.1007/s100169900182

Gimbel M. L., Rollins M. D., Fukaya E. et Hopf H. W. (2009). Monitoring partial and full venous outflow compromise in a rabbit skin flap model. *Plast Reconstr Surg*, 124(3), 796-803. doi:10.1097/PRS.0b013e3181b03768

Giunta R. E., Holzbach T., Taskov C., Holm P. S., Brill T., Busch R., Gansbacher B. et 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.  
doi:10.1016/j.bjps.2005.02.018

Goldsmith H. L., Cokelet G. R. et Gaehtgens P. (1989). Robin Fahraeus: evolution of his concepts in cardiovascular physiology. *Am J Physiol*, 257(3 Pt 2), H1005-1015.  
doi:10.1152/ajpheart.1989.257.3.H1005

Goldwyn R. M., Lamb D. L. et White W. L. (1963). An experimental study of large island flaps in dogs. *Plast Reconstr Surg*, 31, 528-536.

Gottlieb L. J. et Krieger L. M. (1994). From the reconstructive ladder to the reconstructive elevator. *Plast Reconstr Surg*, 93(7), 1503-1504.

Grabb W. C. et Myers M. B. (1975). *Skin flaps*: Little, Brown.

Gudziol H., Gottschall R. et Luther E. (2017). [The Development of First Operating Microscopes from Zeiss Jena and Oberkochen to Series Production]. *Laryngorhinootologie*, 96(1), 27-34. doi:10.1055/s-0042-104416

Gujer A. K., Jacobsen C. et Grätz K. W. (2013). *Facharztwissen Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*: Springer Berlin Heidelberg.

Guthrie C. C. (1908). Some physiologic aspects of blood-vessel surgery. *Journal of the American Medical Association*, LI(20), 1658-1662.  
doi:10.1001/jama.1908.25410200006001a

Hackethal A., Hirschburger M., Eicker S. O., Mucke T., Lindner C. et Buchweitz O. (2018). Role of Indocyanine Green in Fluorescence Imaging with Near-Infrared Light to Identify Sentinel Lymph Nodes, Lymphatic Vessels and Pathways Prior to Surgery - A Critical Evaluation of Options. *Geburtshilfe Frauenheilkd*, 78(1), 54-62.  
doi:10.1055/s-0043-123937

Halle M., Eriksson B. O., Docherty Skogh A. C., Sommar P., Hammarstedt L. et Gahm C. (2017). Improved Head and Neck Free Flap Outcome-Effects of a Treatment

Protocol Adjustment from Pre- to Postoperative Radiotherapy. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 5(3), e1253. doi:10.1097/gox.0000000000001253

Hanasono M. M., Barnea Y. et Skoracki R. J. (2009a). Microvascular surgery in the previously operated and irradiated neck. *Microsurgery*, 29(1), 1-7. doi:10.1002/micr.20560

Hanasono M. M., Friel M. T., Klem C., Hsu P. W., Robb G. L., Weber R. S., Roberts D. B. et Chang D. W. (2009b). Impact of reconstructive microsurgery in patients with advanced oral cavity cancers. *Head Neck*, 31(10), 1289-1296. doi:10.1002/hed.21100

Hapfelmeier A., Hothorn T., Riediger C. et Ulm K. (2014). Estimation of a predictor's importance by Random Forests when there is missing data: risk prediction in liver surgery using laboratory data. *Int J Biostat*, 10(2), 165-183. doi:10.1515/ijb-2013-0038

Harashina T., Sawada Y. et Watanabe S. (1977). The relationship between venous occlusion time in island flaps and flap survivals. *Plast Reconstr Surg*, 60(1), 92-95.

Harii K., Omori K. et Omori S. (1974a). Free deltopectoral skin flaps. *Br J Plast Surg*, 27(3), 231-239.

Harii K., Omori K. et Omori S. (1974b). Successful clinical transfer of ten free flaps by microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg*, 53(3), 259-270.

Hausamen J. E., Machtens E., Reuther J. F., Eufinger H., Kübler A. et Schliephake H. (2012). *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*: Springer Berlin Heidelberg.

Hayden R. E. et Nagel T. H. (2013). The evolving role of free flaps and pedicled flaps in head and neck reconstruction. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 21(4), 305-310. doi:10.1097/M00.0b013e328362ceef

---

Hayhurst J. W. et O'Brien B. M. (1975). An experimental study of microvascular technique, patency rates and related factors. *Br J Plast Surg*, 28(2), 128-132. doi:10.1016/s0007-1226(75)90175-7

Hitier M., Cracowski J. L., Hamou C., Righini C. et Bettega G. (2016). Indocyanine green fluorescence angiography for free flap monitoring: A pilot study. *J Craniomaxillofac Surg*, 44(11), 1833-1841. doi:10.1016/j.jcms.2016.09.001

Holm C., Dornseifer U., Sturtz G. et Ninkovic M. (2010). Sensitivity and specificity of ICG angiography in free flap reexploration. *J Reconstr Microsurg*, 26(5), 311-316. doi:10.1055/s-0030-1249314

Holm C., Mayr M., Hofter E., Dornseifer U. et Ninkovic M. (2009). Assessment of the patency of microvascular anastomoses using microscope-integrated near-infrared angiography: a preliminary study. *Microsurgery*, 29(7), 509-514. doi:10.1002/micr.20645

Hölzle F., Loeffelbein D. J., Nolte D. et Wolff K. D. (2006). Free flap monitoring using simultaneous non-invasive laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry. *J Craniomaxillofac Surg*, 34(1), 25-33. doi:S1010-5182(05)00117-4 [pii] 10.1016/j.jcms.2005.07.010

Hölzle F., Rau A., Swaid S., Loeffelbein D. J., Nolte D. et Wolff K. D. (2005). [Simultaneous noninvasive monitoring for radial forearm and fibula flaps using laser Doppler flowmetry and tissue spectrophotometry]. *Mund Kiefer Gesichtschir*, 9(5), 290-299. doi:10.1007/s10006-005-0636-2

Hölzle F., Ristow O., Rau A., Mucke T., Loeffelbein D. J., Mitchell D. A., Stimmer H., Wolff K. D. et Kesting M. R. (2011). Evaluation of the vessels of the lower leg before microsurgical fibular transfer. Part II: magnetic resonance angiography for standard preoperative assessment. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 49(4), 275-280. doi:10.1016/j.bjoms.2010.05.003

Hothorn T., Hornik K. et Zeileis A. (2006). Unbiased Recursive Partitioning: A Conditional Inference Framework. *Journal of Computational and Graphical Statistics*, 15(3), 651-674. doi:10.1198/106186006X133933

Jacobson JH S. E. (1960). Microsurgery in anastomosis of small vessels. *Surg Forum*, 11, 243-245.

Janis J. E., Kwon R. K. et Attinger C. E. (2011). The new reconstructive ladder: modifications to the traditional model. *Plast Reconstr Surg*, 127 Suppl 1, 205s-212s. doi:10.1097/PRS.0b013e318201271c

Just M., Chalopin C., Unger M., Halama D., Neumuth T., Dietz A. et Fischer M. (2016). Monitoring of microvascular free flaps following oropharyngeal reconstruction using infrared thermography: first clinical experiences. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 273(9), 2659-2667. doi:10.1007/s00405-015-3780-9

Karinja S. J. et Lee B. T. (2018). Advances in flap monitoring and impact of enhanced recovery protocols. *J Surg Oncol*, 118(5), 758-767. doi:10.1002/jso.25179

Kawano S., Zheng Y., Oobu K., Matsubara R., Goto Y., Chikui T., Yoshitake T., Kiyoshima T., Jinno T., Maruse Y., Mitate E., Kitamura R., Tanaka H., Toyoshima T., Sugiura T. et Nakamura S. (2016). Clinicopathological evaluation of pre-operative chemoradiotherapy with S-1 as a treatment for locally advanced oral squamous cell carcinoma. *Oncol Lett*, 11(5), 3369-3376. doi:10.3892/ol.2016.4411

Kesting M. R., Hölzle F., Wales C., Steinstraesser L., Wagenpfeil S., Mücke T., Rohleder N. H., Wolff K. D. et Hasler R. J. (2011a). Microsurgical reconstruction of the oral cavity with free flaps from the anterolateral thigh and the radial forearm: a comparison of perioperative data from 161 cases. *Ann Surg Oncol*, 18(7), 1988-1994. doi:10.1245/s10434-011-1584-8

Kesting M. R., Holzle F., Wolff K. D., Wagenpfeil S., Hasler R. J., Wales C. J., Steinstraesser L. et Rohleder N. H. (2011b). Use of microvascular flap technique in

---

older adults with head and neck cancer: a persisting dilemma in reconstructive surgery? *J Am Geriatr Soc*, 59(3), 398-405. doi:10.1111/j.1532-5415.2011.03315.x

Khouri R. K., Cooley B. C., Kunselman A. R., Landis J. R., Yeramian P., Ingram D., Natarajan N., Benes C. O. et Wallemark C. (1998). A prospective study of microvascular free-flap surgery and outcome. *Plast Reconstr Surg*, 102(3), 711-721.

Koolen P. G., Vargas C. R., Ho O. A., Ibrahim A. M., Ricci J. A., Tobias A. M., Winters H. A., Lin S. J. et Lee B. T. (2016). Does Increased Experience with Tissue Oximetry Monitoring in Microsurgical Breast Reconstruction Lead to Decreased Flap Loss? The Learning Effect. *Plast Reconstr Surg*, 137(4), 1093-1101. doi:10.1097/01.prs.0000481071.59025.82

Krapohl B. D., Reichert B., Machens H.-G. et Mailänder P. (2003). Impact of poor microsurgical suture technique on tissue perfusion in a rat model. *Microsurgery*, 23(2), 141-146. doi:10.1002/micr.10097

Kriss T. C. et Kriss V. M. (1998). History of the operating microscope: from magnifying glass to microneurosurgery. *Neurosurgery*, 42(4), 899-907; discussion 907-898.

Krizek T. J., Tani T., Desprez J. D. et Kiehn C. L. (1965). Experimental transplantation of composite grafts by microsurgical vascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg*, 36(5), 538-546.

Krug A. (2006). Mikrozirkulation und Sauerstoffversorgung des Gewebes. [Microcirculation et saturation tissulaire en oxygène: Selon la méthode O2C]. *Phlebologie*, 35(06), 300-312. doi:10.1055/s-0037-1622158

Kruse A. L., Luebbers H. T., Gratz K. W. et Obwegeser J. A. (2010). Factors influencing survival of free-flap in reconstruction for cancer of the head and neck: a literature review. *Microsurgery*, 30(3), 242-248. doi:10.1002/micr.20758

Las D. E., de Jong T., Zuidam J. M., Verweij N. M., Hovius S. E. et Mureau M. A. (2016). Identification of independent risk factors for flap failure: A retrospective

analysis of 1530 free flaps for breast, head and neck and extremity reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 69(7), 894-906. doi:10.1016/j.bjps.2016.02.001

Leistad E., Ohmori K., Peterson T. A., Christensen G. et DeMaria A. N. (2001). Quantitative assessment of myocardial perfusion during graded coronary artery stenoses by intravenous myocardial contrast echocardiography. *J Am Coll Cardiol*, 37(2), 624-631.

Lenz Y., Gross R., Penna V., Bannasch H., Stark G. B. et Eisenhardt S. U. (2018). Evaluation of the Implantable Doppler Probe for Free Flap Monitoring in Lower Limb Reconstruction. *J Reconstr Microsurg*, 34(3), 218-226. doi:10.1055/s-0037-1608628

Liang J., Yu T., Wang X., Zhao Y., Fang F., Zeng W. et Li Z. (2018). Free tissue flaps in head and neck reconstruction: clinical application and analysis of 93 patients of a single institution. *Braz J Otorhinolaryngol*, 84(4), 416-425. doi:10.1016/j.bjorl.2017.04.009

Liu Y., Zhao Y. F., Huang J. T., Wu Y., Jiang L., Wang G. D., Li W., Chen X. Q. et Shi R. H. (2012). Analysis of 13 cases of venous compromise in 178 radial forearm free flaps for intraoral reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 41(4), 448-452. doi:10.1016/j.ijom.2012.01.016

Loeffelbein D. J. (2003). Noninvasives Monitoring mikrovaskulärer Transplantate mit Hilfe der simultanen Laser-Doppler-Spektrometrie.

Lucas J. B. (2017). The Physiology and Biomechanics of Skin Flaps. *Facial Plast Surg Clin North Am*, 25(3), 303-311. doi:10.1016/j.fsc.2017.03.003

Ludolph I., Arkudas A., Schmitz M., Boos A. M., Taeger C. D., Rother U., Horch R. E. et Beier J. P. (2016). Cracking the perfusion code?: Laser-assisted Indocyanine Green angiography and combined laser Doppler spectrophotometry for intraoperative evaluation of tissue perfusion in autologous breast reconstruction with DIEP or

---

ms-TRAM flaps. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 69(10), 1382-1388.  
doi:10.1016/j.bjps.2016.07.014

Luo Y., Mohning K. M., Hradil V. P., Wessale J. L., Segreti J. A., Nuss M. E., Wegner C. D., Burke S. E. et Cox B. F. (2002). Evaluation of tissue perfusion in a rat model of hind-limb muscle ischemia using dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging. *J Magn Reson Imaging*, 16(3), 277-283. doi:10.1002/jmri.10169

Luu Q. et Farwell D. G. (2009). Advances in free flap monitoring: have we gone too far? *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*, 17(4), 267-269.  
doi:10.1097/MOO.0b013e32832cba6a

Mathes S. J. et Nahai F. (1997). *Reconstructive Surgery: Principles, Anatomy & Technique*: Churchill Livingstone.

Mazzola I. C. et Mazzola R. F. (2014). History of reconstructive rhinoplasty. *Facial Plast Surg*, 30(3), 227-236. doi:10.1055/s-0034-1376868

Mazzola R. F. (2007). Reconstruction of the nose--a historical review. *Handchir Mikrochir Plast Chir*, 39(3), 181-188. doi:10.1055/s-2007-965316

McLean D. H. et Buncke H. J., Jr. (1972). Autotransplant of omentum to a large scalp defect, with microsurgical revascularization. *Plast Reconstr Surg*, 49(3), 268-274.

Merikli A. F., Wren J., Garvey P. B., Liu J., Butler C. E. et Selber J. C. (2017). A Prospective Clinical Trial Comparing Visible Light Spectroscopy to Handheld Doppler for Postoperative Free Tissue Transfer Monitoring. *Plast Reconstr Surg*, 140(3), 604-613. doi:10.1097/prs.0000000000003600

Merrill E. W. (1969). Rheology of blood. *Physiol Rev*, 49(4), 863-888.  
doi:10.1152/physrev.1969.49.4.863

Mikami T., Suzuki H., Ukai R., Komatsu K., Kimura Y., Akiyama Y., Wanibuchi M. et Mikuni N. (2018). Surgical Anatomy of Rats for the Training of Microvascular

Anastomosis. *World Neurosurg*, 120, e1310-e1318.  
doi:10.1016/j.wneu.2018.09.071

Miloro M. et Peterson L. J. (2012). *Peterson's Principles of Oral and Maxillofacial Surgery*: People's Medical Publishing House-USA.

Minderjahn A. et Dahm H. H. (1979). Scanning electron microscope observations of microvascular anastomosis in the rat carotid artery. *J Maxillofac Surg*, 7(3), 225-234.

Monsivais J. J. (1990). Microvascular grafts: effect of diameter discrepancy on patency rates. *Microsurgery*, 11(4), 285-287.

Mücke T. (2012). *Evaluation der Indocyanin-Grün Videoangiographie zur Validierung der Anwendung auf mikrovaskuläre Prozeduren im Rattenmodell*. Retrieved from <http://mediatum.ub.tum.de/?id=1099029>

Mücke T., Borgmann A., Wagenpfeil S., Gunzinger R., Nobauer C., Lange R., Slotta-Huspenina J., Holzle F. et Wolff K. D. (2011). Autonomization of epigastric flaps in rats. *Microsurgery*, 31(6), 472-478. doi:10.1002/micr.20892

Mücke T., Fichter A. M., Schmidt L. H., Mitchell D. A., Wolff K. D. et Ritschl L. M. (2017a). Indocyanine green videoangiography-assisted prediction of flap necrosis in the rat epigastric flap using the flow((R)) 800 tool. *Microsurgery*, 37(3), 235-242. doi:10.1002/micr.30072

Mücke T., Loeffelbein D. J., Kolk A., Wagenpfeil S., Kanatas A., Wolff K. D., Mitchell D. A. et Kesting M. R. (2013a). Comparison of outcome of microvascular bony head and neck reconstructions using the fibular free flap and the iliac crest flap. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 51(6), 514-519. doi:10.1016/j.bjoms.2013.01.007

Mücke T., Rau A., Merezas A., Loeffelbein D. J., Wagenpfeil S., Mitchell D. A., Wolff K. D. et Steiner T. (2014). Identification of perioperative risk factor by laser-doppler spectroscopy after free flap perfusion in the head and neck: a prospective clinical study. *Microsurgery*, 34(5), 345-351. doi:10.1002/micr.22206

---

Mücke T., Reeps C., Wolff K. D., Mitchell D. A., Fichter A. M. et Scholz M. (2013b). Objective qualitative and quantitative assessment of blood flow with near-infrared angiography in microvascular anastomoses in the rat model. *Microsurgery*, 33(4), 287-296. doi:10.1002/micr.22095

Mücke T., Ritschl L. M., Roth M., Gull F. D., Rau A., Grill S., Kesting M. R., Wolff K. D. et Loeffelbein D. J. (2016). Predictors of free flap loss in the head and neck region: A four-year retrospective study with 451 microvascular transplants at a single centre. *J Craniomaxillofac Surg*, 44(9), 1292-1298. doi:10.1016/j.jcms.2016.04.029

Mücke T., Schmidt L. H., Fichter A. M., Wolff K. D. et Ritschl L. M. (2018). Influence of venous stasis on survival of epigastric flaps in rats. *Br J Oral Maxillofac Surg*, 56(4), 310-314. doi:10.1016/j.bjoms.2018.01.019

Mücke T., Wolff C., von Düring M., Mitchell D. A., Ritschl L. M. et Fichter A. M. (2017b). Form and Size Matter: Increased Risk of Thrombosis in Microvessels with Surgically Created Endothelial Lesions. *J Reconstr Microsurg*, 33(1), 40-44. doi:10.1055/s-0036-1587698

Mücke T., Wolff K. D., Wagenpfeil S., Hölzle F. et Scholz M. (2010a). Reliability of near-infrared angiography and micro-Doppler sonography for evaluating microvascular anastomoses. *Plast Reconstr Surg*, 126(5), 1506-1514. doi:10.1097/PRS.0b013e3181f0215a 00006534-201011000-00011 [pii]

Mücke T., Wolff K. D., Wagenpfeil S., Mitchell D. A. et Hölzle F. (2010b). Immediate microsurgical reconstruction after tumor ablation predicts survival among patients with head and neck carcinoma. *Ann Surg Oncol*, 17(1), 287-295. doi:10.1245/s10434-009-0758-0

Mudry A. (2000). The history of the microscope for use in ear surgery. *Am J Otol*, 21(6), 877-886.

Mühlbauer W., Olbrisch R. R., Herndl E. et Stock W. (1981). [Treatment of neck contracture after burns with a free under arm flap]. *Chirurg*, 52(10), 635-637.

Nakayama N., Kuroda S., Houkin K., Takikawa S. et Abe H. (2001). Intraoperative measurement of arterial blood flow using a transit time flowmeter: monitoring of hemodynamic changes during cerebrovascular surgery. *Acta Neurochir (Wien)*, 143(1), 17-24.

Nasser A., Fourman M. S., Gersch R. P., Phillips B. T., Hsi H. K., Khan S. U., Gelfand M. A., Dagum A. B. et Bui D. T. (2015). Utilizing Indocyanine Green Dye Angiography to Detect Simulated Flap Venous Congestion in a Novel Experimental Rat Model. *J Reconstr Microsurg*, 31(8), 590-596. doi:10.1055/s-0035-1558869

Nemeth D., Zaleczna L., Huremovic A., Engelmann J., Poeschl P. W., Strasz M., Holawe S., Kornek G., Laskus A., Sacher C., Erovic B. M. et Perisanidis C. (2017). Importance of chewing, saliva, and swallowing function in patients with advanced oral cancer undergoing preoperative chemoradiotherapy: a prospective study of quality of life. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 46(10), 1229-1236. doi:10.1016/j.ijom.2017.05.005

Netuka D., Benes V., Mandys V., Hlasenska J., Burkert J. et Benes V., Jr. (2006). Accuracy of angiography and Doppler ultrasonography in the detection of carotid stenosis: a histopathological study of 123 cases. *Acta Neurochir (Wien)*, 148(5), 511-520; discussion 520. doi:10.1007/s00701-006-0756-y

Novakovic D., Patel R. S., Goldstein D. P. et Gullane P. J. (2009). Salvage of failed free flaps used in head and neck reconstruction. *Head Neck Oncol*, 1, 33. doi:10.1186/1758-3284-1-33

Nylen C. O. (1954). The microscope in aural surgery, its first use and later development. *Acta Otolaryngol Suppl*, 43, 226-240.

Oesterwitz H., Stock A. et Althaus P. (1983). [The rat as a training model for microvascular surgery. Methods and results]. *Z Exp Chir Transplant Kunstliche Organe*, 16(3), 178-190.

---

Okawa M., Abe H., Ueba T., Higashi T. et Inoue T. (2014). Identification of plaque location using indocyanine green videoangiography during carotid endarterectomy. *Acta Neurochir Suppl*, 119, 97-101. doi:10.1007/978-3-319-02411-0\_17

Oo K. K. et Park S. S. (2011). The midline forehead flap in nasal reconstruction. *Facial Plast Surg Clin North Am*, 19(1), 141-155. doi:10.1016/j.fsc.2010.10.004

Oswald P., Tilgner A. et Schumann D. (1988). The influence of postoperative vessel occlusion on the viability of free microvascular skin-fat flaps and island flaps in rats. *J Reconstr Microsurg*, 4(5), 403-407. doi:10.1055/s-2007-1006951

Ott P. (1998). Hepatic elimination of indocyanine green with special reference to distribution kinetics and the influence of plasma protein binding. *Pharmacol Toxicol*, 83 Suppl 2, 1-48.

Pabst A. M., Kammerer P. W., Kruger M., Jager L. et Ackermann M. (2018). Vascular architecture in free flaps: Analysis of vessel morphology and morphometry in murine free flaps. *Microvasc Res*, 118, 128-136. doi:10.1016/j.mvr.2018.03.006

Pafitanis G., Raveendran M., Myers S. et Ghanem A. M. (2017). Flowmetry evolution in microvascular surgery: A systematic review. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 70(9), 1242-1251. doi:10.1016/j.bjps.2017.05.010

Panje W. R., Bardach J. et Krause C. J. (1976). Reconstruction of the oral cavity with a free flap. *Plast Reconstr Surg*, 58(4), 415-418.

Partsafas A. W., Bascom D. A., Jorgensen S. A. et Wax M. K. (2004). Effects of Tisseel and FloSeal on primary ischemic time in a rat fasciocutaneous free flap model. *Laryngoscope*, 114(2), 301-304. doi:10.1097/00005537-200402000-00023

Patel U. A., Hernandez D., Shnyder Y., Wax M. K., Hanasono M. M., Hornig J., Ghanem T. A., Old M., Jackson R. S., Ledgerwood L. G., Pipkorn P., Lin L., Ong A., Greene J. B., Bekeny J., Yiu Y., Noureldine S., Li D. X., Fontanarosa J., Greenbaum E. et Richmon J. D. (2017). Free Flap Reconstruction Monitoring Techniques and

Frequency in the Era of Restricted Resident Work Hours. *JAMA Otolaryngol Head Neck Surg*, 143(8), 803-809. doi:10.1001/jamaoto.2017.0304

Pattani K. M., Byrne P., Boahene K. et Richmon J. (2010). What makes a good flap go bad? A critical analysis of the literature of intraoperative factors related to free flap failure. *Laryngoscope*, 120(4), 717-723. doi:10.1002/lary.20825

Paumgartner G. (1975). The handling of indocyanine green by the liver. *Schweiz Med Wochenschr*, 105(17 Suppl), 1-30.

Perng C. K., Ma H., Chiu Y. J., Lin P. H. et Tsai C. H. (2018). Detection of free flap pedicle thrombosis by infrared surface temperature imaging. *J Surg Res*, 229, 169-176. doi:10.1016/j.jss.2018.03.054

Peters T. T., Post S. F., van Dijk B. A., Roodenburg J. L., van der Laan B. F., Werker P. M. et Halmos G. B. (2015). Free flap reconstruction for head and neck cancer can be safely performed in both young and elderly patients after careful patient selection. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 272(10), 2999-3005. doi:10.1007/s00405-014-3268-z

Pind M. L., Bendtsen F., Kallemose T. et Moller S. (2016). Indocyanine green retention test (ICG-r15) as a noninvasive predictor of portal hypertension in patients with different severity of cirrhosis. *Eur J Gastroenterol Hepatol*, 28(8), 948-954. doi:10.1097/meg.0000000000000611

Pohlenz P., Klatt J., Schon G., Blessmann M., Li L. et Schmelzle R. (2012). Microvascular free flaps in head and neck surgery: complications and outcome of 1000 flaps. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 41(6), 739-743. doi:10.1016/j.ijom.2012.02.012

Raabe A., Beck J., Gerlach R., Zimmermann M. et Seifert V. (2003). Near-infrared indocyanine green video angiography: a new method for intraoperative assessment of vascular flow. *Neurosurgery*, 52(1), 132-139; discussion 139.

Raabe A., Nakaji P., Beck J., Kim L. J., Hsu F. P., Kamerman J. D., Seifert V. et Spetzler R. F. (2005). Prospective evaluation of surgical microscope-integrated  
118

---

intraoperative near-infrared indocyanine green videoangiography during aneurysm surgery. *J Neurosurg*, 103(6), 982-989. doi:10.3171/jns.2005.103.6.0982

Rab M., Grill C. J., Dobrovits A. et Koller R. (2008). Freier Gewebettransfer zur Defektdeckung am Fuß, Sprunggelenk und Unterschenkel. *Fuß & Sprunggelenk*, 6(2), 68-77. doi:https://doi.org/10.1016/j.fuspru.2008.03.011

Reuther J. F. et Kübler N. R. (1999). Die Wiederherstellung des Unterkiefers: Therapeutisches Vorgehen nach Kontinuitätsverlust durch Entzündung, Trauma oder Tumor. *Dtsch Arztebl International*, 96(16), 1054-.

Ritschl L. M., Fichter A. M., Haberle S., von Bomhard A., Mitchell D. A., Wolff K. D. et Mücke T. (2015). Ketamine-Xylazine Anesthesia in Rats: Intraperitoneal versus Intravenous Administration Using a Microsurgical Femoral Vein Access. *J Reconstr Microsurg*, 31(5), 343-347. doi:10.1055/s-0035-1546291

Ritschl L. M., Schmidt L. H., Fichter A. M., Hapfelmeier A., Kanatas A., Wolff K.-D. et Mücke T. (2018a). Prediction of Flap Necrosis by Using Indocyanine Green Videoangiography in Cases of Venous Occlusion in the Epigastric Flap Model of the Rat. *J Reconstr Microsurg Open*, 03(02), e62-e69. doi:10.1055/s-0038-1675408

Ritschl L. M., Schmidt L. H., Fichter A. M., Hapfelmeier A., Wolff K. D. et Mücke T. (2018b). Multimodal analysis using flowmeter analysis, laser-Doppler spectrophotometry, and indocyanine green videoangiography for the detection of venous compromise in flaps in rats. *J Craniomaxillofac Surg*, 46(6), 905-915. doi:10.1016/j.jcms.2018.03.016

Riva M., Amin-Hanjani S., Giussani C., De Witte O. et Bruneau M. (2018). Indocyanine Green Videoangiography in Aneurysm Surgery: Systematic Review and Meta-Analysis. *Neurosurgery*, 83(2), 166-180. doi:10.1093/neuros/nyx387

Roenneberg C. J. (2013). *Die Indocyaningrün-Fluoreszenz-Angiographie – Evaluation einer neuen nicht-invasiven Methode zur Bestimmung der residualen*

*Gewebeperfusion bei Patienten mit peripherer arterieller Verschlusskrankheit.*  
Retrieved from <http://mediatum.ub.tum.de/?id=1183458>

Ross R. (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 340(2), 115-126. doi:10.1056/nejm199901143400207

Rostetter C., Kuster I. M., Schenkel J. S., Lanzer M., Gander T. et Kruse A. L. (2016). The Effects of Preoperative Radiotherapy on Head and Neck Free Flap Anastomosis Success. *J Oral Maxillofac Surg*, 74(12), 2521-2525. doi:10.1016/j.joms.2016.05.020

Rother U. et Lang W. (2018). Noninvasive measurements of tissue perfusion in critical limb ischemia. *Gefasschirurgie*, 23(Suppl 1), 8-12. doi:10.1007/s00772-018-0368-x

Rother U., Lang W., Horch R. E., Ludolph I., Meyer A. et Regus S. (2017). Microcirculation Evaluated by Intraoperative Fluorescence Angiography after Tibial Bypass Surgery. *Ann Vasc Surg*, 40, 190-197. doi:10.1016/j.avsg.2016.07.084

Rudolph R., Arganese T. et Woodward M. (1982). The ultrastructure and etiology of chronic radiotherapy damage in human skin. *Ann Plast Surg*, 9(4), 282-292.

Ryan A. D., Goldberg I., O'Brien B. M. et MacLeod A. M. (1988). Anastomosis of vessels of unequal diameter using an interpositional vein graft. *Plast Reconstr Surg*, 81(3), 414-417.

Sakuraba M., Miyamoto S., Kimata Y., Nakatsuka T., Harii K., Ebihara S. et Hayashi R. (2013). Recent advances in reconstructive surgery: head and neck reconstruction. *Int J Clin Oncol*, 18(4), 561-565. doi:10.1007/s10147-012-0513-6

Scanlon P. J., Faxon D. P., Audet A. M., Carabello B., Dehmer G. J., Eagle K. A., Legako R. D., Leon D. F., Murray J. A., Nissen S. E., Pepine C. J., Watson R. M., Ritchie J. L., Gibbons R. J., Cheitlin M. D., Gardner T. J., Garson A., Jr., Russell R. O., Jr., Ryan T. J. et Smith S. C., Jr. (1999). ACC/AHA guidelines for coronary angiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on 120

---

practice guidelines (Committee on Coronary Angiography). Developed in collaboration with the Society for Cardiac Angiography and Interventions. *J Am Coll Cardiol*, 33(6), 1756-1824.

Schoenberg S. O., Bock M., Kallinowski F. et Just A. (2000). Correlation of hemodynamic impact and morphologic degree of renal artery stenosis in a canine model. *J Am Soc Nephrol*, 11(12), 2190-2198.

Segna E., Bolzoni A. R., Gianni A. B., Baj A. et Beltramini G. A. (2018). Impact of reconstructive microsurgery on patients with cancer of the head and neck: a prospective study of quality of life, particularly in older patients. *Br J Oral Maxillofac Surg*. doi:10.1016/j.bjoms.2018.09.003

Seidenberg B., Rosenak S. S., Hurwitt E. S. et Som M. L. (1959). Immediate reconstruction of the cervical esophagus by a revascularized isolated jejunal segment. *Ann Surg*, 149(2), 162-171.

Selber J. C., Garvey P. B., Clemens M. W., Chang E. I., Zhang H. et Hanasono M. M. (2013). A prospective study of transit-time flow volume measurement for intraoperative evaluation and optimization of free flaps. *Plast Reconstr Surg*, 131(2), 270-281. doi:10.1097/PRS.0b013e3182789c91

Smit J. M., Negenborn V. L., Jansen S. M., Jaspers M. E. H., de Vries R., Heymans M. W., Winters H. A. H., van Leeuwen T. G., Mullender M. G. et Krekel N. M. A. (2018). Intraoperative evaluation of perfusion in free flap surgery: A systematic review and meta-analysis. *Microsurgery*, 38(7), 804-818. doi:10.1002/micr.30320

Srikanthan K., Viswanathan N. et Yuen J. C. (2013). Free-flap failure in thrombophilia: case report and systematic review of the literature. *Ann Plast Surg*, 71(6), 675-681. doi:10.1097/SAP.0b013e3182586b47

Sriyab S. (2014). Mathematical analysis of non-Newtonian blood flow in stenosis narrow arteries. *Comput Math Methods Med*, 2014, 479152. doi:10.1155/2014/479152

Steel B. J. et Cope M. R. (2015). A brief history of vascularized free flaps in the oral and maxillofacial region. *J Oral Maxillofac Surg*, 73(4), 786.e781-711. doi:10.1016/j.joms.2014.12.005

Stokes G. G. (1852). On the change of refrangibility of light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 142, 463-562. doi:10.1098/rstl.1852.0022

Strauch B. et Murray D. E. (1967). Transfer of composite graft with immediate suture anastomosis of its vascular pedicle measuring less than 1 mm. in external diameter using microsurgical techniques. *Plast Reconstr Surg*, 40(4), 325-329.

Talbot S. G. et Pribaz J. J. (2010). First aid for failing flaps. *J Reconstr Microsurg*, 26(8), 513-515. doi:10.1055/s-0030-1261697

Tall J., Bjorklund T. C., Skogh A. C., Arnander C. et Halle M. (2015). Vascular Complications After Radiotherapy in Head and Neck Free Flap Reconstruction: Clinical Outcome Related to Vascular Biology. *Ann Plast Surg*, 75(3), 309-315. doi:10.1097/sap.0000000000000081

Tamai S. (2009). History of microsurgery. *Plast Reconstr Surg*, 124(6 Suppl), e282-294. doi:10.1097/PRS.0b013e3181bf825e

Taylor G. I., Miller G. D. et Ham F. J. (1975). The free vascularized bone graft. A clinical extension of microvascular techniques. *Plast Reconstr Surg*, 55(5), 533-544.

Teven C. M., Ooi A. S. H., Inbal A. et Chang D. W. (2017). Implantable Doppler monitoring of buried free flaps during vascularized lymph node transfer. *J Surg Oncol*, 116(3), 371-377. doi:10.1002/jso.24655

Thurston G. B. (1972). Viscoelasticity of human blood. *Biophys J*, 12(9), 1205-1217. doi:10.1016/s0006-3495(72)86156-3

Tintle S. M. et Levin L. S. (2013). The reconstructive microsurgery ladder in orthopaedics. *Injury*, 44(3), 376-385. doi:10.1016/j.injury.2013.01.006

---

Tonken H. P., Zhang F., Yim K. K., Gencosmanoglu R., Sudekum A. E., Campagna-Pinto D., Newlin L., Buncke H. J. et Lineaweaver W. C. (1995). Experimental microvenous thrombosis following anastomosis with a knotted suture. *Microsurgery*, 16(2), 98-102.

Um G. T., Chang J., Louie O., Colohan S. M., Said H. K., Neligan P. C. et Mathes D. W. (2014). Implantable Cook-Swartz Doppler probe versus Synovis Flow Coupler for the post-operative monitoring of free flap breast reconstruction. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 67(7), 960-966. doi:10.1016/j.bjps.2014.03.034

Virchow R. (1989). As Based upon Physiological and Pathological Histology. *Nutrition Reviews*, 47(1), 23-25. doi:doi:10.1111/j.1753-4887.1989.tb02747.x

Welberg L. A., Kinkead B., Thrivikraman K., Huerkamp M. J., Nemeroff C. B. et Plotsky P. M. (2006). Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats. *J Am Assoc Lab Anim Sci*, 45(2), 13-20.

Wolff C. (2017). *Arterielle Intimadefekte und ihre Bedeutung beim mikrovaskulären Gewebetransfer - eine tierexperimentelle Studie an der Rattenaorta*. Retrieved from <http://mediatum.ub.tum.de/?id=1307332>

Wolff K.-D., F B., J B., Bikowski K., P B., W B., A B., Danker H., Eberhardt W., K E., Fietkau R., Frerich B., Gauler T., G G., N G.-H., Groetz K., Horch R., S I. et M W. (2012a). S3-Leitlinie Mundhöhlenkarzinom „Diagnostik und Therapie des Mundhöhlenkarzinoms“.

Wolff K. D., Follmann M. et Nast A. (2012b). The diagnosis and treatment of oral cavity cancer. *Dtsch Arztebl Int*, 109(48), 829-835. doi:10.3238/arztebl.2012.0829

Wolff K. D. et Hölzle F. (2017). *Raising of Microvascular Flaps: A Systematic Approach*: Springer International Publishing.

Wolff K. D., Holzle F., Wysluch A., Mucke T. et Kesting M. (2008). Incidence and time of intraoperative vascular complications in head and neck microsurgery. *Microsurgery*, 28(3), 143-146. doi:10.1002/micr.20468

Wong C. H. et Wei F. C. (2010). Microsurgical free flap in head and neck reconstruction. *Head Neck*, 32(9), 1236-1245. doi:10.1002/hed.21284

Woodcock J. P. (2013). *Theory and Practice of Blood Flow Measurement*: Elsevier Science.

Wu C. C., Lin P. Y., Chew K. Y. et Kuo Y. R. (2014). Free tissue transfers in head and neck reconstruction: complications, outcomes and strategies for management of flap failure: analysis of 2019 flaps in single institute. *Microsurgery*, 34(5), 339-344. doi:10.1002/micr.22212

Yamamoto M., Nishimori H., Fukutomi T., Handa T., Kihara K., Tashiro M., Sato T. et Orihashi K. (2017). Influence of vessel stenosis on indocyanine green fluorescence intensity assessed by near-infrared fluorescence angiography. *Surg Today*, 47(7), 877-882. doi:10.1007/s00595-016-1453-y

Yang B., Qu Y., Su M., Li J., Li H., Xing R. et Han Z. (2017). Characteristics and surgical management of flap compromise caused by thrombosis of the internal jugular vein. *J Craniomaxillofac Surg*, 45(2), 347-351. doi:10.1016/j.jcms.2016.12.012

Yang G. F., Chen P. J., Gao Y. Z., Liu X. Y., Li J., Jiang S. X. et He S. P. (1997). Forearm free skin flap transplantation: a report of 56 cases. 1981. *Br J Plast Surg*, 50(3), 162-165.

Yang Y., Grosset D. G., Li Q., Shuaib A. et Lees K. R. (2002). Turbulence and circulating cerebral emboli detectable at Doppler ultrasonography: a differentiation study in a stenotic middle cerebral artery model. *AJNR Am J Neuroradiol*, 23(7), 1229-1236.

Yeoh M. S., Kim D. D. et Ghali G. E. (2013). Fluorescence angiography in the assessment of flap perfusion and vitality. *Oral Maxillofac Surg Clin North Am*, 25(1), 61-66, vi. doi:10.1016/j.coms.2012.11.004

---

Yi J., Huang X., Xu Z., Liu S., Wang X., He X., Luo D., Luo J., Xiao J., Zhang S., Wang K., Qu Y., Tang Y., Liu W., Xu G., Gao L. et Wang D. (2017). Phase III randomized trial of preoperative concurrent chemoradiotherapy versus preoperative radiotherapy for patients with locally advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 8(27), 44842-44850. doi:10.18632/oncotarget.15107

Zhai Q., Wang Y. et Tian A. (2017). Severe hemodynamic instability after indocyanine green injection during off-pump coronary artery bypass grafting: A case report. *Medicine (Baltimore)*, 96(46), e8766. doi:10.1097/md.00000000000008766

Zhang C., Sun J., Zhu H., Xu L., Ji T., He Y., Yang W., Hu Y., Yang X. et 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. doi:10.1016/j.ijom.2015.02.017

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

Zhou W., Zhang W. B., Yu Y., Wang Y., Mao C., Guo C. B., Yu G. Y. et Peng X. (2017). Risk factors for free flap failure: a retrospective analysis of 881 free flaps for head and neck defect reconstruction. *Int J Oral Maxillofac Surg*, 46(8), 941-945. doi:10.1016/j.ijom.2017.03.023

Zhu Y., Guan L. et Mu Y. (2016). Combined Low-Frequency Ultrasound and Urokinase-Containing Microbubbles in Treatment of Femoral Artery Thrombosis in a Rabbit Model. *PLoS One*, 11(12), e0168909. doi:10.1371/journal.pone.0168909

Zuck D. (1971). Osborne Reynolds, 1842-1912, and the flow of fluids through tubes. *Br J Anaesth*, 43(12), 1175-1182.

## 7 Anhang

### 7.1 Veröffentlichung von Teilen der Doktorarbeit

1. *Detection and flow characteristics of vascular stenosis in free flaps: a comparative analysis using flowmeter, laser-Doppler spectrophotometry, and indocyanine green-videoangiography.*

Mücke T, Hapfelmeier A, **Schmidt LH**, Fichter AM, Wolff KD, Ritschl LM. Scientific Reports 2020 Jan,

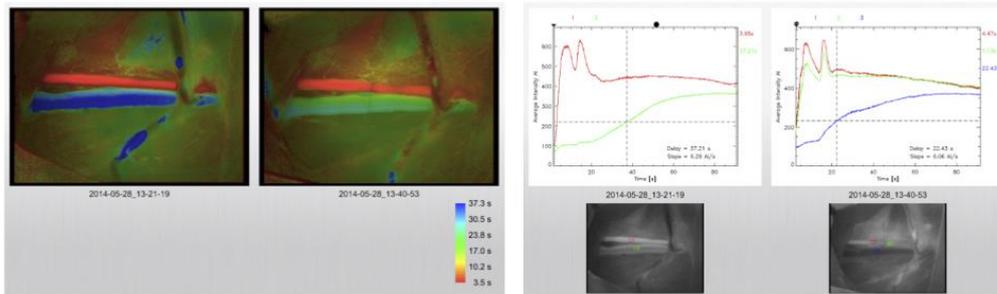
2. *Auswirkung verschiedener Stenosegrade auf den distalen Blutfluss und die korrekte Detektion: eine multimodale Vergleichsstudie.*

Ritschl LM, **Schmidt LH**, Fichter AM, Hapfelmeier A, Wolff KD, Mücke T. 69. Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft für Kieferchirurgie (AGKi), Bad Homburg, Deutschland, 2019, 30.-31. Mai

## 7.2 Leitfaden zur Aufbereitung und Auswertung der ICG-Rohdaten

© L. Schmidt – Klinik und Poliklinik für Mund-Kiefer-Gesichtschirurgie – MRI – Technische Universität München

### Leitfaden zur Auswertung der ICG-Flussanalysen (ZEISS OPMI Pentero® mit integriertem Flow800®-Tool)



Mittels der Indocyaningrün-Angiographie und des Flow800®-Tools, einer im Zeiss-OP-Mikroskop integrierten Software, können im tierexperimentellen Versuch Blutflussanalysen an arteriellen und venösen Gefäßabschnitten und freien mikrovaskulären Transplantaten mit unterschiedlichen Durchblutungssituationen vorgenommen werden.

Durch die Blutflussanalysen können diese unterschiedlichen Durchblutungssituationen im jeweiligen Gewebsabschnitt (unter Betrachtung ausgewählter Parameter) untersucht und die emittierten Fluoreszenzintensitäten erfasst sowie standardisiert ausgewertet werden. Die Auswertung dieser Fluoreszenzintensitäten wird durch eine vom Flow800-Tool erstellte CSV-Datei und der zugehörigen TIF-Datei ermöglicht, die in Zusammenschau alle nötigen Ergebnisse der Blutflussanalyse enthalten. Hierbei haben sich für die spätere statistische Verwendung vor allem die folgenden 6 Parameter als besonders relevant erwiesen:

1. erstes Maximum
2. zweites Maximum
3. maximale Steigung bis zum ersten Maximum
4. maximale Steigung bis zum zweiten Maximum
5. maximale Abflutung nach dem ersten Maximum
6. Fläche unter der Kurve (AUC = Area under the curve)

(Diese Messwerte werden nach der Korrektur des Hintergrundsignals entsprechend aufgearbeitet und als Messpunkte statistisch bestimmt.)

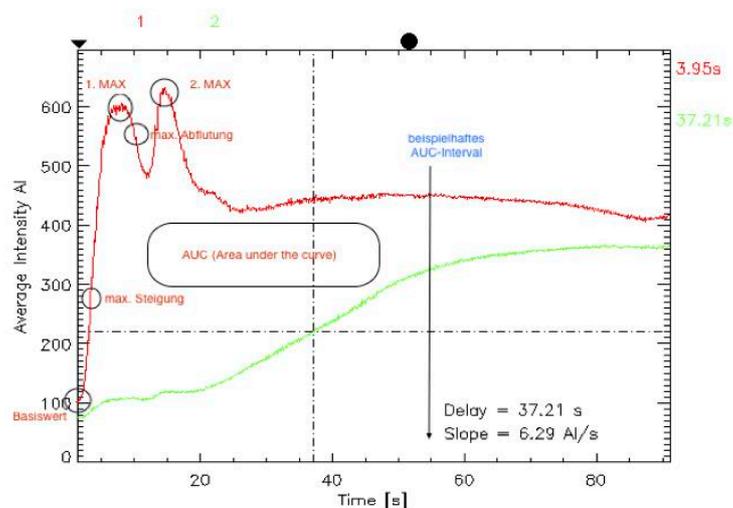
Der folgende Abschnitt stellt einen Leitfaden zur Auswertung der ICG-Flussanalysen dar.

1. Die CSV-Datei der auszuwertenden Flussanalyse wird mit dem Programm "Text Edit" geöffnet. Zunächst muss die CSV-Datei dahingehend formatiert werden, dass die Daten nach dem Öffnen in Excel korrekt angezeigt werden und kein Formatierungsfehler entsteht. Hierzu müssen in Text Edit alle "." durch "," ersetzt werden, welches durch das Anwählen der Fläche "Bearbeiten" – "Suchen" – "Suchen und ersetzen" ermöglicht wird. Nun die CSV-Datei speichern und das Textprogramm schießen.
2. Im Anschluss die CSV-Datei erneut mit dem Programm "Excel" öffnen und die Messwerte der Fluoreszenzintensitäten kopieren, um sie dann in die zuvor individuell angelegte Tabelle zur weiteren Auswertung einzufügen. Diese Tabelle muss im Vorfeld so angelegt worden sein, dass nach Einfügen der Messwerte alle oben genannten Parameter berechnet bzw. ausgewertet werden können.

	A	B	C	D	E	F
1	ICG-Wert Generator	Referenzmessung				
2	->	0 % Stenose				
3		ICG [ml/msec]				
4			Art.		Ven.	
5		Time [msec]	Intensity 1	Steigung m	Intensity 2	Steigung m
6						
7						
8						
9	Steigung Total Max.					
10		Referenzmessung				
11	Max gesamt [ $x^{max}$ ]					
12	Basiswert [ $x^{min}$ ]					
13						
14	1. Maximum					
15	[1.Max rausgesucht - Basiswert]	1.Max. rausg.				
16						
17	2. Maximum					
18	[2.Max rausgesucht - Basiswert]	2. Max. rausg.				
19						
20	max. Steigung [ $m = y : x$ ]	Max. Steig.				
21	(vor 1. Maximum)	Mittl. Steig.				
22	$y^2 - y^1 = y$ [intensity]					
23	$x^2 - x^1 = x$ [time]					
24						
25	max. Abflutung [ $m = y : x$ ]	Max. Abfl.				
26	(nach 1. Maximum)	Mittl. Abfl.				
27	$y^2 - y^1 = y$ [intensity]					
28	$x^2 - x^1 = x$ [time]					
29						
30	AUC [ $\sum$ aller y im Zeitintervall {x}]					
31	(Area under the curve - Basiswert)	AUC				
32	x = 85 [sec]	Summe BaWe				
33						
34						
35	Zugehörige Graphen					
36						
37						

➤ Beispiel eines Tabellenentwurfs zur Auswertung der ICG-Flussanalysen

3. Nun empfiehlt es sich, für die standardisierte Auswertung und spätere Berechnung der Area under the curve (AUC) ein gemeinsames Zeitintervall festzulegen (beispielweise 90 sec/90.000 ms) und die Messreihen ausschließlich auf dieses Zeitintervall mit zugehörigen Intensity-Werten zu kürzen. Des Weiteren sollte für die spätere Berechnung der maximalen Steigung jeweils rechts neben jeder "Intensity"-Spalte eine leere Spalte eingefügt werden (siehe Beispiel oben).
4. Als Nächstes muss für jede "Intensity"-Messreihe der Basiswert (entspricht dem Hintergrundsignal) bestimmt werden, der später für die Berechnung der Parameter 1. Maximum, 2. Maximum und AUC benötigt wird. Mit dem Basiswert kann im Weiteren auf zwei Arten verfahren werden: Entweder der Basiswert wird gleich zu Beginn von der gesamten Intensity-Messreihe subtrahiert, oder erst nach Ermittlung und Berechnung des 1. und 2. Maximums und der AUC. (Für die Berechnung der maximalen Steigung und Abflutung ist dies nicht relevant.) Erstere Variante gelingt mittels Markieren des Basiswerts, Anwählen der Fläche "Bearbeiten" – "Kopieren", im Anschluss Markieren der Messwerte in der Intensity-Spalte und Anwählen der Fläche "Bearbeiten" – "Inhalte einfügen" und Auswählen der Option "Subtrahieren".
5. Zur Bestimmung der Zeitintervalle, in denen das 1. und 2. Maximum sowie die maximale Steigung und Abflutung zu suchen sind, ist es nötig, den jeweiligen Graphen der zugehörigen Messung (mit den Kurvenverläufen) zu öffnen. Im Anschluss kann die Berechnung der Parameter erfolgen.



➤ *Beispiel: Auffinden der Parameter anhand des Kurvenverlaufs*

6. Das 1. und 2. Maximum wird in der Tabelle im jeweiligen Zeitintervall aufgesucht, in dem es anhand des Kurvenverlaufs im Graphen zu vermuten ist. Dies gelingt einfach durch Markieren der zum jeweiligen Zeitintervall zugehörigen Messwerte in der Tabelle und Anwenden der Formel "MAX". Nach Abzug des Basiswerts von den ermittelten Messwerten für MAX 1 und MAX 2 erhält man dann das eigentliche 1. und 2. Maximum.
7. Für die Berechnung der Area under the curve (AUC) bestimmt man zunächst den kumulierten Basiswert (Anzahl der Messwerte, die in dem AUC-Intervall liegen  $\times$  Basiswert), und zieht diesen dann von der Summe aller Messwerte im AUC-Intervall ab.
8. Bei der Bestimmung der maximalen Steigung und Abflutung macht man sich eine zu Beginn separat eingefügte Spalte zu Nutze. Hier berechnet man einmalig für die ersten beiden Wertepaare mittels einer Formel  $((y^2 - y^1):(x^2 - x^1))$  die Steigung und kopiert diese Formel mit der automatischen Ausfüllfunktion für die gesamte Messreihe nach unten. Danach ist es wieder erforderlich, das entsprechende Zeitintervall im Kurvenverlauf ausfindig zu machen, in dem man die maximale Steigung und Abflutung vermutet (gleiches Vorgehen wie für die Bestimmung des 1. und 2. Maximums unter Punkt 6). Durch Markieren der zum jeweiligen Zeitintervall zugehörigen Steigungswerte in der Tabelle und Anwenden der Formel "MAX" für die maximale Steigung bzw. "MIN" für die maximale Abflutung erhält man die endgültigen Werte. Das Vorzeichen für die maximale Abflutung ist dabei negativ. Das Abziehen des Basiswerts ist in diesem Fall nicht mehr nötig.
9. Die weitere statistische Auswertung der gewonnen Daten erfolgt mit einem Statistikprogramm (Bsp.: "SPSS"/ "r"/ u.a.).

---

### 7.3 Abbildungsverzeichnis

**Abb. 1: Das Konzept der Rekonstruktiven Leiter.** (A) Die Rekonstruktive Leiter, als Orientierung für die Art der Defektdeckung, bildet unterschiedliche rekonstruktive Verfahren nach aufsteigender Komplexität ab. (B) Das Rekonstruktive Dreieck (Mathes et Nahai, 1997) und (C) der Rekonstruktive Aufzug (Gottlieb et Krieger, 1994) gewähren als Modifikationen dieses Konzepts dem Chirurgen mehr Freiheit in der Wahl des geeigneten Verfahrens. .... 12

**Abb. 2: Paramediane Stirnlappenplastik zur Rekonstruktion der Nase als Beispiel einer gestielten Lappenplastik.** (A) Erstbeschreibung einer Rhinoplastik mithilfe des sog. Indischen Stirnlappens in Europa, veröffentlicht in der Oktoberausgabe des Gentleman's Magazine 1794 in London (Mazzola, 2007). (B) Die Mobilisierung des paramedianen Stirnlappens erfolgt gestielt an der A. supratrochlearis samt Begleitvene. Der Defekt im Bereich der Stirnhaut wird nach der Rekonstruktion durch zwei seitliche Verschiebelappen und eine fortlaufende Verzahnung der Haut am Haaransatz gedeckt. Abbildungen aus Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie nach Hausamen et al. (Hausamen et al., 2012)..... 14

**Abb. 3: Der Radialislappen als Beispiel eines freien mikrovaskulären Transplantats.** (A) Anatomie des radialen Unterarmhlappens. (B) Intraoperative Aufnahme nach der Hebung des fasziokutanen Transplantats und vor Absetzen des arteriovenösen Gefäßstils. Modifiziert nach Wolff & Hölzle und Roenneberg (Roenneberg, 2013; Wolff et Hölzle, 2017). .... 16

**Abb. 4: Unterschiedliche Gewebezusammensetzung der freien mikrovaskulären Transplantate.** (A) Das fasziokutane Transplantat besteht aus Haut und subkutanem Fettgewebe (1). (B) Das myofasziokutane Transplantat besteht aus Haut, subkutanem Fettgewebe und einem Muskelanteil (2). (C) Das osteomyokutane Transplantat besteht aus Haut, subkutanem Fettgewebe, Muskel und einem Knochensegment (3). Alle freien Transplantate werden über einen Gefäßstiel versorgt, der sich aus einer Arterie und einer zugehörigen Vene zusammensetzt..... 20

**Abb. 5: Verschiedene Vaskularisierungstypen lokaler und freier Lappenplastiken.** (A) Die vaskuläre Versorgung des Random-pattern flap erfolgt durch mehrere kleine Gefäße und somit nicht über eine definierte Arterie. (B) Der Axial-pattern flap wird über eine definierte Arterie versorgt. Der überwiegende

Anteil der myofasziokutanen Transplantate weist eine solche definierte Arterie auf. (C) Die Gefäßversorgung des freien Lappens wird bei der Transplantathebung unterbrochen und am Zielort durch mikrovaskuläre Anastomosierung wiederhergestellt (Pfeil). (D) Perforanslappen werden durch sog. Perforansgefäße (Pfeil) versorgt, welche der Tiefe des Gefäßsystems entspringen und durch den Muskel ziehen. In der Regel verfügen die unterschiedlichen Lappenplastiken auch über Begleitvenen, welche jedoch zur Vereinfachung in dieser Zeichnung nicht dargestellt wurden. Modifiziert nach Fujioka und Fichter (Fujioka, 2014; Fichter, 2015).....22

**Abb. 6: Funktionsweise eines perivaskulären Ultraschall-Durchflussmessers am Beispiel des "clamp-on transit time flowmeter".** (A) Ansicht der "V"-Flussonde von frontal. Die welligen Pfeile verdeutlichen die gegenläufig ausgesandten Ultraschallsignale, die durch den Reflektor auf die jeweiligen Wandler reflektiert werden. (B) Ansicht der Flussonde von schräg-seitlich. Modifiziert nach Fichter (Fichter, 2015).....31

**Abb. 7: Funktionsweise der Gewebe-Photospektrometrie am Beispiel der O2C-Messsonde.** Die Messsonde kombiniert das Prinzip der Gewebespektrometrie und der Laser-Doppler-Flussmessung und emittiert sowohl Weißlicht als auch Laserlicht. Dies ermöglicht die simultane non-invasive Detektion des Durchflussvolumens (Flow), der Blutflussgeschwindigkeit (Velocity), der Hämoglobinkonzentration (Hb) und der Hämoglobinoxygenierung (SO<sub>2</sub>). Modifiziert und vereinfacht nach Krug (Krug, 2006). .....32

**Abb. 8: Funktionsweise der Indocyaningrün-Fluoreszenzangiographie am Beispiel eines OP-Mikroskops.** Das OP-Mikroskop emittiert Infrarotlicht (rot-transparent), welches die im Gewebe befindlichen arteriellen und venösen Gefäße erreicht, und regt die an Plasmaproteine gebundenen ICG-Moleküle zur Fluoreszenz an. Das Fluoreszenzsignal (grüner Pfeil) wird daraufhin von einem im Mikroskop integrierten Detektor erfasst und ermöglicht die Evaluation der Gewebepерfusion...35

**Abb. 9: Strukturformel des Fluoreszenzfarbstoffes Indocyaningrün.** .....37

**Abb. 10: Einsatz der ICG-Fluoreszenzangiographie in der Ophthalmologie.** (A) Ergebnis der Funduskopie bei Verdacht auf tuberkulöse Choroiditis. (B) Die ICG-Angiographie des Augenhintergrundes zeigt diffus ausgedehnte und fleckige Hypofluoreszenzen im posterieren Pol. Diese pathophysiologischen Veränderungen

---

entsprechen klinisch einer aktiven Chorioretinitis mit begleitender Vitritis. Modifiziert nach Agrawal et al. (Agrawal et al., 2013). ..... 38

**Abb. 11: Einsatz der ICG-Fluoreszenzangiographie und des FLOW® 800-Tools in der Neurochirurgie.** (A) Die ICG-Angiographie zeigt eine eingeschränkte Perfusion der kortikalen Oberfläche mit zirkulatorischer Insuffizienz (weißer Pfeil). (B) Bei Einsatz des analytischen FLOW® 800-Visualisierungstools zeigt sich dies in der arteriellen Durchblutungsphase besonders deutlich (blauer Bereich). Modifiziert nach Hackethal et al. (Hackethal et al., 2018)..... 39

**Abb. 12: Standardkäfige aus Makrolon mit Holzgranulatstreu, Stroh und Papphäusern.** Die Trink- und Futtervorrichtung befindet sich im Käfigdeckel, welcher zur besseren Darstellung des Käfiginventars zuvor abgenommen wurde..... 43

**Abb. 13: Die männliche Wistar-Ratte als Versuchstier.** ..... 44

**Abb. 14: Verwendete Narkotika.** (A) Die Aufnahme von Isofluran erfolgt mittels Kompresse und dient zur Einleitung der Narkose. (B) Xylazin und (C) Ketamin werden für die weitere Aufrechterhaltung der Narkose mit einer Mischspritze im korrekten Verhältnis aufgezogen. Abbildung modifiziert nach Wolff (Wolff, 2017).. 45

**Abb. 15: Schrittweises Vorgehen bei der Anlage eines intravenösen Mikroverweilkatheters zur intravaskulären Applikation von Anästhetika.** (A) Darstellung mehrerer konfluierender Halsvenen lateral der Schilddrüse. (B) Der mittig-oben liegende venöse Gefäßabschnitt wird proximal und distal mit Gefäßclips abgeklemmt und die Durchblutung somit unterbrochen. (C) Nach Venotomie und Vorlegen einer Ligatur erfolgt die Insertion des Katheters bis zum Gefäßclip. (D) Der Clip wird anschließend entfernt, der Katheter weiter vorgeschoben und mittels Ligatur fixiert. Nach Versuchsende kann die Ligatur gelöst, der Katheter zurückgezogen, die Vene mikrochirurgisch anastomosiert und die Wunde mit einer Hautnaht verschlossen werden. .... 47

**Abb. 16: Darstellung des femoralen Gefäßbündels in der Leistenregion unter mikroskopischer Sicht.** (A) Die Hautinzision erfolgt in Verlaufsrichtung der femoralen Gefäße. (B) Auffinden des femoralen Gefäß-Nervenbündels in der Tiefe nach makroskopischer Präparation. Das weißlich-schimmernden Leistenband (mittig-rechts) dient als anatomischer medialer Orientierungspunkt. (C) Mikrochirurgische Darstellung der Gefäße nach Separation von N., A. und V. femoralis (v.o.n.u.). Links im Bild ist der Abgang der epigastrischen Gefäße zu sehen.

---

<i>(D) Darstellung nach Ligatur aller arteriellen und venösen Seitenäste der A. und V. femoralis. ....</i>	<i>48</i>
<b>Abb. 17: Stenosierung der A. femoralis.</b> <i>(A) Vorlegen eines 9-0 monofilen Fadens unterhalb des arteriellen Gefäßlumens. (B) Verengung des Gefäßlumens mittels Ligatur um 25 % des ursprünglichen Querschnitts.....</i>	<i>51</i>
<b>Abb. 18: Übersicht des Versuchsablaufs zur Evaluation der Perfusion mittels drei unterschiedlicher Modalitäten.....</b>	<b>52</b>
<b>Abb. 19: Evaluation der Perfusion mittels Ultraschall-Durchflussmesser und Gewebe-Photospektrometrie.</b> <i>(A und B) Referenzmessung an der A. und V. femoralis mittels Ultraschall-Durchflussmessung (Transit Flowmeter) und (C) am distalen Erfolgsorgan mittels Gewebe-Photospektrometrie (O2C) zur Erfassung der Flow-, Velo-, Hb-, und SO<sub>2</sub>-Basiswerte. (D) Ultraschall-Durchflussmessung vor der künstlich erzeugten Stenose, (E) hinter der Stenose und (F) am venösen Gegengefäß. ....</i>	<i>54</i>
<b>Abb. 20: Flussanalyse der Femoralgefäße mittels ICG-Videoangiographie.</b> <i>(v.l.n.r.) (A) Referenzmessung der A. und V. femoralis zur Erfassung des ICG-Basiswertes. (B) Stenosierung der A. fem. um 75 %. (C) Stenosierung der V. fem. um 75 %. (v.o.n.u.) Die erste Aufnahme zeigt die Anflutzeit des ICG-Kontrastmittels in Sekunden, die zweite Darstellung die maximale Intensität des Fluoreszenzsignals, welche durch die Infrarotkamera detektiert wurde. Durch das Positionieren sog. ROIs ("Regions Of Interest") nach der Angiographie lässt sich durch die FLOW<sup>®</sup>800-Software in diesen Bereichen eine Flussanalyse durchführen, welche die Evaluation der Perfusion graphisch darstellt.....</i>	<i>56</i>
<b>Abb. 21: ICG-PULSION<sup>®</sup> und Aqua ad iniectabilia.</b> <i>(A) Aqua ad iniectabilia für die Herstellung von parenteralen Injektionslösungen (Ampuwa<sup>®</sup>, Fresenius Kabi Deutschland GmbH, 61346 Bad Homburg v.d.H., Deutschland). (B) ICG-Pulsion als Pulver in einer lichtgeschützten Ampulle (ICG-Pulsion<sup>®</sup>, Pulsion Medical Systems AG, München, Deutschland). (C) 1 ml-Injektionsspritze mit Markierung in 0,1 ml-Schritten und Kanüle. (D) Intravenös applizierbares ICG-Kontrastmittel aufgezogen für die Injektion via Mikroverweilkatheter.....</i>	<i>57</i>
<b>Abb. 22: Mikrochirurgisches Instrumentarium.</b> <i>Im oberen Bildabschnitt zu sehen: Premicath<sup>®</sup>-Mikroverweilkatheter mit Dreiwegehahn, 1ml-Spritze für die Anästhetika-Verabreichung und ICG-Applikation, mikrochir. Gefäßclips in untersch.</i>	

---

Größe und Ausführung, Bepanthen®-Salbe für den Augenschutz der Ratte, Einmalrasierer (v.l.n.r.). Im unteren Bildabschnitt zu sehen: kleine u. große makrochir. Pinzette, Schere, Skalpell mit bauchiger Klinge, Approximatorpinzette für Gefäßclips, Mikronadelhalter, gerade u. gebogene Mikroschere, gerade u. abgewinkelte Mikropinzette, Mikrogefäßdilator, kleine Mikropinzette, kleine Mikroschere, Mikro-Bipolar-Pinzette zur Koagulation (v.l.n.r.). Rechts im Bild: mikrochir. Ethilon®-Nahtmaterial in untersch. Größen.....	59
<b>Abb. 23: Transit Time Perivascular Flowmeter TS420.</b> (A) Messstation TS420 mit frontaler Verbindungsstelle für die "V"-Sonde. (B) "V"-Flusssonde mit und ohne Verriegelung. Abbildungen modifiziert nach <a href="http://www.transonic.com">www.transonic.com</a> .....	60
<b>Abb. 24: O2C-Messgerät.</b> (A) Messstation. (B) Metrische und graphische Bildschirmanzeige der Perfusionsparameter. (C) Messsonde. Abbildungen modifiziert nach <a href="http://www.lea.de">www.lea.de</a> .....	61
<b>Abb. 25: OP-Mikroskop PENTERO® der Firma Zeiss.</b> .....	62
<b>Abb. 26: Deskriptive Ergebnisse der Flussmessung mittels Transit Flowmeter.</b> Graphische Darstellung des mittleren arteriellen und venösen Blutflusses in ml/min bei variierender arterieller (A und C) und venöser (B und D) Stenosierung in Form von Liniendiagrammen und Boxplots.....	66
<b>Abb. 27: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionevaluation mittels simultaner Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie.</b> Graphische Darstellung der unterschiedlichen Parameter bei variierender arterieller (A, C und E) und venöser (B, D und F) Stenosierung in Form von Liniendiagrammen und Boxplots.....	68
<b>Abb. 28: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Analysesoftware.</b> Graphische Darstellung der unterschiedlichen Parameter bei variierender arterieller (A und B) und venöser (C und D) Stenosierung in Form von Liniendiagrammen. Hierbei wurden das erste und zweite Maximum sowie die Fläche unter der Kurve (engl. area under the curve (AUC)) zeitgleich in drei unterschiedlichen Gefäßregionen (engl. regions of interest (ROI)) bei variierender Stenosierung analysiert. Die Positionierung der ROIs erfolgte standardisiert im prä- und poststenotischen Gefäßabschnitt sowie im korrespondierenden arteriellen oder venösen Gegengefäß.....	71
<b>Abb. 29: Deskriptive Ergebnisse der Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Analysesoftware als Boxplots.</b>	

Die zeitgleiche Analyse des ersten und zweiten Maximums, des maximalen Anstiegs und Abfalls sowie der Area under the curve erfolgte sowohl unter variierender arterieller (A, C und E) als auch venöser (B, D und F) Stenosierung in drei spezifischen Gefäßregionen (prästenotisch, poststenotisch und am korrespondierenden Gegengefäß). Die ICG-Intensität wurde für alle Parameter in arbiträren Einheiten (AU) registriert.....72

**Abb. 30: Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software bei variierenden arteriellen Stenosegraden.** (v.l.n.r.) Die erste Säule zeigt die intraoperative, farblich-kodierte Perfusionsanalyse mittels integrierter FLOW 800® Software. Die zweite und dritte Säule zeigt die ICG-VA in der arteriellen und venösen Durchblutungsphase mit jeweils drei definierten und durch farbige Quadrate gekennzeichneten Untersuchungsregionen (prästenotisch, poststenotisch und am korrespondierenden Gegengefäß). Die nicht-parametrische Analyse der erfassten ICG-Intensität bei variierender arterieller Stenosierung im zeitlichen Verlauf wird in der vierten Säule in Form eines Graphen dargestellt. Die farblich kodierten ROIs (Säule 3) korrelieren mit den jeweiligen Kurvenverläufen der entsprechenden Farbe.....73

**Abb. 31: Perfusionsanalyse mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software bei variierenden venösen Stenosegraden.** (v.l.n.r.) Die erste Säule zeigt die intraoperative, farblich-kodierte Perfusionsanalyse mittels integrierter FLOW 800® Software. Die zweite und dritte Säule zeigt die ICG-VA in der arteriellen und venösen Durchblutungsphase mit jeweils drei definierten und durch farbige Quadrate gekennzeichneten Untersuchungsregionen (prästenotisch, poststenotisch und am korrespondierenden Gegengefäß). Die nicht-parametrische Analyse der erfassten ICG-Intensität bei variierender venöser Stenosierung im zeitlichen Verlauf wird in der vierten Säule in Form eines Graphen dargestellt. Die farblich kodierten ROIs (Säule 3) korrelieren mit den jeweiligen Kurvenverläufen der entsprechenden Farbe.....74

**Abb. 32: Random Forest Analyse.** Anordnung der unterschiedlichen Parameter nach entsprechender Gewichtung (Importance) im vollständigen (A) und reduzierten (B) Vorhersagemodell unter Ausschluss der O2C-Analysedaten. Die Bedeutung eines Parameters wird als Differenz der prädiktiven Akkuranz vor und nach randomisierter Permutation der Messwerte ermittelt. Ist ein Parameter von

---

untergeordneter Relevanz für die Vorhersage des Outcomes, so bleibt die prädiktive Akkuranz nach Permutation unverändert und nimmt den Wert 0 an..... 79

**Abb. 33: Receiver Operating Characteristic curve Analyse (ROC-Analyse) und Modellkalibrierung.** Die durchgezogenen Linien entsprechen dem reduzierten, die gestrichelten Linien dem vollständigen Modell. Die ROC curve wird aus mehreren Wertepaaren bestehend aus Sensitivität und 1-Spezifität gebildet und gibt Auskunft über die diskriminatorische Fähigkeit des Vorhersagemodells hinsichtl. seiner Klassifizierung (A). Im Rahmen der Modellkalibrierung wird die Übereinstimmung zwischen vorhergesagter Wahrscheinlichkeit eines Stenosegrads und tatsächlich beobachteter Frequenz des Auftretens eben dieses Stenosegrads überprüft (B)..... 81

**Abb. 34: Modellkalibrierung – Boxplots.** Die Boxplots des vollständigen (A) und reduzierten (B) Vorhersagemodells geben jeweils die Wahrscheinlichkeit für das Übereinstimmen von vorhergesagter und tatsächlich vorliegender Stenosierung an. Die grauen Boxplots repräsentieren die gemeinsame Schnittmenge aus korrekt vorhergesagten Stenosegraden. Für 0%, 75% und 100% Stenosegrad gibt es eine hohe Übereinstimmung, welche sich im reduzierten Modell (B) noch deutlicher zeigt. .... 82

#### 7.4 Tabellenverzeichnis

<b>Tab. 1: Berechnung der adäquaten Gefäßdurchmesser für verschiedene Stenosegrade.....</b>	<b>50</b>
<b>Tab. 2: Original Versuchsprotokoll für die Dokumentation der unterschiedlichen Perfusionsparameter.....</b>	<b>53</b>
<b>Tab. 3: Mittlere Flusswerte einschließlich Intervall bei variierenden Stenosegraden der A. und V. femoralis.....</b>	<b>67</b>
<b>Tab. 4: Mittlere perioperative Ergebnisse der simultanen Laser-Doppler-Flussmessung und Gewebespektrometrie (O2C®) einschließlich Intervall bei variierender Stenosierung der A. und V. femoralis.....</b>	<b>69</b>
<b>Tab. 5: Mittelwerte einschließlich Intervall der perioperativ mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software erhobenen Parameter bei variierender Stenosierung der A. femoralis.....</b>	<b>75</b>

**Tab. 6: Mittelwerte einschließlich Intervall der perioperativ mittels ICG-Videoangiographie und integrierter FLOW 800® Software erhobenen Parameter bei variierender Stenosierung der V. femoralis.....76**

**Tab. 7: Kreuztabelle und Cohens weighted Kappa für die Überprüfung der Reliabilität von Einschätzungen hinsichtl. des adäquaten Stenosegrads. Übereinstimmung zwischen rechnerisch ermitteltem und tatsächlich vorliegendem Stenosierungsgrad für das vollständige und reduzierte (Werte in Klammern) Modell unter Berücksichtigung des Abweichungsgrades.....83**

## 9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all Jenen bedanken, die mich während dieser intensiven Zeit begleitet und bei der Fertigstellung meiner Dissertation unterstützt haben.

Besonders hervorheben möchte ich in diesem Zusammenhang meinen Doktorvater PD Dr. Dr. Mücke, der mich in die Welt der Mikrochirurgie einführte und mir die vorliegende operativ-experimentelle Forschungsarbeit ermöglichte. Meinem Betreuer PD Dr. Dr. Ritschl danke ich für zahlreiche gemeinsame Stunden im mikrochirurgischen Forschungslabor und die kontinuierliche Unterstützung bei der Umsetzung meines Forschungsprojekts.

Mein Dank gilt auch den langjährigen Kollegen meiner mikrochirurgischen Arbeitsgruppe PD Dr. Dr. Fichter und Dr. Wolff., deren stetige Unterstützung, auch über die Kellergewölbe der Langerstraße 3 hinaus, mir im Rahmen meiner beruflichen Entwicklung eine große Hilfe war. Das Forschen in unserer Arbeitsgemeinschaft hat mir viel Freude bereitet. Um es mit den Worten von Konfuzius zu sagen: „Nur durch die vereinten Kräfte eines jeden einzelnen Zahnes vermag ein Kiefer sogar Knochen zu durchbrechen.“ In diesem Sinne bin ich stolz, Teil dieses Teams zu sein.

Bedanken möchte ich mich auch bei Univ.-Prof. Dr. Dr. Wolff für das mir entgegengebrachte Vertrauen und Interesse an der Durchführung der mikrochirurgischen Operationen.

Nicht zuletzt den Kollegen des Zentrums für präklinische Forschung (ZPF) des Klinikums rechts der Isar, durch die stets eine adäquate Versorgung meiner Versuchstiere gewährleistet wurde, ist die erfolgreiche Fertigstellung dieser Arbeit zu verdanken.

Für die Durchführung der Random Forest Analyse im Rahmen der explorativen, statistischen Auswertung und einem damit verbundenen tieferen Einblick in die Welt des maschinellen Lernens bedanke ich mich bei PD Dr. Hapfelmeier vom

---

Institut für Medizinische Informatik, Statistik und Epidemiologie der Technischen Universität München (TUM).

Zu guter Letzt möchte ich auch meinen Eltern, meiner Schwester und meiner langjährigen Freundin für Ihren Zuspruch und Ihre fortwährende Unterstützung danken.