

Aus der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie
(Prof. Dr. med. I. Kutschka)
der Medizinischen Fakultät der Universität Göttingen

**Auswirkung von verschiedenen
Gefäßklemmen auf die Kollagenmatrix
der ovinen biosynthetischen
Gefäßprothese**

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizinischen Fakultät der
Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von

Matúš Svičin

aus

Prešov, Slowakei

Göttingen 2023

Dekan: Prof. Dr. med. W. Brück

Betreuungsausschuss

Betreuerin: Prof. Dr. med. H. Baraki

Ko-Betreuer: Prof. Dr. med. J. Jakob

Prüfungskommission

Referentin: Prof. Dr. med. H. Baraki

Ko-Referent: Prof. Dr. med. Jens Jakob

Promotor: Prof. Dr. med. Ralf Dressel

Datum der mündlichen Prüfung: 09.01.2024

Hiermit erkläre ich, die Dissertation mit dem Titel „Auswirkung von verschiedenen Gefäßklemmen auf die Kollagenmatrix der ovinen biosynthetischen Gefäßprothese“ eigenständig angefertigt und keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel verwendet zu haben.

Göttingen, den
.....
(Unterschrift)

Die Daten, auf denen die vorliegende Arbeit basiert, wurden teilweise publiziert:

Svicin M, Secer R, Kutschka I, Maass G, Ahrens S, Elger F: Omniflow-II: Auswirkung von verschiedenen Gefäßklemmen auf die Kollagenmatrix der biosynthetischen Gefäßprothese. Posterpräsentation im Rahmen der 37. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Gefäßchirurgie und Gefäßmedizin, Mannheim, 13.10.-16.10.2021

Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis	III
Tabellenverzeichnis	IV
Abkürzungsverzeichnis.....	V
1 Einleitung	1
1.1 Geschichte des Gefäßersatzes.....	2
1.2 Materialoptionen eines Gefäßersatzes	3
1.2.1 Autologes Material	3
1.2.2 Alloplastisches Material	4
1.2.3 Allogenes (homogenes) Material.....	8
1.2.4 Xenogenes Material.....	9
1.2.5 Bioartifizielle Prothese – Vaskuläres Tissue-Engineering.....	10
1.2.6 Konstruktion der Omniflow-II-Prothese.....	12
1.3 Anwendung der ovinen biosynthetischen Prothese in der Praxis	13
1.4 Langzeitergebnisse und Merkmale der biosynthetischen Gefäßprothese.....	13
1.4.2 Degeneration und Aneurysmabildung	15
1.5 Gefäß- und Gefäßprothesenklemmen.....	16
1.5.1 Klemmmöglichkeiten eines Gefäßes.....	17
1.5.2 Klemmmöglichkeiten einer Gefäßprothese	20
1.6 Zielsetzung der Arbeit	20
2 Material und Methoden	22
2.1 Kreislaufsystem.....	22
2.2 Verwendete biosynthetische Prothesen und deren Aufbereitung.....	25
2.3 Klemmentypen	26
2.4 Protokoll der Versuchsreihe.....	28
2.5 Histologische Arbeitsschritte	33
2.5.1 Anfertigung der histologischen Präparate	33
2.5.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung.....	33
2.5.3 Mikroskopische Untersuchung und Auswertung.....	34
2.5.4 Qualitative Analyse.....	37
2.5.5 Quantitative Analyse.....	40
3 Ergebnisse.....	43
3.1 Makroskopische Beurteilung des Klemmmusters.....	43
3.1.1 Histologischer Befund	43
3.2 Qualitative Analyse	44
3.3 Quantitative Anlyse.....	46
3.3.1 Kontusion der Gesamtschicht.....	50
3.3.2 Kontusion der Außenschicht (Adventitia) und der inneren Schicht.....	54

3.3.3	Delaminierung.....	55
4	Diskussion.....	58
4.1	Diskussion der Ergebnisse.....	59
4.1.1	Einfluss verschiedener Gefäßklemmen auf die Kollagenmatrix der Omniflow-II-Prothese.....	59
4.1.2	Einfluss der Klemmdauer auf die Kollagenmatrix der Omniflow-II- Prothese	61
4.1.3	Einfluss der Klemmfrequenz auf die Kollagenmatrix der Omniflow-II- Prothese	62
4.2	Stärke des Experimentes	63
4.3	Limitationen des Experimentes	63
4.4	Bedeutung für die Praxis.....	64
4.5	Ausblick auf Folgeversuche.....	64
5	Zusammenfassung.....	66
6	Literaturverzeichnis	67

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Struktur einer PTFE-Membran.....	5
Abbildung 2: Klemmschaden einer gewebten Polyesterprothese.....	8
Abbildung 3: Bioartifizielle Prothese.....	12
Abbildung 4: Pseudoaneurysma einer aus dem menschlichen Körper explantierten Omniflow-I-Prothese.....	16
Abbildung 5: Schema des experimentellen Kreislaufes.....	22
Abbildung 6: Kreislaufsystem.....	23
Abbildung 7: Monitor zur Drucküberwachung.....	24
Abbildung 8: Monitor der ECMO-Konsole.....	25
Abbildung 9: Kreislauf mit integrierten geklemmten Omniflow-II-Prothesen.....	26
Abbildung 10: Klemme nach DeBakey.....	27
Abbildung 11: Klemme nach Cooley.....	27
Abbildung 12: Klemme nach Fogarty.....	28
Abbildung 13: Pean-Klemme.....	28
Abbildung 14: Makroskopischer Klemmabdruck einer DeBakey-Klemme.....	31
Abbildung 15: Makroskopischer Klemmabdruck einer Cooley-Klemme.....	31
Abbildung 16: Makroskopischer Klemmabdruck einer Fogarty-Klemme.....	32
Abbildung 17: Makroskopischer Klemmabdruck einer Pean-Klemme.....	32
Abbildung 18: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer DeBakey-Klemme an der Omniflow-II-Prothese.....	35
Abbildung 19: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer Cooley-Klemme an der Omniflow-II-Prothese.....	35
Abbildung 20: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer Fogarty-Klemme an der Omniflow-II-Prothese.....	36
Abbildung 21: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer Pean-Klemme an der Omniflow-II-Prothese.....	36
Abbildung 22: Zonale Einteilung des Präparates.....	37
Abbildung 23: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese ohne eine mikroskopisch erkennbare Klemmschädigung.....	38
Abbildung 24: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese mit einer leichten Schädigung der äußeren Zone.....	38
Abbildung 25: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese mit einer milden Schädigung der äußeren Zone.....	39
Abbildung 26: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese mit einer starken Schädigung der äußeren und einer leichten Schädigung der mittleren Zone.....	39
Abbildung 27: Histologisches Präparat mit farblich markierter Messungsauswertung.....	41
Abbildung 28: Häufigkeitsverteilung der erreichten Summenwerte nach semiquantitativem Beurteilungsschema.....	44
Abbildung 29: Nichtparametrischer Vergleich der semiquantitativen Beurteilungsdaten.....	45
Abbildung 30: Häufigkeitsverteilung der Gesamtschichtdicke (ohne Klemme).....	47
Abbildung 31: Häufigkeitsverteilung der Gesamtschichtdicke (mit Klemme).....	47
Abbildung 32: Häufigkeitsverteilung der Adventitia (ohne Klemme).....	48
Abbildung 33: Häufigkeitsverteilung der Adventitia (mit Klemme).....	48
Abbildung 34: Häufigkeitsverteilung der Innenschicht (ohne Klemme).....	49
Abbildung 35: Häufigkeitsverteilung der Innenschicht (mit Klemme).....	49
Abbildung 36: Messung der Gesamtschicht.....	51

Abbildung 37: Streudiagramm der Messwerte mit bzw. ohne Klemme.....	51
Abbildung 38: Einfluss des Klemmentyps auf die Gesamtschicht.	52
Abbildung 39: Einfluss der Klemmfrequenz auf die Gesamtschicht.....	53
Abbildung 40: Einfluss der Klemmdauer auf die Gesamtschichtdicke.....	53
Abbildung 41: Einfluss des Klemmentyps auf Delaminierung.....	56
Abbildung 42: Wirkung der Klemmdauer auf Delaminierung.....	57
Abbildung 43: Wirkung der Klemmdauer auf Delaminierung.....	57

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Beschreibung der Präparate.....	29
Tabelle 2: Protokoll.....	29
Tabelle 3: Statistische Ergebnisse aus den paarweisen Post-hoc-Tests nach Kruskal-Wallis für die Beurteilungssumme.....	46
Tabelle 4: Korrelationsanalyse der Messvariablen.....	50
Tabelle 5: Ergebnisse der Varianzanalysen für verschiedene Messvariablen.....	54

Abkürzungsverzeichnis

AV	arteriovenös
ECFC	<i>endothelial colony-forming cells</i> (endotheliale Vorläuferzellen)
ECMO	<i>extracorporeal membrane oxygenation</i> (extrakorporale Membranoxygenierung)
ePTFE	expanded Polytetrafluorethylen
FGF-I	<i>fibroblast growth factor I</i> (Fibroblasten-Wachstumsfaktor I)
HE	Hämatoxylin-Eosin
MSC	<i>mesenchymal stem cells</i> (mesenchymale Stromazellen)
Rm	<i>repeated measures</i> (Messwiederholungen)

1 Einleitung

Bei krankhaft veränderten oder verletzten Gefäßen ist oftmals die Verwendung von Ersatzmaterial notwendig. Gegenwärtig bietet sich die Graft-Auswahl von autologen bis zu alloplastischen Materialien an. Die eigene Vene als autologes Material entspricht zwar der höheren Qualität mit sehr guten Langzeitergebnissen, ist jedoch nicht immer verfügbar oder geeignet. Das alloplastische Material ist im Gegensatz zur Vene leicht in verschiedenen Durchmessern und Längen erhältlich, allerdings durch ihre Eigenschaften in vielen Anwendungsbereichen limitiert.

Seit Ende der 1990er Jahre findet zunehmend die ovine biosynthetische Gefäßprothese (Omniflow-Prothese) nicht nur im Bereich der peripheren Gefäßchirurgie, sondern auch in der septischen Chirurgie und der Shuntchirurgie ihren Platz. Die Omniflow-Prothese ist eine Composite-Prothese, die positive Eigenschaften des xenogenen und des alloplastischen Materials verbindet. Dank der biologischen Komponente zeichnet sich die Prothese einerseits durch eine hohe bakterielle Resistenz sowie eine natürliche Epithelialisierung des Prothesenlumens aus, andererseits kommt es infolge der synthetischen Komponente zu einer hohen radialen Stabilität (Wiltberger et al. 2014).

Die Manipulation an der biosynthetischen Prothese während des chirurgischen Eingriffs sollte mit besonderer Vorsicht erfolgen, da vermutet wird, dass etwaige Schädigungen der Kollagenmatrix zu späteren lokalen Komplikationen führen können.

In vorliegender Arbeit beschäftigt sich der Verfasser mit der Untersuchung der Klemmschäden, die als Prädispositionsstelle für die Degeneration der ovinen biosynthetischen Prothese vermutet werden. Andererseits ist in der Literatur nicht eindeutig, wo sich die Degenerationen befinden; dies könnte bei infragenualen Bypässen durch enorme Belastung der Prothese im Kniebereich verursacht werden. In dieser Arbeit werden mehrere beeinflussbare Faktoren wie Klemmzeit, verschiedene gefäßchirurgische Klemmtypen und Klemmfrequenz beim Abklemmen der ovinen biosynthetischen Prothesen an einem externen Kreislauf mit anschließender mikroskopischer Untersuchung des Materials betrachtet.

1.1 Geschichte des Gefäßersatzes

Laut der Publikation von Menzoian et al. (2011), die sich mit den Anfängen der Gefäßchirurgie beschäftigten, wurde die erste Erwähnung einer Gefäßanastomose mit Gefäßtransplantation im Jahr 1902 durch Alexis Carrel in Lyon veröffentlicht. Dieser 1873 in Lyon geborene Chirurg zog im Jahr 1904 nach Montreal und anschließend nach Chicago, wo er zusammen mit Charles Claude Guthrie mit Begeisterung für die experimentelle Chirurgie sowie für die Entwicklung neuer Gefäßanastomosen und Graftmaterialien zwischen 1904 und 1906 insgesamt 28 Publikationen veröffentlichte. Carrel wurde im Jahr 1912 für sein Werk in den Gefäß- und Organtransplantationen mit einem Nobelpreis für Medizin ausgezeichnet.

Menzoian et al. (2011) beschrieben auch die erste erfolgreiche Implantation eines venösen Bypasses, die Jean Kunlin zugeschrieben wurde. Dieser war Schüler des weltberühmten Chirurgen Rene Leriche und arbeitete an der ersten chirurgischen Klinik in Straßburg. Im Jahr 1948 benutzte er eine reversed Vene zur Implantation eines femoropoplitealen Bypasses bei einem Patienten mit einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit im Stadium IV nach Fontaine. Diese Prozedur gehört bis heute zu den bedeutendsten Grundlagen in der Gefäßchirurgie.

Bei fehlendem autologem Material bei Gefäßverletzungen wurde bereits von Andreas Vesalius im 16. Jahrhundert eine Arterie durch einen pflanzlichen Strohalm ersetzt. Dies endete frustant, genauso wie die von anderen Forschern benutzten Materialien, zum Beispiel Metallröhren oder Elfenbein, durch eine Abstoßungsreaktion (Kogel 2007). Im ersten und zweiten Weltkrieg bestand bei Kriegsverletzungen hoher Bedarf an Graftmaterialien, so dass sich viele Forscher mit neuen Methoden beschäftigten. Initial verwendete homologe Gefäße wurden durch Einsatz der alloplastischen Prothesen erst in den letzten 50 Jahren ersetzt (Riepe 2012).

Eine Idee eines Kompositmaterials aus Polyester und ovinem Kollagen als Graft für einen Gefäßersatz wurde zuerst von Ketharnathan und Christie im Jahr 1980 publiziert (Ketharnathan und Christie 1980). In diesem Experiment wurden ovine biosynthetische Prothesen als Gefäßersatz der abdominalen Aorta bei Hunden implantiert – mit sehr guten Ergebnissen und einer Offenheitsrate von über drei Jahren ohne Hinweis auf eine Degeneration oder eine Neigung zur Dilatation der Prothese.

Die Verwendung von biosynthetischen ovinen Gefäßprothesen im femoropoplitealen, femorofemorale und axillobifemorale Bereich des menschlichen Körpers wurde zuerst im Jahr 1989 (Battisti et al. 1989) publiziert.

1.2 Materialoptionen eines Gefäßersatzes

1.2.1 Autologes Material

Beim autologen Material handelt es sich um eine körpereigene Substanz, die als Ersatzmaterial im eigenem Körper angewendet wird. Als Umleitung eines verschlossenen bzw. fehlenden Gefäßsegmentes oder als Ersatz bei zerstörtem Gefäß wird am häufigsten eine eigene Vene benutzt (Ambler et al. 2018).

Die Vena saphena magna ist ein oberflächlich in der subkutanen Schicht liegendes Gefäß am Bein und bietet sich als leicht zugängliches Graftmaterial an. Die Vene entsteht aus dem Rete venosum dorsale und Rete venosum plantare am Fuß. Sie verläuft vor dem Innenknöchel in der subkutanen Schicht des Unterschenkels ventromedial von der Tibia und vom N. saphenus begleitet, hinter dem medialen femoralen Epikondylus kranial und ventromedial auf dem Oberschenkel, wo sie im Hiatus saphenus durch die Fossa iliopectinea in die Vena femoralis communis mündet (Cihak 1997). Auf der Suche nach einem Graftmaterial und bei nicht geeigneter Vena saphena magna kann eine Vena saphena parva verwendet werden. Die Entnahme der Vene in Rückenlage der Patienten ist zwar schwerer durchführbar, allerdings bei guter Qualität lohnenswert. Die Vena saphena parva verläuft hinter dem Außenknöchel in der subkutanen Schicht und mittig des Unterschenkels vom Nervus suralis begleitet durch die Fossa poplitea in die Vena poplitea.

Als eine weitere Alternative bieten sich die oberflächlichen Venen an den oberen Extremitäten an, die am häufigsten in der Shuntchirurgie verwendet werden. An der oberen Extremität entsteht aus dem Rete venosum dorsale an der Hand lateral die Vena cephalica und medial die Vena basilica, die am Unterarm epifaszial verlaufen. Die Vena cephalica verläuft anterolateral am Oberarm, durch das Trigonum deltoideopectorale und mündet in die V. axillaris. Die Vena basilica verläuft zuerst am medialen Unterarm und anschließend im Sulcus bicipitalis medialis vom Nervus cutaneus antebrachii medialis begleitet, wo sie durch den Hiatus basilicus in der Faszie am mittleren Oberarm in die Vena brachialis mündet (Cihak 1997).

Für den Ersatz großlumiger Gefäße, zum Beispiel der Vena cava oder Vena portae, eignet sich eine suprafaszial liegende Vene bei geringem Kaliber nur selten. In diesen Fällen

kommt die Entnahme der Vena femoralis superficialis in Frage (Eshtaya et al. 2008). Diese Vene gehört zum tiefen venösen System des Beines. Sie reicht von der Vena poplitea im Kniebereich bis zur Bifurkation der Vena femoralis communis in der Leistenregion.

Auch das eigene arterielle System kann als Graftmaterial verwendet werden. Als Goldstandard in der koronaren Bypasschirurgie dient die Arteria mammaria interna, die nicht nur in der Transpositionstechnik, sondern auch als freies Transplantat verwendet werden kann. Die Arterie entspringt aus der Arteria subclavia und verläuft substernal ca. 1 cm entfernt parallel zum Sternum, weiter kaudal im abdominalen Bereich wird sie als Arteria epigastrica superior bezeichnet. Die Entnahme kann konventionell durch eine Sternotomie oder endoskopisch bzw. robotisch assistiert erfolgen (Yim et al. 2020).

Aufgrund der Limitationen bezüglich Länge, Durchmesser sowie Arteriosklerosefreiheit ist eine Arterie als Graftmaterial in der Gefäßchirurgie begrenzt. In seltenen Fällen kann die Arteria radialis, die Arteria iliaca externa, die Arteria iliaca interna oder die Arteria femoralis superficialis als freies Transplantat oder Interponat vor allem in der septischen Chirurgie verwendet werden, wobei die entnommenen Gefäße im nicht infizierten Gebiet durch alloplastisches Material ersetzt werden können (Kogel 2007).

1.2.2 Alloplastisches Material

In der Gegenwart wird in der rekonstruktiven Gefäßchirurgie ein künstliches Material zum Ersatz der Gefäße bzw. als Bypass zur Verfügung gestellt. Die industrielle Herstellung erlaubt eine leichte Verfügbarkeit der Prothesen in verschiedenen Längen und Diametern. Folgende Voraussetzungen muss ein künstliches Material, das im humanen Körper eingesetzt werden kann, erfüllen (Kogel 2007):

- qualitative Kontinuität,
- chemische und physikalische Widerstandsfähigkeit,
- biologische Kompatibilität,
- nicht krebszerregend.

Durch Kontakt zwischen dem körperfremden alloplastischen Material und dem humanen Körper entstehen diverse Interaktionen, die die Offenheitsrate der Prothesen beeinflussen. Intraluminal reagiert das fließende Blut mit multiplen Reaktionen inklusive Absorption des Blutplasmas, welche von Adhärenz und Aktivierung der Thrombozyten, Infiltration von Neutrophilen und Monozyten sowie Migration und Proliferation der Endothelzellen und Muskelzellen der glatten Muskulatur gefolgt wird. Die Endothelialisierung des Prothesenlumens reduziert die Thrombozytenadhärenz und somit die thrombotischen

Verschlüsse der Prothesen. Zusätzlich verringert sie die Migration der Muskelzellen der glatten Muskulatur in die subendotheliale Schichten und somit die Produktion von extrazellulärer Matrix, die für eine neointimale Hyperplasie verantwortlich ist (Nishibe et al. 2007).

Die am häufigsten verwendeten alloplastischen Grafts bestehen aus Polyester oder expanded Polytetrafluorethylen (ePTFE).

1.2.2.1 ePTFE

Ein expanded Polytetrafluorethylen wird durch Polymerisation von Fluor und Kohlenstoff (Teflon) hergestellt. Die physikalische Struktur einer ePTFE-Prothese besteht aus sogenannten Knoten, die mit feinen Molekülfasern verbunden sind (Abbildung 1).

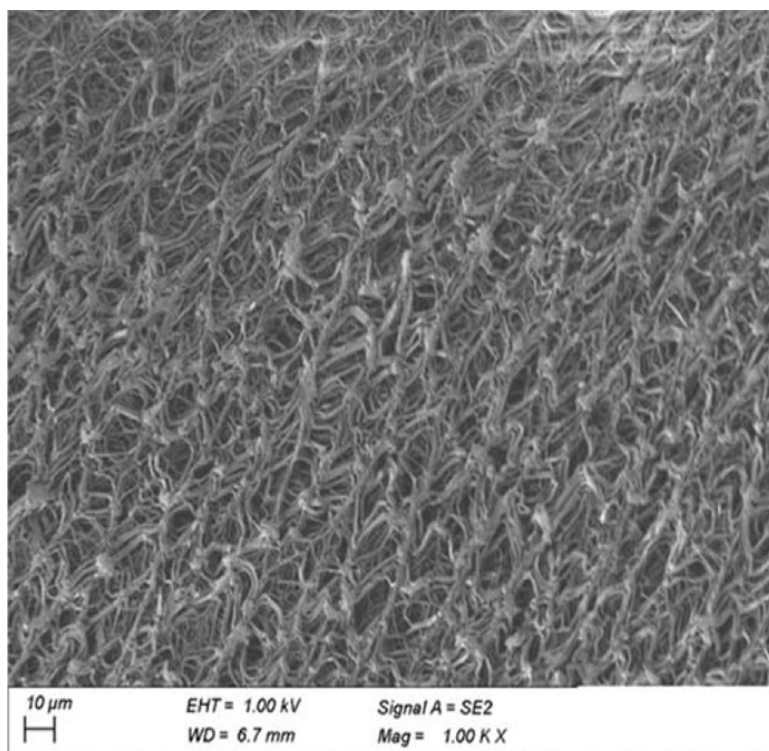


Abbildung 1: Struktur einer PTFE-Membran. Sichtbare Verbindung der Knoten mit Fibrillen des Polymers unter dem Rasterelektronenmikroskop (Chen et al. 2019). Die Verwendung der Abbildung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Wiley Online Library.

In der Vergangenheit sind mehrere Studien zur optimalen Länge der Fibrillen veröffentlicht worden. Bei Fibrillen, die kleiner als 30 μm sind, entsteht eine nicht ausreichende Endothelialisierung des Prothesenlumens. Bei Fibrillen, die größer als 90 μm sind, bildet sich eine instabile Pseudointima mit lokalem Verlust der Endothelzellen (Golden et al. 1990).

Durch eine evolutionäre Entwicklung der vaskulären Biologie konnten viele Interaktionen zwischen einem Organismus und einer Kunststoffprothese im positiven Sinne beeinflusst werden. So kann in der experimentellen Medizin durch diverse Modifikationen der adhäsiven Proteine und Wachstumsfaktoren eine Beschichtung der Prothese erzeugt werden, an der Adhärenz, Migration, Proliferation sowie Differenzierung stattfinden können. Seeger und Klingman (1988) beschreiben die spontane Endothelialisierung des ePTFE-Prothesenlumens nach Beschichtung mit Fibronektin in Tierversuchen an Hunden. In einer anderen Publikation (Gouny et al. 1995) wurde an einem porcinen Modell bewiesen, dass Plasmaproteine, wie Lektin, Fibronektin, Faktor XIII, Fibrinogen und Aprotinin, eine deutlich bessere Inkorporation und damit Einheilung der ePTFE-Prothese erzielen. Auch der Fibroblasten-Wachstumsfaktor I (FGF-I) mit Heparin, Thrombin und Fibrinogen in einem Fibrinkleber unterstützt die Endothelialisierung und Inkorporation der über 60 µm großen Fibrillen einer ePTFE-Prothese (Greisler et al. 1992).

Durch moderne Tissue-Engineering-Techniken konnte die beschichtete ePTFE-Prothese als Venenersatz bei Kindern verwendet werden. Für die Beschichtung des Grafts mit Wachstumsfaktoren dienten eigene Stammzellen aus dem Knochenmark (Shin'oka et al. 2005). Zur Gewinnung der Wachstumsfaktoren bieten sich auch Zellen aus dem Fettgewebe an, die man leicht gewinnen kann (Katz et al. 2005).

1.2.2.2 Polyester

Es handelt sich bei Polyester um ein Textilmaterial aus Polyethylenterephthalat (Harrison 1958). Bis in die 1990er Jahre wurden die Prothesen ausschließlich von der Firma DuPont unter dem Namen Dacron produziert. Daher sind die Polyesterprothesen bis heute im Kreis der Gefäßchirurgie als Dacron-Prothesen bekannt. Man unterscheidet zwischen gewebten, gestrickten und gewirkten Dacron-Prothesen (Riepe 2012).

Die einzelnen Fasern der gewebten Prothese sind orthogonal zueinander angeordnet. Die Prothese zeichnet sich durch eine hohe Reißfestigkeit aus. Zu den negativen Eigenschaften des Materials gehören die Entstehung von Fransen an den Schnittändern, was einen Ausriss der Anastomosennaht verursachen kann, sowie die Tatsache, dass durch die hohe Dichte der Einheilungsprozess deutlich erschwert ist. Eine Erweiterung der Prothesen im Vergleich zu gestrickten Prothesen ist deutlich seltener (Alimi et al. 1994).

Die hohe Elastizität der gestrickten Dacron-Prothesen ist für eine starke Dilatation nach der Prothesenimplantation verantwortlich (Nunn et al. 1990). Zudem besteht eine Porosität der Prothese. Daher ist vor der Implantation der Prothese eine Vorgerinnung erforderlich.

Bei gewirkter Dacron-Prothese werden durch die dreidimensionale Verknüpfung der Polyesterfasern die Vorteile der gewebten und der gestrickten Form genutzt – bei gleichzeitiger Minimierung der Nachteile, wie Dilatation und schlechter Einheilung der Prothesen im Körper. Das sogenannte Crimping der Textilprothesen ermöglicht eine erhöhte Stabilität, und eine veloursartige Struktur erleichtert die Einheilung der Prothese im Gewebe (King et al. 1995).

1.2.2.3 Merkmale des Polyestermaterials der Gefäßprothesen

Zu den polyester-assoziierten Prothesen-Komplikationen zählen die Prothesendilatation, die Undichtigkeit des Grafts und der Bruch der Polyesterfäden, die eine Blutung oder Entstehung eines Aneurysma falsum verursachen können (Berger und Sauvage 1981). Laut Literatur zeichnen sich die kuliengewirkten Prothesen durch die höchste Dilatationsneigung aus, wobei die Größenzunahme des Durchmessers der kettengewirkten Prothesen mit der Zeit nur minimal angegeben wird (Riepe 2012). Als Hauptursache der spät postoperativen Dilatation wird eine Degeneration des Materials angegeben. Aktuell sind keine Erkenntnisse bekannt, ob diese Eigenschaften analog auf die Omniflow-Prothese interpretiert werden können.

In der Leistenregion wird eine Ruptur der synthetischen Prothesen im Zusammenhang mit der Materialdegeneration mit 11 % angegeben, gegenüber 4 % bei iliacalear und 2 % bei aortaler Implantation (Riepe et al. 2001). Mögliche Ursachen für vermehrte Komplikationen im inguinalen Bereich können eine chemische Degeneration des synthetischen Materials im zellreichen Subkutangewebe, eine Materialermüdung durch häufige Bewegung unter dem Leistenband, eine intraoperative Schädigung des Materials durch die Manipulation und das Ausklemmen sowie eine Materialschädigung durch den Herstellungsprozess sein.

Die Implantation einer Gefäßprothese löst im Rahmen des Heilungsprozesses eine Entzündungsreaktion des Körpers aus, an denen lymphatische Zellen beteiligt sind. Durch eine komplexe chemische Reaktion, die sogenannte Hydrolyse, die bis heute nicht vollständig erklärt werden konnte, kommt es zur chemischen Degeneration der Polyester-moleküle (Riepe 2012).

Es wird vermutet, dass eine regelmäßige Reibung, Beugung und Dehnung der Polyesterfasern unter Umständen, vor allem in der Leistenregion, eine Ermüdung des Polyestermaterials verursachen können. Jedoch ist dies bis heute nicht bewiesen worden (Riepe 2012).

An Polyesterfasern eines alloplastischen Grafts konnte eine Beeinträchtigung durch Klemmen (Abbildung 2) in der Elektronmikroskopie bestätigt werden (Riepe et al. 2002).

In einer Rasterelektronmikroskopie sind auch Kontusionen der PTFE-Prothesen sehr gut sichtbar (Riepe et al. 2002). Klemmschäden an einer biosynthetischen Prothese sind bisher nicht untersucht worden.

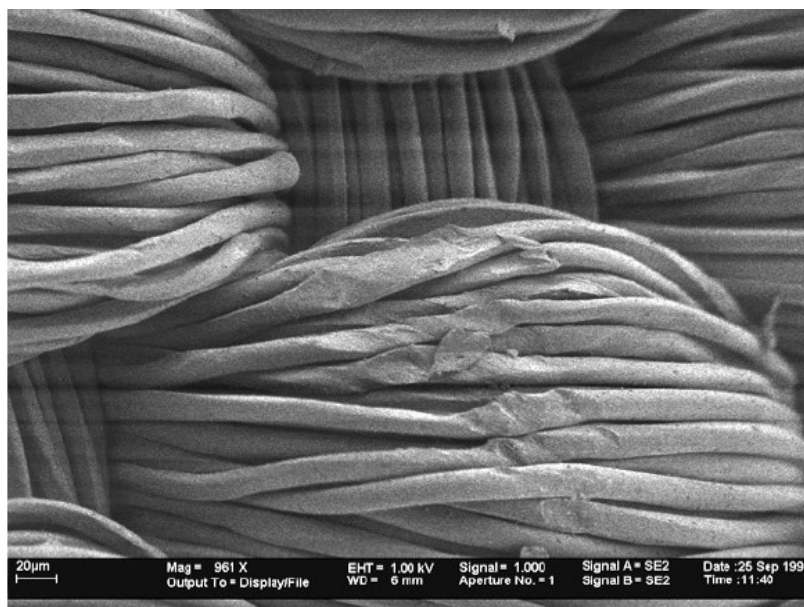


Abbildung 2: Klemmschaden einer gewebten Polyesterprothese. Sichtbare Kontusionen von Filamenten unter dem Rasterelektronenmikroskop nach fünfmaliger Klemmung mit einer ungepolsterten Gefäßklemme (Riepe et al. 2002). Die Verwendung der Abbildung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Georg Thieme Verlag KG.

1.2.3 Allogenes (homogenes) Material

Hierbei handelt es sich um humanes, post mortem entnommenes Material (Homograft). Zu den am häufigsten entnommenen Gefäßen gehören die Aorta, die Beckenarterien, die Femoralarterien, aber auch die Vena saphena magna und die Vena femoralis superficialis.

Nach den initial erfolglosen Ergebnissen der allogenen Gefäßen in der rekonstruktiven Gefäßchirurgie und zunehmender Verwendung alloplastischer Materialien in den fünfziger Jahren sind Homografts in den Hintergrund getreten. Bei Homografts handelt es sich um menschliche Transplantate, die eine Abstoßungsreaktion beim Empfänger auslösen können. Diese Abstoßungsreaktion wird als Ursache der schnellen Degeneration der Homografts betrachtet (Stephen et al. 1978).

Mit der Entwicklung der Kryokonservierung konnten in einer Gewebekbank die allogenen Materialien langfristig aufbewahrt werden, wodurch die Verfügbarkeit deutlich erleichtert wurde. Es ist bekannt, dass es durch Einfrieren und Auftauen der biologischen Materialien

zu starken Veränderungen und somit zu Schädigungen des konservierten Gewebes durch mechanischen Stress kommt, wobei Arterien hierbei empfindlicher als Venen sind (Pegg 2007). Auch immunologische Reaktionen begünstigen die degenerativen Veränderungen des allogenen Gefäßes, so dass die Notwendigkeit einer postoperativen Immunsuppressionstherapie weiterhin unklar bleibt (Fellmer et al. 2013). Nach Verbesserung der Kryokonservierungsmethoden konnten deutlich bessere Ergebnisse nach dem Einsatz eines allogenen Gefäßersatzes erzielt werden (Müller-Schweinitzer 2009).

Die Komplikationen im Sinne einer Degeneration nach einem allogenen Gefäßersatz spielen bis heute eine große Rolle. Trotzdem findet man in der Literatur (Lesèche et al. 2001) vielversprechende Ergebnisse, vor allem in der septischen Aorten Chirurgie mit einer primären Offenheitsrate von 81 % in dreijähriger Beobachtungszeit. Der Einsatz von synthetischem Material ist im infizierten Operationsgebiet aufgrund der hohen Komplikationsraten im Sinne eines Protheseninfektes nur in Ausnahmefällen umsetzbar. Falls autologes Graftmaterial bei infiziertem Gewebe nicht zur Verfügung steht, bzw. die Qualität oder das Kaliber dem Zielgefäß nicht entspricht, gewinnt der allogene Gefäßersatz auch dank Gewebebanken bei ähnlicher Verfügbarkeit eines alloplastischen Materials zunehmend eine stärkere Position.

1.2.4 Xenogenes Material

Die Xenotransplantation ist definiert als Gewebeübertragung zwischen verschiedenen Spezies (Soin et al. 2000). Schon die ersten experimentellen Versuche einer heterogenen Gefäßtransplantation durch Carell im Jahr 1907 scheiterten frustriert (Kogel 2007). Die massive Immunreaktion des Empfängers gegen das xenogene Spenderorgan sorgten für schnelle Degeneration mit häufigen Rupturen, Thrombosen und Aneurysmabildungen der Transplantate (Englberger et al. 2008; Colli et al. 2010).

Durch neue Präparationsmethoden, inklusive Extraktion der Antigene und Verwendung von Polyglykol oder chemischer Oxidation zur Protektion der extrazellulären Komponenten, ist nach antiinflammatorischen, antithrombogenen und kryoprotektiven Methoden eine Herstellung xenogener Gefäßersatzstücke möglich. Die Xenografts werden gefriergetrocknet, verpackt und sterilisiert durch Verdampfung mit Wasserstoffperoxid. Somit können sie bei Raumtemperatur gelagert werden und stehen nach Rehydratation schnell gebrauchsfertig zu Verfügung.

In experimentellen Versuchen sind vielversprechende Ergebnisse publiziert worden. Knapp und Kollektiv (2016) verglichen in ihrer Arbeit bovine Gefäßtransplantate mit

autologen Venen und ePTFE-Prothesen nach Implantation in der Arteria carotis von Schafen. Die Ergebnisse zeigten in dieser kleinen Studie vergleichbare Offenheitsraten und Komplikationen zwischen den autologen und den xenogenen Materialien. Ziel der Arbeit war die Entwicklung weiterer Gefäßersatzmaterialien mit kleinem Kaliber (3 - 5 mm) bei nicht verfügbaren autologen Materialien in der Traumaversorgung in Kriegsgebieten.

1.2.5 Bioartifizielle Prothese – Vaskuläres Tissue-Engineering

Der Bedarf an neuen Alternativen für Gefäßrekonstruktion bzw. -ersatz besteht vor allem für Prothesen mit kleinem Diameter unter 5 mm. Hier ist meist kein autologes Material verfügbar und allogenes Material zeigt aufgrund der Bildung einer Intimahyperplasie niedrige Offenheitsraten. Neuer Entwicklungen im Rahmen des *Tissue Engineerings* bedarf somit nicht nur in der Koronarbypasschirurgie, sondern auch in der kruralen Chirurgie und der Dialyseshunt-Chirurgie (Whited et al. 2013).

Folgende Eigenschaften sollte eine *bioengineered* Prothese aufweisen (Karaman et al. 2017):

- physiologischer Widerstand der an die Prothese wirkenden mechanischen Kräfte (Blutfluss)
- Ermöglichung einer chirurgischen Anastomose
- strukturelle Integrität
- thrombogene Resistenz der Oberfläche zum Gefäßlumen
- Resistenz gegen Inflammation
- begrenzte Proliferation der glatten Muskelzellen, die für Neointimahyperplasie zuständig sind.

Die *bioengineered* Gefäßprothesen sollten strukturell und funktionell einer nativen Arterie möglichst ähneln. Eine Arterie besteht aus drei Schichten. Die innere Schicht (*tunica intima*) setzt sich aus Endothelzellen zusammen, die für eine Lumenintegrität und somit für eine thrombogene Widerstandsfähigkeit sorgen. Die zweite Schicht (*tunica media*) besteht aus konzentrisch organisierten Zellen der glatten Muskulatur, die eine Vasokonstriktion und eine Vasodilatation ermöglichen (Hasan et al. 2014). Die *Tunica adventitia* als äußere Schicht, ist für metabolische Versorgung durch die *Vasa vasorum* sowie für die Vasokonstriktion und -dilatation der Gefäße durch die *Nervi vasorum* zuständig.

Initial wurden bioartifizielle Prothesen aus einer Schicht entwickelt, gefolgt von mehrschichtigen bioartifiziellen Prothesen, die einer nativen Arterie mit Intima-, Media- sowie Adventitiaschicht ähneln. Ein tubuläres Trägergerüst mit verstreuten Fasern für die innere Schicht (*tunica intima*) sowie ein äußeres Trägergerüst mit zirkulär organisierten

Fasern (tunica media) werden durch spezielle Techniken in Kombination von *Electrospinning* und *melt Electronwriting* hergestellt. Das Trägergerüst besteht aus biologisch abbaubarem Kunststoff (Polycaprolacton) oder Fibrinkleber. Das Polycaprolacton hat sich als zytotoxisch erwiesen, da bei seinem Abbauprozess schädliche Stoffe entstanden (Shaikh et al. 2008).

Durch eine Perfusion des zukünftigen Lumens wirkt auf die unreifen Endothelzellen mechanische Energie bei gleichzeitig statischen Kräften der äußeren Schicht (Egorova et al. 2012). Diese Trägergerüste werden mit körpereigenen Zellen und Wachstumsfaktoren beladen sowie in einem Bioreaktor für gewisse Zeit stimuliert. Für das Endothel eignen sich aus der Nabelschnur gewonnene ECFC (*endothelial colony-forming cells*), für die mittlere Schicht mesenchymale Stromazellen (MSC) aus Knochenmark oder mesenchymale Stammzellen aus Fettgewebe (Pennings et al. 2019).

Die aus drei Schichten bestehende bioartifizielle Gefäßprothese, entwickelt auf der Basis einer Fibrinmatrix, gehört zu den neuesten Forschungsentdeckungen. Die Tunica adventitia dient nicht nur der Stabilität der Prothese, sondern verspricht durch die Mikroneovaskularisierung auch die Ernährung aller Schichten, womit sich die bioartifizielle Prothese potenziell unter *in vivo* Bedingungen wie ein natives Gefäß verhalten kann. Für die äußere Schicht werden Endothelzellen aus der Nabelschnurvene und mesenchymale Stammzellen aus Fettgewebe benutzt. Die Produktion einer bioartifiziellen Gefäßprothese in einem Bioreaktor dauert circa 72 Stunden. Die Einwirkung der mechanischen Kräfte durch pulsatilen Fluss hat essentielle Bedeutung, da bewiesen ist, dass dieser für die Maturation der Zellen erhebliche Vorteile bringt (Isenberg et al. 2006).

Abbildung 3 zeigt eine bioartifizielle Prothese, die bei einer 80-jährigen Patientin als Shunt implantiert wurde (Wystrychowski et al. 2014).

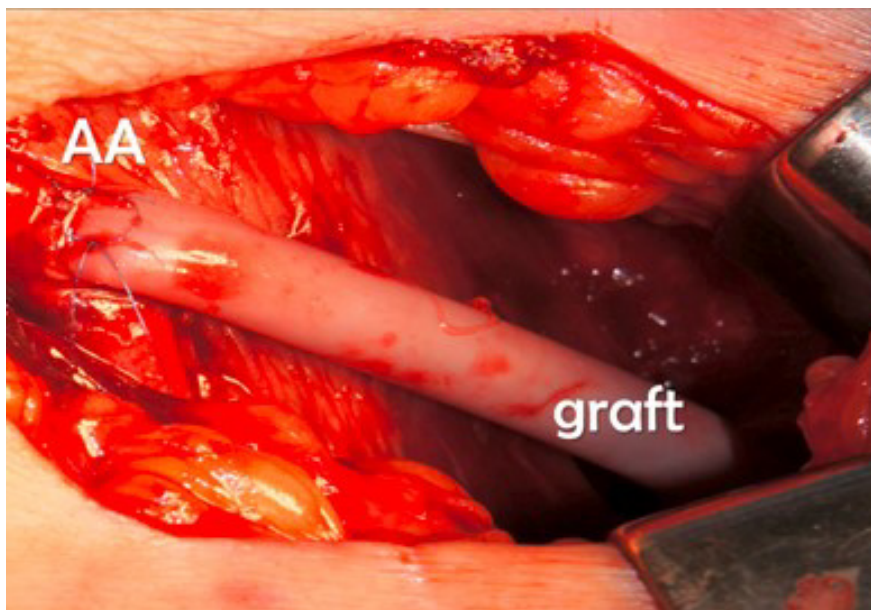


Abbildung 3: Bioartifizielle Prothese. AA- arterielle Anastomose, graft- bioartifizielle Prothese (Wystrychowski et al. 2014). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Elsevier.

Die Anwendung der bioartifiziellen Prothesen in der Praxis ist in der Zukunft vielversprechend, jedoch ist die aktuelle Datenlage nicht ausreichend. Eine Metaanalyse (Skovrind et al. 2019) der insgesamt 68 präklinischen und drei klinischen Studien beschreibt eine mediane Offenheitsrate der *tissue engineered* vaskulären Prothesen von 83 % in einem Follow-up von 56 Tagen. Diese Ergebnisse sind zwar chancenreich, aber für den Vergleich der Offenheitsraten eines autologen oder synthetischen Materials und somit für den Einsatz im klinischen Alltag nicht ausreichend.

1.2.6 Konstruktion der Omniflow-II-Prothese

Die Omniflow-Prothese ist ein Hybridmaterial aus einem xenogenem Gewebe mit alloplastischen Anteilen. Nach einer Modifizierung der ersten Generation der Prothese konnten negative Eigenschaften wie die Neigung zum thrombotischen Verschluss sowie Aneurysmabildung in der zweiten Generation deutlich reduziert werden (Neufang und Doemland 2010). Die ovine biosynthetische Gefäßprothese zweiter Generation (Omniflow-II) wird durch die Firma LeMaitre Vascular hergestellt. Die Prothese besteht aus einem Polyesternetz und einer Matrix aus Kollagenfibrillen eines Schafgewebes. Das Stabilisierungsnetz aus Polyester wird auf einen Stab gezogen und in das Subkutangewebe des Schafes implantiert. Nach ca. drei Monaten erfolgen die Prothesenexplantation, die Aufbereitung und – nach Angaben des Herstellers – eine Sterilisation mittels Glutaraldehydlösung (Dünschede et al. 2017). Anschließend wird die Prothese steril und nicht pyrogen in einer Glasröhre mit einer 50%igen Ethanol-Lösung geliefert. Auf dem

Markt stehen gekrümmte und gerade Omniflow-II-Prothesen in verschiedenen Diametern (5 mm, 6 mm, 7 mm und 8 mm) und Längen (20 cm, 30 cm, 40 cm, 50 cm, 60 cm und 65 cm) zur Verfügung.

Die immunohistologische und chemische Untersuchung zeigen, dass der kollagene Anteil überwiegend aus Kollagen Typ III besteht (Ramshaw et al. 1989). Das Kollagen Typ III gehört zum Protein der extrazellulären Matrix in zahlreichen Organen und zeichnet sich durch eine hohe Stabilität bei erhaltener Elastizität aus (Kuivaniemi und Tromp 2019). Das ovine Kollagen konnte nach der Implantation in den menschlichen Körper über vier Jahre nachgewiesen werden (Werkmeister et al. 1991).

1.3 Anwendung der ovinen biosynthetischen Prothese in der Praxis

Die häufigste Verwendung einer Omniflow-II-Prothese besteht in der peripheren Bypasschirurgie bei einer kritischen Extremitätenischämie. Die Inzidenz dieser schweren Form einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (Stadium III-IV nach Fontaine) beträgt 500 bis 1000 Neuerkrankungen pro Million Einwohner, womit bis zu 10 % aller Patienten mit einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit betroffen sind (Nehler et al. 2014).

1.4 Langzeitergebnisse und Merkmale der biosynthetischen Gefäßprothese

Die Benutzung der Omniflow-Prothesen findet zunehmend im gefäßchirurgischen Alltag ihren Platz. Sie ermöglicht nicht nur die Verfügbarkeit der Prothesen bei fehlendem Graftmaterial, sondern bietet auch die Eigenschaften der biosynthetischen Prothese. Dank biogener Komponente sind die Infektionsraten mit autologem Material vergleichbar (Koch et al. 1997). Das Gegenteil zeigt eine *in vivo* Studie an Ratten (Bozoglan et al. 2016). Hier zeigte sich eine höhere Infekteresistenz der PTFE-Prothese bei *Staphylococcus aureus* Infektionen gegenüber der Omniflow-II-Prothese.

Die Arbeit von De Siqueira et al. (2020) beschreibt den Einsatz der Omniflow-II-Prothese in der Rekonstruktionschirurgie eines Aneurysmas falsum im femoralen Bereich bei infizierten Graftmaterialien. Es handelte sich zwar um eine geringe Patientenzahl, allerdings wurden die Eingriffe in vier von fünf Fällen unter Notfallbedingungen bei aktiven Blutungen durchgeführt. Das mittlere Follow-up betrug 50 Monate. Dabei konnten neun von zehn Extremitäten erhalten werden. Es kam zu einem Verschluss der Omniflow-

Prothese nach fünf Monaten und zwei von fünf Patienten sind innerhalb des Follow-ups verstorben.

1.4.1 Offenheitsraten

Die Offenheitsraten nach femoropoplitealen und kruralen arteriellen Rekonstruktionen mittels Omniflow-II-Prothese zeigen kompatible Ergebnisse.

Koch et al. (1997) überprüften 274 implantierte Omniflow-Prothesen in verschiedenen Positionen bei peripheren arteriellen Revaskularisationen der unteren Extremitäten. Es konnten Offenheitsraten nach drei Jahren supragenual mit 61,9 % und infragenual mit 55,4 % sowie nach zwei Jahren krural mit 28,7 % erreicht werden. Ein Auftreten von Aneurysmen wurde mit 1,1 % beschrieben.

Die türkische Arbeitsgruppe von Toktaş (2018) beschreibt in seiner Arbeit eine Offenheitsrate der supragenualen Omniflow-Bypässe mit 98 % und infragenual mit 86 % innerhalb von drei Jahren sowie mit 87,9 % und 65,3 % innerhalb von fünf Jahren.

1.4.1.1 Vene vs. PTFE vs. Omniflow

In der Literatur findet man diverse Ergebnisse der femoro-poplitealen und femoro-kruralen Rekonstruktionen mit Grafts aus autologer Vene, PTFE-Prothese und Omniflow-Prothese. Laut Koch und Kollegen (1996) beträgt die dreijährige Offenheitsrate der supragenualen Bypässe mit autologer Vene 90 %, mit PTFE 52 % und mit ovinen kollagenen Bypässen 56 %. In infragenualen Bypässen konnten Offenheitsraten bis zu 76 % mit eigener Vene, 30 % mit PTFE-Prothese und 50 % mit oviner Kollagenprothese erzielt werden. In der kruralen Position blieben die venösen Bypässe mit deutlichem Vorsprung in 72 % der Fälle offen, bei PTFE-Prothesen nur in 30 % und bei ovinen Kollagenprothesen in 40 %. Die postoperativen Infektionsraten der Bypässe, Aneurysmbildung sowie postoperative Mortalität waren in allen Gruppen niedrig. Diese Daten bestätigen, dass sowohl in der supragenualen als auch in der infragenualen Position die autologe Vene deutlich überlegen ist, während PTFE- und Omniflow-Prothesen vergleichbar waren.

Aktuell ist keine große prospektive, randomisierte Studie vorhanden, die einen idealen Ersatz der eigenen Vene bei fehlendem Material in der peripheren arteriellen Rekonstruktion empfiehlt (Xue und Greisler 2003). In einer Metaanalyse (Wilasrusmee et al. 2017) wird beschrieben, dass durch die Verwendung der ovinen biosynthetischen Prothesen gegenüber PTFE-Prothesen höhere Offenheitsraten erreicht werden können, wobei sich im Vergleich der Offenheitsrate zwischen der Omniflow-Prothese und der

eigenen Vene nur ein 26 %iger Unterschied zugunsten der eigenen Vene findet, der allerdings nicht signifikant ist.

1.4.1.2 ePTFE vs. Omniflow-II

In einer *single-center* retrospektiven Studie (van de Laar et al. 2022) mit Patienten mit einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit wurden insgesamt 60 Bypässe implantiert. Es wurden Omniflow-II-Prothesen mit ePTFE-Prothesen im supra- und im infragenualen Bereich verglichen. Diese Arbeit konnte keinen signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen unabhängig von der Lokalisation der distalen Anastomose nachweisen (40 % vs. 22,9 %, nicht signifikant). Dies könnte allerdings an der Tatsache liegen, dass sich in der Gruppe der Omniflow-II-Prothesen deutlich mehr Patienten mit höherer ASA-Klassifikation und höherem WIFI-Score (*Wound, Ischemia and Foot Infection*) sowie Patienten mit einer aktiven Infektion befanden.

1.4.1.3 Dialyseshunt

Nicht selten wird eine Omniflow-II-Prothese in der Shuntchirurgie verwendet. Die Arbeit von Palumbo et al. (2009) beschreibt die Anwendung einer Omniflow-II-Prothese zur Herstellung eines arteriovenösen (AV) Shuntes als Dialysezugang bei Patienten, bei denen keine Möglichkeit einer nativen AV-Anastomose bestand. In der Studie mit 38 Patienten und einem medianen Follow-up von 38 Monaten blieben 31 Patienten (81 %) am Leben. Die kumulative Offenheitsrate von 38 Monaten lag bei 70 %. Zum Vergleich ist eine Offenheitsrate bei einem PTFE-Shunt deutlich niedriger. Dies zeigt sich an den Ergebnissen einer Studie von Modarai et al. (2005), wo bei 48 Patienten 59 PTFE-Shunts an oberen Extremitäten implantiert worden sind. Die sekundäre Offenheitsrate betrug in zwölf Monaten nur 36 % und lediglich 2 % in 30 Monaten. Zudem ist das Risiko einer Graftinfektion bei einem PTFE-Shunt deutlich höher. In der Arbeit von Modarai et al. (2005) ist bei 32 % der PTFE-Shunts zu einer Shuntinfektion gekommen, wobei in der Studie von Palumbo et al. (2009) kein Infekt der Omniflow-II-Prothese beobachtet wurde.

1.4.2 Degeneration und Aneurysmabildung

In der Literatur wird häufig eine aneurysmatische Degeneration der Omniflow-II-Prothese erwähnt. Die Arbeitsgruppe von van der Laar (2021) beobachtete eine aneurysmatische Degeneration in 2 von 25 (8 %) implantierten supra- und infragenualen Omniflow-II-Bypässen, wobei sich bei den ePTFE-Bypässen dieses Merkmal nicht zeigte.

In der Literatur wurden Einzelberichte über Degeneration und Entwicklung eines Pseudoaneurysmas der ovinen biosynthetischen Prothese beschrieben (Amann et al. 2000). Abbildung 4 zeigt pseudoaneurysmatische Schäden einer Omniflow-I-Prothese.



Abbildung 4: Pseudoaneurysma einer aus dem menschlichen Körper explantierten Omniflow-I-Prothese. Als mögliche Ursache gilt eine mechanische Schädigung der alloplastischen Komponente (Amann et al. 2000). Die Verwendung erfolgt mit freundlicher Genehmigung von Springer Nature.

Die Behandlung eines symptomatischen Pseudoaneurysmas mittels Stentgraft-Angioplastie nach der Implantation einer Omniflow-II-Prothese wurde im Jahr 2010 veröffentlicht (Magnetti et al. 2010). Hierbei handelte es sich um einen 66-jährigen Patienten, bei dem eine femoropopliteale Bypassanlage mittels einer ovinen biosynthetischen Prothese zur Behandlung einer akuten Extremitätenischämie beim Poplitealaneurysma durchgeführt wurde. Nach zwei Jahren stellte sich der Patient erneut mit akut aufgetretenen Schmerzen und einer Schwellung im Kniebereich vor. Sowohl sonographisch als auch angiographisch konnte eine aktive Blutung im ventralen Bereich der Prothese festgestellt werden, die mit der Implantation eines *gecoverten* (ummantelten) Stents erfolgreich behandelt wurde.

1.5 Gefäß- und Gefäßprothesenklemmen

Gefäße oder Gefäßprothesen können auf verschiedene Arten bei Durchführung von Anastomosen oder auch zur temporären Beherrschung einer Blutung geklemmt werden. Es können verschiedene Gefäßklemmen, Retraktionsbänder (*Vessel-Loops*) oder okklusive Ballonkatheter benutzt werden.

Als häufigste Todesursache während der militärischen Einsätze im Irak und in Afghanistan zwischen Oktober 2001 und Juni 2011 wurde eine Hämorrhagie beschrieben, wovon in 13,5 % der Fälle eine periphere Blutung bei einer Extremitätenverletzung beobachtet wurde (Eastridge et al. 2012). Durch den Einsatz eines Tourniquets konnte die Sterblichkeit um 85 % gesenkt werden. Diese Methode wird vorübergehend bei einer akuten Blutungssituation einer Extremität nicht nur in militärischen Einsätzen, sondern auch in der Rettungsmedizin benutzt.

In der Chirurgie ist die Problematik der Gefäßschädigung durch Klemmung seit jeher relevant. In den 1970er Jahren konnten durch Elektronenmikroskopie mikropathologische Veränderungen der Intimaschicht einer Arterie beobachtet werden (Guidoin et al. 1978). Dabei wurden Aorten von Hunden mit unterschiedlichen Klemmtypen über verschiedene Zeitintervalle geklemmt. Zwar konnte bewiesen werden, dass spezielle Klemmeigenschaften, wie zum Beispiel die einer Fogarty-Klemme, im Vergleich zur klassischen atraumatischen Gefäßklemme mit DeBakey-Mikrozahnung deutlich weniger Intimaschäden verursacht, dennoch wurden elektronenmikroskopisch Kontusionen der Intima bei allen Klemmtypen beobachtet.

Die Intima von Arterien reagiert sehr sensibel auf mechanische und kompressive Einwirkung durch ein Klemmanöver. Der traumatische Reiz auf das Endothel induziert Kaskaden, die zu diversen Komplikationen, inklusive Thrombose, Embolie, lokaler atherosklerotischer Akzeleration, fibroproliferativer Stenosen sowie Pseudoaneurysmen führen können (Moore et al. 1988).

1.5.1 Klemmmöglichkeiten eines Gefäßes

1.5.1.1 Gefäßklemmen

Das am häufigsten verwendete Instrument zur Okklusion von Gefäßen in der Gefäßchirurgie ist eine Gefäßklemme. Auf dem Markt befinden sich zahlreiche Gefäßklemmen mit verschiedenen Eigenschaften, Längen und Materialien. Die Verletzung der Arterienwand durch das Klemmverfahren wurde in mehreren Studien erforscht. Nicht nur am Tiermaterial, sondern auch an menschlichen Gefäßen wurden verschiedene Klemmanöver mit unterschiedlichen Klemmen eruiert (Harvey und Gough 1981, Manship et al. 1985, Margovsky et al. 1997a). Gegenwärtig lassen sich mit spezieller Softwareentwicklung nicht nur die Einwirkungen auf die Gefäßwand, sondern auch die dynamischen Veränderungen des fließenden Blutes durch ein Klemmanöver simulieren (Chen et al. 2009). In einem Experiment wurde eine Formel zur Ermittlung einer für das

Gefäß optimalen Klemmstärke eruiert, die nach dem Gefäßdiameter, dem aktuellen Blutdruck und der Breite des geklemmten Bereiches berechnet wurde (Sun et al. 2021; Dujovny et al. 1979).

Das Klemmen von kleinlumigen Gefäßen ist mit einer Schädigung der Intimaschicht assoziiert und kann zu Thrombosierung, Embolisation und Okklusion der Gefäße führen (Slayback et al. 1976). Zudem konnte die Forschungsgruppe von Slayback et al. in einem experimentellen Versuch an Kaninchenaorten beweisen, dass atherosklerotisch veränderte Arterienwände einen deutlich erhöhten Schädigungsgrad nach Klemmen aufwiesen. In der Studie vom Kuo et al. (1993) wurden Klemmschäden an der menschlichen Arteria mammaria interna untersucht. Dabei konnten nicht nur intimale Verletzungen mit Entstehung eines Thrombus beobachtet werden, sondern es wurden auch vermehrte Intimaschäden bei längeren Klemmvorgängen belegt.

Auf dem Markt befinden sich diverse Gefäßklemmen in verschiedenen Formen (gerade, gebogen, gewinkelt, bajonettförmig), die eine sichere Blutungskontrolle in oft kleinen Zugängen der vaskulären Chirurgie ohne Sichtbehinderung (z.B. Gregory-Klemmen in der Karotischirurgie) ermöglichen. Eine entscheidende Rolle bei der Minimierung der Klemmschäden der Gefäßwand spielt allerdings das Klemmprofil der Klemme.

In der Gefäßchirurgie wird am häufigsten eine Zahnung nach DeBakey verwendet. Sie zeichnet sich durch eine atraumatische Klemme mit einem etwas weniger festen, aber gewebeschonenderen Griff als anatomische Klemmen aus. Das Profil der Klemme hat eine quergestreifte Riffelung mit Einfachverzahnung auf einer Seite und Doppelverzahnung auf der Gegenseite.

In den 1960er Jahren wurde die Gefäßklemme nach Fogarty vorgestellt. Gezielt wurde eine schonende Klemme, nicht nur für ein atherosklerotisch verändertes arterielles, sondern auch für ein entsprechendes venöses Gefäß entwickelt (Fogarty et al. 1966). Auf die Branchen einer Fogarty-Klemme werden Einsätze aus medizinischem Silikon aufgezogen. Auf dem Markt sind *Softjaw*-, *Hydrajaw*-, *Savejaw*- und *Tractionjaw*-Einsätze erhältlich. *Softjaw* bestehen aus Schwammgummi, *Hydrajaw* aus einem Hohl Gummi, *Savejaw* haben pyramidenförmige Gummipoppen und *Tractionjaw* haben eine starre Oberfläche. Durch die Kombination der verschiedenen Einsätze lassen sich die Klemmen nach dem Ziel des klemmenden Objektes optimieren. Es existieren diverse Studien zu Klemmschäden der Arterienwand. Rylski et al. (2016) publizierten eine Arbeit, in der verschiedene Klemmen und deren Einwirkungen auf die porcine Aorta untersucht wurden. Die DeBakey-Klemme zeichnete sich durch die signifikant niedrigste Druckeinwirkung auf die Aortenwand aus,

wobei die Chitwood-Klemme den höchsten Druck auf die Aortenwand ausgeübt hat. Die Fogarty-Klemme zeichnete sich durch eine gleichmäßige Druckverteilung der Klemmebene aus, wobei sich die maximale Desorganisation der Kollagenfibrillen in der Nähe der Klemmscharniere befand. Eine modifizierte Fogarty-Klemme mit Teflonpads auf den *Hydrajam*-Einsätzen kann bei Ausklemmung einer fragilen Aorta benutzt werden (Rousou und Engelman 1981).

Eine Stenose nach Ausklemmen des femoropoplitealen Bereiches mit einer Fogarty-Klemme kann laut Literatur (Vriens et al. 2015) bis zu 7,3 % in sechs Monaten und 12,9 % als Spätfolge in 83 Monaten auftreten. Die Entstehung einer Stenose nach Klemmverfahren ist multifaktorieller Genese. Nicht nur die Klemme selbst, sondern auch die zeitliche Wirkung, die Wiederholung des Klemmanövers und die Positionierung bzw. Krafteinwirkung der Klemme beeinflussen die traumatischen Veränderungen der Gefäßwand. Nicht beeinflussbar ist der Vorschädigungsgrad der Arterie durch eine Atherosklerose bzw. Gewebeinsuffizienz bei Erweiterungen sowie Infektionen.

Klemmen mit anatomischem Griff, wie eine Cooley- oder eine Pean-Klemme, finden im Bereich der Gefäßklemmung aufgrund starker traumatischer Schädigung der Gefäßwand keinen Platz.

1.5.1.2 Vessel-Loops

Manship et al. (1985) beschäftigten sich in den 1980er Jahren mit komparativen Studien zwischen Gefäßklemmen und Retraktionsbändern (*Vessel-Loops*). Die initialen Versuche erfolgten an den Iliakalgefäßen von Hunden. Später wurden Klemmschäden an humanen femoropoplitealen Arterien kurz vor Oberschenkelamputationen im Endstadium einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit untersucht. In der Elektronenmikroskopie zeigten sich in allen Präparaten nach DeBakey-, Cooley-, Bulldog- und Fogarty-Klemmungen Wandschädigungen des Epithels und teilweise auch der Mediaschicht. Die Präparate nach Gefäßokklusion durch *Vessel-Loop* verblieben ohne Verletzung (Manship et al. 1985).

Durch eine invasive Druckmessung der Klemmebene wurde bewiesen, dass gängige Klemmen, zum Beispiel nach DeBakey, nach Cooley oder nach Satinsky, bei ausreichender okklusiver Wandkompression starke endotheliale Schäden verursachen. Schonende Klemmverfahren mit Retraktionsbändern oder mittels protektiver weicher Klemmen nach Fogarty rufen nachweisbar leichtere Intimaschäden hervor, wobei sich nur die Klemme

nach Fogarty durch eine ausreichende okklusive Eigenschaft ausgezeichnet (Moore et al. 1988).

Die temporäre Okklusion der großlumigen Gefäße ist mit *Vessel-Loop*-Technik nicht ausreichend, allerdings bietet sie sich als gute Alternative bei kleinelumigen Gefäßen an.

1.5.1.3 Ballon-Katheter

Durch eine ungleichmäßige Einwirkung der Gefäßklemme auf die Gefäßwand entstehen höhere Druckschäden in der Nähe des Klemmenscharniers als an der Spitze der Klemme (Rylski et al. 2016). Die Idee einer Okklusion des Gefäßes mit Hilfe eines Okklusionsballons besteht darin, dies zu vermeiden. Auch durch Okklusion der Gefäße über einen Okklusionsballon kommt es zu intimalen Schäden, die allerdings etwas geringer ausfallen als nach Klemmung (Ozalp et al. 2009). Diese Methode ist eine Alternative, die bei einem schwer zugänglichen Situs zum Einsatz kommen kann. Der Kostenfaktor beim Einmalmaterial und die Limitierung durch schwer atherosklerotisch veränderten Gefäße, die zur Ballonruptur führen können, sind Nachteile, weshalb diese Methode im Alltag nicht häufig eingesetzt wird.

1.5.2 Klemmmöglichkeiten einer Gefäßprothese

Gefäßprothesendefekte treten zwar nicht häufig auf, ihre Folgen können jedoch fatale Auswirkungen haben. Eine deutliche Schädigung des Kunststoffmaterials von Gefäßprothesen wurde elektronenmikroskopisch nach einer Klemmung mit den ungepolsterten Klemmen nachgewiesen (Riepe et al. 2002). Diese Schädigung konnte bei Verwendung von gepolsterten Klemmen nicht gezeigt werden.

Analog zu den Klemmverfahren nativer Gefäße können auch bei Gefäßprothesen alternativ Okklusionen durch einen Ballonkatheter erfolgen. Allerdings gehen wir davon aus, dass eine Überdehnung des Prothesenlumens zu mechanischen Schäden des Prothesenmaterials und somit zu diversen Früh- und Spätkomplikationen nach Implantation des Grafts führen kann, auch wenn es bisher hierzu noch keine Literatur gibt.

1.6 Zielsetzung der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit besteht darin, zu untersuchen, welche Faktoren (Klemmzeit, Klemmfrequenz und Klemmtyp) des Abklemmens der Omniflow-II-Prothese besonders zu starken mikroskopischen Schäden der ovinen biosynthetischen Prothese führen, um

diese in der Praxis zu minimieren und damit bessere Langzeitergebnisse mit Reduktion der lokalen Komplikationen zu erreichen.

2 Material und Methoden

2.1 Kreislaufsystem

Im Rahmen der Versuchsreihe wurde ein *in vitro* Kreislaufsystem (Abbildung 5) erstellt, in welches die ovine biosynthetische Gefäßprothese integriert wurde.

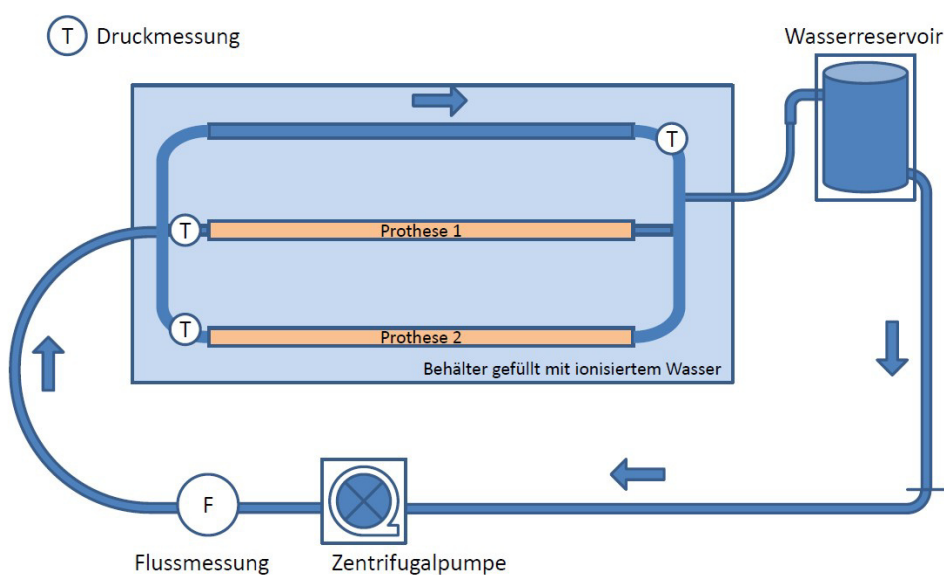


Abbildung 5: Schema des experimentellen Kreislaufes. R-Wasserreservoir, P-Zentrifugalpumpe, T-Druckmesspunkte, B-Behälter gefüllt mit ionisiertem Wasser und eingetauchten Prothesen (gelb).

Dieses System (Abbildung 6) wurde durch eine Zentrifugalpumpe betrieben. Die Steuerung erfolgte mittels einer Konsole für extrakorporale Membranoxygenation, auch ECMO genannt (iLA active, Firma Novalung), die bei Neugeborenen und kleinen Kindern zur Unterstützung bzw. zum Ersatz der pulmonalen und/oder kardialen Funktion zum Einsatz kommt. Im Kreislauf wurde auch ein Wasserreservoir etabliert. Das experimentelle externe Kreislaufsystem wurde mit einem nicht beschichteten Schlauchsystem (Diameter 1/2" und 3/8", Fa. Getinge) sowie mit den verschiedenen Konnektoren (Diameter 1/2" und 3/8", Fa. Getinge) verbunden und mit nicht ionisiertem Wasser gefüllt.

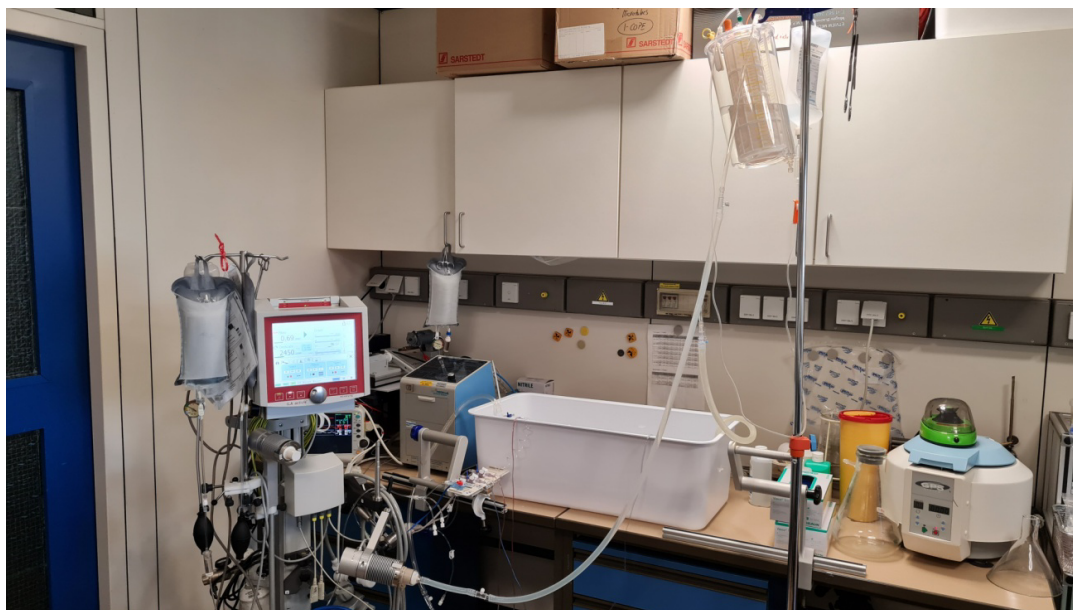


Abbildung 6: Kreislaufsystem. Auf der Abbildung befindet sich der aufgebaute Kreislauf, links ist die ECMO-Konsole mit einem integrierten Monitor sowie der Zentrifugalpumpe, in der Mitte befindet sich der Behälter mit den eingetauchten Prothesen, rechts oben das Wasserreservoir.

Zur Beobachtung der Parameter wurden eine Druckmessung sowie eine Flussmessung eingerichtet. Mittels Patientenmonitor (Marquette Dash 3000, Fa. GE Medical Systems) wurde eine Druckmessung vor der eingebauten Omniflow-II-Prothese und in der Umleitung eingesetzt (Abbildung 7).

Die Kontrolldruckmessung, eingebaut vor dem zweiten Teil der Omniflow-II-Prothese, und die Messung des Volumenstroms erfolgten durch den Flusssensor der ECMO-Konsole.



Abbildung 7: Monitor zur Drucküberwachung. Die Abbildung zeigt einen pulsatilen Fluss mit einer Frequenz von 65/min. Die rote Linie stellt den Druck vor den Prothesen und die weiße Linie den Druck in der Umleitung bei geklemmten Prothesen dar.

Um die physiologischen Verhältnisse des menschlichen peripheren Kreislaufes zu spiegeln, wurden verschiedene Einstellungen der Zentrifugalpumpe mittels ECMO-Konsole sowie durch Bestimmung der Höhe des Wasserreservoirs vorgenommen. Die Einstellungen bei den Messungen waren wie folgt: Umdrehungen ca. 2500 pro Minute und Frequenz der Pulsatilität 65 pro Minute an der ECMO-Konsole. Das Wasserreservoir befand sich in Höhe von 72 cm von der Prothese, die dem Druckmesspunkt entspricht, womit der statische Druck erzielt werden konnte. Dadurch konnte ein pulsatiler Fluss von 710 ml/min bei einem pulsatilen Druck von ca. 120/80 mmHg erzeugt werden (Abbildung 8).

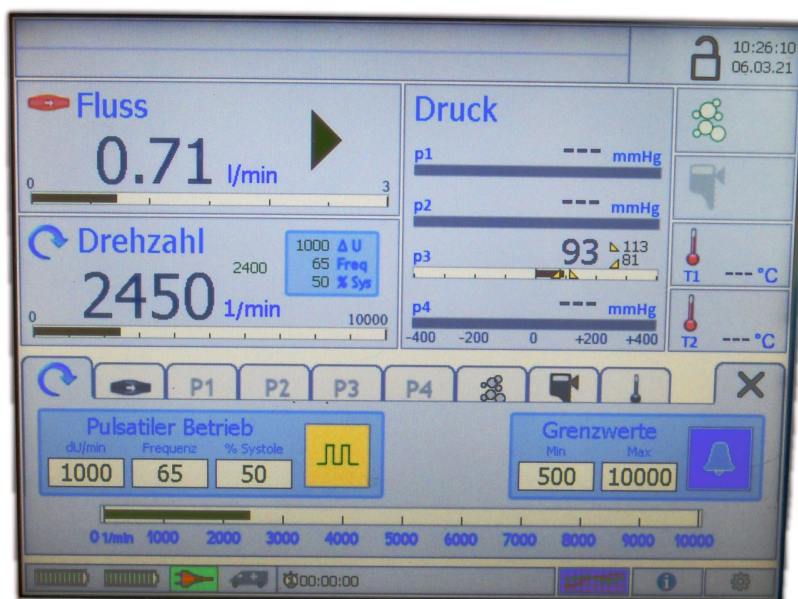


Abbildung 8: Monitor der ECMO-Konsole. Bei einer Drehzahl von ca. 2500/min wurde im pulsatilen Betrieb mit einer Drehzahldifferenz von 2450 Umdrehungen ein Fluss von 710 ml/min erzeugt, was einem systemischen Druck von 113/81 mmHg entspricht. Die an der ECMO-Konsole dargestellte Druckmessung wurde vor der Prothese gemessen.

2.2 Verwendete biosynthetische Prothesen und deren Aufbereitung

Insgesamt wurden drei Omniflow-II-Prothesen (Fa. LeMaitre) mit einem Diameter von 6 mm und einer Länge von 65 cm in das Kreislaufsystem in drei Versuchsreihen eingebaut. Jede Prothese wurde nach Angaben des Herstellers mit Kochsalz- und Heparin-Lösung, sowie in der vorgeschriebenen Zeit aufbereitet. Anschließend wurde jede Prothese mittig geteilt und in 1,5 cm langen Abschnitten (Klemmebene) markiert. Beide Teile der Prothese wurden durch einen Y-Konnektor in das Kreislaufsystem zwischen der Zentrifugalpumpe und dem Wasserreservoir eingebaut und beide Enden jeweils mit 2-0 Vicryl-Ligaturen befestigt (Abbildung 9). Somit konnten parallel zwei Klemmtypen untersucht werden. Zu den integrierten Prothesen wurde parallel eine Umleitung eingefügt, um eine Zirkulation des Kreislaufes während der Klemmphase der Prothesen zu ermöglichen. Der eingestellte Fluss von 710 ml/min verteilte sich somit auf drei Bahnen, was einem Fluss von ca. 236 ml/min pro Prothese entspricht.

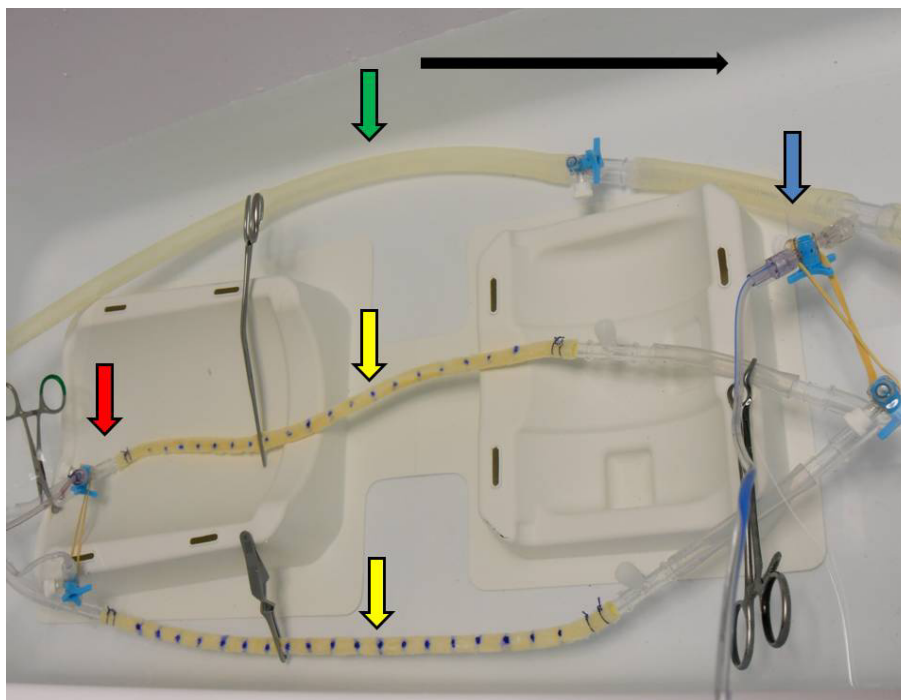


Abbildung 9: Kreislauf mit integrierten geklemmten Omniflow-II-Prothesen. Im Flüssigkeitsbehälter sind zwei in regelmäßigen Abständen markierte, geklemmte Omniflow-II-Prothesen (gelber Pfeil) und eine Umleitung (grüner Pfeil) zu sehen. Ein Druckmesspunkt befindet sich vor den Klemmen (roter Pfeil) – und der zweite hinter der Umleitung (blauer Pfeil). Die Flussrichtung ist mit einem schwarzen Pfeil markiert.

2.3 Klemmentypen

Zur Verwendung kamen verschiedene Klemmprofile: die meist verbreitete Gefäßklemme nach DeBakey, sowie die Prothesenklemme nach Fogarty und zur Kontrolle eine Pean-Klemme und eine Cooley-Klemme.

Die DeBakey-Klemme (Abbildung 10) gehört zu den atraumatischen Klemmen in der Gefäßchirurgie und ist durch gegeneinander versetzte Längsübergänge mit zarten queren Einkerbungen gekennzeichnet.



Abbildung 10: Klemme nach DeBakey. Doppelte Verzahnung einer atraumatischen Fläche.

Die Maulfläche einer Gefäßklemme nach Cooley wird mit Doppelverzahnung hergestellt. Die Anordnung der Zähne ermöglicht, dass das Gewebe oder die Organe bei einem Eingriff möglichst wenig verletzt werden. Somit gehört diese Klemme ebenfalls zu atraumatischen Klemmen (Abbildung 11).

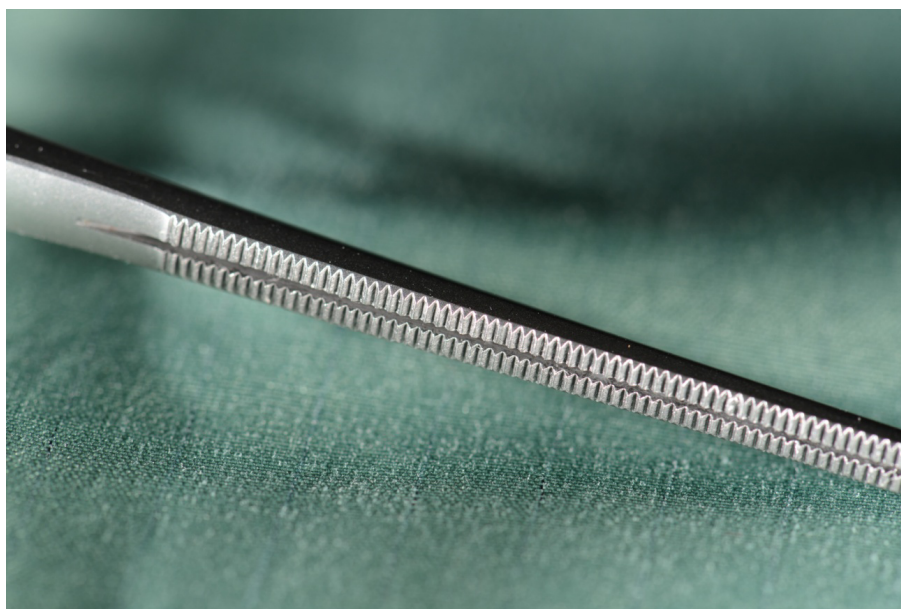


Abbildung 11: Klemme nach Cooley. Deutlich kräftigere Doppelverzahnung der Klemmbranchen im Vergleich zur Klemme nach DeBakey.

In vorliegendem Experiment wurden die Softjaw-Aufsätze für die Fogarty-Klemme (CV5020, Fa. Edwards) als Einwegmaterial benutzt. Die Klemmeneinsätze bestehen aus medizinischem Silikon (Abbildung 12).

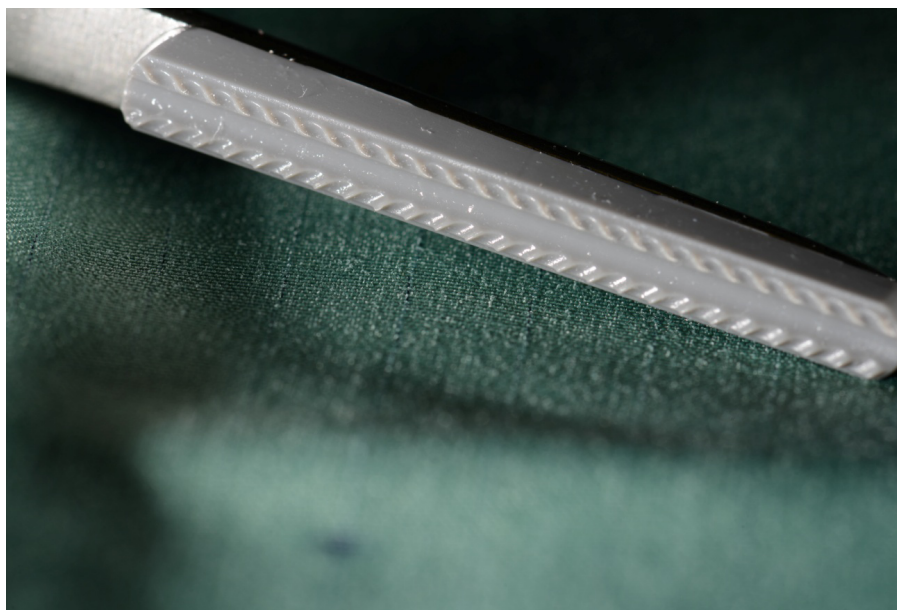


Abbildung 12: Klemme nach Fogarty. Der austauschbare Softjaw-Klemmeneinsatz aus medizinischem Silikon.

Die Pean-Klemme zeichnet sich durch querverlaufende Rillen an den Branchen aus. In vorliegendem Versuch wurde eine leicht gebogene Klemme verwendet (Abbildung 13).



Abbildung 13: Pean-Klemme. Traumatische querverlaufende Zahnung.

2.4 Protokoll der Versuchsreihe

Nach dem Protokoll wurden einzelne Klemmebenen abgearbeitet. Es wurden insgesamt 36 Testreihen pro Prothese in drei Zyklen (1-3) durchgeführt. Die Testreihen wurden durch vier Klemmentypen (A-DeBakey, B-Cooley, C-Fogarty, D-Anatomische Pean-Klemme)

durchgeführt. In der Gefäßchirurgie der UMG Göttingen wird die DeBakey-Klemme zur Klemmung eines nativen Gefäßes und die Fogarty-Klemme zur Klemmung einer alloplastischen Gefäßprothese regelmäßig eingesetzt. In diesem Experiment wurden zusätzlich eine traumatische Pean- und eine Cooley-Klemme als Referenzklemmen benutzt. Mit jeder Klemme wurden jeweils ein (1), zwei (2) und drei (3) Klemmvorgänge in 5-minütigen (X), 10-minütigen (Y) und 15-minütigen (Z) Abständen ausgeführt (Tabelle 1).

Tabelle 1: Beschreibung der Präparate. Die erste Zahl bezeichnet die Versuchsreihe (1-3). Der Buchstabe bezeichnet die Klemme (A-DeBakey, B-Cooley, C-Fogarty, D-Pean), die zweite Zahl bezeichnet die Anzahl von Klemmvorgängen (1-1x, 2-2x, 3-3x) und der zweite Buchstabe beschreibt die Klemmdauer (X-5 min, Y-10 min, Z-15 min).

1A1X	1B1X	1C1X	1D1X	2A1X	2B1X	2C1X	2D1X	3A1X	3B1X	3C1X	3D1X
1A2X	1B2X	1C2X	1D2X	2A2X	2B2X	2C2X	2D2X	3A2X	3B2X	3C2X	3D2X
1A3X	1B3X	1C3X	1D3X	2A3X	2B3X	2C3X	2D3X	3A3X	3B3X	3C3X	3D3X
1A1Y	1B1Y	1C1Y	1D1Y	2A1Y	2B1Y	2C1Y	2D1Y	3A1Y	3B1Y	3C1Y	3D1Y
1A2Y	1B2Y	1C2Y	1D2Y	2A2Y	2B2Y	2C2Y	2D2Y	3A2Y	3B2Y	3C2Y	3D2Y
1A3Y	1B3Y	1C3Y	1D3Y	2A3Y	2B3Y	2C3Y	2D3Y	3A3Y	3B3Y	3C3Y	3D3Y
1A1Z	1B1Z	1C1Z	1D1Z	2A1Z	2B1Z	2C1Z	2D1Z	3A1Z	3B1Z	3C1Z	3D1Z
1A2Z	1B2Z	1C2Z	1D2Z	2A2Z	2B2Z	2C2Z	2D2Z	3A2Z	3B2Z	3C2Z	3D2Z
1A3Z	1B3Z	1C3Z	1D3Z	2A3Z	2B3Z	2C3Z	2D3Z	3A3Z	3B3Z	3C3Z	3D3Z

Nach jeder Klemmreihe zirkulierte der Kreislauf für fünf Minuten. Nach Abarbeitung des Protokolls (Tabelle 2) wurden beide Teile der Prothese aus dem Kreislauf entnommen und an den markierten Stellen mit einer scharfen Schere zerteilt.

Tabelle 2: Protokoll. Jede Versuchsreihe wurde nach dem Protokoll abgearbeitet und die jeweiligen Präparate anschließend anhand der Tabelle gekennzeichnet.

Präparat	Zyklus	Klemmentyp	Klemmfrequenz	Klemmzeit
A1X	1-3	A	1 x	5 min
A2X	1-3	A	2 x	5 min
A3X	1-3	A	3 x	5 min
A1Y	1-3	A	1 x	10 min
A2Y	1-3	A	2 x	10 min
A3Y	1-3	A	3 x	10 min

Präparat	Zyklus	Klemmentyp	Klemmfrequenz	Klemmzeit
A1Z	1-3	A	1 x	15 min
A2Z	1-3	A	2 x	15 min
A3Z	1-3	A	3 x	15 min
B1X	1-3	B	1 x	5 min
B2X	1-3	B	2 x	5 min
B3X	1-3	B	3 x	5 min
B1Y	1-3	B	1 x	10 min
B2Y	1-3	B	2 x	10 min
B3Y	1-3	B	3 x	10 min
B1Z	1-3	B	1 x	15 min
B2Z	1-3	B	2 x	15 min
B3Z	1-3	B	3 x	15 min
C1X	1-3	C	1 x	5 min
C2X	1-3	C	2 x	5 min
C3X	1-3	C	3 x	5 min
C1Y	1-3	C	1 x	10 min
C2Y	1-3	C	2 x	10 min
C3Y	1-3	C	3 x	10 min
C1Z	1-3	C	1 x	15 min
C2Z	1-3	C	2 x	15 min
C3Z	1-3	C	3 x	15 min
D1X	1-3	D	1 x	5 min
D2X	1-3	D	2 x	5 min
D3X	1-3	D	3 x	5 min
D1Y	1-3	D	1 x	10 min
D2Y	1-3	D	2 x	10 min
D3Y	1-3	D	3 x	10 min
D1Z	1-3	D	1 x	15 min
D2Z	1-3	D	2 x	15 min
D3Z	1-3	D	3 x	15 min

Es wurden Fotos der makroskopischen Prothesenschäden der einzelnen Präparate hergestellt (Abbildung 14, Abbildung 15, Abbildung 16 und Abbildung 17). Hierzu wurden eine Vollformat-Spiegelreflexkamera Nikon D600 mit einem Makro-Objektiv (Nikkor 105 mm 1:2,8 G) und Blitzsystem sowie ein Kamerastativ verwendet.

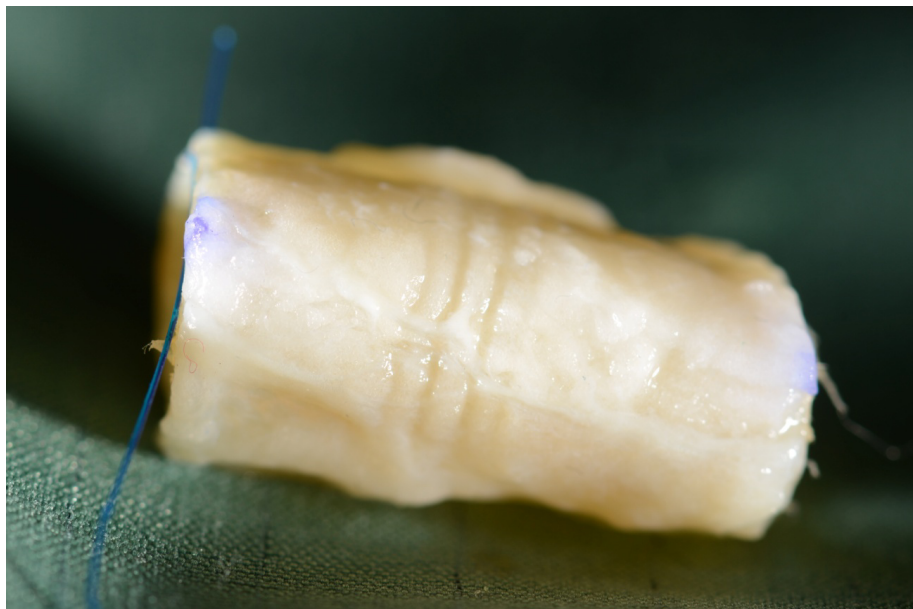


Abbildung 14: Makroskopischer Klemmabdruck einer DeBakey-Klemme. Zartes Muster einer Doppelverzahnung in der weichen Schicht der Omniflow-II-Prothese, Präparat A1Z.

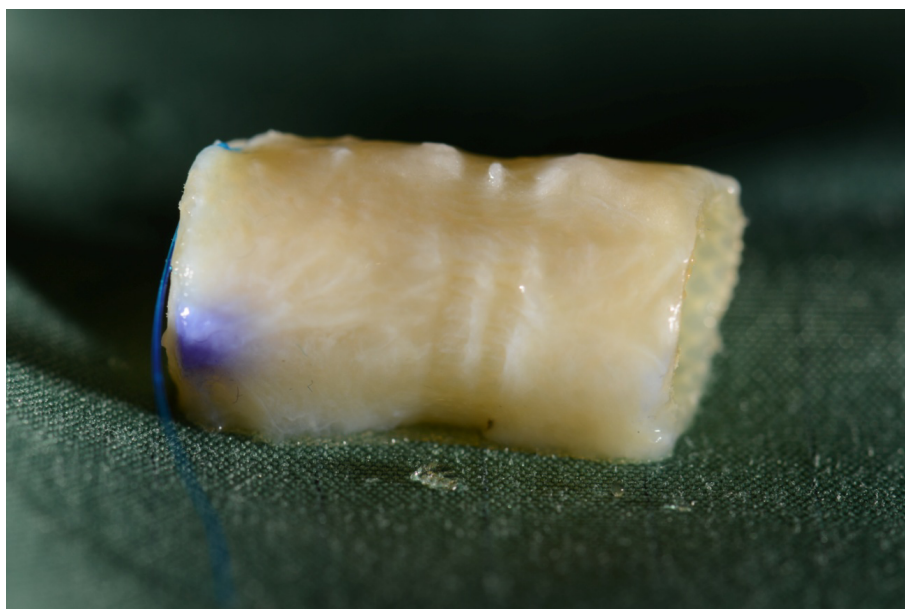


Abbildung 15: Makroskopischer Klemmabdruck einer Cooley-Klemme. Tiefe Kontusion der weichen Schicht der Omniflow-II-Prothese mit einem typischen Muster einer Cooley-Klemme, Präparat B2Z.



Abbildung 16: Makroskopischer Klemmabdruck einer Fogarty-Klemme. Auf der Omniflow-II-Prothese sichtbare Klemmabdrücke eines Softjaw-Klemmeinsatzes, Präparat C3Z.



Abbildung 17: Makroskopischer Klemmabdruck einer Pean-Klemme. Typisches Muster der querverlaufenden Rillen einer Pean-Klemme, Präparat D3Z.

Jedes einzelne Präparat wurde mit einem 5-0 Prolene-Faden markiert, um die Flussrichtung zu dokumentieren. Die Präparate wurden anschließend in einer 5%igen Phosphatgepufferten Formalin-Lösung getrennt aufbewahrt.

2.5 Histologische Arbeitsschritte

2.5.1 Anfertigung der histologischen Präparate

Spätestens 48 Stunden nach Abschluss der Versuchsreihe wurden die Präparate für etwa drei bis vier Stunden bewässert und mit einer scharfen Schere längs aufgeschnitten, sodass pro Klemmreihe zwei halbrunde Prothesenstreifen als Präparate entstanden sind. Das Einbetten erfolgte mittels Einbettautomat (Fa. Leica) für jeweils 1,5 Stunden in 50%igem, 70%igem, 80%igem, 2 x 96%igem, 2 x 100%igem Ethanol sowie zweimal in Chloroform und dreimal in Paraffin. Anschließend wurden die Präparate zu Blöcken gegossen und bei -20 °C auf der Kühlplatte (Fa. Leica) abgekühlt. Die gekühlten Blöcke wurden mit einem Schlittenmikrotom (Fa. Leica, SM 2000R) mit Mikrotom-Blades (S35, Fa. Feather) in Schichten von 1,5 µm geschnitten. Die Schnitte wurden in 45 °C warmen Wasser gestreckt und auf gereinigte Objektivträger (Fa. Menzel) aufgezogen.

2.5.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbung

2.5.2.1 Herstellung der Färbelösung

Die Herstellung der MAYER's-Hämalaun-Lösung erfolgte durch Zugabe von 1 g Hämatoxylin (Fa. Merck) in 750 ml zweifach destilliertes (bidestilliertes) Wasser. Zusätzlich wurden 0,2 g Na-Jodat (Fa. Merck), 50 g Kalialaun (Fa. Merck), 50 g Chloralhydrat (Fa. Merck) und 1 g Citronensäure (Fa. Merck) zugegeben und auf 1000 ml mit bidestilliertem Wasser aufgefüllt. Die Lösung wurde gefiltert und anschließend in einer dunklen Flasche gelagert. Die Eosin-Lösung wurde durch Lösen von 1 g Eosin G (Fa. Merck) in 100 ml bidestilliertem Wasser und Zugabe von einem Tropfen Eisessig hergestellt.

2.5.2.2 HE-Färbung der Präparate

Alle Präparate wurden durch Hämatoxylin-Eosin-Färbung (HE-Färbung) gefärbt. Der Färbeprozess begann mit Entfernen des Paraffins durch dreimaliges Untertauchen der Präparate in Xylol-Lösung für jeweils fünf Minuten. Die Rehydrierung der Proben erfolgte durch Untertauchen in eine absteigende Alkoholreihe von 96 %, 70 %, 50 %, 30 % für jeweils vier Minuten. Anschließend wurden die Proben für vier Minuten in das bidestillierte

Wasser getaucht und zweimalig für jeweils zwei Minuten mit der Hämalaun-Lösung gefärbt. Hiermit erfolgte die dunkle Verfärbung der Zellkerne durch Bindung des Hämatoxylins mit Aluminiumionen, wobei eine selektive Kernfärbung durch die Azidität der Färbelösung und einen Überschuss an Alaun entstanden ist. Die überschüssige Hämalaun-Lösung wurde durch das vierminütige Ausspülen mit lauwarmem mineralisiertem Leitungswasser und durch zweiminütiges Untertauchen in frischem bidestilliertem Wasser entfernt. Durch zweimaliges Untertauchen für jeweils drei Minuten in die 1%ige Eosin-Lösung wurden Zytoplasma, Kollagen und Keratin durch den Xanthen-Farbstoff gefärbt. Zur Dehydrierung wurden die Proben in folgender Reihenfolge in eine aufsteigende Ethanol-Konzentration: zweimal in das 96%ige Ethanol für jeweils drei Minuten und zweimal in das 100%ige Ethanol für jeweils drei Minuten. Nachfolgend wurden alle Präparate viermal für jeweils vier Minuten in die Xylol-Lösung getaucht und mit Deckgläsern (25 x 25 mm, Fa. Merck) sowie einem Tropfen Histokit eingedeckt.

2.5.3 Mikroskopische Untersuchung und Auswertung

Die mikroskopische Untersuchung aller Präparate erfolgte mit Hilfe des Fluoreszenzmikroskops (Zeiss Axio Imager Z1) in 2,5-facher, 10-facher und 20-facher Vergrößerung. Die zur Auswertung benötigte Bildbearbeitung und Bilddokumentation (Abbildung 18 bis Abbildung 21) geschahen durch das Programm AxioVision Rel 4.6. Die statistischen Analysen wurden im SPSS-Programm mit Hilfe von Prof. Dr. Pascal Klein aus der Fakultät für Physik der Georg-August-Universität Göttingen durchgeführt.

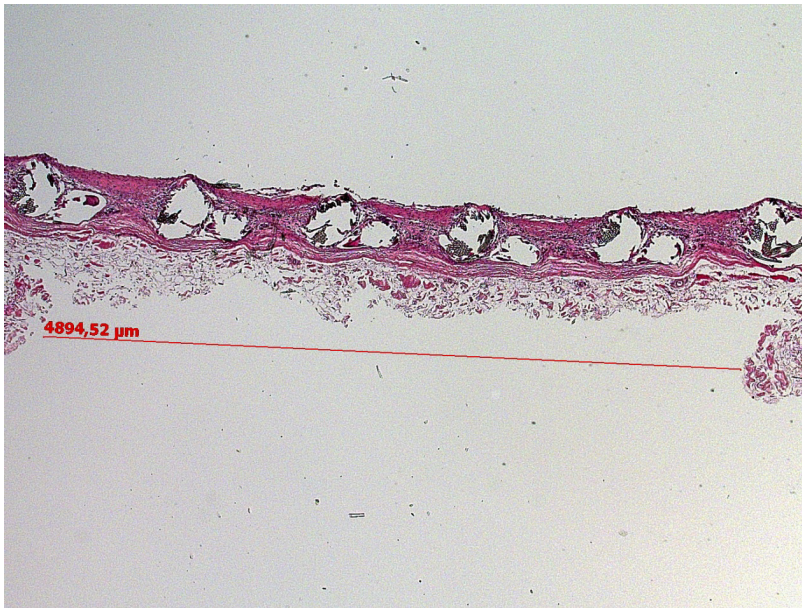


Abbildung 18: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer DeBakey-Klemme an der Omniflow-II-Prothese. Dieses Präparat kommt aus der zweiten Versuchsreihe, wurde einmalig für 5 min mit einer DeBakey-Klemme geklemmt, HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung, Präparat A1X.

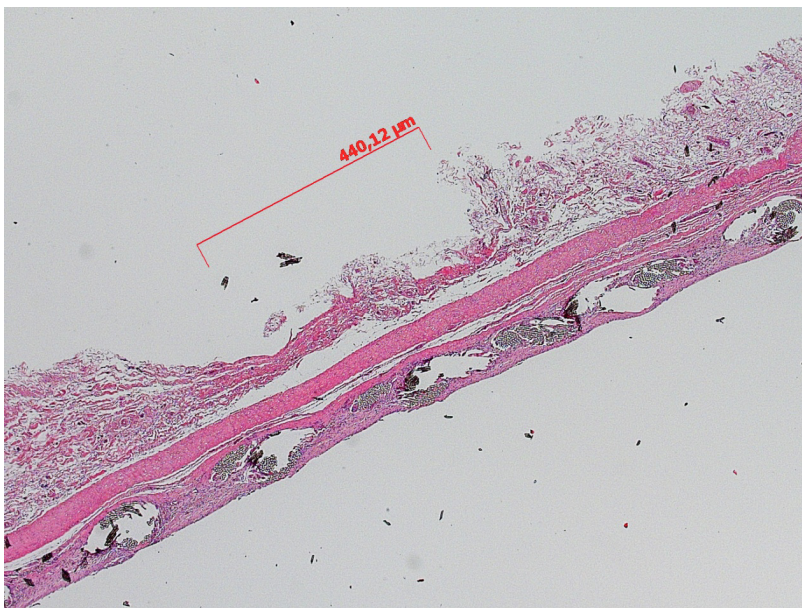


Abbildung 19: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer Cooley-Klemme an der Omniflow-II-Prothese. Das Präparat kommt aus der zweiten Versuchsreihe und wurde zweimal für 15 min mit einer Cooley-Klemme geklemmt, HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung, Präparat B2Z.

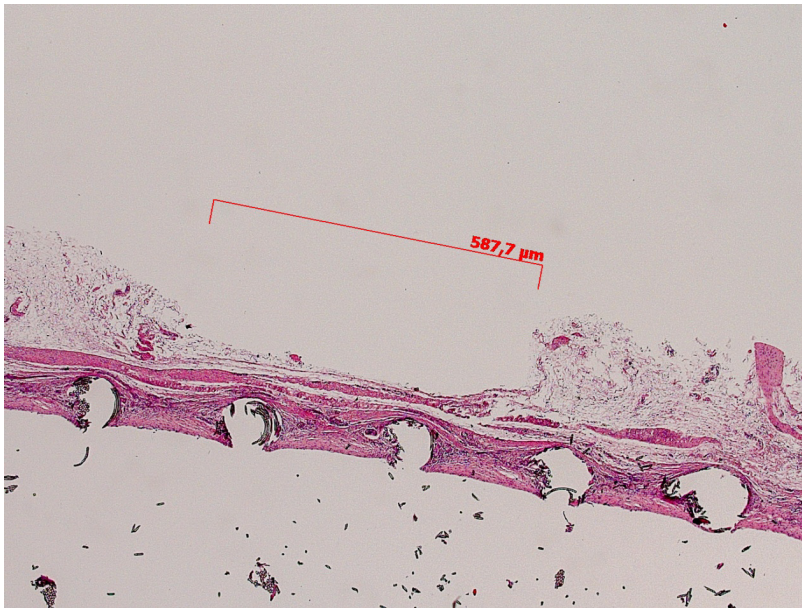


Abbildung 20: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer Fogarty-Klemme an der Omniflow-II-Prothese. Das Präparat kommt aus der zweiten Versuchsreihe und wurde zweimal für 5 min geklemmt, HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung, Präparat C2X.

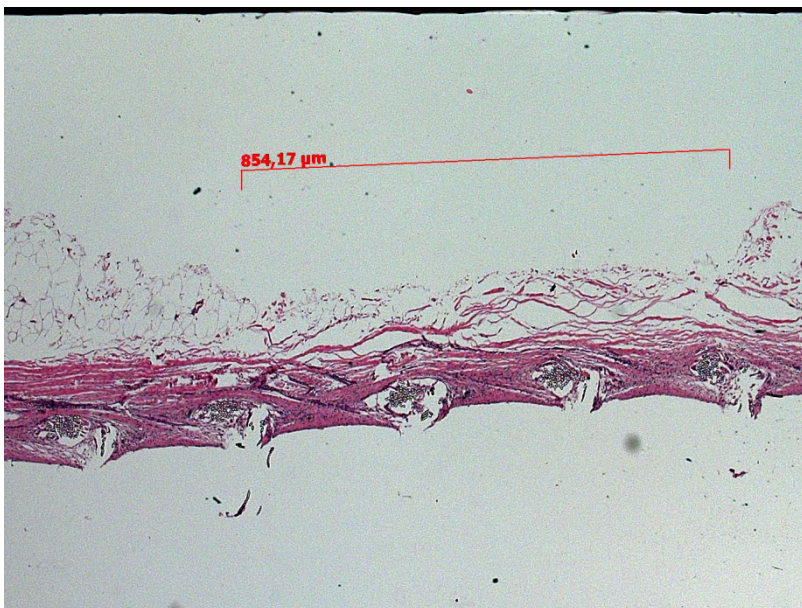


Abbildung 21: Histologisches Präparat des Klemmabdrucks einer Pean-Klemme an der Omniflow-II-Prothese. Aus der zweiten Versuchsreihe mit zweimaliger Klemmung für 5 min mit einer Pean-Klemme. Zusätzlich eindeutig sichtbare Delaminierung der Kollagenschicht, HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung, Präparat D2X.

2.5.4 Qualitative Analyse

2.5.4.1 Zonale Einteilung

Um eine blinde Untersuchung zu ermöglichen, wurden alle Präparate durch eine zweite Person umbenannt und anschließend durch meine Person zweimal untersucht, ohne zu wissen, welches Präparat zu welcher Klemme und welchem Klemmverfahren gehört. Für die Auswertung wurden alle histologischen Präparate in drei Zonen eingeteilt und einzeln bewertet (Abbildung 22). Die äußerste Schicht, in der die meisten Veränderungen zu sehen waren, wurde als Zone A bezeichnet. Die mittlere Schicht, die am meisten Kollagen erhält und in der die Polyesterfasern verlaufen, wurde als Zone B bezeichnet. Die Zone C ist die innerste und dünnste Schicht, die nach Implantation der Prothese einen direkten Kontakt zum Blutfluss hat. Die mikroskopische Untersuchung fokussierte sich auf das Zentrum des Präparates – auf das Klemmareal.

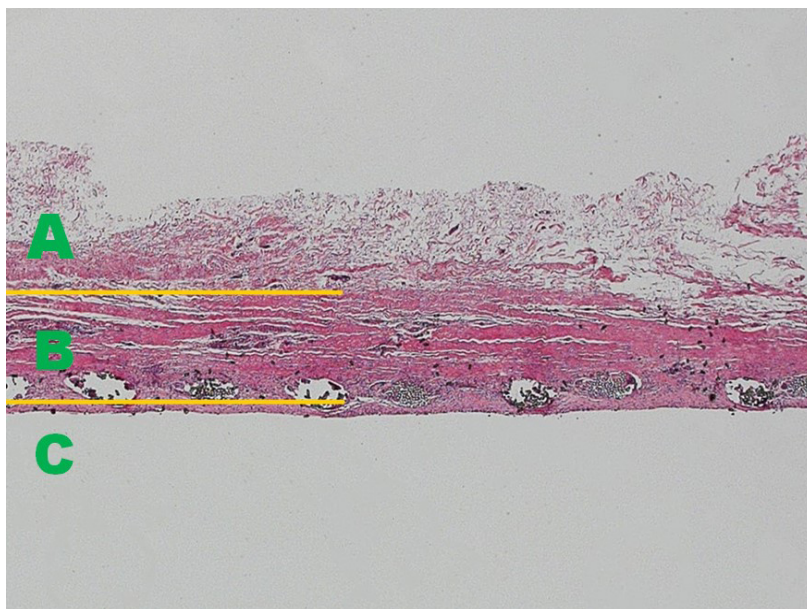


Abbildung 22: Zonale Einteilung des Präparates. A - äußere Zone, B - mittlere Zone, C - innere Zone.

2.5.4.2 Mikroskopische Untersuchung

Die Beurteilung der Präparate erfolgte ähnlich wie in der Dissertationsarbeit von Frau Lenz (2017). Jede Zone des Präparates wurde einzeln bewertet. Es wurde zwischen keiner Schädigung (Punktzahl: 0; Abbildung 23), leichter Schädigung (Punktzahl: 1; Abbildung 24), milder Schädigung (Punktzahl: 2; Abbildung 25) und starker Schädigung (Punktzahl: 3; Abbildung 26) der jeweiligen Schicht im Vergleich zum nichtgeklemmten Gewebe unterschieden, um eine statistische Auswertung zu ermöglichen. Ein Präparat konnte

maximal neun Punkte bei starker Schädigung in allen drei Schichten erhalten. Bei keiner beobachteten Schädigung in allen drei Zonen war die Punktzahl null.

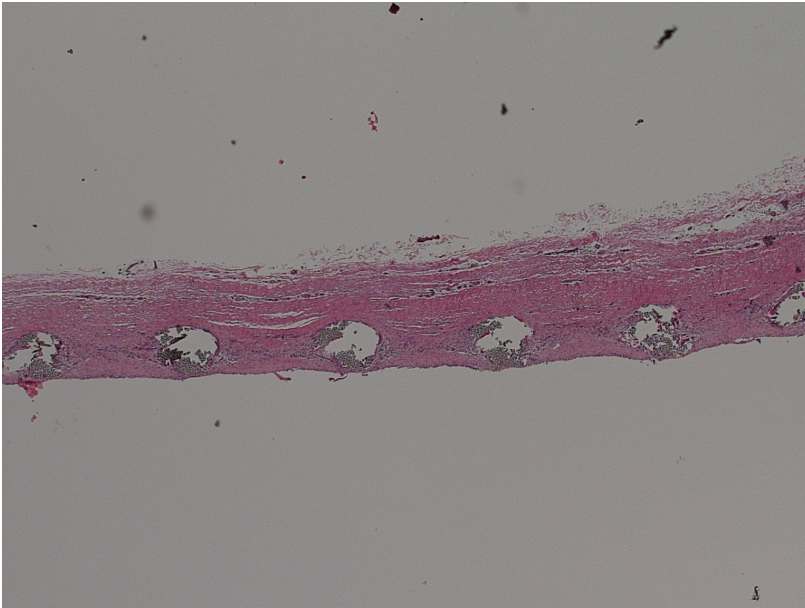


Abbildung 23: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese ohne eine mikroskopisch erkennbare Klemmschädigung. Die gesamte Punktzahl für das Präparat ist 0. HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung.

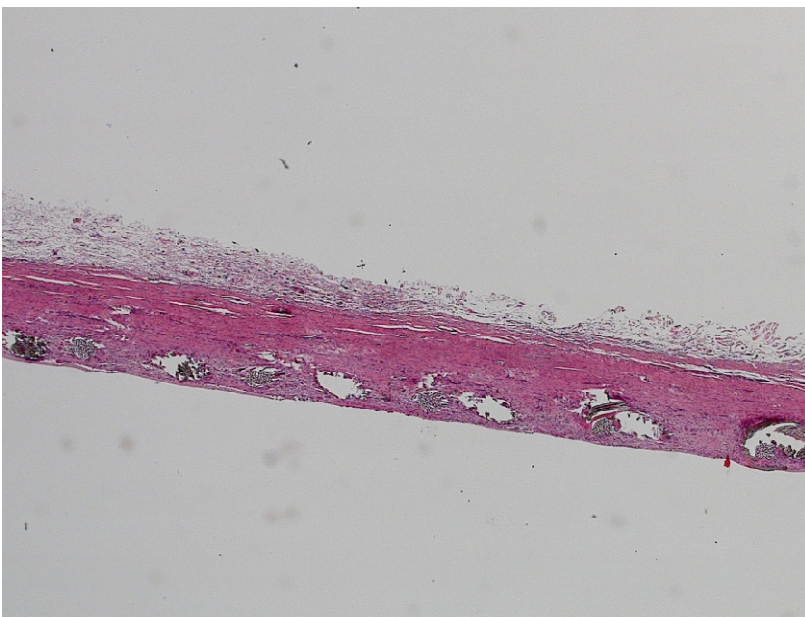


Abbildung 24: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese mit einer leichten Schädigung der äußeren Zone. Die gesamte Punktzahl für das Präparat ist 1. HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung.

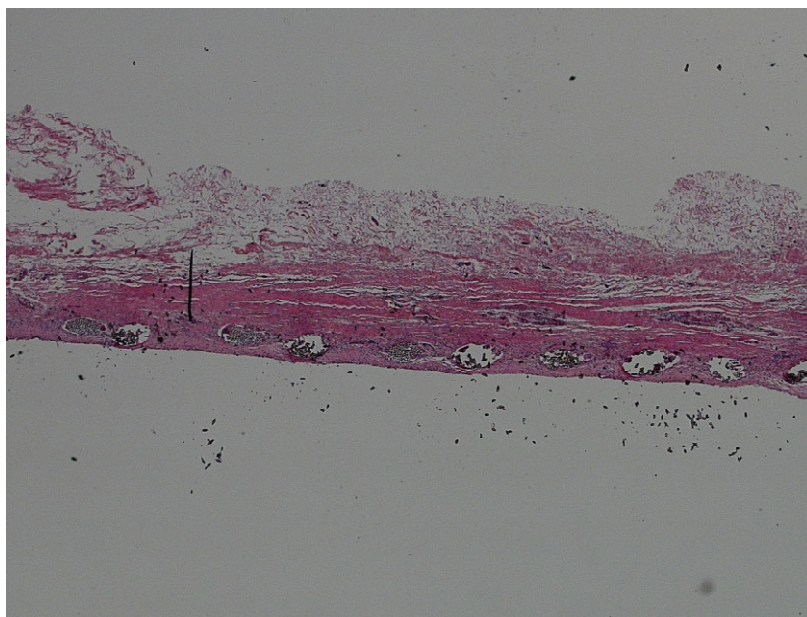


Abbildung 25: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese mit einer milden Schädigung der äußeren Zone. Die gesamte Punktzahl für das Präparat ist 2. HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung.

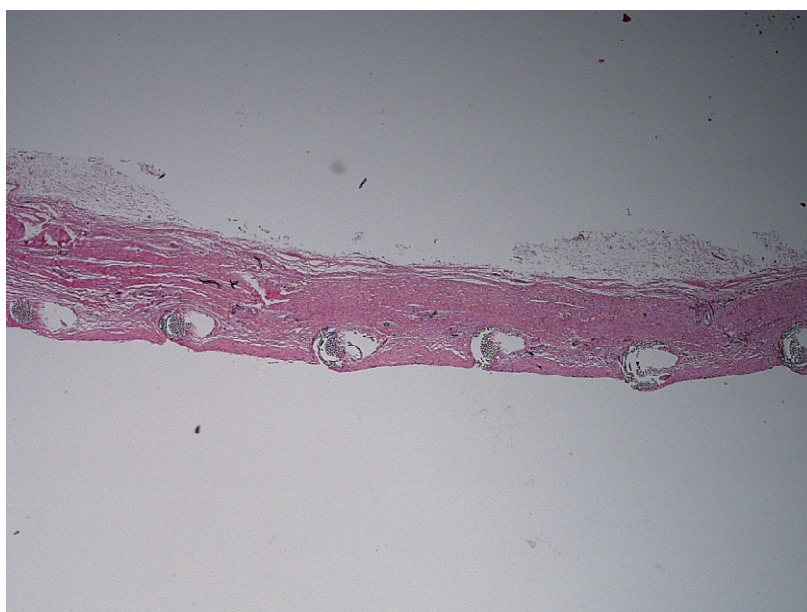


Abbildung 26: Histologisches Präparat der Omniflow-II-Prothese mit einer starken Schädigung der äußeren und einer leichten Schädigung der mittleren Zone. Die gesamte Punktzahl für das Präparat ist 4. HE-Färbung, 2,5-fache Vergrößerung

2.5.4.3 Statistische Analyse

Die Analyse der Daten erfolgte blind unter Pseudonymisierung der Klemmentypen (A, B, C, D). Durch diese Art der „Blindanalyse“ können Verzerrungen der Ergebnisse durch den Versuchsleiter ausgeschlossen werden.

Die erfasste Punktzahl nach Untersuchung aller Präparate wurde mithilfe des Programms SPSS statistisch ausgewertet. Ziel der Auswertung war es, herauszufinden, ob die Unterschiede zwischen dem Klemmschaden durch die untersuchten Klemmen DeBakey, Cooley, Fogarty und Pean statistisch signifikant waren. Die Variable „Summe“ ist ordinalskaliert und basiert auf den Beurteilungen der Gefäßschädigungen in den histologischen Präparaten nach Augenschein. Deshalb wird eine Analyse gemäß dem nichtparametrischen Kruskal-Wallis-Test durchgeführt, der für den Vergleich von mehreren (hier: 4) unabhängigen Variablen (in diesem Fall: Gefäßklemmen) geeignet ist.

Im Gegensatz zu den quantitativen Messwerten liegen hier keine messwiederholten Datensätze vor (ohne und mit Klemme), sondern es wurde die Beschädigung direkt beurteilt.

Ein p-Wert $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant gewertet.

2.5.5 Quantitative Analyse

2.5.5.1 Mikroskopische Untersuchung

Alle histologischen Präparate wurden mikroskopisch untersucht und in 2,5-facher Vergrößerung mittels dem Programm AxioVision Rel 4.6 verarbeitet, wobei folgende Schichten gemessen wurden (μm) (Abbildung 27):

- a. Gesamtschicht – Gesamtbreite im nicht geklemmten Bereich
- b. Gesamtschicht geklemmt – Gesamtbreite im geklemmten Bereich
- c. Außenschicht – Breite der Außenschicht im nicht geklemmten Bereich
- d. Außenschicht geklemmt – Breite der Außenschicht im geklemmten Bereich
- e. mittlere Schicht – Breite der Mittelschicht im nicht geklemmten Bereich
- f. mittlere Schicht geklemmt – Breite der Mittelschicht im geklemmten Bereich

Die äußere Schicht wurde auch als Adventitia und die mittlere und innere Schicht als Media bezeichnet. Zusätzlich wurde das Auftreten einer Auflockerung der mittleren Kollagenschicht in den mikroskopischen Untersuchungen beobachtet (Abbildung 21). Nach aktueller Recherche sind bisher keine histologischen Untersuchungen einer Omniflow-II-Prothese nach einem Klemmanöver bekannt, daher wird dieses Phänomen in dieser Arbeit als Delaminierung definiert. Ein Auftreten von sogenannten Delaminierungen in der Kollagenschicht der Prothese bei mikroskopischer Untersuchung wurde als anwesend (1) oder nicht anwesend (0) dokumentiert.

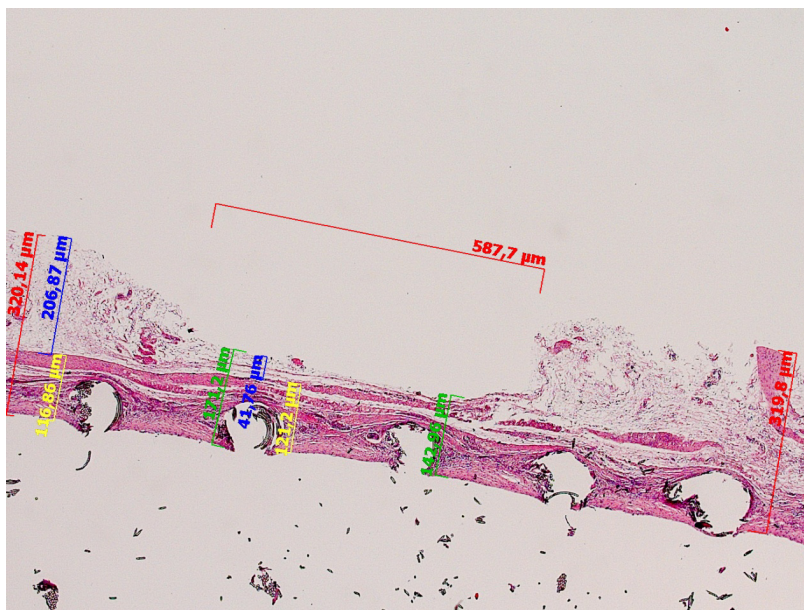


Abbildung 27: Histologisches Präparat mit farblich markierter Messungsauswertung. Rot horizontal - Breite des Klemmabdruckes, rot vertikal - Gesamtschicht im nicht geklemmten Bereich, grün - Gesamtschicht im geklemmten Bereich, blau links - Außenschicht im nicht geklemmten Bereich, blau mittig - Außenschicht im geklemmten Bereich, gelb links - Mittelschicht im nicht geklemmten Bereich, gelb mittig - Mittelschicht im geklemmten Bereich

2.5.5.2 Statistische Analyse

Ziel der Untersuchung war es zum einen, herauszufinden, wie groß der Einfluss unterschiedlicher Gefäßklemmen (DeBakey-, Cooley-, Fogarty- und Pean-Klemme) auf die Verletzung der Kollagenmatrix biosynthetischer Gefäßprothesen ist. Die Reduktion der Schichtdicke des geklemmten Bereichs im Vergleich zum nicht geklemmten Bereich des histologischen Präparates wurde als Kontusion definiert. Die Verletzung wurde anhand folgender Indikatoren beurteilt:

- a. Kontusion der Gesamtschicht
- b. Kontusion der Außenschicht
- c. Kontusion der inneren Schicht
- d. Auftreten von Delaminierungen.

Zum anderen sollte beantwortet werden, wie groß der Einfluss unterschiedlicher Klemmfrequenzen (1 x, 2 x, 3 x) und verschiedener Klemmdauern (5 min, 10 min, 15 min) auf die Verletzung der Kollagenmatrix bei den einzelnen Typen von Gefäßklemmen (A-DeBakey-, B-Cooley-, C-Fogarty- und D-Pean-Klemme) ist.

Die unabhängigen Variablen der Untersuchung waren die folgenden:

- a. Klemmtyp (A, B, C, D) als Gruppenfaktor mit 4 Abstufungen
- b. Klemmfrequenz (1, 2, 3) als Gruppenfaktor mit 3 Abstufungen

c. Klemmdauer (5 min, 10 min, 15 min) als Gruppenfaktor mit 3 Abstufungen.

Die abhängigen Variablen treten paarweise auf, da sie vor und nach dem Klemmanöver (im Folgenden: die Intervention) gemessen wurden. Die abhängige Variable „Delaminierung“ tritt nur einfach gemessen auf.

Für das statistische Modell wurde eine Varianzanalyse mit drei Untersuchungsgruppen und messwiederholter abhängiger Variable verwendet (Rasch et al. 2021).

Für jedes Paar abhängiger Variablen wurde eine messwiederholte Varianzanalyse durchgeführt. Insgesamt gibt es vier Paare messwiederholter Variablen (Kontusion der Gesamtschicht, Kontusion der Außenschicht, Kontusion der inneren Schicht gemessen und berechnet).

Dafür wurde zunächst die Korrelation zwischen den messwiederholten Variablen als notwendige Voraussetzung für die Analyse durch Zusammenhangsanalysen geprüft sowie die Normalverteilung der Variablen untersucht (Rasch et al. 2014).

Anschließend wurde ein 4x3x3-ANOVA-rm(2)-Modell für eine Zeitreihenanalyse definiert. Die Ziffern links des Ausdrucks beziehen sich auf die unabhängigen (Gruppenvariablen) der *Analysis of Variance* mit der Anzahl der Faktorstufen, die rechte Ziffer bezieht sich auf die Stufen der Messwiederholung (2); „rm“ steht für *repeated measures*.

Für die Delaminierung wurde eine univariate Varianzanalyse durchgeführt, also 4x3x3 ANOVA (ohne rm).

3 Ergebnisse

3.1 Makroskopische Beurteilung des Klemmmusters

3.1.1 Histologischer Befund

In den HE-Präparaten konnten eindeutige Veränderungen des Gewebes durch die Einwirkung von Klemmen beobachtet werden. Besonders in der äußeren Schicht wurde eine deutliche Abnahme der Gewebedicke durch das Abklemmen nachgewiesen. In den mittleren Schichten ließen sich sogenannte Delaminierungen durch Auflockerung der Kollagenschicht bei scharfen Klemmen nach Cooley und nach Pean belegen. Die innere Schicht ist nur selten durch das Klemmverfahren beschädigt worden. Die Polyesterfasern, die als Stabilisierungsnetz der Prothese dienen, wurden durch die Herstellung der Präparate häufig beschädigt, sodass deren Beurteilung nicht möglich war. Einerseits konnte es durch Gießen des heißen Paraffins zu einer Dehnung und anschließender Kürzung des Polyesterkunststoffes kommen, andererseits wurden die Polyesterfasern durch Schneiden mit dem Mikrotom eher ausgerissen. Als geeignete Methode zur Untersuchung des Polyesternetzes hat sich die Kunststoffeinbettung erwiesen, jedoch war diese Methode aus technischen Gründen nicht zugänglich.

3.1.1.1 DeBakey-Klemme

Durch die Klemmung mit einer DeBakey-Klemme waren Veränderungen vor allem in der äußersten Schicht der Prothese (Zone A) nachweisbar. Hier zeigten sich die Schäden durch die Klemmung als von der Klemmzeit und der Klemmfrequenz unabhängig.

3.1.1.2 Cooley-Klemme

In diesen Präparaten wurden ausgeprägte Kontusionen nicht nur in der äußeren Schicht der Prothese, sondern auch in den mittleren und inneren Schichten deutlich. Eine Delaminierung der Kollagenmatrix in der Zone B war in vielen Präparaten nachweisbar. Auch hier konnte keine Abhängigkeit zwischen Klemmschaden und Klemmfrequenz bzw. Klemmzeit beobachtet werden.

3.1.1.3 Fogarty-Klemme

Durch das Fogarty-Klemmmuster wurden am wenigsten Veränderungen der Präparate beobachtet. Die innere Schicht der Prothese blieb intakt. In der mittleren Schicht wurde nur eine minimale Umformung der Kollagenmatrix nachgewiesen. Auch hier konnte kein Zusammenhang zwischen Klemme und Klemmfrequenz oder Klemmzeit nachgewiesen werden.

3.1.1.4 Pean-Klemme

Ähnlich wie bei der Cooley-Klemme wurden auch in dieser Gruppe deutliche Schäden der Präparate durch Klemmung beobachtet. In allen drei Schichten ließen sich Kontusionen bis zum Ablösen des Gewebes belegen. Da die Schäden große Ausmaße erreicht haben, konnte man auch hier keinen Zusammenhang zwischen Klemme und Klemmfrequenz bzw. Klemmzeit beweisen.

3.2 Qualitative Analyse

Ziel der statistischen Analysen war es, herauszufinden, ob ein signifikanter Unterschied zwischen den jeweiligen Klemmentypen besteht. Die Normalverteilung der Messvariablen war unauffällig. Das entsprechende Normalverteilungsdiagramm (Abbildung 28) ist leicht linksschief, zeigt dennoch eine genügend große Streubreite, einen kontinuierlichen Verlauf und keine nennenswerten Ausreißer an.

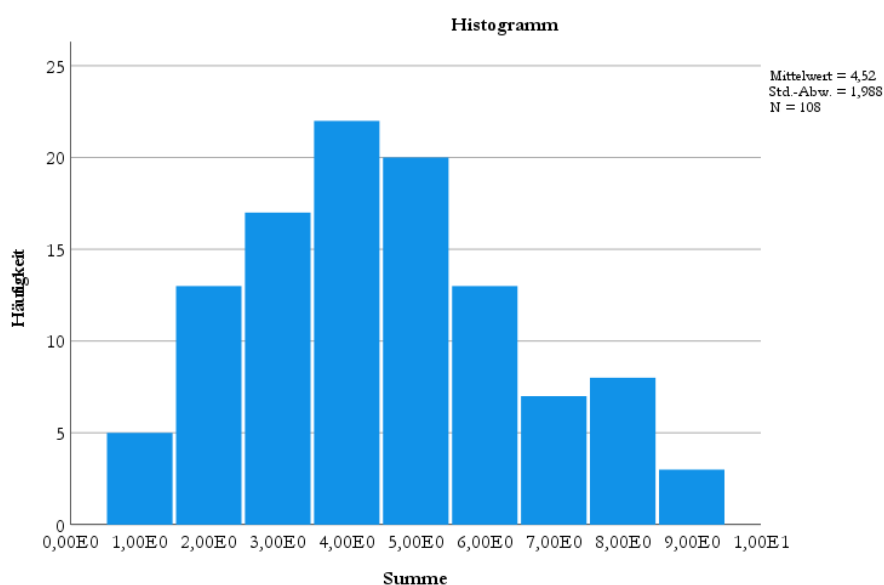


Abbildung 28: Häufigkeitsverteilung der erreichten Summenwerte nach semiquantitativem Beurteilungsschema. Die vergebenen Summenwerte sind annähernd normalverteilt um $(4,52 \pm 1,00)$.

Der Kruskal-Wallis Test für unabhängige Stichproben ergibt ein signifikantes Ergebnis beim Vergleich der Klemmentypen bezüglich der Beurteilungssumme, $H(3) = 45,5$, $p < 0,001$ ($N = 108$). Wie die Boxplots in Abbildung 29 zeigen, bestätigt diese Analyse prinzipiell die Ergebnisse aus der Analyse der quantitativen Messdaten: Die Pean-Klemme ist die schädlichste und die Fogarty-Klemme die schonendste der verglichenen Klemmen.

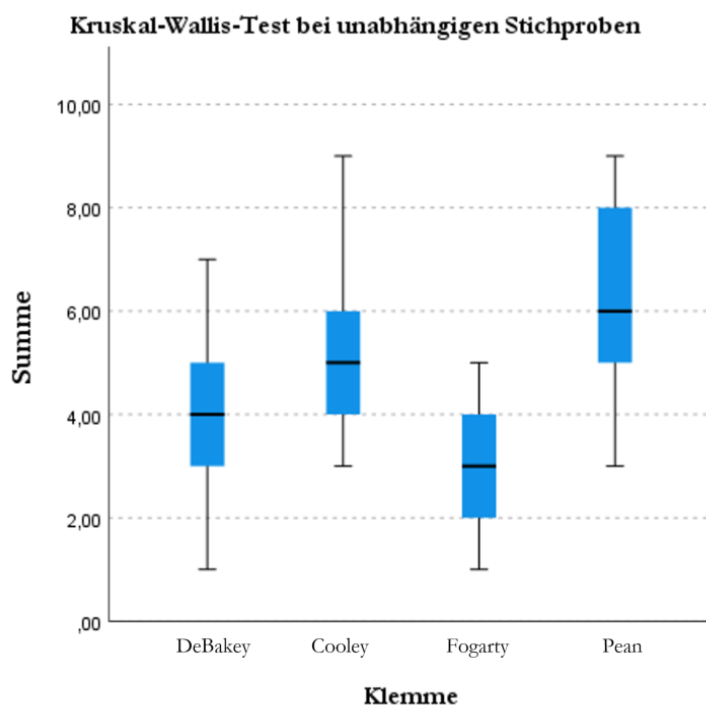


Abbildung 29: Nichtparametrischer Vergleich der semiquantitativen Beurteilungsdaten. Dargestellt sind die erreichten Summenwerte, die sich aus drei Beobachtungen ergeben. Hohe Summen bedeuten große Schädigungen, niedrige Summen geringe Schädigungen.

Die Ergebnisse der paarweisen Post-hoc-Tests sind in Tabelle 3 dargestellt. Aufgrund der multiplen Vergleiche wird eine Bonferroni-Korrektur der p -Werte durchgeführt. Dabei handelt es sich um eine konservative Korrektur des Signifikanzniveaus, um der Inflation des Alpha-Fehlers entgegenzuwirken. Man legt folglich ein strengeres Prüfkriterium fest. Nach dieser Analyse werden drei Vergleichspaare signifikant: Die Fogarty-Klemme ist schonender als die Cooley-Klemme, die Fogarty-Klemme ist schonender als die Pean-Klemme und die DeBakey-Klemme ist schonender als die Pean-Klemme. Zwischen DeBakey und Cooley existiert eine Tendenz dahingehend, dass die DeBakey-Klemme schonender ist. Kein statistisch signifikanter Unterschied zeigte sich zwischen Cooley- und Pean-Klemme, diese beiden Klemmen verursachten den größten Schaden an den Gefäßprothesen.

Tabelle 3: Statistische Ergebnisse aus den paarweisen Post-hoc-Tests nach Kruskal-Wallis für die Beurteilungssumme.

Sample 1-Sample 2	Teststatistik	Standardfehler	Standardteststatistik	Sig.	Anp. Sig.^a
Fogarty – DeBakey	19,815	8,426	2,352	,019	,112
Fogarty – Cooley	40,759	8,426	4,837	,000	,000
Fogarty – Pean	-52,537	8,426	-6,235	,000	,000
DeBakey – Cooley	-20,944	8,426	-2,486	,013	,078
DeBakey – Pean	-32,722	8,426	-3,883	,000	,001
Cooley – Pean	-11,778	8,426	-1,398	,162	,973

Bemerkungen: Jede Zeile prüft die Nullhypothese, dass die Verteilungen in Stichprobe 1 und Stichprobe 2 gleich sind. Asymptotische Signifikanzen (zweiseitige Tests) werden angezeigt. Das Signifikanzniveau ist $p = 0,050$.

a. Signifikanzwerte werden von der Bonferroni-Korrektur für mehrere Tests angepasst.

3.3 Quantitative Analyse

Die Tests auf Normalverteilung der Messvariablen waren mit einer Ausnahme unauffällig (Adventitia mit Klemme) (Tabelle 5 und Abbildung 33). Das entsprechende Normalverteilungsdiagramm ist leicht linksschief, zeigt dennoch eine genügend große Streubreite, einen kontinuierlichen Verlauf und keine nennenswerten Ausreißer. Ergänzend sind die Normalverteilungsdiagramme aller gemessenen und berechneten Größen aufgeführt (Abbildung 30 bis Abbildung 35). Die Verteilungsdiagramme der gemessenen und der berechneten Innenschicht (Media) sind sehr ähnlich. Die Korrelation der gemessenen und der berechneten Werte ist entsprechend hoch (Tabelle 4).

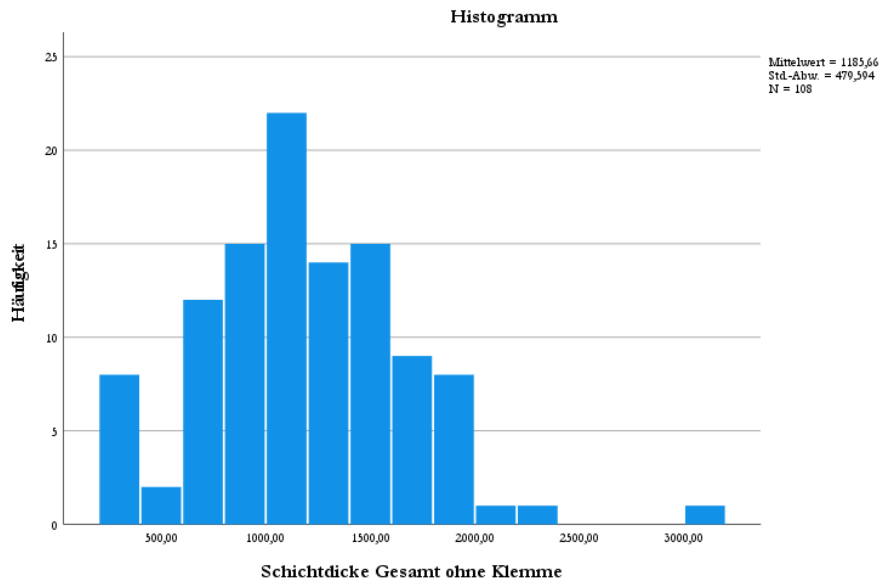


Abbildung 30: Häufigkeitsverteilung der Gesamtschichtdicke (ohne Klemme). Die gemessenen Schichtdicken (Angabe in μm) sind annähernd normalverteilt um $(1185 \pm 480) \mu\text{m}$.

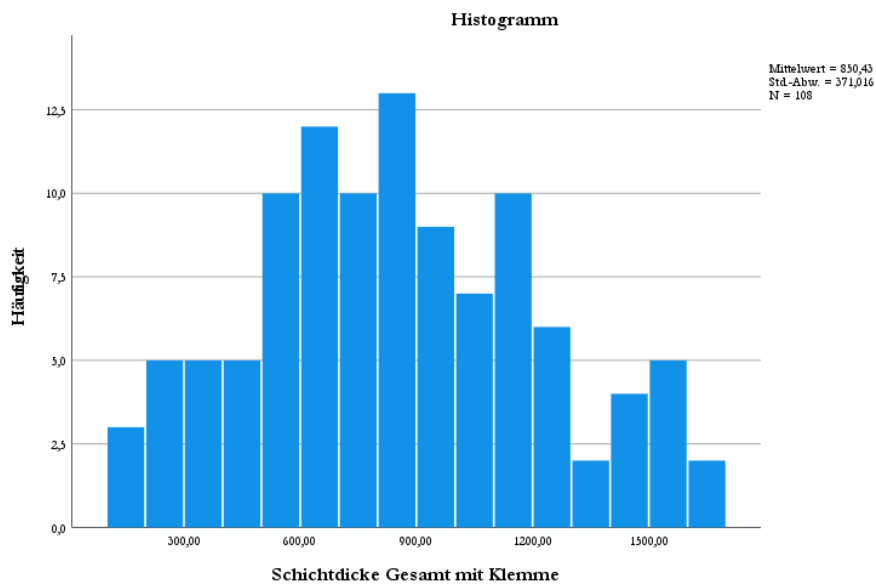


Abbildung 31: Häufigkeitsverteilung der Gesamtschichtdicke (mit Klemme). Die gemessenen Schichtdicken (Angabe in μm) sind annähernd normalverteilt um $(850 \pm 371) \mu\text{m}$.

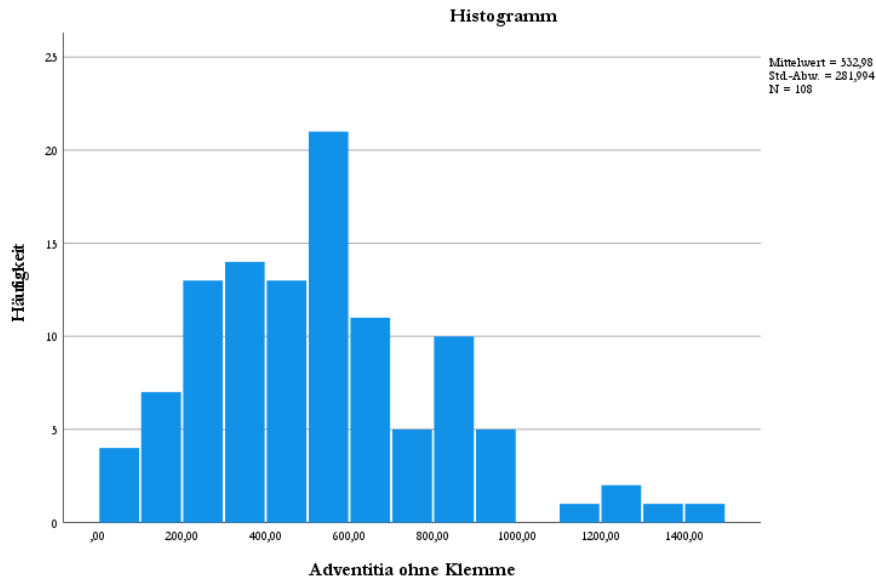


Abbildung 32: Häufigkeitsverteilung der Adventitia (ohne Klemme). Die gemessenen Schichtdicken (Angabe in μm) sind annähernd normalverteilt um $(533 \pm 282) \mu\text{m}$.

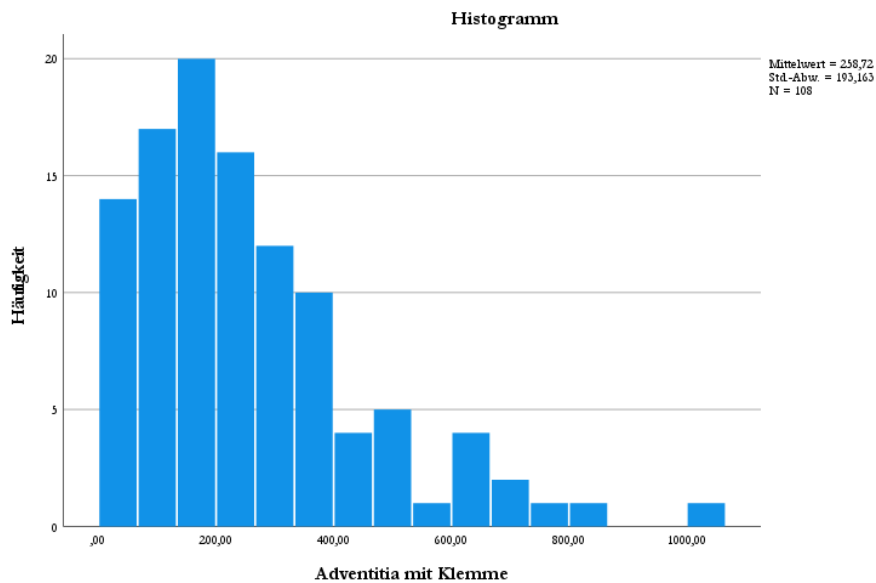


Abbildung 33: Häufigkeitsverteilung der Adventitia (mit Klemme). Die gemessenen Schichtdicken (Angabe in μm) sind leicht linksschief, können aber noch als annähernd normalverteilt angenommen werden $(259 \pm 193) \mu\text{m}$.

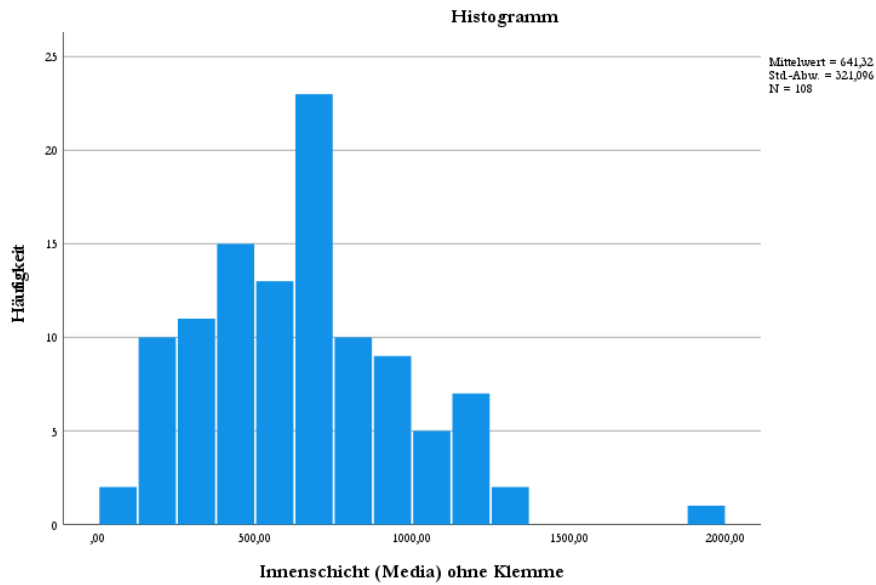


Abbildung 34: Häufigkeitsverteilung der Innenschicht (ohne Klemme). Die gemessenen Schichtdicken (Angabe in μm) sind annähernd normalverteilt um $(641 \pm 321) \mu\text{m}$.

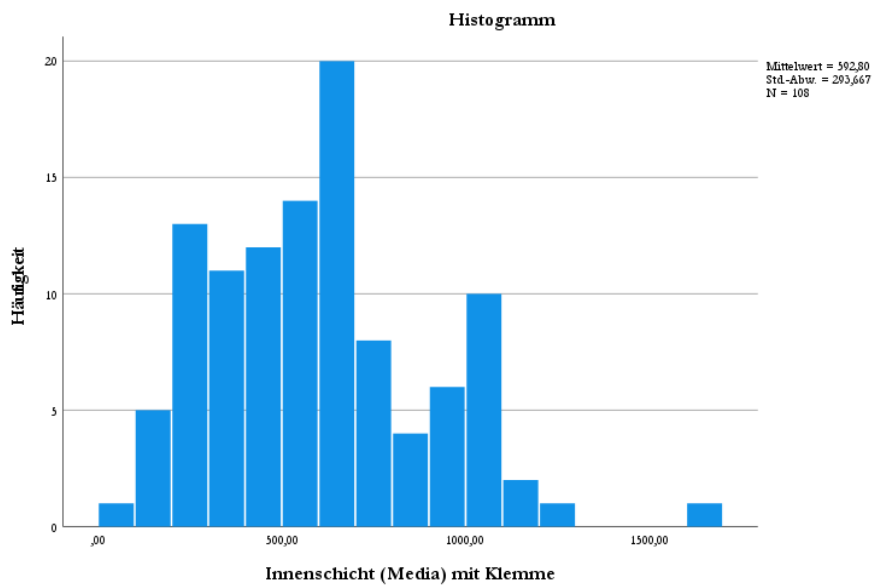


Abbildung 35: Häufigkeitsverteilung der Innenschicht (mit Klemme). Die gemessenen Schichtdicken (Angabe in μm) sind annähernd normalverteilt um $(593 \pm 294) \mu\text{m}$.

Tabelle 4: Korrelationsanalyse der Messvariablen.

	Gesamt ohne Klemme	Gesamt mit Klemme	Adventitia ohne Klemme	Adventitia mit Klemme	Media ohne Klemme	Media mit Klemme	Delami- nierung
Gesamt ohne Klemme	1	,883**	,689**	,461**	,818**	,796**	0,082
Gesamt mit Klemme	,883**	1	,535**	,610**	,816**	,837**	0,046
Adventitia ohne Klemme	,689**	,535**	1	,653**	,195*	,216*	0,033
Adventitia mit Klemme	,461**	,610**	,653**	1	0,157	0,097	-0,038
Media ohne Klemme	,818**	,816**	,195*	0,157	1	,930**	0,083
Media mit Klemme	,796**	,837**	,216*	0,097	,930**	1	0,085
Delami- nierung	0,082	0,046	0,033	-0,038	0,083	0,085	1

**Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (2-seitig) signifikant.

*Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (2-seitig) signifikant.

3.3.1 Kontusion der Gesamtschicht

Das Anbringen einer Klemme hat – unabhängig vom Klemmentyp und Klemmmanöver – insgesamt starke Auswirkungen auf die Gesamtschicht, $F(1, 72) = 218,9$; $p < 0,001$, $\eta_p^2 = 0,75$; die Zellschicht reduziert sich von 1138 μm auf 850 μm (Abbildung 36).

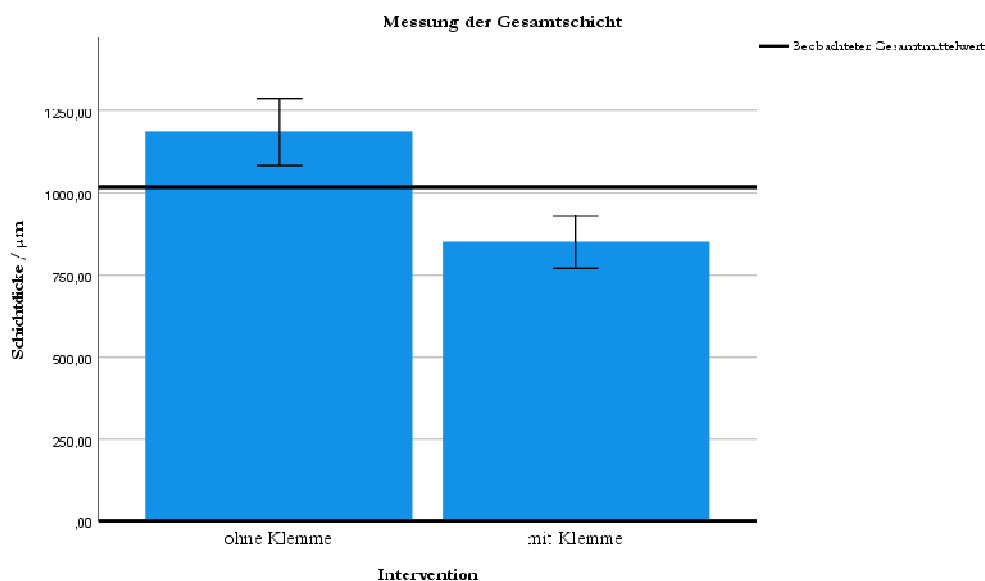


Abbildung 36: Messung der Gesamtschicht. Dargestellt sind die mittleren Schichtdicken aller Proben (Gesamtschicht) mit bzw. ohne Anbringen einer Klemme. Die Fehlerbalken indizieren zwei Standardfehler.

Die Korrelation zwischen der Schichtdicke vor und nach der Intervention beträgt $r = 0,883$ ($p < 0,01$). Dies spricht dafür, eine messwiederholte Varianzanalyse durchzuführen (Abbildung 37).

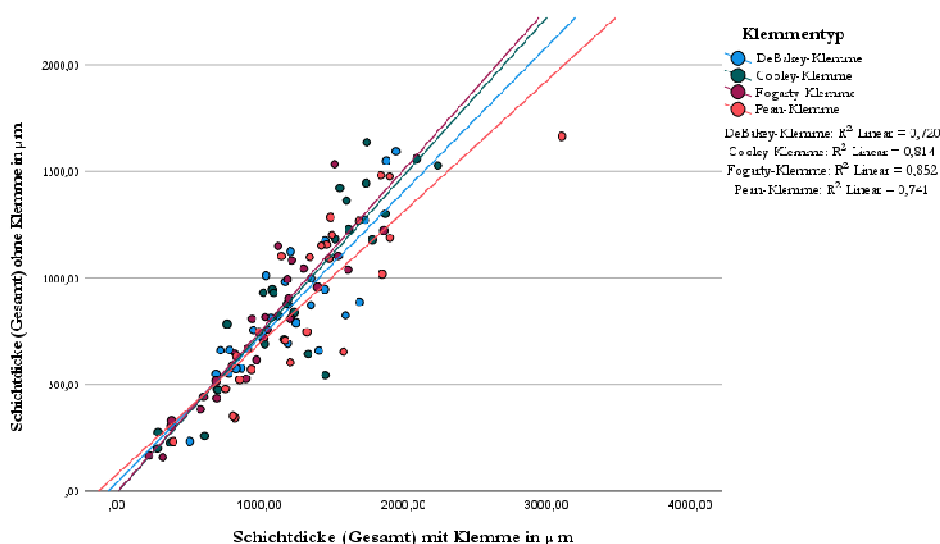


Abbildung 37: Streudiagramm der Messwerte mit bzw. ohne Klemme. Den Messdaten wurden lineare Ausgleichsgeraden für jeden Klemmentyp hinzugefügt; der R^2 -Wert gibt die Güte eines linearen Zusammenhangs an ($R^2 = 1$ entspricht einer fehlerlosen Übereinstimmung).

Da der messwiederholende Faktor nur zwei Stufen hat, muss nicht auf Sphärizität getestet werden, d. h., es wird kein Mauchly-Test durchgeführt.

Abbildung 38 zeigt, dass die Intervention (das Anbringen einer Klemme) für verschiedene Klemmentypen unterschiedlich starke Auswirkungen hat, $F(3, 72) = 2,56$, $p = 0,06$, $\eta_p^2 = 0,10$. Der Effekt ist marginal signifikant.

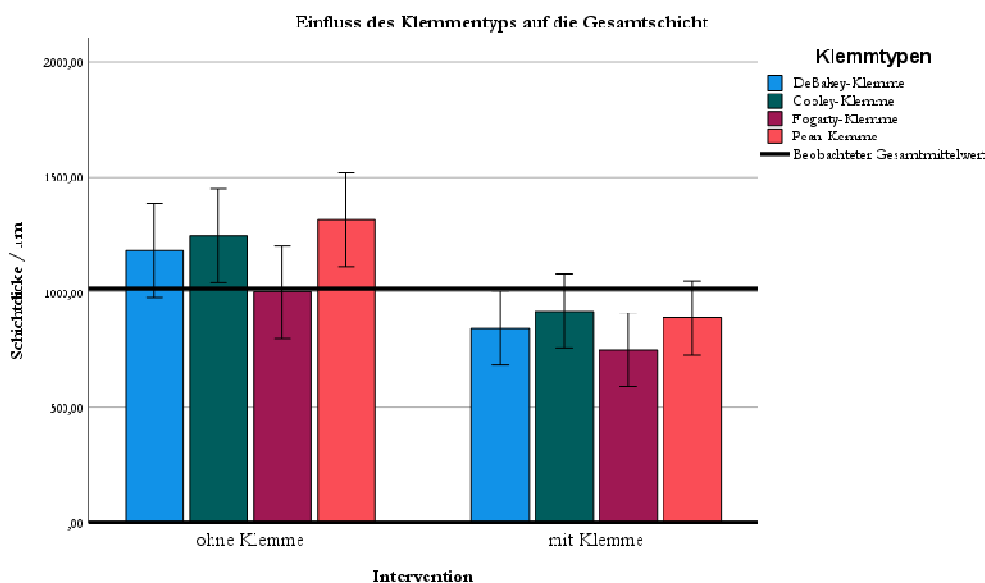


Abbildung 38: Einfluss des Klemmentyps auf die Gesamtschicht. Dargestellt sind die Mittelwerte der Gesamtschicht mit bzw. ohne Klemme für alle vier Klemmentypen. Die Werte „ohne Klemme“ sind die Referenzwerte in unmittelbarer Umgebung der Klemmstelle bei den jeweiligen Messungen. Die Fehlerbalken entsprechen zwei Standardfehlern.

Die stärkste Beschädigung wird durch die Pean-Klemme verursacht, die geringste durch die Fogarty-Klemme. Ein t-Test unabhängiger Stichproben weist auf einen signifikanten Effekt mittlerer Größe nach Cohen hin, $t(52) = 2,77$, $p = 0,008$, $d = 0,75$. Dafür wurden die Differenzmesswerte (ohne Klemme minus mit Klemme) gebildet und die Differenz der Beschädigung zwischen den Klemmentypen wurde miteinander verglichen.

Die Faktoren Klemmdauer und Klemmhäufigkeit haben hingegen keinen Einfluss auf die Beschädigung der Gesamtschicht, $F(2, 72) = 0,26$, $p = 0,77$ bzw. $F(2, 72) = 0,11$, $p = 0,90$. Die Ergebnisse sind in Abbildung 39 und Abbildung 40 zu sehen.

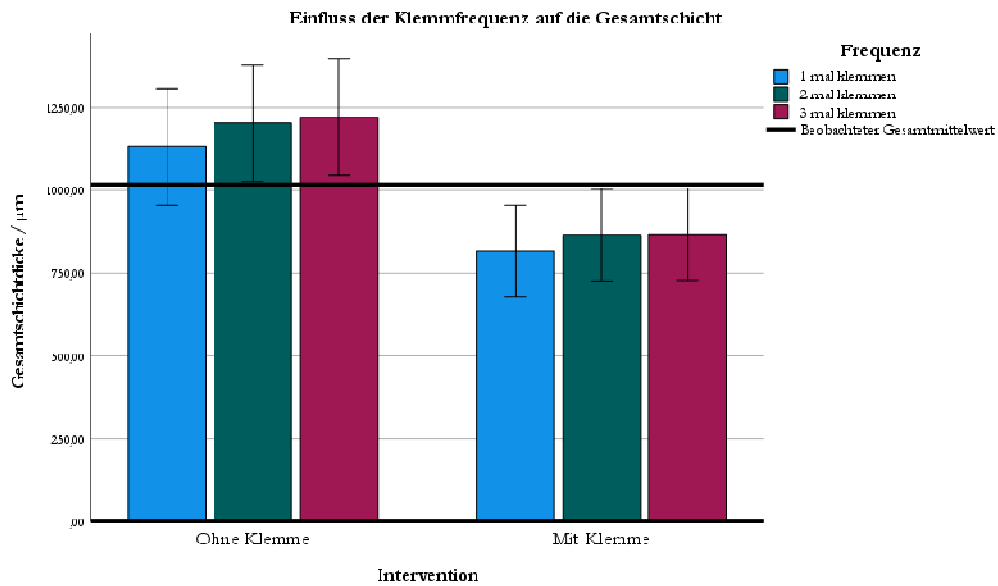


Abbildung 39: Einfluss der Klemmfrequenz auf die Gesamtschicht. Die Fehlerbalken entsprechen zwei Standardfehlern.

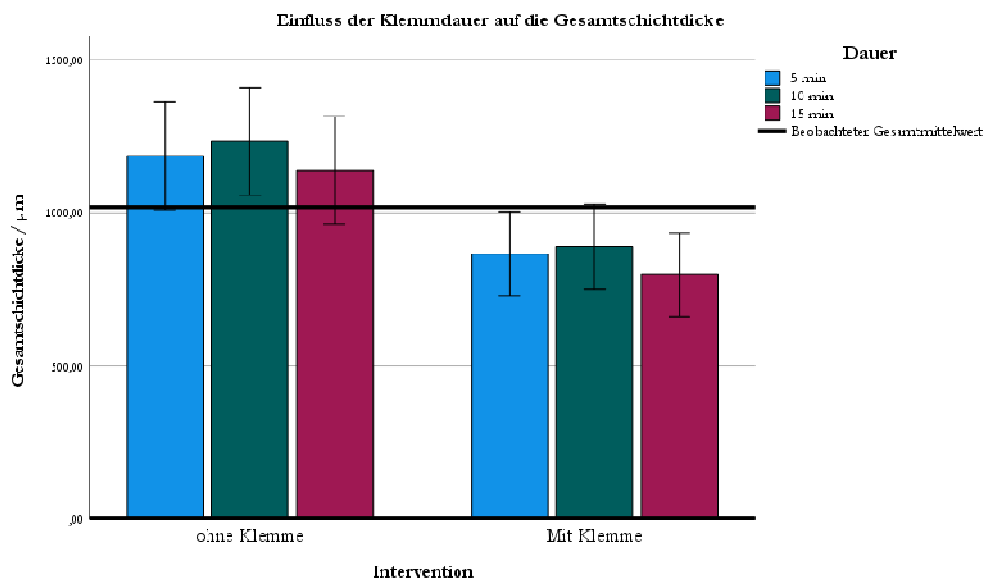


Abbildung 40: Einfluss der Klemmdauer auf die Gesamtschichtdicke. Die Fehlerbalken entsprechen zwei Standardfehlern.

Es gibt auch keine Interaktionen höherer Ordnung, d. h. unterschiedliche Kombinationen aus Klemmdauer, Klemmtypen und Klemmfrequenzen wirken sich nicht unterschiedlich stark auf die Veränderung der Gesamtschichtdicke aus.

Fazit Gesamtschicht: Mit Blick auf die erste Forschungsfrage ergibt die statistische Analyse der Daten somit einen Einfluss des Klemmentyps auf die Verletzung der Gesamtschicht: Die Pean-Klemme verletzt stärker als die Fogarty-Klemme. Die anderen beiden Klemmen (DeBakey und Cooley) unterscheiden sich nicht signifikant voneinander und sie unterscheiden sich auch nicht signifikant von der Fogarty-Klemme und der Pean-Klemme. Dies bedeutet jedoch nicht, dass die DeBakey und die Cooley-Klemme genauso schädlich sind wie die Pean-Klemme (bzw. genauso schonend wie die Fogarty-Klemme), sondern lediglich, dass im Rahmen der durchgeführten Versuchsreihen nur ein signifikanter Unterschied zwischen der schonendsten (Fogarty-) und der schädlichsten (Pean-) Klemme statistisch abgesichert werden konnte. Deskriptiv liegen die anderen beiden Klemmen dazwischen.

Bezüglich der zweiten Forschungsfrage ist dieses Ergebnis unabhängig von der Klemmdauer, von der Klemmfrequenz und von Kombinationen verschiedener Klemmdauern und -frequenzen: Die Fogarty-Klemme bleibt die schonendste und die Pean-Klemme die schädlichste der verglichenen Klemmen, unabhängig vom Klemmanöver.

3.3.2 Kontusion der Außenschicht (Adventitia) und der inneren Schicht

Die Analyse wurde in analoger Weise auch für die beiden anderen Variablen durchgeführt. Die Ergebnisse sind zusammen mit den statistischen Kennzahlen der Gesamtschicht in Tabelle 5 aufgeführt.

Tabelle 5: Ergebnisse der Varianzanalysen für verschiedene Messvariablen.

	Intervention	Intervention x Klemmentyp	Intervention x Dauer	Intervention x Frequenz
Gesamtschicht	F(1, 72) = 218,9, P < 0,001, $\eta_p^2 = 0,75$	F(3, 72) = 2,56, p = 0,06, $\eta_p^2 = 0,10$	F(2, 72) = 0,26, p = 0,77 (n. s.)	F(2, 72) = 0,11, p = 0,90 (n. s.)
Adventitia	F(1, 72) = 174,5, P < 0,001, $\eta_p^2 = 0,71$	F(3, 72) = 2,54, p = 0,06, $\eta_p^2 = 0,10$	F(2, 72) = 0,03, p = 0,97 (n. s.)	F(2, 72) = 0,25, p = 0,78 (n. s.)

	Intervention	Intervention x Klemmentyp	Intervention x Dauer	Intervention x Frequenz
Innere Schicht	F(1, 72) = 16,9 P < 0,001, $\eta_p^2 = 0,19$	F(3, 72) = 2,08, p = 0,11(n. s.)	F(2, 72) = 0,46, p = 0,64 (n. s.)	F(2, 72) = 0,80, p = 0,45 (n. s.)

Post-hoc-Tests der signifikanten Interaktionseffekte:

Gesamtschicht: Fogarty < Pean mit $t(52) = 2,77$, $p = 0,008$, $d = 0,75$.

Adventitia: Fogarty < Pean mit $t(52) = 2,858$, $p = 0,006$, $d = 0,78$.

Die Analyse ergibt bei allen Messvariablen einen signifikanten Einfluss der Intervention auf die Dicke der gemessenen Schichten. Der Einfluss ist am stärksten bei der Gesamtschicht und der Adventitia (Kontusion > 25 %), aber vergleichsweise gering bei der inneren Schicht (Kontusion um ca. 10 %).

Der Klemmentyp hat bezüglich der Gesamtschicht und der Adventitia einen Einfluss auf die Kontusion; in beiden Fällen ist die Pean-Klemme schädlicher als die Fogarty-Klemme. Wie oben (bei der Gesamtschicht) diskutiert, sind die DeBakey und die Cooley statistisch unauffällig, d. h. sie unterscheiden sich in ihrer Wirkung auf die Adventitia nicht voneinander. Sie sind beide schonender als die Pean-Klemme und weniger schonend als die Fogarty-Klemme, aber im Rahmen der statistischen Messfehler kann dieser Unterschied nicht deutlich aufgelöst werden. Hier müsste die Versuchsreihe vergrößert werden, um die Tendenzen deutlicher zu überprüfen. Die statistische Aussage der vorliegenden Daten ist folgende: Es existiert ein Unterschied zwischen den Klemmen in ihrer Wirkung. Post-hoc-Tests zeigen, dass diese Unterschiede durch die unterschiedliche Wirkung zwischen der Fogarty- und der Pean-Klemme erklärt werden können.

Es gibt keinen Einfluss des Klemmmanövers auf die Ergebnisse, auch nicht in Kombination mit dem Klemmentyp.

3.3.3 Delaminierung

Eine univariate Varianzanalyse mit der dichotomen Zielvariable Delaminierung ergab drei signifikante Haupteffekte bezüglich des Faktors Klemmentyp, des Faktors Klemmdauer (Zeit) und des Faktors Klemmhäufigkeit.

Interaktionseffekte zwischen diesen Faktoren sind nicht aufgetreten.

Der Faktor Klemmentyp weist die größte Effektstärke auf, $F(3, 108) = 12,2$, $p < 0,001$, $\eta_p^2 = 0,34$. Die Ergebnisse sind in Abbildung 41 dargestellt.

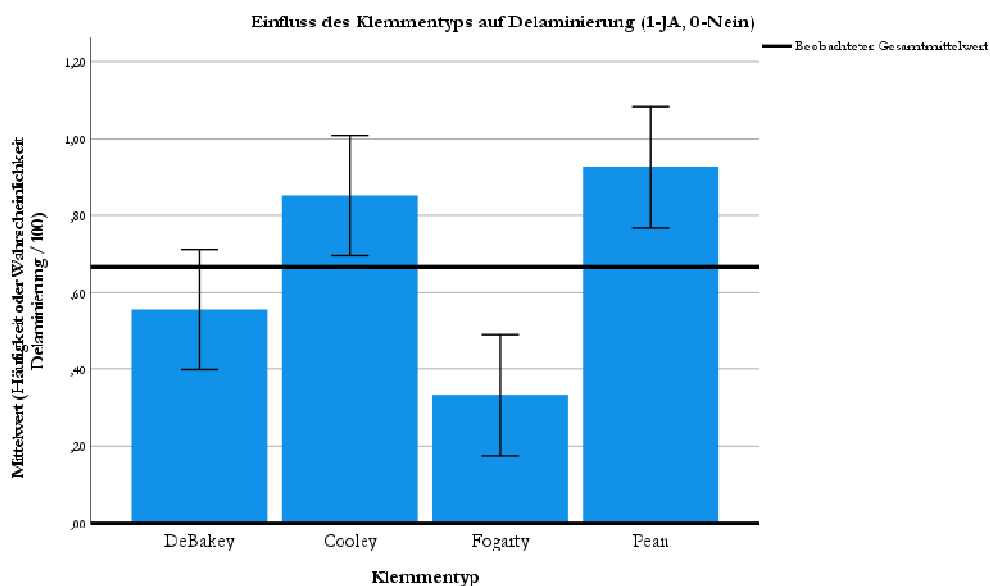


Abbildung 41: Einfluss des Klemmentyps auf Delaminierung. Das Auftreten der Delaminierung wurde gemessen (Ja = 1, Nein = 0), sodass sich die Häufigkeit als Wahrscheinlichkeit angeben lässt. Die Fehlerbalken entsprechen zwei Standardfehlern.

Eine Post-hoc-Analyse ergibt signifikante Unterschiede zwischen den Klemmentypen DeBakey und Pean, Cooley und Fogarty sowie Fogarty und Pean. Demnach führt die Pean-Klemme am häufigsten ($> 90\%$) und die Fogarty-Klemme am seltensten zu einer Delaminierung (33%). Der Unterschied zwischen diesen beiden Klemmen ist hochsignifikant mit großer Effektstärke: $t(52) = 5,6$, $p < 0,001$, $d = 1,26$. Die DeBakey-Klemme führt ebenfalls signifikant seltener zu einer Delaminierung im Vergleich zu der Pean-Klemme.

Die Faktoren Klemmdauer und Klemmhäufigkeit weisen niedrigere Effektstärken auf, jeweils $F(2, 108) = 3,50$, $p = 0,04$, $\eta_p^2 = 0,09$. Dauer und Häufigkeit des Klemmens zeigen identische Auswirkungen auf das Auftreten von Delaminierung, wie in Abbildung 42 bzw. Abbildung 43 zu sehen ist: Eine lange Klemmdauer (15 min) geht mit einer häufigeren Delaminierung einher als eine kurze Klemmdauer – (5 min), $t(70) = 2,32$, $p = 0,023$, $d = 0,55$. Die mittlere Stufe unterscheidet sich nicht signifikant von der kurzen bzw. langen Klemmdauer. Bei der Klemmhäufigkeit ist das Ergebnis ähnlich: Dreimaliges Klemmen bewirkt eine häufigere Delaminierung als einmaliges Klemmen, $t(70) = 2,32$, $p = 0,023$, $d = 0,55$. Zweimaliges Klemmen unterscheidet sich davon nicht.

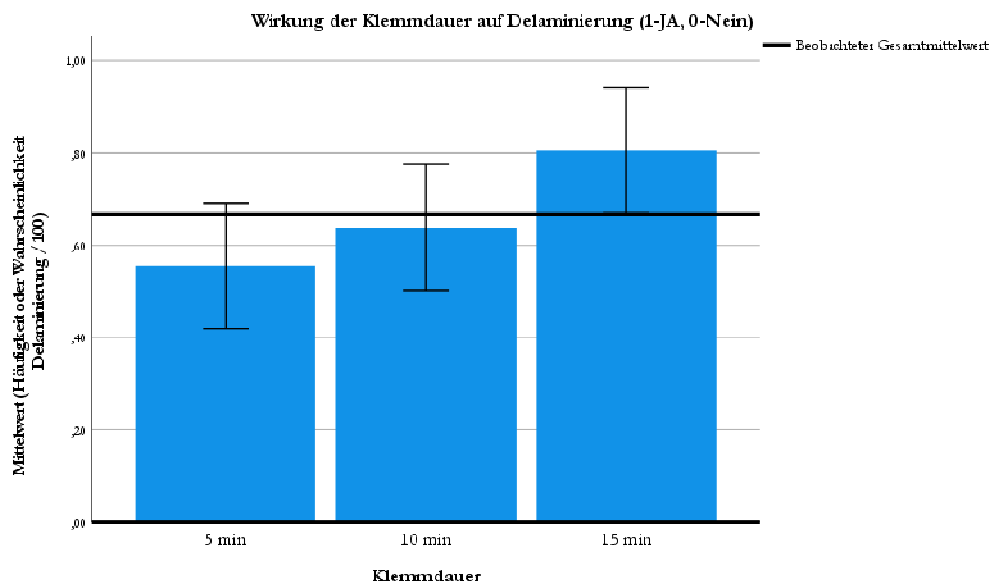


Abbildung 42: Wirkung der Klemmdauer auf Delaminierung. Die Fehlerbalken entsprechen zwei Standardfehlern.

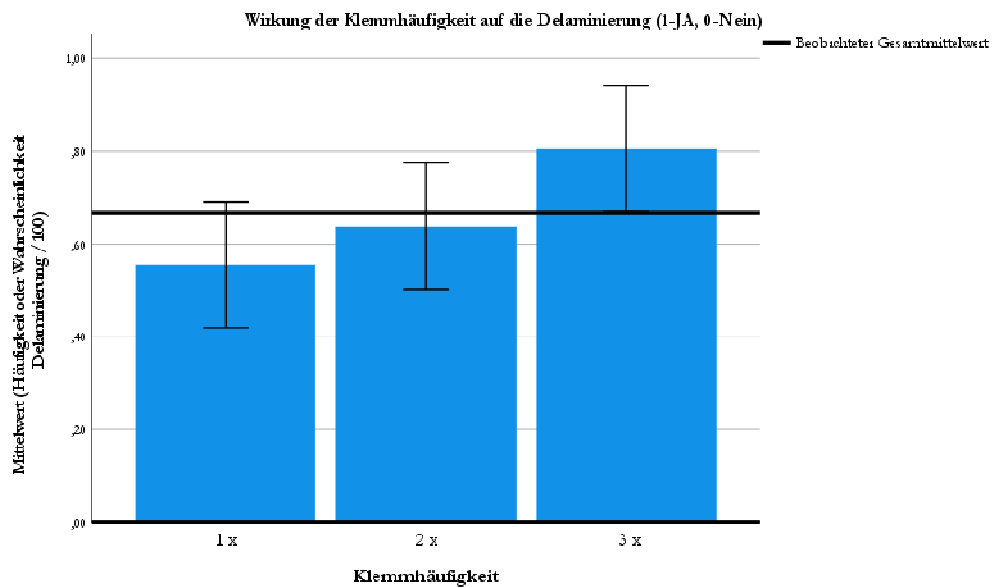


Abbildung 43: Wirkung der Klemmdauer auf Delaminierung. Die Fehlerbalken entsprechen zwei Standardfehlern.

4 Diskussion

Im gefäßchirurgischen Alltag wird man oft mit der Wahl des richtigen Materials als Ersatz der nativen Gefäße konfrontiert. Laut aktueller Cochrane Studie (Ambler et al. 2018) werden mit einer körpereigenen Vene im supragenualen femoropoplitealen Bereich gegenüber alloplastischen Materialien bessere langfristige Offenheitsraten erzielt. Für den infragenualen Bereich kann aufgrund unzureichender Datenlage keine eindeutige Aussage getroffen werden. Häufig bietet sich die Möglichkeit eines autologen Materials nicht mehr, da die eigene Vene entweder morphologisch nicht geeignet oder nach Venenentnahmen bei vorangegangenen gefäß- oder herzchirurgischen Eingriffen nicht mehr vorhanden ist. Als Alternativen stehen mehrere Gefäßersatzmaterialien zur Verfügung. Das am zweithäufigsten verwendete Material stellt die alloplastische vaskuläre Prothese dar, die in verschiedenen Materialien, Längen und Durchmessern hergestellt wird und leicht zugänglich ist (Bosma et al. 2012). Als Nachteile werden eine hohe Empfindlichkeit für Infektionen sowie eine niedrige Offenheitsrate gesehen. Als weitere Alternativen eines vaskulären Ersatzmaterials bieten sich homogene und xenogene Grafts an, die nur in seltenen Fällen angewendet werden, da die Kosten und der Aufwand der Gewinnung des Materials dem Benefit bei rascher Degeneration überlegen sind (Minga Lowampa et al. 2016). Mit vielversprechenden Ergebnissen sind aktuell nur im experimentellen Bereich angewendete bioartifizielle Prothesen dank prompter Entwicklung des vaskulären *Tissue-Engineering* zu nennen (Song et al. 2018).

Zur Kombination der positiven Eigenschaften eines biologischen und eines synthetischen Materials wurde eine biosynthetische Gefäßprothese entwickelt. Die Kollagenschicht dieser bietet eine hohe Resistenz gegen Infektionen, und dank kommerzieller Herstellung ist die Omniflow-II-Prothese (Fa. LeMaitre) leicht zugänglich und kann in jeder Klinik bis zur Verwendung unproblematisch gelagert werden. Der Einsatz der ovinen biosynthetischen Gefäßprothese ist zwar chirurgisch anspruchsvoller, bietet aber große Vorteile gegenüber den auf dem Markt verfügbaren synthetischen Prothesen mit niedrigen Okklusionsraten und einer hohen Infektionsresistenz (Wiltberger et al. 2014).

Die Omniflow-II-Prothese kann vielfältig angewendet werden, inklusive peripherer arterieller Revaskularisation (van de Laar et al. 2022), bei Gefäßverletzungen aber auch bei Zugängen für Dialyseverfahren. Allerdings wurde in der Literatur ein erhöhtes Risiko einer Degeneration im Sinne einer Aneurysma- und Stenosenbildung beschrieben (Shakarchi et al. 2016). Dank ihrer biologischen Eigenschaften kann die Omniflow-II-Prothese als Ersatz

für infizierte alloplastische Prothesen mit sehr guten Ergebnissen benutzt werden (Töpel et al. 2012).

Aktuell existieren nur wenige Publikationen, beziehungsweise Fallberichte, die sich mit der Entstehung eines Pseudoaneurysmas nach Implantation einer biosynthetischen Gefäßprothese befassen. Somit variiert das Risiko einer aneurysmatischen Degeneration einer Omniflow-Prothese zwischen 1,1 % (Koch et al. 1997), 2,5 % (Amann et al. 2000), 12,6 % (Neufang et al. 2020) und 19 % (Fink et al. 2015).

Die Ursache einer Degeneration mit Aneurysmbildung der ovinen biosynthetischen Prothesen ist noch nicht vollständig geklärt. Allerdings wurde in der Vergangenheit bei Benutzung einer kunststoffverstärkten Umbilikalvene eine mechanische Schädigung des biologischen und alloplastischen Materials der Prothese während der Implantation vermutet (Batt et al. 1990). Ob Klemmschäden für die Entstehung der pseudoaneurysmatischen Degradation der ovinen biosynthetischen Prothese ursächlich sind, bleibt weiterhin unklar.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist, zu untersuchen, welche mechanischen Auswirkungen verschiedene Gefäßklemmen, Klemmfrequenzen und die Klemmdauer auf die Kollagenstabilität der ovinen biosynthetischen Gefäßprothese haben. Der Einfluss verschiedener Faktoren auf die Widerstandsfähigkeit des synthetischen Polyesternetzes wurde nicht im Rahmen dieses Experimentes untersucht. Das Experiment wurde in Laborräumen an der Universitätsmedizin Göttingen durchgeführt. Es wurde ein künstliches Kreislaufsystem mit annähernd physiologischen Werten simuliert, in welches eine biosynthetische ovine Kollagenprothese integriert wurde. Die Prothese wurde mit verschiedenen Gefäßklemmen unter verschiedenen Klemmfrequenzen und Klemmdauer geklemmt und anschließend wurden die einzelnen Bereiche mikroskopisch untersucht und ausgewertet.

4.1 Diskussion der Ergebnisse

4.1.1 Einfluss verschiedener Gefäßklemmen auf die Kollagenmatrix der Omniflow-II-Prothese

Schon während des Versuches wurden makroskopisch deutliche Abdrücke mit Mustern der Klemmen an der äußeren Schicht der biosynthetischen Prothese beobachtet. Da die Kollagenschicht der Prothesen nicht gleichmäßig verteilt war, waren diese Merkmale unterschiedlich ausgeprägt. Schädigungen im Sinne eines Risses oder einer Verletzung der

Polyestermatrix wurden makroskopisch nicht beobachtet. Während der Aufbewahrung der Präparate in Formalin-Lösung kam es zur Glättung der biologischen Schicht, so dass die geklemmten Zonen mit dem bloßen Auge nicht mehr erkannt werden konnten. Ob dieser Effekt an der Fixierungslösung oder an einem „Memory-Effekt“ des Kollagengewebes liegt, bleibt unklar. In der Literatur (Hutson et al. 2019) wurden mehrere Möglichkeiten inklusive rascher Einfrierung der kollagenreichen Präparaten untersucht, allerdings zeigte sich kein relevanter Unterschied zu gängigen Formalinlösungen.

In der mikroskopischen Untersuchung ist aufgefallen, dass sich in allen Präparaten eine Klemmzone erkennen ließ. Die Kollagenschicht wurde mehr oder weniger zusammengepresst, teilweise konnte auch eine sogenannte Delaminierung der Kollagenschicht beobachtet werden.

Eine mikroskopische Beurteilung der Polyestermatrix war aufgrund der Bearbeitung der Präparate in unserem Experiment leider nicht möglich. Vermutet wird eine Extension der Polyesterstrukturen durch heißes Paraffin in der Phase des Einbettens sowie Zerfetzen der harten Polyesterfilamente durch Schneiden mit dem Mikrotom, die in allen Präparaten unabhängig von der verwendeten Klemme oder Klemmzeit aufgetreten sind. In einer Probe, die durch das Einbetten in Acryl-Kunstharz hergestellt wurde, zeigten sich die Kunststofffasern der ovinen biosynthetischen Prothese deutlich stabiler. Allerdings war diese Methode aus Kapazitäts- und Kostengründen nicht durchführbar. Als Alternative könnte in zukünftigen Projekten eine Untersuchung der Polyesterfasern einer Omniflow-II-Prothese mittels Rasterelektronenmikroskopie, die in der Literatur zur Beurteilung der Klemmschäden einer Polyester-Prothese zu finden ist, erfolgen (Riepe et al. 2002).

Nach statistischer Auswertung unserer Daten konnte eindeutig festgestellt werden, dass das Anbringen einer Klemme unabhängig von der Klemmdauer und Klemmfrequenz eine starke Auswirkung auf die Gesamtschicht des Präparates aufweist. Die Kontusion des Präparates durch ein Klemmmanöver macht sich am meisten in der äußeren Kollagenschicht des Präparates (Abnahme der Dicke um $> 25\%$) bemerkbar. Die Kollagenschicht zwischen den Polyesterfibrillen zeichnet sich durch eine höhere Widerstandsfähigkeit aus, hier wurde eine Kontusion um ca. 10% beobachtet.

Zwischen den Klemmtypen zeigte sich bezüglich der Kontusion der Gesamt- und Außenschicht der ovinen biosynthetischen Prothese zwischen der Fogarty- und der Pean-Klemme ein statistisch signifikanter Unterschied (für Gesamtschicht $p = 0.008$, bzw. für Außenschicht $p = 0.006$), wobei durch die Fogarty-Klemme die schonendsten Ergebnisse erzielt werden konnten. Zwischen der Cooley- und der DeBakey-Klemme zeigte sich kein

signifikanter Unterschied und der Schädigungsgrad dieser Klemmen lag zwischen dem der Fogarty- und der Pean-Klemme.

Hinsichtlich der Delaminierung der Kollagenschicht, zeigte sich ein hochsignifikanter Unterschied zwischen der Fogarty- und Pean-Klemme ($p < 0.001$). Die Fogarty-Klemme hat in 33 Prozent der Fälle eine Delaminierung verursacht und war somit auch in diesem Aspekt die schonendste Klemme. Im Gegenteil war die Pean-Klemme in über 90 Prozent für die Delaminierung der Kollagenschicht verantwortlich und somit die schädlichste Klemme. Die DeBakey-Klemme zeigte sich in diesem Fall als zweitschonendste Klemme.

Experimentell wurde nachgewiesen, dass die negativen Gefäßschäden vom einwirkenden Druck der Gefäßklemmen abhängig sind (Slayback et al. 1976). Klemmschäden an einer ovinen biosynthetischen Prothese sind zum Zeitpunkt der Entstehung dieser Arbeit laut Literaturrecherche noch nicht untersucht worden. Es wird vermutet, dass die aneurysmatischen Veränderungen der Omniflow-Prothese nach der Implantation durch mechanische Schäden, wie zum Beispiel Klemmschäden, verursacht werden könnten (Koch et al. 1997). Einzelne Fallberichte (Fink et al. 2015) widersprechen dieser Aussage, da die aneurysmatischen Degenerationen nicht nur in der Nähe der Anastomosen, sondern in der gesamten Länge der implantierten Prothese beobachtet worden sind.

In der Literatur variiert die Inzidenz der Degeneration von ovinen biosynthetischen Prothesen sehr stark. Die Implantationstechnik scheint ein wesentlicher Faktor zu sein. Laut Herstellerangaben darf die Omniflow-II-Prothese nur mit geeignetem Tunnelierungssystem implantiert werden. Eine höhere Anzahl (bis zu 19 %) an degenerativen Veränderungen der ovinen biosynthetischen Prothese ist in den Fällen beobachtet worden, in denen die Prothese mit Hilfe einer Kornzange getunnelt wurde (Fink et al. 2015). Hingegen sind die degenerativen Veränderungen der Omniflow-II-Prothese seltener (2,5 %) beobachtet worden, wenn auf die sorgfältige Implantationstechnik mittels Tunnelierungssystem geachtet wurde (Amann et al. 2000).

4.1.2 Einfluss der Klemmdauer auf die Kollagenmatrix der Omniflow-II-Prothese

In unserem Experiment konnte kein Einfluss der Klemmdauer auf die Dicke der Kollagenschicht beobachtet werden. Alle vier Klemmen bewirkten ähnliche und signifikant nicht bedeutende Unterschiede auf die gesamte, äußere und innere Schicht der Kollagenmatrix einer ovinen biosynthetischen Prothese bezüglich der Klemmdauer. In den Präparaten mit fünf-, zehn- und fünfzehnminütiger Klemmdauer zeigte sich kein

wesentlicher Unterschied bezüglich der Kollagenschichtdicke zwischen der Fogarty-, DeBakey-, Cooley- und Pean-Klemme.

Auf die Delaminierung der Kollagenschicht hat sich die Klemmdauer jedoch relevant ausgewirkt. Je länger die Klemmdauer war, desto häufiger wurde die Delaminierung beobachtet. Ein fünfminütiger Klemmvorgang hat signifikant weniger Delaminierung verursacht als ein fünfzehnminütiger Klemmvorgang ($p = 0,023$). Zwischen den fünfminütigen und den zehnminütigen Klemmvorgängen sowie zwischen den zehnminütigen und den fünfzehnminütigen Klemmvorgängen konnte kein signifikanter Unterschied beobachtet werden. Unsere Ergebnisse werden von anderen Gruppen bestätigt.

Ein Einfluss der Klemmdauer auf Gefäßschäden ist in der experimentellen Arbeit von Margovsky et al. beschrieben worden (1997b). Hier wurde an ovinen Arterien die Einwirkung der DeBakey-Gefäßklemmen in der Zeitdauer von 15, 30, 45 und 60 min. untersucht. Es konnte bewiesen werden, dass die kürzere Klemmphase von 15 min. deutlich geringere Schädigung des Gefäßes im Vergleich zu längeren Klemmzeiten verursacht, allerdings fand sich zwischen den 30-, 45- und 60-minütigen Intervallen kein signifikanter Unterschied.

Ähnliche Ergebnisse wurden in der Untersuchung der kleinkalibrigen Arteria mammaria erzielt. Eine längere Klemmdauer von 30 min. mit einer weichen Gefäßklemme verursachte größere intimale Schäden als Klemmen mit derselben Klemme von 15 min. (Kuo et al. 1993).

4.1.3 Einfluss der Klemmfrequenz auf die Kollagenmatrix der Omniflow-II-Prothese

Im vorliegenden Experiment konnte kein signifikanter Unterschied bezüglich der Häufigkeit der Klemmvorgänge auf die Verminderung der gesamten, äußeren und inneren Kollagenschicht der ovinen biosynthetischen Prothese festgestellt werden. Die Fogarty-Klemme ist unabhängig von dem einmaligen, zweimaligen oder dreimaligen Klemmen die schonendste, die Pean-Klemme die am wenigsten schonende Klemme. Die DeBakey- und die Cooley-Klemme unterscheiden sich nicht signifikant voneinander sowie jeweils von der Fogarty- und Pean-Klemme.

Es konnte jedoch ein Einfluss der Klemmfrequenz auf die Delaminierung der Kollagenschicht beobachtet werden. Das dreifache Klemmen derselben Stelle an der Prothese führt häufiger zu einer Delaminierung der Kollagenschicht als das einmalige

Klemmen mit signifikanter Relevanz ($p = 0,023$). Das doppelte Klemmen unterscheidet sich nicht signifikant von einmaligem und dreifachem Klemmen. Dieses Ergebnis ist bei allen vier getesteten Klemmen beobachtet worden.

In einem Experiment von Margovsky und Kollektiv wurde die Krafterwirkung einer Gefäßklemme nach DeBakey auf die Intima der ovinen Arterie untersucht, wobei sich ein deutlich negativer Einfluss einer stark geschlossenen Gefäßklemme auf die Intimaschäden zeigte (Margovsky et al. 1999).

4.2 Stärke des Experimentes

Aktuell existieren keine Studien, die sich mit den Klemmschäden der ovinen biosynthetischen Gefäßprothese befassen. Die Omniflow-II-Prothese wird im Kreis der Gefäßchirurgie bei fehlendem körpereigenem Material nicht standardmäßig eingesetzt. Einer der Faktoren sind nicht immer gute Ergebnisse nach der Revaskularisation (Evans et al. 2022). Hinzu kommen noch die mit der Zeit auftretenden Degradationen der Prothesen, die manche Autoren mit sehr hohen Inzidenzen beschreiben (Fink et al. 2015). Es handelt sich oft um Studien mit einer kleinen Fallzahl, oder die Implantationstechnik stimmte nicht mit den vom Hersteller empfohlenen Angaben überein.

In der vorliegenden Arbeit zeigte sich eine relevante Differenzierung der untersuchten Klemmen bezüglich der Kollagenmatrix einer ovinen biosynthetischen Prothese. Eine einfache Anwendung dieser These in die Praxis ist zwar nicht möglich, kann aber weiteren Experimenten zur Aufklärung der Spätfolgen einer mechanischen Schädigung nach Implantation der Omniflow-II-Prothese dienen.

Diese Ergebnisse ermöglichen eine Referenz für weitere Experimente. Zum Vergleich können andere Klemmmöglichkeiten an der Omniflow-II-Prothese, zum Beispiel Okklusion mit einem Ballon-Device oder mit Vessel-Loop, untersucht werden. Zusätzlich ermutigt die vorliegende Arbeit zur Entwicklung einer speziell für die biosynthetische ovine Prothese hergestellten Klemme.

4.3 Limitationen des Experimentes

In experimentellen Versuchen lassen sich diverse Modellmöglichkeiten finden, die einen humanen Kreislauf imitieren. Im experimentellen Aufbau konnte ein realitätsnaher pulsatile Fluss im System erreicht werden, der mittlere, maximale und minimale Drücke wie in einem physiologischen Kreislauf nachbildet. Die im vorliegenden Experiment

abgebildeten Pulskurven hatten konstante Wellen mit Charakter einer Sinuskurve. Eine physiologische Pulswelle beinhaltet eine dikrotische Welle, die durch Schließen der Aortenklappe sowie die Elastizität der Aorta und Arterien erzeugt wird. Je näher am Herzen die Pulskurve gemessen wird, desto ausgeprägter wird sie dargestellt (Politi et al. 2016). Durch die Integration einer elastischen Kammer in das experimentelle Kreislaufsystem kann der sogenannte Windkesseneffekt der Aorta simuliert und somit eine dikrotische Welle der Pulskurve erzeugt werden (Helms et al. 2020).

Die vorliegende Arbeit beschäftigte sich mit Veränderungen der Kollagenmatrix einer ovinen biosynthetischen Prothese durch Klemmanöver. Eine Schädigung des Polyesters als Stabilisierungssystem wurde nicht überprüft. Welchen Einfluss die nicht organische Komponente der Omniflow-II-Prothese auf die Stabilität des Grafts hat, bleibt weiterhin unklar. Es ist allerdings bewiesen worden, dass die alloplastischen Materialien – vor allem Polyester material – zu Dilatationen und Brüchen neigen (Berger und Sauvage 1981). Allerdings ist eine analoge Applikation dieser These auf die ovinen biosynthetischen Prothesen bei sehr starker Kollagen-Komponente der Prothese nicht möglich.

4.4 Bedeutung für die Praxis

Die gefäßchirurgische Gesellschaft ist bezüglich der Verwendung der Omniflow-II-Prothese gespalten. Bedingt durch die Diskrepanz der Erfolge nach der Implantation der Prothese in der Praxis kommt die ovine biosynthetische Prothese nicht regelmäßig zum Einsatz. Diese Arbeit bestätigte die Behauptung der Anfälligkeit der Omniflow-II-Prothese für lokale mechanische Schäden. Auch die aktuell verfügbare Standardklemme für die vaskulären Prothesen (Fogarty-Klemme) verursacht Schäden an der Omniflow-II-Prothese. Die Entwicklung neuer schonender Klemmen, bzw. Klemmverfahren sowie ein schonender Umgang mit der Prothese könnten eine Reduktion der Spätkomplikationen und somit bessere Offenheitsraten erzielen.

4.5 Ausblick auf Folgeversuche

In diesem Experiment ist bewiesen worden, dass jede der untersuchten Klemmen deutliche Kontusionen der Omniflow-II-Prothese verursacht. Ein schonenderes Klemmverfahren der biosynthetischen ovinen Gefäßprothese, außer Klemmung mit einer Fogarty-Klemme, ist zurzeit nicht bekannt. Dank der Ergebnisse dieser Arbeit kann die Entwicklung einer schonenderen Klemme bzw. Okklusionsdevices in folgenden Projekten erleichtert werden,

was für die Praxis zur Reduktion von Klemmschäden und somit der degenerativen Veränderungen einer Omniflow-II-Prothese führt.

Laut des Herstellers ist Knicken, Zusammendrücken oder Zusammenkneifen der Omniflow-II-Prothese nicht zulässig. Auch Angioplastieverfahren sollten nicht durchgeführt werden. Daher wurde in diesem Experiment auf eine Okklusion der Omniflow-II-Prothese mit einem Ballon oder Vessel-Loop verzichtet. Zukünftig können auch diese Methoden experimentell untersucht werden, die bei der Entwicklung eines neuen Okklusionsdevices bzw. für die klinische Therapie einer Stenose im Rahmen der Spätkomplikationen nach Implantation einer Omniflow-II-Prothese, zum Beispiel schonendere Angioplastie, behilflich sein können.

5 Zusammenfassung

Es wird angenommen, dass eine Schädigung der Matrix von ovinen Gefäßprothesen, etwa durch Klemmanöver während der Implantation, zu möglichen Spät komplikationen im Langzeitverlauf führen könnte. In der vorliegenden Arbeit wurde anhand eines Modells der Einfluss verschiedener Gefäßklemmentypen und weiteren praxisnahen Variablen auf die Struktur der Prothesenmatrix untersucht.

Ziel der Arbeit war es, ein die Matrix der Prothese schonendes Klemmverfahren zu identifizieren, um die Praktikabilität der Omniflow-II-Prothese zu steigern.

In insgesamt 108 histologischen Präparaten ließen sich eindeutige klemmbedingte Schäden an der Kollagenmatrix der Prothese beobachten. Die stabilisierende Polyester matrix konnte mit den hier durchgeführten histologischen Verfahren nicht untersucht werden. Es zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen den vier analysierten Klemmentypen. Die Fogarty-Klemme (Edwards Hydrjaw) verursachte in diesem Laborversuch die geringsten Schäden an der Kollagenmatrix der biosynthetischen ovinen Gefäßprothese. Die Frage, inwieweit die nachgewiesenen Veränderungen einen Einfluss auf mögliche Langzeitschäden der Grafts haben, kann durch diese Arbeit nicht abschließend geklärt werden und bleibt Gegenstand weiterführender Studien.

6 Literaturverzeichnis

- Alimi Y, Juhan C, Morati N, Girard N, Cohen S (1994): Dilation of Woven and Knitted Aortic Prosthetic Grafts: CT Scan Evaluation. *Ann Vasc Surg* 8, 238–242
- Amann W, Tiesenhausen K, Fruhwirth J, Thalhammer M, Allmayer T, Tomka M, Koch G (2000): Transplantataneurysmen nach biosynthetischem Gefäßersatz. *Z Für Herz- Thorax- Gefäßchirurgie* 14, 113–116
- Ambler GK, Twine CP, Group CV (2018): Graft type for femoro-popliteal bypass surgery. *Cochrane Database Syst Rev* 2, CD001487
- Batt M, Gagliardi JM, Avril G, Guzman R, Guidoin G, Hassen-Khodja R, Marois M, Le Bas P (1990): Human umbilical vein grafts as infrainguinal bypasses: long-term clinical follow-up and pathological investigation of explanted grafts. *Clin Investig Med Med Clin Exp* 13, 155–164
- Battisti G, Stio F, Marigliani M (1989): The biosynthetic Omniflow prosthesis: preliminary experience. *Ann Ital Chir* 60, 431–433
- Berger K, Sauvage LR (1981): Late fiber deterioration in Dacron arterial grafts. *Ann Surg* 193, 477–491
- Bosma J, Turkçan K, Assink J, Wisselink W, Vahl AC (2012): Long-Term Quality of Life and Mobility After Prosthetic Above-the-Knee Bypass Surgery - ScienceDirect. *Ann Vasc Surg* 26, 225–232
- Bozoglan O, Mese B, Eroglu E, Elveren S, Gul M, Celik A, Yildirimdemir HI, Ciralik H, Yasim A (2016): Which prosthesis is more resistant to vascular graft infection: polytetrafluoroethylene or Omniflow II biosynthetic grafts? *Surg Today* 46, 363–370
- Chen HY, Navia JA, Kassab GS (2009): A Simulation of Vessel–Clamp Interaction: Transient Closure Dynamics. *Ann Biomed Eng* 37, 1772–1780
- Chen Y, Tillman B, Go C, Cho SK, Clark WW, Hur TB, Ding Y, Chun Y (2019): A novel customizable stent graft that contains a stretchable ePTFE with a laser-welded nitinol stent. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater* 107, 911–923
- Cihak R: Anatomie 3. Grada Publishing, Praha 1997
- Colli A, Budillon AM, Cademartiri F, Palumbo A, Maffei E, Gherli T (2010): 64-Slice Computed Tomography of Bovine Internal Mammary Artery Coronary Grafts. *Asian Cardiovasc Thorac Ann* 18, 59–64
- De Siqueira JR, Sun ZDY, Tahir W, Bhasin N, Parry D (2020): Use of Omniflow® II in Infected Vascular Grafts with Femoral Anastomotic Dehiscence. *Ann Vasc Surg* 65, 160–165
- Dujovny M, Wakenhut N, Kossovsky N, Gomes CW, Laha RK, Leff L, Nelson D (1979): Minimum vascular occlusive force. *J Neurosurg* 51, 662–668
- Dünschede F, Youssef M, Stabrauskaite J, Ahmed S, Espinola-Klein C, Dorweiler B, Vahl CF (2017): Omniflow-II TM bei kritischer Extremitätenischämie. *Chir* 88, 233–238

- Eastridge BJ, Mabry RL, Seguin P, Cantrell J, Tops T, Uribe P, Mallett O, Zubko T, Oetjen-Gerdes L, Rasmussen TE, et al. (2012): Death on the battlefield (2001–2011): Implications for the future of combat casualty care. *J Trauma Acute Care Surg* 73, 431–437
- Egorova AD, DeRuiter MC, de Boer HC, van de Pas S, Gittenberger-de Groot AC, van Zonneveld AJ, Poelmann RE, Hierck BP (2012): Endothelial colony-forming cells show a mature transcriptional response to shear stress. *Vitro Cell Dev Biol - Anim* 48, 21–29
- Englberger L, Noti J, Immer FF, Stalder M, Eckstein FS, Carrel TP (2008): The Shelhigh No-React bovine internal mammary artery: a questionable alternative conduit in coronary bypass surgery? *Eur J Cardiothorac Surg* 33, 222–224
- Eshtaya E, Legare JF, Sullivan JA, Friesen CLH (2008): Great Mediastinal Vein Reconstruction Using Autologous Superficial Femoral Vein Superficial Femoral Vein Graft. *J Card Surg* 23, 736–738
- Evans W, Buchanan J, Goel R, Hardy S (2022): Early Graft, Limb and Mortality Outcomes from the Omniflow II Bio-Synthetic Graft. *Ann Vasc Surg* 78, 321–327
- Fellmer PT, Matia I, Jonas S (2013): Arterielle Homografts in der Gefäßchirurgie – idealer Gefäßersatz bei aortalen Gefäßprotheseninfektionen?! *Zentralbl Chir* 138, 530–535
- Fink M, Lesnik G, Wandschneider W (2015): Materialermüdung und Degeneration der Omniflow-IITM-Prothese. *Wien Klin Mag* 18, 78–85
- Fogarty TJ, Raible DA, Krippachne WW (1966): A new vascular clamp. *Am J Surg* 112, 967–968
- Golden MA, Hanson SR, Kirkman TR, Schneider PA, Clowes AW (1990): Healing of polytetrafluoroethylene arterial grafts is influenced by graft porosity. *J Vasc Surg* 11, 838–845
- Gouny P, Hocquet-Cheyne C, Martin-Mondiere C, Bensenane J, Bonneau M, Nussaume O (1995): Incorporation of fibronectin-impregnated vascular prostheses in the pig. Microscope study. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 36, 573–580
- Greisler HP, Cziperle DJ, Kim DU, Garfield JD, Petsikas P, Murchan PM, Applegren EO, Drohan W, Burgess WH (1992): Enhanced endothelialization of expanded polytetrafluoroethylene grafts by fibroblast growth factor type 1 pretreatment. *Surgery* 112, 244–254
- Guidoin R, Martin L, Levaillant P, Gosselin C, Domurado D, Marois M, Awad J, Blais P (1978): Endothelial Lesions Associated with Vascular Clamping - Surface Micropathology by Scanning Electron Microscopy. *Biomater Med Devices Artif Organs* 6, 179–197
- Harrison JH (1958): Synthetic materials as vascular prostheses: I. A comparative study in small vessels of nylon, dacron, orlon, ivalon sponge and teflon. *Am J Surg* 95, 3–15
- Harvey JG, Gough MH (1981): A comparison of the traumatic effects of vascular clamps. *Br J Surg* 68, 267–272
- Hasan A, Memic A, Annabi N, Hossain M, Paul A, Dokmeci MR, Dehghani F, Khademhosseini A (2014): Electrospun scaffolds for tissue engineering of vascular grafts. *Acta Biomater* 10, 11–25
- Helms F, Lau S, Klingenberg M, Aper T, Haverich A, Wilhelmi M, Böer U (2020): Complete Myogenic Differentiation of Adipogenic Stem Cells Requires Both Biochemical and Mechanical Stimulation. *Ann Biomed Eng* 48, 913–926

- Hutson HN, Kujawa C, Eliceiri K, Campagnola P, Masters KS (2019): Impact of tissue preservation on collagen fiber architecture. *Biotech Histochem Off Publ Biol Stain Comm* 94, 134–144
- Isenberg BC, Williams C, Tranquillo RT (2006): Endothelialization and Flow Conditioning of Fibrin-Based Media-Equivalents. *Ann Biomed Eng* 34, 971–985
- Karaman O, Şen M, Demirci EA: 11 - Electrospun scaffolds for vascular tissue engineering. In: Uyar T, Kny E (Hrsg.): *Electrospun Materials for Tissue Engineering and Biomedical Applications*. Woodhead Publishing, Cambridge 2017, 261–287
- Katz AJ, Tholpady A, Tholpady SS, Shang H, Ogle RC (2005): Cell Surface and Transcriptional Characterization of Human Adipose-Derived Adherent Stromal (hADAS) Cells. *STEM CELLS* 23, 412–423
- Ketharnathan V, Christie BA (1980): Glutaraldehyde-Tanned Ovine Collagen Conduits as Vascular Xenografts in Dogs: A Preliminary Report. *Arch Surg* 115, 967–969
- King MW, Marois Y, Guidoin R, Ukpabi P, Deng D, Martin L, Pâris E, Douville Y (1995): Evaluating the Dialine vascular prosthesis knitted from an alternative source of polyester yarns. *J Biomed Mater Res* 29, 595–610
- Knapp J, Rizzo A, Maxwell M, Duran C, Cheung D (2016): Evaluation of a Bovine Vascular Graft in Sheep. *Mil Med* 181, 240–246
- Koch G, Gutsch S, Pascher O, Fruhwirth H, Hauser H (1996): Femoropopliteal vascular replacement: vein, ePTFE or ovine collagen? *Zentralbl Chir* 121, 761–767
- Koch G, Gutsch S, Pascher O, Fruhwirth H, Glanzer H (1997): Analysis of 274 Omniflow vascular prostheses implanted over an eight-year period. *Aust N Z J Surg* 67, 637–639
- Kogel H: Möglichkeiten des Gefäßersatzes und Einsatz von Nahtmaterialien. In: Hepp W, Kogel H (Hrsg.): *Gefäßchirurgie*. 2. Auflage; Elsevier, München 2007, 95–110
- Kuivaniemi H, Tromp G (2019): Type III collagen (COL3A1): Gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases. *Gene* 707, 151–171
- Kuo J, Ramstead K, Salih V, Coumbe A, Graham TR, Lewis CT (1993): Effect of vascular clamp on endothelial integrity of the internal mammary artery. *Ann Thorac Surg* 55, 923–926
- Lenz L: *Histologische und immunhistochemische Analyse des Heilungsverhaltens von Achillessehnen nach Behandlung mit bFGF-exprimierenden Stammzellen im in-vivo Rattenmodell*. München 2017
- Lesèche G, Castier Y, Petit MD, Bertrand P, Kitzis M, Mussot S, Besnard M, Cerceau O (2001): Long-term results of cryopreserved arterial allograft reconstruction in infected prosthetic grafts and mycotic aneurysms of the abdominal aorta. *J Vasc Surg* 34, 616–622
- Magnetti F, Thalhammer C, Hechelhammer L, Husmann M, Pfammatter T, Amann-Vesti B (2010): Spontaneous pseudoaneurysm of a femoro-popliteal Omniflow® II graft treated with a stentgraft. *Vasa* 39, 196–198
- Manship LL, Moore WM, Bynoe R, Bunt TJ (1985): Differential endothelial injury caused by vascular clamps and vessel loops. II. Atherosclerotic vessels. *Am Surg* 51, 401–406
- Margovsky AI, Lord RSA, Meek AC, Bobryshev YV (1997): Artery wall damage and platelet uptake from so-called atraumatic arterial clamps: an experimental study. *Cardiovasc Surg* 5, 42–47

-
- Margovsky AI, Lord RSA, Chambers AJ (1997): The Effect of Arterial Clamp Duration on Endothelial Injury: An Experimental Study. *Aust N Z J Surg* 67, 448–451
- Margovsky AI, Chambers AJ, Lord RSA (1999): The effect of increasing clamping forces on endothelial and arterial wall damage: an experimental study in the sheep. *Cardiovasc Surg* 7, 457–463
- Menzoian JO, Koshar AL, Rodrigues N (2011): Alexis Carrel, Rene Leriche, Jean Kunlin, and the history of bypass surgery. *J Vasc Surg* 54, 571–574
- Minga Lowampa E, Holemans Ch, Stiennon L, Van Damme H, Defraigne JO (2016): Late Fate of Cryopreserved Arterial Allografts. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 52, 696–702
- Modarai B, Dasgupta P, Taylor J, Koffman G, Khan MS (2005): Follow-up of polytetrafluoroethylene arteriovenous fistulae for haemodialysis. *Int J Clin Pract* 59, 1005–1007
- Moore WM, Bunt TJ, Hermann GD, Fogarty TJ (1988): Assessment of transmural force during application of vascular occlusive devices. *J Vasc Surg* 8, 422–427
- Müller-Schweinitzer E (2009): Cryopreservation of vascular tissues. *Organogenesis* 5, 97–104
- Nehler MR, Duval S, Diao L, Annex BH, Hiatt WR, Rogers K, Zakharyan A, Hirsch AT (2014): Epidemiology of peripheral arterial disease and critical limb ischemia in an insured national population. *J Vasc Surg* 60, 686–695
- Neufang A, Doemland M (2010): Klinische Ergebnisse mit der denaturierten humanen Umbilikalvene (HUV) und der ovinen Kollagenprothese (Omniflow®) als kleinkalibriger prothetischer Gefäßersatz. *Gefäßchirurgie* 15, 83–89
- Neufang A, Duenschede F, Espinola-Klein C, Weisser G, Savvidis S, Poplawski A, Vahl CF, Dorweiler B (2020): Contemporary results with the biosynthetic glutaraldehyde denatured ovine collagen graft (Omniflow II) in femoropopliteal position. *J Vasc Surg* 71, 1630–1643
- Nishibe T, Kondo Y, Muto A, Dardik A (2007): Optimal Prosthetic Graft Design for Small Diameter Vascular Grafts. *Vascular* 15, 356–360
- Nunn DB, Carter MM, Donohue MT, Hudgins PC (1990): Postoperative dilation of knitted Dacron aortic bifurcation graft. *J Vasc Surg* 12, 291–297
- Ozalp B, Canbaz S, Huseyinova G, Duran E (2009): Histopathological comparison of vascular wall damage created by external cross-clamp and endoluminal balloon occlusion techniques. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 50, 545–553
- Palumbo R, Niscola P, Calabria S, Fierimonte S, Bevilacqua M, Scaramucci L, Tolu B, Fabritiis P de, Bondanini F (2009): Long-Term Favorable Results by Arteriovenous Graft with Omniflow II Prosthesis for Hemodialysis. *Nephron Clin Pract* 113, c76–c80
- Pegg DE: Principles of Cryopreservation. In: Day JG, Stacey GN (Hrsg.): *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. 2. Auflage; Humana Press, Clifton 2007, 39–57
- Pennings I, Haaften EE van, Jungst T, Bulsink JA, Rosenberg AJWP, Groll J, Bouten CVC, Kurniawan NA, Smits AIPM, Gawlitta D (2019): Layer-specific cell differentiation in bi-layered vascular grafts under flow perfusion. *Biofabrication* 12, 015009
- Politi MT, Ghigo A, Fernández JM, Khelifa I, Gaudric J, Fullana JM, Lagrée PY (2016): The aortic notch analyzed by a numerical model. *Comput Biol Med* 72, 54–64

- Ramshaw JA, Peters DE, Werkmeister JA, Ketharanathan V (1989): Collagen organization in mandrel-grown vascular grafts. *J Biomed Mater Res* 23, 649–660
- Rasch B, Friese M, Hofmann W, Naumann E: *Quantitative Methoden 1*. 4. Auflage; Springer, Berlin 2014
- Rasch B, Friese M, Hofmann W, Naumann E: *Quantitative Methoden 2*. 5. Auflage; Springer, Berlin, Heidelberg 2021
- Riepe G: Alloplastische Materialien. In: Debus ES, Gross-Fengels W (Hrsg.): *Operative und interventionelle Gefäßmedizin*. Springer, Berlin Heidelberg 2012, 283–290
- Riepe G, Chakfé N, Meincke J, Nassutt R, Seemann D, Klinggräff G, Morlock M, Imig H (2001): Spätkomplikationen nach alloplastischem Gefäßersatz. *Kongressband Dtsch Ges Chir Kongr* 118, 475–477
- Riepe G, Meincke J, Nassutt R, Seemann D, Chakfé N, Morlock M, Gross-Fengels W, Imig H (2002): Schädigung von Polyestergefäßprothesen durch Gefäßklemmen. *Zentralblatt Für Chir* 127, 89–94
- Rousou JH, Engelman RM (1981): Modified Fogarty Clamp for the Fragile Aorta. *Ann Thorac Surg* 32, 515–516
- Rylski B, Schmid C, Beyersdorf F, Kari FA, Kondov S, Lutz L, Werner M, Czerny M, Siepe M (2016): Unequal pressure distribution along the jaws of currently available vascular clamps: do we need a new aortic clamp? *Eur J Cardiothorac Surg* 49, 1671–1675
- Seeger JM, Klingman N (1988): Improved in vivo endothelialization of prosthetic grafts by surface modification with fibronectin. *J Vasc Surg* 8, 476–482
- Shaikh FM, Callanan A, Kavanagh EG, Burke PE, Grace PA, McGloughlin TM (2008): Fibrin: A Natural Biodegradable Scaffold in Vascular Tissue Engineering. *Cells Tissues Organs* 188, 333–346
- Shakarchi JA, McGrogan D, Yates PJ, Inston N (2016): Use of Biosynthetic Grafts (Omniflow II) for High Infection Risk Haemodialysis Vascular Access. *J Vasc Access* 17, 151–154
- Shin’oka T, Matsumura G, Hibino N, Naito Y, Watanabe M, Konuma T, Sakamoto T, Nagatsu M, Kurosawa H (2005): Midterm clinical result of tissue-engineered vascular autografts seeded with autologous bone marrow cells. *J Thorac Cardiovasc Surg* 129, 1330–1338
- Skovrind I, Harvald EB, Belling HJ, Jørgensen CD, Lindholt JS, Andersen DC (2019): Concise Review: Patency of Small-Diameter Tissue-Engineered Vascular Grafts: A Meta-Analysis of Preclinical Trials. *Stem Cells Transl Med* 8, 671–680
- Slayback JB, Bowen WW, Hinshaw DB (1976): Intimal injury from arterial clamps. *Am J Surg* 132, 183–188
- Soin B, Vial CM, Friend PJ (2000): Xenotransplantation. *Br J Surg* 87, 138–148
- Song HHG, Rumma RT, Ozaki CK, Edelman ER, Chen CS (2018): Vascular tissue engineering: progress, challenges, and clinical promise. *Cell Stem Cell* 22, 340–354
- Stephen M, Sheil AGR, Wong J (1978): Allograft Vein Arterial Bypass. *Arch Surg* 113, 591–593
- Sun R, Ren L, Zhang Z, Wu X, Wang Q, Zhang S, Yang X (2021): Pilot study of minimum occlusive force of vascular clamps on arterial vessels in rats. *Sci Rep* 11, 6042

- Toktaş F, Çayır MÇ, Özsin KK, Yavuz Ş, Göncü MT (2018): Long-term outcomes of Omniflow II biosynthetic vascular graft in lower extremity arterial revascularization. *Turk J Thorac Cardiovasc Surg* 26, 407–413
- Töpel I, Betz T, Uhl C, Wiesner M, Bröckner S, Steinbauer M (2012): Use of biosynthetic prosthesis (Omniflow II®) to replace infected infrainguinal prosthetic grafts - first results. *Vasa* 41, 215–220
- van de Laar BC, van Heusden H c, Pasker-de Jong PC, van Weel V (2022): Omniflow II biosynthetic grafts versus expanded polytetrafluoroethylene grafts for infrainguinal bypass surgery. A single-center retrospective analysis. *Vascular* 30, 749–758
- Vriens BHR, Pol RA, Hulsebos RG, van Det RJ, van der Palen J, Zeebregts CJ, Geelkerken RH (2015): Arterial clamping leads to stenosis at clamp sites after femoropopliteal bypass surgery. *Am J Surg* 210, 536–544
- Werkmeister JA, Glattauer V, Tebb TA, Ramshaw JA, Edwards GA, Roberts G (1991): Structural stability of long-term implants of a collagen-based vascular prosthesis. *J Long Term Eff Med Implants* 1, 107–119
- Whited BM, Hofmann MC, Lu P, Xu Y, Rylander CG, Wang G, Sapoznik E, Criswell T, Lee SJ, Soker S, Rylander MN (2013): Dynamic, Nondestructive Imaging of a Bioengineered Vascular Graft Endothelium. *PLoS One* 8, e61275
- Wilasrusmee C, Siribumrungwong B, Horsirimanont S, Poprom N, Jirasiritham J, Thakkinstian A (2017): Clinical results of biologic prosthesis: A systematic review and meta-analysis of comparative studies. *Ann Med Surg* 15, 26–33
- Wiltberger G, Matia I, Schmelzle M, Krenzien F, Hau HM, Freitas B, Jonas S, Fellmer PT (2014): Mid- and long-term results after replacement of infected peripheral vascular prosthetic grafts with biosynthetic collagen prosthesis. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 55, 693–698
- Wystrychowski W, McAllister TN, Zagalski K, Dusserre N, Cierpka L, L'Heureux N (2014): First human use of an allogeneic tissue-engineered vascular graft for hemodialysis access. *J Vasc Surg* 60, 1353–1357
- Xue L, Greisler HP (2003): Biomaterials in the development and future of vascular grafts. *J Vasc Surg* 37, 472–480
- Yim D, Wong WYE, Fan KS, Harky A (2020): Internal mammary harvesting: Techniques and evidence from the literature. *J Card Surg* 35, 860–867

Danksagung

An dieser Stelle bedanke ich mich für die Überlassung dieses Dissertationsthemas und die wertvolle Unterstützung bei Frau Prof. Dr. med. Hassina Baraki und Herrn Prof. Dr. med. Ingo Kutschka.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Florian Elger für die hervorragende Unterstützung sowie die engagierte und freundliche Betreuung über den gesamten Zeitraum des Experimentes, was zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen hat.

Ebenso möchte ich Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Aschraf El-Essawi für seine stetige Diskussionsbereitschaft, seine wertvollen Anregungen bei der Erstellung meiner Dissertation und auch für die Korrektur meiner Arbeit danken.

Mein Dank gilt dem Team des Deutschen Zentrums für Herz-Kreislauf-Forschung (DZHK) in Göttingen und besonders Frau Regina Waldmann-Beushausen für die Einarbeitung in die histologische Methodik und die Unterstützung bei der praktischen Durchführung.

Herrn Prof. Dr. Pascal Klein aus der Fakultät für Physik in der Georg-August-Universität in Göttingen danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.