

Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf

Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie

Prof. Dr. med. Prof. h.c. Dr. h.c. Jakob R. Izbicki

Validierung der Fluoreszenzangiographie in der Beurteilung der Mesenterialperfusion am Großtiermodell

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Philipp Holger von Kroge
aus Hamburg

Hamburg 2019

Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 08.10.2019

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Universität
Hamburg

Prüfungsausschuss, der Vorsitzende: Prof. Dr. med. Oliver Mann

Prüfungsausschuss, zweiter Gutachter: Prof. Dr. med. Axel Larena-Avellaneda

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	3
1 EINLEITUNG	5
1.1 DIE AKUTE MESENTERIALE ISCHÄMIE.....	5
1.2 DIE CHIRURGISCHE THERAPIE DER AKUTEN MESENTERIALEN ISCHÄMIE.....	6
1.3 DIE INTRAOPERATIVE EVALUATION DER DARMVITALITÄT	7
1.4 DIE SECOND-LOOK-OPERATION.....	8
1.5 INDOCYANIN GRÜN.....	8
1.6 ICG IN DER DARMCHEMIE.....	9
1.7 ZIELE DER ARBEIT.....	11
2 MATERIAL UND METHODEN	12
2.1 VERSUCHSKONZEPT	12
2.2 VERSUCHSTIERE	12
2.3 DAS FLUORESZENZANGIOGRAPHIESYSTEM.....	13
2.3.1 <i>Ablauf einer Fluoreszenzangiographie</i>	13
2.4 DIE GEWEBSOXYGENIERUNG.....	14
2.5 FLUSSMESSSONDE.....	15
2.6 MAKROSKOPISCHE BEWERTUNG.....	15
2.7 NARKOSE UND MEDIKATION	16
2.8 INSTRUMENTIERUNG	17
2.9 CHIRURGISCHES VORGEHEN	17
2.10 VERSUCHSPROTOKOLL	19
2.10.1 <i>Baseline-Messung</i>	21
2.10.2 <i>Ischämiephase</i>	22
2.10.3 <i>Reperfusion</i>	22
2.11 HISTOLOGIE	23
2.12 AUSWERTUNG DER FLUORESZENZANGIOGRAPHIE.....	24
2.13 STATISTISCHE AUSWERTUNG.....	27
2.14 EUTHANASIERUNG	27
3 ERGEBNISSE	28
3.1 HÄMODYNAMIK	28
3.1.1 <i>Herzzeitvolumen und Herzfrequenz</i>	29
3.1.2 <i>Der Blutdruck</i>	31
3.1.3 <i>Der systemische Gefäßwiderstand (SVR)</i>	33
3.1.4 <i>Globales enddiastolisches Volumen</i>	34
3.2 BLUTGASANALYSE	35
3.2.1 <i>Laktat</i>	35
3.2.2 <i>Kalium</i>	37
3.2.3 <i>pH-Wert</i>	39
3.3 GEWEBSOXYGENIERUNG	40
3.4 FLUSSMESSUNG MITTELS TTFM	42
3.5 FLUORESZENZANGIOGRAPHIE	43
3.5.1 <i>Slope of fluorescence intensity</i>	43
3.5.2 <i>Background subtracted fluorescence intensity</i>	45
3.6 MAKROSKOPIE	47
3.6.1 <i>Makroskopie-Bewertung</i>	47
3.6.2 <i>Fotodokumentation</i>	49
3.7 HISTOLOGIE.....	51
4 DISKUSSION	54
4.1 FA MIT ICG IN DER KOLOREKTALEN CHIRURGIE	55
4.2 ANWENDUNG DER FLUORESZENZANGIOGRAPHIE MIT ICG BEI DER AKUTEN MESENTERIALEN ISCHÄMIE.....	56

4.2.1	<i>Klinische Ansätze</i>	56
4.2.2	<i>Tierexperimentelle Studien</i>	58
4.3	NEUERUNGEN IN DER FLUORESCENZANGIOGRAPHIE BEI DER AKUTEN MESENTERIALEN ISCHÄMIE – SFI UND BSFI	61
4.3.1	<i>Detektion einer mesenterialen Ischämie mittels SFI und BSFI</i>	62
4.4	SCHÄDIGUNGSMECHANISMEN AUF MAKROSKOPISCHER, HISTOLOGISCHER UND MOLEKULARER EBENE	64
4.4.1	<i>Pathophysiologie des Ischämie/Reperfusion-Syndroms</i>	66
4.4.2	<i>Schädigungsmuster in unseren Versuchen</i>	67
4.4.3	<i>Ischämie/Reperfusion-Syndrom und Fluoreszenzangiographie</i>	69
5	ZUSAMMENFASSUNG	73
6	SUMMARY	74
7	LIMITATIONEN	75
8	ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	76
9	LITERATURVERZEICHNIS	77
10	DANKSAGUNG	84
11	LEBENS LAUF	85
12	EIDESSTATTLICHE VERSICHERUNG	86

1 Einleitung

1.1 Die akute mesenteriale Ischämie

Insgesamt ist die akute mesenteriale Ischämie (AMI) mit ein bis zwei von 1000 Krankenhausaufnahmen ein seltenes, aber dennoch bedrohliches Krankheitsbild (Stoney und Cunningham 1993). In einer bereits in den 1920er Jahren veröffentlichten Schrift erklärte Cokkinis die Diagnosestellung der mesenterialen Ischämie für unmöglich, die Prognose als hoffnungslos und die Behandlung als unnütz (Cokkinis 1926). Die Mortalität der AMI konnte in den letzten Jahrzehnten bereits gesenkt werden (Schoots et al. 2004). Dennoch stellt die Erkrankung mit einer Mortalität von 60-80% auch in der heutigen Zeit ein lebensbedrohliches Krankheitsbild dar (Oldenburg et al. 2004, Grotelüschen et al. 2019).

Die Diagnosestellung der AMI ist weiterhin nicht trivial. Einerseits ist die Symptomatik unspezifisch, da sie in der Initialphase mit Schmerz, Übelkeit, Erbrechen und Diarrhö den häufigsten Symptomen eines akuten Abdomens entspricht (Endean et al. 2001, Bala et al. 2017). Andererseits ist die primäre Bildgebung häufig nicht zielführend. Die Abdomensonographie kann die AMI schlecht erfassen und dient vornehmlich dem Ausschluss differentialdiagnostischer Ursachen des akuten Abdomens. Eine Abdomenübersichtsaufnahme ist in der Anfangsphase ebenfalls unauffällig. Hier zeigen sich erst in fortgeschrittenen Stadien Veränderungen in Form von Spiegelbildung bei einem Ileus, einer pneumatosis intestinalis oder portalvenöser Gasansammlungen (Kortmann et Klar 2005).

Einen Fortschritt bringt die flächendeckende Verfügbarkeit der Computertomographie, welche die AMI mit einer Sensitivität von 93,3% und Spezifität von 95,9% erfasst (Menke 2010).

Auch die laborchemische Diagnostik ist nicht wegweisend. Zwar sind Parameter wie Lactat, C-reaktives Protein, Laktatdehydrogenase und Leukozytenzahl bei der Mehrheit der Patienten erhöht, diese sind jedoch nicht spezifisch für die AMI (Kassahun et al. 2008, Derikx et al. 2017).

Die AMI hat verschiedene Pathogenesen. Zuerst muss zwischen okklusiver mesenterialer Ischämie (OMI) und nicht-okklusiver mesenterialer Ischämie (NOMI) differenziert werden. Die Verschlussursachen können einerseits arteriell

in Form einer Mesenterialarterienembolie oder –thrombose sein, andererseits kann aber auch der thrombotische Verschluss einer Mesenterialvene vorliegen. Die Okklusionen der Arteria mesenterica superior (AMS) machen etwa zwei Drittel der mesenterialen Ischämien aus. Die Inzidenz liegt bei 8,6/100.000 Personenjahren und das Verhältnis von Embolus und Thrombus liegt bei 1,4:1 (Acosta 2010).

Die Ätiologie der mesenterialen Ischämie ist prognostisch von großer Relevanz für die Patienten, da sich die Mortalitätsraten der einzelnen Subtypen deutlich voneinander unterscheiden. Patienten mit einer Mesenterialvenenthrombose haben eine Mortalität von 44.4%, während Patienten mit einer Mesenterialarterienthrombose eine Mortalität von 87% haben. Patienten mit Mesenterialarterienembolie und NOMI haben eine Mortalität von 77,7 bzw. 80% (Schoots et al. 2004).

1.2 Die chirurgische Therapie der akuten mesenterialen Ischämie

Bis 1951 stellte die alleinige Resektion von infarziertem Darm die einzige operative Therapieoption der mesenterialen Ischämie dar. Hierbei lag die Mortalität dennoch bei über 90%. Alan A. Klass veröffentlichte im Jahre 1951 einen Fallbericht, in welchem er erstmalig die Embolektomie als Behandlungsalternative vorstellte (Klass 1951).

Noch heute ist die unmittelbare Reperfusion, welche durch verschiedene Operationstechniken ermöglicht werden kann, in Kombination mit einer Darmteilresektion von irreversibel geschädigten Segmenten die Strategie der Wahl in der Behandlung der AMI (Ritz und Buhr 2011, Renner et al. 2011). Neben den etablierten offenen Verfahren werden zunehmend auch endovaskuläre Konzepte zur Revaskularisierung eingesetzt (Blauw et al. 2014, Arthurs et al. 2011).

Eine 2018 veröffentlichte Guideline der European Society of Vascular Surgery (ESVS) präsentiert erstmals ein evidenzbasiertes Vorgehen bei der akuten mesenterialen Ischämie. Vor einer Resektion sollte zunächst eine offene Revaskularisation angestrebt werden. Diese sollte immer mit einer Flusskontrolle mittels Transit Time Flow Measurement (TTFM) oder einer Angiographie kombiniert werden (Björck et al. 2018).

1.3 Die intraoperative Evaluation der Darmvitalität

Nach der erfolgreichen Revaskularisation muss der Darm hinsichtlich seiner Vitalität evaluiert werden. Dies soll etwa 20-30 Minuten nach der Reperfusion geschehen und erfolgt über die folgende Kriterien: Farbe, Peristaltik, Pulsation im Mesenterium und arterielle Blutungen aus den Schnittflächen am Resektionsrand (Ritz und Buhr 2011, Eckstein 2003). Die klinische Evaluation wird auch in der Guideline von der ESVS als Methode der Wahl empfohlen (Björck et al. 2018).

Es soll die Resektion von offensichtlich nekrotischen Darmarealen erfolgen. Dabei gilt der Vorsatz, dass nur sicher nekrotisches Areal reseziert und solche Areale, welche eine fragliche Vitalität aufweisen, vorerst belassen werden sollten (Wyers 2010). Der Hintergrund dieser Vorgehensweise ist die drohende Entwicklung eines Kurzdarm-Syndroms, dessen Ursachen unter anderem ausgedehnte Darmresektionen sind. Um dieses zu vermeiden muss die Restlänge von Jejunum und Ileum insgesamt etwa 1cm/kg Körpergewicht betragen (Platell et al 2002).

Die Rate der Anastomoseninsuffizienzen nach Darmresektion bei AMI ist postoperativ mit etwa 10% hoch (Luther et al. 2002). Intraoperativ kann das Risiko einer Anastomoseninsuffizienz jedoch nur unzureichend vom Operateur eingeschätzt werden (Karliczek et al. 2009). Ursächlich dafür ist unter anderem die subjektive und stark von der Erfahrung des Operateurs abhängige, klinische Einschätzung der Darmvitalität. Bei der Evaluation liegt die Sensitivität bei nur 78%, die Spezifität bei 91%. Die klinischen Einschätzungen der Gewebevitalität wurden mit den histopathologischen Ergebnissen der Resektionsgrenzen verglichen (Burkley et al. 1981). Deshalb wird nach neuen Möglichkeiten gesucht, um eine Entscheidung anhand einer objektiven Grundlage zu ermöglichen. Intraoperative Dopplersonographie und Fluoreszin-Injektion mit anschließender Beurteilung des Darms unter ultraviolettem Licht wurden diskutiert (Burkley et al 1981). Die Dopplersonographie ist der klinischen Einschätzung jedoch unterlegen. Die Evaluation der Darmvitalität nach Fluoreszin-Injektion zeigt gegenüber der klinischen Einschätzung einen leichten Vorteil (Burkley et al 1981, Ballard et al. 1993), konnte sich jedoch bisher nicht flächendeckend durchsetzen (Eckstein 2003).

1.4 Die Second-Look-Operation

Shaw beschrieb die Second-Look-Operation im Management der mesenterialen Ischämie erstmals im Jahre 1965 (Shaw 1965). Ein Second-Look wird während der initialen Exploration bei etwaigen Unsicherheiten im Hinblick auf die Darmvitalität durch den Operateur festgelegt und unabhängig von der klinischen Entwicklung des Patienten nach 24-48 Stunden durchgeführt (Endean et al. 2001, Meng et al 2010, Park et al. 2002).

Die Sekund-Look-Laparoskopie wird als Alternative zur Relaparotomie diskutiert, um die Anzahl der negativen Relaparotomien zu verringern (Meng et al. 2010). Das Konzept hat sich jedoch aufgrund der zumeist primär offenen Exploration bisher nicht durchsetzen können. Leister et al. berichteten in einem Review bereits von der Möglichkeit die Anzahl der sekundären Laparotomien mittels Laparoskopie um 62% zu verringern. Allerdings betrug die Fallzahl hierbei lediglich 37 Patienten (Leister et al. 2003).

Momentan ist der Second-Look nicht aus dem Behandlungskonzept der mesenterialen Ischämie wegzudenken, da die klinische Evaluation unsicher ist und somit die Anzahl der Anastomoseninsuffizienzen hoch verbleibt. Auch die ESVS empfiehlt bei jedem Patienten, welcher ein Darmresektion erhalten hat, einen Second-Look durchzuführen (Björck et al 2018).

1.5 Indocyanin Grün

Indocyanin Grün (ICG) ist ein fluoreszierender Farbstoff, welcher 1956 ursprünglich für die kardiologische Diagnostik entwickelt wurde (Fox 1956). Sein Absorptionsmaximum liegt im Plasma bei einer Wellenlänge von 805nm. ICG ist wasserlöslich und bindet nach intravasaler Injektion an Plasmaproteine. Die Elimination erfolgt ausschließlich hepatisch und die Halbwertszeit beträgt lediglich 3-4 Minuten, sodass Injektionen in kurzen zeitlichen Abständen problemlos möglich sind (Reinhart et al. 2016). Nebenwirkungen treten mit 0,4% sehr selten auf. Von den verzeichneten unerwünschten Wirkungen waren 0,15% leichtgradig 0,2% moderat und nur 0,05% schwere Nebenwirkungen (Hope-Ross 1994). Dyspnoe, Pruritus, Übelkeit und Hypotonie treten am häufigsten auf (Benya et al. 1989). Chu et al. publizierten 2017 einen Case-Report über eine anaphylaktische Reaktion auf ICG (Chu et al. 2017).

ICG wird bereits klinisch in unterschiedlichen Fachrichtungen eingesetzt. In der Ophthalmologie stellt die Fluoreszenzangiographie (FA) bei choroidealen

Gefäßveränderungen ein etabliertes Diagnostikum dar (Anijeet et al. 2012, Desmettre et al. 2011, Stanga et al. 2003). In der plastischen Chirurgie wird die Fluoreszenzangiographie mit ICG beispielsweise zu topographischen Perfusionsdarstellung von Lappenplastiken verwendet (Holzbach et al. 2012, Green et al. 2015).

In der Herzchirurgie wurde die Technologie bereits am Schweinmodell zur intraoperativen Visualisierung des Blutflusses in Koronargefäßen und Bypässen angewandt (Detter et al. 2002). Zudem zeigten Detter et al., dass die FA zur Quantifizierung der Myokardperfusion geeignet ist (Detter et al. 2007, 2018).

Auch in der Viszeralchirurgie gibt es bereits Anwendungsgebiete. Zehetner et al. veröffentlichten 2015 eine klinische Studie zur intraoperativen Anwendung der Fluoreszenzangiographie in der Ösophaguschirurgie. Die angefertigten Angiographien wurden retrospektiv ausgewertet, dabei konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Anastomoseninsuffizienzen und der fluoreszenzangiographisch dargestellten Perfusion des Neoösophagus gezeigt werden (Zehetner et al. 2015). In einer Metaanalyse der ersten Veröffentlichungen zu dieser Thematik zeigte sich durch den Einsatz der FA eine Risikoreduktion des Auftretens von Anastomoseninsuffizienzen von 69% (Ladak et al. 2019).

1.6 ICG in der Darmchirurgie

Anastomoseninsuffizienzen sind mit einem Auftreten bei 5-19% der Operationen in der kolorektalen Chirurgie eine häufige Komplikation (McDermott et al 2015). Die Fluoreszenzangiographie wurde im Hinblick auf diese Problematik bereits mit Erfolg in einigen klinischen Studien angewandt. Der Schwerpunkt dieser Studien lag auf der Überprüfung der Perfusionsverhältnisse an den Resektionsgrenzen. Die FA wurde hier jedoch nicht quantifiziert, sondern lediglich subjektiv genutzt (Kudszus et al. 2010, Jafari et al. 2013, Ris et al. 2014, Boni et al. 2015).

Kudszus et al konnten in ihrer Studie durch den Einsatz einer FA mit ICG die Rate der auftretenden Anastomoseninsuffizienzen im Vergleich zur Kontrollgruppe um 60% senken (Kudszus et al. 2010). Die anderen oben genannten Studien zeigten ähnliche Tendenzen.

In einigen tierexperimentellen Studien untersuchten Diana et al. 2014 am Schweinmodell die Fluoreszenzangiographie bereits hinsichtlich ihres Nutzens

bei der Festlegung von Resektionsrändern im Rahmen einer mesenterialen Ischämie. Sie zeigten mit Hilfe von lokalen Laktatwerten als Marker für die Ischämie und der damit einhergehenden lokalen Hypoxie, dass die Auswahl der Resektionsgrenzen nach klinischen Kriterien gegenüber der Fluoreszenzangiographie mit ICG unterlegen ist (Diana et al 2014a, Diana 2014b, Diana 2014c).

2015 veröffentlichten sie eine Überlebensstudie, in welcher sie ihre vorherigen Studienergebnisse anwandten (Diana et al 2015). Die Technologie wurde in allen vorliegenden Studien nur eingesetzt, um ischämisches Gewebe von normal perfundiertem Gewebe abzugrenzen. Zum aktuellen Zeitpunkt gibt es jedoch keine Studien am Großtiermodell, welche die Evaluation der Darmvitalität nach Ischämie und anschließender Reperfusion mittels FA thematisieren.

Toens et al. haben in einem Hasenmodell zwar eine mesenteriale Ischämie mit anschließender Reperfusion untersucht, die Ischämiezeit beträgt hier jedoch lediglich 60 Minuten und ist somit nicht auf die Klinik übertragbar. In ihrer Studie fordern sie schlussfolgernd Versuche mit einer längeren Ischämiezeit (Toens et al. 2006).

1.7 Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Fluoreszenzangiographie mit Indocyanin Grün als Möglichkeit zur intraoperativen, objektiven Evaluation der Darmvitalität bei der mesenterialen Ischämie zu untersuchen. Der Schwerpunkt liegt hierbei auf der visuellen, qualitativen und quantitativen Evaluation von Darmarealen nach klinisch relevanten Ischämiezeiten und anschließender Reperfusion.

Die folgenden Fragestellungen sollen in dieser Arbeit diskutiert werden:

- Kann eine mesenteriale Ischämie mittels FA detektiert werden?
- Wie wird die Gewebsreperfusion nach unterschiedlichen Ischämiezeiten in der Fluoreszenzangiographie dargestellt?
- Kann die Fluoreszenzangiographie nach Reperfusion mit der Perfusion und den histologischen Befunden korreliert werden?
- Kann anhand des Fluoreszenz – und des Restfluoreszenzmusters – mit der FA eine Aussage über die Gewebeschädigung getroffen werden?
- Können anhand berechneter Parameter aus der Fluoreszenzintensitätskurve im Sinne einer Quantifizierung Aussagen über die Darmvitalität getroffen werden?

2 Material und Methoden

2.1 Versuchskonzept

Zur Validierung der FA für die mesenteriale Perfusion wurden Versuche an 18 Schweinen durchgeführt.

Das Protokoll sah drei Versuchsgruppen vor, welche sich in der Dauer der Ischämiephase unterschieden:

- Gruppe 1 (n=7): 3 Stunden Okklusion
- Gruppe 2 (n=7): 6 Stunden Okklusion
- Gruppe 3 (n=4): 10 Stunden Okklusion

Kernpunkt der Versuche waren Fluoreszenzangiographien mit Indocyanin Grün zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Diese Angiographien wurden während der Versuche digital archiviert und nachträglich ausgewertet. Zusätzlich wurden die lokale Gewebsoxygenierung, eine makroskopische Evaluation sowie der Blutfluss der jeweiligen Segmentarterie gemessen. Während der gesamten Versuchszeit erfolgte eine kontinuierliche Überwachung der hämodynamischen und respiratorischen Parameter. Zudem wurden regelmäßige Blutgasanalysen durchgeführt. Nach Versuchsende erfolgte die Entnahme von Darmgewebe zur histologischen Untersuchung.

2.2 Versuchstiere

Für die Versuche wurde das deutsche Hausschweine (*Sus scrofa domestica*) genutzt. Die Anatomie ist hinsichtlich der Organe mit dem Menschen vergleichbar und daher ist das Tier für diese Versuche geeignet.

Alle Tiere stammten aus der Fokken Schweinehaltungs KG in Schmalfeld. Um eine ausreichend lange Eingewöhnungsphase an den Stall und die Umgebung zu gewährleisten, trafen die Tiere mindestens eine Woche vor Beginn der Versuche ein. Sie wurden nicht antibiotisch vorbehandelt. Die Versuchstierhaltung des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf übernahm die Pflege und Fütterung der Tiere.

Alle Versuche erfolgten unter Einhaltung des Tierschutzgesetzes (TierSchG) vom 24.07.1972 mit der letzten Änderung am 28.07.2014 und unter Kontrolle der zuständigen Ethikkommission.

2.3 Das Fluoreszenzangiographiesystem

Das in unseren Versuchen verwendete Fluoreszenzangiographiesystem wurde bereits im Voraus durch Mitglieder unserer Forschungsgruppe etabliert (Detter et al. 2007).

Die Hauptbestandteile des Systems sind eine infrarotempfindliche Charged-couple device Videokamera mit einem optischen Bandbreitenfilter für Licht einer Wellenlänge von 830nm sowie Laserdioden mit einer Wellenlänge von 785nm und einer Gesamtleistung von 80mW.

2.3.1 Ablauf einer Fluoreszenzangiographie

Vor dem Applizieren von ICG wurde die FA zunächst vorbereitet. Die Hämodynamik sollte stabil sein, das zu fluoreszierende Zielgebiet wurde im Bildbereich der Kamera drapiert. Bei der Ausrichtung der Kamera wurde ein gleichbleibender Abstand der Kamera zum Zielgebiet von etwa 25cm eingehalten.

Nach Applikation von 0,02mg/kg KG ICG Lösung (ICG-Pulsion, Pulsion Medical Systems SE, Feldkirchen) und Nachspülen mit 10ml Kochsalzlösung über eine periphere Venenverweilkanüle erfolgt eine Aufnahme über 120 Sekunden.

Das applizierte ICG wird dabei durch die Laserdioden zur Fluoreszenz angeregt. Die dabei entstehenden Emissionen werden durch die infrarotempfindliche Kamera mit spezifischem Filter aufgenommen. Die digitale Auswertung der aufgenommenen Angiographien erfolgte zu einem späteren Zeitpunkt.

2.4 Die Gewebsoxygenierung

Zur Bestimmung der Gewebsoxygenierung der verschiedenen Darmareale wurden zwei Messsonden (Licox Brain Tissue Oxygen Monitoring, Integra, GMS – Gesellschaft für medizinische Sondentechnik mbH, Mielkendor) intramural über eine 20 Gauge Venenverweilkanüle (B.Braun Melsungen AG, Melsungen) in die Darmwand eingebracht. Hierüber erfolgte kontinuierlich die Messung des Sauerstoffpartialdrucks im Gewebe (tPO_2) in mmHg. In *Abbildung 1* ist eine intramural eingebracht Messsonde abgebildet. In *Abbildung 2* ist die zugehörige Hardware, auf welcher die entsprechenden Messwerte abzulesen sind, abgebildet.



Abbildung 1: Intramural einliegende Messsonde



Abbildung 2: Tissue Oxygen Pressure Monitor

2.5 Flussmesssonde

Die Blutflussmessung mit Hilfe von Flussmesssonden (CardioMed Flowmeter, MediStim AS, Oslo, Norwegen) wurde ebenfalls schon in Versuchen von Mitgliedern der Forschungsgruppe angewandt (Detter et al. 2007).

Die Flussmesssonden messen den Blutfluss des Gefäßes mittels der Transit-Time-Flow-Measurement (TTFM) Methode. Dabei wird die zeitliche Differenz zweier Ultraschallsignale genutzt. Eines der Signale wird in Richtung des Blutflusses gesandt, das zweite in die entgegengesetzte Richtung. Da die zeitliche Differenz proportional zu der durchgeflossenen Menge ist, kann hieraus die durchgeflossene Blutmenge berechnet werden (Wipper 2006).

Für die exakte Messung des aktuellen Blutflusses einer Arterie muss diese zunächst sorgfältig freipräpariert werden. Anschließend wird die Flussmesssonde in der passenden Größe ausgewählt und am Gefäß platziert. Der Blutfluss kann nun am Monitor im Milliliter pro Minute abgelesen werden. Zudem wird eine Pulskurve angezeigt (siehe *Abbildung 5*).

2.6 Makroskopische Bewertung

Zu den unterschiedlichen Versuchszeitpunkten wurden die Darmareale makroskopisch bewertet. Wir verwendeten dafür ein selbst entwickeltes Bewertungssystem, welches folgende Kriterien beinhaltete: Farbe, Peristaltik, Ödementwicklung und Hämorrhagien im Mesenterium. Dabei wurden je nach Kriterium mindestens 1 bis maximal 5 Punkte vergeben. Zuletzt wurde ein Mittelwert aus dem Gesamtscore gebildet. In Tabelle 1 ist das Bewertungssystem dargestellt.

Tabelle 1: Makroskopie-Bewertungssystem

Farbe	Peristaltik	Ödembildung	Hämorrhagien*
1 = rosig	1 = normal	1 = keine	1 = keine
2 = blass	2 = vermindert	2 = moderat	2 = moderat
3 = bläulich	3 = spärlich	3 = stark	3 = stark
4 = livide	4 = keine		
5 = schwarz			

**im Mesenterium*

2.7 Narkose und Medikation

Die Prämedikation am nüchternen Schwein erfolgte im Stall durch eine intramuskuläre Injektion von 7ml (100mg/ml) Ketamin, 7ml (40mg/ml) Azaperon (Stresnil, Lilly Deutschland GmbH, Bad Homburg), 1ml (0,5mg/ml) Atropinsulfat (B.Braun Melsungen AG, Melsungen) und 3ml (5mg/ml) Midazolamhydrochlorid (Dormicum, Roche Pharma AG, Grenzach-Wyhlen) in die Nackenmuskulatur. Im Anschluss daran wurde eine Venenverweilkanüle in die Ohrvene gelegt und darüber 2-3ml (10mg/ml) Propofol (Propofol-Lipuro, B.Braun Melsungen AG, Melsungen) injiziert. Bei ausreichend tiefer Sedierung wurde das Tier mit einer Trage in den Großtieroperationssaal transportiert.

Dort erfolgte vor der Umlagerung auf den Operationstisch die Verabreichung von 2,5ml (500mg/ml) Metamizol (WDT, Garbsen). Nach der Umlagerung folgte die umgehende Fixierung in Rückenlage und eine zügige Tracheotomie mit anschließender endotrachealer Intubation (7,5F Tubus). Kurz darauf wurden 2ml (2mg/ml) Procuronium (Actavis, Luxemburg) appliziert. Die Beatmung erfolgt druckkontrolliert bei einem PEEP von 7mmHg und einer Atemfrequenz von 12-16 Hüben/min. Dabei wurde eine inspiratorische Sauerstofffraktion (FiO_2) von 30% gewählt, der maximale inspiratorische Druck lag zwischen 20 und 24mmHg.

Die Narkose wurde während der Versuche über zwei Perfusoren mit 50ml Perfusorspritze aufrechterhalten. Ein Spritze wurde mit 20 ml (0,0785mg/ml) Fentanylidihydrogencitrat (Fentanyl-Janssen, Janssen-Cilag GmbH, Neuss, Deutschland) 12ml Midazolamhydrochlorid, 5ml Ketamin und Natriumchloridlösung 0,9% (Braun) aufgezoogen und mit einer Laufrate von 15-20ml/h infundiert. Die zweite Perfusorspritze gefüllt mit Propofol lief mit einer Laufrate von 15ml/h.

Die Versuchstiere wurden während der gesamten Versuchsdauer auf Wärmedecken gelagert, um eine Hypothermie zu verhindern.

Über Venenverweilkanülen in den Bauchvenen wurde intraoperativ Natriumchloridlösung 0,9% (B.Braun Melsungen AG, Melsungen), Voluven 6% (B.Braun Melsungen AG, Melsungen) und Ringer-Acetat-Lösung (B.Braun Melsungen AG, Melsungen) zum Volumenausgleich und zur hämodynamischen Stabilisierung des Versuchstiers infundiert. Zu Beginn der operativen Maßnahmen wurden 150mg Amiodaron (Cordarex, Sanofi-Aventis Deutschland

GmbH, Frankfurt am Main) in 100ml 5%tiger Glukoselösung sowie 0,5ml (100mg/ml; 10000IE/ml) Enoxaparin-Natrium (Clexane, Sanofi-Aventis Deutschland GmbH, Frankfurt am Main) intravenös verabreicht.

2.8 Instrumentierung

Initial wurde rechtsseitig die Arteria carotis communis präpariert und mit Ligaturen (2-0 Vicryl, Saturpak, Ethicon) umschlungen. Kranial erfolgte eine Ligierung, kaudal wurde eine 4F Schleuse eingebracht und fixiert. Selbiges Vorgehen wurde bei der Vena jugularis interna angewandt, um einen zentralen Venenkatheter einzubringen. Beide Zugänge wurden jeweils an einen Druckmesssensor (Infinity Hemo4, Drägerwerk AG &Co. KGaA, Lübeck) angeschlossen, um den zentralvenösen Druck (ZVD), sowie den arteriellen Mitteldruck (MAD), kontinuierlich zu messen.

Des Weiteren wurde die linke Arteria femoralis präpariert, distal mittels einer 2-0 Vicryl-Ligatur verschlossen und proximal mit einem Vesselloop umschlungen. Nach Inzision mittels Pott'scher Schere wurde ein arterieller 4F Katheter mit integriertem Thermistor eingeführt. Über diesen erfolgte während der Versuche mit Hilfe eines Pulse Contour Cardiac Output-System (PiCCO, Pulse Medical Systems, München, Deutschland) die Überwachung der Hämodynamik. Dabei wurden Herzzeitvolumen (HZV), mittlerer arterieller Druck (MAD), Herzfrequenz (HF), Herzindex (HI), systemischer Gefäßwiderstand (SVR), globales enddiastolisches Volumen (GEDV) und der systolische sowie der diastolische Blutdruck kontinuierlich gemessen und dokumentiert.

2.9 Chirurgisches Vorgehen

Bei hämodynamisch stabiler Gesamtsituation wurde unter gewissenhafter Blutstillung eine mediane Laparotomie durchgeführt. Zunächst erfolgte die Exploration der Abdominalhöhle auf etwaige Besonderheiten. Anschließend wurde ein transmuraler Blasenkateter eingebracht, welcher mittels einer U-Naht mit 3-0 Vicryl-Faden fixiert wurde. Danach wurde das terminale Ileum aufgesucht und dessen letzte Schlinge vom Caecum separiert.

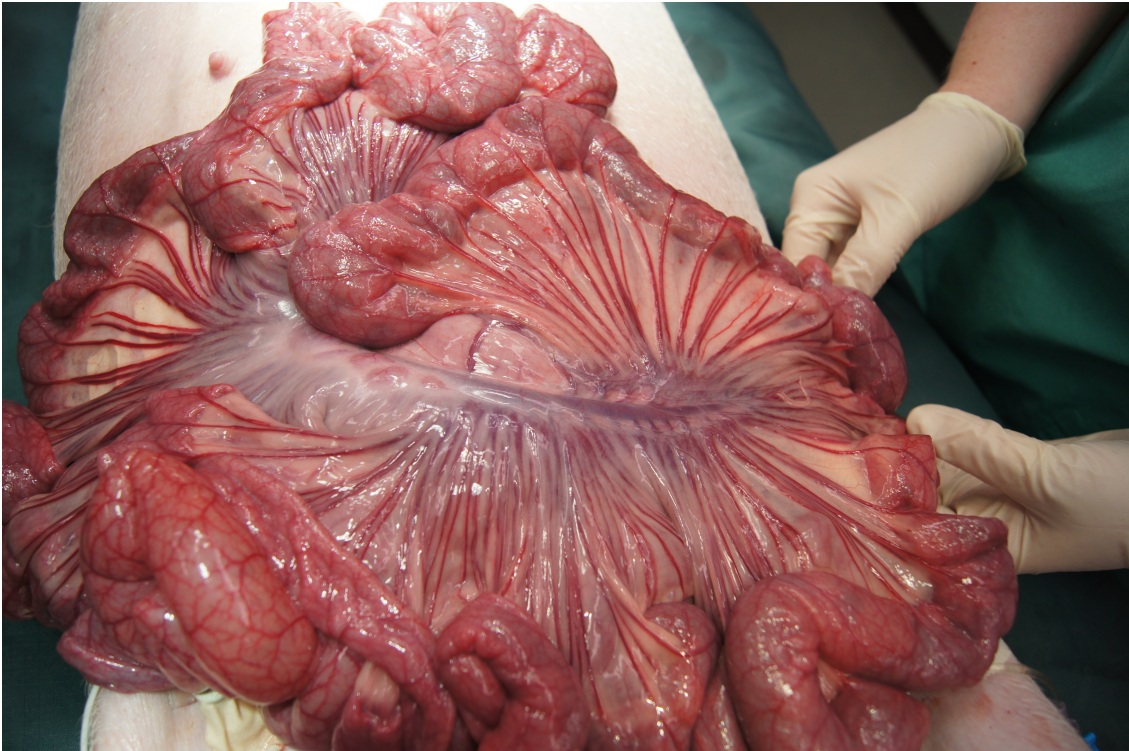


Abbildung 3: Ausgebreitetes terminales Ileum

Das versorgende Gefäß als letzter Ast der AMS wurde peripher palpirt und 15cm nach proximal verfolgt. Dort wurde die Arterie auf einer Strecke von etwa 4cm freigelegt und untertunnelt, um an dieser Lokalisation später Gefäßklemmen zur Okklusion anzubringen. Zudem wurden die Kollateralgefäße, welche das Mesoileum beim Schwein zahlreich durchziehen, auf Höhe der späteren Okklusionsstelle ligiert. Die Induktion einer erfolgreichen Mesenterialschämie im Schweinemodell wurde in einer Pilotstudie etabliert.

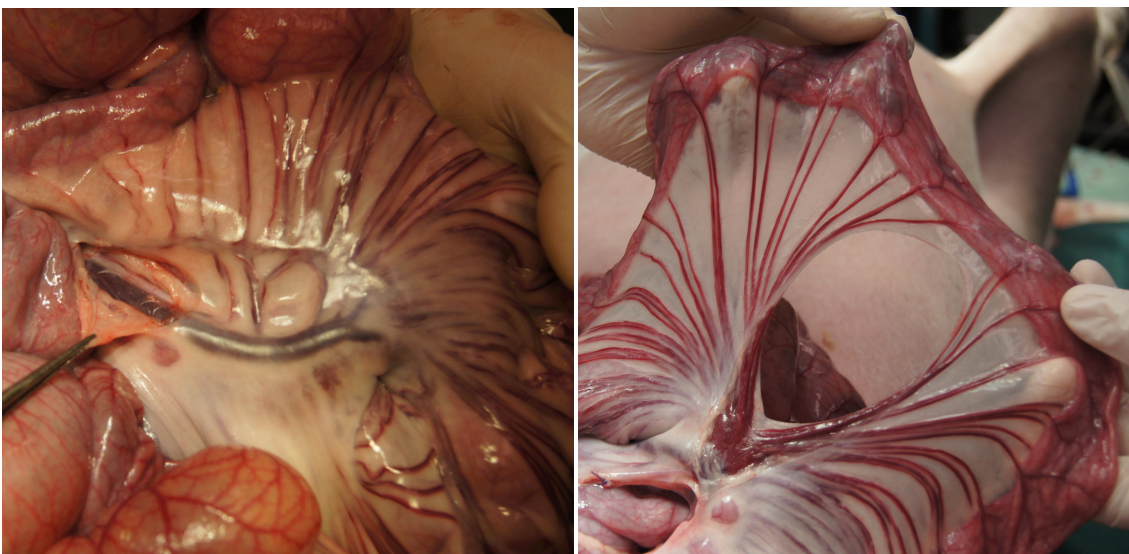


Abbildung 4: Präparierte Gefäße (a) und durchtrennte Kollateralgefäße (b)

2.10 Versuchsprotokoll

Die Versuche können in drei Abschnitte unterteilt werden:

- Präparation und Baseline-Messung
- Ischämiephase
- Reperfusion

Jeder der Versuchsabschnitte unterlag einer ständigen Kontrolle der Hämodynamik, der respiratorischen Parameter und der Blutgase. Die Blutentnahme erfolgte über die bereits liegenden Zugänge in den Halsgefäßen. Die dokumentierten Parameter und Zeitpunkte der Dokumentation können den Tabelle 2 bis 4 entnommen werden. Des Weiteren erfolgte zum selbigen Zeitpunkte eine Fotodokumentation, die Dokumentation der lokalen Gewebsoxygenierung und die makroskopische Bewertung.

Tabelle 2: Hämodynamikprotokoll drei Stunden Ischämie

Zeitpunkt	MAD	HZV	HF	RRsys	RRdia	HI	SVR	GEDV	ZVD
Baseline									
1h Okklusion									
2h Okklusion									
3h Okklusion									
Reperfusion									
15 min									
30 min									
45 min									
60 min									

MAD = mittlerer arterieller Druck; HZV = Herzzeitvolumen ; HF = Herzfrequenz; RRsys = systolischer Blutdruck; RRdia = diastolischer Blutdruck; HI = Herzindex, SVR = systemic vascular resistance; GEDV = globales enddiastolisches Volumen; ZVD = zentralvenöser Druck

Tabelle 3: Beatmungsprotokoll drei Stunden Ischämie

Zeitpunkt	AF	PEEP	fiO_2	AHV	P_{max}
Baseline					
1h Okklusion					
2h Okklusion					
3h Okklusion					
Reperfusion					
15 min					
30 min					
45 min					
60 min					

AF = Atemfrequenz; PEEP = positiv end-expiratory pressure; fiO_1 = fraction of inspired oxygen; AHV = Atemhubvolumen; P_{max} = maximaler inspiratorischer Druck

Tabelle 4: BGA-Protokoll drei Stunden Ischämie

Zeitpunkt	pO_2	pCO_2	pH	Hb	K^+	Lac_a	Lac_v	SvO_2	HCO_3	Hkt
Baseline										
1h Okklusion										
2h Okklusion										
3h Okklusion										
15 min										
30 min										
45 min										
60 min										

pO_2 = Sauerstoffpartialdruck; pCO_2 = Kohlenstoffdioxidpartialdruck; Hb = Hämoglobin; Lac_a = arterielles Laktat; Lac_v = venöses Laktat; SvO_2 = zentralvenöse Sauerstoffsättigung; Hkt = Hämatokrit

Im Folgenden werden die Versuchsabschnitte erläutert und das jeweilige Vorgehen dargelegt.

2.10.1 Baseline-Messung

Die Baseline-Messung erfolgte nach Beendigung der Präparation. Kernpunkt der Baseline-Messung war die Injektion von 0,02mg/kg KG ICG-Lösung (ICG-Pulsion, Pulsion Medical Systems SE, Feldkirchen) und die digitale Archivierung der Fluoreszenzaufnahmen, welche über das in 2.3 beschriebene Fluoreszenzangiographiesystem aufgenommen wurden. Dabei wurden drei Darmareale gemäß ihrer zu erwartenden Perfusionverhältnisse als Region of Interest (ROI) definiert: D1 - ischämisch, D2 - Übergangszone, D3 - gesund. Zudem wurde der Fluss auf der präparierten Arterie mittels TTFM bestimmt. Zusätzlich wurden zwei der bereits in 2.4 beschriebenen Messsonden in die Darmwand eingebracht. Eine Sonde wurde intramural im gesunden Areal D3 platziert, die zweite lag in der Wand des ischämischen Darmabschnitts D1.

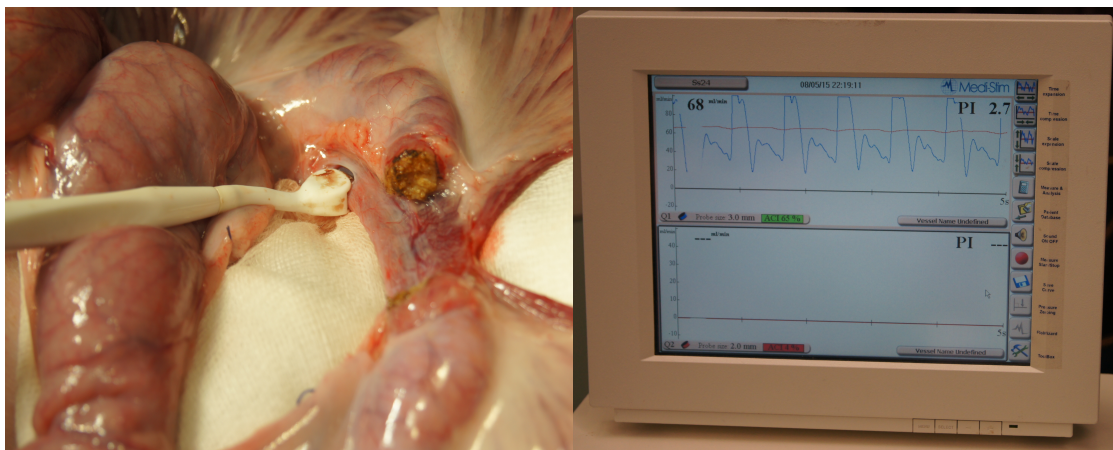


Abbildung 5: Die Flussmesssonde ist zur Baseline-Messung an der Arterie platziert (a); Der Fluss wird als Kurve auf einem Monitor abgebildet (b)

Nach Beendigung der Baseline-Messung wurde das Gefäß mittels zweier Gefäßklemmen okkludiert und die Darmschlingen mit warmen, feuchten Bauchtüchern abgedeckt.

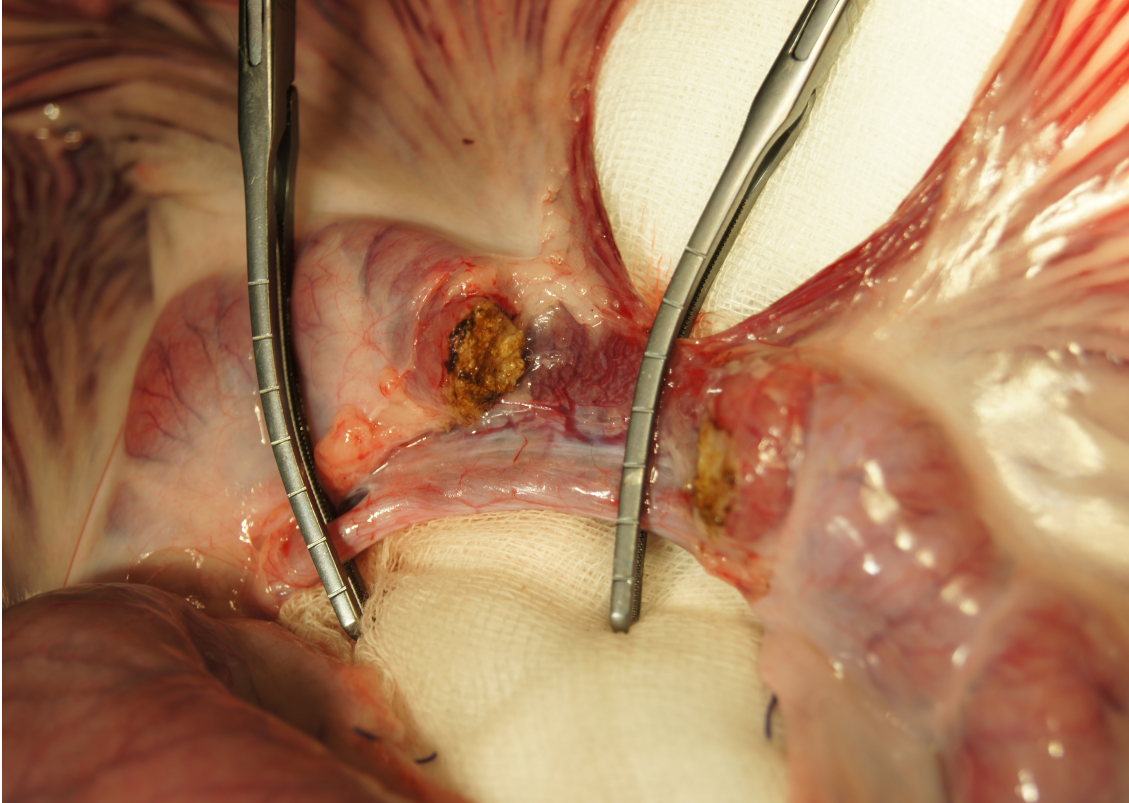


Abbildung 6: Okklusion des letzten Astes der Arteria mesenterica superior mittels Gefäßklemmen

2.10.2 Ischämiephase

In der Ischämiephase erfolgte die Dokumentation der Parameter wie in 2.10 beschrieben.

30 Minuten vor Ablauf der angestrebten Okklusionszeit wurde eine Fluoreszenzangiographie der drei ausgewählten Darmareale vorgenommen, um die Perfusionsverhältnisse zu diesem Zeitpunkt darzustellen.

2.10.3 Reperfusion

Nach Ablauf der Okklusionszeit wurden die Gefäßklemmen geöffnet und der Peak Flow der Flussmesssonden dokumentiert. Fünf Minuten nach Reperfusion erfolgte eine weitere Fluoreszenzangiographie mit ICG-Lösung.

Danach erfolgte im Abstand von jeweils 15 Minuten die Bestimmung der Restfluoreszenzintensität. Diese wird durch eine kurze Aufnahme mittels der Kamera bestimmt. Dabei erfolgte jedoch keine erneute Applikation von ICG.

Am Ende der Versuche wurde die Länge des infarzierten Darmareals ausgemessen.

2.11 Histologie

Nach Ablauf der Versuche wurden aus den drei vorher ROIs Proben zur histologischen Aufarbeitung entnommen. Kurz vor der Überführung in Formalinaldehydlösung (4%) wurde nochmals die Restfluoreszenz der entnommenen Proben bestimmt.

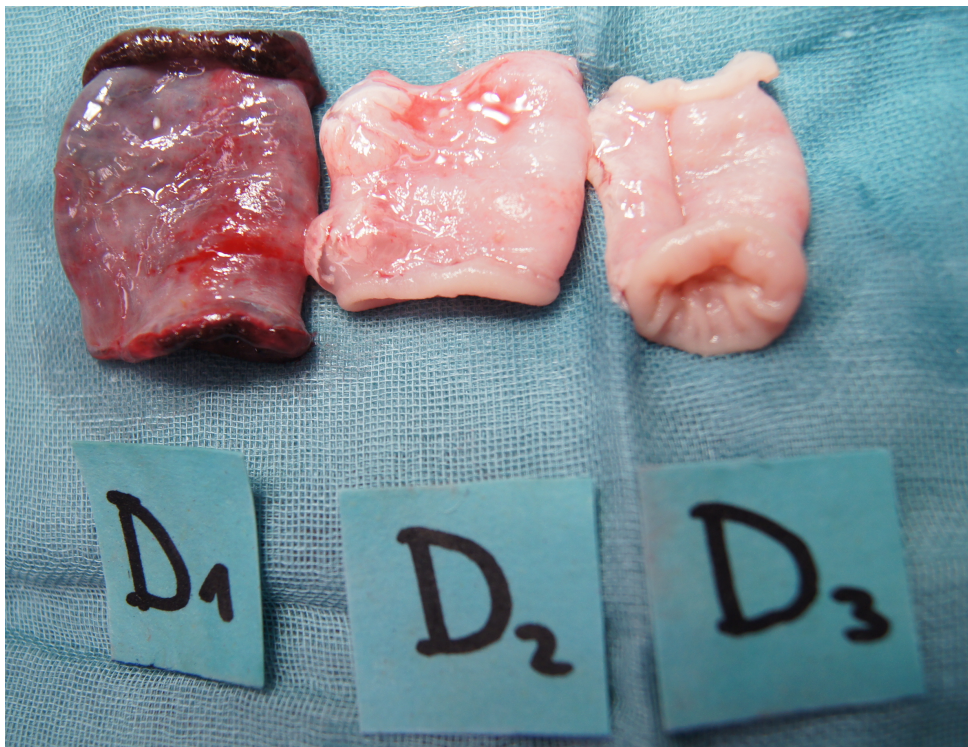


Abbildung 7: Exzidierte Proben für die histologische Untersuchung der verschiedenen Darmareale nach zehn Stunden Okklusion und 1 Stunde Reperfusion (D1=ischämisch, D2=Übergangsbereich, D3=gesund)

Die Proben wurden in Paraffin eingebettet, mit einem Mikrotom $4\mu\text{m}$ dünn geschnitten und anschließend auf einen Objektträger gezogen. Für die Übersichtsfärbung wurde eine Hämatoxylin/Eosin Färbung ausgewählt. Anschließend erfolgte die verblindete Evaluation der Schnitte mittels eines Scoring-Systems hinsichtlich des Schadens, welchen das Gewebe durch die Ischämie genommen hat. Das gewählte Scoring-System wurde im Jahre 1970 von Chiu et al. etabliert und ist in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Histologie-Score

Grad	Mukosa	Lamina propria
0	Normale Zotten	Normal
1	Entwicklung von subendothelialen Räumen (Grünhagen's spaces)	Normal
2	Moderates Abheben des Epithels von der Lamina propria	Normal
3	Massives Abheben des Endothels auch an den Seiten der Zotten; einige Zottenspitzen freigelegt	Vereinzelte Hämorrhagien
4	Freigelegte Zotten	Hämorrhagien; vermehrte Zellzahl
5	Freigelegte Zotten	Digestion; Desintegration; Ulzeration

Nach Chiu et al. 1970

2.12 Auswertung der Fluoreszenzangiographie

Die Auswertung der digitalisierten Fluoreszenzangiographien erfolgte mittels „Meteoarchive VCL LLS Fluoreszenzangiographie V 1.0“. Mit dieser Software können die aufgenommenen Fluoreszenzangiographien wiedergegeben und gleichzeitig analysiert werden. Die Darstellung der Intensität erfolgt über unterschiedliche Graustufen der einzelnen Pixel.

In dem Programm können sogenannte „regions of interest“ (ROI) ausgewählt werden. Diese ROIs sind kleine Quadrate von 33 x 33 Pixel, welche an beliebigen Positionen auf dem Monitor platziert werden können. Während des Abspiels werden in diesen ROIs die Intensitäten der einzelnen Pixel gemessen, deren Mittelwerte dann in Form eines Graphen in Abhängigkeit von der Zeit dargestellt werden.

Die Kamera hat einen vorher festgelegten Bildausschnitt, das zu untersuchende Areal bewegt sich jedoch durch die Atemexkursion und Peristaltik. Deshalb ist beim Setzen der ROIs darauf zu achten, dass diese während der gesamten Auswertung nicht Bereich eines Gefäßes platziert werden und stetig in dem zu messenden Gebiet liegen.

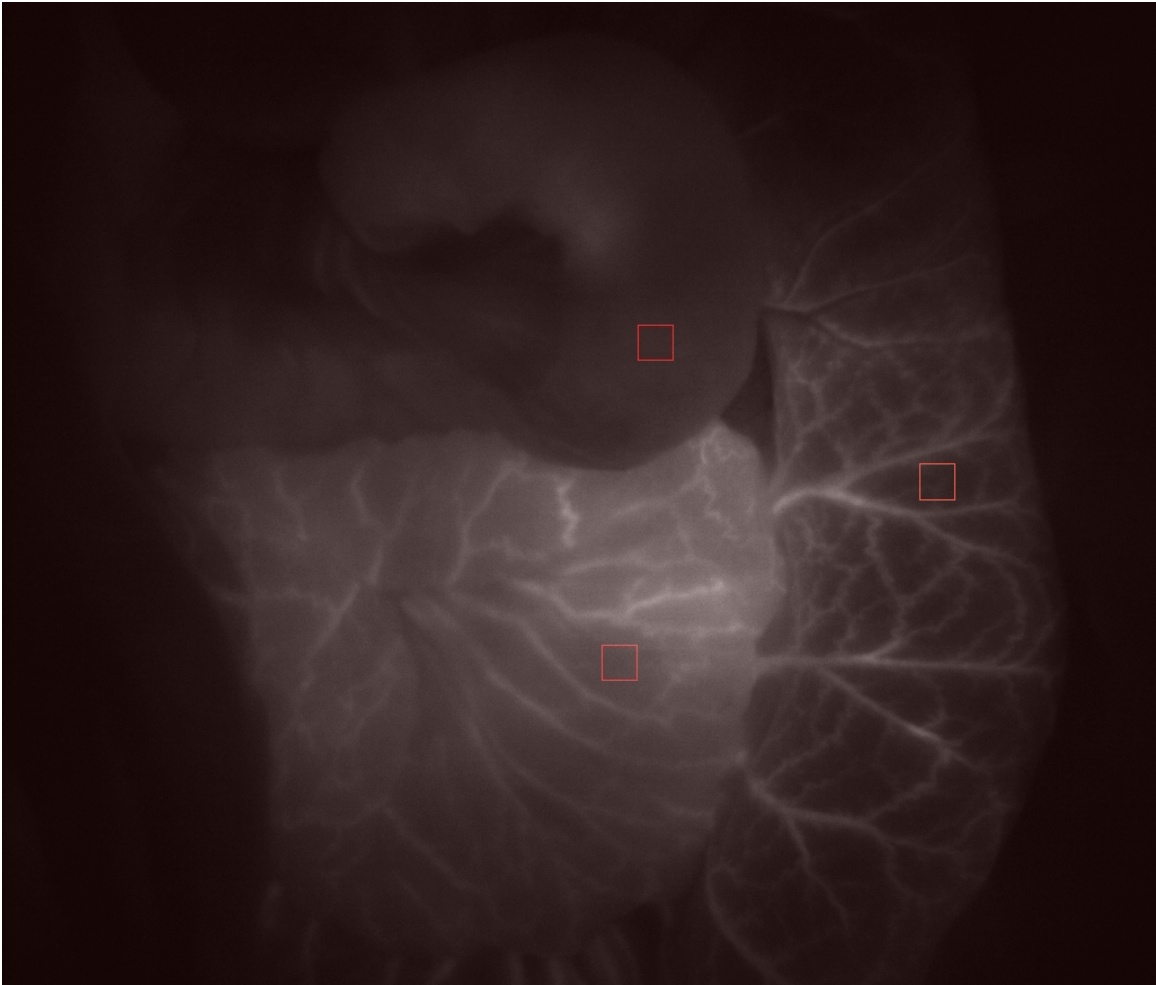


Abbildung 8: Fluoreszenzangiographie des Darm zum Zeitpunkt "Okklusion" mit den drei Arealen D1 (oben), D2 (rechts) und D3 (unten) mit jeweils einem ROI nach drei Stunden Ischämie. (D1=Ischämisch, D2=Übergangsbereich, D3=gesund)

Um die Perfusionsverhältnisse zu quantifizieren, haben wir zwei Werte herangezogen, welche aus der vorausgegangenen Auswertung berechnet werden können.

Der erste berechnete Wert ist die „background-subtracted-fluorescence-intensity“ (BSFI). Dazu haben wir maximale Fluoreszenzintensität einer ROI bestimmt. Anschließend wurde Hintergrundintensität subtrahiert, um die Restfluoreszenz vorausgegangener ICG-Injektionen zu berücksichtigen. Somit kann durch die BSFI das aktuelle Fluoreszenzmaximum bestimmt werden.

Der zweite Wert, welcher analysiert wurde, ist die „slope of fluorescence intensity“ (SFI) nach Injektion von ICG. Dieser Wert beschreibt vornehmlich die Dynamik des Anstiegs der Fluoreszenzintensität. Dafür wurde der steigende Bereich des Graphen separiert und hier die Funktion der Trendlinie eingefügt.

Die Steigung dieser Funktion entspricht der SFI. Somit beschreibt die SFI den Anstieg der Fluoreszenzintensität pro Zeiteinheit.

Die beiden Parameter zur Quantifizierung der Fluoreszenzangiographie wurden bereits durch Mitglieder unserer Arbeitsgruppe zu Untersuchung anderer Fragestellungen etabliert (Wipper 2006). Die Bestimmung der Werte ist in *Abbildung 9* veranschaulicht.

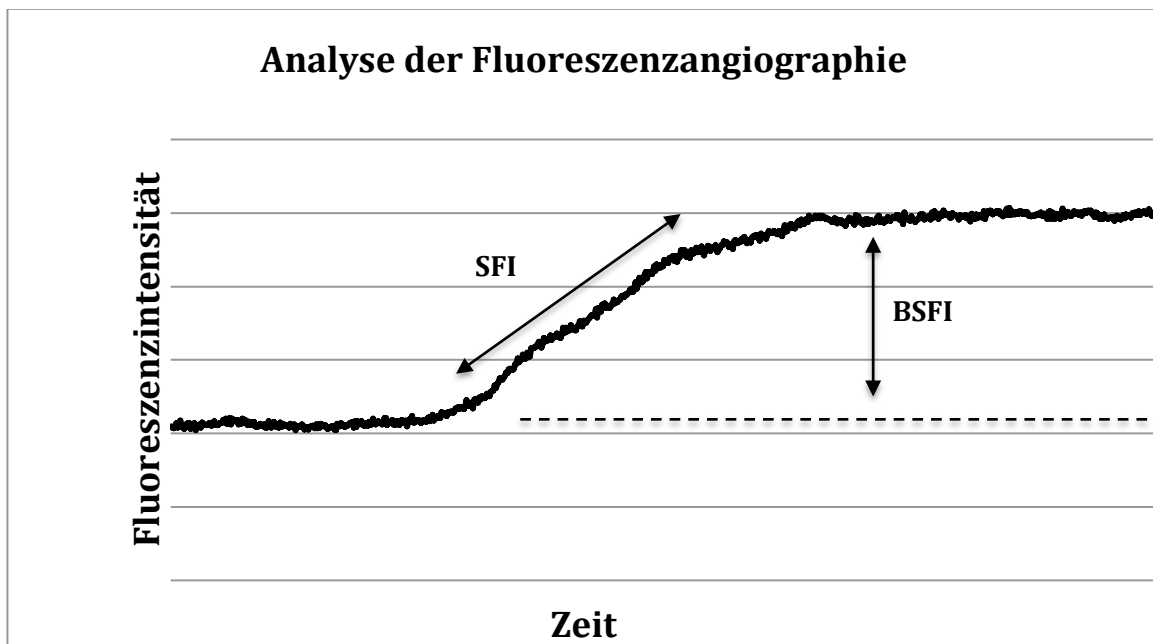


Abbildung 9: Schema zur Auswertung der Fluoreszenzangiographie (SFI = slope of fluorescence intensity; BSFI = background subtracted fluorescence intensity)

Zur besseren Darstellung und Auswertung haben wir zudem die SFI-Ratio und die BSFI-Ratio gebildet. Dazu wurden die berechneten Werten der Zeitpunkte „Okklusion“ und „Reperfusion“ ins Verhältnis zum Baselinewert gesetzt.

2.13 Statistische Auswertung

Die bestimmten Werte wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung aufgeführt. Zur Minimierung der statistischen Schiefe und Varianzheterogenität wurden die BSFI, die SFI sowie deren Ratios in den Logarithmus transformiert.

Die Daten wurden dann gemischten Modellanalysen unterzogen, um wiederholte Messungen bei Tieren zu berücksichtigen.

Für die abhängigen Variablen SFI und BSFI haben wir zunächst Modelle mit fixen Effekten von Gruppe, Fläche, Zeit und Areal nach Zeit angepasst. Dabei wurden wiederholte Messungen über die Zeit innerhalb der Tier-für-Tier-Bewertung berücksichtigt. Für die abhängige Variable tpO_2 wurden feste Auswirkungen von Gruppe, Areal, Zeit und Areal nach Zeit getestet, wobei wiederholte Messungen über die Zeit innerhalb eines Areas eines Tier berücksichtigt wurden.

Für die abhängige Variable "Fluss" und die hämodynamischen abhängigen Variablen HZV, HF MAP, SVR und GEDV wurde ein fester Effekt für die Zeit eingestellt und wiederholte Messungen über die Zeit im Tier berücksichtigt. Bedingungen mit nicht signifikantem Effekt wurden durch einen hierarchischen „step-backwards“ Ansatz von den Modellen ausgeschlossen. Für wiederholte Messungen wurde eine autoregressive Kovarianzstruktur verwendet, während eine Kovarianzstruktur mit Varianzkomponenten zum Schätzen zufälliger Achsabschnitte verwendet wurde. Die Zeit wurde als kategorische Variable behandelt. Ein Wert von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen. Die statistische Analyse wurde mit dem SPSS-Softwarepaket 23.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt.

2.14 Euthanasierung

Am Ende der Versuche wurden die Tiere in tiefer Narkose durch die intravenöse Injektion von Embutramid (T 61) euthanasiert.

3 Ergebnisse

Im folgenden Abschnitt werden die Ergebnisse dieser Arbeit vorgestellt und tabellarisch dargestellt.

3.1 Hämodynamik

Die Hämodynamik wurde über die gesamte Versuchszeit mittels PiCCO beobachtet und zu festgelegten Zeitpunkten dokumentiert. Dabei wurden folgende Parameter ausgewählt:

- Herzzeitvolumen und Herzfrequenz
- Blutdruck
- Systemischer Gefäßwiderstand
- Globales enddiastolisches Volumen

Diese sind im Nachfolgenden tabellarisch dargelegt und durch einige Graphiken veranschaulicht.

3.1.1 Herzzeitvolumen und Herzfrequenz

Die dargestellten Werte wurden während der Versuche zu den vorgesehenen Zeitpunkten mittels PiCCO gemessen und dokumentiert.

Insgesamt sind die Herzzeitvolumina während der Versuche relativ konstant und zeigen keine starken Veränderungen über die gesamte Versuchsdauer. In Gruppe 1 liegt der Baselinewert bei $5,6 \pm 1,5$ l/min und nach der Reperfusion bei $5,4 \pm 0,8$ l/min. Dazwischen sind keine großen Veränderungen auszumachen. Gruppe 2 zeigt ähnliche Tendenzen. Der Baselinewert liegt hier bei $5,8 \pm 1,0$ l/min und der Wert nach 60 Minuten Reperfusion bei $5,6 \pm 0,9$ l/min. In Gruppe 3 liegt der Baselinewert bei $7,4 \pm 1,6$ l/min und sinkt während der Versuche bis $4,6 \pm 0,4$ l/min nach 10 Stunden Ischämie ab. Nach der Reperfusion steigt das HZV jedoch wieder $5,5 \pm 1,8$ l/min an. Die Mittelwerte sind mit Standardabweichung in Tabelle 6 dargestellt.

Tabelle 6: Herzzeitvolumen als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion HZV [l/min]	6h Okklusion HZV [l/min]	10h Okklusion HZV [l/min]
Baseline	$5,6 \pm 1,5$	$5,8 \pm 1,0$	$7,4 \pm 1,6$
1h Okklusion	$5,7 \pm 1,7$	$5,7 \pm 0,8$	$6,5 \pm 1,4$
2h Okklusion	$5,2 \pm 1,5$	$6,4 \pm 2,2$	$7,2 \pm 2,2$
3h Okklusion	$5,6 \pm 1,6$	$6,1 \pm 2,6$	$5,8 \pm 1,1$
4h Okklusion	_____	$5,7 \pm 1,4$	$5,5 \pm 0,5$
5h Okklusion	_____	$5,2 \pm 0,9$	$5,3 \pm 0,4$
6h Okklusion	_____	$5,2 \pm 0,7$	$5,1 \pm 0,3$
7h Okklusion	_____	_____	$4,9 \pm 0,3$
8h Okklusion	_____	_____	$5,0 \pm 0,4$
9h Okklusion	_____	_____	$5,0 \pm 0,3$
10h Okklusion	_____	_____	$4,6 \pm 0,4$
Reperfusion	$5,6 \pm 1,2$	$5,2 \pm 0,9$	$5,4 \pm 1,0$
15 min	$5,5 \pm 1,1$	$5,4 \pm 0,8$	$5,7 \pm 1,3$
30 min	$5,5 \pm 0,9$	$5,5 \pm 0,8$	$5,6 \pm 1,7$
45 min	$5,4 \pm 0,8$	$5,4 \pm 0,8$	$6,0 \pm 1,9$
60 min	$5,4 \pm 0,8$	$5,6 \pm 0,9$	$5,5 \pm 1,8$

HZV = Herzzeitvolumen

Die gemessenen Herzfrequenzen zeigen in Gruppe 1 und 2 ähnliche Verläufe. Der Baselinewert liegt in Gruppe 1 bei $80,6 \pm 18,5$ bpm und steigt nach der Okklusion auf Werte bis $100,7 \pm 45,1$ bpm nach einer Stunde Okklusion an. Nach der Reperfusion bleiben die Werte auf diesem Niveau. In Gruppe 3 liegt der Baselinewert bei $87,8 \pm 20,6$ bpm und steigt nach einer Stunde Ischämie auf $92,3 \pm 43,7$ bpm an. Nach 5 Stunden Ischämie erreicht die HF ihr Minimum von $71,3 \pm 8,9$ bpm und steigt danach bis zum Versuchsende an. Die Mittelwerte mit Standardabweichung sind in Tabelle 7 dargestellt.

Tabelle 7: Herzfrequenz als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion HF [bpm]	6h Okklusion HF [bpm]	10h Okklusion HF [bpm]
Baseline	$80,6 \pm 18,5$	$73,1 \pm 9,8$	$87,8 \pm 20,6$
1h Okklusion	$100,7 \pm 45,1$	$79,9 \pm 13,8$	$92,3 \pm 43,7$
2h Okklusion	$100,1 \pm 40,8$	$90,0 \pm 21,6$	$89,8 \pm 31,0$
3h Okklusion	$98,9 \pm 35,4$	$88,9 \pm 29,5$	$75,0 \pm 18,9$
4h Okklusion	_____	$84,3 \pm 17,4$	$71,5 \pm 8,1$
5h Okklusion	_____	$80,9 \pm 14,3$	$71,3 \pm 8,9$
6h Okklusion	_____	$81,0 \pm 12,9$	$75,8 \pm 16,0$
7h Okklusion	_____	_____	$80,3 \pm 16,8$
8h Okklusion	_____	_____	$80,3 \pm 17,3$
9h Okklusion	_____	_____	$81,5 \pm 21,5$
10h Okklusion	_____	_____	$81,0 \pm 23,6$
Reperfusion	$100,0 \pm 35,7$	$81,6 \pm 9,5$	$82,0 \pm 22,4$
15 min	$100,1 \pm 34,2$	$86,4 \pm 12,0$	$87,5 \pm 24,8$
30 min	$99,0 \pm 33,6$	$86,9 \pm 11,2$	$86,8 \pm 24,9$
45 min	$97,1 \pm 31,3$	$86,3 \pm 12,4$	$88,0 \pm 27,3$
60 min	$94,8 \pm 31,1$	$86,3 \pm 14,0$	$97,5 \pm 31,5$

HF = Herzfrequenz

3.1.2 Der Blutdruck

Tabelle 8: Blutdruck im Verlauf der Versuche mit drei Stunden Okklusion als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	MAD [mmHg]	RR sys [mmHg]	RR dia [mmHg]
Baseline	70,4 \pm 16,3	99,0 \pm 19,2	50,3 \pm 13,1
1h Okklusion	86,9 \pm 23,0	114,7 \pm 25,3	65,6 \pm 22,4
2h Okklusion	92,6 \pm 26,1	121,6 \pm 30,2	72,6 \pm 24,4
3h Okklusion	92,3 \pm 23,6	119,9 \pm 25,4	73,1 \pm 24,4
Reperfusion	86,9 \pm 22,8	113,7 \pm 22,4	68,6 \pm 21,6
15 min	86,6 \pm 21,8	112,6 \pm 20,8	68,6 \pm 20,6
30 min	86,7 \pm 21,8	112,0 \pm 23	68,9 \pm 21,5
45 min	85,6 \pm 22,5	110,6 \pm 23,6	68,6 \pm 21,4
60 min	77,2 \pm 15,7	102,2 \pm 15	61,5 \pm 15,7

MAD = mittlerer arterieller Druck; RRsys = systolischer Blutdruck; RRdia = diastolischer Blutdruck

Der mittlere arterielle Blutdruck liegt in Gruppe 1 zu Versuchsbeginn (Baseline) im Mittel bei 70,4 \pm 16,3 mmHg, der systolische Blutdruck bei 99,0 \pm 19,2 mmHg und der diastolische Blutdruck bei 50,3 \pm 13,1 mmHg. Nach der Okklusion des Mesenterialarterienastes steigt der Blutdruck bis zur Reperfusion um etwa 20 mmHg an, sinkt nach der Reperfusion jedoch wieder in Richtung Ausgangswert ab. Die anderen Versuchsgruppen zeigen ähnliche Tendenzen.

Tabelle 9: Blutdruck im Verlauf der Versuche mit sechs Stunden Okklusion als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	MAD [mmHg]	RR sys [mmHg]	RR dia [mmHg]
Baseline	61,3 \pm 8,5	88,7 \pm 11,1	40,9 \pm 9,6
1h Okklusion	69,4 \pm 9,8	99,9 \pm 13,4	49,7 \pm 9,0
2h Okklusion	83,1 \pm 12,3	115,4 \pm 13,7	62,3 \pm 10,5
3h Okklusion	89,0 \pm 16,6	121,3 \pm 22,1	67,7 \pm 15,1
4h Okklusion	87,6 \pm 18,8	116,0 \pm 22,2	67,7 \pm 16,7
5h Okklusion	87,4 \pm 18,1	115,6 \pm 22,3	67,6 \pm 16,2
6h Okklusion	85,0 \pm 16,5	111,7 \pm 22,1	65,3 \pm 14,2
Reperfusion	81,1 \pm 15,9	107,9 \pm 20,1	62,0 \pm 14,2
15 min	80,6 \pm 15,2	108,1 \pm 17,5	63,1 \pm 12,9
30 min	82,0 \pm 13,1	109,1 \pm 15,3	64,0 \pm 12,2
45 min	79,6 \pm 14,7	105,1 \pm 17,8	62,1 \pm 15,4
60 min	79,3 \pm 16,1	102,3 \pm 16,6	63,1 \pm 17,0

MAD = mittlerer arterieller Druck; RRsys = systolischer Blutdruck; RRdia = diastolischer Blutdruck

Tabelle 10: Blutdruck im Verlauf der Versuche mit zehn Stunden Okklusion als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	MAD [mmHg]	RR sys [mmHg]	RR dia [mmHg]
Baseline	67,3 \pm 6,8	94,3 \pm 8,9	46,5 \pm 5,3
1h Okklusion	79,8 \pm 8,0	109,5 \pm 11,6	58,5 \pm 7,6
2h Okklusion	99,0 \pm 7,3	128,5 \pm 13,2	78,8 \pm 5,6
3h Okklusion	96,3 \pm 11,9	122,8 \pm 12,2	78,3 \pm 12,7
4h Okklusion	95,3 \pm 11,0	121,5 \pm 13,1	76,5 \pm 10,7
5h Okklusion	91,5 \pm 11,4	118,5 \pm 12,5	75,0 \pm 11,2
6h Okklusion	91,3 \pm 12,7	114,8 \pm 15,1	74,0 \pm 10,3
7h Okklusion	88,8 \pm 10,0	111,8 \pm 11,7	74,0 \pm 10,2
8h Okklusion	86,8 \pm 10,0	108,5 \pm 11,9	71,5 \pm 9,1
9h Okklusion	85,3 \pm 9,4	108,0 \pm 12,1	69,5 \pm 7,0
10h Okklusion	86,0 \pm 10,7	109,0 \pm 13,5	70,5 \pm 9,1
Reperfusion	79,0 \pm 8,2	104,0 \pm 11,0	61,3 \pm 5,2
15 min	79,8 \pm 8,3	103,8 \pm 12,8	64,5 \pm 5,7
30 min	81,0 \pm 7,7	103,5 \pm 13,6	60,8 \pm 9,2
45 min	80,3 \pm 8,0	101,8 \pm 13,7	65,8 \pm 5,7
60 min	81,8 \pm 7,9	101,8 \pm 14,2	66,5 \pm 4,7

MAD = mittlerer arterieller Druck; RRsys = systolischer Blutdruck; RRdia = diastolischer Blutdruck

3.1.3 Der systemische Gefäßwiderstand (SVR)

In den folgenden Tabellen und Abbildungen ist der systemische vaskuläre Widerstand der drei Versuchsgruppen dargestellt. Er wurde während der Versuche mittels PiCCO gemessen.

Tabelle 11: Systemischer vaskulärer Widerstand als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion SVR [$\text{Pa}^*(\text{s}/\text{m}^3)$]	6h Okklusion SVR [$\text{Pa}^*(\text{s}/\text{m}^3)$]	10h Okklusion SVR [$\text{Pa}^*(\text{s}/\text{m}^3)$]
Baseline	924,3 \pm 248,4	782,6 \pm 221,2	705,0 \pm 230,1
1h Okklusion	1208,7 \pm 367,9	917,1 \pm 244,9	947,5 \pm 156,4
2h Okklusion	1357,1 \pm 458,5	1048,6 \pm 311,0	1137,5 \pm 256,8
3h Okklusion	1268,6 \pm 332,0 *	1200,0 \pm 412,8	1272,5 \pm 203,7
4h Okklusion	_____	1177,1 \pm 324,5	1300,0 \pm 105,6
5h Okklusion	_____	1248,6 \pm 206,4	1327,5 \pm 163,0
6h Okklusion	_____	1218,6 \pm 217,0 *	1327,5 \pm 135,5
7h Okklusion	_____	_____	1342,5 \pm 159,4
8h Okklusion	_____	_____	1307,5 \pm 160,2
9h Okklusion	_____	_____	1282,5 \pm 76,6
10h Okklusion	_____	_____	1330,0 \pm 104,2 *
Reperfusion	1224,3 \pm 326,3 *	1142,9 \pm 203,7 *	1127,6 \pm 224,0 *
15 min	1172,9 \pm 277,6	1122,9 \pm 161,0	1117,5 \pm 221,9
30 min	1165,7 \pm 284,9	1094,3 \pm 180,2	1142,5 \pm 283,6
45 min	1167,1 \pm 277,2	1092,9 \pm 231,8	1145,0 \pm 324,2
60 min	1055,0 \pm 214,4	1011,7 \pm 174,9	1217,5 \pm 349,2

SVR = systemischer vaskulärer Widerstand, * = $p < 0,05$

In der Gruppe mit dreistündiger Ischämiezeit hat der systemische Gefäßwiderstand einen Ausgangswert von $924,3 \pm 248,4 \text{ Pa}^*(\text{s}/\text{m}^3)$. Nach Beginn der Ischämiezeit steigt dieser auf Werte von über $1200 \text{ Pa}^*(\text{s}/\text{m}^3)$ an. Die Reperfusion führt im Verlauf von 60 Minuten zu einem leichten Abfall der Werte auf $1055,0 \pm 214,4$. In den anderen Versuchsgruppen lassen sich ähnliche Trends beobachten (siehe Tabelle 11: Systemischer vaskulärer Widerstand als Mittelwerte \pm Standardabweichung). Die Werte sind innerhalb aller Gruppen zu den fluoreszenzangiographischen Messzeitpunkten signifikant unterschiedlich ($p < 0,05$). Die Gruppen unterscheiden sich dabei jedoch nicht untereinander.

3.1.4 Globales enddiastolisches Volumen

Tabelle 12: Globales enddiastolisches Volumen als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion GEDV [ml]	6h Okklusion GEDV [ml]	10h Okklusion GEDV [ml]
Baseline	687,6 \pm 79,4	669,3 \pm 65,0 *	766,0 \pm 93,6 *
1h Okklusion	683,4 \pm 77,3	665,9 \pm 57,1	727,3 \pm 82,2
2h Okklusion	685,0 \pm 75,8	679,9 \pm 61,2	782,0 \pm 50,1
3h Okklusion	686,6 \pm 35,3	669,0 \pm 73,6	767,5 \pm 75,7
4h Okklusion	_____	654,1 \pm 80,0	768,3 \pm 91,5
5h Okklusion	_____	641,4 \pm 65,7	770,0 \pm 89,3
6h Okklusion	_____	639,7 \pm 59,7 *	750,3 \pm 96,4 *
7h Okklusion	_____	_____	761,0 \pm 97,3
8h Okklusion	_____	_____	761,5 \pm 102,2
9h Okklusion	_____	_____	783,5 \pm 78,9
10h Okklusion	_____	_____	757,0 \pm 121,8
Reperfusion	685,0 \pm 37,3	639,7 \pm 59,7 *	757,0 \pm 121,8 *
15 min	692,4 \pm 37,6	633,7 \pm 63,7	757,0 \pm 121,8
30 min	688,6 \pm 33,4	633,7 \pm 63,7	757,0 \pm 121,8
45 min	689,4 \pm 40,7	633,7 \pm 63,7	757,0 \pm 121,8
60 min	690,7 \pm 40,3	633,7 \pm 63,7	757,0 \pm 121,8

*GEDV = globales enddiastolisches Volumen, * = p<0,05*

Das globale enddiastolische Volumen (GEDV) bleibt in allen Gruppen über die gesamte Versuchszeit annähernd gleich. Sie liegen alle im Referenzbereich von 600-800ml. Die Gruppen unterscheiden sich in Mittelwerten zu den unterschiedlichen Zeitpunkten, zum Beispiel im Baseline-Wert. Dieser liegt in Gruppe 1 bei 687,6 \pm 79ml, in Gruppe 2 bei 669,3 \pm 65,0ml und in Gruppe 3 bei 766,0 \pm 93,6ml. Dabei ist der Unterschied zu den verschiedenen fluoreszenzangiographischen Messzeitpunkten zwischen Gruppe 2 und Gruppe 3 signifikant (p=0,034). Innerhalb der einzelnen Gruppen gibt es jedoch keine signifikanten Unterschiede. Dennoch sind die Verläufe der Werte vergleichbar, da sich das GEDV im Verlauf der Versuche nur marginal verändert.

3.2 Blutgasanalyse

Die Blutgasanalyse wurde gemäß Protokoll durchgeführt und dokumentiert.

3.2.1 Laktat

Tabelle 13: Arterielle Laktatwerte als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion Lac. [mmol/l]	6h Okklusion Lac. [mmol/l]	10h Okklusion Lac. [mmol/l]
Baseline	4,07 \pm 2,33	3,44 \pm 1,82	4,55 \pm 1,22
1h Okklusion	4,99 \pm 2,58	4,10 \pm 2,68	3,85 \pm 1,78
2h Okklusion	5,31 \pm 2,23	3,43 \pm 1,95	3,45 \pm 1,28
3h Okklusion	4,06 \pm 2,25	2,43 \pm 1,85	2,40 \pm 0,87
4h Okklusion	_____	1,81 \pm 1,52	2,23 \pm 1,02
5h Okklusion	_____	1,19 \pm 0,41	1,47 \pm 0,49
6h Okklusion	_____	0,86 \pm 0,11	1,25 \pm 0,27
7h Okklusion	_____	_____	1,08 \pm 0,36
8h Okklusion	_____	_____	0,95 \pm 0,27
9h Okklusion	_____	_____	0,98 \pm 0,28
10h Okklusion	_____	_____	0,75 \pm 0,26
15 min	3,47 \pm 1,85	0,93 \pm 0,20	0,75 \pm 0,21
30 min	3,13 \pm 1,59	0,86 \pm 0,13	0,75 \pm 0,22
45 min	2,76 \pm 1,4	0,82 \pm 0,16	0,73 \pm 0,23
60 min	2,77 \pm 1,27	0,76 \pm 0,10	0,73 \pm 0,29

Lac = Laktat

Die Laktatwerte sind zur Baseline-Messung in Gruppe 1 im Mittel bei 4,07 \pm 2,33 mmol/l. Nach der Okklusion steigt der Wert nach zwei Stunden auf ein Maximum von 5,31 \pm 2,23 mmol/l an und fällt nun bis zum Ende der Versuche konstant auf einen Endwert von 2,77 \pm 1,27 mmol/l ab.

Auch in den Gruppen 2 und 3 ist dieser Trend zu erkennen. In Gruppe 2 ist der Ausgangswert 3,44 \pm 1,82 mmol/l. Der Wert steigt nach einer Stunde auf ein Maximum von 4,10 \pm 2,68 mmol/l an. Danach fällt der Wert bis zum Ende der Versuche konstant ab. 60 Minuten nach Reperfusion beträgt er 0,76 \pm 0,10 mmol/l.

Die 3. Gruppe hat zur Baseline-Messung im Mittel einen Wert von 4,55 \pm 1,22 mmol/l. Nach Okklusion ist in dieser Gruppe kein weiterer Anstieg festzustellen, der Laktatwert sinkt konstant auf einen Endwert von 0,73 \pm 0,29 mmol/l ab.

Die folgende Abbildung soll verdeutlichen, dass der Laktatwert in allen Versuchsgruppen einen ähnlichen Ausgangswert hat. Darüber hinaus soll sie zeigen, dass das Absinken von der Versuchszeit abhängig ist.

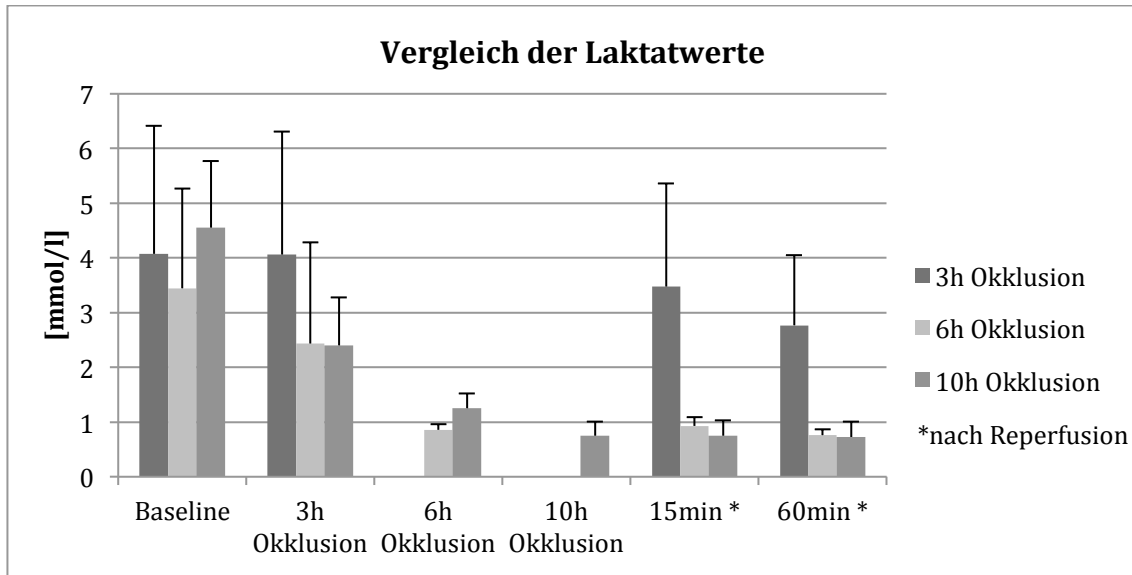


Abbildung 10: Laktatwerte der drei Gruppen im Vergleich als Mittelwerte \pm Standardabweichung

3.2.2 Kalium

Tabelle 14: Kaliumwerte als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion K ⁺ [mmol/l]	6h Okklusion K ⁺ [mmol/l]	10h Okklusion K ⁺ [mmol/l]
Baseline	3,09 \pm 0,31	3,04 \pm 0,31	2,95 \pm 0,15
1h Okklusion	3,26 \pm 0,31	3,33 \pm 0,36	3,23 \pm 0,19
2h Okklusion	3,56 \pm 0,34	3,37 \pm 0,41	3,43 \pm 0,28
3h Okklusion	3,71 \pm 0,35	3,84 \pm 0,35	3,83 \pm 0,19
4h Okklusion	_____	3,99 \pm 0,42	4,13 \pm 0,23
5h Okklusion	_____	4,24 \pm 0,30	4,23 \pm 0,23
6h Okklusion	_____	4,37 \pm 0,34	4,28 \pm 0,33
7h Okklusion	_____	_____	4,33 \pm 0,34
8h Okklusion	_____	_____	4,38 \pm 0,43
9h Okklusion	_____	_____	4,43 \pm 0,58
10h Okklusion	_____	_____	4,48 \pm 0,61
15 min	3,80 \pm 0,32	4,41 \pm 0,33	4,55 \pm 0,59
30 min	3,84 \pm 0,37	4,36 \pm 0,33	4,48 \pm 0,58
45 min	3,91 \pm 0,32	4,34 \pm 0,31	4,45 \pm 0,66
60 min	3,98 \pm 0,37	4,35 \pm 0,31	4,45 \pm 0,74

Die Kaliumwerte aller Versuchsgruppen haben in etwa den gleichen Ausgangswert um 3 mmol/l. Im Verlauf der Ischämiezeit haben die Werte in allen Gruppen eine steigende Tendenz (siehe Tabelle 14). Der Ausgangswert liegt in dieser Gruppe bei $3,04 \pm 0,31$ mmol/l. Dieser steigt während der Ischämiezeit konstant an und liegt nach 6 Stunden Okklusion bei $4,37 \pm 0,34$ mmol/l. Nach Reperfusion verändert sich der Wert nicht mehr signifikant.

Die Werte sind nicht nur zu Beginn der Versuche ähnlich, sondern auch zu verschiedenen anderen Zeitpunkten der Versuche. Dies ist in *Abbildung 11* exemplarisch für den Zeitpunkt „3h Okklusion“ dargestellt. Des Weiteren soll die Graphik verdeutlichen, dass der Kaliumwert positiv mit der Ischämiezeit korreliert.

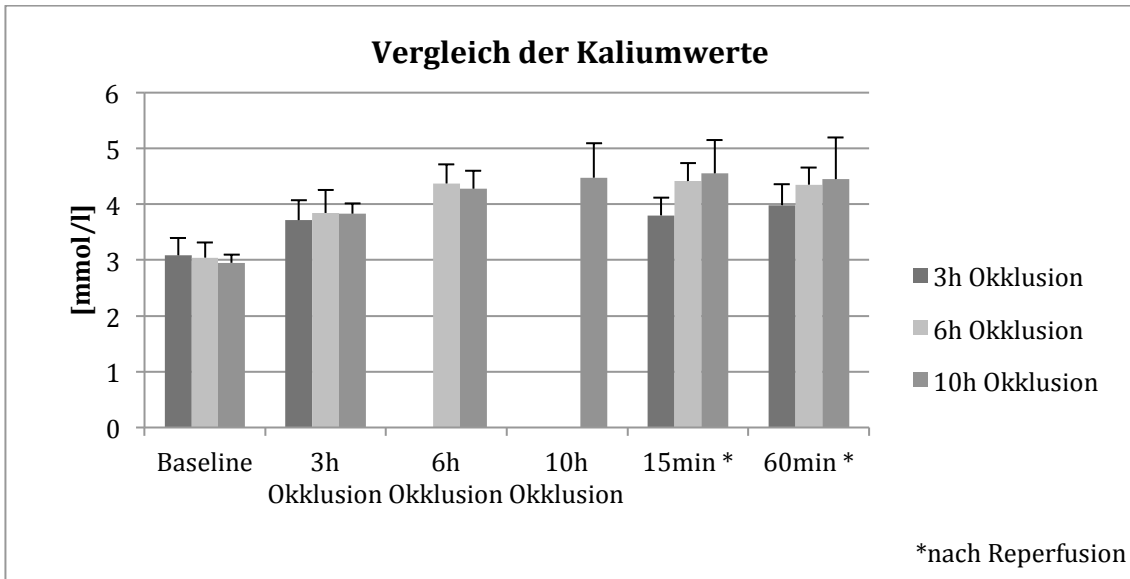


Abbildung 11: Kaliumwerte der drei Gruppen im Vergleich als Mittelwerte \pm Standardabweichung

In **Abbildung 11** wird deutlich, dass der Ausgangswert in allen Gruppen ähnlich ist und sich auch nach drei beziehungsweise sechs Stunden Ischämiezeit in vergleichbarer Weise verändert. Nach 15 bzw. 60 Minuten hat Gruppe 1 den niedrigsten Durchschnittswert, Gruppe 3 weist den höchsten Wert auf.

3.2.3 pH-Wert

Tabelle 15: pH-Werte als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion pH-Wert	6h Okklusion pH-Wert	10h Okklusion pH-Wert
Baseline	7,46 \pm 0,10	7,44 \pm 0,10	7,42 \pm 0,08
1h Okklusion	7,44 \pm 0,11	7,43 \pm 0,13	7,45 \pm 0,12
2h Okklusion	7,44 \pm 0,07	7,43 \pm 0,13	7,45 \pm 0,07
3h Okklusion	7,46 \pm 0,05	7,46 \pm 0,08	7,49 \pm 0,06
4h Okklusion	_____	7,46 \pm 0,08	7,49 \pm 0,02
5h Okklusion	_____	7,49 \pm 0,06	7,51 \pm 0,01
6h Okklusion	_____	7,50 \pm 0,06	7,51 \pm 0,05
7h Okklusion	_____	_____	7,48 \pm 0,05
8h Okklusion	_____	_____	7,47 \pm 0,05
9h Okklusion	_____	_____	7,46 \pm 0,05
10h Okklusion	_____	_____	7,45 \pm 0,05
15 min	7,47 \pm 0,05	7,48 \pm 0,05	7,41 \pm 0,04
30 min	7,47 \pm 0,06	7,48 \pm 0,06	7,42 \pm 0,03
45 min	7,48 \pm 0,06	7,48 \pm 0,06	7,42 \pm 0,03
60 min	7,49 \pm 0,08	7,49 \pm 0,08	7,41 \pm 0,02

Der pH-Wert der ersten Gruppe scheint über den gesamten Versuchszeitraum konstant zu bleiben. Der Baseline-Wert ist $7,46 \pm 0,10$ und nach 60 Minuten Reperfusion liegt der systemische pH-Wert bei $7,49 \pm 0,08$. Im Verlauf gibt es keine signifikanten Schwankungen. In Gruppe 2 zeigt sich ein ähnlicher Verlauf. In Gruppe 3 liegt der Wert zur Baseline-Messung bei $7,42 \pm 0,08$. Nach 5 Stunden Ischämie steigt der pH-Wert auf ein Maximum von $7,51 \pm 0,01$ und fällt zu Ende der Versuche wieder auf $7,41 \pm 0,02$ ab.

3.3 Gewebsoxygenierung

Tabelle 16: Gewebsoxygenierung als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion tpO ₂ [mmHg]		6h Okklusion tpO ₂ [mmHg]		10h Okklusion tpO ₂ [mmHg]	
	D1	D3	D1	D3	D1	D3
Baseline	_____	37,7 \pm 7,5	_____	33,7 \pm 8,0	_____	38,8 \pm 6,7
1h Okklusion	9,0 \pm 6,0	35,5 \pm 16,2	5,6 \pm 2,5	26,4 \pm 5,2	8,2 \pm 4,6	38,3 \pm 17,0
2h Okklusion	8,5 \pm 6,5	32,2 \pm 12,8	6,4 \pm 5,2	30,1 \pm 12,7	5,8 \pm 2,6	31,5 \pm 17,3
3h Okklusion	6,7 \pm 6,8	30,9 \pm 7,3	5,8 \pm 5,9	26,9 \pm 14,7	4,3 \pm 1,6	25,0 \pm 7,5
4h Okklusion	_____	_____	2,5 \pm 3,1	33,6 \pm 15,2	3,3 \pm 2,3	27,4 \pm 8,2
5h Okklusion	_____	_____	5,1 \pm 7,7	32,3 \pm 8,6	2,8 \pm 1,9	23,6 \pm 5,2
6h Okklusion	_____	_____	4,2 \pm 4,7	34,5 \pm 11,0	2,8 \pm 2,6	27,9 \pm 9,7
7h Okklusion	_____	_____	_____	_____	2,5 \pm 2,3	29,0 \pm 6,5
8h Okklusion	_____	_____	_____	_____	2,0 \pm 1,8	30,4 \pm 5,1
9h Okklusion	_____	_____	_____	_____	1,4 \pm 1,0	33,3 \pm 12,3
10 Okklusion	_____	_____	_____	_____	1,4 \pm 0,9	31,6 \pm 10,2
Reperfusion	22,8 \pm 24,2	40,2 \pm 10,4	11,5 \pm 8,1	41,2 \pm 12,3	13,8 \pm 12,0	38,8 \pm 18,4
15 min	33,0 \pm 18,3	33,3 \pm 12,6	14,1 \pm 14,7	31,3 \pm 12,8	15,5 \pm 14,7	40,2 \pm 16,9
30 min	30,6 \pm 20,3	34,0 \pm 19,7	12,7 \pm 12,6	30,7 \pm 15,1	20,8 \pm 17,1	38,3 \pm 16,2
45 min	20,9 \pm 4,8	32,8 \pm 13,2	17,1 \pm 11,8	32,4 \pm 22,7	25,1 \pm 21,6	42,4 \pm 15,4
60 min	24,3 \pm 8,3	29,9 \pm 11,5	14,8 \pm 10,2	30,4 \pm 22,3	24,5 \pm 21,7	43,5 \pm 14,9

tpO₂ – tissue-Sauerstoffpartialdruck; D1 = ischämisches Areal; D3 = gesundes Areal

Die Gewebsoxygenierung wurde über die Versuchszeit hinweg in den Arealen D1 und D3 gemessen. Die Sauerstoffpartialdrücke variierten im Areal D3 über alle Versuchsgruppen hinweg nicht stark.

Das Areal D1 zeigt zu den Versuchszeitpunkten mit okkludiertem Gefäß deutlich verminderte Partialdrücke im Vergleich zu den simultan erhobenen Messwerten im Areal D3 mit uneingeschränkter Perfusion. In allen Versuchsgruppen fällt der Wert mit steigender Ischämiezeit weiter ab.

Nach der Reperfusion zeigt sich in Gruppe 1 ein steiler Anstieg des tpO₂ von 6,7 \pm 6,8mmHg nach drei Stunden Okklusion auf 33,0 \pm 18,3mmHg nach 15 Minuten Reperfusion. In Gruppe 2 steigt der tpO₂ von 4,2 \pm 4,7mmHg nach sechs Stunden Okklusion auf 14,1 \pm 14,7mmHg nach 15 Minuten Reperfusion an. In Gruppe 3 beträgt der Sauerstoffpartialdruck vor der Reperfusion 1,4 \pm 0,9mmHg und liegt nach 15 Minuten Reperfusion bei 15,5 \pm 14,7mmHg.

In Gruppe 1 erreicht der Sauerstoffpartialdruck nach 15 Minuten Reperfusion ein Maximum, die Werte sinken danach wieder ab und erreichen nach 60 Minuten Reperfusion einen Partialdruck von 24,3 \pm 8,3mmHg. In Gruppe 2

bleiben die Werte in den folgenden 45 Minuten relativ konstant, wohingegen in Gruppe 3 ein langsamer Anstieg der Werte auf $24,5 \pm 21,7$ mmHg nach 60 Minuten zu verzeichnen ist.

Die Verläufe der Werte in den Arealen D1 und D3 sind in *Abbildung 12* und *13* graphisch dargestellt.

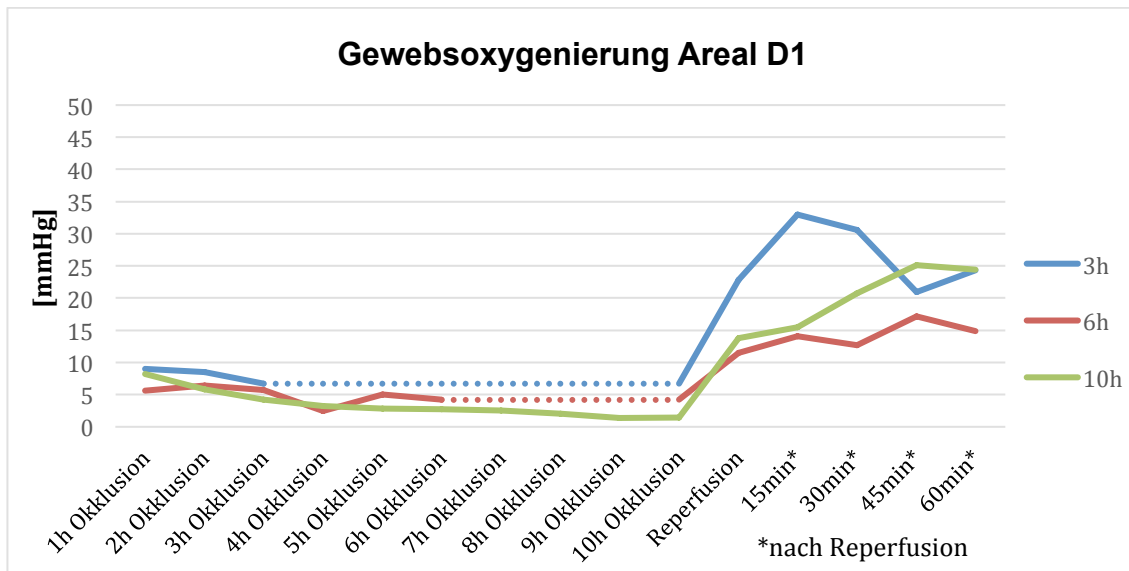


Abbildung 12: Graphische Darstellung der Geweboxygenierung in Areal D1

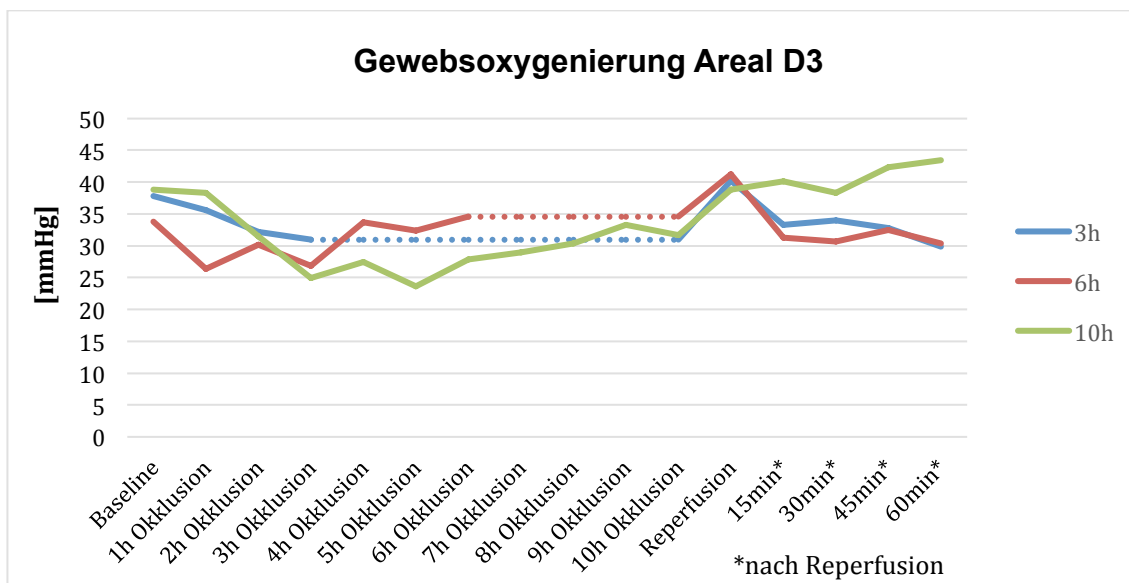


Abbildung 13: Graphische Darstellung der Geweboxygenierung in Areal D3

3.4 Flussmessung mittels TTFM

Tabelle 17: TTFM-Werte als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Zeitpunkt	3h Okklusion Flow [ml/min]	6h Okklusion Flow [ml/min]	10h Okklusion Flow [ml/min]
Baseline	67,9 \pm 19,8	68,4 \pm 8,3	72,8 \pm 21,5
Reperfusion	51,0 \pm 0,0	82,5 \pm 18,5	117,8 \pm 52,5
15 min	44,2 \pm 16,0	98,3 \pm 34,6	129,0 \pm 59,8
30 min	51,7 \pm 38,6	100,1 \pm 47,1	130,3 \pm 56,9
45 min	60,9 \pm 38,6	98,0 \pm 37,3	135,3 \pm 56,2
60 min	60,7 \pm 48,4	97,1 \pm 37,3	142,5 \pm 59,9

TTFM = transit time flow measurement

Der arterielle Blutfluss wurde zu festgelegten Zeitpunkten gemessen. Der Ausgangswert ist in allen Versuchsgruppen mit etwa 70ml/min vergleichbar. Nach der Reperfusion unterscheidet sich der Verlauf jedoch zwischen den Gruppen. Gruppe 1 zeigt in Hinblick auf den Baselinewert einen verminderten Fluss, während Gruppe 2 und 3 nach Reperfusion einen erhöhten Fluss aufweisen. Gruppe 3 hat nach der Reperfusion den höchsten Blutfluss. Der Fluss auf der Segmentarterie zeigt nach der Reperfusion keine starken Schwankungen. In *Abbildung 14* sind die Werte aller Gruppen graphisch dargestellt.

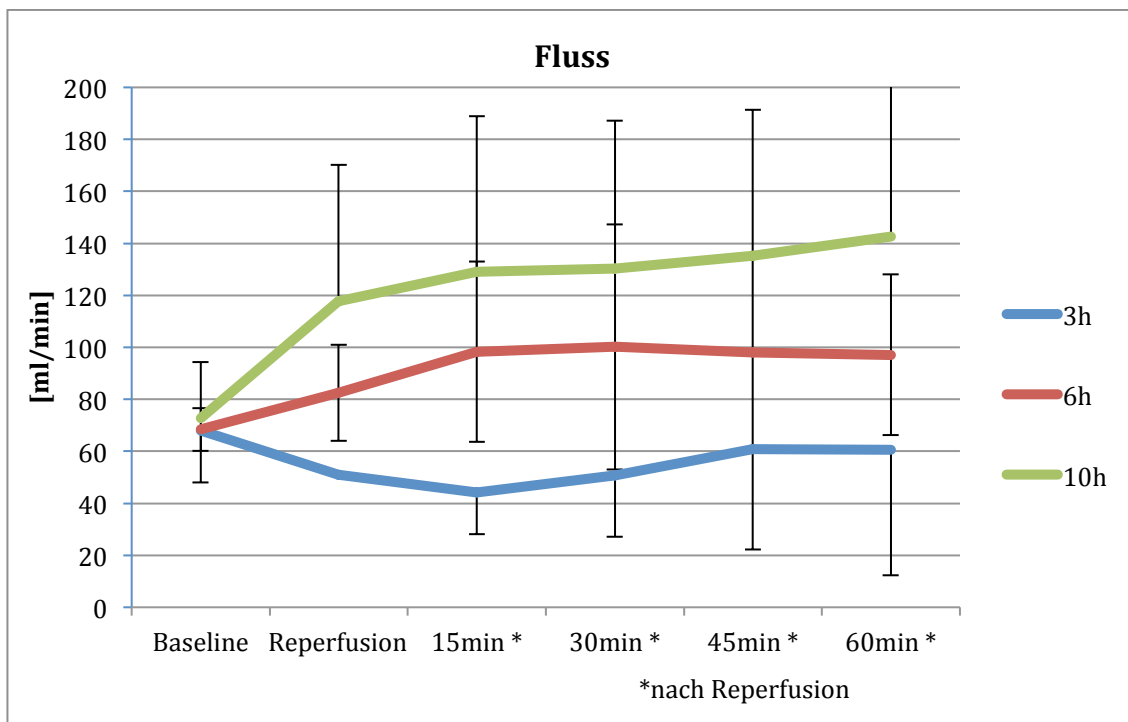


Abbildung 14: Flussmessung der freigelegten Arterie (Ast der A. mesenterica superior) aller Versuchsgruppen zu den festgelegten Messzeitpunkten

3.5 Fluoreszenzangiographie

Die Auswertung der Fluoreszenzangiographien erfolgte durch zwei unabhängige Auswerter. In den folgenden Tabellen sind die Mittelwerte aus beiden Auswertungen angegeben.

3.5.1 Slope of fluorescence intensity

Tabelle 18: SFI-Werte aller Gruppen zu allen Messzeitpunkten

Areal	D1	D2	D3
Baseline			
Gruppe 1	1,30 ± 0,37	1,06 ± 0,58	1,45 ± 0,49
Gruppe 2	1,97 ± 0,80	1,38 ± 0,87	2,45 ± 0,86
Gruppe 3	2,36 ± 1,65	1,62 ± 0,69	3,80 ± 3,61
Okklusion			
Gruppe 1	0,14 ± 0,12	0,69 ± 0,52	3,28 ± 1,90
Gruppe 2	0,15 ± 0,08	0,63 ± 0,45	3,25 ± 1,50
Gruppe 3	0,18 ± 0,15	0,48 ± 0,29	4,09 ± 1,90
Reperfusion			
Gruppe 1	1,64 ± 0,58	1,39 ± 1,02	2,61 ± 1,41
Gruppe 2	4,08 ± 2,06	1,78 ± 0,73	3,69 ± 2,72
Gruppe 3	2,58 ± 2,59	2,63 ± 1,92	4,30 ± 1,98

Zur einfacheren Darstellung wurde ein Quotient aus den SFI-Werten nach Okklusion und Reperfusion im Verhältnis zum Baselinewert gebildet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 19 aufgeführt und in *Abbildung 15* graphisch darstellt.

Tabelle 19: SFI-Ratio

	Areal	Okklusion/Baseline	Reperfusion/Baseline
Gruppe 1	D1	0,11 ± 0,09	1,04 ± 0,86
	D2	0,67 ± 0,31	1,67 ± 1,22
	D3	2,47 ± 1,37	2,01 ± 1,32
Gruppe 2	D1	0,09 ± 0,06	2,37 ± 1,41
	D2	0,65 ± 0,77	1,67 ± 0,99
	D3	1,55 ± 1,01	1,83 ± 1,80
Gruppe 3	D1	0,08 ± 0,06	1,31 ± 1,13
	D2	0,31 ± 0,18	1,99 ± 1,30
	D3	1,88 ± 1,42	1,77 ± 1,05

In allen Gruppen ist die Ratio bei Okklusion in den Arealen D1 und D2 deutlich unter 1 gesunken und erreicht im ischämischen Areal D1 Werte zwischen 0,08 und 0,11. Auch in Areal D2 sind die Ratios mit Werten von 0,31 bis 0,67 in allen Gruppen deutlich unter 1 abgesunken. Im Areal D3 steigt die SFI-Ratio auf Werte zwischen 1,55 und 2,47 an. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Arealen sind dabei signifikant ($p < 0,001$).

Zum Zeitpunkt der Reperfusion steigt die SFI-Ratio der Areale D1 aller Gruppen an. In Gruppe 1 wird mit 1,04 ein Wert nahe der Baseline erreicht. In den Gruppen 2 und 3 ergeben sich 1,67 und 1,31. Auch in den Arealen D2 und D3 aller Gruppen ergeben sich Quotienten > 1 . Für das Übergangsbereich D2 liegen die Werte zwischen 1,67 und 1,99, für das Areal D3 zwischen 1,77 und 2,01. Nach der Reperfusion unterscheiden sich Areal D1 und D3 über alle Gruppen hinweg signifikant voneinander ($p = 0,039$). Die Areale D1 und D2 unterscheiden sich nicht signifikant ($p = 0,256$). Der Unterschied zwischen den Arealen D2 und D3 ist ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,343$).

Die ischämischen Areale D1 und die Übergangsbereiche D2 unterscheiden sich zwischen den Zeitpunkten „Okklusion“ und „Reperfusion“, unabhängig von der Gruppe, ebenfalls signifikant voneinander ($p < 0,001$). Die Areale D3 verändern sich nicht signifikant ($p = 0,808$).

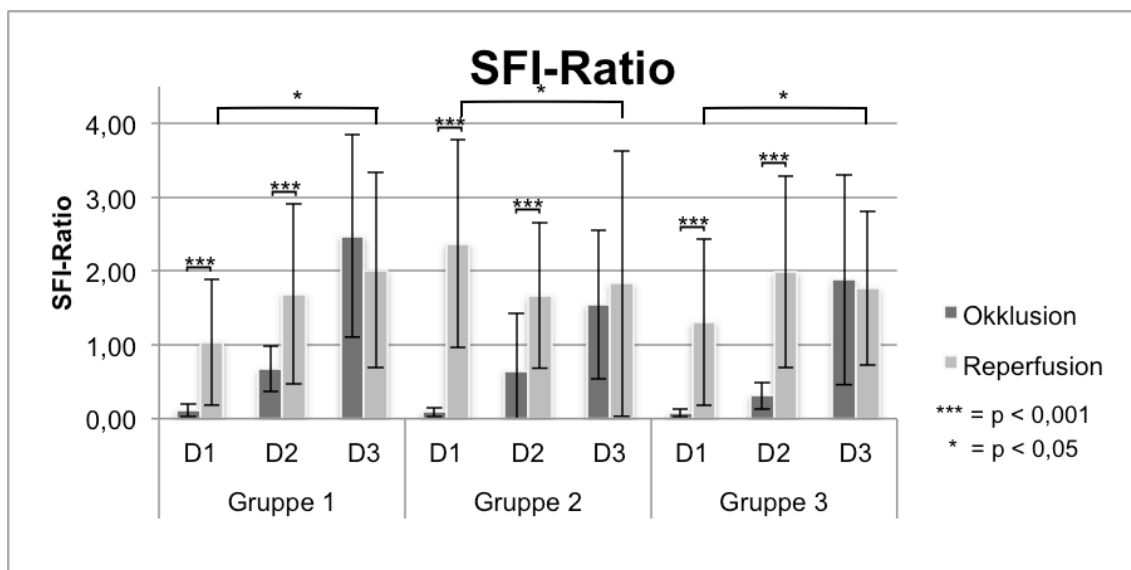


Abbildung 15: SFI-Ratios mit Standardabweichung und Signifikanzen nach Areal und Gruppen sortiert.

3.5.2 Background subtracted fluorescence intensity

Die Berechnung der background subtracted fluorescence intensity wurde im gleichen Auswertungsprogramm wie die SFI vorgenommen.

Tabelle 20: BFSI-Werte

Areal	D1	D2	D3
Baseline			
Gruppe 1	18,14 ± 6,82	13,30 ± 2,42	16,01 ± 2,67
Gruppe 2	17,99 ± 7,57	12,08 ± 7,19	19,56 ± 5,85
Gruppe 3	21,50 ± 10,88	14,84 ± 5,10	27,53 ± 15,85
Okklusion			
Gruppe 1	3,24 ± 6,29	7,28 ± 4,45	23,46 ± 11,29
Gruppe 2	1,05 ± 0,57	6,94 ± 3,98	22,69 ± 8,80
Gruppe 3	1,66 ± 1,39	4,20 ± 2,57	30,48 ± 17,12
Reperfusion			
Gruppe 1	19,14 ± 2,80	19,02 ± 7,58	27,20 ± 6,81
Gruppe 2	29,45 ± 7,76	17,79 ± 6,10	29,00 ± 14,33
Gruppe 3	19,16 ± 18,94	20,50 ± 12,54	40,74 ± 19,30

Zur einfacheren Darstellung wurde ein Quotient aus den BSFI-Werten nach Okklusion und Reperfusion im Verhältnis zum Baselinewert gebildet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 21 aufgeführt und in *Abbildung 16* graphisch darstellt.

Tabelle 21: Ratio BSFI

	Areal	Okklusion/Baseline	Reperfusion/Baseline
Gruppe 1	D1	0,14 ± 0,19	1,19 ± 0,67
	D2	0,55 ± 0,33	1,47 ± 0,68
	D3	1,42 ± 0,60	1,74 ± 0,50
Gruppe 2	D1	0,07 ± 0,05	1,99 ± 1,05
	D2	0,70 ± 1,58	1,73 ± 0,83
	D3	1,28 ± 0,57	1,60 ± 0,92
Gruppe 3	D1	0,09 ± 0,11	0,98 ± 0,68
	D2	0,31 ± 0,21	2,77 ± 3,78
	D3	1,15 ± 0,53	1,69 ± 0,72

Die Quotienten nehmen nach der Okklusion in Areal D1 in allen Gruppen Werte zwischen 0,07 und 0,14 an. In Areal D2 ergeben sich Werte zwischen 0,31 und 0,70. In Areal D3 kommen Werte zwischen 1,15 und 1,42 zu Stande. Dabei unterscheiden sich die Areale über alle Gruppen hinweg signifikant voneinander ($p < 0,001$).

Die BSFI-Ratios nach Reperfusion liegen im Areal D1 zwischen 0,98 und 1,99. Im Übergangsbereich D2 liegen die Werte zwischen 1,47 und 2,77. Im gesunden Areal D3 werden Ratios von 1,60 in Gruppe 2 und 1,74 in Gruppe 1 erreicht. Die Unterschiede zwischen Areal D1 und D2 sind dabei nicht signifikant ($p = 0,053$). Areal D1 und D3 unterscheiden sich ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,069$). Die Areale D2 und D3 sind gleich ($p = 0,905$).

Die Unterschiede zwischen den beiden Zeitpunkten „Okklusion“ und „Reperfusion“ sind in den Arealen D1 und D2 aller Gruppen signifikant ($p < 0,001$). Für das Areal D3 ergeben sich zwischen diesen beiden Messzeitpunkten keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,065$). Die BSFI-Ratios sind nach Gruppen und Arealen sortiert in *Abbildung 16: BSFI-Ratio mit Standardabweichung und Signifikanzen nach Gruppen und Arealen sortiert*

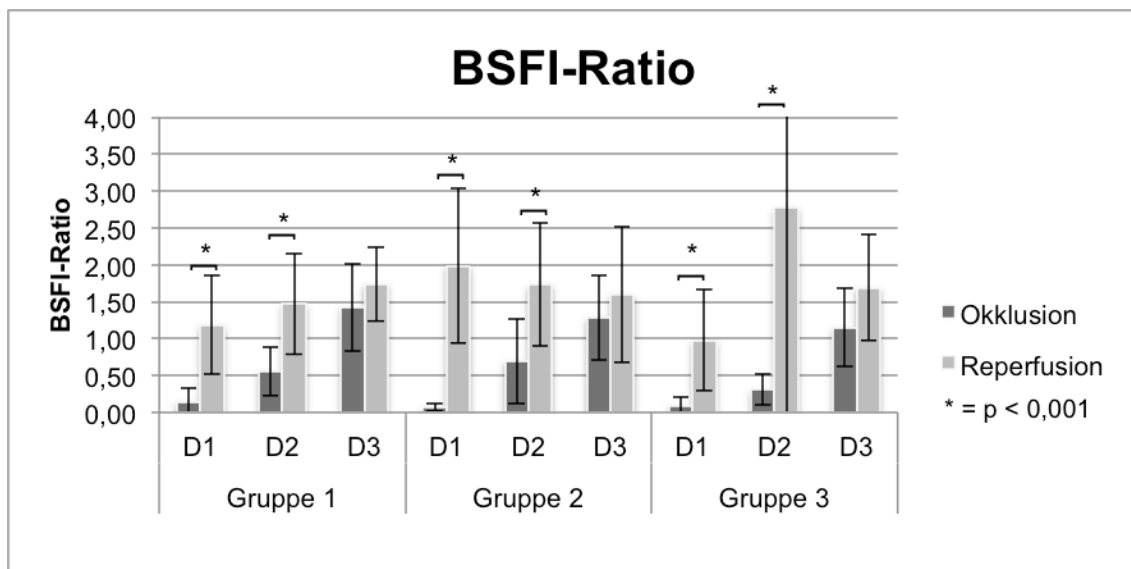


Abbildung 16: BSFI-Ratio mit Standardabweichung und Signifikanzen nach Gruppen und Arealen sortiert

3.6 Makroskopie

Zur Beurteilung der Makroskopie wurden die Areale D1-D3 zu jedem Versuchszeitpunkt mit dem oben beschriebenen Scoring-System evaluiert. Zusätzlich wurden zu jedem Versuchszeitpunkt Fotos zu Illustration gemacht. Beides soll im Folgenden dargestellt werden.

3.6.1 Makroskopie-Bewertung

Im Folgenden sind die makroskopischen Bewertungen tabellarisch dargestellt.

Tabelle 22: Makroscore Gruppe 1 als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Areal	D1	D2	D3
Baseline	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
1h Okklusion	2,0 \pm 0,0	1,86 \pm 0,38	1,0 \pm 0,0
2h Okklusion	2,57 \pm 0,53	2,29 \pm 0,49	1,0 \pm 0,0
3h Okklusion	2,5 \pm 0,55	2,14 \pm 0,38	1,0 \pm 0,0
Reperfusion	2,0 \pm 0,58	1,57 \pm 0,53	1,0 \pm 0,0
15 min	1,86 \pm 0,69	1,14 \pm 0,38	1,0 \pm 0,0
30 min	1,71 \pm 0,49	1,14 \pm 0,38	1,0 \pm 0,0
45 min	1,71 \pm 0,49	1,14 \pm 0,38	1,0 \pm 0,0
60 min	1,71 \pm 0,49	1,29 \pm 0,49	1,0 \pm 0,0

Tabelle 23: Makroscore Gruppe 2 als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Areal	D1	D2	D3
Baseline	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
1h Okklusion	1,0 \pm 0,0	2,0 \pm 0,58	1,0 \pm 0,0
2h Okklusion	2,57 \pm 0,53	2,43 \pm 0,53	1,0 \pm 0,0
3h Okklusion	2,57 \pm 0,53	2,14 \pm 0,38	1,0 \pm 0,0
4h Okklusion	2,57 \pm 0,53	2,57 \pm 0,53	1,0 \pm 0,0
5h Okklusion	2,71 \pm 0,49	2,57 \pm 0,79	1,0 \pm 0,0
6h Okklusion	2,71 \pm 0,49	2,14 \pm 0,69	1,0 \pm 0,0
Reperfusion	2,43 \pm 0,53	2,0 \pm 0,58	1,14 \pm 0,38
15 min	2,14 \pm 0,38	2,0 \pm 0,58	1,0 \pm 0,0
30 min	2,17 \pm 0,41	2,0 \pm 0,63	1,0 \pm 0,0
45 min	2,17 \pm 0,41	2,0 \pm 0,63	1,17 \pm 0,41
60 min	2,17 \pm 0,41	2,0 \pm 0,63	1,17 \pm 0,41

Tabelle 24: Makroscore Gruppe 3 als Mittelwerte \pm Standardabweichung

Areal	D1	D2	D3
Baseline	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
1h Okklusion	1,6 \pm 0,0	1,6 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
2h Okklusion	1,75 \pm 0,58	1,6 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
3h Okklusion	1,8 \pm 0,5	1,8 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0
4h Okklusion	2,2 \pm 0,5	2 \pm 0,58	1,0 \pm 0,0
5h Okklusion	2,2 \pm 0,5	2,2 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0
6h Okklusion	2,4 \pm 0,0	2,2 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0
7h Okklusion	2,4 \pm 0,0	2,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
8h Okklusion	2,4 \pm 0,0	2,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
9h Okklusion	2,4 \pm 0,0	2,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
10h Okklusion	2,4 \pm 0,0	2,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
Reperfusion	2,4 \pm 0,0	2,2 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0
15 min	2,4 \pm 0,0	2,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0
30 min	2,4 \pm 0,0	2,2 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0
45 min	2,4 \pm 0,0	2,2 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0
60 min	2,4 \pm 0,0	2,2 \pm 0,5	1,0 \pm 0,0

Die makroskopische Bewertung bleibt im Areal D3, bis auf kleine Ausnahmen in Gruppe 2 (45 bzw. 60 Minuten nach der Reperfusion), konstant beim Ausgangswert von 1.

Die Areale D1 und D2 zeigen hingegen in jeder Gruppe unterschiedliche Verläufe. In Gruppe 1 steigen die Werte beider Areale zunächst an und fallen mit der Reperfusion langsam wieder ab. Dabei erreicht D1 ein Maximum von $2,57 \pm 0,53$ und D2 von $2,29 \pm 0,49$ nach 2 Stunden. Bei der Reperfusion erreicht D1 einen Endwert von $1,71 \pm 0,49$, D2 liegt bei $1,29 \pm 0,49$ Punkten.

In Gruppe 2 sind die Tendenzen ähnlich. Der Endwert der Areale D1 und D2 liegt jedoch mit $2,17 \pm 0,41$ und $2 \pm 0,63$ Punkten höher als in Gruppe 1.

In Gruppe 2 kann man in Areal D1 und D2 einen stetigen Anstieg der Werte bis $2,4 \pm 0,0$ beobachten. Die Werte fallen mit der Reperfusion jedoch nicht wie in den anderen Gruppen ab. 60 Minuten nach Reperfusion hat D1 weiterhin $2,4 \pm 0,0$ Punkte, während der Wert in D2 leicht auf $2,2 \pm 0,5$ abgesunken ist.

3.6.2 Fotodokumentation

Während der Versuche wurden zu Dokumentationszwecken an den Versuchszeitpunkten Fotos gemacht.

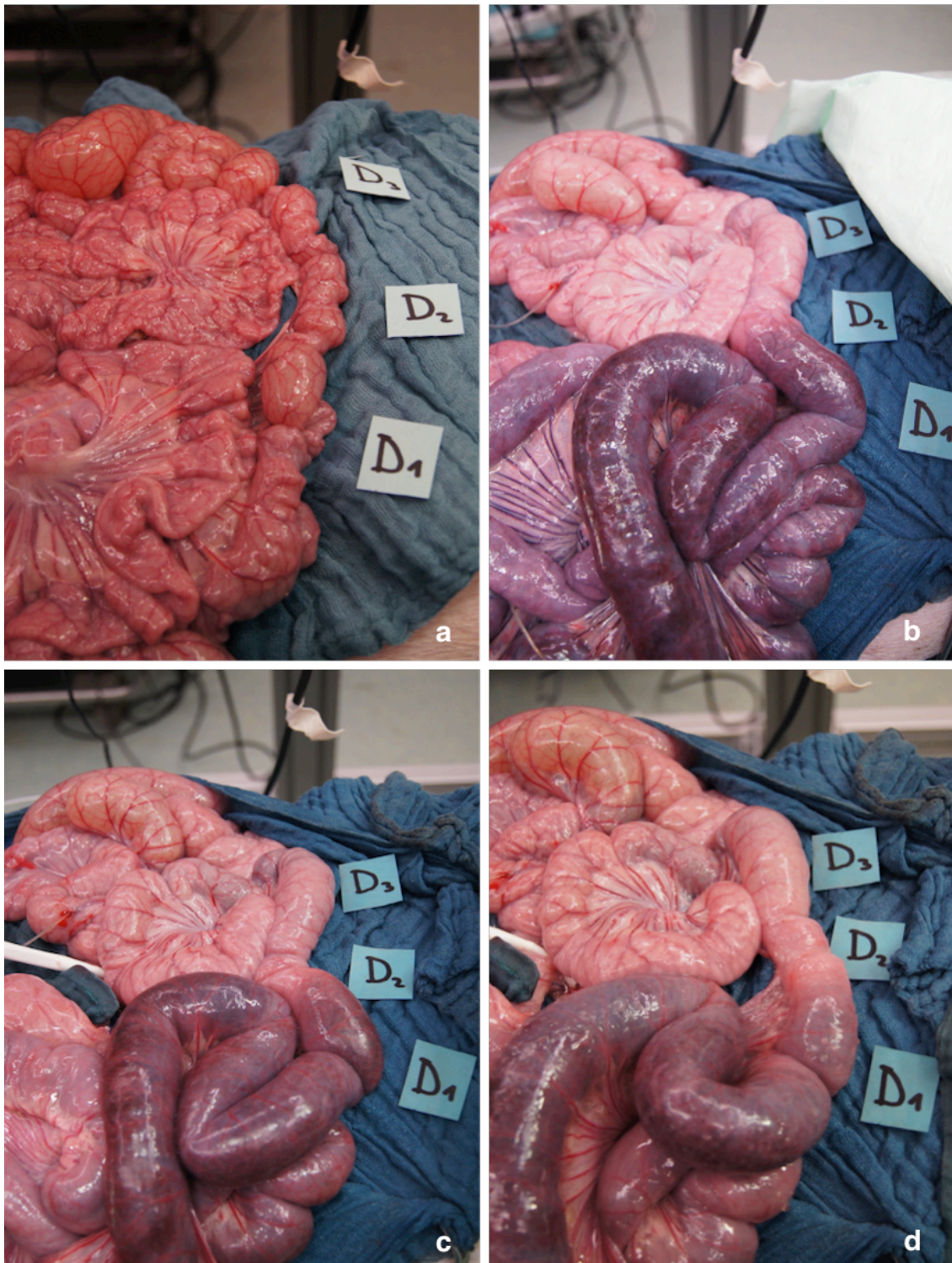


Abbildung 17: Fotodokumentation der Makroskopie von Gruppe 3; Es sind die Versuchszeitpunkte Baseline (a), 10 Stunden Ischämie (b), 15 Minuten Reperfusion (c) und 60 Minuten Reperfusion (d) abgebildet. D1 = ischämisch; D2 = Übergangsbereich; D3 = gesund

In *Abbildung 17* ist der Zustand der Darmareale zu verschiedenen Versuchszeitpunkten durch Fotos dokumentiert.

Der Ausgangspunkt der Versuche ist die Baseline-Messung (a). Zu diesem Zeitpunkt zeigt sich der Darm in allen definierten Arealen rosig. Nach 10 Stunden Ischämie hat sich das Darmgewebe in den Arealen D1 und D2 deutlich verfärbt und ist nun livide bis schwarz. Zudem ist die Farbverteilung fleckig und das Gewebe scheint ödematös. Das gesunde Areal ist etwas blasser als zur Baseline-Messung, hat jedoch auch zu diesem Zeitpunkt einen rosigen Farbton. Die Gewebestruktur scheint sich nicht verändert zu haben.

Nach der Reperfusion verändert sich das gesunde Areal makroskopisch ebenfalls kaum. D1 und D2 verfärben sich leicht, behalten jedoch ihren dunklen Farbton. Nach 60 Minuten (d) kann besonders in D1 ein Ausschwitzen von Gewebeflüssigkeit an der Darmoberfläche beobachtet werden.

3.7 Histologie

Die Auswertung der histologischen Proben erfolgte wie in 2.11 beschrieben.

Tabelle 25: Mittelwerte \pm Standardabweichung der Histologie-Auswertung

Darmareal	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
D1	3,29 \pm 0,45	4,57 \pm 0,49	5,0 \pm 0,00
D2	1,57 \pm 1,18	1,43 \pm 1,18	2,0 \pm 1,22
D3	0,71 \pm 1,03	0,57 \pm 0,73	1,5 \pm 0,87

D1 = ischämisch, D2 = Übergangsbereich; D3 = gesund

Die histologische Auswertung anhand des festgelegten Scoring-Systems zeigt für das ischämische Areal (D1) über die drei Versuchsgruppen hinweg eine steigende Punktzahl. Während in Gruppe 1 der Wert noch bei $3,29 \pm 0,45$ Punkten liegt, steigt er in Gruppe 2 bereits auf $4,57 \pm 0,49$ an. In Gruppe 3 hat jede analysierte Probe 5 Punkte.

Die Punktzahl im Übergangsbereich D2 liegt in Gruppe 1 und 2 bei $1,57 \pm 1,18$ Punkten beziehungsweise $1,43 \pm 1,18$ Punkten. Gruppe 3 erreicht mit durchschnittlich $2,0 \pm 1,22$ Punkten einen etwas höheren Score.

Für das gesunde Areal D3 liegt die durchschnittliche Punktzahl für Gruppe 1 bei $0,71 \pm 1,03$ und für Gruppe 2 bei $0,57 \pm 0,73$. Die histologischen Präparate erreichen in der Auswertung dagegen mit $1,5 \pm 0,87$ eine höhere Punktzahl.

Die Werte aus Tabelle 25 sind in *Abbildung 18* graphisch dargestellt.

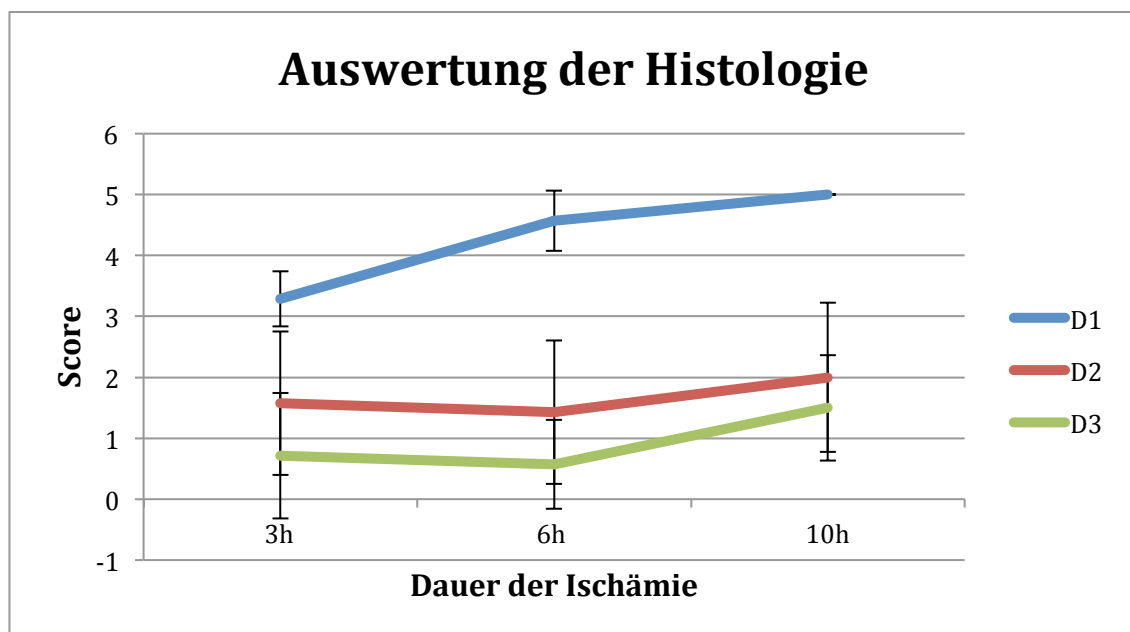
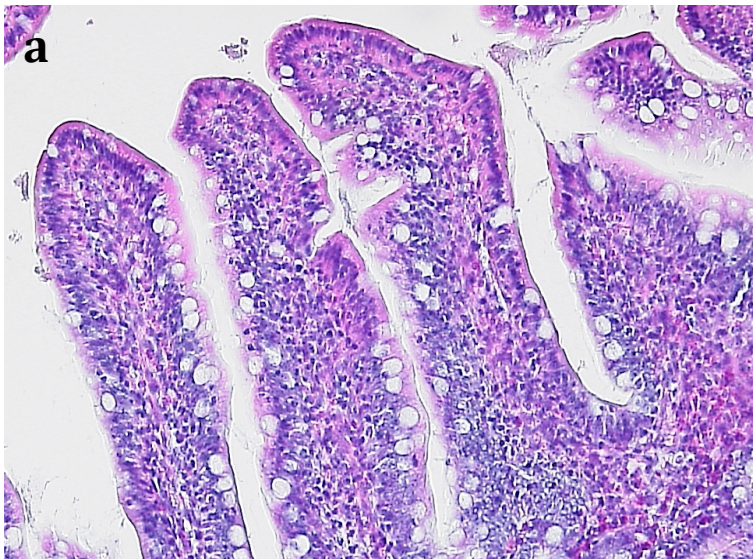


Abbildung 18: Auswertung der Histologie (D1 = ischämisch, D2 = Übergangsbereich; D3 = gesund)

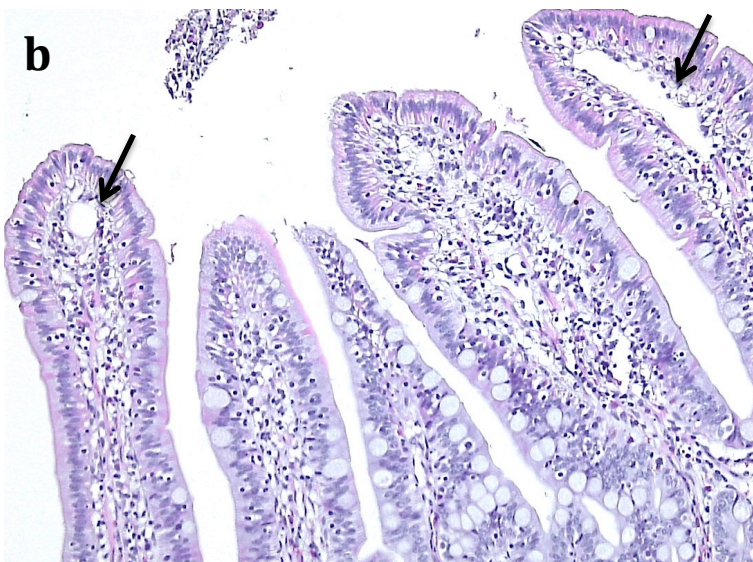
In den folgenden Abbildungen sollen einige der histologischen Veränderungen, welche in unsere Auswertung einbezogen wurden, exemplarisch dargestellt werden.



Grad 0:

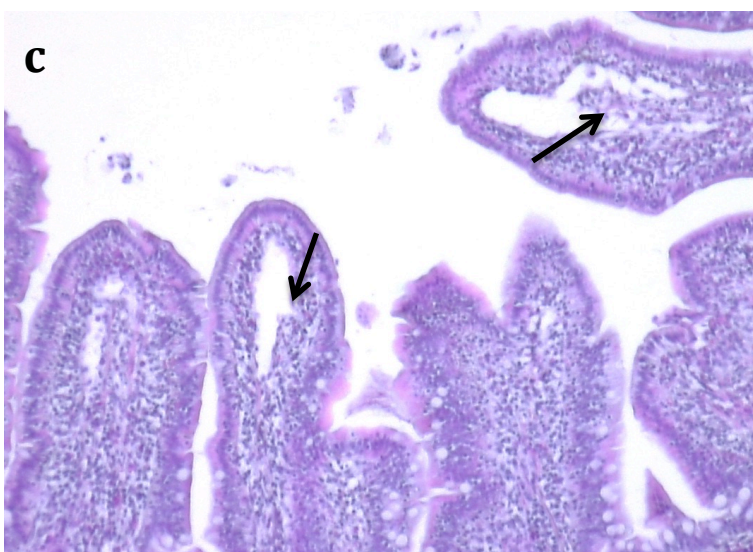
Das Darmepithel ist regelmäßig und scharf begrenzt. Es liegt der Lamina propria direkt an und enthält zahlreiche Becherzellen.

In der Lamina propria sind Lymphozyten zu erkennen.



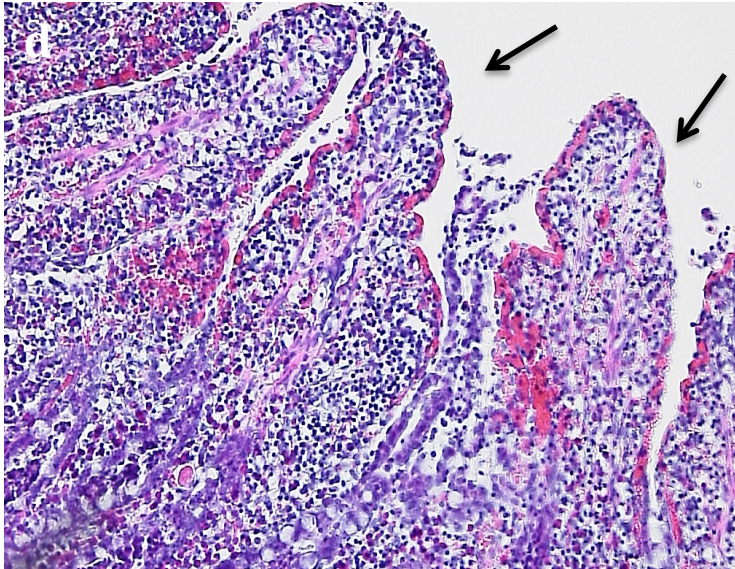
Grad 1:

Das Epithel ist noch scharf begrenzt und regelmäßig, hebt sich jedoch stellenweise von der Lamina propria ab [←].



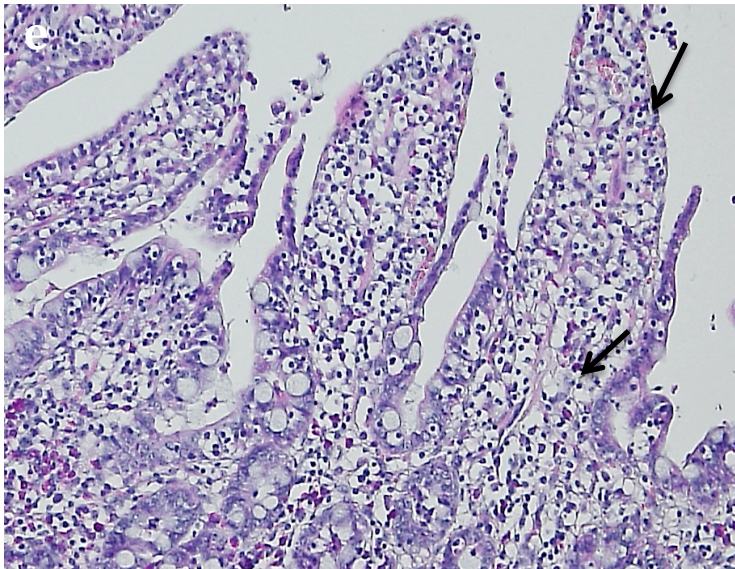
Grad 2:

Das Epithel ist auch hier noch regelmäßig und scharf begrenzt. Es hebt sich im Vergleich zu Schädigungsgrad 1 jedoch großflächiger von der Lamina propria ab [←].



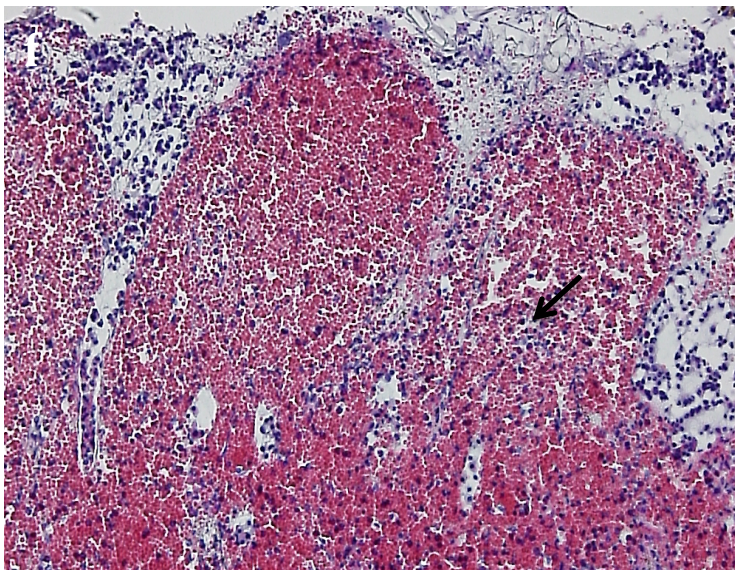
Grad 3:

Die Spitzen der Zotten dieses Darmareals sind komplett entepithelialisiert. Auch an den Seiten der Zotten löst sich das Epithel bereit ab. Die Kapillaren scheinen erweitert zu sein [←].



Grad 4:

Die Lamina propria der Darmzotten liegt frei, Epithelzellen sind nicht auszumachen. Innerhalb der Zotten kommen Hämorrhagien zur Darstellung [←]. Die Struktur der Zotten ist noch erhalten und die Lamina propria ist nicht angegriffen.



Grad 5:

In der Lamina propria zeigen sich deutliche Hämorrhagien und vereinzelt auch Nekrosen [←]. Die Lamina propria ist unscharf begrenzt.

Abbildung 19: H.E.-Färbung der Histologischen Proben; Dargestellt sind Beispiele der Schnitte, welche die angewandte Auswertungsmethode verdeutlichen sollen (a = °0; b = °1; c = °2; d = °3; e = °4; f = °5)

4 Diskussion

Die mesenteriale Ischämie stellt mit einer Mortalität von 44,4 bis 87% auch in der heutigen Zeit eine lebensbedrohliche Erkrankung dar (Schoots et al 2004). Dabei ist die Anastomoseninsuffizienz eine der Komplikationen, welche die postoperative Mortalität am meisten erhöht. Ursächlich für die Insuffizienzen ist unter anderem die Schwierigkeit der intraoperativen Evaluation der Darmvitalität durch den Operateur (Ritz und Buhr 2011, Eckstein 2003).

Die Suche nach einer Hilfestellung zur Vitalitätsevaluation ist kein neues Phänomen. In der Vergangenheit gab es bereits verschiedene Ansätze, die untersucht wurden. Darunter waren beispielsweise Laser-Doppler und Doppler-Sonographie (Lynch et al. 1988, Matern et al. 1993).

Auch die Beurteilung der Gewebepfusion mittels Fluoreszenzangiographie mit Fluoreszin, einem 1871 entwickelten Fluoreszenzfarbstoff, wurde bereits am Tiermodell untersucht. Beispielsweise untersuchten Kam und Scheers den diagnostischen Wert der Fluoreszenzangiographie mit Fluoreszin in Kombination mit einer Laparoskopie bei mesenterialer Ischämie am Hundemodell. Vorher präparierte ischämische Areale konnten hier mittels FA detektiert werden (Kam und Scheeres 1993). Paral et al. untersuchten die FA mit Fluoreszin in einem Mesenterialischämie model am Schwein. Nach Embolisation der AMS erfolgte zwei Stunden später eine laparoskopische FA mit anschließender Resektion der ischämischen Areale und Anlage einer primären Anastomose. 24h später erfolgte ein 2nd look. (Paral et al. 2007). Beide Studien zeigen, dass die Detektion ischämischer Areale prinzipiell möglich ist. Für einen verlässlichen diagnostischen Wert ist eine einmalige Applikation jedoch nicht ausreichend. Zum einen ist die Suche nach ischämischen Arealen und deren genauen Grenzen nach einmaliger Applikation kaum möglich. Zum anderen ist nach der Resektion die Beurteilung der Resektionsränder bzw. der Anastomosenregion relevant. Fluoreszin ist für diese Zwecke jedoch ungeeignet, da eine mehrmalige Applikation aufgrund der langen Halbwertszeit von über fünf Stunden nicht möglich ist (Wipper 2006).

Bisher gibt es keine intraoperativen Verfahren zur sicheren Quantifizierung der Mikroperfusion, die sich flächendeckend durchgesetzt haben. Die Fluoreszenzangiographie mit ICG könnte ein solches Werkzeug zur Quantifizierung der Perfusionsverhältnisse darstellen. Die Anwendung ist

einfach und wenig zeitintensiv, sodass die Operationszeit nicht unnötig verlängert wird. Zudem kann der Farbstoff aufgrund der kurzen Halbwertszeit von 4 Minuten ohne Qualitätseinbußen in den FA-Bildern häufiger hintereinander appliziert werden (Wipper 2006). Die Auswertung kann schon intraoperativ erfolgen.

4.1 FA mit ICG in der Kolorektalen Chirurgie

In der Kolorektalen Chirurgie sind Anastomoseninsuffizienzen mit 5-19% eine häufige Komplikation (McDermott et al 2015). Durch den Einsatz der Fluoreszenzangiographie konnte das Auftreten in einigen klinischen Studien jedoch deutlich gesenkt werden.

Kudszus et al. zeigten in einer 2010 veröffentlichten, retrospektiven Studie, dass durch den intraoperativen Einsatz einer FA mit ICG die Perfusionsverhältnisse der Resektionsränder visualisiert werden können. Dadurch wird die Differenzierung zwischen gut perfundierten und minderperfundierten Arealen ermöglicht, sodass die Rate der Anastomoseninsuffizienzen um 60% gesenkt werden konnte (Kudszus et al 2010).

Jafari et al. verglichen in einer retrospektiven Fall-Kontroll-Studie 38 Patienten hinsichtlich des Auftretens von Anastomoseninsuffizienzen bei der roboterassistierten tiefen anterioren Rektumresektion. Bei 16 dieser Patienten wurde eine Fluoreszenzangiographie durchgeführt. In 3 dieser Fälle wurde aufgrund des fluoreszenzangiographischen Bildes eine Nachresektion durchgeführt. Nur einer der fluoreszenzangiographisch evaluierten Patienten entwickelte eine Leckage. Im Gegensatz dazu entwickelten in der Kontrollgruppe drei Patienten eine Anastomoseninsuffizienz (Jafari et al. 2013).

Auch Ris et al. untersuchen 2014 ein Kollektiv von 30 Patienten, bei denen eine kolorektale Resektion vollzogen wurde. Die Anastomosen wurden intraoperativ mit einem laparoskopischen Fluoreszenzangiographiesystem beurteilt. Es wurden hierbei keine Anastomoseninsuffizienzen beobachtet, so dass die Ergebnisse sehr vielversprechend sind. Der zeitliche Mehraufwand einer intraoperativen Bildgebung mittels FA mit ICG lag nur bei etwa 4,5 Minuten (Ris et al. 2014).

Boni et al. kamen zu ähnlichen Ergebnissen und beschrieben in ihrer Studie an 38 Patienten einen Fall, bei welchem sie durch die FA eine makroskopisch nicht

auszumachende Ischämie am Resektionsrand entdeckten, die mit hoher Wahrscheinlichkeit zu einer Anastomoseninsuffizienz geführt hätte (Boni et al 2015).

Die Ergebnisse der FA in der kolorektalen Chirurgie zeigen, dass sich der Einsatz dieser Technologie lohnen kann und mit sehr geringem Zeitaufwand verbunden ist. Jedoch haben die bisherigen Studien einen eher niedrigen Evidenzgrad. Zur valideren Untersuchung der FA in der kolorektalen Chirurgie sind daher randomisiert-kontrollierte Studien notwendig (Degett et al. 2015). Des Weiteren nutzen die aktuell publizierten Studien zur Anwendung der FA in der kolorektalen Chirurgie die Technologie lediglich subjektiv. Die Einschätzung der Perfusion erfolgt in den genannten Studien nur anhand des Fluoreszenzbildes der untersuchten Darmabschnitte und nicht objektiv mittels reproduzierbarer Parameter, welche beispielsweise als Intensitäten aus der FA-Kurve generiert werden können.

Die publizierten Ergebnisse bestätigen dennoch den klinischen Nutzen der FA, sodass die Anwendung möglicherweise auch bei Krankheitsbildern wie der mesenterialen Ischämie sinnvoll und gerechtfertigt ist.

4.2 Anwendung der Fluoreszenzangiographie mit ICG bei der akuten mesenterialen Ischämie

Auf dem Gebiet der mesenterialen Ischämie gibt es bislang keine größeren klinischen Studien, welche den Nutzen und die möglichen Vorteile der Fluoreszenzangiographie untersuchen. Es gibt jedoch einige Fallvorstellungen, die die Anwendung der FA bei der mesenterialen Ischämie behandeln.

4.2.1 Klinische Ansätze

Nitori et al. konnten im Fallbeispiel eines 84 jährigen Patienten mit mesenterialer Ischämie intraoperativ das ischämische Areal unter Verwendung der FA detektieren. Das zuvor makroskopisch festgelegte Ausmaß der Resektion wurde hier aufgrund des fluoreszenzangiographischen Befundes erweitert. Es erfolgte eine primäre Anastomose. Zudem konnte in einem weiteren Areal, welches zunächst makroskopisch ischämisch zu sein schien, eine suffiziente Perfusion mittels FA nachgewiesen werden. Dieser Befund führte zum Erhalt des Darmsegments und damit zu einer relevanten Änderung des Resektionsausmaßes. Der weitere postoperative Verlauf war unkompliziert,

acht Monate postoperativ lebte der Patient ohne weitere aufgetretene Komplikation (Nitori et al. 2014).

In einer Fallserie von Nowak et al. konnte sich die FA ebenfalls als Entscheidungshilfe in der Beurteilung ischämischer Darmareale erweisen. Einerseits konnte die FA die Perfusionsminderung in makroskopisch ischämische Areale bestätigen. Andererseits konnten bei zwei Patienten makroskopisch ischämisch imponierende Areale erhalten werden, da die FA in diesem Falle eine Restperfusion zeigte. Daher wurden die entsprechenden Areale als potentiell vital eingeschätzt und eine zusätzliche Resektion von Darmgewebe konnte vermieden werden. Bei einem der beiden Patienten wurde ein „second-look“ durchgeführt. Dieser bestätigte die zuvor gefällte intraoperative Entscheidung die in der FA als vital eingeschätzten Darmsegmente zu belassen (Nowak et al. 2015).

Linuma et al. berichten über einen 15-jährigen Patienten mit notwendiger ausgedehnter Darmresektion bei multiplen Volvuli. In der FA stellte sich ein Areal, welches klinisch als unauffällig eingestuft wurde, minderperfundierte dar. Aufgrund der klinischen Einschätzung wurde jedoch eine primäre Anastomose angelegt, um die Restdarmlänge zu maximieren. Am 22. postoperativen Tag wurde dennoch eine Striktur diagnostiziert, welche im Rahmen der notwendigen operativen Revision in dem Areal lag, welches mittels FA als minderperfundierte imponiert hatte. Linuma et al. schlussfolgerten daraus, dass die fluoreszenzangiographisch erhobenen Perfusionsverhältnisse der klinischen Einschätzung überlegen waren (Linuma et al. 2013).

Alemanno et al. führten nach endovaskulärem Aortenersatz bei klinischem und laborchemischem Verdacht auf eine Mesenterialischämie eine diagnostische Laparoskopie mit FA durch. Eine zuvor durchgeführte Computertomographie konnte keine Ischämie detektieren, in der diagnostischen Laparoskopie imponierten die Darmschlingen ebenfalls nicht ischämisch. Die anschließend durchgeführte laparoskopische FA zeigte jedoch eine Minderperfusion von Teilen des Kolon ascendens. Es erfolgte eine Resektion der betroffenen Anteile. Das Präparat zeigte makroskopisch eine komplette Mukosaischämie. (Alemanno et al. 2016).

Die Fallvorstellungen demonstrieren den bisher subjektiven Einsatz der Technologie, welche aber bis zum heutigen Zeitpunkt vielversprechende

Ergebnisse hervorgebracht hat. Weiterhin basieren aber die Einschätzungen und die abgeleiteten Therapiemaßnahmen von dem subjektiven Empfinden und der Erfahrung des Einzelnen. Damit diese vielversprechende Technologie in ihrem Einsatz und ihrer Effektivität die kompletten Möglichkeiten ausschöpfen kann und Ergebnisse reproduzierbar werden, muss man sich jedoch mit möglichen objektiven Auswertungskonzepten und Interpretationsansätzen auseinandersetzen.

4.2.2 Tierexperimentelle Studien

Andere Forschungsgruppen haben sich in tierexperimentellen Studien näher mit den Aspekten der Auswertung und Interpretation der generierten Daten beschäftigt.

Toens et al. validierten 2006 die Fluoreszenzangiographie bei mesenterialer Ischämie in Korrelation mit Mikrosphären als Goldstandard zur Perfusionsmessung am Hasenmodell. Die Auswertung ergab einen Korrelationskoeffizienten von $0,92 \pm 0,07$. Der hohe Korrelationskoeffizient zeigt, dass die Fluoreszenzangiographie nicht nur für die Perfusionsmessung des Myokards (Detter et al. 2007), sondern auch für die Evaluation der mesenterialen Durchblutungssituation geeignet ist (Toens et al. 2007). Die Autoren beurteilen die in ihre Studie gewählte Ischämiezeit von 60 Minuten jedoch als zu kurz gewählt, da weder makroskopisch noch histologisch nekrotische Areale auszumachen waren. Ein Studienprotokoll mit einer längeren Ischämiezeit hätte einerseits die Beurteilung irreversibler Nekrosen mittels FA ermöglicht und andererseits ein klinisch realistisches Setting geboten.

Diana et al. führten bereits mehrere Studien über die Anwendbarkeit der Fluoreszenzangiographie zur Beurteilung der Darmvitalität durch. Die Quantifizierung der FA erreichten sie über die Messung der „time to peak“ (TTP), also der Dauer bis zum Erreichen der maximalen Fluoreszenzintensität. In einer tierexperimentellen Studie an sechs Schweinen konnten nach 15 minütiger Ischämie signifikante Unterschiede zwischen ischämischen Arealen und normal perfundierten Kontrollarealen gemessen werden. Diese korrelierten zudem mit lokal in den ROIs gemessenen Laktatwerten (Diana et al. 2014b). Zusätzlich konnte in einer weiteren Versuchsreihe an sechs Schweinen gezeigt werden, dass sich die fluoreszenzangiographische Bestimmung des

Resektionsrandes mittels TTP von der klinischen subjektiven Entscheidung signifikant unterscheidet. Hier wurde die Auswertungssoftware jedoch so konfiguriert, dass erst eine TTP-Verlängerung von 50% im Vergleich zum Kontrollareal ad hoc kartographiert wurde. Anhand dieser Auswertung wurde nun der Resektionsrand ausgewählt. Die Validierung der Methodik erfolgte zum einen durch lokal gemessene Laktatwerte, sowie der mitochondrialen Respirationsrate. Zum anderen wurde auch die klinische Evaluation herangezogen. Die fluoreszenzangiographische Einschätzung der Perfusionsverhältnisse konnte durch die lokal beobachteten Messwerte bestätigt werden. Die Übereinstimmung der klinischen und fluoreszenzangiographischen Bestimmung der Resektionsränder lag nach zwei und vier Stunden Ischämie bei 50%, nach sechs Stunden bei 75%. Bei unterschiedlich gewählten Positionen lag der klinisch bestimmte Resektionsrand weiter vom tatsächlich kompromittierten Gewebeabschnitt entfernt. Die Genauigkeit der FA steigerte sich mit zunehmender Ischämiezeit (Diana et al. 2014c).

Linuma et al. werteten die Fluoreszenzangiographie im Rahmen des Fallberichts retrospektiv aus. Dabei wählten sie, ähnlich wie wir in unseren Versuchen, „regions of interest“ (ROI) aus und erstellten eine Fluoreszenzintensitätskurve in Abhängigkeit von der Zeit. Die anschließende Beurteilung erfolgte im Gegensatz zu unseren Auswertungsmethoden jedoch nur anhand der Kurvenmorphologie. Es wurden zur Auswertung zwei ROIs in einer Auswertungssoftware platziert, welche die Fluoreszenzintensität misst. Ein Kontrollareal wurde Mesenterium platziert, die zweite im verbleibenden Jejunum. Die Kurvenmorphologien beider Areale wurden verglichen. Hier zeigte sich nach im Jejunum ein kurzer Anstieg mit anschließendem Plateau, während im Kontrollareal ein Anstieg zu verzeichnen war. Die objektive Quantifizierung mit errechneten Werten wurde nicht durchgeführt (Linuma et al. 2013).

Auch Matsui et al. haben sich am Schweine- und Rattenmodell mit der mesenterialen Ischämie und deren Darstellung in der FA beschäftigt. 24 Schweine wurden in drei Gruppen à acht Tiere aufgeteilt, das Unterscheidungsmerkmal war die Länge der ischämischen Darmareale (2-12cm). Es wurde jeweils eine FA vor und nach der Okklusion durchgeführt. Die Auswertung erfolgte anhand einer contrast-to-background-ratio (CBR) Kurve.

Diese wurde wie folgt definiert: (mean fluorescence intensity of ROI – mean fluorescence intensity of background) / mean fluorescence intensity of background. Zudem wurde eine drainage ratio festgelegt, welche sich aus der maximalen Fluoreszenzintensität I_{max} und der Fluoreszenzintensität nach 120 Sekunden I_{120} zusammensetzte: $I_{max} / I_{120} * 100$.

Bei der Auswertung der Kurven wurden vier unterschiedliche Kurvenmorphologien festgelegt und die einzelnen ROIs diesen zugeordnet.

In den folgenden Versuchen an 60 Ratten wurden diese Muster angewandt, um das postoperative Outcome der Tiere nach unterschiedlich langer Dünndarmischämie (0,5, 1, 2 und 4 Stunden) vorausszusagen. Zudem wurde eine klinische Evaluation anhand von Farbe, Pulsation und Peristaltik durchgeführt. Zusätzlich wurden quantitative Methoden (I_{max} , drainage ratio) angewandt.

Die klinische Evaluation konnte das Überleben mit einer Spezifität von 47% und einer Genauigkeit von 55% nur schlecht prognostizieren, die quantitativen Auswertungen überzeugten mit nur marginal besseren Werten ebenfalls nicht. Der quantitative Auswertungsansatz konnte in diesem Setting somit keinen Vorteil bezüglich der intraoperativen Evaluation der Vitalität bringen. Jedoch konnten subjektive FA-Ergebnisse wie ein Füllungsdefekt, das Fehlen eines Inflow-Peaks und die Kurvenmorphologie in Form eines arteriellen Insuffizienzusters mit einer Genauigkeit zwischen 77 und 90% das Überleben voraussagen. Zudem konnte anhand dieser Parameter der Grad der histologischen Schädigung eingeschätzt werden. Der positiv prädiktive Wert lag dabei zwischen 79 und 85% (Matsui et. al 2011).

In dieser Arbeit wird eine erste Quantifizierung der Fluoreszenzangiographie beschrieben, welche jedoch nicht überzeugen mit einem starken Vorteil gegenüber der klinischen Evaluation überzeugen konnte. Die übrigen Auswertungsmethoden sind vielmehr eine erweiterte subjektive Bewertung der Fluoreszenzintensitätskurve und erfordern hierdurch eine fundierte Erfahrung des Untersuchers.

4.3 Neuerungen in der Fluoreszenzangiographie bei der akuten mesenterialen Ischämie – SFI und BSFI

Unsere Studie und die in dieser angewandten Auswertungsmethoden unterscheiden sich in mehreren Punkten von den bisher durchgeführten Studien zur Validierung und Quantifizierung der mesenterialen Perfusion.

Die Quantifizierung der Fluoreszenzangiographie erfolgte zum einen durch die Erhebung der background subtracted fluorescence intensity (BSFI). Da besonders nach wiederholten Injektionen von ICG eine Restfluoreszenzintensität entsteht, haben wir diese bei der Errechnung des Wertes subtrahiert. Dadurch werden falsch hohe Messergebnisse vermieden.

Zusätzlich haben wir die slope of fluorescence intensity (SFI) als Parameter herangezogen, welche die maximale Steigung der Fluoreszenzintensität unabhängig von der Zeit darstellt. Die SFI ist ebenfalls unabhängig von der Hintergrund- bzw. Restfluoreszenzintensität, sodass auch dieser Parameter nach wiederholter ICG-Applikation zur Perfusionsquantifizierung herangezogen werden kann.

Die aus der FA berechneten Werte wurden zudem mit dem Fluss auf der Segmentarterie, der Gewebeoxygenierung, einer makroskopischen Bewertung sowie einer histologischen Auswertung der Darmareale D1-D3 in Zusammenhang gebracht.

Bei der Durchführung von fluoreszenzangiographischen Perfusionsstudien ist eine konstante Hämodynamik obligat, da ICG intravenös verabreicht wird und jegliche Veränderungen der Hämodynamik die Messwerte beeinflussen. In unseren Versuchen haben wir die hämodynamischen Variablen kontinuierlich durch eine Pulskonturanalyse überwacht. In der Auswertung der Daten ergaben sich keine signifikanten Unterschiede bei Herzfrequenz und Herzzeitvolumen. Auch das globale enddiastolische Volumen konnte innerhalb der Gruppen zu den Messzeitpunkten konstant gehalten werden. Nur Gruppe 2 und 3 unterschieden sich untereinander signifikant zu den Messzeitpunkten.

Der SVR und der MAP spiegeln die systemische Kreislaufreaktion des Tieres auf die mesenteriale Ischämie wider und erhöhen sich signifikant zu den Messzeitpunkten „Okklusion“ und „Reperfusion“. Dabei sind diese Schwankungen nur innerhalb einer Gruppe signifikant. Die Gruppen untereinander zeigen keine signifikanten Veränderungen. Somit kann davon

ausgegangen werden, dass die Tiere aller Versuchsgruppen hinsichtlich hämodynamischer Werte einheitlich auf die Ischämie reagiert haben.

4.3.1 Detektion einer mesenterialen Ischämie mittels SFI und BSFI

Zur Bestätigung der Ischämie haben wir die Flussmessung auf der Arterie, den lokalen Sauerstoffpartialdruck des Gewebes und die Makroskopie herangezogen. Der mittels TTFM bestimmte Fluss auf der Arterie wurde durch die Okklusion vollständig unterbrochen. Der Sauerstoffpartialdruck sank in allen drei Gruppen in Areal D1 nach Okklusion signifikant ab. Dies spiegelt eine deutliche Perfusionsminderung im Sinne einer Ischämie wider. Im Areal D3 als Kontrollareal veränderte sich der tpO_2 nur marginal und bestätigt somit eine intakte Durchblutung. Zudem demarkierte sich das ischämische Areal auch makroskopisch. Wir haben in unseren Versuchen zudem regelmäßige Blutgasanalysen durchgeführt. Dabei zeigte der pH-Wert während der gesamten Dauer der Versuche keine großen Schwankungen. Der häufig in der Diagnostik einer mesenterialen Ischämie verwendete Laktatwert konnte in unseren Versuchen nicht zur Detektion herangezogen werden. Dieser ist auch im klinischen Setting mit einer Sensitivität von 71,7% und einer Spezifität von 74,2% nicht zuverlässig (Treskes et. al. 2017). Die Versuchstiere hatten im Vergleich zum Menschen erhöhte Ausgangswerte. Des Weiteren erfolgt die Diagnostik einer Mesenterialischämie in der Klinik nicht nach unmittelbarem Beginn der Ischämie, sondern zumeist erst nach einem Intervall mit bestehender Minderperfusion. Zudem haben wir eine kontinuierliche, intravenöse Flüssigkeitszufuhr durchgeführt. Somit ist das systemische Laktatlevel in unseren Versuchen zur Detektion ungeeignet.

Wie auch schon in anderen Studien gezeigt, konnte in unseren Versuchen eine Ischämie durch die FA detektiert werden. Perfundierte Areale konnten visuell anhand des fluoreszenzangiographischen Bildes von ischämischen Arealen abgegrenzt werden. Nach Applikation von ICG fluoreszierten die perfundierten Areale, während sich die ischämischen Areale schwarz darstellten. Auch die Übergangszonen konnten in der Fluoreszenzaufnahme detektiert werden. Des Weiteren konnten auch die mittels FA berechneten Parameter die Ischämie bestätigen.

Zur besseren Vergleichbarkeit der Gruppen bei nicht immer konstanten hämodynamischen Parametern, haben wir eine Ratio zur Baseline gebildet.

Dabei impliziert eine Ratio <1 eine relative Hypoperfusion, eine Ratio >1 entspricht einer relativen Hyperperfusion im Vergleich zum Baselinewert. Hierdurch werden auch minimale Schwankungen und Unterscheide der einzelnen Gruppen eliminiert. Des Weiteren erlauben die Ratios, wie oben beschrieben, eine schnelle und unkomplizierte Einordnung des Ergebnisse in Hypo- und Hyperperfusion. Dies ist mit absoluten Werten deutlich aufwändiger und anfälliger für Fehler.

Die SFI-Ratio zeigte zum Zeitpunkt der Okklusion im ischämischen Areal D1 aller Gruppen als Ausdruck einer deutlich kompromittierten Perfusion Werte von 0,11 in Gruppe 1, 0,09 in Gruppe 2 und 0,08 in Gruppe 3. Im Areal D2 konnte durch diesen Quotienten mit Werten von 0,31 bis 0,67 ebenfalls eine deutliche Perfusionseinschränkung ausgemacht werden. Im Kontrollareal D3 kam es mit einer Ratio von 1,55 bis 2,47 hingegen zu einer relativen Hyperperfusion. Die Unterschiede zwischen den Arealen bei Okklusion sind dabei über alle Gruppen hinweg signifikant. Auch innerhalb einer Gruppe sind die Areale signifikant unterschiedlich. Die drei Versuchsgruppen unterscheiden sich jedoch nicht signifikant voneinander.

Die absoluten SFI-Werte vom Messzeitpunkt „Okklusion“ waren in Areal D1 und D2 im Vergleich zum Baselinewert signifikant niedriger. Dies spricht für eine signifikant kompromittierte Perfusion in diesen Arealen. Auch die Zunahme der Perfusion im Areal D3, welche sich durch eine Erhöhung der absoluten SFI-Werte darstellt, ist signifikant.

Auch die BSFI-Ratio konnte die Ischämie bestätigen. Für das ischämische Areal D1 ergaben sich Wert von 0,07 bis 0,14. Im Areal D2 zeigten Werte zwischen 0,31 und 0,7 ebenfalls eine eingeschränkte Perfusion. Im gesunden Areal D3 ließen die BSFI-Ratios – ähnlich wie bei der SFI-Ratio – auf eine relative Hyperperfusion zum Zeitpunkt der Okklusion schließen. Dabei unterschieden sich die einzelnen Gruppen nicht signifikant voneinander. Die Unterscheide zwischen den einzelnen Arealen sind jedoch über alle Gruppen hinweg signifikant. Daraus kann geschlussfolgert werden, dass die Versuchstiere über alle Gruppen hinweg eine einheitliche fluoreszenzangiographische Reaktion auf die Okklusion zeigten.

Auch die absoluten BSFI-Werte zeigten eine signifikante Abnahme im Vergleich zum Baselinewert der Areale D1 und D2.

Die Perfusionsunterschiede der einzelnen Areale einer Gruppe scheinen sich somit auch in den aus der FA berechneten Werten widerzuspiegeln. Dies bedeutet, dass anhand der FA objektiv Perfusionsunterschiede messbar gemacht und detektiert werden können. Im nächsten Schritt könnte anhand des berechneten Wertes möglicherweise direkt auf den tatsächlichen Zustand des Gewebes geschlossen werden.

4.4 Schädigungsmechanismen auf makroskopischer, histologischer und molekularer Ebene

Bevor der Zusammenhang von Fluoreszenzangiographie mit ICG und Schädigungsgrad in der Histologie beurteilt werden kann, müssen zunächst Schädigungsverlauf und die grundsätzlichen Pathomechanismen während Ischämie und Reperfusion im Darmgewebe nachvollzogen werden.

Die Destruktion des Gewebes beginnt am Epithel und subendothelial. Im Sinne einer leichten Schädigung zeigen sich zunächst subendotheliale Räume, die sogenannten Grünhagen-Räume. Hierbei handelt es sich um extrazelluläre Flüssigkeitsansammlungen. Auf die Desintegration des Epithels und die subendothelialen Flüssigkeitsansammlungen folgt die progrediente Ablösung des Epithels beginnend an den Zottenspitzen. Im weiteren Verlauf liegt die Mukosa frei und ist einerseits der physiologischen Darmflora und andererseits der aus der Ischämie resultierenden Inflammation ausgesetzt.

Bei der Entstehung der subendothelialen Flüssigkeitsansammlungen werden zwei unterschiedliche Mechanismen beschrieben. Einerseits kommt es durch lokale Metaboliten und Hypoxie zu einer erhöhten Permeabilität der Kapillaren und einem damit verbundenen Übertritt von Proteinen in den Extrazellularraum. Diese erhöhen den kolloidosmotischen Druck und führen somit zu einem intestinalen Ödem (Vollmar et Menger 2011).

Andererseits kommt es durch die Hypoxie zu einer Desintegration des Zottenepithels, beginnend an den Spitzen. Chiu et al. konnten 1970 zeigen, dass es während einer Hypoperfusion zu einer Erweiterung des lateralen Kompartimentes zwischen den Epithelzellen kommt. Dies spricht für eine Schädigung der Zelladhäsionsstrukturen, insbesondere der „tight junctions“ und führt zu einer Permeabilitätssteigerung des Interzellularspaltes (Chiu et al. 1970).

Szabó et al. zeigten 2008 in einer experimentellen Arbeit an Mäusen mittels Fluoreszenzmikroskopie, dass nach einer Ischämie mit anschließender Reperfusion die Fluoreszenzintensität im Interstitium erhöht ist. Sie umspülten die Darmmukosa nach 30 minütiger Ischämie und 90 Minuten Reperfusion mit Salzlösung, welche mit fluoreszierendem Farbstoff versetzt war. Der in dieser Studie gemessene Anstieg der Fluoreszenzintensität spricht somit für eine gesteigerte Permeabilität durch Schädigung der Integrität des Epithels. Auch hier zeigte sich an den ischämischen Darmarealen, im Gegensatz zur operierten Kontrollgruppe ohne Ischämiephase, eine Epithelschädigung der Zottenspitzen (Szabó et al. 2008).

In einem ähnlichen Versuchsansatz mit intraluminalen Markern konnten Solligård et al. nach 60 minütiger Ischämie und vier Stunden Reperfusion ebenfalls eine gesteigerte Permeabilität feststellen (Solligård et al. 2008).

Guan et al. konnten in einem Mausmodell mittels Fluoreszenzmikroskopie ebenfalls eine kompromittierte Integrität des Epithels feststellen. Auch hier wurde eine mit fluoreszierendem Farbstoff versetzte Lösung intraluminal verabreicht und die Fluoreszenzintensität im Gewebe als Permeabilitätsmarker gemessen. Nach 15 minütiger Ischämie mit Reperfusion zeigte sich kein Unterschied zu Baselinemessung. Nach 40-50 minütiger Ischämie hingegen konnte ein Anstieg der Fluoreszenzintensität gemessen werden. (Guan et al. 2009). Des Weiteren bestimmten Guan et al. die NAD(P)H Autofluoreszenz mikroskopisch als Parameter für die Aktivität der Mitochondrien. Nach 15 minütiger Ischämie erreichte die Fluoreszenz, nach vorherigem Anstieg, den Ausgangswert und wurde somit als reversibel eingestuft. Bei 40-50 minütiger Ischämie konnten sie bei nur einem Drittel der Zellen nach Reperfusion eine Normalisierung feststellen. In den restlichen Zellen war die Aktivität deutlich eingeschränkt. Sie schlussfolgerten aus dem Abfall der Aktivität den Untergang der Zellen. Somit konnten der Zelluntergang und der gesteigerte Flüssigkeitsübertritt von luminal nach interstitiell während einer mesenterialen Ischämie in Zusammenhang gebracht werden (Guan et al. 2009).

Für die Beurteilung der Fluoreszenzangiographie sind die Mechanismen der Ödembildung von Bedeutung, da der Flüssigkeitsübertritt nicht ausschließlich von intravasal passiert. Der Flüssigkeitsübertritt von luminal in das Interstitium stellt ebenfalls einen wichtigen Teilaspekt bei der Schädigung dar. Wenn die

histologischen Ergebnisse mit der FA in Zusammenhang gebracht werden sollen, muss dieser Fakt beachtet werden, weil die FA nicht das gesamte interstitielle Ödem abbilden kann. Nur der von intravasal nach interstitiell übertretende Flüssigkeitsanteil kann hiermit beurteilt werden.

Verhaegh et al. veröffentlichten 2017 eine weitere Studie zu dieser Thematik. Sie untersuchten an Ratten eine 60 minütige Ischämie mit 90 minütiger Reperfusion. Auch sie stellen mittels Fluoreszenzintensitätsbestimmung nach intraluminaler Applikation fluoreszenzmarkiertem Dextran eine gesteigerte Permeabilität fest. Dabei verwendeten sie zur Analyse der histologischen Schädigung ebenfalls das von Chiu et al. etablierte Bewertungssystem. Sie konnten in einem ischämischen Segment ihrer Versuche einen Score von $3,45 \pm 0,52$ feststellen (Verhaegh et al. 2017). Dieser entspricht dabei in etwa dem histologischen Zustand des ischämischen Segments der ersten unserer Versuchsgruppe. Hieraus kann geschlussfolgert werden, dass nicht nur die Dauer der Ischämiephase, sondern auch die der Reperfusionsphase für das Ausmaß der Gewebedestruktion ausschlaggebend ist.

4.4.1 Pathophysiologie des Ischämie/Reperfusion-Syndroms

Um die in unseren Versuchen aufgetretene, mikroskopisch festgestellte Schädigung und das zugehörige, fluoreszenzangiographische Verhalten verstehen zu können, muss unter anderem das Ischämie/Reperfusion-Syndrom (I/R-Syndrom) mit den übrigen Ergebnissen in Zusammenhang gebracht werden.

Ursächlich für das I/R-Syndrom sind reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Die Entstehung dieser beruht auf einer unvollständigen Reduktion von Sauerstoff, sodass beispielsweise Superoxid ($O_2^{\cdot-}$), Wasserstoffperoxid (H_2O_2), und freie Hydroxyl-Radikale (HO^{\cdot}) gebildet werden (McCord 2000).

Die Synthese von ROS kann auf unterschiedlichen Stoffwechselwegen ablaufen. Daran sind unter anderem die Enzyme Xanthinoxidase, NADPH Oxydase und die Cytochrom P450 Oxydase beteiligt. Außerdem entstehen ROS auch bei der Atmungskette in Mitochondrien (Kalogeris et al. 2017). Während einer Ischämie kommt es durch eine Kalziumakkumulation zur Konversion der Xanthindehydrogenase zur Xanthinoxidase. Die Menge an konvertiertem Enzym korreliert dabei mit der Ischämiezeit. Zusätzlich entsteht durch den ATP-Katabolismus Hypoxanthin, welches durch den fehlenden

Blutfluss akkumuliert. Nach einer Reperfusion kehrt Sauerstoff als Reaktant zurück, sodass nun die Xanthinoxidase die Reaktion von Hypoxanthin zu Xanthin katalysiert, deren Nebenprodukt $O_2^{\cdot-}$ ist. Hieraus entsteht durch die Superoxiddismutase H_2O_2 . In weiteren Reaktionen entsteht schließlich HO^{\cdot} , welches eine Lipidperoxidation auslöst und somit zu einer Schädigung der Zellmembran der Epithelzellen führt. Zusätzlich werden durch die ROS Entzündungsmediatoren ausgeschüttet und Adhäsionsmoleküle aktiviert. In Folge dessen wird im betroffenen Gewebe durch die Migration von neutrophilen Granulozyten eine Inflammation ausgelöst (Cerqueira 2005).

Ein weiterer diskutierter Mechanismus, welcher bei der Gewebeschädigung nach Ischämie eine Rolle zu spielen scheint, ist die Autodigestion durch migrierte Pankreasenzyme. Durch die vorher beschriebene Destruktion der Membranintegrität können nun Proteasen, die physiologisch im Darmlumen vorkommen, in das Gewebe eindringen und dort lokal zu einer verstärkten Destruktion beitragen (Penn et al 2006). Zudem generieren diese Pankreasenzyme durch die Reaktion mit Fettsäurestrukturen zytotoxische freie Fettsäuren (Schmid-Schönbein 2008). Verhaegh et al. konnten in einem mesenterialen Ischämiemodell (90min) mit anschließender Reperfusion (120 min) an Ratten zeigen, dass die Aktivität der Trypsin-like Protease mit der lokalen Gewebedestruktion korrelierte (Verhaegh et al. 2017). Dieser Pathomechanismus kann, genau wie die von luminal übertretende Flüssigkeit, nicht mittels FA detektiert werden, muss aber trotzdem bei der Auswertung der FA berücksichtigt werden.

4.4.2 Schädigungsmuster in unseren Versuchen

In der histologischen Aufarbeitung der verschiedenen Areale und Gruppen zeigte sich, wie zu erwarten, eine deutliche Abhängigkeit der Gewebeschädigung von der Ischämiezeit.

Im ischämischen Areal D1 zeigte sich in Gruppe 1 eine ausgeprägte Schädigung mit Epithelablösung und kleinen Hämorrhagien. Gruppe 2 zeigte nach sechs Stunden Ischämie und einer Stunde Reperfusion deutliche Hämorrhagien und eine beginnende Digestion der Mukosa. In Gruppe 3 wurde durchgehend der maximale Schädigungsgrad deutlichen Hämorrhagien und Digestion der Mukosa erreicht. Diese maximale Schädigung lässt sich durch die zuvor beschriebenen lokalen Metabolismen und Destruktionsmechanismen

während der Ischämie und Reperfusion erklären. Der Zellerfall kann auch anhand der K^+ -Werte aus den Blutgasanalysen abgelesen werden. Die Werte steigen ebenfalls in Abhängigkeit von der Ischämiezeit an. Zudem trägt eine durch die Ischämie bedingte Azidose zur Hyperkaliämie bei.

Die erwartete Progredienz der Gewebeschädigung in Abhängigkeit von der Ischämiezeit spiegelt sich in den histologischen Präparaten gut wider. Die Versuche von Toens et al. können mit einer Ischämiezeit von einer Stunde ebenfalls eingeordnet werden. Hier zeigten sich subendotheliale Ödeme als Ausdruck einer leichten Schädigung (Toens et al. 2007). Diese würden sowohl zeitlich als auch bezüglich des Schädigungsgrades vor Gruppe 1 eingeordnet werden und somit die Progredienz der Schädigung in Abhängigkeit von der Zeit unterstreichen.

Die Auswertung der histologischen Proben zeigt jedoch nicht nur für das ischämische Areal D1 eine Schädigung der Mukosa, sondern auch für die Areale D2 und D3. Chui et al. stellten ebenfalls fest, dass eine Minderperfusion zu einer Schädigung des Epithels führt, welche jedoch langsamer fortschreitet, als bei einem kompletten Gefäßverschluss (Chiu et al 1970).

In unseren Versuchen ist das Übergangsbereich D2 minderperfundiert, jedoch nicht komplett ischämisch. Ursächlich für die Schädigung der Zottenspitzen ist möglicherweise die physiologische Zottenperfusion. In den Zotten gibt es eine zentrale Arteriole und zwei Venolen. Die Gefäße liegen jedoch nah aneinander, sodass es bei einer Hypoperfusion oder Hypotonie in den unteren Zottenanteilen zu einer Sauerstoffdiffusion ins umliegende Gewebe und in das venöse System kommt. Zudem sind die Hauptgefäße durch Kapillaren verbunden, sodass die Zotten als Shuntsystem bezeichnet werden können. Die peripheren Anteile der Zotten werden somit nicht mehr adäquat mit Sauerstoff versorgt. Die dadurch bedingte Hypoxie führt in Folge dessen zuerst in den Zottenspitzen zu einer Epithelschädigung und einer Permeabilitätssteigerung der Kapillaren (Dale et al. 1986, Vollmar et Menger 2011).

Für die Areale D3, welche auch eine leichte Schädigung aufweisen, könnte eine Hypoperfusion aufgrund einer zentralen Wirkung der Ischämie vorliegen. Diese kann in Form von Änderungen der gemessenen Vitalparameter beobachtet werden. Der gemessene systemische Gefäßwiderstand steigt in allen

Versuchsgruppen nach der Okklusion an. Zudem zeigt sich auch ein Anstieg der Herzfrequenz und des mittleren arteriellen Blutdrucks.

Die makroskopische Bewertung der Areale D1 und D3 entsprach den Erwartungswerten. Im gesunden Areal D3 ergaben sich in keiner der Gruppen relevante Abweichungen vom Ausgangswert. Dies entsprach auch der histologischen Bewertung. Das ischämische Areal D1 stellte sich in der makroskopischen Evaluation deutlich geschädigt dar. Die makroskopische Bewertung der Schädigung deckte sich ebenfalls mit den Ergebnissen der histologischen Auswertung.

Die makroskopische Bewertung von dem Übergangsbereich D2 hingegen stimmte nicht mit der histologischen Auswertung überein. Während sich in der histologischen Auswertung in allen Gruppen nur leichte Schäden ergaben, konnten in der makroskopischen Bewertung deutliche Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen ausgemacht werden. In Gruppe 1 ergaben sich, wie zu erwarten, sowohl makroskopisch, als auch histologisch nur leichte Gewebeschädigungen. In Gruppe 2 und 3 wurden die Areale makroskopisch fast immer als ischämisch evaluiert. Die histologische Auswertung der entsprechenden Areale spiegelte eine derartige Schädigung jedoch nicht wider. Die Ergebnisse der FA bestätigen das histologische Bild. In der SFI-Ratio sind die Areale D1 und D3 signifikant unterschiedlich, die Areale D2 und D3 zeigen jedoch keinen signifikanten Unterschied. Auch die BSFI-Ratio bestätigt den histologischen Befund, die Areale D2 und D3 sind gleich ($p=0,905$).

Die FA deckt sich in unseren Versuchen mit dem histologischen Schädigungsgrad. Dies verdeutlicht erneut die unzureichende Validität der makroskopischen Bewertung von Darmvitalität und unterstreicht die Notwendigkeit einer objektiven Evaluationsmöglichkeit.

4.4.3 Ischämie/Reperfusion-Syndrom und Fluoreszenzangiographie

Die Fluoreszenzerggebnisse der Reperfusion wurden in unserer Studie, wie oben beschrieben, ins Verhältnis zum Baselinewert des jeweiligen Areals gesetzt. Zudem zogen wir die übrigen erhobenen Parameter zur Interpretation der aus der Fluoreszenzangiographie berechneten Werte heran.

Der mittels Flussmesssonde bestimmte Fluss nach der Reperfusion unterscheidet sich in allen Gruppen, während der Baselinewert gleich war.

Hierbei zeigt sich nach der Reperfusion eine positive Korrelation zwischen Ischämiezeit und Hyperperfusion nach der Reperfusion.

In Gruppe 1 kommt es nach der Reperfusion zu keiner relevanten Hyperperfusion, was sich auch in der SFI-Ratio im entsprechenden ischämischen Areal D1 widerspiegelt. In Gruppe 2 und 3 hingegen ergibt die Flussmessung mittels TTFM nach der Reperfusion eine relative Hyperperfusion. Während sich diese in Gruppe 2 auch in der SFI-Ratio mit einem Wert von 2,37 widerspiegelt, zeigt sich in Gruppe 3 zwar eine deutliche Hyperperfusion im Stammgefäß (AMS), die SFI-Ratio deutet mit 1,31 jedoch eine weniger ausgeprägte Mehrdurchblutung im abhängigen Gewebe an. Die gemessenen Perfusionsunterschiede sind im Vergleich zum Wert bei Okklusion über alle Gruppen hinweg signifikant ($p < 0,005$). Im Vergleich der SFI-Ratio der einzelnen Areale konnte nach der Reperfusion zudem ein signifikanter Unterschied zwischen D1 und D3 gezeigt werden ($p = 0,039$). Somit können mittels SFI-Ratio die bestehenden Perfusionsunterschiede der Areale objektiv nachvollzogen werden.

Ursächlich für die weniger ausgeprägte Hyperperfusion in Gruppe 3 könnte die ausgeprägte, irreversible Schädigung, welche sich auch im histologischen Bild bestätigt hat, sein. Die Zottenspitzen liegen frei und sind von Hämorrhagien durchzogen, sodass eine Perfusion hier kaum möglich ist. Zudem sind für die oben beschriebene lokale Schädigung nicht nur die kompromittierte Perfusion und die durch die Reperfusion entstehenden Metabolite ursächlich. Auch luminale Einflüsse, wie die bakterielle Migration aufgrund des Verlustes der Epithelintegrität, tragen zur Gewebsdestruktion bei. Die Schäden werden zwar maßgeblich durch die Ischämie verursacht, die Wiederherstellung der Perfusion kann diese jedoch nicht unmittelbar beheben. Derartige luminale Einflüsse, insbesondere in Form des zuvor beschriebenen Flüssigkeitsübertritts von luminal nach interstitiell, können nicht durch die FA abgebildet werden.

Im Übergangsbereich D2 zeigte sich in allen Gruppen ebenfalls eine deutliche Hyperperfusion nach Reperfusion. Diese war in Abhängigkeit von der Ischämiezeit ansteigend und in Gruppe 3 gemessen an der Ratio zum Zeitpunkt „Okklusion“ am deutlichsten ausgeprägt. Dies würde auch zum zuvor diskutierten histologischen Befund des Areals dieser Gruppe passen. Der

höhere Schädigungsgrad führt, wie bereits zuvor diskutiert, zu einem gesteigerten ICG-Übertritt ins Interstitium.

Die Unterschiede der Ratios zwischen „Okklusion“ und „Reperfusion“ sind für die Areale D1 und D2 aller Gruppen signifikant ($p < 0,001$).

Die SFI-Ratio ist auch in den nicht geschädigten Arealen D3 erhöht. Hier zeigte sich sowohl bei Okklusion als auch bei Reperfusion eine relative Hyperperfusion. Diese unterschied sich zwischen den beiden Messzeitpunkten über alle Gruppen hinweg nicht signifikant voneinander ($p = 0,808$). Da die mesenteriale Ischämie jedoch im Krankheitsverlauf durch die zuvor beschriebenen Mechanismen auch systemische Auswirkungen hat, könnte diese relative Hyperperfusion beispielsweise als Zeichen einer Zentralisierung bei beginnendem Kreislaufversagen im Rahmen einer Sepsis gewertet werden. Diese spiegelt sich in Form eines signifikanten Anstiegs des peripheren Gefäßwiderstands in Kombination mit einer Erhöhung des MAP bei gleichbleibendem Flüssigkeitshaushalts wider.

Im Vergleich der SFI-Ratios der einzelnen Areale konnte nach der Reperfusion zudem ein signifikanter Unterschied zwischen D1 und D3 gezeigt werden ($p = 0,039$). Somit kann mittels SFI-Ratio nicht nur ein Unterschied zwischen Okklusion und Reperfusion eines Areals detektiert werden, sondern auch unterschiedliche Perfusionsverhältnisse zwischen geschädigten Arealen nach Minderperfusion und gesunden Arealen gezeigt werden.

Äquivalent zur SFI-Auswertung haben wir eine Ratio für die BSFI berechnet. Die BSFI verhält sich in Bezug auf die Perfusion ähnlich wie die SFI. In Gruppe 1 wird durch eine BSFI-Ratio von 1,19 bestätigt, dass nach Reperfusion eine vollständige Gewebepfusion wiederhergestellt ist. In Gruppe 2 zeigt sich hingegen eine deutliche erhöhte Intensität mit einer Ratio von 1,99. Dies spricht wiederum für eine deutlich intensivere Anreicherung von ICG im Gewebe. Die an der Segmentarterie mittels TTFM gemessene Hyperperfusion ist ein Erklärungsansatz hierfür. Zudem zeigt sich histopathologisch mit einem durchschnittlichen Score von 4,51 eine deutliche Destruktion des Gewebes. Die konsekutiv deutlich erhöhte Gefäßpermeabilität im geschädigten Gewebe könnte ebenfalls ursächlicher für die erhöhte Fluoreszenzintensität sein. Die gesteigerte Gefäßpermeabilität kann einen Übertritt von ICG in das umliegende

Gewebe zur Folge haben. Diese mögliche Anreicherung des Farbstoffes im Gewebe muss bei der Evaluation der Darmvitalität anhand des Fluoreszenzverhaltens des jeweiligen Gewebes unbedingt beachtet werden. Eine ödematöse Veränderung des Darmgewebes kann zwar klinisch gesehen werden, die Problematik ist jedoch, wie schon oben beschrieben, der Ursprung der Flüssigkeit. Somit korreliert das Ausmaß des Ödems nicht unbedingt mit der ICG-Menge im Interstitium. Zudem kann eine erhöhte Fluoreszenzintensität im Gewebe, welche eigentlich durch eine erhöhte Kapillarpermeabilität entstanden ist, fälschlicherweise als ausreichend perfundiert interpretiert werden.

In Gruppe 3 zeigt die BSFI-Ratio, genau wie die SFI-Ratio, im ischämischen Areal D1 einen Quotienten <1 , sodass auch hier, trotz gesteigertem Fluss auf der Arterie, eine Minderperfusion im Gewebe vorzuliegen scheint. Auch hier ist bereits zuvor diskutierte, massive Destruktion sicherlich als Erklärungsansatz denkbar.

Die BSFI-Ratio der Übergangsbereiche D2 lässt in allen Gruppen auf eine relative Hyperperfusion schließen. Diese ist dabei in Gruppe 3 im Verhältnis zur Ratio bei Okklusion am ausgeprägtesten. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen sind jedoch nicht signifikant.

Die Unterschiede der BSFI-Ratios der Areale D1 zwischen den Messzeitpunkten „Okklusion“ und „Reperfusion“ sind – genau wie bei der SFI-Ratio – signifikant unterschiedlich ($p < 0,001$). Dies gilt auch für das Übergangsbereich D2. Somit kann mit der BSFI-Ratio auch zwischen dem ischämischen und reperfundierten bzw. dem minderperfundierten und reperfundierten Zustand eines Darmareals differenziert werden.

Im Areal D3 sind sowohl bei Okklusion, als auch bei der Reperfusion Quotienten >1 messbar, sodass auch mittels BSFI-Ratio eine Hyperperfusion für die Abschnitte bestätigt werden kann. Dabei ergaben sich keine signifikanten Unterschiede ($p = 0,065$). Die BSFI-Ratio dieser Gruppe 3 für das Areal D3 liegt in etwa im Bereich der Werte des Areals der Gruppen 1 und 2. Die BSFI deckt sich ebenfalls mit den Ergebnissen der histopathologischen Auswertung. Hier zeigen sich in Gruppe 1 und 2 Werte von <1 , in Gruppe 3 ergibt sich ein Durchschnittswert von 1,5. In Gruppe 3 ist der absolute Anstieg der Ratio im Vergleich am stärksten, sodass möglicherweise ein Zusammenhang des histologischen Schädigungsgrades und der BSFI besteht.

5 Zusammenfassung

Die Fluoreszenzangiographie ist im Hinblick auf die intraoperative Evaluation der Vitalität von Darmgewebe eine vielversprechende Technologie. Die Anwendung ist einfach, wenig zeitintensiv und benötigt wenig Vorbereitung. Die Applikation von ICG sowie die anschließende Auswertung sind standardisierbare Prozesse. Für die Auswertung der FA sind neben der korrekten Anwendung und Dosierung des ICG ebenso die Vitalparameter und deren unterstützende Maßnahmen wie z.B. Katecholamine und Volumensubstitution zu beachten.

Die bereits bekannte, subjektive Nutzungsmöglichkeit zur Detektion ischämischer Areale konnten wir in unseren Versuchen bestätigen. Die Fluoreszenzangiographie mit Indocyanin Grün ermöglichte die sichere Identifikation von ischämischen Darmarealen. Die Ischämie wurde hierbei durch weitere erhobene Parameter objektiv kontrolliert.

Neben diesen bereits bekannten Anwendungsmöglichkeiten kann die Fluoreszenzangiographie auch durch die Berechnung der SFI und BSFI und den daraus gebildeten Ratios als objektives, reproduzierbares Werkzeug eingesetzt werden. In unseren Versuchen konnten wir, anhand dieser Parameter, ischämische Areale objektiv von gut perfundierten Arealen und minderperfundierten Arealen unterscheiden. Zudem konnten wir mittels Fluoreszenzangiographie auch nach der Reperfusion im Sinne einer Revaskularisation Unterschiede im Fluoreszenzverhalten verschiedener Darmareale feststellen. Auch hier konnten die reperfundierten Areale von Arealen mit dauerhaft uneingeschränkter Perfusion unterschieden werden. Zudem konnten mit Hilfe der SFI-Ratio unterschiedlich stark geschädigte Darmabschnitte voneinander unterschieden werden.

Die Fluoreszenzangiographie hat sich in unseren Versuchen als objektives und reliables Werkzeug zur Evaluation der Darmvitalität erwiesen und könnte in Zukunft die momentan unzuverlässige und somit nicht ausreichende subjektive Evaluation durch den Operateur ergänzen.

6 Summary

Fluorescence angiography is a promising technology in terms of intraoperative evaluation of the vitality of intestinal tissue. The application is simple, not time-consuming and requires little preparation. The application of ICG and the subsequent evaluation are standardizable processes. For the evaluation of the FA, in addition to the correct application and dosage of the ICG, the vital parameters and their supporting measures, e.g. Catecholamines and volume substitution should be noted. We were able to confirm the already known, subjective use for the detection of ischemic areas in our experiments. Fluorescence angiography with indocyanine green enabled the reliable identification of ischemic intestinal areas. The ischemia was objectively controlled by further parameters. In addition to these already known applications, fluorescence angiography can also be used as an objective, reproducible tool by calculating the SFI and BSFI and the ratios formed therefrom. In our experiments we were able to objectively distinguish ischemic areas from well-perfused areas and areas with less perfusion. In addition, we were able to detect differences in the fluorescence behavior of various intestinal areas by means of fluorescence angiography after reperfusion in the sense of a revascularization. Again, the reperfused areas and areas with permanent unrestricted perfusion could be distinguished. In addition, with the help of the SFI ratio differentially damaged intestinal areas could be distinguished from each other. Fluorescence angiography has proved in our experiments to be an objective and reliable tool for evaluation of bowel vitality and could in the future complement the currently unreliable and thus insufficient subjective evaluation by the surgeon.

7 Limitationen

Unsere Studie hat durch das gewählte Design sowie die verwendeten Versuchstiere einige Limitationen.

Zum einen ist die niedrige Fallzahl dieser Studie ein limitierender Faktor. Die gewählte Versuchstierzahl entspricht den anerkannten Standards bei Großtierversuchen. Um die Aussagekraft dieser Versuche jedoch weiter zu stärken, könnte eine höhere Versuchstieranzahl in Betracht gezogen werden. Zudem müssten für eine stärkere Aussagekraft der Studienergebnisse Überlebensversuche nach Ischämie und anschließender Reperfusion durchgeführt werden.

Da das Versuchstier dem Menschen anatomisch und physiologisch zwar ähnlich, jedoch nicht identisch ist, können die erhobenen Parameter und die daraus resultierenden Aussagen nicht analog auf den Menschen übertragen werden. Um die Validität der Evaluation von Darmvitalität mittels Fluoreszenzangiographie auf den Menschen übertragen zu können, sind klinische Studien zur Überprüfung der gewonnenen Aussagen notwendig.

8 Abkürzungsverzeichnis

AMI	Akute mesenteriale Ischämie
AMS	Arteria mesenterica superior
BSFI	Background subtracted fluorescence intensity
ESVS	European Society of Vascular Surgery
FA	Fluoreszenzangiographie
ICG	Indocyanin Grün
NOMI	Non okklusive mesenteriale Ischämie
OMI	Okkusive mesenteriale Ischämie
ROI	Region of interest
SFI	Slope of fluorescence intensity
TTFM	Transit Time Flow Measurement

9 Literaturverzeichnis

Acosta S (2010) Epidemiology of mesenteric vascular disease: Clinical Implications. *Semin Vasc Surg* 23:4-8.

Alemanno G, Somigli R, Prosperi P, Bergamini C, Maltinti G, Giordano A et Valeri A (2016) Combination of diagnostic laparoscopy and interoperative indocyanine green fluorescence angiography for the early detection of intestinal ischemia not detectable in CT scan. *Int J Surg Case Rep* 26:77–80.

Anadol AZ, Ersoy E, Taneri F, Tekin EH (2004) Laparoskopische „Second-look“ in the management of mesenteric ischemia. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 14(4):191-193.

Anijeet DR, Zheng Y, Tey A, Hodson M, Sueke H, Kaye SB (2012) Imaging and evaluation of corneal vascularization using fluorescein and indocyanine green angiography, *Invest Ophthalmol Vis Sci* 53:650-658.

Arthurs ZM, Titus J, Bannazadeh M, Eagleton MJ, Srivastava S, Sarac TP, Clair DG (2011) A comparison of endovascular revascularisation with traditional therapy for the treatment of acute mesenteric ischemia. *J Vasc Surg* 53(3):698-705.

Bala M, Kashuk J, Moore EE, Kluger Y, Kluger, Biffi, W, Gomes CA, Ben-Ishay O, Rubinstein C, Balogh ZJ, Civil I, Coccolini F, Leppaniemi A, Peitzman, A, Ansaloni, L, Sugrue M, Sartelli M, Di Saverio S, Fraga GP, Catena F (2017) Acute mesenteric ischemia: guidelines of the World Society of Emergency Surgery. *World Journal of Emergency Surgery* 12:38.

Ballard JL, Stone WM, Hallett JW, Pairolero PC, Cherry KJ (1993) A critical analysis of adjuvant techniques used to assess bowel viability in acute mesenteric ischemia. *Am Surg* 59:309-311.

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

Björck M, Koelemay M, Acosta S, Bastos Goncalves F, Kölbel, T, Kolkman J, Lees T, Lefevre J, Menyhei G, Oderich G, ESVS Guidelines Committee, Kolh P, de Borst G, Chakfe N, Debus S, Hinchliffe R, Kakkos S, Koncar I, Sanddal Lindholt J, Vega de Ceniga M, Vermassen F, Verzini F, Document Reviewers Geelkerken B, Gloviczki P, Huber T, Naylor R (2017) Editor's Choice – Management of the Diseases of Mesenteric Arteries and Veins. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 53(4):460-510.

Blauw JTM, Meerwaldt R, Brusse-Keizer M, Kolkman JJ, Gerrits D, Geelkerken RH (2014) Retrograde open mesenteric stenting for acute mesenteric ischemia. *J Vasc Surg* 60(3): 726-734.

Boni L, David G, Mangano A, Dionigi G, Rausei S, Spampatti S, Cassinotti E, Fingerhut A (2015) Clinical applications of indocyanine green (ICG) enhanced fluorescence in laparoscopic surgery. *Surg Endosc* 29:2046-2055.

Burkley GB, Zuidema G, Hamilton SR, O'Mara C, Klacsmann PG, Horn SD (1981) Intraoperative determination of small intestinal viability following ischemic injury. *Ann Surg* 193(5):628-635.

Calic A, Bilgin Y, Kucuktulu U, Piskin B, Cinel A (1999) Laparoscopic abdominal observation method without anesthesia for preventing unnecessary second-look procedures: A short report. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 9(2):148-150.

Cerqueira NF, Hussni CA, Yoshida WB (2005) Pathophysiology of mesenteric ischemia/reperfusion: a review. *Acta Cir Bras* 20(4):336-343.

Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN (1970) Intestinal mucosal lesion in low-flow states. *Arch Surg* 101:478-483.

Chu W, Chennamsetty A, Toroussian R, Lau C (2017) Anaphylactic Shock After Intravenous Administration of Indocyanine Green During Robotic Partial Nephrectomy. *Urol Case Rep* 10(12):37-38.

Cokkinis A.J. (1926) *Mesenteric Vascular Occlusion*. Bailliere, Tindall and Cox, London, 1–93.

Degett TH, Andersen HS, Gögenur I (2015) Indocyanine green fluorescence angiography for intraoperative assessment of gastrointestinal anastomotic perfusion: a systematic review of clinical trials. *Langenbecks Arch Surg* 401(6):767-75.

Desmettre T, Cohen SY, Devoisselle JM, Gaudric A (2011) Current uses and indications for indocyanine green angiography. *J Fr Ophtalmol* 34(8):568-82.

Detter C, Russ D, Iffland A, Wipper S, Schurr MO, Reichenspurner H, Buess GF, Reichart B (2002) Near-infrared fluorescence coronary angiography: a new noninvasive technology for intraoperative graft patency control. *Heart Surg Forum* 5:364–369.

Deriks J, Schellekens D, Acosta S (2017) Serological markers for human intestinal ischemia: A systematic review. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology* 31(1):69-74.

Detter C., Russ, D, Kersten JF, Reichenspurner H, Wipper S (2018) Qualitative angiographic and quantitative myocardial perfusion assessment using fluorescent cardiac imaging during graded coronary artery bypass stenosis. *Int J Cardiovasc Imaging* 34(2):159–167.

Detter C, Wipper S, Russ D, Iffland A, Burdorf L, Thein E, Wegscheider K, Reichenspurner H, Reichart B (2007) Fluorescent cardiac imaging: A novel intraoperative method for quantitative assessment of myocardial perfusion

during graded coronary artery stenosis. *Circulation* 116:1007–1014.

Diana M, Dallemagne B, Chung H, Nagao Y, Halvax P, Agnus V, Soler L, Lindner V, Demartines N, Diemunsch P, Geny B, Swanström L, Marescaux J (2014a) Probe-based confocal laser endomicroscopy an fluorescence-based enhanced reality for real-time assessment of intestinal microcirculation in a porcine model of sigmoid ischemia. *Surg Endosc* 28:3224-3233.

Diana M, Noll E, Diemunsch P, Dallemagne B, Benahmed MA, Agnus V, Soler L, Barry B, Namer IJ, Demartines N, Chales AL, Geny B, Marescaux (2014b) Enhanced-reality video fluorescence: a real time assessment of intestinal viability. *Ann Surg* 259(4):700-707.

Diana M, Halvax P, Dallemagne B, Nagao Y, Diemunsch P, Charles AL, Agnus V, Soler L, Demartines N, Lindner V, Geny B, Marescaux J (2014c) Real-time navigation by fluorescence-based enhanced reality for precise estimation of future anastomotic site in digestive surgery. *Surg Endosc* 28:3108-3118.

Diana M, Agnus V, Halvax P, Liu YY, Dallemagne B, Schlagowski AI, Geny B, Diemunsch P, Lindner V, Marescaux J (2015) Intraoperative fluorescence-based enhanced reality laparoscopic real-time imaging to assess bowel perfusion at the anastomotic site in an experimental model. *Br J Surg* 102:169-176.

Eckstein H-H (2003) Die akute mesenteriale Ischämie. *Chirurg* 74:419-431.

Endean ED, Barners SL, Kwolek CJ, Minion DJ, Schwarcz TH, Mentzer RM (2001) Surgical Management of Thrombotic acute intestinal ischemia. *Ann Surg*. 233(6):801-808.

Fox IJ, Brooker LGS, Heseltine DW, Wood EH (1956) A new dye for continuous recording of dilution curves in whole blood independent of variations in blood oxygen saturation. *Circulation* 14:937-938.

Green JM 3rd, Sabino J, Fleming M, Valerio I. (2015) Intraoperative fluorescence angiography: a review of applications and outcomes in war-related trauma. *Mil Med* 180:37-43

Guan Y, Worrell RT, Pritts TA, Montrose MH (2009) Intestinal ischemia-reperfusion injury: reversible and irreversible damage imaged in vivo. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 297:187-196.

Holzbach T, Artunian N, Spanholtz TA, Volkmer E, Engelhardt TO, Giunta RE (2012) Microscope-Integrated Intraoperative Indocyanine Green Angiography in Plastic Surgery. *Handchir Mikrochir Plast Chir* 44(2):84-88.

Hope-Ross M, Yannuzzi LA, Gragoudas ES, Guyer DR, Slakter JS, Sorenson JA, Sara Krupsky S, Orlock DA, Puliafito CA (1994) Adverse Reactions due to Indocyanine green. *Ophthalmology* 101(3):529-533.

Iinuma Y, Hirayama Y, Yokoyama N, Otani T, Nitta K, Hashidate H, Yoshida M,

Iida, H, Masui D, Manabe S (2013) Intraoperative near-infrared indocyanine green fluorescence angiography (NIR-ICG AG) can predict delayed small bowel stricture after ischemic intestinal injury: Report of a case. *J Pediatr Surg* 48(5):1123–1128.

Jafari MD, Lee KH, Halabi WJ, Mills SD, Carmichael JC, Stamos MJ, Pigazzi A (2013) The use of indocyanine green fluorescence to assess anastomotic perfusion during robotic assisted laparoscopic rectal surgery. *Surg Endosc* 27:3003-3008.

Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korhuis RJ (2016) Ischemia/Reperfusion. *Compr Physiol* 7(1): 113–170.

Kam DM, Scheeres DE (1993) Fluorescein-assisted laparoscopy in the identification of arterial mesenteric ischemia. *Surg Endosc*. 1993 7(2):75-78.

Kaminsky O, Yampolski I, Aranovich D, Gnessin E, Greif F (2005) Does a Second-look operation improve survival in patients with peritonitis due to mesenteric ischemia? A five-year retrospective experience. *World J Surg* 29:645-648.

Karliczek A, Harlaar NJ, Zeebregts CJ, Wiggers T, Baas PC, van Dam GM (2009) Surgeons lack predictive accuracy for anastomotic leakage in gastrointestinal surgery. *Int J Colorectal Dis* 24:569-576.

Kassahun WT, Schulz T, Richter O, Hauss T (2008) Unchanged high mortality rates from occlusive intestinal ischemia: six year review. *Langenbecks Arch Surg* 393:163-171

Klass AA (1951) Embolectomy in acute mesenteric occlusion. *Ann Surg*. 134(5):913-917.

Kortmann B, Klar E (2005) Warum wird die mesenteriale Ischämie zu spät erkannt? *Zentralbl Chir* 130:223-226.

Kudszus S, Roesel C, Schachtrupp A, Höer JJ (2010) Intraoperative laser fluorescence angiographie in colorectal surgery: a noninvasive analysis to reduce the rate of anastomotic leakage. *Langenbecks Arch Surg* 395:1025-1030.

Ladak, F, Dang JT, Switzer N, Mocanu V, Tian C, Birch D, Turner SR, Karmali S (2019) Indocyanine green for the prevention of anastomotic leaks following esophagectomy: A meta-analysis. *Surg Endosc* 33(2):384-394.

Luther B, Moussazadeh K, Müller BT, Franke C, Harms JM, Ernst S, Sandmann W (2002) Die akute mesenteriale Ischämie – unverstanden oder unheilbar? *Zentralbl Chir* 127:674 – 684.

Lynch TG, Hobson RW, Kerr JC, Brousseau DA, Silverman DG, Reilly CA, Tseng H (1988) Doppler ultrasound, laser doppler, and perfusion fluorometry in bowel ischemia. *Arch Surg* 123:483-486.

- Matern U, Haberstroh J, El Saman A, Pauly E, Salm R, Farthmann EH (1996) Emergency laparoscopy - Technical support for the laparoscopic diagnosis of intestinal ischemia. *Surg Endosc* (1996) 10(9):883-887.
- Matsui A, Winer JH, Laurence RG, Fragoni JV (2011) Predicting the survival of ischemic bowel in preclinical model systems using intraoperative near-infrared fluorescence angiography. *Br J Surg* 98(12):1725-1734.
- McCord JM (2000) The evolution of free radicals and oxidative stress. *Am J Med* 108(8):652-659.
- McDermott FD, Heeney A, Kelly ME, Steele RJ, Carlson GL, Winter DC (2015) Systematic review of preoperative, intraoperative and postoperative risk factors for colorectal anastomotic leaks. *Br J Surg* 102:462-479.
- Meng X, Liu L, Jiang H (2010) Indications and procedures for second-look surgery in acute mesenteric ischemia. *Surg. Today* 40:700-705.
- Menke J, (2010) Diagnostic accuracy of multidetector CT in acute mesenteric ischemia: systematic review and Meta-Analysis. *Radiology* 256(1):93-101.
- Nitori N, Deguchi T, Kubota K, Yoshida M, Kato A, Kojima M, Kadomura T, Okada A, Okamura J, Kobayashi M, Sato T, Beck Y, Kitagawa Y, Kitajima M (2014) Successful treatment of non-occlusive mesenteric ischemia (NOMI) using the HyperEye Medical System™ for intraoperative visualization of the mesenteric and bowel circulation: report of a case. *Surg Today*. 2014 Feb;44(2):359-62.
- Nowak K, Sandra-Petrescu K, Post S, Horisberger K (2015) Ischemic and injured bowel evaluation by Fluorescence imaging. *Colorectal Dis* 17:12-15.
- Oldenburg WA, Lau LL, Rodenberg TJ, Edmonds HJ, Burger CD (2004) Acute mesenteric ischemia. *Arch Intern Med* 164:1054-1062.
- Park WM, Gloviczki P, Cherry KJ, Hallett J, Bower T, Panneton J, Schleck C, Ilstруп D, Harmsen WS, Noel AA (2002) Contemporary management of acute mesenteric ischemia: factor associated with survival. *J Vasc Surg* 35(3):445-452.
- Paral J, Ferko A, Plodr M, Raupach J, Hadzi-Nikolov D, Dolezal D, Chovanec V (2007) Laparoscopic diagnostics of acute bowel ischemia using ultraviolet light and fluorescein dye: an experimental study. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 17(4):291-295.
- Parks DA, Granger DN (1986) Contributions of ischemia and reperfusion to mucosal lesion formation. *Am J Physiol* 250: 749-753.
- Penn AH, Hugli TE, Schmid-Schönbein GW (2007) Pancreatic enzymes generate cytotoxic mediators in the intestine. *Shock* 27(3):296-304.

Platell CFE, Coster J, McCauley RD, Hall JC (2002) The management of patients with the short bowel syndrome. *World J Gastroenterol* 8(1):13-20.

Reinhart MB, Huntington CR, Blair LJ, Heniford BT, Augenstein VA (2016) Indocyanine green: Historical context, current applications, and future considerations. *Surg Innov.* 23(2):166-75.

Renner P, Kienle K, Dahlke MH, Heiss P, Pfister K, Stroszczyński C, Piso P, Schlitt HJ (2011) Intestinal ischemia: current treatment concepts. *Langenbecks Arch Surg* 396:3-11.

Ris F, Hompes R, Cunningham C, Lindsey I, Guy R, Jones O, George B, Cahill RA, Mortensen NJ (2014) Near-infrared (NIR) perfusion angiography in minimally invasive colorectal surgery. *Surg Endosc* 28:2221-2226.

Ritz J-P, Buhr HJ (2011) Akute mesenteriale Ischämie. *Chirurg* 82: 863-870.
Ryer EJ, Kalra M, Oderich GS, Duncan AA, Gloviczki P, Cha S, Bower T (2012) Revascularisation for acute mesenteric ischemia. *J Vasc Surg* 55(6):1682-1689.

Schmid-Schönbein GW (2008) Biomechanical aspects of the auto-digestion theory. *Mol Cell Biomech* (2): 83–95.

Schoots IG, Koffeman GI, Legemate DA, Levi M, van Gulik TM (2004) Systemic review of survival after acute mesenteric ischemia according to disease aetiology. *Br J Surg* 91:17-27.

Seshadri P, Poulin E, Mamazza J, Schlachta C (1999) Simplified laparoscopic approach to „second-look“ laparotomy: A review. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 9(4):286-289.

Shaw RS (1965) The “second-look” after superior mesenteric arterial embolectomy or reconstruction for mesenteric infarction. in: *Current surgical management* Ellison EH, Friesen JR, Kulholland JH (Hrg.). WB Saunders, Philadelphia, 509.

Solligård E, Juel IS, Spigset O, Romundstad P, Grønbech JE, Aadahl P (2008) Gut luminal lactate measured by microdialysis mirrors permeability of the intestinal mucosa after ischemia. *Shock* 29:245–251.

Stanga PE, Lim JI, Hamilton P (2003) Indocyanine green angiography in chorioretinal diseases: indications and interpretation: an evidence-based update. *Ophthalmology* 110(1):15-21.

Stoney RJ, Cunningham CG (1993) Acute mesenteric ischemia. *Surgery* 114:489-490.

Szabó A, Vollmar B, Boros M, Menger MD (2008) In vivo fluorescence microscopic imaging for dynamic quantitative assessment of intestinal mucosa permeability in mice. *J Surg Res* 145:179-185.

Toens C, Krones CJ, Blum U, Fernandez V, Grommes J, Hoelzl F, Stumpf M, Klinge U, Schumpelick V (2006) Validation of IC-View fluorescence videographie in a rabbit model of mesenteric ischaemia and reperfusion. *Int J Colorectal Dis* 21:332-338.

Treskes N, Persoon AM, van Zanten ARH (2017) Diagnostic accuracy of novel serological biomarkers to detect acute mesenteric ischmemia: a systematic review and meta-analysis. *Intern Emerg Med* 12(6):821-836.

Verhaegh R, Petrat F, Brencher L, Kirsch M, de Groot H (2017) Autodigestion by migrated trypsin is a major factor in small intestinal ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 219:266-278.

Vollmar B, Menger MD (2011) Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbecks Arch Surg* 396:13-29.

Wipper SH (2006) Validierung der Fluoreszenzangiographie für die intraoperative Beurteilung und Quantifizierung der Myokardperfusion. *Med. Dissertation, LMU München.*

Wyers MC (2010) Acute mesenteric ischemia: Diagnostic approach and surgical treatment. *Semin Vasc Surg* 23:9-20.

Zehetner J, DeMeester SR, Alicuben ET, Oh DS, Lipham JC, Hagen JA, DeMeester TR (2015) Intraoperative Assessment of Perfusion of the Gastric Graft and Correlation With Anastomotic Leaks After Esophagectomy. *Annals of surgery* 262(1):74-8.

10 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. med Oliver Mann für die Überlassung des Themas sowie die Unterstützung und Förderung, die ich während gesamten Zeit erfahren durfte.

Ganz herzlich möchte ich mich auch bei Dr. med. Anna Duprée für die umfassende, zuverlässige und nette Betreuung bedanken.

Ein weiterer Dank geht an Dr. med. Hendrik Rieß und Priv. Doz. Dr. med. Sabine Wipper. Wir haben gemeinsame viele anstrengende und zugleich unvergessliche Stunden miteinander verbracht, die ich nicht missen möchte.

Bei Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Jakob R. Izbicki möchte ich mich für die Möglichkeit bedanken, meine Promotion in der Klinik für Allgemein-, Viszeral- und Thoraxchirurgie durchzuführen.

Bedanken möchte ich mich auch bei Detlef Russ für die Bereitstellung des Fluoreszenzangiographiesystems und der Auswertungssoftware sowie Beratung bei technischen Problemen.

Ein weiterer Dank gilt dem gesamten Team des gefäßmedizinischen Forschungslabors für die Einarbeitung bezüglich der histologischen Auswertung.

Auch bei Herrn Prof. Dr. med. Guido Sauter möchte ich mich für die Beratung hinsichtlich der histologischen Auswertungskriterien bedanken.

Für die Hilfe bei der statistischen Auswertung möchte ich mich bei Herrn Dr. Hans Pinnschmidt bedanken.

Zuletzt möchte ich meinen Eltern Priv. Doz. Dr. med. Holger von Kroge und Stefanie von Kroge sowie meiner Schwester Patricia von Kroge für die bedingungslose und allgegenwärtige Liebe und Unterstützung danken. Durch sie konnte ich meinen Traum, Medizin zu studieren, verwirklichen.

11 Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

12 Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: